

## 2种大黄叶片色素及紫外吸收物质含量的比较研究

李锦萍<sup>1,2,3</sup>, 毕玉蓉<sup>1,4</sup>, 韩友吉<sup>1</sup>, 王延花<sup>1</sup>, 张淑玲<sup>1</sup>, 陈桂琛<sup>1</sup> (1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海西宁 810001; 2. 青海师范大学, 青海西宁 810008; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 4. 兰州大学生命科学院, 甘肃兰州 730000)

**摘要** [目的] 探讨唐古特大黄与药用大黄对高原强紫外线辐射的生理适应特征。[方法] 以栽培于同一生境下的 4 年生唐古特大黄与药用大黄为研究对象, 测定 2 种大黄叶片中的叶绿素、类胡萝卜素及紫外吸收物质的含量, 研究了在高原强紫外线辐射下 2 种大黄的生理适应性。[结果] 同一生境下唐古特大黄叶片中的叶绿素 a、叶绿素 b、叶绿素总量、类胡萝卜素和紫外吸收物质的含量高于药用大黄。[结论] 叶绿素 a、b 及类胡萝卜素和紫外吸收物质的积累, 有利于唐古特大黄对高原强紫外线辐射的适应, 是长期进化适应高原环境的结果。  
**关键词** 唐古特大黄; 药用大黄; 叶绿素; 类胡萝卜素; 紫外吸收物质  
**中图分类号** S567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)26-11421-03

### Comparative Study on the Leaves of Two Rhubarbs and the UV-absorbing Substances Contents

LI Jin-ping et al (Northwest Plateau Institute of Biology, Chinese Academy of Science, Xining, Qinghai 810001)

**Abstract** [Objective] Physiological adaptation characters of *Rh. tanguticum* Maxim. ex Balf and *Rh. palmatum* Linn to plateau intensive ultraviolet radiation were discussed. [Method] Taking four-year old *Rh. tanguticum* Maxim. ex Balf and *Rh. palmatum* Linn in the same habitat as the research materials, the contents of chlorophyll, carotenoid and UV-absorbing substances in rhubarb leaves were detected. Physiological adaptation characters of two rhubarbs under plateau intensive ultraviolet radiation were studied. [Result] Under the same habitat, the contents of chlorophyll a, chlorophyll b, total content of chlorophyll, carotenoid and UV-absorbing substances in the leaves of *Rh. Tanguticum* Maxim. ex Balf were higher than those of *Rh. Palmatum* Linn. [Conclusion] The accumulation of chlorophyll, carotenoid and UV-absorbing substances could help the *Rh. Tanguticum* Maxim. ex Balf to adapt to plateau intensive ultraviolet radiation.

**Key words** *Rh. tanguticum* Maxim. ex Balf; *Rh. Palmatum* Linn; Chlorophyll; Carotenoid; Ultraviolet absorption substance

具有“世界屋脊”之称的青藏高原在漫长的地质演化过程中形成了独特的环境和气候特点。太阳辐射尤其其紫外辐射强度大是其显著的气候特点之一。强烈的紫外辐射不仅影响青藏高原植物的形态结构, 而且影响植物的生理代谢过程。高山植物通过长期的自然选择和自身的遗传变异, 形成了有效的抵抗强紫外线辐射的生理适应机制<sup>[1]</sup>。

