

植物生长调节剂对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

王建安¹, 吴霞², 徐增策³, 陈重明³(1. 济宁医学院药学院, 山东 日照 276826; 2. 日照市环保局, 山东 日照 276826; 3. 江苏省中国科学院植物研究所, 南京 210014)

摘要: 目的 大田条件下, 研究几种植物生长调节剂对盾叶薯蓣根茎中薯蓣皂苷元含量及根茎产量的影响。方法 采用单因素施肥方法, 结果采用SPSS 17.0统计软件包进行分析。结果 发现施用萘乙酸、多效唑、烯效唑和2, 4-D均可大大提高盾叶薯蓣根茎产量, 但对于薯蓣皂苷元含量的影响较小。对薯蓣皂苷元含量的影响, 2, 4-D>膨大素>NAA>稀效唑>多效唑; 对盾叶薯蓣根茎产量的影响, 2, 4-D>NAA>多效唑>稀效唑>膨大素。结论 喷施一定浓度的2, 4-D, 对优质、高产盾叶薯蓣的栽培, 具有重要的实践意义。

关键词: 植物生长调节剂; 盾叶薯蓣; 薯蓣皂苷元含量; 根茎产量

中图分类号: R282.2

文献标志码: B

文章编号: 1007-7693(2009)12-0996-04

Effects of Plant Growth Regulators on Yield and Diosgenin Content of *Dioscorea zingiberensis*

WANG Jianan¹, WU Xia², XU Zenglai³, CHEN Chongming³(1. College of Pharmaceutical Science, Jining Medical University, Rizhao 272826, China; 2. Environmental Protection Bureau of Ri Zhao, Rizhao 272826, China; 3. Jiangsu Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE A field experiment was conducted to investigate the different effects of various plant growth regulators on diosgenin contents and rhizome yields of *Dioscorea zingiberensis*. **METHODS** Experiments were conducted with one factor design, and data were analyzed statistically on SPSS 17.0. **RESULTS** Compared with the control, the rhizome yields were significantly increased by applying with 2, 4-D, NAA, paclobutrazol and uniconazole, but the contents of diosgenin was not obviously influenced by them. The degree of effect on diosgenin content is ranged with 2, 4-D, Pengdasu, NAA, uniconazole, paclobutrazol, while the outputs of dioscorea rhizome is 2, 4-D, NAA, paclobutrazol, uniconazole, Pengdasu. **CONCLUSION** 2,4-D can increase the diosgenin contents and rhizome yields of *Dioscorea zingiberensis*

KEY WORDS: plant growth regulator; *Dioscorea zingiberensis* C.H. Wright; diosgenin contents; 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, 以根状茎入药, 是合成肾上腺皮质激素、蛋白同化激素等上千种药物的主要原料^[1], 同时还有抗肿瘤、灭钉螺、防治血吸虫的作用^[2], 其利用价值和经济效益都是极高的, 由于过去大量无节制的采挖, 致使野生资源日渐枯竭, 目前生产上所用的资源大部分来自于人工栽培。虽然已有大量的栽培报道^[3-4], 但仅限于常规肥料, 未见有植物生长调节剂对其根茎产量与其中薯蓣皂苷元含量影响的报道。植物生长调节剂对于植物的生长及次生代谢物的产生具有重要作用, 有资料显示, 对药用植物喷施矮壮素、乙烯利、IAA、GA₃等物质, 可以大大提高挥发油、青蒿素、紫杉醇等物质的含量^[5-6]。

为了达到在提高经济产量的同时提高其中薯蓣皂苷元含量的目的, 本试验在前期研究的基础上, 探讨了几种植物生长调节剂对盾叶薯蓣根茎产量及薯蓣皂苷元含量的影响, 以期对盾叶薯蓣

的高产、优质栽培提供有效的技术措施。

1 材料与方法

1.1 试验地条件

实验在陕西省白河县黄姜种植示范基地进行, 该地地处陕西省东南部, 海拔 870 m, 年平均温度 15.6 °C, 年降水量 736~1 238 mm。土壤为砂质黄壤土, 土壤(H₂O) pH 7.06, 肥力中等, 有机质含量为 230 mg·kg⁻¹, 全 N 2.10 mg·g⁻¹, 全 P 1.72 mg·g⁻¹, 全 K 2.18 mg·g⁻¹。

