



施用磷肥对菊花活性成分及清除自由基能力的影响

刘大会^{1,2,3}, 刘伟¹, 朱端卫^{1*}, 郭兰萍², 金航³, 左智天³, 刘莉³

(1. 华中农业大学 资源与环境学院, 湖北 武汉 430070;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

3. 云南省农业科学院 药用植物研究所, 云南 昆明 650231)

[摘要] 目的:研究施用磷肥对菊花活性成分及清除自由基能力的影响,旨在为制定菊花科学施肥的栽培措施提供理论依据。方法:采用盆栽土壤培养试验,在采收期进行采样测产,分别测定药材总黄酮、绿原酸、可溶性糖、可溶性氨基酸和粗蛋白含量,以及药材提取物对羟基、超氧阴离子及 DPPH 自由基的清除率。结果:适量施用磷肥可以显著提高菊花药材产量,增产幅度达 130%。适量施用磷肥还可显著提高菊花中总黄酮、绿原酸和可溶性糖的含量与累积量,从而显著增强了菊花清除羟基、超氧阴离子及 DPPH 自由基的能力,即抗氧化活性。而菊花中可溶性氨基酸和粗蛋白含量,随磷肥施用量的增加呈下降的趋势。磷肥(P_2O_5)施用量过高($>0.20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)会导致菊花早熟,从而降低菊花产量,并也导致菊花活性成分含量、累积量及其清除自由基的能力有不同程度的降低。另外,菊花中总黄酮和绿原酸含量及菊花对 3 种自由基的清除率等指标之间,分别呈显著正相关。结论:在菊花种植生产上应重视施用磷肥,综合比较菊花产量、活性成分含量与累积量及清除自由基能力等因素,建议菊花全生育期内磷肥施用量在 $0.26\sim 0.28\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 为适宜。

[关键词] 菊花;磷肥;黄酮;绿原酸;抗氧化活性

菊花为菊科植物菊 *Chrysanthemum morifolium* Ramat. 的干燥头状花序,始载于《神农本草经》。菊花主要活性成分为黄酮、绿原酸以及糖、氨基酸等,在保护心血管、清除自由基和抗衰老等方面具有显著的生物活性^[1]。磷作为植物生长发育不可缺少的营养元素之一,不仅参与植物体内碳水化合物代谢、氮素代谢和脂肪代谢等初生代谢过程,磷营养对植物体内黄酮、绿原酸等酚类物质的次生代谢过程也有显著影响。Awad 等^[2]研究发现,苹果果皮中绿原酸含量同磷肥施用量呈显著正相关。施用磷肥也可显著提高银杏叶中黄酮的含量和总量,且银杏叶中黄酮的含量与磷肥施用量成正比^[3]。忍冬上施用磷肥也能显著增加忍冬花与叶中绿原酸的含量^[4]。在前期研究中发现,缺磷会影响菊花的生长,导致菊花产量和总黄酮含量降低^[5],但磷肥对菊花绿原酸和药理活性的效应以及生产该如何合理施用磷肥均缺乏研究。为此,本文研究了不同磷肥施用量对菊花药材黄酮、绿原酸

等活性成分含量与累积量的动态变化及其清除自由基能力的影响,旨在为菊花规范化栽培中的科学施用磷肥提供指导。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2004 年在华中农业大学微量元素研究中心盆栽试验场进行。供试菊花种苗引自湖北麻城市福田河镇药用菊花种植基地,栽培类型为福田河白菊,经湖北中医药大学陈科力教授鉴定为杭菊类型。供试土壤为武汉狮子山黄棕壤,基本理化性状为:pH 5.92,有机质 $2.6\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,碱解氮 $21.4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效磷 $2.6\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,速效钾 $60.7\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

