

奚广生,李海涛.人参茎叶、根部皂苷对桃蚜解毒酶活性影响及作用对比[J].江苏农业科学,2019,47(11):151-155.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.11.034

人参茎叶、根部皂苷对桃蚜解毒酶活性影响及作用对比

奚广生¹,李海涛²

(1. 梧州学院化学工程与资源再利用学院,广西梧州 543000;2. 吉林农业科技学院中药学院,吉林吉林 132101)

摘要:以人参茎叶皂苷和人参根皂苷为试验材料,以同翅目桃蚜为试验昆虫,采用带虫叶片浸渍法对桃蚜取食皂苷后其体内解毒酶活性进行测定,并对比人参茎叶皂苷和人参根皂苷影响酶活性的作用。结果表明,人参茎叶皂苷和人参根皂苷在一定浓度时对桃蚜体内解毒酶活性有抑制作用;但人参茎叶皂苷中浓度(20、30 g/L)对桃蚜处理 24 h 后,其体内谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)、多功能氧化酶(MFO)和乙酰胆碱酯酶(AChE)有显著诱导激活作用。经过作用对比显示人参根皂苷在 24、48 h 时对桃蚜解毒酶的抑制作用比人参茎叶皂苷显著。

关键词:人参茎叶;人参根部皂苷;人参根皂苷;桃蚜;解毒酶活性;乙酰胆碱酯酶活性;新生物农药

中图分类号:S482.3⁺9 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)11-0151-04

人参是五加科人参属多年生宿根草本植物,是享誉国内外,具有极高药用价值的传统名贵中药,具有补脾益肾,安神益智,提高免疫力等多种功效。人参功效的发挥,主要依靠其次生代谢产物人参皂苷起作用。人参皂苷是人参的一种次生代谢产物,属于三萜类皂苷,广泛分布于植物界中,有抗菌和抗虫害的作用,可用作药物,具有重要的商业价值^[1]。人参茎叶和根部的主要活性成分就是人参皂苷^[2]。

近年来关于人参的主要药效成分一直是国内外的研究热点,但人参皂苷在人参生长过程中对自身的影响研究并不彻底,人参的生长时间可以达到百年以上^[3],这表明人参的次生代谢产物对其生长具有一定的意义。三萜类物质都具有一定的化感活性,其重要意义是可以抵御害虫的取食,保护植物体,这种活性在杀虫和驱虫方面有一定的积极作用。研究表明人身皂苷对苜蓿夜蛾和粘虫的取食有一定影响,并对其体内消化酶和保护酶的活性有较大的影响^[4-6]。

为了更好地摸索人参皂苷的防虫效果及机制,本试验研究了人参茎叶提取皂苷和人参根部提取皂苷对同翅目昆虫桃蚜的解毒酶和乙酰胆碱酯酶活性的影响,旨在为植物害虫的生物防治及新农药开发提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 人参茎叶皂苷及人参根皂苷 人参茎叶皂苷及人参根皂苷(纯度 80%)由吉林大学药学院提供,使用时用曲拉通 0.05% 分别配制成 5、10、20、30、60 g/L 的浓度梯度,现用现配。

收稿日期:2018-02-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31470420);公益性行业(农业)科研专项(编号:201303111);吉林省高等学校人参(种植)高端科技创新平台项目。

作者简介:奚广生(1967—),男,吉林吉林人,博士,教授,硕士生导师,主要从事药用植物分类、栽培、品种选育及成分提取方面的研究。Tel:(0432)64703032;E-mail:zyxyxgs@126.com。

1.1.2 供试昆虫 桃蚜(*Myzus persicae* Sulzer)由中国农业科学院植物保护研究所提供,并在中国农业科学院植物保护研究所进行昆虫的挑选和试验。

1.1.3 供试植物叶片 橄榄叶片采自中国农业科学院植物保护研究所试验基地,采后迅速拿到实验室内进行药剂处理并接种昆虫。

1.2 方法

1.2.1 试虫处理 采用带虫叶片浸渍法。挑选带有 30 头大小一致无翅成蚜的植株叶片侵入系列浓度皂苷溶液中,5~8 s 后取出,晾干,放入带有滤纸的培养皿中,每个浓度 3 次重复,置于 25 ℃ 恒温培养箱中培养,同时用 0.05% 曲拉通作为空白对照。分别在培养 24、48 h 时进行谷胱甘肽-S-转移酶(GSTs)、多功能氧化酶(MFO)、羧酸酯酶(CarE)、乙酰胆碱酯酶(AChE)活性的测定。

