

野生黄花蒿土壤特征对药用次生代谢产物的影响

赵 钺^{1,2},罗世琼¹

(1. 贵州师范大学 生命科学学院,贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 明德学院,贵州 贵阳 550025)

摘要:为了明确影响黄花蒿药用次生代谢产物累积的土壤特征因素,测定贵州省三穗县和剑河县野生黄花蒿的总多酚、东莨菪内酯、猫眼草酚D、猫眼草黄素、青蒿素、青蒿酸含量,以及土壤养分含量、pH值、土壤酶活性,利用SPSS软件对土壤特征与黄花蒿药用次生代谢产物含量进行相关性分析,探讨土壤特征对黄花蒿药用次生代谢产物的影响。结果表明,不同海拔不同样地黄花蒿的药用次生代谢产物含量差异显著。根际与非根际土壤的理化性质大多存在差异。野生黄花蒿样地中土壤蔗糖酶活性较高,土壤脲酶和磷酸酶活性相对较低。土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶活性,碱解氮含量与青蒿素、青蒿酸含量呈显著或极显著正相关,全钾含量和pH值与青蒿素、青蒿酸含量呈显著或极显著负相关,土壤有机质、全磷、全氮、速效钾含量与青蒿酸含量呈显著或极显著正相关,土壤有效磷含量与总多酚、猫眼草酚D和青蒿素含量呈显著或极显著负相关。综上,提高土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶活性能够提高黄花蒿的青蒿素、青蒿酸含量,提高土壤有机质、全氮、全磷、碱解氮和速效钾含量可以提高黄花蒿的青蒿酸含量,降低土壤全钾、有效磷含量和pH值有利于黄花蒿药用次生代谢产物的积累。

关键词:黄花蒿; 土壤特征; 次生代谢产物; 土壤酶活性

中图分类号:S567;S153.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1004-3268(2019)01-0031-07

Effects of Soil Properties on Medicinal Secondary Metabolites of Wild *Artemisia annua* L.

ZHAO Cheng^{1,2}, LUO Shiqiong¹

(1. School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550025, China;

2. Mingde College, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: To clarify the soil properties factors affecting the concentrations of secondary metabolites of *Artemisia annua* L., the contents of total polyphenols, scopoletin, chrysosplenol-D, chrysosplenetin, artemisinin, artemisic acid of *Artemisia annua* L. and soil nutrients contents, pH, soil enzyme activities were analyzed in Sansui county and Jianhe county, Guizhou province, and the correlation analysis among them was made to study the effects of soil properties on the secondary metabolites of *A. annua*. The results showed that the contents of medicinal secondary metabolites of *A. annua* displayed significant difference at different altitudes and sample points. Most of the basic physicochemical property of rhizosphere and no-rhizosphere soils displayed significant difference. Soil sucrase activity was higher, and soil urease and phosphatase activities were relatively low in wild *A. annua* sample points. The activities of sucrase, urease, phosphatase and alkaline nitrogen content were significantly or extremely significantly positively related to the contents of artemisinin and artemisic acid while the total potassium content and pH were opposite. The contents of soil organic matter, total phosphorus, total nitrogen and available potassium were significantly or extremely significantly positively related to artemisic acid contents, while the soil available phosphorus

收稿日期:2018-08-29

基金项目:国家自然科学基金项目(41461053)

作者简介:赵 钺(1992-),男,贵州仁怀人,硕士,主要从事生物化学研究与教学工作。E-mail:1046580123@qq.com

通信作者:罗世琼(1974-),女,贵州黎平人,教授,博士,主要从事土壤生态学研究。E-mail:shiqiongluo@163.com

content was significantly or extremely significantly negatively related to the contents of polyphenols, chrysosplenol-D and artemisinin. In conclusion, the contents of artemisinin and artemisic acid could be increased by increasing the activities of soil urease, phosphatase and sucrase. Increasing the contents of soil organic matter, total nitrogen, total phosphorus, available nitrogen and available potassium could increase the contents of artemisic acid. Reducing the contents of soil total potassium, available phosphorus and pH was beneficial to the accumulation of medicinal secondary metabolites of *A. annua*.

