

减量施氮对菘蓝生长及药材质量的影响

曹艺雯¹, 屈仁军¹, 王磊², 申冰清¹, 关佳莉¹, 耿丽², 唐晓清^{1*}, 王康才¹

(1 南京农业大学中药研究所, 江苏南京 210095; 2 句容市茅山仙草中药材专业合作社, 江苏句容 212404)

摘要:【目的】探讨减量施氮对菘蓝生长及药材质量的影响, 为优化菘蓝栽培中合理施用氮肥提供依据。

【方法】以来自于山西(SX)和甘肃(GS)两个产地的菘蓝为材料, 进行了田间小区试验。在正常施氮水平 N 675 kg/hm² 下, 设置 4 个处理 CK、1/4N、1/2N、N, 施氮量分别为 N 0、169、338、675 kg/hm², 探究减量施氮对菘蓝生长指标、营养物质、活性成分含量以及大青叶和板蓝根有效经济产量的影响。【结果】随着施氮水平的提高, 山西产地菘蓝鲜重和干重均呈现增加趋势, 在正常施氮水平下取得最大值, 株鲜重和株干重分别为 68.4 g、15.3 g; 甘肃产地菘蓝则表现出先增加后略降低的趋势, 在 1/2N 处理下其鲜重和干重值最大, 植株鲜重和干重分别为 78.5 g、19.7 g。施氮量与菘蓝的根长、株高和主根直径呈正相关, 随着施氮量增加, 山西、甘肃产地菘蓝的生长指标均显著提高。氮水平对菘蓝的折干率没有显著影响。CK 处理下山西与甘肃产地菘蓝的叶内可溶性糖含量、碳氮比均保持在较高水平, 游离氨基酸则以 N 675 kg/hm² 处理最大, 二者间没有显著差异。两个产地菘蓝均以 CK 处理下叶内靛蓝、靛玉红与总黄酮根内的(R,S)-告依春含量最高, 且随着施氮水平的提高, 呈现出一定的下降趋势, 甘肃产地菘蓝对施氮水平变化更为敏感。施氮水平显著影响了大青叶和板蓝根的有效经济产量, 在 1/4N 处理下大青叶有效经济产量更高, 且显著高于 N 处理; 山西产地板蓝根的有效经济产量与氮水平呈正相关, 在 N 处理下最大, 达到 3.31 mg/g, 甘肃产地则在 1/4N 处理下取得最大值 2.94 mg/g, 综合考虑大青叶和板蓝根, 以减量施氮处理下(1/4N、1/2N)菘蓝有效经济产量值更高。【结论】减量施氮对菘蓝生长量和外形品质有不利影响, 但有利于其活性成分的积累及有效经济产量的提高, 山西和甘肃产地的菘蓝对氮素的响应有所差异。建议栽培生产中可将氮肥施用量控制在 169~338 kg/hm², 并根据产地实际情况适当调整。

关键词: 减量施氮; 菘蓝; 药材质量; 有效经济产量

Effect of nitrogen reduction on growth and quality of *Isatis indigotica* Fort.

CAO Yi-wen¹, QU Ren-jun¹, WANG Lei², SHEN Bing-qing¹, GUAN Jia-li¹,
GENG Li², TANG Xiao-qing^{1*}, WANG Kang-cai¹

(1 Institute of Chinese Medicinal Materials, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2 Chinese Herbal Medicine Cooperative of Jurong Maoshanxiancao, Jurong, Jiangsu 212404, China)

Abstract: 【Objectives】Effects of reduced nitrogen application on growth and medicinal quality of *Isatis indigotica* Fort., was explored for providing some basis for optimizing the application of nitrogen fertilizer in cultivation. 【Methods】A field experiment was carried out using the *I. indigotica* cultivars from Shanxi (SX) and Gansu (GS) as tested materials. Taking the current N application rate of 675 kg/hm² as base, nitrogen application levels 0, 169, 338 and 675 kg/hm² were designed and recorded as CK, 1/4N, 1/2N, N, respectively. The growth indicators, nutrient contents, active ingredient contents and the effective economic yields (*Isatidis* Folium and *Isatidis* Radix) were investigated. 【Results】Both the fresh and dry biomass of Shanxi showed an increasing trend with the increase of nitrogen level, and reached a maximum at the normal nitrogen treatment, in which the fresh and dry weight of the plants were respectively 68.4 g, 15.3 g; While the fresh and dry biomass of GS showed a trend of increasing first and then decreasing with the increase of nitrogen levels, the maximum were obtained at the 1/2N treatment, which were 78.5 g and 19.7 g, respectively. The application level of nitrogen was

收稿日期: 2018-05-28 接受日期: 2018-09-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171486)资助。

联系方式: 曹艺雯 E-mail: 2017104125@njau.edu.cn; *通信作者 唐晓清 E-mail: xqtang@njau.edu.cn

positively correlated with the root length, plant height, and main root diameter of *I. indigotica*. There was no significant difference in the drying rates among the treatments. The CK had the highest leaf soluble sugar contents and the carbon-nitrogen ratios, and the N treatment had the highest free amino acid contents, and there was no significant difference between Shanxi and Gansu. The contents of indigo, indirubin and total flavonoids in leaves and (*R, S*)-epigoitrin in the roots of both Shanxi and Gansu were the highest under the CK treatment, and had decreasing trends with the increase of nitrogen application levels. Gansu was more sensitive to nitrogen levels. The nitrogen application level significantly affected the effective economic yield of *I. Folium* and *Radix*. The effective economic yield of *I. Folium* under 1/4N and 1/2N treatments were significantly higher than that under the N treatment. The effective economic yield of *I. Radix* of Shanxi was positively correlated with nitrogen level, with the maximum of 3.31 mg/g under N treatment, and that of Gansu was under the 1/4N treatment (2.94 mg/g). 【 **Conclusions** 】 Current N application rate of 675 kg/hm² has a certain adverse effect on the growth and shape quality of *I. indigotica*, but beneficial to the accumulation of active ingredients. Reduced nitrogen application rate is helpful to improve the effective economic yield. AS the response difference of *I. indigotica*. to nitrogen in Shanxi and Gansu fields, the application level of nitrogen should be controlled at 169–338 kg/hm², according to the actual situation of the field.

