

## 不同水平磷对磷饥饿墨兰某些 生化特性的影响

梁旭野\* 潘瑞炽

(华南师范大学国兰研究中心, 广州 510631)

### 摘 要

本文研究不同水平磷对磷饥饿墨兰 [*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.] 植株某些生化特性的影响。随着  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  浓度的增高, 植株中的无机磷酸、磷脂酸、肌醇六磷酸、磷酸己糖、高能磷酸化合物和核酸等的含量都有不同程度的提高, 其中以肌醇六磷酸提高最显著。酸性磷酸酯酶活性与磷浓度呈负相关。0.20mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  可能基本满足墨兰植株生长的要求。缺磷时叶片的蛋白质、无机磷酸和可溶性糖的含量较低, 而游离氨基酸和淀粉的含量较高。因此, 缺磷条件下生长的植株矮小的原因, 可能主要是缺乏蛋白质。

关键词: 墨兰; 磷水平; 磷化合物; 蛋白质; 淀粉; 可溶性糖

墨兰 [*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.] 又名报岁兰, 在我国南方春节开花, 深受群众欢迎, 也是外销花卉之一。要加快繁殖和提高品质, 必需了解其对矿质元素的要求。本文是墨兰矿质营养系列研究之一。关于氮素和磷素对墨兰生长发育和生理的影响, 已另有报道<sup>[5, 6]</sup>。本文则阐明不同磷营养条件下, 经过磷饥饿的墨兰体内的磷化合物、蛋白质和碳水化合物的含量的变化, 联系植株生长; 并从酸性磷酸酯酶活性去判断植株磷营养水平的高低, 可供栽培参考。

### 材料和方法

**材料培养和管理** 将墨兰植株种植在以蛭石为基质的培养缸内, 进行无土栽培。培养液成分见前文<sup>[5]</sup>。经过磷饥饿处理后, 墨兰植株呈现磷饥饿状态时, 即分别培养在含五种  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  浓度的培养液中, 每组 14 株<sup>[6]</sup>。

**测定方法** 总磷含量的测定参照北京大学生物化学教研室<sup>[1]</sup>的方法, 磷化合物的含量和游离氨基酸含量的测定按波钦诺克<sup>[3]</sup>的方法, 酸性磷酸酯酶活性测定按 Barrett-Lennard 等<sup>[7]</sup>方法, 蛋白质含量测定参照袁晓华等<sup>[4]</sup>方法, 可溶性糖含量用蒽酮法测定, 还原糖含量和淀粉含量用 Somogyi 法测定。以上所有比色测定均用日本岛津 UV-2100 紫外-可见分光光度计。各项测定均重复三次。

广东省科委重点科技研究项目

\* 梁旭野现在通讯处: 茂名市科委

1993-08-20 收稿; 1993-11-28 修回

## 结果和讨论

### 一、磷化合物

随着磷浓度的提高, 墨兰的根、假球茎和叶片的总磷含量都增加。其中叶片的总磷含量最多, 假球茎次之, 根部最少, 可能因为根部不断地把磷向上运输, 因而根部磷含量少 (图1)。

对各种磷化合物的含量测定表明 (表1) 随着  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  浓度加大, 无机磷酸、磷脂酸、肌醇六磷酸 (植素)、高能磷酸化合物、磷酸己糖和核酸都有不同程度的增多。因为无机磷酸在植物体内能形成磷酸甘油, 进一步形成磷脂酸, 再合成肌醇六磷酸<sup>[14]</sup>。肌醇六磷酸 (植素) 是一种主要磷酸贮藏物, 所以磷浓度增高时, 形成较多的植素, 10mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  处理时, 植素比缺磷对照高 30 倍, 是已测定的磷化合物中提高最显著的。在磷饥饿状态下, 糖酵解和呼吸速率会下降<sup>[9, 10, 15]</sup>, ATP 含量也下降<sup>[6]</sup>, 因此, 高能磷酸化合物 (如 ATP 等) 和磷酸己糖的含量也随磷浓度降低而减少, 随磷浓度增高而较明显地增加。磷是核酸的主要成分, 缺磷时, 核酸含量似乎有减少的趋势。

表1 不同磷水平对墨兰叶片磷化合物含量 ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$ ) 的影响 (处理后7个月)

