



# 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 处理对高温胁迫下半夏植株保护效应及主要成分积累规律的影响

李灿雯, 王康才\*, 罗庆云, 汤兴利  
(南京农业大学 中药材研究所, 江苏 南京 210095)

**[摘要]** 目的:研究外源  $\text{Ca}^{2+}$  在高温条件下对半夏植株的保护效应及对主要成分积累的影响。方法:采用无土栽培,不同浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理;测定半夏叶片抗逆性指标,统计半夏倒苗率,并测定不同部位草酸、块茎中总生物碱、总有机酸及鸟苷含量。结果:在较低浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,半夏倒苗率高于其他处理。随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度升高,半夏叶片中 SOD、POD 活性呈现先升高后下降的趋势,叶片 Pro 含量则呈现先降后升的趋势;半夏叶片及块茎中可溶态草酸含量均低于未处理可溶态草酸含量,随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高,半夏叶片及块茎中可溶态草酸含量呈先升后降的趋势;产量的变化趋势与可溶态草酸含量变化一致;当  $\text{Ca}^{2+}$  质量浓度为  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,半夏块茎总生物碱和鸟苷含量最高,低浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,半夏块茎总游离有机酸含量较高。结论:通过外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理,半夏抗热能力有显著提高,倒苗时间有所推迟,生长期延长,产量有所提高。

**[关键词]** 半夏;高温胁迫;保护效应;化学成分

半夏辛温有毒,归脾、胃、肺经,有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结等功效<sup>[1]</sup>。前期研究证明,夏季高温和强光照是引起半夏“倒苗”现象的主要原因,随着高温胁迫时间的延长,半夏叶柄的维管组织,结构被破坏越来越严重,细胞壁、细胞膜破裂,原生质外渗,核膜破裂,核仁溢出,有的细胞内核仁消失<sup>[2]</sup>。夏季“倒苗”相对缩短了半夏的生长期,降低了半夏的产量。

研究发现, $\text{Ca}^{2+}$  参与多种逆境胁迫过程如高温、盐胁迫、氧胁迫等,干旱胁迫下,高钙可以降低离子渗透率,有助于维持细胞膜的稳定性,增强膜对水分胁迫的抵抗能力,高钙可以降低膜脂过氧化程度,维持叶片内抗坏血酸含量。 $\text{Ca}^{2+}$  可通过与植物代谢中产生的积累过多的有机酸结合为不溶性的钙盐(如草酸钙、柠檬酸钙),起到解毒的作用<sup>[3]</sup>。针对半夏生产中存在的夏季“倒苗”问题,本试验研究外源  $\text{Ca}^{2+}$  对高温期半夏植株的保护效应及主要成分积累的影响,为半夏人工栽培提供技术资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

半夏繁殖材料来源于江苏省泰州地区,经南京农业大学王康才教授鉴定为半夏 *Pinellia ternata*。选择形态一致、大小相近的块茎为繁殖材料,2011年3月14日,盆栽(15 cm × 18 cm),基质为蛭石,每盆基质重 865 g,每盆播种 10 个块茎,播种深度 6 cm,置于遮阳棚内,管理措施一致。基本营养液配方中大量元素采用霍格兰营养液配方,其中  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  用  $\text{KNO}_3$  代替,微量元素采用阿农营养液配方。所用试剂为分析纯(AR)。待半夏株高 8 cm 左右,叶片完全展开时,在基本营养液(pH 6.0)的基础上,设计 6 个不同水平(0, 200, 400, 600, 800, 1 000  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )外源  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  浓度处理。每隔 5 d 喷施于叶面,直至半夏倒苗。

### 1.2 测定项目

**1.2.1 倒苗率统计** 从 2011 年 5 月 11 日起,每隔 10 d 统计期间半夏的倒苗情况,并记录倒苗数及正常生长半夏植株数量,统计后剪去倒苗的黄叶。倒苗率 = 倒苗数 / (倒苗数 + 未倒苗数) × 100%。

**1.2.2 超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)活性、丙二醛(MDA)含量及脯氨酸(Pro)含量测定** 连续 3 d 棚内平均气温达到 30 ℃ 以上(6月5日)取样测定。在各处理长势一致的成熟植株中,随机选择 10 株,取其中间叶片。取样后,SOD 活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法;POD 活性测定采用

