

土壤处理对白术连作障碍的调控效应研究

石雷磊^{1,2}, 徐建中^{3*} (1.浙江中医药大学, 杭州 310053; 2.新昌县人民医院, 浙江 绍兴 312500; 3.浙江省中药研究所, 杭州 310023)

摘要: 目的 研究土壤处理措施对白术连作障碍的调控效应。方法 以石灰氮、石灰、商品生物菌肥、蚕沙发酵肥等处理连作土壤, 以存苗率、株高、蓬径和产量等指标考察不同处理措施的效果, 并用 HPLC 分析处理后白术药材中白术内酯 I 和 III 的含量。结果 施用石灰氮、蚕沙发酵肥和生物菌肥等措施, 能不同程度增加连作白术的存苗率, 增加幅度为 106.98%~219.49%; 也能不同程度增加白术的株高, 增加幅度为 33.48%~52.01%, 且施石灰氮处理后的株高表现均优于未施石灰氮处理; 蓬径表现与株高类似; 上述措施均能增加白术药材鲜产量, 增产幅度为 180.70%~429.82%, 且不施用石灰氮处理的产量均优于施用石灰氮处理, 可能原因是施用石灰氮后土壤含氮量过高, 引起植株地上部分旺长。白术内酯 I 和 III 的总含量以“石灰 0.20 kg·m⁻²+蚕沙发酵肥+生物菌肥 1.50 kg”处理最高。结论 连作种植前, 用熟石灰中和土壤酸性, 结合施用蚕沙发酵有机肥或商品生物菌肥, 能有效提高白术存苗率, 降低发病率, 提高药材产量和质量, 一定程度上缓解了白术连作障碍。

关键词: 白术; 连作障碍; 调控; 白术内酯 I; 白术内酯 III

中图分类号: R282.2 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2018)05-0693-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.05.016

引用本文: 石雷磊, 徐建中. 土壤处理对白术连作障碍的调控效应研究[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(5): 693-697.

Effects of Soil Treatment on Continuous Cropping Obstacles in *Atractylodes Macrocephala*

SHI Leilei^{1,2}, XU Jianzhong^{3*} (1.Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China; 2.Xinchang People's Hospital, Shaoxing 310053, China; 3.Zhejiang Research Institute of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310023, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the regulation effects of soil treatments on continuous cropping obstacle in *Atractylodes macrocephala*. **METHODS** The effects of soil treatment were studied with calcium cyanamide, lime, biofertilizer and silkworm fermentation, by investigating the seedling survival rate, plant height, crown width and output, and determining the content of atractylenolide I and III by HPLC. **RESULTS** Lime nitrogen, Silkworm excrement ferment fertilizer and biological fertilizer could improve the survival rate of continuous cropping of *Atractylodes macrocephala* by 106.98% to 219.49% in varying degrees, also could enhance the plant height of *Atractylodes macrocephala* with different degree by 33.48%~52.01%. And the plant height in lime nitrogen group were always higher than that in no-lime-nitrogen group. The crown width was similar to plant height. The yield of *Atractylodes macrocephala* was increased by 180.70%~429.82%, and the yield was higher than that of lime nitrogen without application of lime nitrogen. The possible reason was that the nitrogen content in the soil was too high after the application of calcium cyanamide, resulting the plant height vigorous growth. **CONCLUSION** Before continuous cropping, using slaked lime to neutralizing soil acidity, then fertilizing silkworm fermentation or biofertilizer can increase seedling survival rate, reduce the incidence rate and improve the medicinal material yield and quality effectively, so as to alleviate the continuous cropping obstacle of *Atractylodes macrocephala* to a certain extent.