1.2 试验设计

采用根状茎进行繁殖, 种源取自陕西省白河县的人工种植品。选用根状茎新鲜无病虫害、无腐烂发生, 带有1~3个芽嘴以上, 直径1.2~2.0 cm, 长6 cm左右的茎段作试验材料, 70 cm两行起垄, 垄高25 cm左右, 株行距 20 cm×20 cm, 用种量 2 250 kg·Ha⁻¹, 每穴栽种1~2段, 于9月2号开始栽种于实验基地, 栽种后普施基肥(当地农家肥)30 000 kg·Ha⁻¹, 出苗后进行除草, 干旱时及时

灌溉。

施肥实验采用随机区组设计, 每个小区面积为 17.64 m²。采用地黄膨大素、多效唑、烯效唑、萘乙酸、2, 4-D 五种生长调节剂。每种生长调节剂设 5 个梯度, 施用量分别为 15, 30, 45, 60, 75 kg·Ha⁻¹ (注: 以上施肥量均为购买肥料量), 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 4~8 月间叶面喷施, 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, 随即称重, 并折算为每公顷产量。从收获的根状茎中随机取约 200 g 左右供分析其中薯蓣皂苷元含量用。

1.3 实验肥料

稀效唑由江苏省盐城利民农化有限公司生产, 多效唑由四川省化学工业研究设计院生产, 2, 4-D、NAA、地黄膨大素均由四川国光实业公司生产。地黄膨大素为可溶性粉剂, 有效成分含量 8%, 每袋净重 25 g; 稀效唑可湿性粉剂每袋净重 20 g, 有效成分含量 5%; 多效唑为可湿性粉剂, 有效成分含量为 15%, 每袋净重 40 g; 2, 4-D 为钠盐粉剂每瓶净重 200 g, 有效成分含量为 85%; NAA 粉剂每袋净重 5 g, 有效成分含量为 20%。

2 薯蓣皂苷元的提取与含量测定^[7]

2.1 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(4.6 mm×250 mm, 粒径 5 μm, 天津 CPL 公司); 薯蓣皂苷元标准品由江苏省植物研究所提供, 经 HPLC 检测纯度大于 98%; 色谱条件: 柱温 30 °C, 流速 1 mL·min⁻¹, 检测波长 210 nm, 流动相: 色谱级甲醇。

2.2 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 °C 烘干, 用粉碎机粉碎后过 1 号筛。四分法取样, 将约 100 g 的颗粒置于 90 °C 烘箱中干燥至恒重, 精密称取约 3 g 粉碎好的材料, 置于 100 mL 三角瓶中, 加 3% H₂SO₄ 40 mL, 置于高压锅中, 126 °C 水解 3 h, 水解后过滤, 除去酸液, 水洗至中性, 将药渣置于滤纸上, 80 °C 干燥。将干燥的药渣与剪碎的滤纸一起打包, 置于索氏提取器中, 石油醚回流提取 7 h。取出提取液, 用旋转蒸发器蒸干, 将圆底烧瓶内的残留物用甲醇洗净,

并定容至 50 mL 量瓶中。从中取出 2 mL, 以 0.45 μm 微孔滤膜过滤, 作为样品溶液待测。

2.3 薯蓣皂苷元对照溶液的制备

精密称取在 80 °C 烘干至恒重的薯蓣皂苷元标准品 50 mg, 加色谱纯甲醇配成 1 mg·mL⁻¹ 的溶液作为对照液。

2.4 线性关系的考察

取薯蓣皂苷元对照液各 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 0.55~5.5 μg 内线性关系良好。回归方程为: $Y = 332.96 X + 0.168$, 相关系数 $r = 0.9999$ 。

2.5 精密度试验

取薯蓣皂苷元标准品溶液, 重复进样 5 次, 每次 2 μL, 测定峰面积, 计算 RSD。平均保留时间为 6.440 min, RSD=0.83%。

2.6 稳定性试验

取同一供试样品在同一天内进样 5 次, 10 d 后再次进样, 测定峰面积, 计算日内和日间 RSD, 得 RSD 分别为 3.61% 和 6.5%, 日内保留时间和日内保留时间分别为 0.64% 和 1.15%。表明该供试样品溶液在测定时间内基本稳定。

