植物营养与肥料学报 2012,18(4):981 -989
Plant Nutrition and Fertilizer Science

镁、锌、钼配施对银杏苗叶生物量和药用品质的影响

郁万文,曹福亮,吴广亮
(南京林业大学森林资源与环境学院,江苏南京 210037)

摘要: 在温室条件下,采用正交试验设计,研究了叶面喷施镁、锌、钼对银杏苗叶生物量、主要药效成分含量及其单株产量的影响。结果表明,不同的镁锌钼组合对银杏苗叶生物量、总黄酮含量及其单株产量、萜内酯含量及其单株产量均有显著影响。较适宜银杏叶生物量、单株总黄酮产量、单株萜内酯产量提高的组合均是 Mg4Zn3Mo2,适宜银杏总黄酮含量、萜内酯含量提高的组合分别是 Mg1Zn2Mo2、Mg2Zn4Mo3。镁、锌、钼对银杏单株叶生物量、总黄酮含量及其单株产量影响的主次顺序为镁 > 钼 > 锌,对萜内酯含量影响的主次顺序为锌 > 钼 > 镁,对单株萜内酯产量的主次顺序为镁 > 锌 > 钼。叶面喷施镁锌钼肥可相应提高叶中镁、锌、钼含量,而叶面配施锌钼肥对叶中全镁的含量的影响不大,叶面配施镁肥在高水平下促进叶中全锌量的积累,叶面配施钼肥在低水平(Mo2)下提高了叶中全锌含量,叶面配施镁锌肥对叶中全钼的含量影响不大。喷施镁肥对总黄酮含量产生了负面影响,但促进了萜内酯含量及其单株产量的提高;锌在高水平下对总黄酮和萜内酯含量有促进作用,低浓度下作用不大或有负面影响;钼在中、低水平下对总黄酮和萜内酯含量有促进作用,高浓度下作用不大或有负面影响。

关键词: 银杏苗;镁肥;锌肥;钼肥;叶生物量;药用品质
中图分类号: S511.062　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1008-505X(2012)04-0981-09

Effects of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers on leaf biomass and medicinal quality of ginkgo seedlings

YU Wan-wen, CAO Fu-liang, WU Guang-liang
(*College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China*)

Abstract: An experiment of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers under the foliage spraying with different levels was arranged to study effects of the fertilization on leaf biomass, main medicinal constituent contents and their yields per plant of ginkgo seedlings on the basis of an orthogonal design in greenhouse. The results show that the different combinations of Mg, Zn and Mo fertilizers have significant effects on leaf biomass, total flavonoid content and its yield per plant, terpene trilactone content and its yield per plant of ginkgo seedling. The treatments of Mg4Zn3Mo2, Mg1Zn2Mo2, Mg2Zn4Mo3, Mg4Zn3Mo2 and Mg4Zn3Mo2 are suitable to enhance leaf biomass, total flavonoid content and its yield per plant, terpene trilactone content and its yield per plant, respectively. The primary relations of Mg, Zn and Mo effect on leaf biomass, total flavonoid content and its yield per plant are Mg > Mo > Zn. The primary relations of Mg, Zn and Mo effect on terpene trilactone content and its yield per plant are Zn > Mo > Mg, and Mg > Zn > Mo respectively. Spraying Mg, Zn and Mo fertilizers could correspondingly promote total magnesium, total zinc, total molybdenum contents, while praying Zn and Mo fertilizers have little influences on total magnesium contents. Spraying Mg fertilizer could promote total zinc contents under high levels of Mg, while praying Mo fertilizer could promote total zinc contents under low levels of Mo. Spraying Mg and Zn fertilizers have little influences on total molybdenum contents. The Mg fertilizer has bad effect on total flavonoid content and has

收稿日期: 2011-10-31　　**接受日期:** 2012-03-13
基金项目: 国家林业局"948"项目"银杏果用优良无性系及配套技术引进"(2008-04-05);高校博士点专项基金项目"银杏三个脂肪酸去饱和关键酶基因的克隆、表达与载体构建"(20113204120007),"银杏 SSR 引物的开发与利用"(20093204120004)资助。
作者简介: 郁万文(1979—),男,山东临沂人,博士,讲师,主要从事经济林栽培的研究。E-mail: youeryuww@163.com

good effect on terpene trilactone content and its yield per plant. The high level of the Zn fertilizer could promote total flavonoid and terpene trilactone contents, but the low level of Zn has small or bad effects on them. The low and moderate levels of the Mo fertilizer could promote total flavonoid and terpene trilactone contents, but the high level of Mo has small or bad effects on them.

Key words: ginkgo seedling; Mg fertilizer; Zn fertilizer; Mo fertilizer; leaf biomass; medicinal quality

随着银杏叶提取物在医药上的广泛应用,银杏叶用园在全国各地蓬勃发展起来。土壤中被银杏叶收获带走的某些养分不能及时补充,或连年施用某些养分在土壤残留过量等,使银杏叶高产优质的土壤养分限制因子序位发生了变化。中、微量元素是植物正常生长不可缺少的营养元素,缺乏任何一种微量元素,植物生长发育都会受到抑制,导致产量、品质下降[1]。中、微量元素在马铃薯、小麦、油菜、烟草、梨树、茶树、桑树等经济植物上的增产作用已被证实。目前,银杏叶用园的施肥研究主要集中在氮、磷、钾肥上[2-8],对必需中、微量元素的研究较少[9-11]。鉴于中、微量元素的营养功能和增产作用[12-13],本试验通过研究中、微量元素 Mg、Zn、Mo 对银杏叶生物量、主要药效成分含量及其单株产量的影响,为进一步制定叶用银杏优质高产的平衡施肥方案,经济高效地利用肥料提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2007年2月～11月在南京林业大学东门温室内进行。供试苗木为2年生泰兴大佛指实生银杏苗,苗木规格基本一致,平均苗高42.5 cm,平均地径1.18 cm。采用27 cm×30 cm(直径×高)的塑料盆,每盆装土10 kg。供试土壤类型为砂土(卡钦斯基分类法),其主要养分状况为:pH 6.70(土水比1∶2.5的浸提法)、有机质含量1.11 g/kg、碱解氮3.39 mg/kg、有效磷2.61 mg/kg、速效钾7.3 mg/kg、交换性镁30.1 mg/kg、有效钼0.13 mg/kg、有效锌0.67 mg/kg。苗木在温室里培育。