Key words: *Artemisia annua* L.; Soil properties; Secondary metabolites; Soil enzyme activities

药用植物中有效成分大多数为次生代谢产物(Secondary metabolites),其是以初级代谢产物为前体,通过特殊代谢途径合成的具有特殊生理功能的小分子有机代谢物质^[1-5]。自1891年Kossel提出次生代谢产物这一概念以来,人们对植物次生代谢作用的认识得到不断发展。黄花蒿是我国的传统药用植物,具有清虚热、除骨蒸、解暑热、截疟、退黄等功效,其主要活性成分是青蒿素^[6-8]。青蒿素是黄花蒿的一种次生代谢产物,其积累量很小,不同地区黄花蒿的青蒿素含量差异很大。研究表明,次生代谢产物青蒿酸是合成青蒿素的前体物质^[9],东莨菪内酯、猫眼草酚D、猫眼草黄素3种酚类物质具有协同青蒿素提高治疗疟疾和癌症的作用,而且其还具有较高的抗氧化活性^[10]。黄花蒿次生代谢产物受气候条件及生长环境等多因素的综合影响^[11-14]。土壤理化性质、酶活性是土壤生态系统的重要组成部分,而土壤是黄花蒿生长的基础,野生条件下不同土壤类型理化性状差异较大^[15-16],土壤与植物之间复杂的物理、化学及生物学过程,必然会影响到土壤养分、土壤酶活性^[17-20],进而影响黄花蒿药用次生代

谢产物的含量。目前,关于土壤特征与黄花蒿次生代谢产物的关系报道较少。为此,初步探讨影响黄花蒿次生代谢产物累积的主要土壤特征,为解决黄花蒿药用植物资源匮乏、栽培品质下降等问题提供参考,同时,也为揭示黄花蒿药材的地域性差异原因,培育优良黄花蒿品种、提高黄花蒿次生代谢产物含量提供科学依据和技术支持。

1 材料和方法

1.1 样地概述

野生黄花蒿样地分别位于贵州省三穗县(SS)和剑河县(JH)。三穗县属北亚热带温和湿润季风气候,年平均气温14.9℃,极端最高气温38.4℃,极端最低气温-7.6℃,年平均相对湿度83%,年平均降水量1147 mm,年平均日照时数1263.3 h,全年无霜期290~300 d。剑河县属中亚热带季风气候区,年平均气温16.7℃,历年极端最高气温39.1℃,极端最低气温-8.1℃,相对湿度81%,年平均降雨量1220 mm,年平均日照时数1236.3 h,年无霜期300 d左右。样地的地理状况见表1。

表1 野生黄花蒿样地的地理状况

Tab. 1 Geographic information of wild *A. annua* sample sites

样地编号 Site code	样地名称 Site name	地理位置 Geographic position	海拔/m Elevation	>2 mm砾石含量/% >2 mm gravels content
SS1	三穗县城	26°57'23"N, 108°40'16"E	668.8	65.61
SS2	三穗桥	26°57'53"N, 108°40'50"E	632.8	78.54
SS3	三穗景怡	26°57'37"N, 108°40'12"E	617.5	35.14
JH1	剑河县城	26°43'53"N, 108°26'13"E	514.2	61.22
JH2	剑河温泉	26°46'15"N, 108°29'24"E	544.4	57.69
JH3	剑河大桥	26°44'45"N, 108°26'40"E	520.3	49.09

注:SS表示三穗,JH表示剑河,1、2、3为样地编号。下同。

Note: SS indicates Sansui, JH indicates Jianhe, 1, 2, 3 are number of sample site. The same below.

1.2 样品采集

2016年8—9月,于黄花蒿现蕾期采取野生黄花蒿根际和非根际土壤样品,每个样地采土壤样品3个。采样时,收集黏附于根系表面的土壤,视为根际土壤;距植株根围外20 cm左右的土壤视为非根际土壤。每个样地在采集土样的同时,采集长势一致的9株黄花蒿,带回实验室。收集新鲜黄花蒿叶

片测定青蒿素、青蒿酸、总多酚、东莨菪内酯、猫眼草酚D、猫眼草黄素的含量。

1.3 测定项目与方法

土壤理化性质分析采用常规方法进行。其中,pH值测定采用玻璃电极法,全氮含量测定采用凯氏定氮法,全磷含量测定采用钼蓝比色法,全钾含量测定采用火焰光度法,有机质含量测定采用浓硫酸-

重铬酸钾外加热法(180°C 油浴5 min),碱解氮含量测定采用碱解扩散硼酸吸收法,有效磷含量测定采用碳酸氢钠浸提-钼蓝比色法,速效钾含量测定采用乙酸铵浸提-火焰光度法^[21]。

