

刈割对栽培长春花(*Catharanthus roseus*) 生活史型转变的影响

唐中华,郭晓瑞,张学科,高 扬,祖元刚*,杨 蕾,杨逢建,张衷华

(东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室,哈尔滨 150040)

摘要:为了提高栽培长春花(*Catharanthus roseus*)的生物碱产量,应用植物生活史型的理论和方法,研究了刈割对栽培长春花生活史型转变及其生物碱代谢的影响。运用主成分分析法(Principal Component Analysis, PCA)对刈割后的长春花后生活史型变化进行定量和定性划分,发现在对照栽培环境下生长的长春花处于 DE 生境,定性划分结果为 SV 生活史型,定量划分结果为 $V_{0.3638} S_{0.6174} C_{0.0187}$,属于 SV 型。刈割使长春花的生活史型转变为 $V_{0.2847} S_{0.6684} C_{0.0469}$,属于 SC 型。同时,对两种生活史型的长春花中长春碱及其前体文朵灵和长春质碱的含量进行了检测分析,发现刈割后的 SC 型长春花不同叶位叶片中的生物碱含量均显著提高($p < 0.05$),可以为提高栽培长春花生物碱含量提供科学指导,也进一步验证了生活史型理论。

关键词:长春花;生活史型;刈割;生物碱

文章编号:1000-0933(2006)12-4045-05 **中图分类号:**Q143,Q945.79 **文献标识码:**A

The effects of harvest on transformation of plant life cycle forms of *Catharanthus roseus*

TANG Zhong-Hua, GUO Xiao-Rui, ZHANG Xue-Ke, GAO Yang, ZU Yuan-Gang*, YANG Lei, YANG Feng-Jian, ZHANG Zhong-Hua (Key Laboratory of Forest Plant Ecology, the Ministry of Education of China, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China). Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4045 ~ 4049.

Abstract: *Catharanthus roseus* belongs to perennial herbaceous plant and is one kind of subshrub of the Catharanthus in Apocynaceae. There have been more than 100 kinds of alkaloids found in *C. roseus*, including vindoline, catharanthine and vinblastine. Due to the anti-cancer activity of these alkaloids, this plant has been widely cultivated around the world for the production of vinblastine. How to regulate environmental factors to improve alkaloid contents is the focus of cultivation of *C. roseus*. During whole the cycle of plants, the limited resource will be trade-off and allocated among vegetative, sexual and asexual reproductions, resulting in different life cycle forms, in order to obtain the most efficiency of survive. Primary and secondary metabolisms displayed different characteristics accordingly. The effects of partially harvesting on transition of plant life cycle forms of *C. roseus* and its alkaloid variations according to the theory of plant life cycle form were investigated in order to improve vinblastine and other alkaloid productions. The qualitative and quantitative classification results using the method of primary component analysis (PCA) of harvested *C. roseus* seedlings revealed that controlled surroundings were suitable to growth and belonged to excellent habitat (E) of *C. roseus* with the form of $V_{0.2847} S_{0.6684} C_{0.0469}$, called as SV form. Partially harvesting of seedlings was observed to change the life cycle forms to $V_{0.2847} S_{0.6684} C_{0.0469}$, belonging to SC form. Coordinated alkaloid contents were investigated and the results showed that vindoline, catharanthine and vinblastine contents was elevated significantly ($p <$

基金项目:国家教育部重点资助项目(104191)

收稿日期:2006-01-18; **修订日期:**2006-10-15

作者简介:唐中华(1977~),男,江苏丹阳县人,博士,主要从事植物生理生态学研究。

*通讯作者 Corresponding author. E-mail: zygnrl@vip.hl.cn

Foundation item: This work was financially supported by the Key Project of Chinese Ministry of Education (No. 104191)

Received date: 2006-01-18; **Accepted date:** 2006-10-15

Biography: TANG Zhong-Hua, Ph. D., mainly engaged in plant physiological ecology.

0.05) by treatment. These results showed that partially harvest exhibited marked effects on plant life cycle forms and alkaloid metabolisms.

