

土壤营养成分与红芪中毛蕊异黄酮、芒柄花素量之间的相关性研究

强正泽, 王 燕, 王明伟, 李成义*

甘肃中医药大学药学院, 甘肃 兰州 730000

摘要:目的 以甘肃不同产区栽培红芪药材及其生长土壤为研究对象, 探讨土壤营养成分全氮、全磷、全钾、有机质、速效磷、速效钾与红芪中毛蕊异黄酮、芒柄花素量的相关性。方法 采用 Duncan 多重比较、相关性分析及回归分析对土壤营养成分及红芪活性成分量进行分析。结果 毛蕊异黄酮与土壤中全氮、全钾存在显著正相关性, 与有机质、速效磷呈正相关, 与速效钾、全磷呈负相关; 芒柄花素与土壤中全钾存在极显著正相关性, 与全氮、速效磷呈正相关, 与速效钾、有机质、全磷呈负相关。结论 红芪对土壤中不同营养成分具有选择性, 全钾、全氮、速效磷量高的土壤适合于红芪中毛蕊异黄酮与芒柄花素成分的累积, 说明全钾、全氮、速效磷较高的土壤有利于红芪药材的生长。

关键词: 红芪; 毛蕊异黄酮; 芒柄花素; 土壤营养成分; 相关性

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2015)22-3409-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.22.021

Correlation of contents between soil nutrients and calycosin and formononetin in *Hedysari Radix*

QIANG Zheng-ze, WANG Yan, WANG Ming-wei, LI Cheng-yi

Department of Pharmacy, Gansu University of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China

Abstract: Objective Taking the *Hedysari Radix* cultivated in different regions in Gansu province and its soil as the research objects, the correlation of contents between soil nutrients, including total N, total P, total K, organic matter, available P, available K, calycosin and formononetin in *Hedysari Radix* were analyzed in this paper. **Methods** The correlations of the contents between soil nutrients and active components were analyzed by the multiple comparisons, correlation analysis, and regression analysis. **Results** The statistical results showed that there existed obviously positive correlations between calycosin and the contents of total N and total K of soil. Calycosin is positively correlated with the contents of organic matter and available P, while with available K and total P, it is negatively correlated. Meanwhile the contents of formononetin and total K existed significantly positive correlations. Formononetin was positively correlated with the contents of total N and available P, but it was negatively correlated with available K, organic matter, and total P. **Conclusion** When the plant grows, it absorbs some ingredients of soil selectively. The accumulations of calycosin and formononetin are affected by the contents of total K, total N, and available P, which shows that the soil with higher total K, total N, and available P is conducive to the growth of *Hedysari Radix*.

Key words: *Hedysari Radix*; calycosin; formononetin; soil nutrition components; correlation

红芪 *Hedysari Radix*, 又名绵芪、独根、黑芪, 是甘肃主产药材之一。其始载于梁代陶弘景所撰的《神农本草经集注》黄芪项下, 列为上品。其性温, 味甘, 入脾、肺经, 具有补气固表、利尿托毒、排脓、敛疮生肌, 在中医临床上常作为补益药与其他中药配伍使用, 用于治疗气虚乏力、食少便溏等症^[1]。化学成分研究表明红芪中含有异黄酮类、氨基酸、

多糖、微量元素等成分, 其中毛蕊异黄酮与芒柄花素是其活性成分^[2-5], 毛蕊异黄酮具有保护内皮细胞^[6]、兴奋雌激素受体^[7]等作用, 芒柄花素具有抑制家兔小肠平滑肌的收缩^[8-9]、保护缺氧损伤的成骨细胞^[9]及植物雌激素样^[10]等作用。

红芪是甘肃地道药材, 在甘肃陇南北部山区及定西地区广泛栽培^[11], 栽培时主要施农家肥、氮肥

收稿日期: 2015-03-27

基金项目: 国家自然科学基金委员会资助项目(地区科学基金项目): 甘肃地产药材红芪道地性与生态因子的相关性研究(81360621)