Key words: nitrogen reduction; *Isatis indigotica* Fort.; medicinal quality; effective economic yield

氮作为植物生长发育的必需营养元素之一,对栽培作物的产量与品质的形成具有重要作用。施用氮肥既是当代农业生产发展的需要,也是作物获得高产的重要措施^[1]。我国耕地面积只占世界耕地总面积的 7% 左右,但是氮肥施用量却超过了世界氮肥施用总量的 25%,且仍在继续增加^[2]。氮肥的过度施用不仅导致作物产量陷入增长瓶颈,氮素利用率偏低^[3],而且使土壤出现大面积的质量退化,区域生态环境严重恶化^[4]。因此减量施氮、提质增效成为我国粮食生产持续发展的重要途径,也是中药农业未来发展的需要^[5]。尤其是作为中药来源的药用植物,栽培目标不能一味追求高产,更需要关注其药用品质(次生代谢产物含量),在保证一定产量的前提下,降低氮肥的用量,以达到“药用品质优良药材”的目标,且在中药农业未来必走生态农业之路的大背景下,降低氮肥使用量以改善日益恶化的土壤微环境势在必行,开展减量施氮对药用植物的品质影响研究也尤为必要。

菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)为十字花科植物,其叶入药为大青叶,具有泻火、定惊、凉血消斑等功效;根入药为板蓝根,具有清热解毒、凉血利咽等功效^[6]。菘蓝的主要活性成分为靛蓝、靛玉红与(*R, S*)-告依春等生物碱类成分,这些成分受到不同氮素形态与氮水平的影响。适宜的氮肥水平有利于菘蓝叶片的净光合速率、气孔导度、胞间 CO₂ 浓度、蒸腾速率的提高,显著增加了菘蓝的主根直径和根长,有明显的壮根效应^[7-8]。减量施氮则对改善植物

品质具有显著影响,适度的胁迫环境促进了菘蓝活性成分的积累,如靛蓝、靛玉红等生物碱类成分^[9-11]。以本课题组先前对氮肥施用量的研究为基础^[7],本研究通过田间小区试验,探究减量施氮对菘蓝生长及药材质量的影响,旨在深入菘蓝的栽培生理研究、优化菘蓝栽培技术和提高其药材质量提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料培养

试验地设在江苏省句容市茅山仙草中药材专业合作社基地,供试土壤基本理化性质为:pH 4.80,有机质含量 10.0 g/kg,全氮 0.802 g/kg,碱解氮 92.1 mg/kg,有效磷 8.20 mg/kg,速效钾 42.4 mg/kg。供试材料为来自于甘肃和山西两个产地的菘蓝,经南京农业大学王康才教授鉴定为十字花科植物菘蓝(*Isatis indigotica* Fort.)的角果(生产上称种子)。

1.2 试验设计

试验共设 4 个施氮水平,氮肥用量分别为 0、169、338、675 kg/hm²(正常施氮量),分别以 CK、1/4N、1/2N、N 表示,每处理设置 3 个重复小区,共有 24 个小区,小区规格为 1.2 m × 4.0 m,为南北行向种植。各处理磷、钾肥用量相同,均为 180 kg/hm²。氮肥和磷钾肥均分两次追施,每次用量相同。采用随机区组设计,进行常规田间管理。于 2017 年 4 月 16 日播种,第一次追肥在 6 月中旬,第二次追肥在 9 月上旬,在各行之间挖浅沟浇入,并及时覆土。氮

肥选用尿素(含氮 46%),磷、钾肥选用 KH_2PO_4 (含 P 26.7%, 含 K 16.4%)。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 生物量 菘蓝生长 8 个月后采收,每小区随机选取 10 株植株,洗净后擦干,测量菘蓝株高(根茎顶端到最长叶片叶尖处)、主根长、主根直径、叶鲜重、根鲜重,后置于 105℃ 烘箱中杀青 15 min,然后 60℃ 烘干至恒重。测量叶干重、根干重,将叶和根干样粉碎后分别过 0.25 mm (60 目) 和 0.15 mm (100 目) 筛,用于活性成分测定。折干率 = 干燥后株干重/株鲜重 $\times 100\%$ 。

1.3.2 可溶性糖与游离氨基酸含量 采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量,采用酸性茚三酮比色法测定游离总氨基酸含量^[12]。各处理 3 次重复。碳氮比 (C/N) = 可溶性糖含量/游离氨基酸含量。

1.3.3 叶内总黄酮含量 总黄酮含量采用分光光度法测定。称取 0.1000 g 菘蓝叶干样品,加入 10 mL 70% (体积分数) 乙醇,置于超声波中震荡 1 h 后过滤,将滤液定容至 25 mL,混匀。取 2 mL 滤液于试管内,加入 0.5 mL 50 g/L NaNO_2 ,摇匀后静置 6 min,再加入 0.5 mL 100 g/L $\text{Al}(\text{NO}_3)_3$,摇匀后静置 6 min,然后加入 4 mL 40 g/L NaOH ,最后用 70% 乙醇定容至 10 mL。摇匀后静置 15 min,于 510 nm 波长下比色,测定吸光值。

