

· 资源与鉴定 ·

## 氯化钠胁迫对甘草生长、生理及有效成分含量的影响

万春阳, 王丹, 侯俊玲\*, 王文全, 李卫东  
(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

**[摘要]** **目的:**探讨 NaCl 胁迫对甘草生长、生理及有效成分含量的影响。**方法:**以药用植物甘草为材料,采用水培方式培养,以含有不同质量浓度 NaCl 的营养液对其进行不同强度的盐胁迫处理,分别于胁迫后 10,20,30,40 d 动态取样,测定甘草的生长、生理指标和甘草酸、甘草苷含量。**结果:**处理 20,30,40 d 时,0.6% 和 0.8% 处理组的甘草植株株高、甘草根鲜重显著低于对照组;处理 30,40 d 时,0.6% 和 0.8% 处理组的甘草干重均显著低于对照组;处理 20 d,0.6% 和 0.8% 处理组的甘草叶片 SOD 酶活性和叶绿体色素的含量均极显著高于对照组;处理 30 d,0.6% 和 0.8% NaCl 处理的甘草中甘草酸极显著高于对照组,处理 20 d 和 30 d,0.6%,0.8% NaCl 处理的甘草苷含量极显著高于对照组。**结论:**NaCl 胁迫下,甘草生长受到了抑制,并通过提高体内的抗氧化酶活性、降低叶绿体色素含量和促进次生代谢产物积累,来提高自身耐盐性,同时也提高了药材的质量。

**[关键词]** 氯化钠;甘草;生长;生理;甘草酸;甘草苷

**[中图分类号]** R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0118-05

## Effects of NaCl Stress on Growth, Physiological Index and Content of Effective Composition of *Glycyrrhiza uralensis*

WAN Chun-yang, WANG Dan, HOU Jun-ling\*, WANG Wen-quan, LI Wei-dong  
(College of Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of NaCl stress on growth, physiological index and content of effective composition of *Glycyrrhiza uralensis*. **Method:** Medicinal plant *Gomposition uralensis* was taken as the material. The rhizomes were grown in nutrient solution, and stressed with different concentration of NaCl. Respectively sampling after treatment of 10, 20, 30, 40 days, liquorice growth, physiological indexes and glycyrrhizic acid and liquorice contents were determined. **Result:** On the treatment of 20, 30, 40 days, the height and the root fresh weight of 0.6% and 0.8% treatment groups were decreased as compared with CK significantly, while on the treatment of 30 and 40 days, the dry weight of 0.6% and 0.8% treatment groups were decreased as compared with control group significantly. On the treatment of 20 days, the SOD acticity and the the chloroplast pigment content of 0.6% and 0.8% treatment groups were extremely significant higher than those in the control group. And on the treatment of 30 days, the content of the glycyrrhizic acid of 0.6% and 0.8% treatment groups were increased as compared with control group significantly. While on the 20 and 30 days, the content of liquorice of 0.6% and 0.8% treatment groups were increased as compared with control group significantly. **Conclusion:** NaCl stress inhibited the growth of *G. uralensis*, and through improving the body of antioxidant enzymes activity,

**[收稿日期]** 20110322(004)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(30572328)

**[第一作者]** 万春阳,在读硕士生,从事药材质量形成机制研究,Tel:010-84739448,E-mail:wanchunyang0808@sina.com

**[通讯作者]** \*侯俊玲,教授,硕士生导师,从事生物物理研究,Tel:010-84738623,E-mail:mshjl@126.com

reducing the chloroplast pigment contents and promoting secondary metabolites accumulation, it improved its salt tolerance and the quality of *G. uralensis*.

