

## 防风抽薹期内源激素的动态分析

朱玉野<sup>1</sup>, 董丽华<sup>3</sup>, 朱继孝<sup>1</sup>, 熊浩仲<sup>1</sup>, 罗光明<sup>1</sup>, 张连学<sup>2\*</sup>

1. 江西中医药大学 江西省中药种质资源工程技术研究中心, 江西 南昌 330004

2. 吉林农业大学, 吉林 长春 130118

3. 江西城市职业学院, 江西 南昌 330004

**摘要:** 目的 通过对防风抽薹前后生长素(IAA)、赤霉素(GA)和脱落酸(ABA)的测定, 明确了防风抽薹前后 IAA、GA 和 ABA 的量变化, 为进一步研究防风早期抽薹机制提供理论依据。方法 利用 HPLC 法测定抽薹前后 IAA、GA 和 ABA 量, 色谱条件为 C<sub>18</sub> ODS 反相柱, 柱温 35 ℃, 检测波长 254 nm, 体积流量 0.7 mL/min, 流动相为甲醇-乙腈-0.7%乙酸(40:15:45)。结果 防风在抽薹期根、茎、叶中 IAA、GA 的量变化趋势基本相同, 抽薹后 IAA、GA 的量则急剧下降, 且抽薹前防风 IAA、GA 的量明显高于抽薹后。ABA 在防风抽薹期根、茎、叶中的量变化趋势基本相同, 但与 IAA、GA 差异较大。抽薹前取样 ABA 的量虽略有起伏, 抽薹后 ABA 的量急剧上升, 且明显高于抽薹前。结论 防风早期抽薹现象与防风内源激素水平有一定的关系, 可以初步推断防风内源激素量的变化导致了防风的早期抽薹。

**关键词:** 防风; 内源激素; 动态分析; 抽薹期; 生长素; 赤霉素; 脱落酸

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2014)13-1924-04

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.13.022

## Dynamic analysis on endo phytohormone during bolting time of roots in *Saponikovia cata*

ZHU Yu-ye<sup>1</sup>, DONG Li-hua<sup>3</sup>, ZHU Ji-xiao<sup>1</sup>, XIONG Hao-zhong<sup>1</sup>, LUO Guang-ming<sup>1</sup>, ZHANG Lian-xue<sup>2</sup>

1. The Chinese Medicine Germplasm Resource Engineering Technology Research Center of Jiangxi Province, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China

2. Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

3. Jiangxi City University, Nanchang 330004, China

**Abstract: Objective** Through determining the contents of growth hormone (IAA), gibberellic acid (GA), and abscisic acid (ABA) to make the content changes of IAA, GA, and ABA clear before and after bolting time in the roots of *Saponikovia cata*, so as to provide the theoretical basis for studying the early bolting mechanism in the roots of *S. cata*. **Methods** The contents of IAA, GA, and ABA before and after the bolting time were determined by HPLC. The chromatographic conditions were as follows: C<sub>18</sub> ODS RP column, temperature: 35 ℃, detection wavelength: 254 nm, volumn flow: 0.7 mL/min, mobile phase: methanol - acetonitrile - 0.7% acetic acid (40:15:45). **Results** The content variation trend of IAA and GA in the roots, stems, and leaves of *S. cata* was almost the same during the bolting time. The contents of IAA and GA in the roots of *S. cata* revealed the downgrade tendency sharply after bolting; The contents of IAA and GA in the roots of *S. cata* before bolting were obviously higher than those after bolting. The content variation trends of ABA in the roots, stems, and leaves of *S. cata* were the same during the bolting time, but far more different from IAA and GA. Although there was the little fluctuation of ABA before bolting, the contents of ABA after bolting were sharply upgraded and were obviously higher than those before bolting. **Conclusion** The phenomenon of early bolting in the roots of *S. cata* directly relates to the endo phytohormone level, so we may extrapolate that the levels of endo phytohormone could straightly cause the bolting in the roots of *S. cata* or not.

