DOI：10.13718/j.cnki.xdzk.2014.08.004

# 钙对昼间亚高温胁迫下半夏质量和产量的影响①

杨卫星，　黑刚刚，　李琳琳，　张小团，　吴能表

西南大学 生命科学学院/三峡库区生态环境教育部重点实验室，重庆 400715

**摘要：** 采用盆栽试验，研究了叶面喷施外源 $Ca^{2+}$ 在昼间亚高温条件下对半夏珠芽的生长及其形成块茎的质量及产量的影响. 结果表明：2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理后，半夏的根、茎、叶、块茎的干质量及总生物量均有显著提高，株高有显著增高，茎径也有显著增粗. 半夏块茎的干、鲜质量均随处理时间的增加而增加，其中 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理下块茎干、鲜质量增加最多. 块茎中，鸟苷、腺苷及总生物碱的含量在总体趋势上随 $Ca^{2+}$ 浓度的增加呈先增后减，三者的产量也随 $Ca^{2+}$ 浓度的增加呈现先增后减的趋势. 说明 2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理促进了半夏珠芽的生长，显著提高了半夏的品质与产量.

**关　键　词：** 半夏珠芽；鸟苷；腺苷；总生物碱

**中图分类号：Q946**　　**文献标志码：A**　　**文章编号：** 1673-9868(2014)8-0020-07

半夏[*Pinellia ternata*（Thunb.）Breit]为天南星科半夏属多年生草本植物，其药理作用有镇咳、止吐、防矽肺、解毒等功效[1]. 由于半夏野生资源日益减少，现多采用人工栽培. 半夏繁殖包括有性繁殖和无性繁殖[2]，但有性繁殖产生的种子萌发率低[3]，生产一般不采用. 无性繁殖有珠芽、块茎繁殖，块茎繁殖无新个体的产生，所以半夏种的繁衍主要靠珠芽. 它的发生不受季节、生物年龄的限制，而且发芽率高. 川半夏在 1 年之中有 3 次出苗 3 次倒苗[4]，倒苗后埋于土中的珠芽能萌发成幼苗，可极大增加种群的数量. 宋金斌等研究表明珠芽是半夏重要的产量构成因素[5]. 但前人对半夏珠芽的研究主要集中在珠芽形成的数量与种茎的大小、品系、栽培深度以及光照等方面[6-8]，仅宋经元等[9]报道过珠芽萌发动态及其影响因子，而专门研究珠芽在逆境胁迫下的生长特性鲜有报道. 本研究以半夏珠芽为材料，探讨在亚高温胁迫下，喷施外源钙对珠芽的生长发育及干物质和化学成分积累规律的影响，为半夏人工栽培增产提供理论依据.

## 1　材料与方法

### 1.1　材　料

半夏种块茎购买自四川遂宁，经西南大学吴能表教授鉴定为半夏(*Pinellia ternata*)的块茎. 2013 年 5

① 收稿日期：2014-02-15
基金项目：国家自然科学基金资助项目(30500041)；重庆市科技攻关资助项目(cstc2012gg—yyjs80013).
作者简介：杨卫星(1988-)，男，江西吉安人，硕士研究生，主要从事药用植物生化工程的研究.
通信作者：吴能表，教授.

月5日将其种入沙质土壤(壤土与沙比例为3∶1)，采收倒苗后的半夏珠芽. 选取大小一致、形态相近的珠芽栽于盛有沙的瓷盆中进行萌发，9月29日选取长势一致的幼苗移栽到充分混匀基质的花盆(21 cm×17 cm)中，每盆10株，共25盆，于光照培养箱中培养(昼夜温度25 ℃/20 ℃). 待苗高10 cm左右后对半夏进行亚高温处理(昼夜温度32 ℃/24 ℃，光照强度4 500 Lx，光照时间10 h/d). 每天上午叶面喷施$CaCl_2$溶液(浓度分别为0，2,4,6，8 mmol/L). 高温处理前采收1次半夏块茎，处理后每6 d采收1次，共18 d. 将采收的半夏块茎洗净，去皮后称鲜质量，烘干称干质量，粉碎过50目筛后备用.