盆栽试验采用聚乙烯塑料桶,每盆装土 9.0 kg ,并混入 1.0 kg 石英砂(改善盆土通气状况),共 10.0 kg 。根据菊花营养特性,试验设置了 5 个磷肥施用量, P_2O_5 分别为 $0.00, 0.10, 0.20, 0.30, 0.40\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土,并用 P_0, P_1, P_2, P_3, P_4 表示,磷肥品种为磷酸二氢钙 [$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$]。各处理均施用 N $0.30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土 [$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$] 和 K_2O $0.40\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 土 (K_2SO_4),另每盆基施 10 g 白云石来调节土壤 pH 和补充钙、镁营养;同时,每盆基施 10 mL 阿农微量元素混合液以补充土壤微量元素。各处理 N

[稿件编号] 20100225008

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2006BAI09B03);湖北省重点科技攻关项目(2001AA304A)。

[通信作者] * 朱端卫, E-mail: zhudw@mail.hzau.edu.cn



肥分3次施入,P和K肥作为底肥一次施入。每处理4次重复,每盆定植1株菊花扦插苗,定植时间为6月25日。菊花采收期为当年11月1日—12月15日。

1.2 样品的采收与制备

当花朵的舌状花全白、管状花50%左右展开时开始采摘菊花,并按照采收时间先后将菊花分为一水花(11月10日以前采收)、二水花(11月10—20日采收)和三水花(11月20日以后采收)。采收的鲜花及时采用微波进行杀青(500 W, 2 min),并置鼓风干燥箱中于55℃以下烘至全干称重测产。将各处理制备好菊花粉碎制样,过40目筛,保存待测。

1.3 菊花活性成分的提取

醇提物:准确称取0.25 g磨细菊花药材粉末于75 mL磨口带塞棕色试剂瓶中,加入25 mL 80%乙醇,称重并浸泡过夜,在30℃下用超声波(40 KHz)浸提30 min,补充80%乙醇至原重,过滤,将滤液密封于2℃下冷藏保存待测。

水提物:准确称取0.50 g磨细菊花药材粉末于带塞三角瓶中,加入20 mL 90℃的蒸馏水,在80℃水浴上浸提30 min,稍冷过滤,滤渣重复提取1次,并用少许蒸馏水反复漂洗残渣,所有滤液用50 mL量瓶收集,冷却后定容,保存待测。

1.4 测定方法

1.4.1 总黄酮和绿原酸的测定 吸取菊花醇提物样品,参照《中国药典》2005年版铝盐比色法测定总黄酮含量^[6],高效液相色谱法测定绿原酸^[6-7]。对照品芦丁和绿原酸由Sigma试剂公司提供。将总黄酮和绿原酸的含量乘以菊花干物质量就为菊花总黄酮和绿原酸的累积量。

1.4.2 菊花中可溶性总糖、可溶性总氨基酸和粗蛋白测定 用蒽酮比色法测定菊花可溶性总糖^[8];用茚三酮比色法测定可溶性总氨基酸^[8];用开氏法测定菊花中总氮含量后,将测定值乘以6.25,即得到菊花粗蛋白含量^[8]。

1.4.3 清除羟基自由基能力测定 采用Fenton反应测定菊花水提物样品清除羟基自由基($\cdot\text{OH}$)的能力^[9]。取一玻璃试管,并分别吸取加入0.15 mmol·L⁻¹的pH 7.4磷酸缓冲液(PBS)1 mL,40 mg·L⁻¹的番红花红1 mL,菊花二水花水提物1 mL,3%过氧化氢1 mL(新鲜配制),以及0.954 mmol·L⁻¹ EDTA-Fe(II)1 mL(新鲜配制)。将试剂充分混

合,并在37℃水浴中反应30 min后在520 nm处测吸光度。空白组以1 mL蒸馏水代替供试样品,对照组以2 mL蒸馏水代替EDTA-Fe(II)和供试样品,蒸馏水调0,测各组吸光度,按以下公式计算清除率: $\text{IR} = (A_{\text{样品}} - A_{\text{空白}}) / (A_{\text{对照}} - A_{\text{空白}}) \times 100\%$ 。

