

· 中药农业 ·

不同遮阴处理对七叶一枝花生长 光合特性及品质的影响<sup>△</sup>

陈雅兰, 曾卿, 刘畅, 廖登群, 李先恩\*

中国医学科学院 北京协和医学院 药用植物研究所, 北京 100193

**[摘要]** 目的: 七叶一枝花是典型的阴生植物, 研究不同遮阴条件对七叶一枝花叶片光合作用、生长和代谢产物含量的影响。方法: 在 85% 和 95% 遮阴条件下, 采用紫外-可见分光光度法测定七叶一枝花叶片的光合色素含量, 运用便携式光合作用测定仪测定叶片净光合速率 ( $P_n$ )、胞间二氧化碳浓度 ( $C_i$ )、蒸腾速率 ( $T_r$ )、气孔导度 ( $G_s$ ) 并拟合光响应曲线, 测定植株的生长指标并利用超高效液相色谱-紫外法 (UPLC-UV) 与高效液相色谱-蒸发光散射检测法 (HPLC-ELSD) 测定不同部位皂苷类及糖类成分含量。结果: 95% 遮阴条件下叶绿素含量与植株生长指标均优于 85% 遮阴; 95% 遮阴条件下叶片的日光合速率低于 85% 遮阴, 但  $C_i$ 、 $T_r$  和  $G_s$  的光响应差异无统计学意义; 不同遮阴条件对重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 H、薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷含量有极显著影响, 且往年生根茎和须根中重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VII 总量在 2 种遮阴条件下差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 85% 遮阴较高; 不同遮阴条件对根部的蔗糖含量影响较大, 95% 遮阴处理蔗糖含量较高。七叶一枝花移栽到北京后极喜阴, 在 95% 遮阴下植株农艺性状得到改善。结论: 研究结果为开展优化遮阴度和遮阴时间以平衡植物生长、增加活性代谢产物的积累研究提供参考。

**[关键词]** 七叶一枝花; 遮阴; 生长; 光合; 品质

**[中图分类号]** R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)11-1934-08

**doi:** 10.13313/j.issn.1673-4890.20210309002

**Effects of Shading on Growth, Photosynthesis, and Quality of *Paris polyphylla* var. *chinensis***

CHEN Ya-lan, ZENG Qing, LIU Chang, LIAO Deng-qun, LI Xian-en\*

*Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China*

**[Abstract]** **Objective:** *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara (PPC) is a typical shady plant, its growth, development, and metabolite accumulation are benefit from proper shading. **Methods:** A field experiment containing two shading treatments was carried out to investigate the effects of shading intensity on the photosynthesis, growth, and metabolite content of PPC. The photosynthetic pigment content and photosynthetic characteristics including  $P_n$  (net photosynthetic rate),  $C_i$  (intercellular carbon dioxide concentration),  $T_r$  (transpiration rate), and  $G_s$  (stomatal conductance) were measured during the growth stage of PPC in summer. UPLC-UV and HPLC-ELSD were respectively employed to determine the contents of eight saponins and four sugars in different PPC tissues. **Results:** The results showed that PPC plants grown under 95% shading condition had higher chlorophyll content and larger aboveground growth indicators than the plants under 85% shading condition. The PPC plants under two shading conditions showed no significant differences in  $C_i$ ,  $T_r$ , or  $G_s$ . However, 85%-shaded leaves had a higher daily photosynthetic rate than 95%-shaded leaves. Overall, the contents of saponins, especially the abundant saponins, were higher in old and new rhizomes, fibrous roots, and leaves under 85% shading condition than under 95% shading condition. Sugar content was less affected by shading intensity, and only sucrose content showed a small difference between two shading treatments. **Conclusion:** These results provide a theoretical basis to optimize shading intensity and duration to balance plant growth and increase accumulation of active metabolites in medicinal plants.

**[Keywords]** *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara; shading; plant growth; photosynthesis; quality

<sup>△</sup> **[基金项目]** 国家重点研发计划项目 (2017YFC1700706); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2017-I2M-3-013)

\* **[通信作者]** 李先恩, 研究员, 研究方向: 中药栽培; Tel: (010) 57833431, E-mail: xeli@implad.ac.cn

七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara 为百合科重楼属阴生植物, 主要分布在中国西南地区, 如四川、福建、湖南<sup>[1]</sup>, 以干燥后的块茎入药, 味苦, 性微寒, 具有消肿止痛、清热解毒的功效。现代研究表明, 七叶一枝花具有抗肿瘤<sup>[2]</sup>、抗氧化<sup>[3]</sup>、止血抑菌<sup>[4]</sup>等作用, 其有效成分主要为甾体类活性成分<sup>[5-6]</sup>, 包括重楼皂苷 I、重楼皂苷 II、重楼皂苷 VI、重楼皂苷 VII 等。近年来随着市场需求扩大, 重楼野生资源面临枯竭, 开展遮阴田<sup>[7-8]</sup>或林下<sup>[9]</sup>栽培成为解决资源问题的有效途径之一。

光是影响植物生理状态和生长的重要生态因子, 光照不足或光照过强对植物生长品质、物质积累和经济性状影响较大<sup>[10-12]</sup>。对于阴生植物, 强光带来的光抑制会影响净光合速率、叶绿素含量和表观量子效率, 对植物的生长发育带来极大的损害。七叶一枝花作为多年生阴生药用植物, 生长在潮湿的遮阴环境中(如山谷或林下)。多项研究表明, 不同程度遮阴条件下的七叶一枝花具有不同的光合特性, 总皂苷含量也存在一定的差异<sup>[13-16]</sup>。本研究设计2种遮阴度以探讨遮阴度对七叶一枝花生长过程中光合作用参数的影响。在采收时测定不同组织中主要皂苷类成分和可溶性糖的含量, 比较不同遮阴度下不同组织中代谢物的差异, 进而揭示七叶一枝花适宜光照条件, 为人工栽培和引种驯化提供参考。

