

不同光强对弱光型盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元和生物量的影响

王菊凤¹, 李鹤鸣¹, 廖飞勇², 何平³

1. 吉首大学 植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首 416000

2. 中南林业科技大学环境艺术设计学院, 湖南 长沙 410004

3. 中国国际工程咨询公司, 北京 100044

摘要:目的 在生长光强为 1.5、10、30、55、100、270 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 下对弱光生态型盾叶薯蓣的薯蓣皂苷元和生物量分别进行测定, 以探讨不同光强与盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元和生物量的关系, 并找出弱光生态型盾叶薯蓣的最适生长光强。方法 采用 TLC 法和 RP-HPLC 法测定其根状茎中薯蓣皂苷元的量。结果 不同光强对盾叶薯蓣的薯蓣皂苷元的量有显著影响。在 100、55 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的光强下, 根状茎中薯蓣皂苷元的量最高, 分别占其干质量的 0.45% 和 0.55%。光照强度对盾叶薯蓣的生长有显著的影响, 在 30、55、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 下长势良好, 其中在 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 下生长最好。光照强度影响叶片的形状, 随着光照强度的增加, 叶片长与宽的比率也随之增加。在 270 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的强光照射下, 叶片长与宽的比率最大。光照强度能显著地影响植株的总叶面积, 在 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下植株总的叶面积最大, 总的生物量最高, 根状茎的生物量与整个植株生物量的比值最大。结论 弱光型盾叶薯蓣是一种薯蓣皂苷元量较高的薯蓣变种, 这将为该药源植物的选择育种以及栽培提供理论指导。

关键词: 光照强度; 盾叶薯蓣; 弱光型; 薯蓣皂苷元; 生物量

中图分类号: R282.71

文献标识码: A

文章编号: 02531-12670(2011)01-0171-05

Effect of different light intensity on diosgenin and biomass of *Dioscorea zingiberensis* of low-light intensity type

WANG Ju-feng¹, LI Hu-ming¹, LIAO Fei-yong², HE Ping³

1. Key Laboratory of Plant Resource Conservation and Utilization of College of Hunan Province, Jishou University, Jishou 416000, China

2. Environmental Art Design College of Central South Forestry University, Changsha 410004, China

3. China International Project Consultation Corporation, Beijing 100044, China

Key words: light intensity; *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; low-light intensity type; diosgenin; biomass

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright 属薯蓣科薯蓣属植物^[1], 可以治疗多种疾病^[2-5]。自 20 世纪 70 年代以来由于被过量开采, 其野生资源已接近枯竭。现在作为医药原料的盾叶薯蓣主要依靠我国南部山区人工种植而获得。

山区光照较强, 强光会引起光抑制和光破坏^[6-7], 表现为薯蓣皂苷元的产量低, 这样就不能满足需求。到目前为止, 对于盾叶薯蓣的研究主要集中在土壤、水和温度对其的影响上^[8]。因此, 选育出一种适合于山区生长, 并且薯蓣皂苷元量较高的变种是十分必要的^[9]。本实验研究了在不同光照强度下弱光生态型盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元的量和生物量的变化, 以期为该药源植物的选择育种以及栽培提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 材料

通过前期的工作^[10-11], 发现 24 个盾叶薯蓣生态型中有 3 个株型明显表现出对不同光强的适应性, 它们分别是弱光生态型盾叶薯蓣 (即弱光型盾叶薯蓣), 简称为 DZTL, 生长光强为 10 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 中等光强生态型盾叶薯蓣, 简称为 DZTM, 生长光强为 50 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$; 高光强生态型盾叶薯蓣, 简称为 DZTH, 生长光强为 270 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。本实验采用 DZTL, 生长光强分别为 1.5、10、30、55、100、270 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。

1.2 实验方法

1.2.1 样品提取与制备 准确称取经干燥、粉碎过的 DZTL 根状茎 200 g, 置圆底烧瓶中, 加入 2

收稿日期: 2010-03-29

基金项目: 德国国际学术交流中心 (DAAD) 资助项目; 湖南省自然科学基金资助项目 (04JJ3057)

作者简介: 王菊凤 (1965—), 女, 副研究员, 博士生, 主要从事植物生理生态及植物资源保护方面的研究。E-mail: wangchenyu888@126.com

mol/L H₂SO₄ 溶液, 在沸水浴上加热回流 4 h。冷却后, 用布氏漏斗抽滤, 滤渣用 50 g/L Na₂CO₃ 溶液洗至 pH 7, 再用水洗涤 3 次, 滤液于 80 °C 干燥箱中烘干, 得到样品提取物。称定质量, 计算得率。