大黄属 (*Rheum* Linn) 植物全世界约 60 种, 我国约 45 种, 主要分布于西北至西南一带, 多数有药用价值<sup>[2]</sup>。据《中华人民共和国药典》(2005 年版) 记载, 正品大黄为蓼科植物掌叶大黄 (*Rh. palmatum* Linn)、唐古特大黄 (*Rh. tanguticum* Maxim. ex Balf) 或药用大黄 (*Rh. officinale* Baill) 的干燥根及根茎。大黄具有泻火解毒、攻积化瘀、散解止血的功效, 有导泻、抗病原微生物、利胆、保肝、降血脂、止血、活血、抗肿瘤、调节免疫等多重作用<sup>[3]</sup>。唐古特大黄在青海主要生长于海拔 2 300~4 200 m 的林缘、林下、沟谷灌丛, 四川西北部和甘肃南部也有<sup>[4]</sup>。药用大黄分布在陕西、四川、贵州、云南等省及河南南部与湖北交界处<sup>[5]</sup>。长期以来, 对唐古特大黄与药用大黄药用有效成分、HPLC 指纹图谱、组织培养、引种栽培、生药学等方面的研究较为详尽, 但对 2 种大黄生理适应性方面的研究报道很少。因此, 笔者以青藏高原特有道地药材唐古特大黄及药典规定的药用大黄为材料, 通过测定栽培于同一生境下 2 种大黄叶片中的叶片色素及紫外吸收物质的含量, 探讨 2 种大黄对高原强紫外线辐射的生理适应特征。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料 唐古特大黄与药用大黄于 2007 年 5 月初 (返青

期)、6 月中旬 (花果期)、9 月中旬 (果后期) 采自海拔为 2 296 m 的青海省西宁市廿十里铺大黄栽培基地。选择嫩绿无斑点的叶片, 迅速将其用纱布包好, 置于液氮中备用。

#### 1.2 方法

**1.2.1 叶绿素与类胡萝卜素含量的测定。**参考 Lichtenthaler 的方法<sup>[6]</sup>, 用 80% 的丙酮提取叶绿素和类胡萝卜素, 4 000 g 离心 10 min, 取上清, 再次用 80% 丙酮抽提, 4 000 g 离心 10 min, 合并上清液, 定容, 以 80% 丙酮为对照, 用 DU-640 型紫外可见分光光度计在 645 和 663 nm 波长下测叶绿素含量, 在 470 nm 波长下测类胡萝卜素含量, 单位为 mg/g (FW)。

**1.2.2 紫外吸收物质的测定。**参考 Mirecki 和 Teramura 的方法<sup>[7]</sup>, 称取 0.25 g 叶片置酸化甲醇 (甲醇: 水: 盐酸 = 79: 20: 1) 中提取, 4 避光放置过夜, 20 000 g 离心 10 min, 定容, 以酸性甲醇为对照, 用 DU-640 型紫外可见分光光度计读取 330 nm 处的吸光度值 (OD<sub>330</sub>), 其相对含量用吸光度表示。

### 2 结果与分析

**2.1 叶绿素含量的变化** 叶绿素作为植物进行光合作用的主要色素, 其含量的多少对光合速率有直接的影响是反映植物叶片光合能力的一个重要指标<sup>[8]</sup>。试验表明, 栽培于同一生境的 2 种大黄具有明显的种间差异, 唐古特大黄中叶绿素 a、叶绿素 b 含量均高于药用大黄, 且在果后期 (T9) 含量最高, 药用大黄则在生长旺盛期 (Y6) 含量最高; 唐古特大黄中叶绿素含量表现为果后期 (T9) > 返青期 (T5) > 生长旺盛期 (T6); 药用大黄中叶绿素含量表现为生长旺盛期 (Y6) > 返青期 (Y5) > 果后期 (Y9) (图 1、2、3)。

**2.2 类胡萝卜素含量的变化** 类胡萝卜素是叶绿体色素的重要组成部分, 它一方面可吸收过多的光能, 避免叶绿素的光氧化; 另一方面, 可通过直接吸收紫外线辐射, 减少紫外线对植物的伤害<sup>[9]</sup>。由图 4 可知, 同一生境下唐古特大黄叶片中类胡萝卜素的含量高于药用大黄, 在 3 个生长发育期中类胡萝卜素含量变化不大, 唐古特大黄在返青期 (T5) 相对较

