

不同采光结构对穿龙薯蓣产量和质量的影响*

□孟祥才 刘石磊 杨国辉 孙 晖 王喜军**

(黑龙江中医药大学药学院 哈尔滨 150040)

摘 要:目的:探讨穿龙薯蓣无支架、树枝支架、木杆支架和网状支架等不同采光结构对药材质量和产量的影响,从而确定适宜栽培方法。方法:比较不同采光结构下穿龙薯蓣的叶片大小、叶绿素含量以及超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)的活性和丙二醛(MDA)含量、药材的产量以及药材中薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷含量。结果:4种采光结构中,木杆支架和网状支架叶片较大,叶绿素含量较低,SOD、CAT和PPO的活性较高,而PPO活性较低。无支架、树枝支架、木杆支架和网状支架产量分别是0.70、1.13、1.34和1.51 kg·m⁻²,薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷总含量分别是3.04%、3.95%、5.33%和4.86%,而野生穿龙薯蓣含量为4.04%。产量主要是通过改善光照条件而实现,质量提高与光照强度增加有关。结论:网状支架提高穿龙薯蓣的产量和质量,为其他藤本类药材栽培提供良好借鉴。

关键词:穿龙薯蓣 薯蓣皂苷 原薯蓣皂苷 中药材 中药农业 中药质量

doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2011.05.026

穿龙薯蓣 *Dioscorea nipponica* Makino 又名穿山龙,为多年生草质藤本植物,主产于黑龙江、吉林和辽宁省东部山区,河北、内蒙古、河南、山西、陕西、甘肃等地亦有大量分布,分布区域较广泛。穿龙薯蓣以根茎入药,具有镇咳、祛痰、平喘作用,并能改善心血管功能,临床用于治风寒湿痹,慢性气管炎,消化不良,劳损扭伤,疟疾,痈肿等疾病。由于资源匮乏,穿龙薯蓣东北地区近几年开始有大量栽培。

山药、葛根、防己、何首乌、党参、绞股蓝等许多药材种类来源于草质藤本植物,这些药材的栽培基本采用2m以上的木杆或竹竿,3~5个为一组上端捆

缚,下端分开插入地下而做成类似锥体的支架供其攀援^[1],这种采光结构需要大量的材料,不仅成本较高,而且植物的叶片在整个空间分布不均,光能得不到充分利用。光照是影响产量最重要的因素,植物生物量的90%~95%左右来自于光合作用,其余5%~10%左右的物质也要间接通过光合作用来获得,因此对光合作用本质研究是挖掘高产栽培技术的基础工作,调光技术的改革无疑对产量会产生巨大的影响^[2],而人工干扰可显著改善藤本植物的光照条件。藤本植物通常生长在林下,需缠绕于其它植物向上生长,光照较弱,而人工栽培在全光照条件下,二者在生态环境上具有较大的差异,藤本植物能否够适应较强的光照条件以及是否会对药材的质量产生影响

收稿日期: 2011-01-25

修回日期: 2011-02-24

* 黑龙江省科技厅科技攻关项目(GB07C322):穿龙薯蓣优质高产技术研究,负责人:孟祥才。

** 通讯作者:王喜军,本刊编委,教授,博士研究生导师,主要研究方向:中药血清药物化学,Tel:0451-82110818, E-mail: wxj@hljucm.net。

是决定该技术能够广泛应用的重要方面,研究也证明在不通透光度的环境下生长的穿龙薯蓣中,薯蓣皂苷元的含量随光照强度的增加而升高,且在全光照条件下最高^[4],然而在全光照条件下不同栽培方式的光照强度也有很大不同。为此,本研究以穿龙薯蓣为研究对象,对不同采光条件下穿龙薯蓣的生理、药材的产量及质量进行研究,以探讨穿龙薯蓣等草质藤本药材的高产措施及对药材质量的影响,从而指导药材的生产。

一、材料与方法

1. 材 料

(1) 采光支架材料。

高 1 m 左右的树枝,高 2 m 左右的木杆;植物支架网(浙江绍特塑胶有限公司生产,宽 2 m,15 cm×15 cm)等。

(2) 仪器。

LC-2010A 型自动进样高效液相色谱仪, KDC-160HR 高速冷冻离心机, AS3120-B 超声震荡仪, 日本岛津 UV mini-1240 型分光光度仪。

