

海拔对当归中阿魏酸量的影响及关键因子分析

王惠珍¹, 晋玲¹, 张恩和²

1. 甘肃中医学院 药理学系, 甘肃 兰州 730000

2. 甘肃农业大学农学院, 甘肃 兰州 730070

摘要: **目的** 在不同海拔进行当归 *Angelica sinensis* 生态适应性实验, 探索影响当归阿魏酸积累的关键因子。**方法** 通过田间实验测定当归阿魏酸量的变化和生理生化指标、光合参数、生态因子。**结果** 当归根中阿魏酸量随海拔升高而增加, 且海拔 2 780 m 处理比海拔 2 360 m 处理高 14.5%, 差异显著 ($P < 0.05$)。分析影响当归阿魏酸积累的关键因子表明, 降雨量 ($r = 0.898\ 8$) 和温度 ($r = -0.799\ 1$) 是关键生态因子, 可溶性糖 ($r = -0.974\ 9$) 和超氧化物歧化酶 (SOD) ($r = -0.840\ 8$) 是关键生理生化因子, 湿度 ($r = 0.969\ 9$) 和光合活性辐射 ($r = 0.946\ 7$) 是关键光合参数因子。**结论** 适当升高种植海拔, 增加降雨量和湿度, 降低温度和可溶性糖量均有利于当归中阿魏酸的转化积累。

关键词: 当归; 海拔; 阿魏酸; 降雨量; 温度; 可溶性糖; 超氧化物歧化酶; 湿度

中图分类号: R282.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253 - 2670(2013)01 - 0 - 0

Effect of altitude on ferulic acid in *Angelica sinensis* and analysis on key factors

WANG Hui-zhen¹, JIN Ling¹, ZHANG En-he²

1. Department of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

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

Abstract: Objective The ecological adaptability of *Angelica sinensis* was studied at three different altitudes (2 360, 2 570, and 2 780 m) to explore the key factors on the accumulation of ferulic acid (FA) in *A. sinensis*. **Methods** Using the field test, the changes of physiological and biochemical indexes, photosynthesis parameters, ecological factors, and FA content were determined. **Results** FA content in the roots of *A. sinensis* was increased with the altitudes rising, the FA content in *A. sinensis* from 2 780 m was higher than that from 2 360 m by 14.5% ($P < 0.05$). The key factors that affected the accumulation of FA were analyzed; Rainfall ($r = 0.898\ 8$) and temperature ($r = -0.799\ 1$) were the key ecological factors; Soluble sugar ($r = -0.974\ 9$) and superoxide dismutase (SOD) ($r = -0.840\ 8$) were the key physiological and biochemical factors; Relative humidity (RH) ($r = 0.969\ 9$) and photosynthetically active radiation (PAR) ($r = 0.946\ 7$) were the key photosynthesis factors. **Conclusion** Properly rising the altitude of planting, increasing the rainfall and humidity, and decreasing the temperature and soluble sugar are beneficial to the transformation and accumulation of FA in *A. sinensis*.

Key words: *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels; altitude; ferulic acid; rainfall; temperature; soluble sugar; superoxide dismutase; humidity

当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 为伞形科当归属多年生草本植物, 以干燥根入药, 有补血、活血、调经止血、润肠滑肠等功效, 素有“十方九归”之称。当归为甘肃道地药材, 喜冷凉环境条件, 主产于岷县, 以质优物美的“岷归”享誉海内外。随着人民生活水平的提高和医药事业的发展, 当归需求量逐年增加, 致使当归供不应求。药农追求经济效益而违背种植制度, 大面积连作

栽培, 导致产量下降^[1]、品质劣化^[2]、病虫害加重^[3]、早期抽薹严重^[4]等连作障碍问题。

据调查, 岷县当归主要种植于海拔 2 000~2 300 m 的平坦地带, 而岷县是耕地海拔跨度较大、降雨量相对较多的地域, 当归又适宜高寒阴湿环境, 低海拔不能越夏, 且同一地域海拔高度对植物品质的影响程度远大于该地域土壤农化性质的影响^[5-6]。因此, 本实验以当归中阿魏酸的量为考察指标, 研究

收稿日期: 2012-05-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (310106182, 31070352)

作者简介: 王惠珍 (1974—), 女, 副教授, 博士, 主要从事药用植物栽培和生理生态方面的研究。

Tel: (0931)8765393 13919970774 E-mail: whz1974828@163.com

*通讯作者 张恩和 E-mail: zhangenh@163.com

2 360、2 570、2 780 m 3 个海拔梯度下当归适宜程度，再通过环境生态指标、当归生理生化和光合参数等的测定，探索影响当归阿魏酸形成的关键生态因子、生理生化因子和光合参数因子，为当归规范化种植提供理论和实践指导。

