

氮、磷、钾配施对华重楼根茎的产量和有效成分含量的影响

刘哲¹, 钟海蓉¹, 威则日沙¹, 杨正明^{2*}, 陈雨³, 刘圆^{2*}

1. 西南民族大学药学院, 四川 成都 610041

2. 西南民族大学民族医药研究院, 四川 成都 610041

3. 四川农业大学农学院, 四川 成都 611130

摘要: 目的 研究不同梯度水平氮、磷、钾肥对华重楼根茎的产量和品质的影响, 确定华重楼植物的最适施肥方案, 为合理施肥提供科学依据。方法 采用3因素5水平2次通用旋转组合设计进行田间试验, 研究氮、磷、钾肥配施对华重楼根茎的产量总皂苷含量、灰分、水分和浸出物的影响。结果 建立的回归方程均达到显著水平; 当施用氮肥 41.66~52.60 kg/hm²、磷肥 181.38~244.38 kg/hm²、钾肥 24.16~35.20 kg/hm² 时, 华重楼根茎的增重率大于 81.72%; 当施用氮肥 45.48~53.83 kg/hm²、磷肥 179.98~236.83 kg/hm²、钾肥 29.80~39.95 kg/hm² 时, 华重楼根茎的总皂苷含量大于 11.09%; 当施用氮肥 28.01~37.79 kg/hm²、磷肥 127.18~209.18 kg/hm²、钾肥 25.27~34.09 kg/hm² 时, 华重楼根茎的浸出物含量大于 14.31%。结论 氮、磷、钾肥配施有利于华重楼根茎的增重率、总皂苷含量和浸出物含量的提高, 华重楼植物的最佳施肥量为氮肥 37.79~45.48 kg/hm²、磷肥 181.38~209.18 kg/hm²、钾肥 29.80~34.09 kg/hm²。

关键词: 华重楼; 氮磷钾配施; 产量; 总皂苷; 浸出物; 最优施肥量

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)24-6103-11

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.24.027

Effects of combined application of N, P and K on yield and active ingredient content of rhizome of *Paris polyphylla* var. *chinensis*

LIU Zhe¹, ZHONG Hai-rong¹, WEIZE Ri-sha¹, YANG Zheng-ming², CHEN Yu³, LIU Yuan²

1. School of Pharmacy, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

2. Ethnic Medicine Institute, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

3. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: Objective To research the effects of different gradient levels of N, P, and K of rhizome of *Paris polyphylla* var. *chinensis* yield and quality, determine the optimal fertilization scheme and provide a scientific basis for rational fertilization. **Methods** The three-factor five-level quadratic general rotation combination design was adopted for field experiment, correlation measurement and data analysis were carried out, and the effects of combined application of N, P, and K on weight gain rate, total saponin content, ash, moisture and extracts were investigated. **Results** The established regression equations reached significant levels. When applying 41.66—52.60 kg/hm² of N, 181.38—244.38 kg/hm² of P, 24.16—35.20 kg/hm² of K, the rhizome weight gain rate of *P. polyphylla* var. *chinensis* was greater than 81.72%; When applying 45.48—53.83 kg/hm² of N, 179.98—236.83 kg/hm² of P, 29.80—39.95 kg/hm² of K, the total saponin content in the rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* was greater than 11.09%; When applying 28.01—37.79 kg/hm² of N, 127.18—209.18 kg/hm² of P, 25.27—34.09 kg/hm² of K, the extract content of the rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* was more than 14.31%. **Conclusion** The optimum fertilization amount on the rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* was as follow: 37.79—45.48 kg/hm² of N, 181.38—209.18 kg/hm² of P, and 29.80—34.09 kg/hm² of K.

Key words: *Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara.; combined application of N, P and K; yield; total saponin content; extract content; optimal fertilization amount

收稿日期: 2019-04-06

基金项目: 国家重点研发计划 (2018YFC1708005); 阿坝州科技条件能力建设和技术推广示范项目 (18TJPT0004); 西南民族大学研究生创新型科研项目 (CX2018SZ82)

作者简介: 刘哲 (1994—), 女, 辽宁本溪人, 硕士研究生, 主要从事少数民族药物研究。E-mail: 582025952@qq.com

*通信作者 杨正明, 男, 博士研究生, 主要从事川产道地药材生理生态与栽培研究。E-mail: yzmsau@163.com

刘圆, 教授, 博士生导师, 从事少数民族药物研究和教学。Tel: (028)85528812 E-mail: 499769896@qq.com

华重楼为百合科植物七叶一枝花(华重楼)*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara. 的干燥根茎,为《中国药典》收载的二基原药材“重楼”的来源之一^[1],以下统称“华重楼”,具有抗肿瘤、抗菌消炎、止血、镇静镇痛以及免疫调节作用^[2]。华重楼植物对生长环境要求高,其种子自然萌发率低,生长缓慢。目前,由于重楼市场需求日益增加,野生资源过度采挖、资源再生慢,导致重楼资源日趋濒危^[3],开展华重楼植物的规范化种植研究刻不容缓。大量研究表明,氮、磷和钾肥的施用会显著影响中草药的生长发育及药效成分的积累,混合施用比单独施用效果更佳,且配施有机肥、无机肥和复合肥等,既能保证土壤养分供应,又能改良土壤,可大幅度提高药材单位面积产量和质量^[4-7]。但不同药材对于氮磷钾的需求比例不同,单一肥量过高或过低都将影响药材的生长发育^[8-9]。

目前对华重楼植物的研究主要集中在化学成分^[10-12]、药理作用^[13-15]和药材资源^[16-18]等方面,关于栽培技术的研究,主要集中在繁育方法、田间管理等方面^[18-21],虽有研究者对华重楼进行盆栽实验的施肥研究^[22],但由于植物生长受海拔、温度、土壤等环境因素影响,盆栽实验不能完全复原大田试验,因此有必要进行大田施肥试验,以通过规范化的栽培试验提高华重楼根茎的产量和品质。本实验采用 3 因素 5 水平二次回归通用旋转组合设计方法,通过对不同比例的氮、磷、钾肥配比施用对华重楼根茎的产量和品质的影响的研究,明确华重楼根茎高产的优质最佳施肥方案,以实现华重楼植物肥料施用的减量增效,为华重楼植物专用配方肥和其合理施用等有关标准的制定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

