

不同氮素水平对西洋参皂苷积累的影响

曹欣欣, 孔凡丽, 杨粉团, 曹庆军, 李刚*

(吉林省农业科学院/农业农村部农产品质量安全风险评估实验室, 长春 130033)

摘要:以两年生西洋参为材料进行田间试验, 设置5个施氮量, 研究不同氮素水平对西洋参皂苷积累的影响。结果表明: 不同氮素水平对西洋参皂苷含量有一定影响, 适当增加氮肥施用量可以有效提高西洋参皂苷含量的积累。茎叶9种皂苷总量在施氮量为5 g/m²时有最高值; 参根皂苷含量在施氮量为10 g/m²时有最高值; 单体皂苷Re的含量变化明显, 10 g/m²施氮水平下含量比对照组增加17.19%~21.84%。氮肥用量10 g/m²为适宜施氮量。

关键词:氮素水平; 西洋参; 皂苷

中图分类号: S567.5³

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2020)06-0078-04

Effects of Different Nitrogen Levels on the Accumulation of Saponins in American Ginseng

CAO Xinxin, KONG Fanli, YANG Fentuan, CAO Qingjun, LI Gang*

(Jilin Academy of Agricultural Sciences/Risk Assessment Lab of Agro-products Quality and Safety (Changchun), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Changchun 130033, China)

Abstract: A field experiment was conducted with biennial American ginseng as materials, and five nitrogen application rates were set to study the effects of different nitrogen levels on the accumulation of saponins in American ginseng. The results showed that different nitrogen levels had a certain effect on the content of American ginseng saponins. The total amount of nine saponins in stems and leaves had the highest value when the nitrogen application rate was 5 g/m²; the content of root saponins has the highest value when the nitrogen application rate was 10 g/m²; the content of saponin Re changes obviously, and the content increased by 17.19%~21.84% compared with the control group at 10 g/m² nitrogen application. Therefore, the best nitrogen application rate was 10 g/m².

Key words: Nitrogen level; American ginseng; Saponin

西洋参(*Panax quinquefolius* L.)为五加科人参属多年生草本植物, 原产于美国、加拿大。我国西洋参主要分布在吉林、山东、北京等地^[1]。作为我国传统进口大宗药材, 西洋参因其较高的保健、药用价值备受人们青睐, 其主要有效成分是皂苷。目前从西洋参中分离得到的皂苷将近80种^[2]。西洋参皂苷按结构分为3种类型: 达玛烷型(dammarane-type)、奥克梯隆型(ocotillol-type)、齐墩果烷型(oleanane-type)。皂苷的生物活性主要表现在抗肿瘤、抗氧化、调节代谢、提高机体免疫功能以及改善心血管系统等方面^[3]。

随着生活水平的不断提高, 人们对西洋参的需求也从最初的药用发展到了现在的食用, 对西洋参的品质也有了更高的要求。氮是植物生长所必需的三大营养元素之一, 对植物体的各项生命活动具有重要作用, 生产上施用氮肥是调节植物生长发育的重要手段之一。关于不同供氮水平对药用植物产量与质量的影响已有不少报道, 如天门冬^[4-5]、长春花^[6]、药菊^[7]等。施肥会影响植物的次生代谢产物, 氮肥对不同种类次生代谢物含量的影响也不相同。欧小宏等^[8]研究表明, 70%~100%的基肥量能提高三七皂苷R₁含量和三七皂苷总量, 宋希梅等^[9]也证实了施氮量对三七皂苷R₁、人参皂苷Re和总皂苷产出量有显著影响; 适宜的氮素水平可以促进天门冬氨酸、多糖以及皂苷的积累^[5], 菊花中黄酮含量与外源氮量呈明显负相关性^[10]。人参属药用植物在施肥方面的研究近年来多集中在人参^[11-12]、三七^[13-14]上, 西洋参的

收稿日期: 2018-10-16

基金项目: 吉林省农业科技创新工程项目(07208000408); 吉林省科技发展计划项目(201603081YY)

作者简介: 曹欣欣(1993-), 女, 在读硕士, 研究方向为功能分子生物学。

通讯作者: 李刚, 男, 博士, 研究员, E-mail: ligang6@yeah.net

相关研究较少。本试验旨在研究不同氮素水平对不同时期西洋参茎叶、参根中皂苷积累的影响,为西洋参的科学施肥、合理采收、有效利用提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地基本情况与材料

