

多效唑对珐菲亚的叶绿素含量、抗逆性及活性成分的影响

凌征柱^{1,2}, 赵维合^{1,2}, 覃文流², 姚绍嫦¹, 蓝祖裁¹

(1. 广西壮族自治区药用植物园, 南宁 530023; 2. 广西大学, 南宁 530005)

摘要: 用四种不同浓度的多效唑(PP₃₃₃)对引种药用植物珐菲亚进行叶面喷施, 研究 PP₃₃₃对珐菲亚的生物学效应。结果表明: 各处理均有明显提高珐菲亚叶片叶绿素含量, 增强超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性, 降低丙二醛(MDA)含量, 增加药材产量的作用, 而对活性成分皂苷含量影响不明显。该研究为 PP₃₃₃在珐菲亚化学调控上的应用提供理论依据。

关键词: 多效唑; 珐菲亚; 叶绿素; 抗逆性; 活性成分

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)06-0788-04

Effect of paclobutrazol on chlorophyll content, stress resistance and bioactive compounds of *Pfaffia*

LING Zheng-Zhu^{1,2}, ZHAO Wei-He^{1,2}, QIN Wen-Liu²,

YAO Shao-Chang¹, LAN Zu-Zai¹

(1. Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning, 530023, China; 2. Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: Foliar feed with 4 concentrations of paclobutrazol(PP₃₃₃)on leaves of *Pfaffia paniculata* was done to research the biological effectiveness of PP₃₃₃ on *Pfaffia*. The results showed that the chlorophyll content in leaves of *Pfaffia* increased obviously under the 4 treatments. The activities of superoxide dismutase(SOD), Peroxidase(POD) and Catalase(CAT) were increased. The content of malondialdehyde(MDA) decreased. The stress resistance enhanced. The content of bioactive compound saponins didn't changed evidently. The root yield of *Pfaffia* increased. The research would provide the theoretical basis for the application of PP₃₃₃ on *Pfaffia*.

Key words: paclobutrazol; *Pfaffia*; chlorophyll; stress resistance; bioactive compounds

珐菲亚(*Pfaffia*)俗称巴西人参(*Pfaffia paniculata*), 为苋科(Amaranthaceae)牛膝属多年生草本植物。以根入药, 具有清热解毒、强精壮阳、抗炎镇痛、抗肿瘤等功效。主要用于治疗心血管、中枢神经、生殖、消化系统等疾病(卞庆亚等, 2002; 高辉等, 2006; 蔡幼清, 1996)。珐菲亚在当地民间是一种重要植物药, 应用已有三百多年。美国、日本、意大利等国学者在化学和药理等方面作了较多研究, 结果表明珐菲亚主要富含多种氨基酸、维生素、矿物质和多种皂苷成分, 在国外已经开发成药食两用产品投

放市场(Bot, 2002)。珐菲亚原产南美洲巴西、厄瓜多尔、巴拿马等国热带雨林地区, 在巴西国内, 珐菲亚属植物主要分布在圣保罗、马托格罗索、巴拉那州及巴拉那河流域, 分布相对集中(Pedersen, 1997)。珐菲亚属喜光植物, 通常生长在阳光较为充足的地方, 株高 150~200 cm, 根通常 3~5 条, 圆柱形, 呈黄色。茎秆由若干节组成, 节间较长, 中空, 节的茎部呈膝状膨大, 侧枝对生。珐菲亚生长不均衡, 营养物质分配不协调, 经济参数低, 在营养生长阶段, 珐菲亚地上部分生长迅速、植株高大; 地下部分发育迟

收稿日期: 2009-06-12 修回日期: 2009-09-18

基金项目: 广西卫生厅科研基金(Z2006178)[Supported by Scientific Research Fund of Health Department of Guangxi(Z2006178)]

