

• 药材与资源 •

氮、磷和钾肥对灯盏花生长和有效成分积累的影响

苏文华, 张光飞, 王泽明, 周 鸿

(云南大学生态学与地植物学研究所, 云南 昆明 650091)

摘 要:目的 探讨 N、P 和 K 肥在植物生物量和黄酮类次生代谢产物积累中的影响作用, 揭示药用植物生物量积累与次生代谢有效成分积累的关系, 为建立合理的施用技术提供理论基础。方法 以尿素、磷酸和氯化钾 3 种 N、P 和 K 肥按正交设计组成 3 因素 3 水平的 9 个处理组合。用盆栽法比较灯盏花开花植株的生物量、总咖啡酸酯和灯盏乙素的量。结果 生物量适宜高 N、P 和 K 施肥量组合, 有效成分量则偏向低施肥量组合。3 肥素中, N 作用最强, 对生物量积累具有显著的促进作用, 对有效成分积累有显著的抑制作用, 对有效成分产量的作用不显著。P 对有效成分量的作用高于 K, 但对生物量的影响低于 K。K 对有效成分产量的作用最大。结论 N、P 和 K 施肥提高灯盏花药材生物产量时将会导致黄酮等次生代谢有效成分量下降, 但可提高其产量。

关键词:短葶飞蓬; 施肥; 生物量; 黄酮

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2009)12-1963-04

Effects of N, P, and K fertilizers on growth of *Erigeron breviscapus* and its active constituents accumulation

SU Wen-hua, ZHANG Guang-fei, WANG Ze-ming, ZHOU Hong

(Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract; Objective To study the effects of N, P, and K fertilizers on the growth and accumulation of secondary metabolites, to reveal the accumulation relationship between the biomass and the secondary metabolites in medicinal plants in the plantation, and to establish the basic theory of fertilization in medicinal plant culture. **Methods** Orthogonal design was used to study the effects of nine combinations of N, P, and K on the biomass and active constituents in three levels of three factors. While plants flowered, they were harvested, weighed, and smashed. Then contents of N, total coffee esters, and scutellarin were analyzed. **Results** High amount of N, P, and K fertilizers was optimum to the accumulation of biomass, but low amount of N, P, and K fertilizers was optimum to the accumulation of total coffee esters and scutellarin. The N fertilizer significantly increased the biomass and decreased the content of total coffee esters and scutellarin in *Erigeron breviscapus*, but did not affect the active constituents yield. The effect of P on the accumulation of active constituents was higher than that of K, but its effect on the biomass accumulation was lower than that of K. The effect of K on the active constituents yield was the highest. **Conclusion** N, P, and K fertilizers could increase biomass and active constituents yield, nevertheless, decrease the contents of flavonoids in medicinal plants.

Key words: *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz.; fertilization; biomass; flavonoids

药用植物人工种植时, 生物产量取决于初生代谢生物量积累, 而有效成分的量则取决于次生代谢产物的积累。但两类代谢对环境因子的响应有很大不同^[1]。施肥是常用的药用植物增产管理技术措施之一。施肥对植物生长有显著的促进作用, 有时提高次生代谢产物的量^[2], 然而也会导致酚类物质的量降低^[3~5]。目前, 药用植物氮(N)、磷(P)、钾(K)

施用量和合理配比施肥技术研究较少, 缺乏相关的基础理论, 尤其是施肥过程中植株生长与次生代谢积累的关系不清。不合理施肥可能是导致药用资源植物人工栽培后有效成分量下降的原因之一。

灯盏花学名短葶飞蓬 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand.-Mazz., 主要药用成分为黄酮类和咖啡酸酯等次生代谢产物。本研究以灯盏花为研究

收稿日期: 2009-03-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30360009)

作者简介: 苏文华(1962—), 男, 云南昆明人, 教授, 主要从事植物生理生态研究。E-mail: whsu@ynu.edu.cn

对象,探讨 N、P 和 K 肥在植物生物量和黄酮类次生代谢产物积累中的影响作用,揭示药用植物生物量积累与次生代谢有效成分积累的关系,为建立合理的施用技术提供理论基础。

1 研究方法

1.1 施肥试验:栽培基质为未耕作过的红壤,其中速效 N、P 和 K 的量分别为 95.4、3.6 和 98.0 mg/kg。同一无性系的组织培养繁殖试管苗,炼苗成活后移栽入直径 12 cm、高 15 cm 的花盆。一盆一株,每个处理组 10 盆,移栽后第 3 周开始施肥。

