

· 中药农业 ·

不同栽培年限珠子参在不同生长期的光合特性及保护酶活性研究[△]

黄文静, 王楠, 李铂, 孙晓春, 王征, 刘妍如, 杨洁, 唐志书*

(陕西中医药大学 陕西省中药资源产业化协同创新中心, 陕西 咸阳 712083)

[摘要] 目的: 为珠子参高效优质人工栽培技术提供研究基础。方法: 在一个生长周期内对不同栽培年限珠子参主要农艺性状、叶片光合特性、叶绿素和丙二醛含量、保护酶活性进行测定, 用 Excel 与 SPSS 软件处理数据。结果: 3年生珠子参地上部分生长旺盛, 叶绿素含量和保护酶活性高, 对光能的捕获、有机物的同化、以及对环境的适应能力高于2年生和苗期珠子参。结论: 人工栽培珠子参, 应根据栽培年限和生长阶段的不同采取相应的遮阴措施。

[关键词] 珠子参; 栽培年限; 光合特性; 保护酶活性

Study on Photosynthetic Characteristics and Protective Enzyme Activities in *Panax japonicus* var. *major* of Different Cultivated Years

HUANG Wenjing, WANG Nan, Li Bo, SUN Xiaochun, Wang Zheng, LIU Yanru, YANG Jie, TANG Zhishu*

(Shaanxi University of Chinese Medicine /Shaanxi Collaborative Innovation Center of Chinese Medicinal Resources Industrialization, Xianyang 712083, China)

[Abstract] **Objective:** To provide the basis for efficient and effective cultivation techniques of *Panax Japonicus* var. *major* (PMR). **Methods:** Agronomic trait, photosynthetic characteristics of leaves, content of chlorophyll and malonaldehyde, protective enzyme activities were measured in the one and the same growth cycle. The data were counted and analyzed by Excel and SPSS software. **Results:** There were significant different in photosynthetic characteristics and protective enzyme activities among PMR in different growth age. Over ground part of 3-year-old PMR grown vigorously and had higher content of chlorophyll and malonaldehyde. The capture of light energy, assimilation of organic matter and ability to adapt to the environment of 3-year-old PMR was higher than those of 2-year-old and seedling stage PMR. **Conclusion:** Shading measure should be taken according to the cultivated years and growth stage in artificial cultivated PMR.

[Keywords] *Panax Japonicus* var. *major* (PMR); cultivated years; photosynthetic characteristics; protective enzyme activities

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.2017.10.013

珠子参 *Panacis Majoris Rhizoma* (PMR) 系五加科多年生草本植物珠子参 *Panax japonicus* C. A. Meg var. *major* (Burk.) C. Y. Wu et Feng ex C. Chow 的干燥根茎, 别名扣子七、钮子七、疙瘩七等, 为自1977年起历版《中华人民共和国药典》所收录, 其干燥茎及叶亦为民间常用药材^[1]。珠子参野生资源主要分布于云南金沙江、澜沧江、怒江流域以及陕

西秦巴山区太白、眉县一带, 甘肃陇南等地偶有零星分布^[2]。商品珠子参主要源自野生采挖, 但其资源已难以满足市场需求, 野生珠子参已处于极度濒危状态。此前对珠子参的研究多集中在化学成分、药理活性、临床应用和资源分布方面^[3-5], 珠子参生态特性方面的报道不多, 这对于珠子参的人工抚育和人工栽培是极其不利的。野生珠子参生长缓

[△] [基金项目] 陕西省社会发展科技攻关项目(2015SF300); 陕西省教育厅自然科学专项项目(15JK1206); 陕西省教育厅人文社科专项(15JK1193); 陕西中医药大学科研基金项目(2016QN34)