土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性分别采用3,5-二硝基水杨酸比色法、苯酚-次氯酸钠比色法、磷酸苯二钠比色法测定,分别以24 h(即1 d)后1 g土壤中葡萄糖、铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)、苯酚的毫克数表示^[22]。

药用次生代谢产物提取参照JESSING等^[23]方法略有改动。总多酚含量测定采用20% Na_2CO_3 和Folin-酚反应体系,以咖啡酸为对照,在725 nm处比色^[24]。黄花蒿叶片东莨菪内酯、猫眼草酚D、猫眼草黄素含量采用高效液相色谱仪(HPLC-20AT)进行分析^[25-26],将黄花蒿新鲜叶片用研钵磨碎,以无水乙醇提取,静置过夜后再进行超声处理,经滤膜过滤后进行分析。检测条件:Waters公司的Waters PAH C18色谱柱($250\text{ mm} \times 4.6\text{ mm} \times 5\text{ }\mu\text{m}$),检测器为二极管阵列,色谱工作站为LC-solution 2.5;流动相A相为乙腈、甲醇体积比11:5,B相为水、甲酸体积比0.1:100,检测波长为345 nm,梯度洗脱,通过外标法计算其含量。黄花蒿青蒿酸、青蒿素含量采用气相色谱-质谱联用仪(GCMS-QP2010)进行分析^[26]。分析条件为色谱柱:Phase ZB-1701($30\text{ m} \times 0.25\text{ mm} \times 0.25\text{ }\mu\text{m}$);升温程序:初始温度

50°C ,然后以 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速度升温到 220°C (保持5 min),再以 $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 速度升到 230°C (保持10 min);载气:氦气(恒流 31.4 cm/s),分流比10:1;离子源温度: 250°C ,检测器温度: 250°C 。

1.4 数据处理与统计分析

试验数据采用Excel整理,SPSS 18.0软件进行统计分析,包括主成分分析、方差分析(ANOVA)和LSD显著性检验,显著水平均为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 野生黄花蒿药用次生代谢产物含量

由表2可见,各样地野生黄花蒿青蒿素含量在0.99~5.12 g/kg,其中,SS2样地最高,是JH2样地(最低)的5.17倍,除SS1样地与JH1样地差异不显著,其他样地间均差异显著;各样地野生黄花蒿青蒿酸含量在0.13~0.48 g/kg,其中SS1样地最高,是JH1样地(最低)的3.69倍。各样地野生黄花蒿总多酚含量在3.26~9.63 g/kg,JH3样地最高,是JH2样地(最低)的2.95倍。黄花蒿酚类物质中东莨菪内酯、猫眼草酚D、猫眼草黄素的含量较高,抗氧化性极强,可协同青蒿素提高抗疟能力。各样地野生黄花蒿东莨菪内酯含量在408.33~958.64 mg/kg,猫眼草酚D含量在60.55~234.10 mg/kg,猫眼草黄素含量在182.03~336.21 mg/kg。

表2 野生黄花蒿药用次生代谢产物含量

Tab. 2 Secondary metabolites contents of wild *A. annua*

样地编号 Site code	总多酚/(g/kg) Total polyphenols	东莨菪内酯/(mg/kg) Scopoletin	猫眼草酚 D/(mg/kg) Chrysosplenol-D	猫眼草黄素/(mg/kg) Chrysosplenetin	青蒿素/(g/kg) Artemisinin	青蒿酸/(g/kg) Artemisic acid
SS1	6.92d	614.00c	133.93d	197.90d	3.49b	0.48a
SS2	8.56c	572.26d	176.68c	230.67c	5.12a	0.26c
SS3	9.46b	958.64a	212.68b	310.92b	2.70d	0.37b
JH1	5.72e	408.33f	83.69e	182.03f	3.35bc	0.13f
JH2	3.26f	675.35b	60.55f	192.60e	0.99f	0.24cd
JH3	9.63a	514.99e	234.10a	336.21a	1.72e	0.21e

注:同列不同小写字母表示不同样地间差异显著($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference among the sample sites at 0.05 level.

