

遮荫对青钱柳苗生长和黄酮类化合物积累的影响

邱璐¹, 于邦友¹, 刘可可¹, 夏培兴², 邓波^{1*}

(1. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036; 2. 阜阳市林业科学技术推广站, 阜阳 236015)

摘要: 青钱柳 (*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja) 是我国特有的木本药用植物, 含有益人体健康的黄酮类化合物。光照条件影响植物次生代谢物的合成和积累。为探索遮荫对青钱柳黄酮类化合物积累和生长的影响, 在合肥市林业高科技开发中心的苗圃内, 以 2 年生青钱柳苗为对象, 设置全光、50%遮荫率遮阳网一层遮荫 (光照强度约为全光下的 42%)、50%遮荫率遮阳网二层遮荫 (光照强度约为全光下的 19%) 3 种光照强度处理。结果表明: 随光照强度的下降, 青钱柳苗高和地径生长及生物量积累显著下降, 生物量分配发生可塑性变化, 根冠比显著下降, 净光合速率下降, 青钱柳苗的叶绿素含量提高, PS II 原初光能转换效率 (F_v/F_m) 和 PS II 光能捕获效率 (F_v'/F_m') 提高。随遮荫程度的加深, 青钱柳体内的总黄酮和黄酮单体含量明显下降, 叶片中总黄酮和黄酮单体的产量不断下降。黄酮类化合物在叶片中的积累模式也发生适应性变化, 强光下黄酮类化合物主要积累在叶片的上表皮和主脉的微管组织中。研究植株次生代谢物积累与生长对光照条件变化的响应, 对于探究提高药用植物产量的栽培管理技术具有重要意义。

关键词: 青钱柳; 遮荫; 黄酮; 生长; 生物量

中图分类号: S718.43; S792.99

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)03-0359-09

Effects of shade on the growth and accumulation of flavonoids compounds in *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja seedlings

QIU Lu¹, YU Bangyou¹, LIU Keke¹, XIA Peixing², DENG Bo¹

(1. School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Fuyang Forestry Science and Technology Extension Station, Fuyang 236015)

Abstract: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja is one kind of woody pharmacological plant in China, which contains a large amount of flavonoids and is beneficial to human health. Light conditions can strongly affect the synthesis and accumulation of secondary metabolites in the plant. To explore the influence of shading on the accumulation of flavonoids and the growth, and provide a theoretical basis for increasing the yield of flavonoids in *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja, in the nursery of Hefei Forestry High-tech Development Center, two years old seedlings of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja were planted under different shading treatments, full light, a layer of sun-shade with 50% shading rate (the intensity of light was about 42% of that under full light) and two layers of sun-shade with 50% shading rate (the intensity of light was about 19% of that under full light). The effects of three different light intensities on the growth and the accumulation of flavonoids in *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja were analyzed. As results, shading significantly reduced the seedling height, ground-diameter growth, biomass accumulation, plasticity changes in biomass allocation, significantly decreased the root-shoot ratio and net photosynthetic rate. With the decrease of light intensity, the chlorophyll content in *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja seedlings, the PS II primary light energy conversion efficiency (F_v/F_m) and the PS II light capture efficiency (F_v'/F_m') were increased, indicating that the light energy utilization efficiency of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja seedlings were increased under the low light intensity. In this study, it was found that with the increase of shading degree, the contents of total flavonoids and flavonoids in *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja were decreased significantly, and the yields of total flavonoids and flavonoids in the

收稿日期: 2021-08-07

基金项目: 国家自然科学基金(31800528), 2020 年安徽农业大学省级大学生创新创业训练计划项目(S202010364092)和校级大学生创新创业训练计划项目(XJDC2020194)共同资助。

作者简介: 邱璐, 硕士研究生。E-mail: 469620138@qq.com

* 通信作者: 邓波, 副教授。E-mail: bdeng2008@sohu.com

leaves were decreased continuously. In addition, the accumulation pattern of flavonoids in the leaves also changed adaptively. Under the strong light, flavonoids mainly accumulated in the microtubules of the upper epidermis and main veins of the leaves. It is of great significance to study the response of plant secondary metabolites accumulation and the growth to the change of light conditions for exploring the cultivation and management techniques and improving the yield of medicinal plants.

Key words: *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja; shading; flavonoid; growth; biomass

青钱柳 (*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja) 是胡桃科青钱柳属高大落叶乔木, 是我国特有的木本药用植物, 广泛分布于我国的亚热带地区, 喜光, 适宜生长在温暖湿润的地方。其叶片可制茶, 以叶片作为原料的保健品也广受市场欢迎^[1]。以往研究表明, 青钱柳叶可以提取具有降血压、降血糖、抗氧化等药理保健功能的生理活性物质, 包括黄酮类、多糖、甾体类等, 其中黄酮类化合物是青钱柳中主要的活性成分, 也是药用青钱柳栽培中主要的目的产物^[1-2]。随着近年来青钱柳产业化的快速发展, 市场对青钱柳叶的需求日益增大, 但青钱柳的自然资源比较稀少, 主要以发展人工林为主。因此, 优化青钱柳的栽培技术与环境调控措施以获得更丰富的产物成为目前人工林发展的必然需求。青钱柳作为一种木本药用植物, 为了保证产量与原料品质, 其生长状况和黄酮类化合物的积累都值得关注, 所以要重点探究影响青钱柳生长与次生代谢物积累的光照环境条件, 以提高、稳定产物的品质与产量。