材料为七叶一枝花(华重楼)植物的栽培品种,由四川省成都市汶川县水磨镇白石村人工种植重楼基地提供,经西南民族大学刘圆教授鉴定为百合科植物七叶一枝花(华重楼)*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara., 以下统称华重楼。

1.2 仪器与试剂

TU-1950 型双光束紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);DHG-9246 型电热恒温鼓风干燥箱(上海精宏实验设备有限公司);IKA RV10 型旋转蒸发仪[艾卡(广州)仪器设备有限公司

(IKA, 中国)];KQ-250B 型超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司);ESJ200-4 型电子天平(沈阳龙腾电子有限公司);HH-2 型数显恒温水浴锅(国华电器有限公司);HX-200 型高速中药粉碎机(浙江永康溪岸五金药具厂)。

尿素(总 N $\geq$ 46.4%,四川宏泰生化有限公司);过磷酸钙($P_2O_5 \geq 12\%$,四川省成都市青白江区磷肥厂);硫酸钾($K_2O \geq 60\%$,国投新疆罗布泊钾盐有限责任公司);重楼皂苷 I 对照品(批号 50773-41-6),成都曼斯特生物有限公司,质量分数为 98.00%);其余试剂为市售分析纯,水为屈臣氏纯净水。

2 方法

2.1 实验设计

实验在四川省成都市汶川县水磨镇白石村人工种植重楼基地进行。实验地土壤肥力状况:pH 值为 7.50;有机质为 32.36 mg/kg;碱解氮为 158.67 mg/kg;速效磷为 51.67 mg/kg;速效钾为 236.71 mg/kg。采用 3 因素 5 水平 2 次通用旋转组合设计方法,设置氮、磷、钾肥 3 个因素、5 个水平,建立了氮、磷、钾施肥量与产量和总皂苷关系的效应方程,并折算成单位面积 667 m²(亩),因素与水平设计见表 1。实施方案见表 2。小区随机安排于实验地中,见图 1。

2.2 栽培方法

华重楼植物于 2016 年 8 月栽种,小区面积 2 m $\times$ 8 m=16 m²,株距 30 cm、行距 20 cm,每个小区栽种 70 株,在栽培前无任何施肥。后期,除肥料施用外,其他处理与基地管理一致。

2.3 施肥方法

氮、磷和钾肥均做追肥施用,分别在华重楼植物的齐苗期、开花期(施用 2 次)和挂果期施用,用量为总量的 15%、25%、30%和 30%,施用与小区土壤混匀后撒施。

2.4 指标测定方法

2.4.1 华重楼植物生长指标的测定 分别按每小区 5 株随机取样,统计华重楼植物的植株须根数;用直尺及游标卡尺测量株高、茎粗、茎基粗、根茎粗、最长须根长及最大叶长宽,计算最大叶面积;称量根茎鲜质量,并分别记录。

2.4.2 华重楼根茎的品质检查 按照《中国药典》2015 年版第四部水分测定法^[1]、灰分测定法^[1]、酸不溶性灰分测定法、醇溶性浸出物测定法^[1]测定华

表 1 因素水平表
Table 1 Factor and level

水平	因素			实际施肥量/(kg·亩 ⁻¹)		
	N	P	K	N (尿素)	P (过磷酸钙)	K (硫酸钾)
-1.681 8	0	0	0	0	0	0
-1	6.14	8.18	6.14	13.34	68.18	12.03
0	15.14	20.18	15.14	32.90	168.18	29.68
1	24.14	32.18	24.14	52.47	268.18	47.33
1.681 8	30.28	40.36	30.28	65.81	336.36	59.36
变幅	9	12	9			

表 2 试验设计与实施方案
Table 2 Experimental design and implementation plan

编号	码值方案			每小区施肥量/g		
	N (X_1)	P (X_2)	K (X_3)	N (尿素)	P (过磷酸钙)	K (硫酸钾)
1	1	1	1	1 258.65	6 433.10	1 135.25
2	1	1	-1	1 258.65	6 433.10	288.62
3	1	-1	1	65.00	1 635.50	1 135.25
4	1	-1	-1	1 258.65	1 635.50	288.62
5	-1	1	1	319.99	6 433.10	1 135.25
6	-1	1	-1	319.99	6 433.10	288.62
7	-1	-1	1	319.99	1 635.50	1 135.25
8	-1	-1	-1	319.99	1 635.50	288.62
9	-1.681 8	0	0	0.00	4 034.30	711.94
10	1.681 8	0	0	1 578.64	4 034.30	711.94
11	0	-1.681 8	0	789.32	0.00	711.94
12	0	1.681 8	0	789.32	8 068.61	711.94
13	0	0	-1.681 8	789.32	4 034.30	0.00
14	0	0	1.681 8	789.32	4 034.30	1 423.87
15	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94
16	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94
17	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94
18	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94
19	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94
20	0	0	0	789.32	4 034.30	711.94

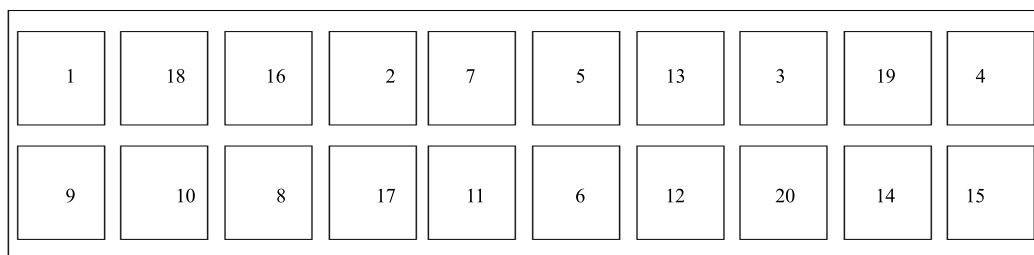


图 1 小区随机排布图
Fig. 1 Plot random layout

重楼根茎中的水分、灰分和醇溶性浸出物。

2.4.3 华重楼根茎的增重率测定 2017 年 9 月 28 日, 在华重楼植物最后 1 次施肥后 1 个月, 分别按照试验小区的编号测定质量, 并折算成每 667 m² (亩) 的增加质量, 再与施肥前 1 个月的根茎质量计算根茎增重率。

