

当归抽薹植株生理生化特征分析

陆则权¹, 张金文^{1,2*}, 任丽蓉¹, 黄惠英^{1,2}, 马占川³, 漆璐涛³

1. 甘肃干旱生境作物学重点实验室, 甘肃 兰州 730070

2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070

3. 甘肃省漳县农业技术推广中心, 甘肃 漳县 748300

摘要: 目的 研究在蛋白质及酶水平上的当归抽薹发育机制, 为进一步阐明当归抽薹过程所发生的生理生化指标变化及预防当归抽薹提供理论依据。方法 观察当归抽薹与未抽薹植株的糖代谢及过氧化物酶 (POD)、多酚氧化酶 (PPO) 等活性的变化, 测定抽薹与未抽薹当归植株游离氨基酸、可溶性糖和可溶性蛋白的量。结果 在抽薹前 10 d, 未抽薹植株的游离氨基酸量和 POD 活性、PPO 活性分别比抽薹植株高 1.3 mg/g 和 0.02 U/(min·g)、0.014 U/(min·g), 抽薹植株的可溶性糖和可溶性蛋白量分别比未抽薹植株高 2.2%、0.5%。在抽薹期, 未抽薹植株的可溶性糖和可溶性蛋白量较高, 而抽薹植株的游离氨基酸量和 PPO 和 POD 活性较高。结论 当归抽薹过程多个生化指标发生变化, 当归栽培中应防止早期抽薹的发生。

关键词: 当归; 抽薹; 生理生化特征; 过氧化物酶; 多酚氧化酶

中图分类号: R282.21 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2011)11-2326-04

Analysis on physiological and biochemical characteristics of bolting *Angelica sinensis* plant

LU Ze-quan¹, ZHANG Jin-wen^{1,2}, REN Li-rong¹, HUANG Hui-ying^{1,2}, MA Zhan-chuan³, QI Ju-tao³

1. Gansu Province Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou 730070, China

2. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

3. Zhang County Agricultural Technology Promotion Center of Gansu Province, Zhangxian 748300, China

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; bolting; physiological and biochemical characteristics; POD; PPO

当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels, 别名秦归、云归、西归、岷归, 为伞形科多年生草本植物, 具有活血、补血、调经止痛、润肠、通便的功效。当归的个体发育要在 3 年内完成, 前 2 年为营养生长阶段, 第 3 年转入生殖生长阶段。如果在生长的第 2 年进入抽薹开花阶段, 便叫做“早期抽薹”。抽薹开花后, 营养物质大量消耗, 根部木质化, 从而丧失了药用价值。甘肃省为全国中药材生产第一大省, 中药材种植面积 13.3 万多公顷, 其中当归产量占到全国总产量的 90% 以上^[1]。而当归的早期抽薹极大地影响的当归的产量。所以, 防止“早期抽薹”或培育不发生“早期抽薹”的品种, 成为当归生产和研究的重要内容。

目前, 对当归的研究多集中在化学成分及药理作用方面^[2-6], 但对当归春化及抽薹机制的研究比较缺乏。过氧化物酶 (POD) 是乙烯合成的参与者, 可促进乙烯的合成^[7]。乙烯的积累会刺激 POD 的活性, 吲哚-3-乙酸 (IAA) 的氧化与 POD 的活性有关。POD 的活性变化与花芽分化形态进程一致^[8]。多酚氧化酶 (PPO) 活性及可溶性蛋白的量常作为植物器官发生的重要生理生化指标。笔者在前人研究的基础上, 通过对比当归抽薹与未抽薹植株的糖代谢及 POD、PPO 活性的变化, 在蛋白质及酶水平上了解当归抽薹发育机制, 为进一步阐明当归抽薹过程中所发生的生理生化变化及预防当归抽薹提供理论依据。

收稿日期: 2011-02-25

基金项目: 甘肃省自然科学基金资助项目 (3ZS041-A25-045)

作者简介: 陆则权 (1987—), 男, 福建宁德人, 硕士研究生, 研究方向为生物技术在遗传育种中应用。

Tel: 13919392217 E-mail: luzhequan88@126.com

*通讯作者 张金文 Tel: 13609377489 E-mail: jwzhang305@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料播种于甘肃省漳县东桥村光明社，于2008年6月13日直播种子。田间栽培，正常管理。随机选取30株植株，每隔10天剪取新鲜叶片样品。在该30株中各取5株抽薹与未抽薹的植株进行定株取样，贮存在超低温冰箱备用。采集的样品经甘肃农业大学研究植物分类的孙学刚教授鉴定为伞形科植物当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的新鲜叶。

1.2 测定方法

可溶性糖采用蒽酮法测定^[9]；游离氨基酸采用水合茚三酮法测定^[9]；可溶性蛋白采用考马斯亮蓝G-250染色法测定^[9]；POD活性采用愈创木酚连续读数法测定^[9]；PPO量参照李靖^[10]方法测定。