* [通信作者] 唐志书, 教授, 研究方向: 中药资源开发与综合利用; E-mail: tzs6565@163.com

慢, 成药周期较长, 多生于溪边林下、灌木丛下、山坡阴面等荫蔽湿润的环境, 具有喜阴、怕干旱等特性。在众多影响珠子参生长发育的因素中(光、水分、温度、土壤等), 光照对其地上部分结构的建成和道地性的形成有显著影响^[6]; 叶绿素含量、光合速率是评价植物耐阴性的重要生理指标, 对揭示植物光合特性有重要的作用, 同种植物在不同的生长发育阶段的光合特性也不尽相同^[7]。基于此, 我们期望通过对不同栽培年限的珠子参光合特性和保护酶活性等方面的研究, 为珠子参资源保护、引种驯化和人工栽培提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料及实验设计

供试实验材料种植于陕西太白县鹦鸽镇珠子参苗圃。该地地处东经 107°40′, 北纬 54°8′, 海拔 1754 m, 年均日照时数 2085 h, 年平均气温 9 ~ 10 ℃, 夏季平均气温 20.5 ℃, 年降水量 652 mm。实验用不同年份珠子参均为种子直播, 1 ~ 3 年生珠子参分别为 2015、2014 和 2013 年秋播实生苗, 经不同程度间苗后保证株行距为 10 cm × 15 cm, 搭建遮阴网一层, 荫棚透光率约为全光照的 70%。

苗圃内珠子参于 2016 年 4 月中下旬萌发出芽, 8 月下旬至 9 月上旬地上部分逐渐枯萎, 各不同栽培年限珠子参每次采样时选取同一小区内 3 株长势基本一致的植株记录主要农艺性状; 每株随机选取同一叶位(自下而上第一批叶)同一掌状复叶中的 3 片小叶(相当于 9 次重复)测定光合作用指标。生理指标的测定于 2016 年 6 月 10 日采样, 将测定完光合作用指标的叶片剪下, 做好标记, 经液氮速冻后存入冰盒中, 随后测定叶绿素含量、丙二醛含量和保护酶活性。

1.2 实验方法

1.2.1 珠子参农艺性状测定 珠子参株高和叶柄长度采用直尺测量, 主茎粗使用游标卡尺测量。

1.2.2 叶片光合参数的测定 分别于 5 月 10 日、6 月 10 日、7 月 10 日和 8 月 5 日当天的 10 时至 12 时, 用 Li-6400XT 便携式光合仪(Li-COR, USA)

测定叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(T_r)及细胞间 CO_2 浓度(C_i)等参数, 测定时用普通叶室自然光, CO_2 气体由小钢瓶提供, 控制浓度为 $400 \mu mol \cdot mol^{-1}$ 。

1.2.3 叶绿素和丙二醛含量的测定 叶片叶绿素含量采用丙酮法提取^[8], 分光光度计法测定: 取 0.5 g 鲜叶, 加入少许 $CaCO_3$ 和石英砂, 用 80% 丙酮研磨提取后, 于 663 nm 和 645 nm 处测定吸光度, 计算总叶绿素含量。丙二醛(MDA)含量采用双组分分光光度法测定, 含量以 $nmol \cdot g^{-1} FW$ 表示。

1.2.4 保护酶活性的测定 SOD 活性测定参照高俊凤的方法^[8], NBT(氮蓝四唑)光还原法测定, 以抑制 NBT 光还原反应 50% 所需的酶量为一个酶活性单位(U), 活性以 $U \cdot g^{-1} FW \cdot h^{-1}$ 表示; CAT 活性采用紫外吸收法测定, 以 1 min 内 OD240 降低 0.1 为一个酶活性单位(U), 活性以 $U \cdot g^{-1} FW \cdot min^{-1}$ 表示; POD 活性测定采用分光光度计法, 以每分钟 OD470 变化 0.01 为一个过氧化物酶活性单位(U), 活性以 $U \cdot g^{-1} FW \cdot min^{-1}$ 表示。

