

氮肥对刺五加幼苗碳代谢及生长发育的影响

刘寒¹, 金司阳¹, 杨立学², 王谦博³, 郭盛磊¹, 王振月^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040;
3. 广东药科大学附属第一医院, 广州 510080)

[摘要] **目的:** 通过研究不同氮肥施用量对刺五加幼苗生长发育及碳代谢的影响, 筛选出刺五加幼苗合理施肥条件, 为刺五加人工栽培的科学施肥提供依据和指导。**方法:** 采用单点单因素大田实验, 以长势均一的 1 年生刺五加幼苗为研究样本, 分别用 5 个不同的施氮量处理组进行处理, 其中 N1 处理组 ($30 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N2 处理组 ($60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N3 处理组 ($90 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N4 处理组 ($120 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N5 处理组 ($150 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), 以及 CK 组 ($0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), 3 个月后, 收获时测定样本植株株高、根围、茎围、根冠比以及 SPAD 值。采集刺五加新鲜叶片用于测定蛋白质含量及蔗糖含量, 淀粉含量, 可溶性糖含量和还原性糖含量。**结果:** N3 处理组最利于刺五加植株的生长发育, 该处理下刺五加幼苗长势最好, N3 处理组的刺五加蛋白质含量最高, N5 处理组和 CK 处理组最利于积累淀粉及蔗糖。N5 处理组可溶性糖含量及还原性糖含量最高。**结论:** 刺五加幼苗的生长发育对施氮量存在剂量效应关系, 即低施氮量处理和高施氮量处理都会对刺五加造成逆境胁迫, 通过研究, 得出适宜刺五加生长的施氮量为 $90 \sim 120 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$ 。

[关键词] 刺五加; 施氮量; 生长发育; 碳代谢; 碳水化合物

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0152-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200313

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191017.0902.001.html>

[网络出版时间] 2019-10-17 09:55

Effect of Nitrogen Fertilizer on Carbon Metabolism and Growth and Development of *Acanthopanax senticosus* Seedlings

LIU Han¹, JIN Si-yang¹, YANG Li-xue², WANG Qian-bo³, GUO Sheng-lei¹, WANG Zhen-yue^{1*}

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

3. The First Affiliate Hospital of Clinical Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of different nitrogen application rates on the growth and carbon metabolism of *Acanthopanax senticosus* seedlings, and screen out the rational fertilization conditions, in order to provide basis and guidance for scientific fertilization of artificially cultivated *A. senticosus*. **Method:** A single-point, single-factor field experiment was conducted to study the seedlings of growing evenly *A. senticosus*. Five different nitrogen application treatment groups were set up to treat the seedlings, namely N1 group ($30 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N2 group ($60 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N3 group ($90 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N4 group ($120 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), N5 group ($150 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) and CK group ($0 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$), respectively. Three months later, plant height, root circumference, stem circumference, root-shoot ratio and SPAD were measured at harvest time. The contents of protein, sucrose, starch, soluble sugar and

[收稿日期] 20190606(015)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC0500303); 国家科技重大专项和重点研发项目省级项目(GX17C006); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(2018年)

[第一作者] 刘寒, 在读博士, 从事中药资源研究, E-mail: 228307107@qq.com

[通信作者] *王振月, 教授, 从事中药资源开发与生物技术研究, E-mail: wangzhen_yue@163.com

reducing sugar in fresh leaves were measured. **Result:** N3 treatment was the best treatment method for the growth and development of *A. senticosus* seedlings, and the growth of *A. senticosus* seedlings was the best under this treatment. The protein content of *A. senticosus* seedlings in N3 treatment was the highest. Starch and sucrose were best accumulated in N5 treatment group and CK treatment group. N5 treatment had the highest soluble sugar content and reducing sugar content. **Conclusion:** There is a dose-effect relationship between the growth and development of *A. senticosus* seedlings; that is to say, low and high nitrogen application treatments will cause stress on *A. senticosus* seedlings. In conclusion, the suitable nitrogen application rate for *A. senticosus* growth is 90-120 g·m⁻².

