

苗期喷施水杨酸对甜叶菊主要农艺性状 和糖苷含量的影响

陈竞天, 易 斌, 陈艾萌, 侯 凯, 吴 卫*

(四川农业大学 农学院, 成都 611130)

摘 要: 采用不同浓度水杨酸(0.5、1、2、4、8 mmol · L⁻¹)以及水杨酸抑制剂 1-氨基苯并三唑(ABT)10 μmol · L⁻¹ 喷施大棚内以及大田中甜叶菊苗期叶片, 探究其对甜叶菊主要农艺性状、叶片糖苷含量以及采收时期甜叶菊叶片水杨酸含量的影响。结果表明: (1) 随着水杨酸处理浓度升高, 大棚和大田中甜叶菊主要农艺性状大多均表现出先增加后降低的趋势; 2 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理下, 大棚内和大田中甜叶菊主要农艺性状均有显著增加, 其单株叶干重产量分别为 1.03 和 16.76 g 较对照(0.76 和 12.34 g)增加 39.96% 和 9.52%; ABT 处理对甜叶菊农艺性状均有一定抑制作用。(2) 甜叶菊叶片总糖苷及其组分含量在 1 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理后均有明显升高, 且在 2 mmol · L⁻¹ 水杨酸浓度下达到最高值, 此时大棚和大田中甜叶菊叶片总糖苷含量分别为 16.75%、14.57% 比对照(13.33%、12.03%)增加 25.66% 和 16.18%, RA 苷也均有显著增加并达到 10.59% 和 9.77%。(3) 采收时期大田甜叶菊叶片水杨酸含量在 1 和 2 mmol · L⁻¹ 处理后与对照组无显著差异, 在 4 和 8 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理后显著提高, 而在 ABT 处理后有所降低。研究认为, 叶面喷施适宜浓度水杨酸可显著提高甜叶菊产量和糖苷含量, 尤其是 RA 苷含量, 且不影响采收期叶片水杨酸含量, 生产中可采用 2 mmol · L⁻¹ 水杨酸苗期喷施甜叶菊以提高产量和改进品质。

关键词: 甜叶菊; 水杨酸; 农艺性状; 糖苷; 苗期

中图分类号: Q945.79; S566 **文献标志码:** A

Effect of Spraying Salicylic Acid on the Main Agronomic Traits and Glycosides Contents of *Stevia rebaudiana* at the Seedling Stage

CHEN Jingtian, YI Bin, CHEN Aimeng, HOU Kai, WU Wei*

(College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: We sprayed different concentrations of salicylic acid (0.5, 1, 2, 4, 8 mmol · L⁻¹) and 10 μmol · L⁻¹ 1-aminophentriazole (ABT), which was the inhibitor of salicylic acid on the seedling leaves of *S. rebaudiana* in the greenhouses and in the field, in order to explore the effects of salicylic acid on the main agronomic traits, glucoside and salicylic acid contents of *S. rebaudiana* leaves during harvest period. The results showed that: (1) the main agronomic characters of *S. rebaudiana* in the greenhouse and field increased first and then decreased with the increase of salicylic acid concentration in this experiment. Under the treatment of 2 mmol · L⁻¹ salicylic acid, the main agronomic characters of *S. rebaudiana* increased

收稿日期: 2018-08-06; 修改稿收到日期: 2018-11-22

基金项目: 国家自然科学基金(31671757)

作者简介: 陈竞天(1995—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事药用植物资源开发与利用研究。E-mail: 605722405@qq.com

* 通信作者: 吴 卫, 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物资源开发与利用研究。E-mail: ewuwei@sicau.edu.cn

significantly in the greenhouse and field. And the dry weight per plant was 1.03 g and 16.76 g, respectively, which increased by 39.96% and 9.52% compared with 0.76 g and 12.34 g of the control. ABT treatment inhibited the agronomic traits of *S. rebaudiana* to some degree. (2) The contents of total glycoside and its composites of *S. rebaudiana* increased obviously under $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ salicylic acid treatment, and reached the highest under $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ salicylic acid treatment. The total glucoside contents of *S. rebaudiana* leaves in the greenhouse and field were 16.75% and 14.57%, respectively, which increased by 25.66% and 16.18% compared with 13.33% and 12.03% of the control, and RA glycosides also increased significantly to 10.59% and 9.77%, respectively. (3) The salicylic acid contents of *S. rebaudiana* leaves at the harvest time under $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ and $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ salicylic acid treatments had no significant difference with that of the control, but increased significantly after treatment with 4 and $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ salicylic acid. The salicylic acid contents decreased a little under the treatments with ABT. It is suggested that spraying appropriate concentration of salicylic acid help to improve the yield and glycoside content of *S. rebaudiana*, especially the RA content. $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ salicylic acid could be used to spray *S. rebaudiana* at the seedling stage in order to improve the yield and quality.