## 1 材料

### 1.1 仪器

GFS-3000 型便携式光合作用测定仪(上海泽泉科技股份有限公司); UV 2550 型紫外-可见分光光度计(日本岛津公司); ACQUITY UHPLC-CLASS 型超高效液相色谱系统-紫外检测器、2695 型高效液相色谱-2424 型蒸发光散射检测器(美国 Waters 公司); KQ 5200 DV 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); XSE 205 Dual Range 型电子天平(上海生物工程有限公司); DFT-100C 型 100 g 手提式高速粉碎机(温岭市林大机械有限公司); DHG-9030A 型电热恒温鼓风干燥箱(北京陆希科技有限公司)。

### 1.2 试药

对照品 D (+)-无水葡萄糖(批号: S10S9I69833)、蔗糖(批号: S02S6G1)、D-果糖(批号: J31M8R36916)、

鼠李糖(批号: SA0411GA13)、重楼皂苷 V(批号: Y2508H46682)、纤细薯蓣皂苷(批号: HN1126XA14)、重楼皂苷 H(批号: Y21A9H68360)均购于上海源叶生物科技有限公司; 对照品重楼皂苷 I(批号: MUST-17021905)、重楼皂苷 II(批号: MUST-17021906)、重楼皂苷 VI(批号: MUST-17052210)、重楼皂苷 VII(批号: MUST-17052211)均购于成都曼思特生物科技有限公司; 薯蓣皂苷对照品(批号: 111707-201703)购于中国食品药品检定研究院, 以上对照品纯度均大于 98%。

### 1.3 样品

样品为湖南省慈利县七叶一枝花野生资源, 经中国医学科学院药用植物研究所李先恩研究员鉴定为七叶一枝花 *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara。2018 年秋季, 将样品移栽到北京药用植物研究所试验田的拱形遮阴棚中, 株距 40 cm、行距 30 cm。拱形遮阴棚宽 8 m、长 30 m、高 3 m, 分为 2 个地块, 95% 遮阴覆盖 2 层黑色遮阳网, 85% 遮阴覆盖 1 层黑色遮阳网。

## 2 方法

### 2.1 光合色素含量测定

采用紫外-可见分光光度法测定光合色素含量。每个遮阴处理随机选取 6 片长势基本一致、健康的叶片, 清理干净后去除叶脉并剪成约 0.3 mm×0.3 mm 碎片。准确称取叶片 0.1 g 至浸提液(丙酮-无水乙醇 2:1) 15 mL 中, 密封时用锡箔纸包裹至暗处, 不定时摇匀, 提取至组织灰白。以浸提液为空白, 测定各浸提液在 663、645、470 nm 下的吸光度(A), 每个样品重复测定 3 次。光合色素质量分数计算公式如下。

$$C_a = (12.7A_{663} - 2.69A_{645}) \quad (1)$$

$$C_b = (22.9A_{645} - 4.68A_{663}) \quad (2)$$

$$\text{叶绿素 a 质量分数} = C_a \times (V/1000)/W \quad (3)$$

$$\text{叶绿素 b 质量分数} = C_b \times (V/1000)/W \quad (4)$$

$$\text{类胡萝卜素质量分数} = [(1000A_{470} - 3.27C_a - 104C_b)/229] \times (V/1000)/W \quad (5)$$

上式中,  $A_{663}$ 、 $A_{645}$ 、 $A_{470}$  分别为 663、645、470 nm 下 A,  $C_a$ 、 $C_b$  分别为叶绿素 a 和叶绿素 b 的质量浓度, V 为提取液的体积, W 为叶片鲜质量。

## 2.2 光合生理指标测定

**2.2.1 光响应曲线测定** 于2018年7月中旬、晴天、北京时间14:00,采用便携式光合作用测定仪测定光响应曲线。测定时设置空气流速为 $750\ \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ ,  $\text{CO}_2$ 浓度为0.04%,内置光照强度(PPFD)梯度为0、20、50、100、200、300、400、600、800、1000、1200、1400、1600、1800、2000  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,每个光强下控制测定时间为2 min,5次重复。将不同光照强度下的响应值代入光和计算4.1.1软件内,使用直角双曲线修正模型进行计算<sup>[7]</sup>,得到光饱和点(LSP,  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、光补偿点(LCP,  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )及最大净光合速率( $P_{\text{max}}$ )。

**2.2.2 光合日变化测定** 于2020年8月初的晴天,选择生长健康的植株3株,每株选择高度一致的1枚叶片,于8:00—18:00,每隔2 h,采用便携式光合测定仪测定光合参数,每片叶重复5次。测定指标为净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、蒸腾速率( $T_r$ )及胞间 $\text{CO}_2$ 浓度( $C_i$ )。

## 2.3 生长指标测定

于2020年10月8日选择不同遮阴条件下七叶一枝花植株各12株,连根挖起,用水小心冲洗根茎和根系泥土,保持根系完整,将植株分为往年生根茎、当年生根茎、须根、茎、叶、花梗、萼片、果。用卷尺测定株高、茎长、花梗长、叶长、叶宽、萼片长、萼片宽等形态指标。各部位称取鲜质量后于60℃烘干至恒重,称定质量。

