

孙志鹏, 罗建勋, 蒲尚饶, 宋鹏, 武华卫, 王刚. 川黄柏幼龄林有效成分盐酸小檗碱的累积及光合特性[J]. 应用与环境生物学报, 2023, 29 (5): 1234-1240
Sun ZP, Luo JX, Pu SR, Song P, Wu HW, Wang G. Accumulation of berberine hydrochloride and photosynthetic characteristics of a young *Phellodendron chinense* Schneid forest [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2023, 29 (5): 1234-1240

川黄柏幼龄林有效成分盐酸小檗碱的累积及光合特性

孙志鹏¹ 罗建勋¹ 蒲尚饶³ 宋鹏¹ 武华卫¹ 王刚^{2✉}

¹四川省林业科学研究院, 森林和湿地生态恢复与保育四川省重点实验室 成都 610081

²四川农业大学林学院 成都 611130

³四川农业大学风景园林学院 成都 611130

摘要 为探究川黄柏幼龄林有效成分盐酸小檗碱累积、光合及叶绿素荧光参数变化规律, 以1-3年生川黄柏为材料, 测定分析不同月份不同树龄地上和地下部位盐酸小檗碱含量、生长量和生物量, 以及不同树龄叶片光合参数和叶绿素荧光参数。结果表明: (1) 1-3年生苗木各部位盐酸小檗碱含量年均值分别达2%、3%和5%, 以6月较高, 且各生长期均以地下部位较高; (2) 苗高、地径和生物量在1年中的增长变化基本一致, 表现为迅速增加→缓慢增加, 生长量(苗高、地径)增加峰值为4-6月, 生物量增加峰值为6-8月, 占年增长量的42%以上; (3) 不同月份、树龄盐酸小檗碱累积量具有显著差异 ($P < 0.05$), 1-3年生苗木10月分别可达1.25 g、39.06 g和183.56 g, 1年中增长变化为缓慢增长→迅速增长→缓慢增长; (4) 3年生苗木Chla、Chlb、Chl、 P_n 和 G_s 显著大于1、2年生 ($P < 0.05$)。 F_v/F_m 、 F_v'/F_m' 、 Φ_{PSII} 和ETR随树龄增加先降低后升高, q_p 随树龄逐年增加, 而NPQ逐年降低; (5) PCA分析表明, 盐酸小檗碱累积量与光合色素、气体交换参数和叶绿素荧光参数的密切相关, 其中与光合色素 (Chla、Chlb和Chl)、气体交换参数 (P_n 、 G_s)、叶绿素荧光参数 (F_v/F_m) 均呈显著正相关 ($P < 0.05$)。本研究表明川黄柏幼龄林盐酸小檗碱累积量具有明显的树龄、生长月份和部位差异性, 累积量大小与光合参数密切相关, 树龄> 2年可适当开发利用, 最佳采收月份是10月; 结果可为川黄柏幼龄林合理开发利用提供一定的指导。 (图5 表3 参41)

关键词 川黄柏; 盐酸小檗碱累积量; 光合作用; 叶绿素荧光参数; PCA

Accumulation of berberine hydrochloride and photosynthetic characteristics of a young *Phellodendron chinense* Schneid forest

SUN Zhipeng¹, LUO Jianxun¹, PU Shangrao³, Song Peng¹, WU Huawei¹ & WANG Gang^{2✉}

¹Sichuan Key Laboratory of Ecological Restoration and Conservation for Forest and Wetland, Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China

²College of Forest, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

³College of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract To explore the accumulation of berberine hydrochloride, photosynthesis, and chlorophyll fluorescence parameters of the effective components in a young forest of *Phellodendron chinense* Schneid. 1-3-year-old seedlings were selected as research subjects. The berberine hydrochloride content, growth, and biomass in the aboveground and underground parts of trees of different ages in different months, and the photosynthetic and chlorophyll fluorescence parameters of leaves at different tree ages, were measured and analyzed. The results showed that (1) the annual mean content of berberine hydrochloride in each part of 1–3-year-old seedlings was 2%, 3%, and 5%, which was higher in June and underground parts in all growth periods. (2) Seedling height, ground diameter, and biomass in one year were the same, showing a rapid increase → a slow increase. The peak of growth (seedling height and ground diameter) increased from April to June, and the peak biomass increased from June to August, accounting for more than 42 % of the annual growth. (3) The cumulative amount of berberine hydrochloride in different months and tree ages was significantly different ($P < 0.05$). The 1–3-year-old seedlings reached 1.25 g, 39.06 g, and 183.56 g in October. The growth change in one year was slow growth → rapid growth → slow growth. (4) Chla, Chlb, Chl, P_n , and G_s of 3-year-olds were significantly higher than those of 1–2 year-old seedlings ($P < 0.05$). F_v/F_m , F_v'/F_m' , Φ_{PSII} , and ETR decreased and then increased with the increase in tree age; q_p increased with the increase in tree age, whereas NPQ decreased. (5) PCA showed

收稿日期 Received: 2023-01-06 接受日期 Accepted: 2023-02-20

四川省科技厅重点研发项目 (2021YFN0110) 资助 Supported by the Key R&D Project of Sichuan Province Science and Technology Department (2021YFN0110)

✉通信作者 Corresponding author (E-mail: wanggang@sicau.edu.cn)

that the accumulation of berberine hydrochloride was closely related to photosynthetic pigments, gas exchange parameters, and chlorophyll fluorescence parameters, among which there was a significant positive correlation with photosynthetic pigments (Chla, Chlb, and Chl), gas exchange parameters (P_n , G_s), and chlorophyll fluorescence parameters (F_v/F_m) ($P < 0.05$). The accumulated amount of berberine hydrochloride in the young *P. chinense* Schneid forest showed obvious differences in location, age, and growth month. The accumulated amount was closely related to the photosynthetic parameters. A tree aged >2 years can be properly utilized. October was the best harvesting month. The results guide reasonable exploitation and utilization of young forests of *P. chinense* Schneid. In future research, cumulative changes of other active components in different parts of the young forest of *P. chinense* Schneid at different ages and growth months should be evaluated, and the relationship between different active components should be clarified to provide a basis for the scientific utilization of young forests of *P. chinense* Schneid.