1.3.4 靛蓝、靛玉红含量 参照《中华人民共和国药典》2015 年版测定叶片中靛蓝、靛玉红含量^[6],略作修改。超高效液相色谱 (Ultra performance liquid chromatography, UPLC) 条件:分析柱为 Agilent ZORBA x Eclidise Plus C18(2.1 mm $\times$ 50 mm, 1.8 μm);流动相为甲醇/水为 72/28 (V/V);流速 0.30 mL/min;柱温 30℃;检测波长 289 nm;进样体积 2 μL 。分别以靛蓝,靛玉红的色谱峰面积 (y) 与其对应的含量 (x , mg/L) 作标准曲线,计算回归方程。靛蓝标准曲线为 $y = 21.618x + 8.857$, $R^2 = 0.9349$ ($n = 3$),线性范围 0~2 $\mu\text{g/mL}$;靛玉红标准曲线为 $y = 60.653x - 7.4348$, $R^2 = 0.9980$ ($n = 3$),线性范围 0~10 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.5 (R, S)-告依春含量 测定参照《中华人民共和国药典》2015 年版测定根中 (R, S)-告依春含量^[6],略作修改。高效液相色谱 (High performance liquid chromatography, HPLC) 条件:分析柱为 Agilent ZORBA x SB-Aq C₁₈ (4.6 mm $\times$ 250 mm, 5 μm);流动相为甲醇-0.02% 磷酸溶液 (体积比 20 : 80);流速 0.60 mL/min;柱温 30℃;检测波长 245 nm;进

样体积 20 μL 。以 (R, S)-告依春的色谱峰面积 (y) 与其相应的含量 (x , $\mu\text{g/mL}$) 作标准曲线,计算回归方程。(R, S)-告依春标准曲线为 $y = 183729x - 64369$, $R^2 = 0.9994$ ($n = 3$),线性范围 0~40 $\mu\text{g/mL}$ 。

1.3.6 有效经济产量 大青叶有效经济产量 = 叶干重 $\times$ (靛蓝含量+靛玉红含量);板蓝根有效经济产量 = 根干重 $\times$ (R, S)-告依春含量。

1.4 数据处理

所测得数据的整理采用 Microsoft Excel(Office 2010) 软件,数据统计分析采用 SPSS 软件 (20.0) 中的单因素方差分析法 ($P < 0.05$) 进行,处理间显著性比较采用 Duncan's 新复极差法。

2 结果与分析

2.1 减量施氮对菘蓝生长指标的影响

施氮量对药用植物生物产地产量积累有着显著的影响(表 1)。随氮素水平提高,山西产地菘蓝根鲜重与叶鲜重均呈增加的趋势,在 N 处理下最大,且相较于未施氮处理 CK, N 处理有效促进了其叶与根鲜重的增加,两处理间差异显著 ($P < 0.01$);甘肃产地菘蓝根鲜重与叶鲜重随着氮素水平的提高表现出先增加后减少的趋势,在 1/2N 处理下达到最大值。干重变化趋势与鲜重相同,均随施氮量升高而增加,甘肃产地菘蓝的叶、根与单株干重在 1/2N 处理下最大。综合分析,在适宜的施氮量范围内有利于菘蓝生物量的提高,甘肃产地菘蓝对施氮量的响应比山西产地菘蓝更为敏感,表现出一定的低氮耐受力。不同施氮量处理后,菘蓝单株折干率差异不显著 ($P > 0.05$)。

如表 2 所示,随着施氮量的增加,山西与甘肃产地菘蓝根长均表现出增加趋势,在 N 处理下最大,且显著高于 CK、1/4N、1/2N 处理。株高的变化趋势与根长相同,其中,山西产地菘蓝在 N 处理下株高最大,且显著高于其他处理,1/4N、1/2N 处理间差异不显著,但均显著高于 CK 处理。甘肃产地菘蓝株高在 N 处理下最大,1/2N 处理下株高也维持在较高水平,两处理间差异不显著,但显著高于 CK 处理。主根直径变化趋势与根长、株高的趋势相似,不同施氮量处理后,山西与甘肃产地菘蓝植株主根直径差异均达到显著水平,两个产地菘蓝在 N 处理下的主根直径比 CK 处理分别高出约 131%、114%。说明施氮量与菘蓝植株的生长指标呈正相关,氮素对菘蓝的生长发挥着重要的作用。

表 1 不同施氮水平下菘蓝生物量 ($n = 10$)
Table 1 Biomass of *I. indigotica* under different nitrogen application rates

