

乙烯利和脱落酸对北五味子木脂素及苯丙氨酸解氨酶活性的影响

马凤霞¹, 赵 权², 刘广娜²

(1. 吉林农业科技学院 文理学院, 吉林 吉林 132101; 2. 吉林农业科技学院 中药学院, 吉林 吉林 132101)

摘 要:以北五味子为试材,在转色期分别用 400 mg/L 乙烯利和 1 000 mg/L 脱落酸(ABA)处理果实,研究乙烯利和 ABA 对北五味子木脂素及苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的影响。结果表明:转色期至成熟处理,对照果实总木脂素和 PAL 活性均呈增加的变化趋势,成熟期果实总木脂素乙烯利和 ABA 处理比对照分别提高 11.08%和 15.11%,处理间无显著差异,与对照差异显著;CK 成熟期果实 PAL 活性为 $20.21 \text{ U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,乙烯利和脱落酸对提高北五味子果实总木脂素含量和增加 PAL 活性具有促进作用,乙烯利和 ABA 处理的果实 PAL 活性分别为 22.09 、 $22.36 \text{ U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,处理间差异不显著。

关键词:北五味子;乙烯利;脱落酸;木脂素;苯丙氨酸解氨酶

中图分类号:S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0155-04

五味子(*Schisandra chinensis* (Turcz) Baill) 属木兰科北五味子属多年生落叶木质藤本植物,五味子是著名中药材,并且是一种多功能、多用途的药食兼用型经济植物,在国内外久负盛名^[1]。长期以来,人们根据产地不同,习惯地把产于东北三省及内蒙古的称北五味子又称辽五味子,产于南方的称南五味子;产于西北地区的称西五味子^[2]。五味子味酸、甘,性温。有收敛固涩、益气生津、补肾宁心的功效^[3]。近年来报道,乙烯利和脱落酸在提高葡萄、桃、猕猴桃、樱桃等一些水果果实着色及相关品质方面的有良好作用^[4-7]。

五味子主要活性成分为木脂素,约含 5%。木脂素又称木脂体,是一类植物小分子量次生代谢物,在体内大多呈游离状态,也有与糖结合成苷存在于植物的树脂状物质中^[8]。木脂素具有抗肿瘤作用、抗病毒、抗菌消炎作用、保护肝脏和抗氧化等作用^[9]。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是苯丙烷类代谢途径中的第一个酶,它催化 L-苯丙氨酸脱氨生成反式肉桂酸。苯丙烷类代谢途径是植物次生物质代谢的一条重要途径,与酚酸、类黄酮等酚类物质和木脂素、白藜芦醇等许多次生代谢物的合成有关。木脂素合成途径(图 1),苯丙氨酸在苯丙氨酸解氨酶(PAL)催化下合成肉桂酸;肉桂酸在肉桂酸 4-羟基化

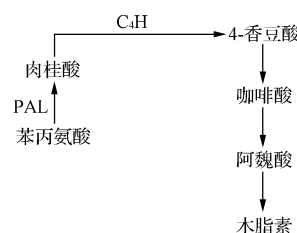


图 1 北五味子木脂素生物合成途径

Fig. 1 Simplified schematic of the lignans biosynthetic pathway of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill

酶(C_4H)作用下转化为 4-香豆酸;4-香豆酸氧化合成木脂素^[10]。

近年来,国内关于五味子果实中木脂素的研究有很多^[11-14],而有关乙烯利和脱落酸(ABA)对五味子果实木脂素生物合成及 PAL 活性变化的研究尚鲜见报道。

该试验主要以北五味子果实为试材,研究乙烯利和 ABA 对北五味子果实发育过程木脂素生物合成和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的变化,以期为提高北五味子品质提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料采自吉林丰满区腰岭子五味子基地的 4 年生五味子。

400 mg/L 乙烯利和 1 000 mg/L 脱落酸分别用 10 mL 1.0 mol/L KOH 完全溶解,加 0.1% (w/v) 吐温 80,定容。

第一作者简介:马凤霞(1969-),女,硕士,教授,现主要从事植物资源等研究工作。E-mail:fengxia_ma@126.com.

