

不同钾肥用量对长春花盛花期生长和生物碱含量的影响^①

宋姗姗, 隆小华, 刘玲, 刘兆普*

(南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省海洋生物学重点实验室, 南京 210095)

摘要: 在温室土培条件下, 研究了不同 K 肥用量对长春花盛花期的生物量、抗氧化酶活性、丙二醛含量、叶绿素含量及文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱等生物碱含量的影响。结果表明: 当外源 KCl 浓度为 100 ~ 400 mg/kg 时可以有效促进长春花的生长, 且超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、过氧化物酶 (POD) 活性随 KCl 浓度增加而逐渐升高, 叶绿素含量也逐渐升高, 但叶片丙二醛 (MDA) 含量则显著下降。当外源 KCl 浓度达 800 mg/kg 时, 过量的 K 营养供应抑制了长春花的正常生长。400 mg/kg 的施 K 量可最大限度地促进盛花期长春花的正常生长, 并显著促进其生物碱的代谢, 使得长春花盛花期文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱含量显著高于其他所有处理, 含量分别达 42.81、37.82、1.88 和 3.1 mg/g。

关键词: 长春花; 盛花期; 钾; 文多灵; 长春质碱; 长春碱; 长春新碱

中图分类号: S143.3

钾 (K) 元素是植物生长发育必需元素中的大量元素, 是肥料三要素之一, 它可以促进蛋白质的合成, 增加植物的抗逆性, 调节水分代谢和影响产品的品质^[1]。为了避免细胞伤害和营养缺乏, 植物需要在胞质中维持足够的 K^+ 和适当的 K^+/Na^{+2-3} 。许多植物需 K 量都很大, 它在植物体内的含量仅次于 N。农业生产实践证明, 施用 K 肥对提高作物产量和改进品质均有明显的作用^[4-5]。K 肥还能促进植株对其他肥料的吸收^[6-7], 并提高植物的光合效率^[8]。但植物体内含 K^+ 的过量也会阻碍植物的生长发育, K^+ 过量时, 由于离子不平衡会干扰其他元素的吸收从而影响作物的生理生化活动, 因此 K 肥施用过量反而不利于植株的生长^[9]。

长春花 (*Catharanthus roseus*) 是夹竹桃科长春花属多年生草本或亚灌木花卉, 原产于非洲的东部及美洲热带地区, 喜温暖、阳光充足的环境, 现在中国广为栽培。它含有 100 多种生物碱, 其中长春碱和长春新碱可用于多种癌症的治疗, 是目前应用最广泛的天然植物抗肿瘤药物^[10-11]。长春花一般在盛花期刈割地上部分用以提取生物碱, 本试验以长春花为材料, 研究盛花期长春花在不同施 K 量条件下, K 营养对盛花期长春花生物量、保护性酶活性、叶绿素含量与目标碱含量变化的影响, 旨在通过改变栽培条件来促进长

春花生长及目标碱的积累提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 材料的培养和处理

供试长春花种子由南京农业大学 (海南) 海涂农业研究所提供。温室栽培试验, 温度保持在 20℃左右, 光照为自然光照。一月份播种, 后选取长势一致的幼苗移栽入下部具孔、透气性良好底部带托盘的紫砂盆 (30 cm × 40 cm) 中。每盆装 8 kg 沙壤土, 施入 0.24 kg 有机肥, 有机肥有机质含量 ≥ 300 g/kg, 总养分 (N+P₂O₅+K₂O) ≥ 80 g/kg。供试土壤有机质 19.3 g/kg, 有效磷 67 mg/kg, 速效钾 20 mg/kg, 碱解氮 127 mg/kg, 盐分 357 mg/kg, pH 值 6.23。待长春花长至盛花期 (六月), 将其进行 K 处理, 分别用 K1、K2、K3、K4 表示, 即土壤 KCl 含量分别为 100、200、400、800 mg/kg, 同时以不施 KCl 处理为对照 (CK)。所有处理均重复 3 次。平常在土壤含水量为最大持水量的 50% 时, 浇入去离子水, 使土壤含水量达到最大持水量的 60%, 同时将清洗托盘水一起加入盆钵内, 以保证盐分不流失。K 处理 30 天后采样测定各项指标。

