

## 外源激素影响杜仲叶中次生代谢物含量的研究

何文广<sup>1</sup>, 苏印泉<sup>1\*</sup>, 徐咏梅<sup>2</sup>, 任 钊<sup>1</sup>, 张付远<sup>3</sup>, 彭金年<sup>4</sup>

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 沈阳宜事达化工有限公司, 辽宁 沈阳 110117;

3. 江西高峰生态农林开发有限公司, 江西 赣州 341800; 4. 赣南医学院药理学系, 江西 赣州 341000)

**摘要:**通过在杜仲叶面喷施 ABT 生根粉和赤霉素, 研究其对杜仲叶中次生代谢物京尼平甙酸、绿原酸、总黄酮、杜仲胶含量的影响。结果表明: ABT 生根粉处理后, 杜仲叶中京尼平甙酸的含量在较长时间段内增加, 增加幅度超过了 9%; 绿原酸、总黄酮和杜仲胶的含量减少, 减少幅度较大。赤霉素在不同的时期, 对杜仲叶中京尼平甙酸、绿原酸、总黄酮和杜仲胶的含量影响效果不同, 变化幅度较喷施 ABT 生根粉的小。

**关键词:**杜仲; 外源激素; 次生代谢物

中图分类号: S789.4

文献标识码: A

文章编号: 1001-7461(2009)06-0121-03

### Effects of External Hormones on Secondary Metabolites in the Leaf of *Eucommia ulmoides*

HE Wen-guang<sup>1</sup>, SU Yin-quan<sup>1</sup>, XU Yong-mei<sup>2</sup>, REN Zhao<sup>1</sup>,  
ZHANG Fu-yuan<sup>3</sup>, PENG Jin-nian<sup>4</sup>

(1. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Shenyang Eastar Chemical Co., Ltd., Shenyang, Liaoning 110117, China; 3. Jiangxi Gao Feng Ecological Farming and Forestry Development Limited Corporation, Ganzhou, Jiangxi 341800, China; 4. Department of Pharmacy, Gannan Medical College, Ganzhou, Jiangxi 341000, China)

**Abstract:** The effects of extra hormones, such as ABT and GA<sub>3</sub> on the contents of secondary metabolites in the leaves of *Eucommia ulmoides* were investigated. The results showed that ABT can increase the content of geniposidic acid in a long time, the range of variation was more than 9%, but most of the time, it would decrease the contents of chlorogenic acid, total flavonoids and gutta-percha, the range of variation was large too. GA<sub>3</sub> exhibited different impacts on each metabolite with less change amplitude.

**Key words:** *Eucommia ulmoides*; external hormone; secondary metabolite

杜仲(*Eucommia ulmoides*)已有很多年的研究历史<sup>[1]</sup>, 是很有前途的医用和工业原料。提高杜仲次生代谢物含量的研究是杜仲开发利用工作的主要内容之一, 如果能够找到简便有效的方法提高杜仲有用次生代谢物的含量, 无疑大大提高了杜仲的经济利用价值, 也有助于简化杜仲有效成分(包括绿原酸、京尼平甙、京尼平甙酸、桃叶珊瑚甙、总黄酮、松脂醇二葡萄糖甙、杜仲醇、杜仲胶等)的提取工艺, 降低生产成本, 提高杜仲在市场上的竞争力<sup>[1-2]</sup>。

有关外源激素对药用植物离体培养的研究很多, 但深入探讨外源激素对药用植物中的次生代谢

物含量影响的研究甚少, 目前直接以提高杜仲次生代谢物含量为目的的化控技术研究罕有报道。崔玲华等<sup>[3]</sup>研究了外源激素对杜仲胶含量的影响, 对杜仲叶中其他成分变化情况却未涉及, 笔者选用 ABT 生根粉和赤霉素, 对杜仲叶中次生代谢物含量的影响进行了初步研究。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

试验材料为西北农林科技大学林学院苗圃 1 a 生杜仲盆栽苗。

收稿日期: 2008-11-19 修回日期: 2009-06-11

基金项目: 中日(NEDO 项目)合作课题(160109); 陕西省日元贷款生态环境监测项目(14220302)

作者简介: 何文广, 男, 在读硕士, 从事植物资源开发利用研究。

\* 通讯作者: 苏印泉, 男, 教授, 主要从事植物资源开发利用研究。E-mail: syq009@126.com。

## 1.2 主要仪器与试剂

仪器 主要有日本岛津 LC-10ATvp 型高效液相色谱仪、SPD-10A 紫外光度检测器、02310281 型电热恒温水浴锅、101-1 型干燥箱、SHB-III 循环水式多用真空泵、RE-52A 型旋转蒸发器、Model C9860A 型超声波提取机、UV-2000 型紫外可见分光光度计。