1.2 试验设计

采用室内盆栽模拟的方法进行,Mg、Zn、Mo 配方喷施。试验采用 Mg、Zn、Mo 3 因素 4 水平的正交设计,按正交表 $L_{16}(4^5)$ 进行设计,共16个处理,重复3次,完全随机排列,各处理及其肥料喷施浓度见表1,Mg1Zn1Mo1 用清水喷施并作为对照。供试镁肥为 $MgSO_4$,锌肥为 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$,钼肥为 $(NH_4)_2Mo_2O_7$,均为分析纯。按试验设计的浓度,于5月30日、6月15日、6月30日3次等量喷施叶片,以所有叶片均喷到,并有水滴形成为度。氮、磷、钾的施用参照吴家胜等[7]的研究结果,每盆施入N 3.0 g、P_2O_5 2.5 g、K_2O 1.8 g,其中氮肥为尿素(含N 46%),磷肥为过磷酸钙(含 $P_2O_5$14%),钾肥为氯化钾(含 K_2O 60%),磷肥以基肥形式在2月份栽苗时一次性施入,氮肥和钾肥在4、5和6月份3次等量作追肥溶解于水中浇施。日常进行其他常规管理,保持田间持水量(21.2%)的85%。

表1 试验设计与肥料喷施浓度

Table 1 Experiment design and spraying fertilizer concentrations

处理代号 Treatment code	Mg	Zn	Mo	处理代号 Treatment code	Mg	Zn	Mo
Mg1Zn1Mo1(CK)	1 (0%)	1 (0%)	1 (0%)	Mg3Zn1Mo3	3 (2%)	1	3
Mg1Zn2Mo2	1	2 (0.1%)	2 (0.05%)	Mg3Zn2Mo4	3	2	4
Mg1Zn3Mo3	1	3 (0.3%)	3 (0.10%)	Mg3Zn3Mo1	3	3	1
Mg1Zn4Mo4	1	4 (0.5%)	4 (0.20%)	Mg3Zn4Mo2	3	4	2
Mg2Zn1Mo2	2 (1%)	1	2	Mg4Zn1Mo4	4 (3%)	1	4
Mg2Zn2Mo1	2	2	1	Mg4Zn2Mo3	4	2	3
Mg2Zn3Mo4	2	3	4	Mg4Zn3Mo2	4	3	2
Mg2Zn4Mo3	2	4	3	Mg4Zn4Mo1	4	4	1

注(Note):括号中数据表示肥料的溶液浓度 The data in the bracket are the concentrations of Mg, Zn or Mo.

1.3 样品采集与测定

1.3.1 叶片样品采集与制备　于 10 月 15 日采集全株叶片,洗净后擦干叶表面水分,于 105℃杀青 30 min,再于 60℃下烘至恒重后称重,粉碎后过 0.250 mm 孔径筛,备用。

1.3.2 叶片微量元素的测定　称取 1.3.1 中叶粉末约 1.000 g(另取本品粉末测定水分),采用 H_2SO_4-$HClO_4$ 消煮,再用原子吸收法测定消煮溶液中镁、锌、钼含量。

1.3.3 叶片总黄酮和萜内酯的提取和测定　总黄酮待测液制备 称取 1.3.1 中叶粉末约 1.000 g(另取本品粉末测定水分)置 100 mL 圆底烧瓶中,加入甲醇-25%盐酸溶液(4∶1)25 mL,闭塞,称重,沸水浴回流 6 h,取出冷却,称重,以甲醇补足减失的重量,摇匀,用 0.45 μm 的滤膜过滤,待测。

萜内酯待测液制备　称取 1.3.1 中叶粉末约 1.000 g(另取本品粉末测定水分)置索氏提取器中,加石油醚 100 mL,于 70℃水浴中回流 1 h,取出,滤纸筒挥干,换用甲醇 80 mL 回流 3 h,取出,减压回收甲醇至 2 mL 左右,以甲醇 5 mL 转移残渣至酸性氧化铝柱上(5 g,直径 10 mm),用甲醇 20 mL 洗脱,洗脱液蒸干,残渣用流动相溶解至 10 mL 容量瓶中,稀释至刻度,摇匀,用 0.45 μm 的滤膜过滤,待测。

供试标准品　总黄酮的槲皮素、山柰素、异鼠李素及萜内酯中的银杏内酯 A(GA)、银杏内酯 B(GB)、银杏内酯 C(GC)、白果内酯(BB)(批号分别为 110861-200606、100081-200406 、110860-200407、110862-200305、110863-200204、110864-200203、110865-200303)均购自中国药品生物制品检定所,酸性氧化铝为 0.150～0.0750 mm(上海五四化学试剂厂),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

总黄酮标准品溶液　分别精密称取经 P_2O_5 干燥过夜的槲皮素、山奈素、异鼠李素标准品适量,加甲醇制成每毫升分别含 63、50、11 μg 的标准品溶液。

萜内酯标准品溶液　分别精密称取经 P_2O_5 干燥过夜的 GA、GB、GC、BB 标准品适量,加甲醇制成每毫升分别含 0.12、0.07、0.08、0.15 μg 的标准品溶液。

测定仪器 Waters1525 二元高效液相色谱仪,Waters2996 二极管阵列检测器,Empower2 色谱分析软件,均为美国 Waters 公司生产;Alltech ELSn 2000 蒸发光散射检测器;C18 色谱柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);Millipore-Q 超纯水制备仪。