作者简介: 凌征柱(1953-), 男, 广西桂平人, 研究员, 主要从事药用植物组织培养及引种驯化研究。

缓,根的生长显著受限,根冠比严重失调(高达1:12)(凌征柱等,2007)。特别是地上部分茎旺长,耗费了大量的营养物质,叶片常常大量脱落,植株脆弱,遇风易倒伏。本研究通过化学调控方法用不同浓度的多效唑喷施珐菲亚,控制地上部分旺长的同时使其内部生理代谢活动发生变化,推进逆境生理的发展,对珐菲亚的抗旱、抗衰老,特别是根部生长、营养积累和次生物质(皂苷等)代谢起到增效作用。

1 材料与方法

1.1 材料

3月中旬于广西壮族自治区药用植物园科研基地精选一年生珐菲亚健壮的植株,剪中部茎段作插条,在温室沙床扦插,待扦插苗长出6叶,将其移栽到实验地。移栽前1~2 d,结合深翻,施用底肥,每667m²施堆沤腐熟的中药渣5 000 kg,复合肥50 kg,并起垄作畦。

1.2 方法

实验用纯度≥98%的多效唑,A处理为200 mg/L,B处理250 mg/L,C处理300 mg/L,D处理350 mg/L,对照CK为蒸馏水。试验采用随机区组设计,每小区面积4.32 m²,株行距40 cm×40 cm,每区定植20株,重复3次。5月中旬,珐菲亚开始进入旺长期,用四种不同浓度的多效唑溶液对珐菲亚进行叶面均匀喷施,直至叶面滴水为止。然后,在8月份旺长盛期取顶端叶片测定叶绿素含量及酶活性。(1)叶绿素含量测定采用李合生等(2003)的方法,取最顶端新生鲜叶片洗净,去掉中脉,剪成碎片,称取0.1 g,放入容量瓶,加入丙酮乙酸混合提取10 mL,在室温下暗处放置24 h,取上清液在663 nm和645 nm波长下测定吸光度。(2)三种粗酶提取方法:称取碎片0.5 g,加入磷酸缓冲液,冰浴研磨,于10 000 rpm(4 °C),离心20 min,上清液为粗酶提取液。SOD活性采用邹琦(2000)的氮蓝四唑法测定;POD活性采用李合生等(2003)的愈创木酚法测定;CAT活性采用高俊凤(2000)的比色法测定;MDA含量采用赵世杰等(1994)的方法测定;活性成分总皂苷含量测定采用凌征柱等(2006)的紫外分光光度法。在12月份将珐菲亚根采挖洗干净,烘干粉碎,精密称取样品粉末(过40目筛)1.00 g,置具塞烧瓶中,加水饱和正丁醇20 mL,密塞,称重,超声处理40 min,放冷,再称重,用水饱和正丁醇补足减

失的重量,摇匀,过滤,滤液水浴蒸干,加70%乙醇溶解,置100 mL量瓶中,加70%乙醇,定容至刻度,摇匀;根的干物质积累测定,每小区取样6株,洗净后烘干称重测得单株根的重量。

2 结果与分析

2.1 多效唑对珐菲亚叶片叶绿素含量的影响

不同浓度的多效唑处理珐菲亚叶片中叶绿素含量有所不同,但各处理珐菲亚叶片中的叶绿素含量的变化趋势相似。B处理和C处理叶绿素含量高于CK对照的叶绿素水平,A处理叶绿素含量增加不明显,D处理叶绿素含量呈下降状态。根据叶绿素含量不同,各处理的叶绿素含量排序为C处理>B处理>A处理>D处理>CK对照(表1)。

表1 不同浓度的多效唑对珐菲亚叶片叶绿素含量的影响
Table 1 Effect of paclobutrazol of different concentrations on chlorophyll content of *Pfaffia*

处理 Treatments(mg/L)	叶绿素 Chlorophyll(mg/g FW)
A(200)	2.30
B(250)	3.07
C(300)	3.13
D(350)	2.20
CK(0)	2.16

2.2 多效唑对珐菲亚的抗性影响

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)等酶可清除活性氧自由基,防止自由基的毒害,使自由基保持在较低水平,从而减轻自由基对细胞的伤害。因此,这些酶活性的大小直接影响着植物细胞的抗性。

