

不同生境白屈菜 (*Chelidonium majus*) 生活史型特征 及其与不同器官单宁、黄酮、生物碱含量的关系

王文杰, 李文馨, 许慧男, 祖元刚*, 王 宇

(森林植物生态学教育部重点实验室, 哈尔滨 150040)

摘要:运用主成分分析法, 对不同生境条件下白屈菜植物生活史型相关的营养生长 (vegetative growth, V)、有性生长 (sexual growth, S) 和克隆生长 (clonal growth, C) 的主成分得分及比例进行定量计算, 并以此为基础研究了生活史型特征参数及次生代谢产物单宁含量、黄酮含量与生物碱含量的相关关系, 目的是为植物活性成分环境定向诱导培育提供实验依据。研究结果表明: (1) 对于不同光照状况的全光照 (空地)、70% 光照 (榆树林内) 和 40% 光照下 (白桦林内) 的 9 个样地白屈菜生活史型划分发现, 全光照下白屈菜种群生活史型为 $V_{0.34}S_{0.41}C_{0.25}$, 为 SV 生活史型, 空地为 DE (Disturbed but still Excellent) 生境; 榆树林下和白桦林下的白屈菜生活史型分别可表示为 $V_{0.28}S_{0.38}C_{0.34}$ 和 $V_{0.27}S_{0.40}C_{0.33}$, 均为 SC 生活史型, 榆树林下和白桦林下为 DF (Disturbed and Fragile) 生境。 (2) 白屈菜植株次生代谢产物 (单宁、黄酮和生物碱) 含量, 空地均低于榆树林下和白桦林下生境。各样地白屈菜不同器官单宁含量: 叶片 > 种 > 根 > 茎; 黄酮含量: 种 > 叶片 > 根 > 茎; 生物碱含量: 叶片 > 根 > 茎, 各样地白屈菜茎和根的生物碱含量无明显差异, 空地白屈菜叶片中生物碱含量低于榆树林下和白桦林下白屈菜植株 59% ~ 56.7%。 (3) 白屈菜生活史型与次生代谢产物 (单宁、黄酮和生物碱) 含量相关性分析结果中, 显著的线性关系显示, 白屈菜次生代谢产物 (单宁、黄酮和生物碱) 含量与营养生长和有性生长成负相关, 与克隆生长成正相关。实验结果表明, 较于空地的 DE 生境, 林 (榆树和白桦) 下的 DF 生境条件差, 使白屈菜向 C 型转变, 同时也促进了次生代谢产物 (单宁、黄酮和生物碱) 的积累。结果可以为野生植物的人工定向培育中生境选择和目的活性成分定向累积提供基于形态学的评价方法和理论。

关键词: 白屈菜; 生活史型; 主成分分析; 次生代谢产物

文章编号: 1000-0933(2008)11-5228-10 中图分类号: Q948 文献标识码: A

Characters of life cycle forms of *Chelidonium majus* populations in different habitats and their correlation to the contents of tannin, flavones and alkaloids in different organs

WANG Wen-Jie, LI Wen-Xin, XU Hui-Nan, ZU Yuan-Gang*, WANG Yu

Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(11): 5228 ~ 5237.

Abstract: *Chelidonium majus* belongs to Papaveraceae family, and the whole plant can be used as a Chinese traditional herbal medicine. By using the Principal Component Analysis (PCA) method, the characteristic parameters of the plant life cycle forms, i. e. PCA scores and proportions of Vegetative growth (V), Sexual growth (S) and Clonal growth (C) of

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30770338); 国家教育部新世纪优秀人才项目 (NCET-07-0167)

收稿日期: 2008-02-24; 修订日期: 2008-05-12

作者简介: 王文杰 (1974 ~), 男, 河北易县人, 博士, 主要从事植物生理生态学、恢复生态学与全球变化研究. E-mail: wjwang225@hotmail.com

* 通讯作者 Correspondence author. E-mail: zygorl@vip.hi.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30770338) and the Program for New Century Excellent form the Ministry of Education of China (No. NCET-07-0167)

Received date: 2008-02-24; **Accepted date:** 2008-05-12

Biography: WANG Wen-Jie, Ph. D., mainly engaged in plant ecophysiology, restoration ecology and global changes. E-mail: wjwang225@hotmail.com

Chelidonium majus populations at different habitats (including open land, a *Ulmus pumila* plantation and a *Picea meyeri* plantation) were quantitatively calculated, then the correlations between these characteristic parameters and the contents of alkaloids, tannin and flavonoids were analyzed in this paper. Our aim is to provide an experimental basis for the directionally inductive cultivations of Chinese herbs for getting an increase in its active substances. The results were as follows. (1) The plant life cycle forms of *Chelidonium majus* differed between habitats. when grown at full sun light at the open land was characterized as $V_{0.34}S_{0.41}C_{0.25}$, which was a SV sub-form of the plant life cycle form, showing the habitat here was a DE (Disturbed but still Excellent) habitat for the growth of this herb; when grown in the *Ulmus pumila* and *Picea meyeri* plantations were characterized as $V_{0.28}S_{0.38}C_{0.34}$ and $V_{0.27}S_{0.40}C_{0.33}$, which were SC sub-form of the plant life cycle form, showing the habitat here were DF (Disturbed and Fragile) habitats for the growth of this herb. (2) The contents of secondary metabolites including tannin, flavonoids and alkaloids in *Chelidonium majus* in the open land were all lower than those in the *Ulmus pumila* and *Picea meyeri* plantations. The contents of tannin in different organs were leaves > seeds > roots > stems; the contents of flavonoids were seeds > leaves > roots > stems; the contents of alkaloids were leaves > roots > stems. There are no significant differences in the contents of alkaloids in stems and roots of *Chelidonium majus* in different habitats, the content of alkaloids in *Chelidonium majus* leaves in the open land was, respectively, 59% and 56.7% lower than those in the *Ulmus pumila* and *Picea meyeri* plantations. (3) There appeared significant linear correlation relationship between the plant life cycle forms of *Chelidonium majus* and the contents of tannin, flavonoids and alkaloids. The contents of secondary metabolites (tannin, flavonoids and alkaloids) of *Chelidonium majus* were negatively correlated with the Vegetative and Sexual growth, and positively correlated with the Clone growth. The results indicate the DF habitats in the *Ulmus pumila* and *Picea meyeri* plantations were poor comparing to DE habitat in the open land, which changed *Chelidonium majus* to C form and improved the accumulation of secondary metabolites (tannin, flavonoids and alkaloids). All these results can provide morphological methods and theory on evaluation for the habitat selection and directional accumulation of objective active components in the artificially directive breeding of wild plants.

