

几种矿质元素对杜仲叶次生代谢物的影响初探^{*}

张 檀, 白明生^{*}, 刘 丽^{*}, 马希汉, 司守霞^{*}

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 通过对同一立地条件下生长的 40 个杜仲无性系叶中次生代谢物(有效成分)及吸收的 6 种矿质元素的测定, 初步研究了矿质元素主动吸收的差异性及其与次生代谢物含量的关系。结果发现, 不同个体对矿质元素的吸收差异极显著, 从而说明个体生长发育特性(遗传因素)是调控树木吸收矿质元素的重要因素; 对 6 种矿质元素与次生代谢物含量的通径分析结果显示, 镁(Mg)对杜仲叶中 6 种次生代谢物的合成和积累有一定的促进作用, 而锰(Mn)则有负影响作用。

[关键词] 杜仲叶; 次生代谢物; 矿质元素

[中图分类号] S794 901; S759 3

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)01-0119-04

杜仲(*Eucammia ulmoides* Oliv.)是我国特有的经济林树种, 属国家二类珍稀濒危保护植物。杜仲既是传统的上等药材, 又是提取橡胶的工业原料和主要的水土保持树种。杜仲的化学成分很复杂, 近几年来, 国内外研究认为绿原酸、京尼平甙、京尼平甙、桃叶珊瑚甙、总黄酮等次生代谢物是杜仲叶中含量较高的生物活性物质, 杜仲胶是目前正在开发的天然橡胶^[1]。因此, 如何提高杜仲叶中上述次生代谢物的含量, 成为目前亟待解决的问题。有关药用植物中矿质元素分析的研究很多, 但深入探讨药用植物吸收矿质元素的差异性及其与次生代谢物含量关系的研究甚少^[2], 特别是杜仲, 未见有关报道。众所周知, 呼吸作用从糖酵解、三羧酸循环到电子传递与氧化磷酸化, 需要一系列矿质元素参加, 尤其是Mn, Zn, Fe, Cu, Co起着十分重要的作用^[3]。另外, Mg作为叶绿素分子的中心原子, 是若干种酶的专一性活化剂, 而且在植物代谢中也起着重要的作用^[4]。为此, 作者在初步研究的基础上^[5, 6], 测定了杜仲叶中以上 6 种矿质元素, 研究不同无性系对矿质元素吸收的差异性, 并与次生代谢物含量进行了相关分析, 以期为提高杜仲叶中次生代谢物的含量提供有效途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

所用杜仲叶采自原西北林学院杜仲优树汇集

圃, 为同一立地条件下生长的、同一树龄(8年)的 40 个杜仲无性系(从四川、湖南、贵州、陕西等省选择的优良单株, 采用根段无性繁殖方法建立的优树汇集圃), 每一个无性系中, 随机抽取 2 株, 1997-06-15 在树体同一部位(树冠中部)的东南西北 4 个方向分别采集叶片, 杀青(采下叶片后, 立即在烘箱内恒温 95 烘 5 min), 叶片自然风干后备用。

1.2 次生代谢物含量分析方法

总黄酮的提取测定采用硝酸铝-亚硝酸钠比色法^[7]; 杜仲胶的提取测定采用改进的碱浸法^[8]; 绿原酸、京尼平甙、京尼平甙酸及桃叶珊瑚甙的测定采用反相高效液相色谱(HPLC)法^[9]。

色谱条件: 色谱柱为NOVA-pak C₁₈(4 μm, 3 9 mm × 75 mm), 流动相为甲醇—水—冰乙酸(体积比为 10 : 90 : 1), 流速为 1 mL/min, 检测波长 232 nm。

主要仪器为 754 型紫外-可见分光光度计(上海第三分析仪器厂制造); Waters 高效液相色谱系统, 包括 486 紫外检测器, 510 型泵(美国 Milford); XWT-204 型台式自动平衡记录仪(上海大华仪表厂)。主要试剂为桃叶珊瑚甙、京尼平甙和京尼平甙酸(和光纯药工业株式会社, 日本), 芦丁(上海试剂二厂), 绿原酸(德国进口)。

