

根际土壤化学性质对防风多糖含量的影响

孙晶波¹, 张秋菊², 张连学³

(1. 北华大学 药学院, 吉林 吉林 132013; 2. 通化师范学院 生命科学学院, 吉林 通化 134002;

3. 吉林农业大学 中药材学院, 吉林 长春 130118)

摘要:以防风为试材, 采用水提醇沉法提取防风多糖, 苯酚—硫酸—紫外分光光度法测定多糖含量; 根据国家标准方法测定防风根际土壤 pH, 速效 N、P、K, 全 N 及有机质的含量, 采用 SPSS 13.0 软件分析不同时间、不同采集地的防风根际土壤化学性质对防风多糖含量的影响。结果表明: 防风多糖含量随采集地及采集时间不同而差异显著。只有 10 月防风多糖含量与其根际土壤速效 K 含量之间呈显著非线性相关 ($P < 0.01$)。土壤 pH、水解 N 与速效 P 之间, 水解 N、速效 P 与速效 K 之间, 水解 N、速效 P 与有机质之间呈极显著相关 ($P < 0.01$); 速效 K 与有机质之间的相关性随时间的变化而变化, 其中 8 月时 $P < 0.01$, 10 月时 $P < 0.05$; 水解 N、有机质与全 N 之间呈显著相关 ($P < 0.05$)。防风多糖含量在不同采收期受其根际土壤的影响不同, 采集于 10 月中旬的防风多糖含量受其根际土壤速效 K 影响显著。土壤中各养分含量适宜且稳定时, 可提高多糖产率。

关键词: 防风; 多糖; 根际土壤; 相关性

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2016)13-0162-04

伞形科植物防风(*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk) 的干燥根为我国药典收录的常用大宗药材—

第一作者简介: 孙晶波(1978-), 女, 博士, 副教授, 研究方向为药用植物药活性成分及质量评价。E-mail: sjb781219@163.com.

基金项目: 国家科技支撑资助项目(2011BAI03B01)。

收稿日期: 2016-02-14

防风, 具有祛风解表、胜湿止痛、止痉等功效, 用于治疗感冒头痛、风湿痹痛、风疹瘙痒、破伤风等^[1]。防风中含多种有效成分, 如色原酮^[2-3]、挥发油^[4-5]、多糖^[6-7]等。植物中各种有效成分的积累均与其生长环境密切相关^[8], 为探讨土壤环境对防风中多糖含量的影响, 该试验对吉林、甘肃、河北等 8 个省 13 个产地的防风及其根

Relations Between Morphology and Saponin Synthesis of Cultivated Ginseng in Different Growth Years

MA Rui, JIN Wenqi, FENG Kai, CHEN Wei, JIANG Rui, SUN Liwei
(Chemical and Biological Engineering College, Beihua University, Jilin, Jilin 132013)

Abstract: Taking cultivated ginsengs in different growth years as experimental materials, of which root biomass and root weight and longer were measured, the change on the grow process at the morphological level was described. Then the content and composition of ginsenosides of cultivated ginsengs in different growth years were tested by ultraviolet spectrophotometry and high performance liquid chromatography and the activities of the key enzymes related to ginsenoside biosynthesis were detected by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA). The results showed that the changes of fibrous root weight and length were the largest with the increase of growth years. There was a positive correlation between the growth years and the content of ginsenosides and between the growth years and the activities of farnesyl diphosphate synthase (FDPS), squalene epoxidase (SE), squalene synthase (SS) and cycloartenol synthase (CAS). This study preliminary found the relationship among the morphological changes, ginsenoside biosynthesis and the growth years of cultivated ginsengs. It provided theoretical foundation for the traditional ginseng quality evaluation in morphology.