本试验于抚松县参王植保有限责任公司基地进行。土壤有机质 59.11 g/kg,速效钾 202 mg/kg,有效磷 45.98 mg/kg,水解性氮 301.9 mg/kg,全氮 2.86 g/kg,碳氮比 22.29:1。供试样品为两年生西洋参。供试氮肥用尿素(N 46%),磷肥用重过磷酸钙(P_2O_5 46%),钾肥用硫酸钾(K_2O 50%)。

1.2 试验设计与方法

田间试验采用随机区组设计,每个小区 1.7 m×3 m,设置 5 个不同的施氮水平,分别为 N0、N1、N2、N3、N4,对应的施氮量为 0、5、10、20、40 g/m²,每个水平设 3 次重复,各处理磷、钾肥施用量均为 P_2O_5 46 g/m²、 K_2O 25 g/m²。在 4 月底栽参前施肥,将肥料拌细土混匀后表面撒施,其它田间管理与当地生产相同,于展叶、开花、绿果、红果、收获 5 个生长期分别进行田间采样。

1.3 样品采集与测定

1.3.1 样品的制备

将采集的参样茎叶与根部分别用自来水洗净,再用蒸馏水冲洗数次后用吸水纸将表面水吸干,置于 105℃烘箱内杀青 30 min,于 60℃下烘干至恒重,粉碎过 100 目筛,作为待测样品。

1.3.2 皂苷的提取

精确称取制备的样品粉末 0.4 g,置于 25 mL 具塞试管中,加入 10 mL 氨水-水-甲醇溶液(4:21:75),摇匀,密塞,超声提取 30 min 后静置 24 h,取上清液过 0.2 μm 微孔滤膜,待测。

1.3.3 皂苷的液相色谱测定

采用超高效液相色谱法检测皂苷单体 R_g、Re、Ro、Rc、Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rd,测定仪器为美国 Waters ACQUITY UPLC H-Class 系统。色谱条件:ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm),柱温 35℃,流速 0.5 mL/min,检测波长 203 nm,进样量 3 μL,流动相为乙腈-0.001 25% 磷酸水溶液。梯度洗脱:0~5 min, 15% 乙腈;5~15 min, 40% 乙腈;15~20 min, 90% 乙腈;20~23 min, 90% 乙腈;23~23.1 min, 15% 乙腈;25 min 停止。

采用高效液相色谱法检测皂苷单体 F₁₁,测定仪器为西班牙 KONIK 的 HPLC 560(type B)。色谱

条件:ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱(50 mm×2.1 mm, 1.7 μm),柱温 35℃,流速 0.5 mL/min,进样量 10 μL,流动相为乙腈-水溶液,时间 20 min。

方法学考察结果显示精密性、重复性和稳定性良好,标准曲线 R 值≥0.999。

1.4 数据统计与分析

试验数据采用 Excel 进行统计,采用 SPSS、Origin 进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同施氮水平对西洋参茎叶皂苷积累的影响

2.1.1 氮肥对西洋参茎叶皂苷总量的影响

由图 1 可知,随着生育期的变化,西洋参茎叶皂苷含量呈现先升高后降低的变化趋势,大多在绿果期达到峰值,绿果期各氮素水平的皂苷含量没有显著差异,维持在 9.85% 左右。氮肥对展叶期和开花期茎叶皂苷含量影响明显,茎叶皂苷含量先随着施氮量的增加而增加,在 N2 水平时达到峰值,比同期对照组 N0 分别增长 12.75% 和 15.86%,之后随着施氮量的增加而减少。可见,在西洋参前期生长过程中,适量外源氮素的刺激有利于茎叶皂苷的合成。而在西洋参生长的后期,

