

· 中药农业 ·

不同施肥处理对何首乌单株鲜质量和成分积累的影响[△]李娇¹, 孟磊¹, 张晶¹, 魏胜利^{1,2*}, 兰才武³

1. 北京中医药大学 中药学院, 北京 102488;

2. 中药材规范化生产教育部工程研究中心, 北京 102488;

3. 昌昊金煌(贵州)中药有限公司, 贵州 贵阳 557500

[摘要] 目的: 研究不同施肥处理对何首乌药材单株鲜质量及有效成分的影响, 为何首乌合理施肥提供参考。方法: 以2年生何首乌为实验材料, 采用“3414”试验设计, 测定不同施肥处理下何首乌单株鲜质量、二苯乙烯苷类、游离蒽醌类、结合蒽醌类成分含量。结果: 施肥组何首乌的单株鲜质量明显高于不施肥组, 对各成分含量的影响较小, 且不同施肥处理的何首乌单株鲜质量及各成分含量间差异有统计学意义($P < 0.01$), 单株鲜质量、结合蒽醌类、游离蒽醌类含量主要受钾肥影响, 二苯乙烯苷类含量主要受氮肥影响。结论: 施肥处理在一定程度上可以提高何首乌单株鲜质量和有效成分的含量, 当施肥量为氮肥 $13.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 、磷肥 $6.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 、钾肥 $13.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 时何首乌综合品质最佳, 此时单株鲜质量为 140.67 g 。

[关键词] 何首乌; 施肥处理; 单株鲜质量; 成分

[中图分类号] R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2021)05-0839-05

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20200807001

Effects of Different Fertilization Treatments on Fresh Weight Per Plant and Composition
Accumulation of *Polygonum multiflorum*

LI Jiao¹, MENG Lei¹, ZHANG Jing¹, WEI Sheng-li^{1,2*}, LAN Cai-wu³

1. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China;

2. Research Center of Good Agricultural Practice for Chinese Crude Drugs, Ministry of Education, Beijing 102488, China;

3. Changhao Jinhuang (Guizhou) Traditional Chinese Medicine Co., Ltd., Guiyang 557500, China

[Abstract] **Objective:** To study the effects of different fertilization treatments on the fresh weight per plant and the effective components of *Polygoni Multiflori Radix*, provides a theoretical basis for rational fertilization of *Polygonum multiflorum*. **Methods:** The fresh weight, contents of stilbene glycosides, free anthraquinones and combined anthraquinones of two years old *P. multiflorum* under different fertilization treatments were determined by using "3414" experimental design. **Results:** The fresh weight per plant in the fertilization group were significantly higher than those in the non fertilization group, and had little effect on the contents of each component. There were significant differences in the fresh weight per plant and the content of each component among different fertilization treatments ($P < 0.01$). The fresh weight per plant, combined anthraquinones and free anthraquinones were mainly affected by potash fertilizer, the content of stilbene glycosides were mainly affected by nitrogen fertilizer. **Conclusion:** To a certain extent, fertilization could improve the fresh weight and the content of effective components of *P. multiflorum*. The best quality and fresh weight of *P. multiflorum* per plant could be obtained with the fertilization amount of N $13.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$, P $6.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ and K $13.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$, and the fresh weight of *P. multiflorum* per plant was 140.67 g .

[Keywords] *Polygonum multiflorum* Thunb.; fertilizer treatment; fresh weight per plant; component

何首乌为蓼科植物何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb. 的干燥块根^[1], 具有补肝肾、益精血、乌须

黑发、养身安神等作用, 主治血虚身痛、心烦失眠、劳伤多汗等^[2-3]。何首乌应用范围广泛^[4], 随着人们

[△] [基金项目] 国家中药标准化项目(ZYBZH-Y-BJ-07); 北京市科技计划项目(Z201100005420005)