KEY WORDS: *Atractylodes macrocephala*; continuous cropping obstacle; regulation; atractylenolide I; atractylenolide III

白术^[1](*Atractylodes macrocephala* Koidz.), 别名于术, 为菊科多年生草本植物, 以根茎入药, 性温, 味苦、甘, 具有补气健脾、燥湿利水、止汗安胎等作用, 是历代医家用作补气健脾的要药。在白术种植过程中, 存在着严重的连作障碍现象, 即连作后根腐病、白绢病等病害发病率极高, 严重时甚至颗粒无收。连作障碍在中药材的栽培中

尤其是根茎类入药的药材中普遍存在, 如人参、西洋参、地黄、黄连、苍术、当归、玄参和白术等药材均存在着严重的连作障碍现象。近年来, 有关地黄^[2]、三七^[3]、西洋参^[4]、牡丹^[5]连作障碍的研究报道多从机制方面进行揭示, 并采取综合措施克服连作障碍。本研究主要探讨连作土壤调控方法, 研究不同处理措施对连作白术植株生长、

作者简介: 石雷磊, 男, 主管中药师 Tel: (0575)86380912
工程师 Tel: 13867450239 E-mail: 332113059@qq.com

E-mail: stone19820918@163.com *通信作者: 徐建中, 男, 硕士, 高级

药材产量和有效成分含量的影响。

1 田间试验方案

1.1 试验材料

生物菌肥(“百施百富”牌,浙江龙游顺农化肥有限公司,每克含有益菌群 2~10 亿个);石灰氮(CaCN_2 ,宁夏大荣实业集团有限公司);干蚕沙为磐安当地农户自产。

1.2 试验处理

试验地为连续 2 年种植过白术的土壤。在种植前按 $60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 施入石灰氮后搅拌,并盖薄膜 20 d 后揭去薄膜透气 15 d。将市场购得的干蚕沙与同等质量的过磷酸钙混合后加入人粪尿拌匀,并盖薄膜发酵 30 d,作为蚕沙发酵有机肥使用,施用量以折合后的干蚕沙量计算为 $0.15 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$,生物菌肥施用量以每小区(4.5 m^2)施用数量表示,生物菌肥和蚕沙发酵有机肥均在种植前施用,生物菌肥实行穴施,蚕沙发酵有机肥实行撒施,并与土壤混合。设以下 7 个处理,即处理 1:石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.15 kg ;处理 2:石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.70 kg ;处理 3:石灰氮+有机肥+生物菌肥 2.30 kg ;处理 4:石灰氮+有机肥,不施生物菌肥;处理 5:不用石灰氮,有机肥+石灰 $0.20 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$;处理 6:不用石灰氮,石灰 $0.20 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ +有机肥+生物菌肥 1.50 kg ;处理 7:连作对照(不用石灰氮,有机肥和生物菌肥,仅常规施用化肥)。种植前术栽用咪鲜胺 800 倍浸种,每个小区面积均为 4.5 m^2 ,3 次重复。在白术出苗时用 800 倍咪鲜胺浇灌根部一次,5 月用退菌特 800 倍喷雾 1 次,以防止根腐病等病害,6 月底、7 月和 8 月分别用 1 000 倍乙蒜素喷雾 1 次,以防治根腐病和白绢病。其他田间管理等措施参照常规处理。

1.3 测定方法及标准

10 月 26 日采收时统计存苗率、植株高度、蓬径和小区鲜药材产量。存苗率计算方法为采收前每个小区的白术存株数除以原种植的苗株数;株高和蓬径采用卷尺测量;鲜药材产量为采收后抖落根部泥土,于清水中洗净、沥干水份后的鲜药材重量。

样品前处理:鲜白术先在 $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘 2 h,后在 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘约 3~4 h 至白术须根干燥为止,最后在 $50 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘 36~48 h 至白术全部烘干为止。

1.4 统计分析

利用 DPS 软件对存苗率、株高、蓬径、产量等数据分别进行单因素统计分析,各组数据分别与连作对照组比较, $P<0.01$ 或 $P<0.05$ 分别表示差异有极显著或显著性统计学意义。

2 HPLC 分析测定白术内酯 I 和 III 含量

2.1 材料与仪器

Agilent 1100 高效液相色谱仪(美国安捷伦公司);AB204-S 型电子天平(Mettler);KQ-2200DV 超声波清洗仪(昆山舒美超声仪器有限公司);白术内酯 I、白术内酯 III 对照品(含量 $\geq 98\%$,批号:10120701、11040201,成都曼斯特生物科技有限公司);甲醇为色谱纯,水为去离子水,其他试剂均为分析纯。