1.2.2 薯蓣皂苷元的测定 参照顾生明等^[12]方法测定。用 2 mol/L HCl 溶解样品, 石油醚提取, 活性炭脱色, 提取物溶解在 CHCl₃ 中待用。用 TLC, 溶剂系统为氯仿-甲醇 (94:6), 磷钼酸-乙醇溶液显色。

准确称取样品提取物 0.2 g, 用乙醇溶解, 定容至 100 mL 量瓶, 制得样品溶液, 备用。进样前用 0.45 μm 滤膜滤过。用 RP-HPLC 进行定量分析。色谱条件: 色谱柱为 Li Chrospher 100 RP-C₁₈ (5 μm), 流动相: 甲醇-水=95:1; 体积流量: 0.7 mL/min; UV 检测波长: 210 nm; 进样量: 10 μL; 柱温: 室温。按上述色谱条件测定峰面积, 以薯蓣皂苷元的峰面积值为横坐标, 薯蓣皂苷元的质量浓度为纵坐标, 得到标准曲线: $Y=1.463\ 56 \times 10^{-6} X (r=0.999)$ 。其中 Y 表示薯蓣皂苷元的量 (μg); X 为标准薯蓣皂苷元的面积峰值 (约在 17 min 时出现)。

1.2.3 生物量的测定 用万分之一的分析天平称样品鲜质量 (叶片还计算其面积), 然后在 80 °C 下烘至质量不变, 然后再称其干质量。

2 结果与分析

2.1 光照强度对盾叶薯蓣根状茎中薯蓣皂苷元量的影响

在湿度、营养和盐分供给以及温度相同的条件下, 不同光强对盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元量有显著影响。薯蓣皂苷元的合成与光强条件有关, 相对来说 55~100 μmol/(m²·s) 的光强最合适。结果见表 1。

表 1 不同光照强度下盾叶薯蓣根状茎中薯蓣皂苷元的量
Table 1 Diosgenin in rhizomes of *D. zingiberensis* grown under different light intensities

光照强度/ (μmol·m ⁻² ·s ⁻¹)	薯蓣皂苷元/%	
	一年生植物	二年生植物
270	0.05±0.002	0.21±0.006
100	0.06±0.003	0.45±0.020
55	0.20±0.009	0.55±0.023
30	0.07±0.001	0.28±0.012
10	0.03±0.006	0.18±0.007

在 100 μmol/(m²·s) 和 55 μmol/(m²·s) 的光强下, 根状茎中薯蓣皂苷元的量最高, 分别占其干质量的

0.45% 和 0.55%。在弱光 10 μmol/(m²·s) 和强光 270 μmol/(m²·s) 下, 薯蓣皂苷元的量降低一半。因此, 盾叶薯蓣生长发育的合适光强与次生代谢合成的合适光强一致。显然次生代谢有赖于初生代谢提供能量, 光照强度过低或过强都会影响初生代谢, 进而影响次生代谢。

从表 1 可以看出, 一年生和二年生植株中薯蓣皂苷元的量不一样。一年生植株的根状茎中薯蓣皂苷元的量较低, 但在二年生植株中其量大幅度增加, 各组之间的差异幅度变小, 这可能与盾叶薯蓣在生理学水平的适应有关。

2.2 光照强度对盾叶薯蓣生长的影响

光照强度对盾叶薯蓣的生长有显著影响。实验表明生长在 100 μmol/(m²·s) 的植物长势最好。生长在光强为 1.5 μmol/(m²·s) 下的盾叶薯蓣在移植 91 d 后死亡; 虽然 10 μmol/(m²·s) 组的死亡率低, 但长势很差; 生长在强光 270 μmol/(m²·s) 下的植株相对来说要好些; 30、55、100 μmol/(m²·s) 组长势良好。即在本实验的条件下, 相对极端强光或弱光不利于盾叶薯蓣的生长, 这与王菊凤等^[13]的结果相似。

生长在 55 μmol/(m²·s) 光强下的植株在苗期表现出较好的生长态势, 但到了花期以后, 生长情况不良, 枝小叶稀。另一方面, 从 CO₂ 同化率、光系统 II (PSII) 和光合电子传递链 (PHC) 的电子传递速度、放氧活性数据来看^[14], 100 μmol/(m²·s) 光强下的综合生长状态最好。因此, 本实验条件下, 盾叶薯蓣生长最有利的光强为 100 μmol/(m²·s)。从地上部分来看, 生长在 270 μmol/(m²·s) 光强下的植株长得并不好, 但其根状茎较大, 仅次于 100 μmol/(m²·s), 很明显, 在 270 μmol/(m²·s) 光强下组制造了较多的光合产物贮存在根状茎中。综合前述的有关结果, 270 μmol/(m²·s) 光强下植株 CO₂ 同化率高是不难理解的, 但由于其地上部分受强光抑制而产量不高, 故整个植株的生物量并不是最高的 (表 2)。

