

EFFECTE DEL REG I DE LA FERTILITZACIÓ NITROGENADA EN EL RENDIMENT I LA QUALITAT D'*HYPERICUM PERFORATUM* L. CULTIVAT A LA CATALUNYA CENTRAL

ROSER CRISTÓBAL CABAU

ÀREA DE PRODUCTES SECUNDARIS DEL BOSC, CENTRE TECNOLÒGIC
FORESTAL DE CATALUNYA
roser.cristobal@ctfc.es

Resum

Hi ha nombrosos estudis que intenten esbrinar com afecten els factors ambientals al metabolisme secundari de les plantes i, en últim terme, a la qualitat de la droga vegetal produïda. En general, es diu que les condicions d'estrès afavoreixen la producció d'oli essencial o d'altres compostos secundaris. En l'assaig que vàrem fer amb *Hypericum perforatum* en camp, el reg i l'adobament nitrogenat només van incidir en el rendiment de la planta seca però no en la seva composició, i en condicions de seca es va produir la meitat de planta anual que en regadiu, i les parcel·les adobades amb 100 UF de nitrogen, un 14 % més que les que no es van adobar o les que van rebre la meitat de la dosi.

En aquest assaig el factor determinant en la qualitat del pericó ha estat el moment de la collita, i la planta collida en el primer tall (final de pri-

mavera) és un 16 % més rica en principis actius totals i més concretament en hipericina i quercitrina (un 170 % i un 128 % més rica, respectivament), que no pas la tallada al segon tall (final d'estiu).

1. Introducció

Hypericum perforatum (família *Gutifera* o *Hypericaceae*), pericó o herba de Sant Joan, és una espècie herbàcia que s'ha utilitzat des de l'antiguitat macerada en oli com antiinflamatori, vulnerari i cicatritzant. Actualment, se li reconeixen altres propietats, com una lleugera acció antidepressiva, antiviral i antiinflamatòria (Bombardelli i Morazzoni, 1994) i és amb aquests propòsits que la indústria farmacèutica n'utilitza grans quantitats per a la producció de fitofàrmacs. La droga està constituïda per les summitats florides seques i segons la Real Farmacopea Española ha de contenir d'un 0,1 a un 0,3 % d'hipericina i els seus derivats (pseudohipericina, protohipericina, isohipericina i d'altres) i segons la Farmacopea Alemanya, com a mínim un 0,05 % d'hipericina. A més, *Hypericum perforatum* conté altres metabòlits secundaris com ara rutina, quercitrina, àcids fenòlics i altres flavonoides més minoritaris, que també contribueixen a l'acció d'aquesta droga.

La qualitat d'una droga es veu afectada per nombrosos factors, començant per l'origen del material vegetal (Sirvent *et al.*, 2002; Maffi *et al.*, 2001), per la ubicació del cultiu i les condicions ambientals de creixement, com ara insolació, fertilització i disponibilitat d'aigua (Gray *et al.*, 2003; Nacif de Abreu i Mazzafera 2005) i també, i molt important, pel moment de collita (Southwell, 2001; Gray *et al.*, 2003; Murch *et al.*, 2002; Denke *et al.*, 1999; Briskin *et al.*, 2001). Tots aquests factors incideixen en la planta tant morfològicament com fisiològicament, i presenta al llarg del seu creixement i en cada moment una proporció diferent d'òrgans, amb diverses estructures on es produeixen i s'emmagatzemen els principis actius i amb una determinada concentració del conjunt d'aquests principis actius en aquests òrgans.

En molts d'aquests metabòlits, i concretament de la hipericina, la ruta metabòlica no és del tot coneguda i per tant és força difícil saber la manera d'incidir-hi controlant els diferents factors que l'afecten.

Cada cop la legislació serà més exigent pel que fa a la qualitat de les drogues vegetals, que es defineixen segons la puresa, la seguretat i l'eficàcia. Així doncs, cal estudiar quins són els factors o les condicions òptimes de cultiu d'*Hypericum perforatum* per tal d'obtenir una planta amb el màxim de riquesa possible en els principis actius desitjats per la indústria, i com es poden manipular aquestes condicions per tal d'optimitzar-ne la producció i la qualitat.