作者简介: 强正泽(1989—), 男, 在读硕士, 研究方向为中药资源开发与质量综合评价。Tel: 15117225446 E-mail: 948124394@qq.com

*通信作者 李成义(1964—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药品种与质量研究。Tel: (0931)8765385 E-mail: gslchengyi@163.com

及磷肥^[12]。由于各地区土壤类型和施肥情况不同,导致甘肃不同地区的红芪药材成分和药效参差不齐,严重影响了药材的质量。而有学者^[13-14]研究发现植物次生代谢物质的形成受土壤中矿质营养、肥力的影响较大,因此为了揭示土壤因素对红芪药材质量的影响,活性成分与土壤营养成分之间的相关性,本研究收集了甘肃不同地区红芪药材及土壤样品,测定了红芪药材中活性成分芒柄花素、毛蕊异黄酮和土壤营养成分,同时分析了芒柄花素、毛蕊异黄酮量与土壤营养成分之间的相关性,揭示影响红芪生长的主要因素,为红芪产区的测土施肥工作及 GAP 基地建设提供合理的依据。

1 材料、试剂与仪器

1.1 材料

样品采集于甘肃红芪药材主产区(武都区、宕昌县、岷县、陇西县),采集栽培红芪药材及其生长的土壤样品(表 1)。每份样品按照随机、等量和多点混合的原则进行采集,每个样品采样点为 15 个点。土壤采样深度为 0~20 cm,混合后风干,过 60 目筛备用。样品由甘肃中医药大学药学院李成义教授鉴定为豆科植物多序岩黄芪 *Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz. 的干燥根。经搓条后晾干,粉碎备用。

表 1 红芪药材及其生长土壤样品信息

Table 1 Information of *Hedysari Radix* and its growth soil samples

编号	产地	编号	产地
AH-1	武都区安化镇	CL-2	宕昌县车拉乡
AH-2	武都区安化镇	NY-1	宕昌县南阳镇
GH-1	武都区郭河乡	NY-2	宕昌县南阳镇
GH-2	武都区郭河乡	XH-1	宕昌县兴化乡
YL-1	武都区鱼龙乡	XH-2	宕昌县兴化乡
YL-2	武都区鱼龙乡	JH-1	宕昌县贾河乡
PJ-1	宕昌县庞家乡	JH-2	宕昌县贾河乡
PJ-2	宕昌县庞家乡	MC-1	岷县梅川镇
HDP-1	宕昌县哈达铺镇	MC-2	岷县梅川镇
HDP-2	宕昌县哈达铺镇	SY-1	陇西县首阳镇
CL-1	宕昌县车拉乡	SY-2	陇西县首阳镇

1.2 试剂与仪器

浓硫酸、硼酸、氢氧化钠、盐酸、无水碳酸钠、溴甲酚绿、甲基红、硒粉、硫酸钾、无水硫酸铜、无水乙醇、KCl、高氯酸、2,4-二硝基酚指示剂、左

旋抗坏血酸、酒石酸氧锶钾、钼酸铵、碳酸氢钠、NH₄OAc、活性炭、毛蕊异黄酮对照品(批号 MUST-13030602, 购于成都曼思特生物科技有限公司, 质量分数为 99%)、芒柄花素对照品(批号 MUST-13050801, 购于成都曼思特生物科技有限公司, 质量分数为 99%)、乙腈(天津市光复精细化工研究所, 色谱纯)、甲醇(天津市津东天正精细化学试剂厂, 分析纯)、磷酸(天津市凯信化学工业有限公司, 优级纯)、水(娃哈哈纯净水)。凯氏定氮仪、紫外分光光度计、火焰光度计、消化炉、分析天平、往复振荡机、Agilent 1200 型高效液相色谱仪(安捷伦公司), DAD 检测器(美国)。