Key Words: *Chelidonium majus*; plant life cycle form; principal component analysis; secondary metabolites

在环境的影响下,植物在整个生活史过程中将可用资源按不同比例分配到营养生长和生殖生长(有性生长和克隆生长)上,在形态学(性状)、生理和分子等不同层次上形成显著差异,以适应环境变化获得最大的生存和繁殖效益^[1,2]。为了全面反映植物的能量分配格局,可将植物个体性状划分为营养生长(vegetative growth, V)、有性生长(sexual growth, S)和克隆生长(clonal growth, C)三大类,分别选择5个参数,如营养生长选择株高、叶片大小,克隆生长选择基部分枝数、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,以综合反映植物的生活史对策和能量分配格局^[3]。同时,植物除了在形态性状上响应环境变化,在生理代谢也有明显的变化^[4]。植物在不同生活史型形成过程中具有一定的生理代谢特点,如当植物趋向于C生活史型时,植物往往处于干扰逆境中,往往需要把更多能量用于抵御胁迫,这使得对胁迫具有重要抵御功能的次生代谢物质可能大量积累;而在适宜生境中,植物往往把大量的能量用于构建更大的营养体,减少在抵御胁迫方面的物质投入^[3,5]。

药用植物资源是医药产业的重要基础环节,其目的活性物质多数为次生代谢产物,如何提高这些目的活性物质产量是植物资源培育领域的研究热点和难点。祖元刚、曹建国、赵则海等人分别以长春花、刺五加、乌拉尔甘草3种植物在不同生境条件下的生长发育、形态结构、光合生理、次生代谢和生物量分配等为研究内容,探讨了3种植物的生活史型形成与环境因子、能量分配格局和代谢产物之间的关系^[5~7]。唐中华等运用生活史型理论与方法,对不同条件(高温、干旱、刈割)处理和对照条件下长春花生活史型和生理代谢动态特点进行了研究^[8~10]。但是这种量化植物生活史型理论与次生代谢物质的相关性,以及这种思想是否可以

用来指导野生植物的人工定向培育,到目前为止尚未见报道。

基于此,本文以野生药用植物白屈菜(*Chelidonium majus*)为研究对象,选择3类9个样地进行生活史型定量划分的基础上,进行不同器官单宁总量、黄酮总量和生物碱总量的测定,并通过生活史型参数与次生代谢指标的相关性分析,确定植物生活史型理论用于指导人工定向培育的可行性。

1 研究地点、材料和方法

1.1 实验地概况和研究材料

研究地点位于黑龙江省哈尔滨市东北林业大学校内植物园(N45°43.096', E126°38.036')。哈尔滨市属中温带大陆性季风气候,全年平均气温为3.1℃。年平均降水量567 mm,无霜期150 d,结冰期190 d。在实验样地内选择3种典型样地:空地(光照100%)、榆树林下(光照70%)和白桦林下(光照40%),3种样地相距在100 m以内,土壤条件基本一致。在每块样地选择3个白屈菜种群,种群编号分别为:空地种群为样地1、2和3,榆树林下种群为样地4、5和6,白桦林下种群为样地7、8和9。对每个样地种群进行检尺调查,以此数据为基础计算平均植株株高和基径,并选取3株接近此一平均水平的白屈菜植株进行各项形态指标和生理指标的测定。

1.2 植物生活史型的划分方法

将白屈菜形态指标划分为3类,即营养生长、有性生长和克隆生长,各选择5个相关指标表征各类性状:营养生长所选参数包括株高、基茎、冠幅、主枝数和基生叶数;有性生长参数包括花序数、花数、花枝长、花序直径和每果序小果数;克隆生长参数包括无性芽数、无性芽重量、无性芽高、无性芽基茎和无性芽叶数。为了避免单位对分析结果的影响,在主成分分析之前对所选数据进行了标准化处理,标准化采用 $Z_i = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$ 处理方法,处理后值在0到1之间^[11]。对标准化处理后的值进行主成分分析,主成分分析应用SPSS12分析软件进行,归一化营养生长、有性生长和克隆生长的综合得分,以 $V_x S_y C_z (x + y + z = 1)$ 的形式表示^[4]。

1.3 次生代谢产物单宁、黄酮和生物碱的测定方法

单宁含量的测定方法 选取自然风干的样品进行单宁含量的测定。用液氮将其研磨至粉末状,精确称取0.05 g,加入70%的甲醇溶液5 ml,室温下放置24 h备用。离心10 min,取上清液0.5 ml,加入4%的香草醛甲醇溶液3 ml,加入浓盐酸1.5 ml,用铝箔遮光,摇匀试管。在20℃的水浴中加热20 min。以相应试剂做空白,在510 nm波长下测定吸光值(WFJ 2100,龙尼柯(上海)仪器有限公司)。根据标准曲线计算出提取液中单宁的含量。标准样品为儿茶素,空白对照:0.5 ml的70%的甲醇溶液,加入4%的香草醛的甲醇溶液,加入浓盐酸1.5 ml。所确定的标准曲线: $Y = 1.3907X + 0.0097, R^2 = 0.9991, p < 0.001$,式中, X 为吸光度, Y 为浓度($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$),线性范围:0~0.6 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

黄酮含量的测定方法 取烘干的样品,用液氮将其研磨至粉末状,精确称取0.05 g,加入5 ml 95%乙醇后,在44℃下,超声60 min。离心10 min,室温静置4 h,进行样品提取液制备。其过程为:取25 ml容量瓶,加4 ml水,吸取样品提取液2 ml,加入5%的亚硝酸钠1 ml,摇匀放置6 min,加10%的硝酸铝1 ml,放置6 min,加5%的氢氧化钠10 ml,再加水定容至刻度,摇匀,放置15 min后,以相应试剂作空白对照,在500 nm下测定吸光值。根据标准曲线计算出提取液中黄酮的含量。标准样品为芦丁(中国药品生物制品检定所)。所确定的标准曲线: $Y = 1.4335X + 0.0235, R^2 = 0.9991, p < 0.001$,式中, X 为吸光度, Y 为浓度($\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$),线性范围:0~2.0 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