2.2.1 多效唑对珐菲亚SOD活性的影响 用多效唑处理后,各处理间SOD活性差异明显,且有不同特点:与对照比,B处理和C处理活性明显增强,但二者间差异不明显;A处理SOD活性较对照的活性增加不明显,D处理的SOD活性稍微减弱(表2)。

2.2.2 多效唑对珐菲亚POD活性的影响 多效唑化控处理后,各处理间的活性存在明显差异,但各处理的POD活性排序较为稳定。与对照POD活性相比,B处理和C处理的POD活性明显,但二者间差异不明显。A处理POD活性与对照的相当,D处理的POD活性较对照的低(表2),可能是多效唑浓度过高的缘故。

2.2.3 对珐菲亚CAT活性的影响 用多效唑处理

后,不同处理珐菲亚 CAT 活性与 POD 活性变化相似,但 B 处理和 C 处理明显高于对照,B、C 处理间差异不明显,多效唑对珐菲亚中 CAT 活性的变化趋势没有影响。不同时期各处理 CAT 活性较对照活性增加幅度不同,与对照相比,B 处理和 C 处理差异明显,但二者间差异不大。A 处理 CAT 活性与对照的相当,D 处理的 CAT 活性较对照的低(表 2),可能由于多效唑浓度过高,已影响到珐菲亚的正常生长。

表 2 四种处理对珐菲亚中 SOD、POD、CAT 三种酶活性的影响

Table 2 Effect of paclobutrazol on the activities of SOD, POD and CAT

处理 Treatments	SOD (OD ₅₆₀ / g · Fw · min)	POD (OD ₄₇₀ / g · Fw · min)	CAT (OD ₂₄₀ / g. Fw. min)
A	290.93	545.45	33.51
B	326.57	634.49	40.62
C	330.59	635.48	46.28
D	295.24	510.14	28.12
CK	294.98	523.79	30.48

表 3 不同浓度的多效唑对珐菲亚根部药材的影响

Table 3 Effect of paclobutrazol of different concentrations on root yield of *Pfaffia*

处理 Treatments	根重(g/p) Root weight	皂苷吸光度(OD ₂₅₀ /g) Optical density of saponins
A	52.53	1.2232
B	59.74	1.3576
C	60.27	1.3469
D	48.00	1.2789
CK	51.68	1.2196

2.2.4 多效唑对珐菲亚 MDA 含量的影响 不同处理的珐菲亚体内的 MDA 含量不同,B 处理和 C 处理明显低于对照,B、C 处理间差异不明显,从 MDA 含量的变化趋势看,各处理 MDA 含量变化一致。根据 MDA 含量不同各处理排序依次为:C 处理(22.98 μg/g · FW) < B 处理(23.22 μg/g · FW) < A 处理(23.98 μg/g · FW) ≈ CK 对照(23.41 μg/g · FW) < D 处理(25.29 μg/g · FW)。B 处理和 C 处理含量比对照明显较低,说明 B 处理和 C 处理的抗性明显高于对照的抗性,A 处理 MDA 含量与对照相当,其抗性与对照差异不明显;D 处理 MDA 含量最高,说明其抗性最差。

2.3 多效唑对珐菲亚活性成分皂苷含量及产量的影响

不同浓度的多效唑处理对珐菲亚皂苷的含量影

响差异不明显,与对照相比,各处理的皂苷含量都不同程度地增加(表 3),根据皂苷吸光度排序,各处理的珐菲亚皂苷含量依次为 B 处理≈C 处理>D 处理>A 处理≈CK 对照。珐菲亚喷施多效唑后药材产量有所增加,其中 B、C 处理增加明显,与对照相比每株分别增加 8.06 g、8.69 g,A 处理增效不大(表 3)。

3 讨论

药用植物珐菲亚引种至南宁后,生长过旺,地上株型高大,而根部瘦小,根冠失调,导致产量降低。要实现其丰产、优质,在其生长发育过程中,既要限制其地上部分旺长,特别是早期生长,促进营养物质的合理分配,促进根部生长,培植健壮植株;还要提高光合性能,促进营养物质的合成与积累;更要提高珐菲亚的抗性,特别是高抗旱性,确保珐菲亚顺利通过南宁的秋旱,保障营养物质最大限度在根部积累,促进次生代谢的正常进行。

