

铁、锰、锌肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元的影响

王建安¹, 林 菲¹, 李艳芝¹, 徐增莱^{2*}, 汪 琼², 吴国荣³

1. 济宁医学院药学院, 山东 日照 276826
2. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏 南京 210014
3. 南京师范大学生命科学院, 江苏 南京 210097

摘要: 目的 大田条件下, 研究铁、锰、锌肥对盾叶薯蓣根茎中薯蓣皂苷元量及根茎产量的影响。方法 采用单因素施肥法, HPLC 法测定薯蓣皂苷元的量, 数据采用 SPSS13.0 软件包分析。结果 3 种微肥使盾叶薯蓣根茎产量与薯蓣皂苷元量均有不同程度的增加, 对薯蓣皂苷元量的影响为锰肥>锌肥>铁肥, 对根茎产量的影响为铁肥>锰肥>锌肥。结论 施用适当浓度的锰肥, 对盾叶薯蓣的优质、高产栽培, 具有重要的实践意义。

关键词: 铁肥; 锰肥; 锌肥; 盾叶薯蓣; 薯蓣皂苷元; 根茎产量

中图分类号: R 282.2 文献标志码: A 文章编号: 0253 - 2670(2011)03 - 0589 - 04

Effects of Fe, Mn, and Zn on rhizome yields and diosgenin contents of *Dioscorea zingiberensis*

WANG Jian-an¹, LIN Fei¹, LI Yan-zhi¹, XU Zeng-lai², WANG Qiong², WU Guo-rong³

1. School of Pharmaceutical Science, Jining Medical University, Rizhao, 276826, China
2. Jiangsu Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China
3. College of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China

Key words: Fe; Mn; Zn; *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; diosgenin; rhizome yields

盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright, 又名黄姜, 为薯蓣科薯蓣属多年生缠绕草本植物, 根茎入药, 是合成肾上腺皮质激素、蛋白同化激素等药物的主要原料^[1], 还具有抗肿瘤、灭钉螺、防治血吸虫的作用^[2-3], 具有极高的药用价值和经济价值, 由于大量无节制的采挖, 野生资源日渐枯竭, 目前生产上所用的资源大部分来自人工栽培。人工栽培虽然已有大量的研究^[3-7], 但仅限于常规肥料, 未见有微肥对其根茎产量及其薯蓣皂苷元量影响的报道。为了在提高经济产量的同时提高其薯蓣皂苷元的量, 本实验考虑当地土壤条件及其对盾叶薯蓣生长的影响, 选择了铁、锰、锌 3 种元素进行喷施试验, 以期为盾叶薯蓣的优质高产种植提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验条件

实验在陕西省白河县白河农场进行, 地处陕西

省东南部, 海拔 870 m, 年平均温度 15.6 °C, 年降水量 736~1 238 mm。土壤为砂质土壤 (pH 7.06), 有机质的量为 230 mg/kg, 全氮 2.1 mg/g, 全磷 1.72 mg/g, 全钾 2.18 mg/g, 铁 0.779 mg/g, 锌 1.012 mg/g, 锰 0.521 mg/g。

1.2 实验设计

采用盾叶薯蓣根状茎进行繁殖, 种源取自陕西省白河县的人工栽培品。选用带有 1~3 个芽嘴, 直径 1.2~2.0 cm, 长 6 cm 左右的根状茎段为材料, 70 cm 两行起垄, 垒高约 25 cm, 株行距 20 cm×20 cm, 用种量 2 250 kg/hm², 每穴栽种 1~2 段, 于 9 月 2 日栽种于实验基地, 栽种后普施基肥 (当地农家肥) 30 000 kg/hm², 按常规方法进行田间管理。施肥实验采用随机区组设计, 每个小区面积为 17.64 m²。其中锰、铁、锌肥施用量分别为 12、13.5、15、16.5、18 kg/hm²。每个梯度设 5 次重复, 以清水作为空白对照 (CK)。于栽种后第 2 年的 5~8 月间叶