2. Material i mètodes

L'assaig de camp es va dur a terme durant tres anys (2001-2003) en una parcel·la experimental ubicada al terme municipal d'Olius (Solsonès). El material vegetal utilitzat va ser

planter de dos mesos provinent de llavors comercials d'*Hypericum perforatum* varietat Topas, que es van plantar a la parcel·la al principi del juny del 2001 amb una densitat de plantació de 51,400 plantes/ha. El disseny experimental va ser de *split-split-plot*, amb el reg com a factor principal i el nitrogen com a secundari. D'aquests dos factors es van assajar tres nivells de reg: R0 (només pluja), R1 (50 % de R2, aproximadament), R2, i tres dosis d'aportació de nitrogen N0 (sense adobament nitrogenat), N1 (50 UF/ha any) i N2 (100 UF/ha any). El reg s'aplicava localitzat mitjançant degoteig durant el període vegetatiu del pericó (març-agost) i l'adobament nitrogenat es va aplicar sobre la fila del cultiu en dues aplicacions anuals, la primera meitat al mes d'abril-maig, abans del primer tall, i la segona després d'aquest tall. Els mostres es van fer en el moment de màxima floració, i es van tallar totes les subparcel·les i es van pesar. D'aquest material, se'n va treure tres mostres per calcular la humitat i el rendiment en sec. Aquesta planta seca va servir per a fer els extractes que es van analitzar posteriorment mitjançant HPLC-DAD (high - performance liquid chromatography - diode array detector) per conèixer la composició en principis actius de cadascuna de les mostres.

El tractament estadístic de les dades s'ha fet utilitzant el programa SAS 8.2 i analitzant la separació de mitjanes mitjançant el procediment GLM.

3. Resultats i discussió

La producció total obtinguda al llarg dels tres anys de cultiu ha estat de 17,19 t planta seca/ha, sent la contribució de cadascun dels anys és molt diferent, amb un 0,29 % el primer any (0,05 t planta seca/ha any), un 67,13 % el segon (amb 11,54 t planta seca/ha any) i un 32,58 % el tercer (amb 5,60 t planta seca/ha any). En el nostre cas, el primer any no es pot considerar comercial, però s'hauria pogut incrementar bastant la producció si la plantació s'hagués fet tres mesos abans. Els rendiments anuals del segon i tercer any a les parcel·les regades provenen de dos talls, un al final de juny i l'altre al final d'agost, i el primer tall és més productiu que el segon. Les parcel·les que sols van aprofitar l'aigua de pluja només van donar un primer i únic tall al final de juny (taula 1).

Taula 1. Rendiment mitjà i rendiment anual de biomassa seca (t planta seca/ha) de cada any i per cada tall obtingut a la parcel·la experimental d'Olius durant els tres anys de cultiu d'*Hypericum perforatum* 1r tall

	(t pl sc/ha)	Respecte		Respecte		Mitjana	
		al total anual	2n tall (t pl sc/ha)	al total anual	anual	anual (t pl sc/ha)	Total anual (t pl sc/ha)
2001	0,05	100,0 %	—	—	0,05	0,05	
2002	9,06	78,5 %	2,48	21,5 %	5,77	11,54	
2003	5,07	90,5 %	0,53	9,5 %	2,80	5,60	
Total cicle productiu	14,18	82,0 %	3,01	17,5 %	8,60	17,19	

Tres anys són el cicle productiu normal del pericó que es troba a la bibliografia, i els rendiments anuals estan en concordança amb els que van trobar Büter *et al.*, (1998), de 6,7, 13,8 o 15,9 t/ha segons les diferents zones de cultiu o Hevia *et al.*, (2002) de 8 t/ha, però són molt més alts que els que esmenta Berti *et al.*, (1998) d'1,17 t/ha o les 5,65 t/ha de Oravec Sen *et al.*, (1999), potser a causa de diferents densitats de plantació o del nombre de talls.