2.2 野生黄花蒿土壤基本理化性质特征

由表3可见,不同黄花蒿样地的土壤基本理化性质差异显著,根际与非根际土壤间也差异显著。不同黄花蒿样地土壤pH值在6.62~8.27,非根际土壤的pH值高于根际土壤,pH值最高的样地为JH3,最低的样地为SS1。通常,根系分泌有机酸和呼吸作用产生的 CO_2 形成 H_2CO_3 ,被认为是根际pH值降低的必然原因。土壤有机质含量的高低,是土壤肥力的一个重要指标。不同黄花蒿样地的土壤有

机质含量介于10.31~83.89 g/kg,其中JH3样地最高,SS2样地最低。全量氮、磷、钾养分含量是衡量土壤肥力的重要指标,不同黄花蒿样地的土壤全氮含量在0.39~4.20 g/kg,其中JH3样地最高,JH2样地非根际土壤全氮含量最低;全磷含量在0.51~1.22 g/kg,其中JH1样地根际土壤中最高,JH2样地非根际土壤中最低;全钾含量在21.51~38.48 g/kg,其中SS2样地非根际土壤中最高,SS1样地非根际土壤中最低。有效养分氮、磷、钾含量与植物生长密切

相关,不同样地之间土壤碱解氮含量在 3.30 ~ 40.11 mg/kg,其中 JH3 样地根际土壤中最高,SS2 样地非根际土壤中最低;有效磷含量在 7.71 ~ 50.90 mg/kg,JH3 样地非根际土壤中最高,SS1 样地

非根际土壤中最低;速效钾含量在 28.72 ~ 80.17 mg/kg,SS1 样地根际土壤中最高,JH2 样地非根际土壤中最低。

表 3 野生黄花蒿样地土壤基本理化性质

Tab. 3 Soils basic physicochemical property of wild *A. annua* sample sites

样地编号 Site code	土壤类别 Soil type	有机质/ (g/kg) Organic matter	全氮/ (g/kg) Total nitrogen	全磷/ (g/kg) Total phosphorus	全钾/ (g/kg) Total potassium	碱解氮/ (mg/kg) Available nitrogen	有效磷/ (mg/kg) Available phosphorus	速效钾/ (mg/kg) Available potassium	pH
SS1	R	19.49eA	2.24cA	1.16bA	22.45kA	22.59bA	16.34hA	80.17aA	6.62fB
	N	15.53gB	0.52kB	0.93eB	21.51lB	19.17cB	7.71jB	47.73hB	6.86fA
SS2	R	10.62kA	1.69dA	0.75gA	36.63cB	8.13fgA	18.74gA	58.76dA	7.11eB
	N	10.31lA	1.65eB	0.65hB	38.48aA	3.30jB	18.90gA	32.65kB	7.32dA
SS3	R	12.21jB	0.72jB	0.78fA	35.66bcA	5.21iA	21.03fA	49.21gA	7.54dA
	N	13.83iA	1.33fA	0.76fB	34.81fB	3.63jB	10.85iB	42.72iB	7.64cA
JH1	R	14.45hB	0.86iB	1.22aA	33.57gB	9.88eA	38.37cA	54.86eA	7.46dB
	N	16.76fA	1.29fgA	1.03dB	35.89dA	5.95hB	39.01cA	50.36fB	7.60dA
JH2	R	33.67cA	1.01hA	1.03dA	26.45fiB	15.92dA	32.04eB	34.54jA	7.66cA
	N	32.35dB	0.39lB	0.51iB	27.70hA	8.46fB	39.69bA	28.72IB	7.87cA
JH3	R	41.31bB	4.20aA	1.02dA	38.13bA	40.11aA	36.61dB	67.13cB	8.00bB
	N	83.89aa	2.75bb	1.09cA	25.77jB	39.58aA	50.90aA	73.50bA	8.27aA

注:R 表示根际土壤,N 表示非根际土壤;同列不同小写字母表示各样地不同土壤类型间差异显著($P < 0.05$),同列不同大写字母表示同一样地根际土壤与非根际土壤间差异显著($P < 0.05$)。表 4 同。

Note: R = rhizosphere and N = no-rhizosphere; Different capital letters in the same column indicate significant difference between R and N at the same site ($P < 0.05$), while different lowercase letters in the same column indicate significant difference among different soil types ($P < 0.05$). The same as Tab. 4.