1.2.2 试液的制备 取药剂处理后的无翅成蚜 5 mg 于冰上,加入 1 mL 0.1 mol/L pH 值为 7.4 PBS(磷酸缓冲盐,含 1 mmol/L 乙二胺四乙酸(EDTA)、1 mmol/L 二硫苏糖醇(DTT)、1 mmol/L 丙基硫氧嘧啶(PTU)、1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(PMSF)、10% 甘油,在冰浴中充分研磨匀浆,并补足体积到 2 mL,匀浆液置于 4 ℃、12 000 r/min 下离心 15 min,上清液分装于离心管中,迅速测定谷胱甘肽转移酶活性、多功能氧化酶活性和蛋白质总含量,-20 ℃ 冷冻,分别用于羧酸酯酶和乙酰胆碱酯酶活性测定。

1.2.3 蛋白质含量的测定 以牛血清白蛋白作标准曲线;将酶液作为反应液,用于蛋白质含量的测定,加入考马斯亮蓝试剂,混匀,室内放置 5 min,用酶标仪在 595 nm 处测定吸光度,并计算蛋白质含量^[7]。

1.2.4 谷胱甘肽-S-转移酶活性测定 根据牟少飞等的方法^[8-9],在离心管中依次加入 1.2 mL 66 mmol/L pH 值为 7.4 PBS(含 2 mmol/L EDTA)、0.15 mL 50 mmol/L 还原型谷胱甘肽、0.05 mL 0.03 mol/L 二硝基氯苯(CDNB)及 0.1 mL 酶液,以磷酸缓冲液为对照。摇匀立即放入酶标仪下,测定 340 nm

处的吸光度,测定时间为 5 min,每 1 min 取值 1 次,重复 3 次,以隔 1 min $D_{340\text{ nm}}$ 变化 0.1 为 1 个酶活单位,酶活单位为 U/(mg·min)。

1.2.5 多功能氧化酶去亚甲基活性测定 根据 Hansen 等的方法^[10],略有改动。将室温调至 27℃,在 96 孔酶标板中,每孔依次加入 100 μL 3 mmol/L 磷酸钠盐(P-NA)、90 μL 酶源,最后加入 10 μL 8.6 mmol/L 还原型辅酶(NADPH)。立即放入酶标仪下,测定 405 nm 处的吸光度,测定时间为 30 min,每隔 1 min 取值 1 次,重复 3 次,以 1 min $D_{405\text{ nm}}$ 变化 0.1 为 1 个酶活单位,酶活单位为 U/(mg·min)。

1.2.6 羧酸酯酶活性测定 参照 van Asperen 的方法^[11],略有改动。在离心管中依次加入 1.43 mL 0.3 mmol/L 的底物:0.04 mol/L pH 值为 7.0 PBS(含有 1% 0.03 mol/L α-醋酸萘酯和 1% 0.1 mmol/L 毒扁豆碱),285 μL 酶液(酶液须要稀释 10 倍);放入摇床中 30℃振荡 30 min,立即加入 285 μL 显色液[1% 固兰 B 盐和 5% 十二烷基硫酸钠(SDS),使用前以 2:5(体积分数)混合]。稳定 0.5 h 后,吸取 250 μL 注入 96 孔酶标板中,测定 600 nm 处的吸光度,重复 3 次,以单位时间内单位蛋白催化生成 α-萘酚的量为酶活单位,即 nmol/(mg·min)。

1.2.7 乙酰胆碱酯酶活性测定 参照 Gorun 等的方法^[12]。反应体系为 0.05 mL 二硫代双硝基甲酸(Asch-DTNB);每个待测酶液设置 4 个梯度,分别为 0、0.05、0.10、0.15 mL,相应地分别加入 pH 值为 7.4、0.1 mol/L 磷酸缓冲液 1.30、1.25、1.20、1.15 mL,置于 27℃摇床上振荡反应 15 min,加入 0.25 mL 浓度为 1×10^{-3} mol/L 的毒扁豆碱,在 412 nm 处测定吸光度,重复 3 次,以 1 min $D_{412\text{ nm}}$ 变化 0.1 为 1 个酶活单