1.4.4 清除超氧阴离子自由基能力测定 采用光照核黄素体系测定菊花醇提物样品清除超氧阴离子自由基(O_2^-)的能力^[10]。用pH 7.8的0.05 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(PBS)为溶剂,配制含13.2 μmol·L⁻¹核黄素、40 mmol·L⁻¹蛋氨酸、0.3 mmol·L⁻¹氯化硝基四氮唑蓝(NBT,新鲜配制)的试剂,并将菊花二水花醇提物用PBS稀释10倍。分别吸取上述试剂和稀释样品1 mL于玻璃试管中,在25℃,4 000 lx光强下光照反应15 min后,在560 nm处测定吸光度。用PBS代替样品试剂作空白对照,用放在黑暗条件下非光照处理的试剂作参比,计算清除率。

1.4.5 清除DPPH(1,1-二苯基苦基苯肼)自由基能力测定 采用Von-Gadow等的方法测定菊花醇提物样品清除DPPH·自由基的能力^[11]。用无水乙醇作试剂配制200 μmol·L⁻¹的DPPH溶液(新鲜配制),并将供试菊花二水花醇提物用无水乙醇稀释50倍。吸取2 mL稀释样品溶液于试管中,然后加入2 mL DPPH·溶液(200 μmol·L⁻¹),充分混匀在室温下反应5 min后,在517 nm波长处测定吸光度。用2 mL无水乙醇代替样品试剂作空白对照,并用无水乙醇作参比,计算清除率。

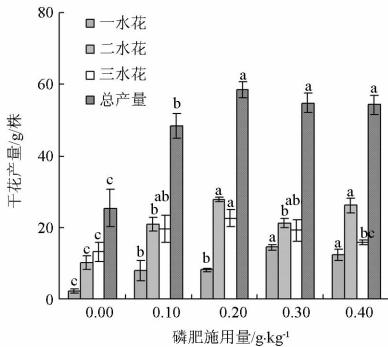
2 结果与分析

2.1 施用磷肥对菊花产量的影响

缺磷(P_0 和 P_1)时,菊花植株生长发育迟缓,植株矮小,分枝少,花朵数少,花径小,且叶色在生育前期浓绿而生育后期会出现花青素显色。施用磷肥可显著促进菊花生长发育,并显著提高菊花的干花产量。菊花一水花干花产量随着施磷量的提高而大幅增加;二、三水花及总产量是先随着施磷量的提高而逐步增加,同对照(P_0)相比, P_2 处理干花总产量增加了129.94%;但当磷肥施用量超过0.20 g·kg⁻¹, P_3 和 P_4 处理上述各期花的干花产量不再随施磷量增加而继续提高,反较 P_2 处理有一定幅度下降,即缺磷和磷肥施用量过高都不利于提高菊花产量。随着磷肥施用量的增加, $P_0 \sim P_4$ 处理一水花产量占总产量的比



例上升,而三水花产量占总产量的比例下降,这说明施用磷肥促进菊花花期提前(早熟)。将菊花全生育期干花总产量(Y)同磷肥施用量(X)进行回归分析,可得一元二次多项式模型: $Y = 26.52 + 232.30X - 418.52X^2$ ($r = 0.9373$),当施磷量为 $0.2775 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,菊花干花总产量最高可为 58.75 g/株 ,见图1。



小写字母表示同一花期不同处理间产量或不同处理间总产量差异显著, $P < 0.05$ (表1~4同)。
图1 施用磷肥对菊花干花产量的影响($n=4$)

2.2 施用磷肥对菊花中总黄酮含量与累积量的影响

施用磷肥显著影响了菊花中总黄酮的含量和累积量。低磷处理(P_1)各期花中总黄酮含量均较低,提高磷肥施用量后, P_2 处理总黄酮含量显著增加,其一、二、三水花的总黄酮含量分别较 P_1 处理增加了 9.69% 、 14.29% 、 5.31% ;继续提高磷肥施用量, P_3 和 P_4 两高磷处理各期花中总黄酮含量不再继续增加,反较 P_2 处理有小幅的降低,见表1。这表明中等施磷水平有助于提高菊花中总黄酮含量。但在严重缺磷(P_0)时也会造成菊花中总黄酮的积累,其不同花期花中总黄酮含量较各施磷处理有不同程度的增加。另外,菊花一水花总黄酮含量最高,二、三水花将渐次降低,这表明菊花总黄酮含量随采收期进行将逐步下降。从表1还可知,菊花各期花中总黄酮的累积量及全株总黄酮累积总量一般是先随施磷量的增加而逐步增加,当磷肥施用量超过 $0.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 后, P_3 和 P_4 两高磷处理菊花二、三水花的总黄酮累积量及全株总黄酮累积总量不再继续提高,而反较 P_2 处理有不同程度的降低。将菊花全株总黄酮累积总量(Y)同磷肥施用量(X)进行回归分析,可得一元二次多项式模型: $Y = 2.53 + 17.91X - 33.71X^2$ ($r = 0.8696$),当施磷量为 $0.2656 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,菊花全株总黄酮累积总量可为 4.91 g/株 。