2.3 野生黄花蒿土壤酶活性特征

蔗糖酶广泛存在于土壤中,是土壤能量转化、腐殖质分解的重要酶类,也是土壤生物学活性的重要表征^[27-28]。从表 4 可以看出,不同黄花蒿样地的土壤蔗糖酶活性为 8.63 ~ 91.65 mg/(g · d),其中 SS1 样地根际土壤最高,SS2 样地非根际土壤最低,各个样地根际土壤蔗糖酶活性均显著高于非根际土壤。

表 4 野生黄花蒿样地土壤酶活性

Tab. 4 Soil enzymatic activities of wild *A. annua* sample sites

mg/(g · d)

样地编号 Site code	土壤类别 Soil type	蔗糖酶 Sucrase	脲酶 Urease	磷酸酶 Phosphatase
SS1	R	91.65aA	2.26bA	0.67bA
	N	63.10bB	1.82dB	0.44eB
SS2	R	11.84jA	0.41fA	0.16hA
	N	8.63klB	0.19jB	0.05jkB
SS3	R	18.44fA	0.24iB	0.06jA
	N	16.23gB	0.33hA	0.03IB
JH1	R	14.53hA	0.25iA	0.18gA
	N	9.14kB	0.17jkB	0.13iB
JH2	R	21.68eA	0.92eA	0.45dA
	N	12.82iB	0.38fgB	0.22fB
JH3	R	48.50cA	2.91aA	0.86aA
	N	25.23dB	2.12cB	0.65cB

土壤脲酶是影响有机态氮素分解的一种重要酶^[29]。从表 4 可以看出,不同黄花蒿样地的土壤脲酶活性在 0.17 ~ 2.91 mg/(g · d),其中 JH3 样地根际土壤最高,JH1 样地非根际土壤最低,各个样地根际土壤脲酶活性高于非根际土壤(SS3 样地除外)。磷酸酶在土壤磷素循环中起着重要作用,其活性高低直接影响着土壤中有机磷的分解转化及其生物有效性,土壤的磷素状况常以土壤磷酸酶活性进行评价^[30-31]。不同黄花蒿样地的土壤磷酸酶活性在 0.03 ~ 0.86 mg/(g · d),其中 JH3 样地根际土壤最高,SS3 样地非根际土壤最低,各个样地根际土壤脲酶活性均显著高于非根际土壤。

2.4 土壤特征与野生黄花蒿药用次生代谢产物含量的相关性分析

由表 5 可见,青蒿素含量与土壤脲酶活性、磷酸酶活性、碱解氮含量、全钾含量、pH 值呈极显著相关,与蔗糖酶活性、有效磷含量呈显著相关;青蒿酸含量与土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶活性,土壤有机质、全磷、碱解氮、速效钾含量及 pH 值呈极显著相关,与土壤全氮、全钾含量呈显著相关;猫眼草酚 D、总多酚含量均与土壤有效磷含量呈极显著负相关。可见,土壤酶活性提高有助于次生代谢产物尤其是青

蒿素和青蒿酸的积累,但 pH 值升高则不利于次生代谢产物积累,土壤中养分含量提高有利于黄花蒿

次生代谢产物青蒿酸的积累。

表 5 土壤特征与野生黄花蒿次生代谢产物含量的相关系数

Tab. 5 Correlation coefficients between soil properties and secondary metabolites content of wild *A. annua*

次生代谢 产物 Secondary metabolites	土壤酶活性 Soil enzymatic activities			土壤养分含量 Soil nutrients content						pH
	脲酶 Urease	磷酸酶 Phosphatase	蔗糖酶 Sucrase	有机质 Organic matter	全氮 Total nitrogen	全磷 Total phosphorus	全钾 Total potassium	碱解氮 Available nitrogen	有效磷 Available phosphorus	
					Total	Total	Total	Available	Available	
总多酚 Total polyphenols	0.182	0.142	0.068	0.111	0.195	0.071	-0.198	0.171	-0.643 **	0.084
东莨菪内酯 Scopoletin	-0.051	0.052	-0.091	-0.149	0.139	0.055	0.097	0.089	0.316	0.458
猫眼草酚 D Chrysosplenol-D	0.097	0.052	0.004	0.098	0.110	0.049	-0.140	0.088	-0.617 **	0.098
猫眼草黄素 Chrysosplenitin	-0.272	-0.301	-0.335	-0.193	0.046	-0.236	0.218	-0.269	-0.370	-0.071
青蒿素 Artemisinin	0.681 **	0.632 **	0.572 *	0.403	0.001	0.395	-0.678 **	0.670 **	-0.572 *	0.115
青蒿酸 Artemisic acid	0.673 **	0.773 **	0.687 **	0.656 **	0.519 *	0.808 **	-0.551 *	0.738 **	0.088	0.982 **
										-0.740 **

注: * 表示在 0.05 水平(双侧)上显著相关; ** 在 0.01 水平(双侧)上显著相关。

Note: *, ** show that correlations are significant (two-way) at 0.05, 0.01 level respectively.

