

夏蜡梅营养器官总鞣质含量的比较

李钧敏¹, 金则新¹, 朱小燕²

(1. 台州学院生态研究所, 浙江 临海 317000; 2. 仙居县城峰中学, 浙江 仙居 317300)

摘要: 对中国特有植物夏蜡梅营养器官的总鞣质含量进行测定, 并分析了与环境因子之间的相关性。结果表明: (1) 夏蜡梅各营养器官均含有总鞣质, 但以叶片的含量最高, 根次之, 一年生枝、二年生枝、茎等器官的含量很低。(2) 夏蜡梅叶片的含量阳坡植株显著高于阴坡, 根的含量则反之。(3) 夏蜡梅 7 个样地叶片的总鞣质含量在 1.106 6%~2.006 0% 之间, 平均为 1.690 6%, 其中临安 5 个样地含量较低, 大雷山 2 个样地较高, 差异显著。(4) 通径分析显示, 夏蜡梅叶片总鞣质含量的主要影响因子为土壤氮含量和 C/N 比。

关键词: 夏蜡梅; 总鞣质; 含量; 营养器官

中图分类号: Q946.84 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)06-0944-04

Comparison of the total tannin in different organs of *Calycanthus chinensis*

LI Jun-Min¹, JIN Ze-Xin¹, ZHU Xiao-Yan²

(1. Institute of Ecology, Taizhou University, Linhai 317000, China; 2. Chengfeng Middle School of Xianju County, Xianju 317300, China)

Abstract: Total tannin content in different organs of *Calycanthus chinensis* endemic to China was determined and its correlations with the environmental factors were analyzed. The results showed as follows. First, the total tannin distributed in all of the nutrient organs of *C. chinensis*. The content in the leaves was the highest, and that in the roots took the second place while that in the annual twigs, biennial twigs or stems were very low. Second, the total tannin content in the leaves of *C. chinensis* in sunny slope was higher than that of shady one with significant difference. Contrary content was observed in the roots of *C. chinensis*. Third, the total tannin content in the leaves of seven *C. chinensis* populations changed from 1.106 6% to 2.006 0%, with an average of 1.690 6%. That of five populations from Lin'an City was higher than that of two populations from Daleishan with significant difference. Fourth, the path analysis showed that the soil nitrogen and C/N had positive effect on the content of total tannin in the leaves of *C. chinensis*.

Key words: *Calycanthus chinensis*; total tannin; content; nutrient organs

夏蜡梅(*Calycanthus chinensis*)为落叶灌木, 隶属蜡梅科(Calycanthaceae)、夏蜡梅属(*Calycanthus*), 由郑万钧和章绍尧两位先生于1964年根据采自浙江省临安市昌化的模式标本命名并发表(郑万钧等, 1964), 它是第三纪孑遗物种, 是夏蜡梅属的唯一代表。该种仅分布在浙江省临安市和天台县的狭小范围内, 野生资源十分有限(张方钢等, 2001; 张宏伟等, 1997), 被列为国家二级保护的珍稀濒危植物(章绍尧等, 1992)。自该种被发现后的40多年

来, 国内外对该植物的遗传多样性、群落特征、生殖特性等方面进行了一些研究(周世良等, 2002; 王恒昌等, 2004; 黄坚钦, 1998; 黄坚钦等, 1999; 徐耀良等, 1997)。但有关次生代谢产物方面研究不多, 仅对其叶片的挥发油成分进行过分析(倪士峰等, 2003; 刘力等, 1995), 而对夏蜡梅植株不同营养器官总鞣质含量的研究尚未见报道。

鞣质又称单宁, 是一类较复杂的酚类化合物, 除在苔藓植物中很少含有外, 广泛存在于植物界(胡小

收稿日期: 2006-06-16 修回日期: 2007-01-28

基金项目: 浙江省自然科学基金(Y504220), 台州市科技局项目(044205)[Supported by the Natural Science Foundation of Zhejiang Province(Y504220); Science and Technology Bureau of Taizhou City(044205)]