表1 施用磷肥对菊花中总黄酮含量与累积量的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

处理	总黄酮质量分数/%			总黄酮累积量/g/株			
	一水花	二水花	三水花	一水花	二水花	三水花	总量
P_0	$10.22 \pm 0.69a$	$9.89 \pm 0.91a$	$10.16 \pm 0.97a$	$0.22 \pm 0.07c$	$1.01 \pm 0.27d$	$1.35 \pm 0.36b$	$2.59 \pm 0.68d$
P_1	$9.39 \pm 0.35b$	$8.12 \pm 0.43b$	$7.34 \pm 0.39b$	$0.74 \pm 0.25b$	$1.68 \pm 0.11c$	$1.27 \pm 0.31b$	$3.69 \pm 0.22c$
P_2	$10.30 \pm 0.41a$	$9.28 \pm 0.36a$	$7.73 \pm 0.14b$	$0.84 \pm 0.07b$	$2.58 \pm 0.10a$	$1.89 \pm 0.32a$	$5.31 \pm 0.29a$
P_3	$9.00 \pm 0.47bc$	$8.23 \pm 0.24b$	$7.51 \pm 0.14b$	$1.26 \pm 0.10a$	$1.74 \pm 0.11c$	$1.44 \pm 0.21ab$	$4.44 \pm 0.20b$
P_4	$8.73 \pm 0.25c$	$8.26 \pm 0.28b$	$7.52 \pm 0.45b$	$1.08 \pm 0.17a$	$2.15 \pm 0.13b$	$1.19 \pm 0.11b$	$4.43 \pm 0.33b$

2.3 施用磷肥对菊花中绿原酸含量和累积量的影响

各处理菊花中绿原酸含量和累积量的变化趋势,同总黄酮的变化趋势基本一致,见表2。即低磷处理(P_1)菊花各期花中绿原酸含量均较低,提高磷肥施用量后, $P_2 \sim P_4$ 处理不同花期花中绿原酸含量一般较 P_1 处理有不同程度的增加,并以 P_2 处理增加的幅度最大,而 P_3 和 P_4 处理一、二水花中绿原酸的含量反较 P_2 处理有小幅的降低,但差异不显著。上述结果表明,施用磷肥也可提高菊花中绿原酸的含量。 P_0 处理不同花期花中绿原酸含量也非常高,这

说明在严重缺磷时也会导致菊花植株体内绿原酸的累积。菊花一、二、三水花中绿原酸累积量及全株绿原酸累积总量同磷肥施用量呈一正抛物线形的关系。即菊花不同花期花中绿原酸累积量随着施磷量的提高先大幅上升,当达到顶点后继续提高磷肥施用量,高磷处理菊花各期花中绿原酸累积量又将逐步降低。将菊花全株绿原酸累积总量(Y)同磷肥施用量(X)进行回归分析,可得一元二次多项式模型: $Y = 139.12 + 926.97X - 1720.51X^2$ ($r = 0.8382$),当施磷量为 $0.2694 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,菊花全株绿原酸累积总量可为 263.98 mg/株 。



