

# 不同生境对粗毛淫羊藿光合色素与次生代谢物质的影响分析

熊厚溪<sup>1</sup>, 周涛<sup>1\*</sup>, 刘光海<sup>2</sup>, 郭兰萍<sup>3</sup>, 张小波<sup>3</sup>, 陈传艺<sup>1</sup>, 肖承鸿<sup>1</sup>

(1. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 2. 黔东南州中医医院, 贵州 凯里 556000;  
3. 中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 分析粗毛淫羊藿植物在不同生境中光合色素和次生代谢物质的含量差异, 探讨生境对药用植物生长与代谢的影响程度。方法: 依据光照度与草本重要值将分布区划分为 4 种生境, 设置样方采样。采用 UV, HPLC 检测各生境下植株叶中的叶绿素(a, b)、类胡萝卜素与总黄酮、淫羊藿苷的含量, 运用 SPSS 17.0 软件比较分析。结果: 在林缘旷地生境中植株叶绿素 a(1.90 mg·g<sup>-1</sup>)、叶绿素 b(0.66 mg·g<sup>-1</sup>) 和类胡萝卜素(0.43 mg·g<sup>-1</sup>) 的含量最低, 淫羊藿苷(0.36%)、总黄酮(9.13%) 含量最高, 相关性分析显示这 2 类物质呈显著负相关( $P < 0.01$ )。而灌木林、杂草丛、河谷沟渠生境中植株的光合色素、次生代谢物含量差异不显著。结论: 在林缘旷地强光胁迫生境中, 粗毛淫羊藿植物叶中总叶绿素和类胡萝卜素合成下降, 植物生长不良, 但次生代谢物质积累增加, 表明该植物有明显的逆境效应。

**[关键词]** 粗毛淫羊藿; 生境; 光合色素; 次生代谢物质

**[中图分类号]** R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0167-04

**[doi]** 10.11653/syjf2013170167

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130625.1021.009.html>

**[网络出版时间]** 2013-06-25 10:21

## Effect of Different Habitats on Contents of Photosynthetic Pigments and Secondary Metabolites of *Epimedium acuminatum*

XIONG Hou-xi<sup>1</sup>, ZHOU Tao<sup>1\*</sup>, LIU Guang-hai<sup>2</sup>, GUO Lan-ping<sup>3</sup>,  
ZHANG Xiao-bo<sup>3</sup>, CHEN Chuan-yi<sup>1</sup>, XIAO Cheng-hong<sup>1</sup>

(1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China;

2. Qiandongnan Prefecture Hospital of Traditional Chinese Medicine, Kaili 556000, China;

3. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** The contents of photosynthetic pigments and secondary metabolites were analyzed in different habitats to explore the influence of growth and metabolism of *Epimedium acuminatum*. **Method:** The quadrat was divided into four habitats according to the illuminance and herb important value. The contents of chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoids, total flavonoids and icariin were determined by UV method and HPLC method of *E. acuminatum* leaves. The data were analyzed by the SPSS 17.0. **Result:** Chlorophyll a (1.90 mg·g<sup>-1</sup>), chlorophyll b (0.66 mg·g<sup>-1</sup>) and carotenoids (0.43 mg·g<sup>-1</sup>) were the lowest. And the contents of icariin and total flavonoid were the highest in the forest edge wilderness. Correlation analysis showed that photosynthetic pigments and secondary metabolites had significant negative correlation ( $P < 0.01$ ). However, the contents of photosynthetic pigments and secondary metabolites in *E. acuminatum* leaves had no significant difference in the

**[收稿日期]** 20130130(014)

**[基金项目]** 国家科技支撑项目(09BA1744B02-01);贵阳市科技创新公共技术平台建设项目([2010]筑科合同字第3-2号);贵阳中医学院研究生教育创新计划(ZYYCX11035);中国中医科学院中药研究所重点学科联合项目(2011ZDXK-01)

**[第一作者]** 熊厚溪,在读硕士,从事药用植物栽培与利用研究,Tel:13628510806,E-mail:xiong948948@163.com

**[通讯作者]** \*周涛,教授,从事中药资源的调查、整理研究,Tel:0851-5622506,E-mail:taozhou88@163.com

bushes habitat, weeds habitat and valley ditch habitat. **Conclusion:** The synthesis of chlorophyll and carotenoids declined, resulting in poor growth, but the accumulation of secondary metabolites increased in the forest edge wilderness. The above shows that the plant of *E. acuminatum* has an obvious stress-effects.