Keywords *Phellodendron chinense* Schneid; accumulation of berberine hydrochloride; photosynthesis; chlorophyll fluorescence parameter; PCA

川黄柏 (*Phellodendron chinense* Schneid) 是中国有名的传统中药材, “三木药材”之一^[1-2], 其树皮中含有多种有效成分, 如盐酸小檗碱、黄柏碱、黄柏酮等, 作为主要成分的盐酸小檗碱具有抗肿瘤、抗炎抑菌、调节血脂等药理活性, 被广泛应用于医药领域^[3-4]。盐酸小檗碱作为一类次生代谢产物, 是植物能够适应逆境的物质基础之一, 具有明显的组织及发育时期特异性, 阐明其变化规律具有重要意义^[5-6]。当前市场对川黄柏的需求不断加大, 价格也持续攀升, 利益驱使导致天然林遭到严重破坏, 消失殆尽; 另一方面, 人工栽种苗木的生长速度远不及砍伐速度, 导致市场供应短缺, 如何更有效、合理利用资源成为缓解盐酸小檗碱原料短缺和满足市场需求的有效途径。目前, 川黄柏研究主要集中在药用成分提取及分析^[7-8]、成分鉴定^[9-10]、药理作用^[11-12]等方面, 有关幼龄林各生长时期有效成分累积量变化规律的研究还未见报道, 难以为其合理开发利用提供支撑。

光合作用是植物重要的生命特征之一, 是唯一能把太阳能转化为稳定的化学能储存在有机物中的过程, 植物体内90%-95%的有机物质产生于光合作用, 是植物产量形成的决定性因素^[13-14]。探究川黄柏幼龄林光合特性及其与盐酸小檗碱积累的关系, 对其科学管理和产量、品质的提高具有重要意义。叶绿素荧光参数作为光合作用机理研究的一种“内在探针”, 能够准确、真实地反映植物内在生理特点, 近年来也被广泛应用于光合研究^[15-16]。然而, 目前有关川黄柏幼龄林光合研究未见报道。因此, 我们以川黄柏幼龄林为研究对象, 系统研究不同生长时期各部位生长、生物量、盐酸小檗碱含量, 以及不同树龄光合色素、气体交换参数和叶绿素荧光参数, 以期川黄柏幼龄林合理种植、采收与科学抚育管理提供理论依据和数据支撑。

1 研究区概况与研究方法

1.1 研究区概况

试验地位于荣经县新添镇川黄柏种植基地 (29°51'43" N, 102°51'37" E), 地处荣经县城北部, 距县城6.5 km左右。该地海拔1 200 m左右, 属亚热带季风气候, 年均降水量1 918 mm, 年均温度16.8 °C, 年均日照时数852.1 h。土壤类型为红壤, 土层厚度45-50 cm。

1.2 样品采集

试验材料来源于当地同一株川黄柏优树种子繁育的1-3年

生苗木, 各树龄苗木栽植立地条件基本一致, 田间管理采用川黄柏常规育苗。采样时间为2022年4-10月, 每隔一个月采集一次, 这段时间包括了川黄柏生长的高峰期, 也包括了传统的采伐时间, 每个树龄随机选取5株, 重复5次, 1年生苗木挖取全株, 2年生和3年生苗木分别取地上部位和地下部位树皮。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 盐酸小檗碱含量测定 (1) 供试品溶液制备。取样品树皮, 烘箱中70 °C干燥至恒重, 粉碎, 准确称取1 g, 精密加入15 mL 60%甲醇, 浸提时间1 h, 超声功率500 W, 超声频率40 kHz的条件下提取30 min, 5 000 r/min条件下离心5 min, 将过滤后滤渣再提取2次, 每次加入浓度60%甲醇15 mL, 超声1 h, 将离心液合并, 用盐酸-甲醇将提取物定容在100 mL的容量瓶中, 摇匀, 过0.45 μm微孔滤膜, 取滤液备用。

(2) 取盐酸小檗碱标准品溶液的配制。取盐酸小檗碱对照品 (98%), 精密称定10.0 mg, 甲醇定容在50 mL容量瓶中, 制成浓度为0.196 mg/mL的对照品溶液。

(3) 色谱条件。高效液相色谱仪: LC20A; 色谱柱: Shim-pack VP-ODS C18 (250 mm × 4.6 mm, 5 μm); 检测波长为280 nm; 流动相为乙腈: 0.1%磷酸水液 (每100 mL磷酸水液中加入0.10 g十二烷基硫酸钠) = 1:1, 流速为1.0 mL/min; 柱温为30 °C; 进样量为5 μL。结果, 盐酸小檗碱的保留时间适中, 色谱峰与相邻峰的分度大于1.5, 理论塔板数大于4 000。

1.3.2 生长量及生物量 采用钢尺和游标卡尺测量苗高、地径 (0.01 cm); 电子天平 (± 0.01 g) 测量地上部位和地下部位重量, 105 °C杀青30 min, 70 °C下烘干至恒重。

1.3.3 光合参数测定 2022年8月中旬, 采用 Li-6800便携式光合测量仪 (美国, LI-COR公司) 在 09:00-11:00进行连续3 d的光合参数测定。设定红蓝光源, 设置光强1 000 μmol m⁻² s⁻¹, CO₂浓度400 μmol/mol, 叶室温度25 °C, 相对湿度60%^[17]。每个树龄选择5株长势基本一致、生长健壮的川黄柏苗木, 每株选取当年新梢相同部位叶片进行测量, 并做好标记。测定光合参数: 净光合速率 (P_n)、气孔导度 (G_s)、蒸腾速率 (T_r) 和胞间CO₂浓度 (C_i)。测定完成后, 立即摘下叶片带回实验室, 采用乙醇浸提法^[18]测定光合色素质量分数。用 UV-2700 型紫外分光光度计在665、649和470 nm的波长下读取吸光度, 并计算总叶绿素 (Chl)、叶绿素a (Chl a)、叶绿素b (Chl b) 和类胡萝卜素 (Car) 的质量分数。

1.3.4 叶绿素荧光参数测定 选取当年新梢相同部位叶

片, 叶片暗适应30 min, 采用CF Image叶绿素荧光成像系统(英国, Technologica公司)设置PPFD为1 000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 让叶片充分适应10 min后获得PS II最大光化学效率(F_v/F_m)、PSII有效光化学量子产量(F_v'/F_m')、光化学猝灭系数(q_p)、非光化学猝灭系数(NPQ)、电子传递速率(ETR)和PS II实际光化学效率(ϕ_{PSII})^[19-20].