表 2 施用磷肥对菊花中绿原酸含量与累积量的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

处理	绿原酸质量分数/%			绿原酸累积量/mg/株			
	一水花	二水花	三水花	一水花	二水花	三水花	总量
P_0	0.58 ± 0.04a	0.50 ± 0.08a	0.61 ± 0.10a	12.90 ± 4.60c	50.86 ± 15.92d	81.53 ± 25.78ab	145.30 ± 44.52d
P_1	0.49 ± 0.05b	0.37 ± 0.03c	0.46 ± 0.01b	38.14 ± 11.35b	76.70 ± 8.10c	77.66 ± 15.24b	192.50 ± 17.83c
P_2	0.56 ± 0.04a	0.47 ± 0.01ab	0.45 ± 0.02b	45.78 ± 4.47b	129.59 ± 5.25a	109.61 ± 14.80a	284.99 ± 14.10a
P_3	0.47 ± 0.05b	0.42 ± 0.07abc	0.48 ± 0.01b	65.43 ± 5.37a	87.54 ± 9.77bc	92.47 ± 14.14ab	245.43 ± 20.77ab
P_4	0.47 ± 0.03b	0.40 ± 0.02bc	0.48 ± 0.21b	58.10 ± 11.13a	103.81 ± 9.22b	76.31 ± 2.89b	238.22 ± 19.50b

2.4 施用磷肥对菊花中可溶性糖、可溶性氨基酸及粗蛋白含量的影响

磷肥施用量过低 ($< 0.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 或过高 ($> 0.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 都不利于菊花中可溶性糖的累积, 当磷肥施用量为 $0.20 \sim 0.30 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 菊花各期花中可溶性糖含量最高, 见表 3。而菊花各期花中可

溶性氨基酸和粗蛋白的含量一般随着磷肥施用量的提高呈逐步降低的趋势, 即磷肥施用量同菊花各期花中可溶性氨基酸和粗蛋白含量成负相关。从表 3 还可知, 菊花花中可溶性糖和可溶性氨基酸的含量随采收期的进行和外界温度的降低将逐步增加; 与此相反, 菊花中粗蛋白含量则是呈逐步下降的趋势。

表 3 施用磷肥对菊花中可溶性糖、可溶性氨基酸及粗蛋白质量分数的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

处理	可溶性糖/%			可溶性氨基酸/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$			粗蛋白/%		
	一水花	二水花	三水花	一水花	二水花	三水花	一水花	二水花	三水花
P_0	23.24 ± 0.94ab	27.94 ± 0.80b	33.01 ± 1.14bc	1.18 ± 0.11a	1.80 ± 0.13a	2.21 ± 0.24a	11.42 ± 0.47a	11.49 ± 0.53a	11.17 ± 0.24a
P_1	22.66 ± 0.53b	26.60 ± 0.10c	33.51 ± 0.19ab	0.91 ± 0.04b	1.23 ± 0.17b	1.40 ± 0.01b	11.44 ± 0.30a	11.00 ± 0.49ab	9.99 ± 0.12b
P_2	24.67 ± 0.71a	26.41 ± 0.32c	34.48 ± 0.98a	0.89 ± 0.10b	1.29 ± 0.05b	1.41 ± 0.09b	10.79 ± 0.15b	10.80 ± 0.38ab	9.95 ± 0.37b
P_3	22.27 ± 0.52b	29.66 ± 1.06a	34.06 ± 0.33ab	0.91 ± 0.11b	0.92 ± 0.07c	1.39 ± 0.08b	10.80 ± 0.41b	10.47 ± 0.41b	9.86 ± 0.56b
P_4	23.08 ± 0.44ab	22.46 ± 0.23d	32.10 ± 0.90c	0.80 ± 0.09b	0.96 ± 0.18c	1.38 ± 0.15b	10.79 ± 0.18b	9.60 ± 0.87c	9.52 ± 0.77b

2.5 施用磷肥对菊花清除自由基能力的影响

施用磷肥对菊花抗氧化活性有显著影响, 见表 4。 P_1 处理 ($0.10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 菊花二水花提取物对 $\cdot\text{OH}$, O_2^- 和 DPPH \cdot 自由基的清除率均比较低, 提高磷肥施用量后, P_2, P_4 处理对 3 种自由基的清除能力显著增强, 其中 P_2 处理较 P_1 处理分别增加了 4.46%, 11.93%, 22.36%。但当磷肥施用量超过 $0.20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, P_3, P_4 两高磷处理的菊花二水花提取物对 3 种自由基的清除能力不再上升, 反较 P_2 处理呈现出逐步下降趋势。另外, 不施磷肥处理 (P_0) 菊花第二水花提取物对 3 种自由基也保持着较高的清除能力。