作者简介: 李钧敏(1973-), 女, 浙江临海人, 硕士, 副教授, 从事植物生态学研究。

刚等,2002)。鞣质有广泛的用途,能凝固蛋白质且具收敛性,内服可用于治疗胃肠道出血,溃疡和腹泻等症;外用可保护灼伤的创面,以减少分泌和血浆损失,还可防止细菌感染(江发涛等,2002),对预防肿瘤和控制肿瘤进一步恶化有一定作用(胡小刚等,2002)。本文对不同海拔高度、不同坡向的夏蜡梅植株各营养器官以及不同居群叶片的总鞣质含量进行测定,并分析它们与环境因子的相关性,确定夏蜡梅总鞣质的分布规律,为夏蜡梅的开发利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2003年8月,在夏蜡梅的分布地浙江省临安市和天台县选取7个样地,分别是临安市的双石边(SSB,850 m)、前坑(QK,830 m)、龙塘山(LTS,800 m)、白水坞(BSW,800 m)、大明山II(DMSII,850 m)以及天台县的大雷山I(DMSI,670 m)、大雷山II(DMSII,790 m)等,采集夏蜡梅的叶片。上述样地除DMSI为杉木林外,其余样地均为次生阔叶林,杉木林因土壤含氮量较低,而导致C/N比显著高于其它样地。在临安县大明山设置坡向相近(阳坡)、海拔高度分别为640 m、750 m、1 020 m的3个样地(DMSI、DMSII、DMSIII),并于海拔1 030 m处设立对应于DMSIII的阴坡内烂潭居群(NLT),分别采集夏蜡梅的叶、茎、根、一年生枝和二年生枝等器官。

1.2 方法

1.2.1 样品的处理 将采集的样品用塑料袋封装,立即带回实验室,将材料洗净,自然风干,100℃水蒸气固定2.5 min,70℃干燥24 h,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(何维明等,1998)。

1.2.2 总鞣质含量的测定(王璐等,1996) 称取样品0.1 g,加蒸馏水20 mL,微沸30 min,转换至10 mL离心管中,4 000 r/min离心10 min,取上清至25 mL容量瓶中,用蒸馏水10 mL冲洗残渣,4 000 r/min离心10 min,将上清合并,用蒸馏水稀释定容至25 mL,备用。精密吸取上述滤液1 mL,加入9 mL蒸馏水,再滴入2~3滴靛红,用0.001 mol/L的高锰酸钾滴定至亮黄。以一系列标准浓度的没食子酸(中国药品生物制品检定所)作标样,制定标准曲线,得回归方程为: $y=0.0131x-0.0001$, $r=0.9986$ 。

1.2.3 土壤理化性质的测定 土壤理化背景值按常

规的土壤化学分析方法进行测定(南京农学院,1980;霍亚贞等,1986)。土壤pH值采用5:1水土比的土壤悬浊液,用酸度计进行测定;有机质测定采用重铬酸钾容量法—外加热法;全氮采用凯氏定氮法进行测定;全磷采用 $HClO_4-H_2SO_4$ 法进行测定。各样地的理化性质如表1所示。

1.3 数据处理

试验处理及数据测定均重复3次,平均值和标准差采用Excel软件,相关系数、Duncan新复极差法检验、通径分析均采用DPS统计软件(唐启义等,2002)完成。

表1 不同夏蜡梅样地的土壤生态因子

Table 1 Soil ecological factors in the different spots of *C. chinensis*

样地 Plot	含氮量 Nitrogen (%)	含磷量 Phospho- rates(%)	pH值 pH value	有机质 Organic matter (%)	C/N
DMSII	0.6983	0.8632	5.66	14.3368	20.5310
BSW	0.6546	0.8669	5.26	17.0676	26.0733
SSB	1.5347	1.4952	5.70	28.0667	18.2881
QK	1.3337	1.0587	4.82	29.0781	21.8026
LTS	1.3779	1.2576	5.40	29.8786	21.6842
DLSI	0.2997	0.6075	5.00	20.4811	68.3387
DLSII	0.8618	0.9363	5.60	10.4681	12.1468

