

连作对丹参产量和质量的影响及施肥的作用

李先恩 张晓阳

(中国医学科学院/北京协和医学院/药用植物研究所, 北京, 100193)

摘要 为了明确连作对丹参药材产量及品质的影响及施肥对连作障碍修复作用。文章采用田间试验的方式,以连作一年的土壤为试验土壤,将不同种类肥料在整地时施入连作土壤。研究连作及施肥后的丹参产量、有效成分含量及抗氧化活性。结果表明连作使丹参的产量下降了 21.78%,抗氧化活性也显著降低,但对有效成分含量影响不明显;施用微生物肥使连作丹参的产量提高 21.67%,使连作丹参的抗氧化活性得到了显著提高,但施肥处理对有效成分含量影响不大。连作使丹参药材产量和抗氧化活性降低,但不影响有效成分含量,施肥对连作障碍有一定的修复作用。

关键词 丹参;连作;施肥;有效成分含量;抗氧化活性

The Influence of Sequential Cropping on Yield and Quality of *Salvia Miltiorrhiza* and the Effect of Fertilizer

Li Xian-en, Zhang Xiaoyang

(Chinese Academy of Medical Sciences; Institute of Medical Plants/Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

Abstract To investigate the influence of continuous cropping on the yield and quality of *Salvia miltiorrhiza* and the action of fertilization. In this paper, different kinds of fertilizers were applied to sequential cropping land and the contents of active ingredients, yield of *Salvia*, and antioxidant activity were investigated. The results showed that continuous cropping reduced *Salvia* yield by 21.78% and decreased antioxidant activity significantly, but have little effect on contents of active ingredients. Using microbial fertilizer increased yield by 21.67% and improved antioxidant activity significantly, while has no impact on contents of active ingredient. Continuous cropping reduce production and antioxidant activity, but have no effect on contents of active ingredients. Fertilization has a certain effect on reducing continuous cropping obstacle to some extend.

Key Words *Salvia miltiorrhiza*, Sequential cropping, Fertilize, Active ingredient contents, Antioxidant activity

中图分类号:R93 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.08.005

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bunge.)为唇形科多年生草本植物,以干燥根和根茎入药,具有活血化瘀、调经止痛功能,清心除烦等功效。丹参的有效成分为脂溶性成分和水溶性成分。丹参的许多药理活性与其抗氧化作用密切相关^[1-2],水溶性酚酸类和脂溶性丹参酮类都具有抗氧化作用^[3]。

连作障碍是作物栽培中经常遇到的问题。连作会对中药材生长发育、病虫害的发生及产量、品质产生严重影响。丹参生产上存在连作障碍。张辰露等^[4]研究表明随着连作年限的延长丹参枯苗率大幅度上升,地上部分生物量下降,根系数量、根直径和长度减小,产量降低,有效成分含量降低。随着丹参需求量增加,种植面积不断扩大,因此,研究连作对丹参产量、有效成分含量及药理活性的影响,同时寻找修复连作土壤的技术措施,是丹参生产上迫切需要解决的问题。我们对连作对丹参产量及质量的影响及施肥作用进行了研究,旨在为生产上应用提供理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 为选育的丹参新品种“北丹一号”(2009年通过北京种子管理站登记)。

1.2 田间实验设计 试验地点位于北京市海淀区药植所试验地,试验地土壤质地类型为砂壤土,土壤有机质 2.03%,水解氮 92.5 mg/kg,速效磷 45.3 mg/kg,速效钾 88.4 mg/kg。试验小区面积为 27 m² (3 m × 9 m)。连作试验及肥料试验土壤均为连作 1 年的土壤。肥料处理为施用微生物肥、复合肥、微生物肥 + 复合肥 3 个处理,以头茬土壤为对照。在整地之前将肥料撒在土壤表面,然后进行翻地、整地。每处理 3 次重复,具体设计方案见表 1。其中微生物肥是由生物菌种及优质生物质再生资源发酵而成,含有效活菌数 ≥ 5000 万/g、腐植酸 ≥ 10%、有机质 ≥ 35%、N-P₂O₅-K₂O ≥ 6% 等(河北邢台和阳生物工程有效公司生产)。复合肥 N:P:K = 15:15:15。