Key words: *Catharanthus roseus*; life cycle form; harvest; alkaloid

长春花为夹竹桃科长春花属植物,由于含有的长春碱、长春新碱等是重要的抗癌原料药,目前在世界上有广泛的栽培^[1~3]。长春碱及其前体化合物属于吲哚类生物碱^[4],是植物在长期的生态环境适应过程中为对应不良环境和抵御外来攻击而形成的一类次生代谢产物^[5],它的含量水平与环境因子密切相关^[6]。研究表明,植物受诸如啃食、切割等机械损伤时能引起生物碱的积累。食草动物对烟草叶的啃食能诱导烟碱在体内的大量合成和积累,体内的浓度上升了 2~10 倍^[7]。颠茄的叶片受到机械伤害后,生物碱托品烷提高了 1.5 倍,羽扇豆受到机械损伤时,喹诺里嗪含量提高了 1.5~4 倍^[8,9]。

植物在整个生活史过程中,由于生态异质性的存在,有限的能量和代谢物质在营养生长 (Vegetative growth, V)、有性生殖 (Sexual reproduction, S) 及无性生殖 (Clone reproduction, C) 上进行合理分配,形成一定的能量分配格局,即植物生活史型 $V_xS_yC_z$,以取得最大的生存和繁殖效率^[10,11]。不同生活史型在体性状、生理代谢和生物大分子 3 个不同层次都具有显著的差异。将植物个体性状划分为营养生长、有性生殖和无性生殖三大类,分别选择 5 个参数,如营养生长选择株高、叶片大小,无性繁殖选择基部分枝数、节间长等指标,通过主成分

分析法 (Principal component analysis, PCA) 对数据进行降维处理,最终得到能量在这 3 类表型上的分配比例,将植物生活史类型划分为 V 型、S 型和 C 型 3 种基本类型^[12,13]。同时,植物在不同生活史型形成过程中还具有一定的生理代谢特点,如 C 生活史型趋向于积累较高含量的次生代谢物质,以抵御不良环境^[13]。

通过人为干扰的方式改变植物生活史型,改变生理代谢方向对于指导植物定向培育具有重要意义。长春花萌发 90~180d 后可被整株刈割采收,作为生产长春碱的原料。长春碱在天然长春花中含量很低,本研究以栽培长春花为研究对象,采取植物顶端部分刈割采收的方式,研究由此引起的机械损伤对长春花生活史型及其生物碱代谢的影响,为长春花的高产栽培提供理论指导,提高长春花的利用效率。

1 研究区域状况

研究地点位于海南省东北部的文昌市,地理位置东经 110°28'~111°03',北纬 19°20'~20°10',海拔约为 42.55m,具有热带和亚热带气候特点,属热带季风岛屿型气候。年平均温度 23.9℃,常年降雨量 1721.6mm,平均 1529.8~1948.6mm,适宜长春花生长。

2 研究材料与方法

2.1 材料

在苗床上萌发 45~50d 后的长春花幼苗移栽到文昌的长春花培育基地,生长 50~60d 左右,选择 20 株长春花,对植株枝叶的上部 1/2 进行刈割采收。在刈割后 50d 左右,对长春花进行各项形态学指标进行测量,进行生活史型分析,并从下到上选取不同部位的叶片重复 5 次进行生物碱含量对比分析。

2.2 长春碱、长春质碱、文多灵的测定方法

取长春花叶片,60℃ 烘干后研磨,取 0.3g 于 10ml 离心管中,加 8ml 甲醇离心 (1000r/min) 10min,取上清液浓缩至 1ml,甲醇定量复溶, HPLC 检测^[14]。

2.3 主成分分析法

分别选取营养生长、有性繁殖和无性繁殖的 5 个代表性指标,通过主成分分析将这 3 类指标进行降维处

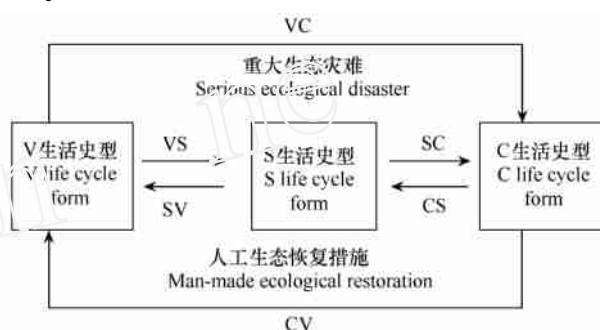


图1 植物生活史型相互转变模式图

Fig. 1 Model of transformation process between plant life cycle forms

理,获得不同类生长生殖方式的得分情况^[15],可以把具有相互关联的性状,归结为少数几个相互独立的综合性状,使问题简单化,便于抓住研究对象的主要方面^[16]。

3 结果与分析

3.1 长春花生活史型的定性分析

栽培生境的长春花处于耕地条件下,表面覆膜措施增加了该生境的保水肥能力,可利用资源相对较丰富,有利于长春花的生长,使其处于最适宜生态幅,生境资源状况和干扰程度分析结果表明该生境为 DE(E 生境, excellent habitat 处于最适的生态幅内,选择压力最低,适合度最大。D 生境, disturbed habitat , 处于适宜生态幅,但同时受到中度干扰)生境。该生境条件中的长春花的营养体较为发达,有性繁殖活跃,无性生长受到抑制,多数长春花属于 SV 型。

