

不同产地与类型及采收方法对 黄花蒿中青蒿素含量的影响

韦树根^{1,3}, 马小军^{1,2*}, 付金娥¹, 冯世鑫¹, 闫志刚¹, 黄荣韶³

(1. 中国医学科学院 药用植物研究所 广西分所, 南宁 530023; 2. 中国医学科学院

药用植物研究所, 北京 100094; 3 广西大学 农学院, 南宁 530005)

摘要: 以来源于重庆、广西、湖南、广东、江苏、陕西等省区的 72 种质资源为试验材料, 研究不同产地与类型及采收方法对黄花蒿中青蒿素含量的影响, 为良种的选育和药材的采收提供科学的依据。结果表明: (1) 早熟型与中、晚熟型青蒿素含量的差异显著, 其顺序为: 中熟型 > 晚熟型 > 早熟型; (2) 在同一管理条件下不同茎秆颜色的青蒿素含量之间差异显著, 其顺序为: 白秆型 > 黄绿秆型 > 紫秆型 > 绿秆型; (3) 不同产地的黄花蒿青蒿素含量动态变化规律一致, 青蒿素含量最高时期为孕蕾期, 是最佳采收期; (4) 不同部位之间青蒿素含量差异显著, 以叶片的青蒿素含量最高。

关键词: 黄花蒿; 青蒿素; 采收

中图分类号: Q946 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)06-0856-04

Effect of different areas, types, harvest methods on artemisinin content of *Artemisia annua*

WEI Shu-Gen^{1,3}, MA Xiao-Jun^{1,2*}, FU Jin-e¹, FENG Shi-Xin¹,

YAN Zhi-Gang¹, HUANG Rong-Shao³

(1. Guangxi Branch of Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Nanning

530023, China; 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

100094, China; 3. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: 72 wild or cultivated *Artemisia annua* germplasms from Chongqing, Guangxi and Hunan provinces etc. were studied as experimental material. The results were as follows: (1) artemisinin content was significantly different among Early-maturing, Middle-maturing and Late-maturing. They were arranged in the following order in terms of their artemisinin content: Middle-maturing > Late-maturing > Early-maturing; (2) Different *A. annua* had different morphology even if they were planted under the same condition. Artemisinin content was significant difference in different colour stems, the sequence ranked: white stem > yellow and green stem > purple stem > green stem; (3) Dynamic rule of artemisinin content was consistent in different germplasms. The highest content of artemisinin was pre-flowering stage; (4) artemisinin content was significant difference in different parts, the highest content of artemisinin was in the leaves.

Key words: *Artemisia annua*; artemisinin; collection

黄花蒿 (*Artemisia annua*) 别名草蒿、臭蒿, 中药上习惯称为“青蒿”。为菊科蒿属 (*Artemisia*) 一年生草本植物 (中国植物志编委会, 1998)。药用部

位为叶片、嫩枝、花蕾, 其有效成分青蒿素是治疗各种疟疾的有效药物。2004 年 WHO 把青蒿素类药物代替奎宁列为治疗疟疾的首选药物, 此后全球欣

收稿日期: 2009-06-10 修回日期: 2009-09-24

基金项目: 广西科技攻关 (桂科攻 0537017-1) [Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi (0537017-1)]

作者简介: 韦树根 (1980-), 男, 广西灵山人, 硕士, 主要从事药用植物育种研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: xjma@public.bta.net.cn)

起了研究黄花蒿的热潮。

黄花蒿属自交不亲和植物,长期的自然杂交使得植株的形态和青蒿素有很大的差异。因此,人们在种质资源(杨水平等,2004)、栽培技术(王满莲等,2009;Bacachi 等,1997;Ferreira 等,1997)、品种选育(Wallart 等,1999)、采收加工(卫云等,2000;谷安宇等,2008;Singh 等,1998)等方面如何提高青蒿素含量做了很多的研究。不同产地不同种质之间青蒿素含量有很大的差异(韦树根等,2008;Laughlin,1994),通过特定的栽培技术和采收加工方法能有效地提高青蒿素含量和产量(Woerdenbag 等,1994;Ram 等,1997),但在青蒿素含量与种质类型的相关性研究很少,特别是对不同种质类型资源进行归纳和分类,并寻找不同类型与青蒿素含量的研究未见报道。本研究通过收集不同产地的种质在同一条件

