

茉莉酸甲酯对滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量的影响[△]

金琳*,李海峰,刘卫红,胡侃[#](大理大学药学与化学学院,云南大理 671000)

中图分类号 R282.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)03-0344-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.03.13

摘要 目的:研究外源性茉莉酸甲酯对滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质(龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷)含量及生理生化指标的影响,为茉莉酸甲酯在滇龙胆规范化种植中的应用提供科学依据。方法:分别以10、50、100、200 mg/L茉莉酸甲酯喷施滇龙胆植株2、4、6、8、10 d(喷施量均为500 mL)后,收集药材叶为样品材料,并收集相应时段未喷施处理的药材叶为对照。采用高效液相色谱(HPLC)法测定4个质量浓度下茉莉酸甲酯喷施10 d后滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量,优选茉莉酸甲酯的最佳喷施质量浓度(有效成分含量最高)。采用HPLC法测定以最佳喷施质量浓度茉莉酸甲酯喷施不同时间后滇龙胆叶4种裂环烯醚萜类物质的含量,并测定其中相关生理生化指标(超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶和丙二醛)水平。结果:以10、50、100、200 mg/L茉莉酸甲酯喷施滇龙胆植株10 d后,叶中4种裂环烯醚萜类物质的含量较未处理叶均不同程度增加,其中以100 mg/L茉莉酸甲酯喷施后效果最好,此时叶中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的含量分别为未处理叶的1.88、2.36和1.87倍($P<0.05$)。以100 mg/L茉莉酸甲酯喷施2、4、6、8、10 d后,叶中4种裂环烯醚萜类物质的含量均不同程度高于同时段未处理叶;在喷施4 d后叶中龙胆苦苷含量开始出现显著差异($P<0.05$),在喷施6 d后叶中4种裂环烯醚萜类物质的含量总体较高,此时叶中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷含量分别为同时段未处理叶的1.88、1.88、1.47、1.82倍($P<0.05$);并自喷施4 d起,叶中各生理生化指标水平较未处理叶均显著升高($P<0.05$)。结论:以100 mg/L茉莉酸甲酯喷施6 d后滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量升高最明显,这可能与提高了叶中相关生理生化指标的水平有关。

关键词 滇龙胆叶;高效液相色谱法;茉莉酸甲酯;裂环烯醚萜类物质;含量测定;生理生化指标

Effects of Methyl Jasmonate on the Contents of 4 Kinds of Secoiridoid Substance in the Leaves of *Gentiana rigescens*

JIN Lin, LI Haifeng, LIU Weihong, HU Kan (College of Pharmacy and Chemistry, Dali University, Yunnan Dali 671000, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of exogenous methyl jasmonate on the contents of 4 kinds of secoiridoid substance (gentiopicrin, swertiain, sweroside and amarogentin) and biochemical indexes in the leaves of *Gentiana rigescens*, and to provide scientific evidence for the application of methyl jasmonate in standardized planting of *G. rigescens*. METHODS: 2, 4, 6, 8, 10 d after spraying 10, 50, 100, 200 mg/L methyl jasmonate (spraying amount was 500 mL) for *G. rigescens* strain, the leaves of medicinal material were collected as sample, and the other leaves without spraying methyl jasmonate were collected as control. HPLC method was used to determine the contents of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves of *G. rigescens* after spraying 4 kinds of concentrations of methyl jasmonate for 10 d. The concentration of methyl jasmonate was optimized (the content of effective component was the highest). HPLC method was adopted to determine the contents of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves of *G. rigescens* after spraying the optimal concentration of methyl jasmonate for different time. The levels of relevant biochemical indexes (SOD, POD, CAT, MDA) were determined. RESULTS: 10 d after spraying 10, 50, 100, 200 mg/L methyl jasmonate for *G. rigescens* strains, the contents of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves were increased to different extent. Compared with untreated leaves, 100 mg/L methyl jasmonate had the best effect after spraying, and the contents of gentiopicrin, swertiain and sweroside in treated leaves were 1.88, 2.36 and 1.87 times of those in untreated leaves, respectively ($P<0.05$). 2, 4, 6, 8, 10 d after spraying 100 mg/L methyl jasmonate, the contents of 4 kinds of secoiridoid substance in treated leaves were higher than untreated leaves at corresponding stage; the content of secoiridoid had significant difference after spraying for 4 d ($P<0.05$). The contents of active components in general were relatively high after spraying for 6 d, and the contents of gentiopicrin, swertiain, sweroside and amarogentin in treated leaves were 1.88, 1.88, 1.47, 1.82 times of those in untreated leaves, respectively ($P<0.05$). The levels of relevant biochemical indexes in treated leaves were increased