Keywords: ginseng; growth period; ginsenoside; morphology

际土壤进行了研究,并分析比较了二者之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

药材样品经吉林农业大学张连学教授鉴定为伞形科植物防风,药材及土壤样品详见表 1。

表 1 防风及土壤样品信息

Table 1 Information of the samples

样品编号	采集地	采集时间	样品编号	采集地	采集时间
1	长春	2010-08	14	长春	2010-10
2	左家	2010-08	15	左家	2010-10
3	亳州	2010-08	16	亳州	2010-10
4	大连	2010-08	17	大连	2010-10
5	安国	2010-08	18	安国	2010-10
6	陇西	2010-08	19	陇西	2010-10
7	四平*	2010-08	20	四平*	2010-10
8	白城*	2010-08	21	白城*	2010-10
9	鞍山*	2010-08	22	鞍山*	2010-10
10	通辽*	2010-08	23	通辽*	2010-10
11	侯马*	2010-08	24	侯马*	2010-10
12	大庆*	2010-08	25	大庆*	2010-10
13	大兴安岭*	2010-08	26	大兴安岭*	2010-10

注: * 为野生防风。

Note: * means wild *S. divaricata*.

UV-2550 紫外可见分光光度计(日本岛津公司),酸度计(江苏江分电分析仪器有限公司),FP640 型火焰光度计(上海欣益仪器仪表有限公司),K9860 全自动凯氏定氮仪(山东海能仪器有限公司)。

苯酚、浓硫酸、浓盐酸、氟化氨、钼酸铵等均为分析纯;硫酸亚铁、锌粉、硫酸钾等均为化学纯,乙醇为色谱纯。上述试剂与试药均购自吉林市欣利实验仪器经销有限公司。

1.2 试验方法

于 2010 年 8 月和 10 月分别采集防风 and 土壤样品。防风根用水洗净,再用去离子水冲洗,风干,粉碎,备用;土壤样品采集后剔除土壤以外的杂质,风干后过筛备用。

1.3 项目测定

1.3.1 多糖提取与含量测定 分别精密称取各防风样品 5.0 g,于圆底烧瓶中,按文献[9]方法,提取,纯化,所得多糖干燥后称质量,然后精密称取多糖样品 20 mg,用超纯水溶解定容至 100 mL,吸取 0.5 mL 于 10 mL 的具塞试管中,加 5% 苯酚水溶液 1.0 mL、浓硫酸 3.5 mL,迅速强烈振荡均匀后于 40 ℃ 水浴上反应 40 min,自然冷却 15 min,于紫外分光光度计测定 490 nm 波长处的吸光度,用标准曲线法求得其多糖含量,进而得出药材中多糖含量。

1.3.2 其它指标测定 1) pH 测定:称取 10.0 g 土样于 50 mL 烧杯中,加 25 mL 不含 CO₂ 的水后剧烈搅拌 2 min,静置 30 min 后用酸度计测定 pH。2) 有机质含量

测定:取 0.150 0 g 土样置硬质大试管底部,加 0.800 0 mol · L⁻¹ 重铬酸钾和浓硫酸各 5 mL,在 170~180 ℃ 油浴中微沸 5 min,取出冷却后加 3 滴邻菲罗啉指示剂,用 0.2 mol · L⁻¹ 硫酸亚铁滴定,计算土壤中有机质含量。3) 速效 N 含量测定:称取 2.00 g 土样均匀铺在扩散皿的外室,加 1 g 锌-硫酸亚铁还原剂于土样上面。内室加 3 mL 20 g · L⁻¹ 硼酸指示剂溶液。快速向外室加 10 mL 1.8 mol · L⁻¹ 氢氧化钠溶液,40 ℃ 保温 24 h。取出后用 0.02 mol · L⁻¹ 盐酸标准溶液进行滴定,以滴定用盐酸的量计算土壤中水解氮含量。4) 速效 P 含量测定:称取 5.00 g 土样于 100 mL 三角瓶中,加 NH₄F-HCl 浸提液 50 mL 并振荡 5 min,过滤。移取滤液 5 mL 到 50 mL 容量瓶中,加 1 滴 2,4-二硝基酚指示剂、0.06 mol · L⁻¹ 硼酸溶液 5 mL、水 10 mL,钼锑抗显色剂 5 mL 后用蒸馏水定容,摇匀。放置 30 min 后用分光光度计检测 700 nm 处的吸光度,计算含磷量。5) 速效 K 含量测定:称取 5.00 g 土样于 100 mL 三角瓶中,加 50 mL 1 mol · L⁻¹ 的乙酸铵溶液后振荡 30 min,过滤后滤液直接用火焰光度计测定钾含量。6) 全 N 含量测定:称取 1.50 g 土样于凯氏烧瓶中,加 2 g 混合加速剂并摇匀,滴加 5 mL 浓硫酸后放在调温电炉上消煮,直到消煮液和土粒变为灰白带绿色后,再消煮 1 h,冷却后直接用全自动凯氏定氮仪测定全氮含量^[10-11]。