1.2 测定项目及方法

1.2.1 植株生物量的测定 将长春花整株连根从

①基金项目: 国家“863”计划重点项目 (2007AA091702)、公益性行业 (农业) 科研专项经费项目 (200903001-05) 资助。

* 通讯作者 (sea@njau.edu.cn)

作者简介: 宋姗姗 (1984—), 女, 山东淄博人, 硕士研究生, 主要从事植物生物碱代谢调控研究。E-mail: sssong5@163.com

紫砂盆中取出,先用自来水冲洗表面灰尘和根部泥土,再用去离子水冲洗,用吸水纸吸干植株表面水分。称取单株根、茎和叶片的鲜质量后,于 60℃烘干至恒重后进行称量,分别得其干质量。

1.2.2 植株叶片丙二醛 (MDA) 含量测定 参照《植物生理学实验指导》^[12]进行测定。

1.2.3 植株叶片超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和过氧化物酶 (POD) 活性测定 参照《植物生理学实验指导》^[12]进行测定。

1.2.4 植株叶片叶绿素含量测定 参照《植物生理生化实验原理和技术》^[13]进行测定。

1.2.5 植株叶片文多灵、长春质碱、长春新碱和长春碱含量测定 参照文献[14]稍作修改。精确称取适量文多灵、长春质碱、长春新碱、长春碱的对照品,配制为系列浓度标液。取长春花叶片干样粉末 0.5 ~ 1.0 g,室温下分别用 15 ml 和 10 ml 甲醇超声提取 50 min 和 40 min,过滤,合并提取液,50℃减压蒸发,将残渣于甲醇中溶解,经 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,滤液定容至 5 ml 容量瓶中,将所有样品保存于 4℃冰箱中备用。以色谱甲醇和乙腈为 4:1 的混合液作为流动相 A,以水和二乙胺为 990:10 的混合液作为流动相 B,用 Waters 高效液相色谱测定。

1.3 数据分析

用 Excel 软件进行数据处理和绘图,并用 SPSS 软件进行方差分析,用 Duncan T 检验进行显著性分析 ($p < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同钾肥用量对盛花期长春花生物量的影响

由表 1 可以看出, K1 处理时,长春花根、茎和叶的鲜重和干重均比对照有所提高,其中茎、叶和总鲜重提高显著。K2 处理时,根、茎和叶的鲜、干重则比 K1 处理时又有所提高,除根的鲜重,根、茎和叶的干重以外均提高显著。K3 处理时,长春花根、茎和叶的鲜重和干重在所有处理中值均最高;根、茎和叶的鲜重及总鲜重分别是对照的 1.7、1.4、1.5 和 1.5 倍,相应干重分别是对照的 1.5、1.2、1.3 和 1.3 倍。但 K4 处理时,长春花根、茎和叶的鲜重和干重比 K3 处理时反而均显著下降,且同对照相比,除根的干重外,其他值均有所下降,其中茎、叶和总鲜重下降显著;根、茎和叶的鲜重及总鲜重分别比对照下降 3.6%、12.8%、15.8% 和 14%,茎和叶的干重及总干重分别比对照下降 1.7%、2.9% 和 2%。

表 1 不同 K 肥用量对盛花期长春花生物量的影响

Table 1 Effects of different K fertilizer rates on the biomass of flowering *C. roseus*

处理	鲜重 (g)				干重 (g)			
	根	茎	叶	总鲜重	根	茎	叶	总干重
CK	2.2 cd	18.1 c	25.63d	45.93 d	0.42 c	3.45 c	4.82 b	8.69 bc
K1	2.87 bc	21.33 b	28.99 c	53.19 c	0.51bc	3.76 bc	5.14 ab	9.41 b
K2	3.47 ab	24.9 a	36.06 b	64.43 b	0.58 ab	4.13 ab	5.92 ab	10.63 a
K3	3.79 a	25.75 a	39.43 a	68.97 a	0.64 a	4.21 a	6.39 a	11.24 a
K4	2.12 d	15.79 d	21.57 e	39.48 e	0.45 c	3.39 c	4.68 b	8.52 c