[△] 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81102806);云南省教育厅科学研究基金项目(No.2015C074Y)

* 硕士研究生。研究方向:药物分析。电话:0872-2257415。E-mail:1596840081@qq.com

[#] 通信作者:实验师,硕士。研究方向:药物分析。电话:0872-2257415。E-mail:alexhk@163.com

significantly since 4 d of spraying, compared with untreated leaves ($P < 0.05$). CONCLUSIONS: After spraying 100 mg/L methyl jasmonate for 6 d, the contents increase of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves of *G. rigescens* are most obvious, which may be associated with improving the levels of related biochemical indexes.

KEYWORDS Leaves of *Gentiana rigescens*; HPLC; Methyl jasmonate; Secoiridoid substance; Content determination; Biochemical indexes

滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.)又称坚龙胆、滇龙胆草,为龙胆科龙胆属多年生宿根草本植物^[1],以根及根茎入药,具有清热泻火、健脾、保肝等作用,主要用于治疗黄疸、小儿疳热、小便不利等症,是龙胆泻肝丸、龙胆注射液、小儿清热片等200多种中成药的原料药之一^[2-4]。滇龙胆是云南道地药材,其次生代谢产物裂环烯醚萜类物质(如龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷等)为主要活性成分^[5],其中龙胆苦苷含量为2015年版《中国药典》(一部)规定的龙胆药材的质量控制指标^[1],龙胆苦苷含量的高低直接影响药材的品质及药用价值。从生物合成途径来看,在滇龙胆叶绿体中,牻牛儿苗二磷酸酯通过羟基化氧化成柠檬醛,再经过环化、水合和还原形成臭蚁二醛,臭蚁二醛经过烯醇化、羟醛缩合和苷化成环烯醚萜苷,环烯醚萜苷通过环断裂、氧化内酯化最终形成裂环烯醚萜类物质^[6],故通过调节代谢途径提高滇龙胆中主要活性成分的含量具有现实意义。

茉莉酸甲酯(Methyl jasmonate)是一种新型植物激素,在植物体内普遍存在,对一些重要的次生代谢过程起到调控作用^[7],目前已应用于多种药用植物(如三七^[8]、茯苓^[9]、苦玄参^[10]、阳春砂^[11]等)中,均能够诱导提高其相应萜类化合物的含量。因此,本试验拟以遗传性状相同的滇龙胆组织培养苗为研究对象,在人工栽培条件下,通过叶面喷施的方法,探索经不同质量浓度茉莉酸甲酯诱导后,滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量及相关生理生化指标[超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)]水平的动态变化,为采用茉莉酸甲酯提高大田栽培滇龙胆中主要活性成分含量提供参考依据。

1 材料

1.1 仪器

1200高效液相色谱仪,包含G1313A ALS自动进样器、G1315A/B二极管阵列检测器、ChemStation色谱工作站(美国Agilent公司);T6新世纪分光光度计(北京普析通用仪器有限公司);TGL-16C高速台式离心机(上海安亭科学仪器厂);AE240电子天平(瑞士Mettler-Toledo公司);SK5200H超声波清洗仪(上海科导超声仪器有限公司);Milli-Q Century系列纯水处理系统(美国Millipore公司)。

1.2 药品与试剂

以同一植株滇龙胆诱导的遗传性状相同的组织培养苗为试验药材(由大理大学药物研究所李海峰教授鉴定为龙胆科龙胆属滇龙胆植株);龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷、苦龙胆酯苷对照品(上海源叶生物科技有限公司,批号:分别为ZJ0701BA13、M29J4S1、PN1125-SA13、Z06J6S2,纯度:均 $\geq 95\%$);茉莉酸甲酯(美国Sigma公司,批号:24834483,纯度: $\geq 95\%$);甲醇(美国Tedia公司,色谱纯);其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 滇龙胆叶样品的准备与处理