**Key words:** roots of *Saponikovia cata* (Turcz.) Sehischk; endo phytohormone; dynamic analysis; bolting; growth hormone; gibberellic acid; abscisic acid

收稿日期: 2013-12-28

基金项目: 吉林省科技厅资助项目(2007BA709A17)

作者简介: 朱玉野(1978—), 男, 讲师, 研究方向为药用植物栽培。E-mail: zzy711@126.com

\*通信作者 张连学(1956—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为药用植物学。E-mail: zlxbooksea@163.com

防风又名屏风、风肉、茴芸、茴草,是伞形科植物防风 *Saponikovia cata* (Turcz.) Sehischk 的根<sup>[1]</sup>。味辛、甘、温;可解表祛风、胜湿,止痉;用于感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风。防风主产于我国黑龙江、吉林、辽宁、河北、内蒙古和山东等地,喜阳光充足、凉爽的气候条件,忌高温、雨涝及土壤过湿,较耐寒、耐旱,在风积沙土、草甸沙土和草原黑钙土种植,主根发达,侧根少,皮部棕黄色,商品质量好。

目前对防风的化学成分、药理作用、配伍及临床应用的研究进行较多,如在化学成分中对香豆素、色原酮、聚乙炔类、有机酸类<sup>[2]</sup>、多糖类<sup>[3]</sup>、挥发油成分,在药理方面抗肿瘤<sup>[4]</sup>、增强免疫功能的作用<sup>[5]</sup>,配伍及临床应用方面都进行了详细的研究。

随着防风需求量增加,野生防风产量和品质的下降,使近年人工栽培面积不断扩大,而人工栽培的防风,由于土地疏松,肥、水充足,生长量大,有大量的营养物质积累,便出现未熟抽薹现象,抽薹早期防风根部木质化,品质降低,晚期根部腐烂,失去了药用价值,因此人工栽培防风抽薹是影响防风的质量和产量的关键因素,而对于防风抽薹是否与内源激素有关的研究还未见报道。本实验通过测定中药防风在抽薹前后内源激素生长素(IAA),赤霉素(GA),脱落酸(ABA)等量的动态变化,找出中药防风早期抽薹与内源激素量的变化关系,为进一步研究防风早期抽薹的机制提供理论依据,为抑制或解决中药防风的早期抽薹现象拓宽解决途径提供参考,从而提高防风的品质和产量。

## 1 材料、仪器与试剂

### 1.1 材料

材料为吉林农业大学生态园区防风 GAP 基地的二年生防风,由张连学教授鉴定为正品防风 *Saponikovia cata* (Turcz.) Sehischk。采集时间为2008年5月20日至2009年8月18日,每10天采集1次,前5次采集的样品均为未抽薹防风,后5次采集的样品均为抽薹防风。为了保证实验条件的一致性,每次采集样品时间均为15:20~15:50。

### 1.2 仪器与试剂

Waters2695 高效液相色谱仪、RE—52AA 旋转蒸发器、KQ—250B 超声波清洗仪、TGL—20LM 高速冷冻离心机、UV—754 紫外可见分光光度计。IAA、GA 和 ABA 对照品(质量分数均为99.8%)均购自于 Sigma 公司,甲醇和乙腈为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

## 2 方法

### 2.1 色谱条件

色谱柱:CentuySILC<sub>18</sub> ODS 反相柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm);柱温:35℃;检测波长为254 nm;体积流量0.7 mL/min;流动相为甲醇-乙腈-0.7%乙酸40:15:45。

### 2.2 对照品储备液的制备

分别精密称定 IAA、GA、ABA 3 种对照品各 3 mg,置于 10 mL 量瓶中,用甲醇定容。超声溶解,静置备用。

### 2.3 标准曲线的绘制

精密吸取上述储备液,用甲醇分别制成 0.300、0.600、0.900、1.50、3.00 mg/mL 5 个不同质量浓度的对照品溶液,在按“2.1”项色谱条件进行分析,以对照品溶液的质量浓度为横坐标,峰面积为纵坐标,进行回归分析得标准回归方程,分别为 IAA:  $Y=0.0091X-0.8332$  ( $r=0.9999$ ); GA:  $Y=0.0921X-12.879$  ( $r=0.9998$ ); ABA:  $Y=0.0399X-1.0512$  ( $r=0.9996$ )。结果表明 IAA、GA 和 ABA 在 0.3~6.0 mg/mL 内线性关系良好。

