



# 外源钙对甘肃贝母倒苗特性和 抗氧化酶活性的影响

王小琴<sup>1</sup>, 陈 垣<sup>1\*</sup>, 郭凤霞<sup>1,2</sup>, 郭爱峰<sup>3</sup>, 袁洪超<sup>1</sup>

(1 甘肃农业大学 甘肃省中药材规范化生产技术创新重点实验室, 甘肃省药用植物栽培育种工程研究中心, 农学院, 兰州 730070; 2 甘肃天士力中天药业有限责任公司, 甘肃省特色药用植物资源保护与利用工程实验室, 甘肃省特色药材规范化可追溯栽培工程技术研究中心, 甘肃定西 748100; 3 兰州大学, 兰州 730000)

**摘 要:**对甘肃贝母(*Fritillaria przewalskii* Maxim.)鳞茎播种后 2 年生苗喷施不同浓度  $\text{CaCl}_2$  溶液(5、10、15、20 和 25  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ),以喷施等量蒸馏水为对照(CK),通过测定倒苗率变化和倒苗期地下部分生理特性,探讨外源钙对甘肃贝母倒苗特性的影响。结果显示:(1)外源  $\text{CaCl}_2$  处理均可推迟甘肃贝母倒苗高峰期,有效延长甘肃贝母生长期,从而提高鳞茎产量;各  $\text{CaCl}_2$  浓度处理的倒苗延迟效应基本表现为  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > \text{CK}$ 。(2)不同  $\text{CaCl}_2$  溶液喷施后倒苗期较 CK 推迟效应显著,比 CK 倒苗高峰期推迟 3~7 d,并推迟 3~6 d 结束倒苗高峰,其中以喷施  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$  处理的倒苗延迟效应最佳。(3) $10 \sim 25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$  处理均可有效增强甘肃贝母倒苗期根系活力和鳞茎的抗氧化能力,其中以  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$  处理的倒苗期根系 TTC 活力最高,鳞茎 SOD、POD 和 CAT 活性最强。(4)隶属函数法综合分析结果显示,不同浓度  $\text{CaCl}_2$  处理下甘肃贝母倒苗期鳞茎抗性 & 生活力由强至弱依次为  $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > 5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} > \text{CK}$ 。研究表明, $15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{CaCl}_2$  为甘肃贝母延迟倒苗期、增强苗期鳞茎抗逆性、提高鳞茎产量的最佳处理。

**关键词:**甘肃贝母;外源钙;倒苗率;生理特性

中图分类号: Q945.79

文献标志码: A

## Effect of Exogenous $\text{Ca}^{2+}$ on Sprout Tumble Characteristics and Antioxidant Enzyme Activities of *Fritillaria przewalskii*

WANG Xiaoqin<sup>1</sup>, CHEN Yuan<sup>1\*</sup>, GUO Fengxia<sup>1,2</sup>, GUO Aifeng<sup>3</sup>, YUAN Hongchao<sup>3</sup>

(1 Gansu Provincial Key Laboratory of Good Agricultural Production for Traditional Chinese Medicines, Gansu Provincial Engineering Research Centre for Medical Plant Cultivation and Breeding, College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 2 Gansu Engineering Laboratory of Resource Reservation and Utilization for Characteristic Medical plants, Gansu Cultivated Engineering and Technology Research Center of Standardization and Traceability for Characteristic Chinese Medicine, Gansu Tasly Zhongtian Pharmaceutical Co., Ltd, Dingxi, Gansu 748100, China; 3 Lanzhou University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** In order to reveal the effect of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on the characteristics of the sprout tumble, we sprayed the plant cultivated for two years with bulbs by different concentrations of  $\text{CaCl}_2$  solution (5, 10,

收稿日期: 2017-03-08; 修改稿收到日期: 2017-09-12

基金项目: 国家自然科学基金(31360316, 31660158); 甘肃省中药材产业科技攻关项目(GYC12-06); 甘南州藏(中)药材川贝母人工种植试验研究和示范推广; 兰州市科技计划(06-02-60, 2015-3-65, 2016-2-89)

作者简介: 王小琴(1992—), 女, 硕士研究生, 主要从事中药学研究。E-mail: 1425876311@qq.com

\* 通信作者: 陈 垣, 教授, 博士导师, 主要从事药用植物资源与利用研究。E-mail: cygex1963@163.com

15, 20 and 25 mmol · L<sup>-1</sup>), using the equal distilled water as the control, then measured the changes of the rate for sprout tumble and the physiological characteristics of underground part on sprout tumble stage. The results showed that: (1) the different concentrations of exogenous Ca<sup>2+</sup> had effect on the plant sprout tumble characteristics, effectively extending the growth period of *Fritillaria przewalskii* to increase the bulb yield. The effect of the concentration of CaCl<sub>2</sub> on delaying the stage of sprout tumble was 15 mmol · L<sup>-1</sup> > 20 mmol · L<sup>-1</sup> > 25 mmol · L<sup>-1</sup> > 10 mmol · L<sup>-1</sup> > 5 mmol · L<sup>-1</sup> > CK. (2) The different concentrations of CaCl<sub>2</sub> have significantly effected phenology of sprout tumble, and the greatest effect was found in the pretreatment sprayed by 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>. Compared with the control, the phenology delayed 3~7 d at the fastigium of sprout tumble and 3~6 d to finish the fastigium of sprout tumble. (3) 10~25 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> can enhance the root TTC vigor and the activities of SOD, POD and CAT, and the bulbs have the highest levels of the root TTC vigor and activities of antioxidant enzymes by 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>. (4) The results of comprehensive analysis of membership function show that, the resistance and viability of bulbs in *F. przewalskii* at sprout tumble stage by different concentrations of CaCl<sub>2</sub> from strong to weak are 15 mmol · L<sup>-1</sup> > 20 mmol · L<sup>-1</sup> > 25 mmol · L<sup>-1</sup> > 10 mmol · L<sup>-1</sup> > 5 mmol · L<sup>-1</sup> > CK. All above suggest that 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> is the best treatment to delay phenology of sprout tumble, enhance the plant vitalities and the resistance, and increase bulbs yield.

