

## 四倍体黄芩 D20 生理指标与产量间关系

柴俊雯<sup>1</sup>, 郭柳<sup>1</sup>, 陈红刚<sup>1</sup>, 杜弢<sup>1,2</sup>, 连中学<sup>3\*</sup>

- (1. 甘肃中医药大学药学院, 兰州 730000;
2. 甘肃中医药大学药用植物遗传育种研究所, 兰州 730000;
3. 渭源县农业技术指导站, 甘肃定西 748200)

**[摘要]** 目的:通过对四倍体黄芩 D20 新品系与普通二倍体黄芩生理生化指标、光合效能及产量间关系的分析研究,为进一步开发利用四倍体黄芩新品系 D20 提供理论依据。方法:采用常规方法进行相关酶活性及丙二醛(MDA)、可溶性糖含量等生理生化指标的测定;使用 LI-6400/XT 型便携式光合测量系统测定光合指标;产量测定采用单因素完全随机区组设计,共设 3 次重复,小区面积 6 m<sup>2</sup> (3 m × 2 m),各小区移栽 10 行,行距 20 cm,株距 5 cm。结果:四倍体黄芩叶片中超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),过氧化氢酶(CAT)等酶活性均显著高于二倍体,分别高出 28%, 2%, 17%,除 POD 以外,差异均达到显著水平( $P < 0.05$ );可溶性糖含量则高出二倍体 19%,MDA 含量显著低于二倍体黄芩,说明四倍体黄芩有较高的抗氧化能力;田间试验表明四倍体黄芩及二倍体黄芩根长度并无显著差异,平均都可达 34 cm,四倍体黄芩根粗亦不及二倍体,但其侧根数多于二倍体,最高可达 8 个,单根质量及总产量亦高于二倍体,增产量可达 31.4%。结论:四倍体黄芩 D20 新品系由于染色体的加倍,使得植株生长势、抗逆性增强,保护植株少受病虫害侵害,从而间接影响药材最终产量的增加;四倍体黄芩光合能力的增强可增加植株干物质的积累,而植物干物质的积累直接影响其产量。这一特性对药用植物具有特殊的应用价值和较高的增产潜力。

**[关键词]** 黄芩; 四倍体; 生理生化; 光合特性; 产量

**[中图分类号]** R282; R931; P968; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)04-0051-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2018040051

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171127.0904.012.html>

**[网络出版时间]** 2017-11-27 9:04

### Relationship Between Physiological Index and Yield of Tetraploid *Scutellariae baicalensis*

CHAI Jun-wen<sup>1</sup>, GUO Liu<sup>1</sup>, CHEN Hong-gang<sup>1</sup>, DU Tao<sup>1,2</sup>, LIAN Zhong-xue<sup>3\*</sup>

(1. School of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China;

2. Institute of Genetic Breeding for Medicinal Plants, Gansu University of Chinese Medicine,

Lanzhou 730000, China; 3. Weiyuan County Agricultural Technical Guidance Station, Dingxi 748200, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the relationship between physiological indexes, photosynthetic efficiency and yield of tetraploid *Scutellaria baicalensis*, in order to provide the theoretical basis for further development and utilization of tetraploid *Scutellariae* series D20. **Method:** The physiological and biochemical indexes were detected by routine methods; photosynthetic indexes were determined using LI-6400/XT portable photosynthesis measuring system; yield measurement was made by the single-factor completely randomized block design and repeated for 3 times in total; residential area covered 6 square meters (3 m × 2 m), with 10 transplanting lines in each area, line spacing of 20 cm and row spacing of 5 cm. **Result:** SOD and POD in tetraploid leaves of *S. baicalensis* and CAT enzyme activity were significantly higher by 28%, 2% and 17% than those of diploid leaves, with significant