2.3 光照强度对盾叶薯蓣单位叶面积和总叶面积的影响

图 1 显示, 叶片的大小与光强的关系呈抛物线。生长在 55 μmol/(m²·s) 光强下的植株叶片最大, 而其他组的植株其叶片都小一些。强光下是由于植株对强光的主动适应以获得适量的光辐射而避免强光对其的光损害。在相对较弱的光照下, 植株就会增加叶面积以获得更多的光能^[15-17]。通常强光下的叶片

表 2 光照强度对盾叶薯蓣生长的影响 (幼苗移植 75 d 后的测量数据)

Table 2 Influence of light intensities on growth of *D. zingiberensis* under different light intensities (measurement was carried out on 75 d after transplantation of seedlings)

生长光强/($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	幼苗死亡率/%	WL/($\text{mg}\cdot\text{cm}^{-2}$)	SL/cm	BS	GL	RY	GS
270	0.20	14.38	39.4	0.4	4.0	0.25	+
100	0.00	10.33	55.3	0.5	6.7	0.14	+++
55	0.00	9.28	57.4	0.9	8.5	0.05	+++
30	0.00	8.98	56.2	0.45	6.0	0.07	++
10	0.20	7.35	20.0	0.0	2.5	0.20	-
1.5	0.40	7.26	11.8	0.0	1.6	0.33	-

WL-单位叶面积的鲜质量, SL-茎的长度; BS-从根状茎发出的茎的数量; GL-每根茎的平均叶数; RY-死叶与黄叶占总叶数的比例; GS-生长状况, “+”表示好的程度, “-”差的程度

WL-fresh weight per leaf area; SL-stem length; BS-number of stems from rhizomes; GL-average number of leaves per stem; RY-proportion of dead leaves and yellow leaves in total number of leaves; GS-growth status, “+”indicating a better degree, “-”indicating a bad degree

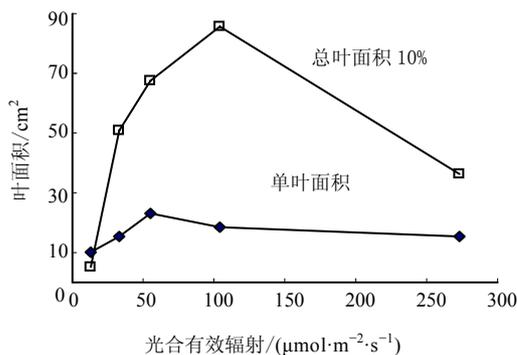


图 1 光照强度对盾叶薯蓣叶面积的影响

Fig. 1 Effect of light intensities on leaf area of *D. zingiberensis*

比弱光下的叶片要小一些,但是如果光强太低这个结论就不成立。在光强太低的条件下,植株在没有其他能量来源贮存的能量时,它们因得不到能量被迫缩小叶片。已得到补充实验的证实,在 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 的光强下,根状茎较大的盾叶薯蓣的叶片会比根状茎较小的盾叶薯蓣的叶片大一些。Heuvelink 等^[15]已证实同化物供应量的增加会导致叶片干质量的增加。光照强度能显著地影响植株总的叶面积(图 1)。在 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下的植株总的叶面积最大,其余的依次为 55、30、270、 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 。 $270 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下的植株叶片少、单叶面积小。在较差的环境条件中,光强为 $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光强只稍微高出光补偿点,植株仅能获得维持生命活动所需的能量^[18-19]。

由表 2 可以看出,单位叶面积的鲜质量随光照强度的增加而增加,单位叶面积的干质量(WULA)

也与此类似。图 2 显示光强与 WULA 之间的关系类似于光强与 CO_2 同化率以及光照与表观光合电子传递速率(ETR)之间的关系。事实上,WULA 是光合作用在某种程度上长期作用的结果^[19-21]。

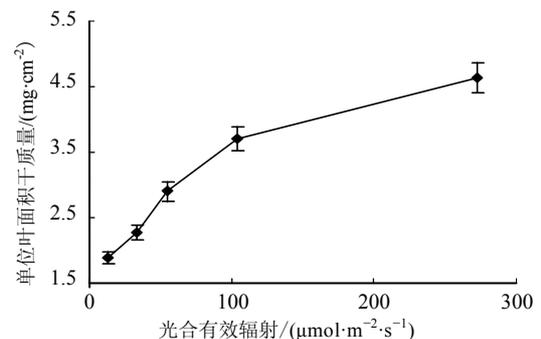


图 2 光照强度对盾叶薯蓣单位叶面积质量的影响 (n=4)

