

## 不同钾水平对钾饥饿墨兰碳水化合物和蛋白质含量的影响

陈健源 潘瑞炽 温兆清

(华南师范大学国兰研究中心, 广州 510631)

### 摘 要

墨兰 [*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.] 植株经过钾饥饿后, 无土栽培于不同钾浓度的培养液中。随着钾浓度的升高 (5mmol/L), 体内可溶性糖、淀粉、纤维素和蛋白质含量比对照分别增加 125、117、127 和 41%, 而还原糖和游离氨基酸含量则比对照分别下降 44% 和 24%。假球茎是贮藏还原糖、可溶性糖、淀粉、游离氨基酸和蛋白质的主要器官, 叶片是纤维素最多的器官。钾供应充足时, 叶片丙酮酸激酶活性明显加强 (比对照强 15 倍), 而硝酸还原酶活性也加强 (比对照强 0.8 倍)。本文对钾促进墨兰生长发育和抗病等原因加以讨论, 并初步提出诊断墨兰体内钾状况的三种生理指标。

关键词: 墨兰; 钾; 碳水化合物; 蛋白质; 丙酮酸激酶活性

墨兰 [*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.] 叶莹润, 花幽香, 有观叶赏花价值, 加之多数在农历岁末开花, 故深受人们喜爱。前文<sup>[3]</sup>报道墨兰体内钾含量高于氮和磷含量, 钾促进光合、呼吸和根素活力, 导致叶片生长较快, 花较多, 褐斑病发病率低。本工作进一步探讨不同钾水平对墨兰体内碳水化合物和蛋白质含量的影响。此外, 由于丙酮酸激酶是糖酵解的关键酶, 与碳水化合物代谢密切相关; 而硝酸还原酶促进氨的形成, 与蛋白质合成有关, 因此本文亦测定不同钾水平中这两种酶的活性变化, 以便从生化角度去阐明钾在墨兰生长发育中所起的作用。

### 材料和方法

**材料的培养和处理** 墨兰植株无土栽培在缺钾溶液中, 2 个月后分别转到含 0、0.1、1、5 和 10mmol/L KCl (简称 K<sub>0</sub>、K<sub>0.1</sub>、K<sub>1</sub>、K<sub>5</sub> 和 K<sub>10</sub>) 的培养液 (其他营养成分和浓度相同) 中, 正常栽培管理<sup>[3]</sup>。

#### 测定方法

**碳水化合物含量测定** 取根、假球茎和叶的干粉各 0.1g, 80% 乙醇提取, 抽滤 (绿色组织加少量活性碳脱色), 滤液用 10% NaOH 调至碱性, 加 5 ml 0.15 mol/L Ba(OH)<sub>2</sub> 和 5 ml 5% ZnSO<sub>4</sub>, 定容到 50ml。贮冰箱待用。可溶性糖含量用蒽酮比色法<sup>[2]</sup>测定。还原性糖含量用

砷钼酸比色法<sup>(2)</sup>测定。滤渣中加入2% HCl水解淀粉,其残渣再用36% HCl水解纤维素,最后用砷钼酸法测出淀粉和纤维素含量。

**蛋白质含量测定** 取根、假球茎和叶各0.5g,于50 mmol/L磷酸缓冲液(pH7.0)中匀浆,4000 xg离心10 min,反复3次,收集上清液,定容25 ml。取1 ml加预冷丙酮4 ml,低温下静置2 h,4000 xg离心15 min。沉淀保存于2 ml的0.85% NaCl中。测定时取0.2 ml提取液,按Peterson(1977)改良Lowry法<sup>(3)</sup>进行,于650 nm处比色。以牛血清清蛋白作标准曲线。