注: 表中同列不同字母表示处理间在 $p < 0.05$ 水平差异显著。

2.2 不同钾肥用量对盛花期长春花叶片丙二醛 (MDA) 含量的影响

由图 1 看出, K1 处理时,长春花叶片中的丙二醛含量比对照显著下降 13.9%;随着 KCl 用量的增多, K2 和 K3 处理的丙二醛含量逐渐降低,但 K1、K2 和 K3 处理间差异不显著。K3 处理时,长春花叶片中的丙二醛在所有处理中含量最低,比对照显著下降 24.7%。而 K4 处理时,其叶片中的丙二醛含量在所有 KCl 处理中又反而最高,与 K2 和 K3 处理差异显著,与对照差异不显著。

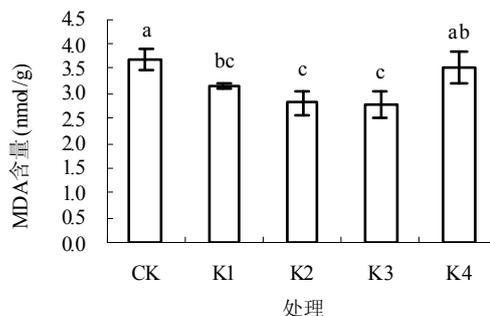


图 1 不同 K 肥用量对盛花期长春花叶片 MDA 含量的影响
Fig.1 Effects of different K fertilizer rates on the MDA contents of flowering *C. roseus* leaves

2.3 不同钾肥用量对盛花期长春花叶片过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性的影响

从图 2 可以看出, K1 处理时, 长春花叶片 POD、SOD 和 CAT 的活性均比对照有所升高, 其中 SOD 的活性升高显著; K2 处理时, 长春花叶片 3 种酶活性比 K1

处理时进一步升高, 且 SOD 的活性差异显著; K3 处理时, 长春花叶片 3 种酶活性在所有处理中达到最高值, 且均同对照差异显著, 分别比对照升高 13.6%、23.5% 和 25.5%; K4 处理时, 长春花叶片 3 种酶活性反而比前一处理显著下降, 分别下降 12.3%、25.2% 和 22.2%, 且均比对照有所下降, 分别下降 6.1%、7.6% 和 2.4%。

