

长叶榧叶片次生代谢产物含量分析

李钧敏, 金则新*, 周 杨

(台州学院 生态研究所, 浙江 临海 317000)

摘 要:对分布在浙江省境内的桐庐、松阳、浦江、仙居等 4 个样地的长叶榧(*Torreya jackii*)1 年生叶片中的鞣质、生物碱、黄酮、游离蒽醌、绿原酸、皂甙、总酚等 7 种次生代谢产物的含量进行测定分析。结果显示,不同样地长叶榧 1 年生叶片 7 种次生代谢产物总量以松阳的最高,仙居最低,其顺序为松阳>浦江>桐庐>仙居。不同样地长叶榧叶片的 7 种次生代谢产物的含量差异较大,总鞣质、总生物碱、总皂甙、总酚的含量以松阳的最高,总黄酮、游离蒽醌的含量以仙居的最高,总绿原酸的含量以浦江的最高。不同样地 7 种次生代谢产物含量的相关性不高。系统聚类分析显示,桐庐和浦江样地的地理位置最近,它们先聚在一起,再与其他样地相聚。

关键词:长叶榧;叶片;次生代谢产物;含量

中图分类号:Q946.8

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2007)02-0123-04

An Analysis on the Secondary Metabolite Contents in the Leaves of *Torreya jackii*

LI Jun-min, JIN Ze-xin*, ZHOU Yang

(Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000, China)

Abstract: The contents of seven secondary metabolites, such as tannins, flavonoids, alkaloids, anthraquinones, chlorogenic acid, saponins, phenols, in the leaves of *Torreya jackii* collected from different areas (Tonglu, Songyang, Pujiang and Xianju) in Zhejiang Province was determined and analyzed. The results showed that the total contents of seven secondary metabolites in the leaves from Songyang were the highest, and those in the leaves from Xianju was the lowest. The contents decreased in the order of Songyang, Pujiang, Tonglu and Xianju. Differences existed in the contents of the seven secondary metabolites from different areas. The contents of tannins, alkaloids and saponins in the leaves from Songyang were the highest, while the contents of flavonoids and anthraquinones in the leaves from Xianju were the highest and the content of chlorogenic acid in the leaves from Pujiang was the highest. There was little correlation among the content of seven secondary metabolites from different areas. Systematic cluster analysis showed that Tonglu and Pujiang with the lowest geographical distance were clustered together first, then the others clustered.

Key words: *Torreya jackii*; leaf; secondary metabolite; content

长叶榧(*Torreya jackii*)隶属于红豆杉科(Taxaceae)、榧树属,为我国特有的珍稀树种,距今约有 2 亿年的历史。长叶榧最早发现于浙江省仙居县,秦仁昌教授于 1924 年 6 月在仙居县南部的陈庄村采到模式标本,1925 年模式标本经我国著名植物分类学家陈焕镛教授定名为长叶榧并发表。长叶榧在研究植物区系分布、植物分类学、生物多样性保护等方面

有重要意义^[1]。目前长叶榧资源很少,分布范围十分狭窄,仅分布于浙江和福建等少数地区,已列为国家 2 级重点保护植物。从该种被发现至今的 80 多年来,对长叶榧的研究主要集中于资源及群落学特征^[2,3]、叶精油的化学成分、药理作用及抗菌作用等几个方面^[4-6]。有关长叶榧叶片的次生代谢产物含量的测定至今还未见报道。

收稿日期:2006-07-31 修回日期:2006-09-30

基金项目:浙江省自然科学基金项目(Y505331)、浙江省教育厅科研项目(20040287)