[**Key words**] NaCl; *Glycyrrhiza uralensis*; growth; physiological index; glycyrrhizic acid; liquorice

药用植物中大部分有效成分是植物的次生代谢产物。环境因子对次生代谢产物积累的诱导和调控是影响药材质量的重要因素<sup>[1-2]</sup>。初生代谢影响药材产量,而次生代谢影响其质量<sup>[3]</sup>。因此,在中药材的规范化生产中,明确影响中药材产量和质量的因素,如何通过技术调控来平衡其产量与质量之间的矛盾,已成为提升中药材规范化生产技术水平的关键问题<sup>[4]</sup>。

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch 为豆科甘草属多年生草本植物,为大宗中药材,主要分布在新疆、甘肃、宁夏、内蒙古等西北华北地区,具有抗寒、耐热、耐旱、抗盐碱等优良特性。甘草主要有效成分甘草酸和甘草苷属次生代谢产物。廖建雄等<sup>[5]</sup>的研究表明,适当的干旱胁迫有利于甘草酸的形成,且已有盐分胁迫对甘草幼苗生长、生理影响的初步研究<sup>[6-7]</sup>,但其与甘草酸和甘草苷含量的关系还不十分明确。为了探讨盐分胁迫对甘草酸和甘草苷积累的影响,本文通过 Hoagland 营养液水培的方式,分析施加不同质量浓度 NaCl 后,甘草的生长指标、生理指标及甘草酸和甘草苷含量的变化,探讨盐胁迫对甘草质量的影响,这对完善甘草质量调控与栽培的理论和体系具有重要理论价值和实践意义,为在盐碱地和有盐渍化倾向的地区发展甘草种植提供理论依据。

## 1 材料

供试材料为 2009 年 6 月 1 日,采购于中国内蒙古杭锦旗一年生甘草苗,经北京中医药大学王文全教授鉴定为豆科植物甘草 *G. uralensis* 的全株。

试验在北京中医药大学校水培实验室中进行,甘草苗培养在盛有 Hoagland 完全营养液的水桶中,水桶容积为 12 L(直径 25 cm × 高 35 cm),每桶培养 25 株生长状况尽量一致的甘草苗。分别以添加质量浓度为 0% (CK), 0.3%, 0.6%, 0.8% ( $\text{g} \cdot 100 \text{ mL}^{-1}$ ) 4 个水平 NaCl 的 Hoagland 营养液培养甘草,为了保持桶内盐分含量的一致,每 7 d 换 1 次水。每个处理设 3 个重复。

## 2 方法

### 2.2 测定指标与方法

**2.2.1 植株生长状况观测** 于 NaCl 处理后 10, 20, 30, 40 d, 将各处理甘草植株从水桶中取出,用钢卷尺测量植株的株高。然后用水冲洗干净,吸水纸吸干,称鲜重,于 105 °C 杀青 10 min, 55 °C 烘至恒重,测定干重。

**2.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性测定** NaCl 处理 20 d 后,测定甘草叶片 SOD 酶活性。精密称取 0.5 g 甘草新鲜叶片,用 pH 7.8 的磷酸钾缓冲液研磨提取,4 °C 1 万  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 20 min, 取上清液作为粗酶液。SOD 酶活性参考朱广廉等<sup>[8]</sup>方法测定。

**2.2.3 叶绿体色素含量测定** 用丙酮-乙醇(1:1)溶液提取,分光光度计法测定<sup>[9]</sup>。

**2.2.4 甘草酸和甘草苷含量测定** 精密称定过 60 目筛的甘草粉末 0.1 g 于 10 mL 量瓶中,加入 0.3% 氨性乙醇 10 mL。浸泡 30 min, 超声提取 2 次,每次 30 min (250 W, 20 kHz, 40 °C)。室温下冷却,用 0.3% 氨性乙醇定容。过滤收集滤液,过微孔滤膜(0.45  $\mu\text{m}$ , 津腾公司)。HPLC 测定甘草酸和甘草苷的含量。色谱柱为 DIKMA Diamonsil-C<sub>18</sub> 柱(4.6 mm × 250 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), 流动相乙腈(A)和 0.1% 磷酸水(B), 梯度洗脱, 柱温 25 °C, 进样量为 10  $\mu\text{L}$ , 色谱条件按文献[10]进行。

**2.3 数据分析** 所测结果用 Excel 输入和作图,用 SAS 8.0 软件进行 ANOVA 方差分析, LSD 多重比较。数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为差异有显著性意义。