**[稿件编号]** 20120302002

**[基金项目]** 江苏省科技厅农业高新技术研究(Q200754)

**[通信作者]** \*王康才,研究方向为药用植物栽培与生理, E-mail: wangkc@njau.edu.cn

**[作者简介]** 李灿雯,硕士研究生, Tel: 13809047015, E-mail: 2009104150@njau.edu.cn



愈创木酚法;MDA 含量测定采用 TBA(硫代巴比妥酸)法;脯氨酸含量测定采用磺基水杨酸法<sup>[4]</sup>。

**1.2.3 草酸含量测定** 连续 5 d 棚内平均气温达到 30 ℃ 以上,各处理随机选择 5 株,挖取全株,采用紫外分光光度法<sup>[5]</sup>测定半夏不同部位总草酸及游离草酸含量。

**1.2.4 块茎产量、块茎中总有机酸、总生物碱及鸟苷含量测定** 待半夏倒苗后,于 7 月 23 日收获块茎,洗净,105 ℃ 杀青 10 min,55 ℃ 烘干至恒重,打粉过 60 目筛,测定半夏块茎产量、块茎总有机酸、总生物碱及鸟苷含量。

总生物碱含量测定采用酸性染料比色法<sup>[6]</sup>;总游离有机酸含量测定采用电位滴定法<sup>[1]</sup>;鸟苷含量测定采用高效液相色谱法测定,岛津高效液相色谱仪(LC-20AT),色谱条件:C<sub>18</sub>柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相为乙腈-水(3:97),检测波长为 254 nm。待测样品提取采用超声提取法。精密称取各个样品粉末 0.5 g,水提取 3 次,每次 10 mL,提取 30 min,3 500 r · min<sup>-1</sup>离心 15 min,合并上清液,浓缩后定容到 10 mL 量瓶待测。

### 1.3 数据分析

本试验结果均以数据  $\bar{x} \pm s$  进行表示。试验数据采用 Microsoft Excel(2003)和 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,LSD 法检验差异显著性。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏倒苗率的影响

表 1 不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏叶片抗逆系统的影响( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Table 1 Effects of Ca<sup>2+</sup> on stress resistance of *Pinellia teranate* leaves( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Ca <sup>2+</sup> /mg · L <sup>-1</sup>	SOD 活性/U · g <sup>-1</sup>	POD 活性/U · g <sup>-1</sup> · min <sup>-1</sup>	MDA 含量(FW) /mmol · g <sup>-1</sup>	Pro 含量(FW)/μg · g <sup>-1</sup>
0	30.669 ± 6.760c	14.966 ± 5.216d	5.349 ± 0.058a	12.880 ± 0.326e
200	29.341 ± 11.123c	37.408 ± 5.984c	4.066 ± 0.024c	20.259 ± 0.604d
400	77.841 ± 13.170b	96.167 ± 9.617a	3.767 ± 0.073e	21.279 ± 0.491c
600	103.953 ± 12.642a	102.717 ± 3.458a	3.830 ± 0.058de	31.554 ± 0.339a
800	100.355 ± 7.164a	80.939 ± 7.089b	3.920 ± 0.024d	32.135 ± 0.796a
1 000	13.475 ± 2.289c	49.266 ± 6.279c	4.265 ± 0.040b	29.931 ± 0.504b

注:同一列不同小写字母表示显著差异,P < 0.05。

### 2.3 不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏不同部位草酸含量的影响

植物代谢产生的游离态草酸积累过多对植物有害<sup>[3]</sup>。在不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理下,半夏不同部位可溶态含量存在明显差异。外源 Ca<sup>2+</sup> 处理下半夏

从 5 月 30 日起,各处理倒苗率快速升高,但处理间有差异,以 6 月 20 日为例,400 mg · L<sup>-1</sup> 倒苗率最低,0,200 mg · L<sup>-1</sup> 倒苗率明显高于其他处理;7 月 1 日,400 mg · L<sup>-1</sup> 高于其他处理,0 mg · L<sup>-1</sup> 倒苗率依然较高,说明 400 mg · L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> 处理推迟半夏倒苗高峰期,延长了半夏的生长期(图 1)。