作者简介:李钧敏(1973-),女,浙江临海人,副教授,在读博士,主要从事分子生态学研究。

* 通讯作者:金则新(1960-),男,浙江临海人,教授,主要从事植物生态学研究。

植物次生代谢产物是指植物体中一大类并非生长发育所必需的小分子有机化合物,其产生和分布通常有种类、器官、组织和生长发育期的特异性。植物的次生代谢产物在维护植物自身的生存和发展中具有重要作用,可提高植物对环境的适应性、抵御天敌的侵袭、增强抗病性、提高植物种间竞争能力、维系植物与其他生物间的互惠关系等^[7]。次生代谢产物从化学结构上可分为酚类化合物(包括鞣质、黄酮、绿原酸等)、萜类化合物(挥发油)和含 N 有机物(生物碱)3 大类。植物的活性成分常集中在鞣质、黄酮、绿原酸、生物碱、蒽醌、皂甙等次生代谢产物中。研究通过比较不同样地长叶榧叶片的总鞣质、总生物碱、总黄酮、游离蒽醌、总绿原酸、总皂甙、总酚等 7 种次生代谢产物的含量,阐明次生代谢产物分布的地理特征,寻找具有开发前景的次生代谢产物,为

合理开发利用长叶榧资源提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料于 2005 年 7 月采自浙江省桐庐(TL)、松阳(SY)、浦江(PJ)、仙居(XJ)等 4 个样地(表 1)。选取生长正常的长叶榧植株,采集 1 年生叶片,用保鲜袋封装,立即带回实验室。将材料洗净,自然风干,105℃杀青 5 min,75℃干燥至恒重,研磨后经过 0.25 mm 金属网筛,将烘干样品放入磨口广口瓶,置于干燥器中保存,备用^[8]。

标准品芦丁、没食子酸、绿原酸、小檗碱、3,5-二羟基蒽醌、人参皂甙 Re 购自中国药品生物制品检定所,纯度≥98%。

表 1 长叶榧不同样地的环境条件

Table 1 Environmental conditions of different *T. jackii* plots

样地	地点	地理位置	海拔/m
桐庐(TL)	浙江省桐庐县芦茨白云源森林公园	29°41'N, 119°42'E	120
松阳(SY)	浙江省松阳县安民乡小苏坑	28°16'N, 119°24'E	300
浦江(PJ)	浙江省浦江县三角潭林场	29°39'N, 119°50'E	340
仙居(XJ)	浙江省仙居县淡竹乡龙潭坑	28°34'N, 120°35'E	350

1.2 方法

1.2.1 次生代谢产物含量的测定 总鞣质、总生物碱、总黄酮、游离蒽醌、总绿原酸、总皂甙、总酚等 7 种次生代谢产物的含量参照文献^[9~15]测定,其中总鞣质采用滴定法测定,而其余 6 种次生代谢产物均采用比色法在岛津 UV-2401PC 紫外分光光度计上测定。分别以各类标准品为标样,制定标准曲线,得回归方程(表 2)。

表 2 各类次生代谢产物的回归方程

Table 2 The regression curve of the secondary metabolites

次生代谢产物	标准品	回归方程	相关系数(r)
鞣质	没食子酸	$y=0.0181x+0.6881$	0.9995
生物碱	小檗碱	$y=0.0048x+0.0057$	0.9986
黄酮	芦丁	$y=0.0154x-0.0045$	0.9969
游离蒽醌	3,5-二羟基蒽醌	$y=0.0256x-0.0006$	0.9994
绿原酸	绿原酸	$y=11.55x-0.0468$	0.9984
皂甙	人参皂甙 Re	$y=0.0181x+0.0002$	0.9999
总酚	没食子酸	$y=0.0498x-0.0050$	0.9931

次,取平均值。平均值及标准差采用 Excel 软件计算,单因素方差分析(analysis of variance, ANOVA)、Duncan 新复极差法检验、相关系数、系统聚类分析均采用 DPS 统计软件^[16]完成。

2 结果与分析

2.1 不同样地长叶榧叶片次生代谢产物含量

从 7 种次生代谢产物总量来看,其高低顺序为 SY>PJ>TL>XJ,其总含量与海拔高度之间相关不显著($P>0.05$)。不同样地长叶榧的叶片鞣质、生物碱、黄酮、游离蒽醌、绿原酸、皂甙、总酚含量之间具有显著性差异, F 值分别为 5.698($P<0.05$)、60.541($P<0.01$)、10.030($P<0.01$)、178.945($P<0.01$)、87.356($P<0.01$)、36.575($P<0.01$)、113.199($P<0.01$)。鞣质、生物碱及皂甙的含量均以 SY 最高,PJ 次之,XJ 最低;黄酮和游离蒽醌的含量均以 XJ 最高,SY 次之,TL 最低;绿原酸含量则是 PJ 最高,XJ 次之,SY 最低;总酚含量以 SY 最高,PJ 次之,XJ 最低。经 Duncan 新复极差法检验,显示不同样地长叶榧 7 种次生代谢产物之间具有一定的差异(表 3)。