珐菲亚移栽大田后,缓苗很快,不久就进入旺长期,此时插条储存营养已远远满足不了植株生长发育的营养需求,此后还要保持较高的光合能力和净光合生产力才能使植株体内产生、积累较多的同化物,为其本身的健壮生长作好充分的物质准备。因此,叶绿素含量、净光合等相关光合指标已成为其生长健壮的重要生理指标。本试验发现,用适量浓度多效唑处理能有效提高叶片总叶绿素含量,从而促进珐菲亚光合色素更多更好地吸收和转化光能,提高叶片的净光合速率,增强珐菲亚植株的光合能力。

自由基活性氧对生物膜伤害理论的提出,推进了植物逆境生理的发展。王熹(1997)和李建武等(2008)的研究表明,SOD、POD 和 CAT 是植物用来保护生物膜、抵抗活性氧和自由基伤害的防护酶类,它们与类胡萝卜素、脯氨酸、维生素 E 等非酶系统相互协调,清除植物体内过氧化氢、羟自由基、超氧化物阴离子自由基和单线态氧等活性氧物质,抑制膜脂的过氧化作用,降低对生物膜的系统损害,从而保障植物正常的物质和能量代谢。本研究表明,适量浓度多效唑处理能有效提高 SOD、POD 和 CAT 活性,降低珐菲亚细胞 MDA 含量,对保护植物细胞、提高细胞的抗逆能力、防止细胞老化具有非常重要的意义。南宁的秋旱时间长,对作物生长有很大影响,珐菲亚的前期旺长通过 PP₃₃₃ 的化控,使 SOD、POD、CAT 活性提高,降低了 MDA 含量,这

些变化有利于增强珐菲亚生长后期的抗旱、抗衰老作用。

对作物进行化学调控，培育健壮植株，最终目的就是为了提高其产量、改善品质。药用植物不同于一般的粮食农作物，其品质取决于次生代谢物质（活性成分）含量，珐菲亚品质取决于活性物质——总皂苷含量。多效唑化学调控处理对其根部总皂苷含量即珐菲亚品质影响不大。

多效唑是一种高效低毒的植物生长延缓剂，具有延缓植物生长、抑制茎枝伸长、使茎秆粗壮、促进分蘖、根系发达、成花和座果、增强抗寒及抗旱性、提高耐盐性和延缓植物衰老等多种效应，在农作物、果树、药用植物等方面广泛应用（黎建玲等，2006；李明军等，2007；付传明等，2007）。用多效唑适期化控处理珐菲亚植株是一项简单易行、有效的化学控制途径，并且用量少，成本低，不会造成环境污染和公害，建议在使用多效唑化控处理珐菲亚大田植株时，在250~300 mg/L之间较为合适。

参考文献：

- 王熹. 1997. 作物化控原理[M]. 北京: 中国农业技术出版社
 李合生. 2003. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 高等教育出版社, 134—137, 164—165
 高俊凤. 2000. 植物生理学实验技术[M]. 世界图书出版公司, 214—215
 邹琦. 2000. 植物生理学实验指导[M]. 中国农业出版社, 163—167
 Bian QY(卞庆亚), Luo CN(罗崇念), Ma XJ(马小军). 2002. World progress in the studies of *Pfaffia*(国外对珐菲亚的研究进展)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), 33(5): 1
 Bot Inst. 2002. Bot Gartell Univ. Herbal composition for enhancing sexual response[P]. US: 6444237-B1
 Cai YQ(蔡幼清). 1996. Anti-inflammatory and analgesic activities of *Pfaffia paniculata*(巴西人参的抗炎镇痛作用)[J].