* [通信作者] 魏胜利, 教授, 研究方向: 精准药材定向培育; Tel: (010)84738334, E-mail: wsl7491@126.com

对何首乌需求量的增加,其种植面积不断扩大。但是,关于何首乌施肥的研究大部分集中于田间管理^[5-6]及施肥对何首乌农艺性状^[7-8]、光合特性^[9]、可溶性多糖含量和蛋白质含量^[10]的影响,而施肥对于何首乌单株鲜质量和其他有效成分的影响却鲜有报道。近年来研究表明,二苯乙烯苷类、游离蒽醌类和结合蒽醌类成分是何首乌的主要有效成分,也是何首乌质量控制的指标成分^[11-12]。因此,本研究采用“3414”的施肥方法,在贵州实验基地对移栽的何首乌进行施肥试验,采用一测多评法测定何首乌有效成分的含量,运用极差分析和主成分分析法研究施肥量对何首乌有效成分的影响,以期在提高单株鲜质量的基础上,尽可能提高何首乌的品质。

1 材料

1.1 样品

本试验于 2017 年 4 月开展,选择 1 年生何首乌基地进行施肥实验,10 月底采收 2 年生何首乌,经北京中医药大学魏胜利教授鉴定为蓼科何首乌属何首乌 *Polygonum multiflorum* Thunb.。

1.2 试药

对照品 2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(反式-二苯乙烯苷,批号:110844-20512,纯度:91.0%)、大黄素(批号:110750-200110,纯度:98%)、大黄素甲醚(批号:110758-201415,纯度:98%)、大黄素-8-O- β -D-葡萄糖苷(批号:110758-21415,纯度:98%)均购于中国食品药品检定研究院;大黄素甲醚-8-O- β -D-葡萄糖苷(批号:Z25F8B30059,纯度:98%,上海源叶生物科技有限公司)。顺式-二苯乙烯苷按参考文献[13]方法,通过反式-二苯乙烯苷在 365 nm 下转化而得。甲醇(分析纯,北京化工厂);甲醇、乙腈(色谱纯)均购于 Fisher 公司;水为屈臣氏蒸馏水。

1.3 仪器

1260 型高效液相色谱仪(包括 G1314F 1260 VWD 型检测器,美国 Agilent 公司);KQ5200D 型超声清洗器(江苏省昆山市超声仪器有限公司);ME104 型万分之一电子分析天平(瑞士 Mettler-Toledo 公司);BT 25S 型十万分之一电子分析天平(德国 Sartorius 公司);FW100 型高速万能粉碎机(天津市泰斯特仪器有限公司)。

2 方法

2.1 施肥方法

采用原中华人民共和国农业部 2011 年下发的“3414”试验方案,施肥试验共设氮、磷、钾 3 个因素,4 个水平,14 个处理。0 水平指不施肥,2 水平是指当地推荐的施肥量,1 水平 = 2 水平 $\times$ 0.5 倍(此水平为减量下的施肥量),3 水平 = 2 水平 $\times$ 1.5 倍(此水平为增量下的施肥量)。氮的 4 个水平分别为 N_0 、 N_1 、 N_2 、 N_3 (0、6.9、13.8、27.6 $g \cdot m^{-2}$)。磷的 4 个水平分别为 P_0 、 P_1 、 P_2 、 P_3 (0、3.2、6.3、9.6 $g \cdot m^{-2}$)。钾的 4 个水平分别为 K_0 、 K_1 、 K_2 、 K_3 (0、6.7、13.5、20.2 $g \cdot m^{-2}$)。氮肥为尿素,其含氮量为 46.4%;磷肥为过磷酸钙,其五氧化二磷质量分数为 12%;钾肥为硫酸钾,其氧化钾质量分数为 50%,具体施肥量见表 1。实验地土壤全氮质量分数 202.81 $mg \cdot kg^{-1}$ 、速效磷 30.81 $mg \cdot kg^{-1}$ 、速效钾 153.78 $mg \cdot kg^{-1}$ 。14 个处理有 42 个小区,小区长 10 m、宽 3 m,排列方式采用随机区组,重复 3 次。实验地的四周设置保护行,行距 30 cm,株距 30 cm。

表 1 何首乌“3414”追肥试验不同处理的施肥量 $g \cdot m^{-2}$

处理	配比	氮	磷	钾
T1	$N_0 P_0 K_0$	0	0	0
T2	$N_0 P_2 K_2$	0	6.3	13.5
T3	$N_1 P_2 K_2$	6.9	6.3	13.5
T4	$N_2 P_0 K_2$	13.8	0	13.5
T5	$N_2 P_1 K_2$	13.8	3.2	13.5
T6	$N_2 P_2 K_2$	13.8	6.3	13.5
T7	$N_2 P_3 K_2$	13.8	9.6	13.5
T8	$N_2 P_2 K_0$	13.8	6.3	0
T9	$N_2 P_2 K_1$	13.8	6.3	6.7
T10	$N_2 P_2 K_3$	13.8	6.3	20.2
T11	$N_3 P_2 K_2$	27.6	6.3	13.5
T12	$N_1 P_1 K_2$	6.9	3.2	13.5
T13	$N_1 P_2 K_1$	6.9	6.3	6.7
T14	$N_2 P_1 K_1$	13.8	3.2	6.7