**[收稿日期]** 20170808(003)

**[基金项目]** 甘肃省中药产业科技攻关项目(GYC12-05);国家基本药物所需中药材种子种苗繁育基地建设项目([2013]41)

**[第一作者]** 柴俊雯,在读硕士,从事中药材遗传育种研究,E-mail:gszycjw2017@163.com

**[通信作者]** \*连中学,高级农艺师,从事农作物新品种试验示范及种子管理工作,E-mail:renliang604@sina.com

difference except for POD ( $P < 0.05$ ); soluble sugar content was higher by 19% than that of diploid leaves, MDA content was significantly lower than that of diploid leaves, indicating a higher antioxidant ability in tetraploid *Scutellariae Radix*. The field trial showed significant differences between the lengths of tetraploid and diploid *S. scutellaria* roots, with an average of up to 34 cm, the root diameter of tetraploid *Scutellariae Radix* was less than that of diploid, but with more branch roots than diploid, which were up to 8 at most, and the single root weight and total yield were also higher than those of diploid, with the increase of production of up to 31.4%. **Conclusion:** Because of chromosome doubling, tetraploid of *S. baicalensis* showed enhanced growth and resistance against plant diseases and pests, which therefore indirectly affected the increase of yield of medicinal herbs. The enhanced photosynthetic capacity of tetraploid *S. baicalensis* could increase the accumulation of dry substances of plants, which directly affected its yield. This characteristic has a special application value and higher potential for increasing yield for medicinal plants.

[ **Key words** ] *Scutellaria baicalensis*; tetraploid; physiological indicator; photosynthetic characteristic; yield

黄芩为唇形科多年生草本植物,其根为常用大宗中药材,具有清热燥湿、泻火解毒、止血安胎等功效,临床常用于治疗泻痢、黄疸、胎动不安等<sup>[1]</sup>。黄芩作为临床常用中药材之一,近年来的市场需求在不断加大。目前我国所用黄芩药材主要以人工栽培为主,但是随着长期的人工栽培,品种退化、栽培技术体系不完善、药材品质下降等多种弊端日益显现,制约了黄芩的大面积生产,因此选育高产优质的黄芩新品种显得尤为紧迫<sup>[2-3]</sup>。中国药科大学高山林教授等研究发现将带有绿色芽点的黄芩愈伤组织经 0.2% 秋水仙素溶液浸泡后进行培养,四倍体黄芩诱导率可达 40%,再通过显微观察试管苗根尖染色体,鉴定得到 50 多个黄芩同源四倍体,进一步选育出了高产优质的四倍体黄芩新品系 D20(以下简称四倍体黄芩)<sup>[4]</sup>。甘肃中医药大学与甘肃神农文峰药业有限公司于 2006 年将四倍体黄芩新品系 D20 引入甘肃省,以二倍体黄芩为对照,对四倍体黄芩进行了一系列研究。从植物学特征来看,四倍体黄芩株型紧凑,叶片大而厚,生长旺盛;田间表现耐寒、耐旱、适应性广、抗病性强、产量高;中药鉴定学研究表明,四倍体黄芩的水分、灰分、浸出物的含量优于二倍体黄芩,所测指标均达到 2015 年版《中国药典》标准。在化学方面,四倍体黄芩中的黄芩苷含量高于二倍体黄芩,其质量分数在 13.14% ~ 17.27%,高于 2015 年版《中国药典》<sup>[5-8]</sup>。药理作用研究表明,四倍体黄芩抗炎作用与二倍体黄芩相当,在抑制二甲苯导致小鼠耳廓肿胀和降低小鼠腹腔毛细血管通透性方面优于二倍体黄芩<sup>[9]</sup>;四倍体黄芩和二倍体黄芩水煎液止血作用无显著差异,而炭品的止血效果显著优于同品种生品<sup>[10]</sup>;四倍体黄芩和二倍体黄芩均有清热燥湿作

用,二者清热燥湿作用无显著差异<sup>[11]</sup>。

本试验在前期研究的基础上,通过对四倍体黄芩新品系 D20 与甘肃产二倍体黄芩生理生化指标、光合效能及产量间关系进行比较,综合分析,进一步为四倍体黄芩新品系 D20 的合理开发和利用提供依据。