Fig. 2 Effect of light intensities on weight of unit leaf area of *D. zingiberensis* (n=4)

2.4 光照强度对盾叶薯蓣生物量及其分布的影响

表 3 表明 $100 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下植株的部分生物量和总的生物量都是最高的,而其他组因为不同物质分布策略,所以各部分的生物量明显不同。

从表 4 可知, $270 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下植株的根状茎较大,占整个生物量的 61%, $10 \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下地上部分的生物量相对较高占整个生物量的 59%。显然,地上部分生物量与整个植株的生物量的比值随光强的减少而逐渐增加,地下部分的生物量与整个植株的生物量的比值随光强的减少而逐渐减少。

盾叶薯蓣地上部分生物量与整个植株生物量的

表 3 不同光照强度下盾叶薯蓣生物量 (干质量, 幼苗移植 135 d 后测定)

Table 3 Biomass of *D. zingiberensis* under different light intensities (dry weight, 135 d after transplantation of seedlings)

生长光强/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	ML/g	SW/g	MRS/g	MR/g	TB/g	<i>n</i>
270	0.80±0.015	0.78±0.065	4.38±0.337	1.22±0.011	7.18±0.267	14
100	2.14±0.074	2.22±0.037	4.74±0.535	1.39±0.103	10.49±1.231	18
55	1.54±0.011	1.64±0.015	2.87±0.112	0.70±0.023	6.75±0.174	18
30	1.06±0.009	1.07±0.023	1.49±0.109	0.37±0.021	3.99±0.405	18
10	0.10±0.003	0.12±0.008	0.12±0.004	0.03±0.005	0.37±0.046	11
1.5	(死亡)					0

ML-每株植物的平均叶质量, SW-每株植物平均茎质量, MRS-每株植物的平均根状茎质量, MR-每株植物的平均根质量, TB-总生物量, *n*-统计植株数

ML-average weight of leaves per plant, SW-average weight of stems per plant, MRS-average weight of rhizomes per plant, MR-average weight of roots per plant, TB-total biomass, *n*-statistics number of plants

表 4 不同光照强度下盾叶薯蓣各部生物量的比值

Table 4 Ratios of biomass in every part of *D. zingiberensis* grown under different light intensities

生长光强/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)	SU/TB	AG/TB	MRS/TB	ML/TB	AG/SU
270	0.78	0.22	0.61	0.11	0.28
100	0.58	0.42	0.45	0.20	0.69
55	0.53	0.47	0.42	0.23	0.89
30	0.47	0.53	0.37	0.26	1.14
10	0.41	0.59	0.32	0.27	1.18

SU-地下部分, TB-总生物量, AG-地上部分, MRS-每株植物的平均根状茎质量, ML-每株植物的平均叶质量

SU-biomass underground, TB- total biomass, AG-biomass above ground, MRS-average weight of rhizomes per plant, ML-average weight of leaves per plant

比值、根状茎的生物量与整个植株生物量的比值、叶片的生物量与整个植株生物量的比值, 以及地上部分的生物量与地下部分的生物量的比值明显地反映出植物对光环境的适应机制。这种机制可以被看作是在不同光强下盾叶薯蓣物质的分布规律和分配策略。

3 讨论

一般来说, 环境光照强度越弱, 地上部分 (尤其是叶片) 的相对生物量就越多, 而地下部分的存储物—根状茎的生物量越少, 这是为了得到更多的光能。相反, 环境光照越强, 地上部分生物量就越少而地下部分储备物的生物量就越多。在本实验中, 100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下的根状茎较大。270、100 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 光强下盾叶薯蓣根状茎的生物量与整个植株生物量的比值最大, 且非经济成分

少。这个结果在实际应用中是非常重要的。在山区, 一天中大部分时间的光强都高于我们实验中的光强, 因此, 这可能是人工栽培盾叶薯蓣产量低的原因。因而在栽培实践中除了选育适应强光的盾叶薯蓣外, 在种植时选择适当的生长光强对于提高根状茎比例和薯蓣皂苷元的量也具有十分重要的意义。