1.2.2 数据处理 试验处理及数据测定均重复 3

表 3 不同样地长叶榧叶片次生代谢产物含量

Table 3 The contents of secondary metabolites in the leaves of <i>T. jackii</i> from different plots								/%
样地	鞣质	生物碱	黄酮	游离蒽醌	绿原酸	皂甙	总酚	合计
TL	1.766 0±	0.755 7±	0.736 8±	0.103 8±	0.439 7±	2.400 5±	24.959 2±	31.161 7
	0.211 0 ^{abA}	0.111 3 ^{bB}	0.037 4 ^{bB}	0.004 1 ^{dC}	0.007 4 ^{bB}	0.224 3 ^{cC}	1.336 3 ^{bB}	
SY	2.226 4±	0.961 2±	0.876 9±	0.153 1±	0.410 9±	2.957 2±	30.938 8±	38.524 5
	0.138 1 ^{aA}	0.133 7 ^{aA}	0.041 5 ^{aAB}	0.002 0 ^{cB}	0.001 2 ^{cC}	0.086 2 ^{aA}	1.250 7 ^{aA}	
PJ	1.812 0±	0.823 0±	0.826 6±	0.139 3±	0.461 5±	2.437 8±	25.551 0±	32.051 2
	0.138 1 ^{abA}	0.103 1 ^{bB}	0.033 3 ^{abAB}	0.005 4 ^{bB}	0.005 3 ^{aA}	0.189 2 ^{cdC}	0.799 1 ^{bB}	
XJ	1.743 0±	0.894 2±	0.982 1±	0.182 9±	0.458 0±	2.716 8±	19.102 0±	26.079 0
	0.069 1 ^{bA}	0.048 2 ^{aA}	0.084 1 ^{aA}	0.007 9 ^{aA}	0.002 1 ^{aA}	0.083 7 ^{abAB}	0.220 8 ^{cC}	

注:采用 Duncan 新复极差法检验进行同一次生代谢产物不同器官间的多重比较,不同小写字母之间具有显著性差异, $\alpha=0.05$,不同大写字母之间具有极显著差异, $\alpha=0.01$ 。

2.2 长叶榧叶片次生代谢产物含量的相关性分析

酚类化合物主要是通过苯丙基类生物合成途径合成的^[17,18],而生物碱则来源于苯丙氨酸/酪氨酸等氨基酸合成途径;另外,酚类化合物和蒽醌也可以通过醋酸酯—丙二酸酯途径合成;因此,对不同样地

长叶榧酚类化合物(包括黄酮、鞣质、绿原酸、总酚)、生物碱、蒽醌 6 种次生代谢产物的含量进行相关性分析(表 4),仅黄酮与游离蒽醌之间具有极显著相关性,其他次生代谢产物之间的相关性不显著。

表 4 长叶榧叶片 6 种次生代谢产物含量的相关性

Table 4 The correlation among the contents of secondary metabolites in the leaves of <i>T. jackii</i>						
	鞣质	生物碱	黄酮	游离蒽醌	绿原酸	总酚
鞣质	—					
生物碱	0.737 4	—				
黄酮	0.079 4	0.731 8	—			
游离蒽醌	0.120 4	0.757 5	0.995 2 ^{**}	—		
绿原酸	-0.886 2	-0.499 3	0.150 5	0.148 5	—	
总酚	0.853 7	0.297 8	-0.424 5	-0.370 9	-0.798 8	—