2.4.4 华重楼根茎总皂苷的测定

(1) 对照品溶液的制备: 精密称取重楼皂苷 I 对照品 5.06 mg, 用甲醇溶液定容到 25 mL 量瓶中, 即得对照品溶液。

(2) 供试品溶液的制备: 华重楼原药材根茎洗净后, 50 ℃烘干粉碎后, 过 3 号筛, 即得根茎粉末。取样品粉末, 精密称定 0.50 g, 用 50 mL 甲醇溶解于具塞锥形瓶中, 静置浸泡 4 h 后超声提取 30 min, 以 5 000 r/min 转速离心 5 min, 滤过。上述操作重复 1 次, 合并 2 次滤液, 45 ℃减压旋蒸回收至干, 残渣用甲醇溶解, 定容至 10 mL 量瓶, 作为供试品溶液^[23-24]。

(3) 标准曲线的绘制: 取对照品溶液, 精确量取 0.50、1.00、1.50、2.00、2.50、3.00、3.50 mL, 分

别置于 7 个 10 mL 比色管中, 80 ℃水浴挥干甲醇, 取出, 分别加入高氯酸 5 mL, 摇匀后加塞, 于 60 ℃水浴 15 min 后, 冰水浴迅速冷却降温, 于 406 nm 处测定吸光度 (*A*), 以甲醇为空白对照^[25-27]。以重楼皂苷 I 对照品含量为横坐标 (*X*), *A* 值为纵坐标 (*Y*), 制作标准曲线, 得到线性回归方程为 $Y=0.006\ 8\ X+0.028\ 6$, $r^2=0.999\ 4$ 。结果表明, 在 20.24~141.68 μg/mL 内重楼皂苷 I 对照品溶液与 *A* 值呈较好的线性关系。按照标准曲线绘制下的方法, 测定 *A* 值, 根据标准曲线方程计算出供试品溶液中重楼皂苷 I 的质量。

2.5 数据分析与处理

数据使用 Excel 2010 软件进行数据的换算和预处理, 根据 DPS 7.05 数据处理系统对数据进行回归模型的建立, 并制图和分析。

3 结果与分析

3.1 不同施肥量下华重楼植物的生长指标测定

将每个小区中的华重楼植物随机选择 5 株从土中挖出, 按照“2.4.1”项下统计。测得华重楼植物生长指标见表 3。

表 3 不同施肥处理对华重楼植物生长指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n=5$)

Table 3 Effect of different fertilization treatments on growth index of *P. polyphylla* var. *chinensis* ($\bar{x} \pm s, n=5$)

编号	株高	叶面积/cm ²	茎粗/cm	茎基粗/cm	根茎粗/cm	须根数/根	最长须根长/cm	根茎鲜质量/g
1	67.43±14.60	29.92±4.29	0.80±0.18	2.90±0.45	3.40±0.37	27.75±5.91	21.55±6.40	49.30±7.68
2	68.03±12.24	32.34±5.16	0.83±0.13	2.95±0.17	3.03±0.40	23.75±4.86	22.00±6.82	34.06±12.24
3	58.28±5.40	33.81±7.36	0.78±0.17	2.93±0.39	2.48±0.34	24.50±5.45	21.53±1.46	27.08±6.96
4	64.75±13.99	45.29±16.24	0.88±0.10	3.38±1.05	3.37±0.81	18.00±5.60	20.38±4.75	48.74±5.59
5	51.23±11.68	33.12±19.93	0.68±0.15	3.00±0.67	2.50±0.50	16.25±13.99	19.38±8.26	27.22±6.42
6	53.20±20.55	32.00±7.83	0.64±0.17	2.72±0.36	3.28±0.78	22.40±8.81	17.84±3.20	47.52±4.97
7	59.98±17.09	40.57±17.24	0.70±0.16	2.95±0.37	3.50±0.60	29.00±5.29	18.48±2.65	39.02±5.43
8	62.15±1.60	44.1±15.69	0.85±0.19	3.50±0.50	2.95±1.19	27.25±7.80	19.05±2.09	47.06±9.71
9	57.13±1.15	23.13±9.33	0.83±0.13	2.78±0.60	3.33±0.22	20.25±4.43	22.08±6.66	42.28±7.02
10	49.38±18.70	26.83±9.67	0.75±0.17	2.85±0.68	3.00±0.87	25.50±10.97	20.53±6.95	29.68±8.90
11	60.73±18.01	31.33±12.63	0.65±0.10	2.53±0.92	3.50±0.71	17.50±4.12	17.80±2.59	43.92±9.79
12	51.53±7.81	31.16±11.86	0.85±0.19	2.60±0.14	3.50±1.14	21.50±15.80	23.40±11.21	47.98±6.08
13	52.73±3.33	29.64±13.70	0.78±0.17	2.40±0.98	3.58±0.74	12.35±6.69	15.58±3.69	45.24±4.82
14	59.63±11.26	27.45±11.49	0.75±0.19	3.13±0.48	3.50±0.50	18.75±6.02	20.83±6.88	42.22±4.27
15	42.23±4.04	27.72±15.03	0.75±0.21	3.08±0.47	2.90±1.02	28.50±12.77	16.60±4.31	34.84±10.87
16	50.18±7.18	31.14±3.63	0.65±0.06	2.85±0.17	3.20±0.39	29.25±4.50	25.85±6.14	33.26±8.16
17	59.13±15.13	35.79±12.86	0.85±0.24	3.15±0.47	2.88±0.06	21.75±4.11	19.63±4.64	39.92±4.82
18	66.73±4.52	29.71±2.62	0.80±0.14	3.15±0.24	3.10±0.70	18.50±5.92	17.43±3.39	36.62±5.78
19	55.38±10.46	34.39±19.33	0.75±0.17	3.10±0.74	3.60±1.05	20.25±10.21	22.03±6.87	49.64±5.46
20	54.85±13.97	35.72±10.63	0.73±0.10	3.00±0.34	3.85±0.69	22.00±6.48	21.48±2.99	38.72±5.73

由表 3 可知, 由于施肥量的不同, 其株高、须根数、茎粗、茎基粗、根茎粗、叶面积、最长须根长、根茎鲜质量均有差异。株高的平均范围在 68.03~42.23 cm, 其中 2 号小区平均株高最高, 15 号小区平均株高最小, 整体平均株高为 57.23 cm; 叶片面积的平均范围在 45.29~23.13 cm², 其中 4 号小区平均叶面积最大, 9 号小区平均叶面积最小, 整体平均叶面积为 32.76 cm²; 茎粗的平均范围在 0.88~0.64 cm, 其中 4 号小区平均株高最高, 6 号小区平均株高最小, 整体平均株高为 0.77 cm; 茎基粗的平均范围在 3.50~2.40 cm, 其中 8 号小区平均茎基粗最粗, 13 号小区平均茎基粗最细, 整体平均茎基粗为 2.95 cm; 根茎粗的平均范围在 3.85~2.48 cm, 其中 20 号小区平均根茎粗最粗, 3 号小区平均根茎粗最细, 整体平均根茎粗为 2.95 cm; 须根数的平均范围在 29.25~12.35 个, 其中 16 号小区平均须根数最多, 13 号小区平均须根数最少, 整体平均株高为 22.25 cm; 最

