

钾水平对人参根叶保护酶、活性氧代谢及膜脂过氧化作用的影响

刘政波, 张春阁, 刘 宁, 关一鸣, 李 乐, 孙 海, 王秋霞, 李美佳, 张亚玉*
(中国农业科学院特产研究所, 长春 130112)

摘 要: 研究钾水平对人参根系、叶片保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响。利用水培的方法, 考察 0.0 mmol/L, 3.0 mmol/L, 6.0 mmol/L, 12.0 mmol/L 钾水平对人参根和叶保护酶、活性氧代谢及膜脂过氧化作用的影响。结果表明不同钾水平条件下, 保护酶系统对钾水平响应的趋势不同。除叶片中 SOD 活性一直呈现显著上升趋势外, 人参根系保护酶 SOD、根叶保护酶 POD 活性均随着钾水平的升高呈现出先升高后下降的趋势, 3.0 mmol/L 的条件下活性最强, 后期主要表现为被动忍耐。根系 SOD、CAT 和 POD 活性小于叶片。CAT 活性与 SOD 和 POD 趋势不同, 呈现出先降低后又升高的趋势, 即主要在缺钾和高钾条件下发挥作用, 6.0 mmol/L 条件下, CAT 活性最低。膜脂过氧化产物 MDA 含量随钾水平的升高先降低之后升高, 6.0 mmol/L 条件下最低。根系 MDA 含量小于叶片 MDA 含量。不同钾水平条件下, SOD、POD、CAT 保护酶相互协调作用共同抵御活性氧损伤, 促进人参健康生长。

关键词: 钾水平; 人参; 保护酶; 脂质过氧化

中图分类号: S567.5⁺¹

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)03-0009-05

Effects of Potassium Levels on the Protective Enzyme Activities, Active Oxygen Metabolism and Lipid Peroxidation in Roots and Leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer

LIU Zhengbo, ZHANG Chungge, LIU Ning, GUAN Yiming, LI Le, SUN Hai, WANG Qiuxia, LI Meijia, ZHANG Yayu*

(Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China)

Abstract: Effects of potassium on protective enzyme activities, active oxygen metabolism and lipid peroxidation in roots and leaves of *Panax ginseng* C. A. Meyer were studied by hydroponics method. Four potassium levels of 0.0 mmol/L, 3.0 mmol/L, 6.0 mmol/L, 12.0 mmol/L were investigated. Results showed that the responses of protective enzyme system under the different potassium levels were different. The SOD activities of leaves in the *P. ginseng* showed an increasing tendency. The activities of SOD (root), POD (roots and leaves) in the *P. ginseng* increased at first, and then decreased with the increase of potassium levels, the highest activities reached at 3 mmol/L, and then presented as passive tolerance. The activities of SOD, CAT and POD in the leaves were significantly greater than those in the roots. The CAT activities were entirely different from SOD and POD, it decreased with the increase potassium levels until 6.0 mmol/L, and then increased. CAT played the mainly role under the deficient potassium levels and high potassium levels. MDA produced by membrane lipid peroxidation decreased with the increase of potassium concentration until 6.0 mmol/L, and then increased. Protective SOD, POD and CAT enzymes coordinated with each other to resist reactive oxygen species and promote healthy growth.

Key words: Potassium level; *Panax ginseng* C. A. Meyer; Protective enzyme; Lipid peroxidation

收稿日期: 2017-03-17

基金项目: 国家自然科学基金(3150111227); 吉林省科技发展计划项目(20140204056YY); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610342016018, 1610342016010)

作者简介: 刘政波(1979-), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事药用植物栽培和质量评价研究。

通讯作者: 张亚玉, 女, 博士, 研究员, E-mail: zyy1966999@sina.com

钾作为植物必须的大量营养元素之一,在作物的生长发育过程中起到重要的作用,钾参与植物体内60多种酶的调控,能促进植物体内的多种代谢反应,增强植物的光合作用和抗逆性,具有促进根系生长、茎干粗壮、延缓衰老的作用,能够提高作物的产量和品质^[1-3]。施用钾肥可以显著提高超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性,降低过氧化物酶(POD)活性和膜脂过氧化作用^[4]。