矿质元素由西北农林科技大学中心实验室采用原子吸收分光光度计(日立 180-80 型)分析测定。

^{*} [收稿日期] 2001-06-26

[基金项目] 陕西省科技研究重大项目(97K04-G2)

[作者简介] 张 檀(1957-), 女, 河南延津人, 副教授, 主要从事经济林开发利用的教学和科研工作。

^{*} 白明生现在宁夏大学(银川, 750000)工作; 刘丽现在南京农业大学(南京, 210095)工作; 司守霞现在河南省林业学校(洛阳, 471002)工作。

2 结果与分析

2.1 不同地区和无性系叶中矿质元素含量分析

由表 1 可见, 不同地区间 (F) 或不同无性系间 (F'), 杜仲叶中同一种矿质元素含量存在着显著或极显著差异。由于本研究所测定个体的繁殖方法(根段繁殖)、树龄、生长时期、生长地块及立地条件、经营措施都相同, 土壤有效态矿质元素也基本一致, 故

可以认为, 这种差异是由于他们来自不同的地理环境引起的。在原地区多年的天然杂交、自然选择和人工培育的过程中, 形成了多个在形态、结构、生理生化上具有稳定差异的类型, 从而反映出个体生长发育特性(遗传因素)不同, 对矿质元素的吸收亦不同, 进而表现出各个无性系对矿质元素吸收的差异性。由此可以说明, 个体生长发育特性(遗传因素)是调控植物吸收矿质元素的重要因素。

表 1 不同无性系(叶中)矿质元素的含量与分析

Table 1 The contents of mineral elements in the leaves of different clones and statistical analysis $\mu\text{g/g}$						
无性系 Clones	Cu	Mg	Zn	Fe	Mn	Co
黔 1 Qian 1	4 615	2 375	10 050	332 5	66 65	0 695
黔 9 Qian 9	4 365	2 545	15 250	407 5	70 55	0 415
黔 11 Qian 11	3 775	3 075	14 150	355 5	105 50	0 535
黔 3 Qian 3	4 485	2 815	13 800	367 5	48 65	0 225
黔 8 Qian 8	5 855	2 555	56 650	365 0	64 80	0 470
湘 18 Xiang18	3 750	3 405	32 650	337 5	60 65	0 475
湘 16 Xiang16	3 775	2 125	9 875	377 5	40 65	0 520
湘 3 Xiang 3	6 240	2 320	32 000	331 5	94 15	0 510
湘 15 Xiang 15	5 390	2 140	36 050	313 0	51 00	0 320
湘 5 Xiang 5	8 115	3 115	60 250	434 0	58 15	0 630
湘 11 Xiang 11	5 510	3 065	39 050	272 5	34 15	0 465
略 50 Lue 50	7 130	2 315	23 300	402 5	129 00	0 815
略 51 Lue 51	5 275	3 290	17 900	395 5	100 25	0 325
略 9 Lue 9	4 615	3 065	20 400	311 5	49 90	0 775
略 24 Lue 24	4 365	2 415	15 750	467 5	80 36	0 730
略 14 Lue 14	4 240	2 915	68 150	371 0	94 15	0 355
略 49 Lue 49	6 365	3 055	20 900	341 0	151 00	0 155
略 1 Lue 1	3 140	3 140	10 650	147 5	111 00	0 135
略 43 Lue 43	5 365	3 925	17 300	139 0	165 50	0 180
略 41 Lue 41	9 615	1 890	11 250	322 5	69 65	0 260
略 10 Lue 10	3 500	2 855	14 650	147 5	35 40	0 145
略 25 Lue 25	3 115	3 140	18 750	301 5	131 00	0 470
略 27 Lue 27	3 250	2 950	16 000	331 5	80 00	0 310
略 23 Lue 23	2 890	2 455	20 900	190 0	58 15	0 140
略 0 Lue 0	2 640	3 075	14 250	275 0	113 00	0 175
略 11 Lue 11	2 250	2 990	50 250	199 0	75 90	0 145
略 28 Lue 28	3 390	3 955	20 750	294 0	102 00	0 375
略 2 Lue 2	2 615	2 115	20 500	180 0	56 75	0 215
略 8 Lue 8	5 140	3 315	23 600	254 0	159 50	0 155
略 45 Lue 45	3 240	2 415	13 050	331 5	51 75	0 145
略 39 Lue 39	3 630	2 940	28 150	285 0	83 50	0 160
略 33 Lue 33	2 390	2 125	17 900	237 5	53 85	0 140
略 16 Lue 16	2 640	1 990	24 500	400 0	114 00	0 165
略 7 Lue 7	5 140	2 890	32 500	370 0	142 00	0 185
略 3 Lue 3	3 500	2 155	12 500	143 0	93 25	0 140
灌 3 Guan 3	5 515	2 815	23 900	296 0	92 75	0 455
灌 2 Guan 2	4 390	2 315	15 000	197 5	37 90	0 125
灌 9 Guan 9	4 740	3 315	23 750	351 0	71 00	0 280
灌 1 Guan 1	4 390	3 515	26 000	342 5	170 50	0 315
灌 10 Guan 10	4 390	2 675	20 900	298 5	70 05	0 230
F	2 958*	2 900*	2 913*	3 247*	2 887*	2 980*
F'	60 988**	25 088**	173 856**	56 081**	151 335**	300 000**