1.3 数据处理

试验数据采用 Microsoft Excel 和 SPSS12.0 软件进行整理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同栽培年限珠子参主要农艺性状变化情况

通过对不同栽培年限的珠子参测定株高、主茎粗、叶片数和叶柄长可知(图 1), 珠子参地上部分从春季萌发至 6 月初经历了一个快速生长的阶段, 各主要农艺性状从 5 月 10 日初次采样至 6 月 10 日第二次采样其数值均有大幅度的增加。6 月之后虽然株高等有所增加, 但其增高趋势逐渐变缓, 尤其以一年生和二年生珠子参较为明显。一年生珠子参在株高和叶柄长度上变化较大, 主茎粗和叶片数变化较小; 二年生珠子参各农艺性状除株高在 8 月份达到最大, 其他指标均在 7 月达到最大值, 至 8 月时有所回落; 3 年生珠子参各农艺性状在同一时期内均高于二年和一年生珠子参, 从春季地上部分萌发至 8 月下旬地上部分出现倒伏, 三年生珠子参一直保持着较为旺盛的生长势头。

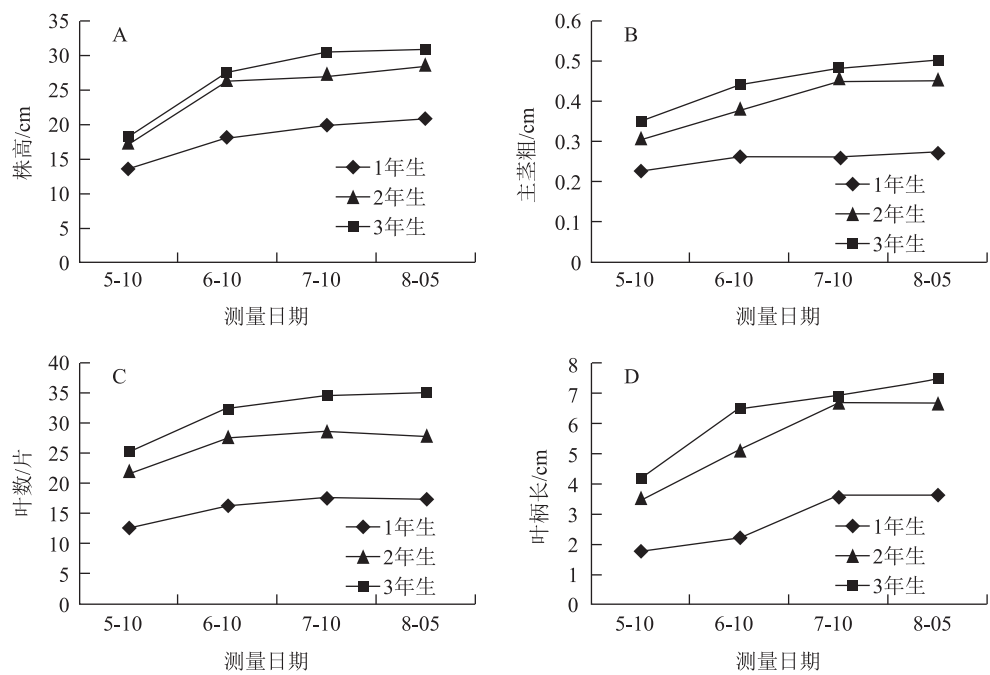


图 1 不同栽培年限珠子参主要农艺性状变化

2.2 不同栽培年限珠子参叶片光合特性变化情况

由表 1 可知不同栽培年限的珠子参叶光合生理指标存在极大差异, 5 月 10 日测量时, 三年生珠子参叶净光合速率(P_n)是一年生和二年生的 1.9 倍和 1.42 倍, 三者之间差异极显著; 二年生和三年生珠子参在气孔导度(G_s)、蒸腾速率(Tr)和胞间 CO_2 浓度(C_i)上无显著差异; 不同栽培年限珠子参叶片 C_i 间差异均不显著。6 月 10 日测量时, 三年生珠子参的 P_n 、 G_s 、 Tr 和 C_i 分别为一年生珠子参的 4 倍、2.64 倍、2.9 倍和 1.3 倍; 除 C_i 值为 2 年生珠子参最高外, 其他光合指标均为三年生珠子参最大; 各