产地 Origin	处理 Treatment	鲜重 Fresh weight (g)			干重 Dry weight (g)			折干率 (%) Drying rate
		叶 Leaf	根 Root	株 Plant	叶 Leaf	根 Root	株 Plant	
山西 Shanxi	CK	4.58 ± 1.06 d	4.44 ± 1.01 c	9.12 ± 0.81 d	1.32 ± 0.38 c	0.82 ± 0.22 c	2.14 ± 0.29 c	0.24 ± 0.02 a
	1/4N	13.96 ± 3.67 c	22.80 ± 5.09 b	36.76 ± 3.22 c	4.68 ± 0.32 b	4.45 ± 1.61 b	9.13 ± 1.93 b	0.25 ± 0.01 a
	1/2N	19.15 ± 2.40 b	25.62 ± 3.43 b	44.77 ± 2.55 b	6.37 ± 0.23 a	4.89 ± 0.85 b	11.26 ± 1.07 b	0.25 ± 0.01 a
	N	26.86 ± 1.96 a	41.53 ± 4.56 a	68.39 ± 3.16 a	7.38 ± 1.30 a	7.89 ± 0.52 a	15.27 ± 1.49 a	0.22 ± 0.02 a
甘肃 Gansu	CK	11.89 ± 3.49 c	12.78 ± 1.19 c	24.67 ± 2.87 c	4.16 ± 1.46 c	2.77 ± 0.16 c	6.93 ± 1.42 d	0.28 ± 0.03 ab
	1/4N	28.12 ± 3.71 a	32.47 ± 5.88 b	57.59 ± 3.68 b	10.25 ± 1.16 a	7.09 ± 1.00 b	17.34 ± 0.82 b	0.29 ± 0.02 a
	1/2N	33.01 ± 2.40 a	45.48 ± 0.96 a	78.49 ± 1.82 a	10.37 ± 0.64 a	9.30 ± 0.79 a	19.67 ± 1.37 a	0.25 ± 0.02 ab
	N	19.80 ± 1.50 b	39.03 ± 5.91 ab	58.83 ± 4.30 b	6.35 ± 0.76 b	7.43 ± 0.96 b	13.77 ± 0.72 c	0.24 ± 0.01 b

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Data followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).

表 2 不同施氮下菘蓝植株生长状况 ($n = 10$)
Table 2 Growth of *I. indigotica* under different nitrogen application rates

处理 Treatment	根长 Root length (cm)		株高 Plant height (cm)		主根直径 Diameter of taproots (cm)	
	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu
CK	5.10 ± 0.14 d	8.70 ± 0.71 c	12.97 ± 1.17 c	24.15 ± 0.35 c	0.72 ± 0.01 d	0.79 ± 0.01 d
1/4N	8.75 ± 0.21 c	9.43 ± 0.04 c	20.50 ± 1.84 b	25.77 ± 0.06 bc	1.23 ± 0.04 c	1.18 ± 0.05 c
1/2N	10.50 ± 0.14 b	11.00 ± 0.85 b	20.90 ± 0.28 b	27.85 ± 0.49 ab	1.48 ± 0.03 b	1.39 ± 0.03 b
N	14.40 ± 0.71 a	13.05 ± 0.07 a	26.69 ± 0.17 a	30.85 ± 2.47 a	1.66 ± 0.06 a	1.69 ± 0.04 a

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Data followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).

2.2 减量施氮对菘蓝叶中可溶性糖和游离氨基酸含量的影响

表 3 结果显示, 山西、甘肃产地菘蓝在 CK 处理下可溶性糖含量均维持在较高水平, 在 N 处理下含量较低, 其中山西产地菘蓝在 CK 处理下可溶性糖含量显著高于其他处理 ($P < 0.05$), 甘肃产地菘蓝在 N 处理下可溶性糖含量显著低于其它处理, 说明氮胁迫处理促进了菘蓝可溶性糖的合成与积累。山西、甘肃两个产地菘蓝均以 N 处理下游离氨基酸的含量最高 (表 3), 且甘肃产地菘蓝的 N 处理与同组其他处理间差异显著 ($P < 0.05$), 这可能与氮素促进游离氨基酸的合成有关。两个产地菘蓝均以 CK 处理下游离氨基酸的含量显著低于其他处理。相对于 N 处理, 山西、甘肃产地菘蓝的在 CK 处理游离氨基酸的含量分别降低了 47.7%, 43.1%, 这可能与低氮水平下氮代谢能力较弱有关。

碳氮比可以反映植物的抗逆水平。表 5 表明,

山西产地碳氮比表现出随氮素胁迫程度降低而下降的趋势, 在 CK 处理下碳氮比最高, 且显著高于其余三个处理。甘肃产地菘蓝碳氮比表现出随胁迫程度降低而先升高后下降的趋势, 这可能与甘肃产地菘蓝在 CK 处理下菘蓝代谢调节机构被一定程度的破坏有关, 但氮素胁迫条件下菘蓝碳氮比均显著高于正常氮处理。

2.3 减量施氮对菘蓝叶中靛蓝、靛玉红及总黄酮含量的影响

施氮量对菘蓝叶内靛蓝的含量有着显著的影响 (表 4), 其中山西产地菘蓝在 N 处理下靛蓝含量最低, 且显著低于其它处理 ($P < 0.05$); 相较 N 处理, CK、1/4N、1/2N 处理靛蓝含量分别高出约 8.13 倍、3.00 倍、1.40 倍。甘肃产地菘蓝叶内靛蓝含量在 CK 处理下最高, 且显著高于其他处理, 其余 3 个处理间差异不显著 ($P > 0.05$)。综合分析, 靛蓝含量随施氮量增加而逐渐降低, 以 N 处理下靛蓝含量较

表 3 不同施氮下菰蓝叶中营养物质含量 ($n = 3$)

Table 3 Nutrient contents of *Isatis indigotica* leaves under different nitrogen application rates

处理 Treatment	可溶性糖 Soluble sugar (mg/g)		游离氨基酸 Free amino acids (mg/g)		C/N	
	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu
CK	10.06 ± 0.55 a	7.31 ± 0.24 b	23.31 ± 9.97 b	27.87 ± 0.51 c	0.51 ± 0.29 a	0.26 ± 0.01 c
1/4N	7.25 ± 0.79 c	9.74 ± 0.70 a	36.89 ± 2.01 a	25.58 ± 0.47 c	0.20 ± 0.02 b	0.38 ± 0.03 a
1/2N	8.39 ± 0.16 b	9.71 ± 0.06 a	37.66 ± 0.65 a	31.96 ± 0.82 b	0.22 ± 0.01 b	0.30 ± 0.01 b
N	7.95 ± 0.57 bc	4.74 ± 0.26 c	44.60 ± 3.85 a	48.96 ± 2.44 a	0.18 ± 0.03 b	0.10 ± 0.00 d

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Data followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).