**基金项目** 国家中西部专项基金 (2001BA901A47); 中科院西北高原生物研究所领域前沿项目。

**作者简介** 李锦萍 (1974 - ), 女, 青海西宁市人, 在读博士, 副教授, 从事植物资源学研究。通讯作者。

**收稿日期** 2008-06-30

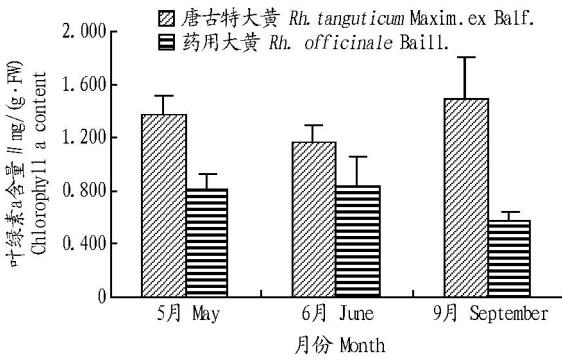


图 1 2种大黄叶片中叶绿素 a 含量的生长期变化

Fig 1 Changes of chlorophyll a content in the leaves of two rhubarbs during growth stage

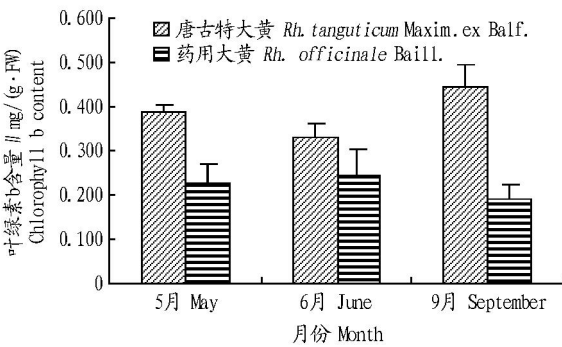


图 2 2种大黄叶片中叶绿素 b 含量的生长期变化

Fig 2 Changes of chlorophyll b content in the leaves of two rhubarbs during growth stage

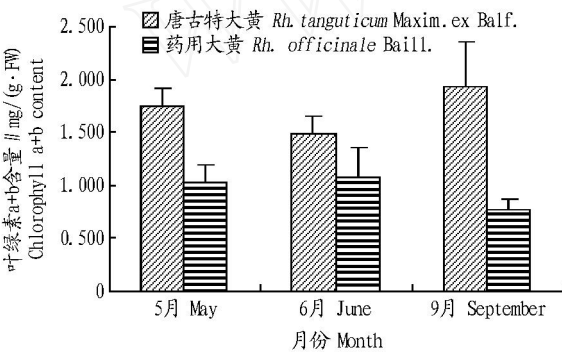


图 3 2种大黄叶片中叶绿素 a + b 含量的生长期变化

Fig 3 Changes of chlorophyll a + b content in the leaves of two rhubarbs during growth stage

高,药用大黄在生长旺盛期(Y6)相对较高。

2.3 紫外吸收物质的测定 紫外吸收物质主要是酚类化合物如类黄酮、黄酮醇、花色苷以及萜类化合物如类胡萝卜素、树脂等<sup>[10]</sup>。类黄酮是植物体内重要的次生代谢产物,由图 5可知,同一生境下唐古特大黄叶片中类黄酮的含量高于药用大黄,从而对于其减轻 UV-B 辐射造成的伤害更有意义。2种大黄之间表现出一致的生长发育动态趋势,在 5月份(返青期)与 6月份(生长旺盛期)均较高,9月份(果后期)较低。

3 结论与讨论

(1)叶绿素含量会直接影响光合作用,随着叶绿素含量的增加,叶绿体对光能的吸收与转化能力增强,光合速率增大,从而有利于光合产物的合成与积累<sup>[11]</sup>。同生境下唐古

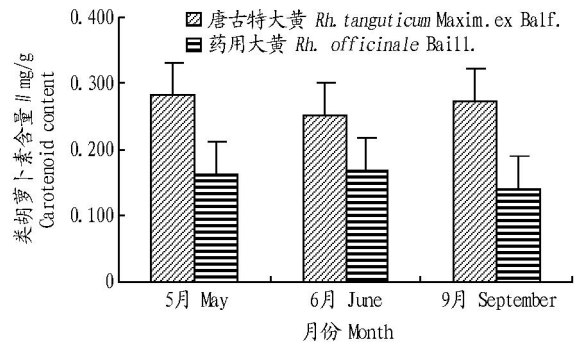


图 4 2种大黄叶片中类胡萝卜素含量的生长期变化

Fig 4 Changes of carotenoid content in the leaves of two rhubarbs during growth stage