测定总黄酮组分的色谱条件 Alltima C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:甲醇-0.3%磷酸水溶液(43∶57);流速 1.0 mL/min;检测波长 360 nm;柱温 35℃;进样量 20 μL;外标法计算含量[14]。

测定萜内酯组分的色谱条件 Alltima C18 柱(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相:甲醇-四氢呋喃-水(20∶12∶75);流速 0.9 mL/min;ELSD 漂移管温度 100℃;载气流量 2.8 L/min;进样量 20 μL;以外标两点对数方程计算样品的含量。

1.3.4 相关计算公式

总黄酮含量 = 2.51 × (槲皮素含量 + 山奈素含量 + 异鼠李素含量)

萜内酯含量 = (GA + GB + GC + BB)

单株总黄酮产量 = 单株叶生物量 × 总黄酮含量

单株萜内酯产量 = 单株叶生物量 × 萜内酯含量。

1.4 数据处理

应用 DPS 软件进行数据处理,采用 LSD 法检验数据的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 镁锌钼配施对银杏苗叶生物量的影响

由表 2 可知,不同镁锌钼配比下银杏苗叶生物量的变化幅度为 4.27～13.97 g/plant,处理间差异极显著($P < 0.01$)。其中,Mg4Zn3Mo2 叶生物量最高,比对照(Mg1Zn1Mo1)提高了 77.3%,其次 Mg4Zn2Mo3、Mg4Zn4Mo1 也具有较高的生物量。经正交方差分析,镁、锌、钼不同水平对单株叶生物量的影响均显著(表 3)。LSD 法多重比较结果表明,就叶生物量而言,Mg4 水平显著高于 Mg1 水平,而 Mg2 和 Mg3 水平显著低于 Mg1 水平,因此镁肥最佳水平为 Mg4;Zn3 水平极显著高于 Zn4 和 Zn1 水平,显著高于 Zn2 水平,因此锌肥的最佳水平为 Zn3;Mo2 极显著高于其他水平,Mo3 显著高于 Mo1 和 Mo4,M1 和 Mo4 差异不显著,因此钼肥的最佳水平为 Mo2。经极差分析,镁、锌、钼对单株叶生物量影响的主次顺序为镁 > 钼 > 锌。从多重比较结果和极差分析看,就叶生物量而言,Mg4Zn3Mo2 是最佳组合(表 3)。

表2 镁锌钼配施对银杏苗叶生物量、药用成分含量及其单株产量的影响

Table 2 Effects of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers on leaf biomass, main medical composition contents and their yields per plant of ginkgo seedlings

处理 Treatment	叶生物量 Leaf biomass (g/plant)	总黄酮含量 Tot. flavonoid cont. (mg/g)	总黄酮产量 Tot. flavonoid yield (mg/plant)	萜内酯含量 Terpene trilactone cont. (mg/g)	萜内酯产量 Terpene trilactone yield (mg/plant)
Mg1Zn1Mo1	7.88 ±0.13 efgEF	12.86 ±0.20 bB	101.36 ±3.20 cC	3.32 ±0.17 ghDE	26.14 ±1.72 ghFGH
Mg1Zn2Mo2	9.35 ±0.37 cCD	15.85 ±0.84 aA	148.44 ±13.79 aAB	3.60 ±0.22 fgCDE	33.71 ±3.36 deCDE
Mg1Zn3Mo3	8.93 ±0.60 cdD	10.58 ±0.25 dCD	52.24 ±4.76 gEF	4.12 ±0.29 bcdBC	20.26 ±0.07 ijkHIJ
Mg1Zn4Mo4	8.77 ±0.92 cdDE	10.15 ±0.63 dD	89.43 ±14.89 deCD	3.13 ±0.03 hEF	27.40 ±2.60 fghEFG
Mg2Zn1Mo2	7.39 ±0.65 gF	6.80 ±0.37 hG	50.44 ±7.11 gEF	2.60 ±0.23 iF	19.11 ±0.10 jkIJ
Mg2Zn2Mo1	7.82 ±0.26 fgEF	6.99 ±0.03 ghG	54.66 ±1.62 fgEF	3.75 ±0.15 defgBCD	29.37 ±2.16 efgEFG
Mg2Zn3Mo4	8.55 ±0.21 deDE	7.47 ±0.40 fgEFG	63.95 ±5.06 fE	4.26 ±0.30 bcB	36.38 ±1.64 cdBCD
Mg2Zn4Mo3	6.05 ±0.04 hG	8.20 ±0.08 eE	49.58 ±0.80 gF	5.33 ±0.11 aA	32.27 ±0.42 defDEF
Mg3Zn1Mo3	6.10 ±0.55 hG	8.17 ±0.37 eE	49.99 ±6.77 gEF	3.85 ±0.23 cdefBCD	23.57 ±3.53 hijGHIJ
Mg3Zn2Mo4	6.21 ±0.33 hG	4.84 ±0.02 iH	30.03 ±1.50 hG	3.63 ±0.22 efgCDE	22.52 ±0.16 hijkGHIJ
Mg3Zn3Mo1	4.27 ±0.17 iH	7.38 ±0.18 fghFG	31.54 ±2.00 hG	4.07 ±0.37 bcdeBC	17.41 ±2.25 kJ
Mg3Zn4Mo2	8.48 ±0.14 defDE	11.27 ±0.29 cC	95.61 ±2.49 cdCD	4.36 ±0.13 bB	36.94 ±1.10 cdBCD
Mg4Zn1Mo4	6.33 ±0.05 hG	10.08 ±0.45 dD	63.84 ±3.30 fE	3.85 ±0.39 cdefBCD	24.39 ±2.26 ghiGHI
Mg4Zn2Mo3	10.61 ±0.92 bB	7.92 ±0.10 efEF	84.05 ±8.28 eD	3.98 ±0.20 bcdefBC	42.12 ±1.54 bB
Mg4Zn3Mo2	13.97 ±0.04 aA	11.17 ±0.35 cC	156.06 ±4.51 aA	3.91 ±0.67 bcdefBCD	54.66 ±9.15 aA
Mg4Zn4Mo1	10.25 ±0.21 bBC	13.13 ±0.21 bB	134.58 ±0.70 bB	3.93 ±0.12 bcdefBCD	40.29 ±2.05 bcBC