光为植物光合作用提供能量, 是影响植物生长发育与次生代谢物积累的重要环境因素之一, 光照强度的改变能够直接影响植物的光合作用, 从而对植物体内营养物质积累、植物生长发育产生显著影响^[3-4]。面对光照环境的改变, 植物也能够通过调整生物量分配、光合结构、形态建成、次生代谢物积累模式等来提高自己抗逆境的能力, 实现对环境变化的适应^[5-7]。目前有许多关于光强对植物生长、黄酮类化合物积累影响的研究, 如相比于遮荫条件, 全光照可以显著增加麻栎 (*Quercus acutissima* Carruth) 和闽楠 (*Phoebe bournei* (Hemsl.) Yang) 单株总叶面积和地上、地下生物量及总生物量, 并显著影响蒲公英 (*Taraxacum mongolicum* Hand-Mazz) 与银杏 (*Ginkgo biloba* Linn.) 叶片中黄酮类化合物的积累, 而遮荫显著影响了青钱柳黄酮类化合物的积累高峰^[8-11]。综上所述, 调控光照强度能够对植物的生长发育与黄酮类化合物积累产生显著影响, 且每种植物都有最有利于其生长与次生代谢物积累的光照条件。

在生产中, 青钱柳主要的收获部位为叶片, 但自然生长的青钱柳树形高大, 难以采摘, 因此为保证叶片产量与采集效率, 青钱柳的矮化以及密植管

理十分重要。本文通过遮荫的方法, 探究青钱柳的生长、黄酮类化合物的积累对光强的响应规律和有利于药用植物产量积累与品质提高的环境条件, 以期选择适合青钱柳生长与次生代谢物积累的栽培环境提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验在安徽省合肥市林业高科技开发中心进行。试验区属于亚热带湿润季风气候, 四季分明, 气候温和, 年平均温度为 15.7 °C, 平均相对湿度为 77%。雨量适中, 年平均降水量为 900~1 000 mm, 主要集中在 5—6 月的梅雨季。年日照时间约为 2 000 h, 年均无霜期为 228 d。

1.2 供试材料

试验材料取自安徽省宣城市绩溪县, 位于北纬 29°57'~30°20', 东经 118°20'~118°55'之间、黄山山脉和西天目山脉结合带, 属北亚热带季风气候, 年平均气温 15.9 °C, 年平均降水量 1 630.3 mm。于 2018 年 3 月将 1 年生青钱柳幼苗移植至安徽省合肥市林业高科技开发中心的基地大田中, 于 2019 年 4 月选取其中长势均匀的青钱柳幼苗进行遮荫处理。

1.3 试验设计

采用单因素试验设计, 使用 50%遮阳率的遮阳网设置 3 种光照处理, 分别为不遮荫、50%遮阳率遮阳网遮荫一层 (光照强度约为全光下的 42%)、50%遮阳率遮阳网遮荫两层 (光照强度约为全光下的 19%)。因此, 本研究共包括 3 个处理, 每个处理包括 3 个重复, 共 9 个试验单元, 每个单元包含 20 株苗。自 2019 年 4 月中旬开始对上述青钱柳苗进行遮荫处理, 遮阳网搭置于距地面约 2 m 高处。连续遮荫 3 个月, 于 7 月测量各处理下青钱柳苗的苗高、地径、光合和荧光参数、叶绿素含量、生物量、黄酮化学组织定位、黄酮含量和黄酮产量。

1.4 研究方法

1.4.1 苗高和地径生长测定 于 2019 年 7 月对所有青钱柳苗进行苗高和地径测定, 并计算各光照处理下的平均苗高和地径生长状况。

1.4.2 光合和荧光参数测定 根据苗高和地径的测

量结果,选取各处理中接近平均值的 5 株青钱柳苗,挑选从顶芽向下数的第 5 片复叶中间的完全功能小叶,作为测量对象进行标记,光合参数采用 LI-6400XT 光合系统 (LI-COR, Inc. Lincoln NE, USA),于自然光条件下,每天早上 9:00—11:00 测定,测定参数为净光合速率 ($\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1})$)。

荧光参数用 FMS2 便携脉冲调制式荧光仪 (Hansatech instruments Ltd. Norfolk, United Kingdom) 对之前标记的小叶进行测定。初始荧光 F_0 于等待植株暗适应 30 min 后测定,暗适应最大荧光 F_m 用饱和脉冲照射后测得,经过测量光照射一段时间后,植株每隔 30 s 照射 1 次饱和脉冲,测得光适应最大荧光 F'_m ,此时关闭测量光,并打开远红光,测量得 F'_0 。测量结果按以下公式计算: PS II 原初光能转化效率 $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$; PS II 光能捕获效率 $F_v'/F'_m = (F'_m - F'_0) / F'_m$ 。

1.4.3 叶绿素含量测定 采集用于测定光合与荧光参数的同一批所有植株同一部位的新鲜小叶,按单株分类,清洗、擦干、切碎后,用 85% 丙酮溶液浸透处理,分别在 $\lambda = 663 \text{ nm}$ 和 $\lambda = 645 \text{ nm}$ 下测定吸光度。叶绿素含量按以下公式计算: $C_{\text{chl-a}} = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}$; $C_{\text{chl-b}} = 22.9 A_{645} - 4.64 A_{663}$; $C_{\text{chl-a+b}} = 20.2 A_{645} + 8.02 A_{663}$ 。

1.4.4 生物量测定 根据青钱柳苗高和地径的测定结果,选取不同光照处理中接近平均值的 3 株青钱柳苗,按单株采集根、茎秆和叶片 3 个部分,洗净后于 70 °C 烘干,分别称重,单株总生物量为其根、茎秆和叶片的干重总和。根冠比计算公式为: 根冠比 = 根生物量/茎叶生物量。

1.4.5 黄酮组织化学定位 在每个处理中选取 5 株青钱柳苗,摘取植株同一部位的完全功能叶进行组织化学分析。分析方式参照廖云海等描述的方法,用 1% 的三氯化铝乙醇溶液将包含中脉的叶片冷冻切片 (厚度为 20 μm) 染色 10 min,封片后立即放置于荧光显微镜下观察并分组拍照^[12]。在荧光显微镜下观察黄酮类化合物时,会呈现蓝白色荧光。