以大理州南涧县乐秋乡同一植株滇龙胆的越冬芽为外植株,经丛生芽增殖途径获得滇龙胆组织培养苗,将组织培养苗栽培3年后,选取状态良好、生长一致的滇龙胆植株,分为5个组(4个处理组和1个对照组),每个组间相互间隔5 m,有植株120~140株。在植株开花期分别用10、50、100和200 mg/L的茉莉酸甲酯各500 mL均匀喷洒在不同处理组的滇龙胆植株叶片2、4、6、8、10 d后,收集叶片,作为试验样品;并收集相应时段未喷施茉莉酸甲酯的植株(即对照组植株)叶片,作为对照。参照文献方法^[12],将采集的处理和未处理滇龙胆叶片于50℃烘箱中烘干至恒质量,将样品粉碎,过100目筛,30℃烘箱中干燥至恒质量,用封口袋避光保存,备用。

2.2 滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量测定方法的建立

2.2.1 溶液的制备 (1)茉莉酸甲酯溶液。精密称取茉莉酸甲酯400 mg,用少量无水乙醇溶解后加水制成质量浓度为800 mg/L的母液;再精密吸取母液适量,加水稀释成质量浓度分别为10、50、100、200 mg/L的茉莉酸甲酯液^[7]。(2)混合对照品溶液。精密称取龙胆苦苷对照品1.9 mg、獐牙菜苦苷对照品1 mg、獐牙菜苷对照品0.5 mg和苦龙胆酯苷对照品0.5 mg,分别置于1、2、10和10 mL量瓶中,用甲醇溶解并定容,摇匀。分别精密吸取0.4、0.1、0.16和0.16 mL上述4种溶液,置于同一1 mL量瓶中,用甲醇定容,制成龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷质量浓度分别为0.76、0.05、0.008和0.008 mg/mL的混合对照品溶液,置于4℃冰箱中保存,待用。(3)供试品溶液。精密称取药材粉末0.1 g,置于10 mL量瓶中,加入2 mL甲醇,于40℃超声(功率:200

W, 频率: 40 kHz) 处理 20 min, 滤纸过滤; 滤渣用 2 mL 甲醇按前述步骤重复处理 1 次, 合并 2 次提取滤液至 5 mL 量瓶中, 冷却至室温, 加甲醇溶液充分混匀后定容, 即得。

2.2.2 色谱条件与系统适用性试验 色谱柱: Eclipse XDB-C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 甲醇(A)-水(B), 梯度洗脱(0~15 min, 15%→35% A; 15~40 min, 35%→80% A); 检测波长: 龙胆苦苷为 274 nm, 獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷均为 243 nm; 柱温: 25 °C; 流速: 1 mL/min; 进样量: 10 μL。取“2.2”项下溶液(供试品溶液为未处理的对照样品), 在此色谱条件下进样测定。结果, 供试品图谱中的特征峰与杂质峰分离良好(分离度>1.5), 理论板数按龙胆苦苷峰计不低于 3 000。色谱图见图 1。

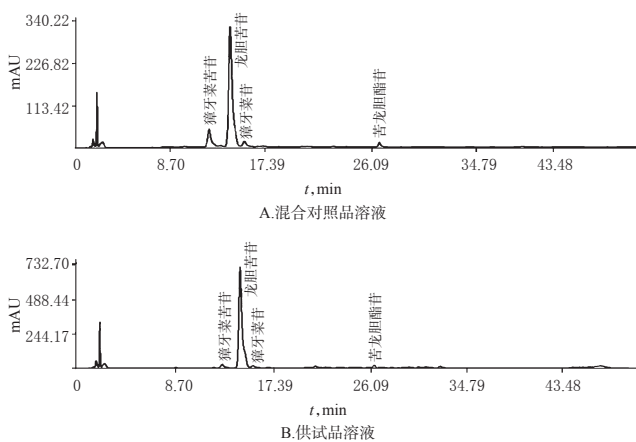
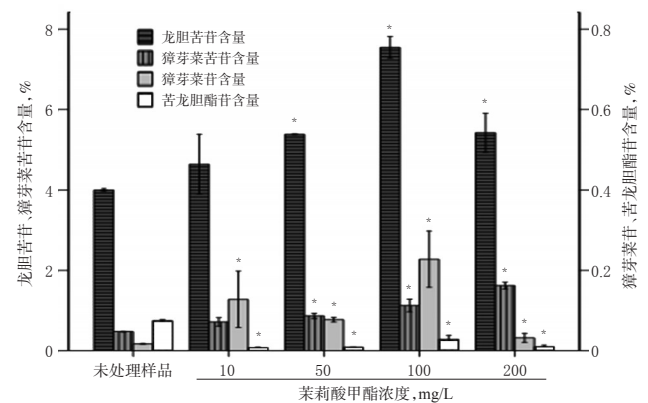