## 3 结果

**3.1 NaCl 胁迫下甘草株高和根鲜、干重的变化** 盐胁迫对植物最普遍、最显著的影响就是抑制生长。NaCl 处理下,各处理甘草株高均低于对照组。在 20, 30 d 时, 0.6%, 0.8% 处理组的株高均显著或极显著低于对照组。如处理 30 d 时, 0.6%, 0.8% 处理组的根鲜重极显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 其分别降低了 15.95%, 22.46%。处理 40 d, 0.8% 处理组的株高显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

NaCl 胁迫下,各处理甘草根的鲜重均低于对照组, 0.6%, 0.8% 处理组根鲜重基本无增长趋势。处理 20, 30, 40 d 时, 0.6%, 0.8% 处理组的根鲜重均较

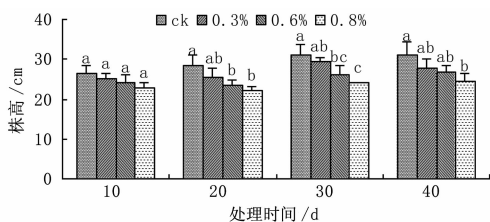


图 1 NaCl 胁迫对甘草植株株高的影响

相同胁迫时间下 a, b, c 表示各处理组差异在 5% 水平下的显著性 (图 2~4 同)

对照组显著降低。同样, 各处理甘草根的干重与鲜重趋势相似, 均低于对照组, 处理 30, 40 d 时, 0.6%, 0.8% 处理组根干重显著低于对照组。

**3.2 NaCl 胁迫下 SOD 酶活性的变化** SOD 是生物体内重要的保护酶之一, NaCl 胁迫 20 d 时, SOD 酶活性随盐浓度的增加而增强。0.6%, 0.8% 处理组极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 分别增加了 13.6%, 11.2% (图 2)。

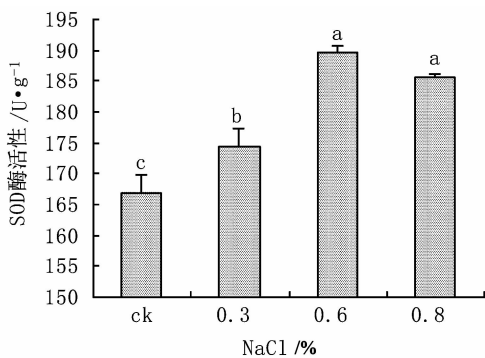


图 2 NaCl 胁迫对甘草叶片 SOD 酶活性的影响

**3.3 NaCl 胁迫下甘草叶片叶绿素 a (chl a), 叶绿素 b (chl b), 类胡萝卜素 (car) 含量及 chl a/chl b 的变化**

NaCl 胁迫 20 d 时, 甘草叶片 chl a, chl b, car 含量及 chl a/chl b 有显著变化。各处理 chl a, chl b, car 含量较对照组均降低, chl a 含量 0.6% 和 0.8% 处理组极显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 0.8% NaCl 处理下 chl a 含量最低为  $1.294 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ; chl b 含量在 0.6%, 0.8% 处理下极显著低于对照组 ( $P < 0.01$ ), 0.3% 处理与对照相比, 差异不显著; car 的变化趋势相同于 chl a, chl b, 以 0.8% NaCl 处理下的为最低,  $0.303 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 且各处理间差异达极显著水平 ( $P < 0.01$ ); chl a/chl b 的变化在 NaCl 胁迫处理下不同于上述 3 者, 随 NaCl 浓度升高而升高, 以 0.8% 处理下为最高, 达 5.546, 且各处理组间也达极显著水平 ( $P < 0.01$ ) 见表 1。