Key words: *Stevia rebaudiana*; salicylic acid; agronomic characters; glucoside; seedling stage

甜叶菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)为菊科甜菊属多年生宿根草本植物。甜叶菊是一种很有价值的糖料作物,其主要甜味成分为糖苷,甜度很高,相当于蔗糖的 250~300 倍,但热量仅为蔗糖的 $1/300^{[1]}$,在市场上具有广阔的应用前景。甜叶菊糖苷不仅用于食品的添加中,而且在医药方面也有重要作用,研究发现甜叶菊糖苷具有辅助抗肿瘤、治疗高血压、治疗糖尿病以及促进维持正常的肠道生态等重要作用。随着甜叶菊在中国的种植面积不断扩大,提高甜叶菊的产量和品质具有重要生产意义^[2-5]。

水杨酸(salicylic acid, SA)作为一种新型的植物内源激素,具有重要的生理作用。有研究发现,水杨酸能够激活植物的过敏反应和系统获得性抗性,从而在增强植物抗旱、抗盐、抗低温、抗高温和抗重金属等方面具有明显作用^[6-10]。此外,还有学者研究发现水杨酸对一些药用植物的次生代谢产物的积累具有促进作用^[11-13]。水杨酸抑制剂 1-氨基苯并三唑(ABT)主要是通过抑制 BA2H 酵素的活性来发挥抑制水杨酸合成的作用,进而影响水杨酸的生成。有研究表明:ABT 预处理豌豆之后,会提高豌豆叶片的 MDA 含量,对豌豆造成氧化损伤,从而对豌豆产生不利影响^[14]。目前有关如何提高甜叶菊糖苷含量的研究较少,利用水杨酸处理甜叶菊以提高糖苷含量的研究则尚未见报道。为此,本试验主要利用不同浓度水杨酸以及水杨酸抑制剂 ABT 喷施大棚内以及大田中甜叶菊苗期叶片,探究其对甜叶菊主要农艺性状、糖苷含量以及收获期甜叶菊叶片水杨酸含量的影响,以筛选出适宜的水杨酸处理

浓度,为甜叶菊原料生产提供一定的理论指导。

1 材料和方法

1.1 试验材料与设计

供试甜叶菊种苗由成都华高药业提供,经四川农业大学吴卫教授鉴定为甜叶菊(*Stevia rebaudiana* Bertoni)。

(1)温室试验:试验在四川农业大学成都校区温室大棚内进行,大棚温度控制在 $25 \sim 30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 。5 月将甜叶菊扦插成活之后,移栽入温室内,待甜叶菊幼苗长至 $20 \sim 30 \text{ cm}$ 高时,挑选长势一致的幼苗进行相关处理,每个处理 50 株。试验共设有 6 个处理,分别为 0(清水,CK)、 0.5 、 1 、 2 、 $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 和 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制剂 ABT,每个处理 3 次重复。甜叶菊幼苗处理采用叶面定量喷施方法,每个处理喷施 200 mL 溶液,至甜叶菊幼苗叶片滴水为止,每隔 3 d 喷施 1 次,共喷施 4 次。于第一次喷施开始计算时间,第 32 天对甜叶菊幼苗的主要农艺性状以及糖苷含量等进行测定。

(2)大田试验:选取 5 月扦插成活的生长一致的甜叶菊幼苗移栽至规划好的大田中,大田每个分区种植 30 株,3 次重复,株行距为 $20 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$,其全部生长存活后,选取高度为 $20 \sim 30 \text{ cm}$ 幼苗时进行相关处理。试验共设置 6 个处理,分别为 0(清水,CK)、 1 、 2 、 4 、 $8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA(前期预实验时发现 $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 对大田各项指标无显著影响,故按此设计浓度梯度)和 $10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 抑制剂 ABT。每个处理叶面喷施 200 mL 溶液,至甜叶菊幼苗叶片滴水为止,对照组喷施清水,每隔 3 d 喷施 1 次,

共喷施 4 次。到甜叶菊正常收获期对其进行农艺性状、水杨酸和糖苷含量等指标测定。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 形态指标 分别选择大棚和大田中每个处理具有代表性、长势基本一致的 5 株甜叶菊植株,测定其株高、茎粗、节间长、叶长、叶宽以及单株叶鲜(干)重、根鲜(干)重、茎鲜(干)重等主要农艺性状。