2.2 单株鲜质量测定

2017 年 10 月于各小区取样,每个小区随机取样 30 株,测定单株鲜质量。

2.3 含量测定

所有小区样品统一切片 1 cm,50 $^{\circ}C$ 烘箱干燥。从 30 株各取部分混匀,粉碎后过四号筛。采用李欣等^[14]报道方法对 2 种二苯乙烯苷类(反式-二苯乙烯

苷、顺式-二苯乙烯苷)、2 种游离蒽醌类成分(大黄素、大黄素甲醚)、2 种结合蒽醌类成分(大黄素-8-*O*- β -D-葡萄糖苷、大黄素甲醚-8-*O*- β -D-葡萄糖苷)进行含量测定。结果以($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2.4 统计分析

运用 SPSS 22.0、Origin 8.0 软件对何首乌单株鲜质量、二苯乙烯苷类、游离蒽醌类、结合蒽醌类成分含量进行数据处理及统计分析。

3 结果

3.1 不同施肥处理对何首乌单株鲜质量的影响

运用 Duncan's 多重比较发现,不同施肥处理的何首乌单株鲜质量间差异均有统计学意义($P < 0.01$),说明氮、磷、钾肥的使用可显著影响何首乌的单株鲜质量。对不同施肥水平的何首乌单株鲜质量做极差分析,其中,氮因子的极差为 29.18、磷因子的极差为 31.90、钾因子的极差为 34.11,说明何首乌单株鲜质量受钾因子的影响最大。如图 1 所示,14 个处理组中何首乌单株鲜质量排在第一位的是 T8,而当氮肥和磷肥均处于第二水平时,何首乌单株鲜质量的高低顺序为 $T8 > T10 > T6 > T9$ 。因此,推测仅使用氮肥和磷肥对单株鲜质量的影响较为显著。当磷肥和钾肥均处于第二水平下,何首乌单株鲜质量的高低顺序为 $T6 > T3 > T2 > T11$,即在氮肥第二水平下,何首乌单株鲜质量可以达到最大值,而在氮肥第 3 水平时,何首乌单株鲜质量反而下降,表明合理的氮肥施用量可促进何首乌的单株鲜质量增加,高氮肥施用量反而可降低何首乌的单株鲜质量。当氮肥和钾肥均处于第二水平时,何首乌单株鲜质量的高低排序为 $T6 > T4 > T5 > T7$,说明了高磷水平不能够促进何首乌单株鲜质量的增加,低磷水平才能够促进何首乌单株鲜质量的生长,进而使其单株鲜质量增加。因此,若想获得单株鲜质量较高的何首乌,可采取 T8 的方式进行施肥处理。

3.2 不同施肥处理对何首乌中成分的影响

通过 Duncan's 多重比较发现,不同施肥处理间各有效成分及各类含量之和差异均有统计学意义($P < 0.01$)。同时,对不同水平氮、磷、钾肥处理下的二苯乙烯苷类成分含量做极差分析。其中,氮因子的极差为 0.45、磷因子的极差为 0.42、钾因子的极差为 0.43,这充分说明了,氮、磷、钾肥料对何首乌二苯乙烯苷类成分含量也有一定的影响,并