1/10万电子天平(AB135-S，METTLER TOLEDO，瑞士)，1/10千电子天平(AB104-N，METTLER TOLEDO，瑞士)，岛津UV-2550紫外分光光度计，岛津LC-20AT高效液相色谱仪，鸟苷对照品(上海同田生物技术有限公司，批号：118-00-3，13602-2012)，腺苷对照品(上海同田生物技术有限公司，批号：3080-29-3，13739-2012)，麻黄碱对照品(中国药品生物制品检定所，批号：171241-201007)，超声波清洗仪(北京医疗设备二厂)，旋转蒸发仪(Heidolph，德国)等.

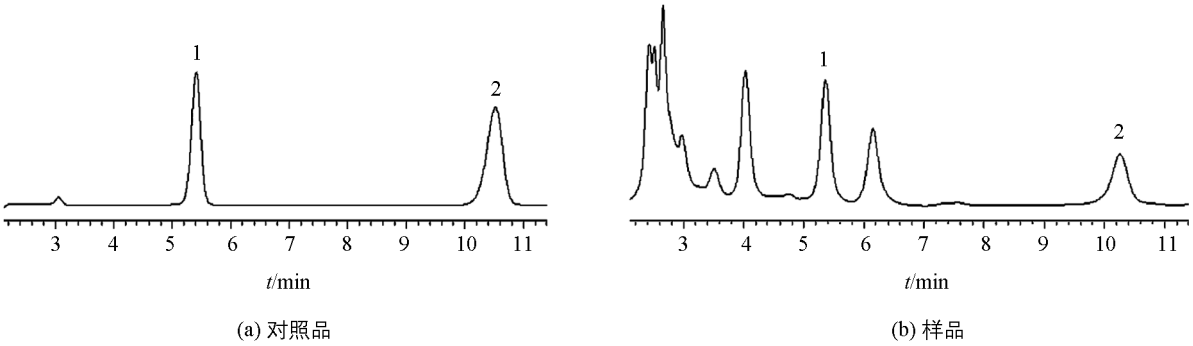
### 1.2 方 法

#### 1.2.1 生长指标的测量

各处理组随机选取半夏10株，株高用直尺(精确到1 mm)测量，茎径用游标卡尺(精确度0.02 mm)测量(测量部位为地上1 cm处)，各器官干质量及总生物量用1/10千电子天平(精确度0.000 1 g)称量.

#### 1.2.2 鸟苷、腺苷含量的测定

鸟苷、腺苷含量采用高效液相色谱法[10]测定，色谱条件：Ultimate XB-C18柱(4.6 mm×250 mm，5 μm)，流动相为甲醇－水(15∶85)，流速为1 mL/min，检测波长为254 nm，柱温为30 ℃. 待测样品采用超声波提取法，用1/10万电子天平精密称取半夏块茎0.100 00 g，加入30%甲醇3 mL，超声提取30 min，用30%甲醇补足重量后于离心机5 000 r/min离心10 min，取上清液稀释3倍后过0.22 μm微孔膜备用，每个处理3次重复. 鸟苷、腺苷对照品及样品色谱图如图1.




1. 鸟苷；2. 腺苷.

**图1 鸟苷、腺苷对照品和样品HPLC图**

#### 1.2.3 总生物碱含量的测定

总生物碱含量采用酸性染料比色法测定，样品供试液的制备与测定方法及标准曲线绘制均参考于超等[11]的方法，如表1.

**表1 半夏块茎中有效成分测定的标准曲线**

| 有效成分 | 线性范围 | 回归方程 | 相关系数 $R^2$ |
|---|---|---|---|
| 鸟苷/μg | 0.021 28～0.212 8 | $y=1\ 700\ 000x+3\ 832.1$ ($n=7$) | 0.999 8 |
| 腺苷/μg | 0.019 36～0.193 6 | $y=2\ 400\ 000x+4\ 643.7$ ($n=7$) | 0.999 9 |
| 总生物碱/(μg·mL$^{-1}$) | 2.02～10.1 | $y=0.093\ 1x+0.166\ 0$ ($n=5$) | 0.998 8 |

1.2.4　数据处理

试验原始数据处理采用 Microsoft Excel(2003)，制图采用 Origin8 软件，差异显著性多重比较和相关分析采用 SPSS13.0 软件.