3.2 长春花生活史型的定量分析

3.2.1 数据准备 以覆膜栽培地培养地为对象,按营养生长、无性生殖和有性生殖过程将长春花形态性状分为 3 类,分别测定其数量特征如植株高度、基径、节间长等 15 个主要数量指标,结果见表 1。

表 1 不同类型长春花形态性状参数
Table 1 Measure values of morphological characteristics of different types of *Catharanthus roseus*

变量 Var.	性状 Morphological characteristics	未采收的植株 Controlled individuals		采收后的植株 Harvested individuals	
		平均数 Mean	标准差 StD.	平均值 Mean	标准差 StD.
X1	株高 Individual high(cm)	62.310	12.854	62.900	0.556
X2	基径 Diameter(mm)	0.997	0.049	0.957	0.034
X3	叶柄长 Leafstalk length(cm)	0.763	0.067	0.790	0.145
X4	分枝数 Branch quantity(ind.)	34.664	17.474	20.000	2.000
X5	基部分枝到地面的距离 Distance from basal branch to ground(cm)	14.133	4.788	1.800	0.100
X6	花数 Flower quantity(ind.)	12.333	2.516	13.333	3.055
X7	单株花枝率 Flower branch ratio(%)	3.100	0.300	0.647	0.085
X8	果实数 Fecundity ratio(ind.)	81.333	30.238	139.667	23.713
X9	花盘直径 Discs diameter(cm)	0.413	0.140	3.167	0.231
X10	产蕾数 Bud quantity(ind.)	166.000	25.059	61.000	2.646
X11	节间长 Internodal length(cm)	3.243	1.616	3.8233	0.1079
X12	基径 Diameter(mm)	0.997	0.049	0.9570	0.0342
X13	叶柄长 Leaf stalk length(cm)	0.763	0.067	0.7900	0.1453
X14	茎基部分枝数 Stem branch quantity(ind.)	0.3331	0.577	0.3333	0.5574
X15	基部分枝到地面的距离 Distance from basal branch to ground(cm)	14.133	4.788	1.8000	0.1000

3.2.2 主成分分析 应用软件进行主成分分析,将长春花的营养生长、无性生殖和有性生殖的第一主成分特征值均大于 1。长春花的营养生长、有性生殖和无性生殖过程性状的主分量得分系数矩阵见表 2。

表 2 长春花在不同生活史阶段的主分量得分系数矩阵
Table 2 The coefficient matrix of principal components in different periods of life histories of different *Catharanthus roseus*

	变量 Var.	X1	X2	X3	X4	X5
	系数 Coef.	0.242	0.227	0.204	0.249	0.221
营养生长 Vegetative growth	变量 Var.	X6	X7	X8	X9	X10
	系数 Coef.	0.230	0.223	0.230	0.198	0.218
有性生殖 Sexual reproduction	变量 Var.	X11	X12	X13	X14	X15
	系数 Coef.	0.063	0.357	0.299	- 0.284	0.308
无性生殖 Clonal reproduction	变量 Var.					
	系数 Coef.					

根据主分量得分系数,分别计算出不同类型长春花在营养生长、有性生殖和无性生殖的主成分得分,结果见表 3。主成分结果归一画图,见图 2。

经过主分量归一化结果,得到对照的为 $V_{0.3638} S_{0.6174} C_{0.0187}$,处理后的为 $V_{0.2847} S_{0.6684} C_{0.0469}$,可以看出刈割后长春花植株内,有性生殖和无性生殖的比例有了明显增加,说明刈割后长春花内部能量分配格局起了变化,从原来以营养生长的 SV 生活史型向 SC 生活史型过渡。

3.3 刈割对长春花生物碱含量的影响

对长春花植株自下而上不同叶位叶片中长春碱、长春质碱和文多灵的含量进行检测发现,处理的长春花植株底部和中部叶片中 3 种生物碱含量均显著增加($p < 0.05$),是对照植株中对应叶片的 2~4 倍。但幼嫩叶片中文朵灵和长春质碱含量增加不显著($p > 0.05$)。结果表明,刈割不但影响了生活史的类型,也提高了长春花叶片中 3 种生物碱的含量,结果见图 3~5。