1.3.5 数据处理 使用SPSS 22.0软件进行数据统计及显著性差异分析(Duncan法进行多重比较), Origin 2022进行图表制作.

2 结果与分析

2.1 不同月份不同树龄地上与地下部位盐酸小檗碱含量差异

川黄柏幼龄林不同月份、不同树龄盐酸小檗碱含量差异显著($P < 0.05$) (图1). 各部位含量随树龄显著增加, 1-3年生苗木各部位年均值达2%、3%和5%. 各部位含量在1年中的变化基本一致, 均以6月份较高, 4月份较低. 1-3年生树龄苗木在6月的地上部位较4月分别增加了64.12%、31.73%和26.76%, 地下部位分别增加了64.12%、31.73%和26.76%; 地下部位盐酸小檗碱含量均高于地上部位.

2.2 不同月份不同树龄植株生长特性

川黄柏幼龄林生长量和生物量均随月份、树龄增加而显著增加($P < 0.05$) (图2). 各树龄苗高、地径和生物量在1年

中增长变化基本一致, 总体表现为迅速增加→缓慢增加. 苗高、地径增加峰值均出现在4-6月, 生物量增加峰值均出现在6-8月. 在此时期, 1-3年生树龄苗高分别增加了0.41 m、1.04 m和0.70 m, 地径分别增加了5.82 mm、14.15 mm和10.73 mm, 生物量分别增加了21.85 g、640.59 g和798.74 g, 占4-10月生长量的42%以上, 此后增长趋于平缓.

2.3 不同月份不同树龄地上与地下部位盐酸小檗碱积累量

不同月份、树龄盐酸小檗碱积累量具有显著差异($P < 0.05$) (图3). 各部位盐酸小檗碱积累量随树龄显著增加, 1-3年生苗木10月单株盐酸小檗碱积累量分别达1.25 g、39.06 g和183.56 g. 各部位盐酸小檗碱积累量在1年中增长趋势基本一致, 其中6-8月增加最多, 3个树龄分别增加0.38 g、16.78 g和37.68 g; 地上部位与地下部位积累量1、2年生时差异不显著($P > 0.05$), 3年生时差异显著($P < 0.05$).

2.4 不同树龄苗木叶片光合色素含量

川黄柏幼龄林不同生长年限叶片叶绿素含量具有显著差异($P < 0.05$), 类胡萝卜素差异不显著($P > 0.05$) (表1). 3年生Chl a、Chl b和Chl含量显著大于1、2年生($P < 0.05$), 1年生Chl a、Chl和Car含量与2年生差异不显著($P > 0.05$).

2.5 不同树龄苗木叶片气体交换参数

川黄柏幼龄林不同生长年限叶片 P_n 、 G_s 和 C_i 差异显著($P < 0.05$) (表2). P_n 和 G_s 随树龄增加表现为先上升后下降的变化趋势, 3年生显著大于1年生和2年生($P < 0.05$), 1年生

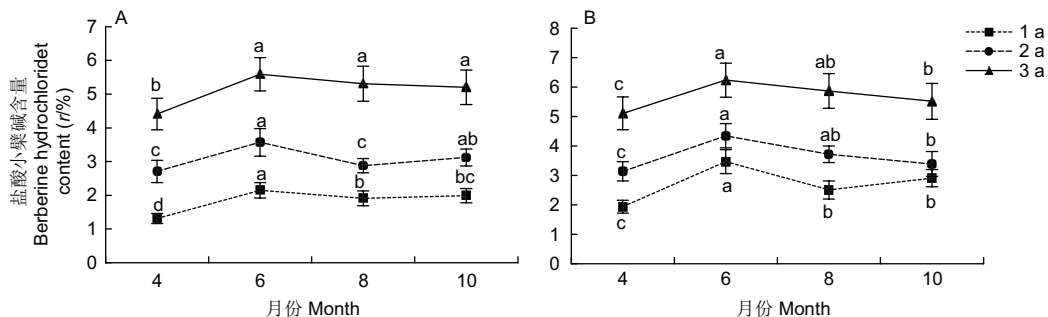


图1 不同生长月份苗木各部位盐酸小檗碱含量(A: 地上部位; B: 地下部位). 不同小写字母表示数据间差异显著($P < 0.05$), 下同.

Fig. 1 Content of berberine hydrochloride in different parts of seedlings in different growth months (A: Aboveground part; B: Belowground part). Different lowercase letters indicate significant differences between the data ($P < 0.05$). The same as below.

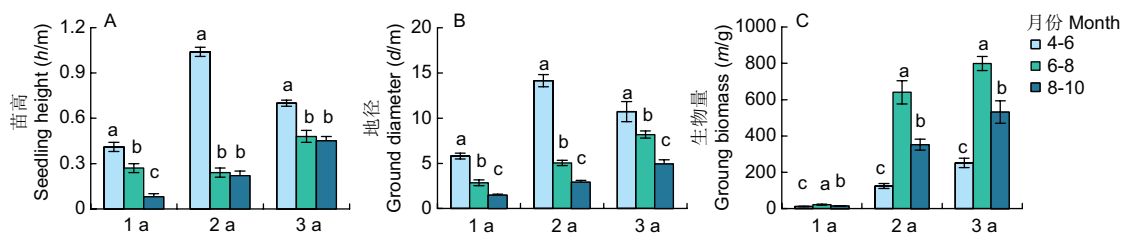


图2 不同生长月份苗高、地径和生物量增长量.

Fig. 2 Increment of seedling height, ground diameter, and biomass in different growth months.

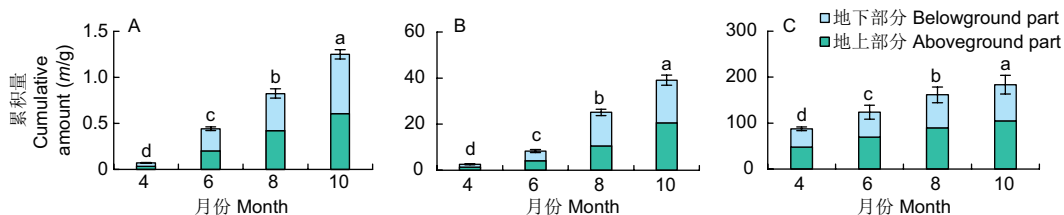


图3 不同生长月份苗木盐酸小檗碱积累量(A: 1a; B: 2a; C: 3a).