1 材料

选用单根质量约 1 g、根长约 12 cm、分枝少、无腐烂、无虫蛀岷县当地药农自育一年生种苗，品种为紫茎当归 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels，由笔者鉴定。

2 方法

2.1 实验设计

实验采用单因素完全随机区组设计，以海拔梯度

为试验因素，设 2 360、2 570、2 780 m 3 个梯度，3 次重复，共计 9 个处理，小区面积为 200 m² (20 m×10 m)。实验地为春小麦茬口，坡向一致，均为半阴坡，不同海拔实验地土壤状况见表 1。栽植前施农家肥 45 000 kg/hm²，全氮 90 kg/hm²、P₂O₅ 65 kg/hm²、K₂O 45 kg/hm²，作为基肥于栽植前分小区一次性翻入土壤，生长期不再追肥；起垄覆膜，垄面宽 80 cm，垄间距 20 cm，按行株距 30 cm×25 cm 的栽植密度开穴移栽，每穴植入 2 株种苗后填实土壤防止空置现象发生，覆土，密度保持约 13 万株/hm²。出苗后分次间苗，防止早期抽薹后出现空穴。田间管理措施均一致，并及时清除田间的枯枝烂叶以防病虫害侵染。

表 1 不同海拔试验地土壤理化性质

Table 1 Physicochemical characteristic of tested soil in different altitudes

| 海拔 / m | 土壤类型 | pH 值 | 有机质 / (g·kg ⁻¹) | 全磷 / (mg·kg ⁻¹) | 速效钾 / (mg·kg ⁻¹) | 全氮 / (g·kg ⁻¹) |
|--------|------|------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| 2 360 | 黑垆土 | 6.9 | 1.579 | 3.938 | 40.2 | 10.49 |
| 2 570 | 黑垆土 | 7.0 | 1.505 | 3.995 | 41.3 | 10.12 |
| 2 780 | 黑垆土 | 7.0 | 1.652 | 3.392 | 39.8 | 9.97 |

2.2 阿魏酸测定

2.2.1 色谱条件 色谱柱：大连依利特 C₁₈ (250 mm×4.6 mm, 5 μm)；流动相：乙腈-0.085% H₃PO₄ 溶液 (18 : 82)；检测波长 316 nm；柱温为常温；理论板数按阿魏酸峰计算不低于 4 000。

2.2.2 对照品溶液的制备 精密称取阿魏酸对照品 0.010 69 g，置 50 mL 棕色量瓶中，加 70% 甲醇使溶解，并稀释至刻度，摇匀；精密取 3 mL，置 50 mL 棕色量瓶中，加 70% 甲醇稀释至刻度，摇匀。

2.2.3 供试品溶液的制备 取本品粉末 (过 3 号筛) 0.2 g，精密称定，置具塞锥形瓶中，精密加入 70% 甲醇 20 mL，密塞，称定质量，超声提取 30 min，放冷，再称定质量，用 70% 甲醇补足缺失的质量，摇匀，静置后，用微孔滤膜 (4.5 μm) 滤过，即得。

2.2.4 样品测定 每小区取 50 株样品，取根部阴干后参照《中国药典》2010 年版方法^[7]测定阿魏酸的量。

2.3 生理生化指标测定 于 2010 年 7 月 10 日至 8 月 25 日期间分 3 次采集当归倒数第 3 片叶进行渗透调节物质和保护酶活性测定，取平均值。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定参照文献方法^[8]，酶活性单位以 U/g 表示；过氧化氢酶 (CAT) 活性的检测参照文献的方法^[9]，以每分钟内 A₂₄₀ 值变化 0.1 为 1

个酶活性单位，用 U / (min·mg) 表示；过氧化物酶 (POD) 活性的检测参照愈创木酚法^[8]，以每分钟 A₄₇₀ 变化值表示酶活性大小。采用酸性茚三酮法测定游离脯氨酸量^[10]；蒽酮比色法测定可溶性糖量^[10]；硫代巴比妥酸法测定丙二醛 (MDA) 量^[10]。并与阿魏酸量进行相关性分析。

2.4 光合参数测定 于 2010 年 8 月 15~17 日当归根膨大期，采用 Li-6400 便携式光合作用系统测定活体当归叶片的光合参数，每次随机选择 5 株健壮植株中部侧枝的中间健康成熟叶 5 片。每张叶片待测读数据稳定后取 3 个数值进行平均，最后取 5 片叶的平均值。并与阿魏酸量进行相关性分析。