[ **Key words** ] *Epimedium acuminatum*; different habitats; photosynthetic pigments; secondary metabolites

大量研究表明,植物的生存环境并不总是适宜的,在生长发育过程中经常受到各种环境影响。为适应生境,植物会从器官、细胞、基因水平等层面作出一系列的生理反应,相应在形态结构、生理生化、渗透调节、植物激素水平、膜保护物质及活性氧平衡、逆境蛋白形成等诸多环节发生变化<sup>[1]</sup>。其变化涉及到植物水分、光合、呼吸、物质代谢等生理过程<sup>[2-5]</sup>。探讨不同生境下植物生理、代谢物质的分布格局及其关系,了解该植物生长发育受生境影响的程度以及是否存在因环境胁迫而产生“逆境效应”,对于通过生境信息预测药材质量,指导中药材的异地栽培具有很好的现实意义。

粗毛淫羊藿 *Epimedium acuminatum* Franch. 为小檗科多年生草本植物,是贵州淫羊藿药材的地区性品种来源之一<sup>[6]</sup>。作者前期通过对粗毛淫羊藿不同部位、不同生境中次生代谢物质的含量分布和积累变化分析<sup>[7]</sup>,发现其中的淫羊藿苷、总黄酮具有器官分布的差异性和生境的选择性,表现为代谢物质在叶部器官积累最高,茎中积累最低,在林缘旷地强光生境下的含量高于荫蔽生境下。本文通过综合考察不同生境中粗毛淫羊藿叶部光合色素与次生代谢物质积累的含量,分析在不同生境中,植物光合色素、代谢物质的变化水平及其相关性,这对于进一步开展环境因子对药用植物生长发育与次生代谢物质平衡影响的研究奠定基础。

## 1 材料与方 法

**1.1 研究地区** 贵阳市乌当区地处黔中腹地,位于东经 106°30' ~ 107°03',北纬 26°33' ~ 26°55',海拔 1 100 ~ 1 400 m。亚热带高原湿润性季风气候,年均温 14.6 °C,年均日照时数 1 205.8 h,年均降水量 1 188 mm,年无霜期 288 d。境内土壤以酸性黄壤为主,与石灰岩、白云岩、砂岩、页岩等交错分布。地带性植被为中亚热带湿润性常绿阔叶林,以壳斗科、樟科、山茶科植物为主。

**1.2 样方设置与样品采集** 在前期完成粗毛淫羊藿群落调查基础上,2011 年 8 ~ 10 月药材采收期,多云或晴天上午 10 点至下午 3 点,于黔中贵阳市乌当区的自然分布区设定样方,每个样方面积 1 ~ 2 m<sup>2</sup>。

记录每个样方所处群落中灌木、草本植物的数量与分布,通过评估重要值划分样方中粗毛淫羊藿的生境;挖取样方中的全部成年粗毛淫羊藿植株带回实验室,按文献[8-9]划分年龄,取同一样方中 6 ~ 8 龄成熟植株叶部器官,混合,50 °C 干燥,粉碎,备用。共获 38 个样方的混合单株样品。样品的凭证标本经贵阳中医学院生药教研室江维克教授鉴定。

## 1.3 方 法

**1.3.1 光合色素的测定** 依据《植物生理生化实验原理和技术》<sup>[10]</sup>。80% 丙酮提取样品,紫外-可见分光光度计(澳大利亚照生公司 GBC Cintra 20)测定提取液在 470,645,663 nm 波长下的吸光度,计算得叶绿素 a, b(Chl a, Chl b)、总叶绿素(Chl)、类胡萝卜素(Car)的含量及叶绿素 a/b(Chl a/b)、类胡萝卜素/总叶绿素(Car/Chl)的比值。

**1.3.2 淫羊藿苷含量测定** 依据《中国药典》(2010 年版)一部<sup>[11]</sup>。精密称定样品粉末(过三号筛)约 0.5 g,加入稀乙醇 25 mL,超声处理 1 h,得供试品。高效液相色谱法测定供试品中淫羊藿苷含量。色谱条件:岛津 LC-20 AD(SIL-20 A 自动进样器),Ultimate C<sub>18</sub> 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相乙腈-水(30:70),检测波长 270 nm,流速 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,进样量 10 μL。