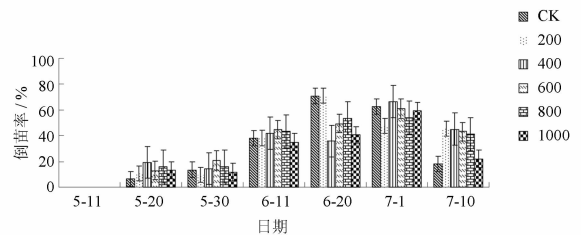


图 1 不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏倒苗率的影响

Fig. 1 Effects of Ca<sup>2+</sup> on tumbled sprout rate of *Pinellia ternate*

### 2.2 不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏叶片抗逆系统的影响

一定浓度的 Ca<sup>2+</sup> 能提高半夏叶片 SOD,POD 的活性,同时可降低 MDA 含量,在无钙、低钙和高钙浓度下,SOD,POD 活性均较低。Ca<sup>2+</sup> 浓度为 200 ~ 1 000 mg · L<sup>-1</sup> 的处理,随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度升高,半夏叶片中 SOD,POD 活性呈现先升高后下降的趋势。随着 Ca<sup>2+</sup> 浓度的升高,叶片 Pro 含量呈现先降后升的趋势,Ca<sup>2+</sup> 浓度为 600,800 mg · L<sup>-1</sup> 时,Pro 含量显著高于低浓度的处理(表 1)。

叶片及块茎中可溶态草酸含量均低于未处理叶片及块茎可溶态草酸含量;随着外源 Ca<sup>2+</sup> 浓度的升高,半夏叶片及块茎中可溶态草酸含量呈现先升后降的趋势。不同浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理下,半夏叶柄可溶态草酸含量存在明显差异(表 2)。



表 2 不同浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理半夏不同部位草酸含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on oxalic acid of *Pinellia ternate* different parts ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

$\text{Ca}^{2+}$ /mg · L <sup>-1</sup>	总草酸			可溶态草酸		
	叶片	叶柄	块茎	叶片	叶柄	块茎
0	0.577 ± 0.070cd	0.188 ± 0.022b	0.338 ± 0.017b	0.558 ± 0.031a	0.071 ± 0.007bc	0.252 ± 0.007a
200	0.626 ± 0.025c	0.256 ± 0.007a	0.288 ± 0.025c	0.257 ± 0.012c	0.055 ± 0.012c	0.137 ± 0.003e
400	0.766 ± 0.060b	0.249 ± 0.035a	0.316 ± 0.015bc	0.455 ± 0.029b	0.102 ± 0.009a	0.205 ± 0.004c
600	0.499 ± 0.073d	0.205 ± 0.031b	0.319 ± 0.036bc	0.302 ± 0.051c	0.057 ± 0.011bc	0.226 ± 0.003b
800	0.759 ± 0.032b	0.223 ± 0.020ab	0.392 ± 0.014a	0.400 ± 0.037b	0.073 ± 0.004b	0.179 ± 0.012d
1000	0.888 ± 0.042a	0.121 ± 0.016c	0.249 ± 0.032d	0.283 ± 0.027c	0.063 ± 0.003bc	0.171 ± 0.009d

## 2.4 不同浓度外源 $\text{Ca}^{2+}$ 处理对半夏产量及化学成分含量的影响

随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的增加,块茎和珠芽产量呈先升后降的趋势。 $\text{Ca}^{2+}$  对半夏类原球茎总生物碱及鸟苷的合成

影响显著。当  $\text{Ca}^{2+}$  质量浓度为 400 mg · L<sup>-1</sup>,总生物碱和鸟苷含量最高, $\text{Ca}^{2+}$  质量浓度为 600 mg · L<sup>-1</sup>,半夏块茎总生物碱和鸟苷含量最低。在低浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下,半夏块茎总游离有机酸含量较高(表 3)。

表 3 不同浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理对半夏产量及化学成分含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effects of  $\text{Ca}^{2+}$  on the yield and the accumulateion of main components in *Pinellia ternate* ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