2.5 数据处理

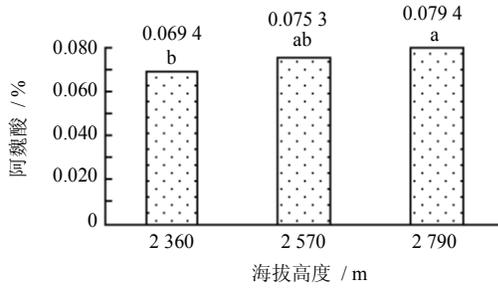
数据采用 Excel 表格结合数据统计软件 SPSS16.0 进行整理和分析，不同处理相同指标进行 LSD_{0.05} 和 LSD_{0.01} 比较，Spearman 相关分析，用 SigmaPlot10.0 软件绘图。

3 结果与分析

3.1 海拔对当归根中阿魏酸量的影响

当归根中阿魏酸量随海拔升高而增加，海拔 2 780 m 处理比海拔 2 570、2 360 m 处理分别提高 5.5% 和 14.5%，海拔 2 570 m 处理比海拔 2 360 m 处理高 8.6%，海拔 2 780 m 与 2 360 m 差异显著 ($P < 0.05$)，

其他处理间差异均不显著 ($P>0.05$)。分析阿魏酸的量在海拔梯度间变化幅度表明, 海拔越高, 变化幅度越小, 在 2 360 m 基础上每升高 220 m 依次增加 8.6%和 5.5%, 说明海拔升高, 气候变冷, 光合作用和干物质积累降低, 导致阿魏酸积累也降低, 见图 1。



图中不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著, 相同字母表示不显著, 下图同
Different lowercase letters refer to significance at 0.05 level, same letters refer to no significance, same as below

图 1 采收期不同海拔梯度当归根部阿魏酸量比较
Fig. 1 Comparison on FA contents in roots of *A. sinensis* at different altitudes

本研究同时跟踪当归根中阿魏酸的动态变化过程, 结果表明, 3 个海拔间存在显著差异 (图 2), 6 月 25 日至 7 月 25 日, 3 个海拔阿魏酸日增长量均很低, 分别为 0.11、0.06、0.04 mg/(g·d), 海拔 2 360 m 显著高于其他 2 个海拔 ($P<0.05$); 7 月 25 日至 10 月 15 日, 3 个海拔日平均增长量分别为 0.39、0.37、0.39 mg/(g·d), 分别约为前一时段的 4、6 和 9 倍, 海拔间差异不显著 ($P>0.05$); 而采收前 8 d 内, 3 个海拔日增加量分别升高至 1.5、2.48、2.82 mg/(g·d), 分别为前一时段的 3.8、6.7 和 7.2 倍, 海拔 2 780 m 处理分别比海拔 2 570 m 和 2 360 m 处理高 13.7%和 88.0%, 海拔 2 570 m 处理较海拔 2 360 m

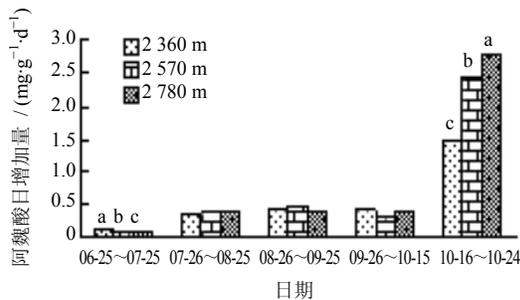


图 2 不同海拔高度当归根部阿魏酸的日增加量
Fig. 2 Daily increase of FA content in roots of *A. sinensis* at different altitudes

处理高 65.3%, 海拔间差异均显著 ($P<0.05$)。从此得出, 高海拔当归应适当延迟采收时间。

3.2 影响阿魏酸积累的关键生态因子分析

对生态因子与阿魏酸量进行相关分析表明, 降雨量与阿魏酸量呈极显著正相关关系 ($r=0.898 8$), 说明随降雨量增加, 阿魏酸量呈极显著的增加趋势; 温度与阿魏酸量呈显著负相关关系 ($r=-0.799 1$), 说明随温度降低, 当归阿魏酸量呈显著增加趋势; 总日照时数、土壤有机质变化量和土壤全磷变化量与阿魏酸量呈正相关关系, 但均不显著, 说明增加日照时数和有机质的量对阿魏酸积累的贡献率不大。故从相关程度得出, 降雨量是影响当归阿魏酸量的主要生态因子, 其次是温度, 影响最小的是日照时数、有机质变化量和全磷变化量 (表 2)。