**1.3.3 总黄酮的含量测定** 依据《中国药典》(2010 年版)一部<sup>[11]</sup>。精密量取淫羊藿苷测定项下的供试品溶液 0.5 mL,置 50 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,即得供试品。紫外-可见分光光度法测定供试品中总黄酮的含量,检测波长 270 nm。

**1.3.4 数据处理与分析** 通过评估样方中灌木和草本植物的重要值,对粗毛淫羊藿所在群落生境进行分类:灌木重要值 = (相对密度 + 相对频度 + 相对盖度)/3,草本植物重要值 = (相对密度 + 相对盖度)/2<sup>[7]</sup>。运用 SPSS 17.0 软件对光合色素(Chl a, Chl b, Car)、次生代谢物质(淫羊藿苷、总黄酮)的检测数据进行单因素方差分析与相关性分析。

## 2 结果与分析

**2.1 生境类型的荫蔽度水平** 对粗毛淫羊藿样方中灌木、草本植物进行重要值评估,将样方所处生境划

分为4种:灌木林生境、杂草丛生境、河谷沟渠生境、林缘旷地生境。从4种生境的荫蔽度来看,灌木林生境的群落郁闭度为30%~60%,粗毛淫羊藿盖度6%~20%;河谷沟渠生境的群落郁闭度为5%~40%,粗毛淫羊藿盖度为10%~15%;杂草丛生境的群落郁闭度为20%~40%,粗毛淫羊藿盖度为5%;林缘旷地生境多受人为干扰,无上层植被,粗毛淫羊藿与禾本科、菊科、蕨类等草本伴生于田埂、荒坡、农耕地基,所处位置受日照方向影响,处于东西方生境的荫蔽程度小于南北方生境<sup>[7]</sup>,粗毛淫羊藿盖度为20%~30%。

## 2.2 不同生境下粗毛淫羊藿叶中光合色素的分布

结果表明,生长于荫蔽度较大生境的粗毛淫羊藿,叶中Chl a, Chl b的含量总体上要高于开阔生境下

植株的含量,即随生境荫蔽度的增加,Chl a, Chl b, Chl的含量呈现增加趋势。Chl a, Chl b, Chl是反映植物光合能力的一个重要指标,叶绿素比值(Chl a/b)则能反映叶部光合活性的强弱程度。这说明在荫蔽生境中的粗毛淫羊藿植物通过增加叶部光合色素的含量提高了细胞的光合能力,增加了植株的光合活性,从而使之在阳光资源不够充足的生境中能健康生长。对于生长于林缘旷地生境的植株而言,因阳光充足,植物体只需在叶中提供相对少量的光合色素即可保证光合作用的进行。此外,由于灌木林、河谷沟渠和杂草丛3种生境的自然群落存在物种构成的交替变化,相互的荫蔽度范围有重叠,某一时期所划分的生境郁闭度是相对的。因此,这3种生境的光合色素含量没有显著性差异。见表1。

表1 不同生境下粗毛淫羊藿叶中光合色素的多重比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

生境	Chl a/mg·g <sup>-1</sup>	Chl b/mg·g <sup>-1</sup>	Chl/mg·g <sup>-1</sup>	Car/mg·g <sup>-1</sup>	Chl a/b	绿素 Car/Chl
林缘旷地	1.90 ± 0.72a	0.66 ± 0.36a	2.56 ± 1.04a	0.43 ± 0.13a	2.88 ± 1.28a	0.17 ± 0.04a
杂草丛	2.25 ± 0.64ab	0.75 ± 0.30a	3.00 ± 0.89ab	0.53 ± 0.16ab	3.00 ± 1.87a	0.18 ± 0.05a
河谷沟渠	2.30 ± 0.51ab	0.85 ± 0.21ab	3.15 ± 0.67ab	0.54 ± 0.15ab	2.71 ± 0.70a	0.17 ± 0.04a
灌木林	2.47 ± 0.77b	0.94 ± 0.36b	3.41 ± 1.08b	0.56 ± 0.15b	2.63 ± 1.42a	0.18 ± 0.05a