## 2.4 重楼皂苷含量测定

**2.4.1 供试品溶液的制备** 七叶一枝花各部位烘干样品打粉,过四号筛。精密称取往年生根茎、当年生根茎、须根、茎、叶样品约0.5 g,置于具塞锥形瓶中,加入95%乙醇25 mL,称定质量,超声提取40 min,放冷,再称定质量,补足减失质量,药液抽滤后过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。每个样品设3个生物学重复。

**2.4.2 对照品溶液的制备** 精密称取适量重楼皂苷I、重楼皂苷II、重楼皂苷V、重楼皂苷VI、重楼皂苷VII、重楼皂苷H、薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷对照品,甲醇溶解,配制成质量浓度分别为0.37、0.32、0.41、0.44、0.29、0.28、0.42、0.31  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品,进样前稀释至适宜质量浓度。

**2.4.3 色谱条件** 色谱柱为UPLC BEH  $\text{C}_{18}$

(100 mm $\times$ 2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ );流动相为水(A)-乙腈(B),梯度洗脱(0~6 min, 73%~70%A; 6~9 min, 70%~63%A; 9~28 min, 63%~48%A);流速0.4  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;柱温40℃;进样量3  $\mu\text{L}$ ;检测波长203 nm。

## 2.5 重楼糖含量测定

**2.5.1 供试品溶液的制备** 精密称取往年生根茎、当年生根茎、须根、茎、叶样品约0.2 g,置于具塞锥形瓶中,加入70%乙醇25 mL,称定质量,超声提取30 min,放冷,再称定质量,补足减失质量,药液抽滤后过0.22  $\mu\text{m}$ 微孔滤膜,即得。每个样品设3个生物学重复。

**2.5.2 对照品溶液的制备** 分别精密称取适量鼠李糖、果糖、葡萄糖、蔗糖对照品,10%乙腈溶解,配制成质量浓度分别为3.07、8.07、7.20、4.33  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液,进样前稀释至适宜质量浓度。

**2.5.3 色谱条件** 色谱柱为HPLC XBridge Amide (150 mm $\times$ 4.6 mm, 3.5  $\mu\text{m}$ );流动相为0.1%三乙胺水溶液(A)-乙腈(B),等度洗脱(27:73);流速1  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ;柱温25℃;进样量5  $\mu\text{L}$ ;增益100;气体压力275.8 kPa;漂移管温度68℃。

## 2.6 数据处理

使用Office 2019、GraphPad 7.0和SPSS 26.0对数据进行处理。

## 3 结果与分析

### 3.1 光合色素含量测定

在高等植物当中,光合色素分为叶绿素a、叶绿素b和类胡萝卜素,光合色素在光合作用中参与光能的吸收与传递,引起原初光化学反应。作为集光复合体<sup>[8]</sup>,较高水平的叶绿素可以提高植物的光捕捉能力,从而在较低的光强下保持较高的光合效率。2种遮阴条件下,七叶一枝花叶片叶绿素a和叶绿素b质量分数差异有统计学意义( $P<0.05$ )。七叶一枝花叶片在85%和95%遮阴条件下,叶绿素a质量分数分别为(4.991 $\pm$ 0.695)、(7.089 $\pm$ 0.557)  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,叶绿素b质量分数分别为(2.709 $\pm$ 0.369)、(4.117 $\pm$ 0.339)  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,类胡萝卜素质量分数分别为(0.693 $\pm$ 0.060)、(0.724 $\pm$ 0.470)  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。其中,遮阴强弱对叶绿素a、叶绿素b均有影响,95%遮阴

下叶绿素a和叶绿素b的含量明显高于85%遮阴。类胡萝卜素的含量在2种遮阴条件下差异无统计学意义。叶绿素a质量分数/叶绿素b质量分数作为评价植物利用弱光能力的值,在2种遮阴条件下,七叶一枝花的叶绿素a质量分数/叶绿素b质量分数分别为 $1.842 \pm 0.056$ 、 $1.722 \pm 0.010$ ,差异无统计学意义,表明本研究中七叶一枝花植株具有相似的弱光捕获能力。

### 3.2 不同遮阴条件下的光合特性

**3.2.1 光响应曲线的比较** 使用直角双曲线修正模型对85%和95%遮阴条件下叶片的光合数据进行拟合,得到光响应曲线(图1),同时得到拟合后的光合参数。在85%遮阴条件下七叶一枝花叶片的 $P_{\max}$ 为 $(3.408 \pm 0.256) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,95%遮阴条件下为 $(3.749 \pm 0.067) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,两者差异无统计学意义。对比2种遮阴条件下的光饱和点发现,85%遮阴条件下叶片光饱和点达到 $(626.131 \pm 43.534) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,95%遮阴条件下叶片的光饱和点为 $(473.915 \pm 22.102) \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,说明95%遮阴能够改善叶片受到的光抑制现象。

**3.2.2 光合日变化曲线** 2种遮阴条件下七叶一枝花的光合参数日变化曲线如图2所示。 $P_n$ 作为衡量光合能力的重要参数,在85%遮阴条件下光合日变化曲线呈现“单峰型”,12:00达到当天 $P_n$ 的最大值 $1.932 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,随后 $P_n$ 降低;在95%遮阴条件下 $P_n$ 变化趋势呈“双峰型”,12:00和16:00达到峰值,分别为 $1.119$ 、 $0.886 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

$C_i$ 日变化曲线与 $P_n$ 日变化曲线为轴对称,因此 $C_i$ 和 $P_n$ 之间呈负相关。85%遮阴条件下 $C_i$ 在12:00最低,然后随时间缓慢增加;95%遮阴下 $C_i$ 变化呈“W”形,即在8:00—14:00先下降后上升,随后在16:00达到一天中的最低值,而后开始回升。