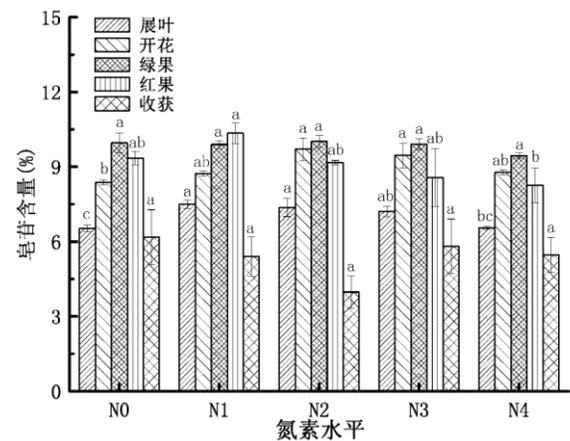


图 1 氮肥对西洋参茎叶皂苷含量的影响

增加施氮量对茎叶皂苷含量的积累影响不大。

2.1.2 氮肥对西洋参茎叶单体皂苷含量的影响

在检测的 9 种单体皂苷中,茎叶皂苷总体上以 Rd 为主,其次为 Rb₃, F₁₁ 与 Re 含量相近。茎叶主要含有的 4 种单体皂苷在氮肥影响下的含量变化分析结果见表 1(收获期较晚且遭遇冻害,故未分析)。Rd 随生育期的推进含量不断增加,对于氮肥施用量的改变并未表现出明显的变化规律。Rb₃ 受氮肥影响变化明显,适当增加氮量可明显增加 Rb₃ 的含量,氮肥过多则会导致其含量下降;Re 受氮肥影响变化规律与 Rb₃ 相同,在生长前期变化不显

表 1 茎叶四种主要单体皂苷在不同施氮水平影响下的含量变化 (mean ± SEM, n=5) %

生育期	氮水平	Rd	Rb ₃	Re	F ₁₁
展叶期	N0	0.97±0.07b	1.79±0.08cd	1.20±0.08a	1.51±0.01a
	N1	1.24±0.16ab	2.29±0.06a	1.25±0.05a	1.35±0.03b
	N2	1.38±0.20ab	2.22±0.11ab	1.20±0.03a	1.34±0.00b
	N3	1.49±0.16a	1.99±0.09bc	1.24±0.10a	1.34±0.00b
	N4	1.44±0.04a	1.61±0.01d	1.17±0.00a	1.38±0.04b
开花期	N0	2.26±0.00c	1.84±0.06a	1.24±0.03b	1.42±0.05a
	N1	2.20±0.09c	2.13±0.15ab	1.42±0.04a	1.41±0.04a
	N2	2.80±0.09a	2.47±0.23ab	1.30±0.07ab	1.43±0.05a
	N3	2.61±0.04ab	2.57±0.38ab	1.19±0.06b	1.38±0.03a
	N4	2.44±0.19bc	2.44±0.05b	1.19±0.02b	1.27±0.08a
绿果期	N0	3.39±0.13a	2.14±0.25ab	1.40±0.04a	1.26±0.06b
	N1	3.06±0.02c	2.26±0.12ab	1.42±0.01a	1.42±0.08ab
	N2	2.51±0.17b	2.52±0.31a	1.49±0.04a	1.47±0.09ab
	N3	3.33±0.02ab	1.99±0.16ab	1.48±0.03a	1.49±0.08a
	N4	3.19±0.04ab	1.79±0.06b	1.42±0.07a	1.52±0.07a
红果期	N0	3.48±0.14ab	1.66±0.04a	1.28±0.01bc	1.37±0.04ab
	N1	4.07±0.48ab	1.80±0.10a	1.34±0.03ab	1.45±0.03a
	N2	2.60±0.11b	1.96±0.28a	1.50±0.10a	1.28±0.07b
	N3	2.51±0.83b	1.72±0.17a	1.39±0.05ab	1.38±0.02ab
	N4	2.76±0.06ab	1.53±0.33a	1.10±0.08c	1.44±0.02a

注:不同小写字母表示差异显著 (P<0.05),下同

著,随着生育期的推进,这种变化越来越明显。

2.2 不同施氮水平对西洋参根皂苷积累的影响

2.2.1 氮肥对西洋参根皂苷总量的影响

不同氮肥施用量对西洋参根中9种皂苷总量的影响如图2所示。从不同生育期来看,西洋参根皂苷含量大多在展叶期最高,在4.5%左右,随着生长时期的变化出现不同程度的降低。开花期时,氮肥对参根皂苷含量的积累几乎没有影响。绿果、红果、收获三个时期,除N4外,皂苷含量随氮肥的增加呈先增加后减少的变化趋势,绿果期和

红果期的峰值出现在N2水平,皂苷含量为3.88%和4.34%,分别比同期N0增长23.59%、18.29%,收获期在N1有峰值4.00%,比N0高28.79%。总体来看,施氮量为N1、N2时,参根的皂苷含量相对较高,能够有效提高西洋参质量。