**游离氨基酸含量测定** 取根、假球茎和叶各0.5 g,加5 ml 10%乙醇研磨,四层纱布过滤,定容25 ml。吸取2 ml于刻度试管,按茚三酮比色法测定游离氨基酸含量。于580 nm处比色测定。对照用水,以标准亮氨酸作标准曲线。

**丙酮酸激酶活性测定** 根据Ireland等<sup>(7)</sup>方法进行。取根、假球茎和叶各5 g。新鲜材料按1:10(w/v)加入预冷提取液,冰浴研磨。提取液为100 mmol/L Tris-HCl缓冲液(pH7.5),其中含20%乙二醇和2 mmol/L二硫苏糖醇。提取30 min,8层纱布过滤,25000 xg离心10 min,上清液用于酶的测定。反应液含0.5 mmol/L ADP,0.5 mmol/L PEP,10 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,50 mmol/L KCl,0.1 mmol/L NADH,过量的乳酸脱氢酶。对照不加ADP。该酶活性以 $\mu\text{mol}$ 丙酮酸 $\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质 $\text{min}^{-1}$ 来表示。

**硝酸还原酶活性测定** 取根、假球茎和叶各5 g。酶提取液为25 mmol/L磷酸缓冲液(pH7.5),基中含5 mmol/L半胱氨酸,5 mmol/L EDTA-Na<sub>2</sub>。样品在20 ml冷提取液提取,过滤,25000 xg离心10 min。上清液即为粗提取液。硝酸还原酶活性测定依Sherrard等方法<sup>(9)</sup>。于530 nm处比色测定。空白对照以蒸馏水代替NADH,以NaNO<sub>2</sub>作标准曲线。

以上测定所有比色都用岛津UV-2100紫外—可见光光度计测定。离心是用Beckman低温高(或超)速离心机。牛血清清蛋白为Serva公司产品。以上测定均重复3次以上。

## 实验结果

### 一、碳水化合物含量

从图1可见,墨兰体内的还原糖含量随处理时间的延长而升高。在处理3个月,不同钾浓度处理的差异不明显,处理后5个月差异加大,处理后7个月差异最显著。其中以K<sub>0</sub>的还原糖最多,K<sub>0.1</sub>次之,其余3个处理(K<sub>1</sub>、K<sub>5</sub>和K<sub>10</sub>)显著下降。在不同钾水平处理中,都是假球茎的还原糖含量最高,根次之,叶最少。

随着处理时间推移,可溶性糖含量亦逐渐增多。在同一处理时间内,可溶性糖含量基本上随钾浓度升高而增多(图1)。可溶性糖是由还原糖和非还原糖组成,有理由推断,随着钾水平升高,还原糖转变为可溶性糖过程加强。在各器官之间的可溶性糖含量也是假球茎最高,根次之,叶最低。