1.2.2 糖苷含量 (1)样品液获取。分别从大棚和大田中采取鲜叶,并将采取的鲜叶于 115 ℃下杀青 20 min,后 80 ℃烘干、粉碎待用。称取甜叶菊粉末 1 g 于 50 mL 离心管中,加入蒸馏水 40 mL,盖紧离心管盖,80 ℃下恒温水浴浸提 3 h,每隔 1 h 搅拌 1 次。后按 5:3 的比例加入 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}^{[15]}$,80 ℃下静置沉淀 2 h,再经 $4\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取上清液 30 mL,后加蒸馏水于容量瓶中定容至 50 mL。过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,待测。

(2)标准溶液的配制。分别称取甜菊糖苷(Stevioside, ST)、莱鲍迪苷(A Rebaudioside A, RA)、莱鲍迪苷(B Rebaudioside B, RB)、莱鲍迪苷(C Rebaudioside C, RC)苷标准品 0.00 554 g、0.00 507 g、0.00 454 g、0.00 415 g、0.00 152 g 于 10 mL 容量瓶中,用 $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{水}}=75:25$ 定容至刻度,再超声处理 5 min,得 ST、RA、RB、RC 苷标准溶液。

(3)色谱条件。色谱柱: NH_2 柱, $4.6 \times 250\text{ mm}$;流动相: $V_{\text{乙醇}}:V_{\text{水}}=75:25$;流速: $1.2\text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$;柱温:30 ℃;检测波长:205 nm;进样量:10 μL 。

(4)标准曲线。分别取 ST、RA、RB、RC 苷标准溶液 3、6、9、12、15、18 μL 进样。由色谱工作站处理数据,以 ST、RA、RB、RC 苷质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,制得 2 条标准曲线,得到 ST、RA、RB、RC 苷相应的回归方程。

1.2.3 水杨酸含量 将从大田和大棚中采取的甜叶菊鲜叶于 115 ℃下杀青 20 min,后 80 ℃烘干、粉碎待用。准确称取 0.3 g 过 40 目筛样品,置于 10 mL 离心管中,加入 5 mL 5%三氯乙酸溶液,室温下超声 10 min, $4\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,取出上清液。连续提取 3 次,合并提取液于分液漏斗中,分别用 10 mL 三氯甲烷萃取 3 次,合并有机相至浓缩瓶中。于 50 ℃下旋转蒸发近干,加入体积比 1:1 的甲醇-三氯乙酸溶液,超声溶解并定容至 10 mL,过 $0.45\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜,滤液进行 HPLC 分析。分析条件:色谱柱为 Kromasil C_{18} 柱($4.6\text{ mm} \times 250\text{ mm}$,5

μm);流动相 60%甲醇:40% $100\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 磷酸进样检测;柱温为 40 ℃;检测波长为 310 nm;进样量为 20 μL 。

1.3 数据分析

数据处理采用 Excel 软件以及 SPSS 软件,数据采用“平均值±标准误”表示,并采用最小显著极差法进行差异显著性多重比较($\alpha=0.05$)。绘图采用 Sigma Plot 11.0。

2 结果与分析

2.1 外源水杨酸对温室和大田甜叶菊农艺性状的影响

2.1.1 温室大棚苗期甜叶菊 由表 1 可知,经过水杨酸处理后的温室大棚苗期甜叶菊主要农艺性状变化明显,其主要农艺性状在不同浓度水杨酸处理下变化趋势不尽相同。其中,在 0.5 和 $1\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 浓度下,甜叶菊多数农艺性状(包括叶鲜重和叶干重)与对照间无显著差异,只有两浓度 SA 处理的叶片宽度显著增加,株高、根长以及根(茎)鲜重显著下降;在 $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 浓度处理下,甜叶菊除根长、根鲜重外,其余多数性状均显著增加,尤其是单株叶干重产量显著增加 39.96%;而在 $4\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高浓度 SA 处理时,所有农艺性状均与对照差异不显著或显著下降。同时,抑制剂 ABT 处理的甜叶菊除茎粗显著增加外,其余各性状与对照相比均差异不显著或显著下降;其叶鲜重和叶干重尽管与对照间差异未达显著水平,但总体表现出下降趋势。可见, $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨酸处理能显著改善温室大棚内甜叶菊幼苗地上部农艺性状及产量。

2.1.2 大田苗期甜叶菊 表 2 显示,各浓度外源水杨酸处理对大田甜叶菊主要农艺性状影响不尽一致。其中,在 1 和 $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SA 处理后,甜叶菊各农艺性状与对照间无显著差异,但大多比对照略有上升,尤其是单株叶片产量在 $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 处理下可增加 9.54%;而 4 和 $8\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 SA 处理使甜叶菊茎粗比对照显著下降,其余各性状也略有降低但差异不显著,但 $8\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ SA 处理单株叶干重下降达 11.83%。同时,ABT 处理使大部分甜叶菊农艺性状比对照下降,其中株高和茎粗下降幅度达显著水平,还导致叶干重下降 19.35%。由此说明,以 $2\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水杨酸喷施大田苗期甜叶菊,可以明显促进甜叶菊生长,提高甜叶菊的产量。