生物碱含量的测定方法 将风干的白屈菜样品粉碎过筛(40目),精密称取0.1 g样品,加氯仿-乙醇(1:1)5 ml,冷浸过夜后,用超声波仪超声30 min,离心10 min。取上清液4 ml,氮气干,加4 ml 95%乙醇与冰醋酸混合液(10 ml中有5滴冰醋酸)复溶,超声10 min。将0.25 ml提取液定容至5 ml。以相应试剂作空白对照,在350 nm波长下测定吸光值。根据标准曲线计算出提取液中生物碱的含量。标准样品为盐酸小檗碱。所确定的标准曲线: $Y = 14.684X - 0.0038, R^2 = 0.9998, p < 0.001$,式中, X 为吸光度, Y 为浓度($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$),线性范围:2.0~20.0 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。

1.4 数据分析方法

基于植物形态学参数进行生活史型划分的主成分分析使用 SPSS12.0 进行处理。生活史型特征参数与次生代谢产物含量的相关关系分析采用 Excel 2003 中数据分析工具中的相关系数工具进行相关系数计算,使用回归工具进行相关系数的显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同样地白屈菜生活史型相关形态指标差异及其生活史型的比较

将不同样地内的白屈菜表型按营养生长、有性生长和克隆生长过程分为 3 类。株高、基径等指标表征营养生长,花序数量和花序直径大小等指标表征有性生长,克隆生长用无性芽数量和无性芽重量等指标来表征,结果见表 1。对数据分析发现,空地(种群 1、2、3)白屈菜的营养生长和有性生长状况明显优于榆树(种群 4、5、6)和白扞(种群 7、8、9)样地的白屈菜,克隆生长状况则相对略差。

表 1 9 个白屈菜种群植物生活史型划分的相关形态学指标

Table 1 Morphological parameters of the 9 populations of *Chelidonium majus* for the classification of life cycle form of this weed

项目 Item	性状指标 Morphological parameters	样地类型及编号 Plot type and number								
		空地 Open land			榆树林下 Under elms			白扞林下 Under spruces		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
营养生长	株高 Individual high (cm)	69	61	60	49	43	42	41	37	39
参数 V	基茎 Diameter (cm)	2.07	1.96	2.25	2.11	1.84	2.04	2.01	1.80	1.53
	冠幅 Crown width (dm ²)	31.35	29.68	29.7	22.44	22.36	19.74	19.68	17.86	15.99
	主枝数 Basal branch quantity (No.)	3	3	4	5	5	6	6	4	5
	基生叶数 Basal leaf quantity (No.)	29	22	21	15	14	17	23	22	20
有性生长	花序数 Inflorescence quantity (No.)	16	15	11	11	11	11	10	11	9
参数 S	花数 Flower quantity (No.)	63	54	46	44	42	26	39	32	27
	花枝长 Flowering branch length (cm)	2.70	2.47	2.57	2.54	2.3	2.27	2.1	2.4	2.35
	花序直径 Inflorescence diameter (cm)	3.42	3.20	3.1	3.2	3	2.7	2.8	3.14	2.95
	每果序小果数 Fecundity ratio (No.)	3.94	3.6	4.18	4	3.82	2.36	3.9	2.91	3
克隆生长	无性芽数 Asexual bud quantity (No.)	7	5	6	9	7	5	6	6	7
参数 C	无性芽重量 Asexual bud quality (g)	0.88	0.97	0.97	0.80	0.88	0.69	1.15	1.11	1.19
	无性芽高 Asexual bud high (cm)	2.25	2.18	2.5	2.58	2.83	2.67	2.33	2.38	2.5
	无性芽基径 Asexual bud diameter (cm)	0.19	0.19	0.22	0.22	0.24	0.30	0.20	0.23	0.21
	无性芽叶数 Asexual bud leaf quantity (No.)	6	7	7	7	8	4	6	9	7

为了避免单位对分析结果的影响,对所选各类性状数据进行了标准化处理,处理后值在 0 到 1 之间^[11]。标准化处理后的值,应用 SPSS12 件进行主成分分析,不同样地白屈菜的营养生长(V)、有性生长(S)、克隆生长(C)过程性状的主成分综合得分以及各部分所占的比例见图 1。归一化的结果:种群 1、2、3 分别为 $V_{0.34}S_{0.42}C_{0.24}$ 、 $V_{0.34}S_{0.42}C_{0.24}$ 和 $V_{0.34}S_{0.39}C_{0.27}$,4、5、6 分别为 $V_{0.28}S_{0.39}C_{0.32}$ 、 $V_{0.27}S_{0.39}C_{0.35}$ 和 $V_{0.29}S_{0.36}C_{0.35}$,7、8、9 分别为 $V_{0.29}S_{0.41}C_{0.29}$ 、 $V_{0.27}S_{0.40}C_{0.34}$ 和 $V_{0.25}S_{0.40}C_{0.35}$;空地为 $V_{0.34}S_{0.41}C_{0.25}$,为 SV 生活史型,榆树和白扞林下分别为 $V_{0.28}S_{0.38}C_{0.34}$ 和 $V_{0.27}S_{0.40}C_{0.33}$,均为 SC 生活史型。

如图 1 所示,从得分结果看:不同样地白屈菜植株生活史型主成分总得分:空地 > 榆树林下 > 白扞林下,说明空地白屈菜能量的积累相对较高。从 V、S 和 C 的得分比例看:空地白屈菜营养生长比例占总量的 34%,明显高于榆树林下和白扞林下白屈菜在营养生长所占的比例(28% 和 27%);3 种不同样地白屈菜有性生长所占比例相当,约占总量的 40% 左右;空地白屈菜克隆生长比例占总量的 25%,明显低于榆树林下和白扞林下白屈菜在克隆生长所占的比例(34% 和 33%);说明不同样地白屈菜植株能量在 V、S 和 C 之间的分配比例不同,相较于榆树林下和白扞林下,空地营养生长投入较多,克隆生长比重较小。