2.5 土壤特征与黄花蒿次生代谢产物含量的主成分分析

对影响黄花蒿青蒿素、青蒿酸、东莨菪内酯、猫眼草酚 D、猫眼草黄素、总多酚 6 种次生代谢产物含量的土壤全氮、全磷、全钾、有机质、碱解氮、有效磷、速效钾含量,蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性以及 pH 值 11 项指标进行因子分析,通过 KMO (Kaiser-Meyer-

Olkin, KMO)、Bartlett 检验,结果得到 KMO 值为 0.551, P 值为 0.000, 小于 0.05 显著水平,表明适合做因子分析。由表 6 可知,前 3 个公共因子的特征值均大于 1, 累积方差贡献率达到 86.936%, 表明前 3 个公共因子基本可以反映影响黄花蒿 6 种次生代谢产物含量因子的信息。

表 6 主成分分析特征值和累积贡献率

Tab. 6 Eigenvalues and accumulative contribution rate of PCA

因子 Component	初始特征值 Initial eigenvalues			抽去后特征值 Extracted eigenvalues			旋转平方和载入 Rotation sums of squared loadings		
	总特征值 Total eigenvalues	方差贡 献率/% Variance contribution	累积贡 献率/% Cumulative contribution	总特征值 Total eigenvalues	方差贡 献率/% Variance contribution	累积贡 献率/% Cumulative contribution	总特征值 Total eigenvalues	方差贡 献率/% Variance contribution	累积贡 献率/% Cumulative contribution
		rate	rate		rate	rate		rate	rate
1	5.617	51.060	51.060	5.617	51.060	51.060	4.970	45.183	45.183
2	2.711	24.642	75.703	2.711	24.642	75.703	2.870	26.088	71.271
3	1.236	11.233	86.936	1.236	11.233	86.936	1.723	15.665	86.936
4	0.850	7.728	94.664						
5	0.283	2.569	97.233						
6	0.160	1.450	98.684						
7	0.084	0.760	99.443						
8	0.042	0.383	99.826						
9	0.013	0.121	99.947						
10	0.005	0.041	99.988						
11	0.001	0.012	100						

表 7 显示了前 3 个公共因子旋转后的因子载荷

矩阵。因各因子负载趋于两极分化,其具有一定生

物学意义。基于成分载荷大小决定其所起的作用,脲酶活性、速效钾含量、磷酸酶活性、碱解氮含量、全氮含量、蔗糖酶活性和全磷含量对第 1 公共因子起主要作用,方差贡献率为 51.060%。pH 值、有效磷含量和有机质含量对第 2 公共因子起主要作用,方差贡献率为 24.642%,全钾含量对第 3 公共因子起主要作用,方差贡献率为 11.233%。说明影响黄花蒿次生代谢产物含量的主要土壤特征因子为脲酶活性、磷酸酶活性、蔗糖酶活性、全氮含量、全磷含量、碱解氮含量和速效钾含量,其次为有机质含量、有效磷含量和 pH 值,这和黄花蒿土壤特征与次生代谢产物的相关性分析结果基本一致。

表 7 公共因子旋转后的因子载荷矩阵

Tab. 7 Factor load matrix after common factors rotation

项目 Item	因子 Factor		
	1	2	3
脲酶活性 Urease activities	0.910	0.107	0.291
速效钾含量 Available potassium content	0.877	-0.043	-0.021
磷酸酶活性 Phosphatase activities	0.874	0.248	0.334
碱解氮含量 Available nitrogen content	0.854	0.433	0.217
全氮含量 Total nitrogen content	0.844	0.253	-0.396
蔗糖酶活性 Sucrase activities	0.725	-0.442	0.479
全磷含量 Total phosphorus content	0.635	0.044	0.148
pH	-0.051	0.937	-0.220
有效磷含量 Available phosphorus content	0.110	0.891	-0.032
有机质含量 Organic matter content	0.433	0.820	0.275
全钾含量 Total potassium content	-0.189	0.038	-0.973