长须根长的平均范围在 25.85~15.58 cm, 其中 16 号小区平均最长须根长最长, 13 号小区平均最长须根长最短, 整体平均最长须根长为 20.17 cm; 根茎鲜质量的平均范围在 49.64~27.08 g, 其中 19 号小区平均根茎鲜质量最重, 3 号小区平均根茎鲜质量最小, 整体平均根茎鲜质量为 40.22 g。

3.2 不同施肥量对华重楼根茎质量的影响

20 个小区对华重楼根茎样品的水分、灰分和浸出物测定结果见表 4。

由表 4 可知, 采集的 20 份华重楼根茎样品的水分总量在 10.02%~10.93%, 波动变化不明显, 含量较稳定。20 份华重楼根茎样品总灰分的总量在 1.06%~3.68%。其中 10 号小区含量最低, 平均 1.78%; 11 号小区的含量显著高于其他小区。20 份华重楼根茎样品的酸不溶性灰分总量在 0.03%~0.60%。20 份华重楼根茎样品的醇浸出物总量在 10.38%~17.98%, 其中 3 号小区浸出物含量最少,

表 4 华重楼根茎水分、灰分和浸出物含量 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Moisture, ash and extract content of rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	水分/%	灰分/%	酸不溶灰分/%	浸出物/%
1	10.17±0.13	2.66±0.17	0.33±0.03	13.77±0.01
2	10.82±0.09	2.90±0.17	0.36±0.02	14.29±0.03
3	10.41±0.04	3.58±0.10	0.03±0.07	10.38±0.07
4	10.23±0.06	3.06±0.14	0.43±0.08	15.08±0.04
5	10.70±0.00	2.54±0.08	0.40±0.00	13.77±0.14
6	10.65±0.08	1.78±0.05	0.26±0.02	12.18±0.07
7	10.91±0.04	2.43±0.08	0.30±0.04	12.58±0.07
8	10.77±0.06	2.43±0.03	0.20±0.08	12.38±0.43
9	10.46±0.00	3.15±0.08	0.43±0.03	14.37±0.14
10	10.93±0.18	1.06±0.55	0.30±0.07	10.99±0.36
11	10.39±0.12	3.68±0.11	0.46±0.10	16.58±0.07
12	10.02±0.16	3.15±0.11	0.36±0.08	13.78±0.21
13	10.51±0.10	3.07±0.13	0.46±0.05	13.78±0.21
14	10.43±0.06	3.16±0.07	0.60±0.05	12.98±0.07
15	10.24±0.08	2.94±0.71	0.38±0.02	17.98±0.28
16	10.47±0.04	2.68±0.09	0.33±0.10	17.17±0.14
17	10.67±0.07	3.07±0.13	0.26±0.07	15.64±0.12
18	10.52±0.04	3.14±0.00	0.36±0.09	15.58±0.00
19	10.18±0.04	3.25±0.10	0.60±0.16	16.28±0.11
20	10.20±0.03	2.98±0.07	0.43±0.05	16.68±0.18

15~20 号小区为平行小区，整体浸出物含量偏高，含量最高为 15 号小区。

根据《中国药典》2015 年版规定重楼水分不得超过 12.0%、总灰分不得超过 6.0%、酸不溶性灰分不得超过 3.0%、浸出物含量不得低于 10.0%，故所有试验小区样品水分、总灰分、酸不溶性灰分、浸出物含量均符合标准。

根据测得华重楼植物根茎的增重率，华重楼根茎的总皂苷含量以及水分、灰分、浸出物数据，通过二次通用旋转组合设计方法进行统计，发现氮、磷、钾施肥对水分、灰分及酸不溶灰分的影响不显著，但对根茎增重率、总皂苷含量及浸出物含量的影响显著，具体情况见表 5。

3.2.1 数学模型建立 根据表 5 试验结果，结合矩阵模型，建立氮肥 (X_1)、磷肥 (X_2)、钾肥 (X_3) 与华重楼植物根茎的增重率的回归数学模型 (Y_1)，华重楼根茎的总皂苷含量回归数学模型 (Y_2)、华重楼根

茎的浸出物回归数学模型 (Y_3): $Y_1 = 68.364\ 35 + 23.431\ 84 X_1 + 18.482\ 02 X_2 - 4.397\ 54 X_3 + 8.757\ 08 X_1^2 + 12.221\ 90 X_2^2 - 1.416\ 42 X_3^2 + 13.986\ 25 X_1 X_2 + 5.183\ 75 X_1 X_3 + 6.326\ 25 X_2 X_3$ (1); $Y_2 = 11.228\ 86 + 2.451\ 36 X_1 + 1.390\ 91 X_2 + 1.145\ 87 X_3 + 0.569\ 99 X_1^2 - 0.911\ 40 X_2^2 + 0.135\ 12 X_3^2 + 0.482\ 50 X_1 X_2 + 1.105\ 00 X_1 X_3 - 0.752\ 50 X_2 X_3$ (2); $Y_3 = 16.571\ 87 - 0.225\ 12 X_1 - 0.081\ 94 X_2 - 0.349\ 67 X_3 - 1.480\ 29 X_1^2 - 0.596\ 41 X_2^2 - 1.232\ 81 X_3^2 + 0.201\ 25 X_1 X_2 - 0.876\ 25 X_1 X_3 + 0.696\ 25 X_2 X_3$ (3)。

对上述方程进行失拟性检验，计算结果见表 6。由表 6 可知，对 Y_1 、 Y_2 、 Y_3 回归方程进行方差分析， Y_1 回归方程在 F 检验中， $F_1(R)$ 达到极显著水平， $F_1(Lf)$ 不显著，表明该回归方程拟合度合理可靠，用其来预测增重率的数学模型可靠程度高。 Y_2 、 Y_3 回归方程在 F 检验中， $F_2(R)$ 、 F_{3R} 达到显著水平， F_{2Lf} 、 F_{3Lf} 不显著，表明该回归方程拟合度较好，该数学模型合理。

