

光强对黄檗幼苗三种生物碱含量的影响

李 霞^{1,2}, 王 洋¹, 阎秀峰^{1,*}

(1. 东北林业大学林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040;

2. 吉林师范大学生命科学学院, 四平 136000)

摘要: 设置光强分别为全光照的 100% (不遮荫)、75%、50% 和 25% 的 4 种光照处理, 比较了不同光强下 1 年生黄檗幼苗主要药用成分小檗碱、药根碱和掌叶防己碱含量的变化。结果表明, 全光照有利于小檗碱、药根碱和掌叶防己碱在茎外皮和根中的合成和积累, 总体上随光强减弱, 3 种生物碱含量降低。相对光强为 75% 时黄檗幼苗生物量最大, 而 75% 相对光强下黄檗幼苗 3 种生物碱的单株产量 (生物碱含量与生物量之积) 最高。

关键词: 光强; 黄檗; 小檗碱; 药根碱; 掌叶防己碱

文章编号: 1000-0933 (2009) 04-1655-06 中图分类号: Q948 文献标识码: A

Effects of light intensity on the contents of three main alkaloids in amur corktree seedlings

LI Xia^{1,2}, WANG Yang¹, YAN Xiu-Feng^{1,*}

1 Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotechnology, MOE; College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 School of Life Sciences, Jilin Normal University, Siping 136000, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1655 ~ 1660.

Abstract: Amur corktree (*Phellodendron amurense*), a rare tree species in China, is also a medicinal plant containing berberine, jatrorrhizine and palmatine as its main effective ingredients. In order to examine the impact of light intensity on the contents of the three main effective alkaloids in this plant, we designed different light intensity (100%, 75%, 50% and 25% of full sunlight) to treat the seedlings and determined their contents of berberine, jatrorrhizine, and palmatine. The results showed that full-sunlight treatment was the highest in the three alkaloids content compared with the other weaker light-intensity treatments, while the 75% full-sunlight treatment was highest in biomass production. Therefore the 75% full-sunlight treatment is recommended in terms of the production of the three alkaloids, because it is the highest if we consider biomass and alkaloids contents simultaneously.

Key Words: light intensity; amur corktree (*Phellodendron amurense*); berberine; jatrorrhizine; palmatine

黄檗 (*Phellodendron amurense*) 是我国东北林区的重要阔叶树种, 既为珍贵的用材树种, 也是我国名贵中药黄柏的药源植物, 其内皮 (韧皮部) 入药即关黄柏。小檗碱 (berberine)、药根碱 (jatrorrhizine) 和掌叶防己碱 (棕榈碱, palmatine) 等生物碱是黄檗的主要药用成分。植物次生代谢产物的环境调控近年来颇受人们关注, 也有研究报告光对植物次生代谢过程的影响, 如对银杏中的黄酮苷、高山红景天中的红景天苷、喜树中的喜树碱等次生代谢产物的影响等^[1-6]。前期观测了氮素形态、水分等环境因子对黄檗幼苗主要药用成分的影响^[7-8], 本项工作则探讨光强对黄檗幼苗小檗碱、药根碱及掌叶防己碱含量的影响。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30271045); 黑龙江省杰出青年基金资助项目 (JC-02-11)

收稿日期: 2007-10-18; **修订日期:** 2008-04-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xfyang@mail.hl.cn

1 实验方法

1.1 黄檗幼苗培养与遮荫处理

实验在吉林师范大学温室内进行(北纬 43°9', 东经 124°20', 海拔 169 m), 温室为自然采光。黄檗种子在 0~5℃ 冰箱内沙藏 3 个月后, 播种于温室花盆(土:沙=3:1)中育苗。长出两片子叶后移栽间苗 1 次。5 月中旬将黄檗幼苗移栽于温室苗床, 株、行距均为 20 cm, 缓苗后进行遮荫处理。

遮荫处理分为 4 组, 用遮荫网和纱网调节光强, 以全光照为对照(不遮荫), 设相对光强约为全光照的 75%、50% 和 25% 三个遮荫处理(光强采用 LI-6400 便携式光合作用测定系统的光量子探头测定, 从日出到日落每隔 0.5h 测定 1 次, 由光强-时间曲线积分得全天的总光合有效辐射量进行比较, 处理前选择晴好天气连续监测 3 d), 每处理重复 5 次(5 池)。

