

夏播菘蓝不同居群干物质和活性成分积累特征

唐晓清, 杨 月, 吕婷婷, 肖云华, 王康才

(南京农业大学 园艺学院, 南京 210095)

摘 要:为研究夏播菘蓝不同栽培居群的最佳采收期, 以来自于山西、安徽、甘肃、江苏和河南的 5 个栽培居群为材料, 设置盆栽土培实验, 于菘蓝生长第 60 天起, 间隔 10 d 采样, 共采集 6 次样品, 采用 HPLC 法测定其叶片、叶柄、根茎和根 4 个部位的靛蓝与靛玉红含量。结果表明: (1) 不同栽培居群随着生长时间的延长, 其叶片、叶柄、根茎及根的生物量持续增加, 其中来自于山西居群的生长最佳, 干物质积累量最大。 (2) 不同居群叶片及叶柄内靛蓝与靛玉红含量最大值出现在生长 90~100 d, 即为叶内活性成分积累的高峰期。 (3) 综合分析其活性成分与干物质的积累量, 各居群叶片靛蓝积累量最大值在生长 90~100 d, 叶片、叶柄与根茎的靛玉红积累量也出现在 90~100 d。若以中国药典的靛玉红为质量控制指标, 同时综合考察其生物量指标与活性成分积累量指标, 夏季播种的来自于山西、安徽和河南的菘蓝居群最佳采收期为生长 100 d 左右, 而来自于甘肃与江苏居群的则以生长 90 d 最佳。

关键词: 夏播; 菘蓝; 居群; 活性成分; 积累特征

中图分类号: Q945.18

文献标志码: A

Accumulating Characteristics of Dry Substance and Active Component of Summer-planted *Isatis indigotica* Fort. Cultivated Populations

TANG Xiaoqing, YANG Yue, LÜ Tingting, XIAO Yunhua, WANG Kangcai

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: To study the best harvesting time of summer-planted *Isatis indigotica* Fort., we planted different cultivated populations, which were from Shanxi, Anhui, Gansu, Jiangsu and Henan Province, by pot culture experiment. Test samples, which were sampling interval 10 days since growing 60 days, were harvested for 6 times. The contents of indigo and indirubin in their leaves, petioles, rhizomes and roots were determined by HPLC. The results showed that: (1) The biomass of leaves, petioles, rhizomes and roots increased with the growth time, in which the growth was the best, and dry matter accumulation was the maximum is the population from Shanxi. (2) The highest contents of indigo and indirubin in leaves and petioles of different populations occurred 90~100 days, namely a peak period of active components in leaves. (3) The highest of indigo accumulating amount (dry weight multiplying indigo content) in leaves of every population of *I. indigotica* appeared at 90~100 d, and the highest of indirubin accumulating amount in leaves, petiole and rhizome appeared at 90~100 d too. The most appropriate sampling time of *I. indigotica* from Shanxi, Anhui and Henan was 100 days, while the Gansu and Jiangsu populations were sampling at 90 days, taking indirubin as the quality control indicator in China Pharmacopoeia, meanwhile taking comprehensively the biomass and accumulating amount of active component as comprehensive indicators.

Key words: summer sowing; *Isatis indigotica* Fort.; population; active component; accumulating characteristic

菘蓝 (*Isatis indigotica* Fort.) 为十字花科植物, 干燥叶入药为大青叶 (*Folium Isatidis*), 根入药

为板蓝根 (*Radix Isatidis*)^[1], 为临床配方与制剂原料的大宗药材。大青叶中活性成分为靛蓝、靛玉红

收稿日期: 2013-10-14; 修改稿收到日期: 2014-01-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31171486); 国家级大学生创新创业训练计划 (201310307026)

作者简介: 唐晓清 (1970—), 女, 博士, 副教授, 主要从事药用植物栽培与中药质量控制研究。E-mail: xqtang@njau.edu.cn

等吲哚类生物碱^[2-3],其中靛玉红具有抗肿瘤作用,对动物移植性肿瘤有较强的抑制作用,对慢性粒细胞白血病有较好的疗效^[4]。《中国药典》2010 版(一部)以靛玉红作为大青叶药材及其制剂的质量控制指标。大青叶质量的好坏与其基原植物菰蓝体内成分的代谢密切相关。栽培生产中,部分产区为充分利用土地,在麦收后采用夏播方式栽培菰蓝,然而夏播菰蓝的生长及其体内活性成分的积累动态缺乏系统研究。植物化学成分复杂,并随着生长期的延长呈动态变化,不同的时期采收将影响生物活性成分的种类和含量,继而影响其药用价值,所以研究药用植物采收期对药用植物的开发应用具有重大现实意义^[5]。同时,由于不同栽培居群菰蓝对环境适应性存在差异,其生长及体内的次生代谢也可能存在差异,因此开展不同栽培居群菰蓝夏播的生长过程中不同部位的靛蓝与靛玉红积累规律研究,为药材大青叶的采收时间与质量控制提供理论借鉴尤为重要。本试验以 5 个菰蓝不同栽培居群为研究材料,采用盆栽方式,以 HPLC 法对夏播菰蓝的绿色叶片、叶柄、根茎及根等部位的靛蓝、靛玉红含量进行分析,初步确定大青叶中靛蓝、靛玉红的含量变化规律,并分析其干物质质量与活性成分的综合积累量,从而为药材大青叶的合理采收提供一定的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