[**Key words**] *Acanthopanax senticosus*; nitrogen application rate; growth and development; carbon metabolism; carbohydrate

刺五加为五加科五加属植物,以干燥的根和根茎或茎为药用部位。具有益气健脾,补肾安神的功效^[1]。现代药理学研究发现刺五加具有抗肿瘤,抗氧化和保护神经的作用^[2],其中刺五加总苷具有抗肿瘤、抗氧化、降血糖、防治糖尿病^[3]并发症及防治酒精肝^[4]的作用。刺五加为我国珍贵的东北林药资源^[5],主要分部于黑龙江、吉林、辽宁^[6],其良好的临床疗效导致市场需求量逐年增加,野生资源锐减严重^[7-8],人工栽培历史较短,导致其资源匮乏并制约了刺五加产业经济的发展。

氮素是构成植物体内蛋白质与核酸的主要成分,也是构成叶绿素(SPAD),多种维生素,辅酶必不可少的成分^[9]。不同药用植物生物学特性和代谢物质途径差异较大,使得其对氮元素需求量不尽相同,因而药用植物施肥研究十分复杂^[10]。药用植物栽培是实现药用植物资源可持续利用的有效途径,目前人工栽培中存在的药材质量不稳定及药材质量下降问题是困扰药用植物栽培发展的瓶颈,合理施用肥料可以提高药用植物产量与质量,以及提高次生代谢产物含量,而不合理的施用会形成逆境胁迫环境,影响植物的生长,进而影响药用植物产量与品质^[11]。卢丽兰^[12]研究指出适宜氮水平有利于广藿香生长和挥发油含量的提高从而达到通过控制施氮量保证其药效成分。刘伟^[13]指出菊花体内含氮量下降时初生代谢与次生代谢对氮的竞争作用使各种酶的活性增强,导致其根系分泌黄酮量上升进而提高其药效成分含量。

植物生命活动中心碳代谢,通过同化足够多的碳来构建生物量,是植物必不可少的生命活动之一;植物体内的碳分为建成形态的结构性碳和非结构性碳,其中非结构性碳可在植物遭受环境胁迫时通过调节渗透物质改变渗透压进而达到缓冲性作用^[14]。碳代谢通过光合作用、呼吸作用和糖类代谢等途径

影响植物的生长发育、有机化合物的合成、转运和积累,进而影响植物的产量与品质^[15]。碳代谢与植株生长和产量密切相关^[16]。有研究发现植物对氮素的吸收能影响其自身糖代谢过程^[17]。近几年,关于植物碳代谢研究逐渐增加,研究方法比较复杂,并且目前对中草药在施肥-碳代谢方面的研究不多,研究角度多为光强,不同光质配比,外源及内源激素处理,盐胁迫,水胁迫及营养胁迫等。

综上,本课题组推测不同施氮量可能会对后续植物幼苗碳代谢产生影响。因此,本研究利用刺五加大田试验初步模拟施氮量对刺五加幼苗生长影响,系统比较分析不同施氮量对刺五加幼苗碳代谢的影响,从而为保证刺五加人工栽培药材质量稳定性及提高药材产量提供初步研究基础,并为农田栽培刺五加技术标准提供理论依据和技术支持。

1 材料

刺五加实生苗购于黑龙江省伊春市红星林业局,由黑龙江中医药大学药王振月教授鉴定为五加科植物刺五加 *Acanthopanax senticosus*。试验在黑龙江省哈尔滨市黑龙江中医药大学药用植物园进行。

AE240 型电子天平(德国梅特勒公司, $d = 0.001 \text{ g}$);Spectra Max M2 型微孔板检测系统(美国美谷公司);FS-1 型可调高速匀浆机(上海比朗公司);得力 DL91150 型游标卡尺($d = 0.05 \text{ mm}$);SPAD 520 叶绿素仪(上海精密仪器仪表有限公司)。

尿素(CON_2H_4 ,山东润银生物化工股份有限公司,GB2440-2001,含 N 量 46%,批号 20171123)。

A148-1-1 型淀粉含量测试盒(批号 20180819);还原性糖试剂盒(批号 20180902),A145-1-1 型植物可溶性糖含量测试盒(比色法,批号 20180717);A099-1-1 型蔗糖测定试剂盒(紫外比色法,批号 20180806);A045-4 型总蛋白 TP 测定试剂盒(带标准 BCA 法,批号 20180713),所有试剂盒均产于

南京建成生物工程研究所。

2 方法与结果

2.1 试验设计 以刺五加一年生幼苗实验材料进行为期一年田间试验,试验田位于黑龙江中医药大学药用植物园内,面积约 130 m²。2018 年 4 月平整土地,划分为 18 个实验小区,各个小区间以 PVC 板和聚乙烯膜进行隔离。5 月初于刺五加繁殖基地采购供试种苗,供试种苗单株长(12.73 ± 1.54) cm,根长(6.25 ± 1.44) cm,茎粗(0.57 ± 0.15) cm,分枝数 1 个,芽为嫩绿色,芽长(0.58 ± 0.21) cm,分别移栽于实验小区,株距 0.4 m。待 95% 以上幼苗长出第二片新叶后用不同施氮量进行处理,其他田间生产管理均按当地实际生产措施进行,适时防治病虫害,并于拔节期追施氮肥,9 月中旬全部采收。