2 结果分析

2.1 当归抽薹过程中可溶性糖量变化

糖为生物体生命活动提供所需的能源，又是重要的中间代谢物。而可溶性糖占植物总糖量的绝大部分，因此在一定程度上可以反映植物体糖类总量及糖代谢的变化与生殖生长的相互关系。抽薹植株与未抽薹植株的可溶性糖变化趋势有明显的差异(图1)，抽薹植株可溶性糖量变化呈前期下降，抽薹后上升，在抽薹临界点时可溶性糖量为2.61%，是整个抽薹期的最低值，这可能是抽薹时进行着剧烈的代谢活动，消耗较多的可溶性糖；未抽薹植株可溶性糖量在生长过程中上升，后期有所下降，这可能是因为随着当归生长发育，需要更多的能量来提供块根的膨大。后期下降可能是随着当归生长期的结束，叶片中的可溶性糖往块根中运输，而此时当归合成糖能力减弱，所以出现可溶性糖量的下降。

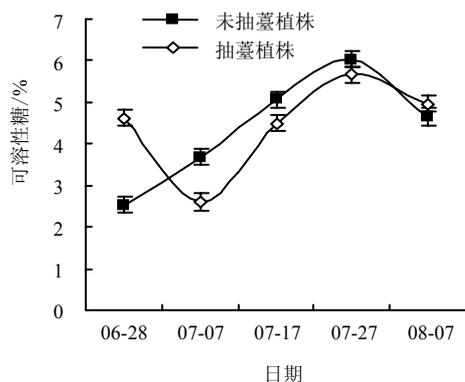


图1 当归抽薹过程中可溶性糖量变化

Fig. 1 Changes of soluble sugar content in bolting process of *A. sinensis*

2.2 当归抽薹过程中游离氨基酸量的变化

氨基酸是蛋白质合成的前体及组成单位。植物体在不同时期氨基酸的量变化与生理过程密切相关。当归在抽薹前10d未抽薹植株游离氨基酸的量比抽薹植株高1.3 mg/g，当归在抽薹临界点时抽薹植株的游离氨基酸量比未抽薹植株的高1.8 mg/g，抽薹后期游离氨基酸的量都下降(图2)。当归植株游离氨基酸量前期上升而后下降，可能与当归前期主要以营养生长为主，而在成药期贮存营养物质须转运到块根中。当归抽薹开花需要消耗大量的营养物质，这可能与当归在抽薹期游离氨基酸的量比未抽薹植株高有关。

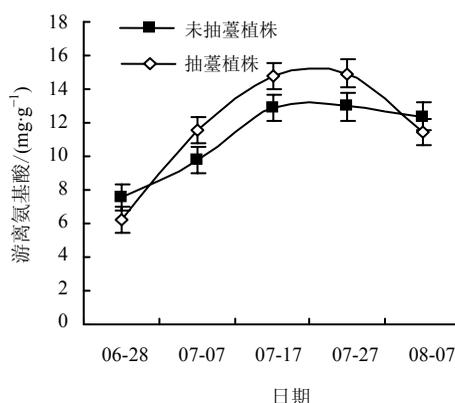


图2 当归抽薹过程中游离氨基酸量的变化

Fig. 2 Changes of free amino acid content in bolting process of *A. sinensis*

2.3 当归抽薹过程中可溶性蛋白量的变化

生物体的结构与形状都与蛋白质有关。而蛋白质又是植物基因表达的产物，所以蛋白质在细胞和生物体的生命活动过程中，起着重要作用。由图3可知，在抽薹前期抽薹植株的可溶性蛋白的量比未

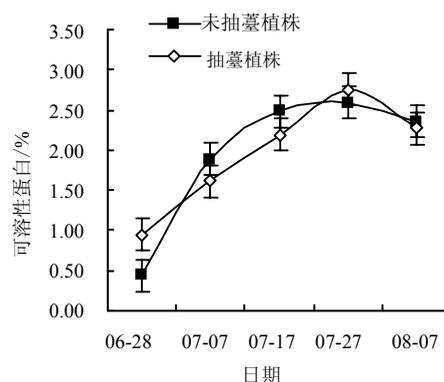


图3 当归抽薹过程中可溶性蛋白的变化

Fig. 3 Changes of soluble protein content in bolting process of *A. sinensis*

抽薹植株高 0.5%，而在抽薹临界点时抽薹植株的可溶性蛋白量却比未抽薹植株低 0.28%，这可能是由于可溶性蛋白的大量积累有利于当归的抽薹开花，而在抽薹期因当归的抽薹开花消耗大量营养物质而比未抽薹植株的低。而在生长发育后期随着抽薹植株的衰老和未抽薹植株的营养物质向块茎的输送，可溶性蛋白量降低。