## 1 材料

四倍体黄芩新品系 D20 由甘肃中医药大学药用植物遗传育种研究所与甘肃神农文峰药业有限公司联合引进,在甘肃渭源进行大田种植,后移栽至甘肃中医药大学和政药用植物园种质资源圃。试验所用二倍体黄芩为栽培二年生实生苗,四倍体黄芩为扦插繁殖二年生的四倍体黄芩苗,均由甘肃中医药大学和政药用植物园资源圃提供,经甘肃中医药大学杜弢教授鉴定为唇形科多年生草本植物黄芩 *Scutellaria baicalensis*。试验均设 3 次重复,选取健康、无病虫害植株作为材料。

Leb Tech 型紫外分光光度计(北京莱伯泰科仪器有限公司),LI-6400/XT 型便携式光合作用测量仪,XB224 型 1/1 万电子天平(上海精科天美科学仪器有限公司),BX7200HP 型超声波清洗器(上海新苗医疗器械制造有限公司),HH-4 型数显恒温水浴锅(江苏金坛市荣华仪器制造有限公司)。

## 2 方法

**2.1 生理生化指标的测定** 随机选取二倍体及四倍体黄芩健康植株各 10 株,每株取中部侧枝的中间叶片 5 片,酶活性测定时将所取叶片用蒸馏水冲洗干净,剪碎混匀,精确称取 0.5 g 置于研钵中,加入磷酸缓冲液(pH 8.5)3 mL,研磨成匀浆,以设定转速 4 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min,上清液即为提取酶液,

置于 5 ℃ 下保存备用。超氧化物歧化酶(SOD)活性采用 NBT 光还原比色法测定,以抑制光还原 50% 为 1 个酶活性单位;过氧化氢酶(CAT)活性采用紫外吸收方法测定,以每分钟内样品吸光度减少 0.1 为 1 个酶活单位;过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定,以每分钟内样品吸光度变化 0.01 为 1 个酶活性单位;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定<sup>[12-13]</sup>。

可溶性糖含量测定采用传统的苯酚法,测定时称取各样品叶片 0.4 g,放入 25 mL 具塞刻度试管中,加入蒸馏水 20 mL,塑料薄膜封口,于沸水中提取 30 min,提取液过滤至 25 mL 量瓶中,反复冲洗试管及残渣,定容至刻度。测定过程参考文献[12]方法进行。

**2.2 光合指标的测定** 使用 LI-6400/XT 型便携式光合作用测量系统测定二倍体黄芩及四倍体黄芩的叶片光合指标,测定指标主要包括叶片净光合速率(Pn),气孔导度(Gs),蒸腾速率(Tr),胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci),水分利用率(WUE = Pn/Tr)等光合特性指标,测定时夹入叶片,确保不漏气后进行匹配,参数在正常范围内(Cond > 0, Ci > 0, Tr > 0)时开始记录数据,每个叶片记录 10 次,取平均值<sup>[14-15]</sup>。

表 1 四倍体黄芩与二倍体黄芩生理指标的比较( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Comparison of physiological indexes between tetraploid and diploid *Scutellaria baicalensis* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品	SOD/U·g <sup>-1</sup>	POD/U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup>	CAT/U·g <sup>-1</sup> ·min <sup>-1</sup>	MDA/μmol·g <sup>-1</sup>	可溶性糖/mg·g <sup>-1</sup>
四倍体	253.5 ± 4.18 <sup>a</sup>	502.3 ± 7.09 <sup>a</sup>	1 225.6 ± 5.98 <sup>a</sup>	0.030 ± 0.006 <sup>b</sup>	2.14 ± 0.07 <sup>a</sup>
二倍体	197.9 ± 4.83 <sup>b</sup>	493.4 ± 5.13 <sup>a</sup>	1 052.3 ± 6.95 <sup>b</sup>	0.044 ± 0.005 <sup>a</sup>	1.80 ± 0.03 <sup>b</sup>