由图2可以看出,2种遮阴环境下七叶一枝花在一天当中叶片蒸腾的强弱。85%遮阴和95%遮阴条件下叶片的 $E$ 均为单峰型,即在14:00达到最大值,分别为 $1.812$ 、 $2.079 \text{mmol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,随后 $E$ 逐渐下降。七叶一枝花在2种遮阴条件下的 $G_s$ 都呈现出缓慢升高-逐渐降低的变化趋势,在8:00—12:00均处在缓慢升高的阶段,12:00达到一天中的最大值,分别为 $38.760$ 、 $46.340 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ,随后 $G_s$ 逐渐下降。

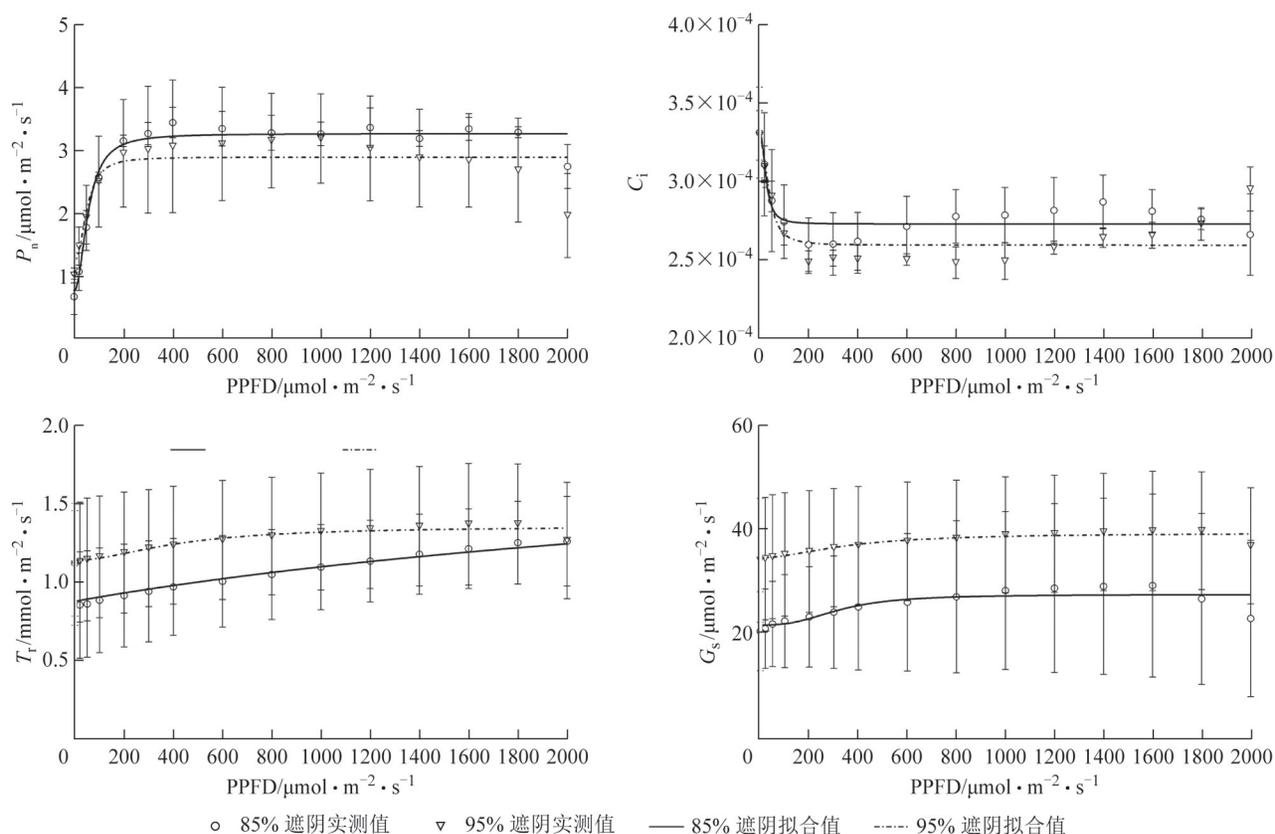


图1 2种遮阴条件下七叶一枝花叶片光响应曲线 ( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=5$ )