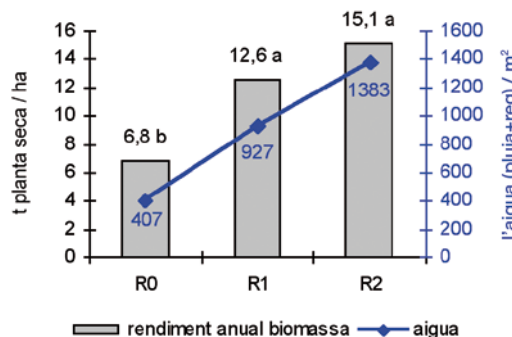
Durant aquests tres anys, el segon va presentar un comportament sense incidències i, per tant el que s'ha utilitzat per a fer l'estudi dels dos factors plantejats: dosi de reg i d'adobament nitrogenat.

4. Incidència del reg en el rendiment i la qualitat de la planta produïda

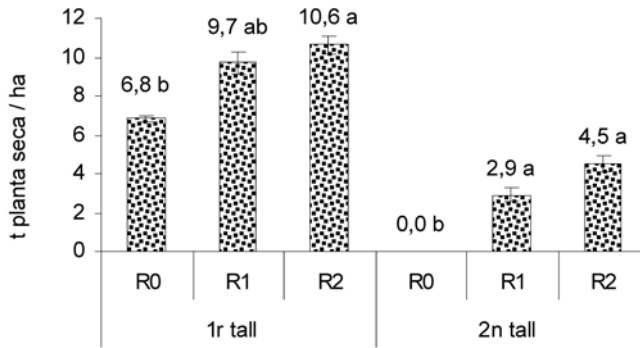
El pericó només va donar dos talls anuals quan es va regar. El segon any, la pluja caiguda durant els dos mesos d'estiu va suposar un 38 % de l'ETo d'aquell període, però no va ser suficient per a arribar a donar un segon tall al final d'agost. Per això va ser necessari aportar aigua de reg, i es va recuperar, amb la dosi més baixa (R1) el 136 % de l'ETo.

Anualment, el rendiment del pericó amb reg va ser el doble que sense reg, i tot i que amb R2 es va aportar un 49 % més d'aigua que amb R1, no hi va haver diferències estadísticament significatives entre les dues dosis de reg (gràfic 1). Per talls, sent R2 superior a R1 en ambdós casos (un 23 % al primer tall i un 74 % al segon), també es va donar la mateixa resposta (gràfic 2). Contrastant l'eficiència del reg entre talls, l'aigua aplicada abans del primer tall ha estat 3,5 cops més eficient que no pas la que s'ha aplicat a l'estiu, i per 1 l d'aigua s'ha donat un 248 % més de biomassa al primer que al segon tall.

Pel que fa al rendiment d'hipericina, la resposta és la mateixa (gràfic 3), però per als principis actius totals, al segon tall la dosi R2 de reg produeix un 61 % més de principis actius que no pas R1.



Gràfic 1. Rendiment anual de biomassa del segon any de cultiu del pericó segons l'aigua aportada (reg + pluja).



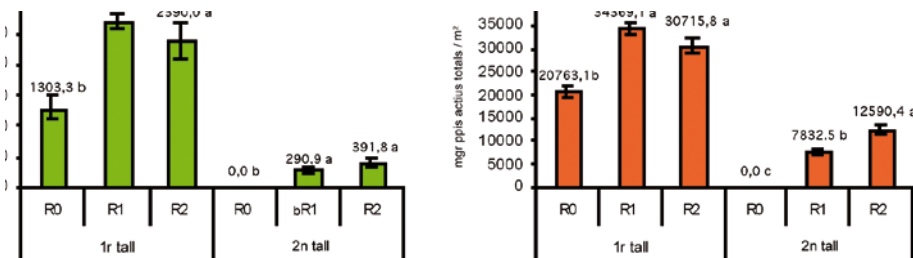
Gràfic 2. Biomassa produïda el segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons el tractament de reg rebut al primer i al segon tall.

1r tall: R0: 273 mm; R1: 453 mm; R2: 558 mm.

