

## 光强对菘蓝生长、化学成分及抗氧化活性的影响

李鑫垚, 黄佳彬, 郭巧生, 刘俐君, 龚敏, 苏勇, 陆李仙, 赵坤

(南京农业大学 中药材研究所, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 【目的】探究光强对大青叶基原植物菘蓝 *Isatis indigotica* 生长、药材大青叶化学成分及抗氧化活性的影响, 为大青叶基原植物菘蓝的人工栽培提供参考。【方法】在 100% 全光照、60% 全光照、20% 全光照下种植菘蓝, 观测菘蓝生长旺盛期叶片生长情况, 同时测定大青叶靛蓝、靛玉红、总黄酮、总多糖、总游离氨基酸等化学成分质量分数和抗氧化活性。【结果】菘蓝叶片生长与光强呈正相关, 100% 全光照组的菘蓝株高、叶长、叶宽、叶片数、叶面积均为最高; 大青叶靛蓝、总黄酮、总多糖质量分数均随着光强的降低而降低, 且各组间差异显著 ( $P < 0.05$ ); 靛玉红质量分数随光强的增加呈先升高后降低的趋势, 60% 全光照组显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ ), 但 100% 全光照组与 20% 全光照组间差异不显著; 总游离氨基酸质量分数随着光强的降低而升高。抗氧化活性与光强呈正相关, 20% 全光照组的 1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基半清除率 ( $I_{C50}$ ) 显著高于 60% 全光照组和 100% 全光照组 ( $P < 0.05$ )。【结论】100% 全光照下大青叶药材产量最高, 且内在品质最好, 较 60% 和 20% 全光照更适合栽培。表 8 参 39

**关键词:** 菘蓝; 大青叶; 光强; 靛蓝; 靛玉红; 总黄酮; 总多糖; 总游离氨基酸

中图分类号: S718.43 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)02-0356-09

## Effects of light intensity on growth, chemical composition and antioxidant activity of *Isatis indigotica*

LI Xinyao, HUANG Jiabin, GUO Qiaosheng, LIU Lijun, GONG Min, SU Yong, LU Lixian, ZHAO Kun

(Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, Jiangsu, China)

**Abstract:** [Objective] The present study, with an exploration of the effects of light intensity on growth of *Isatis indigotica*, and chemical composition, antioxidant activity of isatidis folium, aims to provide reference for the artificial cultivation of *I. indigotica*. [Method] With seedlings of *I. indigotica* planted under 100%, 60% and 20% of full sunlight, their growth indexes were measured at the vigorous growth period, whereas chemical compounds such as indigo, indirubin, total flavonoids, total polysaccharides and total free amino acid, as well as antioxidant activity were determined after harvest. [Result] The growth of leaves was positively correlated with the light intensity, and the plant height, leaf length, leaf width, number of leaves, and the single leaf area in 100% of full sunlight treatment were the largest. Indigo, total flavonoids and total polysaccharides of isatidis folium were decreased with the decrease of light intensity, and there were significant differences among three groups ( $P < 0.05$ ). Indirubin showed a trend of increasing first and then decreasing, with that of the 60% of full sunlight treatment being the highest ( $P < 0.05$ ), yet no significant differences between the ones of 100% and 20% of full sunlight treatment. The total free amino acid was negatively correlated with light intensity and increased with the decrease of light intensity. The antioxidant activity was positively correlated with the light

收稿日期: 2022-04-02; 修回日期: 2022-09-27

基金项目: 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110307015)

作者简介: 李鑫垚 (ORCID: 0000-0002-9054-6810), 从事中药资源驯化与鉴定研究。E-mail: 14419215@njau.edu.cn.

通信作者: 郭巧生 (ORCID: 0000-0001-8006-882X), 教授, 博士, 从事中药资源驯化与鉴定研究。

E-mail: gqs@njau.edu.cn

intensity and the  $I_{C50}$  (half maximal inhibitory concentration) for DPPH of 20% of full sunlight treatment was significantly higher than that in 60% and 100% of full sunlight treatment ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] The 100% of full sunlight treatment was the optimum light intensity condition to achieve high yield and intrinsic quality of *isatidis folium*, which is more conducive to the cultivation of *isatidis folium* than the 60% and 20% full sunlight treatment. [Ch, 8 tab. 39 ref.]

**Key words:** *Isatis indigotica*; *isatidis folium*; light intensity; indigo; indirubin; total flavonoids; total polysaccharides; total free amino acid

大青叶为十字花科 Brassicaceae 菘蓝属 *Isatis* 2 年生草本植物菘蓝 *Isatis indigotica* 的干燥叶，具有清热解毒、凉血消斑的功效<sup>[1]</sup>，主要含有生物碱类、黄酮类、多糖、有机酸、氨基酸等活性成分<sup>[2]</sup>。其中，靛玉红是《中华人民共和国药典》2020 版(一部)中大青叶的指标成分。研究表明：大青叶中的靛蓝、靛玉红具有抗病毒、抗肿瘤等多种药理活性<sup>[3]</sup>；黄酮类化合物具有抗菌、抗氧化作用<sup>[4]</sup>；多糖类化合物具有一定的免疫调节作用<sup>[5]</sup>；氨基酸类化合物具有体外抗内毒素作用<sup>[6]</sup>。