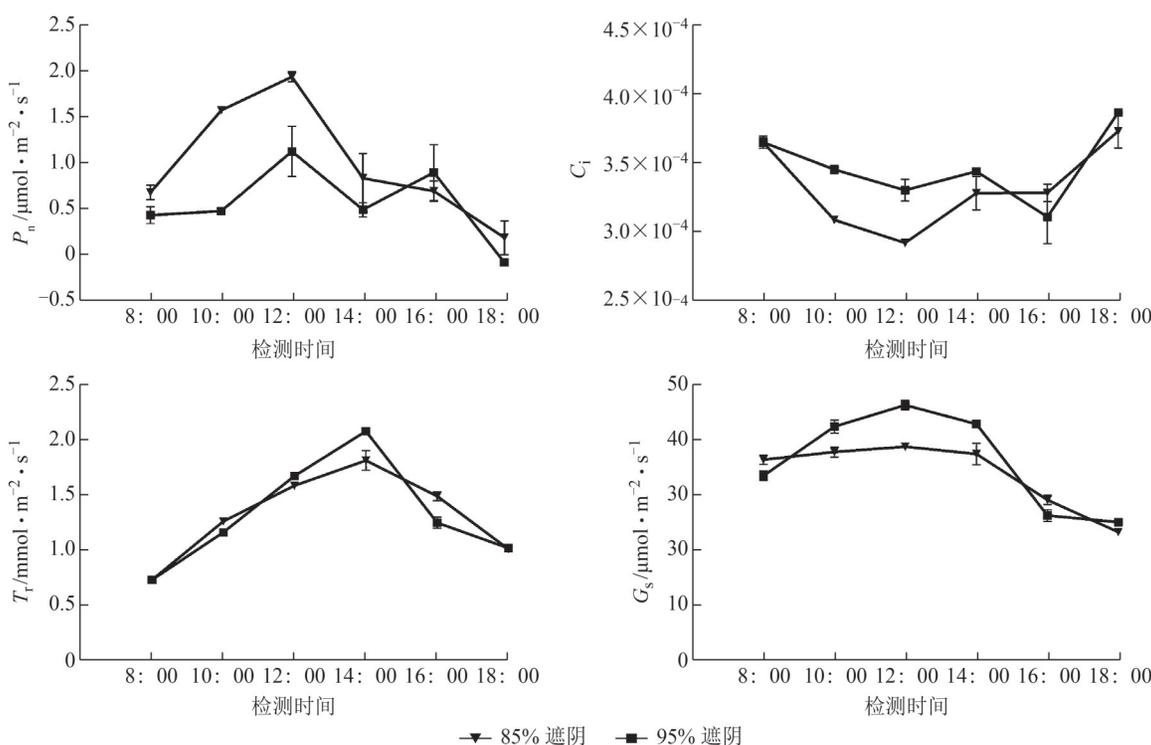


图2 2种遮阴条件下七叶一枝花叶片光合参数日变化曲线 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

### 3.3 不同遮阴条件下的生长指标比较

遮阴显著影响株高等植物形态性状<sup>[14]</sup>。如图3所示,除萼片大小无明显差别外,2个遮光度之间存在明显的形态差异。总体而言,95%遮阴条件下的株高、茎长、花梗长、叶长和叶宽均明显高于85%遮阴。这些结果表明,当光照强度降低时,茎、花梗和叶片形态会增大,以提高光能的利用率。

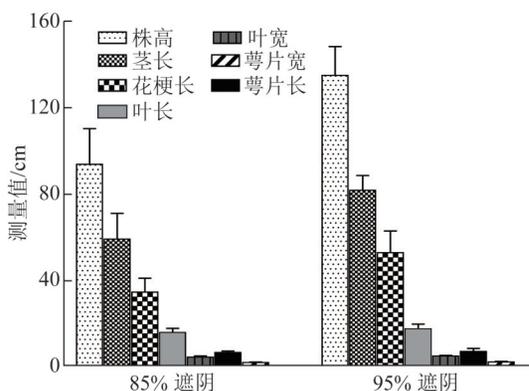


图3 七叶一枝花2种遮阴条件下形态指标 ( $\bar{x} \pm s, n=12$ )

### 3.4 不同遮阴条件下的重楼皂苷含量

#### 3.4.1 方法学考察结果

3.4.1.1 线性关系 精密移取2.4.2项下的重楼皂苷I、重楼皂苷II、重楼皂苷V、重楼皂苷VI、重

楼皂苷VII、重楼皂苷H、薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷储备液,2倍稀释法配成不同质量浓度的混合对照品溶液,按2.4.3项下条件分别测定,记录峰面积,以对照品浓度为横坐标(X),峰面积值为纵坐标(Y),绘制标准曲线并进行线性回归,结果见表1。

表1 七叶一枝花中8种皂苷含量测定线性考察结果

成分	回归曲线	线性范围/mg·mL <sup>-1</sup>
重楼皂苷VII	$Y=3\ 100\ 470.74 X+1\ 803.379\ 3$	0.004 6~0.293 3
重楼皂苷H	$Y=2\ 599\ 346.94 X+2\ 750.408\ 0$	0.004 4~0.280 0
重楼皂苷VI	$Y=3\ 040\ 960.07 X+2\ 947.534\ 5$	0.006 9~0.440 0
重楼皂苷II	$Y=2\ 792\ 735.42 X+1\ 295.143\ 7$	0.005 0~0.320 0
薯蓣皂苷	$Y=2\ 708\ 140.26 X+997.764\ 4$	0.006 6~0.420 0
纤细薯蓣皂苷	$Y=2\ 646\ 894.22 X+2\ 818.339\ 1$	0.004 9~0.313 3
重楼皂苷I	$Y=2\ 860\ 374.17 X+3\ 689.977\ 0$	0.005 7~0.366 7
重楼皂苷V	$Y=3\ 696\ 124.76 X-1\ 491.189\ 7$	0.006 5~0.413 3

注: r均为0.999 9。

3.4.1.2 精密度试验 精密吸取2.4.2项下对照品溶液3 μL,按2.4.3项下条件连续进样6次,测定重楼皂苷I、重楼皂苷II、重楼皂苷V、重楼皂苷VI、重楼皂苷VII、重楼皂苷H、薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷色谱峰峰面积,计算各峰面积的RSD,考察仪器的精密度,RSD为0.29%~1.81%,表明仪器精密

度良好。

**3.4.1.3 重复性试验** 取七叶一枝花往年生根茎样品6份,按2.4.1项方法制备供试品溶液,按2.4.3项下条件测定,记录峰面积,计算各成分含量的RSD, RSD为0.65%~2.19%,表明该方法重复性良好。

**3.4.1.4 稳定性试验** 取七叶一枝花往年生根茎供试品溶液,按2.4.3项下条件,分别在0、2、4、8、12、18、24、48 h进行测定,记录峰面积,计算各峰面积的RSD, RSD为0.80%~3.79%,表明供试品溶液在48 h内稳定性良好。