收稿日期: 2010-05-03

作者简介: 王建安 (1972—), 男, 讲师, 主要从事药用植物资源研究与开发。E-mail: anansen@163.com

*通讯作者 徐增莱 E-mail: xuzl5194@sohu.com

面喷施, 共追肥6次, 并于施肥当年11月下旬采收其中2个小区, 收集每个小区全部盾叶薯蓣根状茎, 去掉藤蔓、须根、泥土后, 称质量, 并折算为产量。从收获的根状茎中随机取约200 g供分析用。

1.3 数据处理

采用SPSS13.0软件分析数据。单因素试验采用One-way ANOVA进行分析, 方差齐性的数据用LSD检验, 反之则进行Dunnett's C检验; 相关分析采用Bivariate分析。

1.4 薯蓣皂苷元的提取与测定^[8]

1.4.1 仪器与试剂 Waters高效液相色谱仪(510泵, 820色谱工作站, 484紫外检测器, Waters PMC柱温箱, U6K手动进样器)。色谱柱: Kromasil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm)。薯蓣皂苷元对照品由江苏省植物研究所提供(自制), 经HPLC检测质量分数大于98%。色谱条件: 柱温30℃, 体积流量1 mL/min, 检测波长210 nm, 流动相为色谱级甲醇。

1.4.2 薯蓣皂苷元的提取与样品溶液的制备 取新鲜的盾叶薯蓣根茎, 充分混匀, 切成薄片, 置于烘箱中, 80℃烘干, 粉碎后过1号筛。四分法取样, 将约100 g的颗粒置于90℃烘箱中干燥至恒定质量, 精密称取3.0 g, 置100 mL三角瓶中, 加3% H₂SO₄ 40 mL, 置于高压锅中, 126℃水解3 h, 水解后滤过, 除去酸液, 水洗至中性, 将滤渣置于滤纸上, 80℃干燥。将干燥的滤渣, 置于索氏提取器中, 石油醚回流提取7 h。取出提取液, 蒸干, 甲醇定容至50 mL量瓶中。从中取出2 mL, 用0.45 μm微孔滤膜滤过, 待用。

1.4.3 薯蓣皂苷元对照品溶液的制备 精密称取薯蓣皂苷元对照品50 mg, 加甲醇制成1 mg/mL的溶液作为对照品溶液。

1.4.4 线性关系的考察 取薯蓣皂苷元对照品溶

液各1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 μL注于高效液相色谱仪中, 按色谱条件测定, 以进样量为横坐标, 峰面积为纵坐标, 绘制标准曲线, 结果表明在0.55~5.50 μg与峰面积线性关系良好。回归方程为: $Y=332.96 X+0.168$, $r=0.999\ 9$ 。

1.4.5 精密度试验 取薯蓣皂苷元对照品溶液, 重复进样6次, 每次6 μL, 测定峰面积, RSD为0.8%。

1.4.6 稳定性试验 取同一供试样品分别在0、2、4、8、12和24 h分别进样, 以峰面积计算其量, 其RSD为2.4%。说明样品在24 h内稳定。

1.4.7 回收率试验 取盾叶薯蓣药材1.5 g, 共6份, 加薯蓣皂苷元对照品适量, 按“1.4.2”项制备供试品溶液, 进样测定, 计算回收率。薯蓣皂苷元的平均回收率为98.7%, RSD为0.6%。

1.4.8 重现性试验 取同一批样品6份, 每份约3 g, 按“1.4.2”项方法制备, 依法测定, 计算样品中薯蓣皂苷元的量, 结果RSD为0.71%, 表明此方法重现性良好。