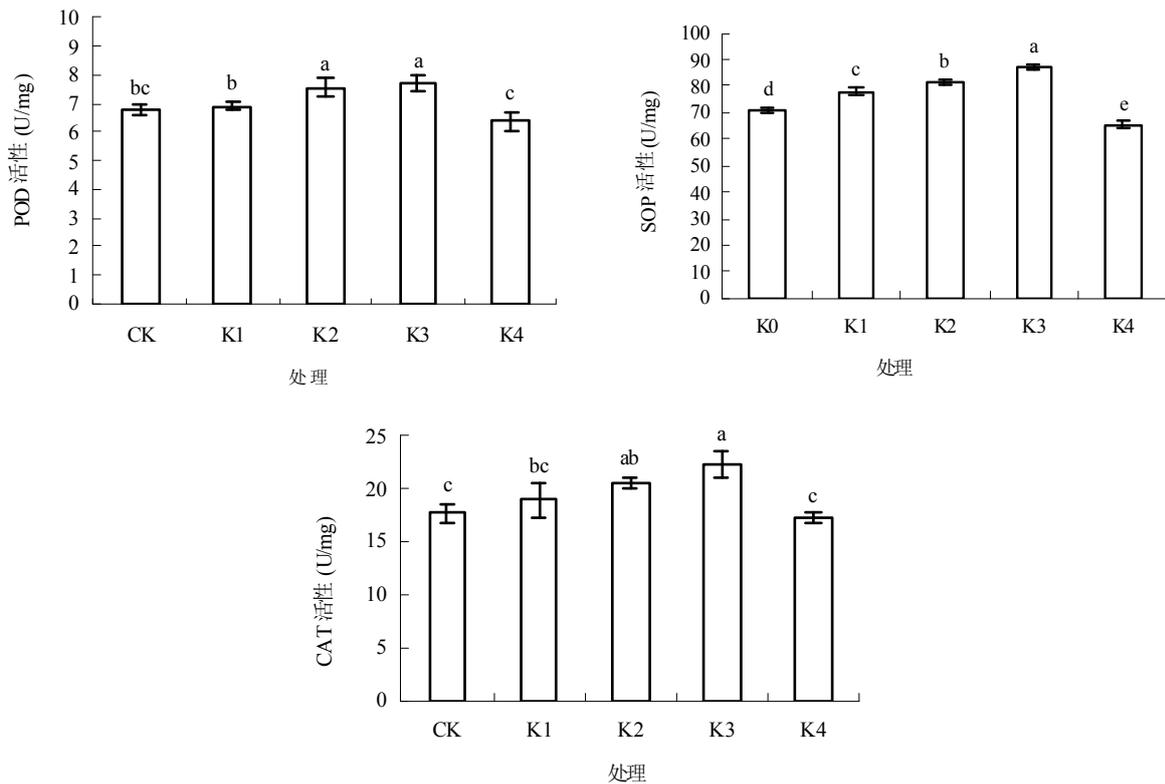


图 2 不同 K 肥用量对盛花期长春花叶片 POD、SOD、CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects of different K fertilizer rates on the activities of antioxidant enzymes of flowering *C.roseus* leaves

2.4 不同钾肥用量对盛花期长春花叶片叶绿素含量的影响

由图 3 看出, K1 处理时, 长春花叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均比对照有所升高, 分别升高 6.4% 和 5.1%; K2 处理时, 叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量比 K1 处理有所提高, 其中叶绿素 a 含量升高显著; K3 处理时, 叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量在所有处理中含量最高, 与对照相比均差异显著, 分别比对照升高 21.3% 和 13.9%; 但 K4 处理时, 叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量反而比 K3 处理显著下降, 分别下降 15.8% 和 10%。

当 K1 ~ K3 处理时, 随着 KCl 用量的增加, 长春花叶片叶绿素 a/b 的值逐渐升高, 但相互之间差异不显

著; 当 K4 处理时, 叶绿素 a/b 的值显著下降, 且在所有的处理中值最低。

2.5 不同钾肥用量对盛花期长春花叶片主要生物碱含量的影响

由图 4 看出, K1 处理时, 长春花叶片文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱的含量均比对照有所升高, 分别是对照的 1.7、2.3、1.5 和 1.1 倍; K2 和 K3 处理时, 文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱的含量均逐渐升高, 其中 K3 处理的文多灵、长春碱和长春新碱含量在所有的处理中含量最高, 分别是对照的 3.1、2.6 和 1.6 倍; 但 K4 处理时, 文多灵、长春碱和长春新碱含量又出现显著下降的趋势, 分别比 K3 处理下降