本试验为单点单因素试验,共设 6 个施氮量处理,分别为 CK (0 g · m⁻²) 组, N1 处理组 (30 g · m⁻²), N2 处理组 (60 g · m⁻²), N3 处理组 (90 g · m⁻²), N4 处理组 (120 g · m⁻²), N5 处理组 (150 g · m⁻²), 每处理组重复 3 次。每组缓苗期后施加氮肥总量 60%, 拔节期施加 40%。

2.2 形态指标测定 每个处理组随机挑选 12 株,每个重复组挑选 3 株刺五加苗,冲洗干净,吸水纸吸干水分后,将根、茎和叶区分开采用电子天平称重法分别称量地上干鲜重和地下干鲜重,用以计算根冠比 = 地下干重/地上干重;株高采用直尺测量,基部茎围采用游标卡尺测量。挑选刺五加第二层叶片在避开叶柄和叶脉的位置,测量叶绿色含量 SPAD 计

算平均值。

2.3 糖含量测定 每个处理组及重复组随机挑选 12 株刺五加苗冲洗干净,摘取第二层鲜叶,进行测定糖含量,采用淀粉、可溶性糖、还原性糖、蔗糖和蛋白定量试剂盒进行测定,按照说明书流程严格操作,各指标重复测定 3 次。

2.4 数据处理 试验数据采用 SPSS 23.0 统计软件进行统计分析,通过单因素方差分析 (One-way ANOVA), LSD 和 Dunnett's-T 法多重比较对比数据差异显著性,差异显著定义为 $P < 0.05$; 采用 Excel 制表,所有数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。

3 结果与分析

3.1 对刺五加植株生长指标及 SPAD 值的影响 不同施氮量处理对刺五加一年生幼苗生长指标影响见表 1, 株高和根冠比 N4 处理组最大, 分别为 12.72 cm 和 3.47, N4 处理组株高比 CK 组增大 200.71%, 根冠比比 CK 组增大了 50.87%, 此处理组均显著高于其他处理组, 且各处理组的刺五加植株株高及根冠比均高于 CK 组。茎围和根围 N3 处理组最大分别为 4.9 cm 和 5.55 cm, N3 处理组茎围比 CK 组增大了 97.58%, 根围比 CK 组增大了 81.96%, 其中 N3 处理组根围显著高于其他处理组, 各处理组的刺五加幼苗茎围均高于 CK 组, 各处理组除 N1 处理组茎围均高于 CK 组。由表 1 可知 N5 处理组 SPAD 值最大, 比 CK 组增大了 49.76%, 均显著高于处理组 SPAD 值, 同时各处理组 SPAD 值均高于 CK 组。

表 1 不同施氮量对刺五加生长的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of nitrogen application rate of *Eleutherococcus senticosus* ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

处理组	株高/cm	茎围/cm	根围/cm	根冠比	SPAD
CK	4.23 ± 0.53 ^{abcde}	2.48 ± 0.38 ^{abcde}	3.05 ± 0.3 ^{abcd}	2.30 ± 0.22 ^{abcde}	27.43 ± 1.93 ^{abcde}
N1	10.25 ± 1.19 ^a	3.89 ± 0.52 ^{abcd}	2.87 ± 0.02 ^{abcd}	2.80 ± 0.02 ^{ab}	34.49 ± 3.16 ^{ab}
N2	9.75 ± 1.14 ^a	4.51 ± 0.26	4.83 ± 1.05 ^a	2.69 ± 0.05 ^{abc}	33.64 ± 1.97 ^{abc}
N3	10.65 ± 0.95 ^a	4.90 ± 0.92	5.55 ± 0.37	3.18 ± 0.18 ^{ab}	38.40 ± 1.65 ^a
N4	12.72 ± 1.26	4.89 ± 0.59	4.90 ± 0.07 ^a	3.47 ± 0.02	36.22 ± 2.23 ^a
N5	11.05 ± 2.01	4.78 ± 0.41	4.40 ± 0.23 ^{abcd}	2.91 ± 0.07 ^{ab}	41.08 ± 3.38

注:同列不同小写字母表示差异显著, $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 对刺五加植株蛋白质含量的影响 不同施氮量对刺五加幼苗体内蛋白质含量影响见表 2。由表 2 可知, N3 处理组蛋白质含量最大, 比 CK 组增大 137.66%, 且显著高于其他处理组。除 N1 处理组幼苗蛋白质含量低于 CK 组外其余处理组蛋白质含