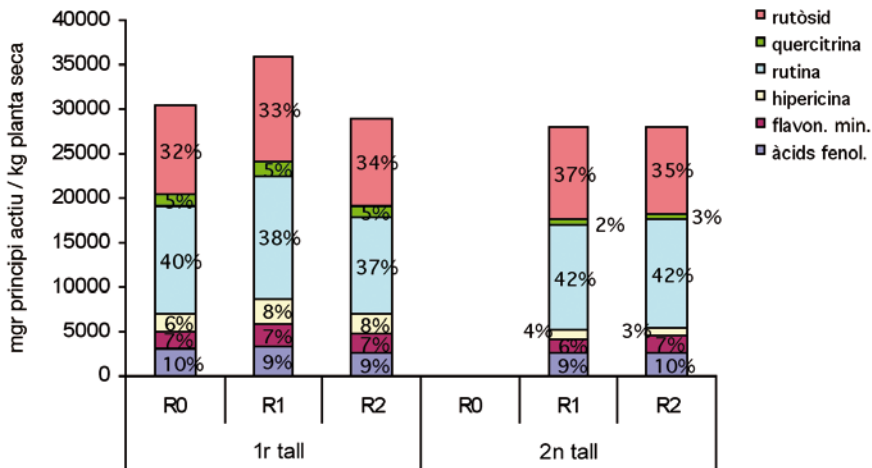
2n tall: R0: 134 mm; R1: 474 mm; R2: 825 mm.

Si s'analitza la qualitat, l'aigua no ha tingut cap incidència; així doncs, no s'ha vist que el pericó crescut sense reg hagi donat una planta de més qualitat que el que s'ha produït amb reg, ni al primer ni al segon tall (gràfic 4). Aquesta resposta és diferent a la trobada per Nacif de Abreu (2005) i Gray *et al.*, (2003), que van observar que el pericó sotmès a condicions d'estrès hídric tenia més concentració en rutina, quercitrina i hipericina, i la mateixa que troben Sothowell i Bourke (2001) en veure que, concretament, la hipericina no s'incrementava amb l'estrès hídric.

En el nostre cas, si la pluja hagués estat suficient per a donar un segon tall, s'hagués pogut veure si una deficiència més severa d'aigua, però suficient per a donar planta, afectava o no la qualitat. Tot i així, la teoria que les condicions d'estrès afavoreixen el metabolisme secundari en detriment del primari presenta respostes molt variables entre les diferents espècies.



Gràfic 3. Rendiment en hipericina i principis actius totals produïdes el segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons el tractament de reg rebut el primer i el segon any.



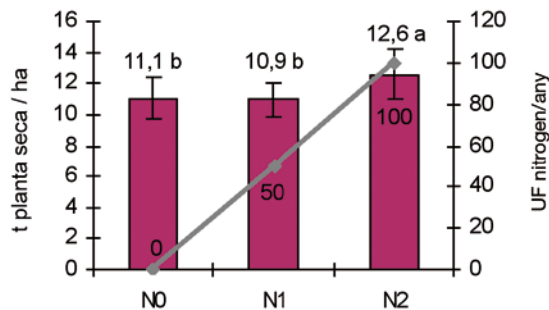
Gràfic 4. Riquesa total en principis actius el primer i segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons l'aigua rebuda.

1r tall: R0: 273 mm; R1: 453 mm; R2: 558 mm.

2n tall: R0: 134 mm; R1: 474 mm; R2: 825 mm.