位,酶活单位为 U/(mg·min)。

1.2.8 数据分析 试验结果用 Excel 2016 软件进行数据处理,利用 SPSS 18.0 中单因素方差分析结合 LSD 法对统计结果进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 人参茎叶皂苷对桃蚜体内解毒酶活性的影响

由表 1 可知,总体上人参茎叶皂苷喂养桃蚜 24 h 后对其体内解毒酶活性有明显的影响。随着人参茎叶皂苷浓度的增加,对谷胱甘肽-S-转移酶活性有先诱导再抑制然后再诱导的作用,其中在 10 g/L 时对谷胱甘肽-S-转移酶活性有一个抑制阶段。对多功能氧化酶活性的影响是低浓度(5、10 g/L)有一定的抑制作用,之后(20、30、60 g/L)是一个显著诱导其酶活性增加的过程,可以看出人参茎叶皂苷干扰了谷胱甘肽-S-转移酶和多功能氧化酶的活性,使其生理功能受到影响。对羧酸酯酶活性的影响不显著,酶活性变化不大。对乙酰胆碱酯酶活性的影响是先抑制后诱导,诱导浓度从 20 g/L 开始,当达到 60 g/L 时又产生了抑制酶活性的效果。

喂养时间延长到 48 h 时,人参茎叶皂苷对其体内解毒酶活性的影响见表 2。人参茎叶皂苷对谷胱甘肽-S-转移酶活性有一定的抑制作用,在 30 g/L 时抑制作用与对照相比达到显著水平,但其他处理组抑制作用不显著。人参茎叶皂苷在 48 h 时对多功能氧化酶、羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶活性有显著性影响,都是随着浓度的增加其酶活性整体逐渐降低,特别是对羧酸酯酶活性的抑制作用非常明显,这证明经过长时间的处理,蚜虫体内自身解毒酶活性发生了不规律的变化,使它对外界环境变化的抵御能力下降。

表 1 人参茎叶皂苷处理桃蚜 24 h 对其体内解毒酶活性影响

人参茎叶皂苷浓度 (g/L)	处理 24 h 酶活性			
	谷胱甘肽-S-转移酶 [U/(min·mg)]	多功能氧化酶 [U/(min·mg)]	羧酸酯酶 [nmol/(min·mg)]	乙酰胆碱酯酶 [U/(min·mg)]
CK	49.146±2.279ab	0.082 0±0.002 5a	29.992±0.823a	9.646±0.866cd
5	59.807±1.957bc	0.054 3±0.007 3a	31.299±0.644a	6.210±0.368ab
10	36.705±1.485a	0.043 0±0.004 3a	28.282±1.601a	4.399±0.458a
20	96.009±2.403e	0.168 0±0.018 4b	28.837±1.956a	11.958±0.861de
30	84.085±3.521de	0.181 6±0.016 6b	28.651±2.139a	12.765±1.347e
60	73.545±3.341cd	0.138 3±0.009 8b	26.481±1.236a	8.396±0.458bc

注:统计结果经 ANOVA 分析(SPSS 18.0)结合 LSD 法进行显著性方差分析,表中数据为平均值±标准差,同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

表 2 人参茎叶皂苷处理桃蚜 48 h 对其体内解毒酶活性影响

人参茎叶皂苷浓度 (g/L)	处理 48 h 酶活性			
	谷胱甘肽-S-转移酶 [U/(min·mg)]	多功能氧化酶 [U/(min·mg)]	羧酸酯酶 [nmol/(min·mg)]	乙酰胆碱酯酶 [U/(min·mg)]
CK	49.965±0.764b	0.085 0±0.003 6c	30.833±0.923d	9.111±0.684c
5	42.481±1.592ab	0.049 3±0.001 4b	19.713±0.388c	6.051±0.26b
10	44.388±2.362ab	0.047 6±0.002 3b	15.889±0.965b	4.861±0.129ab
20	44.863±1.923ab	0.033 0±0.003 6a	13.096±0.396b	4.342±0.372ab
30	36.940±1.329a	0.038 0±0.001 2a	8.742±0.927a	3.390±0.192a
60	44.127±1.195ab	0.053 0±0.005 2b	8.455±0.229a	3.801±0.121a