2.4 当归抽薹过程中 POD 活性变化

在植物体内生理代谢过程中，已知乙醇酸氧化途径及其他一些途径都能产生 H₂O₂，POD 不仅可以起到分解 H₂O₂、吲哚乙酸的作用^[11]，而且还可以作用诸如酚酸化合物等一系列其他物质^[12]。有学者还认为某些 POD 同工酶可能是器官分化的指标。由图 4 可知，在抽薹前期未抽薹植株的 POD 活性比抽薹植株高 0.02 U/(min·g)（在波长 470 nm 处测得的吸光值）。而在抽薹临界点时抽薹植株比未抽薹植株高 0.04 U/(min·g)。这可能是因为随着当归的抽薹，需要更多的 POD 来分解体内积聚的 H₂O₂ 及相关的激素。抽薹植株在生长后期，POD 活性与未抽薹的植株差异小，这可能是由于当归植株在抽薹开花后进入平稳的发育成熟期。而未抽薹植株在生长前期 POD 活性上升，后期回落，这可能与当归植株前期快速生长，而后期在块根形成后植株代谢缓慢开始衰老有关。

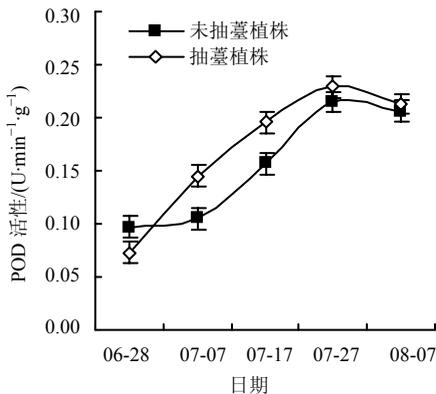


图 4 当归抽薹过程中 POD 活性变化
Fig. 4 Changes of POD activity in bolting process of *A. sinensis*

2.5 当归抽薹过程中 PPO 活性变化

PPO 分布很广，在微生物、动物、植物及人体中都有存在，它在生物体内具有重要的功能。PPO 可以促进伤口愈合，植物生长发育，乙烯产生及去甲基化等都与 PPO 活性有关^[13]。由图 5 可以看出，当归植株在抽薹前期未抽薹植株 PPO 活性比抽薹

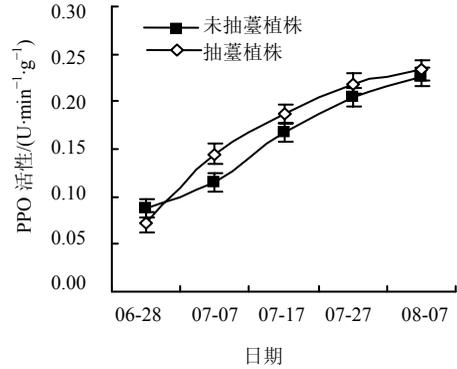


图 5 当归抽薹过程中 PPO 活性变化
Fig. 5 Changes of PPO activity in bolting process of *A. sinensis*

植株高 0.014 U/(min·g)，而在抽薹临界点时抽薹植株比未抽薹植株高 0.07 U/(min·g)。这可能是植物抽薹是一个呼吸代谢较强的生理变化过程，所以 PPO 的活性在当归抽薹后升高。PPO 活性在抽薹过程中的巨大差异，说明该酶在当归的生长发育过程中起着较强的生理作用。

3 讨论

当归抽薹植株与未抽薹植株由于发育进程的不同，导致其生理生化特征上存在着一定的差异。各种作物在不同生育期各有其生长中心，这些生长中心既是矿质元素的输入中心，也是同化物的分配中心。这些中心通常是一些代谢旺盛、生长快速的器官或组织^[14]。而当归在块根的快速膨大过程中，其生长中心为块根。碳水化合物及营养物质向块根转移，此时营养物质主要优先供应块根的生长发育。因而在抽薹前的生长阶段，新生叶片游离氨基酸及可溶性蛋白的变化趋势具有相似性，可能是氨基酸的量制约着蛋白质的合成。在当归的块根形成后，可溶性蛋白等转为储存物质，这可能是当归发育后期可溶性蛋白、可溶性糖量下降的原因。而对于抽薹的当归植株进入抽薹期后，其生长中心为薹，营养物质优先供应当归的抽薹开花。所以进入抽薹期后的当归新叶中可溶性蛋白量都比未抽薹植株高。

可溶性多糖是维持生命活动正常运转的基本物质之一。而碳水化合物作为机体代谢主要能源物质及参与花发生调节因子的重要组分，对花芽分化及成花过程密切相关^[15]，因此成为研究花芽分化机制的热点。研究表明可溶性糖量的变化可作为碳水化合物代谢的主要指标之一。花芽分化前可溶性总糖的积累有利于花芽的孕育，而进入分化期后，大量