## 2　结果与分析

### 2.1　不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏生长、各器官干质量及总生物量的影响

试验结果如图 2 所示，18 d 后 2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理的根干质量均显著高于对照和 8 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理. 茎干质量各处理间差异明显，2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理最高，是对照的 2.32 倍. 叶干质量中对照最低，与其他处理相比差异显著，钙处理组间的差异不大. 2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理的块茎干质量显著增加，分别高出对照 41.7%，8.8%，18.3%. 由于半夏的干物质主要集中在块茎中，所以钙对总生物量影响与块茎相似，2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理最高，与对照相比差异显著. 从图 3 半夏的株高和茎径来看，对照最低，其他处理显著高于对照，且 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理效果最好，两项分别比对照高了 21.4%，32.2%. 说明亚高温胁迫下叶面喷施适宜浓度的钙溶液可促进半夏的生长和生物量的积累. 所有图中 ck，2 mmol/L，4 mmol/L，6 mmol/L，8 mmol/L 分别为 0,2,4,6,8 mmol/L $CaCl_2$ 溶液处理. 同一组数据中字母不同者表示差异显著，$p<0.05$.

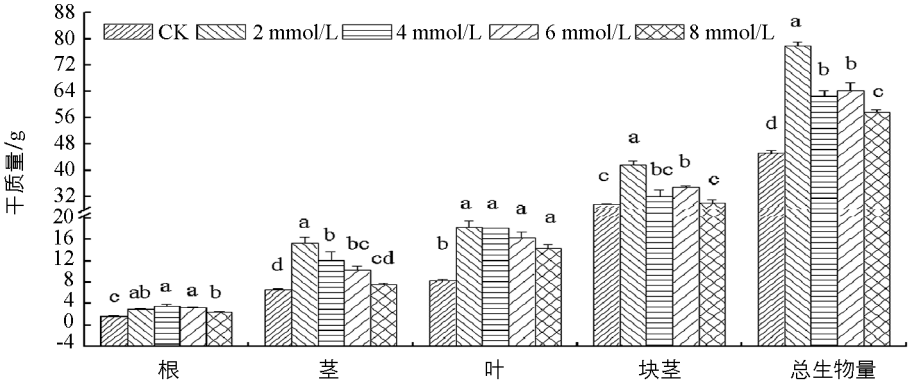



**图 2　不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏各器官干质量及总生物量的影响**

### 2.2　不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎干、鲜质量的影响

$Ca^{2+}$ 处理 12 d 后，各处理组的块茎鲜质量出现显著差异，$Ca^{2+}$ 处理较对照效果显著，其中 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理的鲜质量最高，第 18 d 时比对照高出 46%，而 $Ca^{2+}$ 处理组间差异不显著(见图 4a). 块茎干质量变化趋势与鲜质量基本一致，第 18 d 时 2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理效果显著，2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理的干质量最高，是对照的 1.35 倍(见图 4b).

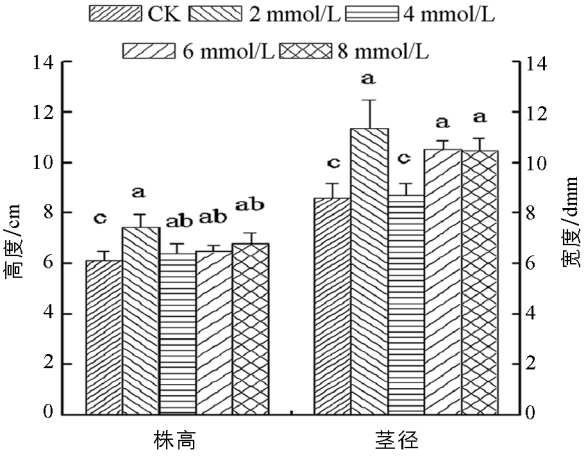



**图 3　$Ca^{2+}$ 处理对半夏株高和茎径的影响**

### 2.3 不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎乌苷、腺苷含量及其产量的影响

试验结果如图 5a 所示，亚高温胁迫 6 d 后，乌苷含量在 4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理时显著升高. 随着胁迫时间延长，2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理的乌苷含量逐渐上升，并在第 18 d 时升至各处理间的最高值，是对照乌苷含量的 1.89 倍，而 8 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理与对照相比效果不显著. 图 6a 所示，腺苷含量的变化趋势与乌苷基本一致，18 d 时 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理腺苷含量最高，比对照高出 33.4%. 随钙浓度增大，腺苷含量却随之降低. 有效成分的产量等于有效成分的含量乘以块茎的干质量. 乌苷、腺苷产量的走势与两者含量的走势一致，随钙浓度的增加，乌苷、腺苷产量先增后减，均在第 18 d 时 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理效果显著，分别是对照的 2.56 倍和 1.81 倍(见图 5b，图 6b).