2 结果与分析

由表 2 可知,防风多糖含量随产地以及采集时间的不同而差异显著。从采收时间来看,除安国、亳州栽培防风和大庆野生防风外,其他地区防风多糖含量均为 8 月高于 10 月,左家、亳州、陇西、四平、白城、鞍山、侯马 7 个地区的防风多糖含量随采集时间变化不显著,且以亳州防风多糖含量最低,四平防风含量最高,其他地区的防风多糖量随采集时间变化显著且无规律性。从土壤中各养分随时间变化情况来看,只有随时间变化不显著时,防风多糖含量相对偏高,从此可以推出,只有土壤中各养分供应充足,才能促进防风多糖的积累。

由图 1 可知,10 月防风多糖含量与其根际土壤的速效 K 含量呈显著的三次曲线相关,土壤速效 K 量较低时,防风多糖量随土壤速效 K 的增加而减少,当速效 K 量降至 150 mg · kg⁻¹ 左右时达最低,当速效 K 含量继续增加时,防风多糖的积累量会逐渐增加,土壤速效 K 量为 320 mg · kg⁻¹ 左右时,防风中多糖量达到最高值,随后又会降低。整体上,10 月防风多糖累积量随土壤速效 K 量的增加而减少。防风中多糖的积累与土壤全 N 及有机质量亦呈现出三次曲线相关,变化趋势与速效 K 相似。而采于 8 月的防风多糖含量随其根际土壤养分含量的变化无明显的规律性。结果表明,土壤养分的含量对防风多糖的影响随时间而异,不同生育期影响差异

表 2

防风多糖含量及土壤 pH、速效 N、P、K、全 N 含量

Table 2

Contents of polysaccharides of *S. divaricata* and pH, hydrolysable nitrogen, available phosphorus, potassium, total nitrogen, organic matter of the soils

样品编号	多糖/%	pH	速效 N/(mg·kg ⁻¹)	速效 P/(mg·kg ⁻¹)	速效 K/(mg·kg ⁻¹)	全 N/(g·kg ⁻¹)	有机质/(g·kg ⁻¹)
1/14	3.1/2.6	5.5/5.3	117.0/121.1	241.9/293.8	210.6/163.4	2.7/2.3	19.4/20.9
2/15	3.2/3.0	5.7/5.6	138.5/176.7	102.6/175.1	209.3/127.5	3.7/3.3	39.2/11.1
3/16	1.7/1.9	7.5/7.9	136.1/74.1	52.3/35.0	151.1/116.8	9.1/6.2	15.6/14.7
4/17	5.0/3.4	7.8/8.1	55.9/49.0	27.0/37.3	136.0/61.8	2.2/1.7	12.5/34.0
5/18	2.5/4.6	7.9/7.5	63.9/120.6	30.1/21.3	61.1/47.9	2.7/1.9	14.0/12.2
6/19	2.8/2.6	8.0/8.2	97.7/101.7	38.8/33.3	241.1/141.4	2.5/2.7	20.2/18.1
7/20	3.5/3.5	6.3/6.0	150.8/139.9	44.5/46.0	140.5/110.9	8.6/8.9	62.9/66.8
8/21	3.1/3.0	8.0/8.0	163.4/154.8	18.7/13.9	135.4/170.8	3.0/2.7	38.8/42.2
9/22	3.2/3.1	5.8/5.8	139.2/140.3	57.8/62.4	69.7/75.4	1.5/1.3	44.5/50.6
10/23	5.3/2.0	6.8/6.5	159.3/132.8	10.6/19.1	111.4/143.9	3.3/3.3	38.3/51.9
11/24	3.0/2.7	8.1/7.7	94.6/86.2	13.5/9.8	248.6/255.3	2.5/2.3	16.0/22.1
12/25	2.3/3.4	7.8/8.3	197.7/135.1	20.2/13.1	177.7/107.6	3.2/3.0	41.8/46.0
13/26	4.3/1.6	5.9/6.0	488.8/434.3	349.2/384.8	400.7/417.4	7.9/7.9	185.7/202.3