2.2 不同样地白屈菜次生代谢产物的比较

对不同样地的白屈菜不同器官(叶片、茎、种和根)次生代谢产物(单宁、黄酮和生物碱)含量进行检测,

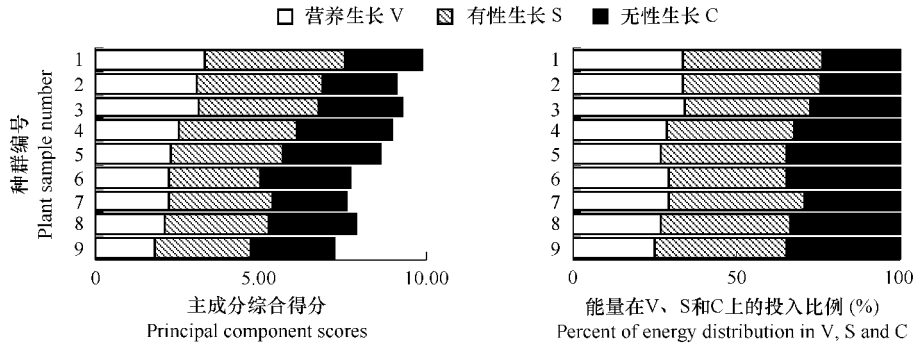


图1 9个白屈菜种群生活史型特征分析。左)主成分得分;右)生活史型比例

Fig. 1 Analysis of life cycle form of the 9 *Chelidonium majus* populations. Left): PCA scores; Right) Percentage of life cycle history

结果显示单宁、黄酮和生物碱含量在不同样地不同器官有明显的差异,见表2。空地白屈菜植株单宁含量低于榆树林下和白扞林下白屈菜植株 20.2% ~ 16.2%;各样地白屈菜不同器官单宁含量:叶片 > 种 > 根 > 茎。白扞林下白屈菜植株黄酮含量高出空地和榆树林下白屈菜植株 60.1% ~ 48.1%;各样地白屈菜不同器官黄酮含量:种子 > 叶片 > 根 > 茎,各样地白屈菜茎、种和根的黄酮含量无明显差异,白扞林下白屈菜叶片中黄酮含量高出空地和榆树林下白屈菜植株 45.1% ~ 56.6%。空地白屈菜植株生物碱含量低于榆树林下和白扞林下白屈菜植株约 48%;各样地白屈菜不同器官生物碱含量:叶片 > 根 > 茎,各样地白屈菜茎和根的生物碱含量无明显差异,空地白屈菜叶片中生物碱含量低于榆树林下和白扞林下白屈菜植株总量的 59% ~ 56.7%。

表2 不同样地白屈菜次生代谢产物(单宁、黄酮和生物碱)的含量

Table 2 Secondary metabolites (Tannin, flavones and alkaloids) content of *Chelidonium majus* in different plots

次生代谢产物含量 Secondary metabolites content (%)		样地类型及编号 Plot type and number								
		空地 Open land			榆树林下 Under elms			白扞林下 Under spruces		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
单宁 Tannin	整株 Whole plant	5.76	6.86	8.01	9.20	8.81	7.85	8.12	8.35	8.14
	叶 Leaf	9.32	10.83	11.73	11.93	12.53	11.54	10.68	11.14	11.65
	茎 Stem	4.05	5.49	6.25	6.13	5.47	4.95	5.58	4.45	4.16
	果序 Infructescence	6.77	6.47	7.46	9.01	9.14	7.31	8.04	7.93	8.09
	根 Root	6.23	6.62	7.14	7.82	7.80	6.42	7.15	9.00	7.71
黄酮 Flavones	整株 Whole plant	2.18	1.90	2.23	2.30	2.41	2.15	3.38	3.39	3.39
	叶 Leaf	3.14	3.34	3.36	2.90	3.26	2.95	4.93	4.53	4.82
	茎 Stem	0.95	0.61	1.04	1.18	1.26	1.03	1.69	1.69	1.77
	果序 Infructescence	5.66	5.38	5.71	4.67	4.35	5.08	5.45	4.91	4.98
	根 Root	2.35	2.63	2.75	2.44	2.65	1.87	2.44	2.76	2.46
生物碱 Alkaloids	整株 Whole plant	0.27	0.32	0.51	0.92	0.82	0.75	0.78	0.94	0.82
	叶 Leaf	0.39	0.46	0.80	1.45	1.31	1.26	1.18	1.38	1.24
	茎 Stem	0.19	0.24	0.36	0.42	0.44	0.36	0.41	0.43	0.42
	根 Root	0.49	0.48	0.49	0.44	0.46	0.46	0.55	0.61	0.47

2.3 不同样地白屈菜生活史型与3种次生代谢产物含量的相关性分析

不同器官单宁含量与生活史型主成分得分及生活史型比例的相关性分析表明,不同器官相关程度存在明显差异(表3)。在所检验的相关性中,达到显著相关的有8个,其相关关系图及拟合直线列于图2。可以看出,以整株单宁含量与生活史型特征参数相关程度最高,6个相关性中1个接近显著水平($p = 0.09$),有4个达到了显著水平,分别是整株单宁含量与V得分、S得分显著负相关,以及整株单宁含量与S比例显著负相关,并与C比例显著正相关(表3,图2)。叶片生活史型各参数与其单宁含量均未达到显著性水平,其中S型

比例与叶片单宁含量的负相关性最高($r=0.64, p=0.06$)。茎中单宁含量与生活史型主成分得分的相关性未达到显著性水平,而与生活史型比例相关性稍高于得分的情况,其中与 S 比例的负相关性达到显著性水平($R^2=0.47, p<0.05$)。果序单宁含量与 S 得分、S 比例呈负相关,接近 $p<0.05$ 的显著性水平($p=0.05$),与 C 型比例达到了显著水平($R^2=0.485, p<0.05$)。根系单宁含量与 V 得分正相关,而与 S 得分呈现负相关,二相关均达到显著水平,但是与生活史型比例的相关性未达到 $p<0.05$ 的显著水平。综合来看,不同器官及整株单宁含量与 S 得分、S 比例均呈现负相关,而与 C 得分、C 比例呈现正相关,但是单宁含量与 V 得分、V 比例的相关性表现的并不一致(表 3、图 2)。

表 3 9 个白屈菜种群生活史型特征参数与次生代谢产物(单宁、黄酮和生物碱)含量相关性分析

Table 3 Correlation analysis between the plant life cycle form parameters and secondary metabolites (Tannin, flavones and alkaloids) content of the 9 populations of *Chelidonium majus*