丹参采用无性繁殖,种植时间为 2012 年 4 月 20 日,种植密度为 40 cm × 20 cm,种植后立即浇水,其

表 1 肥料试验设计方案
Table 1 Experimental design for Fertilizer treatments

处理 Treatment	肥料类型 Fertilizer types	施肥量(公斤/公顷) Fertilizing amonut(kg·hm ⁻¹)	施肥时间 Fertilization date	施肥方法 Method of application
连作组 Sequential cropping	/	0	/	/
头茬组 CK	/	0	/	/
处理 1 Treatment 1	微生物肥 Microbial fertilizer	3000	底肥 base fertilizer	散播 broadcast sowing
处理 2 Treatment 2	复合肥 Compound fertilizer	1500	底肥 base fertilizer	散播 broadcast sowing
处理 3 Treatment 3	复合肥 + 微生物肥 Microbial fertilizer + Compound fertilizer	3000 + 1500	底肥 base fertilizer	散播 broadcast sowing

他按常规管理。

1.3 实验方法 样品采收与处理:于种植当年 10 月底挖取全部根系。测小区产量,每个小区随机选取 15 株,用于含量分析及抗氧化试验。根采收后 60 ℃ 恒温烘干。用倾斜式高速万能粉碎机粉碎,过 40 目筛。

有效成分含量测定:以甲醇为提取液,超声提取 30 min。脂溶性色谱条件为 Venusil ASB-C₁₈ 柱(5 μm,250 mm×4.6 mm),流速:0.8 mL·min⁻¹;柱温箱:30 ℃,检测波长 270 nm,流动相为甲醇:水(80:20)等度洗脱;水溶性色谱条件:VenusilASB-C₁₈ 柱(5 μm,250 mm×4.6 mm),流速:0.8 mL·min⁻¹,柱温箱:30 ℃,检测波长 286 nm,流动相为乙腈:0.01% 磷酸水(25:75)等度洗脱^[5]。

体外抗氧化活性测定:用对 DPPH 自由基的消除作用来评价体外抗养化活性,方法如下:70% 乙醇为溶剂,超声提取 30 min;冷却后再次称定重量,用 70% 乙醇补足失重,过 0.45 μm 滤膜,取滤液 2.5 mL 至 10 mL 容量瓶,用 50% 乙醇稀释至刻度,备用;以 50% 的乙醇为溶剂,配置浓度为 0.25 mmol·L⁻¹ 的 DPPH 溶液。

取 2 mL 0.25 mmol·L⁻¹ 的 DPPH 乙醇溶液和丹参提取物溶液等体积混合,室温避光静置反应 30 min,在 517 nm 处测定吸光度值(A₁),以 50% 乙醇溶液代替提取物,517 nm 处测定吸光度值(A₀),提取物溶液(提取物溶液 2 mL+2 mL 50% 乙醇),在 517 nm 处测定吸光度值(A₂),50% 的乙醇水溶液调零,清除率计算公式为:清除率=[1-(A₁-A₂)/A₀] $\times$ 100%^[6]。

1.4 数据分析方法 采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 数据分析软件,对所得数据进行处理分析。

2 结果与分析

2.1 连作对丹参产量的影响及施肥的作用 连作会造成作物的减产,但不同作物连作后减产的幅度不同,从表 1 中可以看出丹参头茬种植平均单株产量为 88.29 g,亩产量为 429.74 kg,连作种植平均单株产量为 69.06 g,亩产量为 302.23 kg,连作使丹参单株产量减少 21.8%,亩产量减少 29.7%,达极显著差异。使用复合肥、微生物肥及微生物肥+复合肥处理土壤后丹参平均单株产量为 77.98 g、84.02 g、74.25 g,分别比连作土壤增加 12.9%、21.7%、7.5%,但比头茬丹参仍减产 11.7%、4.8% 和 5.9%。平均亩产量为 326.51 kg、366.54 kg 和 343.27 kg,分别比连作土壤增加了 8.0%、21.3% 和 13.6%,但比头茬丹参仍减产 24.0%、14.7% 和 20.1%。可见施肥可以部分改善连作对丹参产量的影响,且带有有效活菌的微生物肥效果最好,但还没有达到完全修复土壤的效果。从上述亩产量数据来看与单株产量相比连作及各施肥处理减产较多,主要原因是在连作土壤上种植丹参,病害发生相对较重,死苗较多。造成小区缺苗较多,产量较低。