Table 1 Effect of different phosphorus levels on the phosphorus compounds content ( $\text{mg} \cdot 100\text{g}^{-1}\text{FW}$ ) in *C. sinense* leaves\* (7 weeks after treatment)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (mmol/L)	无机磷酸 Inorganic phosphoric acid	磷脂酸 Phosphatidic acid	肌醇六磷酸 Inositol hexaphos- phate	高能磷酸化 合物 High-energy phosphate compound	磷酸己糖 Hexose phos- phate	核酸 Nucleic acid	共计 Total amount
0	10.61±0.27 (100)	7.79±0.14 (100)	0.46±0.27 (100)	4.28±0.04 (100)	1.19±0.06 (100)	4.20±0.03 (100)	28.53 (100)
0.02	27.71±4.29 (261)	9.21±0.32 (118)	2.15±1.50 (467)	5.28±0.09 (123)	1.37±0.11 (115)	4.36±0.08 (104)	50.08 (175)
0.20	53.59±0.89 (505)	12.42±2.46 (159)	6.31±1.09 (1372)	6.60±0.81 (154)	1.47±0.08 (124)	4.17±0.11 (99)	84.56 (296)
1.00	55.98±0.25 (528)	15.50±0.54 (199)	9.71±1.03 (2111)	9.07±0.07 (212)	1.95±0.10 (164)	4.55±0.04 (108)	96.76 (339)
10.00	63.27±0.81 596	15.58±0.15 (200)	14.41±1.65 (3133)	8.97±0.10 (210)	1.75±0.05 (147)	4.85±0.05 (116)	108.84 (381)

\* 一年生枝条的第三叶 3rd leaves of one-year-old shoot

酸性磷酸酯酶是磷代谢关键性酶, 它能分解磷脂, 释放出无机磷酸, 调节体内无机磷, 以便被植物充分利用。从表2可见, 不论以  $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FWmin}^{-1}$  还是以  $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}\text{protein min}^{-1}$  表示酸性磷酸酯酶活性, 随着磷浓度的增高, 根、假球茎和叶片的酸性磷酸酯酶活性都随之降低, 10mmol/L 浓度时根的酶活性仅相当于对照的 11—13%, 叶片为 14—28%, 假球茎较高, 达 28—45%。由此可见, 酸性磷酸酯酶活性与含磷量呈负相关。我们认为, 在缺磷时该酶活性提高, 可充分利用体内贮藏的磷素, 是植株的一种适应性。Besford<sup>[8]</sup>认为, 酸性磷酸酯酶活性可作为植物是否缺磷的重要生化指标。从表2可见, 0.20mmol/L 处理不同叶龄的叶片, 该酶

活性都明显下降, 结合前文<sup>[6]</sup>光合速率在该浓度明显提高, 说明 0.20mmol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  可能基本满足墨兰生长的要求。但能否作为判断墨兰磷营养的生化指标, 有待进一步研究。

表2 墨兰酸性磷酸酯酶活性在不同浓度磷营养中的变化 (处理后5个月)

Table 2 Changes of acid phosphatase activity of *C. sinense* in different phosphorus levels (5 months after treatment)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$ (mmol/L)	酸性磷酸酯酶活性 Acid phosphatase activity							
	$\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}\text{FWmin}^{-1}$				$\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1}\text{protein min}^{-1}$			
	根 Roots	假球茎 Pseudocorms	一年生叶 1-yr-old leaves	二年生叶 2-yr-old leaves	根 Roots	假球茎 Pseudocorms	一年生叶 1-yr-old leaves	二年生叶 2-yr-old leaves
0	1.50(100)*	3.74(100)	8.79(100)	5.51(100)	156.09(100)	354.17(100)	773.09(100)	464.59(100)
0.02	1.03(69)	3.60(96)	6.41(73)	3.69(67)	101.58(65)	260.30(73)	444.52(58)	228.48(49)
0.20	0.57(38)	2.76(74)	3.57(41)	1.71(31)	56.60(36)	193.28(55)	199.89(26)	78.66(17)
1.00	0.32(21)	2.39(64)	3.37(38)	1.62(29)	36.04(23)	104.64(30)	181.87(24)	68.47(15)
10.00	0.20(13)	1.69(45)	2.50(28)	1.02(20)	16.79(11)	100.12(28)	182.75(24)	65.49(14)