次生代谢产物含量 Secondary metabolites content (%)			主成份综合得分 Principal component scores			生活史型比例 Life cycle form percentage		
			营养生长 V	有性生长 S	克隆生长 C	营养生长 V	有性生长 S	克隆生长 C
单宁 Tannin	整株 Whole plant sample	r	-0.6972	-0.8406	0.5077	-0.6032	-0.7904	0.8017
		p -level	0.04 *	0.00 **	0.16 ns	0.09 ns	0.01 *	0.01 **
	叶 Leaf	r	-0.3878	-0.5265	0.4882	-0.3314	-0.6405	0.5297
		p -level	0.30 ns	0.15 ns	0.18 ns	0.38 ns	0.06 ns	0.14 ns
	茎 Stem	r	0.1059	-0.1988	0.3371	0.1654	-0.6863	0.1708
		p -level	0.79 ns	0.61 ns	0.37 ns	0.67 ns	0.04 *	0.66 ns
	果序 Infructescence	r	-0.5829	-0.6615	0.4993	-0.5405	-0.659	0.6971
		p -level	0.10 ns	0.05 *	0.17 ns	0.13 ns	0.05 *	0.04 *
	根 Root	r	0.6847	-0.73	0.0355	0.5614	-0.3214	0.5669
		p -level	0.04 *	0.03 *	0.93 ns	0.12 ns	0.40 ns	0.11 ns
	整株 Whole plant sample	r	-0.7314	-0.602	-0.1387	-0.6369	0.0801	0.4508
		p -level	0.03 *	0.09 ns	0.72 ns	0.07 ns	0.84 ns	0.22 ns
黄酮 Flavones	叶 Leaf	r	-0.5511	-0.4169	0.3483	-0.4373	0.2973	0.2047
		p -level	0.12 ns	0.26 ns	0.36 ns	0.24 ns	0.44 ns	0.60 ns
	茎 Stem	r	-0.7744	-0.6721	0.044	-0.698	-0.0999	0.5752
		p -level	0.01 *	0.05 *	0.91 ns	0.04 *	0.80 ns	0.11 ns
	果序 Infructescence	r	0.5729	0.5257	-0.4612	0.5752	0.4253	-0.6224
		p -level	0.11 ns	0.15 ns	0.21 ns	0.11 ns	0.25 ns	0.07 ns
	根 Root	r	-0.1128	-0.0371	0.4293	-0.2485	-0.0905	0.2286
		p -level	0.77 ns	0.92 ns	0.25 ns	0.52 ns	0.82 ns	0.55 ns
	整株 Whole plant sample	r	-0.9205	-0.9192	0.4896	-0.862	-0.6239	0.9269
		p -level	0.00 **	0.00 **	0.18 ns	0.00 **	0.07 ns	0.00 **
	叶 Leaf	r	-0.893	-0.8911	0.576	-0.8566	-0.6687	0.9422
		p -level	0.00 **	0.00 **	0.10 ns	0.00 **	0.05 *	0.00 **
生物碱 Alkaloids	茎 Stem	r	-0.8044	-0.8521	0.4646	-0.7303	-0.6253	0.8271
		p -level	0.01 **	0.00 **	0.21 ns	0.03 *	0.07 ns	0.01 **
	根 Root	r	-0.3845	-0.2446	-0.1783	-0.3913	0.2308	0.1984
		p -level	0.31 ns	0.53 ns	0.65 ns	0.3 ns	0.55 ns	0.61 ns

次生代谢产物总黄酮含量与植物生活史型特征参数的相关性普遍低于单宁的相关性(表 2),在所检测的相关关系中,有 3 个达到了显著性($p<0.05$),1 个接近 $p<0.05$ 的显著性水平($p=0.05$)。综合来看,茎的黄酮含量与生活史型参数相关性较高,表现为茎黄酮含量与 V 得分、S 比例均呈现显著的负相关($R^2>0.45, p<0.05$)。整株黄酮含量与 V 的主成份得分呈显著的负相关($R^2=0.53, p<0.05$)(图 3)。

白屈菜不同器官及整株总生物碱含量与生活史型特征参数的相关性明显高于相应的单宁、黄酮的相关性(表 2,图 4)。在所检测的相关关系中,有 9 个达到了极显著水平($p<0.01$),有 3 个达到了显著水平($p<0.05$),1 个接近 $p<0.05$ 的显著性水平($p=0.05$)(表 2)。以叶片生物碱含量与生活史型特征参数相关程度最高,6 个相关性中 1 个接近显著水平($p=0.10$),其余 5 个均达到了显著水平($p<0.05$),分别是叶片生物碱