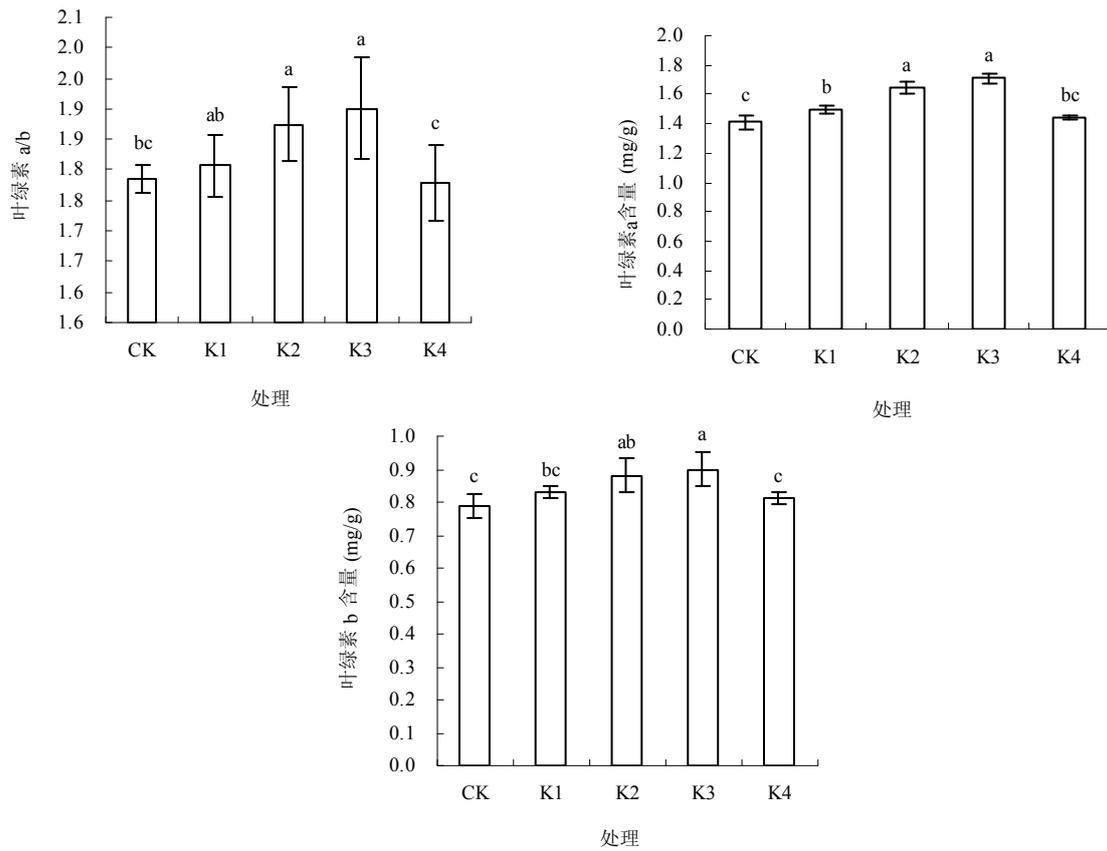


图 3 不同 K 肥用量对盛花期长春花叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 含量及叶绿素 a/b 的影响

Fig. 3 Effects of different K fertilizer rates on the chlorophyll contents of flowering *C.roseus* leaves