**Key words:** *Fritillaria przewalskii*; exogenous calcium; the ratio of sprout tumble; physiological characteristics

百合科(Liliaceae)贝母属多年生草本药用植物甘肃贝母(*Fritillaria przewalskii* Maxim.)以干燥鳞茎入药,具清肺润燥、化痰止咳等功效<sup>[1]</sup>。与诸多川贝母相比,产自甘肃的甘肃贝母生物碱的主要成分贝母辛的含量最高,甘肃贝母质量优异<sup>[2]</sup>,但川贝母临床用量大及市场价格高,加之生态环境限制性,使其自然资源日趋枯竭,已被1987年国务院颁布的《野生药材资源保护管理条例》及公布的重点保护目录中列为三级保护物种<sup>[3-5]</sup>。太白贝母和瓦布贝母成熟的栽培技术成功缓解了目前川贝资源匮乏的现状<sup>[5]</sup>,但目前对甘肃贝母研究报道较少,郭凤霞等<sup>[3]</sup>和常彦丽等<sup>[6]</sup>研究探明了甘肃贝母种子灌浆和吸水发芽特性,为甘肃贝母种子繁殖提供一定技术保障。据报道,百合科贝母属植物皖贝母(*Fritillaria anhuiensis*)在栽培过程中遇到初夏高温易“倒苗”,即地上部分逐渐枯萎,鳞茎进入休眠阶段<sup>[7]</sup>,它是含有分生组织的植物体对不良环境的自然适应方式<sup>[8]</sup>。就甘肃贝母生产而言,倒苗缩短了甘肃贝母的生长期,使年生长量减少。目前甘肃贝母鳞茎高温休眠机制尚不明确,但在百合鳞茎休眠特性研究中发现,温度是鳞茎休眠的主要诱导因素<sup>[9]</sup>,抗氧化酶作为保护酶类在百合鳞茎休眠和解休眠的过程中具有重要作用<sup>[10-12]</sup>,亦有研究表明蓝莓花芽休眠进程与生理指标变化趋势密切相关<sup>[13]</sup>。

高温通过增加植物体内钙通道阻滞剂和钙调蛋白抑制剂,造成细胞膜氧化损伤,致使植株生活力降低<sup>[14]</sup>。外源Ca<sup>2+</sup>作为生物体中的第二信使<sup>[15]</sup>,可

介导植物耐热性调控<sup>[14]</sup>。高温条件可明显增加植物H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量,但CaCl<sub>2</sub>使热胁迫条件下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和O<sub>2</sub><sup>-</sup>的含量降低<sup>[16]</sup>。孙克香等<sup>[17]</sup>研究表明,外源施钙可以通过提高幼苗叶片活性氧(ROS)清除酶活性和渗透调节物质含量来减轻外界胁迫对植物的伤害。Snider等<sup>[18]</sup>通过生理角度反映了外源钙对棉花耐热性的影响。有研究表明外源Ca<sup>2+</sup>可提高盆栽甘肃贝母抗寒性<sup>[19]</sup>,但其对大田生产甘肃贝母生长发育的影响尚未见相关报道。本研究通过生理调控途径探寻外源钙对甘肃贝母倒苗特性的影响,一方面为延长甘肃贝母生长期和提高鳞茎产量奠定基础,另一方面为提高鳞茎抗逆性及其次年正常生长发育提供条件。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验区概况及试验材料

试验于甘肃省渭源县莲峰镇绽坡村康荣中药材合作社甘肃农业大学川贝母示范基地进行,试区位于北纬35°04′16.20″,东经104°18′58.17″,海拔约2 613 m,年日照时数2 312 h,年平均气温6.3℃,无霜期157 d,年平均降雨量470 mm,气候冷凉,土壤为黄绵土,前茬为黄芪,上上茬为党参。播种材料为2013年7月28日采自甘肃漳县金钟镇大庄村的野生甘肃贝母种鳞茎,经甘肃农业大学中草药栽培与鉴定实验室陈垣教授鉴定确认为甘肃贝母(*F. przewalskii*)植株。

## 1.2 试验设计

选择土壤环境均匀的试验地,于 2013 年 8 月 1 日采用顺序排列设计进行甘肃贝母鳞茎播种。首先,将试验地整平后覆网起垄,垄高 0.20 m,垄宽 1.00 m,垄间距 0.50 m,垄上按走向划分 6 个大区,大区面积 3 m<sup>2</sup> (3 m×1 m),每大区内再用细铁丝划分 3 个重复小区,小区面积 1 m<sup>2</sup> (1 m×1 m),全试验共 18 个小区。其次,选取鳞茎直径约 0.6 cm,高约 0.5 cm 且大小均一的甘肃贝母种鳞茎,分别按田间区组走向均匀撒播于各试验小区,覆土厚度 2 cm,表面再用筛网均匀撒 1 层厚 1 cm 的细锯末增温保墒。返青第 1 年不进行田间管理,尽可能减少田间人为扰动,准备用于次年喷施不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液。甘肃贝母外源钙喷施试验于 2015 年返青后 5 月 20 日进行,即在上述各区组依次对应分别随机喷施浓度为 5、10、15、20 和 25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 溶液 100 mL,以喷施等量蒸馏水为对照。为保障喷施均匀,按每小区垂直喷施,并用塑料板四周遮挡,喷施后尽可能减少田间人为扰动,让其自然越冬。