材料为来自于不同产地的菰蓝栽培居群(S1 为山西居群,S2 为安徽居群,S3 为甘肃居群,S4 为江苏居群,S5 为河南居群),经鉴定为十字花科植物菰蓝(*Isatis indigotica* Fort.)果实。试验主要仪器包括 LC-20AT 高效液相色谱仪、紫外检测器、N2000 色谱工作站,试剂主要包括甲醇(色谱醇)、氯仿(分析醇)、水(超纯水),以及靛蓝和靛玉红(批号分别为 110716-201111、110717-200606,供含量分析用,均购自中国药品生物制品检定所)。

1.2 方法及步骤

1.2.1 材料培养与样品采集 参照菰蓝栽培生产中夏播方式,于 7 月 12 日种植菰蓝 5 个栽培居群,分别标号 S1、S2、S3、S4、S5,每个居群播 10 盆,进行常规管理,自播种后第 60 天开始采集菰蓝样品,每隔 10 d 采 1 次,每 1 次采集 10 株;将采集的菰蓝植株按照叶片、叶柄、根茎与根 4 个部分分开,分别称量其鲜重后,置于 60 °C 烘箱内烘干至恒重,再称重,粉碎备用。

1.2.2 样品供试液制备 精密称取各样品粉末 0.25 g,分别置于索氏提取器中,以氯仿加热回流至提取液无色,回收氯仿至干,残渣用甲醇分次溶解并定容至 100 mL 容量瓶中,摇匀。滤液经 0.45 μm 微孔滤膜过滤,取续滤液作为供试品溶液。

1.2.3 标准溶液的制备 分别称取靛蓝、靛玉红各 1.0 mg 用氯仿溶解,用甲醇定容于 500 mL 的容量瓶中。从容量瓶里准确吸取 1、2、4、6、8、10 和 12 mL 溶液,分别定容到 100 mL 的容量瓶中,使溶液浓度分别为 0.02、0.04、0.08、0.12、0.16、0.20 和 0.24 g · mL⁻¹,分别吸取 20 μL 注入高效液相仪,记录其色谱峰面积。

1.2.4 线性回归方程拟合 分别以靛蓝、靛玉红的峰面积为纵坐标(Y),以进样量为横坐标计算得回归方程:

$$Y_{\text{靛蓝}} = 190.32X_{\text{靛蓝}} + 3513.2 (r = 0.9997)$$

$$Y_{\text{靛玉红}} = 261.45X_{\text{靛玉红}} + 101.37 (r = 0.9999)$$

靛玉红、靛蓝含量在 0.002~0.024 μg 范围内与峰面积有线性关系。

1.2.5 样品中活性成分含量测定 精确吸取各样品溶液 20 μL 进样,按回归方程式计算活性成分(靛蓝、靛玉红)的含量。并进一步据此计算单株干重条件下各部位(叶片、叶柄、根茎和根)的活性成分(靛蓝、靛玉红)积累量。

各部位活性成分积累量(μg) = 部位干物质质量(g) × 部位活性成分含量(μg/g)

1.3 数据统计分析

所有试验数据采用 Excel 和 SPSS 17.0 软件进行处理,方差分析采用 Duncan's 新复极差分析。

2 结果与分析

2.1 不同居群菰蓝单株各部位干物质的积累动态

不同栽培居群菰蓝单株各部位的干物质积累量均随时间延续呈基本一致的持续上升趋势(表 1)。其中,生长 110 d 时,单株叶片和叶片干物质质量均以 S1 居群最大,随后依次为 S2、S4、S3、S5 居群,单株根茎的干物质质量也以 S1 居群为最大(3.13 g),根的干物质质量则以 S2 为最大(2.41 g)。说明菰蓝地上与地下干物质积累在营养生长期持续上升。

同一时间点采样的不同居群间的干物质积累差异有的显著,有的差异不显著。在生长 60~90 d 的过程中,S1 的叶片、叶柄、根茎与根的干重与其它居群间差异不显著($P > 0.05$);90~100 d 过程中各居群间有一定的差异;至 110 d 后,S1 叶片、叶柄与根