Fig. 3 Berberine hydrochloride accumulation of seedlings in different growth months (A: 1a; B: 2a; C: 3a).

表1 不同树龄苗木叶片叶绿素和类胡萝卜素含量
Table 1 Chlorophyll and carotenoid content of seedlings at different tree ages

指标 Index	1 a	2 a	3 a
叶绿素a Chlorophyll a (w/mg g ⁻¹)	4.213 ± 0.596b	3.886 ± 0.503b	5.190 ± 0.835a
叶绿素b Chlorophyll b (w/mg g ⁻¹)	5.803 ± 1.171b	6.489 ± 1.307b	8.727 ± 1.140a
总叶绿素 Total chlorophyll (w/mg g ⁻¹)	10.371 ± 1.809b	10.013 ± 1.766b	13.913 ± 1.919a
类胡萝卜素 Carotenoid (w/mg g ⁻¹)	1.460 ± 0.160a	1.240 ± 0.196a	1.662 ± 0.417a

表2 不同树龄苗木叶片气体交换参数
Table 2 Gas exchange parameters of leaves of seedlings at different tree ages

指标 Index	1 a	2 a	3 a
净光合速率 Net photosynthetic rate (P _n /μmol m ⁻² s ⁻¹)	27.717 ± 2.264b	26.786 ± 0.558b	32.014 ± 1.191a
气孔导度 Stomatal conductance (G _s /mol m ⁻² s ⁻¹)	0.354 ± 0.223b	0.360 ± 0.137b	0.406 ± 0.132a
蒸腾速率 Transpiration rate (T _r /mol m ⁻² s ⁻¹)	0.009 ± 0.003a	0.010 ± 0.003a	0.009 ± 0.002a
胞间CO ₂ 浓度 Intercellular CO ₂ concentration (C _i /μmol mol ⁻¹)	286.367 ± 8.276b	373.544 ± 6.044a	257.766 ± 18.229b

和2年生差异不显著 ($P > 0.05$)；Ci随树龄先上升后下降，2年生显著大于1年生和3年生 ($P < 0.05$)，3年生和1年生差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.6 不同树龄苗木叶片叶绿素荧光参数

川黄柏幼龄林不同生长年限叶片叶绿素荧光参数大小具有显著差异 ($P < 0.05$) (图4)。各参数随树龄变化趋势不同， F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 和ETR随树龄增加表现为先降低后升高，其中 F_v/F_m 、 Φ_{PSII} 、 F_v'/F_m' 值以1、3年生最大，显著大于2年生 ($P < 0.05$)，ETR值以3年生最大，显著大于1、2年生 ($P < 0.05$)； q_p 和NPQ随树龄变化趋势相反， q_p 随树龄增加而显著升高 ($P < 0.05$)，NPQ则随树龄增加而显著降低 ($P < 0.05$)。

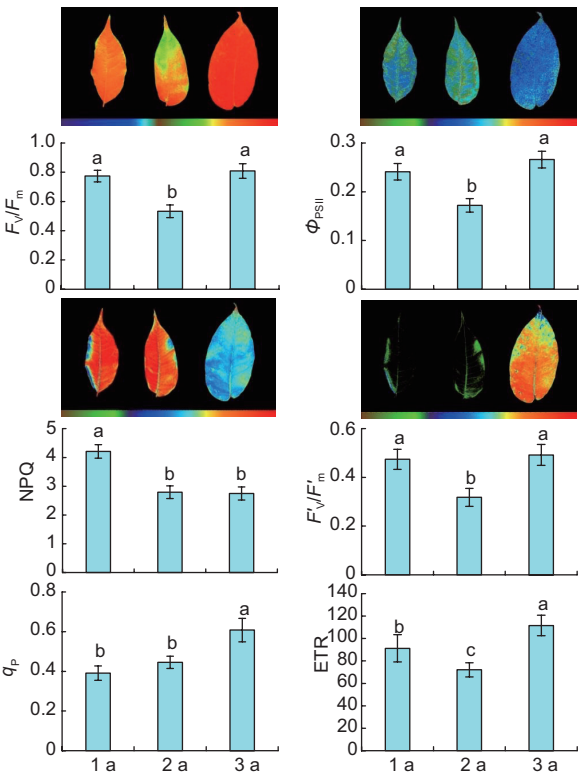


图4 不同树龄苗木叶片叶绿素荧光参数。F_v/F_m：最大光化学量子产量；Φ_{PSII}：实际光化学效率；NPQ：非光化学猝灭系数；F_v'/F_m'：有效光化学量子产量；q_p：光化学猝灭系数；ETR：电子传递速率。
Fig. 4 Chlorophyll fluorescence parameters of leaves of seedlings at different tree ages. F_v/F_m: Maximum photochemical quantum yield; Φ_{PSII}: Actual photochemical efficiency; NPQ: Non photochemical quenching coefficient; F_v'/F_m': Effective photochemical quantum yield; q_p: Photochemical quenching coefficient; ETR: Electron transfer rate.

2.7 盐酸小檗碱累积量与光合生理参数PCA

PCA分析直观表达了盐酸小檗碱累积量、光合色素、气体交换参数和叶绿素荧光参数间的相关关系。前两个排序的累计解释量为97.99% (表3)，说明排序结果可信，能较好解释这些变量的关系。由图5可知，盐酸小檗碱累积量与光合色素、气体交换参数和叶绿素荧光参数的密切相关，其中与光合色素 (Chla、Chlb和Chl) 表现出显著正相关；与气体交换参数 P_n表现出极显著正相关，与T_r和C_i表现出负相关关系；与叶绿素荧光参数q_p、F_v/F_m、Φ_{PSII}和F_v'/F_m'均呈正相关关系 (其中与F_v/F_m相关性显著)，与ETR、NPQ表现出负相关关系 (其中与NPQ相关性显著)。P_n与光合色素 (Chla、Chlb和Chl)、F_v'/F_m'和Φ_{PSII}表现出正相关关系 (其中与Chla、Chlb、Φ_{PSII}相关性显著)，与T_r、C_i和NPQ表现出负相关关系 (其中与NPQ相关性显著)。

表3 盐酸小檗碱累积量和光合生理参数PCA
Table 3 PCA of berberine hydrochloride accumulation and photosynthetic physiological parameters