2.2 色谱条件

迪马公司 Diamonsil C_{18} 分析柱($4.6 \text{ mm}\times 250 \text{ mm}\times 5 \mu\text{m}$);流动相:甲醇-水(62:48);流速: $1.0 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$;检测波长: 220 nm ;柱温: $25 \text{ }^\circ\text{C}$;进样量: $10 \mu\text{L}$ 。理论板数按白术内酯 I 和白术内酯 III 峰计算应 $\geq 3 000$ 。色谱图见图 1。

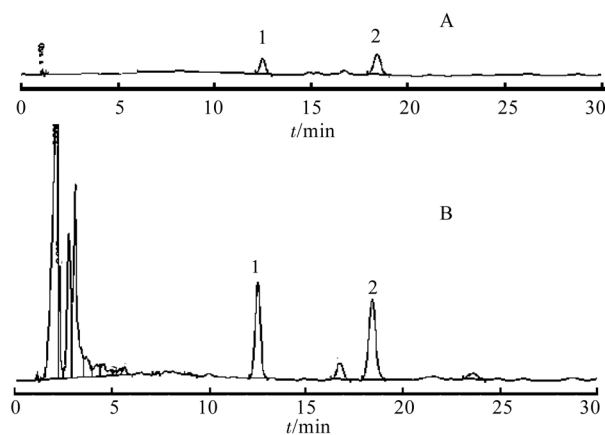


图 1 对照品和样品的色谱图

A-对照品溶液; B-白术样品溶液; 1-白术内酯 III; 2-白术内酯 I。

Fig. 1 The chromatograms of reference and sample substance A-reference solution; B-samples solution; 1-Atractylenolide III; 2-Atractylenolide I.

2.3 供试品溶液的制备

取本品粉末(过三号筛)约 1.0 g ,精密称定,置 100 mL 量瓶中,精密加入甲醇溶液 40 mL ,冷浸 1 h 后超声提取 1 h,再称定重量,用甲醇溶液补足减失的重量,摇匀,滤过。取续滤液,即得。

2.4 对照品溶液的制备

精密称取白术内酯 I 对照品 3.0 mg 和白术内酯 III 对照品 4.9 mg, 分别置于 10 mL 量瓶中, 加甲醇溶解并稀释至刻度, 分别配制成白术内酯 I $0.30 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 和白术内酯 III $0.49 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的单一对照品储备溶液。分别用移液管吸取 1 mL, 置于 10 mL 量瓶中, 用甲醇稀释定容, 配制成白术内酯 I、白术内酯 III 分别为 30.0, 49.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的混合对照品溶液。

2.5 线性关系考察

精密吸取白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品溶液 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 μL , 按“2.2”项下色谱条件测定峰面积, 以峰面积为纵坐标, 对照品进样量为横坐标绘制标准曲线, 得到白术内酯 I 和白术内酯 III 回归方程分别为 $Y=27.479X+109.59$ ($r=0.9993$)、 $Y=11.222X+26.457$ ($r=0.9995$)。结果表明两者对照品进样量分别在 0.15~0.9 μg , 0.25~1.47 μg 内呈良好线性关系。

2.6 精密度试验

精密吸取白术内酯 I 和白术内酯 III 混合对照品溶液 10 μL , 按“2.2”项下色谱条件连续进样 5 次, 白术内酯 I 和 III 峰面积积分平均值分别为 630.37, 229.75, RSD 分别为 0.55%, 0.43%, 说明该仪器精密度良好。

2.7 稳定性试验

精密吸取同一对照品溶液, 室温下放置, 按“2.2”项下色谱条件, 分别在 2, 4, 8, 12 24 h 进样 10 μL , 测定峰面积, 白术内酯 I 和 III 面积积分平均值分别为 652.4, 243.6, RSD 分别为 1.97%, 2.8%, 说明对照品溶液在 24 h 内稳定。