1.2 取样与生物碱含量测定

遮荫处理后每隔约 20 d 取样, 取样日期分别为 6 月 28 日、7 月 18 日、8 月 7 日、8 月 27 日、9 月 16 日、10 月 6 日, 共取样 6 次。取样时于 8:00~9:00 在各处理的每个重复池内随机抽取 1 株生长正常的黄檗幼苗, 测量幼苗的株高、茎径(基部), 进一步分为根、茎木质部、茎外皮(指茎木质部以外的所有部分, 因幼苗较小, 只取韧皮部较困难)和叶, 80℃ 烘干至恒重后粉碎、混匀, 用于测定生物碱含量。

小檗碱、药根碱和掌叶防己碱含量按秦彦杰等^[9]方法, 使用美国 Waters 高效液相色谱(2487 紫外检测器)测定。样品以 60% 乙醇超声提取 60 min, 色谱柱为日本 KYA HIQ sil C18 柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈/水溶液(1:1, 1000 ml 溶液中含磷酸二氢钾 3.4 g 及十二烷基磺酸钠 1.7 g), 流速 1.0 ml/min, 进样量 10 μl, 检测波长 345 nm。小檗碱和药根碱标准品购于中国药品生物制品检定所, 掌叶防己碱标准品购于美国 Adrich 公司。

所得数据用 SAS Ver8.1 for Windows 进行统计分析, 多重比较采用 Duncan 法。

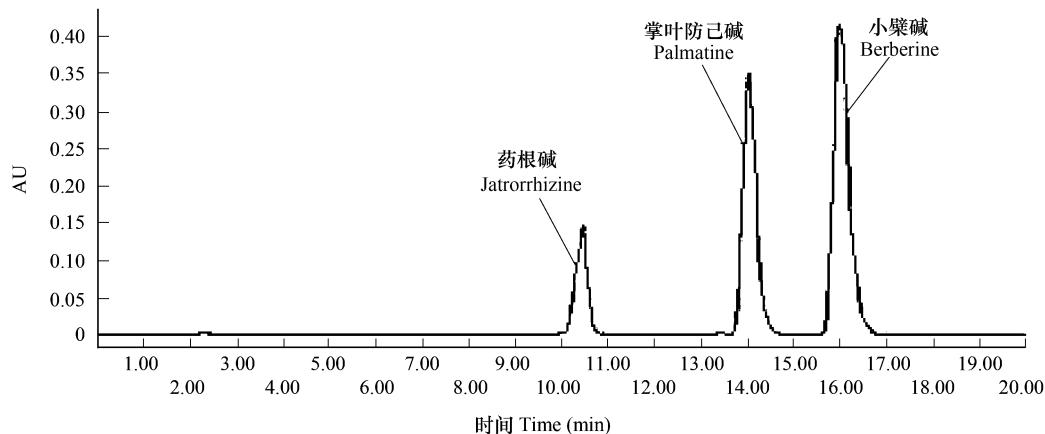


图1 标准品的色谱图

Fig. 1 Chromatograms of standard of Amur Corktree

2 结果与分析

2.1 光强对黄檗幼苗生物量的影响

光强的改变对黄檗幼苗的生物量产生了不同程度的影响, 而这将直接影响生物碱的单株产量, 因此, 有必要分析光强对生物量的影响。在遮荫处理 40d 时, 不同光强下生物量出现了差异, 此时全光照与 75% 光强之间差异不显著, 但两者都显著高于 50% 和 25% 光强下处理。此后, 不同光强之间差异逐渐加大, 75% 光强下的生物量显著高于全光照, 可见, 适当遮荫有利于黄檗幼苗的生长。但过度遮荫则会影响黄檗幼苗的生长, 50% 和 25% 光强下的生物量明显低于对照处理, 且光强越弱, 生物量越低。最后一次取样测定的结果是: 75% 光强下的生物量分别为全光照、50% 和 25% 光强下的 1.31、1.48 倍和 2.35 倍。因此, 对于 1 年生的黄檗