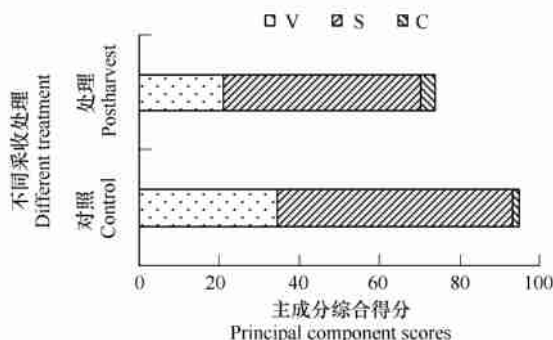


图2 不同类型长春花主成分分析结果比较

Fig. 2 PCA results of *Catharanthus roseus*

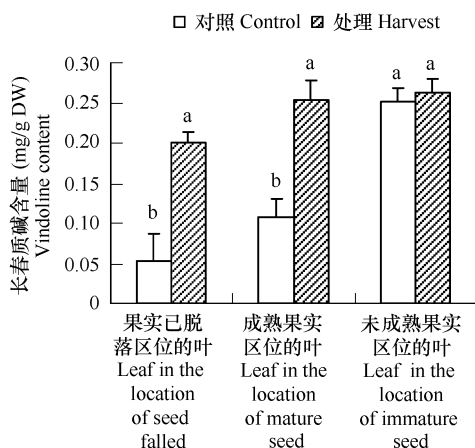


图4 刈割采收对不同叶位长春质碱含量的影响

Fig. 4 Effect of harvest on Catharanthine content variations

表3 不同类型长春花在不同生活史阶段的主成分结果

Table 3 The results of principal component analysis in different periods of life cycle of different *Catharanthus roseus*

类型 Type	营养生长 V Vegetative growth	有性生殖 S Sexual reproduction	无性生殖 C Clonal reproduction
对照植株 Control	34.476	58.503	1.774
处理植株 Postharvest	20.978	49.259	3.458

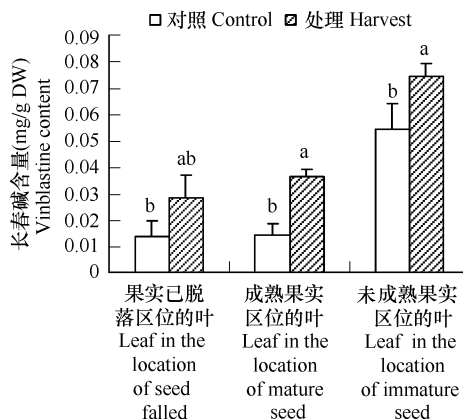


图3 刈割采收对不同叶位长春碱含量的影响

Fig. 3 Effect of harvest on vinblastine content variations

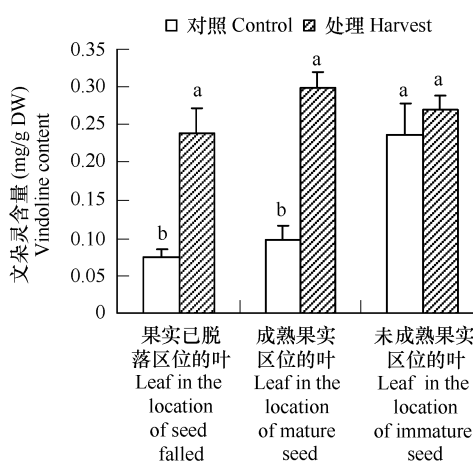


图5 刈割采收对不同叶位文多灵含量的影响

Fig. 5 Effect of harvest on vindoline content variations

4 结论

现有的生活史对策常用的研究方法是表型相关法^[17]。表型相关法中涉及的某一性状,如叶长、株高和茎粗等其实都属于营养生长范畴,而花序大小、花的数量等则是有性生殖的范畴,块茎和块茎大小则和无性繁殖相关。将长春花的性状按营养生长、有性繁殖和无性繁殖不同划分三类并进行主成分分析,通过主成分得分比例划分生活史型,更全面地反映了植物的能量分配规律。

运用主成分分析法分析刈割后长春花生活史型为 V0.2847S0.6684C0.0469,说明刈割处理使长春花向 C

型转变。对处理和对照植株不同叶位叶片中生物碱含量的测定发现,刈割处理同时也提高了叶片中 3 种生物碱的含量,表明次生代谢产物的积累与 C 型生长具有一定的相关性,为植物生活史型理论指导定向培育长春花提供了实验证据。