表 5 试验设计结构矩阵和实验结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 5 Matrix of experimental design and results ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

编号	结构矩阵			增重率/%	总皂苷/%	浸出物/%
	X_1	X_2	X_3			
1	1	1	1	155.23±0.34	18.48±0.24	13.77±0.01
2	1	1	-1	134.77±1.28	14.32±0.78	14.29±0.03
3	1	-1	1	74.06±0.59	12.87±0.46	10.38±0.07
4	1	-1	-1	67.31±0.89	8.62±0.80	15.08±0.04
5	-1	1	1	77.02±1.27	9.68±0.14	13.77±0.14
6	-1	1	-1	65.70±1.48	12.86±0.77	12.18±0.07
7	-1	-1	1	40.20±1.56	8.92±0.59	12.58±0.07
8	-1	-1	-1	65.78±0.77	6.17±0.31	12.38±0.43
9	-1.681 8	0	0	56.43±0.69	7.18±0.78	14.37±0.14
10	1.681 8	0	0	138.09±2.37	17.18±0.22	10.99±0.36
11	0	-1.681 8	0	87.13±1.58	7.92±0.94	16.58±0.07
12	0	1.681 8	0	126.99±1.46	8.06±32	13.78±0.21
13	0	0	-1.681 8	90.19±1.22	8.67±0.71	13.78±0.21
14	0	0	1.681 8	46.78±1.58	13.23±0.15	12.98±0.07
15	0	0	0	50.47±0.88	11.65±0.28	17.98±0.28
16	0	0	0	75.66±2.08	14.24±0.42	17.17±0.14
17	0	0	0	81.70±1.47	10.92±0.65	15.64±0.12
18	0	0	0	71.42±1.96	11.08±0.20	15.58±0.00
19	0	0	0	74.98±1.78	9.03±0.18	16.28±0.11
20	0	0	0	54.54±1.26	10.68±0.47	16.68±0.18

表 6 实验结果方差分析

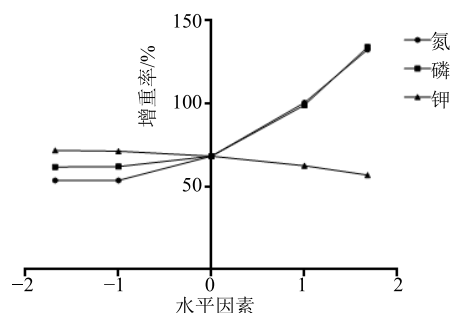
Table 6 Variance analysis of test results

变异来源	Y_1 平方和	Y_2 平方和	Y_3 平方和	自由度	F 值 (Y_1)	F 值 (Y_2)	F 值 (Y_3)
X_1	7 498.310 3	82.066 6	0.692 1	1	34.655 1**	18.751 6**	0.394 0
X_2	4 664.977 8	26.421 0	0.091 7	1	21.560 2**	6.037 0*	0.052 2
X_3	264.101 7	17.931 7	1.669 8	1	1.220 6 0	4.097 3*	0.950 7
X_1^2	1 105.149 7	4.682 1	31.579 0	1	5.107 7 0*	1.069 8	17.978 6*
X_2^2	2 152.683 9	11.970 7	5.126 2	1	9.949 1 0*	2.735 2	2.918 4
X_3^2	28.912 7	0.263 1	21.902 4	1	0.133 6 0	0.060 1	12.469 5*
X_1X_2	1 564.921 5	1.862 5	0.324 0	1	7.232 6 0*	0.425 6	0.184 5
X_1X_3	214.970 1	9.768 2	6.142 5	1	0.993 5 0	2.232 0	3.497 1*
X_2X_3	320.171 5	4.530 1	3.878 1	1	1.479 7 0	1.035 1	2.207 9
回归 (R)	17 669.278 1	161.304 2	63.349 0	9	$F_1(R)=9.073 61^{**}$	$F_2(R)=4.095 20^*$	$F_3(R)=4.007 33^*$
剩余	2 163.695 5	43.765 1	17.564 8	10			
失拟 (Lf)	1 368.539 4	29.275 6	13.276 8	5	$F_1(Lf)=1.721 10$	$F_2(Lf)=2.020 46$	$F_3(Lf)=3.096 31$
误差	795.156 1	14.489 5	4.288 0	5			
总和	19 832.973 6	205.069 3	80.913 7	19			

* $P < 0.05$ 表示该影响因子效应显著, ** $P < 0.01$ 表示该影响因子效应极显著* $P < 0.05$ indicates that effect of the factor is significant; ** $P < 0.01$ indicates that effect of factor is very significant

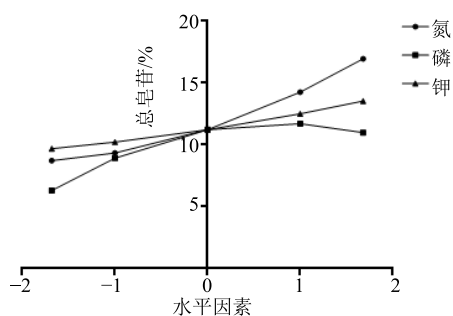
3.2.2 单因素效应分析 将方程 (1) 进行降维处理可得出单因素氮肥、磷肥、钾肥与中华重楼根茎的增重率的影响方程为 $Y_1 = 68.364 35 + 23.431 84 X_1 + 8.757 08 X_1^2$ (4); $Y_1 = 68.364 35 + 18.482 02 X_2 + 12.221 90 X_2^2$ (5); $Y_1 = 68.364 35 - 4.397 54 X_3 - 1.416 42 X_3^2$ (6); 同上方法, 将方程 (2) 进行降维处理可得出单因素对华重楼根茎的总皂苷含量的影响方程为 $Y_2 = 11.228 86 + 2.451 36 X_1 + 0.569 99 X_1^2$ (7); $Y_2 = 11.228 86 + 1.390 91 X_2 - 0.911 40 X_2^2$ (8); $Y_2 = 11.228 86 + 1.145 87 X_3 + 0.135 12 X_3^2$ (9); 同上方法, 将方程 (3) 进行降维处理可得出单因素对华重楼根茎的浸出物含量的影响方程式为 $Y_3 = 16.571 87 - 0.225 12 X_1 - 1.480 29 X_1^2$ (10); $Y_3 = 16.571 87 - 0.081 94 X_2 - 0.596 41 X_2^2$ (11); $Y_3 = 16.571 87 - 0.349 67 X_3 - 1.232 81 X_3^2$ (12)。