近年来关于菘蓝的研究集中在水分、氮素、盐胁迫等对其生长、生理的影响，鲜见光强对大青叶生长、化学成分及抗氧化活性影响的研究报道。光是影响植物生长的重要环境因素之一，能调控植物的生长、发育和形态建成<sup>[7]</sup>；此外光强与植物茎、叶的生长及形态结构有密切关系，直接决定植物的生长和产量，影响植物体内次生代谢物的生物合成和积累。植物可通过调节自身形态和生理特性从而调节光合性能以适应不同环境。根据“光照-寒热药性”假说<sup>[8]</sup>，大青叶性寒，推测强光照条件更适合其基原植物菘蓝的栽培。鉴于此，本研究通过设置不同光强梯度，研究了光强对菘蓝生长、药材大青叶化学成分与抗氧化活性的影响，进一步验证“光照-寒热药性”假说，以期为菘蓝栽培提供依据。

## 1 材料

### 1.1 种子

试验种子于 2020 年采自河北省保定市，经南京农业大学中药材研究所郭巧生教授鉴定为十字花科菘蓝属植物菘蓝的种子。

### 1.2 仪器

数字式照度计 (VICTOR 1010D 型，西安北城电子有限责任公司)；分析天平 (FA1104 型，上海精科天平)；高效液相色谱仪 (Agilen 1290 型，美国安捷伦公司)；紫外-可见分光光度计 (Alpha-1506 型，上海谱元仪器有限公司)；台式高速冷冻离心机 (5810R 型，Eppendorf 公司)；PS-60A 型超声波清洗机；水浴锅 (HH-S 型，巩义市苏华仪器有限责任公司)；旋转蒸发器 (RE-2000A 型，上海亚荣生化仪器厂)；循环水真空泵 (SHZ-D 型，巩义市予华仪器有限责任公司)；有机滤头 (0.22  $\mu\text{m}$ ，江苏康健医疗用品有限公司)。

### 1.3 试剂

靛蓝 (CAS: 482-89-3)、靛玉红 (CAS: 479-41-4)、芦丁 (CAS: 153-18-4)、L-精氨酸 (CAS: 74-79-3) 等对照品购自上海源叶科技有限公司；D(+)-无水葡萄糖 (CAS: 50-99-7) 对照品购自国药集团化学试剂有限公司。

## 2 方法

### 2.1 试验设计

本研究于 2021 年 3—10 月进行。2021 年 3 月 31 日播种，基质为  $V(\text{营养土}):V(\text{珍珠岩}):V(\text{蛭石})=5:3:2$ <sup>[9]</sup>；苗高为 3~5 cm 时选取健康、长势均一的植株移于花盆 (直径 25 cm，高 18 cm) 中并遮光处理。选择晴朗正午，使用不同针数遮阳网搭建遮光棚，遮光棚之间留有一定间距，避免交叉遮光。根据数字式照度计将遮光度分别调整为 100% 全光照 (无遮光)、60% 全光照、20% 全光照共 3 个处理，分别代表强、中、弱 3 个水平的光强，每个处理种植 32 盆，每盆 2 株，种植管理模式相同。随机排列，每周随机调换位置以减小试验误差。同年 10 月下旬，采收健康、完整、无病虫害的叶片。105  $^{\circ}\text{C}$  杀青 15 min，

60 ℃ 烘干后, 粉碎过 60 目筛, 保存于药品阴凉柜 (4 ℃) 中备用。

## 2.2 菘蓝生长指标测定

菘蓝生长旺盛期, 每组随机选取 10 盆, 测量菘蓝株高并记录叶片数, 同时选取自地上部分开始第 3 片完全展开的成熟叶, 测量叶长、叶宽、叶柄长、叶面积等植株形态性状<sup>[10]</sup>。

## 2.3 靛蓝和靛玉红测定

2.3.1 色谱条件 Agilent EclipsePlus C<sub>18</sub> 色谱柱 (70 mm×2.1 mm, 1.8 μm); 流动相为水-甲醇, 体积比为 25%:75%; 柱温为 30 ℃; 检测波长为 289 nm; 流速为 0.2 mL·min<sup>-1</sup>; 进样量 2 μL; 洗脱方法为 0 min 25% 水, 5 min 25% 甲醇, 检测时间共 5 min, 大青叶检测方法参考文献 [1]。

2.3.2 线性关系考察 称取干燥至恒量的靛蓝和靛玉红对照品各 2 mg, 分别加 N,N-二甲基甲酰胺 (DMF), 制得标准品溶液质量浓度靛蓝为 1.562 5~100.000 0 mg·L<sup>-1</sup>, 靛玉红为 0.156 25~10.000 00 mg·L<sup>-1</sup>, 注入高效液相色谱仪, 以峰面积积分为纵坐标, 对照品的质量浓度为横坐标, 计算靛蓝和靛玉红标准曲线。

2.3.3 样品质量分数测定 称取大青叶粉末 0.100 0 g, 加入 DMF 10 mL, 超声提取 30 min, 放冷, 抽滤, 取滤液, 再加入 DMF 定容至 25 mL, 用 0.22 μm 有机滤头过滤, 取续滤液, 得供试品溶液。精密吸取各供试品溶液 2 μL, 注入高效液相色谱仪测定峰面积积分值, 根据标准曲线分别计算样品中靛蓝、靛玉红质量分数。