2.7 回收率测定

采用加样回收率法, 在供试样品中加入对照品溶液, 配制成供试液, 测定薯蓣皂苷元含量, 平均回收率 98.1%, RSD=0.98%。

2.8 数据处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析; 单因素试验采用 One-way Anova 进行分析, 方差齐性者用 LSD 检验, 反之则进行 Duncan 检验; 相关分析采用 Bivarite 分析。

3 实验结果

3.1 膨大素对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

在实验施肥水平 3 时产量较对照低, 以施肥水平 2 产量为最高。与对照组相比, 除施肥水平 4 外, 其余各施肥水平均达到极显著水平差异($P < 0.01$), 与施肥量表现为负相关($r = -0.018$)。薯蓣皂苷元含量与对照相比, 各施肥水平均达到极显著差异($P < 0.01$), 但水平 1 较对照低, 以施肥水平 2 含量达到最高, 随施肥量的不断增加, 呈现出现一直下降趋势, 施肥量与薯蓣皂苷元含量表现为正相关

($r = 0.256$)。在实验施肥条件下, 根茎产量与薯蓣皂苷元含量表现为负相关($r = -0.392$)。见表 1, 2。

表 1 植物生长调节剂对盾叶薯蓣根茎产量的影响($n=3$)

Tab 1 Effects of plant growth regulators on the rhizome yields of *Dioscorea zingiberensis*($n=3$)

施肥水平	不同植物生长调节剂下盾叶薯蓣根茎产量/kg·Ha ⁻¹					对照
	膨大素	稀效唑	多效唑	萘乙酸	2,4-D	
1	18 225	19 086	18 345	25 050	25 275	
2	18 390	19 800	18 870	20 130	27 510	
3	16 830	17 055	18 840	19 245	31 305	18 015
4	18 015	18 300	19 140	23 490	26 610	
5	18 360	18 015	19 380	23 815	35 775	

表 2 植物生长调节剂对盾叶薯蓣根茎中皂苷元含量的影响($n=3$)

Tab 2 Effects of plant growth regulators on diosgenin contents of *Dioscorea zingiberensis*($n=3$)

施肥水平	不同植物生长调节剂下盾叶薯蓣皂苷元含量/%					对照
	膨大素	稀效唑	多效唑	萘乙酸	2,4-D	
1	0.97	1.16	1.12	1.24	1.25	
2	1.36	1.09	1.98	1.28	1.29	
3	1.34	1.10	1.17	1.07	1.18	1.04
4	1.26	0.98	0.91	0.83	0.96	
5	1.15	0.84	0.92	0.87	1.54	

3.2 稀效唑对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

喷施稀效唑后, 薯蓣皂苷元含量呈先上升后下降趋势, 与对照相比均达到极显著差异($P < 0.01$), 且实验水平 2 时达到最高, 为 1.19%, 施肥量与薯蓣皂苷元含量表现为显著负相关($r = -0.929$, $P < 0.01$)。随施肥量的增加, 盾叶薯蓣根茎产量也表现为先上升后下降变化趋势, 与对照相比达到极显著水平($P < 0.01$), 在施肥水平 2 时其根茎产量也达到最高, 为 19 800 kg·Ha⁻¹, 施肥量与根茎产量也为负相关($r = -0.553$, $P < 0.05$)。在实验施肥量下, 薯蓣皂苷元含量与根茎产量表现为正相关($r = 0.483$), 综合考虑, 可以选择水平 2 为最佳条件。见表 1, 2。

3.3 多效唑对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

喷施多效唑后, 随施肥量的增加, 盾叶薯蓣根茎产量呈现一直上升趋势。与对照组相比, 各水平均达到极显著水平($P < 0.01$), 施肥水平与根茎产量表

现为极显著正相关($r = 0.955$, $P < 0.01$)。薯蓣皂苷元含量随施肥量的增加表现为先下降后上升而后又下降的变化趋势, 在水平 3 时含量达到最高, 为 1.17%, 但施肥水平 4、5 的薯蓣皂苷元含量均较对照含量低, 施肥量与薯蓣皂苷元含量表现为负相关($r = -0.606$, $P < 0.05$)。在实验施肥量下, 薯蓣皂苷元含量与根茎产量表现为负相关($r = -0.733$, $P < 0.01$)。见表 1, 2。