表 4 不同施氮下菰蓝叶中靛蓝、靛玉红及总黄酮含量 ($n = 3$)

Table 4 Indigo, indirubin and total flavonoid contents of *I. indigotica* leaves under different nitrogen application rates

处理 Treatment	靛蓝 Indigo (mg/g)		靛玉红 Indirubin (mg/g)		总黄酮 Total flavonoid (mg/g)	
	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu
CK	1.37 ± 0.09 a	0.72 ± 0.19 b	0.23 ± 0.01 a	0.09 ± 0.01 b	6.45 ± 0.38 a	6.12 ± 0.12 a
1/4N	0.60 ± 0.12 b	0.50 ± 0.03 a	0.18 ± 0.01 b	0.07 ± 0.02 b	5.94 ± 0.20 b	5.92 ± 0.14 a
1/2N	0.36 ± 0.06 bc	0.50 ± 0.03 a	0.08 ± 0.00 c	0.07 ± 0.00 b	6.40 ± 0.12 ab	4.43 ± 0.15 c
N	0.15 ± 0.19 c	0.56 ± 0.15 a	0.03 ± 0.00 d	0.06 ± 0.01 a	5.30 ± 0.11 c	4.99 ± 0.19 b

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Data followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).

低。菰蓝叶内靛玉红含量变化也与施氮量有着显著的关系, 如表 4 所示, CK 处理下山西产地的靛玉红含量最高, 随施氮量的提高表现为递减的趋势, 且 4 个处理间差异显著 ($P < 0.05$)。不同施氮处理下, 甘肃产地的 CK、1/4N、1/2N 处理下靛玉红的含量均维持在较高水平, 3 个处理间差异不显著 ($P > 0.05$), 但显著高于 N 处理 ($P < 0.05$)。这说明减量施氮可能会刺激菰蓝的次生代谢, 促进靛蓝、靛玉红等次生代谢产物的形成。

施氮量对总黄酮的含量影响显著, 山西、甘肃两个产地菰蓝均以 CK 处理下总黄酮含量最高, 随着施氮量的提高, 总黄酮的含量呈现一定的下降趋势。这说明减量施氮促进了黄酮类次生代谢产物的合成。山西产地菰蓝在 N 处理下总黄酮含量最低, 且显著低于其他处理, 在 CK、1/4N、1/2N 处理间差异不显著 ($P > 0.05$); 甘肃产地菰蓝则在 CK、1/4N 处理间差异不显著, 均维持在较高的水平, 1/2N、N 处理下显著下降。

2.4 减量施氮对菰蓝根中 (R, S)-告依春含量的影响

减量施氮下两个产地菰蓝根中 (R, S)-告依春含量的变化与靛蓝和靛玉红变化趋势类似, 表现为在

CK 处理下 (R, S)-告依春含量最高, 随着施氮量的提高逐渐下降 (图 1)。其中, 山西产地菰蓝在 1/4N 处理下 (R, S)-告依春含量也维持在较高水平, CK、1/4N 处理与 1/2N、N 处理间差异显著 ($P < 0.05$), 这说明减量施氮可能刺激了菰蓝的次生代谢过程, 促进了 (R, S)-告依春的合成。甘肃产地菰蓝的根中 (R,

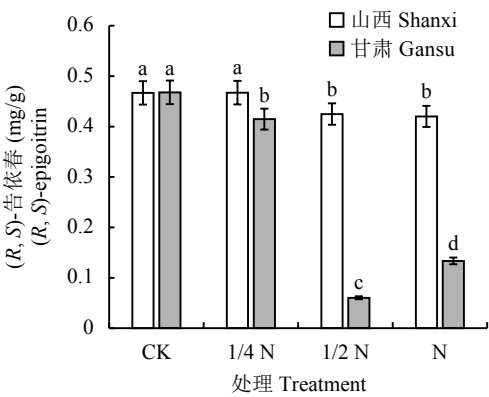


图 1 不同施氮下菰蓝根中 (R, S)-告依春含量 ($n = 3$)

Fig. 1 Contents of (R, S)-epigoitrin in roots of *I. indigotica* under different nitrogen application rates

[注 (Note): 方柱上不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Values followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).]