2.8 重复性试验

取同一批号的白术 6 份, 各 1.0 g, 按“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件测定白术内酯 I 和白术内酯 III 含量, 结果白术内酯 I 和 III 平均含量分别为 0.0367, 0.1657 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, RSD 分别为 1.37%, 1.69%, 说明本方法重复性良好。

2.9 加样回收率试验

取“2.8”项下已测含量的白术样品 1.0 g, 共 6 份, 精密称定, 分别置 100 mL 量瓶中, 分别精密加入白术内酯 I 和白术内酯 III 对照品适量, 按

“2.3”项下方法制备供试品溶液, 按“2.2”项下色谱条件, 分别测定白术内酯 I 和白术内酯 III 的含量, 计算回收率, 分别见表 1、表 2。白术内酯 I 和白术内酯 III 的平均回收率分别为 100.28%, 99.46%, RSD 分别为 2.11%, 2.49%, 说明回收率较好。

表 1 白术内酯 I 加样回收率试验

原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.024 1	0.018	0.042 0	99.44	100.28	2.11
0.023 8	0.018	0.042 4	103.33		
0.023 7	0.018	0.041 7	100.00		
0.023 7	0.018	0.041 1	96.67		
0.024 1	0.018	0.042 1	100.00		
0.023 8	0.018	0.042 2	102.22		

表 2 白术内酯 III 加样回收率试验

原有量/ mg	加入量/ mg	测得量/ mg	回收率/ %	平均回 收率/%	RSD/ %
0.073 7	0.073 5	0.144 4	96.19	99.46	2.49
0.072 8	0.073 5	0.148 1	102.45		
0.072 5	0.073 5	0.147 5	102.04		
0.072 6	0.073 5	0.146 9	101.09		
0.073 8	0.073 5	0.145 3	97.28		
0.073 0	0.073 5	0.144 8	97.69		

2.10 定量限和检测限

取对照品溶液用甲醇逐步稀释、进样。当信噪比为 10 时, 白术内酯 I 和白术内酯 III 的定量限分别为 2.37 和 2.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

取定量限浓度的对照品溶液再用甲醇逐步稀释、进样。当信噪比为 3 时, 白术内酯 I 和白术内酯 III 的检测限分别为 0.86 和 0.91 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

3 结果与分析

3.1 不同处理措施对白术存苗率的影响

施用石灰氮、有机肥及生物菌肥等措施均能不同程度提高连作白术的存苗率, 与连作对照相比, 提高幅度为 106.98%~219.49%。方差分析结果表明, 各处理措施的存苗率与连作对照的差异均达显著或极显著水平, 而施用石灰氮的各处理措施之间的存苗率差异性均不显著。结果见表 3。

3.2 不同处理措施对白术株高与蓬径的影响

由表 3 可知, 种植前施用石灰氮、有机肥及

生物菌肥等措施，均能不同程度提高连作白术的株高，与连作对照相比，增加幅度为 33.48%~52.01%；同时也发现，施用石灰氮的各个措施处理后的株高均较未施石灰氮的高，说明施用石灰氮较其他措施能明显促进株高的生长。方差分析结果表明，与连作对照相比，各措施处理后的株高差异均达极显著性水平，而施用石灰氮的各个处理措施之间株高差异性均不显著。

蓬径表现与株高类似，与连作对照相比，不同措施处理后增加的幅度为 14.96%~41.88%。方差分析结果表明，除“石灰氮+有机肥，不施生物菌肥”处理与连作对照差异不显著外，其他措施处理后的蓬径差异性均达极显著水平。

3.3 不同处理措施对白术鲜产量的影响

与连作对照相比，各处理措施均能不同程度增加白术药材鲜产量，增产幅度为 180.70%~429.82%，其中以“不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg+生物菌肥 1.50 kg”处理最高，为 3.0 kg。除连作对照外，不施石灰氮的药材产量均较施用的高。方差分析结果表明，与连作对照相比，各措施处理后产量差异性均达极显著水平。结果见表 3。

表 3 不同措施处理后白术的存苗率、株高、蓬径和鲜产量(n=3)

Tab. 3 The survival rates, heights, crown width and yields of *A. macrocephala* in different treatments(n=3)