基金项目:吉林省教育厅科研资助项目(吉教科合字[2012]第 299 号)。

收稿日期:2014-03-13

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 于2013年8月23日在五味子转色期,选择长势好、色泽鲜艳的五味子12株并挂牌,试验使用乙烯利和脱落酸(ABA)对五味子分别处理4株,均匀喷洒于果实,另设喷清水空白对照(CK)4株。处理后每隔5 d取样1次,直至果实成熟,采样时间集中在每日上午8:00~9:00。用冰盒带回实验室进行测定。

1.2.2 木脂素含量测定 标准曲线的制备:精密称取2 mg五味子乙素标准品,用甲醇溶解,摇匀,定容于10 mL容量瓶中,浓度为0.2 mg/mL五味子总木脂素标准品溶液,作为贮备液备用。分别精密量取上述溶液0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mL于试管中,水浴加热挥发溶剂后,分别加入10%变色酸溶液0.5 mL、浓硫酸3.5 mL,加塞,摇匀后于沸水浴中加热30 min后,马上取出,冷却后,分别加入2.0 mL蒸馏水稀释,摇匀,冷却后,以0号试管为对照,用752分光光度计,在波长575 nm处测定吸收度。以五味子乙素量为横坐标,吸光度为纵坐标,做标准曲线(图2)。得回归方程 $y=4.7914x+0.0278$ ($R^2=0.9834$)。说明总木脂素的含量与吸光度呈现良好的线性关系。木脂素含量测定:精确称取0.1 g提取物,用甲醇溶解,摇匀,定容于10 mL容量瓶中,吸取0.2 mL定容液,水浴加热挥发溶剂后,采用标准曲线测定方法测定^[15]。

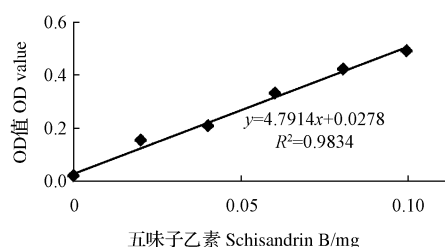


图2 北五味子木脂素含量测定标准曲线

Fig. 2 Standard curve of lignans content of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill

1.2.3 PAL的提取及活性的测定 PAL的提取:将2 g样品在冷冻研钵中,加5 mL 0.1 mol 硼酸缓冲液(内含1.0 mmol/L的EDTA- Na_2 , 5%甘油, 5%聚乙烯吡咯烷酮)研磨匀浆,6 000 r/min离心20 min,取上清液为供试酶液,4℃保存备用。PAL活性测定:检测反应液组成:总体积5 mL,包括0.1 mol 硼酸缓冲液1 mL, 0.2 mol L-苯丙氨酸1 mL,酶样1 mL,蒸馏水2 mL,空白以1 mL蒸馏水代替L-苯丙氨酸。在30℃恒温水浴下保温60 min,加0.2 mL 6 mol/L的盐酸终止反应,测定管中反应液290 nm吸收值 A_{290} 。采用紫外分光光度法测定PAL活性^[16]。结果计算:以测定管反应液每小时增加0.01为一个酶活性单位(U),PAL活性可用下式计算,

PAL活性(U/g FW) = $A_{290} V_T / 0.01 V_S W_t$ 。式中, V_T 为酶液总体积(mL); V_S 为测定时取酶液的量(mL); W 为样品鲜重(g); t 为反应时间(h)。