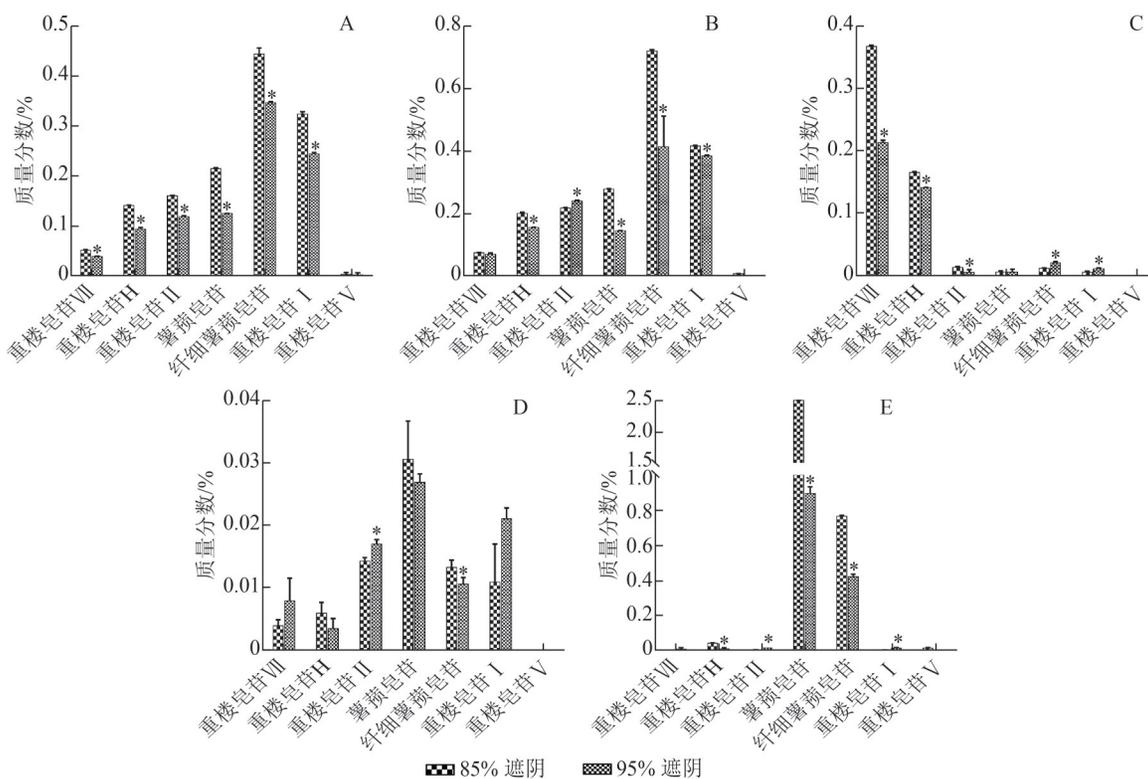
**3.4.2 含量测定** 甾体皂苷是七叶一枝花的主要次生代谢产物,其含量的高低影响药材的质量。洪春桃等<sup>[15]</sup>研究发现,遮阴一定程度可以促进七叶一枝花根茎中皂苷的积累,而过度遮阴(90%)会降低总皂苷含量。七叶一枝花在2种遮阴条件下不同部位的皂苷含量经过双因素方差分析(表2),结果发现,遮阴条件和不同部位的交互作用对重楼皂苷H含量的影响极其显著。除重楼皂苷VI外,其余皂苷均可在七叶一枝花不同部位中检出。

如图4所示,在95%遮阴条件下,七叶一枝花

表2 2种遮阴条件下七叶一枝花不同部位的皂苷含量  
双因素方差分析结果

成分	遮阴条件		不同部位		遮阴条件*不同部位	
	F值	P值	F值	P值	F值	P值
重楼皂苷VII	690.734	<0.001	7 939.899	<0.001	667.723	<0.001
重楼皂苷H	869.164	<0.001	4 537.092	<0.001	62.880	<0.001
重楼皂苷II	13.270	0.002	14 548.959	<0.001	219.968	<0.001
薯蓣皂苷	2 336.727	<0.001	7 349.084	<0.001	1 754.866	<0.001
纤细薯蓣皂苷	163.456	<0.001	485.397	<0.001	41.399	<0.001
重楼皂苷I	212.554	<0.001	20 803.351	<0.001	234.977	<0.001

往年生根茎中除重楼皂苷V,其余6种皂苷含量均明显低于85%遮阴条件下的七叶一枝花。在当年生根茎中,除95%遮阴条件下重楼皂苷II略高于85%遮阴,薯蓣皂苷、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷I、重楼皂苷H含量均随着遮阴程度增加而降低。须根中重楼皂苷I、重楼皂苷H、重楼皂苷II随遮阴增加含量下降。与根茎、须根和叶相比,采收期茎中积累的皂苷量较少。与85%遮阴相比,95%遮阴只降低了七叶一枝花茎中纤细薯蓣皂苷的含量。薯蓣皂苷和纤细薯蓣皂苷在七叶一枝花成熟叶片中大量积累,所有部位重楼皂苷V的质量分数均低于0.02%。



注: A. 往年生根茎; B. 当年生根茎; C. 须根; D. 茎; E. 叶; 与85%遮阴比较, \*P<0.05; 图5同。

图4 2种遮阴条件下七叶一枝花不同部位的皂苷质量分数 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.5 不同遮阴条件下的重楼糖含量