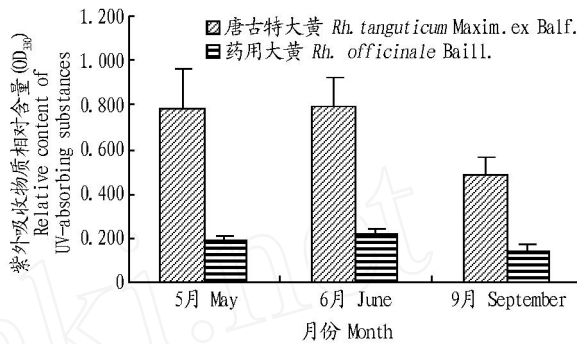


图 5 2种大黄叶片中紫外吸收物质的生长期变化

Fig 5 Changes of UV-absorbing substances content in the leaves of two rhubarbs during growth stage

特大黄叶片中叶绿素的含量高于药用大黄,说明在同一栽培条件下,唐古特大黄能相对较好地利用水、温、土等条件,其缓解 UV-B 辐射胁迫光合器官基粒与基质片层的破坏及 Chl 的降解能力要优于药用大黄,光合能力较强。在海拔 2 300 m 的西宁廿十里铺地区,太阳直接辐射在 6 月达到最强,UV-B 辐射年强度约为南京(海拔为 4 m)的 1.2 倍。一般来说,依照辐射量与叶绿素含量呈负相关的原则<sup>[12]</sup>,紫外辐射越强烈,对植物叶绿体结构造成的伤害就越大,唐古特大黄叶绿素含量在 6 月份最低,验证了其叶片中相对较低的叶绿素含量对唐古特大黄起到了一定的光保护作用。对于引种栽培于同一生境下的非青海产的药用大黄,其叶绿素的含量在 6 月份也应该最低,但 UV-B 对植物的效应存在种间差异,尽管 2 种大黄都已经栽培了 4 年,但药用大黄要适应高原环境,需要一个长期的过程。

(2)类胡萝卜素不仅可以把捕获的光能传递给叶绿素 a 用于光合作用,而且能在强光下防止叶绿素光氧化作用。当叶绿素分子接受光能变为激发态时,如果能量不能传递出去或用于光化学反应,则激发态的叶绿素分子便会与分子氧反应,形成非常活泼的激发态氧-单线态氧。单线态氧会与多种细胞组分,特别是膜脂起反应破坏光合膜。而类胡萝卜素分子则会接受过剩的激发态叶绿素分子的能量,从而避免形成单线态氧,起到一种光保护作用<sup>[14-15]</sup>。试验结果表明,栽培于同一生境下的唐古特大黄比药用大黄叶片中类胡萝卜素的含量高,唐古特大黄生长在高原特殊的环境中,经过长期的自然选择和适应在生化方面具有明显的适应特征并建立了一套适应机制,这很可能是该物种长时间对强紫外辐射

的适应结果<sup>[9]</sup>。

(3)类黄酮是一类吸收短波辐射的芳族化合物,研究证实,植物抵御UV-B辐射伤害的机制之一是增加体内类黄酮含量<sup>[16-17]</sup>。现已探明,作为植物次生代谢产物的类黄酮,在植物抵御UV-B辐射伤害过程中扮演重要角色,起到了天然屏障作用<sup>[16]</sup>。研究表明,紫外线吸收物质主要聚集在叶表皮层中(通常在上表皮层细胞中较多),以胸腺嘧啶二聚体的形式保护叶肉细胞DNA和光合机构等免遭UV-B辐射的伤害<sup>[18]</sup>。生长在强UV-B辐射下的植物,其叶片中紫外线吸收物质的增加可影响植物叶片对UV-B辐射的穿透性,减少UV-B辐射进入叶肉组织的量,从而降低UV-B辐射引起的伤害。同一生境下唐古特大黄叶片中紫外吸收物质的含量在3个生长发育阶段分别为药用大黄的4.03、3.74、3.43倍,从一定程度上反映了唐古特大黄对强紫外辐射环境的适应性要远远高于药用大黄。