3.4 萘乙酸对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

喷施萘乙酸后, 薯蓣皂苷元含量表现为先上升后下降的趋势。与对照相比, 各水平均达到极显著差异水平($P < 0.01$), 以水平 2 的含量为最高, 但在水平 4、5 却较对照低, 施肥水平与薯蓣皂苷元含量呈负相关($r = -0.911$, $P < 0.01$)。喷施 NAA 后, 盾叶薯蓣根茎产量均有显著提高, 与对照相比均达到极显著差异水平($P < 0.01$), 以水平 1 为最高, 达到 25 050 kg·Ha⁻¹, 但随施肥量的不断增加, 其产量却又表现为下降趋势, 施肥水平与根茎产量表现为负相关($r = -0.053$)。在该实验条件下, 薯蓣皂苷元含量与盾叶薯蓣根茎产量呈现负相关($r = -0.208$)。见表 1, 2。

3.5 2, 4-D 对盾叶薯蓣产量及薯蓣皂苷元含量的影响

喷施 2, 4-D 后, 薯蓣皂苷元含量表现为先上升后下降而后又上升的趋势。与对照组(1.04%)相比, 均达到极显著差异($P < 0.01$), 但在水平 4 时其含量反而较对照低, 其原因有待于进一步研究和试验, 施肥量与薯蓣皂苷元含量之间表现为正相关($r = 0.208$)。在对根茎产量的影响上, 各施肥水平均较对照高, 且表现为极显著性差异($P < 0.01$), 在本实验条件下, 施肥量与根茎产量之间也表现为正相关($r = 0.746$, $P < 0.01$)。在施肥水平 5 时, 薯蓣皂苷元含量与盾叶薯蓣根茎产量均达到最高, 最佳施肥量未能通过实验找出, 有待于进一步试验探索。在本实验中, 根茎产量与薯蓣皂苷元含量之间均表现为正相关($r = 0.697$, $P < 0.01$)。见表 1, 2。

4 讨论

植物生长调节剂系人工合成的具有生理活性、类似植物激素的化合物^[8], 少量施加即可有效地控制植物的生长发育, 增加农作物产量, 目前在农业和园艺上已经得到广泛应用。在药用植物栽培中, 适当运用一些植物生长调节剂, 也可以不同程度地

增加产量^[9]。尤其对于以根或根茎入药的药材来说,抑制地上部分生长,促进有机物向根或根茎运输,是提高产量的有效途径。大量实验表明,施用该类肥料可以促进根茎类药材的产量^[10-11]。

植物生长调节剂可以在不同程度上提高药用植物产量,主要是由于它们能促进细胞分裂,从而使植物根部等延长所致^[9]。多效唑与稀效唑是一种高效低毒的植物生长延缓剂和广谱杀菌剂,具有使叶片叶绿素含量高、增加光合强度、改善植物体营养条件、使光合产物合理分配等多种生物效应。多效唑能延缓植物生长,促进分枝、生根、增厚叶片,使叶色浓绿,增加叶片叶绿素、蛋白质和核酸的含量,提高光合速率,增强抗旱性和抗寒性,延缓植物衰老等。有报道发现它在延缓地上部生长的同时,降低了地黄叶片生长速度和叶面积系数,对出叶速度无影响,但提高了根茎折干率,促进地下部的生长^[12-13],这可能是其阻断了赤霉素生物合成途径,从而加速了异戊二烯途径中某些次生代谢物的合成^[14-15]。2, 4-D与萘乙酸为人工合成的类似生长素、赤霉素、细胞分裂素类物质,能促进细胞分裂和伸长,促进新器官的分化和形成。植物生长调节剂可以促进次生代谢物含量,可能是通过控制这些代谢产物的酶进行的。Gomez等^[16]研究发现乙烯利可以调控IPP异构酶的代谢,从而促进薯蓣皂苷元含量。

本试验在前期工作的基础上,利用植物生长调节剂来提高盾叶薯蓣的产量和皂素含量,发现喷施后对于盾叶薯蓣产量与皂素含量均有不同程度的作用。对于根茎产量均表现为促进作用,但其所含的薯蓣皂苷元含量却随施肥量的增加表现为先升后降的趋势,且有的施肥浓度下,其含量较对照低,表现为一定的抑制作用,可能是由于初生代谢加快,从而影响其次生代谢物的产生。