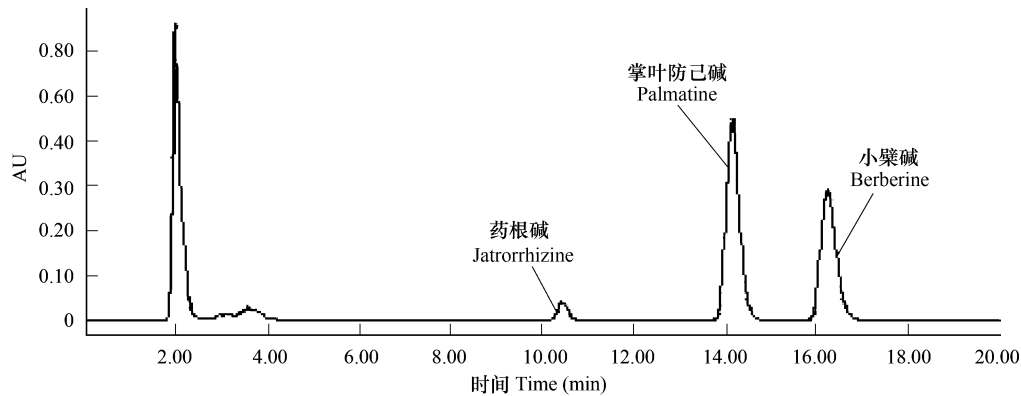


图2 黄檗样品的色谱图

Fig. 2 Chromatograms of sample of Amur Corktree

幼苗,适当遮荫(光强约为全光照的 75%)可以提高生物量(图 3)。

2.2 光强对黄檗幼苗小檗碱含量的影响

在遮荫处理的早期阶段(6月28日~7月18日),茎外皮中小檗碱含量几乎检测不到,此后各处理小檗碱含量逐渐升高,后期(9月16~10月6日)3种遮荫处理小檗碱含量增加的幅度小于全光照。从遮荫处理的60d后,不同处理间的差异逐渐明显,全光照下茎外皮中小檗碱含量高于3种遮荫处理,光强越弱,小檗碱含量越低,最后一次取样测定的结果是:全光照下茎外皮中小檗碱含量分别为75%、50%和25%光强下的1.16、1.53倍和1.76倍(图4-a)。

根中小檗碱含量随生长进程逐渐升高,与茎外皮不同的是在生长后期(10月8日)有下降的趋势(25%光强除外)。遮荫60d以后,光强越弱,小檗碱含量越低,全光照下小檗碱含量均高于3种遮荫处理,最后一次取样测定的结果是:分别为75%、50%和25%光强下的1.14、1.36倍和1.39倍(图4-b)。

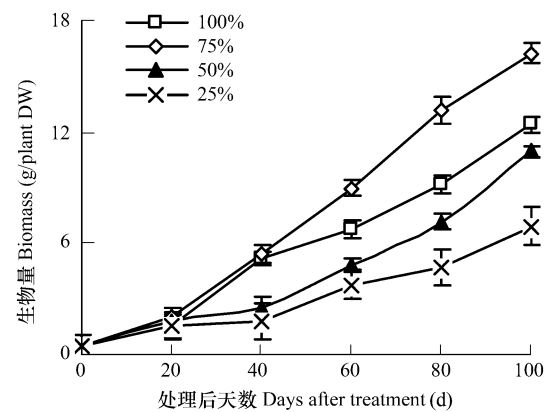


图3 不同光强下黄檗幼苗生物量的变化

Fig. 3 Variation of biomass of amur corktree seedlings under different light intensity