光合指标在不同栽培年限珠子参间差异均达到极显著水平。7 月和 8 月测量时, 三年生珠子参除 C_i 值小于二年生珠子参外, 其他值均大于一年生和二年生珠子参。不同栽培年限珠子参的 P_n 、 G_s 和 Tr 总体上为先升高后缓慢下降的趋势, 其平均值在 5 月时最小, 随后快速升高, 至 7 月时达到峰值, 8 月又有所下降; 其中二年和三年生珠子参变化较大, 7 月时的 P_n 值较 5 月分别增长了 212.56% 和 157.85%; C_i 在叶片生长过程中的变化较其他光合指标较小, 一年生珠子参在 5 至 8 月的 4 次测量中差异均不显著。

表 1 不同栽培年限珠子参叶片光合特性变化情况

采样时间	栽培年限	$P_n/\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$G_s/\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$Tr/\text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$	$C_i/\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$
5-10	1 年生	1.37 ± 0.02 H	0.014 ± 0.001 D	0.81 ± 0.11 G	136.00 ± 16.52 E
	2 年生	1.83 ± 0.17 FG	0.025 ± 0.002 BC	2.33 ± 0.18 C	166.33 ± 9.71 E
	3 年生	2.61 ± 0.07 E	0.024 ± 0.005 BC	2.29 ± 0.17 CD	156.67 ± 9.07 E
6-10	1 年生	1.62 ± 0.09 GH	0.017 ± 0.003 CD	1.29 ± 0.06 F	159.33 ± 13.32 E
	2 年生	5.58 ± 0.16 B	0.031 ± 0.002 B	2.83 ± 0.13 B	256.00 ± 9.54 BC
	3 年生	6.56 ± 0.19 A	0.045 ± 0.005 A	3.75 ± 0.17 A	206.00 ± 6.00 D
7-10	1 年生	2.14 ± 0.15 F	0.025 ± 0.004 BC	1.95 ± 0.07 DE	139.00 ± 11.79 E
	2 年生	5.72 ± 0.12 B	0.041 ± 0.004 A	2.79 ± 0.22 B	307.00 ± 22.11 A
	3 年生	6.73 ± 0.12 A	0.047 ± 0.005 A	3.89 ± 0.16 A	232.33 ± 11.50 CD
8-05	1 年生	1.35 ± 0.14 H	0.014 ± 0.004 D	1.31 ± 0.11 F	139.67 ± 10.21 E
	2 年生	3.63 ± 0.25 D	0.019 ± 0.003 CD	1.24 ± 0.25 F	279.00 ± 14.18 AB
	3 年生	4.07 ± 0.19 C	0.022 ± 0.004 BCD	1.69 ± 0.15 E	159.67 ± 6.03 E

2.3 不同栽培年限珠子参生理指标变化情况

从表 2 可知, 三年生珠子参叶片叶绿素含量最高, 其次为二年生珠子参, 3 者达到极显著差异水平; 虽然一年生珠子参叶 MDA 含量高于二年和三年生珠子参, 但三者差异不显著。叶片保护酶 SOD、

CAT 和 POD 活性均以 3 年生珠子参最高, 分别为一年生珠子参的 2.14 倍、2.11 倍和 1.97 倍, 两者间达到极显著差异水平, 但二年生和三年生珠子参叶片保护酶活性差异不显著。