注:同列不同小写字母表示具有显著性差异(P < 0.05)。表 2,3 同。

**3.2 光合效能分析** 四倍体黄芩及二倍体黄芩植株光合指标测定结果见表 2。结果表明,四倍体黄芩各光合指标均高于二倍体黄芩,除水分利用率

**2.3 产量测定田间试验** 在甘肃省渭源县清源镇实施,试验地海拔 2 080 m。试验地前作为小麦,前作收后秋耕一次,土壤肥力均一致。供试材料为普通二倍体黄芩苗、四倍体黄芩 D20 苗。试验采用单因素完全随机区组设计,设 3 次重复,小区面积 6 m<sup>2</sup> (3 m × 2 m),每小区移栽 10 行,行距 20 cm,株距 5 cm。施肥种类、施肥量和田间管理措施均同产区常规种植,2015 年 4 月 4 日人工开沟移栽,于 11 月中旬采挖根部,去掉残茎、杂草及其泥土杂质,随机抽取植株 20 株,分别观测其根部形态特征并称鲜重以统计产量。

### 3 结果与分析

**3.1 生理生化指标的测定** 四倍体及二倍体黄芩植株生理指标测定结果见表 1。从表 1 可以看出,黄芩四倍体叶片中 SOD,POD,CAT 等酶活性均显著高于二倍体,分别高出 28%,2%,17%,除 POD 以外,差异均达到显著水平(P < 0.05);MDA 含量显著低于二倍体黄芩,而可溶性糖含量显著高于二倍体(P < 0.05),可溶性糖含量越高可更好地保护系统酶类。MDA 的积累能对膜和细胞造成进一步的伤害,四倍体黄芩植株叶片中相应酶活性和物质含量的增加,使 MDA 含量维持在较低水平。

外,差异均达到显著水平(P < 0.05)。说明四倍体黄芩的光合能力及物质利用转化能力均优于二倍体黄芩。

表 2 黄芩二倍体与四倍体黄芩光合效能分析( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 2 Photosynthetic efficiency analysis of tetraploid and diploid *Scutellaria baicalensis* ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

样品	净光合速率	气孔导度	胞间 CO <sub>2</sub> 浓度	蒸腾速率	水分利用率
四倍体	7.53 ± 0.25 <sup>a</sup>	0.18 ± 0.008 <sup>a</sup>	266.04 ± 3.17 <sup>a</sup>	3 180 ± 60 <sup>a</sup>	2.68 ± 0.47 <sup>a</sup>
二倍体	6.04 ± 1.10 <sup>b</sup>	0.10 ± 0.003 <sup>b</sup>	159.82 ± 18.05 <sup>b</sup>	2 260 ± 160 <sup>b</sup>	2.37 ± 0.13 <sup>a</sup>

**3.3 产量测定** 产量对比试验结果见表 3,四倍体黄芩单根产量及单位面积产量均高于二倍体,总产量增加约 31.4%。本试验所测黄芩根长普遍较长,可能与试验地 2015 年 7 月份以后受连续干旱天气影响有关。

黄芩根部性状见图 1。四倍体黄芩根长 19 ~ 32 cm,侧根分枝较多,最多可达 8 个;单根呈长圆柱形,表皮浅黄色,土黄色,质重坚硬,易折断,断面浅黄棕色;二倍体黄芩平均根长 20 ~ 34.52 cm,侧根数较少,直至根部下端才有分枝,表面棕黄色或浅黄

表 3 黄芩二倍体及四倍体 D20 产量比较

Table 3 Comparison of yield between tetraploid and diploid *Scutellaria baicalensis*

品种	小区产量		单根产量/g	每公顷折合产量/kg	对比值/%
	平均值/kg	单位面积/kg·m <sup>-2</sup>			
四倍体	6.87	1.13	29.10	753.30	131.40
二倍体	5.10	0.86	25.40	573.30	

棕色,断面黄色。分析结果见表 4,四倍体黄芩及二倍体黄芩根长度并无显著差异,四倍体黄芩根粗亦不及二倍体,因此可初步推测其产量的增加来自两者侧根数的显著差异( $P < 0.05$ )。