2.2 人参根皂苷对桃蚜解毒酶活性影响

人参根皂苷喂养桃蚜 24 h 后对其体内解毒酶活性的影响见表 3。总体上,对这 4 种酶活性具有显著性影响,其特点

是低浓度(5 g/L)的人参根皂苷就对酶活性有显著性影响,且随着浓度的升高对酶活性始终保持抑制作用。

随着喂养时间延长到 48 h,人参根皂苷对其体内解毒酶

表 3 人参根皂苷处理桃蚜 24 h 对其体内解毒酶活性影响

人参根皂苷浓度 (g/L)	处理 24 h 酶活性			
	谷胱甘肽-S-转移酶 [U/(min·mg)]	多功能氧化酶 [U/(min·mg)]	羧酸酯酶 [nmol/(min·mg)]	乙酰胆碱酯酶 [U/(min·mg)]
CK	49.146 ± 2.279b	0.082 0 ± 0.002 5c	29.992 ± 0.823c	9.646 ± 0.866b
5	20.876 ± 1.506a	0.026 7 ± 0.001 8a	6.893 ± 0.196a	2.647 ± 0.241a
10	22.591 ± 0.563a	0.023 3 ± 0.001 3a	5.560 ± 0.292a	2.208 ± 0.030a
20	24.283 ± 0.927a	0.038 7 ± 0.002 6b	5.941 ± 0.146a	2.211 ± 0.098a
30	22.247 ± 0.687a	0.028 0 ± 0.001 1a	5.523 ± 0.474a	2.468 ± 0.108a
60	22.557 ± 0.544a	0.037 6 ± 0.003 7b	9.758 ± 0.624b	2.296 ± 0.157a

活性的影响见表 4。处理 48 h 人参根皂苷对谷胱甘肽-S-转移酶的抑制效果有减弱趋势,在 5、10、60 g/L 时为抑制,其他浓度则表现为诱导作用,呈现一定的不规律性,抑制作用和

诱导作用并存,导致谷胱甘肽-S-转移酶活性紊乱。而对多功能氧化酶、羧酸酯酶、乙酰胆碱酯酶活性的影响始终保持抑制作用,但其抑制效果不随着浓度的增加而增大。

表 4 人参根皂苷处理桃蚜 48 h 对其体内解毒酶活性影响

人参根皂苷浓度 (g/L)	处理 48 h 酶活性			
	谷胱甘肽-S-转移酶 [U/(min·mg)]	多功能氧化酶 [U/(min·mg)]	羧酸酯酶 [nmol/(min·mg)]	乙酰胆碱酯酶 [U/(min·mg)]
CK	49.965 ± 0.764c	0.085 0 ± 0.003 6d	30.833 ± 0.934e	9.111 ± 0.684c
5	46.921 ± 1.674bc	0.057 0 ± 0.002 0b	15.438 ± 0.738c	3.819 ± 0.368a
10	29.823 ± 2.562a	0.039 3 ± 0.002 7a	9.420 ± 0.539a	3.704 ± 0.271a
20	78.451 ± 2.137d	0.068 3 ± 0.003 8c	21.635 ± 0.628d	7.054 ± 0.276b
30	70.940 ± 1.680d	0.044 0 ± 0.001 1a	12.843 ± 0.281bc	6.437 ± 0.273b
60	38.938 ± 0.796b	0.036 7 ± 0.001 4a	9.955 ± 0.307ab	3.067 ± 0.220a