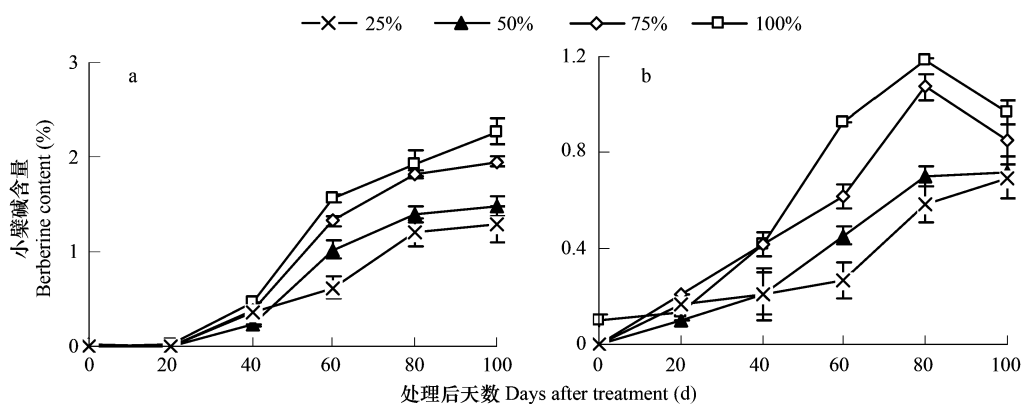


图4 不同光强下黄檗幼苗茎皮(a)和根(b)中小檗碱含量的变化

Fig. 4 Variation of berberine content in the stem cortex (a) and root (b) amur corktree seedlings under different light intensity

总的来看,全光照有利于黄檗幼苗茎外皮和根中小檗碱的合成与积累,光强越弱,小檗碱含量越低。

2.3 光强对黄檗幼苗药根碱含量的影响

在遮荫处理的前 60 d, 茎外皮中药根碱含量的变化趋势与小檗碱相似, 表现为开始含量极低(6 月 28 日~7 月 18 日), 然后升高(8 月 7 日~8 月 27 日)。在遮荫 60 d 后, 全光照和 75% 光强下, 药根碱含量缓慢地略有增加, 50% 光强下在遮荫 80d 后药根碱含量增加变缓, 而 25% 光强下药根碱含量呈持续升高的趋势。全光照下, 茎外皮中的药根碱含量高于遮荫处理, 光强越弱, 药根碱的含量越低, 最后一次取样测定的结果是: 全光照下茎外皮中药根碱含量分别为 75%、50% 和 25% 光强下的 1.10、1.23 倍和 1.43 倍(图 5-a)。

根中药根碱含量的变化趋势与小檗碱相似, 随生长进程逐渐升高, 在生长后期(10 月 8 日)呈下降的趋势)。遮荫 40d 以后, 光强越弱, 小檗碱含量越低, 最后一次取样测定的结果是: 全光照下根中药根碱含量分别为 75%、50% 和 25% 光强下的 1.22、1.34 倍和 1.51 倍(图 5-b)。

总体上, 全光照有利于黄檗幼苗茎外皮和根中药根碱的合成与积累, 光强越弱, 药根碱含量越低。

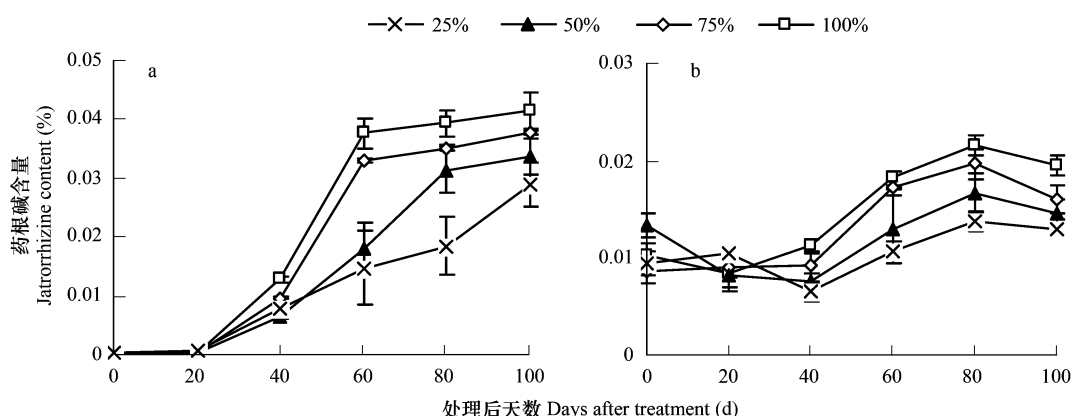


图 5 不同光强下黄檗幼苗茎皮(a)和根(b)药根碱含量的变化

Fig. 5 Variation of jatrorrhizine content in the stem cortex (a) and root (b) amur corktree seedlings under different light intensity