以尿素、85% 磷酸和氯化钾配制为 0、12.4、24.8 mg/L 的 3 种 N、P 和 K 素质量浓度的液体肥,按正交设计 L_{3^4} 组成 3 因素 3 水平的 9 个处理组合。每周施一次肥,每盆 100 mL。共施 10 周,9 种处理的总施用量见表 1。

第 11 周以盆为单位收获开花植株,测量地上和地下生物量后分开粉碎进行地上部分含 N 量、总咖啡酸酯和灯盏乙素量分析。由于各处理组开花株数不一,采样数为 5~7 株/处理组。

1.2 植物含 N 量分析:植物 N 量测定采用半微量凯氏定氮法,每份样品 3 个重复。

1.3 灯盏乙素和总咖啡酸酯提取与测定:精密称取 0.04~0.05 g 制备好的植物样品,置于 25 mL 量瓶中,加入 50% 甲醇 20 mL,振荡 5 min 后,超声处理 25 min;取出后定容、滤过待测。

按 2005 年版《中国药典》中灯盏细辛注射液总咖啡酸酯的测定方法,以 1,5-氧-二咖啡酸酰奎宁酸 ($C_{25}H_{24}O_{12}$) 为对照品(中山康之源生物有限公司)。用 50% 甲醇分别配制 0~1.25 mg/mL 的对照品溶液。在 305 nm 波长下测定吸光度,得标准方程 $C=0.176 A+0.000 1$ ($r=0.999$, $P<0.001$)。

精密取出 1 mL 待测液放入量瓶中,再放入 50%

甲醇 10 mL 进行稀释供分光光度仪在 335 nm 测定吸光度值,以吸收系统 ($E_{1\%}^{1cm}$) 为 570 计算出灯盏乙素 ($C_{21}H_{18}O_{12}$) 的量;另在 305 nm 波长下测定其吸光度值,利用标准方程计算测试液总咖啡酸酯的质量浓度,推算出样品总咖啡酸酯的量。有效成分的量与单株生物量的积为其有效成分的产量。

1.4 数据分析:每个种群地段 5~7 份植物实验样品测定结果的平均数为种群地段的量,进行回归分析的数据,先作是否正态分布检验。只有通过 F 检验否认回归系数为零的假设,具有显著或极显著性意义的方程才被列出。统计分析用 SPSS 13.0 软件进行。

2 结果

2.1 N、P 和 K 组合施肥对灯盏花生物量与有效成分量及产量的影响:方差分析显示不同 N、P 和 K 施肥处理组间,灯盏花地上生物量、地下生物量和地上部分灯盏乙素及总咖啡酸酯的量及产量会有显著性差异(表 1)。地下生物量和地上生物量最高的比最低的分别增加了约 80% 和 47%,地上部分灯盏乙素及总咖啡酸酯的量最低的比最高的都减少了约 35%,地上部分灯盏乙素及总咖啡酸酯的产量最高的比最低的都增加了约 43% 和 41%。9 组施肥组合中,第 9 处理组地上生物量相对高于其他处理组,第 2 和 3 处理组灯盏乙素和总咖啡酸酯的量显著高于其他处理组,而第 3、5 和 9 处理组灯盏乙素和总咖啡酸酯产量显著高于其他处理组。利于生物量积累的最适组合与利于次生代谢有效成分积累的组合不重合,地上生物量积累适宜高 N、P 和 K 施肥量组合,次生代谢有效成分则偏向低施肥量组合。但土壤过低的 N、P 和 K 供应量(第一处理组),既不利于生物量积累,也不利于次生代谢有效成分积累(表 1)。

2.2 N、P 和 K 肥对灯盏花生物量与有效成分量及

表 1 9 个处理 N、P 和 K 施用量及生物量和有效成分的量及产量的比较

Table 1 Comparison of N, P, and K fertilizers among biomass, active constituents, and yields of plants cultivated in nine fertilization treatments