表 1 不同浓度水杨酸(SA)及其抑制剂(ABT)处理下大棚中甜叶菊苗期主要农艺性状的变化

Table 1 The agronomic characters of *S. rebaudiana* in greenhouse seedling under different concentrations of salicylic acid (SA) and salicylic acid inhibitor (ABT) treatments

项目 Item	ABT 10 mmol · L	CK	水杨酸浓度 SA content/(mmol · L ⁻¹)			
			0.5	1	2	4
株高 Plant height/cm	52.19±1.64c	55.15±1.83b	47.26±1.13e	50.06±1.62d	59.35±3.69a	52.44±2.26c
节间长 Internode length/cm	3.59±0.19bc	3.56±0.30bc	3.48±0.21c	3.73±0.30ab	3.92±0.37a	3.50±0.26c
根长 Root length/cm	12.11±1.27bc	14.52±1.55a	13.16±2.07b	11.03±1.52c	13.16±2.02b	11.22±1.34c
茎粗 Stem diameter/cm	1.77±0.37ab	1.36±0.55c	1.49±0.38bc	1.44±0.25bc	1.90±0.53a	1.54±0.42bc
叶长 Leaf length/cm	4.07±0.51ab	3.71±0.50b	3.95±0.80ab	3.99±0.58ab	4.20±0.52a	3.91±0.39ab
叶宽 Leaf width/cm	1.07±0.19ab	0.94±0.21b	1.19±0.33a	1.24±0.34a	1.12±0.27ab	1.13±0.27ab
根鲜重 Fresh root weight/g	12.11±1.27bc	14.52±1.55a	13.16±2.07b	11.03±1.52c	13.16±2.02b	11.22±1.34c
根干重 Dry root weight/g	0.59±0.23bc	0.70±0.13ab	0.60±0.11bc	0.61±0.16bc	0.75±0.23a	0.56±0.16cd
茎鲜重 Fresh stem weight/g	3.13±0.33abc	3.32±0.37ab	2.79±0.33c	3.26±0.78ab	3.51±0.75a	2.94±0.36bc
茎干重 Dry stem weight/g	0.69±0.10c	0.77±0.16bc	0.67±0.08c	0.82±0.20b	0.94±0.23a	0.73±0.12bc
叶鲜重 Fresh leaf weight/g	3.13±0.75b	3.25±0.57b	3.31±0.62b	3.43±0.55b	4.45±1.45a	3.51±0.57b
叶干重 Dry leaf weight/g	0.71±0.16b	0.76±0.13b	0.76±0.15b	0.83±0.18b	1.03±0.33a	0.80±0.13b

注:SA. 水杨酸;ABT. 水杨酸抑制剂 1-氨基苯并三唑;表中值均表示为平均值±标准误($n=3$),同行不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同

Note: SA. Salicylic acid; ABT. Salicylic acid inhibitor 1-aminophentriazole;Data in the table is mean ± standard errors($n=3$); The different letters in the same row indicate significant difference among the treatments ($P<0.05$). The same as below

表 2 苗期喷施不同浓度水杨酸(SA)及其抑制剂(ABT)处理下大田甜叶菊主要农艺性状的变化

Table 2 The agronomic characters of *S. rebaudiana* in the experimental fields under the different concentrations of salicylic acid (SA) and salicylic acid inhibitor (ABT) treatments in seedling stage

项目 Item	ABT 10 mmol · L	CK	水杨酸浓度 SA content/(mmol · L ⁻¹)			
			1	2	4	8
株高 Plant height/cm	63.87±10.44c	75.72±7.96ab	77.97±4.33a	77.13±4.70a	76.88±4.07ab	71.32±5.65b
茎粗 Stem diameter/cm	0.84±0.12d	0.96±0.06ab	0.99±0.10a	0.97±0.09ab	0.86±0.10cd	0.89±0.14bcd
节间长 Internode length/cm	3.49±0.32b	3.59±0.21ab	3.6±0.25ab	3.74±0.27a	3.53±0.35ab	3.41±0.40b
叶长 Leaf length/cm	7.15±0.61a	7.14±0.22a	7.10±0.46a	7.03±0.58a	6.92±0.40a	6.38±0.56b
叶宽 Leaf width/cm	1.60±0.22ab	1.69±0.31ab	1.59±0.17ab	1.72±0.27a	1.50±0.14bc	1.37±0.21bc
茎干重 Dry stem weight/g	23.18±6.22c	27.18±1.70abc	28.60±5.53ab	30.82±6.12a	26.33±6.21abc	25.74±7.14bc
叶干重 Dry leaf weight/g	12.34±4.39b	15.30±1.16ab	15.85±4.53a	16.76±5.06a	14.17±3.76ab	13.49±4.83ab