2 方法与结果

2.1 土壤营养成分的测定

土壤营养成分测定参考《土壤农化分析》^[15], 测定了土壤中的 6 种营养成分。其中全氮的测定采用凯氏定氮法, 全钾和速效钾的测定采用火焰光度法, 有机质的测定采用重铬酸钾容量法, 土壤全磷的测定采用 HClO₄-H₂SO₄ 法, 速效磷的测定采用 NaHCO₃ 法。测定结果见表 2。

2.2 红芪中活性成分的测定

色谱条件: TC-C₁₈ (2) 色谱柱(250 mm×4.6 mm, 5 μm), TC-C₁₈ 保护柱(10 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈(B)-0.01%磷酸水(A)溶液, 梯度洗脱, 0~25 min, 30%~33% B; 25~45 min, 33%~36% B, 检测波长 248 nm, 柱温 30 °C。体积流量 1.0 mL/min, 进样量 10 μL。色谱条件经方法学考察均符合要求^[16]。

22 批药材样品按上述色谱条件进行测定, 分别记录毛蕊异黄酮和芒柄花素相应色谱峰的峰面积, 然后将色谱峰峰面积代入相应的回归方程, 其中毛蕊异黄酮: $Y=3\ 953.8 X-0.145\ 6$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 0.226~61.020 μg/mL; 芒柄花素: $Y=6\ 076.9 X-9.063\ 9$, $r=0.999\ 9$, 线性范围 0.810~218.700 μg/mL, 计算红芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素的量, 结果见表 2。

2.3 数据处理

以不同产地土壤营养成分与红芪活性成分量建立数据库, 采用 SPSS 13.0 进行 Duncan 多重比较、Spearman 相关性及回归法分析。

2.4 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分多重比较分析

不同产地土壤中营养成分与红芪中毛蕊异黄

表2 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分量

Table 2 Contents of soil nutrients and active components in *Hedysari Radix* from different habitats in Gansu province

编号	毛蕊异黄酮($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	芒柄花素($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	全氮/%	全钾($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效钾($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有机质($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全磷($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效磷($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
AH-1	24.1	0.267 2	0.159 8	79.640 7	280.000 0	1.276 0	0.372 8	54.8
AH-2	23.5	0.255 4	0.139 5	79.744 8	279.784 2	1.315 5	0.352 8	55.0
GH-1	17.7	0.291 8	0.117 7	76.217 1	212.974 4	1.413 9	0.223 6	24.4
GH-2	16.7	0.288 1	0.120 5	76.325 2	212.663 5	1.296 6	0.233 2	25.3
YL-1	13.3	0.314 2	0.086 9	91.616 8	49.000 0	0.726 0	0.222 1	19.2
YL-2	18.7	0.428 0	0.083 9	91.553 5	49.237 7	0.706 8	0.180 6	19.6
PJ-1	18.5	0.143 1	0.127 3	54.035 2	109.991 2	1.177 1	0.217 6	0.5
PJ-2	18.4	0.141 6	0.114 0	54.091 8	109.881 2	1.217 3	0.212 5	0.2
HDP-1	21.3	0.126 6	0.067 5	66.713 2	87.994 7	0.667 7	0.058 1	4.6
HDP-2	21.9	0.109 5	0.071 8	66.786 3	87.783 3	0.648 1	0.059 1	6.9
CL-1	10.0	0.185 8	0.107 6	48.782 9	102.981 5	0.903 3	0.279 9	1.5
CL-2	11.9	0.179 9	0.110 8	48.741 5	102.765 5	0.961 3	0.269 6	2.6
NY-1	24.7	0.165 2	0.361 2	56.464 5	104.993 7	2.474 4	0.314 8	0.9
NY-2	24.0	0.166 6	0.367 7	56.487 0	104.340 0	2.435 1	0.324 6	2.8
XH-1	24.3	0.394 9	0.148 2	55.577 8	72.988 3	1.040 6	0.222 9	6.0
XH-2	25.2	0.394 6	0.151 1	55.611 0	72.671 3	1.061 3	0.205 8	0.9
JH-1	34.1	0.196 7	0.179 6	58.160 4	169.000 0	1.630 6	0.371 3	37.0
JH-2	34.6	0.194 7	0.175 2	58.413 1	168.752 3	1.570 7	0.348 2	37.8
MC-1	5.9	0.099 8	0.169 3	50.779 7	214.658 9	1.863 7	0.457 3	18.3
MC-2	5.8	0.096 2	0.176 4	50.759 4	214.995 7	1.905 3	0.452 8	17.8
SY-1	2.2	0.076 8	0.115 1	46.344 4	122.000 0	1.079 7	0.303 6	21.7
SY-2	2.3	0.079 0	0.113 5	46.650 7	121.887 1	1.100 4	0.344 7	24.6