(4)高原植物的生长受多种环境因子的影响,各种环境因子往往相继或相互“耦联”发生作用,植物对UV-B的敏感程度与植物的发育阶段密切相关。唐古特大黄与药用大黄虽然引种栽培于同一生境中,但种间差异不可避免,而且作为非青海产的药用大黄,要适应日照时间长,紫外辐射强烈、地面温度高、气温低、昼夜温差大等高原气候特点,需要一个长期的适应过程。此外,对于唐古特大黄与药用大黄对高原强紫外线辐射所表现出来的生理适应性是否对它们药用有效成分产生影响有待于进一步研究。

#### 参考文献

[1] 贾桂英,韩发,师生波. 高寒矮蒿草甸植物温度叶扩散导度、蒸腾作

用与水势[J]. 生态学报, 1993, 13(4): 369 - 372

- [2] 郑俊华,陈寿芳,白振强,等. 中国大黄属植物化学分类及生物活性的研究[J]. 北京医科大学学报(增刊), 1993, 25(5): 4
- [3] 罗达尚,夏光成,刘丽,等. 青藏高原大黄属植物在藏药中的应用[J]. 中草药, 1985, 16(8): 31 - 33
- [4] 中国科学院西北高原生物研究所. 青海植物志(第一卷)[M]. 西宁:青海人民出版社, 1997: 155 - 156
- [5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 第二十五卷. 第一分册[M]. 北京:科学出版社, 1998: 182 - 183
- [6] LICHTENTHALER H K. Chlorophylls and carotenoids pigments of photosynthetic B membranes[J]. Methods Enzymol, 1987, 148: 351 - 383
- [7] MRECKIR M, TETAMURA A H. Effects of ultraviolet - B irradiance on soybean[J]. Physio, 1984, 4: 475 - 480
- [8] 李合林,杨佩芳,田彩芳. 新红星苹果不同枝类叶片中叶绿素含量的变化[J]. 果树科学, 1999, 16(1): 78 - 80
- [9] 师生波,贾桂英,韩发. 不同海拔地区紫外线B辐射状况及植物叶片紫外线吸收物质含量的分析[J]. 植物生态学报, 1999, 23(6): 529 - 535
- [10] 吴鲁阳,王美丽,张振文. 紫外线UV-B增强对植物的影响研究[J]. 中国农学通报, 2005, 21(9): 222 - 227
- [11] 李大勇,王晓慧,张治安. 半野生和栽培大豆叶片某些光合特性的比较[J]. 中国油料作物学报, 2006, 28(2): 172 - 175
- [12] 赵福庚,何龙飞. 植物逆境生理生态学[M]. 北京:化学工业出版社, 2004: 115 - 117.
- [13] 卢存福,贾桂英. 高海拔地区植物的光合特性[J]. 植物学通报, 1995, 12(2): 38 - 42
- [14] 孙存菁,张建中,段绍瑾. 自由生物学导论[M]. 合肥:中国科学技术大学出版社, 1999: 48 - 50
- [15] 曹仪植,宋占午. 植物生理学[M]. 兰州:兰州大学出版社, 1998: 101 - 154
- [16] KAKANIV G, ZHAO K R R, SA LAJA D K. Field crop responses to ultraviolet-B radiation[J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2003, 120: 191 - 218
- [17] HANNS FROHNMEYER, DOROTHEE STAIGER. Ultraviolet-B radiation-mediated responses in plants balancing damage and protection[J]. Plant Physiology, 2003, 133(4): 1420 - 1428
- [18] BEGGS C G, WELLMANN E. Photocatalysis of flavonoid biosynthesis [C]//KENDRICK R E, KRONENBERG G H M. Photomorphogenesis in plants Dordrecht: Kluwer Academic, 1994: 733 - 750