表 1 NaCl 胁迫对甘草叶绿体色素含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

NaCl	叶绿素 a	叶绿素 b	类胡萝卜素	叶绿素 a/b
/%	/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	
0 (CK)	$1.668 \pm 0.006 \text{ a}$	$0.339 \pm 0.023 \text{ a}$	$0.407 \pm 0.012 \text{ a}$	$4.189 \pm 0.226 \text{ c}$
0.3	$1.648 \pm 0.012 \text{ a}$	$0.373 \pm 0.027 \text{ a}$	$0.383 \pm 0.012 \text{ ab}$	$4.404 \pm 0.336 \text{ c}$
0.6	$1.490 \pm 0.010 \text{ b}$	$0.303 \pm 0.014 \text{ b}$	$0.346 \pm 0.036 \text{ bc}$	$4.963 \pm 0.164 \text{ b}$
0.8	$1.294 \pm 0.014 \text{ c}$	$0.234 \pm 0.009 \text{ c}$	$0.303 \pm 0.024 \text{ c}$	$5.546 \pm 0.221 \text{ a}$

注: a, b, c 表示各处理组在 5% 水平下的显著性。

**3.4 NaCl 胁迫下甘草酸和甘草苷含量的变化** 总体而言, NaCl 胁迫植株甘草酸含量较对照高, 并随盐浓度的增加而增加。处理 30 d 时, 各处理甘草酸相对含量达到最高值, 其中 0.6% 和 0.8% 处理极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 分别增加了 45.04%, 50.2% (图 3)。而甘草苷相对含量, 在 20, 30 d 时, 0.6% 和 0.8% 处理组均极显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 分别增加了 15.6%, 18% 和 45%, 74.9% (图 4)。

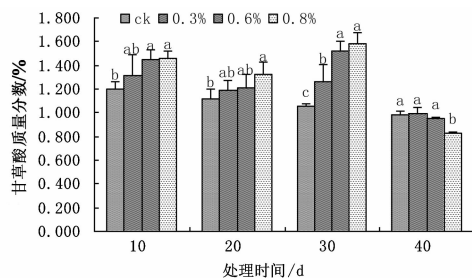


图 3 NaCl 胁迫对甘草酸含量的影响

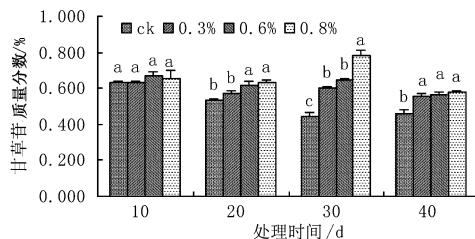


图 4 NaCl 胁迫对甘草苷含量的影响

## 4 讨论

盐胁迫下, 植物根系最早感受逆境胁迫信号, 并产生相应的生理反应, 继而影响地上部生长, 盐胁迫常导致植物根系生长受抑制。杨秀红等<sup>[11]</sup> 研究表明低盐浓度 ( $50, 100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 胁迫下, 甘草幼苗生长指标之间差异不明显, 而高盐浓度下 ( $200 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 株高、鲜、干重等指标差异较显著。本结果显示, 0.6%, 0.8% 浓度胁迫下甘草株高、根鲜、干重较对照有显著或极显著下降, 与前者研究结果一致, 说明盐胁迫抑制了甘草的生长及根的生物量。

正常生长条件下, 活性氧的形成和清除之间保持一种动态平衡, 植物遭受盐胁迫时, 这种平衡被破

坏,自由基积累,引起植物氧化损伤。植物体内抗氧化酶可以清除活性氧,SOD,过氧化物酶(POD),过氧化氢酶(CAT)作为植物体内抗氧化酶系统的重要组成部分,在清除自由基方面发挥了重要作用。当植物受到盐胁迫时,其体内超氧阴离子水平提高,这时SOD活性增加,从而对植物进行保护。结果表明,甘草盐胁迫20 d后,活性氧呈上升趋势,叶片SOD活性增强。可能正是这种保护酶在盐分胁迫下增强或维持较高的水平,才使得甘草保持一定的耐盐性。