2.2 连作对丹参药材有效成分含量的影响及施肥的作用 表 2 中列出了连作及施肥丹参药材中 3 个脂溶性成分及 3 个水溶性成分含量,结果可以看出微生物肥可以显著提高丹参酮 I、隐丹参酮、丹参酮 II A 和迷迭香酸、丹酚酸 B 的含量,而复合肥及复合肥+微生物肥对丹参有效成分含量的影响并不显著。利用中药指纹图谱相似度软件对连作及不同施肥处理丹参有效成分分析表明,连作及施肥与头茬丹参有效成分的指纹图谱的相似度在 0.99 以上,说明连作对丹参有效成分影响不大。

表 2 连作及施肥处理丹参的产量

Table 2 The root yield of Salvia miltiorrhiza after Sequential cropping and fertilizing

	头茬 CK	连作 Sequential cropping	复合肥 Compound fertilizer	微生物肥 Microbial fertilizer	微生物肥 + 复合肥 Microbial fertilizer + Compound fertilizer
单株产量 Yield(g · plant ⁻¹)	88. 29	69. 06	77. 98	84. 02	74. 25
与头茬比 Compared with CK	100%	78. 2%	88. 3%	95. 2%	84. 1%
与连作比 Compared with Sequential cropping	/	100. 0%	112. 9%	121. 7%	107. 5%
产量 yield(kg · hm ²⁻¹)	6446. 1	4533. 45	4897. 65	5498. 1	5149. 05
与头茬比 Compared with CK	100%	70. 3%	76. 0%	85. 3%	79. 9%
与连作比 Compared with Sequential cropping	/	100%	108. 0%	121. 3%	113. 6%

表 3 连作及施肥处理丹参的有效成分含量

Table 3 The active ingredient content of Salvia miltiorrhiza after Sequential cropping and fertilizing

处理	丹参酮 I Tanshinone I	隐丹参酮 Cryptotan-shinone	丹参酮 II A Tanshinone II A	原儿茶醛 Protocate-chualdehyde	迷迭香酸 Rosmarinic acid	丹酚酸 B Salvianolic acid B
头茬 CK	1. 348b	2. 468c	3. 158b	0. 444a	3. 467a	56. 550b
连作 Sequential cropping	1. 389b	2. 537bc	3. 201b	0. 690a	3. 138ab	54. 569b
复合肥 Compound fertilizer	1. 532ab	2. 983bc	3. 721ab	0. 417a	2. 690b	52. 532b
微生物肥 Microbial fertilizer	1. 788a	3. 491a	4. 067a	0. 535a	3. 730a	64. 103a
微生物肥 + 复合肥 Microbial fertilizer + Compound fertilizer	1. 643ab	3. 050ab	3. 623ab	0. 406a	3. 111ab	58. 043b

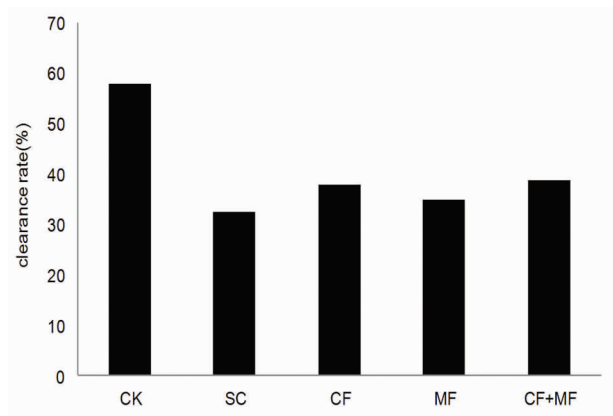


图 1 连作及施肥处理丹参的抗氧化能力

Fig 1 The clearance capacity on DPPH free radical of Salvia miltiorrhiza after Sequential cropping and fertilizing