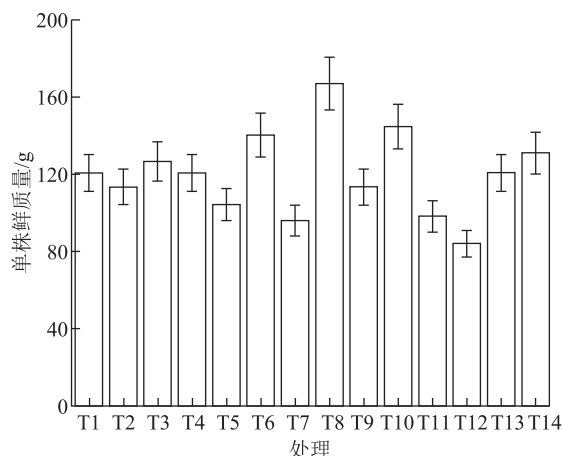


图 1 施肥处理对 2 年生何首乌单株鲜质量的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

且其二苯乙烯苷类含量受氮因子的影响最大。如图 2 所示,氮肥和钾肥均处于第二水平时,二苯乙烯苷类含量的高低顺序为 $T5 > T7 > T6 > T4$,使用磷肥对其影响较大,但在低磷水平下,二苯乙烯苷含量明显高于其他水平。磷、钾水平相同时,何首乌二苯乙烯苷类成分含量随肥料中氮含量增加而升高,顺序为 $T11 > T6 > T3 > T2$ 。因此,采取 T1 或 T5 处理均可提高二苯乙烯苷含量。

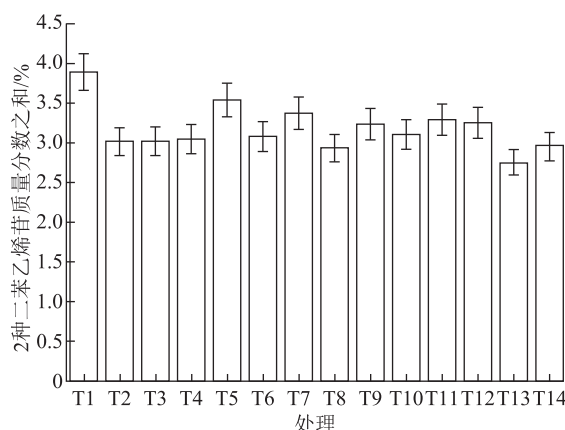


图 2 施肥处理对 2 种二苯乙烯苷类成分总量的影响
($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

对不同水平氮、磷、钾肥处理下结合蒽醌类成分含量做极差分析。其中,氮因子的极差为 0.09、磷因子的极差为 0.09、钾因子的极差为 0.12,说明氮、磷、钾肥料对何首乌结合蒽醌类成分也有一定的影响,其结合蒽醌类成分含量受钾因子的影响最大。如图 3 所示,当氮、磷水平一致时,结合蒽醌类成分总量为 $T6 > T10 > T9 > T8$,说明了钾肥对于结合蒽醌类成分的累积有促进作用,不使用钾肥

的含量明显低于使用钾肥的含量。当磷、钾水平一致时, 结合蒽醌类成分总量为 $T6 > T11 > T2 > T3$, 但是, 当氮、磷、钾水平为 0 时, 2 种结合蒽醌类成分总量达到最大值, 说明 T1 或 T6 均可提高结合蒽醌类成分含量。

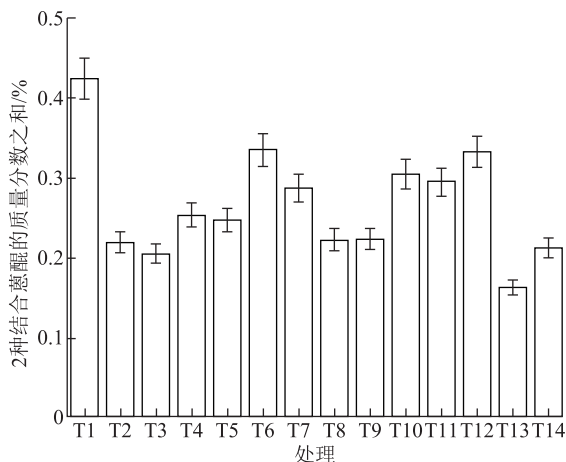


图3 施肥处理对2种结合蒽醌类成分总量的影响

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

对不同水平氮、磷、钾肥处理下的游离蒽醌类含量做极差分析。其中, 氮因子的极差为 0.02、磷因子的极差为 0.13、钾因子的极差为 0.21, 这充分说明了, 氮、磷、钾肥料对何首乌游离蒽醌类成分也有一定的影响, 并且其游离蒽醌类成分含量受钾因子的影响最大, 其次为磷因子和氮因子。如图 4 所示, 当磷、钾水平一致时, 很明显不使用氮肥, 游离蒽醌类成分含量反而最高, 当氮、钾水平一致时, 不使用磷肥, 游离蒽醌类成分含量反而最高, 当氮、磷水平一致时, 钾肥越多, 含量越高。故可采取 T2 处理提高游离蒽醌类成分含量。