2.6 菊花活性成分含量及自由基清除率之间的相关分析

将各处理菊花二水花总黄酮、绿原酸、可溶性糖、可溶性氨基酸和粗蛋白的含量, 及其提取物对 $\cdot\text{OH}$, O_2^- , DPPH \cdot 自由基的清除率进行相关分析, 见表 5。菊花中总黄酮和绿原酸含量之间呈显著正相关, 且菊花总黄酮和绿原酸含量还分别同菊

表 4 施用磷肥对菊花提取物 $\cdot\text{OH}$, O_2^- 和 DPPH \cdot 自由基清除率的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

处理	自由基清除率/%		
	$\cdot\text{OH}$	O_2^-	DPPH \cdot
P_0	80.87 ± 1.19a	61.92 ± 1.51b	31.69 ± 1.51a
P_1	76.64 ± 1.62b	56.91 ± 0.79d	25.22 ± 1.88c
P_2	80.06 ± 1.54a	63.70 ± 0.52a	30.86 ± 0.46a
P_3	75.52 ± 0.90b	58.60 ± 0.53c	26.95 ± 1.05bc
P_4	73.26 ± 1.35c	57.85 ± 1.53cd	27.99 ± 0.82b

花提取物对 $\cdot\text{OH}$, O_2^- , DPPH \cdot 自由基的清除率等指标之间也呈正相关, 相关系数均达到显著和极显著水平。这表明菊花中总黄酮和绿原酸等活性成分含量越高, 其提取物抗氧化活性越强。菊花中可溶性氨基酸含量同总黄酮、绿原酸、粗蛋白含量及菊花提取物对 $\cdot\text{OH}$, O_2^- 和 DPPH \cdot 自由基的清除率等指标之间也呈显著正相关; 菊花中可溶性糖含量同粗蛋白含量呈正相关, 同其他指标间相关性不显著; 而粗蛋白含量除同可溶性糖和菊花提取物对 $\cdot\text{OH}$ 自由基的清除率呈正相关外, 同其他指标间相关性也不显著。



表 5 菊花中活性成分含量及其清除自由基能力之间的相关分析 ($n=20$)

组别	总黄酮	绿原酸	可溶性糖	可溶性氨基酸	粗蛋白	自由基清除率			
						·OH	O ₂ ⁻	DPPH·	
总黄酮	1								
绿原酸	0.841 8 ²⁾	1							
可溶性糖	0.139 7	0.253 4	1						
可溶性氨基酸	0.641 6 ²⁾	0.596 4 ²⁾	0.374 9	1					
粗蛋白	0.373 2	0.308 1	0.551 3 ¹⁾	0.724 3 ²⁾	1				
自由基清除率	·OH	0.697 5 ²⁾	0.553 6 ¹⁾	0.418 8	0.675 7 ²⁾	0.599 9 ²⁾	1		
	O ₂ ⁻	0.771 1 ²⁾	0.722 1 ²⁾	0.194 1	0.484 5 ¹⁾	0.262 1	0.732 5 ²⁾	1	
	DPPH·	0.839 1 ²⁾	0.721 8 ²⁾	0.000 3	0.561 4 ¹⁾	0.291 1	0.568 5 ²⁾	0.805 3 ²⁾	1