2. 3 连作对丹参抗氧化活的影响及施肥的作用

连作组(SC)丹参与对照组(CK)丹参的自由基清除率分别为 32. 37% 和 52. 80% ,对照组丹参抗氧化活性比连作组丹参高出 78. 57% ,2 组样品的抗氧化活性存在显著性差异,连作会导致丹参的抗氧化活性

降低。

施肥处理组丹参自由基清除率均显著高于连作组,尤其是使用复合肥(CF)、复合肥与微生物肥(CF + MF)2 组丹参样品对抗氧化活性的改善作用更为明显,在提高抗氧化活性方面复合肥的作用要好于微生物肥(MF)(图 1)。

3 讨论

连作会显著降低丹参的产量和抗氧化活性,可能是由于连作使得土壤理化性质发生变化,一些有益微生物生长受到抑制,一些有害微生物迅速繁殖,土壤的微生物平衡遭到破坏,影响肥料分解过程,而且导致病虫害多发、蔓延快,从而影响了丹参的产量和质量。郑良永认为^[7]连作障碍主要原因有很多,而土壤中的微生物发生变化是主要影响因子;张梦昌等^[7]报道老参地微生物总体数量下降,而且生理类群明显变化,本实验中施用微生物肥明显改善了连作土壤种植丹参的产量和有效成分含量,表明土壤微生物的不平衡确实与丹参连作障碍有一定的关

系。本研究表明施用复合肥能对丹参的连作障碍有一定的修复作用,但效果不如微生物肥明显,可能与微生物肥含多种植物营养成分有关。值得注意的是微生物+复合肥修复效果不如单独施用微生物肥或复合肥,是否与复合肥使用量较大有关系值得进一步探讨(一般复合肥作基肥施用量为 60~75 kg)。

中药作用的特点是多种有效成分综合作用,目前中药质量评价主要以化学方法为主,通过一个或几个成分的含量来评价药材的质量;然而几个有效成分的含量能否全面反应药材的质量仍需进一步研究,因此以简单、可靠的药效指标直接评价药材的质量也是很好的研究方法。1,1-二苯基-2-苦肼基自由基(DPPH)是一种稳定的以氮为中心的自由基,常用于体外评价物质的抗氧化能力。丹参为中药活血化瘀常用药现代药理研究表明其在心血管及抗氧化方面具有活性,因此可以通过测定丹参药材清除 DPPH 自由基的能力从抗氧化的角度来评价丹参药材的质量。本研究表明连作虽然对丹参的有效成分含量的影响不明显,但对丹参的抗氧化活性产生明显影响,这一点值得特别注意。从另外一方面来看,仅以有效成分含量多少来评价药材的质量存在一定