### 2.4 3 种内源激素的测定

精密称定防风根、茎、叶样品各 2 g,研细,加 10 mL 冰甲醇(80%),转入 100 mL 三角瓶中,加 80%冰甲醇 20 mL 超声震荡 2 h(低于 4℃),过滤,滤渣中加 80%冰甲醇 20 mL,摇匀,置-20℃冰箱中 12 h,过滤,合并滤液,于-20℃冰箱放置 12 h,取滤液 10 mL 上 Seppar C<sub>18</sub> 小柱,用 20 mL 乙腈洗脱,收集洗脱液,过 0.45 μm 微孔滤膜,滤液备用<sup>[6-7]</sup>。在“2.1”项色谱条件下取滤液 1 μL 进样分析,记录峰面积。将所得的峰面积代入相应的回归方程,计算质量浓度,进而得出 3 种内源激素(GA、IAA、ABA)的量。每种样品设 3 个平行,取平均值。

## 3 结果与分析

### 3.1 防风抽薹前后 IAA 量的动态变化

防风在抽薹前后根、茎、叶中 IAA 的量变化趋势基本相同,即抽薹前 IAA 的量呈缓慢上升趋势,抽薹后 IAA 的量急剧下降,且抽薹前防风 IAA 的量均高于抽薹后。通过对数据分析表明,防风在抽薹前后根、茎、叶中 IAA 的量出现最高点的时间略有差异,根和茎的 IAA 量达到最高是在 6 月 29 日,分别是 45.2 和 55.45 ng/g,叶的 IAA 量达到最高(46.69 ng/g)是在 6 月 19 日;到 8 月 18 日后根、茎、叶 IAA 的量达到最低 18.23、24.36、17.44 ng/g,其中叶的 IAA 量最低,见图 1。

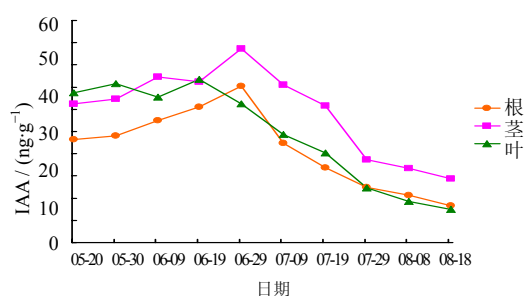


图1 防风抽薹前后根、茎、叶中 IAA 的量

Fig. 1 Contents of IAA in roots, stems, and leaves of *S. cata* before and after bolting

### 3.2 防风抽薹前后 GA 量的动态变化

防风在抽薹前后根、茎、叶中 GA 的量变化趋势基本相同,即抽薹前 GA 的量缓慢上升,抽薹后 GA 的量急剧下降。通过对数据分析表明:防风在抽薹前后根、茎、叶中 GA 的量出现最高点的时间基本相同,即在 6 月 29 日根、茎、叶中 GA 的量最高,分别是 6.21、6.83、6.02 ng/g,且抽薹前防风 GA 的量均高于抽薹后;到 8 月 18 日后根、茎、叶 GA 的量达到最低,分别是 1.30、1.98、1.43 ng/g,其中根的 GA 量最低,见图 2。

### 3.3 防风抽薹前后 ABA 量的动态变化

防风在抽薹前后根、茎、叶中 ABA 的量变化趋势基本相同,即抽薹前(6 月 29 日前)ABA 的量虽略有起伏,但基本保持在同一水平,抽薹后(7 月 9 日后)ABA 的量急剧上升,明显高于抽薹前。通过对数据分析表明:在 8 月 18 日根、茎、叶 ABA 的量已经达到 1 812、2 236、2 198 ng/g,其中茎的 ABA 量最高,见图 3。