## 1.3 指标测定

**1.3.1 倒苗率** 2016 年甘肃贝母返青后,用白色线绳在每小区中央划定 0.4 m×0.4 m 小样方,5 月 14 日(初现倒苗株第 4 天)上午 9:00 开始统计各重复小区样方内倒苗株数和大气温度,此后每隔 8 d 统计 1 次至倒苗期结束,根据调查数据计算倒苗率。

倒苗率(%)=(总株数-未枯萎株)/总株数×%

**1.3.2 生理指标** 于倒苗期最后阶段,随机采取样株,低温带回实验室,选取同等大小鳞茎测定其各项生理指标。根系活力按照郭凤霞<sup>[20]</sup>和 Ishikawa E 等<sup>[21]</sup>的方法测定。酶促抗氧化系统活性按照郭凤霞<sup>[20]</sup>的方法,采用比色法紫外分光光度计(UV7501/VIS, Spectrometer)测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性。其中,SOD 活性以每分钟反应抑制 NBT 光化还原 50% 定义为 1 个酶活性单位(U);POD 采用愈创木酚氧化法,以在 470 nm 处吸光度每分钟增加 0.01 为 1 个酶活性单位(U);CAT 以每分钟吸光度减少 0.01 为 1 个酶活性单位。

## 1.4 数据统计分析

试验数据采用 Excel 2003 软件进行绘图,采用 SPSS 11.5 进行统计分析。按照郭凤霞等<sup>[3]</sup>利用 Logistic 曲线方程  $y=K/(1+e^{A+Bx})$  可直线化作图法估计各处理倒苗参数,即令  $y'=\ln[(K-\bar{y})/\bar{y}]$ ,  $K=[\bar{y}_2^2(\bar{y}_1+\bar{y}_3)-2\bar{y}_1\bar{y}_2\bar{y}_3]/(\bar{y}_2^2-\bar{y}_1\bar{y}_3)$ , 将  $y=K$

$/(1+e^{A+Bx})$  转换为直线方程  $y'=A+Bx$  ( $y$  为样方内平均倒苗率; $x$  为倒苗天数,  $x\in[4,36]$ ;  $k$  为样方倒苗率极限值,  $A$  回归方程截距,  $B$  为回归方程系数。 $\bar{y}_1$ 、 $\bar{y}_2$ 、 $\bar{y}_3$  分别为等间隔倒苗天数对应的样方平均倒苗率),图中数据为平均数±标准误。

## 1.5 生理特性综合评价

采用模糊数学的隶属(反隶属)函数法计算每种指标隶属值的平均值,对不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液处理后甘肃贝母的抗氧化特性及根系活力进行综合分析<sup>[22]</sup>,进一步明确各处理对倒苗的耐受性差异,同时印证隶属函数法评价甘肃贝母抗逆性的可行性。具体计算公式如下。

(1)如果测定指标与植物抗性呈正相关,则:

$$X(u)=(X-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min});$$

(2)如果测定指标与植物抗性呈负相关,则:

$$X(u)=1-(X-X_{\min})/(X_{\max}-X_{\min});$$

式中: $X$  为某一指标测定值,  $X_{\max}$ 、 $X_{\min}$  分别为所有处理中该指标的最大值和最小值。各项指标隶属值  $X(u)$  的平均值作为各处理下甘肃贝母倒苗期地下部分生理特性的综合比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 Ca<sup>2+</sup> 对甘肃贝母倒苗率的影响

图 1 显示,各浓度 CaCl<sub>2</sub> 处理甘肃贝母倒苗率均随时间延长而呈持续增大的趋势,但不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液处理下甘肃贝母各阶段倒苗率增长程度具有一定差异。其中,在倒苗初期(5 月 14 日,倒苗开始第 4 天),甘肃贝母倒苗率在 CK 条件下(喷施 0 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub>)最高(20.62%),5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理倒苗率分别比 CK 降低了 6.73%、9.83%、14.02%、14.89% 和 7.92%,且除 5 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理外其他处理均达到显著水平( $P<0.05$ )。在倒苗第 12 天(5 月 22 日),各处理甘肃贝母倒苗率均比倒苗开始第 4 天大幅度增加,CK 和 5~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理的增幅分别为 40.42%、40.26%、33.98%、27.05%、32.13% 和 28.84%;此时各处理倒苗率随着 CaCl<sub>2</sub> 浓度的增加均呈先降低后升高的变化趋势,但仍不同程度地低于对照,且 15~25 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理的降幅达到显著水平,并以 15 mmol·L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理最低。在倒苗期第 20 天至 28 天(5 月 30 日~6 月 7 日),各处理倒苗率相比第 12 天仍有较大幅度提高,其随钙浓度增加的变化趋势与第 12 天相似,此阶段对照倒苗率增长幅度最小,但倒苗率最大(87%),15 mmol·L<sup>-1</sup>

CaCl<sub>2</sub> 处理甘肃贝母倒苗率增长幅度变大,但倒苗率仍最小(71%)。此后,各处理甘肃贝母倒苗率均缓慢升高,直至倒苗完全(倒苗率为 100%)。以上结果说明适宜浓度外源 CaCl<sub>2</sub> 处理可推迟甘肃贝母倒苗高峰期,有效延长甘肃贝母生长期,从而提高鳞茎产量;相比较而言,各 CaCl<sub>2</sub> 浓度处理的倒苗延迟效应基本表现为 15 mmol · L<sup>-1</sup> > 20 mmol · L<sup>-1</sup> > 25 mmol · L<sup>-1</sup> > 10 mmol · L<sup>-1</sup> > 5 mmol · L<sup>-1</sup> > CK。