2.2.2 氮肥对西洋参根单体皂苷含量的影响

检测结果表明:两年生的西洋参根中单体皂苷含量顺序为:Ro>Re>Rd>Rb₁>Rc>F₁₁>Rg₁>Rb₂>Rb₃,由表2可知,施氮量的多少会影响不同时期单体皂苷的含量,普遍没有显著性影响。个别的方差分析有显著性差异,如收获期的Ro、Re,它们的积累受施氮量多少的影响呈先升高后下降的趋势,N1或N2时有最高值,说明适当增加氮肥用量在一定程度上有助于西洋参皂苷的积累,也从另一方面反映了西洋参在不同时期对氮的需求不同,可通过不同时期追施氮肥来满足西洋参对氮的需求。

3 结 论

西洋参不同部位所含皂苷种类和含量的研究已有大量试验^[15-17]。西洋参不同药用部位中,茎叶和主根中皂苷种类基本相同,但茎叶皂苷含量最高。本研究结果与前人结论一致,茎叶皂苷种类和参根相似,但含量却存在明显差异。结果显

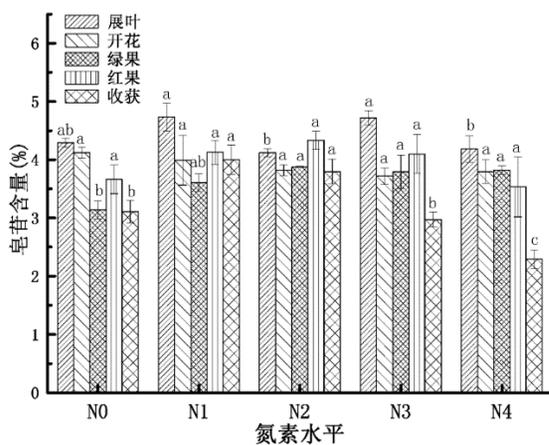


图2 氮肥对西洋参根皂苷含量的影响

表2 西洋参根四种主要单体皂苷在不同施氮水平下的含量变化 (mean ± SEM, n=5) %

生育期	氮水平	Ro	Re	Rd	Rb ₁
展叶期	N0	0.86±0.01c	1.04±0.10a	0.53±0.04b	0.55±0.05a
	N1	1.06±0.01b	1.29±0.10a	0.52±0.02b	0.51±0.15a
	N2	1.02±0.02b	1.13±0.05a	0.50±0.03b	0.44±0.07a
	N3	1.21±0.09a	1.15±0.11a	0.64±0.01a	0.45±0.11a
	N4	0.73±0.00c	1.00±0.14a	0.53±0.06ab	0.45±0.08a
开花期	N0	1.05±0.02a	0.97±0.04a	0.53±0.02c	0.54±0.04a
	N1	0.98±0.10a	0.90±0.10a	0.60±0.03bc	0.43±0.21a
	N2	1.02±0.08a	0.83±0.09a	0.70±0.04a	0.37±0.03a
	N3	1.04±0.08a	0.84±0.03a	0.61±0.02ab	0.28±0.0a
	N4	1.06±0.08a	0.98±0.08a	0.65±0.04ab	0.27±0.04a
绿果期	N0	0.89±0.18a	0.73±0.01b	0.33±0.05b	0.43±0.06a
	N1	1.06±0.00a	0.82±0.12b	0.42±0.02b	0.49±0.06a
	N2	1.22±0.01a	0.83±0.06b	0.61±0.01a	0.41±0.06a
	N3	1.06±0.16a	0.83±0.10b	0.62±0.07a	0.37±0.02a
	N4	0.96±0.02a	1.15±0.03a	0.39±0.05b	0.34±0.01a
红果期	N0	1.18±0.06a	0.87±0.05ab	0.52±0.16a	0.33±0.02b
	N1	1.17±0.17a	1.03±0.06ab	0.56±0.12a	0.50±0.07a
	N2	1.38±0.00a	1.06±0.01a	0.59±0.11a	0.49±0.02ab
	N3	1.15±0.12a	1.06±0.04a	0.59±0.19a	0.54±0.02a
	N4	1.12±0.24a	0.82±0.13b	0.48±0.12a	0.37±0.04b
收获期	N0	1.06±0.07bc	0.57±0.04b	0.42±0.03a	0.34±0.02a
	N1	1.30±0.06a	1.17±0.13a	0.45±0.07a	0.27±0.01a
	N2	1.27±0.05ab	1.02±0.04a	0.50±0.08a	0.26±0.05a
	N3	0.91±0.05cd	0.63±0.12b	0.44±0.06a	0.22±0.02a
	N4	0.71±0.10d	0.18±0.03c	0.40±0.09a	0.22±0.07a