茎的干物质积累最快,与其余 4 份材料间存在显著性差异($P<0.05$),但其地下的根部干物质积累量则仅与 S5 存在显著性差异($P<0.05$)。综合分析叶片、叶柄、根茎与根的总量可知,来自山西居群(S1)的生长状况表现最佳,其干物质积累最显著。

2.2 不同栽培居群菘蓝不同部位靛蓝含量比较

表 2 显示,5 个栽培居群植株同一部位的靛蓝含量在同一时间点存在较大的差异。其中,在生长 60 d 时,S1 叶片、根茎与根内靛蓝含量与其它居群间存在显著性差异,且其叶片中含量居各居群之首,根茎中含量仅次于 S3,而其叶柄内未检出靛蓝;在生长 70~90 d 时,S1 各部位的靛蓝含量与其他各居群均存在显著差异,且其叶柄含量位于各居群首位;生长 100 d 时,除叶柄外,S1 各部位的含量均与其他居群有显著差异,并且叶片含量居各居群首位;生长 110 d 时,S1 各部位的含量均与其他居群有显著差异,且其叶片和根含量居各居群之首,而叶柄含量居第二位,根茎含量居末位。可见,S1 居群 70~90 d 的叶柄和其余时间的叶片,以及个别时间的根

茎的靛蓝含量均显著高于其他居群。

同时,同一居群菘蓝不同部位和不同时间段的靛蓝含量也存在明显的不同。其中,各居群叶片的最高靛蓝含量在 S1 出现在 100 d,其余居群则集中出现在 90 d;叶柄含量最高值在 S1 出现在 90 d,而 S2~S5 出现在 80~100 d;根茎含量最高值在 S1 再次出现在 100 d,在 S2 出现在 110 d,S3~S5 则出现在 60~80 d;根部最高值在 S1 仍出现在 100 d,而 S2~S5 集中出现在 80~100 d。进一步比较各居群不同部位的最大值发现,S1 靛蓝含量最高为 100 d 的根茎,S2 最高为 110 d 的根茎,S3 最高为 90 d 的叶片,S4 最高为 100 d 的根茎,S5 最高为 90 d 的叶片。由此说明不同居群菘蓝不同部位的靛蓝含量存在差异,多出现在营养生长期 90~110 d 的叶片或根茎部位,这可能与其体内的次生代谢相关。

2.3 不同栽培居群菘蓝的生长期靛玉红的比较

表 3 显示,5 个栽培居群植株同一部位的靛玉红含量在同一时间点有较大差异。其中生长 60 d 时,S3 各部位靛玉红含量与其他居群间存在明显差

表 1 不同栽培居群菘蓝单株各部位的干物质积累动态

Table 1 The accumulating dynamic trends of dry matter of leaf,petiole,rhizome and root of individual plant in *I. indigotica* populations/g

器官 Organ	居群 Population	生长时间 Growing time/d					
		60	70	80	90	100	110
叶片 Leaf	S1	1.31±0.15a	1.70±0.10ab	1.82±0.11a	1.93±0.20b	4.21±0.35a	5.32±0.30a
	S2	1.22±0.25a	1.74±0.07ab	1.90±0.30a	2.34±0.31a	2.53±0.30b	3.21±0.25b
	S3	1.50±0.30a	1.61±0.30ab	1.92±0.30a	2.32±0.35ab	2.51±0.45b	3.06±0.15b
	S4	1.71±0.20a	1.94±0.25a	2.12±0.20a	2.53±0.30a	2.92±0.21b	3.11±0.25b
	S5	0.82±0.15b	1.31±0.25b	1.53±0.25a	1.91±0.16ab	2.01±0.30b	2.94±0.30b
叶柄 Petiole	S1	1.32±0.25a	1.63±0.30a	1.74±0.10a	1.80±0.13a	2.64±0.26a	3.25±0.25a
	S2	1.06±0.25ab	1.24±0.35a	1.5±0.20a	1.73±0.12a	2.15±0.31b	2.84±0.30ab
	S3	1.30±0.30a	1.53±0.10a	1.78±0.35a	1.91±0.36a	2.05±0.21b	2.32±0.15b
	S4	1.12±0.30ab	1.33±0.25a	1.52±0.25a	2.04±0.25a	2.11±0.35b	2.41±0.30b
	S5	0.71±0.10b	1.32±0.20a	1.51±0.25a	1.93±0.13a	2.01±0.20b	2.12±0.25b
根茎 Rhizome	S1	0.12±0.05a	0.31±0.05a	0.53±0.11a	0.84±0.06a	1.82±0.20a	3.13±0.20a
	S2	0.24±0.10a	0.32±0.06a	0.51±0.06a	0.92±0.20a	1.34±0.10b	1.92±0.30b
	S3	0.14±0.10a	0.21±0.06a	0.41±0.15b	0.72±0.25ab	0.93±0.20bc	1.21±0.33c
	S4	0.22±0.10a	0.31±0.15a	0.41±0.15ab	0.53±0.10b	0.81±0.20c	1.10±0.20c
	S5	0.12±0.15a	0.24±0.10a	0.42±0.10ab	0.50±0.20b	0.71±0.07c	1.01±0.20c
根 Root	S1	1.02±0.20a	1.31±0.05a	1.52±0.25a	1.73±0.25a	1.93±0.35a	2.21±0.11a
	S2	0.50±0.25b	0.61±0.16b	0.92±0.35b	1.44±0.30ab	1.92±0.30a	2.41±0.08a
	S3	0.50±0.02b	0.64±0.20c	0.95±0.25b	1.10±0.12b	1.41±0.25b	2.12±0.02a
	S4	0.51±0.06b	0.84±0.15b	1.13±0.20b	1.52±0.20ab	1.74±0.07ab	2.22±0.20a
	S5	0.21±0.15c	0.73±0.10b	1.01±0.15b	1.22±0.15b	1.64±0.15ab	1.83±0.11b