人参(*Panax ginseng* C. A. Meyer)系五加科人参属植物,富含淀粉、糖类、皂苷类物质,具有很高的食、药用价值,誉为“百草之王”,人参喜钾,对钾的吸收量远远大于氮和磷,钾肥是决定人参高产与否的重要因素。近年来关于钾素营养对人参生理影响方面的研究主要集中在对人参的品质和产量上^[5],但不同钾浓度对人参体内地上部分和地下部分生长的影响研究较少。本研究选用二年生人参苗进行室内水培试验,研究其在不同供钾水平下的人参根系和叶片保护酶活性以及膜脂过氧化作用的影响,揭示钾营养对人参生长发育的影响机制。同时,也为更好地利用钾肥,提高人参产量提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验时间、地点

试验于2015年10~12月在中国农业科学院特产研究所药用植物生理实验室进行水培处理和参数测定。

1.2 试验材料

选取长势基本一致、无病虫害的2年生人参苗为试验材料。

1.3 试验设计与方法

1.3.1 试验设计

水培试验于2015年10月在中国农业科学院特产研究所药用植物生理实验室进行,将生长一致的人参苗,用去离子水冲洗干净,用500倍多菌灵溶液浸泡消毒10 min, 植苗于规格为12 cm×20 cm×16 cm(底径×上口径×高)的避光塑料盆中,用海绵将人参苗固定在聚乙烯泡沫板上,放置在不同浓度的营养液中,每盆栽植5株,试验共设4个浓度钾肥处理。每个处理重复3次。为了除去潜在的由施、灌溉条件对人参生长和生理产生的交互影响,营养液采用Hoagland营养液不完全营养液配方,对应于完全营养液配方。把完全营养液中 KH_2PO_4 改用 NaH_2PO_4 , KNO_3 改用 NaNO_3 。钾水平以 K_2SO_4 调节,大量元素配方,除钾离子浓度

外,完全营养液中各离子浓度与缺钾营养液中各离子浓度完全相同。微量元素种类及用量采用通用配方。营养液配制用水均为去离子水。施钾水平(K)的确定,分别为:K-0(0.0 mmol/L),低钾K-2(钾浓度为3.0 mmol/L),正常钾K-3(钾浓度为6.0 mmol/L),高钾K-4(钾浓度为12.0 mmol/L)。试验期间断向营养液中供氧,试验期间每隔7 d换一次营养液,调节营养液的pH为6.0~6.9,每盆栽营养液1 L。水培处理4周,对照组出现明显缺钾症状时,每处理取10株进行相关测定。

1.3.2 试验指标和方法

超氧阴离子的测定、超氧化物歧化酶(SOD)活性测定、过氧化物酶(POD)活性测定、过氧化氢酶(CAT)(酶活性以每克鲜重样品1 min内分解 H_2O_2 的毫克数表示)活性测定具体参照李合生等高锰酸钾滴定法^[6]。丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥法测定,MDA含量以每克鲜重组织中MDA的微摩尔数表示。

1.4 数据处理

采用Excel 2007进行图表绘制,采用SAS 8.01对试验数据进行单因素方差(ANOVA)分析、邓肯氏复极差测验法(Duncan's Multiple-Range Test)进行显著性检验($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同浓度钾对人参活性氧代谢的影响

2.1.1 不同浓度钾对人参超氧阴离子产生的影响

超氧阴离子自由基是抗氧化活性具体表现因素之一,正常情况下细胞超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)的产生和清除处于动态平衡状态,它的浓度很低不会引起伤害。但是不同胁迫下这种动态平衡破坏,对植物细胞产生伤害。图1的结果表明不同钾浓度条件下,人参根中超氧阴离子随着钾浓度的增加呈现先降低之后升高的趋势,6.0 mmol/L的时候超氧阴离子产生速率最低。人参叶中的超氧阴离子和根的趋势基本相同,也是先降低后升高,在3.0 mmol/L的时候超氧阴离子产生速率最低,高钾12.0 mmol/L的条件下超氧阴离子含量急剧增加,增加幅度远远超出人参根的含量。说明不同钾水平条件下,超氧阴离子根和叶的产生速率总体上保持大致平衡的趋势,即前期根产生高,叶片产生低,后期根部产生少,叶片产生高,可能是长期处理条件下根部慢慢适应钾环境的结果,也可能是一个由地下部到地上部过渡反应的结果,不同处理之间差异显著($P<0.05$)。