2.3.4 方法学考察 同一供试品溶液重复进样 6 次, 计算相对标准偏差 ( $R_{SD}$ , %), 以测验精密性。同一组样品粉末重复称取 6 次并制备供试品溶液, 分别进样并计算  $R_{SD}$ , 以测验重复性。同一供试品溶液分别于 0、2、4、6、12、24 h 后进样, 计算  $R_{SD}$ , 以测验 24 h 稳定性。

2.3.5 加样回收试验 称取同一组大青叶样品 6 份, 设置低、中、高 3 个梯度, 分别加入一定量的靛蓝和靛玉红标准对照品, 按 2.3.3 中操作方法制备供试品溶液, 并测定靛蓝和靛玉红质量分数, 分别计算回收率及  $R_{SD}$ 。

## 2.4 其他化学成分测定

2.4.1 总黄酮质量分数测定 以芦丁为对照品测定总黄酮质量分数, 采用亚硝酸钠-硝酸铝比色法<sup>[11]</sup>, 测定 510 nm 波长处吸光度, 通过芦丁的标准曲线计算样品中总黄酮质量分数, 重复 5 次。

2.4.2 总多糖测定 以 D(+)-无水葡萄糖为对照品测定总多糖质量分数, 采用苯酚-硫酸法<sup>[12]</sup>, 测定 490 nm 波长处吸光度, 通过葡萄糖标准曲线计算样品中总多糖质量分数<sup>[13]</sup>, 重复 5 次。

2.4.3 总游离氨基酸测定 以 L-精氨酸为对照品测定总游离氨基酸质量分数, 采用茚三酮比色法<sup>[14]</sup>, 测定 570 nm 波长处吸光度, 通过精氨酸标准曲线计算样品中总游离氨基酸质量分数, 重复 5 次。

## 2.5 体外抗氧化活性测定

1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (DPPH) 自由基清除法常被用作评价植物提取物的抗氧化活性<sup>[15]</sup>, 具有简单便捷、快速灵敏的优点<sup>[16]</sup>。称取各组大青叶粉末 0.200 0 g, 重复 3 次, 加入体积分数为 50% 的乙醇 20 mL, 在 64 ℃ 下超声提取 85 min, 抽滤, 得到大青叶提取液。用体积分数为 50% 的乙醇将大青叶提取液配置成 0.8~8.0 g·L<sup>-1</sup> 10 个等梯度的样品溶液。分别取 0.1 mL 样品溶液加入 3.9 mL 的 DPPH 溶液, 室温下避光反应 30 min, 测定 517 nm 波长处吸光度  $D(517)_{\text{样品}}$ ; 以 50% 乙醇代替 DPPH 溶液, 测得的吸光度为  $D(517)_{\text{对照}}$ ; 以 50% 乙醇代替样品溶液, 测得的吸光度为  $D(517)_{\text{空白}}$ , 并分别计算清除率。以清除率为纵坐标, 样品浓度为横坐标, 计算标准曲线, 根据标准曲线计算 DPPH 自由基半清除率 ( $I_{C50}$ ) 及  $R_{SD}$ 。

$$I_{C50} = \{D(517)_{\text{空白}} - [D(517)_{\text{样品}} - D(517)_{\text{对照}}]\} / D(517)_{\text{空白}} \times 100\%$$

其中:  $D(517)_{\text{空白}}$  表示反应前 DPPH 的吸光度;  $D(517)_{\text{样品}}$  表示反应后 DPPH 的吸光度;  $D(517)_{\text{对照}}$  表示大青叶提取液的吸光度。

## 2.6 数据分析

数据采用 Excel 和 SPSS 26.0 进行统计与分析, 结果均以平均值±标准误表示。不同处理相同指标进行 Duncan 多重比较, 显著性水平为 0.05。

### 3 结果与分析

#### 3.1 光强对菘蓝植株形态的影响

从表 1 可见：100% 全光照组的菘蓝株高、叶长、叶宽、叶片数，均显著高于 20% 全光照组 ( $P < 0.05$ )，但与 60% 全光照组无显著差异；其中 60% 全光照组的叶长、叶片数显著高于 20% 全光照组 ( $P < 0.05$ )，但株高、叶宽无显著差异。随着光强降低，菘蓝叶面积逐渐减少，100% 全光照组的叶面积最大，与 60% 全光照组和 20% 全光照组存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。随着光强降低，菘蓝叶柄长逐渐升高，20% 全光照组叶柄长最大，与 100% 全光照组和 60% 全光照组存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。

表 1 不同光强处理下菘蓝的植株形态

Table 1 Morphology of *I. indigotica* under different light intensities

处理	株高/cm	叶长/cm	叶宽/cm	叶柄长/cm	叶片数/片	单片叶面积/cm <sup>2</sup>
100%全光照	27.30±2.82 a	25.57±1.59 a	5.97±0.74 a	4.68±0.71 c	13.20±1.23 a	75.55±10.60 a
60%全光照	26.60±2.28 ab	25.47±2.33 a	5.30±0.64 ab	5.85±1.02 b	12.50±1.27 a	56.06±12.66 b
20%全光照	24.95±1.69 b	23.27±1.61 b	4.93±0.91 b	9.01±1.27 a	10.50±1.72 b	46.93±10.51 b