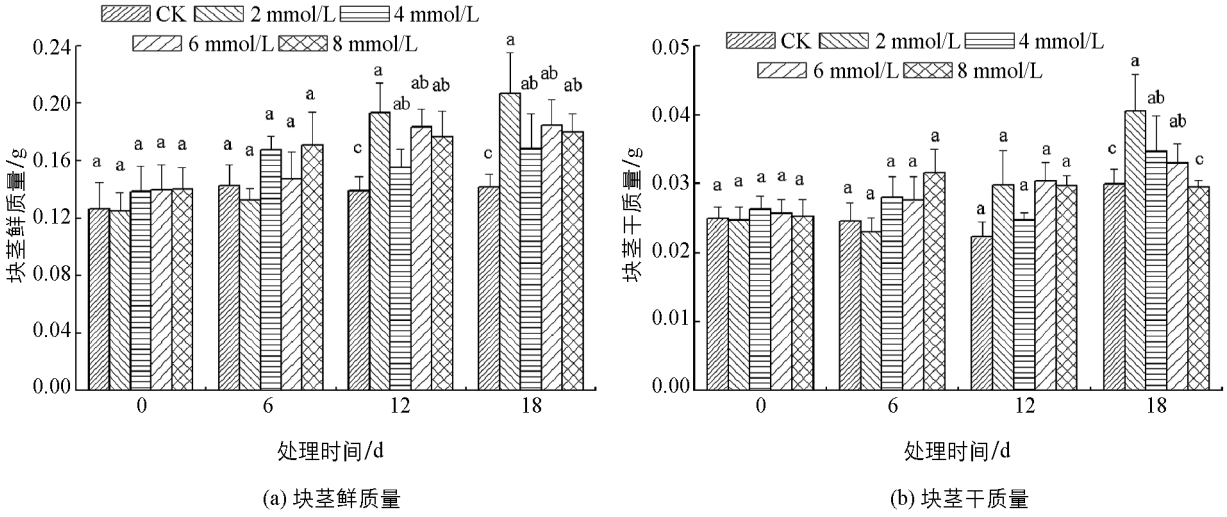



**图 4 不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎鲜质量和干质量的影响**

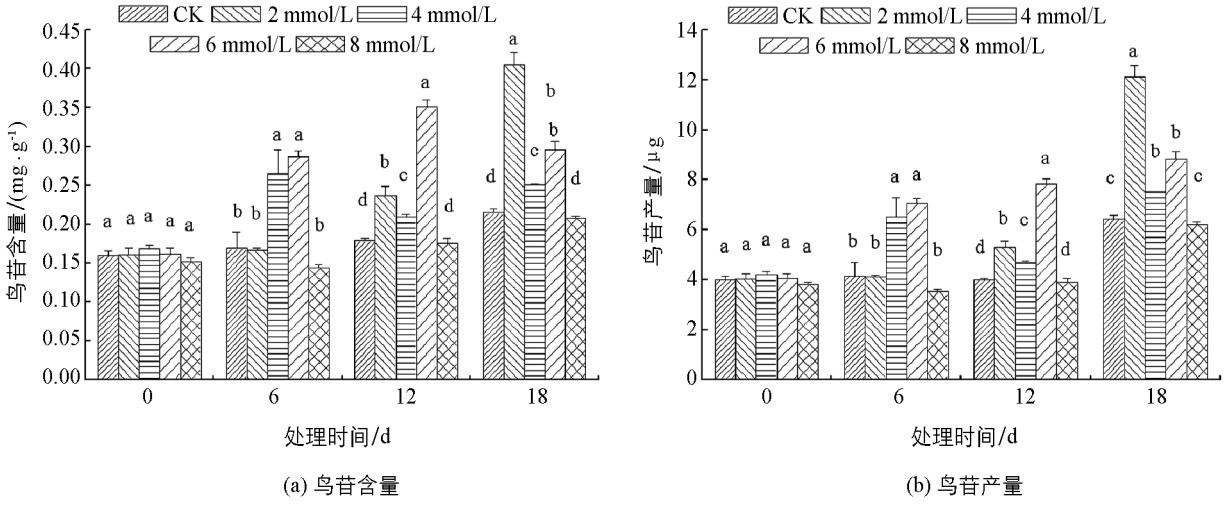
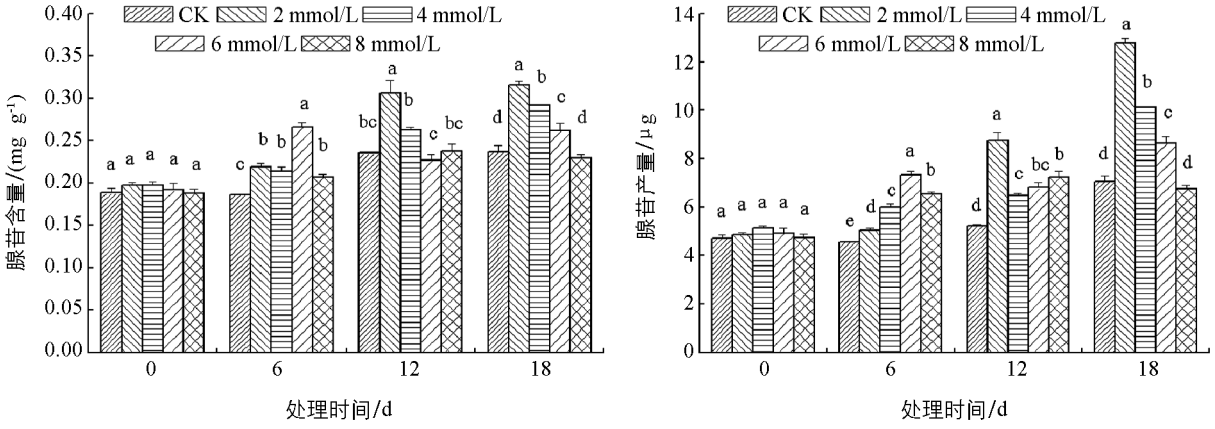



**图 5 不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎中乌苷含量和产量的影响**

### 2.4 不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎生物碱含量及产量的影响

随 $Ca^{2+}$ 浓度的增加，半夏块茎中生物碱含量呈先增后减的趋势，2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理生物碱含量较对照显著，其中 4 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理含量最高，三者分别是对照的 1.9，2.35，2.15 倍. 如表 2 所示，生物碱产量也是随 $Ca^{2+}$ 浓度的增加呈先增后减的趋势，2,4,6 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理效果显著，4 mmol/L $Ca^{2+}$

处理的产量最高，是对照的 2.73 倍，而高浓度 $Ca^{2+}$ 处理下生物碱产量与对照无显著性差异.