处理组	N	P	K	地下生物量/ (g·株 ⁻¹)	地上生物量/ (g·株 ⁻¹)	总生物量/ (g·株 ⁻¹)	地上部分灯盏 乙素/(mg·g ⁻¹)	地上部分总咖啡 酸酯/(mg·g ⁻¹)	地上部分灯盏乙素 产量/(mg·株 ⁻¹)	地上部分总咖啡酸酯 产量/(mg·株 ⁻¹)
1	0	0	0	0.991 2±0.532 6abc	1.841 5±0.088 3ab	2.832 7±0.523 2ab	67.7±2.2a	98.4±6.6a	124.6±5.9a	180.8±5.4a
2	0	0.124	0.124	0.436 7±0.018 3a	1.724 2±0.346 3a	2.160 9±0.364 4a	100.1±2.9c	142.9±4.9c	171.9±30.2bc	245.1±41.1bc
3	0	0.248	0.248	0.784 9±0.171 7ab	1.993 9±0.310 3ab	2.778 8±0.247 8ab	103.7±10.9c	144.6±15.5c	205.1±25.4cd	285.5±30.6cd
4	0.124	0	0.124	1.254 5±0.471 9bc	2.281 5±0.117 1bc	3.536 0±0.522 0bcd	69.7±1.9a	100.1±3.0a	159.0±9.3b	228.4±13.9b
5	0.124	0.124	0.248	0.954 2±0.347 5abc	2.166 6±0.122 3abc	3.120 7±0.461 1bc	87.1±3.6b	121.1±5.2b	188.4±7.1bcd	261.8±6.5bcd
6	0.124	0.248	0	2.083 2±0.163 0d	2.326 1±0.124 2bc	4.409 3±0.169 1ef	69.0±1.7a	99.2±3.0a	160.6±9.8b	230.7±14.9b
7	0.248	0	0.248	1.452 0±0.458 2bc	2.549 9±0.385 2c	4.001 9±0.655 3def	68.3±1.6a	96.3±2.0a	174.3±27.8bc	245.8±38.7bc
8	0.248	0.124	0	1.211 3±0.210 9bc	2.538 8±0.177 6c	3.750 1±0.388 4cde	70.1±0.8a	98.2±1.1a	177.9±13.0bc	249.2±18.3bc
9	0.248	0.248	0.124	1.585 3±0.075 2c	3.237 1±0.351 3d	4.701 6±0.487 5f	67.5±1.2a	93.8±1.5a	218.7±25.1d	303.8±33.7d

不同字母表示处理组间有显著性差异 ($P<0.05$)

Different letters denote significant differences among treatment groups ($P<0.05$)

产量影响的方差分析:为了分析 N、P 和 K 各自对生物量和次生代谢有效成分积累的影响作用,对 9 个处理组进行了方差分析(表 2)。结果显示,3 元素中,N 对生物量和有效成分量的作用都是最强,但对有效成分产量的作用较弱。P 对有效成分量的作用高于 K,但对生物量和有效成分产量的影响低于 K。K 对有效成分产量的作用高于 N 和 P,对有效成分量作用最弱。

表 2 9 个处理组植株的生物量和次生代谢有效成分方差分析的 F 值

Table 2 F values from analysis of variance for biomass and active constituents of secondary metabolites in nine treatments						
因素	地上生物量	地下生物量	地上部分灯盏乙素	地上部分总咖啡酸酯	地上部分灯盏乙素产量	地上部分总咖啡酸酯产量
N	32.815**	10.015**	95.153**	79.917**	1.144	0.872
P	2.096	2.374	33.269**	31.711**	3.5381*	3.872*
K	9.791**	8.713**	3.986*	3.339*	3.835*	3.920*

“*”表示有显著性意义 ($P<0.05$)
“**”表示有极显著性意义 ($P<0.01$)
“*”denotes significance at $P<0.05$
“**”denotes significance at $P<0.01$

2.3 N、P 和 K 肥对灯盏花生物量与有效成分量及产量影响的线性回归分析:由于方差分析不能表现各元素的作用方向,对数据再进行线性回归分析。N、P 和 K 与地上和地下生物量以及 2 种次生代谢产物的量都可建立有显著性意义的三元线性方程。然而,2 种次生代谢产物的方程中,只有 N 的回归系数具有显著性意义,P 和 K 的没有显著性意义(表 3)。按标准化系数的数值在 3 种元素对次生代谢产物的影响作用中,N 的贡献占了近 70%,对总咖啡酸酯和灯盏乙素的积累都表现出抑制作用(表 3)。N 肥对药用植物黄酮类次生代谢产物的抑制作用,在黄芩中的黄芩苷^[4]和荞麦^[6]及甘草^[7]中黄酮的施肥中也有发现。N 胁迫提高植物黄酮等酚酸类次生代谢产物量的现象普遍存在^[5,8]。

在与生物量建立的方程中,N 肥的回归系数都具有显著性意义,K 对地上部分生物量有显著性意义,但 P 对地上部分生物量的影响不显著。按标准化系数的数值在 3 种元素对生物量的影响作用中,N 的贡献占了 70%以上,对生物量积累都表现出显著的促进作用。N 对生物量积累的影响作用与 2 种有效成分积累的作用相反。