根据方程 (4) ~ (6) 得出增重率 (Y_1) 单因素回归方程效应影响图, 见图 2。由图 2 可以看出, 氮肥、磷肥对华重楼根茎的增重率影响整体呈上升的趋势, 钾肥呈下降趋势。在 $-1.681 8 \sim 0$ 水平, 各因素对华重楼根茎的增重率的影响顺序为钾肥 > 磷肥 > 氮肥; $0 \sim 1.681 8$, 各因素对华重楼根茎的增重率的影响顺序为磷肥 > 氮肥 > 钾肥。在 $-1 \sim 1.681 8$, 氮肥、磷肥呈上升状态, 表明随着肥力水平的增加华重楼根茎的增重率随之增加; 钾肥呈下降

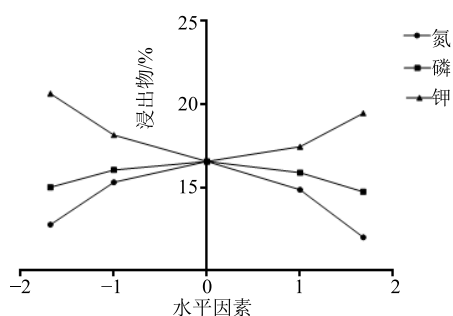
图 2 Y_1 单因素效应分析Fig. 2 Y_1 single factor analysis

趋势, 表明随着钾肥增加华重楼根茎的增重率随之减小。在设计的 5 个水平中过低、过高都会影响华重楼根茎的质量增加, 氮肥、磷肥在 1.681 8 水平、钾肥在 -1 水平的氮磷钾配施能显著提高华重楼根茎的增重率。

根据方程 (7) ~ (9) 得出 Y_2 (总皂苷) 回归方程效应影响图, 见图 3。由图 3 可以看出, 氮肥、钾肥对华重楼的总皂苷影响整体趋势呈上升, 磷肥呈先上升后下降趋势。在 $-1.681 8 \sim 0$ 水平, 各因素对总皂苷含量的影响顺序为钾肥 > 氮肥 > 磷肥; $0 \sim 1.681 8$ 水平, 各因素对总皂苷含量的影响顺序为氮肥 > 钾肥 > 磷肥。氮肥和钾肥从 $-1.681 8 \sim 1.681 8$ 水平呈上升状态, 表明随着肥力水平的增加华重楼根茎的总皂苷含量随之增加; $1 \sim 1.681 8$ 水

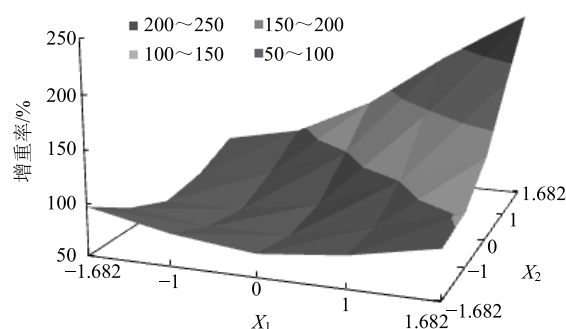
图3 Y_2 单因素效应分析Fig. 3 Y_2 single factor analysis

平磷肥呈下降趋势,表明高水平的磷肥对华重楼根茎的总皂苷含量的增加成反比。在设计的5个水平中过低、过高都会对华重楼根茎的总皂苷含量积累产生影响,氮肥、钾肥在1.681 8水平、磷肥在1水平的氮磷钾配施能显著提高华重楼根茎的总皂苷积累。根据方程(10)~(12)得出 Y_3 (浸出物)回归方程效应影响图,见图4。

图4 Y_3 (浸出物含量) 单因素效应分析Fig. 4 Y_3 (extract content) single factor analysis

由图4可以看出,氮肥、磷肥对华重楼根茎的浸出物含量的影响呈先上升后下降趋势;钾肥呈先下降后上升趋势。各因素对浸出物含量的影响顺序为钾肥>磷肥>氮肥。从-1.681 8~0水平,氮肥、磷肥呈上升状态,表明随着肥力水平的提高华重楼根茎的浸出物含量随之增加;钾肥呈下降状态,表明随着肥力水平的提高华重楼根茎的浸出物含量随之减少;0~1.681 8水平氮肥、磷肥呈下降趋势,表明高水平的氮肥、磷肥对华重楼根茎的浸出物含量的增加成反比,钾肥呈上升趋势,表明高水平的钾肥对华重楼根茎的浸出物含量的增加呈正比。在设计的5个水平中过低、过高都会对华重楼根茎的浸出物含量积累产生影响,钾肥在-1.681 8水平、氮肥和磷肥在0水平的氮磷钾配施能显著提高华重楼根茎的浸出物积累。

3.2.3 互作效应分析 试验各因素之间不仅单独对试验结果产生影响,还存在互作效应。由表6可知, X_1X_2 对华重楼根茎的增重率影响显著; X_1X_3 对华重楼根茎的浸出物影响显著。因此,有必要进一步探讨氮-磷互作对增重率的影响以及探讨氮-钾互作对浸出物含量的影响。将钾肥(X_3)固定在0水平,可得到氮-磷互作和增重率的方程: $Y_1 = 68.364\ 35 + 23.431\ 84 X_1 + 18.482\ 02 X_2 + 8.757\ 08 X_1^2 + 12.221\ 90 X_2^2 + 13.986\ 25 X_1X_2$ (13);同理将磷肥(X_2)固定在0水平,可得到氮-钾互作和浸出物含量的方程(14): $Y_3 = 16.571\ 87 - 0.225\ 12 X_1 - 0.349\ 67 X_3 - 1.480\ 29 X_1^2 - 1.232\ 81 X_3^2 - 0.876\ 25 X_1X_3$;由方程(13)得到 X_1X_2 互作效应含量变化图,见图5。

图5 X_1X_2 互作效应含量变化图Fig. 5 X_1X_2 interaction effect changes

由图5可以看出不同浓度的氮肥、磷肥都影响着华重楼根茎的增重率的提高,氮肥和磷肥的互作效应利于增重率的提高。在1水平到1.681 8水平施肥有利于增重率的提高,是理想的互作区间。由方程(14)得到 X_1X_3 互作效应含量变化图,见图6。