注(Note):同一列数值后不同小、大写字母分别表示处理间差异达0.05和0.01显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column are significantly different between the treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2.2 镁锌钼肥配施对银杏苗药用成分含量的影响

如表2所示,不同镁、锌、钼配比下银杏叶总黄酮含量变化幅度为4.84～15.85 mg/g,处理间差异极显著($P<0.01$)。Mg1Zn2Mo2总黄酮含量最高,比对照提高了23.3%,Mg4Zn4Mo1也具有较高的总黄酮含量,但与对照差异不显著,而其他处理均低于对照。经正交方差分析,镁锌钼不同水平对总黄酮含量影响均显著(表3)。LSD法多重比较表明,Mg1水平极显著高于其他水平,因此喷施镁肥对总黄酮含量产生了负面影响;Zn4极显著高于其他水平,而Zn2和Zn3水平显著低于Zn1,因此锌肥对叶总黄酮含量影响的最佳水平为Zn4;Mo2极显著高于其他水平,Mo3和Mo4显著低于M1,因此钼肥的最佳水平为Mo2。经极差分析,镁、锌、钼对总黄酮含量影响的主次顺序为镁>钼>锌(表3)。从多重比较结果和极差分析来看,Mg1Zn4Mo2是最佳组合,其总黄酮含量最高(表3)。

由表2可知,不同镁、锌、钼配比下银杏叶萜内酯含量的变化幅度为4.84～15.85 mg/g,处理间差异极显著($P<0.01$)。Mg2Zn4Mo3萜内酯含量最高,比对照提高了60.5%,Mg2Zn3Mo4、Mg3Zn4Mo2也具有较高的萜内酯含量,且极显著高于对照。经正交方差分析,镁、锌、钼不同水平对叶萜内酯含量影响均显著(表3)。LSD法多重比较结果(表3)表明,Mg2、Mg3、Mg4水平间差异不显著,但极显著高于Mg1,说明喷施镁肥对萜内酯含量产生了积极的正面影响;Zn3和Zn4水平间差异不显著,但极显著高于Zn1和Zn2,因此锌肥对叶萜内酯含量影响的最佳水平为Zn4;Mo3极显著高于其他水平,而其他三个处理间差异不显著,因此钼肥对萜内酯含量影响的最佳水平为Mo3。经极差分析,镁、锌、钼对银杏叶萜内酯含量影响的主次顺序为锌>钼>镁

(表 3)。从多重比较结果和极差分析来看,Mg2Zn4Mo3 是最佳组合,其萜内酯含量最高(表 3)。

2.3 镁锌钼肥配施对银杏苗单株药用成分产量的影响

从表2 可知,不同镁、锌、钼配比下单株总黄酮产量的变化幅度为 30.03 ～156.06 mg/plant,处理间差异极显著($P<0.01$)。Mg4Zn3Mo2 总黄酮含量最高,比对照提高了 54.0%,其次 Mg1Zn2Mo2、Mg4Zn4Mo1 也具有较高的单株总黄酮产量。经正交方差分析,镁锌钼不同水平对单株总黄酮产量影响均显著。LSD 法多重比较结果(表 3)表明,Mg4 水平极显著高于其他水平,而 Mg2 和 Mg3 水平均极显著低于 Mg1 水平,因此镁肥喷施的最佳水平为 Mg4;Zn4 水平极显著高于其他水平,而 Zn2 和 Zn3 水平显著高于 Zn1,因此锌肥的最佳水平为 Zn4;Mo2 极显著高于其他水平,Mo3 和 Mo4 显著低于 M1,因此最佳钼肥水平为 Mo2。经极差分析,镁、锌、钼对单株总黄酮产量影响的主次顺序为镁 > 钼 > 锌(表 3)。从多重比较和极差分析来看,Mg4Zn4Mo2 是最佳组合,其单株总黄酮产量最高(表3)。

表2 还显示,不同镁、锌、钼配比下单株萜内酯产量的变化幅度为 17.41 ～54.66 mg/plant,处理间差异极显著($P<0.01$)。Mg4Zn3Mo2 萜内酯产量最高,为对照的 2.09 倍,其次 Mg4Zn2Mo3、Mg4Zn4Mo1 也具有较高的单株萜内酯产量。经正交方差分析,镁锌钼不同水平对单株萜内酯产量影响均显著。LSD 法多重比较结果(表 3)表明,Mg4 水平极显著高于其他水平,因此镁肥喷施的最佳水平为 Mg4;Zn4、Zn3、Zn2 水平间差异不显著,但均显著高于 Zn1 水平,说明锌肥的喷施对单株萜内酯产量有着极显著的促进作用;Mo2 极显著高于其他水平,因此最佳钼肥水平为 Mo2。经极差分析,镁、锌、钼对银杏叶萜内酯产量影响的主次顺序为镁 > 锌 > 钼(表 3)。从多重比较和极差分析来看,Mg4Zn3Mo2 是最佳组合,其单株萜内酯产量最高(表 3)。

2.4 镁锌钼肥配施对叶中镁、锌、钼含量的影响

表 4 表明,叶面配施镁肥使叶中全镁含量增加,其中 Mg2 水平中叶片全镁含量最高。经正交方差分析和 LSD 法多重比较表明,Mg2、Mg3、Mg4 均显著高于未配施镁肥的处理 Mg1($P<0.01$)。而叶面

表 3　各施肥因子水平间叶生物量和药用品质指标多重比较(LSD)

Table 3　LSD multiple comparison on leaf biomass and medicinal quality indexes between the levels of Mg, Zn and Mo