2 结果和分析

2.1 不同海拔高度夏蜡梅的总鞣质含量

对大明山坡向相近、3个海拔高度(DMSI、DMSII、DMSIII)的夏蜡梅植株5个营养器官的总鞣质含量进行测定,采用Duncan新复极差法进行不同样品间的多重比较检验(表2)。3个海拔高度的夏蜡梅不同营养器官均含有总鞣质,但均以叶片的含量最高,根的含量次之,一年生枝、二年生枝、茎的含量很低,且不同海拔的三种器官的鞣质含量高低不具有规律性。夏蜡梅叶片、根、一年生枝的总鞣质与海拔高度相关不显著,茎的含量与海拔高度呈显著的正相关,二年生枝的鞣质含量与海拔高度呈极显著的正相关。

2.2 不同坡向夏蜡梅总鞣质含量

海拔高度相似而坡向不同的2个夏蜡梅植株5个营养器官的总鞣质含量如表3所示,从中可以看出,阴坡NLT植株的营养器官总鞣质含量也以叶片最高,根的含量次之,其它器官的含量很低。Duncan新复极差法检验显示,叶片的含量显著高于

根, 根的含量则显著高于一年生枝、二年生枝、茎等器官。阳坡的叶、二年生枝的总鞣质含量显著高于

阴坡; 阴坡根的含量显著高于阳坡; 一年生枝、茎的含量在阴、阳坡之间差异不显著。

表 2 三个海拔高度夏蜡梅植株不同营养器官总鞣质含量 (%)

Table 2 The total tannin content in different organs of *C. chinensis* at different altitude

样地 Plot	一年生枝 Annual twig	二年生枝 Biennial twig	茎 Stem	根 Root	叶 Leaf
DMS I (640 m)	0.506 9±0.097 7gh	0.443 1±0.062 0h	0.507 9±0.102gh	1.331 9±0.142 8b	1.767 0±0.207 7a
DMS II (740 m)	0.759 6±0.049 9d	0.477 1±0.099 6h	0.506 4±0.100 9gh	0.921 7±0.132 0c	1.761 4±0.131 8a
DMS III (1 000 m)	0.665 3±0.055 9e	0.569 1±0.089 5fg	0.598 9±0.080 9ef	1.268 5±0.179 1b	1.804 0±0.098 5a
相关系数(总鞣质-海拔) Correlation coefficient	0.417 4	0.999 8**	0.955 5*	-0.094 3	0.918 6

注: 不同小写字母之间具有显著性差异, $\alpha=0.05$ 。下同。* $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。The same below.

表 3 不同坡向夏蜡梅植株不同营养器官总鞣质含量 (%)

Table 3 total tannin content in different organs of *C. chinensis* at different slope

样地 Plot	一年生枝 Annual twig	二年生枝 Biennial twig	茎 Stem	根 Root	叶 Leaf
DMS III(阳坡 Sunny slope)	0.665 3±0.055 9ef	0.569 1±0.089 5g	0.598 9±0.080 9fg	1.268 5±0.179 1d	1.804 0±0.098 5a
NLT(阴坡 Shady slope)	0.725 7±0.094 7e	0.476 6±0.044 7h	0.571 9±0.027 0g	1.486 0±0.102 0c	1.674 0±0.091 6b

2.3 不同样地夏蜡梅叶片总鞣质含量

对 7 个样地的夏蜡梅叶片材料进行测定(表 4)。从中可以看出, 不同样地夏蜡梅叶片的总鞣质含量有较大差异, 变化范围在 1.106 6%~2.006 0%之间, 平均为 1.690 6%, 其高低顺序为 DLSII>DLSI>SSB>DMSII>QK>SSB>LTS, 其中临安 5 个样地含量较低, 大雷山 2 个样地较高, 大雷山 2 个样地除与临安的 SSB 差异不显著外, 与临安的其它样地均差异显著。

表 4 不同样地夏蜡梅叶片总鞣质含量 (%)

Table 4 The total tannin content in the leaves of *C. chinensis* at different plot

样地 Plot	总鞣质 Total tannin
DMS II	1.761 4±0.225 3 b
BSW	1.298 9±0.200 3 c
SSB	1.962 2±0.128 9 a
QK	1.714 1±0.061 0 b
LTS	1.106 6±0.099 7 d
DLS I	1.984 8±0.204 3 a
DLS II	2.006 0±0.107 8 a