** 极显著相关。

2.3 长叶榧叶片次生代谢产物含量的系统聚类分析

对 4 个样地长叶榧叶片的 7 种次生代谢产物含量进行标准化转换后,计算欧氏距离,以类平均法进行系统聚类分析(图 1)。从图中可知,TL 和 PJ 的地理位置最近,其叶片的次生代谢产物含量也最接近,它们最先聚成一类,再与 XJ 样地相聚,最后与 SY 样地聚在一起。

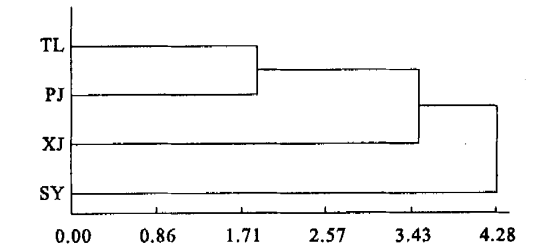


图 1 长叶榧叶片 7 种次生代谢产物含量的系统聚类分析
Fig. 1 Systematic cluster analysis of the contents of 7 secondary metabolites in the leaves of *T. jackii*

3 结论与讨论

同种植物,由于所处的的生长环境不同,对环境

将会产生不同的反应。植物对所处生境的反应不仅体现在外部形态上,在代谢水平上也有反应,也就是环境不同会导致其所含的化学成分产生差异^[19]。研究结果表明,不同样地长叶榧 1 年生叶片 7 种次生代谢产物总量的较大差异,松阳样地最高,仙居样地最低,表明不同生境对次生代谢产物的形成有一定的影响。不同样地长叶榧叶片的 7 种次生代谢产物的含量差异较大,鞣质、生物碱、皂甙、总酚的含量以松阳样地最高,黄酮、游离蒽醌的含量以仙居样地最高,绿原酸的含量以浦江样地最高。系统聚类分析显示,桐庐和浦江样地的地理位置最近,所处的环境比较相似,次生代谢产物的含量比较一致,因此它们先聚在一起,再与其他样地相聚。这些都说明了植物的次生代谢受不同地理环境因子影响较大,虽然本研究中的 4 个居群海拔高度差异不大,在 120~350 m。次生代谢产物总量与海拔高度之间没有相关性,但不同样地其气候以及土壤等生境因子不同,这些都可影响次生代谢产物的合成和积累,因此,不同样地的长叶榧叶片次生代谢产物的含量各不相同,表明生态因素也是调节次生代谢产物的重要因素。

参考文献:

- [1] 高兆蔚. 我国特有树种长叶榧的生物学特性与保护问题研究[J]. 生物多样性, 1997, 5(3): 206-209.
- [2] 金水虎, 丁炳扬, 于明坚. 浙江省长叶榧资源及群落学特征[J]. 浙江林学院学报, 2002, 19(1): 27-30.
- [3] 王昌腾. 浙江省野生长叶榧资源现状及保护对策[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(3): 432-450.
- [4] 施小芳, 袁湘宁, 柯瑞荣. 长叶榧叶精油化学成分初步研究[J]. 福建林学院学报, 1989, 9(1): 85-88.
- [5] 陈振德, 郑汉臣, 田美兰, 等. 长叶榧叶挥发油成分分析及其抗菌作用研究[J]. 第二军医大学学报, 1998, 19(2): 150-153.
- [6] 陈仁通, 张与欢. 长叶榧叶中对人体 DNA 多聚酶 β 的抑制成分[J]. 中草药, 1997, 28(12): 707-710.
- [7] 董妍玲, 潘学武. 植物次生代谢研究简介[J]. 生物学通报, 2002, 37(11): 17-19.
- [8] 何维明, 钟章成. 绞股蓝种群次生代谢产物的动态及其生态学意义[J]. 云南植物研究, 1998, 20(4): 434-438.
- [9] 王璐, 王晓, 施大文. 中药锁阳鞣质含量的测定[J]. 上海医科大学学报, 1996, 23(2): 150.
- [10] 庄高平, 虞杏英, 更生, 等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. 中草药, 1992, 23(3): 122-124.
- [11] 李惠芬, 卢继新, 张晓梅, 等. 五种不同产地天仙子总生物碱的含量分析[J]. 中草药, 1999, 30(8): 582-583.
- [12] 陈红红, 黄丽玫. 德庆等地巴戟天中蒽醌及多糖的含量测定[J]. 广东药学院学报, 2002, 6(2): 103-105.
- [13] 邢俊波, 李萍, 温德良. 不同物候期金银花中总绿原酸的积累动态研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 456-459.
- [14] 宋永良. 复方乳鸽胶囊中绞股蓝总皂甙含量测定[J]. 浙江中医学院学报, 2002, 26(3): 77.
- [15] 张军, 杨庆凯, 王守义, 等. 大豆抗 SCN3 过程中总酚含量动态分析[J]. 大豆科学, 2002, 21(1): 71-74.
- [16] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- [17] 杜丽娜, 张存莉, 朱玮, 等. 植物次生代谢合成途径及生物学意义[J]. 西北林学院学报, 2005, 20(3): 150-155.
- [18] Rasnussen S, Dixon R A. Transgene-mediated and elicitor-induced perturbation of metabolic channeling at the entry point into the phenylpropanoid pathway[J]. Plant Cell, 1999, 11(8): 1537-1551.
- [19] 曾波, 钟章成. 四川大头茶黄酮类化合物的聚酰胺薄膜层析分析[J]. 植物生态学报, 1997, 21(1): 90-96.