因子 Factor	水平 Level	叶生物量 Leaf biomass (g/plant)	极差 Range	总黄酮 Total flavonoid 含量 Content (mg/g)	极差 Range	总黄酮 Total flavonoid 产量 Yield (mg/plant)	极差 Range	萜内酯 Terpene trilactone 含量 Content (mg/g)	极差 Range	萜内酯 Terpene trilactone 产量 Yield (mg/plant)	极差 Range
Mg	1	8.73 bB	4.03	12.36 aA	5.00	97.87 bB	57.84	3.54 bB	0.45	26.88 bcBC	15.25
	2	7.45 cC		7.37 dD		54.66 cC		3.99 aA		29.28 bB	
	3	6.27 dD		7.92 cC		51.79 cC		3.98 aA		25.11 cC	
	4	10.29 aA		10.58 bB		109.63 aA		3.92 aA		40.37 aA	
Zn	1	6.93 cC	2.01	9.48 bB	1.79	66.41 cC	25.89	3.41 cC	0.78	23.30 bB	10.92
	2	8.50 bAB		8.90 cC		79.30 bB		3.74 bB		31.93 aA	
	3	8.93 aA		9.15 cBC		75.95 bB		4.09 aA		32.18 aA	
	4	8.39 bB		10.69 aA		92.30 aA		4.19 aA		34.23 aA	
Mo	1	7.56 cB	2.33	10.09 bB	3.14	80.54 bB	53.67	3.77 bB	0.70	28.30 bB	8.44
	2	9.80 aA		11.28 aA		112.64 aA		3.62 bB		36.11 aA	
	3	7.92 bB		8.72 cC		58.97 cC		4.32 aA		29.56 bB	
	4	7.47 cB		8.14 dD		61.81 cC		3.72 bB		27.67bB	

注(Note):同一列数值后不同小、大写字母分别表示同一施肥因子处理间差异达 0.05 和 0.01 显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column are significantly different between the treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

配施锌肥降低了叶中全镁的含量,但与未配施锌肥的处理差异不显著;叶面配施钼肥对叶中全镁含量影响与配施锌肥相反,叶面配施钼肥增加了叶中全镁的含量,但与未配施钼肥的处理差异不显著。

叶面配施锌肥使叶中全锌含量增加,其中 Zn4 水平的叶中全锌含量最高;经正交方差分析和 LSD 法多重比较表明,Zn2、Zn3、Zn4 均显著高于未配施锌肥的处理 Zn1($P<0.01$)。而叶面配施镁肥,在高水平下促进叶中全锌的含量积累,其中 Mg3 处理的叶中全锌含量显著高于与未配施镁肥的处理($P<0.05$);叶面配施钼肥,在低水平 Mo2 下提高了叶中全锌含量,且显著高于 Mo 处理,而高水平处理 Mo3 和 Mo4 下叶中全锌含量降低,其中 Mo3 显著低于 Mo1($P<0.05$)。

叶面配施钼肥使叶中全钼含量增加,且随着配施浓度的增加而增加;经正交方差分析和 LSD 法多重比较表明,Mo4 极显著高于未配施钼肥的处理 Mo1($P<0.01$),Mo3 显著高于 Mo1($P<0.05$)。而叶面配施镁肥降低了叶中全钼的含量,且随着镁肥浓度增加而全钼含量降低,但不同水平间差异不显著($P>0.05$);叶面配施锌肥提高了叶中全钼含量,且随着锌肥浓度增加而全钼含量增加,但不同水平间差异不显著($P>0.05$)。

表4 不同配施处理对银杏叶中镁、锌、钼含量的影响(mg/kg)

Table 4 Effects of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers on Mg, Zn and Mo contents of ginkgo leaves

处理 Treatment	全镁含量 Total magnesium content	全锌含量 Total zinc content	全钼含量 Total molybdenum content
Mg1Zn1Mo1	3.716 ±0.097 dB	0.011 ±0.003 hF	0.017 ±0.003 bB
Mg1Zn2Mo2	3.707 ±0.111 dB	0.030 ±0.000 defBCDEF	0.022 ±0.000 bB
Mg1Zn3Mo3	3.676 ±0.212 dB	0.035 ±0.003 cdeBCDE	0.088 ±0.000 abAB
Mg1Zn4Mo4	3.824 ±0.439 cdAB	0.038 ±0.001 bcdABCD	1.090 ±0.015 aA
Mg2Zn1Mo2	4.740 ±0.367 abAB	0.022 ±0.002 efghDEF	0.073 ±0.003 bAB
Mg2Zn2Mo1	4.054 ±0.177 bcdAB	0.026 ±0.001 defgCDEF	0.010 ±0.001 bB
Mg2Zn3Mo4	4.856 ±0.073 aA	0.031 ±0.001 defBCDEF	1.017 ±0.000 abAB
Mg2Zn4Mo3	4.589 ±0.008 abAB	0.031 ±0.001 defBCDEF	0.082 ±0.004 bAB
Mg3Zn1Mo3	4.758 ±0.382 abAB	0.016 ±0.001 fghDEF	0.056 ±0.002 bAB
Mg3Zn2Mo4	4.541 ±0.196 abcAB	0.026 ±0.002 defgCDEF	1.017 ±0.004 abAB
Mg3Zn3Mo1	4.685 ±0.232 abAB	0.046 ±0.005 abcABC	0.015 ±0.001 bB
Mg3Zn4Mo2	4.166 ±0.041 abcdAB	0.060 ±0.001 aA	0.049 ±0.001 bAB
Mg4Zn1Mo4	4.663 ±0.012 abAB	0.015 ±0.001 ghEF	0.057 ±0.004 bAB
Mg4Zn2Mo3	4.353 ±0.333 abcdAB	0.016 ±0.001 fghDEF	0.065 ±0.001 bAB
Mg4Zn3Mo2	4.248 ±0.053 abcdAB	0.060 ±0.003 aA	0.054 ±0.005 bAB
Mg4Zn4Mo1	4.296 ±0.390 abcdAB	0.053 ±0.003 abAB	0.012 ±0.001 bB

注(Note):同一列数值后不同小、大写字母分别表示处理间差异达 0.05 和 0.01 显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column are significantly different between the treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