注:S1,S2,S3,S4,S5 分别代表山西、安徽、甘肃、江苏和河南居群;小写字母表示同一采样时间点 5 个不同居群在 0.05 水平上的差异显著性;下同。

Note:S1,S2,S3,S4,S5 stand for Shanxi,Anhui,Gansu,Jiangsu,Henan populations, respectively;The different normal letters mean significant differences among populations at 0.05 level of same sampling time. The same as below.

表 2 不同栽培居群菰蓝叶的不同部位的靛蓝含量

Table 2 The contents of indigo in leaf, petiole, rhizome and root of *I. indigotica*/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

器官 Organ	居群 Population	生长时间 Growing time/d					
		60	70	80	90	100	110
叶片 Leaf	S1	0.84±0.01a	0.47±0.00c	0.94±0.02b	1.19±0.06c	2.06±0.03a	0.64±0.01a
	S2	0.03±0.00d	0.30±0.01d	0.92±0.02bc	0.96±0.02d	0.70±0.01e	0.52±0.01d
	S3	0.12±0.00c	1.36±0.03a	1.14±0.07a	1.77±0.06b	1.33±0.02b	0.43±0.00e
	S4	0.47±0.01b	0.84±0.01b	0.89±0.00cd	1.69±0.01b	1.12±0.01c	0.56±0.00c
	S5	0.03±0.00d	0.79±0.01b	0.80±0.01e	1.81±0.02a	0.82±0.01d	0.59±0.01b
叶柄 Petiole	S1	0.00±0.00c	0.71±0.01a	0.92±0.01a	1.00±0.02a	0.47±0.01b	0.54±0.02b
	S2	0.00±0.00c	0.44±0.01c	0.77±0.02c	0.60±0.01c	0.47±0.01b	0.50±0.01c
	S3	0.57±0.01a	0.45±0.00c	0.90±0.02a	0.65±0.01b	0.43±0.00b	0.46±0.01c
	S4	0.30±0.01b	0.57±0.01b	0.84±0.00b	0.47±0.01d	1.04±0.01a	0.70±0.02a
	S5	0.00±0.00c	0.58±0.02b	0.73±0.02d	0.98±0.02a	1.14±0.09a	0.23±0.00d
根茎 Rhizome	S1	0.67±0.00b	0.78±0.03a	0.47±0.02e	0.97±0.01b	3.66±0.04a	0.05±0.00e
	S2	0.08±0.00d	0.39±0.01d	0.56±0.01d	0.78±0.01d	0.11±0.01c	1.21±0.02a
	S3	0.71±0.06a	0.58±0.03b	0.62±0.01c	0.60±0.02e	0.58±0.01b	0.44±0.01d
	S4	0.51±0.00c	0.48±0.01c	4.56±0.07a	2.35±0.01a	3.86±0.04a	0.87±0.01b
	S5	0.05±0.00d	0.54±0.01b	1.04±0.01b	0.83±0.01c	0.14±0.00c	0.57±0.01c
根 Root	S1	0.28±0.01c	0.49±0.03b	0.72±0.01c	0.91±0.01c	1.23±0.05b	0.80±0.01a
	S2	0.70±0.00a	0.30±0.01d	0.85±0.01b	0.39±0.01e	0.78±0.17c	0.78±0.04a
	S3	0.31±0.01b	0.40±0.01c	0.89±0.00a	0.46±0.01d	0.47±0.00e	0.56±0.00b
	S4	0.34±0.00b	0.86±0.02a	0.21±0.01e	1.23±0.01a	3.18±0.01a	0.01±0.00d
	S5	0.21±0.00d	0.43±0.01c	0.54±0.03d	1.01±0.02b	0.72±0.01d	0.46±0.01c