说明：不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

#### 3.2 光强对大青叶靛蓝和靛玉红质量分数的影响

靛蓝和靛玉红的标准曲线方程见表 2。不同光强处理下大青叶靛蓝和靛玉红质量分数见表 3。靛蓝质量分数随着光强减弱而降低，100% 全光照组靛蓝质量分数最高，与 60% 全光照组和 20% 全光照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。但随着光强减弱，靛玉红质量分数先升高再降低，60% 全光照组的靛玉红质量分数最高，与 100% 全光照组和 20% 全光照组差异显著 ( $P < 0.05$ )，但 100% 全光照组与 20% 全光照组的靛玉红质量分数无显著差异。

从表 4 可见：靛蓝在低、中、高浓度下加样回收率分别为 96.604%、95.999%、95.526%， $R_{SD}$  为 0.562%；靛玉红在低、中、高浓度下加样回收率分别为 95.279%、95.793%、97.544%， $R_{SD}$  为 1.195%。说明该方法满足检测要求。

#### 3.3 光强对大青叶其他化学成分的影响

从表 5 可见：不同光强处理的大青叶总黄酮、总多糖质量分数随着光强减弱而降低，100% 全光照组的大青叶总黄酮、总多糖质量分数均最高，与 60% 全光照组和 20% 全光照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。总游离氨基酸质量分数随着光强减弱而升高，20% 全光照组的总游离氨基酸质量分数最高，与 60% 全光照组和 100% 全光照组差异显著 ( $P < 0.05$ )。

#### 3.4 光强对大青叶体外抗氧化活性的影响

从表 6 可知：100% 全光照组大青叶提取液对 DPPH 自由基的清除能力最强，DPPH  $I_{C50}$  最低，60% 全光照组的清除能力次之，20% 全光照组的清除能力最弱。20% 全光照组的 DPPH  $I_{C50}$  显著高于 60% 全光照组和 100% 全光照组 ( $P < 0.05$ )，但 60% 全光照组与 100% 全光照组 DPPH  $I_{C50}$  无显著差异。

表 2 靛蓝和靛玉红的标准曲线方程

Table 2 Standard curves for indigo and indirubin

活性成分	回归方程	决定系数 $R^2$	质量浓度/ (mg·L <sup>-1</sup> )
靛蓝	$y=53\ 115x-11\ 584.0$	0.999 9	3.125 00~50.000 00
靛玉红	$y=45\ 271x+869.3$	0.999 9	0.156 25~10.000 00

说明：x 为对照品的质量浓度，y 为峰面积积分值

表 3 不同光强处理下大青叶靛蓝和靛玉红的质量分数

Table 3 Contents of indigo and indirubin of *isatidis folium* under different light intensities

处理	靛蓝/(mg·g <sup>-1</sup> )	靛玉红/(mg·g <sup>-1</sup> )
100%全光照	8.095±0.126 a	0.307±0.004 b
60%全光照	7.042±0.276 b	0.377±0.015 a
20%全光照	5.310±0.229 c	0.314±0.002 b

说明：不同字母表示同一指标不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

表 4 低、中、高梯度下的加样回收率

Table 4 Recoveries at low, medium and high concentration levels

化合物名称	称样量/g	样品量/ $\mu$ g	对照品加入量/ $\mu$ g	测得量/ $\mu$ g	平均回收率/%	$R_{SD}/\%$
靛蓝	0.100	14.203	5.436	19.454	96.604	0.562
			10.873	24.641	95.999	
			16.309	29.782	95.526	
靛玉红	0.100	0.563	0.274	0.824	95.279	1.195
			0.548	1.094	95.793	
			0.822	1.365	97.544	

### 3.5 大青叶化学成分、抗氧化活性及植株形态的相关性分析

从表7可见：大青叶总黄酮、总多糖、靛蓝之间呈正相关，其中靛蓝和总黄酮呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )，相关系数为 0.999；总游离氨基酸与总黄酮、总多糖、靛蓝、靛玉红均呈负相关，其中总游离氨基酸与总黄酮、靛蓝呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )，相关系数分别为 -0.998、-1.000。DPPH  $I_{C50}$  与总黄酮、总多糖、靛蓝、靛玉红呈负相关，其中 DPPH  $I_{C50}$  与总黄酮、总游离氨基酸、靛蓝的相关系数分别达 -0.955、-0.968，但均未达到显著水平；DPPH  $I_{C50}$  与总游离氨基酸呈正相关，其相关系数达 0.972，但未达到显著水平。

从表8可见：大青叶总多糖与叶宽、叶面积呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )，相关系数分别为 0.998、0.999；总游离氨基酸与株高呈显著负相关 ( $P < 0.05$ )，相关系数为 -0.997。