2 结果与分析

2.1 乙烯利和 ABA 对五味子总木脂素含量的影响

从图3可以看出,果实中总木脂素含量从转色期至成熟期呈增加的变化趋势。8月23日至9月2日总木脂素含量增加不显著,CK由13.41 mg/g增加到18.33 mg/g,乙烯利处理和ABA处理分别增加至19.67 mg/g和20.01 mg/g,与CK间无显著差异;9月2日至9月12日总木脂素含量增加显著,CK由18.33 mg/g增加到28.07 mg/g,处理与CK间差异显著,乙烯利处理和ABA处理分别增加至31.18、32.31 mg/g,处理间差异不显著。乙烯利处理和ABA处理显著提高了北五味子果实总木脂素含量。

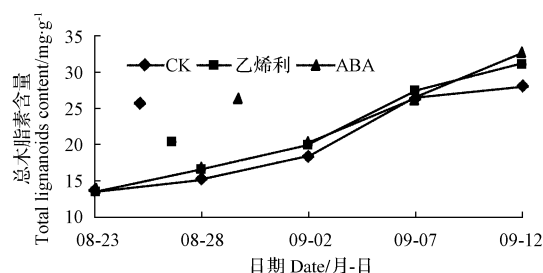


图3 乙烯利和 ABA 对总木脂素含量的影响

Fig. 3 Effect of ethephon and ABA of total lignanoids content

2.2 乙烯利和 ABA 对五味子 PAL 活性的影响

PAL是木脂素生物合成的第一个酶,PAL活性高低对北五味子木脂素的生物合成起重要作用。由图4可以看出,自8月23日转色期开始至成熟期9月12日,PAL活性呈增加的变化趋势。8月23日至9月2日PAL活性增加不显著,由16.11 $\text{U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到17.22 $\text{U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,处理与CK间无显著差异;9月2日至9月12日PAL活性增加显著,CK由17.22 $\text{U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$

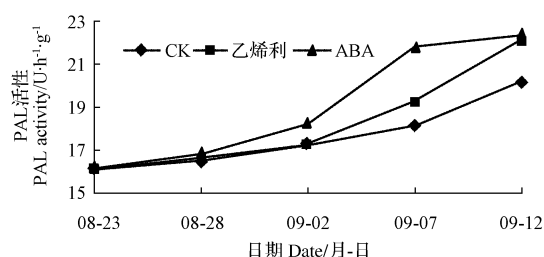


图4 乙烯利和 ABA 对 PAL 活性的影响

Fig. 4 Effect of ethephon and ABA of the enzyme activity of PAL

$\text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 增加到 $20.21 \text{ U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,随着果实成熟,颜色加深,果皮中 PAL 活性不断增加。乙烯利处理和 ABA 处理分别增加达 22.09 、 $22.36 \text{ U} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$,处理间差异不显著。ABA 处理提高北五味子果实 PAL 活效果优于乙烯利处理。

2.3 木脂素生物合成与 PAL 活性相关分析

从图 5 可以看出,五味子果实转色期至成熟总木脂素的含量变化与 PAL 活性变化呈正相关,为 0.9201 。CK 乙烯利处理和 ABA 处理相关系数分别 0.9648 和 0.9860 。