图 1 高效液相色谱图
Fig 1 HPLC chromatograms

2.2.3 方法学考察 按照文献报道方法^[3,5-6]进行相关方法学考察。结果, 龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷和苦龙胆酯苷检测进样量的线性范围分别为 1.536~15.36、0.050 50~1.010、0.001 632~0.081 60、0.001 568~0.078 40 μg(r 均 \geq 0.999 7), 检测限分别为 103.2、15.06、0.473 6、0.470 1 ng, 定量限分别为 340.4、50.15、1.577、1.565 ng; 精密度试验中, 上述 4 种成分峰面积的 RSD 分别为 0.44%、1.31%、1.20%、1.25% ($n=6$); 重复性试验中(供试品溶液为未喷施的叶片对照样品), 4 种成分峰面积的 RSD 分别为 2.31%、2.09%、1.65%、1.96% ($n=6$); 室温条件下 12 h 稳定性考察试验中(供试品溶液为未喷施的叶片对照样品), 4 种成分峰面积的 RSD 分别为 0.42%、0.49%、1.90%、2.94% ($n=6$); 加样回收试验中, 分别添加已知样品含量 80%、100%、120% 的对照品, 在“2.2.2”色谱条件下测得 4 种成分的平均加样回收率分别为 100.70%、98.88%、99.97%、99.74%, RSD 分别为 1.64%、0.92%、1.52%、1.83% ($n=9$)。

2.3 不同质量浓度茉莉酸甲酯对滇龙胆叶中 4 种裂环烯醚萜类物质含量的影响

取 10、50、100 和 200 mg/L 茉莉酸甲酯喷施开花期植株 10 d 后的叶样品, 以及相应时段未喷施处理叶的对照样品, 分别按“2.2.1(3)”方法制备供试品溶液, 然后按“2.2.2”条件测定 4 种裂环烯醚萜类物质的含量, 每个样品测定 3 次。数据以 Excel 2010 和 SPSS 18.0 软件进行处理, 采用单因素方差分析和 LSD 检验进行统计分析, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。不同质量浓度茉莉酸甲酯喷施 10 d 后叶中 4 种裂环烯醚萜类物质含量的测定及统计分析结果见图 2。



注: 与未处理样品比较, * $P<0.05$

Note: vs. untreated sample, * $P<0.05$

图 2 不同质量浓度茉莉酸甲酯喷施 10 d 后滇龙胆叶中 4 种裂环烯醚萜类物质含量的变化($\bar{x} \pm s, n=3$)

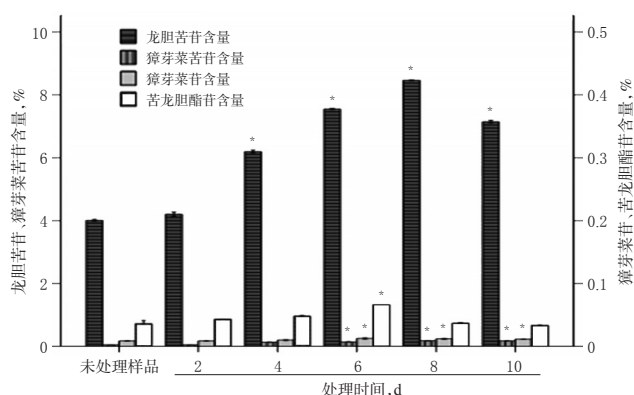
Fig 2 Changes of content of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves of *G. rigesiens* after spraying different concentrations of methyl jasmonate at 10 d ($\bar{x} \pm s, n=3$)