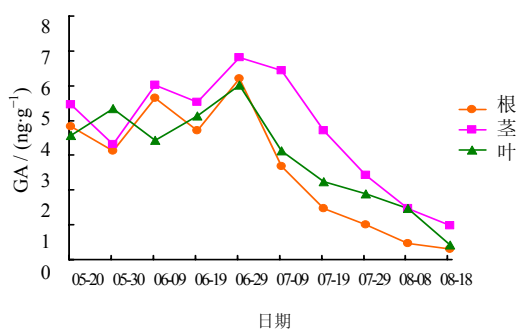


图2 防风抽薹前后根、茎、叶中 GA 量

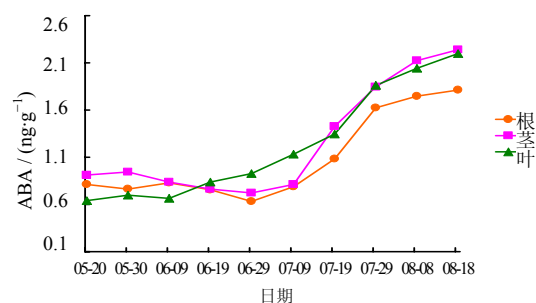
Fig. 2 Contents of GA in roots, stems, and leaves of *S. cata* before and after bolting

图3 防风抽薹前后根、茎、叶中 ABA 量

Fig. 3 Contents of ABA in roots, stems, and leaves of *S. cata* before and after bolting

通过对防风抽薹前后 3 种激素 IAA、GA、ABA 量变化测定表明:防风抽薹前后内源激素 IAA、GA、ABA 量变化显著,即抽薹前 IAA 和 GA 的量均高于抽薹后,而 ABA 的量抽薹前明显低于抽薹后。由此可见,防风内源激素量的变化与防风抽薹有一定的关系,进而可以初步推断:防风内源激素量的变化导致了防风的早期抽薹,同时也为进一步研究防风早期抽薹机制提供一定的理论依据。

## 4 讨论

曾有报道指出,合理密植,适当增加育苗和定植的密度,使植株相互遮荫,减少光照强度,控制防风的快速生长,抑制花芽的分化、抽薹。在这种环境下生长,叶片稀少、瘦小,制造的营养只能维持正常的生活所需,或少有结余供缓慢生长,使防风无力抽薹开花结实<sup>[8]</sup>。这也就是说明利用各种逆境条件,促进植物体内 ABA 量的增加,从而抑制植物体内 IAA、GA 的量<sup>[9]</sup>。这与本实验研究 IAA、GA、ABA 3 种激素之间的相互关系较为一致。因此,防风的早期抽薹与 IAA、GA、ABA 3 种激素量可能有着直接的关系。

在本实验中,采用高效液相色谱法测定防风中 IAA、GA、ABA 3 种激素的量,准确、分析速度快、稳定、可靠,但测定时经常见到多种内源激素分离差,峰性不良及严重拖尾现象,因此选择合适流动相、体积流量、柱温等色谱条件是十分关键的。由于内源激素在植物体内量很低,一定要在同等条件下快速采集样品,在提取和测定的过程中,严格遵守实验步骤,尽量减少误差。

## 参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.

- [2] 孙晶波, 邵玉钢, 张秋菊, 等. HPLC 法同时测定陇西地区防风中色原酮和香豆素类成分 [J]. 中草药, 2013, 44(24): 3557-3560.
- [3] 李江, 陆蕴如, 张桂燕. 防风多糖的研究 [J]. 中草药, 1999, 30(9): 652-653.
- [4] 李莉, 周勇, 张丽, 等. 防风多糖增强巨噬细胞抗肿瘤作用的实验研究 [J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22(3): 38-40.
- [5] 马学清, 周勇, 严宣佐, 等. 中药多糖的免疫增强作用 [J]. 中国实验临床免疫学杂志, 1996, 8(2): 40-43.
- [6] 王若仲, 曹庸. 亚种间杂交稻内源激素的高效液相色谱测定法 [J]. 色谱, 2002, 20(2): 148-150.
- [7] 丁静. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定 [J]. 植物生理学通讯, 1979(2): 27-50.
- [8] Morillon R, Chrispeels M J. The role of ABA and the transpiration stream in the regulation of the osmotic water permeability of leaf cells [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(24): 14138-14143.
- [9] Ivma B, Magdalcna T, Ivelin P. Effect of 5-azacytidine on callus induction and plant regeneration potential in anther culture of wheat (*Triticum aestivum* L.) 1 [J]. *Plant Physiol*, 2004, 30(1/2): 45-50.