2.2 水杨酸处理对温室和大田甜叶菊糖苷含量的影响

2.2.1 温室甜叶菊糖苷含量 不同浓度水杨酸处理对甜叶菊糖苷含量影响不尽相同(表 3)。其中,0.5 mmol · L⁻¹SA 处理对甜叶菊各糖苷以及总糖苷含量影响不显著;在 1 mmol · L⁻¹SA 处理下,甜叶菊 RA 和总糖苷含量分别比对照显著上升 32.2%和 16.73%,ST 含量略有下降,RB 含量略有上升,但变化差异均未达显著水平;在 2 mmol · L⁻¹SA 处理下,甜叶菊 RA 和总糖苷含量分别比对照显著上升 38.07%和 25.66%,其余各糖苷含量变化不明显,但均高于对照;4 mmol · L⁻¹SA 处理甜叶菊各糖苷含量与对照相比,除 ST 均低于对照,但差异均

不显著。同时,采用 ABT 处理对各糖苷以及总糖苷含量影响不大,差异均未达到显著水平。可见,喷施较低浓度的水杨酸能不同程度提高甜叶菊各糖苷成分含量,促进甜叶菊糖苷积累,尤其是 2 mmol · L⁻¹水杨酸处理表现最为突出。

2.2.2 大田甜叶菊糖苷含量 不同浓度的外源水杨酸处理对大田甜叶菊各糖苷含量影响的效果也不同(表 4)。其中,1 mmol · L⁻¹SA 处理使甜叶菊的 RA 和总糖苷含量比对照显著上升,其 RB 和 RC 略有上升;2 mmol · L⁻¹SA 处理使甜叶菊的 ST、RA、RC、总糖苷含量比对照显著提高,其中 ST、RA 和总糖苷含量比 1 mmol · L⁻¹SA 处理也显著提高,含量分别达 2.14%、11.92%、16.18%;在 4 mmol ·

表 3 大棚中不同浓度水杨酸(SA)及其抑制剂(ABT)处理对甜叶菊叶片糖苷含量的影响

Table 3 Effects of the different concentrations of salicylic acid (SA) and salicylic acid inhibitor (ABT) treatments on the glucoside contents of <i>S. rebaudiana</i> in the greenhouse						
糖苷 Glycoside	ABT 10 mmol · L	CK	水杨酸浓度 SA content /(mmol · L ⁻¹)			
			0.5	1	2	4
ST	3.16±0.36a	3.25±0.84a	3.24±1.03a	2.92±0.48a	3.72±0.63a	3.45±0.71a
RA	7.66±0.52b	7.67±0.48b	8.31±2.83ab	10.14±0.57a	10.59±0.62a	7.59±1.29b
RB	1.67±0.11a	1.36±0.38ab	1.09±0.34b	1.49±0.15ab	1.25±0.37ab	1.34±0.33ab
RC	1.15±0.15a	1.05±0.06ab	1.03±0.20ab	1.11±0.05ab	1.19±0.07a	0.94±0.04b
总糖苷 Total glycoside	13.65±0.21b	13.33±0.57b	13.67±2.30b	15.66±0.14a	16.75±0.46a	13.31±0.89b

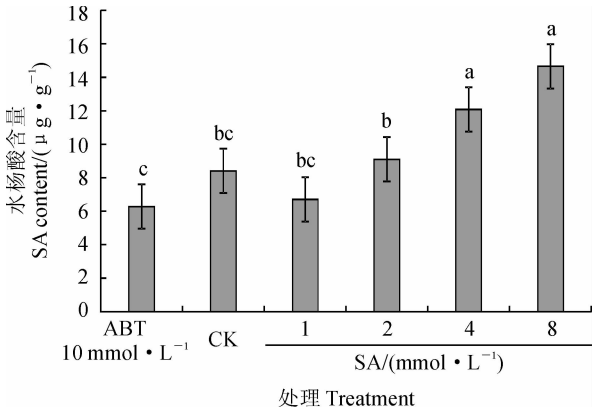
表 4 喷施不同浓度水杨酸(SA)及其抑制剂(ABT)处理下大田甜叶菊糖苷含量的变化