注(Notes): $F_{0.05}(3, 36) = 2.86, F_{0.01}(3, 36) = 4.38; F'_{0.01}(36, 40) = 2.22, F'_{0.05}(36, 40) = 1.74$

2.2 杜仲叶中次生代谢物含量与矿质元素的相关分析

通径分析方法是数量遗传学中的重要数学方法之一, 已广泛应用于其他领域因果机理的分析中, 通径分析对决定因子的识别更加准确实际, 故本研究采用通径分析方法对杜仲叶中的矿质元素(表 1)与各次生代谢物含量(表 2)的关系进行了分析。由表 2 可见, 各地区 (F) 和各无性系 (F') 间的次生代谢物含量, 均达到极显著差异。

表 2 不同无性系(叶中) 次生代谢物的含量与分析

Table 2 The contents of secondary metabolites in the leaves of different clones and statistical analysis mg/g						
无性系 Clones	京尼平貳酸 Geniposidic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	京尼平貳 Geniposide	桃叶珊瑚貳 Aucubin	总黄酮 Flavonoids	杜仲胶 Gutla-percha
黔 1 Q ian 1	0.67	20.12	0.48	12.28	15.67	13.0
黔 9 Q ian 9	1.82	28.52	1.09	26.76	15.23	20.7
黔 11 Q ian 11	0.82	20.61	0.51	23.03	22.17	32.0
黔 3 Q ian 3	0.73	16.00	0.45	17.41	15.93	32.5
黔 8 Q ian 8	0.80	14.33	0.26	32.95	16.87	21.0
湘 18 Xiang 18	1.26	25.71	0.83	18.19	14.10	24.9
湘 16 Xiang16	0.92	16.52	0.45	14.09	13.03	32.8
湘 3 Xiang 3	1.07	23.47	0.44	13.01	23.93	19.9
湘 15 Xiang 15	1.06	17.73	0.46	22.85	11.90	29.9
湘 5 Xiang 5	1.25	24.64	0.57	13.35	17.35	28.7
湘 11 Xiang 11	0.98	23.06	0.77	11.62	27.70	34.7
略 50 Lue 50	0.61	13.90	0.39	12.46	12.37	24.9
略 51 Lue 51	1.13	16.00	0.28	22.44	9.43	26.9
略 9 Lue 9	1.63	32.08	1.20	19.93	32.20	12.5
略 24 Lue 24	0.80	17.97	0.33	15.56	15.97	24.9
略 14 Lue 14	1.07	22.34	0.41	16.75	22.37	30.6
略 49 Lue 49	0.46	12.74	0.38	10.79	10.23	13.4
略 1 Lue 1	0.92	40.74	0.52	39.82	36.63	35.7
略 43 Lue 43	0.64	13.10	0.40	14.93	11.37	21.9
略 41 Lue 41	0.95	20.91	0.85	21.00	18.23	29.8
略 10 Lue 10	0.74	26.76	0.92	21.22	34.50	19.9
略 25 Lue 25	0.87	22.73	0.77	17.37	29.57	19.8
略 27 Lue 27	1.23	28.02	0.82	14.35	16.03	30.5