$\text{Ca}^{2+}$ /mg · L <sup>-1</sup>	块茎鲜重/g/株	珠芽鲜重/g/株	合计/g/株	总生物碱/%	总有机酸/%	鸟苷/%
0	1.597 0 ± 0.483 4c	0.224 9 ± 0.099 5b	1.828 7 ± 0.316 5d	0.139 ± 0.001c	0.853 ± 0.061a	0.008 8 ± 0.000 2c
200	1.905 5 ± 0.601 5b	0.231 6 ± 0.149 7b	2.130 4 ± 0.350 5c	0.126 ± 0.009d	0.849 ± 0.061a	0.011 0 ± 0.000 3ab
400	1.944 2 ± 0.689 7b	0.321 0 ± 0.179 3a	2.265 2 ± 0.434 5c	0.179 ± 0.004a	0.816 ± 0.092a	0.012 4 ± 0.000 4a
600	2.588 3 ± 0.370 4a	0.305 1 ± 0.202 7a	2.893 5 ± 0.286 5a	0.120 ± 0.002d	0.776 ± 0.092b	0.007 9 ± 0.000 1c
800	2.404 4 ± 0.580 8a	0.232 6 ± 0.125 0b	2.637 1 ± 0.352 9b	0.141 ± 0.001c	0.258 ± 0.061c	0.008 5 ± 0.000 1c
1 000	2.111 8 ± 0.830 8b	0.226 7 ± 0.125 8b	2.338 5 ± 0.478 3c	0.157 ± 0.002b	0.315 ± 0.002c	0.010 4 ± 0.000 3b

## 3 讨论

### 3.1 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 处理对半夏酶促系统稳定的影响

本试验中随着  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的升高,半夏叶片 SOD 活性呈现先升高后下降的趋势,说明一定浓度的外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理可提高半夏叶片内的 SOD 活性,但过高浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理反而抑制了 SOD 活性。缺钙常引起 SOD 酶活性变化,使自由基浓度增加,促进膜脂过氧化作用<sup>[7]</sup>。

大量研究表明,除了与植物正常代谢和生长发育相关的结构型 POD 外,大部分 POD 的合成属于诱导表达型<sup>[8]</sup>。本试验中,400,600 mg · L<sup>-1</sup> 外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理使 POD 都在高温胁迫下维持较高活性,其中,外源  $\text{Ca}^{2+}$  质量浓度为 600 mg · L<sup>-1</sup> 时,半夏叶片 POD 活性最高。本试验表明, $\text{Ca}^{2+}$  处理降低了半夏叶片 MDA 的积累。

### 3.2 外源 $\text{Ca}^{2+}$ 处理对半夏叶片内渗透调节物质含量的影响

植物体内脯氨酸含量在一定程度上反映了植物的抗逆性。苏梦云<sup>[9]</sup> 研究表明, $\text{Ca}^{2+}$  处理能明显促

进杉木幼苗在渗透胁迫下脯氨酸的积累,用  $\text{Ca}^{2+}$  螯合剂 EGTA 和  $\text{Ca}^{2+}$  通道阻塞剂  $\text{CoCl}_2$  处理,明显抑制渗透胁迫下  $\text{Ca}^{2+}$  促进的脯氨酸积累。本实验结果表明,外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理对提高半夏叶片中脯氨酸含量有明显作用,随着外源  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的上升,叶片中脯氨酸含量也呈现先升后降的趋势。

随着钙供应量的提高,许多种植物体内草酸钙含量增加<sup>[10]</sup>。草酸钙的形成可以保证植物有效控制离子态的草酸和钙以避免其过多的积累对植物产生毒害作用。大量研究结果表明草酸钙的形成是许多植物调节钙离子浓度和有机酸浓度的一种机制<sup>[11]</sup>。此外,钙营养对草酸含量具有显著影响<sup>[12]</sup>。有研究报道西红柿果皮中的草酸钙晶体数量也随着供钙浓度的升高而增加<sup>[13]</sup>,Zindler-Frank 等<sup>[14]</sup> 报道在四季豆的生长叶中的草酸总量与供钙水平无关,而完全展开叶在营养液中供钙水平提高时含有高量的草酸。本试验中,未处理的半夏叶片与块茎中可溶性草酸含量均高于外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理的可溶性草酸含量。



### 3.3 高温胁迫下外源 Ca<sup>2+</sup> 处理对半夏产量及块茎主要化学成分含量的影响

本研究结果表明,钙盐对半夏总生物碱的合成具有显著影响,中等浓度外源 Ca<sup>2+</sup> 处理有利于半夏块茎总生物碱的积累,过高或过低都不利于总生物碱的合成。

随外源 Ca<sup>2+</sup> 浓度的升高,半夏块茎总游离有机酸含量呈现下降趋势。可能是由于游离有机酸与钙在液泡内形成不溶性钙盐,从而降低了游离有机酸的含量。Ca<sup>2+</sup> 对半夏鸟苷的合成有一定影响,可能与 Ca<sup>2+</sup> 影响了鸟苷合成过程中某些酶的活性有关,其具体机制有待进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 中国药典. 一部[S]. 2010:110.