(上接第 84 页)

参考文献:

- [1] 李振郁. 沙棘的生物学与生态学特性[J]. 细胞植物学报, 2000, 20(5): 892-897.
- [2] 赵汉章. 俄罗斯沙棘育种概况与我国沙棘育种现状和展望[J]. 世界林业研究, 1997, (2): 65-71.
- [3] 黄铨, 赵汉章, 王博英, 等. 蒙古的沙棘开发利用与研究[J]. 沙棘, 1990, (2): 43-46.
- [4] 黄铨, 刘明虎. 关于沙棘栽培中的适地适树问题[J]. 沙棘, 1999, 12(3): 17-19.
- [5] 黄铨. 对沙棘引种栽培问题的思考[J]. 沙棘, 2001, 14(4): 2-4.
- [6] 黄铨. 沙棘造林规划的几个问题[J]. 沙棘, 2000, 13(4): 1-5.
- [7] 黄铨. 再谈沙棘栽培的几个问题[J]. 沙棘, 2002, 15(3): 10-12.
- [8] 赵汉章. 沙棘遗传改良研究与生态经济型灌木树种育种策略[J]. 沙棘, 1998, 11(4): 6-9.
- [9] 赵汉章. 沙棘良种繁育基地建立方法浅议[J]. 沙棘, 1999, 12(1): 8-10.
- [10] 王久伟, 罗玉亮, 邢亚娟. 俄罗斯大果沙棘栽培价值及实生苗育苗技术[J]. 延边大学农学报, 2003, 25(1): 20-24.
- [11] 罗红梅, 王志刚, 刘明虎, 等. 干旱沙漠地区沙棘硬枝扦插试验[J]. 沙棘, 2000, 13(2): 11-12.
- [12] 邢亚娟, 黄福伦, 罗玉亮, 等. 俄罗斯大果沙棘无性繁殖技术的研究[J]. 植物研究, 2002, 22(4): 231-235.
- [13] 马研, 周世明. 无刺大果沙棘优良无性系嫩枝扦插试验[J]. 辽宁农业科学, 2001, (2): 54-封 3.
- [14] 李明杰, 刘素芳, 张发. 大果无刺沙棘扦插育苗技术试验研究[J]. 中国水土保持研究, 1998, 5(3): 139-142.
- [15] 吕月玲, 张广军, 康冰. 俄罗斯大果沙棘离体快繁研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(5): 405-407.
- [16] 康冰, 张广军, 吕月玲, 等. 俄罗斯大果沙棘组织培养技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(6): 162-166.
- [17] 史玉群. 全光照喷雾嫩枝扦插育苗技术[M]. 北京: 中国林业出版社. 2001. 78-84.