酮、芒柄花素量的 Duncan 多重比较分析结果见表 3。22 个红芪样品毛蕊异黄酮的平均值为 $0.018 1 \text{ mg/g}$ ，芒柄花素的平均值为 $0.208 9 \text{ mg/g}$ 。其中宕昌县贾河乡 2 (JH-2) 所产红芪中毛蕊异黄酮的量高于其他产地，武都鱼龙乡 2 (YL-2) 所产红芪中芒柄花素高于其他产地。全氮的量，以南阳最高，哈达铺最低；全钾量以鱼龙最高，首阳最低；速效钾量以安化最高，鱼龙最低；有机质量以南阳最高，哈达铺最低；全磷含量以梅川最高，哈达铺最低；速效磷量以安化最高，庞家最低。可以得出，土壤营养成分之间的差异性影响了红芪中活性成分量，土壤营养成分是影响红芪活性成分量的关键环境因子。

2.5 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分相关性分析

毛蕊异黄酮与芒柄花素之间存在显著相关性，相关系数为 $0.490 0$ ，说明红芪生长过程中二者的累积存在协同作用，结果见表 4。

毛蕊异黄酮与土壤中全氮、全钾存在显著正相关性，与有机质、速效磷呈正相关，与速效钾、全磷呈负相关；芒柄花素与土壤中全钾存在极显著正相关性，与全氮、速效磷呈正相关，与速效钾、有机质、全磷呈负相关。因此，土壤中全钾、全氮、速效磷量增加可以同时促进毛蕊异黄酮与芒柄花素的累积和形成，速效钾与全磷二者量升高时对毛蕊异黄酮与芒柄花素的累积和形成有阻碍作用。

土壤养分之间也存在一定的相关性。全氮与速效钾存在显著相关性，与有机质、全磷存在极显著的相关性；全钾与速效磷存在显著相关性；速效钾与有机质、全磷、速效磷之间存在极显著的相关性；有机质与全磷之间存在极显著的相关性；全磷与速效磷之间存在显著相关性。

2.6 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分回归分析

分别用 Y_1 、 Y_2 表示毛蕊异黄酮和芒柄花素，

表 3 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分 Duncan 多重比较

Table 3 Duncan multiple comparison between soil nutrients and active components in *Hedysari Radix* from different habitats