由里往外数第二叶 2nd leaves counted from inside to outside

\* 相对百分率 relative%

## 二、游离氨基酸和蛋白质

缺磷时, 墨兰的假球茎和叶片的游离氨基酸含量较高。随着磷浓度的提高, 游离氨基酸含量有降低的趋势(表3)。根的游离氨基酸含量在缺磷时较低, 0.02mmol/L 处理时最高, 磷浓度再增高则含量下降。有资料表明<sup>[11]</sup>, 缺磷时, 根的游离氨基酸会外排。这可能是缺磷植株根的游离氨基酸含量较低缘故。

表3 不同磷水平对墨兰游离氨基酸和蛋白质含量的影响 (处理后4个月)

Table 3 Effect of different phosphorus levels on the contents of free amino acid and protein in *C. sinense* (4 months after treatment)

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$ mmol/L	游离氨基酸 Free amino acid ( $\mu\text{g N} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )			蛋白质 Protein ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}\text{FW}$ )		
	根	假球茎	叶片*	根	假球茎	叶片*
	Roots	Pseudocorms	Leaves	Roots	Pseudocorms	Leaves
0	289.17±7.71	748.01±11.24	236.79±3.27	25.42±0.41	24.33±0.56	16.05±0.30
0.02	532.67±14.70	588.55±17.32	125.61±5.25	24.85±0.06	28.81±0.32	19.45±0.28
0.20	445.29±5.48	432.78±10.11	94.81±2.73	26.88±0.65	34.30±1.86	27.70±0.73
1.00	494.64±3.72	422.79±9.79	103.79±11.12	25.01±0.61	42.05±0.63	45.96±2.02
10.00	467.46±19.63	458.64±3.24	173.38±5.78	26.97±0.12	39.41±0.25	27.54±0.07

\* 一年生枝条的第二叶 2nd leaves of 1-yr-old shoot

表3表明, 供给不同水平磷素时, 对墨兰根的蛋白质含量基本上没有影响, 但显著地影响假球茎和叶片中蛋白质的含量。缺磷时, 假球茎和叶片的蛋白质含量最低, 随着磷浓度的

提高,蛋白质含量也提高。1.00mmol/L处理时达到高峰,继续提高磷素水平时,蛋白质含量略有下降。由此可见,缺磷状态下的墨兰生长缓慢,植株矮小,原因之一可能是蛋白质合成少。由于磷是氮代谢过程中的酶的组分,所以磷素供应不足时,蛋白质合成受阻,积累较多游离氨基酸<sup>[2,9]</sup>。

### 三、可溶性糖、还原糖和淀粉

磷营养与碳水化合物代谢是密切相关的<sup>[12,16]</sup>。从图2可以看出,缺磷植株的假球茎和根中的可溶性糖含量较高,随着磷浓度的增高,可溶性糖含量有降低的趋势。叶片则相反。对照植株叶片中的可溶性糖含量较低,随着磷水平的提高,可溶性糖含量也随着升高,1mmol/L时到达高峰,10mmol/L时则略有下降。假球茎的可溶性糖含量最高,根次之,叶片最低。

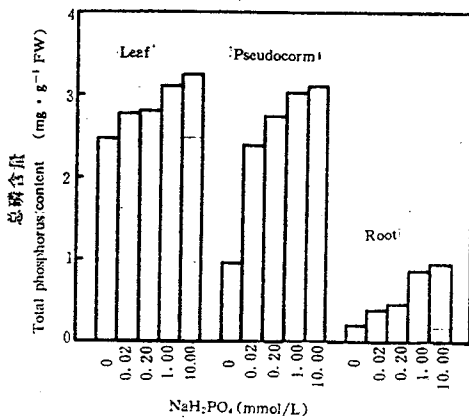


图1 不同磷水平对墨兰总磷含量的影响

Fig. 1 Effect of different phosphorus levels on total phosphorus content in *C. sinense*

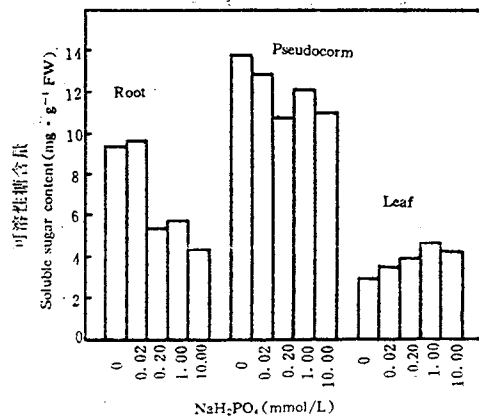


图2 不同磷水平对墨兰可溶性糖含量的影响

Fig. 2 Effect of different phosphorus levels on soluble sugar content in *C. sinense*