1.4.6 黄酮含量测定 首先均匀采集每个试验单元中所有青钱柳苗的中上部位的完全功能叶,相同光照处理下的所有小叶组成一个样品,重复采集 3 次,共采集 9 组样品。然后去除叶柄,烘干、磨碎。每份样品取 2 g 左右,用石油醚进行 4 h 的 80 °C 水浴提取,过滤,将固形物室温晾干,作为黄酮提取样品待用。黄酮的提取采用超声波辅助提取法^[13],将样品用 75% 乙醇水溶液 65 °C 超声提取 45 min,重

复 2 次,将 2 次提取液混合,挥发一段时间,用甲醇滴洗固形物并定容至 10 mL,作为样品待测。

总黄酮的测定采用比色法^[14],于室温下取 1 mL 样品置于 10 mL 容量瓶,加入 0.3 mL 5% NaNO_2 溶液,静置 5 min 后加入 0.3 mL 1% AlCl_3 甲醇溶液、1 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaOH 溶液混匀,显色 15 min 后在 410 nm 处测定吸光度。以芦丁标准品 (中国药品生物制品检定所,北京) 为对照品,计算样品中的总黄酮含量 (线性范围: 芦丁 2.3~56.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, $R^2 > 0.99$),结果以每克青钱柳烘干样品中含有相当于芦丁当量的毫克数表示。

黄酮单体的测定采用 HPLC - DAD 法,共测定槲皮素、异槲皮苷和山奈酚 3 个黄酮单体。主要采用 Agilent 1200 系列液相色谱 (Waldbronn, 德国) 进行分析,分析前将样品过 0.45 μm 有机滤膜。槲皮素和山奈酚参照《中华人民共和国药典》^[15] 中银杏黄酮水解的方法,用酸将样品水解为苷元后待测。取 1 mL 样品,挥干溶剂后加入 25 mL 体积为 4 : 1 的甲醇 - 25% HCl ,加热回流 30 min,待冷却后定容至 25 mL,检测时用 $V_A : V_B = 55 : 45$ 等度洗脱 (A-色谱纯甲醇, B-0.3% 磷酸),检测波长为 365 nm,柱温为 30 °C,流动相流速为 1.0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。异槲皮苷则将提取液过滤后直接进行分析,检测的流动相为 A-色谱纯甲醇, B-0.5 % 磷酸。梯度洗脱程序为: 0~25 min, 15% A; 15~26 min, 15%~90% A; 26~36 min, 90% A; 36~37 min, 90%~15% A; 37~45 min, 15% A。检测波长 350 nm,柱温、流动相流速与槲皮素和山奈酚一致。试验中用于获得外标校准曲线的异槲皮苷购自中国药品生物制品检定所 (北京),槲皮素和山奈酚购自 Sigma - Aldrich 公司 (St. Louis, MO, USA)。根据黄酮含量计算出黄酮产量: 黄酮产量 / ($\text{mg}\cdot\text{株}^{-1}$) = 黄酮含量 / ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) \times 叶生物量 / ($\text{g}\cdot\text{株}^{-1}$)。

1.5 数据处理与统计分析

本试验以单因素方差分析结果来比较环境对青钱柳生长、生物量、荧光参数、黄酮含量和黄酮产量等相关数量指标的影响;以 Duncan 多重比较来分析处理之间的差异。所有统计数据均由 SPSS 22.0 软件进行方差分析,用 Excel 作图,分析结果的差异显著性检验水平 $P < 0.05$ 。

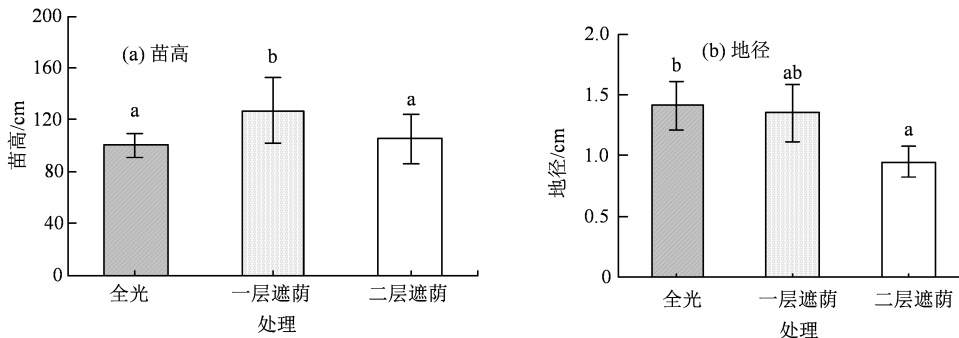
2 结果与分析

2.1 遮荫处理对青钱柳苗高和地径的影响

遮荫处理显著影响了青钱柳的苗高和地径生长

($P < 0.05$)。如图 1 所示, 随着遮荫强度增大, 青钱柳的苗高生长量呈先增高后下降的趋势: 一层遮荫 > 二层遮荫 > 全光, 轻度遮荫促进了青钱柳苗的苗高生长, 达到最大生长量, 而二层遮荫下青钱

柳的苗高生长受到了抑制。地径整体变化趋势与苗高不一致, 地径生长量一直随着遮荫程度的加强而下降。



不同小写字母表示不同遮荫的显著性差异($P < 0.05$)。下同。

图 1 不同遮荫强度下青钱柳的苗高和地径

Figure 1 The seedling height and root collar diameter growth of *C. paliurus* (Batal.) Ijinskaja under three different shade intensities