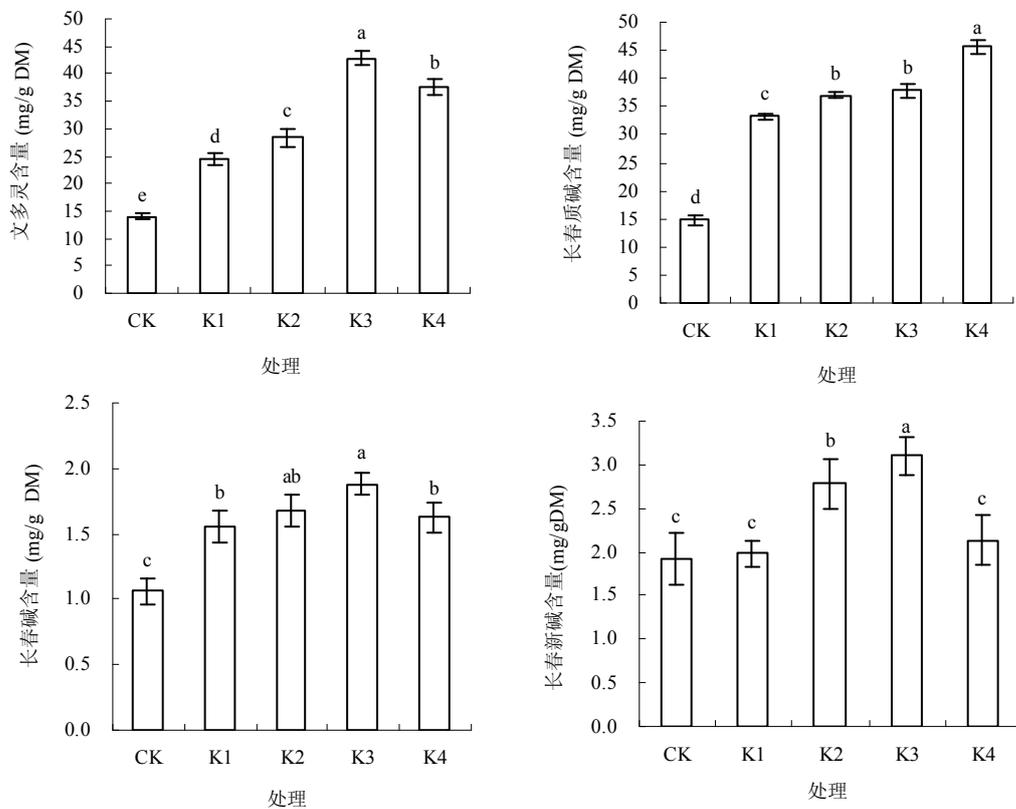


图 4 不同钾肥用量对盛花期长春花叶片文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱含量影响

Fig. 4 Effects of different K fertilizer rates on the vindoline, catharanthine, vinblastine and vincristine contents of flowering *C.roseus* leaves

12%、12.3% 和 31.3%，但仍比对照水平高，分别是对照的 2.7、1.5 和 1.1 倍。K4 处理的长春质碱含量出现上升的趋势，比 K3 处理显著升高 27.8%，是对照的 3.1 倍，在所有的处理中其含量最高。

3 讨论

本实验结果表明，在一定量的低浓度 KCl 作用下，能够显著促进长春花的生长，表现为其根、茎和叶的鲜重和干重均有所增加，株高和根长也有所升高。当 KCl 用量为 400 mg/kg 时，作用效果最显著。KCl 用量继续增加达 800 mg/kg 时反而对长春花的生长产生抑制作用。可见 KCl 对长春花生长的促进作用必须在一定的浓度范围内，这同李平华等^[15]的研究结果相一致，而高浓度 KCl 抑制植物生长可能与光合速率下降有关^[16]，也可能与高浓度 K⁺ 对跨膜质子运输的影响作用相关^[17]。

MDA 是膜脂过氧化产物，具有较强的细胞毒性，能强烈地与细胞内各种成分发生反应，因而引起酶和膜的损伤，并导致膜结构和生理机能的破坏^[18]。MDA 含量的高低是反映细胞膜脂过氧化作用强弱和质膜破坏程度的重要指标。SOD、POD 和 CAT 是植物体内酶保护系统中的重要组成部分，只有 SOD、POD、CAT 三者协调一致，才能使植物体内活性氧自由基维持在较低的水平，从而避免或减轻自由基对生物大分子如核酸和蛋白质等的降解破坏及对生物膜的损害，进而降低 MDA 的含量，使植物进行正常的生长和代谢^[19]。本试验中，100~400 mg/kg KCl 处理的长春花叶片中抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 的活性均呈逐渐上升趋势，MDA 含量与对照相比显著下降，这表明该 KCl 用量处理下，长春花 SOD、POD 和 CAT 三者能协调一致，共同完成活性氧类的清除，降低活性氧毒害程度，又由于 MDA 是膜脂受活性氧作用产生的物质，使得 MDA 的含量降低，从而促进了植株的生长。而 800 mg/kg KCl 处理，长春花叶片的抗氧化酶活性呈下降趋势，这可能是高浓度 KCl 产生的胁迫效应超过了长春花植株的承受能力，长春花叶片的抗氧化酶活性下降，过高的 K⁺ 含量导致了 MDA 等有害物质产生量增加^[20]，干扰了长春花的正常生长和代谢，也使植株生长受到严重抑制。