不同磷浓度处理的墨兰叶片的还原糖含量变化与其可溶性糖含量变化相似,即随着磷浓度上升而增多,但10.00mmol/L处理则略微下降。假球茎和根中的还原糖含量以0mmol/L处理最高,当提高磷浓度时,这两种器官的还原糖含量都比0mmol/L处理下降得多(图3)。墨兰植株各器官的还原糖含量较少,占可溶性糖的比例较小,因此非还原糖(如蔗糖)的变化在可溶性糖的变化中起主要作用。

至于淀粉含量,缺磷植株假球茎和叶片中最多,随着磷浓度增高,淀粉含量不断减少。根部淀粉含量在各种磷营养条件下,变化不明显(图4)。不同器官的淀粉含量不同,假球茎最多,叶片其次,根最少。从假球茎的各种碳水化合物的含量都比根和叶片高的事实,可知假球茎是墨兰植株的主要养分贮藏器官。

从上述三种碳水化合物测定结果可以看出,在缺磷或低磷条件下生长的墨兰叶片,积累较多淀粉而可溶性糖含量则下降,导致淀粉/可溶性糖的比值显著提高。淀粉/可溶性糖比值高的现象可能与淀粉和蔗糖代谢酶的活性变化有关。Fredeen等<sup>[10]</sup>报道,低磷营养液培养的大

豆幼苗,其叶片的UDPG-焦磷酸化酶和ADPG-焦磷酸化酶的活性比高磷营养液培养的活性分别高96%和44%,而低磷处理的蔗糖磷酸合成酶活性则比高磷处理低56%,所以,低磷处理的淀粉含量高于高磷处理,而蔗糖含量则低于高磷处理。有资料表明,低磷可抑制浮萍叶绿体中碳水化合物的输出<sup>[17]</sup>。Rao等<sup>[13]</sup>也认为,缺磷导致甜菜叶片的碳用于合成淀粉的比例增加,所以淀粉积累较多。前文<sup>[6]</sup>报道,在缺磷或低磷条件下生长的墨兰植株较矮。

结合上述分析,缺磷处理叶片的无机磷酸、蛋白质和可溶性糖的含量较低,而淀粉和游离氨基酸的含量比较丰富。因此,缺磷或低磷处理之所以抑制墨兰植株生长,可能主要是缺少蛋白质的缘故。

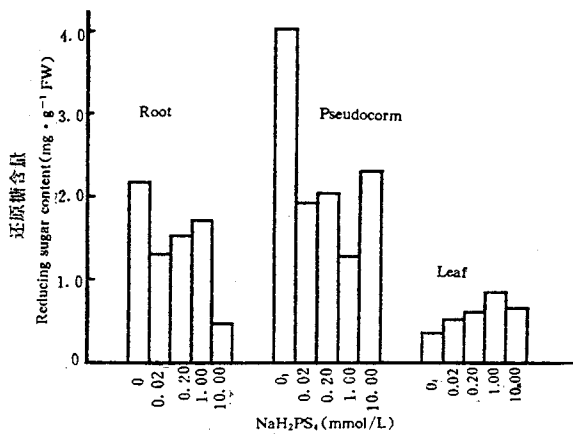


图3 不同磷水平对墨兰还原糖含量的影响

Fig. 3 Effect of different phosphorus levels on reducing sugar content in *C. sinense*