#### 4 讨论

前期大量研究表明,多倍体植株由于染色体的加倍,使其体内一些酶活性增强,生理指标发生变化,这些生理指标常用于评价植物抗逆性的强弱。例如植物体内 SOD, POD, CAT 等酶是膜保护系统的

表 4 黄芩二倍体与四倍体黄芩根部性状分析( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

Table 4 Analysis of root characters of tetraploid and diploid *Scutellaria baicalensis* ( $\bar{x} \pm s, n = 20$ )

材料	根长/cm	根粗/mm	侧根数	根皮表面	断面
四倍体	34.33 ± 10.60 <sup>a</sup>	4.53 ± 1.03 <sup>b</sup>	7.0 ± 1.51 <sup>b</sup>	浅黄色	浅黄棕色
二倍体	34.42 ± 6.70 <sup>a</sup>	5.85 ± 1.35 <sup>a</sup>	5.0 ± 2.23 <sup>a</sup>	棕黄色	黄色

组成部分,它们能够保护膜结构,减轻有毒物质对活细胞的毒害,从而使植物忍耐、抵抗逆境胁迫的能力增强;而 MDA 是膜脂过氧化的主要产物之一,MDA 含量越高,表明细胞过氧化程度越严重<sup>[16]</sup>。可溶性糖是很多植物主要的渗透调节剂,在细胞内起保护酶类的作用<sup>[17]</sup>。有研究发现盾叶薯蓣、西瓜、大蒜等植物其四倍体植株体内相应酶活性均高于二倍体,而 MDA 含量则相反<sup>[18-20]</sup>。本实验结果表明,四倍体黄芩叶片的 SOD, POD, CAT 活性及可溶性糖含量均高于二倍体,这说明四倍体黄芩植株清除体内过氧化物能力强,能更强地抵御衰老、疾病等不良环境的影响,比二倍体具有更强的生长优势和抗逆性。另外四倍体黄芩 MDA 含量显著低于二倍体,MDA 的积累能对膜和细胞造成进一步的伤害,这是由于四倍体较高的抗氧化酶活性使 MDA 含量维持在较低的水平,与文献报道结论基本一致。但是多倍体染色体数量增加与植物体内生理生化指标活性的直接关系还需进一步的研究。

光合作用是植物生长发育和产量形成的基础,研究植物的光合特性,有利于了解植物对光能的利



A



B

A. 四倍体; B. 二倍体

图 1 二倍体及四倍体黄芩根部性状

Fig. 1 Root characters of diploid and tetraploid *Scutellaria baicalensis*

用效率,阐明植物光合的生态学特征。有研究报道<sup>[21-22]</sup>,二倍体水稻植株净光合速率比单倍体高,四倍体又比二倍体高,净光合速率随着染色体的倍性增加而提高;四倍体头花蓼净光合速率明显高于二倍体。本实验通过对四倍体黄芩及其二倍体植株各光合指标的比较研究发现,四倍体黄芩各光合指标均优于二倍体,说明四倍体黄芩无论在干物质积累能力、植物抗性等诸多方面均有一定的优势。此结果与前人研究结果一致。而植物多倍体光合特性的增强是否与植物倍性的增加有直接关系还需进一步深入研究。

黄芩以根入药,因此根部农艺性状和根部有效成分的含量成为衡量多倍体优良品种的重要标准。田间试验结果表明,四倍体黄芩植株根长及根粗与二倍体根相差不多,但其侧根数多于二倍体,单根重及总产量高于二倍体,产量可增产达 31.4%,可初步推测四倍体黄芩产量的增加与其侧根数的多少有关。另外本研究四倍体黄芩增产百分比低于前期研究结果<sup>[5]</sup>,这是由于试验地于 2015 年 7 月份以后遭受连续干旱天气,影响了总体产量。

综上所述可以看出,四倍体黄芩 D20 新品系由于染色体的加倍,使得植株生长、抗逆性增强,保护植株少受病虫害侵害,从而间接影响药材最终产量的增加;四倍体黄芩光合能力的增强可增加植株干物质的积累,而植物干物质的积累直接影响其产量。因此可以看出多倍体这一特性对药用植物具有特殊的应用价值和较高的增产潜力。未来研究药用植物倍性增加对中药外观性状及内在品质的综合影响,有望在中药野生资源匮乏及栽培品质量下降的形势下为中药材的进一步发展谋求机遇。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:344-345.