在 3 种元素对有效成分产量的影响作用中,K 的贡献约占 60%,N 贡献了约 37%,都表现为促进作用,P 作用不显著(表 3)。

表 3 N、P 和 K 肥施用量与灯盏花有效成分量和生物量线性回归模型系数及检验分析

Table 3 Liner regression of active constituents and biomass of <i>E. breviscapus</i> against amount of N, P, and K fertilizers		非标准化系数		标准化系数	t	显著性
项目	因素	系数	标准误			
地上生物量	常数	1.820	0.111		16.389	0.000
	N	0.401	0.045	0.825	8.837	0.000
	P	-0.162	0.077	-0.220	-2.097	0.043
	K	0.173	0.048	0.368	3.591	0.001
地下生物量	常数	0.667	0.180		3.717	0.001
	N	0.257	0.074	0.487	3.456	0.003
	P	0.108	0.127	0.135	0.850	0.400
	K	0.056	0.079	0.110	0.711	0.481
地上部分灯盏乙素量	常数	115.555	5.253		21.996	0.000
	N	-13.597	2.176	-0.706	-6.248	0.000
	P	5.304	3.707	0.181	1.431	0.161
	K	3.672	2.303	0.198	1.595	0.119
地上部分总咖啡酸酯量	常数	80.306	3.922		20.478	0.000
	N	-9.149	1.624	-0.661	-5.632	0.000
	P	3.843	2.767	0.183	1.389	0.173
	K	3.153	1.719	0.236	1.834	0.075
地上部分灯盏乙素产量	常数	145.071	9.668		15.005	0.000
	N	-10.362	4.005	0.337	2.587	0.014
	P	-2.176	6.823	-0.047	-0.319	0.752
	K	17.311	4.238	0.583	4.085	0.000
地上部分总咖啡酸酯产量	常数	208.551	12.710		16.408	0.000
	N	13.042	5.265	0.325	2.477	0.018
	P	-2.505	8.969	-0.041	-0.279	0.782
	K	22.372	5.571	0.578	4.016	0.000

2.4 增施 N、P 和 K 肥灯盏花生物量与有效成分和产量的关系:前面的研究显示,N、P 和 K 肥对灯盏花生物量积累与次生代谢有效成分量积累的影响作用相反。按此推测生物量积累与次生代谢产物积累存在权衡关系,为此进行了它们之间的相关分析。增施 N、P 和 K 肥时灯盏花地上部分生物量与总咖啡酸酯和灯盏乙素量都呈现出非常显著的负相关($r=-0.53, P<0.001; r=-0.588, P<0.001$),并具有非常显著的幂函数关系($F=18.36, P<0.001; F=25.79, P<0.001$;图 1)。低生物量阶段,随着生物量升高有效成分量迅速下降,到达一定生物量后,生物量再升高次生代谢有效成分量下降速度逐渐缓慢。增施 N、P 和 K 肥提高生物量积累的同时,植株总咖啡酸酯和灯盏乙素的量下降。

然而,地上生物量与 2 种有效成分的产量则呈现出极显著的正相关($r=0.669, P<0.001; r=0.668, P<0.001$),并具有非常显著的线性关系($F=31.55, P<0.001; F=31.47, P<0.001$;图 1)。

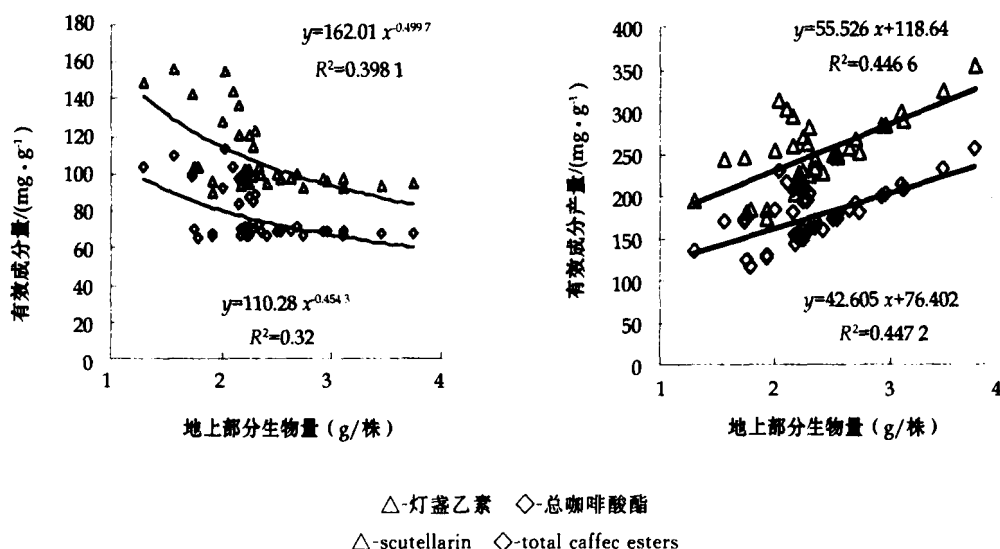


图1 N、P和K施肥处理灯盏花生物量与有效成分量的关系

Fig. 1 Relationship between biomass and active constituents of *E. breviscapus* in treatments of N, P, and K fertilization