2.5 镁锌钼肥配施对银杏苗叶总黄酮主要组分含量的影响

表5 表明,镁、锌、钼肥配施影响了银杏叶总黄酮主要组分的含量。与对照相比,Mg1Zn2Mo2、Mg4Zn4Mo1、Mg3Zn4Mo2、Mg1Zn3Mo3、Mg1Zn4Mo4 五个处理的槲皮素含量升高,而其他处理则低于对照,其中 Mg1Zn2Mo2、Mg4Zn4Mo1 处理的槲皮素含量极显著高于对照;镁锌钼肥的喷施降低了山柰素含量,其中对 Mg1Zn2Mo2 的山柰素含量降低程度不显著($P>0.05$),其次是 Mg4Zn4Mo1;除了 Mg1Zn2Mo2 处理

表 5　不同配施处理对银杏叶总黄酮主要组分含量的影响(mg/g)

Table 5　Effects of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers on total flavonoid constituent contents of ginkgo leaves

处理 Treatment	槲皮素含量 Quercetin content	山柰素含量 Kaempferide content	异鼠李素含量 Isorhamnetin content
Mg1Zn1Mo1	1.87 ±0.11 cC	2.9 ±0.17 aA	0.36 ±0.02 bB
Mg1Zn2Mo2	3.08 ±0.06 aA	2.67 ±0.24 bA	0.57 ±0.03 aA
Mg1Zn3Mo3	1.93 ±0.02 cBC	2.00 ±0.06 efgCDEF	0.29 ±0.02 cC
Mg1Zn4Mo4	1.92 ±0.21 cBC	1.95 ±0.04 efghDEF	0.18 ±0.06 fF
Mg2Zn1Mo2	0.81 ±0.02 efEF	1.80 ±0.13 hF	0.10 ±0.04 ghG
Mg2Zn2Mo1	0.84 ±0.02 eEF	1.84 ±0.04 ghF	0.11 ±0.01 gG
Mg2Zn3Mo4	0.84 ±0.11 eEF	1.88 ±0.06 fghEF	0.25 ±0.01 dD
Mg2Zn4Mo3	0.82 ±0.07 efEF	2.22 ±0.11 cdBC	0.22 ±0.01 eDE
Mg3Zn1Mo3	0.88 ±0.03 eEF	2.12 ±0.17 cdeBCDE	0.25 ±0.01 dD
Mg3Zn2Mo4	0.63 ±0.03 fF	1.22 ±0.02 iG	0.08 ±0.01 hGH
Mg3Zn3Mo1	0.64 ±0.06 fF	2.25 ±0.14 cdBC	0.05 ±0.00 iH
Mg3Zn4Mo2	1.95 ±0.14 cBC	2.21 ±0.24 cdBCD	0.33 ±0.01 bB
Mg4Zn1Mo4	1.54 ±0.18 dD	2.30 ±0.02 cB	0.18 ±0.02 fF
Mg4Zn2Mo3	0.91 ±0.01 eE	2.06 ±0.06 defBCDEF	0.18 ±0.01 fF
Mg4Zn3Mo2	1.85 ±0.15 cC	2.30 ±0.02 cB	0.30 ±0.01 cC
Mg4Zn4Mo1	2.16 ±0.22 bB	2.88 ±0.14 aA	0.19 ±0.01 fEF

注(Note):同一列数值后不同小、大写字母分别表示处理间差异达 0.05 和 0.01 显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column are significantly different between the treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

外,镁锌钼肥的喷施总体上降低了异鼠李素含量,其中 Mg3Zn4Mo2 处理的异鼠李素含量降低程度不显著($P>0.05$)。

2.6　镁锌钼肥配施对银杏苗叶中萜内酯主要组分含量的影响

表 6 表明,镁、锌、钼肥配施影响了银杏叶萜内酯主要组分的含量。与对照相比,镁、锌、钼肥配施同时促进了 Mg1Zn2Mo2、Mg1Zn3Mo3、Mg2Zn2Mo1、Mg2Zn3Mo4、Mg2Zn4Mo3、Mg4Zn2Mo3 6 个处理的叶中银杏内脂 A、银杏内脂 B、银杏内脂 C 和白果内脂含量的提高。同时发现,中、高浓度的镁肥对银杏内脂 B 的作用不明显或有一定的抑制作用,但对银杏内脂 A、银杏内脂 C、白果内脂则表现出一定的正效应。

3　讨论与结论

叶用银杏栽培的目的,一是获得最大叶生物量,二是提高银杏叶中药效次生代谢物组分的含量。叶面喷施适量镁、锌、钼微肥,能使营养元素迅速通过叶片进入植株体内各组织器官,调节叶片的营养平衡,提高叶生物量的积累。不同营养元素及其配比对同化光合产物积累分配的作用各异。本研究表明,叶面喷施镁、锌、钼肥可相应地使叶中全镁、全锌、全钼含量增加,而叶面配施锌、钼肥对叶中全镁的含量影响不大,叶面配施镁肥在高水平下促进叶中全锌的含量积累,叶面配施钼肥在低水平 Mo2 下提高了叶中全锌含量,叶面配施镁、锌肥对叶中全钼的含量影响不大。镁、锌、钼对银杏单株叶生物量影响的主次顺序为镁 > 钼 > 锌。最有利于生物量积累的配比处理为 Mg4Zn3Mo2,比对照提高了 77.3%,其次为 Mg4Zn2Mo3、Mg4Zn4Mo1,说明 Mg、Zn、Mo 以一定比例配施对银杏叶干物质积累、营养物质转移和分配均起到一定的积极作用(表 2)。其原因在于配施的 Mg、Zn、Mo 微肥中,镁处于叶绿素卟啉环中央,是叶绿素的主要组成部分,影响细胞的能量代谢及碳水化合物的代谢;锌是一些酶的组

表6 不同配施处理对银杏叶萜内酯主要组分含量的影响(mg/g)