叶绿素是叶绿体中主要的色素成分，在光能的吸收、传递和转换中起着重要的作用，其含量的多少直接影响着植物光合作用的进行。缺 K 会降低叶片中叶绿素 a 的含量^[21]；相反，施 K 则促进叶片中叶绿素 a

和叶绿素 b 的合成^[22]。所以叶绿素值的高低与 K 的含量有密切关系。从本实验结果看出，100~400 mg/kg KCl 的加入使得长春花叶片叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均比对照有所升高。在正常的供 K 水平下，长春花叶片的叶绿素合成、运转保持动态平衡，有利于光合作用的进行。而植株对高 K 可能将会产生负载作用，所以当 KCl 含量为 800 mg/kg 时，长春花叶片中的叶绿素含量反而开始下降，高浓度 K⁺ 降低叶绿素合成的明显原因之一是 Na⁺ 的缺乏^[23]，可能是过量的 K 供应，扰乱了长春花体内的离子平衡，进而不利于叶绿素的合成。

植物体内化学成分的积累受到许多内外因素的影响，合理施肥促进药用植物体内化学成分合成和积累也见有报道^[24]。阮淑明^[25]在研究不同追肥处理对长春花植株生长及全草总生物碱含量影响的试验中，发现施氮磷钾复合肥与氮肥均显著提高长春花中总生物碱的含量，分别提高 0.037% 和 0.009%。本研究结果显示，100~400 mg/kg KCl 处理时，长春花中的文多灵、长春质碱、长春碱和长春新碱含量随着外源 KCl 浓度的升高而逐渐升高。高浓度 KCl (800 mg/kg) 处理时，除长春质碱外，文多灵、长春碱和长春新碱的含量均显著下降，过量的 K 供应不仅会抑制长春花的生长，也不利于目标产物的积累。其中 K⁺ 是如何影响生物碱代谢类产物的积累的相关生理机制，则需要做进一步的深入研究。

综上所述，当外源 KCl 浓度为 400 mg/kg 时可有效促进长春花的生长，利于其光合作用的进行，并能显著提高其主要生物碱的含量，从而有利于长春花药用成分的提取，为提高长春花生物碱类药物的实际生产量提供理论基础。至于施肥技术中各种营养元素之间怎样配比更能有利于提高长春花植株中生物碱的含量，同样亟待进一步的实验研究。

参考文献:

- [1] 王明香, 聂俊华, 张华芳. 钾素营养研究进展. 云南农业大学学报, 2000, 15(4): 356-358
- [2] Niu X, Bressan RA, Hasegawa PM. Ion homeostasis in NaCl stress environments. *Plant Physiology*, 1995, 109: 735-742
- [3] Serrano R, Culia ZM, Moreno V. Genetic engineering of salt and drought tolerance with yeast regulatory genes. *Scientia Horticulturae*, 1999, 78: 261-269
- [4] 武际, 郭熙盛, 王允青. 钾肥运筹对小麦氮素和钾素吸收利用及产量和品质的影响. *土壤*, 2008, 40(5): 777-783