由图 2 可知, 以不同质量浓度茉莉酸甲酯处理后, 样品中的龙胆苦苷、獐牙菜苦苷、獐牙菜苷含量均比未处理叶高, 但苦龙胆酯苷含量均比未处理叶低。其中, 以 100 mg/L 茉莉酸甲酯处理后效果最好, 此时叶中 4 种裂环烯醚萜类物质含量总体最高, 其中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷的含量较未处理叶显著升高($P<0.05$), 分别为未处理叶的 1.88、2.36、1.87 倍。其次对 4 种裂环烯醚萜类物质含量影响较大的处理质量浓度分别是 50 mg/L 和 200 mg/L, 作用后龙胆苦苷和獐牙菜苦苷的含量较未处理叶均显著升高($P<0.05$); 獐牙菜苷的含量在 50 mg/L 时较未处理叶显著升高($P<0.05$), 在 200 mg/L 时差异无统计学意义($P>0.05$)。低质量浓度(10 mg/L)的茉莉酸甲酯对 4 种裂环烯醚萜类物质基本没有影响, 仅獐牙菜苦苷含量较未处理叶显著升高($P<0.05$)。故本研究将以 100 mg/L 茉莉酸甲酯处理不同时间后样品进行后续分析。

2.4 100 mg/L 茉莉酸甲酯处理不同时间后对滇龙胆叶中 4 种裂环烯醚萜类物质及生理生化指标含量的影响

2.4.1 对 4 种裂环烯醚萜类物质含量的影响

mg/L 茉莉酸甲酯喷施 2、4、6、8、10 d 以及同时段未作处理叶的对照样品,分别按“2.2.1(3)”方法制备供试品溶液,然后按“2.2.2”条件测定 4 种裂环烯醚萜类物质的含量,并按“2.3”项下方法对结果进行统计分析,结果见图 3。



注:与未处理样品比较, * $P < 0.05$

Note: vs. untreated sample, * $P < 0.05$

图 3 100 mg/L 茉莉酸甲酯处理不同时间后滇龙胆叶中 4 种裂环烯醚萜类物质含量的变化($\bar{x} \pm s, n=3$)

Fig 3 Changes of contents of 4 kinds of secoiridoid substance in the leaves of *G. rigesiens* after spraying 100 mg/L methyl jasmonate at different time($\bar{x} \pm s, n=3$)

由图 3 可知,在 100 mg/L 茉莉酸甲酯质量浓度下,随着处理时间的延长滇龙胆叶片中 4 种裂环烯醚萜类物质含量基本呈现先升后降的趋势。与同时段未处理叶比较,100 mg/L 茉莉酸甲酯处理 2 d 后,样品中 4 种裂环烯醚萜类物质含量较未处理叶差异无统计学意义($P > 0.05$);处理 4 d 后,样品中龙胆苦苷含量较未处理叶显著升高($P < 0.05$),但獐牙菜苦苷、獐牙菜苷及苦龙胆酯苷含量较未处理叶差异无统计学意义($P > 0.05$);处理 6 d 后,样品中 4 种裂环烯醚萜类物质含量均显著升高,分别为未处理叶的 1.88、1.88、1.47、1.82 倍($P < 0.05$),此时 4 种成分的总体含量最高;处理 8、10 d 后,样品中龙胆苦苷、獐牙菜苦苷和獐牙菜苷含量较未处理叶仍显著升高($P < 0.05$),但苦龙胆酯苷含量稍低于未处理叶($P > 0.05$)。

2.4.2 对样品中生理生化指标的影响 分别取 100 mg/L 茉莉酸甲酯喷施 2、4、6、8、10 d 以及同时段未作处理叶的对照样品,参考文献^[13]方法,采用氮蓝四唑光化学还原法测定其中 SOD 活性,采用愈创木酚氧化法测定其中 POD 活性,采用紫外吸收法测定其中 CAT 活性,采用硫代巴比妥酸比色法测定其中 MDA 含量,并按“2.3”项下方法对结果进行统计分析,结果见表 1。

由表 1 可知,100 mg/L 茉莉酸甲酯处理 2 d 后,叶中

表 1 100 mg/L 茉莉酸甲酯处理不同时间后对滇龙胆叶中 SOD、POD、CAT 和 MDA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 1 Effects of activities of SOD, POD and CAT and MDA content in leaves of *G. rigesiens* after treated with 100 mg/L methyl jasmonate at different time($\bar{x} \pm s, n=3$)