下进行种质资源评价,根据植株的生育期和茎秆颜色划分类型,可为黄花蒿良种的选育提供直接的选择依据,对提高育种准确率,加快育种的进程有重要的意义;对不同种质青蒿素含量动态变化、采收部位进行研究,将为生产上确定最佳收获期、采收部位提供更科学的依据。

1 材料与方法

1.1 材料

收集野生或栽培黄花蒿(*Artemisia annua*)种质 72 份,标本由广西植物研究所韦霄研究员与广西药用植物园韦树根、冯世鑫、吴庆华、黄秋银等共同采集,马小军研究员鉴定,凭证标本存放于广西药用植物园。

表 1 黄花蒿种质资源
Table 1 Germplasm resources of *Artemisia annua*

编号 Number	凭证标本号 Specimen number	来源 Origin	编号 Number	凭证标本号 Specimen number	来源 Origin	编号 Number	凭证标本号 Specimen number	来源 Origin
1	Aa2004001	广西靖西县	25	Aa2004028	湖南吉首	49	Aa2005022	广西大新县
2	Aa2004002	广西靖西县	26	Aa2004029	湖南吉首	50	Aa2005023	广西金城江
3	Aa2004003	广西靖西县	27	Aa2004030	湖南吉首	51	Aa2005024	广西宜州市
4	Aa2004004	广西靖西县	28	Aa2005001	广西北海市	52	Aa2005025	广西大化县
5	Aa2004005	广西靖西县	29	Aa2005002	广西资源县	53	Aa2005026	广西都安县
6	Aa2004006	广西崇左市	30	Aa2005003	广西灌阳县	54	Aa2005027	广西天峨县
7	Aa2004007	广西都安县	31	Aa2005004	广西龙胜县	55	Aa2005028	广西富川县
8	Aa2004008	广西玉林市	32	Aa2005005	广西全州县	56	Aa2005029	广西钟山县
9	Aa2004009	广西临桂县	33	Aa2005006	广西兴安县	57	Aa2005030	广西贺州市
10	Aa2004011	重庆酉阳	34	Aa2005007	广西平乐县	58	Aa2005031	广西苍梧县
11	Aa2004012	广西田林县	35	Aa2005008	广西阳朔县	59	Aa2005032	广西岑溪县
12	Aa2004013	广西乐业县	36	Aa2005009	广西荔蒲县	60	Aa2005033	广西隆林县
13	Aa2004014	广西西林县	37	Aa2005010	广西恭城县	61	Aa2005034	广西田林县
14	Aa2004015	广西德保县	38	Aa2005011	广西柳州市	62	Aa2005035	广西玉林市
15	Aa2004016	广西临桂县	39	Aa2005012	广西武宣县	63	Aa2005036	广西博白县
16	Aa2004018	广西药用植物园	40	Aa2005013	广西金秀县	64	Aa2005037	广西贵港市
17	Aa2004020	广西临桂县	41	Aa2005014	广西象州县	65	Aa2005038	广西容县
18	Aa2004021	广西植物研究所	42	Aa2005015	广西三江县	66	Aa2005039	广西钦州市
19	Aa2004022	广西植物研究所	43	Aa2005016	广西融水县	67	Aa2005040	广西上思县
20	Aa2004023	湖南韶山	44	Aa2005017	广西融安县	68	Aa2005041	湖南衡阳
21	Aa2004024	湖南湘潭	45	Aa2005018	广西马山县	69	Aa2005042	湖南沅陵
22	Aa2004025	重庆酉阳中药研究院	46	Aa2005019	广西武鸣县	70	Aa2005043	广东英德
23	Aa2004026	重庆酉阳	47	Aa2005020	广西崇左市	71	Aa2005044	陕西平利
24	Aa2004027	湖南吉首	48	Aa2005021	广西宾阳县	72	Aa2005045	江苏南京

1.2 方法

1.2.1 田间试验设计 试验采用随机区组设计,重复 3 次,小区面积 10 m²,种植密度为 30 cm×40 cm。2 月中旬播种,出苗 30 d 后,用浓度 2%的尿素浇根,5 月份施复合肥 750 kg·hm⁻²。其余管理措