(a) 腺苷含量　　(b) 腺苷产量

**图 6　不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎腺苷含量和产量的影响**

**表 2　不同浓度 $Ca^{2+}$ 处理对半夏块茎总生物碱含量及产量的影响**

| 外源钙浓度 /(mmol·L$^{-1}$) | 样品重 /g | 生物碱含量 /(mg·g$^{-1}$) | 单株平均干质量 /g | 单株平均生物碱含量 /mg |
|---|---|---|---|---|
| CK | 0.154 5±0.000 3a | 0.257 9± 0.041 3c | 0.029 9±0.002 2c | 0.007 7± 0.001 2b |
| 2 | 0.154 5±0.000 3a | 0.489 6±0.001 2ab | 0.040 5±0.005 3a | 0.019 8 ±0.000 1a |
| 4 | 0.133 3±0.002 1a | 0.605 0±0.061 6a | 0.034 7±0.005 1ab | 0.021 0 ±0.002 1a |
| 6 | 0.154 2±0.000 4a | 0.555 3±0.015 3a | 0.033 0±0.002 8ab | 0.018 3 ±0.000 5a |
| 8 | 0.154 7±0.000 4a | 0.375 5±0.039 8bc | 0.029 5±0.001 0c | 0.011 1 ±0.001 2b |

注：同一列数据中字母不同者表示差异显著，$p<0.05$.