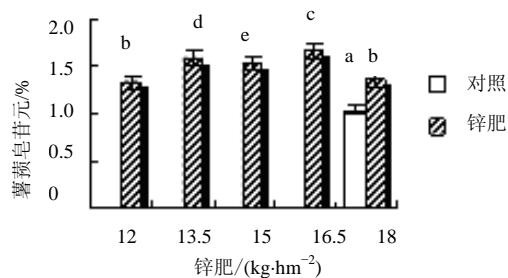
2 结果

2.1 锌肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响

由图1可知, 各种处理均能显著提高盾叶薯蓣根茎中薯蓣皂苷元量, 且在施肥16.5 kg/hm²时薯蓣皂苷元量达到最高, 与对照组相比有显著性差异($P<0.05$), 之后随施肥量的增加表现为下降趋势, 相关分析表明施肥量与薯蓣皂苷元量表现为负相关($r=-0.241$)。锌肥对盾叶薯蓣根茎生物产量的影响与其薯蓣皂苷元量的变化基本一致, 也在施肥16.5 kg/hm²时达到最高, 为21 600 kg/hm², 但施肥量与根茎的生物产量却表现为正相关($r=0.259$), 建议采用锌肥16.5 kg/hm²的施肥水平。

2.2 锰肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响

如图2所示, 在不同施肥量下, 薯蓣皂苷元量

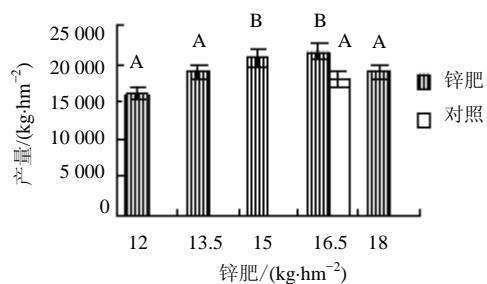


小写字母代表极显著差异($P<0.01$), 大写字母代表显著差异($P<0.05$), 下图同

Lower case letters indicate very significant difference ($P<0.01$), capital letters indicate significant difference ($P<0.05$), same as below

图1 锌肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Fig. 1 Effect of Zn on rhizome yields and diosgenin contents of *D. zingiberensis* ($\bar{x}\pm s, n=5$)



随施肥量的增加表现为先下降后上升的趋势，且在 $13.5 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时略低于对照组，其余各组处理与对照组相比均有显著差异($P<0.01$)，在实验所选条件下，施肥 $18 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 的薯蓣皂苷元量达到最高。相关分析表明施肥量与薯蓣皂苷元量及根茎产量均表现为正相关($r_1=0.193$, $r_2=0.352$)。根茎产量的变化趋势和薯蓣皂苷元的变化基本相似，但是施肥 13.5 、 $15 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时较对照组低，且与对照相比达到显著差异($P<0.05$)。施肥 $18 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时达到最高，与对照相比也达到显著差异，以上几种处理与对照组相比达到极显著差异($P<0.01$)。而根茎产量与薯蓣皂苷元量表现为显著相关($r=0.719$)。

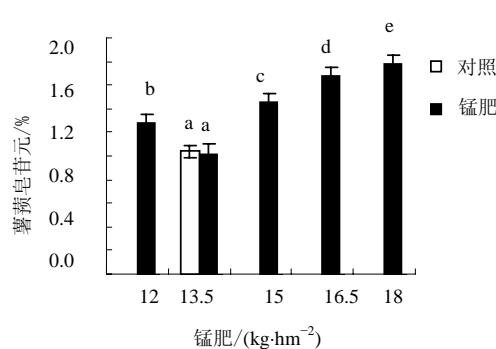


图2 锰肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect of Mn on rhizome yields and diosgenin contents of *D. zingiberensis* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

2.3 铁肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响

如图3所示，施用铁肥后，薯蓣皂苷元量在施肥 $13.5 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时达到最大，与对照相比达到极显著差异($P<0.01$)。但随施肥量增加却表现为下降趋势，且施肥量与薯蓣皂苷元的量呈负相关($r=-0.464$, $P>0.05$)。盾叶薯蓣根茎产量在施肥 $12 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时达最大，为 $24465 \text{ kg}/\text{hm}^2$ ，与对照相比达到非常显著差异($P<0.01$)，但随施肥量增加却表现为下降趋势，其产量与施肥量也表现为负相关($r=-0.853$, $P<0.01$)。薯蓣皂苷元量与产量表现为正相关($r=0.574$, $P<0.05$)。在施肥 $13.5 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 时其根茎产量与薯蓣皂苷元量的乘积为最高，因此建议采用铁肥