2.3 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响对比

人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜 GSTs 的影响对比见图 1。人参茎叶皂苷在处理 24 h 时对 GSTs 活性的影响基本表现为诱导作用,诱导 GSTs 活性增加。而人参根皂苷在 24 h 时对 GSTs 活性表现为抑制作用。它们的这种影响正好是相反的,并有一定区别。随着时间的延长,在 48 h 时人参茎叶皂苷对 GSTs 活性表现为抑制作用,而人参根皂苷在 20、30 mg/mL 时对 GSTs 活性表现为诱导作用,这个作用是不同于人参茎叶皂苷的。总体来说,人参茎叶皂苷和人参根皂苷对 GSTs 活性的影响有一定的区别。

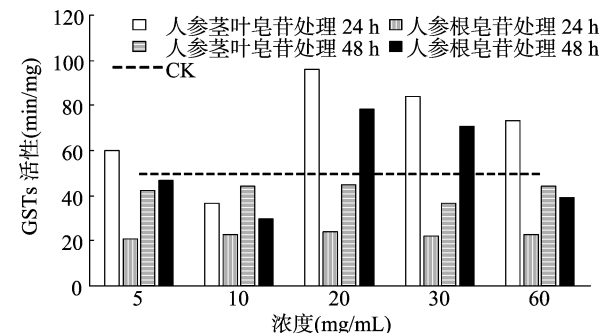


图 1 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜谷胱甘肽-S-转移酶的影响

2.4 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜多功能氧化酶活性的影响对比

人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜多功能氧化酶的影响对比见图 2。只有高浓度(20、30、60 mg/L)的人参茎叶皂苷在处理桃蚜 24 h 时对 MFO 活性有着诱导作用,其他均表现为抑制作用。总体上,人参茎叶皂苷和人参根皂苷对 MFO 活性的影响较为相同。

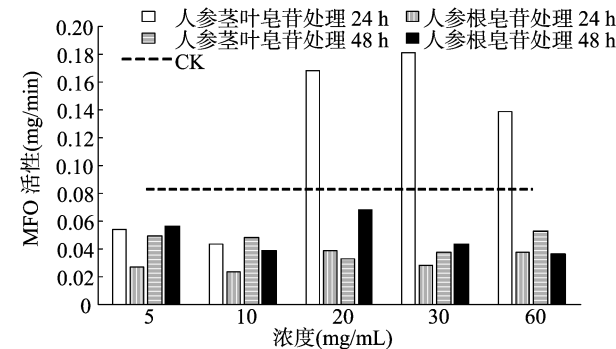


图 2 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜多功能氧化酶活性的影响

2.5 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜羧酸酯酶活性的影响对比

由图 3 可以看出,人参茎叶皂苷在处理桃蚜 24 h 时对 CarE 活性的抑制作用不明显,而人参根皂苷在处理桃蚜 24 h 时对 CarE 活性的抑制作用明显。在 48 h 时人参茎叶皂苷和人参根皂苷对 CarE 活性抑制作用明显,尤其是人参茎叶皂苷,随着浓度的增加其抑制效果逐渐增大。

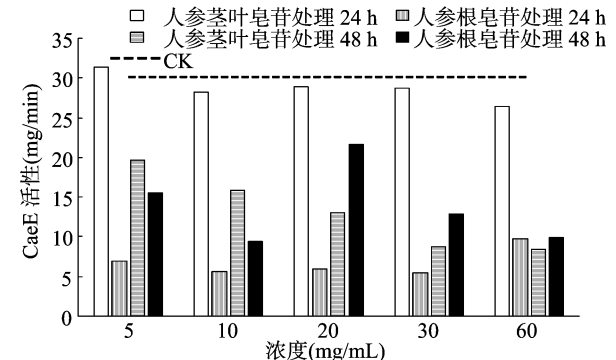


图 3 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜羧酸酯酶的影响

2.6 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜乙酰胆碱酯酶活性的影响对比

人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜乙酰胆碱酯酶的影响对比见图 4。总体上,2 种皂苷的抑制作用都很明显,只有人参茎叶皂苷 24 h 中浓度(20、30 mg/mL)有诱导酶活性增加的特点。在 48 h 时人参茎叶皂苷浓度与桃蚜 AChE 活性呈负相关关系。人参根皂苷在 24 h 时对桃蚜 AChE 活性影响的抑制作用最大。