异,其叶柄、根茎和根内靛玉红含量位于各居群之首,叶片中含量仅次于S5;生长70~90 d时,S1各部位的靛玉红含量与其他居群均差异显著,且其根内靛玉红含量位于各居群首位;生长100 d时,S1各部位靛玉红含量与各居群间均差异显著,且其根茎内靛玉红含量位于其他居群之首;生长110 d时,除根茎外,S1各部位含量与其他居群间差异显著,但各部位含量均低于各时间点的最大值。可见不同栽培居群菰蓝各部位的靛玉红含量积累存在较大差异。

同时,同一居群菰蓝不同部位和不同时间段的靛玉红含量也有明显不同。其中叶片的最高靛玉红含量在S1、S2与S5均出现在100 d,S3与S4则出现在90 d;叶柄与根茎靛玉红最高含量均出现在100 d;根内最高含量在S1出现在90 d,S3与S4出现在100 d,而S2与S5则出现在110 d。由此说明不同居群菰蓝不同部位的靛玉红含量存在差异,且多集中出现在100 d的叶片、叶柄或根茎等部位。

2.4 不同居群菰蓝各部位活性成分积累量分析

5个居群菰蓝材料的各部位靛蓝积累量结果(表4)表明,S1单株的叶片、根茎与根靛蓝积累量最大值均出现在100 d,仅叶柄靛蓝积累量最大值出现

在90 d,并以100 d的叶片为4个部位中最大(8.66 μg);S2单株叶片的靛蓝积累量最大值出现在90 d,叶柄、根茎的靛蓝积累量最大值出现在110 d,根部最大值出现在100 d,且为4个部位最大(3.95 μg);S3的叶片和叶柄的靛蓝积累量最大值分别出现在80和90 d,而根茎和根的靛蓝积累量最大值均出现在110 d,并以90 d的叶片最大(4.07 μg);S4的叶片的靛蓝积累量最大值出现在90 d,叶柄、根茎和根靛蓝积累量最大值均出现在100 d,并以100 d的根积累量最大(5.40 μg);S5的叶片靛蓝积累量最大值出现在90 d,叶柄和根茎的靛蓝积累量最大值均出现在100 d,而根的靛蓝积累量最大值出现80 d,并以90 d的叶片积累量最大(3.44 μg)。即S1、S3、S5居群靛蓝积累量最大值均出现在90或者100 d叶片中,而S2和S4居群均出现在100 d的根系中。

由表5可知,5份菰蓝材料(S1~S5)各部位靛玉红积累量最大值均为叶片部分,分别为29.13、22.43、19.65、29.58、24.24 μg ,且远远高于同期其它各部位的积累量。其中,S1的叶片、根茎、根靛玉红积累量最大值均出现在100 d,仅叶柄靛玉红积累量最大值出现在90 d;S2的叶片靛玉红积累量最大值出现在90 d,叶柄、根茎靛玉红积累量最大值出现

表 3 不同栽培居群菘蓝叶不同部位的靛玉红含量

Table 3 The contents of indirubin in leaf,petiole,rhizome and root of *I. indigotica*/($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)