## 4 讨论与结论

### 4.1 光强与植物形态特征的关系

光强的变化会使植物体改变生物量分配以及形态结构，以适应外界光照环境的变化<sup>[17]</sup>。张锋等<sup>[18]</sup>研究发现：菘蓝属于典型的阳生植物，光适应性较强，能在自然光与中度郁闭以上的弱光环境中维持光合产物的净积累。本研究发现：各光强处理的菘蓝均能正常生长，其株高、叶长、叶宽、叶片数和叶面积均与光强呈正相关，即自然光照下的菘蓝长势旺盛，且各项指标随光强减小而降低，这与张锋等<sup>[18]</sup>的研究相似。而叶柄长与光强呈负相关，推测原因是植株在弱光照条件下，通过主动的“觅食”行为，增加叶柄长度以获取更有利的生存资源<sup>[19]</sup>。

### 4.2 光强与大青叶活性成分的关系

不同药用植物的生物碱类成分对光强的响应存在一定的差异。铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 生物碱量的最高峰出现在中、低光强的条件下<sup>[20]</sup>；而益母草 *Leonurus japonicus* 在阴生条件下，总生物碱量较低，仅为 1.13%，在自然光照充足条件下，总生物碱量高达 2.30%<sup>[21]</sup>。靛蓝、靛玉红为大青叶生物碱中的主要成分，其中靛玉红是大青叶药材品质评价指标性成分<sup>[1]</sup>。研究表明：板蓝 *Strobilanthes cusia* 叶中靛蓝、靛玉红的累积具有相似的趋势，且单层遮光与双层遮光对板蓝叶中靛蓝、靛玉红影响较小<sup>[22]</sup>。覃军等<sup>[23]</sup>研究指出：仅从靛玉红质量分数

看，各光照条件均适宜马蓝 *Baphicacanthus cusia* 的种植，在综合考虑生长和产量等影响因素后，全阴及半阴条件更适宜马蓝的种植。而本研究发现：大青叶靛蓝质量分数随光强减弱而降低，即强光有利于靛蓝积累；而中度光强有利于靛玉红的积累，强光与弱光处理下靛玉红质量分数均降低。两者对光强变化

表5 不同光强处理下大青叶总黄酮、总多糖和总游离氨基酸的质量分数

处理	总黄酮/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	总多糖/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	总游离氨基酸/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )
100%全光照	54.01±2.88 a	13.41±0.05 a	38.81±0.71 c
60%全光照	43.87±0.27 b	7.74±0.13 b	45.59±0.47 b
20%全光照	31.09±0.93 c	5.41±0.06 c	57.53±0.68 a

表6 不同光强处理下大青叶提取物的抗氧化活性

处理	DPPH $I_{C50}$ /( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
100%全光照	4.51±0.27 b
60%全光照	4.80±0.32 b
20%全光照	6.61±0.24 a

说明：不同字母表示不同处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )

表7 大青叶化学成分及抗氧化活性的相关性分析

项目	总黄酮	总多糖	总游离氨基酸	靛蓝	靛玉红	DPPH $I_{C50}$
总黄酮	1					
总多糖	0.946	1				
总游离氨基酸	-0.998*	-0.923	1			
靛蓝	0.999*	0.930	-1.000*	1		
靛玉红	0.003	-0.322	-0.067	0.049	1	
DPPH $I_{C50}$	-0.955	-0.807	0.972	-0.968	-0.299	1

说明：\*表示显著相关 ( $P < 0.05$ )

表8 大青叶化学成分与植株形态间的相关性分析

项目	株高	叶长	叶宽	叶柄长	叶片数	叶面积
总黄酮	0.991	0.924	0.966	-0.986	0.984	0.959
总多糖	0.893	0.750	0.998*	-0.879	0.874	0.999*
总游离氨基酸	-0.997*	-0.947	-0.947	0.995	0.995	-0.938
靛蓝	0.996	0.941	0.953	-0.993	-0.993	0.944
靛玉红	0.138	0.384	-0.257	-0.168	-0.168	-0.282

说明：\*表示显著相关 ( $P < 0.05$ )

响应较大, 存在一定差异, 且目前相关研究较少, 因此大青叶生物碱类成分对光强变化的响应机制还需进一步探究。

光强对于不同植物黄酮类成分的影响不同, 但大多数植物的黄酮类成分质量分数随着光强的增强而增加<sup>[24]</sup>。严晓芦等<sup>[25]</sup>研究表明: 紫花地丁 *Viola philippica* 总黄酮质量分数与光强呈正相关。谢小翌等<sup>[26]</sup>研究发现: 减弱光强会明显降低蒲公英 *Taraxacum mongolicum* 总黄酮质量分数。本研究发现: 大青叶总黄酮质量分数与光强间的关系基本符合上述规律, 即增大光强可促进黄酮类成分的累积。

总多糖和总游离氨基酸属于植物的初生代谢产物, 其中氨基酸是植物次生代谢过程的重要前体物质。邵尉等<sup>[27]</sup>研究发现: 全光照有利于铁皮石斛叶中多糖的积累, 而茎中多糖的积累则不需要太多光照。在本研究中, 总多糖质量分数在 100% 全光照条件下最高。李影影等<sup>[28]</sup>研究表明: 遮光前后南方红豆杉 *Taxus wallichiana* var. *chinensis* 的游离氨基酸质量分数差异不明显。吴晓红<sup>[29]</sup>研究表明: 无光或弱光胁迫下, 迷迭香 *Rosmarinus officinalis* 中氨基酸质量分数显著提高。本研究发现: 大青叶中总游离氨基酸质量分数随光强减弱而升高, 推测在弱光条件下植物通过光合作用形成腺苷三磷酸 (ATP) 较少, 碳水化合物积累量也较少, 为了维持正常的碳氮循环, 蛋白质水解产生氮以游离氨基酸的形式储存, 导致总游离氨基酸质量分数增加<sup>[30-32]</sup>。