2.4 光强对黄檗幼苗掌叶防己碱含量的影响

在遮荫处理的前 60d, 茎外皮中掌叶防己碱含量与小檗碱和药根碱有相同的变化趋势, 都是开始含量极低(6 月 28 日~7 月 18 日), 然后升高(8 月 7 日~8 月 27 日)。在遮荫 80d 后, 全光照和 75% 光强下掌叶防己碱含量的增加变缓, 50% 和 25% 光强下增加幅度却较大, 这种趋势似乎与药根碱有些相似。遮荫 40d 后, 全光照下, 掌叶防己碱含量高于遮荫处理, 光强越弱, 掌叶防己碱含量越低, 但伴随遮荫时间的延长, 在处理后期差异减小。最后一次取样测定的结果是: 全光照下茎外皮中掌叶防己碱含量分别为 75%、50% 和 25% 光强下的 1.07、1.29 倍和 1.41 倍(图 6-a)。

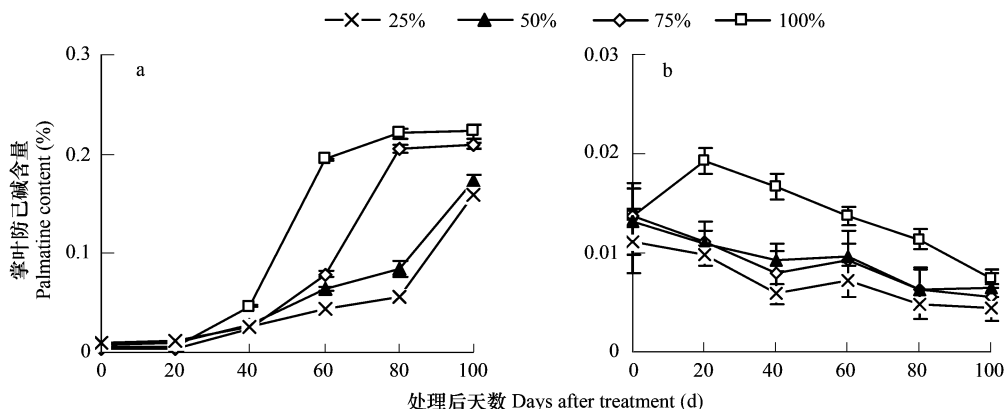


图 6 不同光强下黄檗幼苗茎皮(a)和根(b)掌叶防己碱含量的变化

Fig. 6 Variation of palmatine content in the stem cortex (a) and root (b) amur corktree seedlings under different light intensity

根中掌叶防己碱含量随生育期进程的变化趋势与上述两种生物碱完全不同,全光照下,在 7 月 18 日达到峰值,然后呈平稳的下降趋势。遮荫处理的除在 60d 时略有并不显著的升高外,基本上都是呈下降趋势。全光照的掌叶防己碱含量明显高于遮荫处理,75% 和 50% 两个处理差异不显著,但都略高于 25% 处理,而伴随遮荫处理的延长,全光照与 3 个遮荫处理之间差异逐渐减小。最后一次取样测定的结果是:全光照下茎外皮中掌叶防己碱含量分别为 75%、50% 和 25% 光强下的 1.32、1.14 倍和 1.68 倍(图 6-b)。

从整体上看,全光照有利于黄檗幼苗中掌叶防己碱的合成和积累,遮荫会降低掌叶防己碱的含量,而且这种光强的影响在随处理时间延长而逐渐减小。

2.5 光强对黄檗幼苗 3 种生物碱单株产量的影响

结合 3 种生物碱的含量和黄檗幼苗的生物量,可得到 3 种生物碱的单株产量。全光照、75% 和 50% 处理下,3 种生物碱的总产量随生育期进程都是在 8 月 27 日(60d)后开始上升,25% 光强下是在 9 月 16 日(80d)后,生物碱的产量开始升高。最后一次取样测定表明,尽管全光照下茎外皮和根中 3 种生物碱含量都高于遮荫处理,但由于 75% 光强下生物量最高(图 1),因此,计算结果为 75% 光强下 3 种生物碱总产量最高,但与全光照之间差异不显著,而显著高于 50% 和 25% 两处理。当光强进一步减弱,生物碱产量明显下降(图 7)。