盐胁迫条件下植物的光合作用受到抑制,主要表现在色素含量的变化上<sup>[12]</sup>。盐胁迫会导致植物叶片叶绿素含量降低,chla/chlb的增大,均是植物对盐胁迫的一种防御性适应。chlb这种捕光色素含量的降低,使光捕获减弱,活性氧的产生减少酶的抑制及蛋白质的降解减少,从而使植物更加耐盐<sup>[13]</sup>。结果表明,NaCl处理下各叶绿体色素含量均有不同程度的下降,正是甘草耐盐的一种表现。盐胁迫下植物叶片中叶绿素含量下降,其主要原因是由于能促进叶绿素酶活性,使叶绿素分解,另外,由于类胡萝卜素含量的降低,减少了对活性氧的淬灭,导致细胞内积累较多的氧自由基,破坏叶绿体膜结构,加速叶绿素的分解<sup>[14]</sup>。

甘草酸和甘草苷是甘草的主要活性成分,是评价药材质量的重要指标。而甘草酸和甘草苷均属于次生代谢产物,其形成与积累受环境影响较大。Tripathi<sup>[15]</sup>认为,盐分胁迫可以促进植物的次生代谢,提高次生代谢产物的含量。结果表明,盐胁迫下甘草酸和甘草苷含量有所增加,说明盐分胁迫促进了甘草次生代谢产物的生成。在处理30 d时,0.6%和0.8% NaCl胁迫下,甘草酸显著提高,在处理20,30 d时,0.6%,0.8% NaCl处理组甘草苷也极显著高于对照组( $P < 0.01$ ),说明高浓度NaCl胁迫下,也能促进甘草酸和甘草苷的生成。这与唐晓敏<sup>[16]</sup>的研究结果不太一致,可能与试验材料培养方式有关。但在处理40 d时,甘草酸含量明显下降,且0.8%处理组的含量显著低于对照,可能是由于高浓度长时间的NaCl处理对甘草产生了较为严重的胁迫,对其次生代谢又产生了一定的抑制作用。因此,甘草对高浓度NaCl胁迫有一定的时间依赖性。植物根据所处环境的变化来决定合成次生代谢产物的种类和数量,只有在特定

的环境下才合成特定的次生代谢产物,或者显著地增加特定的次生代谢产物在体内的产量,但当环境严重胁迫时,植株生长和次生代谢又都受阻<sup>[17]</sup>。

在NaCl胁迫下甘草根鲜、干重下降的同时,甘草酸及甘草苷含量增加,说明植株的甘草酸及甘草苷代谢是正常的,因此认为NaCl胁迫有利于提高甘草药材品质。已有报道表明甘草酸和甘草中的黄酮类物质有清除羟自由基的能力<sup>[18-19]</sup>。由此推断NaCl胁迫下甘草酸及甘草苷含量的增加,有可能是适应不良环境的一种机制。因此,短期NaCl胁迫有助于甘草次生代谢产物含量的提高,在甘草生产中可以加以利用。

本试验只是采用水培的方式,针对不同质量分数NaCl处理对甘草酸和甘草苷含量影响的初步探讨,而在自然土壤生长的状态下,甘草受多种盐分的影响,究竟哪一种是影响甘草药效成分积累的主要盐分,还需进一步开展试验研究,将更有助与盐碱地的开发利用。

#### [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] 阎秀峰,王洋,李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2554.
- [3] 杨莉,韩忠明,杨利民,等. 水分胁迫对蒺藜光合作用、生物量和药材质量的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(10): 2523.
- [4] 杨利民. 中药资源生态学及其科学问题[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(4): 506.
- [5] 廖建雄,王根轩. 甘草酸在甘草适应荒漠生境中的可能作用[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(8): 367.
- [6] 杨国会,马尧,李如升,等. NaCl对甘草叶片脯氨酸含量以及质膜相对透性的影响[J]. 农业与技术, 2000, 20(5): 43.
- [7] 梁新华,刘凤敏. NaCl和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>胁迫对甘草幼苗渗透调节物质含量的影响[J]. 农业科学研究, 2006, 27(2): 96.
- [8] 朱广廉,钟海文,张爱琴. 植物生理学实验[M]. 北京:北京大学出版社, 1990: 51.
- [9] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000: 134.