3 讨论与结论

N、P和K肥对灯盏花生物产量和黄酮及咖啡酸酯的积累有显著的影响作用,但作用的强度和性质各自有所不同。N、P和K组合施肥对药用植物生物量积累与次生代谢有效成分积累的作用相反,生物量适宜高N、P和K施肥量组合,次生代谢有效成分则偏向低施肥量组合。但土壤N、P和K供应过低,如第1组合,也不利于次生代谢有效成分积累。N、P和K施肥过程中,药用植物生物量积累与酚类次生代谢有效成分积累的变化规律相反。结果与植物次生代谢产物合成积累的碳素/营养平衡假说、生长/分化平衡假说和资源获得假说一致^[9]。植株生长与次生代谢产物积累间存在权衡关系(trade offs)^[3,10],植株生物量与次生代谢产物的量呈负相关。以黄酮类次生产物为有效成分的药用植物种植时,难以做到既高产又优质。如何施肥平衡生物量积累与有效成分积累是这类药用植物人工种植成功的关键问题之一。

尽管有效成分量与生物量为负相关,但高生物量与有效成分产量呈极显著的正相关。灯盏花药材主要用于提取有效成分生产药品,在保证提取工艺和效益对有效成分量的基本要求的前提下,可通过增施N、P和K肥增加人工种植药材的生物产量提高有效成分的产量。这样,可在一定程度上增加单位面积土地的生产效率。

次生代谢产物积累与生长在环境条件需求方面存在矛盾,是以次生代谢产物为有效成分的药用植物种植、健康保健植物或天然产物原料植物的难题。如何施肥平衡生物量积累与有效成分积累是药用植

物等人工种植成分的关键问题之一。

3种肥料中,无论是对次生代谢产物积累,还是生物量积累N肥显示出具有显著的影响作用。方差分析K和P对次生代谢产物也有一定作用,而回归分析结果多数没有显著性意义,没能有效地揭示它们的影响作用规律。按多元方差分析结果的“F”值大小和回归方程中3养分的标准化系数大小,以相同量增施3种肥时,N的作用强度大约是P和K的3倍以上,P和K的影响作用可能被N的作用抵消或掩饰。因此,为了让K或P影响作用凸显出来,应该采取单因子控制实验设计或适当加大P和K肥的梯度。

参考文献:

- [1] 孔垂华,徐涛,胡飞,等.环境胁迫下植物的化感作用及其诱导机制[J].生态学报,2000,20:849-854.
- [2] 刘大会,朱端卫,周文兵,等.氮、磷、钾配合施用对福田白菊产量和品质的影响[J].中草药,2006,37(1):125-129.
- [3] Walls R, Appel H, Cipollini M, et al. Fertility, root reserves and the cost of inducible defenses in the perennial plant *Solanum carolinense* [J]. *J Chem Ecol*, 2005, 31: 2263-2288.
- [4] 张燕,刘勇,王文全,等.氮磷钾肥对黄芩产量及黄芩苷含量的影响[J].中药材,2007,30(4):286-287.
- [5] Montanari M, Degl'Innocenti E, Maggini R, et al. Effect of nitrate fertilization and saline stress on the contents of active constituents of *Echinacea gustifolia* DC. [J]. *Food Chem*, 2008, 107: 1461-1466.
- [6] 臧小云,刘丽萍,蔡庆生.不同供氮水平对荞麦茎叶中黄酮含量的影响[J].南京农业大学学报,2006,29(3):28-32.
- [7] 李明,张清云,蒋齐,等.氮磷钾互作效应对甘草黄酮含量影响的初步研究[J].土壤通报,2007,38(2):301-304.
- [8] Stewart A J, Chapman W, Jenkins G I, et al. The effect of nitrogen and phosphorus deficiency on flavonol accumulation in plant tissues [J]. *Plant Cell Environ*, 2001, 24: 1189-1197.
- [9] Bryant J P, Chapin F S, Klein D R. Carbon/nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory [J]. *Oikos*, 1983, 40: 357-368.
- [10] Glynn C, Herms D A, Egawa M, et al. Effects of nutrient availability on biomass allocation as well as constitutive and rapid induced herbivore resistance in poplar [J]. *Oikos*, 2003, 101: 385-397.