Table 4 The glucoside contents of <i>S. rebaudiana</i> in the experimental fields under different concentrations of salicylic acid (SA) and salicylic acid inhibitor (ABT) treatments in seedling stage						
糖苷 Glycoside	ABT 10 mmol · L ⁻¹	CK	水杨酸浓度 SA content /(mmol · L ⁻¹)			
			1	2	4	8
ST	1.13±0.27c	1.77±0.13bc	1.82±0.17b	2.14±0.12a	1.60±0.01bc	1.53±0.15c
RA	7.95±0.28c	8.12±0.46c	9.75±0.72b	11.92±0.07a	9.77±0.89b	8.21±0.77c
RB	1.01±0.07bcd	1.16±0.46bc	0.76±0.23c	0.70±0.02cd	1.75±0.05a	1.14±0.26b
RC	0.79±0.07c	0.98±0.01bc	1.26±0.02ab	1.42±0.09a	1.45±0.49a	1.13±0.07abc
总糖苷 Total glycoside	10.88±0.55c	12.03±1.00c	13.59±0.65b	16.18±0.12a	14.57±0.93b	12.01±0.97c

L⁻¹水杨酸处理下,甜叶菊的 RA、RB、RC、总糖苷含量也比对照显著上升,但其 ST、RA 和总糖苷含量显著低于 2 mmol · L⁻¹SA 处理;在 8 mmol · L⁻¹SA 处理后,甜叶菊的各糖苷含量以及总糖苷含量与对照间均无显著差异。同时,ABT 处理导致甜叶菊各糖苷含量和对照相比均有所下降,但差异不显著。可见,低浓度外源水杨酸处理能够显著提高甜叶菊糖苷含量,并且以 2 mmol · L⁻¹处理的增幅最为显著,但是高浓度(8 mmol · L⁻¹)水杨酸处理后糖苷含量并无明显变化。

2.3 外源水杨酸对甜叶菊成熟收获期叶片水杨酸含量的影响

图 1 显示,随着水杨酸浓度的升高,甜叶菊叶片中水杨酸含量不断上升。对照甜叶菊叶片水杨酸含量为 8.41 μg · g⁻¹,1 和 2 mmol · L⁻¹SA 处理甜叶菊叶片水杨酸含量与对照间差异不显著;4 和 8 mmol · L⁻¹SA 处理甜叶菊叶片水杨酸含量比对照分别显著上升 43.64%和 74.20%。同时,ABT 处理甜叶菊叶片水杨酸含量(6.27 μg · g⁻¹)则有一定程度下降,但与对照相比未达到显著差异水平。可见,大田甜叶菊叶片中水杨酸含量在 2 mmol · L⁻¹的外源水杨酸处理下没有受到显著影响,而在高浓度(4 和 8 mmol · L⁻¹)的外源水杨酸处理后显著提



图中柱值表示为平均值±标准误(n=3),柱上不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异

图 1 喷施不同浓度水杨酸(SA)及其抑制剂(ABT)处理下大田甜叶菊叶片水杨酸含量的变化

Column data is mean ± standard errors(n=3), and different letters beyond the column represent significant difference among treatments at 0.05 level

Fig.1 The salicylic acid contents in leaves of *S. rebaudiana* treatment with different concentrations of salicylic acid (SA) and salicylic acid inhibitor (ABT) in the field

高,由此说明利用 2 mmol · L⁻¹的外源水杨酸喷施甜叶菊不会对其叶片中水杨酸的含量产生明显的影响,可以用于甜叶菊大田实际生产中。

3 讨论

不同浓度的外源水杨酸处理对植物的生长影响各异^[16],高浓度水杨酸会抑制植物生长,只有在适宜的水杨酸浓度下才会对植物产生有利的影响。李才生等^[17]研究发现,1.5 mg · L⁻¹的外源水杨酸处理可以提高玉米的鲜重和苗高。本研究结果表明,各浓度外源水杨酸处理下甜叶菊主要农艺性状变化不尽相同;随着水杨酸浓度的升高,甜叶菊主要农艺性状大多表现出先增加后降低的趋势,并以 2 mmol · L⁻¹ 浓度 SA 处理对大棚内甜叶菊主要农艺性状的影响效果比较明显,除根长、根重外,其余多数性状均显著增加。同时,大田甜叶菊试验结果进一步说明,外源水杨酸及 ABT 对甜叶菊的影响程度与大棚中的结果类似,叶面喷施 2 mmol · L⁻¹ 的水杨酸可以明显促进甜叶菊的生长,提高甜叶菊的产量,而水杨酸抑制剂 ABT 处理对甜叶菊农艺性状具有一定的抑制作用。综合温室和大田的实验结果发现,叶面喷施 2 mmol · L⁻¹ 的外源水杨酸处理可以促进甜叶菊的生长和叶产量的提高,ABT 处理则不利于甜叶菊的生长。

此外,大量的水杨酸相关研究发现,在适宜浓度的水杨酸处理下,可以促进植物化学成分积累。如适宜浓度的水杨酸会对菊花中各营养成分的含量造成影响^[18];适宜浓度的水杨酸处理可以提高红豆杉培养体系中紫杉醇生物合成途径的代谢通量,使紫杉醇含量是对照组的 4 倍^[11];水杨酸处理对丹参幼苗中的蔗糖合成酶的活性具有重要的影响,可以降低根中蔗糖合成酶的降解活性,从而促进蔗糖在丹参幼苗中的积累^[12];水杨酸虽然对霍山石斛的原球茎细胞生长具有一定的抑制作用,但是通过适宜浓度的水杨酸处理,可以改变其对碳源的利用,从而可以提高细胞可溶性糖的含量,促进糖类的合成^[13]。