# 我国三叶木通生态适宜性等级区划研究

张小波, 陈敏, 郭兰萍\*, 格小光, 林淑芳, 吴志刚  
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

**[摘要]** 目的: 进行三叶木通的生态适宜性区划, 为三叶木通人工种植基地选取和优质工业原料收购区域的确定提供依据。方法: 以我国地形、土壤类型和 30 年气象数据为基础, 根据三叶木通与地形和土壤条件之间的关系, 应用 ArcGIS 软件的空间信息提取、空间计算和数据叠加功能, 进行三叶木通生态适宜性等级划分。结果: 得到了基于地形和土壤条件的三叶木通生态适宜性等级分布图, 结果显示, 三叶木通最适宜区主要集中在长江流域, 以及陕西、河南等省的部分地区。结论: 应用空间分析技术, 从气候、地形和土壤方面, 可以实现三叶木通的生态适宜性等级划分, 为人工种植三叶木通的基地选取提供依据。

**[关键词]** 三叶木通; 生态适宜性; 等级区划

**[中图分类号]** R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)08-0122-04

## Ecological Suitability Regionalization for Planting of *Akebia trifoliata* in China

ZHANG Xiao-bo, CHEN Min, GUO Lan-ping\*, GE Xiao-guang, LIN Shu-fang, WU Zhi-gang  
(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study ecological suitability regionalization of *Akebia trifoliata*. for selecting

**[收稿日期]** 2010-11-08

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81072989); 国家科技重大专项(2009ZX09502-026, 2009ZX09301-005, 2009ZX09308-002); 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项(黔科合社字 20095029); 云南省科技计划项目(云南重点产业创新工程 2008IF025-4); 国家中医药管理局行业科研专项(201107009); 中国中医科学院自主选题研究项目(ZZ20090302, ZZ20090214)

**[第一作者]** 张小波, 从事中药资源生态研究, Tel: 010-64014411-2983, E-mail: jack110007@163.com

**[通讯作者]** \* 郭兰萍, 博士, 研究员, 从事中药资源生态研究, Tel: 010-64011944, E-mail: glp01@126.com

- [10] 段天璇, 于密密, 刘春生, 等. HPLC 法同时测定甘草指纹图谱暨甘草苷、甘草酸含量[J]. 中成药, 2006, 28(2): 161.
- [11] 杨秀红, 李建民, 董学会, 等. 盐胁迫对甘草幼苗生长及其生理指标的影响[J]. 华北农学报, 2006, 21(4): 39.
- [12] 马焕成, 王沙生, 蒋湘宁. 盐胁迫下胡杨的光合和生长响应[J]. 西南林学院学报, 1998, 18(1): 33.
- [13] 王丽燕. NaCl 胁迫对植物光合作用的影响[J]. 德州学院学报, 2005, 21(4): 13.
- [14] 梁新华, 谢亚军, 田峻颀. NaCl 与 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 胁迫对光果甘草幼苗叶片叶绿体色素含量的影响[J]. 中国农学通报, 2005, 21(9): 228.
- [15] Tripathi V, Parasuraman B, Laxmi A, et al. CIPK6, a CBL-interacting protein kinase is required for development and salt tolerance in plant[J]. Plant J, 2009, 58(5): 778.
- [16] 唐晓敏, 王文全, 杨全, 等. NaCl 处理对甘草生长、生理指标及药效成分含量的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(2): 172.
- [17] 段飞. 逆境胁迫对菘蓝有效成分及耐逆基因的影响[D]. 西安: 陕西师范大学, 2006.
- [18] 王海宽, 赵新淮. 甘草有效成分分离及其对自由基的清除能力[J]. 食品与机械, 2000(4): 23.
- [19] 吴碧华, 杨得本, 龙存国. 甘草总黄酮的体外抗氧化作用[J]. 中国临床康复, 2004, 36(8): 8262.

[责任编辑 邹晓翠]