器官 Organ	居群 Population	生长时间 Growing time/d					
		60	70	80	90	100	110
叶片 Leaf	S1	3.17±0.08c	3.36±0.06a	2.90±0.11c	6.07±0.07e	6.94±0.16e	2.77±0.08b
	S2	3.74±0.03b	2.80±0.06b	4.23±0.08a	6.74±0.08d	8.97±0.05b	5.23±0.03a
	S3	4.07±0.02a	3.26±0.02a	3.60±0.01b	8.55±0.13c	7.13±0.07d	2.16±0.01d
	S4	0.88±0.02d	1.87±0.05d	1.57±0.01d	11.83±0.10a	7.70±0.06c	1.73±0.02e
	S5	4.12±0.01a	2.07±0.02c	1.68±0.01d	11.57±0.22b	12.12±0.29a	2.26±0.03c
叶柄 Petiole	S1	0.62±0.01c	0.76±0.01d	1.33±0.00a	1.88±0.07a	3.78±0.09c	0.86±0.02b
	S2	0.71±0.03b	0.94±0.01c	0.66±0.02d	1.26±0.02c	4.56±0.03b	0.71±0.01c
	S3	1.50±0.01a	1.13±0.02z	0.77±0.01c	1.24±0.02c	2.61±0.02d	0.96±0.01a
	S4	1.47±0.02a	1.06±0.02b	1.01±0.04b	1.16±0.01d	2.17±0.01e	0.14±0.00e
	S5	0.73±0.01b	0.75±0.01d	0.77±0.01c	1.48±0.01b	4.91±0.05a	0.37±0.01d
根茎 Rhizome	S1	1.29±0.01c	0.18±0.00c	0.07±0.00e	0.61±0.00d	4.23±0.06a	0.34±0.02c
	S2	1.39±0.00b	0.14±0.00c	0.24±0.01c	0.88±0.03c	2.08±0.06d	0.53±0.03b
	S3	1.50±0.04a	2.11±0.03a	0.40±0.01b	1.24±0.00a	2.41±0.12c	0.39±0.02c
	S4	1.05±0.06d	0.12±0.01c	0.78±0.02a	0.97±0.01b	3.25±0.08b	0.80±0.01a
	S5	0.95±0.01e	0.67±0.01b	0.21±0.01d	0.41±0.01e	1.64±0.00e	0.35±0.01c
根 Root	S1	0.28±0.01b	0.05±0.00d	0.21±0.01b	1.15±0.07a	0.36±0.02d	0.64±0.01c
	S2	0.24±0.01c	0.15±0.00a	0.24±0.02a	0.28±0.01d	1.15±0.02b	1.28±0.01a
	S3	0.87±0.04a	0.06±0.00d	0.23±0.01a	0.62±0.00c	0.83±0.01c	0.46±0.01e
	S4	0.31±0.01b	0.11±0.01b	0.04±0.00c	0.92±0.01b	2.19±0.13a	0.55±0.01d
	S5	0.21±0.01c	0.09±0.00c	0.20±0.01b	0.30±0.01d	0.76±0.00c	0.82±0.01b

表 4 不同居群菘蓝不同部位的靛蓝积累量(干重)

Table 4 The accumulation(dry weights) of indigo in different positions of different populations of *I. indigotica*/ μg

器官 Organ	居群 Population	生长时间 Growing time/d					
		60	70	80	90	100	110
叶片 Leaf	S1	1.09	0.79	1.70	2.27	8.66	3.38
	S2	0.03	0.52	1.76	2.20	1.75	1.67
	S3	0.18	2.18	2.17	4.07	3.33	1.28
	S4	0.80	1.60	1.87	4.23	3.25	1.74
	S5	0.02	1.03	1.19	3.44	1.64	1.71
叶柄 Petiole	S1	0.00	1.13	1.56	1.80	1.21	1.71
	S2	0.00	0.53	1.15	1.02	0.99	1.39
	S3	0.73	0.67	1.52	1.24	0.87	1.06
	S4	0.33	0.74	1.27	0.93	2.19	1.68
	S5	0.00	0.76	1.09	1.87	2.28	0.47
根茎 Rhizome	S1	0.07	0.23	0.24	0.78	6.58	0.15
	S2	0.02	0.12	0.28	0.70	0.15	2.30
	S3	0.07	0.12	0.25	0.42	0.52	0.53
	S4	0.10	0.14	1.82	1.17	3.09	0.96
	S5	0.11	0.42	0.42	0.10	0.57	0.00
根 Root	S1	0.28	0.63	1.09	1.54	2.35	1.77
	S2	0.69	0.08	0.22	1.24	3.95	1.26
	S3	0.15	0.24	0.80	0.50	0.66	1.17
	S4	0.17	0.69	0.23	1.85	5.40	0.03
	S5	0.04	0.30	3.09	1.22	1.15	0.83

表 5 不同居群菘蓝不同部位的靛玉红积累量(干重)

Table 5 The accumulation (dry weights) of indirubin in different positions of different populations of *I. indigotica*/μg

器官 Organ	居群 Population	生长时间 Growing time/d					
		60	70	80	90	100	110
叶片 Leaf	S1	4.12	5.71	5.21	11.53	29.13	14.69
	S2	4.49	4.76	8.03	15.50	22.43	16.75
	S3	6.11	5.21	6.84	19.65	17.83	6.47
	S4	1.49	3.55	3.30	29.58	22.34	5.35
	S5	3.29	2.69	2.51	21.99	24.24	6.54
叶柄 Petiole	S1	0.81	1.22	2.26	3.38	9.82	2.77
	S2	0.71	1.12	1.00	2.14	9.58	1.98
	S3	1.95	1.70	1.31	2.35	5.22	2.20
	S4	1.62	1.38	1.51	2.31	4.57	0.33
	S5	0.51	0.98	1.16	2.81	9.83	0.79
根茎 Rhizome	S1	0.13	0.05	0.03	0.48	7.61	1.05
	S2	0.28	0.04	0.12	0.80	2.70	1.00
	S3	0.15	0.42	0.16	0.87	2.17	0.47
	S4	0.21	0.04	0.31	0.49	2.60	0.88
	S5	0.09	0.13	0.08	0.21	1.15	0.35
根 Root	S1	0.28	0.07	0.32	1.95	0.69	1.40
	S2	0.12	0.09	0.22	0.40	2.19	3.07
	S3	0.44	0.04	0.20	0.68	1.16	0.97
	S4	0.16	0.09	0.04	1.37	3.72	1.21
	S5	0.04	0.06	0.20	0.36	1.22	1.47