#### 4.3 光强与药用植物抗氧化活性的关系

光强对植物抗氧化活性的影响不一致。朱志国等<sup>[33]</sup>研究发现: 适度遮光后随着光强的降低, 马蹄金 *Dichondra micrantha* 抗氧化活性增强; 张跃进等<sup>[34]</sup>研究发现: 遮光条件下半夏 *Pinellia ternata* 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 活性以及丙二醛 (MDA) 质量分数较全光照下降低; 刘新等<sup>[35]</sup>发现: 过高或过低的光强均使忍冬 *Lonicera japonica* 植株产生大量的活性氧, 导致抗氧化酶的活性增强; 王萌等<sup>[36]</sup>发现: 在一定范围内, 随着光强的提高, 菊花 *Chrysanthemum × morifolium* 的抗氧化能力逐渐增强。本研究发现大青叶提取液对 DPPH 自由基的清除能力与光强呈正相关, 100% 全光照组的清除能力最强。

黄酮类化学成分具有较高的抗氧化活性, 如刘富康等<sup>[37]</sup>研究表明: 在一定范围内大青叶中粗黄酮质量分数与抗氧化活性成正比。而靛蓝、靛玉红互为同分异构体, 属于吲哚类生物碱, 具有较高的抗氧化能力, 靛蓝和靛玉红在较低质量分数下也对 DPPH 具有较强的清除作用<sup>[38]</sup>。研究表明: 植物多糖也具有一定的抗氧化活性<sup>[39]</sup>。本研究发现: 大青叶提取液对 DPPH 自由基的清除能力与光强呈正相关, 同时与总黄酮、总多糖、靛蓝、靛玉红呈正相关, 与总游离氨基酸呈负相关。

综上所述, 当光强为 100% 全光照时, 大青叶药材产量、多种化学成分和抗氧化活性均为最高, 适应生产需求。大青叶性味苦、寒, 具有清热解毒, 凉血消斑的作用。本研究结果表明: 菘蓝适合生长在强光照条件下, 符合“光照-寒热药性”假说。后续仍需进行药理研究加以验证光强对大青叶药材品质的影响。

## 5 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 22 - 23.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. *Chinese Pharmacopoeia (Volume I)* [M]. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 22 - 23.
- [2] 邓湘昱. 大青叶化学成分与质量控制方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.  
DENG Xiangyu. *Studies on Chemical Constituents and Quality Control Methods of Folium Isatidis* [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2008.
- [3] 张一鸣, 黄元贞, 万会花, 等. 植物中靛蓝生物合成途径研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(3): 491 - 496.  
ZHANG Yiming, HUANG Yuanzhen, WAN Huihua, et al. Advances in biosynthesis of indigo in plants [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(3): 491 - 496.
- [4] 高桂花. 大青叶黄酮化合物的分离鉴定和含量测定方法研究[D]. 沈阳: 沈阳药科大学, 2008.  
GAO Guihua. *The Isolation, Identification and Quantification of Flavonoids in Folium Isatidis* [D]. Shenyang: Shenyang Pharmaceutical University, 2008.
- [5] 曹荣安, 李朝阳, 李昌盛, 等. 超声-微波协同提取大青叶多糖及其分子特性和免疫活性研究[J]. 天然产物研究与开发,