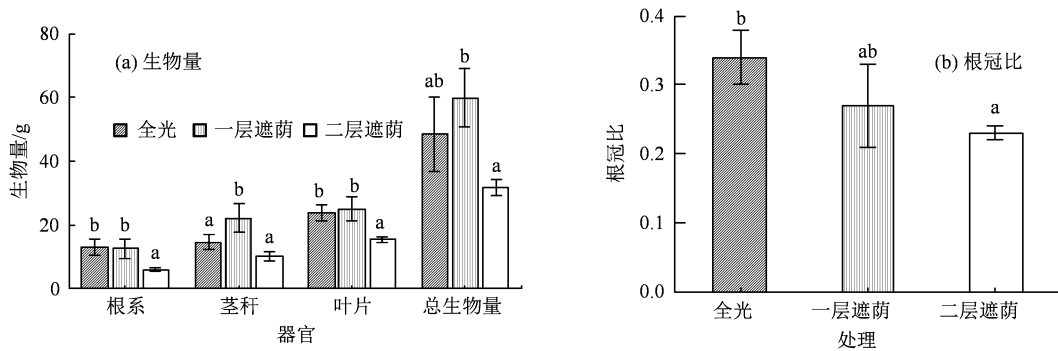


图 2 不同遮荫强度下青钱柳不同器官中的生物量积累与分配

Figure 2 The biomass accumulation and allocation in different organs of *C. paliurus* (Batal.) Ijinskaja under different shade intensities

2.2 遮荫处理对青钱柳生物量积累与分配的影响

不同的遮荫处理对青钱柳生物量的积累和分配产生了显著影响 ($P < 0.05$, 图 2)。青钱柳苗的茎秆、叶片和总生物量均在一层遮荫条件下达到最大, 但于全光下无显著差异, 而两层遮荫下的生物量积累明显小于全光 and 一层遮荫下。说明适度遮荫可以促进青钱柳苗的生长, 但遮荫过度则会强烈抑制其生长。另外, 遮荫处理使青钱柳苗的地上和地下部分生物量的分配发生了明显变化。随着遮荫强度的加大, 根冠比呈显著下降, 这也反映了青钱柳苗在形态上通过提高地上部分生物量的分配以适应弱光环境。

2.3 遮荫处理对青钱柳光合和荧光参数的影响

遮荫对青钱柳光合与荧光参数产生了显著影响 ($P < 0.05$, 表 1)。不同光照处理间青钱柳叶片的净光合速率随遮荫程度的加强而下降, 变异范围为 $10.48 \sim 12.42 \mu\text{mol} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$, 全光时净光合速率分别

是一层遮荫时的 1.04 倍、二层遮荫时的 1.19 倍, 说明遮荫抑制了青钱柳的光合作用与光合作物的产出。为了反映遮荫处理对青钱柳叶片光能利用效率的影响, 分别测定了 PS II 原初光能转化效率 (F_v/F_m)、PS II 光能捕获效率 (F_v/F_m') 两个荧光参数。结果显示, PS II 原初光能转换效率在 3 种处理下均高于 0.8, 在二层遮荫时略高于全光和一层遮荫, 而 PS II 光能捕获效率总体随遮荫程度的加强呈上升趋势, 在全光和一层遮荫时没有显著变化, 二层遮荫时显著大于全光和一层遮荫时, 为全光和一层遮荫下的 1.52 倍 (表 1)。由此可见, 随着光照的减弱, 青钱柳叶片的光合机构也做出了适应性调整, 提高了其对光能的利用效率。

2.4 遮荫处理对青钱柳叶绿素含量的影响

由图 3 可知, 遮荫对青钱柳叶片的光合色素含量与组成产生了显著影响 ($P < 0.05$), 青钱柳叶绿素含量一直随遮荫程度的加强而增加, 而叶绿素 a/b

总体呈下降趋势,说明遮荫下的叶绿素 b 的相对比例上升。叶绿素 b 是吸收光能的重要光合色素之一,这与上一部分的结果一致,可见面对弱光胁迫,青

钱柳植株的光合机构会通过提高光合色素的含量来增强对光能的捕获吸收,从而实现对光环境的适应。

表 1 不同遮荫强度下青钱柳的光合与荧光参数

Table 1 The photosynthetic parameters and fluorescence parameters of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja under different shade intensities

处理	光合荧光参数		
	净光合速率 $P_n/(\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	PS II 原初光能转换效率 F_v/F_m	PS II 光能捕获效率 F_v'/F_m'
全光	12.42 ± 0.97^b	0.85 ± 0.01^a	0.48 ± 0.13^a
一层遮荫	12.00 ± 0.31^b	0.85 ± 0.03^a	0.48 ± 0.13^a
二层遮荫	10.48 ± 2.01^a	0.86 ± 0.03^a	0.73 ± 0.04^b

注: 同列数据后面的不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

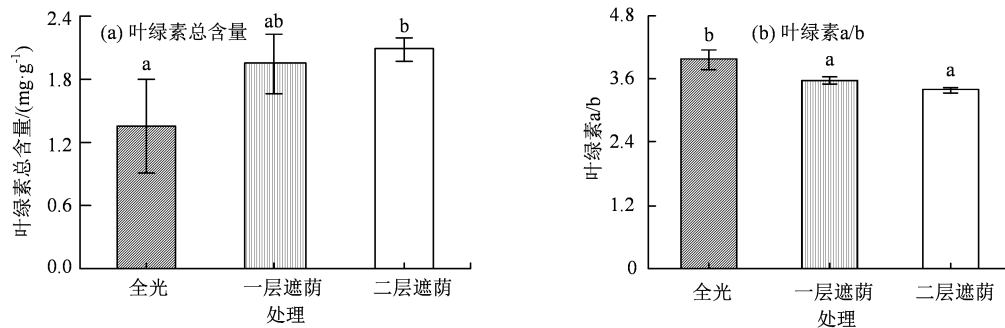


图 3 不同遮荫强度下青钱柳的叶绿素含量与叶绿素 a/b 的变化

Figure 3 The total chlorophyll content and the chlorophyll a/b ratio of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja under different shade intensities