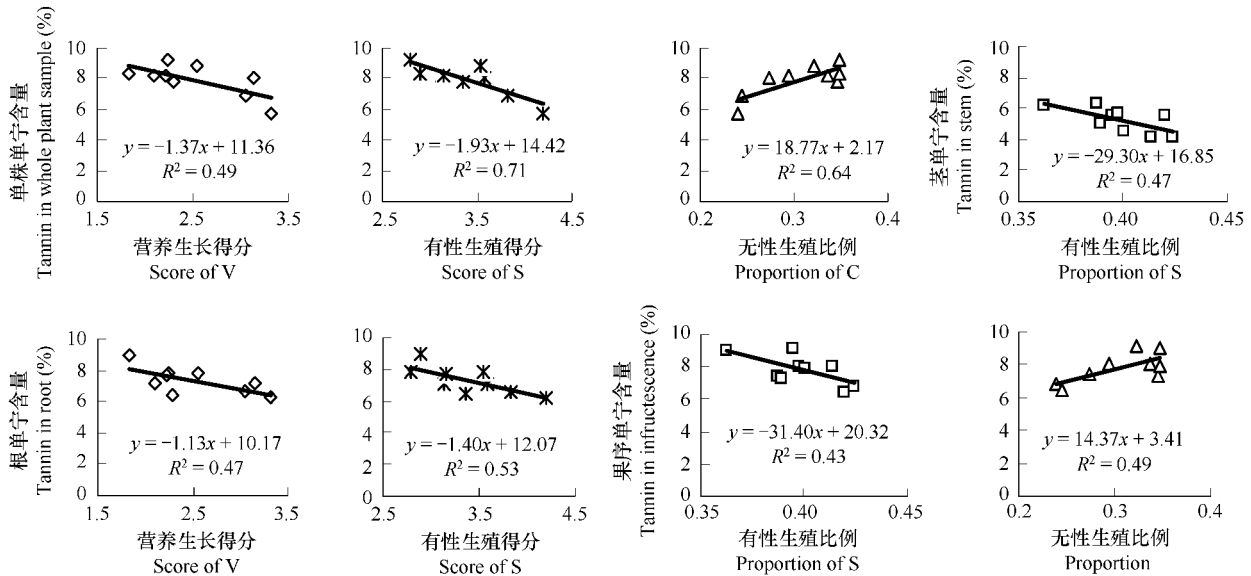


图2 白屈菜单宁含量与生活史型参数的关系

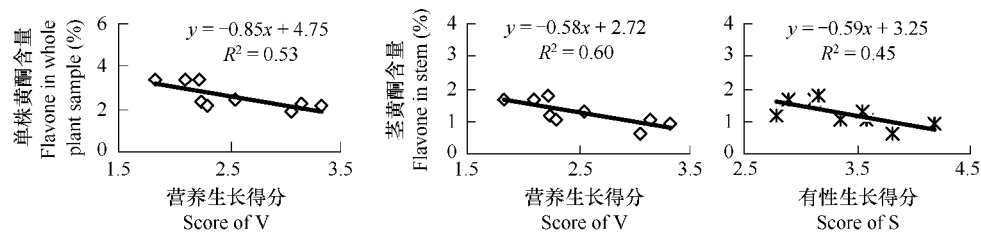
Fig. 2 The relationship between the plant life cycle form parameters and tannin content of *Chelidonium majus*

图3 白屈菜黄酮含量与生活史型的关系

Fig. 3 The relationship of the plant life cycle form and flavones content of *Chelidonium majus*

含量与 V 得分、V 比例及 S 得分、S 比例均呈显著负相关,而与 C 型比例呈显著正相关。整株和茎内生物碱含量与 V 型得分、S 型得分、S 型比例呈显著负相关,与 C 型比例显著正相关。根系生物碱含量与生活史型的相关性不大,检验的 6 个相关性均未达到显著性。综合来看,在 12 个显著相关的关系中,有 9 个是显著负相关,均是 V 得分、S 得分、V 比例和 S 比例与各生物碱含量的相关关系,有 3 个是正相关,是 C 比例与整株、叶和茎生物碱含量的相关关系(图 4,表 3)。

3 讨论

同种植物在不同的时间和空间里,由于生态异质性的不同,环境筛的选择强度不同,即生态幅差异的存在,植物生活史在有性生长、克隆生长和营养生长 3 个基本阶段,往往表现出不同的能量分配格局^[12],因而具有多样性的植物生活史型:V 生活史型、S 生活史型、C 生活史型 3 个基本类型以及 VS 生活史型、SV 生活史型、CS 生活史型、SC 生活史型 4 个具有混合特征的过渡类型。祖元刚等提出的每一种植物生活史型,都可划分出相应的生境类型,如 V 生活史型处于资源充足、干扰少的优质生境(excellent habitat)——E 生境;S 生活史型处于资源较充足但干扰大的扰动生境(disturbed habitat)——D 生境;C 生活史型处于资源贫乏、条件严酷的脆弱生境(fragile habitat)——F 生境^[13],而且,不同生活史型组合均对应于一个特定的生境类型^[4]。野生中药植物资源的定向培育的方向之一是选择适宜生境,进行人工驯化处理。植物生活史型理论的上述思想及其定量化划分方法为从形态学指标选择适宜生境奠定了基础。对上述 9 个样地的主成份分析结果显示,由空地的白屈菜植株的生活史型是 SV 过渡生活史型可以推测本实验选取的空地的生境类型为 DE 过渡生境;

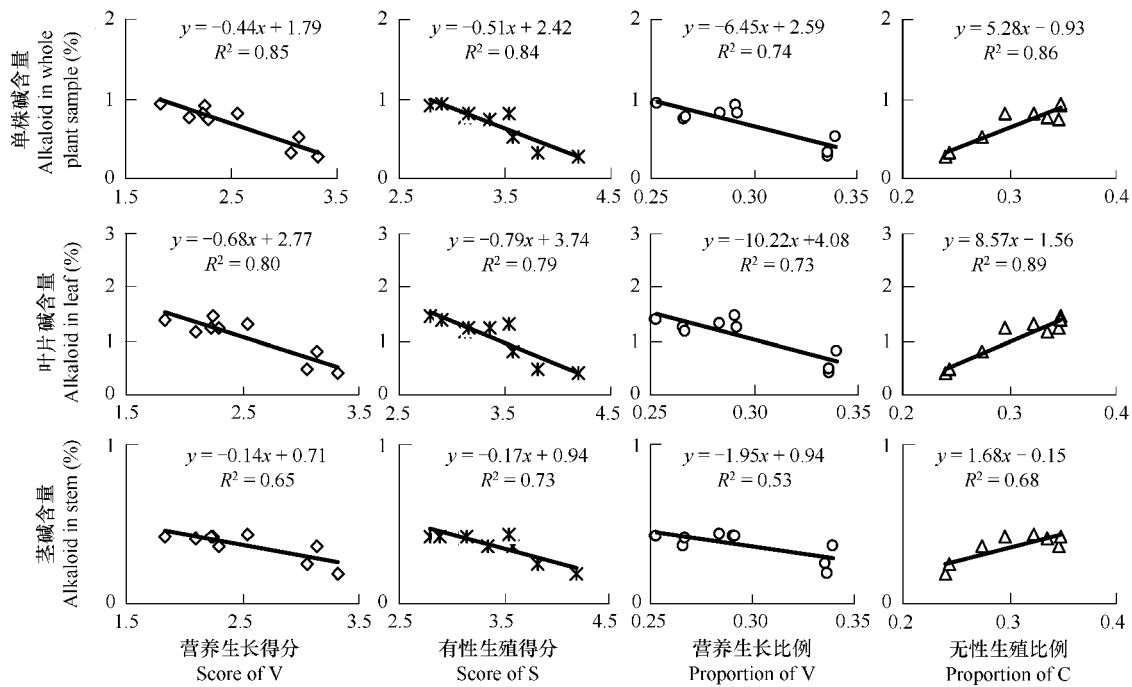


图4 白屈菜生物碱含量与生活史型的关系

Fig. 4 The relationship of the plant life cycle form and alkaloids content of *Chelidonium majus*

榆树林下和白扞林下的生境促进了白屈菜植株无性成长过程,为 SC 生活史型,可以推测榆树林下和白扞林下的生境类型为 DF 生境。并且能量在 V、S 和 C 投入的比例在不同样地之间有明显的差异,榆树林下和白扞林下的 DF 生境降低了能量的在营养生长上的投入,但提高了克隆生长的比例。如果以白屈菜营养体最大作为培育目标的话,应该选择在空旷地的 DE 生境进行培育;反之,如果想获得更多的克隆生长投入,应该选择 DF 生境进行培育。