- 2019, **31**(2): 185 – 190, 268.
- CAO Rongan, LI Chaoyang, LI Changsheng, *et al.* Ultrasound-microwave assisted extraction, molecular properties and immunomodulatory activities of the polysaccharide from folium isatidis [J]. *Natural Product Research and Development*, 2019, **31**(2): 185 – 190, 268.
- [6] WU Xiaoyun, LIU Yunhai, SHENG Wanyun, *et al.* Chemical constituents of *Isatis indigotica* [J]. *Planta Medica*, 1997, **63**(1): 55 – 57.
- [7] ROZENDAAL D M A, HURTADO V H, POORTER L. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature [J]. *Functional Ecology*, 2006, **20**(2): 207 – 216.
- [8] 史红专, 严晓芦, 郭巧生, 等. 中药寒热药性与其基原植物生境光照条件相关性分析[J]. 中国中药杂志, 2018, **43**(10): 2032 – 2037.
- SHI Hongzhan, YAN Xiaolu, GUO Qiaosheng, *et al.* Correlation analysis between cold and heat property of traditional Chinese medicines and light conditions of their original plants in habitat [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2018, **43**(10): 2032 – 2037.
- [9] 师进霖, 李军萍, 杜秀虹, 等. 不同基质对菘蓝幼苗生长的影响[J]. 北方园艺, 2010(6): 209 – 210.
- SHI Jinlin, LI Junping, DU Xiuhong, *et al.* Effects of different substrate on *Isatis indigotica* Fort. seedling growth [J]. *Northern Horticulture*, 2010(6): 209 – 210.
- [10] 陈苏丹. 菘蓝遗传多样性及其药材品质评价研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- CHEN Sudan. *Genetic Diversity and Quality Evaluation of Isatis indigotica Fort.* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.
- [11] CHEN Yujie, WANG Jing, WAN Dingrong. Determination of total flavonoids in three *Sedum* crude drugs by UV-Vis spectrophotometry [J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2010, **6**: 259 – 263.
- [12] 辛小雪, 王雪香, 李明宇, 等. 铁皮石斛不同花期及花朵不同部位活性组分分析[J]. 浙江农林大学学报, 2019, **36**(1): 200 – 205.
- XIN Xiaoxue, WANG Xuexiang, LI Mingyu, *et al.* Active components of flowers in different flowering stages and floral structures of *Dendrobium officinale* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(1): 200 – 205.
- [13] 刘冬莲. 不同生长期中菘蓝多糖和氨基酸含量变化规律研究[J]. 分子科学学报, 2010, **26**(3): 199 – 202.
- LIU Donglian. Studies on seasonal variation of amino acid and total polysaccharides in *Isatis indigotica* Fort. [J]. *Journal of Molecular Science*, 2010, **26**(3): 199 – 202.
- [14] 张永芳, 张琪, 王润梅, 等. 茛三酮呈色法测定谷子种子中的游离氨基酸含量[J]. 种子, 2014, **33**(1): 111 – 113, 126.
- ZHANG Yongfang, ZHANG Qi, WANG Runmei, *et al.* Determination of free amino acid content in millet seeds by ninhydrine coloration method [J]. *Seed*, 2014, **33**(1): 111 – 113, 126.
- [15] 何彦峰, 王瑞楠, 张璐璐, 等. 胡芦巴叶挥发油的萃取工艺、成分分析及抗氧化和抑菌活性研究[J]. 中国中药杂志, 2020, **45**(13): 3161 – 3168.
- HE Yanfeng, WANG Ruinan, ZHANG Lulu, *et al.* Extraction technology, composition analysis and antioxidant and antimicrobial activities of volatile oil from fenugreek leaves [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, **45**(13): 3161 – 3168.
- [16] 彭长连, 陈少薇, 林植芳, 等. 用清除有机自由基 DPPH 法评价植物抗氧化能力[J]. 生物化学与生物物理进展, 2000, **27**(6): 658 – 661.
- PENG Changlian, CHEN Shaowei, LIN Zhifang, *et al.* Detection of antioxidative capacity in plants by scavenging organic free radical DPPH [J]. *Progress in Biochemistry and Biophysics*, 2000, **27**(6): 658 – 661.
- [17] 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.
- WANG Yi, WEI Xiaoli. Advance on the effects of different light environments on growth, physiological biochemistry and morphostructure of plant [J]. *Journal of Mountain Agriculture and Biology*, 2010, **29**(4): 353 – 359, 370.
- [18] 张锋, 韩金龙, 朱彦威, 等. 不同倍性菘蓝林下光合特性及种植研究[J]. 中国农学通报, 2021, **37**(26): 58 – 65.
- ZHANG Feng, HAN Jinlong, ZHU Yanwei, *et al.* The photosynthesis characteristics and planting of different ploids *Isatis indigotica* in the understory [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, **37**(26): 58 – 65.