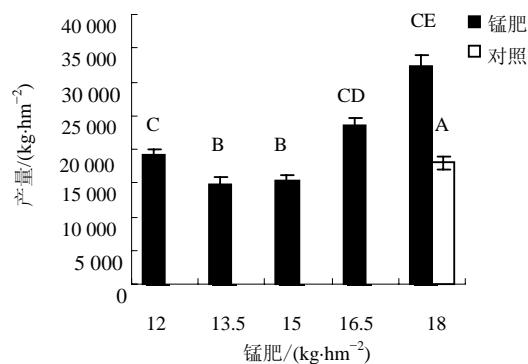


图3 铁肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of Fe on rhizome yields and diosgenin contents of *D. zingiberensis* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

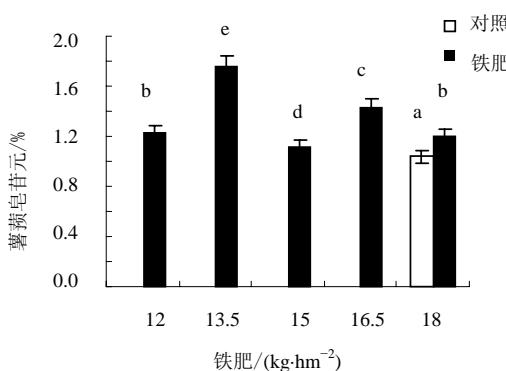


图3 铁肥对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of Fe on rhizome yields and diosgenin contents of *D. zingiberensis* ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

$13.5 \text{ kg}/\text{hm}^2$ 的进行施肥。

3 讨论

有关微量元素对中草药生长及其中化学物质的影响，已有较多报道^[9-11]。微量元素不仅影响植物的根系营养及生理活动，促进植物的生长发育，

而且还参与植物有效成分的结构功能而影响植物化学成分的形成和积累，最终影响有效成分的量及药效。但微量元素在植物体内过多会产生毒害，过少则发挥不了作用^[12]，对植物生长的调控一方面主要是通过参与叶绿素的合成及光合作用、维持叶绿体

的结构及作为有关酶的辅基等形式实现^[12], 也有人认为其可能通过调控内源激素而起作用, 但是这部分目前尚无直接证据; 另一方面也可增加植物对不良环境及某些重金属的抗性^[13]。目前由于各地土壤内微量元素的量情况不同, 因此为保证种植的中药材优质高产, 就必须要以适宜的方式来添加这些植物生长必需的元素。

本实验结果显示, 随铁肥施用量的增加, 盾叶薯蓣根茎的生物产量却表现为下降趋势, 同时薯蓣皂苷元的量也呈现先升后降的变化趋势, 究其原因有以下两个方面: 一是可能由于盾叶薯蓣对铁的耐受性有限, 施用的铁肥对植物产生了一定的毒性, 从而导致其产量及其薯蓣皂苷元量下降; 另一方面是可能土壤内磷元素量相对较高, Fe^{2+} 与有效磷形成磷酸铁而在根内和根表面沉淀下来, 从而使植物吸收铁及保持铁的可溶性和移动性的能力减弱了, 这种现象在 pH 值大于 7 时尤为突出, 从而导致铁受到磷的拮抗作用而无法被很好利用^[14]。另外 Samuel 等^[15]研究表明 Fe^{2+} 还在一定程度上导致土壤酸化, 从而影响作物对 N、P 等元素的吸收, 进而影响植物生长发育。

在本研究中, 施用适量锰肥能显著增加盾叶薯蓣的根茎产量与其中薯蓣皂苷元的量, 且薯蓣皂苷元量随施肥量的增加表现为上升趋势, 在实验条件下, 施肥为 $18 kg/hm^2$ 时的量与产量均达到最高。这可能是由于锰能促进植物吸收土壤中的 N、P 及高锰可抑制 IAA 氧化酶活性, 从而促进根的生长及其生物产量增加^[16]; 另一方面植物体内某些酶对锰有高度专一性, 如郭敏等^[17]发现锰可显著增加丹皮根中 PAL 酶活性从而使药材中活性物质量增加, 因此薯蓣皂苷元量也可能通过锰促进其合成途径中某些酶活性而相应增加, 该过程有待进一步验证。