略 23 Lue 23	0.89	17.79	0.53	40.50	20.57	28.8
略 0 Lue 0	1.02	39.42	0.98	25.86	33.93	20.0
略 11 Lue 11	1.10	35.18	1.12	19.48	28.93	24.5
略 28 Lue 28	0.67	20.02	0.41	19.28	15.97	17.6
略 2 Lue 2	0.52	13.34	0.52	20.23	23.60	30.2
略 8 Lue 8	0.79	11.50	0.39	0.99	9.97	24.9
略 45 Lue 45	0.88	38.67	0.82	15.15	25.50	24.0
略 39 Lue 39	0.95	24.01	0.50	27.83	27.30	19.4
略 33 Lue 33	0.88	33.36	0.86	19.84	26.10	18.4
略 16 Lue 16	0.67	14.54	0.70	21.15	11.47	18.8
略 7 Lue 7	0.52	20.42	0.39	23.12	24.30	24.3
略 3 Lue 3	0.66	15.85	0.66	30.66	18.90	20.6
灌 3 Guan 3	1.22	27.68	0.61	13.08	23.38	23.5
灌 2 Guan 2	0.37	43.00	1.18	23.19	44.97	17.6
灌 9 Guan 9	0.71	9.34	0.35	21.77	23.60	22.8
灌 1 Guan 1	0.88	21.74	1.45	21.37	24.30	23.6
灌 10 Guan 10	0.65	19.86	0.74	12.84	11.90	18.1
F	44.855**	7.50**	43.40**	86.00**	130.67**	219.59**
F'	30.364**	14.61**	41.41**	94.45**	114.25**	129.71**

注(Notes): $F_{0.01}(3, 40) = 4.38$; $F_{0.01}(36, 40) = 2.17$.

表 3 各矿质元素与次生代谢物含量的通径分析

Table 3 Path Analysis of mineral elements and the contents of secondary metabolites						
矿质元素 Mineral elements	总影响(通径系数) Total effect (path coefficient)					
	京尼平貳酸 Geniposidic acid	绿原酸 Chlorogenic acid	桃叶珊瑚貳 Aucubin	京尼平貳 Geniposide	黄酮 Flavonoids	杜仲胶 Gutla-percha
Mg	0.2477	0.1063	0.1111	0.0537	0.0664	0.0383
Mn	- 0.3221	- 0.3081	- 0.0914	- 0.1664	- 0.2290	- 0.1962
Zn	0.1194	- 0.0117	0.0317	- 0.0683	0.0539	0.1373
Fe	0.1581	- 0.1552	- 0.1475	- 0.1365	- 0.4497	0.6681
Cu	- 0.0827	- 0.2134	- 0.2029	- 0.1634	- 0.1715	0.0942
Co	0.2292	- 0.0141	- 0.1603	- 0.0005	0.0887	- 0.1396

由表 3 中的通径分析结果发现,Mg 对黄酮、京尼平貳酸、京尼平貳、桃叶珊瑚貳、绿原酸和杜仲胶的含量均产生正影响,从而可以认为Mg 对杜仲叶中上述 6 种次生代谢物的合成和积累有一定的促进作用,而Mn 有负影响作用(其原因有待进一步研究)。