表 2 生态因子与阿魏酸量的相关分析

Table 2 Correlation analysis on ecological factors and FA content in *A. sinensis*

| 生态因子 | r |
|--------|-----------|
| 温度 | -0.799 1* |
| 总日照时数 | 0.712 7 |
| 降雨量 | 0.898 8** |
| 有机质变化量 | 0.710 2 |
| 全磷变化量 | 0.612 78 |

* $P<0.05$ ** $P<0.01$, 下表同

* $P<0.05$ ** $P<0.01$, same as below

3.3 影响阿魏酸积累的关键生理生化因子分析

从生理生化因子与阿魏酸量的相关分析看出, 阿魏酸量与渗透调节物质和保护酶活性均呈负相关关系。其中可溶性糖量与阿魏酸呈极显著负相关关系 ($r=-0.974 9$), SOD 与阿魏酸量呈显著负相关关系, 说明降低当归体内可溶性糖量和 SOD 活性, 阿魏酸量有显著增加趋势; 而其他生理生化因子与阿魏酸量相关性不显著。故从相关程度得出, 可溶性糖量是影响阿魏酸量的主要生理生化因子, 其次是 SOD, 影响最小的是脯氨酸 (表 3)。

3.4 影响阿魏酸形成的关键光合参数因子分析

阿魏酸量与有效光辐射、湿度、 CO_2 浓度以及叶绿素a和b呈正相关关系, 而与其他指标呈负相关关系, 其中除了与蒸腾速率的相关性不显著外, 与其他指标均呈显著负相关关系。说明增加有效光辐射、湿度、 CO_2 浓度和叶绿素量, 降低气温均有利于阿魏酸积累。而净光合速率、蒸腾速率、气孔导度和胞间 CO_2 浓度均与阿魏酸量呈

负相关关系,说明当归根中阿魏酸是在低温条件下当归自身体内物质转化完成。阿魏酸与光合参数相关分析见表4。

表3 生理生化因子与阿魏酸的相关分析

Table 3 Correlation analysis on physiological and biochemical factors and FA content in *A. sinensis*

| 生理生化因子 | <i>r</i> |
|--------|------------|
| 脯氨酸 | -0.024 9 |
| 可溶性糖 | -0.974 9** |
| MDA | -0.773 2 |
| SOD | -0.840 8* |
| POD | -0.704 5 |
| CAT | -0.682 4 |

表4 光合参数与阿魏酸量的相关分析

Table 4 Correlation analysis on photosynthesis factors and FA content in *A. sinensis*

| 光合参数 | <i>r</i> |
|----------------------|------------|
| 净光合速率 | -0.898 2* |
| 蒸腾速率 | -0.435 5 |
| 气孔导度 | -0.856 8* |
| 胞间CO ₂ 浓度 | -0.898 7* |
| 有效光辐射 | 0.946 7** |
| 空气相对湿度 | 0.969 9** |
| 叶片温度 | -0.905 0** |
| 空气CO ₂ 浓度 | 0.941 2** |
| 叶绿素 a | 0.865 9* |
| 叶绿素 b | 0.938 0** |
| 类胡萝卜素 | -0.930 2** |

4 讨论

4.1 海拔梯度对当归阿魏酸量的影响

品质是衡量植物应用价值的重要指标之一,尤其是药用植物。许多学者已经在海拔对植物品质的影响方面做了大量工作,研究结果不尽相同,赵广琦等^[11]研究发现,生长在低海拔地区的黄连质量显著高于高海拔地区;宋晓静等^[12]研究紫茎泽兰中绿原酸量在海拔高于1 900 m以上质量分数呈下降趋势。对玉米的研究发现^[13],蛋白质和赖氨酸量随海拔增加而提高,而淀粉量和可溶性糖量随海拔升高而降低。但陈翠等^[14]研究发现云南重楼中皂苷量随海拔的增加无明显变化。这些结果说明不同植物对海拔的响应程度不同,并且

同一种植物其体内物质对海拔变化的响应程度也不同。

阿魏酸是当归主要药效成分之一,其量的高低决定了当归品质的好坏。本研究得出,当归阿魏酸量随海拔升高而增加,高海拔(2 780 m)显著高于低海拔(2 360 m),这与对玉米^[14]、烟草^[7]等作物的研究结果一致。可能原因:一是当归性喜冷凉环境条件;二是低海拔昼夜温差相对较小,呼吸消耗较多,阿魏酸转化量降低;三是由于高海拔地区的低温有利于根中阿魏酸的转化积累。因此,在本实验设计海拔2 300~2 800 m内,海拔升高有利于当归根中阿魏酸量增加。