(3) 试药。

薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷对照品购自中国药品生物制品检定所,乙腈(色谱级)购自美国迪马(DIK-MA)公司,娃哈哈纯净水购自杭州娃哈哈集团有限公司,其它均为分析级。

2. 方 法

(1) 田间试验设计。

2008 年 5 月,我们对黑龙江中医药大学种子种苗繁育基地(位于黑龙江省清河林业局)培育的 2 年生种苗进行移栽。畦栽,畦宽 130 cm,在畦的两边开沟 5~10 cm,均匀摆放种苗 0.2 kg·m⁻¹。分无支架、树

枝支架(高 1 m,以小枝覆盖整个畦面为标准)、木杆支架(高 2 m,每 4 个为一组,木杆间距 20 cm)和网状支架(在畦的两端树立高 2.2 m 木杆,两木杆顶端用铁丝相连,供悬挂支架网,网的下端固定畦的两边)等 4 个处理,每处理 5 m,6 次重复,见图 1。叶片采集于 2010 年 8 月 14 日,分别测定叶片厚度、叶绿素 a 和 b 的含量、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)含量。穿龙薯蓣的根茎于 2010 年 10 月 2 日采集,同时采集野生穿龙薯蓣作对照,洗净,室内阴干。

(2) 不同生理生化指标测定方法。

叶片的厚度采用单位面积重量法,避开主叶脉,用直径 0.18 cm 的打孔器获取叶片,每处理 45 片叶,分析天平称重;叶片的大小测定采用重量法,即将叶片固定在纸上,用笔描下叶缘,剪纸称重,将纸的重量换算成叶片的面积。根茎直径选择中等直径的根茎进行测量;过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[4];多酚氧化酶(PPO)采用邻苯二酚法^[5];过氧化氢酶(CAT)活性测定采用高锰酸钾滴定法^[6];丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸显色法^[6];叶绿素 a、b 的含量测定采用分光光度法^[7]。

(3) HPLC 法测定薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷含量。

① 色谱条件 色谱柱: Diamonsil C₁₈(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相: 乙腈-水梯度洗脱, 0~5 min 乙腈 29% 等度, 5~5.5 min 29% 线性变化到 60%, 5.5~14 min 60% 乙腈等度; 柱温: 35 °C; 流速: 1 mL·min⁻¹; 检测波长 206 nm; 进样量: 对照品溶液 5 μL, 供试品溶液 10 μL。

② 对照品溶液的制备 精密称取薯蓣皂苷、原薯蓣皂苷对照品各 5 mg, 分别置 5 mL 量瓶中, 用甲醇溶解并稀释至刻度, 摇匀, 即得。

③ 供试品溶液的制备 取药材细粉约 0.5 g, 精密称定, 置 100 mL 具塞锥形瓶中, 加 35% 乙醇 5 mL, 密塞, 称定重量, 超声处理 40 min(55kHz), 放冷, 用 35% 乙醇补足减失的重量, 溶液 3000 rpm 离心 10 min, 取上清液, 过 0.45 μm 的微孔滤膜。

④ 线性关系考察 精密量取薯蓣皂苷对照品溶液和原薯蓣皂苷各 1、2、4、6、8、10 μL, 注入液相色谱仪。以峰面积为横坐标, 进样量(μg)为纵坐标进行线性回归。结果薯蓣皂苷回归方程为: $Y=4 \times 10^{-6}X-0.293$, $r=$



树枝支架

木杆支架

网状支架

图 1 穿龙薯蓣不同采光结构

0.9998, 表明薯蓣皂苷在 1.12~10.29 μg 具有良好的线性关系; 原薯蓣皂苷回归方程为: $Y = 4.7 \times 10^{-6} X - 3.59, r = 0.9998$, 表明原薯蓣皂苷在 1.02~10.2 μg 具有良好的线性关系。

⑤精密性试验 精密量取同一对照品溶液, 重复进样 6 次, 薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的 RSD 分别为 2.0% 和 1.0%。

⑥稳定性试验 精密量取同一供试品溶液, 分别于 0、2、4、8、12 h 测定峰面积, 结果薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的 RSD 分别为 2.8% 和 1.9% (n=5), 表明供试品溶液在 12 h 内稳定。