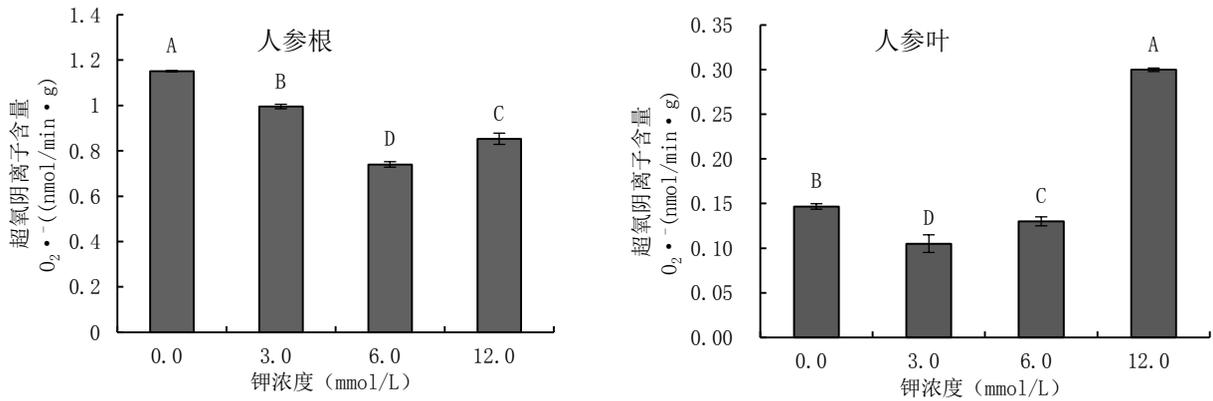


图1 钾水平对人参超氧阴离子($O_2\cdot^-$)含量的影响

2.2 不同浓度钾对人参保护酶活性的影响

2.2.1 不同浓度钾对人参SOD活性的影响

SOD是植物氧化代谢中一种极为重要的酶,能有效地清除植物体多余的活性氧自由基,它歧化 $O_2\cdot^-$ 为 H_2O_2 和 O_2 ,从而使植物体保持旺盛的生长^[7]。从图2可以看出,各钾水平下,人参根部和叶子SOD酶活性变化趋势不同,人参根部从0.0~3.0 mmol/L条件下SOD的含量上升,6.0 mmol/L条件下最高,之后随着钾水平的提高,SOD下降。说

明适宜钾用量提高了SOD的活性,改善了细胞中活性氧产生与清除之间的平衡,使人参根系保持正常的生理功能,从而维持植株旺盛的生长,延缓植株衰老;而钾过量人参根系清除活性氧的能力下降,从而产生负效,但叶片SOD活性一直呈现增高趋势,说明叶片清除活性氧的能力较强,可能是地上部分为适应根部高钾应激产生的保护作用。

