

土壤养分因子对杜仲有效成分含量影响研究

伍庆 王兴宁, 夏品华 (贵州师范大学, 贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵州贵阳550001)

摘要 [目的] 筛选影响杜仲有效成分的主导土壤因子。[方法] 采用HPLC测定贵州不同产地杜仲叶中绿原酸及黄酮类有效成分(芦丁、槲皮素、山萘酚)的含量,应用SPSS统计软件对贵州不同产地杜仲叶有效成分的含量和土壤养分的含量进行统计分析,计算各土壤养分因子与杜仲叶绿原酸及黄酮类有效成分含量的偏相关系数,建立杜仲有效成分含量与土壤养分因子的多元回归方程。[结果] 杜仲叶中绿原酸含量的主要影响因子是土壤有机质;影响芦丁含量的主要是土壤全磷、有机质;影响槲皮素含量的主导因子主要有有机质、有效磷、FACT,其次是土壤铵态氮、pH、全氮;影响山萘酚含量的最大因子为有机质,其次为土壤有效磷、铵态氮和FACT。[结论] 贵州不同产地杜仲有效成分含量差异显著,土壤养分因子对杜仲叶有效成分含量有很大影响。

关键词 杜仲; 高效液相色谱法; 绿原酸; 黄酮; 土壤养分; 主导因子

中图分类号 S153.6 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)25-11002-03

Study on the Effects of Soil Nutrient Factors on the Content of Active Components in the Leaves of *Eucommia ulmoides*

WU Qing et al (Guizhou Provincial Key Laboratory for Information System of Mountainous Areas and Protection of Ecological Environment, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001)

Abstract [Objective] The research aimed to screen out the leading soil factors that affected the active components in *Eucommia ulmoides*. [Method] The content of chlorogenic acid and flavonoid active components (rutin, quercetin and kaempferol) in the leaves of *E. ulmoides* from different producing areas of Guizhou were determined by HPLC. The statistical analysis was made on the content of active components in the leaves of *E. ulmoides* from different producing areas of Guizhou and the content of soil nutrients by using SPSS Statistical Software. The partial correlation coefficients between each soil nutrient factor and the content of chlorogenic acid and flavonoid active components in the leaves of *E. ulmoides* were calculated to set up the multiple regression equation between the content of active components in *E. ulmoides* and soil nutrient factors. [Result] The main influencing factor of chlorogenic acid content in the leaves of *E. ulmoides* was soil organic matter. The main influencing factors of rutin content were total P and organic matter in the soil. The main leading influencing factors of quercetin content were organic matter, available P and FACT, followed by ammonium nitrogen, pH and total N in the soil. The maximum influencing factor of kaempferol content was organic matter, followed by available P, ammonium nitrogen and FACT. [Conclusion] The content of active component in the leaves of *E. ulmoides* from different producing areas of Guizhou had significant difference. Soil nutrient factors had greater influences on the content of active component in the leaves of *E. ulmoides*.

Key words *Eucommia ulmoides*; HPLC; Chlorogenic acid; Flavone; Soil nutrients; Leading factor

杜仲(*Eucommia ulmoides* div) 属国家二级保护植物,是杜仲科杜仲属的落叶乔木,为中国特有植物种,系地质史上第四纪冰川运动残留下来的古生子遗树种^[1-2],具“补肝肾、强筋骨、安胎”之功效,主要用于治疗肾虚腰痛,筋骨无力,妊娠漏血,胎动不安,高血压症^[3]。杜仲大多数分布于我国华中和西南暖温带气候区内,其分布区大体上和长江流域相吻合即黄河以南,五岭以北,甘肃以西。杜仲的中心产区在贵州、四川、湖北、湖南、陕西等地^[2]。目前对杜仲的研究主要集中在药理、炮制化学成分分析、组织培养以及遗传特性方面,而对与其土壤环境因子相关性方面的研究极少。杜仲系多年生木本植物,药材因产地、生长年限、生长环境以及采收时间的不同,品质参差不齐、质量稳定性差。文献报道表明,不同地域、不同生长期的杜仲在有效成分上存在变异与差异。目前,对杜仲药材化学成分绿原酸、松脂醇二葡萄糖苷及黄酮类(芦丁)的含量测定及药理作用方法的研究报道较多^[5-8],但对影响杜仲品质的主要因素、有效成分积累的研究较少,对杜仲药材黄酮类有效成分与土壤环境因子的相关性研究更少。植物的次生代谢物是植物在长期进化中与环境相互作用的结果,其产生和变化比初生代谢产物与环境有着更强的相关性和对应性^[9]。该研究对杜仲叶生长土壤环境因子与其有效成分含量间的关系进行量化研究,揭示影响杜仲有效成分的主导因子,为合理应用杜仲药材提供依据,对确定杜仲的适生区具有指导意义。