⑦重现性试验 取同一批样品, 按上述供试品溶液的制备方法和色谱条件, 重复测定 6 次, 薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的 RSD 分别为 0.67% 和 0.34%。

⑧回收率试验 精密称取已知含量的样品粉末约 0.25 g, 按低、中、高 3 种浓度加入对照品溶液制备供试品溶液, 按上述供试品溶液的制备方法和测定条件, 测定薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的含量, 计算回收率。结果薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的平均回收率分别为 98.6% 和 98.4%, RSD 分别为 1.5% 和 1.6% (n=6)。

二、结果与分析

1. 不同采光结构对穿龙薯蓣叶片 MDA 含量及 SOD、POD、PPO、CAT 活性的影响

植物在逆境的条件下叶绿体固定 CO₂ 消耗的光能与吸收的光能的平衡常常被打破, 造成吸收光能过剩, 又由于环境胁迫激素脱落酸导致气孔关闭阻碍了光合作用产生的 O₂ 外排, 积累的 O₂ 被还原成 O²⁻, 即 Mehler 反应^[6]。穿龙薯蓣为草质藤本植物, 生长在林下或林缘, 需要攀援其它植物而生长, 因此, 在自然状态下穿龙薯蓣的生长环境光照较弱。而在栽培的植物则在全光照条件下生长, 光照较强, 温度较高, 需要以新的方式适应新的环境。环境的改变, 植物正常生长需要产生新的适应方式。抗氧化酶活性也是植物所遭受逆境胁迫程度的反映^[9]。由表 1 可以看出, 木杆支架结构抗氧化酶 SOD、CAT 和 PPO 的活性均较高, 说明木杆结构的较强光照对穿龙薯蓣的生理产生一定影响, 环境

对其具有一定的胁迫作用, 此方面的结论也被 MDA 的较高含量所认证。但是木杆支架结构 POD 的活性与前三者相反, 活性最低, 可能与其在体内生理作用有关。POD 和 CAT 的催化底物均为 H₂O₂, CAT 的作用是催化体内较高水平的有害的 H₂O₂ 生成无害的 H₂O, 而 POD 主要针对较低水平的 H₂O₂, 在此种胁迫程度下已对该酶造成损害, 降低酶的活性^[10]。

2. 不同采光结构对穿龙薯蓣光合作用和产量的影响

无论是植物的生物量还是植物经济产量基本来自于光合作用, 因此对光合作用以及与之相关的研究是研究产量形成的基础。无支架的穿龙薯蓣叶片最薄, 而其它 3 种有支架的穿龙薯蓣叶片较厚, 其中木杆支架的叶片最厚(见表 2), 这与该采光结构具有较好的透光条件有密切关系, 叶片的厚度是反映光照强弱的一个重要指标, 表明无支架透光不良。叶绿素是植物吸收、传递、转换光能的主要色素, 是绿色植物进行光合作用的基础物质, 可反映植物的生长发育状况、生理代谢变化以及营养状况, 并且可作为环境生理研究的参考指标。通常光照过强会对叶绿素造成较大的破坏, 本研究结果显示, 叶绿素在 4 种采光结构有明显差异(见表 2), 其中无支架和树枝支架由于植物体受拓展空间的限制, 叶片在有限的空间密度较大, 透光较低, 光照较弱, 光对叶绿素具有较大的破坏作用, 所以叶绿素含量较高, 尤其是反映光照强度的叶绿素 b 表现的也较明显, 通常在弱光照条件叶绿素 b 含量较高^[11], 木杆支架光照最强, 其

表 1 不同采光结构对穿龙薯蓣叶片 MDA 含量及 SOD、POD、PPO、CAT 活性的影响

	SOD(U·g ⁻¹)	CAT (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	POD (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	PPO (U·g ⁻¹ ·min ⁻¹)	MDA (nmol·g ⁻¹)
无支架	549.1	129.0	483	710	27.8
树枝支架	522.3	130.5	690	945	27.2
木杆支架	589.2	143.5	420	1210	32.1
网状支架	535.7	126.5	491	1225	28.4