显著。在防风生长后期,其土壤养分对防风多糖量的影响较大。

表 3 表明,只有采于 10 月的防风多糖含量与土壤速效 K 含量之间在 0.01 水平上呈显著的负相关(与图 1 中的影响关系一致),与水解 N、全 N、速效 P 及有机质含

量间亦呈现出一定的负相关,但采于 8 月的防风多糖含量与根际土壤中的矿物质元素间无明显的相关性。土壤各养分之间相互影响、相互制约,并且各成分之间的平衡均会受 pH 调控^[12],可能间接的对防风多糖含量累积起到促进或抑制作用。

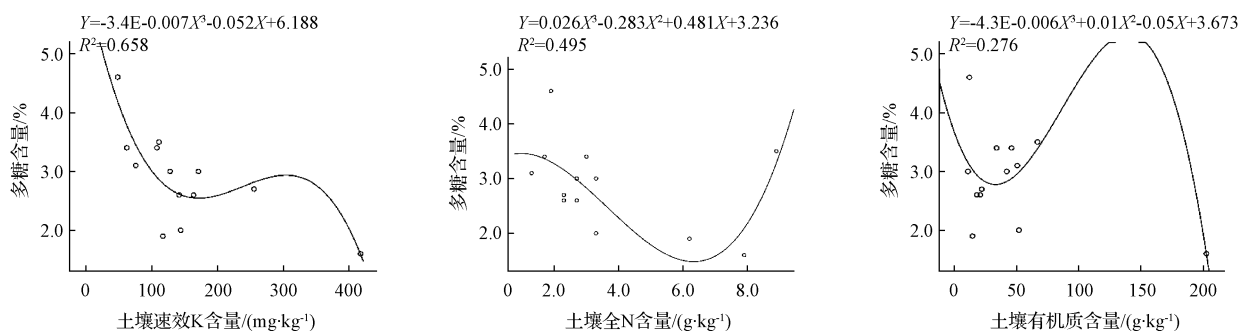


图 1 10 月防风根际土壤全 N、速效 K 及有机质含量对多糖含量的影响

Fig. 1 Effect of total nitrogen, available potassium, organic matter in rhizosphere soils of *S. divaricata* collected in October on the polysaccharides content

表 3

防风根际土壤化学性质及其与多糖含量的相关分析

Table 3

Pearson correlation analysis between the chemical properties of rhizosphere soils and the polysaccharides

根际土壤营养成分	土壤 pH	土壤水解 N 含量	土壤速效 P 含量	土壤速效 K 含量	土壤全 N 含量	土壤有机质含量
土壤水解 N 含量	-0.39					
	-0.43					
土壤速效 P 含量	-0.66 **	0.73 **				
	-0.66 **	0.75 **				
土壤速效 K 含量	-0.20	0.70 **	0.72 **			
	-0.21	0.70 **	0.65 **			
土壤全 N 含量	-0.21	0.50 *	0.33	0.32		
	-0.25	0.50 *	0.33	0.44		
土壤有机质含量	-0.45	0.97 **	0.73 **	0.66 **	0.50 *	
	0.90 **	0.62 **	0.76 **	0.60 *	0.60 *	
防风多糖含量	-0.24	0.22	0.16	0.10	-0.13	0.32
	0.19	-0.40	-0.44	-0.66 **	-0.37	-0.44

注: ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, 第 1 行为采自 8 月的样品, 第 2 行为采自 10 月的样品。

Note: ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, the first line data were sampled in August, the second line data were sampled in October.

