

绞股蓝组培苗添加水杨酸后总黄酮含量及苯丙氨酸解氨酶活性研究

孙蓉蓉¹ 肖娅萍^{1,2*} 成晓霞¹

(1 教育部药用植物资源及天然药物化学重点实验室, 陕西西安 710062;

2 陕西师范大学生命科学学院, 陕西西安 710062)

摘要:采用索氏提取法提取黄酮, 可见分光光度法测定样品中总黄酮含量和 PAL 酶活性。结果表明: 在 50 - 150 $\mu\text{mol/L}$ 浓度范围内附加水杨酸可提高绞股蓝组培苗的总黄酮含量和 PAL 酶活性。

关键词:绞股蓝; 总黄酮; PAL; 水杨酸

中图分类号 Q945.1

文献标识码 A

文章编号 1007-7731(2008)09-33-02

Contents of Total Flavonoids and Activity of PAL in Gynostemma after Adding Licylic Acid

Sun Rongrong, Xiao Yaping, Cheng Xiaoxia (1. Key Laboratory of Ministry of Education for Medicinal Plant Resource and Natural Pharmaceutical Chemistry, Xi'an 710062, Shanxi, China; 2. Life Science College, Shanxi Normal University, Xi'an 710062, Shanxi, China)

Abstract: Objective: Determine the total flavonoids and activity of PAL after adding SALicylic acid. Methods: The total flavonoids were extraceted by Soxhlet extraction and determined by spectrophotometry. The activity of PAL also determined by spectrophotometry. Results: SA in the range of 50 $\mu\text{mol/L}$ - 150 $\mu\text{mol/L}$ can enhance the total flavonoids contents and activity of PAL in culture Gynostemma. Conclusion: Adding slyclic acid can apply in enhancing the total flavonoids contents in culture Gynostemma.

Key words: Gynostemma; Total Flavonoids; PAL; slyclic Acid

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino 系葫芦科 *Cucurbitaceae* 绞股蓝属 *Gynostemma* 多年生草质藤本植物^[1], 具有广泛的药理作用, 能有效保护心、脑、血管和肝脏、调节免疫和抗诱变等。绞股蓝在抗衰老、抗疲劳、抗辐射和消除自由基的同时, 还能改善神经系统功能、抗溃疡、抑制胆结石形成和调节内分泌活动^[2]。

植物次生代谢产物具有多种生物活性, 是天然药物的主要来源, 广泛应用在医药、食品、化妆品等方面。如黄酮就是一种公认的植物抗毒素, 当植物受到外界胁迫时被大量合成, 具有广泛的生物活性。

水杨酸是被研究较多的诱导子, 本试验中选用水杨酸为诱导子, 研究了不同浓度水杨酸处理后对绞股蓝组织培养苗的苯丙氨酸解氨酶活性以及对总黄酮含量的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 实验材料采自安康平利绞股蓝研究所, 经陕西师范大学田先华教授鉴定为绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb)。继代培养后选取生长一致的绞股蓝组培苗为实验材料。将长势良好, 生长状况一致绞股蓝组培苗继代到分别附加 50 $\mu\text{mol/L}$ 、100 $\mu\text{mol/L}$ 、150 $\mu\text{mol/L}$ 、200 $\mu\text{mol/L}$ 水杨酸的 MS 基本培养基中, 以不加水杨酸为对照组。继代培养条件相同。同时进行总黄酮含量和

PAL 酶活性测定, 每 6d 测定一次总黄酮含量, 每三天测定一次 PAL 酶活性。

1.2 实验方法

1.2.1 PAL 活性测定 Eppendor centrifuge 5810R 型冷冻离心机、TU-800 型紫外可见分光光度计等。

PAL 的提取: 按照邱枫等测定柠条幼苗发育中苯丙氨酸解氨酶活性的方法提取^[3]。

PAL 活性测定: 按照现代植物生理学实验指南中的方法测定^[4]。

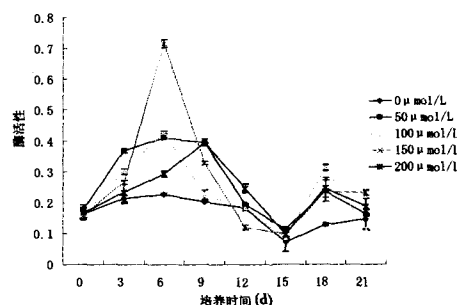


图1 不同浓度水杨酸对 PAL 活性的影响

1.2.2 总黄酮含量测定 用索氏提取法提取绞股蓝总黄酮, 分光光度法测定总黄酮含量。绘制的标准曲线为 $C = 0.0853 A - 0.0027$ ($r = 0.999$, $n = 5$), 样品检测浓度

作者简介: 孙蓉蓉 (1983 -), 女, 陕西眉县人, 在读研究生, 研究方向: 植物生物技术。* 通讯作者

收稿日期: 2008-02-03

在 0.0052–0.0312 mg/ml 的范围内,吸收度线性关系良好。

2 结果与分析

2.1 附加不同浓度的水杨酸后 PAL 活性变化 由图可知,在 MS 基本培养基中分别附加 0 μmol/L、50 μmol/L、100 μmol/L、150 μmol/L、200 μmol/L 水杨酸后, PAL 活性随着培养时间的增加而增加,在第 6d 时达到最高,随后开始下降,第 18d 后趋于稳定。附加 50 μmol/L–150 μmol/L 浓度范围的水杨酸后可提高 PAL 酶活性。