统计 Statistic	轴1 Axis 1	轴2 Axis 2	轴3 Axis 3	轴4 Axis 4
特征值 Eigenvalue	0.9561	0.0238	0.0068	0.0054
解释拟合累积变量 Explaining the fitting cumulative variable (P/%)	95.61	97.99	98.67	99.22

3 讨论

植物次生代谢产物的合成是在初级代谢中间产物累积到一定程度，并在相关酶催化作用下进行，不同时期其含量及累积量具有一定的差异^[21-22]。系统研究川黄柏不同生长时期各部位盐酸小檗碱累积变化规律，对其合理开发利用具有重要指导意义。刘钊圻对3-25年川黄柏研究发现茎皮中盐酸小檗碱含量为5.87%-8.55%^[23]，徐敏等对6、8和10年生川黄柏盐酸小檗碱含量测定表明随树龄增加盐酸小檗碱含量也随之增加，表明树龄是影响川黄柏盐酸小檗碱含量的重要因子^[24]。本研究对川黄柏幼龄林 (1-3年生) 盐酸小檗碱含量测定结果也证实了这点，且随树龄增加而显著增加 ($P < 0.05$)。究其原因，盐酸小檗碱是一种生物碱，其合成部位主要位于植物组织的细胞质、液泡和内质网等部位^[25-26]，1年生苗木各部位为当年生长，有效成分积累的时间较短，2年生时苗木根皮和茎皮厚度有了显著增长，有利于盐酸小檗碱积累，此时含量也达到

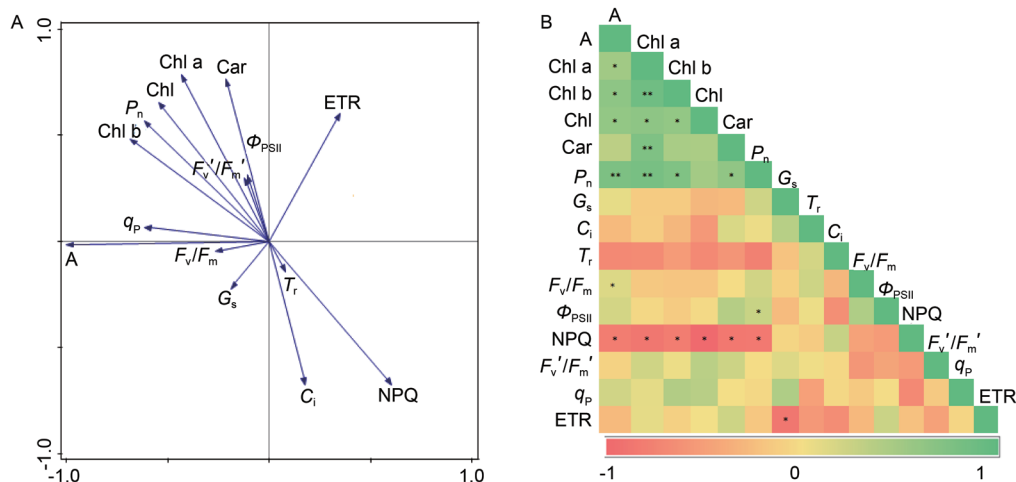


图5 盐酸小檗碱积累量和光合生理参数的PCA排序(A)及相关性(B). A: 盐酸小檗碱积累量; Chl a: 叶绿素a; Chl b: 叶绿素b; Chl: 总叶绿素; Car: 类胡萝卜素; P_n : 净光合速率; G_s : 气孔导度; T_r : 蒸腾速率; C_i : 胞间 CO_2 浓度; F_v/F_m : 最大光化学量子产量; Φ_{PSII} : 实际光化学效率; NPQ: 非光化学淬灭系数; F_v'/F_m' : 有效光化学量子产量; q_p : 光化学淬灭系数; ETR: 电子传递速率.

Fig. 5 PCA diagram (A) and correlation (B) of berberine hydrochloride accumulation and photosynthetic physiological parameters. A: Accumulation of berberine hydrochloride; Chl a: Chlorophyll a; Chl b: Chlorophyll b; Chl: Total chlorophyll; Car: Carotenoids; P_n : Net photosynthetic rate; G_s : Stomatal conductance; T_r : Transpiration rate; C_i : Inter-cellular CO_2 concentration; F_v/F_m : Maximum photochemical quantum yield; Φ_{PSII} : Actual photochemical efficiency; NPQ: Non photochemical quenching coefficient; F_v'/F_m' : Effective photochemical quantum yield; q_p : Photochemical quenching coefficient; ETR: Electron transfer rate.

了3%以上. 次生代谢物的合成具有器官差异性^[27], 本研究中, 各生长期均以地下部位盐酸小檗碱含量较高, 这和人前得到根皮>茎皮>枝皮的研究结论^[28]相一致, 各部位中酶反应体系和营养状况不同都是造成次生代谢产物含量差异的原因. 次生代谢产物在植物体内随着季节不断变化, 研究其含量的季节动态对于确定药用植物的最佳采收期至关重要. 陈文强等研究发现, 川黄柏中盐酸小檗碱含量在6月和7月达最大值, 8月和10月含量最小, 差值为3.6-2.8 mg/g^[29]. 本研究也表明盐酸小檗碱含量在1年中各生长期也具有明显变化规律, 各部位含量在1年中的变化基本一致, 均以6月份较高, 4月份较低. 春季开始, 苗木生长活动趋于旺盛, 迅速合成盐酸小檗碱所需要的底物, 其中4-6月是川黄柏幼龄林生长最为旺盛的时期, 此时盐酸小檗碱合成反应处于活跃状态, 因而在各器官中积累也逐渐增多; 秋季川黄柏生理活动减弱, 呼吸代谢减慢, 盐酸小檗碱代谢更多处于不活泼的库中, 没有发生转移, 因而各部位含量较高, 该结论与人前对杜仲和菰蓝的研究结果^[30]一致. 药用植物采收利用时, 需同时兼顾有效成分的含量与经济效益, 科学合理的采收可以有效提升药用植物有效成分的累积, 获得最大收益. 本研究结果表明, 川黄柏幼龄林盐酸小檗碱积累量在1年中增加量变化为缓慢增加→迅速增加→缓慢增加, 8-10月盐酸小檗碱积累量最大, 2-3年生达到39.06 g/株和183.56 g/株, 说明人工栽培川黄柏幼龄林最佳采集时间是秋季(10月), 此时采收可以获得最大收益. 基于以上分析表明, 相较传统以获取大树根皮、茎皮的利用方式, 川黄柏幼龄林(树龄>2)盐酸小檗碱含量达到了3%以上, 地下部位盐酸小檗碱较高, 可用作提取盐酸小檗碱原料, 地上部位采集茎皮可作为较低品质的黄柏药材; 同时, 在苗木栽植初期可适当密植, 提前采收获得部分苗木形成合适栽培密度, 后期再采收较高品质的药用材料, 这对于缩短川黄柏种植周期, 减少市场风险具有重要意义.