的缺陷。

参考文献

- [1] Wang X B, Morris-Natschke S L, Lee K H. New Developments in the Chemistry and Biology of the Bioactive Constituents of Tanshen[J]. Med. Res. Rev, 2007, 27(1): 133-148.
 - [2] 刘梅, 夏鑫华, 张志敏, 等. 丹参素、原儿茶醛、咖啡酸和丹酚酸 B 体外抗氧化活性比较研究[J]. 中药材, 2009, 32(2): 265-267.
 - [3] Weng X C, Gordon M H. Antioxidant Activity of Quinones Extracted from Tanshen (*Salvia Miltiorrhiza* Bunge) [J]. Journal of Agric. and Food Chem, 1992, 40(8): 1331-1336.
 - [4] 张辰露, 孙群, 叶青. 连作对丹参生长的障碍效应[J]. 西北植物学报, 2005, 25(5): 1029-1034.
 - [5] Liu A H, Lin Y H, Yang M, et al. Development of the fingerprints for the quality of the roots of *Salvia miltiorrhiza* and its related preparations by HPLC-DAD and LC-MS[J]. Journal of Chromatography B, 2007, 846: 32-41.
 - [6] 夏鑫华, 刘梅, 张志敏等. 丹参中水溶性化学成分体外抗氧化活性研究[J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(5): 1085-1086.
 - [7] 郑良永, 胡剑非, 林昌华, 等. 作物连作障碍的产生及防治[J]. 热带农业科学, 2005, 25(2): 58-62.
 - [8] 张梦昌, 金裕姬, 马晶. 老参地改良后微生物生态类群的变化[J]. 吉林农业大学学报, 1990, 12(4): 42-46.
- (2015-06-29 收稿 责任编辑: 洪志强)
-
- (上接第 1147 页)
- [8] Lonardo A, Sookoian S, Chonchol M, et al. Cardiovascular and Systemic Risk in Nonalcoholic Fatty Liver Disease-Atherosclerosis as a Major Player in the Natural Course of NAFLD[J]. Current Pharmaceutical Design, 2013, 19: 5177-5192.
 - [9] Kritas SK, Saggini A, Varvara G, et al. Luteolin inhibits mast cell-mediated allergic inflammation[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2013, 27(4): 955-959.
 - [10] Pandurangan AK, Esa NM. Luteolin, a bioflavonoid inhibits colorectal cancer through modulation of multiple signaling pathways: a review[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(14): 5501-5508.
 - [11] Park SH, Jang JH, Li MH et al. Nrf2-mediated heme oxygenase-1 induction confers adaptive survival response to tetrahydropapaveroline-induced oxidative PC12 cell death. Antioxid [J]. Redox Signal, 2007, 9(12): 2075-2086.
 - [12] Sun GB, Sun X, Wang M, et al. Oxidative stress suppression by luteolin-induced heme oxygenase-1 expression[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2012, 265(2): 229-240.
 - [13] Sun X, Sun GB, Wang M, et al. Protective Effects of Cynaroside A against H₂O₂-Induced Apoptosis in H9c2 Cardiomyoblasts[J]. J Cell Biochem, 2011, 112(8): 2019-2029.
 - [14] Jiang D, Li D, Wu W. Inhibitory effects and mechanisms of luteolin on proliferation and migration of vascular smooth muscle cells[J]. Nutrients, 2013, 5(5): 1648-1659.
 - [15] Marniemi J, Alanen E, Impivaara O, et al. Dietary and serum vitamins and minerals as predictors of myocardial infarction and stroke in elderly subjects[J]. Nutr Metab Cardiovasc, 2005, 15(3): 188-197.
 - [16] Alkhoury N, Carter-Kent C, Feldstein AE. Apoptosis in nonalcoholic fatty liver disease: diagnostic and therapeutic implications[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2011, 5(2): 201-212.
 - [17] Sun GB, Qin M, Ye JX, et al. Inhibitory effects of myricitrin on oxidative stress-induced endothelial damage and early atherosclerosis in ApoE^{-/-} mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2013, 271(1): 114-126.
 - [18] Tous M, Ferré N, Camps J, et al. Feeding apolipoprotein E-knockout mice with cholesterol and fat enriched diets may be a model of non-alcoholic steatohepatitis[J]. Mol Cell Biochem, 2005, 268(1-2): 53-58.
 - [19] 陈洪忠, 李海珍, 任冬梅. 木犀草素对 EA.hy926 细胞 Nrf2 信号通路的激活作用及 H₂O₂ 致氧化损伤的保护作用[J]. 山东大学学报: 医学版, 2014, 52(11): 6-11.
 - [20] 李梦雯, 于东升, 田友清, 等. 木犀草素对心肌细胞物理性及化学性缺氧/复氧损伤的作用[J]. 中国药学杂志, 2013, 48(17): 1257-1261.
 - [21] Nakamura Y, Mizuguchi T, Tanimizu N, et al. Preoperative hepatocyte transplantation improves the survival of rats with nonalcoholic steatohepatitis-related cirrhosis after partial hepatectomy[J]. Cell Transplant, 2014, 23(10): 1243-54.
- (2015-06-29 收稿 责任编辑: 洪志强)