## 3　讨　论

珠芽是块茎的母体[2]，当珠芽萌动时，先长不定根，随之抽叶进行光合作用. 随着有机物的积累，珠芽不断增大，即成为块茎，但珠芽与块茎的生长不尽相同. 从试验中观察到，半夏珠芽长出的幼株，叶片全缘、不分裂、心形或戟形，随着植株的生长，叶片才逐渐分裂，而块茎长出的叶片为 3 全裂. 顾德兴等[12]认为泰半夏的叶形态变化与块茎大小相关. 在幼苗的分蘖数上，单个块茎一般只有一株幼苗，而 1 个珠芽能长出 2～3 株，并且通过提前低温催芽[13]和覆盖适宜湿度的土壤[6]可使珠芽在地下形成，有利于培育更大的块茎，这样一叶一珠芽的方式增大了半夏的繁殖系数. 且以珠芽形成的块茎均为 1 年生，减少了半夏由于生长期不同导致的个体差异，从而保证了材料一致.

夏季高温是引起半夏“倒苗”的主要因素[14]. 大量研究表明 $Ca^{2+}$ 参与到植物对高温逆境的应答反应中. 龚明等报道外源 $Ca^{2+}$ 处理可显著增强玉米幼苗的耐热性[15]，$Ca^{2+}$ 还可通过调节抗氧化酶的活性来增强半夏的耐热性[16]. 本试验发现，由珠芽萌发形成植株的株高、茎径、叶面积都比块茎形成植株的要小，在受到高温胁迫时易倒苗. 在叶面喷施适宜浓度的钙溶液后，半夏可通过抗氧化系统的调节[16]和叶片 PSII 反应中心的开放[17]来维持叶片较高的光合活性，加快了干物质的积累，从而让幼苗的株高增高，茎径增粗，植株的耐热性得到增强. 钙处理后，块茎的干、鲜质量都有了显著的增加，且以 2 mmol/L $Ca^{2+}$ 处理效果最佳，加快了珠芽生长为块茎，而高浓度 8 mmol/L $Ca^{2+}$ 则不利于块茎干物质的积累.

半夏块茎主要有淀粉、半夏蛋白、核苷类、甾醇类、有机酸、生物碱类等多种化学成分[18]. 生物碱

是半夏药理作用的主要有效成分，具有止呕[19]和抗肿瘤[20]等作用. 鸟苷含量与半夏药材的等级有关，常作为半夏的水溶性指标，且具有抗肿瘤、抗病毒等功能[21]；腺苷具有抗炎、扩张血管、保护心脏等作用[22]. $Ca^{2+}$既是一种非常重要的信号分子，也是一种重要的诱导子，可提高半夏细胞中鸟苷、肌苷及葫芦巴碱的含量[23]. 本试验表明：钙对半夏中鸟苷、腺苷及生物碱的合成具有显著的促进作用，中等浓度的外源$Ca^{2+}$处理有利于半夏块茎中鸟苷、腺苷及生物碱的积累，过高或过低都不利于三者的合成. 可能是钙参与了植物细胞次生代谢的调节，诱导半夏生物碱合成关键酶基因的表达，影响了合成生物碱的某些关键酶的活性，从而影响总生物碱的合成. 在亚高温胁迫下，珠芽生长的最适钙浓度比笔者之前研究半夏块茎田间生长的最适钙浓度要偏低，可能与珠芽萌发形成的植株较弱小、耐受能力较低有关，具体机制有待研究.

**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，2010：110－111.

[2] 顾德兴，郭巧生. 半夏群体生物学特性的研究[J]. 南京农业大学学报，1990，13(2)：11－16.

[3] 郭巧生，张国泰，许来武，等. 不同繁殖材料对半夏产量的影响[J]. 中国中药杂志，1993，18(3)：140－142.

[4] 何道文，黄雪菊. 半夏栽培生态学研究[J]. 中草药，2003，34(12)：1133－1135.

[5] 宋金斌，张国泰，郭巧生，等. 不同半夏种质田间比较试验[J]. 中草药，1997，28(3)：175－177.

[6] 潘炳文. 半夏珠芽生态观察[J]. 中国中药杂志，1988，23(9)：526－527.

[7] 赵忠堂，吴在军，张来启，等. 半夏块茎与珠芽的生长状况研究[J]. 基层中药杂志，2001，15(3)：22－23.

[8] 王道宽. 半夏珠芽生态观察[J]. 中药材，1986(1)：5－7.