Table 6 Effects of combining application of Mg, Zn and Mo fertilizers on terpene trilactone constituent contents of ginkgo leaves

处理 Treatment	银杏内酯A Ginkgolides A	银杏内酯B Ginkgolides B	银杏内酯C Ginkgolides C	白果内酯 Bilobalide
Mg1Zn1Mo1	1.59 ±0.11 hiEF	0.79 ±0.07 cdBCDEF	0.51 ±0.04 iI	0.43 ±0.01 hF
Mg1Zn2Mo2	1.67 ±0.03 ghiDEF	0.84 ±0.06 bcABCD	0.53 ±0.03 hiHI	0.56 ±0.02 defCDE
Mg1Zn3Mo3	1.74 ±0.14 fghCDEF	0.93 ±0.07 aA	0.73 ±0.04 bcBC	0.72 ±0.04 bB
Mg1Zn4Mo4	1.52 ±0.15 iF	0.71 ±0.07 defEF	0.60 ±0.03 fgFGH	0.30 ±0.02 ijGH
Mg2Zn1Mo2	1.14 ±0.05 jG	0.68 ±0.04 efFG	0.51 ±0.02 iI	0.28 ±0.01 jH
Mg2Zn2Mo1	1.78 ±0.14 efghCDEF	0.82 ±0.05 bcABCDE	0.57 ±0.01 ghGHI	0.58 ±0.04 cdCD
Mg2Zn3Mo4	1.91 ±0.10 cdefBCD	0.88 ±0.08 abABC	0.74 ±0.02 bBC	0.73 ±0.04 bB
Mg2Zn4Mo3	2.66 ±0.16 aA	0.90 ±0.03 abAB	0.93 ±0.04 aA	0.84 ±0.08 aA
Mg3Zn1Mo3	1.98 ±0.14 cdeBC	0.77 ±0.02 cdeCDEF	0.77 ±0.05 bB	0.34 ±0.01 iG
Mg3Zn2Mo4	1.71 ±0.02 ghiCDEF	0.79 ±0.05 cdBCDEF	0.64 ±0.02 efDEF	0.50 ±0.01 gE
Mg3Zn3Mo1	2.05 ±0.18 cdB	0.77 ±0.05 cdefCDEF	0.73 ±0.02 bcdBC	0.52 ±0.04 fgDE
Mg3Zn4Mo2	2.44 ±0.10 bA	0.67 ±0.06 fFG	0.68 ±0.01 eCDE	0.57 ±0.01 defCD
Mg4Zn1Mo4	2.06 ±0.14 cB	0.56 ±0.05 gG	0.61 ±0.04 fgEFG	0.62 ±0.01 cC
Mg4Zn2Mo3	1.86 ±0.17 defgBCDE	0.84 ±0.03 bcABCD	0.68 ±0.04 deCDE	0.61 ±0.02 cdC
Mg4Zn3Mo2	1.96 ±0.06 cdeBC	0.75 ±0.05 cdefDEF	0.67 ±0.03 eCDE	0.53 ±0.01 efgDE
Mg4Zn4Mo1	1.95 ±0.06 cdeBC	0.71 ±0.01 defDEF	0.68 ±0.05 cdeCD	0.58 ±0.03 cdeCD

注(Note):同一列数值后不同小、大写字母分别表示处理间差异达0.05和0.01显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column are significantly different between the treatments at the 0.05 and 0.01 levels, respectively.

分或活化剂,参与光合作用中 CO_2 的水合作用,促进蛋白质代谢;钼是硝酸还原酶的组成元素,直接参与还原反应,能提高硝态氮的还原水平,加速氮的代谢。

营养元素往往控制植物整体的代谢,也对次生代谢产物产生影响。唐新莲等[9]认为在镁缺乏的红土上种植银杏,在合理施用一定的氮肥基础上,增施适量的镁肥,对银杏叶黄酮含量的提高有良好效果。施锌可以促进苦瓜叶片类黄酮的积累,且有轻度缺锌和过量锌促进类黄酮积累的趋势[15]。叶面喷施钼、硼、锰和锌均可以显著提高乌拉尔甘草根中的总黄酮含量[16]。不同营养元素及其配比对次生代谢产物含量和积累的作用存在差异。本研究表明,镁、锌、钼对总黄酮含量和单株产量影响的主次顺序为镁>钼>锌,其中Mg1Zn2Mo2是最有利于总黄酮含量提高的组合,Mg4Zn3Mo2是单株总黄酮产量提高的最佳组合。镁、锌、钼对银杏叶萜内酯含量影响的主次顺序为锌>钼>镁,对单株萜内酯产量的主次顺序为镁>锌>钼,其中Mg2Zn4Mo3的萜内酯含量最高,Mg4Zn3Mo2的单株萜内酯产量最高。同时,镁、锌、钼肥配施还影响了银杏叶总黄酮和萜内酯主要组分的含量和比例。如Mg1Zn2Mo2、Mg1Zn3Mo3处理可能显著提高叶中槲皮素含量,又能促进萜内酯各主要组分提高;镁、锌、钼肥的喷施总体上降低了山柰素和异鼠李素含量;高浓度的镁肥对银杏内酯B的作用不明显或有一定的抑制作用,但对银杏内酯A、银杏内酯C、白果内酯则表现出一定的正效应。

特定营养元素在提高局部组织或器官中药用化合物含量的同时,可能降低植株的初生代谢及生物量,从而影响体内药用化合物的总量。在栽培上,要调控特定的黄酮类活性产物,不仅需要研究营养元素对其含量的影响,更需要研究对生长的影响造成的活性产物总产量变化,从而寻找最优的综合生态因子,以增加活性产物总量,达到活性产物生态调控的目的,进而为生产实践服务。银杏叶药用有效成

分受叶片生长状态和药效次生生物合成与积累两方面的影响,最大生物量的获得是最大次生代谢物质的物质基础与保证。

参 考 文 献:

[1] J. J. 莫尔维德特, P. W. 吉奥尔达诺, W. L. 林赛. 农业中的微量元素(中国农业科学院土壤肥料研究所编译)[M]. 北京: 农业出版社, 1984.
Mortvedt J J, Giordano P M, Lindsay W L. Micronutrients in agriculture(Translated and edited by Soil and Fertilizer Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences) [M]. Beijing: Agriculture Press, 1984.