参考文献

- [1] 丁志遵. 甾体激素药源植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] Araghiniknam M, Chung S, Nelson-white T, *et al.* Anti-oxidant activity of Dioscorea and dehydroepiandrosterone (DHEA) in older humans [J]. *Life Sci*, 1996, 59: 147-157.
- [3] Juarez-Oropeza M A, Diaz-Zagoya J C, Rabinowitz J L. *In vivo* and *in vitro* studies of hypocholesteremic effects of diosgenin in rats [J]. *Int J Biochemi*, 1987, 19: 679-683.
- [4] Yamada T, Hoshino M, Hayakawa T, *et al.* Dietary diosgenin attenuates subacute intestinal inflammation associated with indomethacin in rats [J]. *Am J Physiol*, 1997, 270: G355-G364.
- [5] Ball M C, Egerton J J G, Leuning R L, *et al.* Microclimate above grass adversely affects spring growth of seedling snow gum (*Eucalyptus pauciflora*). *Plant [J]. Cell Environ*, 1997, 20: 155-166.
- [6] Sonoike K. Various aspects of inhibition of photosynthesis under light/chilling stress: "Photoinhibition at chilling temperature" versus "Chilling damage in the light" [J]. *J Plant Res*, 1998, 111:121-129.
- [7] 周雪林. 盾叶薯蓣引种栽培研究 [J]. 中草药, 1989, 20(10): 35-37.

- [8] LI H M, He P. Photosynthetic activities and growth of *Dioscorea zingiberensis* (wild type) under different light intensity [J]. *J App Ecol*, 2002, accepted.
- [9] Zhu J Y, Wang J F. Studies on the contents of main nutrient elements and their dynamics in *Dioscorea zingiberensis* [J]. *J Jishou Univ (Natural Sci)*, 2000, 21(3): 7-10.
- [10] 朱杰英, 王菊凤, 陈功锡, 等. 野外条件下光强对盾叶薯蓣影响的初步研究 [J]. *生命科学研究*, 2001, 6(2):155-159.
- [11] 顾生明. 薯蓣皂苷元的气相色谱分析 [J]. *植物学报*, 1980, 22(2): 204-206.
- [12] Wang S H. Effects of light on the growth and morphology of four tree seedling of a monsoon rain forest [J]. *Bull Taiwan Forest Res Institute New Series*, 1995, 10 (4): 405-418.
- [13] 王菊凤, 李鹤鸣, 廖飞勇, 等. 弱光生态型盾叶薯蓣对不同光照的长期适应——光合速率、光呼吸和电子传递速率的变化 [J]. *中南林学院学报*, 2006, 26(1): 27-33.
- [14] Heuvelink E Marcelis L F. M. Influence of assimilate supply on leaf formation in sweet pepper and tomato [J]. *J Hort Sci*, 1996, 71(3):405-414.
- [15] Lee H S, Kwack B H. Effects of uniconazole, GA and light intensity on growth of *Hibiscus syriacus* for pot culture [J]. *J Kor Soc Hort Sci*, 1993, 34(1): 81-89.
- [16] Mooney H A, Fichter K, Schulze E D. Growth, photosynthesis and storage of carbohydrates and nitrogen in *Phaseolus lunatus* in relation to resource availability [J]. *Oecologia*, 1995, 104(1): 17-23.
- [17] Naoki U, Hirokazu H. Effects of irradiance level on the growth and photosynthesis of cherimoya, sugar apple and soursop seedlings [J]. *Environ Contr Biol*, 1996, 34(3): 201-207.
- [18] Cho J H, Hong S G, Kim J J. Growth and critical light intensity of cotyledon stage of *Cornus contrversa* Hemsl. Seedling [J]. *J Kor For Soc*, 1998, 87(3): 493-500.
- [19] Zhang S, Hennessey T G, Heinemann R A. Acclimation of loblolly pine (*Pinus taeda*) foliage to light intensity as related to leaf nitrogen availability [J]. *Can J For Res*, 1997, 27(7): 1032-1040.
- [20] Naoki U, Hirokazu H. Effects of irradiance level on the growth and photosynthesis of cherimoya, sugar apple and soursop seedlings [J]. *Environ Contr Biol*, 1996, 34(3): 201-207.

郑重声明

天津中草药杂志社（出版《中草药》、*Chinese Herbal Medicines* (CHM)、《现代药物与临床》、《药物评价研究》4 本期刊）未与任何单位或个人签署版面合作及论文代理发表协议，凡是以天津中草药杂志社及其所属期刊的名义进行的版面合作及论文代理发表等非法活动，均严重侵害了天津中草药杂志社的合法权益，天津中草药杂志社将保留对其采取法律行动的权利，特此郑重声明。

希望广大作者、读者认准天津中草药杂志社门户网站“www.中草药杂志社.中国或 www.tiprpress.com”，切勿上当受骗；若发现假冒天津中草药杂志社及所属期刊的情况，请检举揭发。

电话：022-27474913 E-mail: zcy@tiprpress.com

天津中草药杂志社