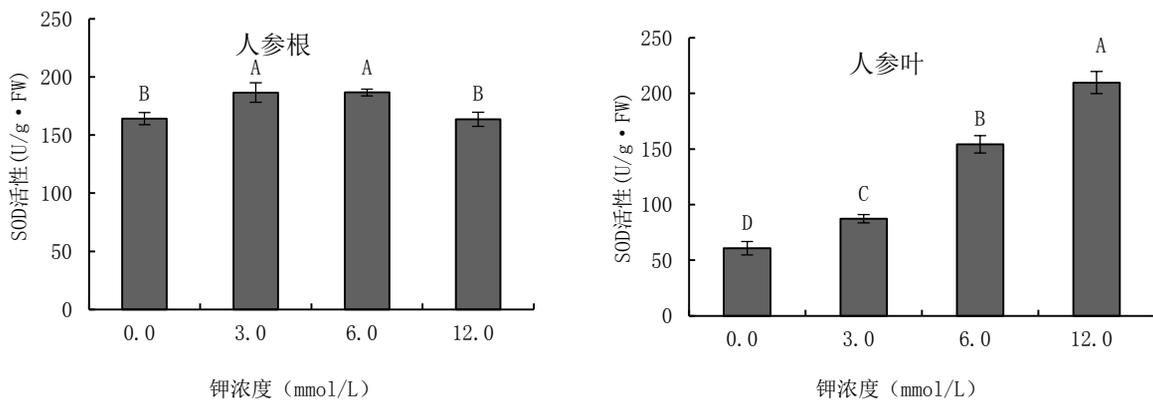


图2 钾水平对人参SOD活性的影响

2.2.2 不同浓度钾对人参POD活性的影响

POD也是植物体内的抗氧化酶系统的重要组成部分,与叶绿素降解和膜脂过氧化有关,能减轻细胞内活性氧对细胞膜的伤害^[8]。从图3可知,随施钾水平的提高,人参根和叶片趋势基本一致,POD活性呈现出先增加后降低的趋势,3.0 mmol/L条件下最高之后下降,但人参叶片0.0~6.0 mmol/L条件下POD活性差异不显著。人参叶片POD的含量显著高于根部,除了3.0 mmol/L,对应浓度条件下均超过根部两倍以上,根部不同钾水平条件下差异较大,均达到显著水平。

2.2.3 不同浓度钾对人参CAT活性的影响

CAT是一种能将 H_2O_2 分解成 H_2O 和 O_2 的过氧化氢酶,它对于减轻逆境胁迫条件下活性氧损伤起到非常重要的作用。清除 H_2O_2 的酶类为CAT和POD,前者不需要还原力且具有较高的酶活速率,但对 H_2O_2 的亲合力较弱;后者需要还原性底物,并对 H_2O_2 具有较高的亲合力^[9]。从图4可以看出人参根和叶中CAT活性随着钾水平的提高呈现出先降低,而后又升高的趋势,高钾12.0 mmol/L的条件下达到最大值,根在6.0 mmol/L时活性最低,叶在3.0 mmol/L时活性最低。