植物中次生代谢产物的产生、积累与光合作用产生的前体物质息息相关, 净光合速率(P_n)是用来衡量植物光合作用能

力的重要标志^[31]. 本研究中, 盐酸小檗碱积累量与 P_n 呈显著正相关, 表明随着树龄增加光合能力逐渐增强, 合成的有机物增多, 盐酸小檗碱在植株体内的累积也增加. 同时, 结果也显示盐酸小檗碱积累与叶绿素含量呈显著正相关, 叶绿素直接参与植物光合作用中光能吸收与能量转化的过程, 对于植物生长及物质积累具有至关重要作用^[32], 随着川黄柏树龄增加, 合成的叶绿素a及叶绿素b也显著增多, 促进LHCII数量增多用以捕获更多的光能, 促进川黄柏有效成分的积累. 叶片叶绿素荧光诱导动力学在一定程度上能够反映植物对环境的适应^[33]. F_v/F_m 反映最大PSII光能转换效率, 非胁迫条件下相对稳定, 健康植物叶片一般在0.80-0.85波动, 但当受到胁迫时 F_v/F_m 的值会明显降低^[34]. 本研究中除3年生川黄柏苗木外, 1年生和2年生 F_v/F_m 均小于0.8, 表明3年生川黄柏潜在最大光合能力相较1年生和2年生有了显著提高, 适应环境的能力也最强, 也反映出川黄柏苗木在树龄3年生时对环境形成了一定的适应性^[35]. 2年生 F_v/F_m 值低于0.6, 其原因可能是苗木进行了移栽造林, 苗木受到断根、失水、擦伤、缺氧等胁迫^[36]. Φ_{PSII} 作为评价植物胁迫程度的一个指标^[37], 本研究中 Φ_{PSII} 与 F_v/F_m 的结果相一致, 也在一定程度表明幼龄林(树龄<3), 对于环境的适应性相对较弱, 可采取一定经营措施增强适应外界环境的能力. 研究表明, 相同环境条件下ETR值越高, 其暗反应过程中光合碳同化积累或有机物的积累越多^[38]. 本研究中, 3年生川黄柏ETR数值显著高于1、2年生($P < 0.05$), 表明可以积累更多的光合有机物. 光能被植物吸收后, 往往有以下3种消耗方式: 光合作用、叶绿素荧光和热耗散, 光合作用与热耗散会降低叶绿素荧光^[39], 其中光化学淬灭(q_p)是因光合作用引起的荧光降低, 而非光化学淬灭(NPQ)是由热耗散引起的荧光降低. q_p 反映了植物光合活性的高低, NPQ反映了植物耗散过剩光能为热的能力, 也就是光保护能力^[40]. 本研究中, 不同树龄条件下川黄柏苗木NPQ和 q_p 值呈现相反变化趋势, 即NPQ值大的川黄柏苗木其 q_p 值反而小, 研究结果与李军保^[41]相一致, 说明随着川黄柏树龄的增加, 由于3年生川黄柏苗木 Φ_{PSII} 和 F_v/F_m 的升高, 直接导

致了其光合活性增加;川黄柏1年生苗木NPQ值显著高于2年生和3年生($P < 0.05$),说明低龄川黄柏具有相对较高的热耗散能力,从而保护机体不受剩余光能的损害。

4 结论

川黄柏幼龄林盐酸小檗碱累积量具有明显的树龄、生长

月份和部位差异性,累积量大小与光合参数密切相关,树龄>2年可适当开发利用,最佳采收月份是10月,结果可为川黄柏幼龄林合理开发利用提供一定的指导。在今后的研究中,应开展川黄柏幼龄林其他有效成分各部位不同生长时期累积变化研究,阐明不同有效成分间的关系,进一步为川黄柏幼龄林的科学利用提供依据。

参考文献 [References]