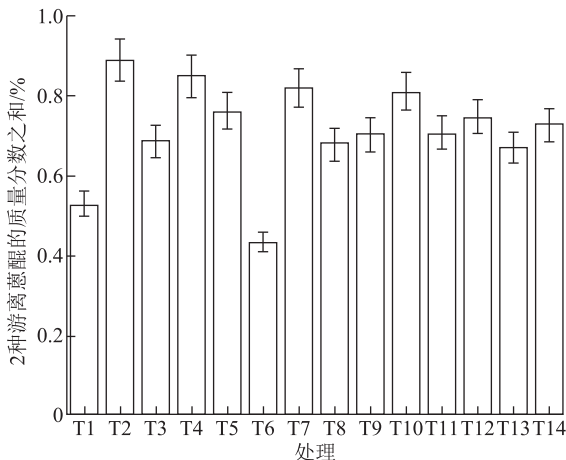


图4 施肥处理对2种游离蒽醌类成分总量的影响

($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

综上所述, 二苯乙烯苷类含量排在前三的处理组分别是 T1、T5、T7; 结合蒽醌含量排在前三的处理组分别是 T1、T6、T12; 游离蒽醌含量排在前三的处理组分别是 T2、T4、T7。可见当不使用肥料时, 二苯乙烯苷类以及结合蒽醌类含量相对较高, 不含氮肥或者磷肥处理时, 游离蒽醌类含量较高。

3.3 最佳施肥方案的筛选

运用主成分分析法, 参照单株鲜质量及二苯乙烯苷类、结合蒽醌类、游离蒽醌类的各项含量为指标性成分, 进行主成分分析。由降维结果可得 2 个主成分, PC1 和 PC2, 累积方差贡献率 84.35%, 具有代表性, 可以用来评价何首乌质量, 得到各施肥处理组的综合得分。由表 2 可知, 得分前三的处理为 T1、T6、T11, 主成分得分分别为 2.21、1.25、0.20。这 3 种处理均可得到综合品质较好的何首乌, 但由于在实际生产中更重视何首乌的单株鲜质量, 故综合分析认为, 施肥方案应选择 T6 处理, 即氮肥 $13.8 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 、磷肥 $6.3 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 、钾肥 $13.5 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

表2 各施肥处理组的综合得分

处理	施肥量/ $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$			主成分得分
	氮	磷	钾	
T1	0	0	0	2.21
T2	0	6.30	13.50	-1.00
T3	6.90	6.30	13.50	-0.38
T4	13.80	0	13.50	-0.63
T5	13.80	3.20	13.50	0.06
T6	13.80	6.30	13.50	1.25
T7	13.80	9.60	13.50	-0.12
T8	13.80	6.30	0	-0.17
T9	13.80	6.30	6.70	-0.16
T10	13.80	6.30	20.20	-0.06
T11	27.60	6.30	13.50	0.20
T12	6.90	3.20	13.50	0.17
T13	6.90	6.30	6.70	-0.87
T14	13.80	3.20	6.70	-0.51

4 讨论

何首乌作为大宗药材, 受到古今医家、饮食家所推崇, 是滋补肝肾、延年益寿的佳品。野生何首乌更是受到广泛关注, 由于近年来野生何首乌资源严重匮乏, 现今市场上流通的大多为何首乌栽培品, 因此把控与何首乌质量密切相关的种植环节显得尤

为重要。目前,对何首乌栽培技术的研究大多集中在田间管理,但相关研究表明,施肥对何首乌的影响也较大,因此,合理施肥是提高何首乌单株鲜质量和有效成分含量的重要保证。如张宝生^[15]开展了何首乌磷钾肥施肥量和种植密度试验,发现施肥和种植密度对何首乌产量有一定影响,但其忽略了对何首乌有效成分的影响。王华磊等^[16]在对何首乌栽培密度的研究中,发现不同密度对何首乌块根的生长、产量和品质的影响均有统计学意义,适宜的种植密度不仅可以保证产量的积累,亦可提高何首乌中二苯乙烯苷和结合蒽醌含量,但仍存在产量和含量指标的不完善性。