S)-告依春的含量在各处理间均差异显著 ($P < 0.05$), 且相较 CK 处理, 1/2N 和 N 处理后 (R, S)-告依春含量分别下降了 87.1%、71.5%, 说明甘肃产地菰蓝可能对施氮量的变化更为敏感。

2.5 减量施氮对大青叶和板蓝根有效经济产量的影响

表 5 结果显示, 在 1/4、1/2 处理下, 山西产地大青叶的有效经济产量均维持在较高的水平, 以 N 处理下最低, 且相较 1/4N 低约 63.2%, 两处理间差异显著; 甘肃产地在 1/2 处理下大青叶有效经济产

量取得最大值, 1/4 处理下也维持在较高水平, 两处理间差异不显著, 但显著高于 CK 处理, 相较 CK 处理, 1/4N 处理分别高出约 72.7%、74.2%、16.3%。

减量施氮对板蓝根产量也有显著影响, 山西产地表现为随施氮水平的增加, 板蓝根有效经济产量呈增加的趋势, 在 N 处理下取得最大值, 且与其他处理下间差异显著, 相较 CK 处理高出约 7.7 倍; 甘肃产地则表现为先增加后减小再增加的趋势, 在 1/4N 处理下取得最大值, 相较 N 处理高出约 2.0 倍, 四个处理间差异显著。

表 5 不同施氮下大青叶和板蓝根有效经济产量 ($n = 3$)
Table 5 Effective economic yields of *Isatidis Folium* and *Isatidis Radix* under different nitrogen application rates

处理 Treatment	大青叶 <i>Isatidis Folium</i> (mg/g)		板蓝根 <i>Isatidis Radix</i> (mg/g)	
	山西 Shanxi	甘肃 Gansu	山西 Shanxi	甘肃 Gansu
CK	2.10 ± 0.10 ab	3.37 ± 0.75 b	0.38 ± 0.01 c	1.30 ± 0.04 b
1/4N	3.64 ± 0.60 a	5.82 ± 0.51 a	2.08 ± 0.07 b	2.94 ± 0.00 a
1/2N	2.77 ± 0.41 ab	5.87 ± 0.27 a	2.08 ± 0.03 b	0.56 ± 0.00 d
N	1.34 ± 1.41 b	3.92 ± 1.04 ab	3.31 ± 0.07 a	0.99 ± 0.12 c

注 (Note): 同列数据后不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$) Data followed by different letters indicate significant differences among the treatments ($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 减量施氮对菰蓝生长的影响

氮素是植物生长所需的重要基本元素之一, 对植物最终产量的贡献率约为 40%~50%, 因此氮素水平的高低与植物的生长密切相关。适宜的氮水平有利于植物生物量积累, 提高植物的抗逆性, 氮素水平过高则不利于植物生长^[13]。本研究中, 山西菰蓝单株生物量随着施氮量提高而增加, 施用氮肥明显提高了其植株的鲜重、干重、株高、主根直径等指标, 这与王雨等^[8]在不同施氮水平对盐胁迫下的研究结果一致, 这说明氮素通过氮代谢参与了植株形态的建成, 适宜的施氮水平促进了含氮化合物的积累, 亦或是通过直接或间接的影响了植株的光合作用, 从而进而影响植株生物量的积累。甘肃菰蓝单株生物量则随着施氮量的升高表现出先增加后减少的趋势, 与生长性状的变化趋势并不完全一致, 推测可能是甘肃菰蓝对氮水平较为敏感, N 处理视为高氮投入, 一方面, 生长前期氮肥过多, 使植物过度生长, 不进行生理分化; 后期高氮进一步降低了植物抗氧化酶活性, 加重了菰蓝膜脂过氧化程度, 促进植物衰老而影响了其生物量的形成, 这与汤利

等^[14]和高茂盛等^[15]的研究结果一致; 另一方面, 可能因供试土壤为酸性土壤, 酸性土壤下高氮条件对其产量降低有更为显著的影响^[16]。

折干率是衡量药材品质和产量的重要指标, 对实际生产具有重要意义, 折干率的大小受自身遗传因素以及外界环境因素影响^[17]。山西、甘肃两个产地菰蓝植株在不同氮水平下折干率差异不显著, 即氮营养对菰蓝折干率影响不明显。

3.2 减量施氮对菰蓝营养物质合成的影响

可溶性糖作为碳同化过程的主要产物之一, 在植物逆境生理的调控中发挥着重要作用, 其含量的升高通常与植物抗逆性的提高有关^[18]。研究发现, 不同供氮水平下, CK 处理下叶片中可溶性糖含量较高, 且随着施氮量增高, 可溶性糖含量呈递减趋势, 这与孙兴祥等^[19]在不同氮素水平对菠菜生长和品质研究结果一致, 这可能与低氮条件下, 植物通过可溶性糖含量增加, 提高了植物叶片的渗透调节能力, 从而延缓叶片衰老, 为植物生长提供充足的碳源有关。游离氨基酸作为主要含氮化合物与施氮量密切相关, 两个产地菰蓝在 N 处理下的游离氨基酸含量均明显高于 CK、1/4N、1/2N 处理, 这说明了氮对氨基酸的合成有一定的促进作用, 游离氨基酸的

含量与施氮量呈正相关。同一施氮水平下,不同产地菘蓝游离氨基酸的含量差异不显著。

有研究指出,游离氨基酸作为氮代谢中心物质,是反映植物氮代谢情况的有效指标,可溶性糖为碳代谢的中间产物,是反映植物碳代谢强弱的有效指标,可溶性糖与游离氨基酸的比值大致可以反映 C/N 比,植物碳氮平衡(C/N)又反映了植物在逆境下的适应能力^[20]。曹蓓蓓^[21]通过研究不同品种和施氮条件对小麦叶片衰老与碳氮平衡的影响发现,随施氮量的下降,小麦的碳氮比显著升高,植物抗逆性增强,但同时叶绿素含量降低,叶片衰老。本研究中,两个产地菘蓝碳氮比随着氮素水平的降低而提高,这与曹蓓蓓研究结果一致。适度低施氮水平下,甘肃产地菘蓝的碳氮比高于山西产地,这可能说明甘肃产地菘蓝品种对低氮的耐受性强于山西产地。