2.4 夏蜡梅总鞣质含量与环境因子之间的通径分析

以 7 个居群夏蜡梅叶片总鞣质含量为因变量, 以氮为自变量 X1、磷为自变量 X2、pH 值为自变量 X3、有机质为自变量 X4、海拔为自变量 X5、C/N 为 X6, 应用 DPS 软件进行逐步回归分析、偏方差分析和通径分析(表 5), 决定系数为 0.748 6。由表 5 可知, 对夏蜡梅叶片总鞣质含量最大的是土壤含氮量, 对鞣质含量起正效应, 直接通径系数达 4.233 0; 其次为土壤

有机质含量, 但对鞣质含量起负效应, 直接通径系数达 -3.079 3, C/N 比对总鞣质含量起正效应, 直接通径系数达 2.858 8。通过逐步回归建立方程如下: $Y = -0.810 8 + 3.298 08X - 0.985 48X^2 - 0.140 68X^4 + 0.002 4X^5 + 0.054 3X^6 (R=0.865 2)$ 。

3 讨论

珍稀濒危植物对极端环境的适应常常拥有重要的生物分子(如次生代谢产物), 对生物分子的价值化有助于增强人们对保护珍稀濒危植物的认识和合理利用这些资源。从本研究结果看出, 夏蜡梅不同营养器官均含有总鞣质, 同一植株上, 叶片总鞣质含量最高, 显著高于其它器官; 根的含量次之, 也显著高于枝、茎等器官。一年生枝、二年生枝、茎的鞣质含量很低。这表明叶片可能是夏蜡梅总鞣质主要合成和积累器官; 根也可能是总鞣质的积累器官, 且在一些代谢旺盛的幼嫩部位能合成部分总鞣质; 而枝、茎等器官可能不具积累总鞣质的能力, 仅起运输作用, 此外, 一年生枝等幼嫩部位也可能合成部分总鞣质, 故一年生枝总鞣质含量略高于二年生枝等器官, 但总体上它们之间差别不大。本研究中海拔高度的差异对夏蜡梅叶、根、一年生枝等器官的总鞣质合成和积累的影响较小, 而茎、二年生枝与海拔高度呈显著的正相关关系。不同坡向对夏蜡梅的总鞣质合成有影响, 叶片的含量是阳坡大于阴坡, 差异显著。这可能是阳坡光照充足, 光合作用能力强, 光合产物及其转化产

物水平高,用于合成总鞣质的底物多,导致阳坡的总鞣质含量高于阴坡。不同样地的夏蜡梅叶片总鞣质

含量存在差异,可见生境不同对总鞣质的形成有影响,从实验结果看,大雷山的含量较高,临安的较低。

表 5 夏蜡梅总鞣质含量与环境因子之间的通径分析

Table 5 Path analysis of the total tannin content of *C. chinensis* and its environmental factors

因子 Factor	直接 Direct	间接 Indirect				
		→X1	→X2	→X4	→X5	→X6
X1	4.233 0	—	-0.763 5	-2.177 2	0.339 6	-1.840 3
X2	-0.806 2	4.008 7	—	-1.932 4	0.327 5	-1.770 8
X4	-3.079 3	2.993 0	-0.505 9	—	0.161 4	0.101 3
X5	0.393 5	3.653 2	-0.671 0	-1.262 9	—	-2.354 4
X6	2.858 8	-2.724 9	0.499 4	-0.109 2	-0.324 0	—

此外,土壤环境因子也对总鞣质含量的形成有明显的影 响,主要影响因子为土壤氮。环境条件对植株体内次生代谢产物形成和积累诱导机制的碳素/营养平衡假说认为植物体内以 C 为基础的次生代谢物质,如酚类、萜烯类和其他一些仅以 C、H、O 为主要结构的化合物,与植物体内的 C/N(碳素/营养)比呈正相关(苏文华等,2005)。鞣质属于酚类化合物,利用通径分析显示夏蜡梅叶片总鞣质含量的主要影响因子为氮及 C/N,且为正相关,较好地证实了这一假说。

参考文献:

- 南京农学院. 1980. 土壤农化分析[M]. 北京:科学出版社:39—83
- 章绍尧,毛宗国. 1992. 夏蜡梅[M]//傅立国,金鉴明. 中国植物红皮书——珍稀濒危植物. 北京:科学出版社:196—197
- 霍亚贞,李天杰. 1986. 土壤地理实验实习[M]. 北京:科学出版社,29—69
- 唐启义,冯明光. 2002. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M]. 北京:科学出版社
- He WM(何维明),Zhong ZC(钟章成). 1998. Dynamics of secondary metabolic products in *Gynostemma pentaphyllum* populations and their ecological significance(绞股蓝种群次生代谢产物的动态及其生态学意义)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究),20(4):434—438
- Hu XG(胡小刚),Li JG(李继革),Guo SH(郭书好),et al. 2002. Progress in research on the analysis of tannin(鞣质分析研究进展)[J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药),24(3):217—220
- Huang JQ(黄坚钦). 1998. The differentiation of flower bud and development of male gametophyte in *Calycanthus chinensis*(夏蜡梅花芽分化及雄配子体发育)[J]. *For Res*(林业科学研究),11(4):439—442
- Huang JQ(黄坚钦),He XC(何小春),Jin SH(金水虎),et al. 1999. Double fertilization and seed formation of *Calycanthus chinensis*(夏蜡梅的双受精和种子形成)[J]. *J Zhengjiang Fore Coll*(浙江林学院学报),16(3):219—223
- Jiang FT(江发涛),Zhao JH(赵继红),Dan JM(但建明),et al. 2002. Determination of tannin in *Elaeagnus angustifolia*(沙枣鞣质的含量测定)[J]. *Primary J Chin Mater Med*(基层中药杂志),16(2):25—26
- Liu L(刘力),Zhang RH(张若蕙),Liu HE(刘洪涛),et al. 1995. Essential oil components in leaves of seven species in calycanthaceae and their significance for taxonomy(蜡梅科 7 种树的叶精油成分及其分类意义)[J]. *Acta Phytotaxon Sin*(植物分类学报),33(2):171—174
- Ni SF(倪士峰),Pan YJ(潘远江),Fu CX(傅承新),et al. 2003. Study on naphtha of *Sinocalycanthus chinensi* by Gas Chromatography/Mass Spectrometry(夏蜡梅挥发油气相色谱—质谱研究)[J]. *Chin J Anal Chem*(分析化学),31(11):1405
- Su WH(苏文华),Zhang GF(张光飞),Li XH(李秀华),et al. 2005. Relationship between accumulation of secondary metabolism in medicinal plant and environmental condition(植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),36(9):1415—1418
- Wang HC(王恒昌),Meng AP(孟爱平),Li JQ(李建强),et al. 2004. Investigation on meiosis of the rare and endangered plant *Calycanthus chinensis*(珍稀濒危植物夏蜡梅的减数分裂观察)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究),24(4):431—433
- Wang L(王璐),Wang X(王晓),Shi DW(施大文). 1996. Determination of tannin content in Chinese medicine *Gynostemma songaricum*(中药锁阳鞣质含量的测定)[J]. *Acta Academ Med Shanghai*(上海医科大学学报),23(2):150
- Xu YL(徐耀良),Zhang RH(张若蕙),Zhou P(周傅). 1997. Study on communities of *Calycanthus chinensis*(夏蜡梅的群落学研究)[J]. *J Zhengjiang Fore Coll*(浙江林学院学报),14(4):355—362
- Zhang FG(张方钢),Chen ZH(陈征海),Qiu YD(邱瑶德),et al. 2001. Distribution population number and main types of community of *Calycanthus chinensis*(夏蜡梅种群的分布数量及其主要群落类型)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究),21(4):620—623
- Zhang HW(张宏伟),Weng DM(翁东明),Xu RZ(徐荣章). 1997. Study on ecological biological properties of *Sinocalycanthus chinensi*(夏蜡梅生态生物学特征的研究)[J]. *J Zhejiang For Sci Tech*(浙江林业科技),17(1):15—17
- Zheng WJ(郑万钧),Zhang SY(章绍尧). 1964. New genus in the family Calycanthaceae——genus *Sinocalycanthus*(蜡梅科的新属——夏蜡梅属)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报),9(2):135—139
- Zhou SL(周世良),Ye WG(叶文国). 2002. The genetic diversity and conservation of *Sinocalycanthus chinensis*(夏蜡梅的遗传多样性及其保护)[J]. *Biodiversity Science*(生物多样性),10(1):1—6