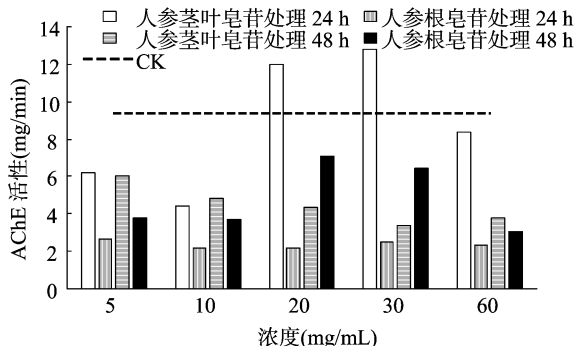


图4 人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜乙酰胆碱酯酶的影响

3 结论与讨论

植物的次生代谢产物是植物对自然界生长环境变化产生的一种重要物质,它使植物能够抵御恶劣的生长环境,抵抗昆虫和其他竞争性植物的侵害,让其在竞争中取得优势地位^[13]。

药用植物中以五加科、豆科、桔梗科、远志科、毛茛科三萜类皂苷种类居多,含量丰富。三萜类皂苷呈现出结构多变性及具有多样的生物活性,在植物中参与防御病原体 and 害虫的生理过程^[14-15]。从假连翘中分离得到 3 种三萜类皂苷,对芥菜根生长的 50% 抑制率浓度均在 50 $\mu\text{mol/L}$; 楝科植物的三萜类化合物对玉米螟和菜青虫等有强烈的杀虫作用^[16-17]。人参皂苷是三萜类皂苷,已经确认有 30 多种单体,分别具有调节人体免疫力、降低胆固醇、防治心血管疾病、抗癌等多种生理功能^[18]。而笔者所在课题组在统计中发现人参很少受到害虫的侵袭,这说明人参的次生代谢产物在人参防止昆虫侵害方面有着一定的特性。

谷胱甘肽-S-转移酶、多功能氧化酶、羧酸酯酶是昆虫体内重要的解毒酶^[19],其活性的改变对其解毒功效有一定的影响。抑制其活性可以降低其解毒能力,如果产生诱导作用可以使其产生一定的抗药性,促使其解毒酶功能紊乱。这在农业生产中有着重要的作用,可以用这种功效在生产低毒农药和绿色农药方面提供理论依据,并且拓宽自然杀虫剂的筛选范围,促进农药增效剂的开发。本研究结论表明,人参茎叶皂苷和人参根皂苷对同翅目桃蚜的解毒酶有明显的作用。人参茎叶皂苷在初期对谷胱甘肽-S-转移酶有明显的诱导作用,而随着时间的延长产生了一定的抑制作用。人参茎叶皂苷对多功能氧化酶活性有着明显的抑制作用,并随着时间的延长其抑制作用有一些减弱,但还是比对照活性低。人参茎叶皂苷对羧酸酯酶活性也有明显的抑制作用,但在初期时抑制效果不太明显,随着时间的延长抑制效果增强,在 48 h 时其抑制羧酸酯酶活性具有一定的线性特点,随浓度的增加酶

活性逐渐减弱。

人参根皂苷对其解毒酶活性的影响有明显的作用。处理 24 h 时对其解毒酶活性都有一定的抑制作用,并且从低浓度(5 mg/mL)开始就有显著性抑制,而随着处理时间的延长,在 48 h 时对谷胱甘肽-S-转移酶的抑制作用逐渐降低,并在中浓度(20、30 mg/mL)时产生诱导作用。在 48 h 时对多功能氧化酶和羧酸酯酶有一定的抑制作用,并且效果显著。

乙酰胆碱酯酶是昆虫体内重要的神经系统酶,在昆虫神经化学传递中起着至关重要的作用。AChE 能够迅速分解乙酰胆碱,防止因乙酰胆碱积累造成的神经传递阻断^[20]。因此抑制 AChE 活性势必会影响神经传递,造成昆虫生理生化过程失调,导致昆虫死亡。大戟科植物提取物能够有效抑制 AChE 活性^[21]。人参茎叶皂苷和人参根皂苷对桃蚜的乙酰胆碱酯酶活性都有一定的抑制作用,但人参茎叶皂苷在中浓度(20、30 mg/mL)时产生诱导作用,这也是由于皂苷的处理使桃蚜体内乙酰胆碱的积累增加,体内乙酰胆碱酯酶活性也相应提高,诱导作用也对昆虫体内酶活性有影响,这种影响可以引起昆虫体内的生理代谢反应,这种反应有负面影响的效果。人参根皂苷对桃蚜乙酰胆碱酯酶活性的影响是全部浓度都有显著性抑制作用。