3.3 减量施氮对菘蓝次生代谢产物积累的影响

靛蓝、靛玉红均属于含氮化合物,其含量的积累与氮素水平密切相关。山西、甘肃产地菘蓝叶内的靛蓝、靛玉红含量均以 CK 处理下最高,且随着供氮水平提高呈下降趋势,这可能是由于在遭受逆境胁迫(低氮胁迫)时,其体内次生代谢产物的合成与积累增加有关。(R, S)-告依春不仅是板蓝根的主要活性成分,同时也可提高植物的抗氧化能力以应对外界的不良环境。在 CK、1/4N 氮处理下山西和甘肃的(R, S)-告依春含量均保持在较高水平,且显著高于 1/2N、N 处理,这与靛蓝、靛玉红的变化结果相一致。相对于 CK,甘肃的(R, S)-告依春在 1/2N、N 处理下表现为明显的下降,一方面可能是甘肃菘蓝在低氮胁迫下抗逆基因表达更强有关,另一方面可能与酸性土壤对高氮条件下板蓝根中(R, S)-告依春含量合成有显著抑制作用有关。

黄酮类物质作为植物次生代谢产物之一,具有抵御不良环境的作用。两个产地菘蓝在 CK 处理下总黄酮的含量显著高于其他处理,且随施氮量的升高总黄酮含量下降,这与刘伟的研究结果相一致^[22]。这可能与低氮胁迫环境下,植物通过增强自身一系列次生代谢过程以应对环境的变化有关。

3.4 减量施氮对菘蓝有效经济产量的影响

目前关于氮素营养对菘蓝影响的研究主要集中在其活性成分含量上,而有效经济产量指标则可综合反映药材的产量和品质,为其合理栽培提供切实理论依据。本研究中,氮素水平对大青叶和板蓝根的有效经济产量有显著的影响,减量施氮处理下

(1/4N、1/2N),山西、甘肃产地大青叶的有效经济含量均处于较高水平,主要原因可能是施氮量的减少虽然影响植物正常生长,但同时也促进其次生代谢产物的合成^[23],这些次生代谢产物即是菘蓝的药效成分。山西产地板蓝根的有效经济产量随施氮水平的提高而增加,相较 N 处理,减量施氮处理下(1/4N、1/2N)该指标约低 37.2%,推测是因为在不同处理对(R, S)-告依春含量的影响不显著,而显著促进其生长量所致;甘肃产地板蓝根的有效经济产量以 1/4N 处理下取得最大值,在 1/2 处理下则突然下降,推测与(R, S)-告依春含量的突然下降有关,具体原因有待进一步的研究。综合考虑,适当减少氮营养(1/4N、1/2N),有利于山西、甘肃产地菘蓝总有效经济产量的提高。

4 结论

氮素水平的提高可显著增加菘蓝的鲜重、干重等生物量,对菘蓝一些次生代谢产物的积累则不利。减量施氮,菘蓝的可溶性糖、碳氮比、总黄酮含量,靛蓝、靛玉红、(R, S)-告依春等次生代谢产物含量均显著提高。两个产地菘蓝表现出对氮素水平不同的响应规律,甘肃产地菘蓝对低氮水平更为敏感,可能具有一定的耐低氮潜力。综合考虑大青叶和板蓝根的有效经济产量指标,在菘蓝大田实际生产中,可适当采用减量施氮处理,建议将氮肥施用量控制在 169~338 kg/hm²。

参 考 文 献:

- [1] 巨晓棠,谷保静.我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J].植物营养与肥料学报,2014,20(4):783-795.
Ju X T, Gu B J. Status-quo, problem and trend of nitrogen fertilization in China[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2014, 20(4): 783-795.
- [2] 吴俊,樊剑波,何园球,等.不同减量施肥条件下稻田田面水氮素动态变化及径流损失研究[J].生态环境学报,2012,(9):1561-1566.
Wu J, Fan J B, He Y Q, et al. Dynamics of nitrogen and runoff lose in ponding water of paddy field under different fertilization practices[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2012, (9): 1561-1566.
- [3] Ti C, Luo Y, Yan X. Characteristics of nitrogen balance in open air and greenhouse vegetable cropping systems of China environment[J]. Science and Pollution Research, 2015, 22: 18508-18518.
- [4] Han J, Shi J, Zeng L, et al. Effects of nitrogen fertilization on the acidity and salinity of greenhouse soils[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22: 2976-2986.
- [5] 郭兰萍,王铁霖,杨婉珍,等.生态农业—中药农业的必由之路[J].中国中药杂志,2017,42(2):231-238.
Guo L P, Wang T L, Yang W Z, et al. Ecological agriculture: future