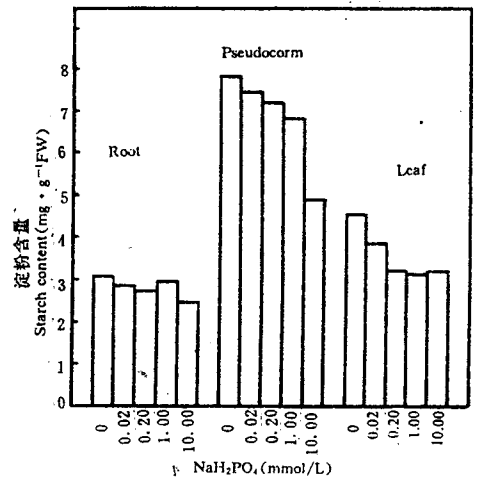


图4 不同磷水平对墨兰淀粉含量的影响

Fig. 4 Effect of different phosphorus levels on starch content in *C. sinense*

## 参 考 文 献

- 1 北京大学生物系生物化学教研室. 生物化学实验指导. 北京: 人民教育出版社, 1979; 203—204
- 2 金成忠, 景国安. 小麦幼苗根系的氨基酸对于地上部分蛋白质合成的意义. 实验生物学报, 1963; 8: 594—601
- 3 波钦诺克, 荆家海, 丁钟荣译. 植物生物化学分析方法. 北京: 科学出版社, 1981; 309—316
- 4 袁晓华, 杨汉中. 植物生理生化实验. 北京: 高等教育出版社, 1984; 217—232
- 5 潘瑞炽, 陈俊贤. 硝态氮和铵态氮对墨兰生长发育的影响. 云南植物研究, 1994; 16 (3); (排印中)
- 6 潘瑞炽, 梁旭野. 不同水平磷对磷饥饿墨兰生长发育及某些生理特性的影响. 热带亚热带植物学报, 1993; 1 (1): 71—77
- 7 Barrett-Lennard E G, Robson A D, Greenway H. Effect of phosphorus deficiency and water deficit on phosphatase activities from wheat leaves. J Exp Bot, 1982; 135: 682—693
- 8 Besford R T. Effect of phosphorus supply on acid phosphatase activity in the leaves of tomato plants. Sci Hort, 1978; 9: 303—309
- 9 Duff S M G, Moorhead G B G, Lefebvre D D et al. Phosphate starvation inducible 'Bypasses' of adenylate and phosphate dependent glycolytic enzymes in *Brassica nigra* suspension cells. Plant Physiol, 1989; 90: 1275—1278
- 10 Fredeen A I, Rao I M, Terry N. Influence of phosphorus nutrition on growth and carbon partitioning in *Glycine max*. Plant Physiol,

- 1989; 89; 225-230
- 11 Goldstein A H, Mayfield S P, Danon A et al. Phosphate starvation inducible metabolism in *Lycopersicon esculentum*. II. Changes in protein secretion under nutrition stress. *Plant Physiol*, 1989; 91; 175-182
  - 12 Hart A L, Greev D H. Photosynthesis and carbon export in white clover plant grown at various levels of phosphorus supply. *Physiol Plant*, 1988; 73; 46-51
  - 13 Rao I M, Arulanantham A R, Terry N. Leaf phosphate status, photosynthesis and carbon partitioning in sugar beet. II. Diurnal changes in sugar phosphates, adenylates, and nicotinamide nucleotides. *Plant Physiol*, 1989; 90; 820-826
  - 14 Taiz L, Zeiger E. *Plant Physiology*. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. 1991; 287
  - 15 Theodorou M E, Elrifii I R, Turpin D H et al. Effects of Phosphorus limitation on respiratory metabolism in the green alga *Selenastrum minutum*. *Plant Physiol*, 1991; 95; 1089-1095.
  - 16 Theodorou M E, Plaxton W C. Metabolic adaptations of plant respiration to nutritional phosphate deprivation. *Plant Physiol*, 1993; 101; 339-344
  - 17 Thorsteinsson B, Tillberg J E. Carbohydrate partitioning, photosynthesis and growth in *Lemna gibba* Gs. II. Effects of phosphorus limitation. *Physiol Plant*, 1987; 71; 271-276.

## INFLUENCE OF DIFFERENT PHOSPHORUS LEVELS ON SOME BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS IN *CYMBIDIUM SINENSE* FOLLOWING PHOSPHORUS STARVATION

Liang Xuye Pan Ruichi

(Research Center for Chinese Orchids, South China Normal University, Guangzhou 510631)

### Abstract

Influence of different phosphorus levels on some biochemical characteristics in phosphorus-starved *Cymbidium sinense* (Andr.) Willd. was studied. It was found that the amounts of inorganic phosphoric acid, phosphatidic acid, inositol hexaphosphate, hexose phosphate, high-energy phosphate compound and nucleic acid in plant were increased to different extent with increasing  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  concentration. The acid phosphatase activity negatively related to phosphorus concentration, and  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  at 0.02 mmol/L may basically satisfy the requirement of the plant growth. We observed that leaf had lower contents of protein and soluble sugar and higher contents of free amino acid and starch during phosphorus deficiency. Hence, the reduction of plant height in *C. sinense* plant grown in Pi deficiency medium may primarily be caused by the deficiency of protein.

**Key words:** *Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.; Phosphorus compounds; phosphorus level; Protein; Starch; Soluble sugar