5. Incidència de l'adobament nitrogenat en el rendiment i la qualitat de la planta produïda

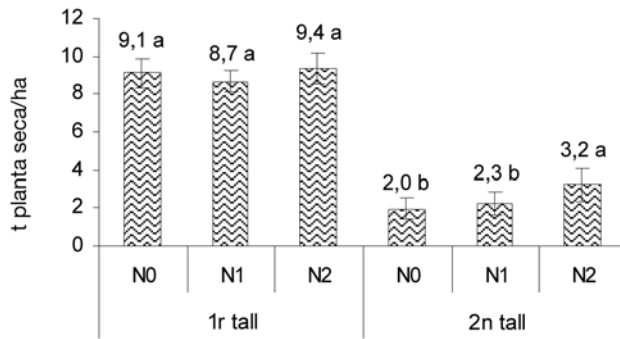
En el nostre assaig, l'adobament nitrogenat només ha incidit en el rendiment de planta seca anual i en el segon tall, però no pas en la qualitat d'aquesta ni en el primer ni en el segon tall. Una aportació de 100 kg N/ha anuals ha produït un rendiment de 12,6 t/ha de planta seca, que és un 15 % més respecte als tractaments de no-adobament o de 50 kg N/ha any



Gràfic 5. Biomassa seca anual produïda el segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons l'adobament nitrogenat.

N0 = 0 UF N/any; N1 = 50 UF/any.

N2 = 100 UF/any.

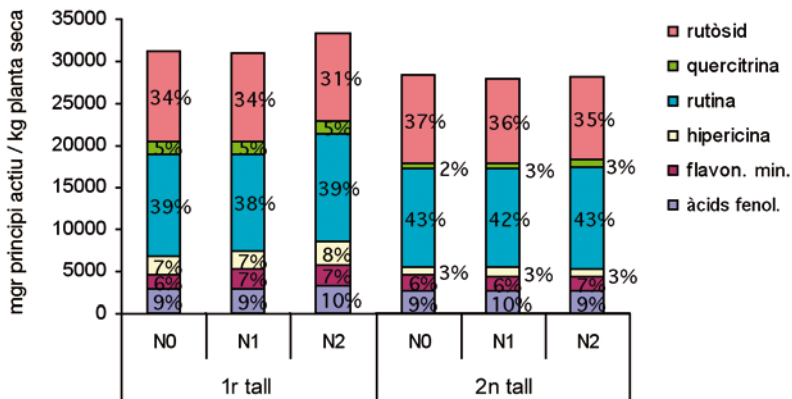


Gràfic 6. Biomassa produïda el segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons el tractament d'adobament nitrogenat rebut al primer i al segon tall.

(gràfic 5). Al segon tall, aquest efecte ha estat més acusat i el tractament ha produït N2 un 51 % més de biomassa que N0 i N1 (gràfic 6).

Per a les tres dosis de nitrogen, la resposta al reg ha estat la mateixa: la biomassa de les dues dosis de reg és igual, però diferent a l'obtinguda en condicions de seca.

Pel que fa a la qualitat de la planta, el nitrogen no ha tingut cap efecte en la riquesa total del pericó en principis actius ni en el primer ni en el segon tall (gràfic 7). Briskin *et al.* (2000), Berti *et al.* (2000) i Denke *et al.* (1999), també van trobar que un augment de nitrogen no afectava o bé produïa una planta més pobre en hipericina i que plantes que



Gràfic 7. Riquesa total en principis actius del primer i segon taller del segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum* segons la dosi de nitrogen aplicada.

1r tall: N0: 0 UFN; N1: 25 UFN; N2: 50 UFN.
 2n tall: N0: 0 UFN; N1: 25 UFN; N2: 50 UFN.

creixien en sòls poc fèrtils produïen extractes més actius que les que creixien en sòls molt rics. Berti *et al.* (2000), recomana una fertilització de 75 a 150 kg de N/ha any per a obtenir un bon rendiment amb una planta de bona qualitat.