植物在整个生活史过程中,权衡各阶段的能量需求,使之合理地进行能量分配,使植物在完成生活史的过程中获得最佳的繁殖和存活效益以及最大的适合度,形成了不同植物生活史类型^[10]。刈割对长春花造成了一定的机械损伤胁迫,分配到次生代谢产物上的能量增加,如生物碱类,帮助植物抵御不良环境。

References:

- [1] Xu L S, Chen Z L. Extraction and separation of Chinese traditional medicine. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1983.
- [2] Tang Z H, Yu J H, Yang F J, *et al.* Metabolic biology of plant alkaloids. Chinese Bulletin of Botany, 2003, 20(6): 696 ~ 702.
- [3] Waller G R, Nowacki E K. Alkaloid biology and metabolism in plants. New York: Plenum Press, 1978.
- [4] Wink M, Roberts M F. Compartmentation of alkaloid synthesis, transport and storage. In: Roberts M F, Wink M. Alkaloids: Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications. New York and London: Plenum Press, 1998. 239 ~ 262.
- [5] Waller G R, Nowacki E K. Alkaloid biology and metabolism in plant. New York: Plenum Press, 1978.
- [6] Sun R Y. Strategy for life history. Bulletin of Biology, 1997, 2 (5): 2 ~ 4.
- [7] Baldwin I T. Inducible nicotine production in native *Nicotiana* as an example of adaptive phenotypic plasticity. J. Chem. Ecol., 1999, 25: 3 ~ 30.
- [8] Aerts R T, Gisi D, De Carolis E, *et al.* Methyl jasmonate vapor increases the developmentally controlled synthesis of alkaloid in *Catharanthus* and *Cinchona* seedlings. Plant J, 1994, 5: 635 ~ 643.
- [9] Baldwin I T. An ecologically motivated analysis of plant-herbivore interactions in native tobacco. Plant Physiol, 2001, 127: 1449 ~ 1458.
- [10] Zu Y G, Wang W J, Yang F J, *et al.* Dynamic analysis and diversity of plant life cycle forms. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(11): 1811 ~ 1818.
- [11] Zhao Z M, Guo Y Q. Mechanism and method of community ecology. Beijing: Science and Technology Press, 1990.
- [12] Zu Y G, Zhao Z H, Yang F J, *et al.* Classification and transformation of plant life cycle forms. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2347 ~ 2353.
- [13] Zhao Z H, Zu Y G, Tang Z H, *et al.* Classification of life cycle forms of licorice. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2341 ~ 2346.
- [14] Luo M, Fu Y J, Zu Y G, *et al.* Rapid determination of 4 vinca alkaloids by reversed phase high performance liquid chromatography. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2005, 33(1): 87 ~ 89.
- [15] Fu K Z. Quality report for Chinese cultivated licorice root. Acta Botanica Sinica, 1974, 16 (4): 304 ~ 310.
- [16] Fu T L. The analysis of genetic principal component and distance of 33 glutinous maize inbred lines. Scientia Agricultura Sinica, 1995, 28 (5): 46 ~ 53.
- [17] Zhang D Y. Life History Evolution and Reproductive Ecology in Plants. Beijing: Science Press, 2004

参考文献:

- [1] 徐任生,陈仲良. 中草药有效成分提取与分离. 上海: 上海科学技术出版社, 1983.
- [2] 唐中华,于景华,杨逢建,等. 植物生物碱代谢生物学研究进展. 植物学通报, 2003, 20(6): 696 ~ 702.
- [6] 孙儒泳. 生活史对策. 生物学通报, 1997, 2 (5): 2 ~ 4.
- [10] 祖元刚,王文杰,杨逢建,等. 植物生活史型多样性及动态分析. 生态学报, 2002, 22(11): 1811 ~ 1818.
- [11] 赵志模,郭依泉. 群落生态学原理与方法. 北京: 科学技术文献出版社, 1990.
- [12] 祖元刚,赵则海,杨逢建,等. 植物生活史型的划分及其相互转化. 生态学报, 2005, 25(9): 2347 ~ 2353.
- [13] 赵则海,祖元刚,唐中华,等. 甘草生活史型的划分. 生态学报, 2005, 25(9): 2341 ~ 2346.
- [14] 罗猛,付玉杰,祖元刚,等. 反相高效液相色谱法快速测定长春花中 4 种生物碱. 分析化学, 2005, 33(1): 87 ~ 89.
- [15] 傅克治. 中国栽培甘草实生根质量报告. 植物学报, 1974, 16 (4): 304 ~ 310.
- [17] 张大勇. 植物生活史进化与繁殖生态学. 北京: 科学出版社, 2004.