注: ¹⁾ 差异显著 ($P < 0.05$); ²⁾ 差异极显著 ($P < 0.01$)。

3 讨论

黄酮和绿原酸等酚类物质是通过植物体内莽草酸代谢途径合成的^[12-13]。在这一次生代谢过程中需要磷酸 (Pi)、腺苷三磷酸 (ATP)、辅酶 II (NADP⁺)、辅酶 A (CoA) 等物质参与, 而磷又为植物体 Pi, ATP, NADP⁺, CoA 的基本组成成分^[12], 因而施用磷肥可能通过促进植物对 P 的吸收转化, 从而合成 Pi, ATP, NADP⁺, CoA 等成分, 促进了菊花中黄酮和绿原酸等活性成分的合成。有报道, 植物吸收过多的磷素营养会促使植株呼吸作用过于旺盛, 消耗大量能量 (ATP) 和糖分, 造成消耗的干物质大于积累的干物质, 并引起植物早熟, 从而减少植物体内糖和干物质的积累^[14]。且施磷过高还会导致植物体内养分不平衡, 诱发微量元素的缺乏^[14]。所以磷肥施用量过高, 会导致菊花花期提前 (早熟), 干花产量下降, 花中可溶性糖、可溶性氨基酸及粗蛋白含量显著下降, 从而也影响植物体莽草酸代谢过程, 造成菊花中黄酮和绿原酸等活性成分含量和累积量显著降低。

进一步分析, 不施磷肥处理 (P_0) 菊花中总黄酮和绿原酸含量也比较高, 这可能有两方面原因。一是植物在严重缺磷胁迫下会被诱导产生和分泌酚类、酸类物质, 从而来活化土壤中难溶性磷, 促进植物对磷元素的吸收利用^[15]。所以严重缺磷可能会诱导菊花植株产生大量的绿原酸等酚类、酸类物质来活化土壤中的磷, 导致植株绿原酸和总黄酮的含量提高, 从而促进了植株对磷营养的吸收利用。Koepe 等^[16]也研究发现, 磷胁迫下向日葵根分泌物中绿原酸等酚类物质的含量显著增加。另外, 植物缺磷最典型的症状之一是易形成花青素, 而花青素为黄酮类化合物的一种, 也是通过莽草酸代谢途径生

成, 这也为本观点提供了证据。二是不施磷肥处理, 菊花花朵含水率低, 折干率高, 花中干物质含量相对较高, 因而“浓缩效应”导致花中光合产物及其转化产物以及黄酮、绿原酸等酚类物质合成的直接前体物质的浓度提高, 从而有利于产物总黄酮、绿原酸等酚类物质的合成与积累。

菊花中总黄酮、绿原酸含量随着采收期的进行将逐步降低, 而可溶性糖、可溶性氨基酸含量随着采收期的进行是逐步升高, 这可能同采收期外界环境温度逐步降低、昼夜温差加大和植株采摘部位变化有关。杨俊等^[17]研究杭白菊中各种活性成分在采摘期中的动态变化时, 也得到过相类似的结果。清除自由基和抗氧化是黄酮和绿原酸等天然酚类物质的重要生物活性之一^[18]。Duh 也证明菊花中酚类物质促进其抗氧化活性^[19]。本试验也研究发现菊花中黄酮和绿原酸含量及菊花提取物对 ·OH, O₂⁻, DPPH· 自由基的清除率等指标之间, 分别呈显著正相关。施用磷肥在提高了菊花中黄酮和绿原酸等活性成分含量的同时, 也增强了菊花清除自由基的活性。综合比较施用磷肥对菊花产量、活性成分含量与累积量及清除自由基能力等因素的影响, 建议菊花生育期内磷肥 (P₂O₅) 施用量在 0.26 ~ 0.28 g · kg⁻¹ 为适宜。

[参考文献]

- [1] 顾瑶华, 秦民坚. 我国药用菊花的化学及药理学研究进展 [J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(6): 7.
- [2] Awad M A, De Jager A. Relationship between fruit nutrients and concentrations of flavonoids and chlorogenic acid in 'Elstar' apple skin [J]. Sci Hortic, 2002, 92: 265.
- [3] 吴家胜, 应叶青, 曹福亮, 等. 施磷对银杏叶产量及黄酮含量的影响 [J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(1): 17.
- [4] 徐凌川, 张永清, 王绪平, 等. 施肥对忍冬生长发育及体内化