2.2 附加不同浓度水杨酸后绞股蓝总黄酮含量

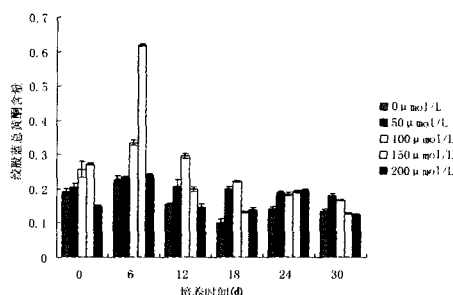


图2 不同浓度水杨酸对绞股蓝总黄酮含量的影响

由图可知,不同剂量的水杨酸对绞股蓝组培苗总黄酮含量的影响是不同的。在 50–150 μmol/L 浓度范围的水杨酸添加情况下,绞股蓝总黄酮含量高于对照组,但是 200 μmol/L 浓度水杨酸添加情况下,总黄酮含量则低于对照组。处理组和对对照组绞股蓝的总黄酮含量均在第 6d 时达到最高峰,随后开始下降。

3 讨论

植物组织培养过程中通过添加诱导子可以创造一种胁迫环境,提高次生代谢产物含量。这种外源诱导物质能使植物体产生防御反应,积累次生代谢物质。本试验选用

水杨酸作为诱导子,水杨酸成本低廉,用量较少,可以在次生代谢产物的大规模工厂化生产中运用。PAL 是植物体内苯丙烷类代谢途径中的限速酶,调控酚类物质和木质素在植物体中的合成和积累,其活性的高低在一定程度上反映了植物在特定时期次生代谢物质合成的速度和植物防卫反应的指标^[5]。

本研究表明适当浓度外源水杨酸能够提高绞股蓝组织培养苗的总黄酮含量,这与报道的水杨酸能够有效地促进怀槐悬浮培养细胞合成异黄酮相似^[6]。在一定范围内,随着处理浓度提高,总黄酮含量也随之提高。其中,在培养基中附加 150 μmol/L 的水杨酸能显著提高绞股蓝组培苗的总黄酮含量。同时,外源水杨酸还可提高绞股蓝组织培养苗 PAL 酶活性,表明附加水杨酸后绞股蓝体内的苯丙烷类代谢加强,加速了黄酮类物质的合成,从而提高了绞股蓝总黄酮的含量。

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会.《中国植物志》(73 卷第一分册)[M]. 科学出版社,1986,265–277
- [2] 侯慧丽,傅童生. 绞股蓝的化学成分与药理作用研究进展[J]. 动物医学进展,2006,27(增):59–61
- [3] 邱枫,许雷,高洪文. 柠条幼苗发育中苯丙氨酸解氨酶活性[J]. 亚热带农业研究,2006,2(3):184–187
- [4] 中国科学院上海植物生理研究所. 现代植物生理学实验指南[M]. 科学出版社,1999,第一版:322
- [5] 郭红莲,白雪芳,杜昱光等. 氯化镉和三氟乙酸对壳寡糖诱发棉花细胞抗性的影响. 作物学报,2004,30(2):186–188
- [6] 罗建平,夏宁,沈国栋. 茉莉酸甲酯和一氧化氮诱导怀槐悬浮细胞合成异黄酮及细胞结构变化. 分子细胞生物学报,2006,39(5):438–444

(责编:张琪琪)

(上接 8 页)期间,应将农业部农产品质量监督测试中心(合肥)建成集产品检测、生产环境检测和农业生产投入品检测于一体的综合性检测机构,并结合全省农业生产区域特色,应建成 4–5 个区域性综合检测机构,形成省、市绿色农业检测体系。

4.5 建立健全技术保障体系 一要采取有效措施,开展多层次的绿色农业知识教育,不断增强全民发展绿色农业的意识;二要充分发挥地大专院校和科研院所的人才优势,大力开展绿色农业及相关技术研究,为加快绿色农业发展提供强有力的技术支撑和充裕的技术储备;三要积极推广绿色农业生产新技术,引导科技人员与农民开展技术承包,促进技术开发、推广与经营的有机结合。四要加快绿色农业如良种、肥料、农药和添加剂等生产资料开发、推广和应用。五要通过集中培训、分级培训和以会代训等形式对绿色农业生产、经营、管理及技术人员进行技术和管理知识的培训,提高他们的生产经营能力。

4.6 扶持龙头企业和农民经济合作组织 按照发展规划,选择一批实力较强、带动面广的龙头企业,在项目、资

金、技术、政策环境等方面给予重点扶持。让龙头企业采用绿色技术,按照绿色食品标准组织生产、加工、销售,以绿色品牌参与市场竞争。同时,应成立多种农民合作组织,提高农民组织化程度,适应市场经济发展,增加农民收入。

4.7 加强组织领导 各级政府要高度重视,加强领导,把发展绿色农业作为当前及今后一个时期我省农业和农村经济工作的重点,摆上重要议事日程,精心组织,紧抓不放。要进一步解放思想,创新思维、创新理念、创新机制、创新方式与方法,切实帮助解决发展过程中出现的实际问题,使我省绿色农业产业稳步健康地向前推进。

参考文献

- [1] 刘连馥主编:《绿色农业初探》中国财政经济出版社
- [2] 刘连馥主编:《绿色农业生产技术指导原则》
- [3] 《安徽省“十一五”绿色食品产业发展规划》安徽省农业委员会
- [4] 2006 年安徽农业和农村经济工作总结
- [5] 《2007 年安徽省绿色食品工作总结》
- [6] 周旗等:《河南省绿色农业发展对策》《地域研究与开发》2005 年第 3 期

(责编:陶学军)