[9] 宋经元，马小军，蒋舜媛，等. 半夏珠芽萌发动态及其影响因子的研究[J]. 中草药，2005，36(5)：740－743.

[10] 曹瑞霞，周心渝，李姣姣，等. 外源NO对半夏组培苗次生代谢的调控[J]. 西南大学学报：自然科学版，2013，35(4)：14－19.

[11] 于 超，张 明，王 宇，等. 栽培、野生及不同产地半夏总生物碱测定[J]. 中国中药杂志，2004，29(6)：583－584.

[12] 顾德兴，李云香，徐炳声. 半夏的繁殖生物学研究[J]. 植物资源与环境，1994，3(4)：44－48.

[13] 李洪军，李 磊. 半夏第一代珠芽在土壤中形成并生长的研究[C]//王柏灿. 2005全国首届壮医药学术会议暨全国民族医药经验交流会论文汇编. 南宁：中国民族医药学会，2005：311.

[14] 张 明，钟国跃，马开森，等. 半夏倒苗原因的实验观察研究[J]. 中国中药杂志，2004，29(3)：273－274.

[15] GONG M，LI Y J，DAI X，et al. Involvement of Calcium and Calmodulin in the Acquired of Heat Shock Induced Thermo-Tolerance in Maize Seeding[J]. Plant Physiology，1997，150(5)：615－621.

[16] 李灿雯，王康才，罗庆云，等. 外源$Ca^{2+}$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[J]. 中国中药杂志，2013，39(17)：2875－2878.

[17] 李天来，赵 乐，华利静，等. 昼间亚高温影响番茄叶片光合及PSII活性的钙素调控作用[J]. 华北农学报，2011，26(3)：150－156.

[18] 葛秀允，吴 皓. 半夏的化学成分及质量评价方法[J]. 中国药业，2009，18(9)：3－5.

[19] WANG L，ZHAO Y J，ZHANG Y Y，Determination of the Total Alkaloids of Pinellia Tuber and its Anti-Vomiting Study in Minks[J]. Chinese Pharmacological Bulletin，2005，21(7)：864－867.

[20] 陆跃鸣，吴 皓，王 耿. 半夏各炮制品总生物碱对慢性白血病细胞(K562)的生长抑制作用[J]. 南京中医药大学学报，1995，11(2)：54－85.

[21] KINAHAN J J，KOWAL E R，GRINDEY G B. Biochemical and Antitumor Effects of the Combination of Thymidine and 1-β-D-Arabino-Furanosylcytosine Against Eukemia L1210[J]. Cancer Res，1981，41(2)：445－451.

[22] 毛　艳，杨伟俊，贺金华，等. RP-HPLC 法测定维感泡腾片中腺苷的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志，2010，16(2)：25－27.

[23] 刘永红. 半夏块茎与细胞培养体系的建立及主要生物碱的代谢调控研究 [D]. 西安：西北农林科技大学，2009.

# Effect of Calcium on the Yield and Quality of *Pinellia ternata* Under Daytime Sub-High Temperature Stress

YANG Wei-xing，　HEI Gang-gang，　LI Lin-lin，
ZHANG Xiao-tuan，　WU Neng-biao

*School of Life Science，Southwest University，Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region，Ministry of Education，Chongqing 400715，China*

**Abstract**：The effects of exogenous $Ca^{2+}$ on the growth of the bulbels of *Pinellia ternate* and on its tuber quality and yield were studied. Foliar spray of $Ca^{2+}$ at 2，4 or 6 mmol/L significantly increased the dry weight of the roots，stems，leaves and tubers of the plants and enhanced their plant height and stem diameter. Dry weight and fresh weight of the tubers increased with increasing treatment time. Compared with the control，the treatment of $Ca^{2+}$ at 2 mmol/L gave the greatest improvement of tuber dry weight. In general，with the increase in $Ca^{2+}$ concentration，the contents and yields of guanosine，adenosin and total alkaloids in the tubers initially increased and then decreased. In conclusion，application of $Ca^{2+}$ at 2，4 or 6 mmol/L was conducive to the growth of *P. ternate* bulbels and significantly improved the quality and yield of *P. ternate* tubers.

**Key words**：*Pinellia ternata* bulbel；guanosine；adenosine；total alkaloid

**责任编辑**　周仁惠