- 学成分含量的影响[J]. 中草药, 1997, 28(10): 620.
- [5] 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.
- [6] 中国药典. 一部[S]. 2005: 218.
- [7] 刘大会, 杨特武, 朱端卫, 等. 不同钾肥用量对福田河白菊产量和质量的影响[J]. 中草药, 2007, 38(1): 120.
- [8] 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, 2000: 186.
- [9] 秦德安, 苏丹, 王晓玲. 橙皮苷对羟自由基的清除作用[J]. 中国药理学杂志, 1996, 31(7): 396.
- [10] Beauchamp C, Fridovich I. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels [J]. Anal Biochem, 1971, 44: 276.
- [11] Von-Gadow A, Joubert E, Hansmann C F. Effect of extraction time and additional heating on the antioxidant activity of Rooibos tea [J]. Agr Food Chem, 1997, 45: 1370.
- [12] 潘瑞焱, 董恩得. 植物生理学[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 1995: 160.
- [13] 吴立军. 天然药物化学[M]. 4版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 13.
- [14] 陆景陵. 植物营养学[M]. 上册. 北京: 中国农业大学出版社, 1994: 26.
- [15] Zhang F S, Ma J, Cao Y P. Phosphorus deficiency enhances root exudation of low-molecular weight organic acids and utilization of sparingly soluble inorganic phosphorus by radish and rape plants [J]. Plant Soil, 1997, 196: 261.
- [16] Koepe E D E, Southwick L M. The relationship of tissue chlorogenic acid concentrations and leaching of phenolics from sunflowers grown under varying phosphates nutrient conditions [J]. Can J Bot, 1976, 54: 593.
- [17] 杨俊, 蒋惠娣, 戈震, 等. 杭白菊绿原酸及其他成分的含量在采摘期中的动态变化[J]. 中国药理学杂志, 2003, 38(11): 833.
- [18] Havsteen B H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids [J]. Pharmacol Therapeut, 2002, 96: 67.
- [19] Duh P D. Antioxidant activity of water extract of four Harg Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.) varieties in soybean oil emulsion [J]. Food Chem, 1999, 66: 471.

Effects of phosphate fertilizer on active ingredients and antioxidant activities of *Chrysanthemum morifolium*

LIU Dahui^{1, 2, 3}, LIU Wei¹, ZHU Duanwei^{1*}, GUO Lanping², JIN Hang³, ZUO Zhitian³, LIU Li³

(1. College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Institute of Chinese Material Medica, China Academy of Chinese Material Science, Beijing 10070, China;

3. Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650231, China)

[Abstract] **Objective:** In order to provide a scientific fertilizer application for the standardized cultivation, the effects of phosphate (P) fertilizer on the active ingredients and antioxidant activities of *Chrysanthemum morifolium* were studied. **Method:** Pot experiment was adopted to study the effects of P supply on the yield and the content of flavonoids, chlorogenic acid, soluble sugar, soluble amino acids and crude protein of *C. morifolium* flower. And effects of P supply on the hydroxyl radical scavenging activity, superoxide anion radical scavenging activity, and 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) free radical scavenging activity of flower were researched too. **Result:** The yield of *C. morifolium* dry flower increased 129.94% when P fertilizer was applied. Appropriate application of P fertilizer could also significantly improve the content and accumulation of total flavonoids, chlorogenic acid and soluble sugar in *C. morifolium*. Thus, the inhibition rates of hydroxyl radical, superoxide anion radical and DPPH free radical of *C. morifolium* was increased. When the level of P supply exceeded 0.20 g P₂O₅ per plant, P had also negative influence on the yield and the content of active ingredients and the scavenging activity of hydroxyl radical, superoxide anion radical and DPPH free radical of *C. morifolium*. Furthermore, there were significant positive correlations between the content of total flavonoids and chlorogenic acid and the inhibition rate of hydroxyl radical, superoxide anion radical and DPPH free radical, respectively. **Conclusion:** Appropriate application of P fertilizer could be beneficial to the increase the active components and antioxidant activity of *C. morifolium*. And recommended level of P fertilizer is 0.26-0.28 g · kg⁻¹.

[Key words] *Chrysanthemum morifolium*; phosphate (P); flavonoids; chlorogenic acid; antioxidant activities

doi: 10.4268/cjcmm20101704