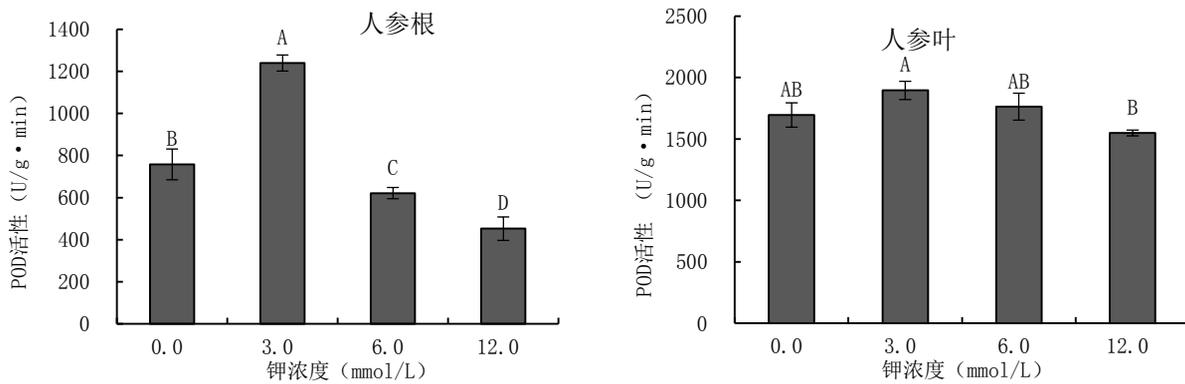


图3 钾水平对人参POD活性的影响

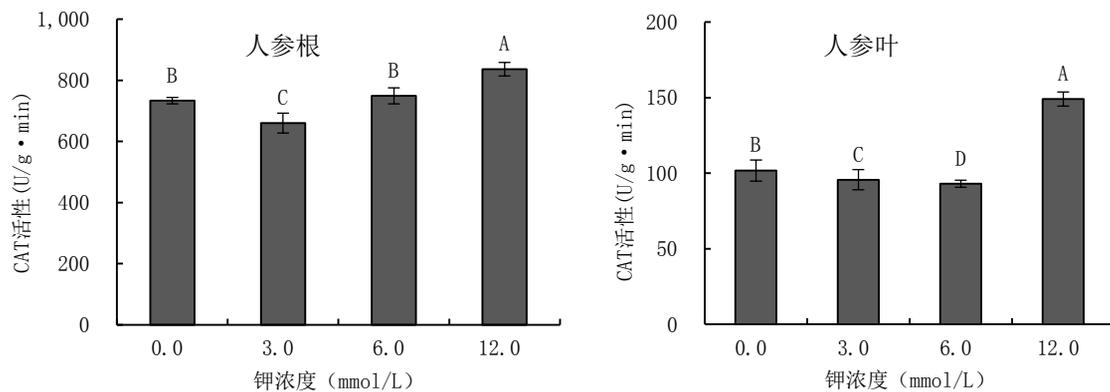


图4 钾水平对人参CAT活性的影响

2.3 不同浓度钾对人参膜脂过氧化作用的影响

2.3.1 不同浓度钾对人参MDA含量的影响

MDA是膜脂过氧化产物之一,常以它的含量作为判断膜脂过氧化程度的指标,是膜系统受伤的重要标志之一。本试验中,人参根和叶中MDA的变化趋势趋于一致,即钾浓度低于6.0 mmol/L时,随着钾浓度的降低,MDA含量逐渐升高,当钾浓度为大于6.0 mmol/L的时,MDA含量显著升高。叶中MDA的含量高于人参根,可见叶片MDA含量对不同钾浓度的响应要强于根系对钾

的响应强度。人参叶片缺钾处理MDA含量最高达 $0.032\mu\text{mol/g}$,而根系MDA浓度仅为 $0.012\mu\text{mol/g}$,叶中MDA的含量是根部的2.6倍左右,浓度6.0 mmol/L时,人参的膜脂过氧化最低。可见,在低钾和高钾水平下,植物的组织膜系统均受到不同程度的损伤,从图5来看,低钾对人参细胞膜的损伤要高于高钾对细胞膜损伤的程度,人参根部是接触钾处理的直接部位,但对根的膜质损伤程度要远远小于叶片,叶片中MDA的含量大约是根的1~2倍,且差异显著。

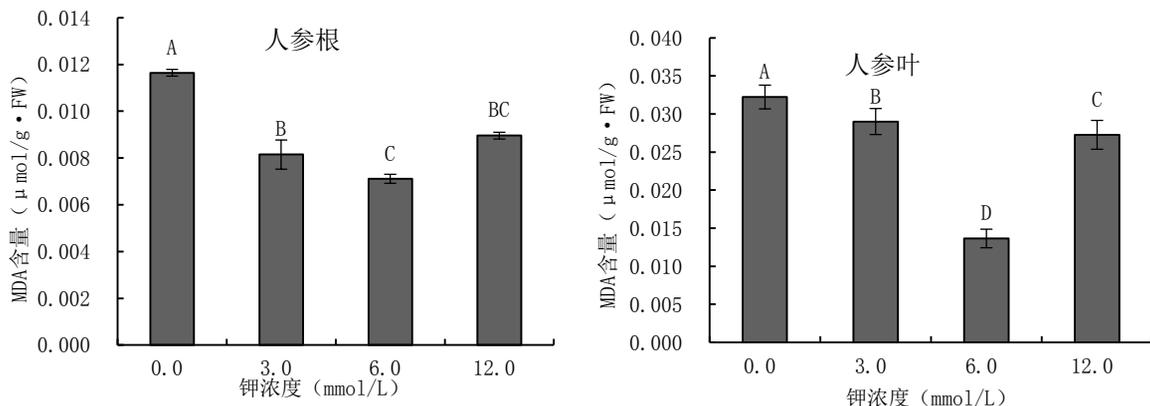


图5 钾水平对人参MDA含量的影响

3 讨 论

3.1 在一定的含量范围内,MDA是膜脂伤害程度的重要指标,MDA是脂质过氧化的最终产物,脂质过氧化程度可以通过MDA的浓度反映。MDA积累过多,会破坏膜结构,损伤大分子生命物质,引起一系列生理生化紊乱,导致植物死亡^[10]。本试验结果表明,6.0 mmol/L的钾水平,MDA含量最低,膜脂过氧化作用最低。伴随着钾水平的降低,和钾水平的升高,生物膜脂质过氧化加剧,膜脂过氧化产物MDA含量有增加的趋势。说明超过适宜人参生长的钾浓度条件下,随着受低、高钾胁迫的程度不断加重,活性氧代谢平衡被打破,产生了过剩的活性氧,加剧膜脂过氧化作用,造成MDA含量的增加。