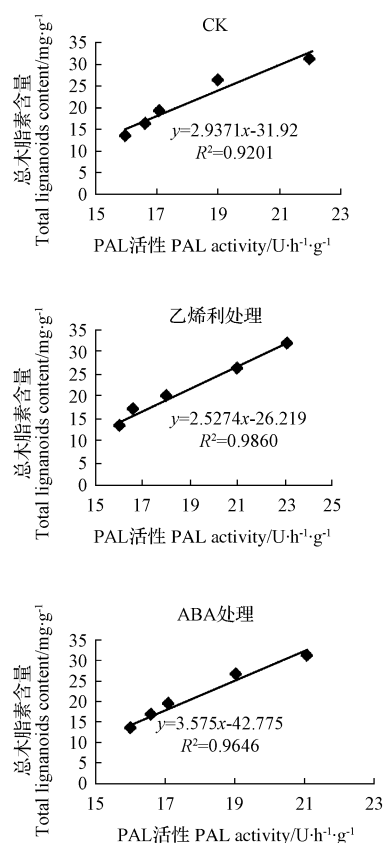


图 5 果实中总木脂素含量与 PAL 活性的相关分析

Fig. 5 Correlation analysis of total lignanoids content and PAL activity

3 结论与讨论

该试验是在北五味子转色期进行植物生长调节剂的处理,探讨乙烯利和 ABA 对北五味子果实木脂素生物合成及对生物合成起催化作用的相关酶苯丙氨酸解氨酶活性的影响。结果表明,在转色期分别用 400 mg/L 乙烯利和 1000 mg/L ABA 处理北五味子果实,对提高木脂素含量及增加 PAL 活性具有一定促进作用。木脂素是北五味子主要的次生代谢产物,目前已经提取分离得到五味子甲素、五味子乙素、五味子醇素、五味子醇乙

等多种单体化合物,是北五味子主要的药用成分。北五味子主要生长在林缘环境,但是目前吉林省、辽宁省、黑龙江省等地的人工栽培主要是裸栽培,改变了原生环境的条件,对五味子的产量及品质具有一定的影响。因此提高品质和产量是人工栽培的首要问题。目前植物生长调节剂及逆境胁迫在提高次生代谢产物合成方面应用较多,如萘乙酸(NAA)、比久(B9)、多效唑(PP₃₃₃)、烯效唑(S3307)、冠菌素(COR)、干旱胁迫、盐碱处理等。该试验仅在参考他人的基础上进行乙烯利和 ABA 处理,仅仅得到 2 种植物生长调节剂果实总木脂素含量的影响,是否对单体木脂素如五味子甲素、五味子乙素等生物合成具有促进作用还待进一步研究。另外,该试验只对北五味子果实木脂素生物合成 PAL 活性进行了测定,还应该进一步探讨 PAL 基因的表达水平,从机理上探讨木脂素生物合成与酶之间的相关关系,这些问题还待进一步研究。

参考文献

- [1] 范美华. 五味子的研究新进展[J]. 西北药学杂志, 2007, 22(5): 281-282.
- [2] 李兴亮, 滕世杰, 才国彬. 五味子组织培养技术初探[J]. 吉林林业科技, 2008, 37(2): 7-10.
- [3] 李泽鸿, 李振华, 张璐, 等. 五味子中营养元素的含量分析[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(6): 1456-1457.
- [4] 赵权, 王军. ABA 和 6-BA 对山葡萄果实着色及相关品质的影响[J]. 江苏农业科学, 2010(2): 189-190.
- [5] 曹永庆, 冷平, 潘烜, 等. 脱落酸在桃果实成熟过程中的作用[J]. 园艺学报, 2009, 36(7): 1037-1042.
- [6] 任杰, 冷平. ABA 和乙烯利与甜樱桃果实成熟的关系[J]. 园艺学报, 2010, 37(2): 199-206.
- [7] 陈昆松, 李方, 张上隆. ABA 和 IAA 对猕猴桃果实成熟进程的调控[J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 81-86.
- [8] 黄胜君. 五味子的生物学特征及栽培技术[J]. 农技服务, 2008, 25(3): 101-102.
- [9] 杨放, 袁军, 付平. 五味子研究概况[J]. 华西药理学杂志, 2003, 18(6): 438-440.
- [10] 赵权. 葡萄酚类物质及其生物合成相关结构基因表达[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010.
- [11] 刘国宇, 陈旭. 五味子木脂素类化学成分及其含量分析方法的研究现状[J]. 黑龙江医药, 2010, 23(2): 228-230.
- [12] 慕芳英, 金美花, 刘仁俊. 五味子果实、藤茎及果柄的成分分析[J]. 延边大学医学学报, 2005, 28(1): 28-29.
- [13] 刘旭, 林森, 赵余庆. 北五味子不同部位总木脂素的含量测定[J]. 中国现代中药, 2009, 11(5): 39-40.
- [14] 程敏, 王露, 宋小妹. HPLC 法测定五味子品种中木脂素含量[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2011, 24(4): 43-46.
- [15] 崔敬爱, 陈晓平. 超临界 CO_2 萃取北五味子木脂素工艺参数的优化[J]. 吉林农业大学学报, 2012, 34(1): 94-98.
- [16] 张治安, 张美善, 尉荣海. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 65-70, 89-90.