注:α=0.05水平,同一列中不同小写字母表示差异显著,表2同。

**2.3 不同生境下粗毛淫羊藿叶中次生代谢物质的分布** 结果显示,淫羊藿苷在林缘旷地生境中的含量最高(0.36%),在灌木林生境中的含量最低(0.16%),而灌木林、河谷沟渠、杂草丛这3种生境中的淫羊藿苷含量无显著性差异。植株叶中总黄酮含量的分布情况同淫羊藿苷相似,也表现为在林缘旷地生境中的含量最高(9.13%),灌木林生境中的含量最低(7.52%)。这个结果与文献<sup>[7]</sup>报道的相一致。周涛等<sup>[7]</sup>研究认为,在林缘旷地生境中,植株的叶部器官因获得更为充足的阳光,生理代谢活动要强于其他生境,从而使次生代谢物质的积累量高于其他生境,甚至植株其他部位。本文则认为,从该植物的生物学特性而言,粗毛淫羊藿耐阴湿,强光环境并非其适生生境,在林缘旷地生境下植株次生代谢物质的积累增加,表现为植物的逆境效应。见表2。

表2 不同生境下粗毛淫羊藿叶中次生代谢物质的多重比较( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

生境	淫羊藿苷/%	总黄酮/%
灌木林	0.16 ± 0.05a	7.52 ± 1.15b
河谷沟渠	0.20 ± 0.07a	8.86 ± 1.13a
杂草丛	0.21 ± 0.09a	8.41 ± 0.92a
林缘旷地	0.36 ± 0.22b	9.13 ± 2.29a

**2.4 光合色素和次生代谢物质的相关性分析** 相关性分析显示,植株叶中的Chl a, Chl b, Car呈显著相关( $P < 0.01$ ),表明Chl a, Chl b, Car 3种光合色素的含量在不同生境下均表现为同步增长或降低;次生代谢物质淫羊藿苷与总黄酮呈显著相关性( $P < 0.01$ ),表明叶中2类次生代谢物质在不同生境下均表现为同步增长或降低;而光合色素类物质(Chl a, Chl b, Car)与次生代谢物质(淫羊藿苷、黄酮类)呈显著负相关( $P < 0.01$ ),表明不同生境对植物体中光合色素与次生代谢物的影响相反。见表3。

## 3 结论与讨论

粗毛淫羊藿的光合色素含量在荫蔽生境中普遍高于开阔生境,特别是Chl b的含量,提示该植物在群落底层,可通过大量的Chl b物质吸收林荫间隙散射光中的蓝紫光和橙光,保持在荫蔽生境的光合能力,维持植物的健康生长。而在旷地易获充足阳光生境下,粗毛淫羊藿植株相对而言可用生成较少的光合色素即维持光合作用所需,目前只是从光合色素量的变化得到一点证实,植物在不同生境下通过调整自身生理物质的合成和转运以适应生境,但实质上这种生理调节机制是非常复杂的。

前期文献<sup>[7]</sup>研究认为,粗毛淫羊藿植株中淫羊藿苷在林缘旷地生境下的含量比在河谷沟渠、灌

表 3 粗毛淫羊藿叶中次生代谢物质和光合色素的相关性分析

性状	$X_1$	$X_2$	$X_3$	$X_4$	$X_5$	$X_6$	$X_7$	$X_8$
淫羊藿苷 $X_1$	1							
总黄酮 $X_2$	0.619 <sup>2)</sup>	1						
Chl a $X_3$	-0.374 <sup>2)</sup>	-0.502 <sup>2)</sup>	1					
Chl b $X_4$	-0.441 <sup>2)</sup>	-0.431 <sup>2)</sup>	0.786 <sup>2)</sup>	1				
Chl $X_5$	-0.405 <sup>2)</sup>	-0.503 <sup>2)</sup>	0.978 <sup>2)</sup>	0.897 <sup>2)</sup>	1			
Car $X_6$	-0.351 <sup>2)</sup>	-0.403 <sup>2)</sup>	0.809 <sup>2)</sup>	0.408 <sup>2)</sup>	0.715 <sup>2)</sup>	1		
Chla/b $X_7$	0.192	0.049	-0.165	-0.623 <sup>2)</sup>	-0.327 <sup>1)</sup>	0.186	1	
Car/Chl $X_8$	0.176	0.161	-0.318 <sup>2)</sup>	-0.685 <sup>2)</sup>	-0.458 <sup>2)</sup>	0.238 <sup>1)</sup>	0.805 <sup>2)</sup>	1