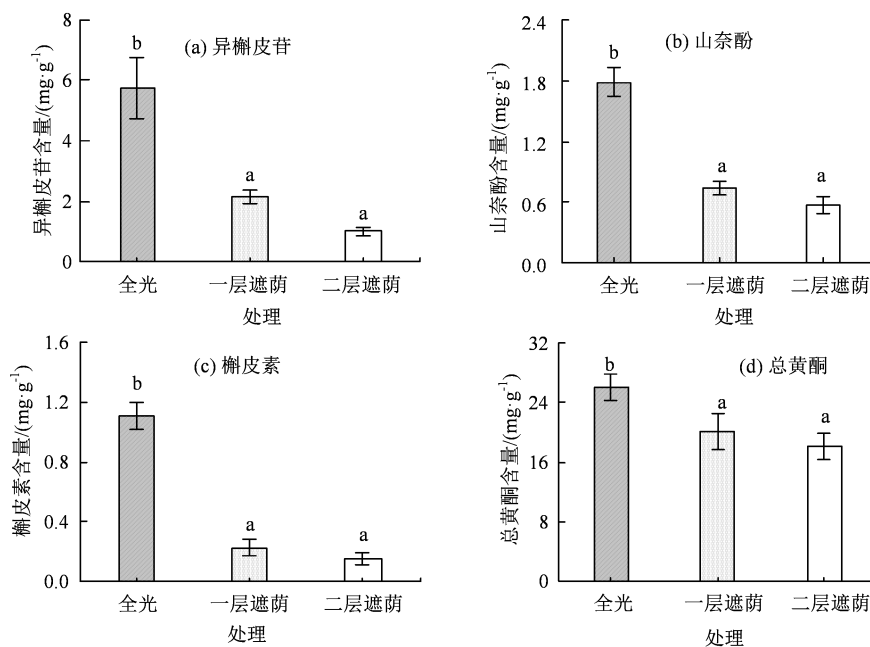


图 4 不同遮荫强度下青钱柳中的 3 个黄酮单体与总黄酮含量

Figure 4 The contents of three individual flavonoids and total flavonoid in *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja under different shade intensities

2.5 遮荫处理对青钱柳黄酮含量的影响

遮荫处理对青钱柳中的总黄酮和黄酮单体 (异

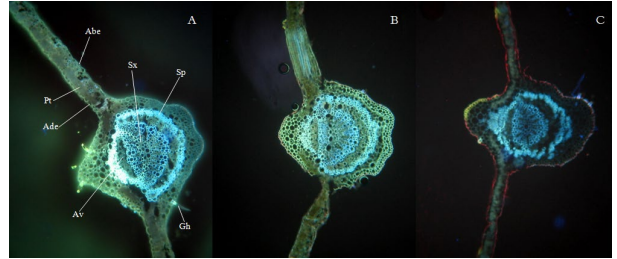
槲皮苷、山奈酚和槲皮素) 含量均产生了显著影响 ($P < 0.05$)。如图 4 所示, 异槲皮苷、山奈酚和槲

皮素的含量有着相同的变异趋势,即随着遮荫程度的增强而下降,变异区间分别为异槲皮苷为 $1\sim 5.73\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,山奈酚为 $0.57\sim 1.79\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,槲皮素为 $0.15\sim 1.11\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,全光下的黄酮单体含量显著大于一层遮荫与二层遮荫下。3种处理下的黄酮单体含量总体上呈异槲皮苷>山奈酚>槲皮素,且全光下的异槲皮苷含量远高于山奈酚和槲皮素的含量,可见异槲皮苷为主要的黄酮单体。黄酮单体下降幅度整体上呈槲皮素>异槲皮苷>山奈酚,猜测槲皮素可能为三者之中最有效的光保护剂。总黄酮含量随遮荫强度增加呈下降趋势,全光下的总黄酮量显著大于一层遮荫与二层遮荫。综上所述,遮荫处理使得青钱柳叶中黄酮类化合物的积累受到了抑制。

2.6 青钱柳中黄酮的组织化学定位分析

不同的遮荫强度下的青钱柳叶片黄酮积累模式基本一致,并且随着遮荫程度的加深,黄酮的积累量逐渐减少。如图5所示,全光下黄酮主要分布在

叶肉上表皮部分和主脉部分的微管组织中,包括副维管束、次生韧皮部和次生木质部,腺毛中也有部分分布。随着光照的减弱,黄酮在表皮上的积累量逐渐减少,更多的储存在微管组织和腺毛中。可见黄酮是重要的抗光氧化物质,能够感知光照胁迫,并富集在受光照胁迫的部位。



Ade: 上表皮; Abe: 下表皮; Pt: 栅栏组织; Sp: 次生韧皮部; Sx: 次生木质部; Av: 副维管束; Gh: 腺毛。A: 全光; B: 一层遮荫; C: 二层遮荫。

图5 不同遮荫强度下青钱柳中黄酮积累的组织化学定位
Figure 5 Histochemical analysis of flavonoid accumulation in leaves of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja

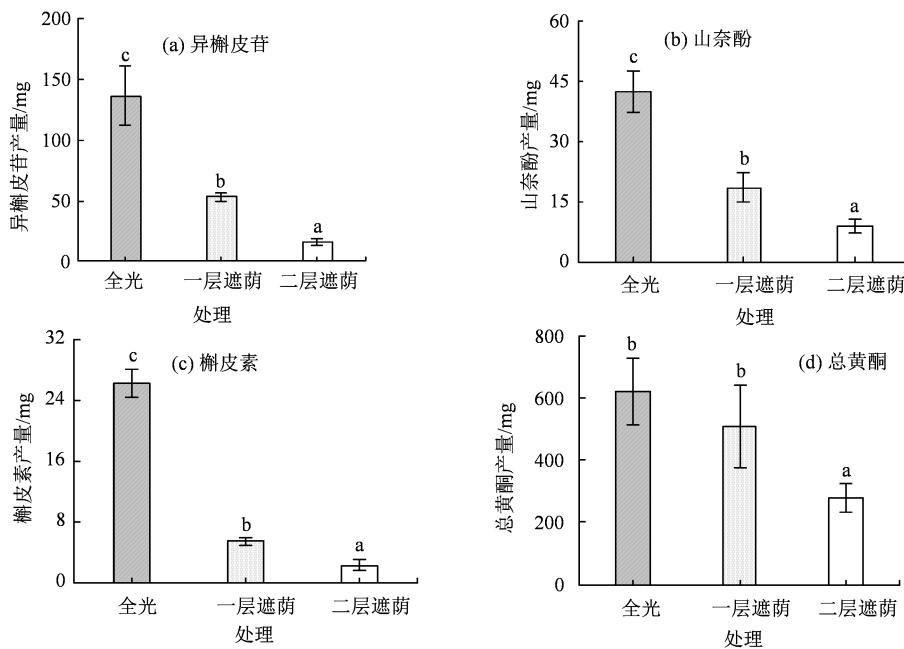


图6 不同遮荫强度下青钱柳的总黄酮和黄酮单体的单株产量

Figure 6 The yield per plant of total flavonoid and three individual flavonoids of *C. paliurus* (Batal.) Iljinskaja under different shade intensities

2.7 遮荫处理对青钱柳黄酮产量的影响

遮荫对总黄酮和黄酮单体(异槲皮苷、山奈酚、槲皮素)产量均产生了显著性影响($P < 0.05$)。如图6所示,总黄酮和各黄酮单体的产量均随遮荫水平的增强而呈下降趋势。总黄酮产量在全光下为一层遮荫时的1.22倍,二层遮荫时的2.22倍;槲皮素产量表现出较大的下降幅度,在全光时为一层遮荫的2.56

倍,二层遮荫的8.77倍;异槲皮苷产量在全光时为一层遮荫的2.29倍,二层遮荫的4.82倍;山奈酚产量在全光下为一层遮荫的4.76倍,二层遮荫的11.39倍。青钱柳总黄酮和3个黄酮单体产量均在一层遮荫时呈现较大的下降幅度,于二层遮荫时达到最小值,此时山奈酚产量的下降幅度最大,达到了91.2%;槲皮素次之,为88.6%,然后是异槲皮苷,为79.2%。

由此可见, 光照环境的变化对青钱柳的生物量积累与黄酮类化合物的产量产生了重要影响, 且不同的黄酮单体产量对遮荫的响应也不同。

3 讨论与结论

当植物受到弱光胁迫时, 光合能力受到限制, 影响了光合产物的合成, 从而植株的苗高、地径生长也会受到不同程度的抑制, 而为了适应光环境变化, 植物也会在形态学水平上进行适应性调整^[16-18]。本研究中, 轻度遮荫可促进青钱柳苗高生长, 但遮荫一直抑制了地径的生长。之前已有一些研究发现, 适度遮荫的环境更有利于桤木 (*Alnus formosana* Burk) 幼苗的生长; 青桐 (*Firmiana platanifolia* (Linn.f.) Marsili) 幼苗的苗高随遮荫程度的增加而升高, 而地径随遮荫强度的增加呈递减趋势; 遮光率 50% 时, 福建柏 (*Fokienia hodginsii* (Dunn) A. Henry et Thomas) 苗高和地径达到最大, 在遮光率为 87.5 % 时最小^[19-21]。这与本研究结果一致, 环境条件的变化能够对植株的生长发育产生影响, 同时, 在一层遮荫下, 青钱柳呈现出“瘦高”的形态特征, 可见青钱柳为适应弱光环境更趋向于纵向生长, 以增加光能的接收与利用面积。在生物量积累和分类上, 植物在遮光环境下会减少根系在全株总干重的比例, 有利于同化有机物的积累和呼吸消耗的降低^[22-24]。本研究中, 分析了对青钱柳对不同遮荫处理下根、茎、叶与总的生物量积累与分配, 结果表明, 总体上青钱柳的生物量积累随着光照强度的下降而显著下降, 同时生物量的分配也发生了一系列变化。适度遮荫下, 青钱柳茎秆、叶片生物量的积累得到了促进, 而深度遮荫下的植物光合作用受到抑制, 有机物的产出减少, 生物量的积累显著下降。另外, 青钱柳根冠比也随之下降, 可见青钱柳逐渐减少了根系的物质分配, 将更多的生物量分配给了茎秆与叶片, 用于青钱柳树高与冠幅的增长, 并减缓了地下部分的生长, 实现了对弱光环境的适应。

光是影响植物光合作用最重要的环境因素, 能够直接影响光合系统的结构与活性, 引起叶绿素含量、叶绿素比值、光化学反应等变化^[25-27]。研究结果显示青钱柳叶净光合速率随着遮荫程度的加深而降低, 说明遮荫抑制了青钱柳叶片的光合作用产物的积累。在植物进行光合作用时, 光合色素对光能的吸收和利用起到重要的作用, 其含量与比例是体现植物对光环境适应和利用能力的重要指标。其中叶绿素 b 主要吸收短波长蓝紫光, 升高叶绿素 b 的

比例可以增强叶片在弱光环境中对短波长蓝紫光的利用能力。研究显示, 遮荫可使连翘 (*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl.) 的净光合速率、叶绿素 a/b 降低, 光能利用效率、叶绿素含量增加, 以增强在弱光环境下的生长能力^[28], 也导致崖柏 (*Thuja sutchuenensis* Franch.) 光能转换效率和叶绿素含量的增加^[29]。本研究中, 遮荫条件下叶绿素含量和叶绿素 b 相对比例均显著高于全光条件下, 随遮荫程度的增加而升高, 这与前人的结果一致, 证明了青钱柳能够通过提高其光合色素的含量来提高对光能的捕捉能力, 以更好地吸收蓝紫光, 对弱光环境进行适应。与此同时, PS II 原初光能转换效率 F_v/F_m 是体现植物光合生理状态的重要指标, 体现了 PS II 反应中心处于开放态时的量子产量和植物的受光抑制程度, 一般为 0.80~0.85, F_v/F_m 值升高能够体现植物较高的光利用效率^[30-31]。本研究中, F_v/F_m 值的变异区间为 0.85~0.86, 深层遮荫下拥有更高的光能转换效率, 说明弱光下叶绿体的光合电子传递链可以更加高效地吸收光能, 用于光合作用。 F_v'/F_m' 值反映了 PS II 反应中心未完全开放情况下的 PS II 光能捕获效率的反应, 本研究中, 随着遮荫程度的增加, F_v'/F_m' 值于二层遮荫时显著增加, 说明弱光环境下青钱柳叶片的 PS II 反应中心开放程度加强, 更多的光能被用于化学反应, 从而提高了光能利用率。