植物在和环境相互作用过程中合成拮抗物质生物碱等次生代谢产物,来抵抗胁迫带来的干扰,如高温胁迫条件下喜树中的羟基喜树碱与喜树碱含量明显增加^[14]。生物碱作为高含氮化合物,合成需要大量能量投入,正常状况下在植物体内积累较低水平,而在一定的胁迫条件下,能量在次生代谢上的投入提高。对于白屈菜来讲,全草含多种生物碱,如白屈菜碱、白屈菜红碱、血根碱、高白屈菜碱、普托品、小檗碱、黄连碱、胆碱和强心甙等,是其具有清热解毒、镇痛、止咳、平喘、疗疮消肿等功能的物质基础,也是定向培育过程中期望获得最大收益的次生目的化合物^[15]。单宁和黄酮尽管在白屈菜内部是主要次生代谢产物,但是普遍认为,单宁是植物在长期的生态环境适应过程中为抵御动物、微生物和病毒等的攻击而形成的次生代谢产物,它可以作为一种防护剂有效地防止动物或微生物等的伤害^[16~18];而黄酮类化合物几乎遍布植物体的各组织和器官,如叶片、根和木质部等,他们常以游离态的形式存在,对植物的生长、发育开花和结果以及抵御异体生物侵入(害)起着重要作用^[19]。对野生中药植物资源人工培育过程中,最终目的往往是希望获得最大的目的活性成分的增量。上述基于形态指标选择生境是否可以提高次生目的活性成分的含量是能否进行定向调控的关键。植物生活史型理论认为,植物的 V、S、C 生活史型不仅对应于 E(优质)、D(干扰)、F(脆弱)生境,而且与其生理生化代谢过程也紧密相关,分别对应于构建物质(structure-building substance, B)、促繁物质(propagation-promoting substance, P)和拮抗物质(antagonistic stress substance, A)^[13]。尽管上述思想已经提出,但是,具体联系生活史型特征参数与不同物质之间的定量关系的研究尚未见报道。本文探索性的选择了上述白屈菜的主要目的活性成分——生物碱含量,以及两种其它的次生代谢产物——单宁和黄酮含量,对其相关关系探讨。单株生物碱含量以及叶片、茎生物碱含量与 V 型得分、V 型比例呈显著负相关,与 S 型得分和多数 S 型比例呈

显著负相关,说明当植株固定的能量投入到营养生长和生殖生长增加时,就相应的减少了次生代谢生物碱的合成。从 C 型得分和 C 型比例与生物碱含量的关系也可以看出这一点,C 型比例与生物碱含量均表现为显著正相关,说明,能量投入克隆生长的越多,形成的拮抗物质生物碱的量就越多,这与生活史型理论相一致^[13]。但并不是所有的次生代谢产物均与生活史型特征参数都具有类似生物碱的良好相关特征,如,尽管单宁含量也与生活史型特征参数相关,但是其显著性和相关系数大小均低于生物碱的相关性(表 3,图 2 和图 4),而黄酮的各相关程度更低(图 3)。由此可以认为,基于生活史型的定量描述,可以作为目的活性成分定向培育的一种评价方法,但较目的活性成分生物碱总量,单宁和黄酮与生活史型特征参数的相关性较低(表 3,图 2,图 3,图 4)。

通过人工环境的营造,对植物生长过程进行调节并使得目的次生代谢产物实现增量,就能够基本实现定向培育的目的。上述的讨论可以发现,相较于空地的 DE 生境,榆树林和白扞林下的 DF 生境中,能够使白屈菜的生活史型 V 型比例降低而 C 型比例提高,即使得白屈菜投入营养生长的比例降低,而投入到克隆生长的比例提高。这种生活史型的变化,使得目的次生代谢产物——生物碱含量显著提高,而黄酮和单宁也相应的得到一定程度提高,表现为 C 型比例与生物碱含量显著正相关,而与 V 型比例显著负相关(图 4,表 3)。唐中华等对长春花从 V 型到 C 型变化过程中几种生物碱含量研究发现,这一转变过程中叶片中 3 种生物碱的含量均显著提高^[10],这与我们的研究结论一致。这说明,植物生活史型理论,可以用于定向培育中的生境选择以及目的活性产物的定向增量的评价,可以通过植物形态学指标的综合降维处理,估计定向培育的效果。

林下生境中不同代谢产物较高的含量是不是仅仅由较低生物量引起?如果能用生物量大小直接解释含量差异,本文的结论(生活史对策类型与含量相关性)(表 3,图 2~图 4)将值得怀疑。一个很简单的方法可以检验:在同一个生境内部,如果存在较大的个体生物量差异,看看是否存在生物量大小与含量的显著关系。为此,我们对白屈菜次生代谢产物(单宁量、黄酮量与生物碱)的单株总量、各成分的含量与单株重量进行了线性相关分析。结果发现,生物碱、单宁、黄酮含量(%)与单株重量($g \text{ 株}^{-1}$)的线性相关 R^2 值在 0.091~0.1905 之间,均未达到显著水平($p > 0.05$);而其单株总含量($g \text{ 株}^{-1}$)与单株重量的相关性较高, R^2 值在 0.0913~0.5236 之间,其中单宁总量、黄酮总量的线性相关达到了显著水平($p < 0.05$)(数据未列出)。因此,尽管生物量大小可以在一定程度上影响单株次生代谢产物总量,但是并不能用生物量大小直接解释次生代谢产物含量的差异。对照表 3 以及图 2~图 4,可以看出,生活史型划分所给出的信息远远高于生物量。

4 结论

运用主成分分析法计算出不同样地白屈菜生活史型结果分别为:空地白屈菜植株为 $V_{0.34} S_{0.41} C_{0.25}$,为 SV 生活史型,空地为 DE 生境;榆树林下和白扞林下的白屈菜植株分别为 $V_{0.28} S_{0.38} C_{0.34}$ 和 $V_{0.27} S_{0.40} C_{0.33}$,均为 SC 生活史型,榆树林下和白扞林下为 DF 生境。不同样地白屈菜植株固定的能量总量:空地 > 榆树林下 > 白扞林下,空地白屈菜能量的积累相对较高。相较于榆树林下和白扞林下,空地白屈菜植株营养生长投入较多,克隆生长比重较小。