3 讨论

多糖为药用植物的主要成分之一,近年来有关多糖的研究报道众多^[6-7],多具有活性好、副作用小、在植物中含量较高的特点。植物多糖主要以水提/醇沉法提取、硫酸-苯酚-紫外分光光度法检测为最经典方法,该方法简便易行、经济适用,其检测结果稳定、可靠。硫酸-苯酚显色过程中的每一步都决定了测定结果的准确性,因此,要求固定人员在固定条件下进行相同的试验操作。

土壤是植物生长的重要媒介,是其所需水分、热量和养分的来源,土壤可以通过自身的理化特征来调控植物生长发育的全过程。因此,研究土壤对植物养分的影响具有重要意义。该研究中采用国家标准方法测定了防风根际土壤的主要理化性质,其中水解 N 及有机质含量测定中均运用了手动滴定法,研究人员在固定的条件下进行操作,最大限度地减小了误差。

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 一部. 北京:中国医药科技出版社, 2010.

- [2] 刘焕蓉,秦雪梅,王利平,等. 玉屏风散配伍剂量变化与有效成分的相关性研究[J]. 中草药,2009,40(12):1922-1924.
- [3] 李丽,桂语歌,时东方,等. 防风中色原酮类化合物的抗氧化活性研究[J]. 时针国医国药,2010,21(9):2135-2137.
- [4] 黎建斌,刘丽萍,丘振文. 生防风挥发油抗炎止血作用的药理研究[J]. 新中医,2007,39(8):105-106.
- [5] 葛卫红,郭建友,沈映君,等. 荆防挥发油对炎症因子表达和调节的影响[J]. 中国药理学杂志,2007,32(17):1777-1779.
- [6] 张泽庆,田应娟,张静. 防风多糖的抗氧化活性研究[J]. 中药材,2008,31(2):268-272.
- [7] 李莉,周勇,张丽,等. 防风多糖增强巨噬细胞抗肿瘤作用的实验研究[J]. 北京中医药大学学报,1999,22(3):38-40.
- [8] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999.
- [9] 刘华,罗强,田嘉铭. 不同产地防风多糖含量比较[J]. 时珍国医国药,2008,19(10):2464-2466.
- [10] 国家林业局. 中华人民共和国林业行业标准[S]. 北京:中国标准出版社,1999.
- [11] 国家环境保护总局. 中华人民共和国土壤环境质量标准[S]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [12] HE L Z, YANG X E, STOFFELLA P J. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment[J]. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology,2005,19:125-140.

Effect of Rhizosphere Soil Chemical Properties on Contents of Polysaccharides in the Root of *Saposhnikovia divaricata*

SUN Jingbo¹, ZHANG Qiuju², ZHANG Lianxue³

(1. Pharmaceutical College of Beihua University, Jilin, Jilin 132013; 2. College of Life Science, Tonghua Normal University, Tonghua, Jilin 134002; 3. College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: Taking *Saposhnikovia divaricata* as test material, water extraction and alcohol precipitation method was used to extract polysaccharides in *Saposhnikovia divaricata* (*S. divaricata*) and the content of polysaccharides was determined by phenol sulfuric acid ultraviolet spectrophotometry. According to standard of China, the pH, rapidly available nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium (K), total nitrogen and organic matter contents in rhizosphere soils of *S. divaricata* were measured. The effects of rhizosphere soil chemical properties on the contents of polysaccharides in *S. divaricata* collected from different regions in different harvest times were analyzed with SPSS 13.0 software. The results showed that the contents of polysaccharides in the roots of *S. divaricata* were significantly different with different collection regions and times. Only the polysaccharides contents of *S. divaricata* collected in October showed a significantly non-linear correlation with the rapidly available K content in the rhizosphere soils ($P < 0.05$). The pH and hydrolysable nitrogen content with the content of available phosphorus, the hydrolysable nitrogen and available phosphorus contents with the available potassium content, and the hydrolysable nitrogen and available phosphorus contents with the organic matter content were significantly correlated ($P < 0.01$). The correlation of available potassium with the organic matter changed with the change of the collecting time, in which the differences in August ($P < 0.01$) and October ($P < 0.05$) were significant. Significant correlations of the hydrolysable nitrogen and organic matter contents with the total nitrogen content were found ($P < 0.05$). The polysaccharides contents of *S. divaricata* collected at different harvest times could be affected by the different rhizosphere soils, especially those collected in October were significantly influenced by the available potassium content of soils. The content optimization and stability of nutrients in the soil could improve the productivity of polysaccharides in the *S. divaricata*.

Keywords: *Saposhnikovia divaricata*; polysaccharides; rhizosphere soil; correlation