试剂 主要有赤霉素(90%,上海国药集团)、ABT 生根粉(95%,上海国药集团)、分析纯甲醇、分析纯乙醇、色谱纯甲醇、芦丁(95%)、 $\text{NaNO}_2$ 、 $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{NaOH}$ 、京尼平甙酸标准品(中国科学院药检所)、京尼平甙标准品(中国科学院药检所)。

## 1.3 方法

1.3.1 激素喷施方法 于 7:00—9:00 将  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 ABT 生根粉和赤霉素喷施于盆栽杜仲叶面,对照喷施清水,各处理喷施总量一致。每 10 d 喷施 1 次,喷施后 10 d 采杜仲叶片,每盆采大小一致的叶片 3 片,每处理共采 60 片叶,采后立即杀青,冷藏待用。

1.3.2 次生代谢物提取 称取样品 4 g,将样品碾成丝绵状,60%乙醇采用回流法在  $80^\circ\text{C}$  条件下水浴加热,提取 2 次,每次 2 h,过滤,滤液合并浓缩,用甲醇定容至 100 mL 的容量瓶中,测定活性成分的含量<sup>[4]</sup>。残渣再继续提取杜仲胶。

1.3.3 杜仲胶提取 杜仲胶的制备采用改进碱浸法<sup>[5-6]</sup>。

1.3.4 次生代谢物含量测定 绿原酸、京尼平甙酸的含量用反相高效液相色谱法测定<sup>[7-8]</sup>;总黄酮含量采用硝酸铝—亚硝酸钠比色法<sup>[9]</sup>测定;标准曲线方程为: $A = 12.23C - 0.0217$ (C 为浓度, A 为吸光度), $r^2 = 0.99$ ,浓度为  $0.01 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ,相关系数  $r = 0.99$ ;杜仲胶含量采用重量法测定。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源激素对杜仲叶中京尼平甙酸含量的影响

由图 1 可知,喷施 ABT 生根粉和赤霉素后,杜仲叶中京尼平甙酸含量与对照相比,有增加同时也有减少,且变化幅度很大。其中,喷施 ABT 生根粉后,8月13日到9月4日,京尼平甙酸含量增加,增幅超过 9%,特别是 8月13日,京尼平甙酸含量增加了 28.84%。而喷施赤霉素后,京尼平甙酸含量的变化处于一种波动状态,变化幅度相对较小。

### 2.2 外源激素对杜仲叶中绿原酸含量的影响

研究表明,ABT 生根粉和赤霉素对绿原酸含量的影响程度相对于京尼平甙酸而言较小,增减都在

7%以内(图 2)。喷施 ABT 生根粉后,样品中绿原酸含量相对于对照,除了 9月4日稍有增加外,其余时期均减少;喷施赤霉素后,绿原酸含量相对于对照而言波动较大。

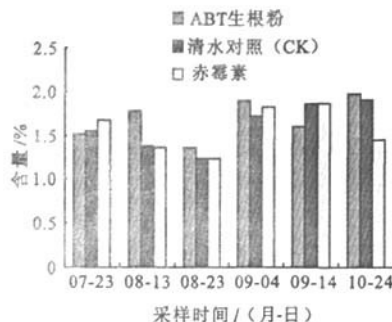


图 1 外源激素对杜仲叶中京尼平甙酸合成积累的影响

Fig. 1 Effect of external hormones on dynamic accumulation of geniposidic acid in *E. ulmoides* leaves

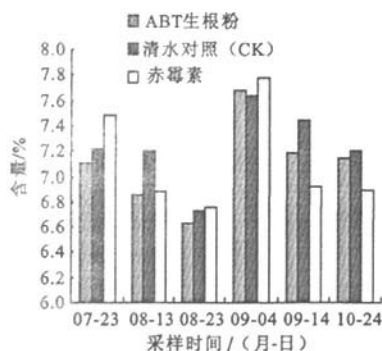


图 2 外源激素对杜仲叶中绿原酸合成积累的影响

Fig. 2 Effect of external hormones on dynamic accumulation of chlorogenic acid in *E. ulmoides* leaves