示,西洋参茎叶9种皂苷总量要远远高于参根,且茎叶以Rd、Rb₃、Re、F₁₁为主,参根则以Ro、Re含量居多,作为西洋参特有的皂苷F₁₁也是在茎叶中的含量较高。因此茎叶可作为西洋参皂苷的可靠来源。杨雨^[18]总结了近年来西洋参茎叶皂苷类化学成分的研究进展并指出西洋参茎叶皂苷在体内和体外临床试验中表现出了较高的药理活性,阐明了西洋参茎叶深入开发的重要性。西洋参茎叶有效利用对扩大西洋参药源有重要意义。

本试验分析西洋参茎叶、参根总皂苷以及单体皂苷在氮肥影响下的变化情况,发现其规律各不相同。从9种皂苷总量变化趋势来看,在氮肥影响下,茎叶皂苷含量在生长前期有一定规律,参根的皂苷含量则在生长后期出现规律性变化。统一表现为随施氮量增加先升高后降低,个别时期有显著性差异。展叶、开花期茎叶皂苷含量分别在N1、N2下达到最高值,分别比同期对照组N0增长14.71%和15.86%;收获期参根皂苷含量在N1水平下有峰值为4.00%,比对照组高28.79%。分析单体皂苷含量的变化发现,氮肥对个别单体

皂苷的积累有显著影响,而多数单体皂苷的含量虽有变化但差异不显著。茎叶、参根中的Re含量都在N2时有最大值,分别比对照组N0增加17.19%、21.84%。适当增加氮肥不仅有利于西洋参的生长,同时可以增加叶面积、参根重量^[19],提高了西洋参皂苷的含量,从而使西洋参皂苷的产出量在一定程度上明显增加。本试验表明,适宜的施氮水平为N2,即氮肥用量为10 g/m²。

本试验只探讨了不同施氮量对两年生西洋参皂苷含量的影响,氮肥对其它参龄西洋参皂苷含量的影响,对不同参龄西洋参的生长、产量以及主要活性成分的影响有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 周海燕,赵润怀,傅建国,等.国产西洋参生产及商品规格质量的调查分析[J].中国现代中药,2013,15(4):324-328.
- [2] 陈琪琪,吴哈琪,高秀君,等.西洋参中人参皂苷的真菌生物转化研究进展[J].食品研究与开发,2019,40(5):220-224.
- [3] 尚金燕,李桂荣,邵明辉,等.西洋参的药理作用研究进展[J].人参研究,2016,28(6):49-51.

(下转第99页)

- 165-167.
- [3] A.恰亚诺夫.农民经济组织[M].北京:中央编译出版社,1996:234-236.
- [4] 钟树杰.用社会资本提升乡村治理水平[J].人民论坛,2020(8):82-83.
- [5] 张红宇,襍燕庆,王斯烈.如何发挥工商资本引领现代农业的示范作用—关于联想佳沃带动猕猴桃产业化经营的调研与思考[J].农业经济问题,2014,35(11):4-9.
- [6] 刘国斌,董俊杰.产业结构优化与农村三产融合发展研究—以吉林省为例[J].东北农业科学,2020,45(2):67-71.
- [7] 王琦琪.社会资本“下乡”去哪儿[J].农村工作通讯,2020(10):33.
- [8] 陈义媛.遭遇资本下乡的家庭农业[J].南京农业大学学报(社会科学版),2013,13(6):24-26.
- [9] 高 强,孔祥智,邵 锋.工商企业租地经营风险及其防范制度研究[J].中州学刊,2016(1):43-48.
- [10] 蒋云贵,瞿艳平.土地流转、工商资本与投资农业风险—来自湘鄂地区的实例验证[J].江汉论坛,2017(12):21-25.
- [11] 贾 晋,艾 进,王 珏.工商业资本进入农业的路径选择:一个分析框架[J].经济问题探索,2009(12):164-168.
- [12] 何秀荣.公司农场:中国农业微观组织的未来选择?[J].中国农村经济,2009(11):4-16.
- [13] 张晓山.大力培育新型农业经营主体[N].农民日报,2014-10-30(001).
- [14] 石 敏,李大胜,谭砚文.交易费用、组织成本与工商资本进入农业的组织形式选择[J].农村经济,2017(10):57-63.
- [15] 杨志武,杨 展,李 庆,等.农业规模经营主体金融需求测度分析—基于熵权TOPSIS模型和黑龙江483个农业规模经营主体样本的调查[J].东北农业科学,2020,45(1):63-67.
- [16] 秦中春.四大举措建构社会资本下乡良好环境[J].农村工作通讯,2019(8):53.
- [17] 姜会明.农户兼业经营问题浅议[J].经济纵横,1990(9):50-51.
- [18] 杨文光,陈 伟,朱俊峰.乡村振兴视野的农业生产性服务业发展模式与适应性研究[J].东北农业科学,2020,45(4):124-128.
- [19] 姚雅男,孙 雨,吉宇琴,等.农业供给侧结构性改革的风险控制路径[J].内蒙古科技与经济,2017(18):5,7.
- [20] 姜会明.中国农业合作制的创新和发展[J].吉林农业大学学报,1992(1):70-73,78.
- [21] 王 博,刘 豪,林 杰,等.山西省农业产业融合内生动力影响因素分析—基于陵川县农业发展规划调查[J].东北农业科学,2019,44(4):104-109.