样品	SOD, U/g	POD, U/(g·min)	CAT, U/(g·min)	MDA, μ mol/g
未处理	3 116.9 ± 14.91	27.413 ± 0.270 0	17.933 ± 0.040 2	0.032 10 ± 0.000 2
处理 2 d	8 488.9 ± 379.08*	41.536 ± 0.287 9*	17.925 ± 0.075 0	0.032 13 ± 0.000 3
处理 4 d	12 255.4 ± 17.28*	59.648 ± 0.435 0*	18.759 ± 0.008 4*	0.044 16 ± 0.000 5*
处理 6 d	26 055.0 ± 59.21*	74.982 ± 0.320 1*	23.947 ± 0.020 3*	0.043 43 ± 0.000 5*
处理 8 d	31 678.2 ± 231.67*	107.703 ± 0.180 3*	21.866 ± 0.005 3*	0.045 06 ± 0.000 6*
处理 10 d	28 975.3 ± 19.11*	82.818 ± 0.357 0*	18.495 ± 0.003 7*	0.042 20 ± 0.000 3*

注:与未处理样品比较, * $P < 0.05$

Note: vs. untreated sample, * $P < 0.05$

SOD 及 POD 活性较未处理叶显著升高($P < 0.05$),CAT 活性及 MDA 含量较未处理叶差异无统计学意义($P > 0.05$);处理 4 d 后,叶中 SOD、POD、CAT 活性及 MDA 含量较未处理叶均显著升高($P < 0.05$);处理 6 d 后,CAT 活性达到最大值($P < 0.05$),为未处理叶的 1.34 倍;处理 8 d 后,SOD、POD 活性及 MDA 含量达到最大值($P < 0.05$),分别为未处理叶的 10.17、3.93、1.41 倍;处理 10 d 后,SOD、POD、CAT 活性及 MDA 含量均低于处理 8 d 后,呈下降趋势。

3 讨论

近年来,外源植物激素茉莉酸甲酯作为诱导子已广泛应用于多种药用植物栽培、细胞培养及次生代谢产物的诱导中。例如朱宏涛等^[8]用不同浓度茉莉酸甲酯处理三七组培苗,发现 250 μ mol/L 茉莉酸甲酯处理的样品中总皂苷含量高达 10.05%,是对照样品的 16.8 倍,且总皂苷含量呈现先升后降,最后达到相对平衡的规律;陈林等^[9]从茉莉酸甲酯添加量、添加时间角度考察了其对于茯苓三萜生物合成的调控效应,结果显示在茯苓菌发酵 4 d 添加 150 μ mol/L 茉莉酸甲酯可使得茯苓三萜的积累水平达到 20.95 mg/L,为空白组的 1.55 倍、聚山梨酯 80 组的 1.32 倍,取得了较好的调控效果,且茯苓三萜含量随着时间和浓度的变化呈现先升后降的规律;谢阳姣等^[10]用不同浓度的茉莉酸甲酯对苦玄参进行处理,发现茉莉酸甲酯对苦玄参苷 I_a 及苦玄参苷 I_b 的积累均有促进作用,在一定程度上提高了苦玄参药材的品质,其中以 0.05 mmol/L 为最佳喷施浓度水平。

2015 年版《中国药典》(一部)规定滇龙胆根及根茎为药用部位^[2],而大理州白族民间长期以滇龙胆全草入药,这可能是由于滇龙胆不同部位主要次生代谢产物存

在差异,滇龙胆的主要活性成分裂环烯醚萜类物质在叶中合成并进行贮藏和分配^[6],且在花期中其叶、花中龙胆苦苷含量最高^[14]。故本研究以开花期滇龙胆组培苗为试验材料,通过叶面喷施茉莉酸甲酯,考察以不同质量浓度处理不同时间后滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量的变化。研究表明,茉莉酸甲酯可显著提高滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量,随着质量浓度和作用时间的升高或延长,4种裂环烯醚萜类物质含量基本上呈先升后降的趋势,其中以100 mg/L茉莉酸甲酯处理6 d后的效果最佳。同时还发现,在本试验条件下处理10 d后,叶中苦龙胆酯苷含量低于未处理叶,分析原因,这可能是由于茉莉酸甲酯促使植物产生了过多的植保素,对细胞自身的生长产生毒性,不仅抑制了细胞的生长,同时也抑制了代谢物的积累所致^[15]。