注: <sup>1)</sup> 在 0.05 水平(双侧)上显著相关; <sup>2)</sup> 在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

木林和杂草丛等荫蔽生境下的含量高,而这 3 种生境下的淫羊藿苷含量无差异,这与本文的分析结果相一致。文献[7]分析认为,林缘旷地生境下淫羊藿苷含量的增高,可能是植株在此生境下能获得更为充足的阳光,生理和次生代谢活动均较强之故。但事实上,粗毛淫羊藿是喜阴植物,野外可见生长在阴湿、弱光生境中的一些植株高达 1.2 m,复叶长达 18 cm,宽至 7 cm,叶质地柔软坚韧,色深绿油亮。而生长在开阔环境如田埂、路边、荒坡中的植株,遭遇强光逆境,株体矮小,有的地上茎短仅约 10 cm,叶形小,质地坚韧且硬,易折断,色浅黄绿色,少花少果,整体长势不好。即林缘旷地是粗毛淫羊藿植物生长的非适生境。但挖掘植株常发现其地下根状茎结团状、发达,与地上长势极不相符。本文的相关性分析显示,植株光合色素类物质(Chl a, Chl b, Car)与次生代谢物质(淫羊藿苷、总黄酮)为显著负相关( $P < 0.01$ ),这些现象一方面显示出粗毛淫羊藿可通过调整光合色素、降低代谢反应或通过无性繁殖方式来避开不良环境(逆境)造成的损伤,维持生活史。另一方面,植物的应激反应机制生成较多的代谢物质如淫羊藿苷或黄酮类,以保护植物体免受强光(或高温)胁迫。

本文分析的这些次生代谢物质是淫羊藿药材的主要药效成分<sup>[12-14]</sup>。因此,从这个意义上讲,当粗毛淫羊藿植物遭遇环境胁迫后产生逆境效应时,逆境虽不利于植物的健康成长,但可能有利于淫羊藿药材活性成分的形成。这将有助于通过生境信息预测粗毛淫羊藿药材的质量,同时也为进一步开展环境胁迫对药用植物生长发育与次生代谢物的机制研究提供了一定契机。

[参考文献]

[1] 黄璐琦,郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及

道地药材的形成[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4):277.

[2] 胥晓,杨帆,尹春英,等. 雌雄异株植物对环境胁迫响应的性别差异研究进展[J]. 应用生态学报, 2007, 18(11):2626.

[3] 蔡娜,淡荣,陈鹏. 水分胁迫对苦荞幼苗黄酮类物质含量的影响[J]. 西北植物学报, 2008, 17(4):91.

[4] 李静,徐志防,叶万辉. 不同胁迫处理对刺栲叶片叶绿素 a 荧光的影响[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(5):429.

[5] 万春阳,王丹,侯俊玲,等. NaCl 胁迫对甘草生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(10):1805.

[6] 裴利宽,郭宝林. 近 10 年淫羊藿药材及饮片研究进展[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(6):466.

[7] 周涛,张小波,郭兰萍,等. 粗毛淫羊藿不同部位、不同生境中淫羊藿苷、总黄酮含量的变化分析[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(13):1917.

[8] 杨允菲,刘庚长,张宝田. 羊草种群年龄结构及无性繁殖对策的分析[J]. 植物学报, 1995, 37(2):147.

[9] 杨允菲,郑慧莹,李建东,等. 根茎禾草无性系种群年龄结构的研究方法[J]. 东北师大学报:自然科学版, 1998(1):49.

[10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000:134.

[11] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京:中国医药科技出版社, 2010:306.

[12] 郭宝林,肖培根. 淫羊藿属植物中的黄酮类成分及其分类学意义[J]. 植物分类学报, 1999, 37(3):228.

[13] 宋鹏,王鸣刚,姚娟,等. 淫羊藿苷对 rBMSCs 成骨和成脂分化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(20):200.

[14] 刘婷,曹春雨,郝然,等. 黔岭淫羊藿总黄酮类成分对 hFOB1.19 人 SV40 转染成骨细胞活性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2):267.

[责任编辑 邹晓翠]