表 2 不同采光结构对穿龙薯蓣光合作用和产量的影响

	叶片厚度 (mg·cm ⁻²)	叶绿素含量 mg·g ⁻¹ ·FW(a+b)	叶片大小 (cm ²)	根茎直径 (cm)	产量 (kg·m ⁻²)
无支架	9.31	0.208(0.146+0.061)	10.15±1.25	0.78±0.12	0.70±0.16
树枝支架	10.16	0.236(0.168+0.067)	25.60±2.53	1.34±0.22	1.13±0.25
木杆支架	10.46	0.097(0.071+0.026)	29.15±3.12	1.83±0.35	1.34±0.14
网状支架	9.96	0.167(0.121+0.046)	31.15±3.30	1.93±0.28	1.51±0.19

叶绿素的含量也最低。但是穿龙薯蓣叶片的大小却表现出了相反的趋势,光照条件较好的支架,叶片也较大。对穿龙薯蓣根茎产量进行调查,无支架根茎最低,其直径和产量不足网状支架的 1/2,木杆支架虽然有较好的光照条件,但产量也低于网状支架。产量决定光合产物积累的 3 个主要参数是源的大小(总叶面积)、源强(单位面积净同化率)和源的持续时间(叶的寿命)^[12],对于穿龙薯蓣来说,各种采光结构的下部叶片均未见枯黄现象,基本可以说明采光结构对叶的寿命影响不大,无支架和树枝支架虽然叶绿素的含量较高,但产量较低,产量分别为 $0.7 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$ 和 $1.13 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$,仅为网状支架产量的 1/2 和 2/3,必然是光照条件较差,单位面积净同化率也不会得到提高所致,结果见表 2。对攀援植物研究表明,攀援植物不仅具有较高光饱和点,还具有较低的光补偿点,这些特点是植物对特有的生态环境的适应^[13]。不同采光结构的植株在形态方面并未表现出异常,从此结果可以看出,生长于林下、林缘的野生穿龙薯蓣在全光照条件下栽培仅是对生理方面产生一定影响,较强的光照对穿龙薯蓣的生理生化不会造成严重的伤害而影响栽培生产。

3. 不同采光结构穿龙薯蓣药材质量的比较

生态胁迫能促进道地药材的质量形成,植物在胁迫条件下次生代谢产物增多,这是一种较为普遍的现象,这种现象往往是受某些或某个因子的限制所致^[14]。胁迫下产生活性氧是植物细胞一个普遍特征,也是主要的特征^[11]。活性氧的水平也通常由抗氧化酶的活力反映出来,抗氧化酶活性的变化也反映了生态环境的改变对次生代谢的作用,过氧化酶的活性也随光照强度增加而发生较大的改变(见表 1),说明木杆支架和网状支架可能产生较多的自由基,穿龙薯蓣中的有效成分含量受环境影响较大,因此,木杆支架和网状支架的两种主要成分薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷的含量较高,符合“活性氧促进道地药材质量形成的假说”^[15],并且均高于野生品(见表 3)。

表 3 不同采光结构穿龙薯蓣中薯蓣皂苷和原薯蓣皂苷质量的比较(%)

	无架	树枝支架	枝条支架	网状支架	野生
薯蓣皂苷	1.43	1.16	2.45	2.60	1.48
原薯蓣皂苷	1.61	2.79	2.88	2.26	2.57
总皂苷	3.04	3.95	5.33	4.86	4.04

三、讨论与结论

作物的产量是由光合面积、光合能力、光合时间三者的乘积与呼吸消耗之间的差所决定,最高产量原则上主要是作物群体的受光量与光合效能所决定,光的强度和空间分布对光合作用有很大的影响,其中植物良好的株型是建立作物高产群体结构的“基本材料”^[16]。然而栽培的藤本植物株型的共同特点是必须人为赋予,传统的采光结构支架上部的叶片紧密重叠,光照条件恶化,而下部空间过大,光能浪费较多,因此传统方法在很大程度上限制了藤本植物栽培产量的提高。支架网材料的应用,可以赋予藤本植物良好的高产“株型”,获得最佳的光照条件,大幅度提高产量,增加生产效益。另外,在研究中还发现采用支架网采光结构的地面很少接受直射光照,田间杂草也大大减少。因此,支架网的应用将是草质藤本植物高产栽培技术的重大改革。