[2] 李欣,黄璐琦,邵爱娟,等. 黄芩种质资源的研究概况[J]. 世界科学技术—中医药现代化,2003,5(6): 54-58.

[3] 陈红刚,张延红,王惠珍,等. 四倍体黄芩 D20 组织培养与快速扩繁[J]. 山西农业科学,2012,40(1): 11-12.

[4] 陈柏君,高山林,卞云云,等. 黄芩组织培养同源四倍体的诱导[J]. 植物资源与环境学报,2000,9(1): 10-12.

[5] 杜弢,林丽,雍思龙,等. 四倍体黄芩 D20 引种实验报告[J]. 中药材,2008,31(4): 479-481.

[6] 朱丹妮,高山林,陈柏君,等. 黄芩同源四倍体株系中黄芩苷含量的比较[J]. 药物生物技术,2001,8(6): 313-316.

[7] 高山林,刘峻,谢小群,等. 高效毛细管电泳法测定黄芩多倍体株系中黄芩苷的含量[J]. 药物生物技术,2002,9(6): 349-352.

[8] 高山林,刘蓁,朱丹妮,等. MEKC 法和 HPLC 法测定黄芩多倍体中黄芩苷含量的研究[J]. 中草药,2003,34(6): 34-36.

[9] 杜弢,李少海,颜建胜,等. 四倍体黄芩新品系 D20 与甘肃地产二倍体黄芩的抗炎作用比较[J]. 中药药理与临床,2014,30(2): 107-110.

[10] 杨志军,杨秀娟,耿广琴,等. 甘肃产四倍体黄芩与二倍体黄芩止血作用的比较[J]. 中国现代应用药学,2015,32(10): 1184-1188.

[11] 杨志军,张金保,杨秀娟,等. 甘肃地产四倍体黄芩与二倍体黄芩清热燥湿作用比较研究[J]. 中国中医药信息杂志,2016,23(12): 73-77.

[12] 张治安,张美善,蔚荣海,等. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2004:78.

[13] 曹伍林,付晓莹,孟祥才,等. 秋季全光照及水杨酸对人参叶片生理光合特性及人参皂苷类成分含量的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(1):72-77.

[14] 荔淑楠,王引权,温随超,等. 钾素营养水平对当归光合生理的影响[J]. 中国现代中药,2016,18(4): 462-496.

[15] 连中学,陈红刚,杜弢. 不同品种当归的叶绿素含量及光合效能分析[J]. 中国中医药科技,2017,24(2): 180-182.

[16] Albert H M. Chilling injury: A review of possible causes [J]. Hortscience,1986,21(6):1329-1333.

[17] 盖玉红,牛陆,董宝池,等. 不同浓度盐、碱胁迫对野生大豆光合特性和生理生化特性的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(5):89-93.

[18] 蒋道松,梁曾恩妮,李玲. 二倍体与四倍体盾叶薯蓣叶片叶绿素和过氧化物酶及过氧化氢酶的比较[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2006,32(5): 491-493.

[19] 刘文革,王鸣,阎志红. 不同倍性蜜柚西瓜幼苗在低温胁迫下的生理生化特性[J]. 果树学报,2003,20(1):44-48.

[20] 于文艳,刘世琦,梁庆玲,等. 大蒜二倍体与四倍体生长和生理指标的比较研究[J]. 山东农业科学,2008(2):42-44,65.

[21] 傅亚萍,颜红岚,李玲方,等. 不同染色体倍性水稻植株光合特性的研究[J]. 中国水稻科学,1999,13(3): 157-160.

[22] 尹艳,党伯岳,刘世会,等. 头花蓼四倍体光合特性分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(13):50-54.

[责任编辑 顾雪竹]