1 材料与方

1.1 材料

于2007年8月对贵州不同生态类型杜仲主产区

进行取样调查,采集了贵州不同产地杜仲叶样品11批,同时采集0~30cm层次土壤样品(表1)。

表1 样品来源

Table 1 The sources of samples

样品编号	采集地区	胸径 cm
Sample code	Collecting area	Diameter at breast height
1	松桃	18.1
2	息烽	17.9
3	威宁	10.2
4	遵义	19.8
5	大方	13.0
6	罗甸	9.7
7	贵阳	8.5
8	绥阳	18.1
9	六枝	21.6
10	沿河	10.6
11	都匀	14.3

1.2 有效成分含量测定 采用HPLC同时测定杜仲叶芦丁、槲皮素、山萘酚的含量,采用2005版药典方法测定绿原酸的含量。

1.3 土壤环境因子的测定 土壤环境因子的测定采用林业部土壤理化标准^[12],测定项目包括全氮、全磷、全钾、铵态氮、有效磷、速效钾、有机质、pH。

1.4 数据分析 应用SPSS统计软件^[11]对贵州不同产地杜仲叶药材有效成分含量进行描述性统计分析,用简单相关分析土壤各环境因子及有效成分间的相关性,并进行主成分分析提取主成分,偏相关分析土壤环境因子与杜仲叶有效成分含量间的偏相关系数,筛选影响杜仲叶有效成分含量的主要

土壤环境因子,用多变量线性逐步回归建立主要土壤环境因子与杜仲叶有效成分之间的多元回归方程^[9]。

2 结果与分析

2.1 贵州不同产地杜仲叶中有效成分含量测定 由表2可知,绿原酸以息烽的含量最高,以绥阳的含量最低,变异系数达到50.26%,芦丁以息烽的含量最高,以绥阳的最低,变异系数达到45.15%;槲皮素以贵阳的含量最高,以威宁的含量最低,变异系数达到107.99%;山萘酚以贵阳的含量最高,以威宁的含量最低,变异系数达到51.41%。绿原酸、芦丁、槲皮素、山萘酚含量的均质大小顺序为绿原酸>芦丁>槲皮素>山萘酚,其中绿原酸与芦丁含量具有极显著的相关性,槲皮素与山萘酚的含量也具有极显著的相关,含量关系变化都具有一致性。由于贵州不同产地杜仲叶有效成分含量的差异性较大,说明了贵州不同杜仲产地土壤环境因子及其他环境因子对杜仲叶有效成分含量的影响很大。

2.2 杜仲产地的土壤环境因子研究 杜仲一般生长在海拔300~1300 m,个别地区如云南东北最高可达2500 m,杜仲对环境适应性和耐受能力较强,并对生长的土壤环境具有一定选择性。由表3可知,杜仲生长区土壤速效钾的变异系数最大,平均值为270.86 ng/kg,变异系数达到82.68%;土壤的全氮、有效磷的含量变异系数最小,平均值分别为1.28 g/kg、71.83 ng/kg,变异系数分别为22.11%、27.13%;铵态氮含量为50.50~146.63 ng/kg,变异系数为31.40%;pH值变化范围为4.25~7.86,变异系数为17.88%,土壤有机质含量为

0.52%~4.37%,变异系数为42.49%。土壤全磷、全钾的变异系数相近,土壤全磷含量为72.21~537.17 mg/kg,变异系数为64.46%;土壤全钾的含量为110.48~1027.4 ng/kg,变异系数为65.68%。

表2 不同产地杜仲叶中有效成分的含量

Table 2 The content of active components in the leaves of *Eucommia ulmoides* from different producing areas

产地 Producing area	绿原酸 Chogenic acid ng/g	芦丁 Rutin ng/g	槲皮素 Quercetin ug/g	山萘酚 Kaempferol ug/g
松桃Songtao	9.77	0.78	44.81	12.77
息烽Xifeng	25.60	2.10	46.90	7.59
威宁Wining	13.96	1.20	8.87	8.44
遵义Zunyi	13.53	1.69	47.81	14.69
大方Dafang	16.82	1.01	82.64	20.69
罗甸Luodian	5.46	0.41	27.74	7.99
贵阳Guiyang	20.19	1.53	386.00	36.29
绥阳Suiyang	3.14	0.39	62.67	20.48
六枝Liuzhi	12.36	1.27	128.44	15.79
沿河Yanhe	16.37	1.37	87.19	12.94
都匀Duyun	7.25	0.96	132.97	17.33
均值Mean	13.13	1.16	96.00	15.91
变异系数 %	50.26	45.15	107.99	51.41
Variation coefficient				
变异范围 Variation range	3.14~25.6	0.39~2.10	8.87~386.00	7.59~36.29