施与常规栽培相同。

1.2.2 不同生育期划分 生育周期短于 230 d 的为早熟型,在 230~255 d 之间的为中熟型,长于 255 d 的为晚熟型。

1.2.3 样采集品 于黄花蒿现蕾期从植株顶部往下

1 m 处剪取长约 50 cm 的枝条晒干,将其叶片和花蕾打落装置封口袋待测。

1.2.4 青蒿素含量测定 (1)用超声波法提取青蒿素(李典鹏等,1995),紫外分光光度法测定(赵兵等,2000)。所用仪器为岛津 1206 型紫外分光光度计,试剂均为分析纯(AR),水为超纯水,每个样品重复 3 次。样品测定在广西大学农学院植物系实验室进行。(2)青蒿素提取:将样品粉碎过 60 目筛,称取 1 g 置于 100 mL 三角瓶中,入 30°~60°石油醚 40 mL,用 75 赫兹的超声波连续提取 3 次。(3)标准曲线制备:青蒿素标准品为中国医学科学院药用植物研究所提供的纯度为 99.8%的青蒿素成品。精确称取 5 mg 青蒿素标准品于 50 mL 容量瓶中,用 95%乙醇溶解至刻度。分别吸取 0,1,2,3,4,5 mL 置 25 mL 容量瓶,以 95%乙醇补充至 5 mL,补加 0.2% NaOH 溶液至刻度。置(50±1)℃水浴中反应 30 min,流水冷却至室温。在 292 nm 处测吸光值(表 2)。标准曲线的线性回归方程为 $y = 0.0175x - 0.00003$,相关系数 $r = 0.9999$ 。青蒿素浓度 C 可按下式计算: $C = 0.0175A - 0.00003(\text{mg/mL})$ (A 为吸光值)。

表 2 吸光度与青蒿素浓度关系
Table 2 Relation of absorbance and artemisinin concentration

青蒿素浓度 Concentratio(mg/mL)	吸光度 Absorbance(ABS)
0.000	0.000
0.004	0.232
0.008	0.461
0.012	0.685
0.016	0.925
0.020	1.142

(4)样液处理及青蒿素含量测定:样液置于分液漏斗中,加 2% NaOH 溶液,弃去下层碱液,并蒸馏水洗涤。经水洗后的提取液置于圆底烧瓶中,55℃减压蒸馏,得到含青蒿素的浸膏,在 45℃的烘箱中烘 1 h,将残余的石油醚彻底挥干。以 95%乙醇溶解浸膏,并定容于 50 mL 容量瓶中备测。吸取样液 1 mL 置 25 mL 容量瓶中,加入 95%乙醇 4 mL 后,加入 0.2%NaOH 溶液至刻度,(50±1)℃水浴中反应 30 min 后取出,流水冷却至室温,292 nm 处测吸收峰值。样品青蒿素提取量(M)的计算公式: $M = C \times V_s \times n$ 。 $V_s = 25$ mL,为被测样品体积; $n = 50$,为稀释倍数;因此, $M = (0.0175A - 0.00003) \times 1250 = 21.875A - 0.0375(\text{mg})$ 。青蒿素百分含量 E

的计算公式为: $E = M/W \times 100\% = 2.1875A - 0.00375(\%)$, $W = 1\,000$ mg 为原料用量。每一样液重复测定 3 次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 不同类型青蒿素含量

2.1.1 不同生育期类型青蒿素含量 2006 年在广西靖西县新靖镇那唐村建立黄花蒿种质圃,2 月下旬选择在阴天播种,观察不同种质的物候期(表 3)。从表 3 发现,来源于广西临桂县和兴安县的黄花蒿种质(编号 23、33、53)的生育期均比其它种质早,整个生育期约 230 d,这 3 份种质为早熟型;编号 8、11、16、21、22 的 4 份种质各生育期均比其它种质长,整个生育期长达 275 d,为晚熟型,这几份种质均来源于湖南;其余 65 份种质如编号为 1、2、5 的分别来源于广西桂林市、广西靖西县、广西崇左市等地的种质整个生长周期约 255 d,为中熟型,这一类种质占多数。黄花蒿的生育期差异很大,早熟型比中熟型早约 25 d,比晚熟型早约 45 d,而中熟型比晚熟型早约 20 d。早熟型与中、晚熟型青蒿素含量的差异显著,而中熟型与晚熟型之间青蒿素含量差异不显著,青蒿素含量顺序:中熟型>晚熟型>早熟型。