**3.5.1 方法学考察** 线性考察结果如表3所示,重复性、精密度和稳定性结果RSD均小于5%,表明方法良好。

表3 七叶一枝花中糖含量测定方法学考察结果

成分	回归曲线	<i>r</i>	RSD/%		
			重复性	精密度	稳定性
鼠李糖	$Y = 48\ 623 X - 15\ 270$	0.992	2.990	1.700	2.600
果糖	$Y = 460\ 022 X - 290\ 430$	0.997	1.800	2.300	2.400
葡萄糖	$Y = 468\ 460 X - 255\ 367$	0.991	2.800	2.300	3.200
蔗糖	$Y = 443\ 827 X - 141\ 301$	0.995	2.550	1.900	4.100

**3.5.2 糖含量分析** 85%和95%遮阴条件下七叶一枝花的不同部位糖质量分数如图5所示。通过方差分析和多重比较的结果发现,2种遮阴条件下,5个部位中的葡萄糖含量差异无统计学意义。仅在茎和叶片中检出果糖和鼠李糖,且在2种遮阴下差异无统计学意义。不同遮阴度对往年生根、当年生根以及须根当中的蔗糖含量差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),95%遮阴条件下根部含量较高,茎中的蔗糖含量以85%遮阴下最高,而叶中的蔗糖含量以95%遮阴下最高。

## 4 讨论

与许多阴生植物一样,七叶一枝花对光照非常敏感,在一定的低散射光强范围内生长较好。众所

周知,光合作用在调节植物生长和干物质积累方面起着重要作用,并受到环境光、湿度和温度的影响。 $P_n$ 不仅反映了植物的光合能力,还与光合产物的积累有关<sup>[19-20]</sup>。本研究中,2种遮阴条件下光合参数差异无统计学意义,但总体来说,85%遮光条件下 $P_n$ 高于95%遮阴条件(图1),光合日变化也是相同的趋势(图2)。洪春桃等<sup>[15]</sup>研究发现,浙江省生长的七叶一枝花的 $P_n$ 和叶绿素含量与株高呈正相关,70%遮阴条件下植株在苗期的 $P_n$ 和株高均高于90%遮阴条件下的植株,但叶绿素含量较低。在本研究中,85%遮阴条件下植株比95%遮阴条件下的 $P_n$ 更高,收获期株高、叶片长宽和叶绿素含量更低,提示叶片可以通过增加叶面积和光合色素来提高光能的利用率以及散射光的效率。笔者也观察到,在95%遮阴条件下,植株从苗期开始叶色就更暗,这说明弱光逆转了长日照环境下植物的光合作用和生长,导致衰老延迟<sup>[21-22]</sup>。蔗糖是植物组织间主要的光合产物和固定碳的转运体<sup>[23-24]</sup>。在95%遮阴条件下,七叶一枝花叶片和当年生根茎的蔗糖含量高于85%遮阴条件下,更有利于根部有机物质的累积。

皂苷类化合物是七叶一枝花的主要活性成分,随着光照强度的降低,各部位含量均有下降。七叶一枝花和云南重楼植株中皂苷的积累受光强影响较大,在一定的低光强度范围内,皂苷的积累会增

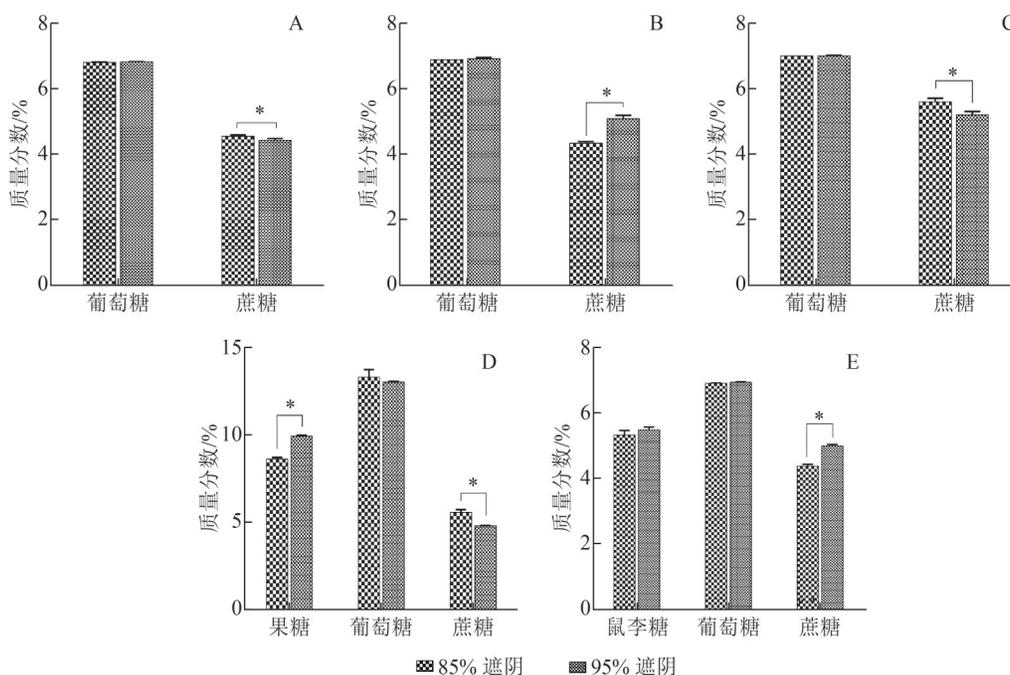


图5 2种遮阴条件七叶一枝花不同部位可溶性糖质量分数 ( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

加<sup>[15,25]</sup>。大量研究表明,植物生长和代谢产物积累受到光因子的调控,光因子包括光的强度和光的持续时间<sup>[26-27]</sup>。活性化合物的含量是主要的质量标准之一。因此,通过栽培药用植物获得高产量和高经济效益的同时,更需要注重药材品质的提升和活性产物的累积。