表 2 不同栽培年限珠子参生理指标

栽培年限	叶绿素含量/ $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	CAT/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$	POD/ $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$
1 年生	$1.62 \pm 0.05 \text{ C}$	$53.36 \pm 3.34 \text{ A}$	$128.00 \pm 18.26 \text{ B}$	$52.74 \pm 4.03 \text{ B}$	$206.35 \pm 19.05 \text{ B}$
2 年生	$2.76 \pm 0.08 \text{ B}$	$46.67 \pm 4.65 \text{ A}$	$255.74 \pm 16.42 \text{ A}$	$100.46 \pm 11.17 \text{ A}$	$355.35 \pm 30.48 \text{ A}$
3 年生	$3.27 \pm 0.06 \text{ A}$	$45.88 \pm 3.09 \text{ A}$	$275.36 \pm 15.33 \text{ A}$	$110.70 \pm 9.17 \text{ A}$	$406.09 \pm 15.46 \text{ A}$

3 结论与讨论

通过对不同栽培年限珠子参进行观察, 无论是一年生还是三年生珠子参从地上部分出土至叶片完全展开仅需 10 d 左右, 到 8 月中下旬时, 珠子参地上部分逐渐枯萎到全部倒伏所经历的时间也极其短暂。5 月至 6 月是珠子参地上部分生长发育最快的时期, 在此期间珠子参株高、叶片数和叶柄长度变化明显, 二年和三年生珠子参主茎粗变化明显。7 月时珠子参地上部分的生物产量达到最大值, 到最后枯萎倒伏前均保持在一个较高水平。三年生珠子参各农艺性状均高于同时期测量的二年和一年生珠子参, 这从一定程度上反映了珠子参第三年的生长是迅速和关键的, 因此栽培珠子参通常生长三年以上才进行采挖和收获^[9]。

植物光合生理特性和水分代谢与其所处的环境密切相关, 叶片净光合速率代表了植物同化有机物的能力, 而蒸腾速率则影响着气孔导度与植物吸收水分的能力, 这些指标对植物所处生境的变化相当敏感^[10]。野生珠子参通常生长在荫蔽的林下溪边, 每年地上部分的生长时间只有 150 d 左右, 如何利用有限的生长条件和时间完成一个生长周期是珠子参种群得以延续的关键。5 月时气温尚低, 叶片净光合速率、叶片蒸腾速率和气孔导度较小; 至 6 月时气温有所升高、光照充足雨量充沛, 此时光合作用变强加速了有机物的同化, 地上部分迅速生长; 7 月时气温高、光照时间和强度增大, 此时珠子参叶片净光合速率增加到最大值, 但由于气孔过度开放和蒸腾作用变强, 此时“源”所提供的能量和营养一部分供自身消耗, 更大的一部分用于输送向地下部分的“库”, 因此地上部分的生长变缓, 这与 7

~8 月份是珠子参地下部分迅速膨大时期的结论相一致^[9,11]。

叶绿素含量是反映植物光合作用能力的一个重要指标, 荫蔽环境下高的叶绿素含量不仅有利于对光能的捕获和吸收同时还有利于对弱光的利用^[12], 三年生珠子参叶片叶绿素含量远高于二年生和一年生珠子参, 结合农艺性状和光合指标来看, 珠子参生长年限越长其地上部分的生长速度越快。植物体内有一套与活性氧产生和清除相关的保护酶系统, 在植物应对环境刺激和变化时能够在很大程度上平衡活性氧自由基, 保护植物膜系统结构和功能的稳定, 避免细胞受到伤害^[13]。通过检测发现, 不同年份珠子参 MDA 含量无显著差异, 三年生和二年生珠子参 SOD、POD 和 CAT 含量均高于一年生珠子参, 差异达极显著水平, 说明与二年和三年生珠子参相比, 苗期(一年生)珠子参对环境的适应能力较弱, 这也与其植株较小, 光合速率低有极大的关系。