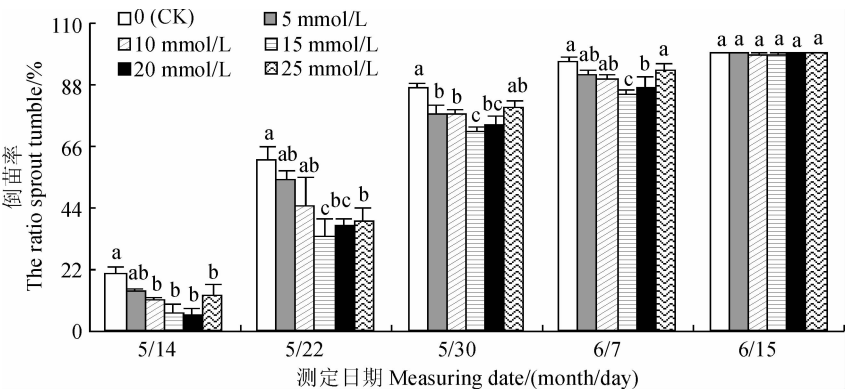
同时,对不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 喷施后样方内倒苗率与倒苗天数进行 Logistic 方程直线化拟合(图 2),并进行 Logistic 方程的相关参数估计(表 1);图 2 中直线表示倒苗天数与样方倒苗率转换值间的线性关系,直线与 x 轴交点即为倒苗最快时期。结果表明,外源喷施 5~25 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 均不同程度延迟了甘肃贝母夏季倒苗高峰期出现的时间,推迟效应又因喷施浓度的不同存在显著差异( $P < 0.05$ );各浓度 CaCl<sub>2</sub> 处理甘肃贝母进入倒苗高峰的时间较 CK 延迟了 3~7 d,其倒苗最快时期较对照延迟了 3~6 d,推迟 3~6 d 结束倒苗高峰,第 33~36 天各处理甘肃贝母倒苗陆续结束,其中以喷施 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理(C<sub>4</sub>)甘肃贝母倒苗延迟效应最佳(图 2 和表 1)。这进一步说明适宜浓度外源钙可适当延迟甘肃贝母倒苗期,延长其生长期,这与实际倒苗动态变化趋势(图 1)基本一致。

2.2 外源 Ca<sup>2+</sup> 对甘肃贝母倒苗期相关生理指标的影响

2.2.1 根系活力 如图 3,A 所示,不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液对倒苗期甘肃贝母根系 TTC 还原强度(根系活力)具有显著影响( $P < 0.05$ );随喷施钙浓度的提

高,甘肃贝母根系活力整体上呈先增大后降低的趋势。其中,喷施 CaCl<sub>2</sub> 浓度为 5 mmol · L<sup>-1</sup> 时,倒苗期甘肃贝母根系活力较对照有所降低,但二者差异未达到显著水平( $P > 0.05$ );当喷施 10、15、20 和 25 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 溶液后,甘肃贝母根系活力较对照分别增强了 8.4%、59.2%、47.5% 和 16.4%,15 和 20 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理增幅达到显著水平( $P < 0.05$ ),并以 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理甘肃贝母倒苗期根系活力最强。各 CaCl<sub>2</sub> 浓度处理的倒苗期根系活力大小为 15 mmol · L<sup>-1</sup> > 20 mmol · L<sup>-1</sup> > 25 mmol · L<sup>-1</sup> > 10 mmol · L<sup>-1</sup> > CK > 5 mmol · L<sup>-1</sup>。

2.2.2 鳞茎酶促抗氧化系统活性 不同浓度外源 CaCl<sub>2</sub> 处理后甘肃贝母倒苗期鳞茎 SOD、POD 和 CAT 活性总体随 CaCl<sub>2</sub> 浓度增大呈先增强后减弱的变化趋势,且各浓度处理均比相应对照有不同程度提高,但浓度处理增幅各有差异(图 3,C、D)。其中,甘肃贝母鳞茎 SOD 活性在 15 mmol · L<sup>-1</sup> Ca<sup>2+</sup> 处理下最强,较对照显著提高了 104.9% ( $P < 0.05$ );当 Ca<sup>2+</sup> 浓度继续升高时,甘肃贝母鳞茎 SOD 活性较 15 mmol · L<sup>-1</sup> 处理稍有所下降,但降幅不显著(图 3,B)。同时,与 CK 相比,甘肃贝母倒苗期鳞茎 POD 活性在喷施不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 后分别增强了 24.5%、46.6%、83.2%、86.5% 和 53.8%,且 15 和 20 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理增幅达到显著水平( $P < 0.05$ ),并以 20 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理的 POD 活性最强,当 CaCl<sub>2</sub> 浓度大于 20 mmol · L<sup>-1</sup> 时,POD 活性呈下降趋势并恢复至与对照相近水平(图 3,C)。另外,甘肃贝母倒苗期鳞茎 CAT 活性在 5 和 25 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理下与对照差异不显著,在其



小写字母表示处理间 0.05 水平差异显示性,下同

图 1 不同浓度外源 CaCl<sub>2</sub> 处理对甘肃贝母不同时期倒苗率的影响

The different normal letters mean significant difference at 0.05 level; The same as below

Fig. 1 Effects of different concentrations of exogenous Ca<sup>2+</sup> on the sprout tumble of *F. przewalskii* in different growth periods