量均高于 CK 组, 随着各组间施氮量的递增植株体内蛋白质呈现迅速升高的趋势, 并在 N3 处理组下蛋白质含量最大后, 随着施氮量继续增大蛋白质含量逐渐降低。

3.3 对刺五加植株淀粉含量影响 不同施氮量对

表 2 不同施氮量对刺五加糖含量和蛋白质的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of different nitrogen application rates on sugar content and protein content of *Eleutherococcus senticosus* ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

施氮量	淀粉/mg·g ⁻¹	蔗糖/mg·g ⁻¹	可溶性糖/mg·g ⁻¹	还原性糖/μg·g ⁻¹	蛋白质/g·L ⁻¹
CK	340.03 ± 6.99 ^a	0.09 ± 0.02	35.08 ± 1.98 ^{abcde}	15 048.69 ± 169.49 ^a	4.62 ± 0.63 ^{5abc}
N1	208.75 ± 4.18 ^{ab}	0.08 ± 0.01 ^a	46.91 ± 4.09 ^a	10 756.96 ± 91.90 ^{abcd}	4.07 ± 0.91 ^{abcd}
N2	201.88 ± 3.94 ^{abcde}	0.06 ± 0.00 ^{abd}	43.20 ± 2.62 ^{abc}	11 451.23 ± 155.63 ^{abcd}	7.30 ± 2.94 ^a
N3	237.54 ± 3.79 ^{ab}	0.05 ± 0.01 ^{abcde}	43.66 ± 4.01 ^{abc}	14 470.71 ± 200.78 ^a	10.98 ± 1.01
N4	254.62 ± 5.34 ^a	0.08 ± 0.02	49.19 ± 3.23	16 486.85 ± 559.07 ^a	7.82 ± 2.54 ^a
N5	344.83 ± 7.45	0.07 ± 0.01 ^a	50.30 ± 2.42	20 735.94 ± 240.66	5.50 ± 0.73 ^{abc}

刺五加植株体内淀粉含量影响见表 2。由表 2 可知,N5 处理组植株淀粉含量最高,显著高于 N1 ~ N4 处理组,CK 组植株淀粉含量仅次于 N5 处理组。N2 处理组淀粉含量最低,随着各处理组间施氮量逐个加大,淀粉含量呈现先减小后增大的“V”型变化趋势。

3.4 对刺五加植株蔗糖含量影响 不同施氮量对刺五加植株体内蔗糖含量影响见表 2。由表 2 可知,CK 组植株蔗糖含量最高,且显著高于其他组,N3 处理组蔗糖含量最低,且随着各处理组间施氮量逐个加大,植株蔗糖含量显著减小,降至 N3 处理组达到最低值,接着蔗糖含量逐渐增加。

3.5 对刺五加植株可溶性糖含量影响 不同施氮量对刺五加植株体内可溶性糖含量影响见表 2。由表 2 可知,N5 处理组植株可溶性糖含量最高,且显著高于其他处理组,CK 组植株可溶性糖含量最低。随着各处理组间施氮量逐个加大,植株可溶性糖含量呈现先增大后降低再增大的变化趋势。

3.6 对刺五加植株还原性糖含量影响 不同施氮量对刺五加植株还原性糖含量影响见表 2。由表 2 可知,N5 处理组植株还原性糖含量最高,且显著高于其他处理组。N1 处理组还原性糖含量最低。随着各处理组间施氮量逐个加大,植株还原性糖含量先快速减小,至 N1 处理组时其含量跌至最低而后逐渐增大。

4 讨论与结论

在高等植物中,原处同化产物一部分在叶绿体中转化为淀粉,另一部分则以三碳糖形式输送至细胞质用于蔗糖的合成以及其他代谢,植物中的同化产物主要以蔗糖形式从源向库输送。在糖类分子中含有游离醛基或酮基的单糖和含有游离醛基的二糖都具有还原性。还原性糖主要从包括葡萄糖、果糖、半乳糖、乳糖、麦芽糖等。植物在叶绿体中光合碳同化合成非结构性碳水化合物,在不同条件下碳水化

合物会再进行分配与利用。例如在逆境条件下水解为蔗糖、葡萄糖等可溶性糖调节渗透压。可溶性糖是植物体内重要的有机溶质渗透调节物质之一,调节细胞压力式稳定。不合理施肥会导致植物收到渗透胁迫,植物体可通过自身体内的无机离子和有机溶质调节渗透维持细胞正常膨压。