5 结论

5种植物生长调节剂对薯蓣皂苷元含量的影响,经Duncan检验,2, 4-D>膨大素>NAA>稀效唑>多效唑;在对盾叶薯蓣根茎产量的影响方面则是2, 4-D>NAA>多效唑>稀效唑>膨大素。综上所述,在今后的盾叶薯蓣栽培过程中,配合常规肥料的施

用,选择合适浓度2,4-D进行根外施肥,可以进一步增加盾叶薯蓣根茎产量与其中薯蓣皂苷元含量。

REFERENCES

- [1] ZHOU R H. Science of Chinese Medicinal Material Resources (中药资源学) [M]. Beijing: China Medical Science and Technology Press, 1993: 430.
- [2] DING Z Z, TANG S R, QIN H Z, et al. Resource Plants of Steroid Hormones (甾体激素药源植物) [M]. Beijing: Publishing House of Science, 1983: 95.
- [3] WANG J A, XU Z L, WU G R, et al. Effect of N, P, K on rhizome yield and diosgenin content of *Dioscorea zingiberensis* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2004, 27(12): 891-893.
- [4] XIAO J Y, SHEN M L, YANG CH Q, et al. Effect of fertilization on output of *Dioscorea zingiberensis* [J]. Res Pract Chin Med (现代中药研究与实践), 2007, 21(4): 12-17.
- [5] MIRJALILI N, LINDEN J C. Methyl jasmonate induced production of taxol in suspension cultures of *Taxus cuspidata*: ethylene interaction and induction models [J]. Biotechnol Prog, 1996, 12(1): 108-110.
- [6] EL-KELTAWI N E, CROTEAU R. Influence of ethephon and daminozide on growth and essential oil content of peppermint and sage [J]. Phytochemistry, 1986, 25(6): 1285-1288.
- [7] WANG T J, LIU Z B, WEN Q J, et al. Determination of contents of dioscin in *Dioscorea nipponica* Makino and *Dioscorea panthaica* by RP-HPLC [J]. J Chin Med Mater (中药材), 2005, 28(12): 1074-1075.
- [8] CHEN Y L, SHANG Z L, BAI X R. Effects of growth retardants [J]. Biol Bull (生物学通报), 1999, 34(1): 8-9.
- [9] ZHOU G L, TIAN C E. Preliminary study on the application of PP-(333) in the production of dangshen(*Codonopsis pilosula*) [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1998, 29(2): 121-123.
- [10] ZHOU C M, LI P M, H Z P. Effects of paclobutrazol and gibberellin on the *Rehmannia glutinosa* Growth II (effects on some physiological) [J]. J Chin Med Mater (中药材), 1989, 12(8): 3-4.
- [11] ZHOU E H. A study on inhibitory effect of plant growth retardants on earlier bolting of Chinese angelica [J]. Chin J Chin Mater Med (中国中药杂志), 1999, 24(1): 18-20.
- [12] ZHOU C M, LI P M, H Z P. Effects of paclobutrazol and gibberellin on the leaf and stem growth of *Rehmannia glutinosa* [J]. J Chin Med Mater (中药材), 1989, 12(4): 3-5.
- [13] RAJALA A, PELTONEN-SAINIIO P, ONNELA M, et al. Effects of applying stem-shortening plant growth regulators to leaves on root elongation by seedlings of wheat, oat and barley: mediation by ethylene [J]. Plant Growth Regul, 2002, 38(1): 51-59.
- [14] BEROVA M, ZLATEV Z. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) [J]. Plant Growth Regul, 2000, 30(2): 117-123.
- [15] MATSUDA K, KIKUTA Y, HABA A, et al. Biosynthesis of pyrethrin I in seedlings of *Chrysanthemum cinerariaefolium* [J]. Phytochemistry, 2005, 66(13): 1529-1535.
- [16] GOMEZ P, ORTUNO A, DEL RIO J A. Ultrastructural changes and diosgenin content in cell suspensions of *Trigonella foenum-graecum* by ethylene treatment [J]. Plant Growth Regul, 2004, 44(2): 93-99.

收稿日期: 2009-05-22