- [5] 鲁剑巍, 陈防, 万运帆. 钾肥用量和品种对桑叶生产及蚕茧质量的影响. 土壤学报, 2004, 41(5): 780-788
- [6] 汪自强, 董明远, 叶飞华. 不同供钾水平下春大豆的磷积累和利用. 中国油料, 1997, 19(2):38-41
- [7] 李洪喜, 焦占力, 王忠. 氮和钾肥对大豆的增产效果. 黑龙江农业科学, 2008(3): 66-67
- [8] 童贯和. 不同供钾水平对小麦旗叶光合速率日变化的影响. 植物生态学报, 2004, 28(4): 547-553
- [9] 贾娜尔·阿汗, 杨春武, 孙荣娜. 钾、钠对水稻种子萌发抑制作用的比较. 种子, 2009, 28(1): 80-83
- [10] 赵剑, 朱蔚华, 王文科. 长春花生物碱生物合成途径和相关酶及其基因调控的研究进展. 植物生理学通讯, 1999, 35(1): 60-68
- [11] 祖元刚, 罗猛, 牟方松, 付玉杰, 王俐. 长春花生物碱成分及其药理作用研究进展. 天然产物研究与开发, 2006, 18: 325-329, 294
- [12] 赵世杰, 刘华山, 董新纯. 植物生理学实验指导. 北京: 中国农业科技出版社, 1998: 155-159
- [13] 李合生, 孙群, 赵世杰. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [14] 王景艳, 刘兆普, 刘玲, 刘冲. 盐胁迫对长春花幼苗生长和生物碱含量的影响. 应用生态学报, 2008, 19(10): 2 143-2 148
- [15] 李平华, 陈敏, 王宝山. K^+ 营养对 $NaCl$ 胁迫下盐地碱蓬生长及叶片液泡膜 $V-H^+-ATPase$ 和 $V-H^+-PPase$ 活性的影响. 植物学报, 2002, 44(4): 433-440
- [16] 赵可夫, 范海, Harris PJC. 盐胁迫下外源 ABA 对玉米幼苗耐盐性的影响. 植物学报, 1995, 37(4): 295-300
- [17] 刘沛然, 武维华. 高浓度钾抑制杜氏盐藻生长的生理机制. 植物学报, 1999, 41(6): 617-623
- [18] 华春, 周泉澄, 王小平, 夏静, 陈莉. 外源 GA3 对盐胁迫下北美海蓬子种子萌发及幼苗生长的影响. 南京师范大学学报(自然科学版), 2006, 30(1): 82-87
- [19] 刘爱荣, 张远兵, 陈登科. 盐胁迫对盐芥生长和抗氧化酶活性的影响. 植物研究, 2006, 26(2): 216-221
- [20] 郑延海, 宁堂原, 贾爱君, 李增嘉. 钾营养对不同基因型小麦幼苗 $NaCl$ 胁迫的缓解作用. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(3): 381-386
- [21] Oosterhuis DM, Bednarz CW. Plant nutrition for sustainable food production and environment. Kluwer Academic Publ. Dordrecht, the Netherlands, 1997: 347-351
- [22] Lamrani Z, Elakbir AB, Ruiz JM. Influence of nitrogen, phosphorus, and potassium on pigment concentration in cucumber leaves. Commun. Soil Science. Plant Analysis, 1996, 27: 1 001-1 012
- [23] 贾洪涛, 赵可夫. 盐胁迫下 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 对碱蓬和玉米离子的吸收效应. 山东师大学报(自然科学版), 1998, 13(4): 437-440
- [24] 刘星, 赵洪光. 农业生产面原污染控制探讨. 污染防治技术, 2006, 19(1): 38-40
- [25] 阮淑明. 施肥对长春花总生物碱含量的影响. 安徽农学通报, 2006, 12(12): 65-66

Effects of Different Potash Fertilizer Uses on Growth and Alkaloid Content of Flowering *Catharanthus roseus*

SONG Shan-shan, LONG Xiao-hua, LIU Ling, LIU Zhao-pu

(Jiangsu Provincial Key Laboratory of Marine Biology, College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effects of different K fertilizer rates on the biomass, the activities of antioxidant enzymes, the MDA content, the chlorophyll content and the contents of vindoline, catharanthine, vinblastine and vincristine of flowering *Catharanthus roseus* were investigated in greenhouse. The results indicated that the KCl could promote the growth of *C. roseus* when it was 100 ~ 400 mg/kg. The activities of SOD, CAT and POD enzymes and the content of chlorophyll were gradually increased, but the MDA content was decreased with the increase of KCl concentration. The excess of K nutrition could inhibit the growth of *C. roseus* when the KCl was 800 mg/kg. The uses of 400 mg/kg KCl could significantly promote the growth and the alkaloids metabolism of flowering *C. roseus*. Also the vindoline, catharanthine, vinblastine and vincristine contents were highest when the KCl was 400 mg/kg, with 42.81, 37.82, 1.88 and 3.1 mg/g, respectively.

Key words: *Catharanthus roseus*, Flowering, K, Vindoline, Catharanthine, Vinblastine, Vincristine