处 理	存苗率/%	均株高/cm	蓬径/cm	小区产量/kg
石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.15 kg	51.8±9.6 ¹⁾	53.0±7.4 ²⁾	32.5±5.9 ²⁾	1.6±0.2 ²⁾
石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.70 kg	68.3±8.5 ²⁾	54.7±8.1 ²⁾	36.4±6.7 ²⁾	2.7±0.3 ²⁾
石灰氮+有机肥+生物菌肥 2.30 kg	60.8±9.2 ²⁾	54.8±6.7 ²⁾	34.3±5.4 ²⁾	2.1±0.4 ²⁾
石灰氮+有机肥，不施生物菌肥	70.1±10.4 ²⁾	51.1±9.5 ²⁾	29.5±5.0	2.6±0.4 ²⁾
不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg	67.5±7.8 ²⁾	48.1±7.6 ²⁾	34.5±4.2 ²⁾	2.9±0.5 ²⁾
不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg +生物菌肥 1.50 kg	80.0±11.4 ²⁾	50.0±7.0 ²⁾	34.0±6.7 ²⁾	3.0±0.5 ²⁾
连作对照	25.0±4.2	36.1±5.8	25.7±4.6	0.6±0.8

注：与连作对照组比较，¹⁾P<0.05，²⁾P<0.01。

Note: Compared with continuous cropping group, ¹⁾P<0.05, ²⁾P<0.01.

表 4 不同措施处理后白术中内酯 I 和 III 的含量

Tab. 4 Contents of atractylenolide I and atractylenolide III in different treatments

处 理	白术内酯 I	白术内酯 III	内酯 I 和内酯 III 总量
石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.15 kg	0.401 9±0.064 1	0.085 0±0.013 6	0.486 9
石灰氮+有机肥+生物菌肥 1.70 kg	0.379 1±0.039 8	0.072 4±0.008 7	0.451 5
石灰氮+有机肥+生物菌肥 2.30 kg	0.372 6±0.063 3	0.057 3±0.009 2	0.429 9
石灰氮+有机肥，不施生物菌肥	0.375 4±0.042 6	0.074 4±0.007 8	0.449 8
不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg	0.412 8±0.078 4	0.062 0±0.011 8	0.474 8
不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg +生物菌肥 1.50 kg	0.458 7±0.044 9	0.086 7±0.010 7	0.545 4
连作对照	0.402 5±0.060 4	0.072 8±0.011 0	0.475 3

3.4 不同处理措施对白术药材中白术内酯 I 和 III 含量的影响

从表 4 可以看出，不同措施处理后白术药材中白术内酯 I 和内酯 III 含量均以“不用石灰氮，有机肥+石灰 0.20 kg+生物菌肥 1.50 kg”处理后的最高，而施用石灰氮各处理措施的白术内酯 I 和内酯 III 含量普遍低于不用石灰氮，个别处理措施的含量甚至低于连作对照。由此可见，在白术连作土壤中通过施用石灰中和土壤酸性，同时添加适量的蚕沙发酵有机肥和商品生物菌肥，能够有效提高连作白术药材中白术内酯 I 和内酯 III 含量及其总量水平，从而提高了药材质量。

4 讨论

连作白术施用石灰氮后，能明显提高白术的存苗率、促进植株生长，这可能与石灰氮本身含氮量高(20%左右)及对土壤的消毒作用有关。石灰氮遇水产生氰氨、双氰氨，能杀灭有害病原菌及线虫等有害生物。在农业生产中石灰氮常应用于连作作物，不仅作为土壤消毒剂使用，同时也作为氮肥使用，具有一定的缓解连作障碍作用。如连作花生应用石灰氮后能促进主茎和侧枝的生长，

提高花生荚果产量^[6]。在本试验中,由于在施用石灰氮后又配合施用蚕沙发酵有机肥和生物菌肥,可能使土壤含氮量过高,从而引起地上部植株旺长、过多的氮肥还会抑制根系对钾元素等的吸收,不利于植株抗病力的提高,因此可以解释在本试验中,除连作对照外,虽然施用石灰氮的白术植株较高,但由于植株存苗率整体较低,致使药材产量受到较大影响,而不施石灰氮的连作白术药材产量反而有所增加。