从人参茎叶皂苷和人参根皂苷的对比效果来看,人参根皂苷在处理 24 h 时总体抑制效果大于人参茎叶皂苷,随着处理时间的延长在对 GSTs 活性影响方面人参根皂苷在中浓度(20、30 mg/mL)时有诱导作用。可以根据这 2 种皂苷的特点进行农药增效剂的开发,并更加深入地探讨人参皂苷能否影响其他昆虫解毒酶和神经性系统酶活性,或是否单体皂苷也有相同的作用。可以根据此结论研究出不同功能的农药增效剂,或只针对某一种酶进行抑制和诱导,研究对害虫取食和生理特性的影响,也为全面了解人参三萜类皂苷更广泛的作用打下了坚实的基础。

参考文献:

- [1] Ru W W, Wang D L, Xu Y P, et al. Chemical constituents and bioactivities of *Panax ginseng* (C. A. Mey.) [J]. Drug Discov Ther, 2015, 9(1): 23-32.
- [2] 杨鑫宝, 杨秀伟, 刘建勋. 人参中皂苷类化学成分的研究[J]. 中国现代中药, 2013, 15(5): 349-358.
- [3] 武予清, 郭予元. 棉花单宁-黄酮类化合物对棉铃虫的抗性潜力[J]. 生态学报, 2001, 21(2): 286-289.
- [4] 谭世强, 张爱华, 谢敬宇, 等. 人参总皂苷对苜蓿夜蛾幼虫的拒食作用[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(1): 37-39.
- [5] 谭世强, 张连学, 马琳, 等. 人参总皂苷对黏虫体内保护酶活性的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(22): 4283-4287.
- [6] 谭世强, 马琳, 许永华, 等. 人参总皂苷对 4 龄黏虫的取食及生长发育的影响[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(14): 2787-2791.
- [7] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1/2): 248-254.
- [8] 牟少飞, 梁沛, 高希武. 槲皮素对 B 型烟粉虱羧酸酯酶和谷胱甘肽-S-转移酶活性的影响[J]. 昆虫知识, 2006, 43(4): 491-495.
- [9] Habig W H, Jakoby W B. Assays for differentiation of glutathione

宋胜男, 郜玉钢, 张 雪, 等. 人参内生多黏类芽孢杆菌对农田人参生长和皂苷累积的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(11): 155–160.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.11.035

人参内生多黏类芽孢杆菌对农田人参生长和皂苷累积的影响

宋胜男, 郜玉钢, 张 雪, 臧 埔, 屈 衡, 赵 岩, 张连学

(吉林农业大学, 吉林长春 130118)

摘要:采用同时测定 20 种人参皂苷的高效液相色谱(HPLC)法评价人参内生多黏类芽孢杆菌对农田人参皂苷累积的影响,同时测定其对人参生长势和发病率的影响。结果表明,人参内生多黏类芽孢杆菌在喷施次数为 5 次时,人参根中 20 种皂苷含量之和可达 1.549 2%,人参茎叶中 20 种皂苷含量之和可达到 8.754 5%;人参内生多黏类芽孢杆菌喷施 5 次在促进农田人参皂苷含量增加的同时,对总株数、结果率、地上病情指数、地下病情指数、单株茎叶鲜质量、单株根鲜质量变化均具有正向影响,具体为地上病情指数、地下病情指数显著降低,其余生长指数显著提高。表明人参内生多黏类芽孢杆菌对农田人参生长和皂苷累积起着促进作用。