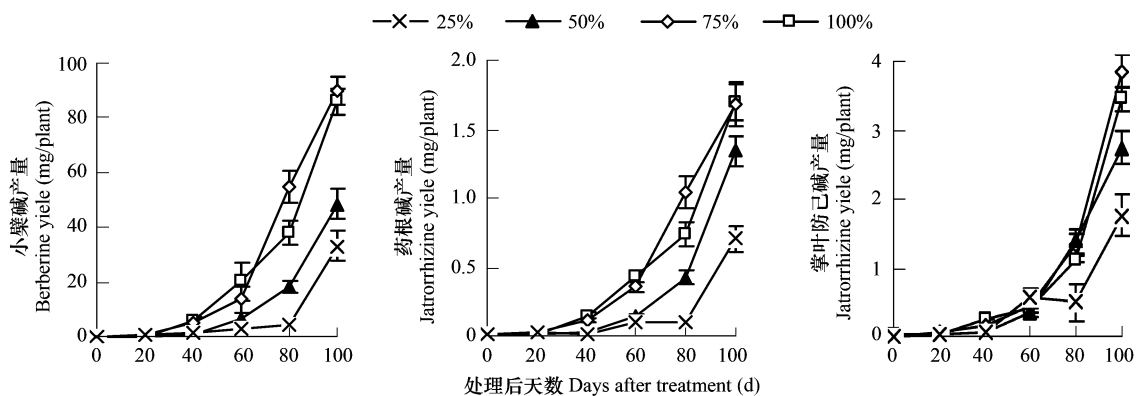


图 7 不同光强下黄檗幼苗 3 种生物碱单株产量的变化

Fig. 7 Variation of total alkaloid yield of amur corktree seedlings under different light intensity

3 结语与讨论

黄檗为阳性树种,成树喜光,多生长在疏林、林缘和山坡的中下部^[10]。对于阳性植物而言,光照不足通常会导致生长受到抑制,表现为生物量减少^[3, 11, 12]。本项研究结果表明,相对于全光照而言,轻度遮荫(相对光强 75%)更有利于黄檗幼苗生物量的积累(处理 100 d 时其生物量为全光照的 130.9%)。可见,充足光照对于黄檗幼苗不是最佳生长条件,黄檗幼苗期的光适应性与成树是有差异的。银杏等阳性树种在幼苗期也有类似现象^[13],由此可见,在黄檗的幼苗期,如果以获得生物量为目的,可适当轻度遮荫(相对光强 75%)。

从光强对喜树碱、红景天甙、黄酮苷和萜类内酯等次生代谢产物影响的报道可以看出^[3~5],次生代谢产物的生物合成和积累过程与光强有很密切的关系。但从光强对其影响的结果来看并不一致,甚至相反。研究结果是,在遮荫处理的 40~60d 后,不同处理间黄檗幼苗茎外皮和根中的小檗碱、药根碱和掌叶防己碱含量逐渐产生差异,总体上是光强的越弱,3 种生物碱的含量越低,全光照最有利于 3 种生物碱的合成和积累。Croteau R 等认为,光合作用的增加能提供较多的次生代谢物前体,同时又抑制了次生代谢物的分解^[14]。但是,从光强对 2 年生的喜树幼苗叶片中喜树碱含量影响的研究来看,光强的减弱有利于叶片中喜树碱的积累。从光强对黄檗幼苗生物量和生物碱积累的影响来看,结果也并不一致,可见光强对生物碱合成的影响并不一定是只是简单的通过初生代谢来实现的。有关光强对生物碱合成影响的机制,还需进一步的实验证实。75% 相对光强下黄檗幼苗中 3 种生物碱的单株产量较高(但与全光照之间差异不显著)。因此,如果以相对光强为全光照的 75% 的光照条件培育黄檗幼苗,既可获得较高的生物量,又可获得较高小檗碱、药根碱和掌叶防己碱的

单株产量。

References:

- [1] Höft M, Verpoorte R, Beck E. Growth and alkaloid contents in leaves of *Tabernaemontana pachysiphon* Stapf (Apocynaceae) as influenced by light intensity, water and nutrient supply. *Oecologia*, 1996, 107: 160—169.
- [2] Liu Z, Carpenter S B, Constantin R J. Camptothecin production in *Camptotheca acuminata* seedlings in response to shading and flooding. *Canadian Journal of Botany*, 1997, 75: 368—373.
- [3] Leng P S, Su S C, Wang T H, *et al.* Effect of light intensity and light quality on photosynthesis, flavonol glycoside and terpene lactone contents of *Ginkgo biloba* L. seedlings. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2002, 11: 1—4.
- [4] Yan X F, Wang Y, Shang X H. Effects of greenhouse light intensity and quality on biomass and salidroside content in roots of *Rhodiola sachalinensis*. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23: 841—849.
- [5] Wang Y, Dai S J, Yan X F. Effects of light intensity on secondary metabolite camptothecin production in leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24: 1118—1122.
- [6] Dai S J, Wang Y, Yan X F, *et al.* Effects of color films on growth and camptothecin content in the leaves of *Camptotheca acuminata* seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(5): 869—875.
- [7] Li Xia, Yan X F, Liu J F. Effect of nitrogen forms on berberine, jatrorrhizine and palmatine content in corktree seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, 25(12): 2159—2164.
- [8] Li Xia, Wang Y, Yan X F. Effects of water stress on berberine, jatrorrhizine and palmatine contents in amur corktree seedlings. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(1): 58—64.
- [9] Qin Y J, Zhang Y H, Wang Y, *et al.* Determination of alkaloids content in *Phellodendron amurense* Rupr. by HPLC. *Chemistry and Industry of Forest Products*, 2004, 24(Supp.): 115—118.
- [10] The Editorial Board of Forest in China. *Forest in China* (Vol. 3). Beijing: China Forestry Publishing House, 2000. 1394—1397.
- [11] Hiroki S, Ichino K. Comparison of growth habits under various light conditions between two climax species, *Castanopsis sieboldii* and *Castanopsis cuspidata*, with special reference to their shade tolerance. *Ecological Research*, 1998, 13(1): 65—72.
- [12] Li B, Shibuya T, Yogo Y, *et al.* Effects of light quantity and quality on growth and reproduction of a clonal sedge, *Cyperas esculentus*. *Plant Species Biology*, 2001, 16(1): 69—81.
- [13] Stuefer J F, Huber H. Differential effects of light quantity and spectral light quality on growth, morphology and development of two *Stoloniferous Potentilla* species. *Oecologia*, 1998, 117: 1—8.
- [14] Croteau R, Burbott A J, Loomis W D. Apparent energy deficiency in mono2 and sesquiterpene biosynthesis in peppermint. *Phytochemistry*, 1972, 1: 2937—2948.

参考文献:

- [3] 冷平生, 苏淑钗, 王天华, 等. 光强与光质对银杏光合作用及黄酮苷与萜类内酯含量的影响. *植物资源与环境学报*, 2002, 11: 1~4.
- [4] 阎秀峰, 王洋, 尚辛亥. 温室栽培光强和光质对高山红景天生物量和红景天甙含量的影响. *生态学报*, 2003, 23(5): 841~849.
- [5] 王洋, 戴绍军, 阎秀峰. 光强对喜树幼苗叶片次生代谢产物喜树碱的影响. *生态学报*, 2004, 24: 1118~1122.
- [6] 戴绍军, 王洋, 阎秀峰, 等. 滤光膜对喜树幼苗叶片生长和喜树碱含量的影响. *生态学报*, 2004, 24(5): 869~875.
- [7] 李霞, 阎秀峰, 刘剑锋. 氮素形态对黄檗幼苗三种生物碱含量的影响. *生态学报*, 2005, 25: 2159~2164.
- [8] 李霞, 王洋, 阎秀峰. 水分胁迫对黄檗幼苗三种生物碱含量的影响. *生态学报*, 2007, 27(1): 58~64.
- [9] 秦彦杰, 张玉红, 王洋, 等. 黄檗中生物碱含量的高效液相色谱分析. *林产化学与工业*, 2004, 24(增刊): 115~118.
- [10] 中国森林编辑委员会. *中国森林* (第三卷). 北京: 中国林业出版社, 1999. 1394~1397.