4.2 影响当归根中阿魏酸积累的关键生态因子分析

生态因子是药用植物赖以生存的影响因子,也是品质形成的关键因子,与大多数根茎类药材相比,当归对生态因子的变化比较敏感。该研究中3个海拔的温度、降雨量和日照时数等主要生态因子有明显差异,对当归阿魏酸积累也有显著影响。相关分析表明:降雨量和温度是影响当归阿魏酸形成的关键因子,其次是日照时数。研究表明大多数药材品质形成需要一定高温、降雨和光照条件^[15],而从当归阿魏酸动态积累(图2)看出,阿魏酸转化积累的关键时期在收获前很短的时间段内,这可能是由当归性喜冷凉气候的生物学特性决定的。

4.3 影响当归根中阿魏酸积累的关键生理生化因子分析

渗透调节物质和保护酶在植物遭遇逆境胁迫时变化最大,是植物抵御外界逆境的重要机制,但这两类物质对植物品质形成研究较少。本研究分析了这两类物质与阿魏酸形成之间的关系,表明可溶性糖是影响阿魏酸量的关键生理生化因子,其次是SOD、MDA、POD和CAT,影响最小的是脯氨酸。分析可能原因:当归性喜冷凉环境条件,高海拔适宜当归生长,故当归体内生理生化因子保持平衡稳定,对细胞膜的伤害程度较小,阿魏酸转化积累途径畅通、合成前体物质充足。

4.4 影响当归根中阿魏酸积累的关键光合参数因子分析

光合作用是药材品质形成的基础,净光合速率、蒸腾速率、气孔导度、胞间CO₂浓度以及各种影响光合特性的环境条件均影响光合作用。相关分析表明:湿度是影响当归阿魏酸积累的关键光合参数因

子, 其次为有效光辐射、空气CO₂浓度、大气温度。即增加相对湿度和空气CO₂浓度、降低光合有效辐射和大气温度均有利于阿魏酸积累。

综合以上分析看出, 在海拔 2 300 m~2 800 m 适当升高种植海拔有利于当归根中阿魏酸的转化积累, 且降低温度和当归体内可溶性糖、增加降雨量和光照时数有利于当归阿魏酸的形成。此结果对当归规范化种植具有重要指导意义, 但目前此方面研究报道甚少, 希望今后有更多学者从当归生态适应性方面做进一步研究, 为“岷归”品质和声誉做出更大贡献。

参考文献

- [1] 张新慧. 当归连作障碍机制及其生物修复措施研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2009.
- [2] 张新慧, 张恩和, 王惠珍. 连作对当归药材挥发油含量的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2009, 21(2):274-277.
- [3] 张新慧, 张恩和. 不同茬口对当归根际微生物数量及产量的影响 [J]. 中草药, 2008, 39(2): 32-36.
- [4] 邱黛玉, 藺海明, 方子森, 等. 种苗大小对当归成药期早期抽薹和生理变化的影响 [J]. 草业学报, 2010, 19(6): 109-114.
- [5] 杨小军, 丁永辉. 甘肃当归 GAP 栽培的环境质量评价 [J]. 解放军药学学报, 2004, 20(2): 110-112.
- [6] 简永兴, 杨磊, 谢龙杰, 等. 种植海拔对烤烟石油提出物及常规化学成分的影响 [J]. 烟草科技, 2005(7): 3-6.
- [7] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [8] Rao M V, Pal I C, Ormrod D P. Ultraviolet B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol*, 1996, 110(1): 125-136.
- [9] Aebi H. Catalase *in vitro* [J]. *Methods Enzymol*, 1984, 105: 121-126.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 第 4 版. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [11] 赵广琦, 杜增平. 不同海拔高度与不同株龄和月份对黄连质量和产量的影响 [J]. 中草药, 2002, 33(12): 1119-1121.
- [12] 宋晓静, 郭珍, 袁红霞, 等. 不同部位、不同海拔及不同生长阶段紫茎泽兰中绿原酸含量的变化 [J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2010, 46(2): 166-168.
- [13] 刘淑云, 董树亭, 胡昌浩. 不同海拔高度对玉米品质性状影响的研究 [J]. 玉米科学, 2005, 13(2): 68-71.
- [14] 陈翠, 袁理春, 杨丽英, 等. 不同海拔、土壤类型及肥力对云南重楼产量和质量的影响研究 [J]. 西南农业学报, 2009, 22(5): 1388-1391.
- [15] 言勇, 颜合洪. 气候因子对烤烟品质影响的研究进展 [J]. 作物研究, 2009, 23(5): 339-344.