关键词:人参皂苷;生长势;发病率;多黏类芽孢杆菌;HPLC;皂苷积累

中图分类号:S567.5+10.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)11-0155-06

人参(*Panax ginseng* C. A. Mey.)是五加科人参属植物,通常所说的人参是指其干燥根,人参是百草之王,具有多种药理作用^[1-2],近年来随着人们保健意识的增强和生活水平的提高,人参的需求量不断增加,但由于国家天保工程的实施,严禁伐林栽参,致使园参的栽培数量急剧下降^[3]。由于林下参及园参的价格相对较高,因此农田栽参在人参资源中的比例逐年增加^[4]。如何有效提高农田人参的产品质量及生物利用率成为人们日益关注的焦点^[5]。因此提高人参皂苷含量及产量,有效提高人参的品质,使人参资源得到更加合理的

开发与利用成为重中之重。

人参的主要药效成分为人参皂苷^[6-7],稀有人参皂苷具有良好的药用价值^[8-9],其主要在微生物作用下产生^[10-11],人参中皂苷的种类和含量是评价人参质量的重要指标,本研究所用的人参内生多黏类芽孢杆菌(*Paenibacillus polymyxa*)分离获得自人参植株,人参内生多黏类芽孢杆菌不仅在生物防治方面具有很好的应用,而且在促进人参生长和转化人参皂苷方面也有很好的作用,但未见人参内生多黏类芽孢杆菌在提高农田人参皂苷含量方面的应用报道。本研究利用人参内生多黏类芽孢杆菌作用农田人参,旨在增加人参的皂苷含量,促进人参生长,提高人参质量,进而提升人参的药用价值,为人参资源的可持续开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料与试剂 对照品人参皂苷 R_{G1}、R_e、R_{G2}、

收稿日期:2018-03-08

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFC0500300);吉林省科技厅项目(编号:20160307005YY,20170204017YY)。

作者简介:宋胜男(1992—),女,吉林公主岭人,硕士研究生,研究方向为生药学。E-mail:18004400759@163.com。

通信作者:郜玉钢,博士,教授,博士生导师,研究方向为生药学。E-mail:gaoyugang-2006@163.com。

S-transferases[J]. *Methods in Enzymology*, 1981, 77: 398–405.

[10] Hansen L G, Hodgson E. Metabolism of naphthalene and 1-naphthol by enzyme preparations from the housefly, *Musca domestica* [J]. 1971, 1(3/4): 464–471.

[11] van Asperen K. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method[J]. *Journal of Insect Physiology*, 1962, 8(4): 401–416.

[12] Gorun V, Proinov I, Băltescu V, et al. Modified Ellman procedure for assay of cholinesterases in crude enzymatic preparations [J]. *Analytical Biochemistry*, 1978, 86(1): 324–326.

[13] 高微微, 佟建明, 郭顺星. 植物次生代谢产物的生态学功能研究进展[J]. *中国药理学杂志*, 2006, 41(13): 961–964.

[14] Govindachari T R, Suresh G, Banumathy B, et al. Antifungal activity of some B, D-seco limonoids from two Meliaceae plants[J]. *J Chem Ecol*, 1999, 25(4): 923–933.

[15] 凌 冰, 张茂新, 王玉赞. 葫芦素的生态功能及其应用前景[J]. *生态学报*, 2010, 30(3): 780–793.

[16] 谷文祥, 段舜山, 骆世明. 萜类化合物的生态特性及其对植物的化感作用[J]. *华南农业大学学报*, 1998, 19(4): 108–112.

[17] 彭少麟, 南 鹏. 高等植物中的萜类化合物及其在生态系统中的作用[J]. *生态学杂志*, 2002, 21(3): 33–38.

[18] 张云峰, 魏 东, 邓雁如, 等. 三萜皂苷的生物活性研究新进展[J]. *中成药*, 2006, 28(9): 1349–1353.

[19] 张文吉, 张友军, 韩嘉莱. 棉铃虫不同龄期幼虫羧酸酯酶、谷胱甘肽转移酶、乙酰胆碱酯酶研究[J]. *植物保护学报*, 1996, 23(2): 157–162.

[20] 唐培安, 邓永学, 王进军. 甲酸乙酯对米象乙酰胆碱酯酶和羧酸酯酶的影响[J]. *植物保护*, 2007, 33(1): 44–47.

[21] 陈晓勤. 植物提取物对蔬菜夜蛾的生物活性及机理研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2006.