大多数研究认为,氮肥是影响药材产量及鲜质量的首要因素,而磷肥和钾肥是改善药材品质的关键因素。李询等^[17]通过“3414”施肥试验,测定怀牛膝秋子的产量,折干率, β -蜕皮甾酮、齐墩果酸、浸出物和多糖含量,认为氮肥和磷肥对其产量的影响较大,钾肥对其产量影响最小,磷的施用量显著影响多糖的含量,钾元素对浸出物含量影响较大,这与左晓燕^[18]的结果一致。陈暄等^[19]通过正交法研究芍药生长过程中氮磷钾肥对芍药根鲜质量、芽头数、分根数的影响,发现氮肥是影响其鲜质量的重要因素。在本研究中,发现对于何首乌而言,钾肥反而是促进其单株鲜质量的第一影响要素,除此之外,磷肥也对何首乌单株鲜质量有显著的影响。本研究结果表明,施肥对单株鲜质量的影响较大,且氮磷钾肥对比对单株鲜质量和有效成分积累具有一定影响,其中单株鲜质量和蒽醌类主要受到钾肥的影响,二苯乙烯苷类主要受到氮肥的影响。由本研究可知,对何首乌使用氮肥 $13.8\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 、磷肥 $6.3\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 、钾肥 $13.5\text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 时,既可以避免过度施肥对环境的影响,又可以减少成本、提高效益。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:175-177.
- [2] 肖培根. 中药植物原色图鉴[M]. 北京:中国农业出版社,1999.
- [3] 孔令武,孙海峰. 现代实用中药栽培养殖技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:215-217.
- [4] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草:第2册[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999:671-678.
- [5] 闫士珍. 珍贵藏药何首乌的栽培[J]. 特种经济动植物, 2010,13(7):39.
- [6] 张治国,吕泰省,姚庆强. 何首乌中的非蒽醌类化学成分[J]. 中国中药杂志,2006,31(12):1027-1029.
- [7] 王小峰. 氮磷钾对比对何首乌农艺性状及产量的影响研究[D]. 重庆:西南大学,2007.
- [8] 周灿. 配方施肥对何首乌生长发育及品质形成的影响[D]. 武汉:华中农业大学,2018.
- [9] 宋世威,杨全,滕希峰,等. 施肥水平对何首乌生长·光合特性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(26): 15913-15914.
- [10] 周明,封海东,司海倩,等. 施肥对何首乌产量及主要成分含量的影响[J]. 湖北农业科学,2017,56(10):1888-1890,1894.
- [11] 赵紫伟. 何首乌生熟异用作用机理的研究[D]. 昆明:云南中医学院,2012.
- [12] ZHENG Y, LI J, LIU Y. Tetrahydroxystilbene glucoside isolated from *Polygonum multiflorum* Thunb. demonstrates osteoblast differentiation promoting activity[J]. Exp Ther Med,2017,14(4):2845-2852.
- [13] 董立华,郭盼盼,郭栋,等. 顺式二苯乙烯苷的制备及结构鉴定[J]. 河北医科大学学报,2014,35(2):166-169.
- [14] 李欣,孟磊,魏胜利,等. 不同产地何首乌药材质量及差异研究[J]. 中国现代中药,2020,22(3):384-390.
- [15] 张宝生. 磷肥、钾肥施肥量和种植密度对何首乌产量影响的研究[D]. 重庆:西南大学,2009.
- [16] 王华磊,李宗豫,赵致,等. 不同栽培密度对何首乌块根及其品质的影响[J]. 贵州农业科学,2012,40(12):52-54.
- [17] 李询,董诚明,刘丹,等. 氮磷钾肥配施对怀牛膝产量和质量的影响[J]. 黑龙江农业科学,2020(3):69-73.
- [18] 左晓燕. 怀牛膝氮磷钾营养特性及施肥对其产量和品质的影响[D]. 郑州:河南农业大学,2008.
- [19] 陈暄,王康才,吴美丽,等. 正交法研究芍药生长过程中氮磷钾肥的平衡施用[J]. 中药材,2008,31(6):805-807.

(收稿日期:2020-08-07 编辑:戴玮)