### 2.3 外源激素对杜仲叶中总黄酮含量的影响

由图 3 可知,喷施 ABT 生根粉和赤霉素后,杜

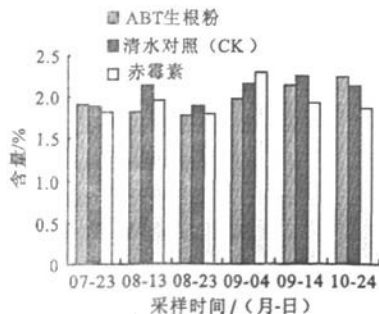


图 3 外源激素对杜仲叶中总黄酮积累的影响

Fig. 3 Effect of external hormones on dynamic accumulation of total flavonoids in *E. ulmoides* leaves

仲叶中总黄酮的含量减小,且减小的幅度较大,平均超过6%,8月13日高达14%左右。

## 2.4 外源激素对杜仲叶中杜仲胶含量的影响

喷施 ABT 生根粉后,杜仲叶中杜仲胶含量减少,特别是8月13日和9月4日,杜仲胶含量减少了15%以上;喷施赤霉素后,杜仲胶含量有增加也有减少,变化幅度相对较小(图4)。

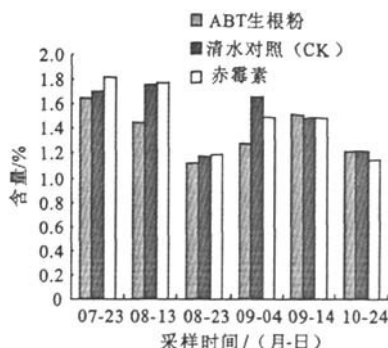


图4 外源激素对杜仲叶中杜仲胶积累的影响

Fig. 4 Effect of external hormones on dynamic accumulation of gutta-percha in *E. ulmoides* leaves

## 3 结论与讨论

外源激素对杜仲叶中次生代谢物的含量会产生影响,但影响程度不同。喷施 ABT 生根粉在很长一段时间使杜仲叶中京尼平甾酸含量增加,在一定生长期使绿原酸、总黄酮和杜仲胶的含量减少。喷施赤霉素后,在不同时期对杜仲叶中京尼平甾酸、绿原酸、总黄酮和杜仲胶的含量影响处于波动状态。表明外源激素能对杜仲叶中次生代谢物的合成积累产生影响,关键是按照生产目的,掌握好喷施时间和浓度。

1 a 生杜仲叶中绿原酸含量较多年生杜仲高,达到8%左右,这与秦振栋等<sup>[10]</sup>报道的1 a 生杜仲叶中绿原酸含量有相似之处。

植物外源激素的使用是一个非常复杂的问题,因为外源激素的使用影响杜仲叶内某些激素的平衡,而且这种关系的改变必然引起其生理的甚至生态上的反应<sup>[11]</sup>。因此,要达到某一种生产目的时,不同植物所需的外源激素的浓度、配比、喷施时期等均不一样,有必要进行进一步研究,找出最佳的外源激素使用方案。

## 参考文献:

- [1] 曹慧娟. 植物学[M]. 2版. 北京:中国林业出版社,1992.
- [2] 张康健,王蓝,马柏林. 中国杜仲次生代谢物[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [3] 崔玲华,王会文,陈新宇. 提高杜仲叶含量量化控技术研究[J]. 林业科技通讯,1995(1):31-32.
- [4] 董娟娥,马柏林,全小林,等. 提高杜仲叶中主要活性物质提取率的研究[J]. 西北林学院学报,2002,17(1):64-67.
- [5] 张康健,王蓝,马柏林,等. 中国杜仲次生代谢物[M]. 北京:科学出版社,2002.
- [6] 马柏林,王蓝,张康健. 杜仲胶实验室提取方法的研究[J]. 西北林学院学报,1996,9(4):67-69.
- [7] 张康健,王亚琴,马希汉,等. 杜仲次生代谢物生态学研究初报[J]. 林业科学,1999,35(6):28-36.
- [8] TAKAHASHI T, MASUMOTO N, OSHIO H. The stability of bio-active components in the bark of *Eucommia ulmoides*, *eucommiae* cortex[J]. Shoyakugaku Zasshi, 1988, 42(2):465-466.
- [9] 冯煦,李鸿英. 北柴胡与烟台柴胡黄酮成分的比较研究[J]. 中草药,1990,8(21):5-6.
- [10] 秦振栋,吴葆华. 药用植物研究论文选编[M]. 西安:西北大学出版社,1983:196-205,238-242,243-246,252-254.
- [11] 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.