七叶一枝花是一种重要的阴生药用植物,具有较高的药用效果和经济价值,目前在模拟阴生条件下进行人工栽培。田间遮阴试验结果表明,95%遮阴有利于植株的生物量积累,85%遮阴有利于植株的光合作用和皂苷积累。本研究结果为栽培实践中七叶一枝花的质量控制提供了依据,为优化栽培方法以获得优质高产药材提供参考。

### 参考文献

- [1] 梅中青,梅益丽. 七叶一枝花野生变人工栽培的技术研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(12):95-96.
- [2] ZHENG X, WU Y H, SONG L, et al. Anticarcinogenic effect of zinc oxide nanoparticles synthesized from *Rhizoma paridis* saponins on Molt-4 leukemia cells[J]. J King Saud Univ Sci, 2020, 32(3): 1865-1871.
- [3] 张玉霖,余海峰,肖若蕾,等. 用不同方法提取七叶一枝花总黄酮及抗氧化研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2019, 35(6): 556-558.
- [4] 刘志雄,刘祝祥,田启建. 七叶一枝花挥发油成分及其抑菌活性分析[J]. 中药材,2014,37(4):612-616.
- [5] 王跃虎,牛红梅,张兆云,等. 重楼属植物的药用价值及其化学物质基础[J]. 中国中药杂志,2015,40(5):833-839.
- [6] MAN S L, GAO W Y, ZHANG Y J, et al. Qualitative and quantitative determination of major saponins in *Paris* and *Trillium* by HPLC-ELSD and HPLC-MS/MS[J]. J Chromatogr B, 2010, 878(29): 2943-2948.
- [7] 叶漪,梁娟. 七叶一枝花的研究与开发利用[J]. 中国野生植物资源,2018,37(2):73-75.
- [8] 张建平,熊晓军,丁文,等. 汉中平坝地区中草药华重楼设施栽培技术研究[J]. 陕西农业科学,2020,66(6):23-25.
- [9] 林娟,张美,陈铁柱,等. 重楼林下种植模式现状与分析[J]. 中国现代中药,2018,20(10):1202-1206.
- [10] 易九红,张超凡,黄艳岚,等. 遮荫对作物产量和品质的影响及其生理响应研究进展[J]. 作物研究,2013,27(1):64-69.
- [11] 屠曾平,林秀珍,黄秋妹,等. 水稻中的光抑制现象及其品种间差异[J]. 中国水稻科学,1988,2(1):8-16.
- [12] 何碧珠,邹双全,刘江枫,等. 光照强度与栽培模式对金线莲生长及品质影响[J]. 中国现代中药,2015,17(12):1292-1295.
- [13] 郑顺林,田孟良,刘金亮,等. 人工驯化栽培中弱光胁迫对七叶一枝花光合特性的影响[J]. 中药材,2014,37(9):1518-1522.
- [14] 王岚,张宇斌,李建新,等. 遮阴对七叶一枝花光合和生理特性的影响[J]. 北方园艺,2015(8):73-77.
- [15] 洪春桃,沈登峰,魏斌,等. 不同遮阴处理对华重楼生长和光合作用的影响[J]. 浙江农业科学,2020,61(9):1772-1775.
- [16] 梁娟,易涛,叶漪. 遮阴对七叶一枝花光合特性及皂苷含量的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):265-267.
- [17] YE Z P, LING Y, YU Q, et al. Quantifying light response of leaf-scale water-use efficiency and its interrelationships with photosynthesis and stomatal conductance in C3 and C4 species[J]. Front Plant Sci, 2020, 11: 371.
- [18] ZENG J J, PING W, SANAEIFA A, et al. Quantitative visualization of photosynthetic pigments in tea leaves based on Raman spectroscopy and calibration model transfer[J]. Plant Methods, 2021, 17(1): 1-13.
- [19] 黄珊,武文军,孙亚东,等. 白及对光的生物学响应研究[J]. 中药材,2020,43(8):1801-1805.
- [20] 方阔,马海琴,王振兴,等. 不同光强下北细辛的光合特性及有效成分差异研究[J]. 中国中药杂志,2019,44(13):2753-2761.
- [21] 黄河腾,黄剑坚,陈杰,等. 不同遮阴环境下木奶果幼苗生长与生理生化的响应[J]. 生态学杂志,2020,39(5):1538-1547.
- [22] CHAZDON R L, KAUFMAN S. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation[J]. Funct Ecol, 1993, 7(4): 385-394.
- [23] 高源. 葛生育期糖类和主要黄酮类物质变化规律的研究[D]. 北京:北京林业大学,2018.
- [24] 杨亚男,潘远智,齐豫川,等. 遮阴对四季桂生理生态特性的影响[J]. 热带亚热带植物学报,2017,25(1):57-64.
- [25] 曹嘉芮,梁社往,张勤涛,等. 不同光强LED蓝光对滇重楼生长、光合特性及皂苷累积的影响[J]. 中国农学通报,2019,35(14):77-81.
- [26] LIU Y Y, CHEN X R, WANG J P, et al. Transcriptomic analysis reveals flavonoid biosynthesis of *Syringa oblata* Lindl. in response to different light intensity [J]. BMC Plant Bio, 2019, 19(1): 1-16.
- [27] SUSANNE N, ANGELIKA K, RITA Z. Influence of light and temperature on gene expression leading to accumulation of specific flavonol glycosides and hydroxycinnamic acid derivatives in Kale (*Brassica oleracea* var. *sabellica*) [J]. Front Plant Sci, 2016, 30(7):326.

(收稿日期: 2021-03-09 编辑: 戴玮)