(责任编辑:王丝语)

.....

(上接第81页)

- [4] 梁 娟,叶 漪,杨 伟.不同氮素形态及配比对天门冬生长和品质的影响[J].中国土壤与肥料,2018(1):28-31.
- [5] 梁 娟,胡海丽,杨 伟.不同供氮水平对天门冬生长和品质的影响[J].中国土壤与肥料,2016(1):53-56.
- [6] 朱孟炎,于博帆,陈华峰.外源硝态氮水平对长春花生理代谢的影响[J].植物研究,2016,36(4):535-541.
- [7] 刘大会,朱端卫,郭兰萍,等.氮肥用量对药用菊花生长期及其药用品质的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(1):188-195.
- [8] 欧小宏,张智慧,郑冬梅,等.氮肥运筹对二年生三七产量、品质及养分吸收与分配的影响[J].中国现代中药,2014,16(12):1000-1005,1014.
- [9] 宋希梅,汤 利,陈军文,等.连续两年不同施氮对三七产量和皂苷产出量的影响[J].中药材,2017,40(10):2256-2261.
- [10] LIU Dahui, LIU Wei, ZHU Duanwei, et al. Nitrogen effects on total flavonoids, chlorogenic acid, and antioxidant activity of the medicinal plant *Chrysanthemum morifolium* [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2010, 173(2): 268-274.
- [11] 赵 英,何忠梅,杨世海,等.人参需肥规律与测土配方施肥技术研究[J].人参研究,2016,28(5):2-6.
- [12] 陈 佳,金红宇,戴 博,等.化肥施用对人参品质影响的观察[J].中药材,2012,35(6):847-850.
- [13] 余前进.不同施肥模式对三七生长及有效成份的影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2015.
- [14] 宋希梅,朱永全,卢迎春,等.基于“3414”的三七氮磷钾施肥量研究[J].农业资源与环境学报,2019,36(1):16-25.
- [15] QU Chenling, BAI Yuping, JIN Xiangqun, et al. Study on ginsenosides in different parts and ages of *Panax quinquefolius* L. [J]. Food Chemistry, 2009, 115(1): 340-346.
- [16] ZHANG Kun, WANG Xiao, DING Lan, et al. Determination of Seven Major Ginsenosides in Different Parts of *Panax quinquefolius* L. (American Ginseng) with Different Ages [J]. Chemical Research in Chinese Universities, 2008, 24(6): 707-711.
- [17] Starratt A N, Hendel J G, Reeleder R D. Leaves of North American ginseng, *Panax quinquefolius* L.: A renewable source of certain ginsenosides. [J]. Canadian journal of plant science, 2000, 81: 65-67.
- [18] 杨 雨.西洋参茎叶皂苷类化学成分的研究[D].北京:中国农业科学院,2014.
- [19] 孙黎明,邢 鑫,李 波,等.不同参龄的文登西洋参对氮磷钾三元素需求试验研究[J].特种经济动植物,2015(10):35-37.

(责任编辑:刘洪霞)