- 1 杨俐,叶萌,高顺.基于《中华人民共和国药典》修订对黄柏主要有效成分研究的思考[J].中华中医药杂志,2018,33(9):3905-3908 [Yang L, Ye M, Gao S. Studies of the main effective components of cortex *Phellodendri* based on the revisions of Pharmacopoeia of the People's Republic of China [J]. *Chin J Tradit Chin Med Pharm*, 2018, 33 (9): 3905-3908]
- 2 张凡,吴琦,鞠成国,贾天柱.产地加工炮制一体化与传统黄柏饮片的化学成分比较研究[J].中草药,2018,49(20):4748-4752 [Zhang F, Wu Q, Ju CG, Jia TZ. Comparative study on chemical compositions between integral processing and traditional processing of *Phellodendri chinensis* cortex [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2018, 49 (20): 4748-4752]
- 3 Li C, Dong N, Wu B, Mo Z, Lu Q. Dihydroberberine, an isoquinoline alkaloid, exhibits protective effect against dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice [J]. *Phytomedicine*, 2021, 90: 153631
- 4 Sun Y, Lenon GB, Yang AWH. *Phellodendri cortex*: a Phytochemical, pharmacological, and pharmacokinetic review [J]. *Evid Based Compl Alternat Med*, 2019, 7 (6): 219-229
- 5 常醉,周志强,夏春梅,刘彤.天然东北红豆杉枝中紫杉醇和三尖杉宁碱含量变化特征[J].北京林业大学学报,2012,34(2):71-77 [Chang Z, Zhou ZQ, Xia CM, Liu T. Characteristics of paclitaxel and cephalomannine content changing in the branches of natural Japanese yew [J]. *J Beijing For Univ*, 2012, 34 (2): 71-77]
- 6 Massei G, Hartley SE, Bacon PJ. Chemical and morphological variation of *Mediterranean woody evergreen species*: do plants respond to ungulate browsing [J]. *J Veg Sci*, 2000, 11 (1): 1-8
- 7 田浩.黄柏和黄茶化学成分研究[D].兰州:兰州理工大学,2020 [Tian H. Studies on chemical constituents of *Phellodendron chinense* and yellow tea [D]. Lanzhou: Lanzhou University of Technology, 2020]
- 8 刘洋,冉聪,游桂香,何婧芝,吴卫,侯凯.川黄柏中盐酸小檗碱HPLC测定优化及其抑菌活性评价[J].中国农业科技导报,2020,22(2):179-186 [Liu Y, Ran C, You GX, He JZ, Wu W, Hou K. Determination of berberine hydrochloride in crystal of *Phellodendron chinensis* by HPLC and evaluation of bacteriostatic activity [J]. *J Agric Sci Technol*, 2020, 22 (2): 179-186]
- 9 李强,杜思邈,张忠亮,吕春明,周永全,赵燕,张宁.中药指纹图谱技术进展及未来发展方向展望[J].中草药,2013,44(22):3095-3104 [Li Q, Du SM, Zhang ZL, Lv CM, Zhou YQ, Zhao Y, Zhang N. Progress in fingerprint technology on Chinese materia medica and prospect of its future development [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2013, 44 (22): 3095-3104]
- 10 罗尚华.基于 $^1\text{H-NMR}$ 技术对道地药材黄柏和泽泻质量控制的代谢组学研究[D].成都:成都中医药大学,2013 [Luo SH. Quality control of genuine regional drug *Phellodendri cortex* and *Alismatis rhizoma* by $^1\text{H-NMR}$ metabonomics [D]. Chengdu: Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, 2013]
- 11 王玲,杜潇,祝华莲,吴萍.黄柏有效成分的药理作用研究进展[J].江苏中医药,2022,54(4):77-81 [Wang L, Du X, Zhu HL, Wu P. Research progress on pharmacological effects of effective components of *Phellodendron chinense* [J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med*, 2022, 54 (4): 77-81]
- 12 Yue X, Liang J, Gu F. Berberine activates bitter taste responses of enteroendocrine STC-1 cells [J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 447 (1): 21-32
- 13 Howe, Pelli, Louise, Seery, Cliff, Ross, Clark, Malcolm, William, Reichelt-Brushett. Toxicity estimates for diuron and atrazine for the tropical marine cnidarian *Exaiptasia pallida*, nd in-hospite *Symbiodinium* pp. using PAM chlorophyll-a, fluorometry [J]. *J Photoch Photobio B*, 2017 (171): 125-132
- 14 Gao R, Wang Z, Shi J, Luo Y. Effect of *Bursaphelenchus xylophilus* infection on leaf photosynthetic characteristics and resource-use efficiency of *Pinus massoniana* [J]. *Ecol Evol*, 2016, 7 (10): 3455-3463
- 15 杨张青,胡建东,段铁城,王顺,吴建中,苏伟波,张玉民.植株叶绿素无损诊断技术研究进展[J].中国农学通报,2019,35(7):139-144 [Yang ZQ, Hu JD, Duan TC, Wang S, Wu JZ, Su WB, Zhang YM. Research progress of nondestructive diagnostic technique of chlorophyll in plants [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2019, 35 (7): 139-144]
- 16 冯建灿,胡秀丽,毛训甲.叶绿素荧光动力学在研究植物逆境生理中的应用[J].经济林研究,2002,20(4):15-19+31 [Feng JC, Hu XL, Mao XJ. Application of chlorophyll fluorescence dynamics to plant physiology in adverse circumstance [J]. *Econ For Res*, 2002, 20 (4): 15-19+31]
- 17 王刚,罗建勋,蒲尚饶,李亚平,王刚,孙志鹏.遮荫对云曼红豆杉活性成分10-DAB及矿质营养累积的影响[J].生物技术通报,2022,38(11):175-184 [Wang G, Luo JX, Pu SR, Li YP, Wang G, Sun ZP. Effects of shading on the active component 10-DAB and mineral nutrient accumulation of *Taxus madia* $\times$ *T. yunnanensis* 'Yunman' [J]. *Biotechnol Bull*, 2022, 38 (11): 175-184]
- 18 Lichtenthaler HK. Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes [J]. *Methods Enzymol*, 1987, 148 (1): 350-382
- 19 谭婷婷,范元芳,李盛蓝,王仲林,杨峰,杨文钰.套作模式下玉米荫蔽对大豆叶片叶绿体结构及光合特性的影响[J].核农学报,2020,34(10):2360-2367 [Tan TT, Fan YF, Li SL, Wang ZL, Yang F, Yang WY. Effects of maize shading on chloroplast structure and photosynthetic characteristics of soybean leaves under intercropping pattern [J]. *Acta Agric Nucl Sin*, 2020, 34 (10): 2360-2367]
- 20 杨峰,黄山,武晓玲,刘卫国,雍太文,杨文钰.根腐病胁迫对大豆光谱特征和叶绿素荧光特性的影响[J].大豆科学,2013,32(4):490-495+500 [Yang F, Huang S, Wu XL, Liu WG, Yong TW, Yang