在不施石灰氮处理中,先用熟石灰中和土壤酸性,在此基础上配合施用自制蚕沙发酵有机肥或加施生物菌肥均能提高连作白术存苗率、株高、药材产量等,其整体效果优于石灰氮处理。而同期调查的轮作白术亩干产药材产量约150~180 kg,说明上述综合措施能在一定程度上缓解白术的连作障碍。石灰主要成分为氢氧化钙,不仅可以供给作物矿质元素钙,有利于土壤团粒的形成,提高保水保肥能力;还能中和土壤酸性和潜在酸度,消除毒害、能直接杀死土壤中的病菌。郑世燕等^[7]用生石灰水灌烟草根,有效控制了连作烟田的青枯病。蚕沙是一种含有多种营养元素的农家肥,同时,蚕沙经发酵处理后,全量氮、磷、钾含量都提高,浓缩了堆肥中的无机营养成分,而且由于水分降低,使养分含量相对增加,从而提高蚕沙有机肥的质量^[8]。也有研究表明,蚕沙发酵有机肥能显著提高植物的抗病性、维持土壤较好的微生态结构,提高植物的产量^[9]。笔者也将该蚕沙发酵肥应用于连作杭白菊,也能缓解杭白菊的连作障碍^[10]。

通过以上试验表明,在连作白术种植过程中,先用熟石灰 $0.20\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ 中和土壤酸性,结合施用

蚕沙发酵有机肥(折合干蚕沙为 $0.15\text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$),能基本缓解白术连作障碍,提高了连作药材产量和质量水平。

REFERENCES

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2015: 103.
- [2] LIU H Y, WANG F, WANG Y P, et al. The causes and control of continuous cropping barrier in Dihuang *Rehmannia glutinosa* Li bosch [J]. *Acta Agricult Boreali-Sin*(华北农学报), 2006, 21(4): 131-132.
- [3] MA C Z, LI S D, GUO Z R, et al. Measures of integrated control of root rot complex of continuous cropping *Panax notoginseng* and their control efficacy [J]. *Acta Agriculturae Shanghai*(上海农业学报), 2006, 22(4): 63-68.
- [4] ZHAO Y J, WANG Y P, YANG J S, et al. Study on the rotation of crops among *Panax quinquefolium*, *Perilla frutescens* and *Coix lacryma-jobi* [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2005, 30(1): 26-30.
- [5] TANG Y M, NIE L W. Autotoxicity of medical peony and their control measures [J]. *J Biol* (生物学杂志), 2009, 26(6): 76-78.
- [6] LIU C, SUN Q Z, GAO B, et al. Effects of applying lime nitrogen on physiological characteristics and yield of continuous cropping peanut [J]. *J Peanut Sci*(花生学报), 2015, 44(2): 24-29.
- [7] ZHENG S Y, DING W, CHEN D J, et al. Bacterial wilt control in continuously cropped tobacco field by manipulation of rhizosphere soil [J]. *Acta Tabacaria Sin*(中国烟草学报), 2013, 19(1): 47-52.
- [8] CHEN X P, XIE Y J, LUO G E, et al. Silkworm excrement organic fertilizer: Its nutrient properties and application effect [J]. *Chin J Appl Ecol*(应用生态学报), 2011, 22(7): 1803-1809.
- [9] ZHAO L, OUYANG L M, LU X C, et al. Effects of different organic fertilizers on rhizospheric microbial diversity and growth of peppers in continuous cropping soil [J]. *J Huazhong Agricult Univ*(华中农业大学学报), 2013, 32(2): 72-77.
- [10] PENG S M, WANG B L, et al. Effect of different treatment on endophytic bacterial communities in continuous cropping of *Chrysanthemum morifolium* [J]. *China J Chin Mater Med*(中国中药杂志), 2014, 39(24): 4763-4768.

收稿日期: 2017-09-20

(本文责编: 蔡珊珊)