表3 土壤养分含量测定结果

Table 3 The determination results of soil nutrient content

编号 Code	全氮 Total N g/kg	全磷 Total P mg/kg	全钾 Total K mg/kg	铵态氮 Ammonium N mg/kg	有效磷 Available K mg/kg	速效钾 Available K mg/kg	有机质 Organic matter %	pH值 pH value	FACT
松桃Songtao	1.63	126.65	450.2	50.50	79.55	143.58	1.70	7.69	-0.197
息烽Xifeng	1.04	102.29	591.2	55.27	100.85	351.24	3.10	7.64	0.456
威宁Wining	1.03	287.27	818.8	97.46	63.02	555.33	2.64	6.17	1.29
遵义Zunyi	1.56	201.41	612.0	146.63	63.10	331.07	3.30	7.03	0.468
大方Dafang	1.06	278.39	1027.4	91.76	71.75	784.60	4.37	6.81	2.129
罗甸Luodian	1.69	72.21	128.96	113.51	62.12	63.15	0.52	7.86	-1.032
贵阳Guiyang	1.61	105.23	305.8	113.97	38.17	165.16	3.41	6.36	-0.476
绥阳Suiyang	1.03	279.80	110.5	56.82	103.89	51.32	2.81	6.01	-1.092
六枝Liuzhi	1.10	537.17	326.2	98.14	86.49	214.44	4.20	5.37	-0.349
沿河Yanhe	1.27	92.81	279.8	91.40	57.43	161.11	1.39	5.25	-0.539
都匀Duyun	1.04	244.33	227.0	94.72	63.76	158.46	3.82	4.25	-0.659
均值Mean	1.28	211.60	443.44	91.83	71.83	270.86	2.84	6.40	
变异系数 %	22.11	64.46	65.68	31.40	27.13	82.68	42.49	17.88	
Variation coefficient									
变异范围	1.03~1.69	72.21~537.17	110.5~1027.4	50.50~146.63	38.17~103.89	51.32~784.60	0.52~4.37	4.25~7.86	
Variation range									

在20世纪20年代杜仲资源曾遭到严重的破坏,致使野生杜仲基本灭绝,只有少部分人工栽培杜仲还存活至今,现存的杜仲多为人工栽培于田间、地头。表3数据反映了杜仲人工栽培土壤生境的一个重要特征,在分析杜仲有效成分与土壤环境因子的关系时,它们将解释土壤环境因子与有效成分变异中的共同变化。因此,笔者对土壤全钾及速效钾作主成分分析,再提取成分因子进行FACT分析,筛选影响有效成分含量变化的主导因子。由表4可知,土壤全氮、全磷、有

机质存在显著的负相关,铵态氮、有效磷存在显著的负相关;土壤全磷、pH存在显著的正相关,全磷、有机质存在显著的正相关;土壤全钾、速效钾存在极显著的负相关。

2.3 影响杜仲叶有效成分含量的主导因子分析 由表5可知,有机质是影响杜仲叶中绿原酸含量的最大影响因子,它与杜仲叶中绿原酸的含量呈显著正相关;影响杜仲叶中芦丁含量最大的土壤因子是全磷和有机质,芦丁的含量与全磷呈显著负相关,与有机质呈显著正相关;杜仲叶中槲皮素的含

量与土壤有机质呈极显著正相关,与有效磷、FACT 和铵态氮呈极显著负相关,与全氮呈显著负相关;杜仲叶中山萘酚的

含量与土壤有机质呈极显著的正相关,与有效磷、铵态氮、FACT 呈显著负相关。

表4 土壤养分含量的相关性分析

Table 4 The correlation analysis on the content of soil nutrients

	全氮 Total N	全磷 Total P	全钾 Total K	铵态氮 Ammonium N	有效磷 Available P	速效钾 Available K	有机质 Organic matter	pH
全氮 Total N	1							
全磷 Total P	-0.556*	1						
全钾 Total K	-0.273	0.148	1					
铵态氮 Ammonium N	0.385	0.046	0.073	1				
有效磷 Available P	-0.511	0.336	-0.190	-0.696*	1			
速效钾 Available K	-0.408	0.241	0.966**	0.115	-0.035	1		
有机质 Organic matter	-0.539*	0.643*	0.413	0.106	0.135	0.489	1	
pH	0.523*	-0.472	0.270	-0.101	0.161	0.129	-0.392	1

注: * 表示相关性达显著水平 ($P < 0.05$); ** 表示相关性达极显著水平 ($P < 0.01$)。下同。

Note: * stands for reaching the significant correlation ($P < 0.05$) and ** stands for reaching the extremely significant correlation ($P < 0.01$). The same as below.