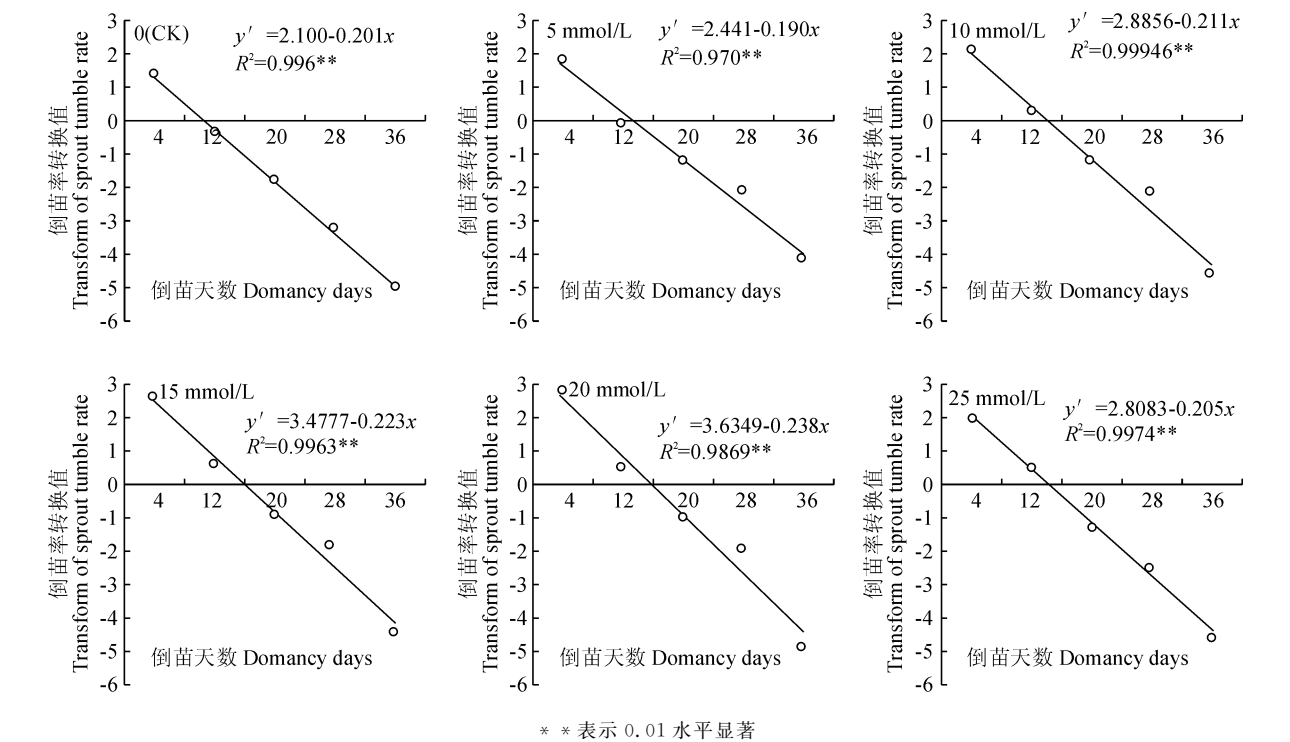


图 2 不同浓度 CaCl<sub>2</sub> 喷施后样方内倒苗率与倒苗持续时间配合 Logistic 方程直线化拟合结果

Fig. 2 Linear result of the Logistic Equation fitting the ratio of sprout tumble in the samples with duration for *F. przewalskii* plants sprayed different concentrations of CaCl<sub>2</sub>

表 1 甘肃贝母倒苗过程与天数拟合 Logistic 方程的参数估计

Table 1 Parameter estimation based on Logistic equation fitting the ratio of sprout tumble of <i>F. przewalskii</i> plants							
参数 Parameter		CaCl <sub>2</sub> 浓度 CaCl <sub>2</sub> concentration/(mmol • L <sup>-1</sup> )					
		0(CK)	5	10	15	20	25
高峰起始时间	Maximum starting time $G_{t_1}/d$	3	6	7	10	10	7
高峰结束时间	Maximum finishing time $G_{t_2}/d$	16	19	20	22	21	20
终期	Ferminating time $G_{t_3}/d$	33	37	36	36	34	36
最快速率到达时间	The time of maximum rate $G_{t_M}/d$	10	13	14	16	15	14
最大速率	Maximum rate $GV_M/(plants \cdot d^{-1})$	9.637	7.856	7.319	6.408	6.619	7.383
	$K$	100.621	101.101	100.310	100.054	100.273	100.973
Logistic 方程 $y=K/(1+e^{A+Bx})$ 参数 The parameters of Logistic equation $y=K/(1+e^{A+Bx})$	$A$	2.100	2.441	2.886	3.478	3.635	2.808
	$B$	-0.201	-0.190	-0.211	-0.223	-0.239	-0.205
	$R^2$	0.996 **	0.970 **	0.994 **	0.996 **	0.987 **	0.998 **

余浓度外源 CaCl<sub>2</sub> 处理下均显著高于相应对照,并以 15 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理的 CAT 活性最强,它较对照显著增强了 72.1%,而 20 和 25 mmol · L<sup>-1</sup> CaCl<sub>2</sub> 处理较 15 mmol · L<sup>-1</sup> 浓度处理分别降低了 13.7%和 34.1%(图 3,D)。以上结果说明适宜浓度外源 CaCl<sub>2</sub> 可有效增强倒苗期甘肃贝母鳞茎的抗氧化能力,从而增强植株的抗逆性。