黄酮是一种有效的抗氧化物质, 当接受到更强的紫外辐射时, 植物会诱导产生黄酮等紫外吸收物质来抵御紫外辐射的伤害, 主要在细胞膜系统间进行转运, 最后集中分布于合成部位、功效部位或贮藏部位的液泡、细胞壁中, 因此, 黄酮的积累主要受光照与紫外辐射的调节^[32-35]。青钱柳叶的组织化学分析显示, 强光下的黄酮类化合物主要分布在青钱柳叶片的主脉微管组织和叶肉部分的表皮细胞中, 腺毛中也有部分分布。可见黄酮类化合物大部分被贮藏于叶脉中, 当太阳辐射作用于叶片时, 黄酮就被运输至需要进行光保护的叶表皮部位, 防御太阳辐射。因此, 在黄酮类化合物的提取作业中应注意保留黄酮富集部位, 如叶脉、表皮, 叶柄中也可能有一定的黄酮分布。本研究结果显示, 全光条件下青钱柳总黄酮和 3 个黄酮单体的积累量最高, 黄酮含量受遮荫影响显著下降。前人研究显示, 强光可以使黄酮合成的酶基因表达上升, 酶的含量与活性因此提高, 从而增加了黄酮类化合物的含量, 其中, Idris 等^[36]研究说明了强光可以增加薇甘菊

(*Mikania micrantha* Kunth) 和平卧菊 (*Tridax procumbens* Linn.) 中总黄酮的含量, Cheng 等^[37]的研究显示银杏 (*Ginkgo biloba* Linn.) 的黄酮的形成、生物合成和含量均受到光强的影响, 这些均体现了光强对黄酮的合成和积累产生的重要影响, 说明高强度的光照更有利于黄酮的积累, 并印证了黄酮在光保护机制中发挥的作用。本研究中, 山奈酚、槲皮素和异槲皮苷的含量有相同的变化趋势, 随遮荫程度的加强均显著下降。其中, 异槲皮苷是青钱柳重要的黄酮单体, 山奈酚的含量相对稳定, 遮荫对槲皮素的含量影响最大。在 Ko 等的研究中, 光照处理对洋葱 (*Allium cepa* Linn.) 中槲皮素含量产生了更显著的影响^[38], 这与本试验的结果一致, 说明不同的黄酮单体的积累对光照条件的响应存在差异。另外, 近年来有研究显示, 槲皮素及其苷类化合物具有较强的光保护作用, 可以有效清除茶叶受光胁迫时产生的活性氧^[39], 进一步证明了槲皮素对于青钱柳来说是更有效的光保护剂。同时, 青钱柳总黄酮与黄酮单体产量随着遮荫程度的增加而显著降低, 可见强光环境更有利于黄酮产量的积累。不同光照处理下槲皮素的产量最高, 异槲皮苷的产量相对稳定, 山奈酚产量被遮荫影响较大, 产量也相对最小。因此, 在青钱柳的栽培过程中, 强光更有利于促进黄酮含量与产量的积累。总之, 光照条件的变化能够影响黄酮类化合物的积累模式与积累量。

综上所述, 遮荫对青钱柳的苗高和地径生长、叶片黄酮类化合物积累均有显著影响。一层遮荫促进了青钱柳的苗高生长, 二层遮荫均对苗高和地径产生了抑制作用, 黄酮类化合物的含量与产量在两种遮荫处理下均受到了抑制。同时, 青钱柳有一定的耐荫能力, 受到弱光胁迫时能够通过外部形态、光合机构的成分与结构的可塑性变化来获取更多的光照、提高自己的光能捕获与利用能力, 适应弱光环境。因此, 研究青钱柳苗的生长与次生代谢物积累对光照的响应, 对改善药用青钱柳人工林栽培技术和提高药用青钱柳产量具有重要意义。

参考文献:

- [1] 方升佐, 狄香香. 青钱柳资源培育与开发利用的研究进展[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2007, 31(1): 95-100.
- [2] 李俊, 陆园园, 许子竞, 等. 青钱柳中黄酮成分的研究[J]. 中药材, 2005, 28(12): 1058-1059.
- [3] 李强, 赵瑜, 张燕, 等. 光对药用植物影响的研究进展及其对生态种植的启示[J]. 现代中药研究与实践, 2017, 31(4): 80-83.
- [4] 战丽杰, 张宏宝, 李宗泰, 等. 遮荫处理对芍药幼苗生长和矿质营养积累的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(10): 3473-3479.
- [5] 张云, 夏国华, 马凯, 等. 遮阴对堇叶紫金牛光合特性和叶绿素荧光参数的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(7): 1940-1948.
- [6] 魏巍, 侯玉平, 彭少麟, 等. 不同光照强度对入侵植物薇甘菊 (*Mikania micrantha*) 和飞机草 (*Chromolaena odorata*) 生长及生物量分配的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(18): 6021-6028.
- [7] 邓波, 曹燕妮, 方升佐, 等. 光照强度对青钱柳叶形态结构、光合特性和生长的影响[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(8): 1-6.
- [8] 徐海东, 熊静, 成向荣, 等. 麻栎和闽楠幼苗叶功能性状及生物量对光照和施肥的响应[J]. 生态学报, 2021, 41(6): 2129-2139.
- [9] 邓波, 刘桂华, 余云云, 等. 遮荫和种源对青钱柳三萜类化合物积累的影响[J]. 生态学杂志, 2018, 37(2): 383-390.
- [10] 谢小翌, 张喜春. 不同遮荫处理对蒲公英生长及总黄酮含量的影响[J]. 北京农学院学报, 2019, 34(2): 47-50.
- [11] 徐友, 王欢利, 汪贵斌, 等. 温度和光照强度对银杏叶黄酮合成的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2016, 36(4): 30-34.
- [12] 廖云海, 陆嘉惠, 李娜, 等. 光果甘草营养器官结构及其总黄酮的组织化学定位和含量研究[J]. 西北植物学报, 2010, 30(12): 2406-2411.
- [13] HUANG W, XUE A, NIU H, et al. Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro[J]. Food Chem, 2009, 114(3): 1147-1154.
- [14] BAO J, CAI Y, SUN M, et al. Anthocyanins, flavonols, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their color properties and stability[J]. J Agric Food Chem, 2005, 53(6): 2327-2332.
- [15] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典-二部: 2010年版 分辑号: 二部[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010.
- [16] 邓秀秀, 施征, 肖文发, 等. 干旱和遮荫对马尾松幼苗生长和光合特性的影响[J]. 生态学报, 2020, 40(8): 2735-2742.
- [17] 王俊峰, 冯玉龙. 光强对两种入侵植物生物量分配、叶片形态和相对生长速率的影响[J]. 植物生态学报, 2004, 28(6): 781-786.
- [18] FALSTER D S, DUURSMA R A, FITZJOHN R G. How functional traits influence plant growth and shade tolerance across the life cycle[J]. PNAS, 2018, 115(29): E6789-E6798.
- [19] 刘柿良, 马明东, 潘远智, 等. 不同光环境对柃木幼苗生长和光合特性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(2):

- 351-358.
- [20] 智西民, 何靖雯, 王梦颖, 等. 遮荫和土壤类型对青桐幼苗生长和养分含量的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(12): 3961-3970.
- [21] 陈乾, 黄霞, 江登辉, 等. 遮荫对福建柏苗期生长及生物量的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2020, 49(6): 796-802.
- [22] 蔡锡安, 饶兴权, 刘占锋, 等. 遮荫处理对梅叶冬青叶片形态、光合特性和生长的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2020, 28(1): 25-34.
- [23] WU J W, LI J Y, SU Y, et al. A morphophysiological analysis of the effects of drought and shade on *Catalpa bungei* plantlets[J]. Acta Physiol Plant, 2017, 39(3): 1-11.
- [24] SOLOFONDRANO HATRA C L, VORONTOVA M S, DEWHIRST R A, et al. Shade alters the growth and architecture of tropical grasses by reducing root biomass[J]. Biotropica, 2021, 53(4): 1052-1062.
- [25] 王艺, 韦小丽. 不同光照对植物生长、生理生化和形态结构影响的研究进展[J]. 山地农业生物学报, 2010, 29(4): 353-359, 370.
- [26] YAO X D, LI C H, LI S Y, et al. Effect of shade on leaf photosynthetic capacity, light-intercepting, electron transfer and energy distribution of soybeans[J]. Plant Growth Regul, 2017, 83(3): 409-416.
- [27] HEMON A F, SUMARJAN, HANAFI A R. Shade stress in various growth phases of peanut genotypes and its effect on agronomic characters and chlorophyll content[J]. IOP Conf Ser: Earth Environ Sci, 2021, 712(1): 012017.
- [28] 王建华, 任士福, 史宝胜, 等. 遮荫对连翘光合特性和叶绿素荧光参数的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(7): 1811-1817.
- [29] 刘建锋, 杨文娟, 江泽平, 等. 遮荫对濒危植物崖柏光合作用和叶绿素荧光参数的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(20): 5999-6004.
- [30] 曹永慧, 周本智, 张汝民, 等. 披针叶茴香叶绿素荧光参数对不同光环境的响应[J]. 西北植物学报, 2012, 32(3): 525-531.
- [31] 罗光宇, 陈超, 李月灵, 等. 光照强度对濒危植物长序榆光合特性的影响[J]. 生态学杂志, 2021, 40(4): 980-988.
- [32] 潘俊倩, 佟曦然, 郭宝林. 光对植物黄酮类化合物的影响研究进展[J]. 中国中药杂志, 2016, 41(21): 3897-3903.
- [33] JAAKOLA L, HOHTOLA A. Effect of latitude on flavonoid biosynthesis in plants[J]. Plant Cell Environ, 2010, 33(8): 1239-1247.
- [34] PETRUSSA E, BRAIDOT E, ZANCANI M, et al. Plant flavonoids: biosynthesis, transport and involvement in stress responses[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(7): 14950-14973.
- [35] AGATI G, BRUNETTI C, FINI A, et al. Are flavonoids effective antioxidants in plants? twenty years of our investigation[J]. Antioxidants, 2020, 9(11): 1098.
- [36] IDRIS A, LINATOC A C, MUHAMMAD S M, et al. Effect of light intensity on the total flavonoid and total phenolic contents of *Mikania micrantha* and *Tridax procumbens*[J]. J Sci Technol, 2018, 10(4): 139-142.
- [37] CHENG S Y, XU F, WANG Y. Advances in the study of flavonoids in *Ginkgo biloba* leaves[J]. J Med Plant Res, 2010, 3(13): 1248-1252.
- [38] KO E Y, NILE S H, SHARMA K, et al. Effect of different exposed lights on quercetin and quercetin glucoside content in onion (*Allium cepa* L.)[J]. Saudi J Biol Sci, 2015, 22(4): 398-403.
- [39] ZHANG Q, LIU M, RUAN J. Metabolomics analysis reveals the metabolic and functional roles of flavonoids in light-sensitive tea leaves[J]. BMC Plant Biol, 2017, 17(1): 64.