[2] 盛玮,薛建平,张爱民,等. 半夏倒苗前后的细胞组织结构[J]. 广西植物,2009,29(3):390.

[3] 李合生. 现代植物生理学[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2002:77.

[4] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2000:172.

[5] 汪树玉,杜鸣. 分光光度法测定菠菜中草酸盐总量[J]. 营养学报,1989,11(1):71.

[6] 于超,张明,王宇,等. 紫外分光光度法测定不同产地半夏中总生

物碱的含量[J]. 时珍国医国药,2002,13(2):73.

[7] 高向阳,杨根平,许志强,等. 水分胁迫下钙对大豆膜脂过氧化保护酶系统的影响[J]. 华南农业大学学报,1999(2):7.

[8] 刘华山,韩锦峰,孟凡庭,等. 土壤渍涝下芝麻叶片中几个与抗逆能力有关的生理指标的变化(简报)[J]. 植物生理学通讯,2001(2):106.

[9] 苏梦云. 杉木幼苗在渗透胁迫下脯氨酸积累及Ca的调节作用研究[J]. 林业科学研究,2003(3):335.

[10] 李春俭. 高级植物营养学[M]. 北京:中国农业大学出版社,2008:201.

[11] Nakata P A. Advances in our understanding of calcium oxalate crystal formation and function in plants [J]. Plant Sci, 2003, 164:901.

[12] Ahmed A K, Johnson K A. The effect of the ammonium;nitrate ration, total nitrogen, salinity (NaCl) and calcium on the oxalate levels of *Tetragonia tetragonioides* Pallas. Kunz[J]. J Hort Sci Biotech, 2000, 75(5):533.

[13] De Kreig C, Janse J, Van Goor B J, et al. The incidence of calcium oxalate crystals in fruit walls of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affected by humidity, phosphate and calcium supply [J]. J Horti Sci, 1992, 67:45.

[14] Zindler-Frank E, Honow R, Hesse A. Calcium and oxalate content of the leaves of *Phaseolus vulgaris* at different calcium supply in relation to calcium oxalate crystal formation [J]. Plant Physiol, 2001, 158:139.

## Effect of exogenous Ca<sup>2+</sup> on protective infection of *Pinellia ternata* and accumulation of major components under high temperature stress

LI Can-wen, WANG Kang-cai\*, LUO Qing-yun, TANG Xing-li

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of exogenous Ca<sup>2+</sup> on protective infection of *Pinellia ternata* and accumulation of major components under high temperature stress. **Method:** The soilless cultivation experiment was applied, stress resistance index of *P. ternata* leaves, statistics the rate of lodge *P. ternata*, the content of oxalate in different places in the plant, the content of total alkaloids, total organic acids and glucosine in *P. ternata* tubers were measured based on different concentrations of exogenous Ca<sup>2+</sup>. **Result:** The test results showed that, at lower concentrations of Ca<sup>2+</sup> treatments, the rate of lodge *P. ternata* was higher than that of the others. With Ca<sup>2+</sup> concentration increasing, activities of SOD and POD initially increased and then decreased, however, proline level tended to be down then up. Soluble oxalic acid content was lower than the content of unhandled treatment in *P. ternata* leaves and tubers; with Ca<sup>2+</sup> concentration increasing, soluble oxalic acid content and yield showed a tendency of decrease after increase in the leaves and tubers. Compared with other treatments, spraying 400 mg · L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> significantly enhanced the accumulation of total alkaloid and guanosine in *P. ternata* tubers. At Lower concentrations of Ca<sup>2+</sup>, the content of total free organic acid was higher in the tuber. **Conclusion:** With the treatment of Ca<sup>2+</sup> the capacity of heat resistance was improved in *P. ternata* plants, the rate of lodge *P. ternata* was postponed, growing period was extended and corresponding production has increased by spraying exogenous Ca<sup>2+</sup>.

[Key words] *Pinellia ternata*; high temperature stress; protective infection; major components

doi:10.4268/cjcm20121908

[责任编辑 吕冬梅]