金钟花叶的生药鉴别

聂江力, 裴毅

(天津农学院 园艺园林学院, 天津 300384)

摘要:以金钟花(*Forsythia viridissima* Lindl.)为试材,利用植物分类方法鉴定金钟花的原植物,并研究其叶的性状及显微结构,较为系统的描述了金钟花叶的生药性状、显微结构、粉末特征,以为金钟花叶的生药鉴别及进一步开发利用提供参考依据。

关键词:金钟花叶;原植物鉴别;性状鉴别;显微鉴别

中图分类号:R 284.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0158-04

金钟花(*Forsythia viridissima* Lindl.)属木犀科连翘属的落叶灌木,分布于我国中部、西南,为温带花木,性喜温暖、湿润气候,但也很耐寒,喜光,稍耐荫,对土壤要求不严^[1]。金钟花味苦、性凉。既可内服又可外用,其根、叶、果均可入药。有清热解毒、祛湿泻火的作用。主治流行性感胃发热,目赤肿痛,疥疮,筋骨酸痛,颈淋巴结^[2]。金钟花叶的水提取物(FSE)具有体外抗氧化、抗衰老和降血脂作用^[3-4]。目前对金钟花叶的生药鉴别研究尚鲜见报道。由于叶的资源量远远大于其它部分,可以增加药用资源。所以在此仅对金钟花的叶进行生药鉴别研究,以为建立金钟花叶的生药质量标准

奠定科学基础,为金钟花的开发和综合利用提供一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金钟花叶于2013年5月采自天津,利用植物分类方法^[5]鉴定为金钟花(*Forsythia viridissima* Lindl.)的原植物并研究金钟花原植物的形状特征。

供试试剂:蒸馏水、水合氯醛、间苯三酚、盐酸、甘油。供试仪器:光学显微镜(CX21FSI OLYMPUS)、数码相机(Canon Powershot A710IS)。

1.2 试验方法

表皮制片法、徒手制片法、粉末制片法进行显微组织构造和粉末特征的鉴别。气孔指数(%)=单位面积上的气孔数×100/(单位面积上的气孔数+同面积表皮细胞数)^[6]。

第一作者简介:聂江力(1972-),女,辽宁兴城人,博士,副教授,现主要从事植物学与药用植物及植物资源学等教学与科研工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31100401)。

收稿日期:2014-03-13

Effect of Ethephon and Absciscic Acid on the Lignans and PAL Enzyme Activity of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill

MA Feng-xia¹, ZHAO Quan², LIU Guang-na²

(1. Department of Arts and Science, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: Taking *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill as test material, the treatment of 400 mg/L ethephon and 1 000 mg/L ABA were done at veraison in order to study the effect of ethephon and abscisic acid on the lignans and PAL enzyme activity of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill. The results showed that control fruit total lignans and PAL activity showed a trend of increasing from veraison to mature processing, mature fruit total lignans of ethephon and ABA treatments were higher than that of controls by 11.08% and 15.11%. There were no significant differences between treatments and significant difference with control; Fruit PAL activity of CK in mature period was 20.21 U · h⁻¹ · g⁻¹, ethephon and ABA were 22.09 U · h⁻¹ · g⁻¹ and 22.36 U · h⁻¹ · g⁻¹. There were no significant difference between treatment. Ethylene and abscisic acid could promote to increase total lignanoids and the activity of PAL of *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill.

Key words: *Schisandra chinensis* (Turcz) Baill; ethephon; abscisic acid; lignans; PAL enzyme