在 110 d, 根靛玉红积累量最大值出现在 100 d; S3 的叶片、叶柄靛玉红积累量最大值分别出现在 80 d、90 d, 而根茎、根靛玉红积累量最大值均出现在 110 d; S4 的叶片靛玉红积累量最大值出现在 90 d, 叶柄、根茎与根靛玉红积累量最大值均出现在 100 d; S5 的叶片靛玉红积累量最大值出现在 90 d, 叶柄与根茎靛玉红积累量最大值均出现在 100 d, 根靛玉红积累量最大值出现 80 d。

菘蓝在栽培生产过程中, 不仅要注重其产量, 同时也应注重其药用成分的含量, 若以《中国药典》的靛玉红含量为质量控制指标, 同时结合其生物量指标, 夏播的菘蓝居群应采收地上部分叶入药, 以叶片的靛玉红积累量(干重)为综合指标, S1、S2 与 S5 居群则以生长 100 d 左右为最佳采收时间, 而 S3 与 S4 则以生长 90 d 左右为最佳采收期。

3 讨 论

植物在其生长发育过程中的初生代谢是指所有植物共同的代谢途径, 合成糖类、氨基酸类、普通的脂肪酸类、核酸类以及由它们形成的聚合物, 用以维持植物的生存和健康。而植物次生代谢具有不同于初生代谢的特点, 次生代谢产物不直接参与植物生

长和发育过程, 但影响植物与环境的相互关系^[6]。植物产生的多种次生代谢产物也是中药发挥临床药理作用的物质基础, 是影响中药质量的重要因素, 因此在其栽培生产中, 不仅要关注其产量的建成, 还必须关注其活性成分的积累。近年来, 对药用植物采收期的研究非常活跃, 2008~2011 年的有关植物采收期的研究范围涉及到 18 科约 34 种植物^[5]。目前在药用植物的栽培研究中, 更多的研究者关注到了药用植物的合理采收时间对于其入药的质量影响, 如澳大利亚的白花丹参(*Salvia miltiorrhiza* f. *alba*) 1 年生根比 2 年生根中 3 个生物标记性成分(隐丹参酮、丹参酮 I 和丹参酮 II_A) 含量高, 而 2 年生根比 1 年生根中丹酚酸 B 含量高^[7]; 周丽莉等报道, 丹参中的水溶性和脂溶性成分产量均在收获期(11 月 4 日)达到最高, 且不同丹参品种的经济产量及有效成分存在较大差异, 建议生产中应有针对性地选择丹参品种^[8]。采收于 8 月中旬~11 月中旬的韩国 7 个枸杞子品种(*Lycium barbarum* L.) 中, 其 5 种粗蛋白、粗脂、灰分和甜菜碱含量随着采收期的延迟而增加, 总糖、总多酚和提取物随着采收期的延迟而降低^[9]。另外, 欧菘蓝(*Isatis tinctoria*) 和菘蓝(*I. indigotica*) 在一致的栽培条件下硫甙(GLs)

含量具有季节波动性,而生长季节重复采收对新生叶子的 GLs 浓度影响不大^[10]。本研究中,5 个菘蓝居群的活性成分靛蓝与靛玉红含量最大值出现的时间存在一定差异,建议生产中综合考察其经济产量和活性成分的累积,探索生物量与活性成分的积累量,为菘蓝的高产优质栽培提供依据。

本研究还发现,不同居群菘蓝的叶片、叶柄、根茎与根 4 个部位的靛玉红含量存在差异,其中靛玉红含量最高值均出现在叶片内,这与笔者前期研究的菘蓝叶内的靛玉红主要存在于绿色的叶片部分的结论是一致的^[11]。笔者前期对引种至江苏连云港地区的菘蓝居群的生物量、多糖及蛋白进行了分析表明,若以生物量、多糖及蛋白为质量控制指标,河南居群的菘蓝适宜于引种至江苏苏北地区栽培^[12]。但对于其体内的活性成分靛蓝、靛玉红的积累则缺乏系统的研究,在实际生产中则不能很好地评价其药用质量及其合理的采收时间。本研究通过对 5 个居群的盆栽试验,以靛蓝、靛玉红为质量指标,并结合其生长量,综合分析其活性成分的积累量,初步明确了 5 个栽培居群夏播的适宜采收时间为 90~100