白屈菜植株次生代谢产物单宁、黄酮和生物碱含量,空地均低于榆树林下和白扞林下生境。各样地白屈菜不同器官单宁含量:叶片 > 种 > 根 > 茎;黄酮含量:种 > 叶片 > 根 > 茎;生物碱含量:叶片 > 根 > 茎,各样地白屈菜茎和根的生物碱含量无明显差异,空地白屈菜叶片中生物碱含量低于榆树林下和白扞林下白屈菜植株 59%~56.7%。

白屈菜不同器官及整株总生物碱含量、单宁含量、黄酮含量与生活史型特征参数均有一定的相关性,但是作为具有中药活性的生物碱含量的相关程度明显高于单宁和黄酮的相关程度。其中,整株、叶和茎生物碱含量与 V 得分、S 得分、V 比例和 S 比例呈现显著负相关,而与 C 比例与呈负相关,在单宁和黄酮上也有类似结果,这说明当生活史型趋于 C 型即生境趋向于脆弱生境 F 时,往往导致次生代谢产物增加,而趋向 V 型即生境趋向于优质生境 E 时,使得次生代谢产物含量降低。这些发现说明,基于生活史型的定量划分,可以用于中药植物及其目的次生代谢产物的定向培育,为野生植物的人工定向培育提供理论指导。

References:

- [1] Zhang D Y. Life History Evolution and Reproductive Ecology in Plants. Beijing: Science Press, 2004.
- [2] Sun R Y. Life cycle strategy. Chinese Bulletin of Botany, 1997, 32 (5): 2—4.
- [3] Sun S C, Cai Y L, Liu H. Biomass allocation of *Scirpus mariqueter* along an elevated gradient in a salt marsh of the Yangtse River Estuary. Acta Botanica Sinica, 2001, 43 (2): 178—185.
- [4] Zu Y G, Zhao Z H, Yang F J, et al. Classification and reciprocal transformation of plant life cycle forms. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25 (9): 2347—2353.
- [5] Zhao Z H, Zu Y G, Tang Z H, et al. Classification of life cycle forms of *lycorice*. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2341—2346.
- [6] Cao J G. Study on the characteristics and mechanisms about plant life cycle forms of *Acanthopanax senticosus*. Beijing: Science Press, 2005.
- [7] Zu Y G. The research of plant life cycle form of *Catharanthus roseus*. Beijing: Science Press, 2005.
- [8] Tang Z H, Jiao Y, Zhang X K, et al. Effect of high temperature on life cycle forms and physiological metabolisms of *Catharanthus roseus*. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(11): 3642—3646.
- [9] Tang Z H, Yang L, Liang S N, et al. Effects of different water conditions on life cycle forms and physiological metabolism s of *Catharanthus roseus*. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(7): 2742—2747.
- [10] Tang Z H, Guo X R, Zhang X K, et al. The effects of harvest on transformation of plant life cycle forms of *Catharanthus roseus*. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(12): 4045—4049.
- [11] Zu Y G, Wang Y, Wang W J, Hu Y, et al. The classification of life cycle form spectrum of artificial community of *Pinus sylvestris* var. *mongolica*. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(11): 1811—1818.
- [12] Grime J P. Evidence for the existence of three primary strategies in plants and its relevance to eco logical and evolutionary theory. Amer. Natur. , 1977, 111(982): 1169—1194.
- [13] 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.
- [14] Zu Y G, Tang Z H, Yu J H, et al. Different responses of camptothecin and 10- hydroxyl camptothecin to heat shock in *Camptotheca acuminata* seedlings. Acta Bot Sin, 2003, 45(7): 809—814.
- [15] Li S Q. Value and cultivation of *Chelidonium majus*. Modern Agriculture, 2007, (11): 5.
- [16] Scalbert A. Antimicrobial properties of tannins. Photochemistry, 1991, 30(12): 3875—3883.
- [17] Diao Q Y. Latest research of Tannin. Feed Research, 1999, 11: 28—28.
- [18] Zhao X H, Liu G P, Ma Z F. Determination of the Tannin in Bamboo and its Effect on the Panda. Journal of Northeast Forestry University, 2001, 29(2): 67—71.
- [19] Wang J R, Wei C C, Gong Y H, Ai S L. Roles of root flavonoids in plant growth and plant nutrition. Chinese Bulletin of Botany, 1998, 15(S1), 68—71.

参考文献:

- [1] 张大勇. 植物生活史进化与繁殖生态学. 北京: 科学出版社, 2004.
- [2] 孙儒泳. 生活史对策. 生物学通报, 1997, 32 (5): 2~4.
- [3] 孙书存, 蔡永立, 刘红. 长江口盐沼三棱草在高程梯度上的生物量分配. 植物学报, 2001, 43 (2): 178~185.
- [4] 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.
- [5] 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.
- [6] 曹建国. 刺五加生活史型特征及其形成机制的研究. 东北林业大学博士论文, 2004.
- [7] 祖元刚, 等. 长春花生活史型研究. 北京: 科学出版社, 2005.
- [8] 唐中华, 焦琰, 张学科, 祖元刚, 等. 高温对长春花生活史型形成和生理代谢的影响. 生态学报, 2006, 26(11): 3641~3646.
- [9] 唐中华, 杨蕾, 梁胜楠, 祖元刚. 土壤不同水分条件对长春花生活史型的影响. 生态学报, 2007, 27(7): 2743~2747.
- [10] 唐中华, 郭晓瑞, 张学科, 等. 刈割对栽培长春花(*Catharanthus roseus*) 生活史型转变的影响. 生态学报, 2006, 26(12): 4045~4049.
- [11] 祖元刚, 王宇, 王文杰, 胡英, 等. 樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*) 人工群落生活史型谱. 生态学报, 2007, 27(7): 2695~2703.
- [13] 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.
- [14] 祖元刚, 唐中华, 于景华, 刘士刚, 王微, 郭晓瑞. 喜树幼苗中喜树碱和 10-羟基喜树碱对热激的响应特点和意义(英文). 植物学报, 2003, 45(07): 809~814.
- [15] 李胜琴. 白屈菜价值与栽培. 现代农业, 2007, 11: 5.
- [17] 刁其玉. 单宁的最新研究动态. 饲料研究, 1999, 11, 28~28.
- [18] 赵晓红, 刘广平, 马泽方. 竹子中单宁含量的测定及其对大熊猫采食量的影响. 东北林业大学学报, 2001, 29(2): 67~71.
- [19] 王俊儒, 韦成才, 龚月桦, 艾媛龙. 根黄酮在植物生长和营养中的作用. 植物学通报, 1998, 15(S1), 68~71.