本实验发现,施氮处理组株高均显著高于 CK 组,说明施氮肥有助于刺五加幼苗长高,并且 N1, N2, N3 处理组间株高增加和减小起伏不大, N4 处理组显著增大,到 N5 处理组缓慢下降。施氮处理组的茎围均高于 CK 组,说明施氮肥有助于增加刺五加幼苗茎围,且达到最大值后增加施氮量茎围变化很小。除 N1 处理组根围小于 CK 组,其他处理组均高于 CK 组,说明施氮肥有助于根围增加,并且呈现低施氮量和高施氮量根围均减小的变化趋势。增加施氮量可以增大根冠比,但是 N5 处理下的根冠比呈减小趋势。这些均说明氮处理影响刺五加生长发育及功能以及施氮肥较 CK 促进刺五加生长发育。施加氮肥可以提高刺五加植株叶片的 SPAD 含量即叶绿素含量,而 SPAD 含量的增加有利于刺五加幼苗光合作用效率的提高和干物质的积累,这就导致了地上部的加速生长,相对更多的同化物增加从而促进了地下部的生长,促进了根系吸收水分与矿质元素,而施氮量过大会对刺五加幼苗造成胁迫环境阻碍其生长发育,所以导致其生理指标下降,综合其生长指标与 SPAD 值,施氮量为 N3, N4 处理组间更有利于刺五加的生长发育。

植物在逆境条件下会调节非结构性碳水化合物来提高生存率。CK 组的蔗糖含量达到最高,可能是由于氮胁迫导致刺五加幼苗需要同化更多的碳水化合物以促进刺五加根、茎、叶等器官生长和减少氮胁迫的抑制作用。N3 处理组下蔗糖含量降低,推测是施氮量合理,植株不必为了维持渗透压平衡过多分解蔗糖为可溶性糖以调节细胞膨压。由表可知

植株可溶性糖含量在 N5 处理下达到最大值,证明了刺五加幼苗在 N5 处理下确实面临生长胁迫问题。

综上所述,刺五加对施氮量存在剂量效应关系,适宜的施氮量有利于刺五加碳水化合物的积累;通过实验结果发现低施氮量和高施氮量都不利于刺五加生长,会对刺五加造成一定程度的 N 胁迫环境。由刺五加生长发育和体内碳水化合物含量变化可以推断较适宜刺五加生长的施氮量为 $90 \sim 120 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$

[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,2015:206-207.

[2] 毕云枫,朱洪彬,皮子凤,等. UPLC-MS/MS 结合多探针底物方法研究刺五加叶中黄酮苷类成分对 CYP450 活性的影响[J]. 高等学校化学学报,2013,34(5):1067-1071.

[3] 常晋霞,刘文虎,王仕宝,等. 基于 GC-MS 代谢组学分析刺五加总苷提取物的降糖作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(16):101-107.

[4] 郝乘仪,白婷,南极星,等. 刺五加酸对酒精性肝损伤的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(24):198-200.

[5] 张爽,付士朋,刘悦,等. HPLC 法分析刺五加茎中原儿茶酸及苯丙素类成分动态累积规律研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(8):1410-1414.

[6] 曾建飞. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1978:99.

[7] 张爽,付士朋,刘悦,等. HPLC 法分析刺五加茎中原

儿茶酸及苯丙素类成分动态累积规律研究[J]. 天然产物研究与开发,2018,30(8):1410-1414.

[8] 徐明远,王谦博,郭盛磊,等. 培育年限对刺五加主要药用活性成分的影响[J]. 植物研究,2019,39(2):303-309.

[9] 浙江农业大学. 植物营养与肥料[M]. 北京:中国农业出版社,1991:43.

[10] 王渭玲. 膜荚黄芪营养特性及次生代谢调控的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2008.

[11] 张燕,刘勇,王继永,等. 药用植物专用肥研究现状与展望[J]. 中国中药杂志,2004,29(8):6-9.

[12] 卢丽兰. 氮磷钾水平及其配合施用对广藿香生长及药效成分影响的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2016.

[13] 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,2010.

[14] 孙永林,汤尚文,徐馨,等. 湖北麦冬叶片碳代谢对土壤干旱的响应[J]. 江苏农业科学,2018,46(22):156-159.

[15] 黄东静,曹福亮,汪贵斌. 无机氮素形态对银杏苗期碳氮代谢的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2019,43(2):197-202.

[16] 邢兴华,徐泽俊,齐玉军,等. 外源二乙基二硫代氨基甲酸钠对花期淹水大豆碳代谢的影响[J]. 中国油料作物学报,2019,41(1):64-74.

[17] 吴飞跃,申燕,杨振智,等. 不同施肥对烤烟中部叶碳氮代谢及基因表达的影响[J]. 中国农业科技导报,2018,20(10):21-28.

[责任编辑 顾雪竹]