- of agriculture for Chinese medicine[J]. *China Journal of Chinese Material Medica*, 2017, 42(2): 231–238.
- [6] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015. 205–206.
- Chinese Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of People's Republic of China[M]. Beijing: China Medical Science Press, 2015. 205–206.
- [7] 肖云华, 吕婷婷, 唐晓清, 等. 追施氮肥量对菘蓝根的外形品质、干物质积累及活性成分含量的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(2): 437–444.
- Xiao Y H, Lv T T, Tang X Q, *et al.* Effects of topdressing nitrogen on apparent quality, dry matter accumulation and contents of active components in the root of *Isatisindigotica* Fort[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2014, 20(2): 437–444.
- [8] 王雨, 唐晓清, 施晟璐, 等. 不同施氮水平对盐胁迫下苗期菘蓝生理特性及根中(R, S)-告依春含量的影响[J]. *核农学报*, 31(2): 394–401.
- Wang Y, Tang X Q, Shi S L, *et al.* Effects of different nitrogen levels on physiological characteristics and epigotrin content in root of *Isatisindigotica* Fort. at seedling stage under salt stress[J]. *Journal of Nuclear Agriculture Science*, 31(2): 394–401.
- [9] 朝瑛柞, 王秀娟, 张海楼, 等. 减量施氮对保护地辣椒产量及品质影响[J]. *浙江农业科学*, 2011, (4): 746–748.
- Chao Y Z, Wang X J, Zhang H L, *et al.* Effects of reduced nitrogen fertilizer on yield and quality of capsicum in protected field[J]. *Zhejiang Agriculture Science*, 2011, (4): 746–748.
- [10] 晏枫霞. 氮素形态和不同氮磷钾配比对菘蓝生长及活性成分的影响[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2009.
- Yan F X. Effect of NH_4^+ -N/ NO_3^- -N ration and N, P, and K nutrition ratio on the growth and active components of *Isatisindigotica* Fort[D]. Nanjing: MS Thesis of Nanjing Agriculture University, 2009.
- [11] 孙世芹, 阎秀峰. 氮素水平对喜树幼苗喜树碱含量的影响[J]. *中国中药杂志*, 2008, 33(4): 356–359.
- Sun S Q, Yan X F. Effect of nitrogen on camptothecin content of *Camptotheca acuminata* seedlings[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2008, 33(4): 356–359.
- [12] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- Li H S. Physiological and biochemical experimental principles and techniques[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [13] 吴巍, 赵军. 植物对氮素吸收利用的研究进展[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(13): 75–78.
- Wu W, Zhao J. Advances on plants' nitrogen assimilation and utilization[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(13): 75–78.
- [14] 汤利, 卢国理, 楚秩欧, 等. 稻田作系统高氮投入对水稻产量、氮素利用及稻瘟病发生的影响[A]. 中国土壤学会. 第十一届全国会员代表大会暨第七届海峡两岸土壤肥料学术交流会论文集(上)[C]. 2008.
- Tang L, Lu G L, Chu Z O, *et al.* Effect of high nitrogen input on rice yield, nitrogen utilization and rice blast occurrence in rice intercropping system[A]. Chinese Soil Society. Proceedings of The 11th National congress of the Chinese Soil Society and the 7th Cross-Strait Symposium on Soil and Fertilizer Academic Exchange Symposium (I)[C]. 2008.
- [15] 高茂盛, 吴清丽, 廖允成, 等. 施氮对旱地冬小麦旗叶衰老及其活性氧代谢的影响[J]. *西北农林科技大学学报*, 2009, 37(6): 73–78.
- Gao M S, Wu Q L, Liao Y C, *et al.* Aging of winter wheat flag leaves and oxygen metabolism under nitrogen provision[J]. *Journal of Northwest A&F University*, 2009, 37(6): 73–78.
- [16] 徐茜, 周泽启, 巫常标. 酸性土壤施用石灰对降低氮素及提高烤烟产质的研究[J]. *中国烟草科学*, 2000, (04): 46–49.
- Xu Q, Zhou Z Q, Wu C B. Study on reducing nitrogen content and improving yield and quality of flue-cured tobacco by liming to acid soils[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2000, (04): 46–49.
- [17] 王小峰. 氮磷钾配比对何首乌农艺性状及产量的影响研究[D]. 重庆: 西南大学博士学位论文, 2007.
- Wang X F. The effect of different ration of NPK fertilizers on agricultural character and the yield of *Polygonum multiflorum*[D]. Chongqing: PhD Dissertation of Southwest University, 2007.
- [18] 赵江涛, 李晓峰, 李航, 等. 可溶性糖在高等植物代谢调节中的生理作用[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(24): 6423–6425.
- Zhao J T, Li X F, Li H, *et al.* Research on the role of the soluble sugar in the regulation of physiological metabolism in higher plants[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2006, 34(24): 6423–6425.
- [19] 孙兴祥, 王健, 周毅, 等. 不同氮素水平对菠菜生长和品质的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2005, 28(3): 126–128.
- Sun X X, Wang J, Zhou Y, *et al.* Effects of different nitrogen levels on growth and quality of spinach[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2005, 28(3): 126–128.
- [20] 李隆云, 廖允平, 张艳. 药用红花生育期间可溶性糖和可溶性氨基酸含量动态的研究[J]. *中国中药杂志*, 1994, 19(6): 334–336.
- Li L Y, Liao Y P, Zhang Y. Dynamics of soluble sugar and soluble amino acids during the growth of medicinal saffron[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 1994, 19(6): 334–336.
- [21] 曹蓓蓓. 不同品种和栽培条件对小麦叶片衰老与碳氮平衡的影响[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2017.
- Cao B B. Effects of different cultivars and cultivations on leaf senescence and C/N of wheat[D]. Yangling, Shaanxi: MS Thesis of Northwest A&F University, 2017.
- [22] 刘伟. 不同生育期氮磷钾胁迫对菊花黄酮类化合物的代谢调控研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2010.
- Liu W. Effect of nitrogen, phosphorus and potassium deficiency indifferent growth stages on the second synthesis pathway offlavonoid in *Chrysanthemum morifolium* Ramat[J]. Wuhan: PhD Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2010.
- [23] 伊品. 银杏叶产量和质量影响因素调查研究[J]. *防护林科技*, 2017, (11): 28–29.
- Yi P. Factors in fluencing the yield and quality of leaves for *Ginkgo biloba*[J]. *Protection Forest Science and Technology*, 2017, (11): 28–29.