### 2.3 各浓度 Ca<sup>2+</sup> 处理下甘肃贝母倒苗期地下部分抗逆性的综合评价

应用隶属函数法从生理角度对不同浓度 Ca<sup>2+</sup> 处理下甘肃贝母倒苗期鳞茎生理特性的综合分析表明(表 2),0、5、10、15、20 和 25 mmol · L<sup>-1</sup> 浓度处理下甘肃贝母平均隶属值分别为 0.275、0.325、0.454、0.738、0.694 和 0.497。平均隶属度综合反映

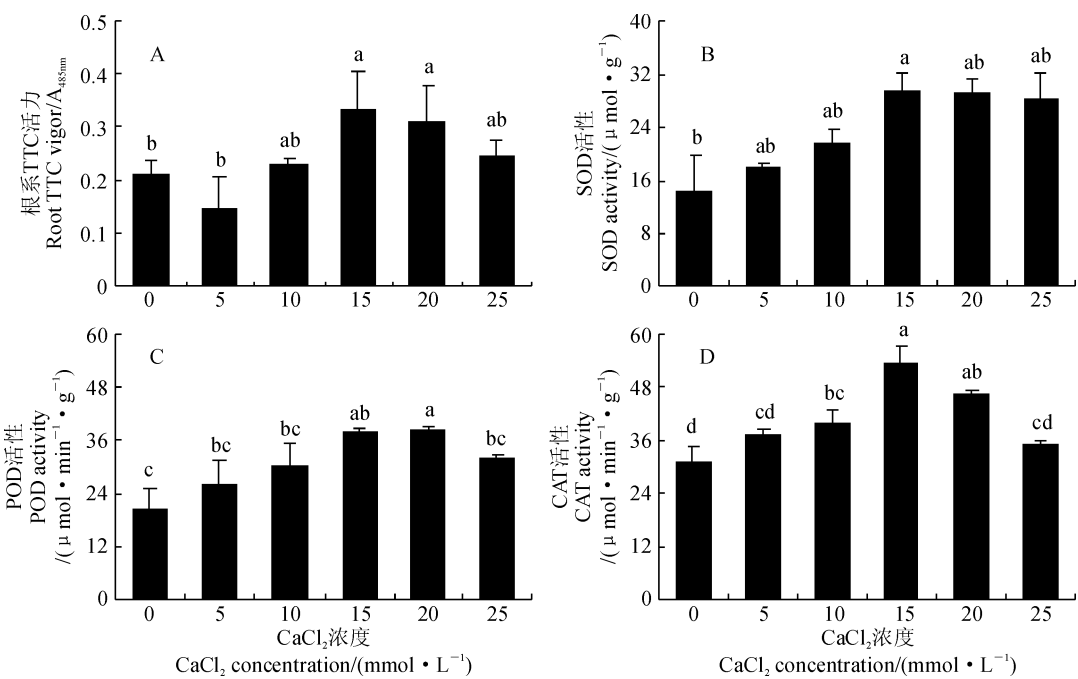


图 3 不同浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  处理下倒苗期甘肃贝母根系活力和鳞茎 SOD、POD、CAT 活性的变化

Fig. 3 The root TTC vigor and SOD, POD, CAT activities in bulbs of *F. przewalskii* under different concentrations of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on the growth stages of sprout tumble

表 2 不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下甘肃贝母各指标隶属函数值

Table 2 Subordinate function values of *F. przewalskii* sprayed different concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$

生理指标 Physiological indicator	CaCl <sub>2</sub> 浓度 CaCl <sub>2</sub> concentration/(mmol · L <sup>-1</sup> )					
	0(CK)	5	10	15	20	25
根系活力 Root TTC vigor	0.458	0.262	0.511	0.834	0.860	0.562
SOD 活性 SOD activity	0.337	0.449	0.545	0.782	0.774	0.749
POD 活性 POD activity	0.138	0.253	0.356	0.527	0.543	0.390
CAT 活性 CAT activity	0.168	0.337	0.403	0.809	0.599	0.287
平均隶属值 Average degree of membership	0.275	0.325	0.454	0.738	0.694	0.497

了不同浓度  $\text{Ca}^{2+}$  处理下甘肃贝母倒苗期鳞茎抗逆性及生活力的强弱,平均隶属值越大则表明甘肃贝母地下部分抗性 & 生活力越强,因此各浓度  $\text{CaCl}_2$  处理下甘肃贝母倒苗期鳞茎抗性及生活力由强至弱依次为:15 mmol · L<sup>-1</sup> > 20 mmol · L<sup>-1</sup> > 25 mmol · L<sup>-1</sup> > 10 mmol · L<sup>-1</sup> > 5 mmol · L<sup>-1</sup> > CK。这与外源钙对甘肃贝母倒苗延迟效应调查结果完全一致,说明可以应用隶属函数法从生理角度综合评价甘肃贝母倒苗期抗逆性,也进一步证明甘肃贝母倒苗率与其酶促抗氧化系统活性及根系活力密切相关。