水杨酸是植物重要的信号分子,同时也是植物体内普遍存在的一种内源激素。因此推测水杨酸可以通过提高植物的抗氧化活性和对植物体内的信号通道产生影响,如水杨酸可以通过影响叶绿体中三

磷酸腺苷(ATP)合成酶的表达量而提高植物的光合作用^[19],从而对甜叶菊糖苷含量有影响。甜叶菊糖苷 ST 和 RA 目前在市场上受到消费者的青睐,但由于 ST 有后苦味,而 RA 口感好,因此,提高 RA 含量具有重要的价值。本试验中发现,通过外源 2 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理使甜叶菊各糖苷含量和总糖苷含量均明显上升,尤其使得 RA 和总糖苷含量均显著上升。同期的 ABT 处理会造成甜叶菊体内水杨酸合成受阻,使 ST 和 RA 含量下降,而使 RB、RC 和总糖苷含量有所上升,但是各糖苷含量变化差异不显著。因此,叶面喷施适宜浓度的外源水杨酸(2 mmol · L⁻¹)可以提高甜叶菊各糖苷成分含量,有效促进甜叶菊糖苷积累。

本试验主要采用外源喷施水杨酸进行处理,其在甜叶菊叶片残留情况如何将直接影响本试验是否可以顺利在实际生产中进行运用。通过对正常收获期甜叶菊叶片水杨酸含量进行分析,发现随外源喷施的水杨酸浓度不断增加,甜叶菊叶片中残留的水杨酸含量也随之升高;甜叶菊叶片中水杨酸含量在低浓度(1 和 2 mmol · L⁻¹)的外源水杨酸处理下与对照组间无显著差异,但在高浓度(4 和 8 mmol · L⁻¹)水杨酸处理下较对照显著上升;ABT 对甜叶菊叶片水杨酸含量有抑制作用,因 ABT 可以抑制水杨酸的合成,从而导致水杨酸含量显著下降。因此,叶面喷施 2 mmol · L⁻¹ 的水杨酸不会对甜叶菊叶片中水杨酸的含量产生明显的影响,可以用于甜叶菊大田实际生产中。

综上所述,叶面喷施不同浓度外源水杨酸对甜叶菊的主要农艺性状以及糖苷含量影响程度不同。2 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理可显著提高甜叶菊产量和糖苷含量。ABT 处理总体上抑制甜叶菊植株生长和糖苷积累。2 mmol · L⁻¹ 水杨酸处理对甜叶菊叶片水杨酸含量无显著影响,不存在叶片残留情况。据此认为,可以在实际大田生产中采用 2 mmol · L⁻¹ 的水杨酸苗期喷施甜叶菊,以提高其产量以及糖苷含量,尤其是 RA 苷含量。

参考文献:

[1] 王贵民,董振红,郝再彬.甜叶菊糖苷的应用和安全性的研究进展[J].中国食品添加剂,2007,(6):65-69.
WANG G M, DONG Z H, HAO Z B. Application and safety of steviol glycoside in leaves of *Stevia rebaudiana* (bertoni)

bertoni [J]. *Chinese Food Additives*, 2007, (6): 65-69.
[2] DAS S, DAS A K, MURPHY R A, et al. Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebaudioside A [J]. *Caries Research*, 1992, 26 (5): 363-366.

[3] HSIEH M H, CHAN P, SUE Y M, *et al.* Efficacy and tolerability of oral stevioside in patients with mild essential hypertension: a two-year, randomized, place bo-controlled study [J]. *Clinical Therapeutics*, 2003, **25**(11): 2 797-2 808.

[4] JEPPESEN P B, GREGERSEN S, ROLFSEN S E D, *et al.* Antihyperglycemic and blood pressure-reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki rat [J]. *Metabolism*, 2003, **52**(3): 372-378.

[5] 王飞生,叶荣飞,闵建.甜菊糖苷的特性及应用[J].中国调味品,2009,**34**(10): 91-95.

WANG F S, YER F, MIN J. Characteristics and application prospect of steviol glycosides [J]. *China Condiment*, 2009, **34**(10): 91-95.

[6] 时丽冉,杜军华.水杨酸对盐害下玉米幼功质膜稳定性及K⁺/Na⁺比的影响[J].青海师范大学学报(自然科学报),2001,(1): 50-53.