本实验中施用锌肥后, 发现薯蓣皂苷元量较对照组有了明显的提高, 且在施肥 $16.5 kg/hm^2$ 时与根茎产量同时达到最高。但薯蓣皂苷元量与根茎产量均随施肥量进一步升高时表现为下降趋势, 可能与锌过量对植物造成毒害, 从而导致体内某些酶活性降低所致。

实验结果经 SPSS13.0 统计软件分析发现, 3 种微肥对盾叶薯蓣中薯蓣皂苷元量的影响效果分别为锰肥>锌肥>铁肥, 对其根茎产量的影响依次为铁肥>锰肥>锌肥, 综合考虑, 要使其产量与薯蓣皂苷元量两者乘积达到最大, 最佳微肥应为锰肥。

因此在今后的大田栽培生产中, 配合其他常规肥料, 喷施适当浓度的锰肥, 可以大大提高盾叶薯蓣根茎的产量与薯蓣皂苷元量, 对盾叶薯蓣的高效、优质生产具有重要的实践意义。

参考文献

- [1] 周荣汉. 中药资源学 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993.
- [2] 丁志遵, 唐世蓉, 秦慧贞, 等. 莎草科激素药源植物 [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [3] 徐成基, 周瑾, 豆永泽, 等. 激素药源植物-薯蓣的栽培研究 [J]. 中药通报, 1983, 8(4): 3-5.
- [4] 周雪林, 郭可跃, 朱元方, 等. 盾叶薯蓣引种栽培研究 [J]. 中草药, 1989, 20(10): 35-37.
- [5] 齐迎春, 胡诚, 谭远友, 等. 盾叶薯蓣的栽培技术研究 [J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25 (1): 42-43.
- [6] 杨爱民, 黄姜. (盾叶薯蓣) 高产栽培技术 [J]. 湖北农业科学, 2002, (6): 91-92.
- [7] 王建安, 徐增来, 吴国荣, 等. 氮磷钾对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响 [J]. 中药材, 2004, 27(12): 891-893.
- [8] 肖杰易, 申明亮, 杨成前, 等. 不同时期施肥量对盾叶薯蓣产量影响的研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2007, 21(4): 12-17.
- [9] 曾庆秋, 严铸云, 汪杨丽, 等. 微肥处理对连作川明参中总多糖含量的影响 [J]. 药物研究, 2007, 16(21): 8-9.
- [10] 周伟, 沈亚芳, 刘材材, 等. 稀土微肥对铁皮石斛试管苗壮苗的影响 [J]. 中草药, 2006, 37(11): 1719-1723.
- [11] 陈荣, 吴鸿. 微肥对紫锥菊产量及种子生产的影响 [J]. 中草药, 2007, 38(9): 1400-1403.
- [12] Montas R L, Claassen N, Amilcar U A., et al. Effect of phosphorus, potassium and zinc fertilizers on iron toxicity in wetland rice (*Oryza sativa* L.) Kluwer Academic Publishers [J]. *Plant Soil*, 2002, 239: 197-206.
- [13] Shao G, Chen M, Wang D, et al. Using iron fertilizer to control Cd accumulation in rice plants: A new promising technology [J] *Sci Chin Ser C: Life Sci*, 2008, 51(3): 245-253.
- [14] 饶立华. 植物矿质营养及其诊断 [M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [15] Pierce S. C, Moore M. T, Larsen Dan, et al. Macronutrient (N, P, K) and redoximorphic metal (Fe, Mn) allocation in leersia oryzoides (rice cutgrass) grown under different flood regimes [J]. *Water Air Soil Pollut*, 2010(207): 73-84.
- [16] 魏孝荣, 郝明德, 邱莉萍. 土壤干旱条件下锰肥对夏玉米光合特性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(3): 255-258.
- [17] 郭敏. 无机元素与丹皮质量之间的关系研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006.