3 结论与讨论

通过对贵州省 2 个县 6 个不同黄花蒿样地的土壤特征、黄花蒿次生代谢产物含量及二者相关性进行分析,并对其进行主成分分析,结果显示,不同土壤类别间理化性质差异显著。这可能是由于土壤理化性质间相互作用,或者受其他如农事活动的影响^[28]。黄花蒿根际土壤的 pH 值低于非根际土壤,可能是根系分泌有机酸和呼吸作用产生 CO₂ 形成碳酸使根际 pH 值降低。黄花蒿不仅能够在砾石 (>2 mm) 含量差异很大(35.14% ~ 78.54%) 的条件下生长,而且其土壤理化性质差异显著,这与罗世

琼^[32]的研究结果相似,说明黄花蒿具有广泛的生态适应能力。

土壤酶参与土壤的生物化学过程,如养分转化、有机质降解、腐殖质合成等。本试验中,6 个野生黄花蒿样地土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶活性差异显著。植物凋落物和根系在一定程度上影响土壤磷酸酶活性^[33]。土壤脲酶活性与地上植被的多样性有关,蔗糖酶活性也受到如土壤有机质等多种土壤因子的影响^[22]。因此,复杂多样的影响因子导致土壤酶活性差异显著。

黄花蒿各样地次生代谢产物含量差异显著,可能是不同样地的气候条件、土壤养分、土壤微生态环境及 UV-B 辐射条件等不同^[34] 导致的。在种植黄花蒿时,应考虑次生代谢产物积累的气候适宜性如温度、日照^[35],才能获取更多的药用次生代谢产物。

本研究通过对黄花蒿土壤特征与其药用次生代谢产物含量进行相关分析及因子分析发现,土壤特征与黄花蒿青蒿素、青蒿酸含量显著相关,初步明确了影响黄花蒿药用次生代谢产物的土壤特征因子。土壤有效磷含量影响黄花蒿叶片总多酚、猫眼草酚 D 和青蒿素含量,这与前人研究结果基本一致^[12]。提高速效钾、全氮含量与有机质含量能够促进青蒿酸含量的增加,碱解氮含量、脲酶活性、磷酸酶活性、蔗糖酶活性、全钾含量与 pH 值能够影响青蒿素、青蒿酸含量。

综上,土壤特征与黄花蒿药用次生代谢产物的累积显著相关。为促进黄花蒿次生代谢产物的累积,人工栽培黄花蒿可结合当地土壤实际状况,提高土壤酶活性、保持土壤含水量,改善土壤酸碱度,还可以适量增施氮肥。

参考文献:

- [1] LI T. Using hairy roots for production of valuable plant secondary metabolites [J]. Advances in Biochemical Engineering Biotechnology, 2015, 49:275.
- [2] 陈晓亚,刘培,孟玉玲,等.植物的次生代谢[J].科学, 1996(5):37-39.
- [3] 苏文华,张光飞,李秀华,等.植物药材次生代谢产物的积累与环境的关系 [J]. 中草药, 2005, 36 (9): 1415-1418.
- [4] 王玉明,李锦,张丽媛,等.药用植物次生代谢产物积累规律的研究概况 [J]. 中南药学, 2012, 10 (2): 136-139.
- [5] XU Z C, JI A J, ZHANG X, et al. Biosynthesis and regulation of active compounds in medicinal model plant *Salvia miltiorrhiza* [J]. Chinese Herbal Medicines, 2016, 8 (1):