SHI L R, DU J H. Effect of salicylic acid in membrane stability and K⁺/Na⁺ ratio of corn seedlings under slat strees [J]. *Journal of Qinghai Normal University* (Natural Science), 2001,(1): 50-53.

[7] 黄清泉,孙歆,张年辉,等.水杨酸对水分胁迫黄瓜幼苗叶片生理过程的影响[J].西北植物学报,2004,**24**(12): 2 202-2 207.

HUANG Q Q, SUN X, ZHANG N H. Effects of salicylic acid on leaves of cucumber seedlings under water stress [J]. *Acta Botanica Boreal-Occident Sinica*, 2004, **24**(12): 2 202-2 207.

[8] 周利民,陈惠萍.水杨酸对冷胁迫下香蕉幼苗抗冷性的效应[J].亚热带植物科学,2009,**38**(1): 19-22.

ZHOU L M, CHEN H P. Effect of salicylic acid on banana seedlings under chilling stress [J]. *Subtropical Plant Science*, 2009,**38**(1): 19-22.

[9] SNYMAN M, CRONJE M J. Modulation of heat shock factors accompanies salicylic acid mediated potentiation of Hsp70 in tomato seedlings [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(8): 2 125-2 132.

[10] METWALLY A, FINKEMEIER I, GEORGI M, *et al.* Salicylic acid alleviates the cadmium toxicity in Barley seedlings [J]. *Plant Physiology*, 2003, **132**(1): 272-281.

[11] 苗志奇,未作君,元莫进.水杨酸在紫杉醇生物合成中诱导作用的研究[J].生物工程学报,2000,**16**(4): 509-513.

MIAO Z Q, WEI Z J, YUAN M J. Study on the effects of salicylic acid on taxol biosynthesis [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2000, **16**(4): 509-513.

[12] 王春丽,梁宗锁,李殿荣,等.茉莉酸甲酯和水杨酸对丹参幼苗中蔗糖代谢和酚酸类物质积累的影响[J].西北植物学报, 2011,**31**(7): 1 405-1 410.

WANG C L, LIANG Z S, LI D R, *et al.* Effects of salicylic acid and methyl jasmonate on sucrose metabolism and phenolic compounds accumulation in salvia miltiorrhiza bunge seedlings [J]. *Acta Botanica Boreal-Occident Sinica*, 2011, **31**(7): 1 405-1 410.

[13] 王博,潘利华,罗建平,等.水杨酸对霍山石斛类原球茎细胞生长及多糖合成的影响[J].生物工程学报,2009,**25**(7): 1 062-1 068.

WANG B, PAN L H, LUO J P, *et al.* Effects of salicylic acid on cell growth and polysaccharide production in suspension cultures of protocorm-like bodies from dendrobium huosihanense [J]. *Chinese Journal of Biotechnology*, 2009, **25**(7): 1 062-1 068.

[14] PAN Q H, ZHAN J C, LIU H T. Salicylic acid synthesized by benzoic acid 2-hydroxylase participates in the development of thermotolerance in pea plants [J]. *Plant Science*, 2006, **171**(2): 226-233.

[15] SHOLICHIN M, YAMASAKI K, MIYAM R, *et al.* Labdane-type diterpenes from *Stevia rebaudiana* [J]. *Phytochemistry*, 1980, **19**(2): 326-327.

[16] 薛建平,张爱民,方中明,等.水杨酸对半夏植株生长的影响[J].中国中药杂志,2007,**32**(12): 1 134-1 136.

XUE J P, ZHANG A M, FANG Z M, *et al.* Effect of salicylic acid on growth of *Pinellia ternata* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, **32**(12): 1 134-1 136.

[17] 李才生,秦燕,宗盼.水杨酸对玉米幼苗的生长及细胞膜的影响[J].吉林农业科学,2010,**35**(2): 5-8.

LI C S, QIN Y, ZONG P. The effect of salicylic acid on growth and cell membrane of corn seedling [J]. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 2010, **35**(2): 5-8.

[18] 刘萍,张静,丁义峰,等.水杨酸喷施对食用菊花主要营养成分含量的影响[J].中国蔬菜,2011,(8): 86-89.

LIU P, ZHANG J, DING Y F, *et al.* Effect of spraying salicylic acid on nutrition ingredients in edible chrysanthemum varieties [J]. *China Vegetables*, 2011, (8): 86-89.

[19] 向小亮,宁书菊,黄延龄,等.外源水杨酸对马蓝叶片中蛋白水平表达的影响[J].应用生态学报,2010,**21**(3): 689-693.

XIANG X L, NING S J, HUANG Y L, *et al.* Effects of exogenous salicylic acid on protein expression level in *Baphica-canthus cusia* (Nees) Bremek leaves[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, **21**(3): 689-693.

(编辑:裴阿卫)