由图6可以看出不同浓度的氮肥、钾肥都影响着华重楼根茎的浸出物含量的提高,氮肥和钾肥的互作效应利于浸出物的提高。在0水平的氮磷钾配施能显著提高华重楼根茎的浸出物含量积累。

3.2.4 施肥方案的优选 以增重率(Y_1)、总皂苷含量(Y_2)、浸出物含量(Y_3)方程作为相关函数,通过统计频数法选优分析得出符合相关目标的氮、磷、钾配施方案。综合考虑华重楼根茎的生产潜力以及汶川县水磨镇白石村的土壤状况,可将华重楼根茎的增重率为81.72%作为华重楼根茎的增重高产目标,利用统计频数法选优,计算试验处理全部实施

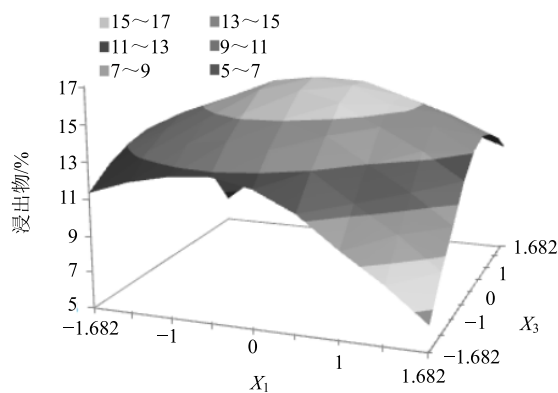


图 6 X_1X_3 交互效应含量变化图
Fig. 6 X_1X_3 interaction effect changes

时全部的理论产量。在组合方案中，产量预测值达到目标要求的有 60 个，结果见表 7。通过对 95% 的置信区间分布进行计算，可优化出稳定的施肥范围。当施用氮肥 41.66~52.60 kg/hm²、磷肥 181.38~244.38 kg/hm²、钾肥 24.16~35.20 kg/hm² 时，华重楼根茎的增重率大于 81.72%。

表 7 华重楼根茎的增重率大于 81.72% 的方案频数分布

Table 7 Program frequency distribution with weight gain rate of rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* greater than 81.72%

水平	X_1		X_2		X_3	
	次数	频率/%	次数	频率/%	次数	频率/%
-1.681 8	5	0.083 3	10	0.166 7	12	0.200 0
-1	5	0.083 3	5	0.083 3	12	0.200 0
0	10	0.166 7	10	0.166 7	12	0.200 0
1	15	0.250 0	15	0.250 0	12	0.200 0
1.681 8	25	0.416 7	20	0.333 3	12	0.200 0
合计	60	1.000 0	60	1.000 0	60	1.000 0
95%分布区间	0.448~1.007		0.132~0.762		-0.313~0.313	
最佳方案	41.66~52.60		181.380~244.38		24.16~35.20	

表 8 华重楼根茎的总皂苷含量大于 11.09% 的方案频数分布

Table 8 Program frequency distribution of total saponin content of rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* greater than 11.09%

水平	X_1		X_2		X_3	
	次数	频率/%	次数	频率/%	次数	频率/%
-1.681 8	1	0.015 4	7	0.107 7	8	0.123 1
-1	5	0.076 9	10	0.153 8	11	0.169 2
0	13	0.200 0	13	0.200 0	14	0.215 4
1	22	0.338 5	16	0.246 2	15	0.230 8
1.681 8	24	0.369 2	19	0.292 3	17	0.261 5
合计	65	1.000 0	65	1.000 0	65	1.000 0
95%分布区间	0.643~1.070		0.118~0.687		0.007~0.582	
最佳方案	45.48~53.83		179.98~236.83		29.80~39.95	

将华重楼根茎的总皂苷含量大于 11.09% 定为高含量。在组合方案中，华重楼根茎的中总皂苷含量大于 11.09% 时有 65 个方案，结果见表 8。通过对 95% 的置信区间分布进行计算，可优化出稳定的施肥范围。当施用氮肥 45.48~53.83 kg/hm²、磷肥 179.98~236.83 kg/hm²、钾肥 29.80~39.95 kg/hm² 时，华重楼根茎的中总皂苷含量大于 11.09%。

《中国药典》2015 年一部中要求，重楼中浸出物的含量不得低于 10.0%，根据《中国药典》指标，同时结合本实验结果，将华重楼根茎的中浸出物含量大于 14.31% 定为高含量。在组合方案中，华重楼根茎的中浸出物含量大于 14.31% 时有 35 个方案，结果见表 9。通过对 95% 的置信区间分布进行计算，可优化出稳定的施肥范围。当施用氮肥 28.01~37.79 kg/hm²、磷肥 127.18~209.18 kg/hm²、钾肥 25.27~34.09 kg/hm² 时，华重楼根茎的中浸出物含量大于 14.31%。

表 9 华重楼根茎的浸出物含量大于 14.31% 的方案频数分布

Table 9 Program frequency distribution of extract content of rhizome of *P. polyphylla* var. *chinensis* greater than 14.31%

水平	X_1		X_2		X_3	
	次数	频率/%	次数	频率/%	次数	频率/%
-1.681 8	0	0.000 0	7	0.200 0	0	0.000 0
-1.000 0	10	0.285 7	7	0.200 0	10	0.285 7
0.000 0	15	0.428 6	7	0.200 0	15	0.428 6
1.000 0	10	0.285 7	7	0.200 0	10	0.285 7
1.681 8	0	0.000 0	7	0.200 0	0	0.000 0
合计	35	1.000 0	35	1.000 0	35	1.000 0
95%分布区间	-0.250~0.250		-0.410~0.410		-0.250~0.250	
最佳方案	28.01~37.79		127.18~209.18		25.27~34.09	

4 讨论

施肥是提高栽培药用植物产量和品质的重要措施,合理施肥既能促进植物生长发育,提高药材产量,又能改善药材品质,对中药材质量保障及土壤环境的保护具有重要意义^[9,28]。二次通用旋转组合设计方法科学、操作简单、以最少的组合得出最优的施肥量,并能够较好地控制误差。本研究结果表明,不同土壤元素对华重楼植物的株高、叶面积、根茎长等生长指标具有一定影响;不同施肥量下华重楼根茎的水分、总灰分、酸不溶灰分、浸出物均符合药典要求。在实验因素范围内氮、磷和钾都有利于华重楼植物根茎的增重率的提高,华重楼根茎的总皂苷含量和浸出物含量的积累。