3.2 SOD、POD和CAT是生物体内活性氧防御系统的主要保护酶系统,可以有效清除组织细胞中的活性氧,减轻活性氧累积对细胞膜造成的伤害,从而延缓细胞衰老。较高的抗氧化酶活性,能有效抑制膜脂氧化和活性氧的产生,延缓物质的代谢^[11]。本试验结果表明,不同钾水平条件下,人参根部SOD、POD活性随着钾浓度的增加先上升后降低的趋势,CAT呈现降低之后又升高的“V”字形趋势。SOD、POD活性的增加是人参对不同钾水平应激产生的保护作用,随着二者的升高,歧化活性氧自由基,降低膜脂过氧化反应,但是当达到高钾水平时,保护酶活性下降,超氧阴离子自由基增加,促进了膜脂过氧化,使得MDA的含量增加。可能是因为自由基活性氧浓度未超过伤害“阈值”时,保护酶会表现出积极应对;而超过“阈值”后,保护酶则以被动忍耐为主,进一步促使了膜脂过氧化,使丙二醛含量增加,MDA积累又抑制了SOD、POD和CAT的活性,从而使保护酶系统丧失功能,进一步加重膜系统受损^[12]。

3.3 从试验结果看,人参不同钾水平培养下,0.0~3.0 mmol/L钾条件下,人参根部活性氧防御系统的主要保护酶SOD、POD比较活跃,发挥了主要的先锋作用。SOD、POD活性均先上升后下降,说明适量增施钾肥能提高人参根系SOD、POD的活性,促进了人参健康生长。叶片中SOD、POD活性显著高于根部,且叶片中SOD一直处于上升趋

势,这可能是对根部吸收钾的应激反应,也在一定程度上反映出人参耐高钾特性。CAT在根部和叶部均出现先降低后升高的趋势,说明CAT对低钾和高钾条件下比较敏感,这与文献报道的CAT主要在胁迫后阶段起作用相一致^[13]。

3.4 通过研究不同钾水平对人参根和叶中活性氧代谢以及膜脂过氧化作用的影响,结果表明不同钾水平条件下对人参相关的抗氧化保护酶活性、膜脂过氧化等具有显著影响。表明不同钾水平条件下人参中的抗氧化酶协同作用,降低活性氧水平和膜脂过氧化程度。这对促进人参健康生长有着重要作用。

参考文献:

- [1] Zain NAM, Ismail MR. Effects of potassium rates and types on growth, leaf gas exchange and biochemical changes in rice (*Oryza sativa*) planted under cyclic water stress [J]. *Agricultural Water Management*, 2016, 164(1): 83-90.
- [2] 焉 莉,冯国忠,高 强,等.丰水年施钾量对不同肥力土壤玉米产量的影响[J]. *吉林农业科学*, 2014, 39(2): 37-41, 56.
- [3] 徐 博,刘 卓,王英哲,等.氮、磷、钾肥对紫花苜蓿草产量的影响[J]. *吉林农业科学*, 2015, 40(6): 47-50.
- [4] 王晓光,王 岩,李兴涛,等.低钾胁迫对大豆叶片膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. *中国油料作物学报*, 2010, 32(4): 512-517.
- [5] 黄瑞贤,吕 昕,黄祖兴,等.追施钾肥对人参生长及产量的影响[J]. *人参研究*, 2016, 28(1): 38-40.
- [6] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:1-278.
- [7] 叶利民.硅对盐胁迫下水稻幼苗保护酶活性和离子吸收的影响[J]. *吉林农业科学*, 2012, 37(3): 22-24.
- [8] 窦永秀.水稻结实期抗倒性评价及倒伏对产量与品质影响的研究[D].扬州:扬州大学,2008.
- [9] 杜秀敏,殷文璇,赵彦修,等.植物中活性氧的产生及清除机制[J]. *生物工程学报*, 2001, 17(2): 121-125.
- [10] 利容千,王建波.植物逆境细胞及生理学[M].武汉:武汉大学出版社,2002:1-467.
- [11] Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants [J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2010, 48(12): 909-930.
- [12] 葛体达,隋方功,白莉萍,等.长期水分胁迫对夏玉米根叶保护酶活性及膜脂过氧化作用的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2005, 23(3): 18-23.
- [13] 王 玲.两种彩叶女贞对SO₂胁迫的生理响应研究[D].成都:四川农业大学,2015.

(责任编辑:王 昱)