- [19] HUTCHINGS M J, de KROON H. Foraging in plants: the role of morphological plasticity in resource acquisition [J]. *Advances in Ecological Research*, 1994, **25**: 159 – 238.
- [20] 徐步青, 崔永一, 郭岑, 等. 不同光照强度和培养时间下铁皮石斛类原球茎生物量、多糖和生物碱量的动态变化[J]. 中草药, 2012, **43**(2): 355 – 359.  
XU Buqing, CUI Yongyi, GUO Cen, *et al.* Dynamic variation of biomass and content of polysaccharide and alkaloid in protocorm like bodies from *Dendrobium officinale* at different light intensities and incubation time [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2012, **43**(2): 355 – 359.
- [21] 沈晓霞, 盛束军, 徐建中. 环境因子对益母草总生物碱含量的影响[J]. 浙江农业学报, 2002, **14**(4): 37 – 41.  
SHEN Xiaoxia, SHENG Shujun, XU Jianzhong. Effect of environmental factors on the total alkaloid content in Yimu Cao (*Leonurus artemisia* S. Y. Hu) [J]. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 2002, **14**(4): 37 – 41.
- [22] 林文津. 福建马蓝有效成分累积及其分子基础研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2015.  
LIN Wenjin. *Accumulation of Effective Components and its Molecular Basis of Baphicacanthus cusia (Nees) Bremek in Fujian Province* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2015.
- [23] 覃军, 陈奕龙, 张丹雁, 等. 不同光照条件对南大青叶(马蓝叶)中靛玉红含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, **42**(1): 59 – 60, 62.  
QIN Jun, CHEN Yilong, ZHANG Danyan, *et al.* Effects of different illumination intensities on indirubin content in leaves of *Baphicacanthus cusia* (Nees) Bremek. [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, **42**(1): 59 – 60, 62.
- [24] 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.  
PAN Junqian, TONG Xiran, GUO Baolin. Progress of effects of light on plant flavonoids [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, **41**(21): 3897 – 3903.
- [25] 严晓芦, 郭巧生, 史红专, 等. 光照强度对紫花地丁生长、生理及化学成分的影响[J]. 中国中药杂志, 2019, **44**(6): 1119 – 1125.  
YAN Xiaolu, GUO Qiaosheng, SHI Hongzhuan, *et al.* Effects of light intensities on growth, physiological characteristic and chemical composition of *Viola yedoensis* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2019, **44**(6): 1119 – 1125.
- [26] 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.  
XIE Xiaoyi, ZHANG Xichun. Effects of shading on growth and total flavone content in *Taraxacum* in greenhouse culture [J]. *Journal of Beijing University of Agriculture*, 2019, **34**(2): 47 – 50.
- [27] 邵尉, 姜秀梅, 曹雪原, 等. 不同光照条件、不同采收时间对铁皮石斛总多糖、还原性糖以及甘露糖含量的影响[J]. 现代中药研究与实践, 2017, **31**(4): 20 – 22.  
SHAO Wei, JIANG Xiumei, CAO Xueyuan, *et al.* Effects of different light conditions and different harvest time on total polysaccharides, reducing sugar and mannose content of *Dendrobium officinale* [J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2017, **31**(4): 20 – 22.
- [28] 李影影, 熊耀康. 光照强度与南方红豆杉初生代谢产物相关性研究[J]. 中华中医药杂志, 2018, **33**(6): 2659 – 2664.  
LI Yingying, XIONG Yaokang. Collection study between light intensity and primary metabolite content of *Taxus mairei* (Lemee et Levl.) S. Y. Hu ex Liu. [J]. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2018, **33**(6): 2659 – 2664.
- [29] 吴晓红. 胁迫条件下迷迭香中氨基酸的研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.  
WU Xiaohong. *Study on Rosemarinus officinalis L. in Amino Acid under Stress* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2006.
- [30] CAO Te, NI Leyi, XIE Ping, *et al.* Effects of moderate ammonium enrichment on three submersed macrophytes under contrasting light availability [J]. *Freshwater Biology*, 2011, **56**(8): 1620 – 1629.
- [31] MYERS J A, KITAJIMA K. Carbohydrate storage enhances seedling shade and stress tolerance in a neotropical forest [J]. *Journal of Ecology*, 2007, **95**(2): 383 – 395.
- [32] BROUQUISSE R, GAUDILLERE J P, RAYMOND P. Induction of a carbon-starvation-related proteolysis in whole maize plants submitted to light/dark cycles and to extended darkness [J]. *Plant Physiology*, 1998, **117**(4): 1281 – 1291.
- [33] 朱志国, 周守标, 程龙玲, 等. 光照强度对马蹄金保护酶活性和光合特性的影响[J]. 中国草地学报, 2012, **34**(5): 87 –



92.

ZHU Zhiguo, ZHOU Shoubiao, CHENG Longling, *et al.* Effects of light intensity on protective enzymes and photosynthetic characteristics of *Dichondra repens* [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2012, **34**(5): 87 – 92.

- [34] 张跃进, 皮莉, 杨东风, 等. 遮荫对半夏叶片光合色素与保护酶活性的影响[J]. 西北植物学报, 2007, **27**(6): 1167 – 1171.

ZHANG Yuejin, PI Li, YANG Dongfeng, *et al.* Effect of shading on the photosynthetic pigment and protective enzyme activities in *Pinellia ternata* leaves [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2007, **27**(6): 1167 – 1171.

- [35] 刘新, 王梦皎, 李一鸣, 等. 光强对金银花药材性状、光合特性及抗氧化酶活性的影响[J]. 江西农业学报, 2018, **30**(9): 58 – 62.

LIU Xin, WANG Mengjiao, LI Yiming, *et al.* Effects of light intensity on medicinal characters, photosynthetic traits and antioxidative enzyme activities of *Lonicera japonica* [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2018, **30**(9): 58 – 62.

- [36] 王萌, 王政, 何松林, 等. 光照强度对菊花试管苗生长和抗氧化酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, **48**(11): 71 – 76, 86.

WANG Meng, WANG Zheng, HE Songlin, *et al.* Effect of light intensity on growth and antioxidant enzyme activities of *Chrysanthemum morifolium* in vitro [J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2020, **48**(11): 71 – 76, 86.

- [37] 刘富康, 杨剑寒, 曲映红. 大青叶粗黄酮提取及其抗氧化性研究[J]. 安徽农业科学, 2019, **47**(2): 150 – 152.

LIU Fukang, YANG Jianhan, QU Yinghong. Extraction and antioxidant activity of crude flavonoids from folium isatidis [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2019, **47**(2): 150 – 152.

- [38] ZHAO Guihong, LI Tao, QU Xinyun, *et al.* Optimization of ultrasound-assisted extraction of indigo and indirubin from *Isatis indigotica* Fort. and their antioxidant capacities [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2017, **26**(5): 1313 – 1323.

- [39] 胡建业, 吉冰洁, 卫夏怡, 等. 禹白附中多糖的提取及抗氧化抗菌活性研究[J]. 河南城建学院学报, 2018, **27**(6): 82 – 86.

HU Jianye, JI Bingjie, WEI Xiayi, *et al.* Polysaccharide extraction from *Rhizoma typhonii* and its antioxidant and antimicrobial activities [J]. *Journal of Henan University of Urban Construction*, 2018, **27**(6): 82 – 86.