科学合理的氮磷钾肥配施有利于提高中药植物的质量。本实验结果表明化肥配施对药材浸出物含量积累具有一定影响,与文献报道^[29-30]结果相符;对药材水分、灰分、酸不溶灰分不具有显著影响。本研究建立了氮磷钾肥与华重楼的根茎增重率,华重楼根茎的总皂苷和浸出物之间的回归方程,实验模型结果表明,当施用氮肥 41.66~52.60 kg/hm²、磷肥 181.38~244.38 kg/hm²、钾肥 24.16~35.20 kg/hm²时,华重楼根茎的增重率大于 81.72%;当施用氮肥 45.48~53.83 kg/hm²、磷肥 179.98~236.83 kg/hm²、钾肥 29.80~39.95 kg/hm²时,华重楼根茎的中总皂苷含量大于 11.09%;当施用氮肥 28.01~37.79 kg/hm²、磷肥 127.18~209.18 kg/hm²、钾肥 25.27~34.09 kg/hm²时,华重楼根茎的浸出物含量大于 14.31%。可以看出,增重率和总皂苷的氮、磷、钾肥的最适配施范围十分接近;浸出物的氮、磷、钾肥的最适配施范围相对较低。鉴于氮肥的施

用量在增重率中最小量、总皂苷含量中最小量和浸出物含量中最大量相近,得出施用氮肥 37.79~45.48 kg/hm²;磷肥、钾肥通过取交集得出施用磷肥 181.38~209.18 kg/hm²、钾肥 29.80~34.09 kg/hm²时,可使华重楼根茎的增重率大于 81.72%,华重楼根茎的总皂苷含量大于 11.09%,华重楼根茎的浸出物含量大于 14.31%。此方案可为华重楼根茎的高产量和高质量的栽培提供理论依据,也为实际生产中提高华重楼根茎的产量和品质,对指导华重楼植物野生资源人工移植驯化提供一定的参考,为华重楼植物专用配方肥的进一步研制提供理论依据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [2] 张 珏,王跃华,杨 华,等. 华重楼研究现状 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 196-198.
- [3] 马传江,逯 双,曹广尚,等. 七叶一枝花繁育技术研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(18): 192-196.
- [4] 杨永红,戴丽君,何昆鸿,等. 土壤营养与人工栽培滇重楼品质相关性评价 [J]. 中药材, 2012, 35(10): 1557-1561.
- [5] 李金龙,熊俊芬,张海涛,等. 氮、磷、钾对滇重楼产量及皂苷含量的影响 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学版, 2016, 31(5): 895-901.
- [6] 阮召群. 华重楼种植基地土壤肥力综合评价 [J]. 福建农业科技, 2016(Z1): 1-4.
- [7] 陈 翠,康平德,杨丽云,等. 云南重楼高产栽培施肥研究 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 97-100.
- [8] 窦明明,雷飞益,马留辉,等. 配方施肥对川泽泻主要药效成分含量的影响 [J]. 核农学报, 2018, 32(12): 2462-2470.
- [9] 邵镭钎,李 丹,蒋 攀,等. 氮、磷、钾配施对川明

- 参产量和品质的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(16): 3926-3932.
- [10] 尹伟, 宋祖荣, 刘金旗, 等. 七叶一枝花地上部分化学成分研究 [J]. 中药材, 2015, 38(9): 1875-1878.
- [11] 孙笛, 杨尚军, 白少岩. 七叶一枝花的化学成分研究 [J]. 食品与药品, 2016, 18(2): 98-101.
- [12] 李焘. 滇重楼与七叶一枝花化学成分及生物活性的研究 [D]. 西安: 陕西师范大学, 2011.
- [13] 杨宗正. 七叶一枝花的临床应用 [J]. 赤脚医生杂志, 1980, (3): 48-49.
- [14] 丁立帅. 七叶一枝花化学成分和药理作用研究 [D]. 郑州: 河南中医药大学, 2017.
- [15] 樊爱国. 中药七叶一枝花的药理研究进展 [J]. 江西中医学院学报, 1992(1): 41-42.
- [16] 周爱存, 闫道良, 黄妍, 等. 浙江七叶一枝花种质资源的化学评价 [J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(9): 1065-1069.
- [17] 王强, 徐国钧. 中药七叶一枝花类五省区主产地的资源调查 [J]. 南京药学院学报, 1986(3): 179-182.
- [18] 谷海燕. 药用植物华重楼的资源现状及其繁育研究进展 [J]. 四川林业科技, 2014, 35(4): 56-59.
- [19] 易行波, 朱淳龙. 七叶一枝花种子繁殖技术的研究 [J]. 绿色科技, 2018(11): 55-56.
- [20] 张伟. 七叶一枝花 GAP 林下种植和人工促繁栽培技术研究 [J]. 林业调查规划, 2011, 36(6): 125-129.
- [21] 熊飞. 七叶一枝花种子繁殖技术 [J]. 科学种养, 2017(2): 20.
- [22] 牟杨. 几种常量元素 (N、P、K) 和微量元素 (B、Mo、La) 对华重楼生长及皂苷含量的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- [23] 林丹. 长柱重楼及同属几种重楼属植物资源及品质评价 [D]. 成都: 四川大学, 2016.
- [24] 文飞燕. 重楼珍稀濒危植物资源与品质评价 [D]. 成都: 四川大学, 2015.
- [25] 叶方, 程镇, 杨光义, 等. 紫外-可见分光光度法测定武当山区重楼属植物总皂苷的含量 [J]. 中国药师, 2015, 18(11): 1983-1985.
- [26] 王俊, 杨克迪, 陈钧. 分光光度法测定薯蓣皂苷元 [J]. 分析试验室, 2004(1): 73-75.
- [27] 杨骁, 张振秋. 重楼中总皂苷的含量测定 [J]. 中华中医药学刊, 2007(11): 2420-2422.
- [28] 丁丹丹, 李西文, 陈士林, 等. 优质中药材栽培合理施肥探讨 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2018, 20(7): 1114-1122.
- [29] 刘莉, 简应权, 姚厂发, 等. 苗药血人参规范化种植肥效试验研究 [J]. 中草药, 2018, 49(5): 1169-1173.
- [30] 高普珠, 晋小军, 张喜民, 等. 施用磷酸二铵对延胡索产量品质的影响 [J]. 中草药, 2018, 49(15): 3687-3691.