- 3-11.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015;198.
- [7] 林油润. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991, 76 (2):62-65.
- [8] TU Y Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine [J]. Nature Medicine, 2011, 17(10):1217-1220.
- [9] 汪猷, 夏志强, 周凤仪, 等. 青蒿素生物合成的研究 III. 青蒿素和青蒿素 B 生物合成中的关键性中间体: 青蒿酸 [J]. 化学学报, 1988, 46(11):1152-1153.
- [10] FERREIRA J F, LUTHRIA D L, SASAKI T, et al. Flavonoids from *Artemisia annua* L. as antioxidants and their potential synergism with artemisinin against malaria and cancer [J]. Molecules, 2010, 15(5):3135-3170.
- [11] BHAKUNI R S, JAIN D C, SHARMA R P, et al. Secondary metabolites of *Artemisia annua* and their biological activity [J]. Current Science, 2001, 80(1):35-48.
- [12] 邸胜娟, 罗世琼, 杨占南, 等. 土壤特征对黄花蒿酚类物质的影响 [J]. 江苏农业科学, 2017, 45(11):85-89.
- [13] 彭锐, 王远会, 马鹏, 等. 黄花蒿中青蒿素含量与产地气象因子及土壤的关系研究 [J]. 西南农业学报, 2010, 23(2):519-522.
- [14] 邸胜娟. 黄花蒿 (*Artemisia annua* L.) 抗疟相关成分累积与土壤特征 [D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2017.
- [15] 李锋, 韦霄, 许成琼, 等. 广西黄花蒿类型调查研究 [J]. 广西植物, 1997, 17(3):231-234.
- [16] 王满莲, 韦霄, 蒋运生, 等. 不同土壤环境对黄花蒿生长和青蒿素含量的影响研究 [J]. 植物研究, 2010, 30 (4):424-427.
- [17] 张金燕, 孙雪婷, 陈军文, 等. 连作三七根际土壤化感物质检测及其提取液对三种作物种子萌发的影响 [J]. 南方农业学报, 2017, 48(7):1178-1184.
- [18] HAWKES C V, WREN I F, HERMAN D J, et al. Plant invasion alters nitrogen cycling by modifying the soil nitrifying community [J]. Ecology Letters, 2005, 8(9):976-985.
- [19] 刘菊梅, 曹博, 石春芳, 等. 紫花苜蓿根际效应对河套灌区土壤盐分和养分的影响 [J]. 南方农业学报, 2018, 49(2):246-252.
- [20] 罗世琼, 黄建国, 袁玲. 野生黄花蒿土壤的养分状况与微生物特征 [J]. 土壤学报, 2014, 51(4):868-879.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000;13-18.
- [22] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [23] JESSING K K, CEDERGREEN N, JENSEN J, et al. Degradation and ecotoxicity of the biomedical drug artemisinin in soil [J]. Environmental Toxicology & Chemistry, 2009, 28(4):701-710.
- [24] MARTÍNEZ-BLANCO J, ANTÓN A, RIERADEVALL J, et al. Comparing nutritional value and yield as functional units in the environmental assessment of horticultural production with organic or mineral fertilization [J]. International Journal of Life Cycle Assessment, 2011, 16(1):12-26.
- [25] 余正文, 王伯初, 杨占南, 等. 高效液相色谱法同时测定青蒿中东莨菪内酯、猫眼草酚及猫眼草黄素 [J]. 中国酿造, 2011, 30(9):175-178.
- [26] 余正文. 青蒿抗疟化合物代谢积累及其相关性研究 [D]. 重庆: 重庆大学, 2010.
- [27] 万忠梅, 宋长春. 小叶章湿地土壤酶活性分布特征及其与活性有机碳表征指标的关系 [J]. 湿地科学, 2008, 6(2):249-257.
- [28] 马丽. 豫东不同树龄梨园土壤微生物生态特征 [J]. 河南农业科学, 2018, 47(1):37-42.
- [29] 王楠, 徐俊平, 赵志伟, 等. 氮素形态配比对添加玉米秸秆白浆土微生物学特性的影响 [J]. 河南农业科学, 2017, 46(6):56-61.
- [30] 刘建新. 不同农田土壤酶活性与土壤养分相关关系研究 [J]. 土壤通报, 2004, 35(4):523-525.
- [31] STADDON W J, DUCHESNE L C, TREVORS J T. Acid phosphatase, alkaline phosphatase and arylsulfatase activities in soils from a jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) ecosystem after clear-cutting, prescribed burning, and scarification [J]. Biology & Fertility of Soils, 1998, 27(1):1-4.
- [32] 罗世琼. 黄花蒿土壤微生物与抗疟相关成分的关联性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [33] 胡雷, 王长庭, 王根绪, 等. 三江源区不同退化演替阶段高寒草甸土壤酶活性和微生物群落结构的变化 [J]. 草业学报, 2014, 23(3):8-19.
- [34] 李锦馨, 张阁, 马燕, 等. UV-B 辐射胁迫对药用植物次生代谢产物的影响研究进展 [J]. 河南农业科学, 2018, 47(5):1-7.
- [35] 张慢慢, 邵惠芳, 许自成, 等. 烤烟产量与气候因子的关系分析 [J]. 河南农业科学, 2016, 45(7):34-38.