d 左右,此期活性成分积累量处于较高值。

此外,菘蓝的适应性强,分布范围广,对自然环境和土壤要求不严。将不同居群菘蓝引种至一个地区后需要对其适应性进行综合分析。本研究主要针对各居群生物量和活性成分的积累量进行了评价,发现 5 个夏播菘蓝栽培居群的生物量及活性成分均表现出一定的差异,叶片中活性成分靛玉红积累量在各居群材料的各部位均表现为最大值。而对于植物能否在异地引种成功并正常发育,首先需要满足的环境因素是水热条件,特别是要求年均温度的分布规律应与原产地相似^[13],其次还有土壤条件。陈士林等采用生物适生地分析系统,结合黄芩道地产区承德的资源,研究黄芩在中国适生地区域,可以较好地对黄芩的适宜区进行数值分级区划^[14]。中药作为一种特殊的商品,对其原植物的栽培研究中不仅考察其引种后的表现,还需要对其产地的适合度进行分析,因此不同居群菘蓝引种至江苏后还需要对其环境条件、物候条件与其生物量和活性成分的积累量的相关性作更进一步的研究。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:191—192.
- [2] WU X Y, QIN G W, CHEUNG K K, *et al.* New alkaloids from *Isatis indigotica*[J]. *Tetrahedron*, 1997, **53**(39):13 323—13 328.
- [3] LIU J F(柳继锋), ZHANG X M(张雪梅), XUE D Q(薛多清), *et al.* Studies on chemical constituents from leaves of *Isatis indigotica*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*(中国中药杂志), 2006, **31**(23):1 961—1 965(in Chinese).
- [4] BARBARA C S, MIRZA M H, BARBARA H K, *et al.* Transient induction of cytochromes P450 1A1 and 1B1 in MCF-7 human breast cancer cells by indirubin[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2003, **66**:2 313—2 321.
- [5] DAI Y(戴一). Research progress in effect of harvest time on the biological active components of medicinal plants[J]. *Journal of Anhui Agri. Sci.*(安徽农业科学), 2012, **40**(3):1 421—1 423, 1 425(in Chinese).
- [6] YAN X F(阎秀峰), WANG Y(王洋), LI Y M(李一蒙). Plant secondary metabolism and its response to environment[J]. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), 2007, **27**(6):2 554—2 562(in Chinese).
- [7] LI C G, SHENG S J, PANG E C, *et al.* HPLC profiles and biomarker contents of australian-grown *Salvia miltiorrhiza* f. *alba* roots[J]. *Chem. Biodivers.*, 2009, **6**(7):1 077—1 086.
- [8] ZHOU L L(周丽莉), YIN W ZH(伊伟贞), QI J J(祁建军), *et al.* Effect of varieties and growth years on root yield and bioactive components accumulation dynamics of *Salvia miltiorrhizae*[J]. *Chinese Wild Plant Resources*(中国野生植物资源), 2012, **31**(5):8—11, 17(in Chinese).
- [9] LEE H C, LEE B C, KIM S D, *et al.* Changes in composition of Gugija (*Lycii fructus*) species according harvest time[J]. *Korean J. Medicinal Crop Sci.*, 2008, **16**(5):306—312.
- [10] MOHN T, SUTER K, *et al.* Seasonal changes and effect of harvest on glucosinolates in *Isatis* leaves[J]. *Planta Medica*, 2008, **74**(5):582—587.
- [11] TANG X Q(唐晓清), WANG K C(王康才), XIE F(解芳). Distributing regulation of indigo and indirubin in different parts of leaves of *Isatis indigotica* Fort[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*(江西农业学报), 2008, **20**(6):74—76(in Chinese).
- [12] TANG X Q(唐晓清), WANG K C(王康才), CHEN X(陈暄), *et al.* Comparison of biomasses and contents of protein and polysaccharide of roots of *Isatis indigotica* from different areas[J]. *Jiangsu J. of Agr. Sci.*(江苏农业学报), 2007, **23**(3):224—228(in Chinese).
- [13] LI X E(李先恩), CHEN SH L(陈士林), WEI SH Q(魏淑秋), *et al.* Analysis on adaptive area and grade classification of *Rchmannia glutinosa* Libosch[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*(中国中药杂志), 2006, **31**(4):344—346(in Chinese).
- [14] CHEN SH L(陈士林), WEI SH Q(魏淑秋), LAN J(兰进), *et al.* Analysis on adaptive area of *Scutellaria baicalensis* in China and it's numerical division[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2007, **38**(2):254—257(in Chinese).