(上接第 11418 页)

养过程中切口产生的多酚类物质被氧化成褐色的醌类物质造成的,这些醌类物质呈现红褐色,能抑制很多代谢酶的活性,从而影响培养材料的生长与分化,严重时甚至导致死亡。在培养基中加入细胞分裂素、生长素、活性炭、PVP、AS及Vc等物质均对褐化有一定的缓解作用<sup>[8-10]</sup>。该研究采用活性炭、PVP和Vc等添加物,虽然研究结果表明这3类物质均能降低一品红愈伤的褐化程度,但由于供试愈伤组织自身状态不佳,它们对褐化的缓解作用并不显著。

一般而言,悬浮培养体系中愈伤组织的生长量在培养周期中有一个快速增殖期<sup>[11-12]</sup>。试验选取新鲜的愈伤组织进行悬浮培养,在进行生长曲线制作前继代3次,有利于愈伤组织的增殖。因为悬浮培养初期,愈伤组织存在一定比例的衰老死亡,经过继代3次后,其生长逐渐旺盛。研究结果显示一品红愈伤组织的生长量在培养前几天随时间的延长递增,在3~7d愈伤组织生长迅速,这种生长趋势与其他作物的研究结果是一致的<sup>[11-12]</sup>。就愈伤组织增殖而言,液体悬浮培养比固体培养有明显的优势,这可能是由于液体悬浮培养增大了愈伤组织对养分的吸收面积,且由于悬浮培养继代周期短,培养过程中积累的有害物质也少。但是,由于褐化等原因,至第7天时愈伤组织生长变缓。不过,研究中建立的一品红细胞悬浮系能否适于原生质体分离、培养以及体细

胞杂交还有待于进一步研究。

#### 参考文献

- [1] NATARAJA K, CHENNAVEERA AH M S, GIRICOWDA P. In vitro propagation of shoot buds of *E. pulcherrima*[J]. Current Sci, 1973, 42: 577 - 578
- [2] 安雪芹,陈甘牛,王福宾,等. 一品红组织培养和快速繁殖[J]. 北方园艺, 2003(6): 37
- [3] 梁红艳,孙朝阳,仲惟,等. 一品红叶片愈伤组织诱导及腋芽的增殖[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(3): 969 - 970
- [4] 黄文江,刘庆忠,罗琦. 一品红的组织培养及快速繁殖[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(11): 64 - 65
- [5] CASTELLANOS M, POWER J B, DAVEY M R. Somatic embryogenesis in red- and white-bract cultivars of poinsettia[J]. Propag Oman Plants, 2006, 6: 9 - 14
- [6] 朱根发,吕复兵,陈明莉,等. 一品红体细胞胚胎发生与植株再生[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(4): 37 - 38
- [7] CAIX D, FU J, DENG X X, et al. Production and molecular characterization of potential seedless cybrid plants between pollen sterile Satsuma mandarin and two seedy *Citrus* cultivars[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2007, 90: 275 - 283
- [8] 周俊辉,周家容,曾浩森,等. 园艺植物组织培养中的褐化现象及抗褐化研究进展[J]. 园艺学报, 2000, 27(S): 481 - 486
- [9] SHAO J Z, CHEN C L I, DENG X X. In vitro induction of tetraploid in pomegranate (*Punica granatum*) [J]. Plant Cell, Tissue and Culture, 2003, 75: 241 - 246
- [10] 张卫芳,高疆生,欧勇慧,等. 抑制核桃组培中的褐化现象初探[J]. 落叶果树, 2003, 35(3): 4 - 7
- [11] 崔林,范银燕. 裸燕麦胚性愈伤组织培养及悬浮系的建立[J]. 生物工程学报, 1998, 14(1): 46 - 50
- [12] AZEVEDO H, DASA, TAVARES R M. Establishment and characterization of *Pinus pinaster* suspension cell cultures[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2008, 93(1): 115 - 121.