编号	毛蕊异黄酮/($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	芒柄花素/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	全氮/%	全钾/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效钾/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	有机质/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	全磷/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	速效磷/($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)
AH	23.8 EF	0.261 3 E	0.149 7 D	79.692 8 J	279.892 1 K	1.295 8 E	0.362 8 E	54.9 F
GH	17.2 D	0.290 0 E	0.119 1 C	76.271 2 I	212.819 0 I	1.355 3 E	0.228 4 B	24.9 D
YL	16.0 D	0.371 1 F	0.085 4 B	91.585 1 K	49.118 9 A	0.716 4 A	0.201 4 B	19.4 C
PJ	18.5 D	0.142 4 BCD	0.120 7 C	54.063 5 D	109.936 2 F	1.197 2 D	0.215 1 B	0.4 A
HDP	21.6 E	0.118 0 ABC	0.069 7 A	66.749 7 H	87.889 0 C	0.657 9 A	0.058 6 A	5.8 B
CL	10.9 C	0.182 9 D	0.109 2 C	48.762 2 B	102.873 5 D	0.932 3 B	0.274 8 C	2.1 A
NY	24.3 EF	0.165 9 CD	0.364 5 F	56.475 8 F	104.666 9 E	2.454 8 H	0.319 7 D	1.9 A
XH	24.8 F	0.394 8 F	0.149 7 D	55.594 4 E	72.829 8 B	1.051 0 C	0.214 4 B	3.5 A
JH	34.3 G	0.195 7 D	0.177 4 E	58.286 7 G	168.876 2 H	1.600 7 F	0.359 8 E	37.4 E
MC	5.9 B	0.098 0 AB	0.179 2 E	50.769 5 C	214.827 3 J	1.884 5 G	0.455 1 F	18.1 C
SY	2.3 A	0.079 9 A	0.114 3 C	46.497 6 A	121.943 6 G	1.090 1 C	0.324 2 D	23.2 D

不同大写字母表示差异显著 $P < 0.05$

Different letters means $P < 0.05$

表 4 不同产地土壤营养成分与红芪活性成分相关系数

Table 4 Correlation coefficients about soil nutrients and active components in *Hedysari Radix* from different habitats

成分	毛蕊异黄酮	芒柄花素	全氮	全钾	速效钾	有机质	全磷	速效磷
毛蕊异黄酮	1							
芒柄花素	0.490 0*	1						
全氮	0.430 0*	0.011 0	1					
全钾	0.473 0*	0.639 0**	-0.102 0	1				
速效钾	-0.126 0	-0.272 0	0.499 0*	-0.050 0	1			
有机质	0.176 0	-0.159 0	0.889 0**	-0.089 0	0.691 0**	1		
全磷	-0.081 0	-0.246 0	0.687 0**	-0.222 0	0.763 0**	0.793 0**	1	
速效磷	0.046 0	0.191 0	0.111 0	0.437 0*	0.556 0**	0.188 0	0.494 0*	1

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

用 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 、 X_6 表示全氮、全磷、全钾、有机质、速效磷、速效钾。采用后退法得回归方程为 $Y_1 = 0.019 + 0.089 X_1 - 0.074 X_2 + 0.35 X_3$ ($R^2 = 0.516$, $P < 0.05$); $Y_2 = -0.078 + 0.005 X_3$ ($R^2 = 0.317$, $P < 0.05$)。由回归方程可看出, 影响红芪中毛蕊异黄酮量的主要土壤营养成分为全氮与速效磷, 其决定系数 R^2 为 0.516, 而毛蕊异黄酮与全磷呈负相关; 影响红芪中芒柄花素量的主要土壤营养成分为全钾, 其决定系数 R^2 为 0.317。

3 讨论

Duncan 多重比较分析发现土壤营养成分是影响红芪活性成分的关键环境因子。土壤是植物生长过程中营养物质的主要来源, 土壤成分的变化对植物主要化学成分的形成与积累有较大的影响^[17], 分析中药红芪主要成分与土壤营养成分之间的关系

有助于研究毛蕊异黄酮与芒柄花素等成分的积累过程, 对药农或企业栽培红芪时合理施肥具有指导作用。本实验研究发现影响中药红芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素量的主要土壤养分为全钾、全氮、速效磷, 在栽培红芪时可适当增加钾肥、氮肥及磷肥以促进红芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素的累积, 从而提高红芪的质量。