表5 土壤的养分与杜仲叶有效成分含量的偏相关性系数

Table 5 The partial correlation coefficient between soil nutrient and the content of active components in the leaves of *E. ulmoides*

项目 Item	绿原酸 Chlorogenic acid	芦丁 Rutin	槲皮素 Quercetin	山萘酚 Kaempferol
全氮 Total N	-0.202	0.018	-0.423*	-0.007
全磷 Total P	-0.361	-0.456*	0.173	0.083
铵态氮 Ammonium N	-0.090	0.284	-0.752*	-0.529*
有效磷 Available P	-0.196	0.165	-0.854**	-0.554*
有机质 Organic matter	0.463*	0.414*	0.921**	0.813**
pH	0.206	-0.080	0.661*	0.271
FACT	0.054	0.157	-0.838**	-0.513*

以全氮(X_1)、全磷(X_2)、铵态氮(X_3)、有效磷(X_4)、有机质(X_5)、pH(X_6)、FACT(X_7)为自变量,杜仲叶中绿原酸(Y_1)、芦丁(Y_2)、槲皮素(Y_3)、山萘酚(Y_4)的含量为因变量,应用多变量逐步回归剔除对目标函数影响较小的因子,建立影响杜仲叶各有效成分含量与主导因子的回归方程:

$$Y_1 = 11.418 + 2.557 X_7 - 0.030 X_2 + 2.855 X_5, R^2 = 0.485$$

$$Y_2 = 0.717 + 0.313 X_5 - 0.002 X_2, R^2 = 0.317$$

$$Y_3 = 169.277 - 3.321 X_4 + 58.157 X_5 - 56.696 X_7, R^2 =$$

0.687

$$Y_4 = -7.147 + 4.728 X_5 + 20.774 X_1 - 2.644 X_6, R^2 = 0.524$$

由回归方程可以得出,影响杜仲叶中绿原酸含量的主导因子是土壤的FACT、全磷、有机质,决定系数 R^2 为0.485,绿原酸的含量与土壤有机质呈显著正相关,与FACT和全磷相关性不显著;影响芦丁含量的主导因子是有机质、全磷,决定系数为0.317,杜仲叶中芦丁的含量与有机质呈显著正相关,与全磷呈显著负相关;影响杜仲叶中槲皮素含量的主导因子是有效磷、有机质、FACT,决定系数 R^2 为0.687,杜仲叶中槲皮素含量与有效磷、FACT呈显著负相关,与有机质呈显著正

相关;影响山萘酚含量的主导因子有机质、全氮、pH,决定系数为0.524,杜仲叶中山萘酚的含量与土壤有机质呈极显著正相关,与全氮和pH的相关性不显著,不同成分的主导因子各不相同,且决定系数相差较大。

3 结论与讨论

土壤是植物生长的物质基础,土壤的物理化学生物特性对植物的生长发育及其次生代谢产物积累都有影响。研究土壤养分与药材品质之间的关系,对于指导中药区划,中药种植等有着重要意义。该文就土壤养分与杜仲有效成分积累的关系进行初步研究,揭示影响杜仲有效成分的主导因子,为合理应用杜仲药材提供依据,对确定杜仲的适生区具有指导意义,但建立的回归方程仅能预测成分变异的一部分,说明影响杜仲有效成分积累的生态因子除土壤营养之外,还有其他的因子,揭示土壤因子与药材次生代谢产物之间的关系还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 陈品良,吴俊元,贺善安.杜仲质资源的现状及保护对策[J].植物资源与环境,1992,1(4):65-67.
- [2] 李芳东,杜洪岩.杜仲[M].北京:中国中医药出版社,2001:277.
- [3] 戚友维.杜仲化学成分研究进展[J].中草药,1989(4):88.
- [4] 管淑玉.杜仲化学成分与药理研究进展[J].中药材,2003,26(2):124-129.
- [5] 石少澜,王祝举,邵爱娟,等.高效液相色谱法测定杜仲皮中绿原酸的含量[J].中国中药杂志,2005,30(9):715-716.
- [6] 尉芹,韩建国,董娟娥,等.不同炮制方式对中药材杜仲叶品质的影响[J].中国中药杂志,2008,33(1):85-87.
- [7] 徐长根.RP-HPLC法测定杜仲中的松脂醇二葡萄糖苷[J].药物分析杂志,2000,20(1):56.
- [8] 冯锁民,甘志杰,翟西峰,等.杜仲原生皮与再生皮中松脂醇二葡萄糖苷的含量比较[J].中药材,2006,29(8):792-794.
- [9] 李卫建,李先恩.连翘有效成分含量与土壤养分的量化关系研究[J].中国中药杂志,2005,20(30):577-579.
- [10] 张敏.科学种植、合理开发我省杜仲资源[J].种子,2002,13(6):69-71.
- [11] 张文彤.SPSS统计分析教程[M].北京:北京希望电子出版社,2002:128.
- [12] 国家土壤学会化学专业委员会.土壤农业化学常规分析方法[M].北京:科学出版社,1983:78.