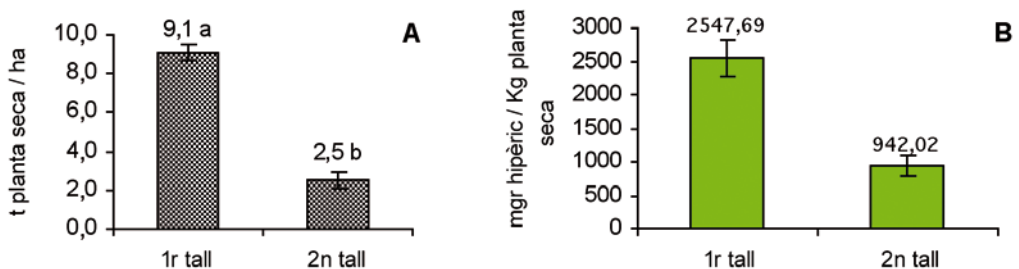
Aquest efecte nul del nitrogen en la composició de la planta, més que tenir una raó fisiològica o de ruta metabòlica, podria ser degut a un efecte morfològic. La dosi alta de nitrogen va provocar un augment de la part vegetativa de la planta i un retard en la floració i, per tant, en el moment del tall les parcel·les amb alta fertilització tenien menys flors i més fulles i tiges que no pas les de fertilització més feble. Això va fer que la concentració en principis actius i concretament en hipericina fos més baixa o igual. D'altra banda, si el nivell de nitrogen hagués estat restrictiu per al creixement normal de la planta, potser aquesta hauria produït més metabòlits secundaris, ja que haguessin tingut una funció de defensa, molt important quan el creixement és baix (Briskin *et al.*, 2000). Tanmateix, aquesta resposta no s'ha vist, ja que el contingut de nitrogen assimilable que hi havia inicialment al sòl era del tot suficient per a un creixement normal.

A la bibliografia es poden trobar respostes similars per a altres espècies, per exemple, *Salvia officinalis* (Carlen, 2003), *Foeniculum vulgare* (Chatzopoulou *et al.*, 2006) i *Crindelia chiloensis* (Wasser i Ravetta, 2007). Tot i produint principis actius de diferent natura seguint rutes metabòliques diverses, la fertilització nitrogenada tampoc no afecta la qualitat de la planta i només hi incideix el moment de collita.

6. Incidència del moment de tall en la quantitat i la qualitat de la planta produïda

Respecte a la producció anual de pericó, el primer tall representa el 78,5 % i el segon, el 21,5 %, repetint les mateixes proporcions que esmenten Büter *et al.* (1998) al seu treball.

Al segon any de cultiu, el primer tall d'*Hypericum perforatum* al final de juny, amb una producció de 9 t planta seca/ha, és 3,6 cops més productiu que el segon, i amb una concentració d'hipericina de 2.547,69 ppm, un 170 % més rica que el segon (gràfic 8). Aquesta



Gràfic 8. Rendiment de biomassa (A) i concentració d'hipericina (B) de la planta collida al primer i al segon tall del segon any de cultiu d'*Hypericum perforatum*.

resposta és deguda al fet que el primer tall és fruit d'un període de creixement més llarg (aproximadament quatre mesos), amb unes condicions millors (més pluviometria i menys temperatura) i amb una planta amb reserves acumulades a les arrels des de l'any anterior. Pel que fa a la qualitat o al contingut en hipericina, la planta del primer tall en plena floració té més flors que la del segon tall i, a més a més, ha crescut amb més intensitat de llum, fet que, segons Briskin i Gawienowski (2001), fa que augmenti el nombre de glàndules fosques que emmagatzemen hipericina i, per tant, la concentració d'aquesta.

Atès que la qualitat del pericó es valora segons el nivell d'hipericina i que la farmacopea alemanya fixa un nivell mínim de 0,05 %, tant la planta del primer tall com la del segon tall seria comercialitzable.