3 讨 论

抗逆性强的生物体能够表达强大的抗氧化系统,SOD 主要功能是清除 O<sub>2</sub><sup>·-</sup>,POD 和 CAT 具有

分解 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的作用,3 种抗氧化酶协同及时清除多余的自由基,维持生物膜系统的稳态性,促进植物生长发育<sup>[23-26]</sup>。薛建平等<sup>[27]</sup>对高温胁迫下半夏倒苗前后保护酶活力的变化研究发现,半夏开始倒苗后,植株各部位抗氧化酶活性下降,质膜过氧化程度加剧。李灿雯等<sup>[28]</sup>研究表明一定浓度  $\text{CaCl}_2$  处理可推迟半夏倒苗期,延长半夏的生长期。李同根等<sup>[29]</sup>研究表明浓度 20 mmol · L<sup>-1</sup>  $\text{CaCl}_2$  对提高皖贝母抵抗高温胁迫的作用最强。诸多研究显示外源钙通过增强植物抗氧化酶系统和降低膜脂过氧化程度等生理调控方法来增强植株根系活力和抗逆性<sup>[30-32]</sup>。本试验结果同样表明,在试验点初夏温度达 25 ℃ 以上后,未喷施  $\text{CaCl}_2$  溶液甘肃贝母植株最先感知温度,叶片出现落黄现象,试验区气温多变;随每次高温天气的峰值出现,不同浓度  $\text{CaCl}_2$  溶液处理后的

甘肃贝母随之进入倒苗阶段,喷施  $\text{CaCl}_2$  均不同程度增强甘肃贝母鳞茎抗氧化酶活性和根系活力,并延迟倒苗期,即随  $\text{Ca}^{2+}$  浓度增大,甘肃贝母倒苗期鳞茎 SOD、POD 和 CAT 活性以及根系 TTC 活力先增强后减弱,并以浓度为  $15\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$  处理效应最佳,较对照延迟 7 d 进入倒苗高峰期,为增强甘肃贝母鳞茎抗逆性和提高产量奠定了生物量

基础。

综上所述,适宜浓度外源  $\text{Ca}^{2+}$  通过诱导增强甘肃贝母倒苗期鳞茎抗氧化酶系统和根系活力,从生理角度提高了甘肃贝母对高温环境的应激性,缓解了外界不适环境对甘肃贝母器官的伤害,增强植株生命活动强度,从而相对延长甘肃贝母生长期。

**致谢:**渭源县康荣中药材科技有限公司李海东提供合作,甘肃农业大学硕士生周传猛、金彦博、郭一青、梁伟、杨慧珍,本科生王雪琴、何炳江、王军、李永明,陇西中天药业有限责任公司焦彦斌、白德涛、郭志军和任斌等参与田间试验,在此一并致谢。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 2015 版(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015:36.

[2] 余 华,姜 艳,李 萍,等. 中药川贝母定量分析方法研究[J]. 中国中药杂志,2005,**30**(8):572-575.  
YU H, JIANG Y, LI P, *et al.* Study on analytical method for alkaloids in bulbus *Fritillariae cirrhosae*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2005, **30**(8):572-575.

[3] 郭凤霞,常彦莉,林玉红,等. 甘肃贝母种子灌浆特性研究[J]. 草业学报,2010,**19**(2):97-102.  
GUO F X, CHANG Y L, LIN Y H, *et al.* Studies on grain filling characteristics of *Fritillaria przewalskii*. [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, **19**(2):97-102.

[4] 刘 辉,陈士林,姚 辉,等. 川贝母的资源学研究进展[J]. 中国中药杂志,2008,**33**(14):1 645-1 648.  
LIU H, CHEN S L, YAO H, *et al.* Research progress on resources in Bulbus *Fritillariae Cirrhosae*. [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2008, **33**(14):1 645-1648.

[5] 郭梦月. 川贝母的品种变迁及人工资源研究现状[C]//中国商品学会. 第四届中国中药商品学术大会暨中药鉴定学科教学改革与教材建设研讨会论文集,2015:5.

[6] 常彦莉,陈 垣,郭凤霞,等. 甘肃贝母种子吸水及发芽特性研究[J]. 草业学报,2010,**19**(4):41-46.  
CHANG Y L, CHEN Y, GUO F X, *et al.* A study on soaking and germination characteristics of *Fritillaria przewalskii* seeds. [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, **19**(4):41-46.

[7] 李同根,王康才,罗春红,等. 水杨酸对高温胁迫下皖贝母生理生化特性的影响及其时效性研究[J]. 西北植物学报,2012,**32**(6):1 179-1 184.  
LI T G, WANG K C, LUO C H, *et al.* Physiological effects and chronergy for exogenous salicylic acid on *Fritillaria anhuiensis* seedling under high temperature stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2012, **32**(6):1 179-1 184.

[8] ROHDE A, BHALERAO R P. Plant dormancy in the perennial context [J]. *Trends in plant science*, 2007, **12**(5): 217-223.

[9] AGUETTAZ P, PAFFEN A, DELVALLEE I, *et al.* The development of dormancy in bulblets of *Lilium speciosum* generated *in vitro* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1990, **22**(3): 167-172.

[10] 乔永旭,张永平,陈 超,等. 百合鳞茎低温解除休眠与抗氧化系统酶的关系[J]. 西南农业学报,2010,**23**(1):161-163.  
QIAO Y X, ZHANG Y P, CHENC, *et al.* Relationship between breaking of dormancy and antioxidative systems enzymes in low temperature treatment in bulbs of *Oriental Lily* ‘Sorbonne’ [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2010, **23**(1):161-163.

[11] 刘 芳,李丹丹,廉 华,等. 细叶百合冷藏过程中鳞茎保护酶活性与休眠解除的关系[J]. 草业学报,2015,**24**(12): 180-187.  
LIU F, LI D D, LIAN H, *et al.* Relationship between dormancy breaking and protective enzymes in refrigerated *Lilium pumilum* bulbs [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2015, **24**(12):180-187.

[12] 刘 芳,陈业雯,李丹丹,等. 细叶百合低温解除休眠过程中鳞茎内糖分及相关酶的研究[J]. 草业学报,2016,**25**(5): 60-68.  
LIU F, CHEN Y W, LI D D, *et al.* Changes in carbohydrate status and related enzymes of *Lilium pumilum* bulbs during breaking dormancy under refrigerated conditions [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, **25**(5):60-68.