[2] 楼崇, 唐二春, 汪贵斌, 等. 施肥对苗期银杏叶黄酮质量分数的影响[J]. 浙江林学院学报, 2006, 23(1): 61-64.
Lou C, Tang E C, Wang G B *et al*. Effects of fertilization on flavonoid content of ginkgo biloba leaf in seedling stage[J]. J. Zhejiang For. Coll., 2006, 23(1): 61-64.

[3] 吴家胜, 应叶青, 曹福亮, 张往祥. 施氮对银杏叶产量及黄酮含量的影响[J]. 浙江林学院学报, 2002, 19(4): 372-375.
Wu J S, Ying Y Q, Cao F L, Zhang W X. Effects of nitrogen application on leaf output and flavone content in ginkgo leaves[J]. J. Zhejiang For. Coll., 2002, 19(4): 372-375.

[4] 马丙尧, 韦延海, 马海林, 等. 叶用银杏氮磷钾肥施用比例的研究[J]. 山东林业科技, 2001, 135(4): 17-19.
Ma B Y, Wei Y H, Ma H L *et al*. Study on N, P and K application ratio of leaf-use ginkgo[J]. Shandong For. Sci. Technol., 2001, 135(4): 17-19.

[5] 曹福亮, 郭起荣, 胡松竹, 汪贵斌. 银杏施肥的向量分析[J]. 江西农业大学学报, 2001, 23(1): 89-92.
Cao F L, Guo Q R, Hu S Z, Wang G B. Vector analysis of fertilization to *ginkgo biloba* L. plantation[J]. Acta Agric. Univ. Jiangxiensis (Nat. Sci. Edn.), 2001, 23(1): 89-92.

[6] 谢友超, 曹福亮, 李荣锦, 等. 施肥对叶用银杏生长及叶产量的影响[J]. 江苏林业科技, 2000, 27(6): 9-12.
Xie Y C, Cao F L, Li R J *et al*. The effects of fertilizer on growth and leaf yield in ginkgo leaf producing plantation[J]. J. Jiangsu For. Sci. Technol., 2000, 27(6): 9-12.

[7] 吴家胜, 张往祥, 曹福亮. 氮磷钾对银杏苗生长和生理特性的影响[J]. 南京林业大学学报, 2003, 27(1): 63-66.
Wu J S, Zhang W X, Cao F L. Effects of different application amount of nitrogen, phosphorus and potassium on growth and physiological properties of ginkgo seedling[J]. J. Nanjing For. Univ., 2003, 27(1): 63-66.

[8] 吴家胜, 应叶青, 曹福亮, 等. 施磷对银杏叶产量及黄酮含量的影响[J]. 东北林业大学学报, 2001, 31(1): 17-18.
Wu J S, Ying Y Q, Cao F L *et al*. The effects of phosphorus application on leave output and flavonoid content in leave of ginkgo [J]. J. Northeast For. Univ., 2001, 31(1): 17-18.

[9] 唐新莲, 白厚义, 陈佩琼. 氮、镁对银杏叶黄酮的效应研究[J]. 广西农学报, 2002, (增刊): 115-118.
Tang X L, Bai H Y, Chen P Q. Research of nitrogn, magnesium on flavonoides content of *Ginkgo biloba* L. leaves[J]. J. Guangxi Agric., 2002, (Sppl.): 115-118.

[10] 周新富, 涂友保, 王永, 李秋凤. 银杏增施微量元素试验[J]. 林业科技开发, 2008, 22(4): 100-101.
Zhou X F, Xu Y B, Wang Y, Li Q F. Trials of adding trace element fertilizer to ginkgo[J]. China For. Sci. Tech., 2008, 22(4): 100-101.

[11] 谢寅峰, 李群, 沈惠娟, 等. 稀土对银杏苗木叶内含物及其产量的效应[J]. 南京林业大学学报, 2000, 24(6): 71-74.
Xie Y F, Li Q, Shen H J *et al*. Effects of rare earth elements on some leaf inclusion and leaf yield in seedlings of *Ginkgo biloba* [J]. J. Nanjing For. Unv., 2000, 24(6): 71-74.

[12] Walworth J L, Sumner M E. Alfalfa response to lime, phosphorus, potassium, magnesium, and molybdenum on acid ultisols[J]. J. Fert. Res., 1990, 24(3): 167-172.

[13] 刘贵河, 韩建国, 王堃. 硼、铝、锌与大量元素配施对紫花苜蓿草产量和品质的影响[J]. 草地学报, 2004, 12(4): 268-272.
Liu G H, Han J G, Wang K. Effects of boron, molybdenum, zinc and macronutrients on the yield and quality of Alfalfa[J]. Acta Agres. Sin., 2004, 12(4): 268-272.

[14] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 化学工业出版社, 2000.
Pharmacopoeia Committee of the People's Republic of China. Pharma-copoeia of the People's Republic of China (Vol. Ⅰ) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000.

[15] 叶立华, 蔡之军, 顾掌根, 等. 锌对苦瓜不同生育期叶片保护系统的影响[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(19): 43-46.
Ye L H, Cai Z J, Gu Z G *et al*. Effects of zinc on protect system in leaves of balsam pear in different growth stages[J]. Anhui Agric. Sci. Bull., 2007, 13(19): 43-46.

[16] 梁新华, 张风侠, 王俊, 何文寿. 钼、硼、锰和锌对人工种植乌拉尔甘草品质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(6): 1487-1494.
Liang X H, Zhang F X, Wang J, He W S. Effects of molybdenum, boron, manganese and zinc on quality of cultured Glycyrrhiza uralensis Fisch[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2011, 17(6): 1487-1494.