对于网状支架和木杆支架均可得到较高的产量,但是木杆支架需要材料很多,虽然山区易得,但也需要大量的人力和物力,而且插入的地下部分不足 2 年便已腐烂,还需要重新插入,进一步增加成本。在北方气温较低,支架网被植物覆盖,延缓老化,通常可以使用 3 年,其纵向的每个网线均可当做一条木杆使用,成本大大降低。综合以上分析,采用网状支架的采光结构不仅是一项高产措施,也是栽培生产的一项优质措施,该结果可为其他草质藤本植物栽培所借鉴。

参考文献

- 程惠珍,杨智. 中药材规范化种植(养殖)技术指南. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- 孟祥才,马伟,李明. 北方主要道地中药材规范化栽培. 北京: 中国医药科技出版社, 2005:23~25.
- 丁赢. 山药穿山龙. 北京: 中国中医药出版社, 2002:139~140.
- 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2000:131~135.
- 胡桂兵,李大成,李平,等. 荔枝果皮色素酚类物质与酶活性的动态变化. 果树科学, 2000, 17(1):35~40.
- 邹琦. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业出版社, 2006:163~173.
- 张宪政. 植物叶绿素含量测定-丙酮乙醇混合液法. 辽宁农业科学, 1986, (3):26~28.
- Mehler A H. Studies on reactions of illuminated chloroplasts. I. Mechanism of the reduction of oxygen and other Hill reagents. Arch Biochem Biophys, 1951, 33(1):65.
- Jambunathan N. Determination and detection of reactive oxygen species

- (ROS), lipid peroxidation, and electrolyte leakage in plants. *Methods Mol Biol*, 2010, 639:292-298.
- 10 简令成, 王红. 环境胁迫植物细胞生物学. 北京: 科学出版社, 2009: 254.
- 11 赵福庚, 何龙飞, 罗庆云. 植物逆境生理生态学. 北京: 化学工业出版社, 2004: 132.
- 12 刘友良. 植物水分的逆境生理. 北京: 农业出版社, 1992: 8.
- 13 钟章成. 攀援植物行为生态学的理论与研究方法. 北京: 科学出版社, 2005: 20.
- 14 黄璐琦, 陈美兰, 肖培根. 中药材道地性研究的现代生物学基础及模式假说. *中国中药杂志*, 2004, 29(6): 494-497.
- 15 孟祥才, 王喜军. 活性氧促进道地药材质量形成的假说及其探讨. *中草药*, 2011, 42(4): 799-804.
- 16 杨守仁, 郑丕尧. 作物栽培学概论. 北京: 中国农业出版社, 2002: 112-124.

Effect of Lighting Framework on Yield and Quality of Chinese Medicine from *Dioscorea Nipponica*

Meng Xiangcai, Liu Shilei, Yang Guohui, Sun Hui, Wang Xijun

(Pharmacy School, Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China)

Abstract: This study aimed to explore the effect of lighting frameworks such as non-shelf, branch-shelf, stick-shelf and network-shelf on the yield and quality of Chinese medicine from *Dioscorea nipponica*, which is a perennial twisted herbal liana. The stick-shelf and network-shelf have bigger leaves, lower contents of chlorophyll, higher activities of superoxide dismutase (SOD), hydrogen peroxidase (CAT) and peroxydase (POD), and higher content of malondialdehyde (MDA). But the activity of polyphenoloxidase (PPO) was lower. The yields from non-shelf, branch-shelf, stick-shelf and network-shelf were 0.70 kg/m², 1.13 kg/m², 1.34 kg/m² and 1.51 kg/m², respectively. The total contents of dioscin and protodioscin were 3.04%, 3.95%, 5.33% and 4.86%, respectively. But content from the wild was 4.04%. It indicates that the yield is mainly relied on the improvement of illumination condition. The Chinese medicinal quality improvement is related to the increase of light intensity. The increase of quality and production through network-shelf can offer good reference to other twining vine cultivation.

Keywords: *Dioscorea nipponica*, dioscin, protodioscin, Chinese medicinal, Chinese medicine cultivation, Chinese medicine quality

(责任编辑: 李沙沙, 责任译审: 王 晶)