[13] 李 波,夏秀英,刘 思. 蓝莓花芽休眠与解除过程中生理生化变化及 DNA 甲基化差异分析[J]. 植物生理学报,2015,**51**(7):1 133-1 141.  
LI B, XIA X Y, LIU S. Changes in physiological and biochemical properties and variation in DNA methylation patterns during dormancy and dormancy release in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, **51**(7):1 133-1 141.

[14] LARKINDALE J, KNIGHT M R. Protection against heat stress-induced oxidative damage in *Arabidopsis* involves calcium, abscisic acid, ethylene, and salicylic acid [J]. *Plant*

Physiology, 2002, **128**(2):682-695.

[15] ANIL V S, RAO K S. Calcium-mediated signaling during *Santalwood* somatic embryogenesis. Role for exogenous calcium as second messenger[J]. *Plant Physiology*, 2000, **123**(4): 1 301-1 312.

[16] TAN W, WEI M Q, BRESTIC M, *et al.* Photosynthesis is improved by exogenous calcium in heat-stressed tobacco plants[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2011, **168**(17): 2 063-2 071.

[17] 孙克香, 杨 莎, 郭 峰, 等. 高温强光胁迫下外源钙对甜椒 (*Capsicum frutescens* L.) 幼苗光合生理特性的影响[J]. 植物生理学报, 2015, **51**(3):280-286.

SUN K X, YANG S, GUO F, *et al.* Effects of exogenous calcium on photosynthetic characteristics of sweet pepper (*Capsicum frutescens* L.) Seedlings[J]. *Plant Physiology Journal*, 2015, **51**(3):280-286.

[18] SNIDER J L, OSTERHUIS D M, KAWAKAMI E M. Mechanisms of reproductive thermotolerance in *Gossypium hirsutum*: the effect of genotype and exogenous calcium application[J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2011, **197**(3): 228-236.

[19] 杨慧珍. 外源  $\text{Ca}^{2+}$  对甘肃贝母抗寒性的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.

[20] 郭凤霞. 高山冰缘植物对速冷冻响应机制的研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006.

[21] ISHIKAWA E, SEOUNG K B, MIYAWAKI O, *et al.* Freezing injury of cultured rice cells analyzed by dielectric measurement[J]. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1997, **83**(3): 222-226.

[22] 王 勇, 韩蕊莲, 梁宗锁. 水分胁迫对 4 种菊科蒿属植物抗氧化特性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, **38**(10):178-186.

WANG Y, HAN R L, LIANG Z S. Anti-oxidative responses to soil water stress for four *Artemisia* species[J]. *Journal of Northwest Agriculture and Forestry University*, 2010, **38**(10):178-186.

[23] GUO F X, ZHANG M X, CHEN Y, *et al.* Relation of several antioxidant enzymes to rapid freezing resistance in suspension cultured cells from alpine *Chorispora bungeana* [J]. *Cryobiology*, 2006, **52**(2): 241-250.

[24] GUO F X, CHEN Y, LI X R, *et al.* Enhancement of low-temperature tolerance in watermelon (*Citrullus lanatus*) seedlings by cool-hardening germination [J]. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 2007, **47**(6): 749-754.

[25] DAT J, VANDENABEELE S, VRANOVA E, *et al.* Dual action of the active oxygen species during plant stress responses[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2000, **57**(5): 779-795.

[26] PANDEY S, TIWARI S B, UPADHYAYA K C, *et al.* Calcium signaling: linking environmental signals to cellular functions[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2000, **19**(4): 291-318.

[27] 薛建平, 丁 勇, 张爱民, 等. 高温胁迫下半夏倒苗前后保护酶活力的变化[J]. 中国中药杂志, 2004, **29**(7):641-643.

XUE J P, DING Y, ZHANG A M, *et al.* The change of activity of protective enzyme around sprout tumble of *Pinellia ternate* under high temperature stress[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2004, **29**(7):641-643.

[28] 李灿雯, 王康才, 罗庆云, 等. 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[J]. 中国中药杂志, 2012, **37**(19):2 875-2 878.

LI C W, WANG K C, LUO Q Y, *et al.* Effect of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on protective infection of *Pinellia ternata* and accumulation of major components under high temperature stress[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, **37**(19): 2 875-2 878.

[29] 李同根, 王康才, 罗庆云, 等.  $\text{Ca}^{2+}$  对皖贝母高温胁迫下抗逆生理指标及光合作用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, **18**(3):765-770.

LI T G, WANG K C, LUO Q Y, *et al.* Effects of exogenous  $\text{Ca}^{2+}$  on physiological and photosynthesis of *Fritillaria anhuiensis* under high temperature stress[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, **18**(3):765-770.

[30] FU X, CHANG J, AN L, *et al.* Association of the cold-hardiness of *Chorispora bungeana* with the distribution and accumulation of calcium in the cells and tissues[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2006, **55**(3): 282-293.

[31] RAHMAN A, MOSTOFA M G, NAHAR K, *et al.* Exogenous calcium alleviates cadmium-induced oxidative stress in rice (*Oryza sativa* L.) seedlings by regulating the antioxidant defense and glyoxalase systems[J]. *Brazilian Journal of Botany*, 2016, **39**(2): 393-407.

[32] 高晓倩. 钙对夜间低温胁迫下番茄幼苗保护酶活性及超氧阴离子产生速率的影响[C]//中国园艺学会、中国工程院农业学部. 中国园艺学会 2010 年学术年会论文摘要集, 2010:1.

(编辑: 裴阿卫)