- WY. Effects of phytophthora root rot stress on canopy spectra reflectance and chlorophyll fluorescence characteristics of soybean [J]. *Soybean Sci*, 2013, **32** (4): 490-495+500]
- 21 黄浩, 连辉明, 何波祥, 汪迎利, 陈桂琼, 梁东成, 陈新强, 罗万业, 林胜, 凌凤清. 龙脑型阴香叶片精油及其主要化学成分含量动态变化研究[J]. 林业与环境科学, 2019, **35** (6): 22-26 [Huang H, Lian HM, He BX, Wang YL, Chen GQ, Liang DC, Chen XQ, Luo WY, Lin S, Ling FQ. Study on the dynamic change of essential oil content and chemical constituents in the leaves of *Cinnamomum burmannii* chvar. Borneol [J]. *For Environ Sci*, 2019, **35** (6): 22-26]
 - 22 苏建荣, 张志钧, 邓疆. 不同树龄、不同地理种源云南红豆杉紫杉醇含量变化的研究[J]. 林业科学研究, 2005 (4): 369-374 [Su JR, Zhang ZJ, Deng J. Study on the taxol content in *Taxus yunnanensis* of different age and different provenance [J]. *For Res*, 2005 (4): 369-374]
 - 23 刘钊圻. 黄柏采收与加工方法的优化研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2007 [Liu ZQ. The optimized research on the recovery and process method of *Phellodendron chinense* Schneid [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2007]
 - 24 徐敏, 万德光. 不同产地和生长年限川黄柏中小檗碱的含量测定[J]. 现代医药卫生, 2007, **23** (1): 93-97 [Xu M, Wan DG. Determination of nestaline content in *Phellodendron chinense* from different producing areas and growing years [J]. *Mod Med Heal*, 2007, **23** (1): 93-97]
 - 25 唐中华, 于景华, 杨逢建, 祖元刚. 植物生物碱代谢生物学研究进展[J]. 植物学通报, 2003 (6): 696-702 [Tang ZH, Yu JH, Yang FJ, Zu YG. Metabolic biology of plant alkaloids [J]. *Bull Bot*, 2003 (6): 696-702]
 - 26 黄玉香, 谭何新, 于剑, 张青磊, 郭志英, 陈越, 刁勇, 张磊. 药用植物生物碱次生代谢工程研究进展[J]. 中草药, 2016, **47** (23): 4271-4281 [Huang YX, Tan HX, Yu J, Zhang QL, Guo ZY, Chen Y, Diao Y, Zhang L. Advances in study on secondary metabolic engineering of alkaloids in medicinal plants [J]. *Chin Tradit Herbal Drugs*, 2016, **47** (23): 4271-4281]
 - 27 Win KM. Evolution of secondary metabolites from an ecological and molecular phylogenetic perspective [J]. *Phytochemistry*, 2003, **64** (1): 3-19
 - 28 宋兵双, 谢昭明. HPLC法对黄柏不同期采收药材不同部位的小檗碱含量比较研究[J]. 中医药导报, 2000 (1): 38 [Song B S, Xie SM. A comparative study on determination of berberine in *Phellodendron* bark from different region and different time with HPLC [J]. *Guid J Tradit Chin Med Pharm*, 2000 (1): 38]
 - 29 陈文强, 孙文恺, 王雅寒, 何功秀, 何含杰, 张党权. GA₃喷施对川黄柏密植幼林生长及药用成分含量的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2021, **41** (1): 124-131 [Chen WQ, Sun WK, Wang YH, He GX, He HJ, Zhang DQ. Effects of spraying GA₃ on growth and medicinal components content of densely planting young forest of *Phellodendron chinense* [J]. *J Central South Univ For Technol*, 2021, **41** (1): 124-131]
 - 30 张康健, 马希汉, 马梅, 王蓝, 张檀. 杜仲次生代谢物生长积累动态的研究[J]. 林业科学, 1999, **35** (2): 15-20 [Zhang KJ, Ma XH, Ma M, Wang L, Zhang T. A study on dynamic accumulation of metabolites during the growth of *Eucommia ulmoides* Oliv [J]. *Sci Silv Sin*, 1999, **35** (2): 15-20]
 - 31 Schreiber U. Pulse-amplitude-modulation (PAM) fluorometry and saturation pulse method: an overview. In GC Papageorgiou, Govindjee, eds, *Chlorophyll fluorescence: a signature of photosynthesis*, Ed 1 [M]. Springer, 2004, (19): 279-319
 - 32 Ferreira VS, Pinto RF, Santanna C. Low light intensity and nitrogen starvation modulate the chlorophyll content of *Scenedesmus dimorphus* [J]. *J Appl Microbiol*, 2016, **120** (3): 661-670
 - 33 Fullana P, Conesa MA, Soler S, Ribas C, Galmes J. Variations of leaf morphology, photosynthetic traits and water-use efficiency in western-mediterranean tomato landraces [J]. *Photosynthetica*, 2017, **55** (1): 121-133
 - 34 Kitajima M, Butler W. Quenching of chlorophyll fluorescence and primary photochemistry in chloroplasts by dibromothymoquinone [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1975 (376): 105-115
 - 35 杨杰, 郑蓉, 李建民, 温晓芸, 林永洲, 洪小龙, 郑维鹏. 不同苗龄牛樟叶绿素荧光差异性[J]. 福建林业科技, 2018, **45** (1): 5-11 [Yang J, Zheng R, Li JM, Wen XY, Lin YZ, Hong XL, Zhen WP. Study of chlorophyll fluorescence variations for different ages *Cinnamomum kanehirae* Hay. Seedling [J]. *J Fujian For Sci Technol*, 2018, **45** (1): 5-11]
 - 36 李继东, 毕会涛, 武应霞, 冯建灿. 移栽期间胁迫对苗木影响的研究进展[J]. 林业科学, 2008 (6): 125-136 [Li J, Bi HT, Wu YX, Feng JC. Recent advances in effects of different stresses in transplant on the seedling performance [J]. *Sci Silv Sin*, 2008 (6): 125-136]
 - 37 张广忠, 张露荷, 黄华梨, 马存世, 赵通, 胡秉芬, 戚建莉, 朱红斌. 甘肃沿黄灌区10个枣树品种叶绿素荧光特性的比较分析[J]. 经济林研究, 2021, **39** (4): 177-184+220 [Zhang GZ, Zhang LH, Huang HL, Ma CS, Zhao T, Hu BF, Qi JL, Zhu HB. Chlorophyll fluorescence characteristics comparison of 10 jujube varieties in irrigation area along the Yellow River in Gansu Province [J]. *Econ For Res*, 2021, **39** (4): 177-184+220]
 - 38 郑蓉, 黄耀华, 连巧霞, 郑清芳, 郑维鹏. 刚竹属13个种叶绿素荧光特性比较[J]. 江西农业大学学报, 2008, **30** (2): 263-267 [Zheng R, Huang YH, Lian QX, Zheng QF, Zheng WP. Compared on chlorophyll fluorescence characteristics of thirteen species of phyllostachys [J]. *J Jiangxi Agric Univ*, 2008, **30** (2): 263-267]
 - 39 Kramer DM, Johnson G, Kiirats O. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes [J]. *Photosynth Res*, 2004 (79): 209-218
 - 40 Van KO, Snel J. The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology [J]. *Photosynth Res*, 1990 (25): 147-150
 - 41 李军保, 董强, 朱建军, 石玉林, 柴红焯, 俞靓, 付选齐, 万建军. 榆林不同树龄胡杨叶片叶绿素荧光特征比较[J]. 中国农学通报, 2021, **37** (10): 17-23 [Li JB, Dong Q, Zhu JJ, Shi YL, Chai HY, Yu I, Fu XQ, Wan JJ. Comparison of chlorophyll fluorescence characteristics of *Populus euphratica* leaves of different tree ages in Yulin [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 2021, **37** (10): 17-23]