表 3 不同生育期类型青蒿素含量
Table 3 Artemisinin content of different strains

类型 Types	生育期(d) Growing stage	青蒿素含量(%) Artemisinin content	代表种质编号 Representative germplasm code
早熟型	≤230	0.657 a	23、33、53
中熟型	230—255	0.824 b	1、2、4、5、6、7 等
晚熟型	≥255	0.796 b	8、11、16、21、22

注: a、b 表示在 5% 水平差异
Note: a and b meaned significant difference at 5% level

2.1.2 不同茎秆颜色青蒿素含量 同一种质的黄花蒿单株之间茎秆颜色有很大差异,有白秆、黄绿秆、紫秆、绿秆等。在黄花蒿孕蕾期按茎秆颜色各采样 10 株,测定其青蒿素含量(表 4)。从表 4 看出,其青蒿素含量大小顺序为:白秆>黄绿秆>紫秆>绿秆,白秆型的青蒿素含量分别比紫秆和绿秆的青蒿素含量高 10%和 18%。

2.2 采收方法

2.2.1 不同种质青蒿素含量动态变化 以编号为 2、13、51 的种质为材料,在植株生长的不同时期采其叶片测定青蒿素的含量,青蒿素含量的动态变化(图

1)。从图 1 看出,3 份种质的青蒿素含量从 2006 年 6 月 1 日至 7 月 31 日,青蒿素含量不断上升。编号为 13 和 51 的种质在 7 月 31 日(孕蕾期)青蒿素含量累积达到最大值,现蕾后青蒿素含量开始下降,但 7 月 31 日至 8 月 20 日(现蕾期)下降的速度较为缓慢,到 8 月 20 日开花后青蒿素含量下降较快;而编号为 2 的种质青蒿素含量累积达到最大值在 8 月 10 日(现蕾期),到 8 月 20 日开花后青蒿素含量也下降较快。

表 4 不同茎秆颜色青蒿素含量

Table 4 Artemisinin content of different colour stems

类型 Types	青蒿素含量(%) Artemisinin content
白秆型	0.968a
黄绿秆型	0.916b
紫秆型	0.878c
绿秆型	0.820d

注: a, b, c, d 表示在 5% 水平差异, 下同。

Note: a, b, c, d meaned significant difference at 5% level, the same below.

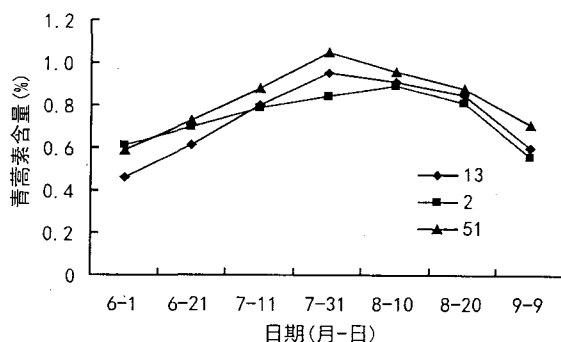


图 1 不同种质青蒿素含量动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of artemisinin content of different germplasms at different stages

表 5 不同部位青蒿素含量

Table 5 Artemisinin content of different parts

部位 Parts	青蒿素含量 Artemisinin content(%)
叶片 Leaf	0.573 a
花蕾 Bud	0.520 b
嫩枝 Younger branch	0.290 c
成熟枝条 Older branch	0.183 d

2.2.2 不同采收部位青蒿素含量比较 黄花蒿的现蕾期,采收同一单株上的叶片、花蕾、嫩枝、成熟枝条在太阳光下晒干至恒重,分别测定其青蒿素含量(表 5)。从表 5 看出,同一植株上不同的部位其青蒿素含量差异很大,不同部位之间青蒿素含量差异显著。以叶片的青蒿素含量最高,成熟枝条的最低。