相关性及回归分析结果表明, 红芪药材主要成分之间、土壤养分之间均存在一定的相关性。从相关系数可以得出, 土壤营养成分中全氮、全钾与毛蕊异黄酮存在中等程度相关, 其他土壤营养成分与毛蕊异黄酮呈极弱相关; 全钾与芒柄花素呈强相关, 速效钾、全磷与芒柄花素呈弱相关, 其他土壤营养成分与芒柄花素呈极弱相关。说明土壤养分对红芪活性成分的影响是多种因子的复合作用, 即存

在协同作用,又具有拮抗作用,这种复合作用导致中药红芪在生长过程中对土壤营养成分具有选择性。有研究发现磷是豆科植物生长的主要限制性元素^[18],同时鲁守平等^[19]发现不利于初生代谢的胁迫生态环境有利于药用植物次生代谢产物的积累,因此磷元素有利于红芪中毛蕊异黄酮和芒柄花素的累积可能是由于其胁迫红芪生态环境而产生的结果。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 海力茜,张庆英,梁 鸿,等. 多序岩黄芪化学成分研究 [J]. 药学学报, 2003, 38(8): 592-595.
- [3] Hai L Q, Zhang Q Y, Liang H, *et al.* Study on chemical constituents of *Hedysarum polybotrys* [J]. *Acta Pharm Sin*, 2003, 38: 592-595.
- [4] Dong Y M, Tang D Y, Zhang N, *et al.* Phytochemicals and biological studies of plants in genus *Hedysarum* [J]. *Chem Central J*, 2013, 7: 124-127.
- [5] 朱 冉,郭 玫. 红芪有效成分及“入脾经”相关药理研究 [J]. 西部中医药, 2012, 25(1): 27-30.
- [6] 宋瑞霞,余 静,杨丽丽,等. 甘肃黄芪毛蕊异黄酮对血管内皮细胞ACE, ACE₂表达的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(8): 594-597.
- [7] 唐菁燕,胡 光,许贝文,等. 毛蕊异黄酮通过雌激素受体促进内皮细胞增殖 [J]. 中药药理与临床, 2009, 25(6): 14-17.
- [8] 贾晓宁,李家栋,邵正威,等. 芒柄花素对兔离体肠平滑肌舒张作用的影响 [J]. 中国老年医学杂志, 2014(34): 2174-2176.
- [9] 韩桂秋,王鸣刚,陈克明,等. 芒柄花素对体外培养成骨细胞缺氧损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2011, 27(5): 671-677.
- [10] 于 杰,赵丕文,牛建昭,等. 芒柄花素的植物雌激素作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(22): 3060-3064.
- [11] 马鹏里,蒲金涌,党 冰. 甘肃省红芪栽培区适生气候条件评价 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18742-18743.
- [12] 何淑玲,藺海明,程卫东. 不同栽培方式对红芪生长发育及产量的影响 [J]. 甘肃农业大学学报, 2010, 45(4): 107-111.
- [13] 马云桐,万德光,黄清龙. 不同土壤因子与虎杖主要成分的相关性分析 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6): 1520-1522.
- [14] 杨俊东,陈兴福,杨文钰,等. 川泽泻质量与其根际土壤理化性质的相关性分析 [J]. 中草药, 2012, 43(3): 581-587.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] 李成义,王 燕,强正泽,等. 甘肃不同产区红芪中指标性成分含量的比较 [J]. 中国现代中药, 2014, 16(10): 796-799.
- [17] 李建恒,侯力峰,乔亚君,等. 不同产地土壤因子与黄顶菊黄酮类成分相关性分析 [J]. 西北农业学报, 2013, 23(2): 191-197.
- [18] Sulieman S, Schulze J, Tran L S. Comparative analysis of the symbiotic efficiency of *Medicago truncatula* and *Medicago sativa* under phosphorus deficiency [J]. *Int J Mol Sci*, 2013(14): 5198-5213.
- [19] 鲁守平,隋新霞,孙 群,等. 药用植物次生代谢的生物学作用及生态环境因子的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 2006(18): 1027-1032.