- Fore Med Sci*(国外医学中医中药分册), 18(1): 56
 Fu CM(付传明), Zhao ZG(赵志国), Huang NZ(黄宁珍), et al. 2007. Preservation *in vitro* of medicinal plant *Salvia prionitis*(药用植物红根草种质资源的离体保存)[J]. *Guizhou J. of Botany*(广西植物), 27(4): 653—657
 Gao H(高辉), Ma XJ(马小军), Wen XS(温学森), et al. 2006. Advances in study on chemical constituents from plants of genus *Pfaffia* and their bioactivities(法菲亚属植物化学成分和药理活性研究进展)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志), 31(21): 1—749
 Pedersen TM. 1997. Studies in south American Amaranthaceae [J]. *Adansonia*, 19(2): 217
 Li JL(黎建玲), Zhan YQ(詹源庆), Jiang B(蒋波). 2006. Effect of PP₃₃₃ on the growth of the plantlets of *Dendrobium nobile*(多效唑对金钗石斛试管苗生长的影响)[J]. *Guizhou J. of Botany*(广西植物), 26(5): 513—515
 Li JW(李建武), Wang DC(王蒂). 2008. The effect of water stress on the activity of antioxidant enzymes of *Solanum tuberosum*(水分胁迫对马铃薯试管苗抗氧化酶活性的影响)[J]. *Northern Hort*(北方园艺), (1): 7
 Li MJ(李明军), Xu X(徐鑫), Zhang XL(张晓丽), et al. 2007. Effects of PP₃₃₃ on morphological and physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* libosch plantlets(PP₃₃₃对怀地黄试管苗形态及生理特性的影响)[J]. *Guizhou J. of Botany*(广西植物), 27(2): 250—254
 Ling ZZ(凌征柱), Yang DA(杨东爱), Ma XJ(马小军), et al. 2006. Quality comparison of saponin constituents of *Pfaffia paniculata* between cultured and provenance(引种珐菲亚与原产地珐菲亚主要成分的比较研究)[J]. *Lishizhen Med Mat Meidca Res*(时珍国医国药), 17(12): 2649
 Ling ZZ(凌征柱), Zhao WH(赵维合), Chen CJ(陈超君), et al. 2007. Study on introduced *Pfaffia* biological characteristics(引种珐菲亚生物学特性观察研究)[J]. *Lishizhen Med Mat Meidca Res*(时珍国医国药), 18(2): 325
 Zhao SJ(赵世杰), Xu CC(许长成). 1994. An improvement on testing method of Malondialdehyde in plant tissue(植物组织中丙二醛测定方法的改进)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), 30(3): 207

(上接第 767 页 Continue from page 767)

- 李钧敏, 柯世省. 2002. 濒危植物七子花 DNA 的提取及分析[J]. 广西植物, 22(6): 499—502
 邹喻苹, 葛颂等. 2001. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京: 科学出版社, 216—219
 邹喻苹, 汪小全, 等. 1994. 几种濒危植物及其近缘类群总 DNA 的提取与鉴定[J]. 植物学报, 36(7): 528—533
 陈莉, 魏莉, 等. 2007. 几种中药 DNA 提取方法的比较研究[J]. 广西植物, 27(1): 137—139
 侯义龙, 曹同, 等. 2003. 苔藓植物 DNA 提取方法研究[J]. 广西植物, 23(5): 425—428
 黄卫东, 吕武清. 2008. 冰片的研究进展[J]. 中国药业, 17(4): 64—66

- 黄绍辉, 方炎明. 2007. 改进的 SDS-CTAB 法提取濒危植物连香树总 DNA[J]. 武汉植物学研究, 25(1): 98—101
 楼巧君, 陈亮, 等. 2005. 三种水稻基因组 DNA 快速提取方法的比较[J]. 分子植物育种, 3(5): 749—752
 Licky J, Matt J, Dickinson, et al. 2000. An approach identify disease resistance gene analogues in hevea Indian[J]. *J Nat Rubber Res*, 13(1 & 2): 79—85
 Pich U, Schubert I. 1993. Miniprep method for isolation of DNA from Plants with a high content of polyphenolics[J]. *Nucleic Acids Res*, 21(14): 3328—3332
 Scott OR, Bendich AJ. 1988. Extraction of DNA from plant tissue [J]. *Plant Mol Biol Manual*, 6: 1—10