的营养物质被消耗,其中一部分作为呼吸基质被消耗。另一部分则转化为花芽的生长所需的营养物质^[16],从而使可溶性糖的积累下降。由此可见,可溶性糖在植物成花过程中有重要作用。笔者认为当归在抽薹过程中体内代谢旺盛,内部有机物质发生显著的变化。所以相对未抽薹植株前期会积累可溶性糖,为之后的抽薹开花提供能量及结构物质。

POD同工酶普遍存在于植物体中,是植物体内重要的酶类之一,它与植物体内多种代谢活动有关,可以从分子水平上反映遗传特性,POD与植物的衰老及抗逆性密切相关。胡巍等^[17]研究洋葱时发现叶片中的POD活性随鳞茎的膨大而逐渐升高。可能是植株即将进入衰老阶段POD的抗氧化性逐渐表现出来,保护细胞免遭破坏的原因。试验中发现,当归抽薹植株在现蕾后POD活性比未抽薹上升快。POD及其同工酶与当归细胞内源激素的氧化分解有关,而当归的内源激素又影响当归的生长发育,所以当归在抽薹植株的POD活性与未抽薹的明显不一致。PPO是植物体内各种器官或组织中的一类能与铜结合的金属蛋白氧化酶,一般是幼嫩部分含量较高,而成熟部分较少。PPO主要参与酚类氧化为醌及木质素前体的聚合作用^[7]。当归在抽薹过程中PPO活性的升高说明当归抽薹过程是复杂生理代谢过程。由于PPO活性是一个数量性状,易受环境条件的影响,许多植物的PPO基因都已被成功克隆并进行了深入的研究^[18]。

植物的生长发育是在诸多基因的相互作用及多种代谢作用的相互制约下完成。当归的抽薹也是多因子参与、多步骤控制的一系列生理生化反应的发育过程。研究当归在不同生育时期生理生化变化,以期待能为进一步研究当归块根的形成、抽薹开花及预防抽薹提供基础依据。

参考文献

- [1] 汤飞宇,郭玉海,马永良,等.药用植物加工技术[M].北京:中国中医药出版社,2001.
- [2] Chien Y C. Trace elements in Taiwanese health food, *Angelica keiskei*, and other products [J]. *Food Chem*, 2004, 84(4): 545-549.
- [3] 章辰芳,孙繁智.当归对呼吸系统作用的研究概况[J].*中草药*, 1999, 30(4): 311-312.
- [4] 徐继振,刘效瑞,荆彦民,等.当归早蔓与主要因子的灰色关联度分析[J].*中药材*, 1999, 22(11): 549-552.
- [5] 宋萍萍,孙明毅,徐增莱,等.三种当归属植物的化学成分研究[J].*中草药*, 2007, 38(6): 833-835.
- [6] 刘金玉,张玉,王凯平,等.当归多糖铁复合物在缺铁性贫血大鼠与正常大鼠体内药动学比较研究[J].*中草药*, 2010, 41(10): 1672-1676.
- [7] Mapson L W. Biosynthesis of ethylene and the riping of fruits [J]. *Endeavour*, 1970, 29: 106.
- [8] 陶萌春,赖钟雄,潘良镇.中国水仙花芽分期POD活性的变化[J].*福建农林大学学报*, 1998, 27(3): 312-315.
- [9] 张志良,瞿伟菁,李小方.植物生理学实验指导[M].北京:高等教育出版社,2009.
- [10] 李靖.黄瓜感染霜霉病叶片中一些酶活性的变化[J].*植物病理学报*, 1991, 21(4): 277-280.
- [11] Barman T E. *Enzyme Handbook* [M]. Vol 2. Heidelberg: Springer-Verlag, 1969.
- [12] Al-Barazi Z, Schwabe W W. The possible involvement of polyphenol oxidase and auxin-oxidase system in root formation and development in cutting of *Pistacia vera* [J]. *Horticult Sci*, 1984, 59: 453-461.
- [13] 黄明,彭世清.植物多酚氧化酶的研究进展[J].*广西师范大学学报*, 1998, 16(2): 65-70.
- [14] 王忠,王三根,李合生,等.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [15] Tzay F. Effect of day and night temperature variation and of high temperature on devernization in radish [J]. *Acta Horticult*, 2000, 514: 157-162.
- [16] Marcelle R. The flower process and its control [J]. *Acta Horticult*, 1984: 65.
- [17] 胡巍,侯喜林,王建军,等.洋葱鳞茎形成过程中不同器官可溶性蛋白质含量POD活性的变化[J].*西北植物学报*, 2003, 23(9): 1601-1604.
- [18] Demeke T, Morris C F. Molecular characterization of wheat polyphenol oxidase (PPO) [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 813-818.