据相关研究报道,经茉莉酸甲酯处理后,菜豆^[16]、锦绣杜鹃^[17]、苜蓿芽^[18]等植物中相关酶活性增强,次生代谢产物含量增加。本研究发现,喷施茉莉酸甲酯4 d后,叶中SOD、POD、CAT活性及MDA的含量较未处理叶均显著升高($P < 0.05$),基本上呈现先升后降的趋势,且在第4~8天活性增幅明显,与4种裂环烯醚萜类物质含量的变化趋势基本一致,这可能是由于POD、CAT等酶对外施茉莉酸甲酯产生胁迫的应激反应能在极短的时间内产生响应,通过反馈调节使植物体内自由基保持正常水平从而提高自身防御性,并迅速调整体内营养物质的运输和次生代谢的方向^[8]。因此,可以认为茉莉酸甲酯处理滇龙胆叶片后,启动了滇龙胆的防御机制,导致这些防御反应的关键酶活性/含量升高,参与了裂环烯醚萜类物质的生物合成,最终促进了滇龙胆裂环烯醚萜类物质含量的升高。

综上所述,通过叶面喷施茉莉酸甲酯,可以显著提高滇龙胆叶中4种裂环烯醚萜类物质含量,其中以100 mg/L茉莉酸甲酯喷施6 d后效果最佳,该方法简单易行,可以在生产实践中加以应用,但有关茉莉酸甲酯促进滇龙胆中4种裂环烯醚萜类物质含量提高及防御酶的表达机制值得进一步深入研究。

参考文献

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第62卷[M].北京:科学出版社,1988:52.
 [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S].2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:96.
 [3] 赵志莲,张琳,李海峰,等.大理白族自治州不同居群坚龙胆叶中裂环烯醚萜类物质含量的研究[J].中国药房,

2018,29(5):647-651.

[4] 王丽,杨雁,方艳,等.中药材滇龙胆资源调查和分析研究[J].西南农业学报,2017,30(2):267-272.
 [5] 韩多,赵志莲,刘卫红,等.3种龙胆属药用植物叶中主要有效成分的积累[J].中国医药工业杂志,2016,47(7):865-869.
 [6] 赵志莲,张琳,刘卫红,等.滇龙胆裂环烯醚萜类活性成分积累规律的研究[J].时珍国医国药,2016,27(9):2073-2075.
 [7] 滕红梅,谢旭蓉,王玲丽,等.外源物质对远志根中皂苷含量的影响[J].南方农业学报,2014,42(12):2143-2147.
 [8] 朱宏涛,李江,李元,等.茉莉酸甲酯对三七组培苗中总皂苷含量的影响[J].西部林业科学,2014,43(2):72-78.
 [9] 陈林,崔培梧,鲁耀邦,等.茉莉酸甲酯对茯苓三萜生物合成的调控研究[J].湖南中医药大学学报,2017,37(6):606-610.
 [10] 谢阳姣,何志鹏,林伟,等.茉莉酸甲酯对苦玄参生长及苦玄参苷积累的影响研究[J].作物杂志,2013(2):80-84.
 [11] 王焕,杨锦芬,邓可,等.茉莉酸甲酯影响阳春砂挥发性萜类代谢和基因转录[J].世界科学技术-中医药现代化,2014,16(7):1528-1536.
 [12] 李嘉丰,许嘉,任跃英,等.不同生长年限北五味子植株黑斑病发病规律及生理指标的变化[J].河南农业科学,2018,47(9):88-92.
 [13] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].2版.北京:高等教育出版社,2006:167-281.
 [14] 韩多,赵志莲,刘卫红,等.坚龙胆主要次生代谢产物及分子差异的研究[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(18):35-39.
 [15] 王逸文,胡高升,贾景明.2-氨基磷酸苜蓿和茉莉酸甲酯对高山红景天愈伤组织生长和红景天苷积累的影响[J].沈阳药科大学学报,2012,29(9):718-723.
 [16] 从春蕾,鄧军锐,廖启荣,等.蓟马取食、机械损伤以及外源水杨酸甲酯和茉莉酸对菜豆叶片防御酶活性的影响[J].昆虫学报,2014,57(5):564-571.
 [17] 张梅,林棋,娄本勇,等.茉莉酸甲酯对锦绣杜鹃黄酮的累积及相关酶活性的影响[J].甘肃农业大学学报,2015,50(4):165-169.
 [18] 熊茜,王春幸,王凯凯,等.苜蓿芽生长中相关酶及抗氧化活性的变化[J].食品工业科技,2017,38(24):10-15.

(收稿日期:2018-09-18 修回日期:2018-12-05)

(编辑:林 静)