Bibliografía

- BERTI, M.; HEVIA, F.; WILCKENS, R.; JOUBLAN, J. P.; SERRI, H.; ALLENDE, J. (1999), «Fertilización nitrogenada del cultivo de hierba de San Juan (*Hypericum perforatum* L.) en Chillan, provincia de Ñuble, Chile», *Ciencia e Investigación Agraria*, núm. 27 (2), p. 107-116.
- BOMBARDELLI, E.; MORAZZONI, P. (1995), «*Hypericum perforatum*», *Fitoterapia*, vol. LXVI, núm. 1.
- BRISKIN, D. P.; GAWIENOWSKI, M. (2001), «Differential effects of light and nitrogen on production of hypericins and leaf glands in *Hypericum perforatum*», *Plant Physiology Biochemistry*, núm. 39, p. 1075-1081.
- BRISKIN, D. P.; LEROY, A.; GAWIENOWSKI, M. (2000), «Influence of nitrogen on the production of hypericins by St. John's wort», *Plant Physiology Biochemistry*, núm. 38 (5), p. 413-420.
- BÜTER, B.; ORLACCHIO, C.; SOLDATI, A.; BERGER, K. (1998), «Significance of genetic and environmental aspects in the field cultivation of *Hypericum perforatum*», *Planta Medica*, núm. 64, p. 431-437.
- CARLEN, CH. (2003), «La fertilisation en culture biologique: norms et choix des engrais». A: *Actes del 5è Colloque Médiplant*, Evolène, 25-27 setembre 2003.
- CHATZOPOULOU, P. S.; KOUTSOS, T. V.; KATSOTIS, S. T. (2006), «Study of nitrogen fertilization rate on fennel cultivars for essential oil yield and composition», *Journal of Vegetable Science*, núm. 12 (2), p. 85-93.
- DENKE, A.; SCHEMPP, H.; MANN, E.; SCHNEIDER, W.; ELSTNER, E. F. (1999), «Biochemical activities of extracts from *Hypericum perforatum* L.», *Arzneim.-Forsch./Drug Res*, núm. 49 (I), 2, p. 120-125.
- GRAY, D. E.; PALLARDY, S. G.; GARRETT, H. E.; ROTTINGHAUS, G. E. (2003), «Effect of acute drought stress and time of harvest on phytochemistry and dry weight of St. John's wort leaves and flowers», *Planta Medica*, núm. 69, p. 1024-1030.
- HEVIA, F.; BERTI, M.; WILCKENS, R.; CIFUENTES, P. (2002), «Quality and yield in St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.) harvested in different phonological stages», *Acta Agronomica Hungarica*, núm. 50 (3), p. 349-358.
- MAFFI, L.; BENVENUTI, S.; FORNASIERO, R. B.; BIANCHI, A.; MELEGARI, M. (2001), «Inter-population variability of secondary metabolites in *Hypericum* spp. (*Hypericaceae*) of the northern Apennines, Italy», *Nordic Journal of Botany*, núm. 21 (6), p. 585-593.
- MURCH, S. J.; VASANTHA RUPASINGHE, H. P.; SAXENA, P. K.; (2002), «An in vitro and hydroponic growing system for hypericin, pseudohypericin and hyperforin production of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* CV New Stem)», *Planta Medica*, núm. 68, p. 1108-1112.
- MUZIKA, R. M.; PREGITZER, K. S. (1992), «Effect of nitrogen fertilization on leaf phenolic production of grand fir seedlings», *Trees - Structure and Function*, núm. 6 (4), p. 241-244.
- NACIF DE ABREU, I.; MAZZAFERA, P. (2005), «Effect of water and temperature stress on the content of active constituents of *Hypericum brasiliense* Choisy», *Plant Physiology and Biochemistry*, núm. 43, p. 241-248.
- ORAVEC (sen.). V.; ORAVEC (jun.). V.; MÁRTONFI, P.; REPCÁK, M. (1996), «Variability pattern in different cultivated *Hypericum perforatum* types». A: *Proceedings of the international meeting "Cultivation and improvement of medicinal and aromatic plants"*, 2-3 juny 1994, Isafa, Trento.
- SIRVENT, T. M.; WALKER, L.; VANCE, N.; GIBSON, D. M. (2002), «Variation in hypericins from wild populations of *Hypericum perforatum* L. in the pacific northwest of the U.S.A.», *Economic Botany*, núm. 56 (1), p. 41-48.
- SOUTHWELL, I. A.; BOURKE, CH. A. (2001), «Seasonal variation in hypericin content of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort)», *Phytochemistry*, núm. 56, p. 437-441.
- WASSNER, D. F.; RAVETTA, D. A. (2007), «Nitrogen availability, growth, carbon partition and resin content in *Grindelia chiloensis*», *Industrial Crops and Products*, núm. 25, p. 218-230.