叶片的青蒿素含量比花蕾高 10%、是嫩枝、成熟枝条的 0.96 和 2.13 倍。

3 讨论

(1)在黄花蒿生物学特性研究方面,已对株高、一级分枝数、冠幅等性状和生育期作了初步的研究(韦霄等,1997),但没有对黄花蒿的形态和生育期进行归纳和分类。本研究根据黄花蒿的生育期不同把其划分早熟型、中熟型、晚熟型为 3 大类,早熟型与中、晚熟型青蒿素含量的差异显著,而中熟型与晚熟型之间青蒿素含量差异不显著,中熟型青蒿素含量最高,研究结果可为不同目标性状的选育提供依据。本课题组曾利用早熟型种质采用单株选育的方法选育出了早熟高含量新品种“桂蒿 1 号”,其采收期比其它栽培品种可提前 1 个月。(2)在同一栽培管理条件下不同种质的形态特征差异较大,性状变异比较丰富。按茎秆的颜色划分,黄花蒿一般有白秆、黄绿秆、紫秆、绿秆等四种类型,其青蒿素含量之间差异显著,其顺序为:白秆>黄绿秆>紫秆>绿秆。为选育高含量的黄花蒿新品种提供了直接依据,在选育时,可根据其茎秆颜色进行初步的选择,加快了育种进程。(3)青蒿素含量的动态变一直来是人们研究的焦点(Woerdenbag 等,1994; Singh 等,1998),到目前为止,对于黄花蒿最佳采收期还没有形成统一的意见。本研究以不同产地的多份种质为材料,研究其最佳采收时期更,结果更具科学性。结果表明:不同种质不同时期青蒿素含量动态变化虽有所不同,但基本规律趋于一致,青蒿素含量最高时期为孕蕾期,在孕蕾期采收会获得较高的青蒿素含量与产量。(4)不同部位之间青蒿素含量差异显著,以叶片的青蒿素含量最高,成熟枝条的最低,采收部位的不同将会影响到药材的质量。因此,在采收过程中应加以规范,去除老熟枝梗,保证药材的质量。

参考文献:

- 中国植物志编委会. 1998. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,76(2):62
- Bacachi GD, Ram M, Sharma S, et al. 1997. Effect of the planting date on growth and development of *Artemisia annua* under sub-tropical climatic conditions[J]. *J Med Aromatic Plant Sci*, 19(2):387-394
- Ferreira JFS, Simon JE, Janick J. 1997. *Artemisia annua* botany, horticulture, pharmacology[J]. *Hort Rev*, 19:319-371

(下转第 807 页 Continue on page 807)

北京:科学出版社,14:15

傅立国,陈潭清,郎楷永,等. 2002. 中国高等植物(第13卷)

[M]//陈心启,罗毅波. 胡麻花属 *Heloniopsis* A. Gray. 青岛:

青岛出版社,13:75

Wu ZY(吴征镒),Petet H Raven. 2000. *Flora of China* Vol. 24

[M]. Beijing:Science Press

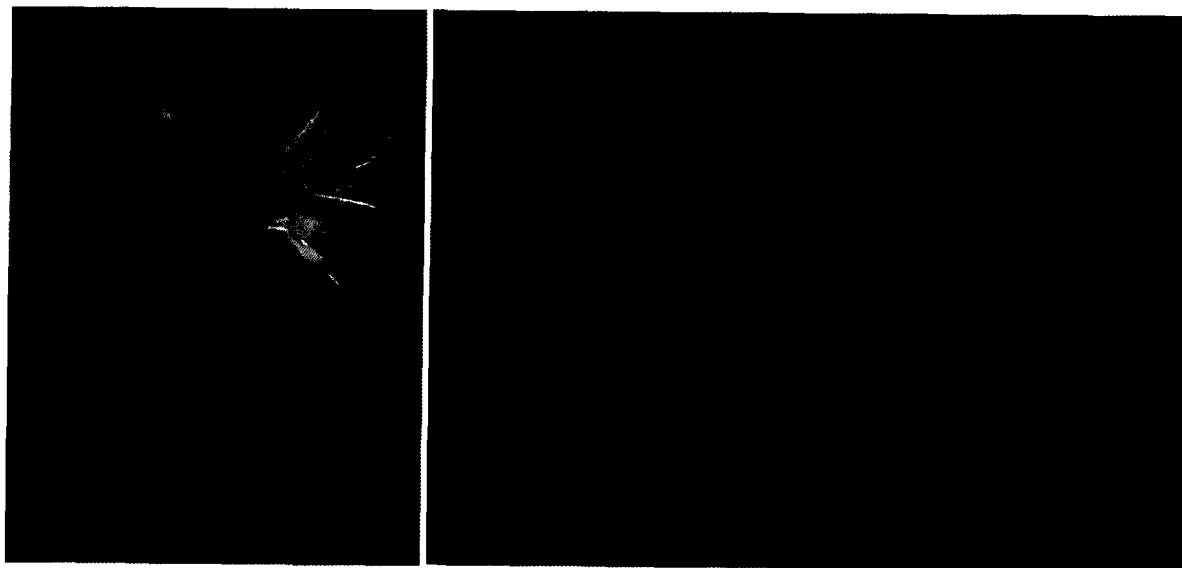


图1 胡麻花

Fig. 1 *Heloniopsis umbellata* Baker

(上接第 856 页 Continue from page 856)

Gu AY(谷安宇),Li SP(李绍平),Yang LY(杨丽英),*et al.*

2008. Study on the optimal harvest of *Artemisia annua* time and drying methods in Yunnan Province(云南栽培黄花蒿最佳采收期确定及干燥方法研究)[J]. *Southwest Chian J Agric Sci*(西南农业学报),**21**(6):1 682—1 684

Li DP(李典鹏),Liang XY(梁小燕),Wu J(吴江),*et al.* 1995. Determination of Artemisinin in *Artemisia annua* in various counties,Guangxi by TLC-UV spectrophotometry(采用薄层层析—紫外分光光度测定广西不同产地黄花蒿中青蒿素含量)[J]. *Guihaia*(广西植物),**15**(3):254—255

Laughlin JC. 1994. Agricultural production of Artemisinin review[J]. *Trans R Soc Trop Med Hyg*,**88**(wuppl):21—22

Ram M,Gupta MM,Dwiwedi S,*et al.* 1997. Effect of plant density on the yields of Artemisinin and essential oil in *Artemisia annua* cropped under low input cost management of north-central India[J]. *Planta Med*,**63**(4):372—374

Singh A,Vishwakarmal RA,Hussin A. 1998. Evaluation of *Artemisia annua* strains for higher Artemisinin production [J]. *Planta Med*,**54**:475—478

Wang ML(王满莲),Wei X(韦霄),Jiang YS(蒋运生),*et al.* 2009. Effect of soil nitrogen levels on the growth, photosynthetic properties and Artemisinin content of *Artemisia annua* seedling(氮对黄花蒿生长、光合特性和青蒿素含量的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物),**29**(2):260—263

Wallart TE,Pras N,Quax WJ. 1999. Seasonal variations of Artemisinin and its biosynthetic precursors in tetraploid *Artemisia annua* plants compared with the diploid wild-typ

[J]. *Plant Med*,**65**(8):723—728

Wei Y(卫云),Cong WH(丛伟红),2000. Study on collection stage of *Artemisia annua* in Shandong(山东黄花蒿采收期的探讨)[J]. *J Shandong Univ TCM*(山东中医药大学学报),**24**(2):139—140

Wei SH(韦树根),Ma XJ(马小军),Feng SX(冯世鑫),*et al.* 2008. The evaluation on germplasm resources of main production area of *Artemisia annua* in China(中国黄花蒿主产区种质资源评价)[J]. *Chian J Chin Mat Med*(中国中药杂志),**33**(3):241—244

Woerdenbag HJ,Pras N,Chan NG,*et al.* 1994. Artemisinin related sesquiterpenes and essential oil in *Artemisia annua* during a vegetation period in vietem[J]. *Planta Med*,**60**(3):272—275

Wei X(韦霄),Li F(李锋),Xu CQ(许成琼),*et al.* 1997. Study on biological characteristics of *Artemisia annua*(黄花蒿生物学特性研究)[J]. *Guihaia*(广西植物),**17**(2):166—168

Yang SP(杨水平),Yang X(杨宪),Huang JG(黄建国),*et al.* 2004. Advances in researches on artemisinin production(青蒿素生产研究进展)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报),**12**(2):189—194

Zhao B(赵兵),Wang YC(王玉春),Wu J(吴江),*et al.* 2000. Studies on the extraction processes of artemisinin(青蒿素提取条件研究)[J]. *Chin Trad Herb Drug*(中草药),**3**(6):421—423