3 结论与讨论

杜仲不同无性系(叶中)的矿质元素含量差异极显著,从而说明树木的个体生长发育特性(遗传因素)是调控杜仲吸收矿质元素的重要因素;通过途径分析发现,Mg与各次生代谢物含量关系呈正相关。Mg是以离子状态进入植物体的,在体内一部分形成有机化合物,一部分以离子状态存在。Mg是叶绿素的成分,是叶绿素分子的中心原子,故它与光合作用关系密切;Mg是许多酶(如葡萄糖激酶、果糖激酶、半乳糖激酶、磷酸戊糖激酶、乙酰辅酶A合成酶、谷氨酰半胱氨酸合成酶、琥珀酰辅酶A合成酶等)的活化剂,故与碳水化合物的转化和降解以及氮代谢有关;Mg还是核糖核酸聚合酶的活化剂,DNA和RNA的合成,以及蛋白质合成中氨基的活化过

程都需Mg的参加,Mg为蛋白质合成所必需的核糖亚单位联合作用提供一个桥接元素^[4],因此,Mg在核酸和蛋白质代谢中起着重要作用,而这些初级代谢的速率及途径会直接影响次级代谢。由于Mg对乙酰辅酶A合成酶有活化作用,而乙酰辅酶A是糖酵解与三羧酸循环的一个连接环节,也是次级代谢的关键底物,称为“代谢钮”,它是次生代谢中黄酮类化合物、萜类化合物和橡胶等的起始物;另外,由于Mg是核糖核酸聚合酶的活化剂,大多数ATP酶的底物是Mg·ATP,而ATP与丙酮酸合成磷酸烯醇式丙酮酸,磷酸烯醇式丙酮酸和4-磷酸赤藓糖合成莽草酸,而莽草酸又是黄酮类化合物和苯丙基类化合物的起始物。所以,Mg直接影响次生代谢作用中的乙酰辅酶A途径和莽草酸途径,从而促进了杜仲叶中上述6种次生代谢物的合成和积累。

[参考文献]

- [1] 张康健,张 檀. 中国神树——杜仲[M]. 北京: 经济管理出版社, 1997. 149- 151.
- [2] 吴炳辅,崔万钧. 中药中微量元素研究的现状和展望[J]. 中草药, 1986, 17(4): 38- 42.
- [3] 刘 铮. 矿质元素的农业化学[M]. 北京: 农业出版社, 1991. 62- 78.
- [4] [德]H·马斯纳. 高等植物的矿质营养[M]. 曹一平, 陆景陵, 易小琳, 等译. 北京: 北京农业大学出版社, 1991. 143- 148.
- [5] 张康健, 马希汉, 马 梅, 等. 杜仲叶次生代谢物生长积累动态的研究[J]. 林业科学, 1999, 35(2): 15- 20.
- [6] 张康健, 王亚琴, 马希汉, 等. 杜仲叶次生代谢物生态学研究初报[J]. 林业科学, 1999, 35(6): 28- 34.
- [7] 冯 煦, 李鸿英. 北柴胡与烟柴胡黄酮成分的比较研究[J]. 中草药, 1990, 21(8): 5- 6.
- [8] 马柏林, 王 蓝, 张康健, 等. 杜仲胶实验室提取方法的研究[J]. 西北林学院学报, 1994, 9(4): 67- 69.
- [9] Takahashi T, Matsumoto N, Oshio H. The ability of bio-active components in the bark of *Eucommia ulmoides*: *Eucommia cortex*[J]. *Shoyakugaku Zasshi*, 1998, 42(2): 111- 115.

Influence of the mineral elements on secondary metabolites of *Eucommia ulmoides* leaves

ZHANG Tan, BAIM ing-sheng*, LIU Li*, MA Xi-han, SHOU-xia*

(College of Forestry, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract Through determining the contents of secondary metabolites (bioactive constituents) and 6 mineral elements in the leaves of 40 different clones growing in the same site type, we have studied the differences of the active absorption of the elements and their relationship with the contents of metabolites. It has been found that great differences exist among the individuals in the ability of actively absorbing mineral elements, indicating that the growth features of individuals (genetic factors) are important factors in regulating the absorption of mineral elements. Path analysis on the mineral elements and the contents of metabolites shows that Mg can promote the synthesis and accumulation of metabolites. Mn plays a negative function in the metabolism process.

Key words: leaves of *Eucommia ulmoides* (Du Zhong); secondary metabolites; mineral elements