利用覆膜、遮阴、滴灌等现代科技结合植物特殊的生物学特性来规范各个环节的种植生长过程, 有针对性在植物各个生长时期采取不同方式措施进行管理是现代栽培的关键^[14], 探明珠子参需光规律和光合特性有利于后期采取相应的如遮阴等栽培措施, 为珠子参的生长提供适宜的人工栽培环境。珠子参为阴生植物, 对光敏感, 处于不同栽培年限和发育阶段的植株对光照的反应有差异^[15], 此外不同居群的珠子参光和特性也有所不同^[13]。从本次实验看来, 二年生以上珠子参, 各器官的生长动态比苗期(一年生)珠子参的好; 珠子参幼苗需光量较小, 若阳光直射则生长缓慢; 1 年以上生的珠子参植株可耐受一定强度的直光照射, 这与李霞^[14]和赵新礼^[15-16]的研究结果相一致。目前, 在珠子参栽培当

中使用遮阳网遮阴已达成共识^[17],但何时使用遮阳网遮阴、透光率如何选择尚未进行系统的研究。通过本次研究笔者认为,在人工栽培珠子参时应根据栽培年限的不同选取不同透光率的遮阳网遮阴,1年生珠子参遮阳网的透光率应小于二年和三年生珠子参;7月时应适度加盖遮阳网减少透光率,降低环境温度以利于珠子参叶片的生长和发育。

参考文献

- [1] 刘妍如,史鑫波,陈永琴,等. HPLC-ESI-MS/MS 法同时测定珠子参中 15 种皂苷类化合物[J]. 中草药,2016,47(19):3502-3507.
- [2] 王薇,刘超,崔九成,等. 珠子参种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中草药,2014,45(17):2525-2529.
- [3] 许苗苗,宋蓓,杨新杰,等. 高效液相色谱法同时测定珠子参中 4 种化学成分的含量[J]. 中南药学,2014,12(8):796-799.
- [4] 张继红,邓为,石孟琼,等. 珠子参皂苷对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用[J]. 中药药理与临床,2014,30(5):73-78.
- [5] 刘爱华,石孟琼,杨文雁,等. 珠子参总皂苷对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用及机制研[J]. 中国临床药理学与治疗学,2013,18(11):1224-1232.
- [6] 刘超. 秦巴山区人参属中药珠子参道地性及主导因子研究[D]. 咸阳:陕西中医学院,2013
- [7] 沈允钢,施教耐,许大全. 动态光合作用[M]. 北京:科学出版社,1998:129.
- [8] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006
- [9] 刘万里,刘婷,何忠军,等. 珠子参规范化栽培技术[J]. 陕西农业科学,2014,60(8):127-128.
- [10] 马成仓,高玉葆,王金龙,等. 小叶锦鸡儿和狭叶锦鸡儿的光合特性及保护酶系统比较[J]. 生态学报,2004,24(8):1594-1601.
- [11] 赵仁,赵毅,何双凌,等. 珠子参生产技术标准操作规程(SOP)[J]. 中国现代中药,2014,16(7):556-560.
- [12] 左应梅,杨维泽,杨天梅,等. 干旱胁迫下 4 种人参属植物抗性生理指标的比较[J]. 作物杂志,2016(3):84-88.
- [13] 左应梅,张金渝,杨维泽,等. 珠子参不同居群的光合特性及保护酶活性比较[J]. 广东农业科学,2014,(23):16-19.
- [14] 李霞,赵仁,和国海,等. 珠子参引种栽培的生长动态分析[J]. 云南中医学院学报,2013,36(1):26-30.
- [15] 赵新礼. 珠子参生态学和生物学特性的研究[J]. 现代中药研究与实践,2015,29(6):14-17.
- [16] 赵新礼. 珠子参生殖生物学特性的研究[J]. 中国现代中药,2015,17(12):1298-1301.
- [17] 郭乔仪,赵家英,鲁菊芬,等. 珠子参根茎繁殖初步研究[J]. 楚雄师范学院学报,2016,31(3):41-44.

(收稿日期 2017-04-06)