叶片中还原糖在可溶性糖中所占的百分比随钾浓度增加而下降(表1)。这个百分比可说明叶片钾素状况:超过60%表明缺钾,50—60%则低钾,少于50%表示含钾正常。

随着植株生长,墨兰体内淀粉含量增加。在同一时间中,K<sub>0</sub>处理至K<sub>5</sub>处理的淀粉含量随

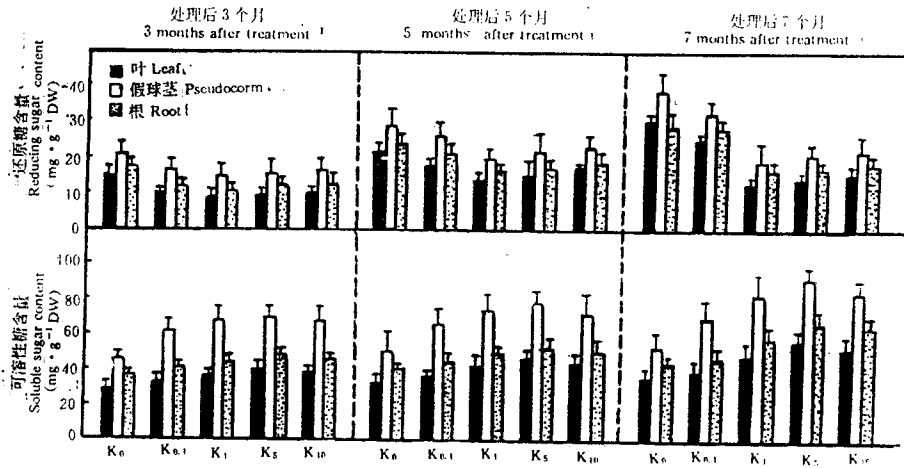


图1 不同钾水平对墨兰体内还原糖和可溶性糖含量的影响

Fig. 1 Effects of different K levels on contents of reducing sugar and soluble sugar in *Cymbidium sinense*

图2-4 图例同图1

Fig. 2-4 symbols are the same as those in Fig. 1

表1 不同钾水平对墨兰叶片中还原糖在可溶性糖中的百分比的影响

Table 1 Effects of different K levels on the % of reducing sugar/soluble sugar in leaves of *C. sinense*

测定时间 Time of measurement	K <sub>0</sub>	K <sub>0.1</sub>	K <sub>1</sub>	K <sub>5</sub>	K <sub>10</sub>
处理后3个月 3 months after treatment	51.8	31.3	25.0	22.5	26.3
处理后5个月 5 months after treatment	65.6	48.6	33.3	32.6	36.4
处理后7个月 7 months after treatment	80.0	62.5	27.1	25.0	28.8

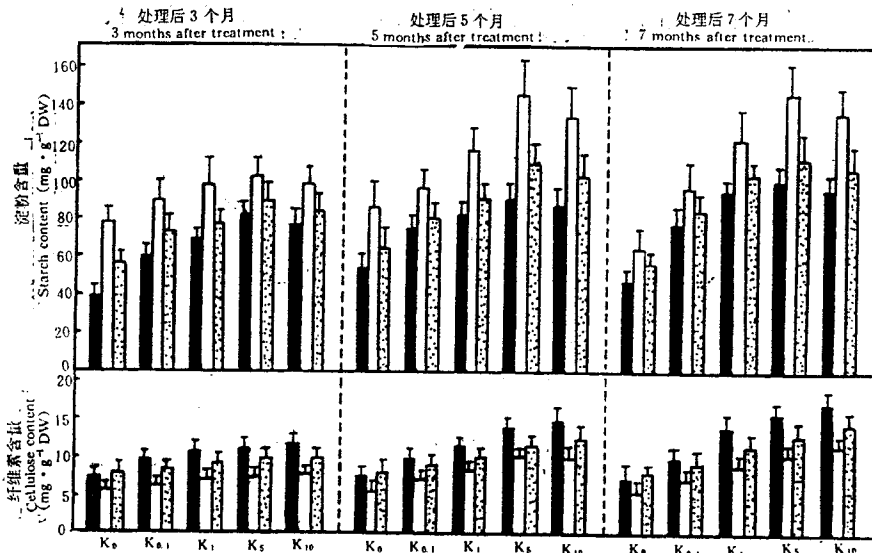


图2 不同钾水平对墨兰体内淀粉和纤维素含量的影响

Fig. 2 Effects of different K levels on contents of starch and cellulose in *C. sinense*

钾浓度升高而增加,  $K_5$  处理最多, 但  $K_{10}$  处理的淀粉含量则略为下降 (可溶性糖和蛋白质含量也有同样的变化)。不同器官的淀粉含量也是假球茎比根多, 比叶更多 (图 2)。

随着处理时间的推移, 墨兰体内纤维素含量亦增加。钾水平升高时, 各器官纤维素含量均增。至于不同器官的纤维素含量则与上述 3 种碳水化合物不同, 叶最多, 根其次, 假球茎最少 (图 2)

## 二、蛋白质含量

随着植株生长, 墨兰处理后 6 个月的蛋白质含量高于处理后 4 个月的。在不同钾浓度之间,  $K_0$  处理至  $K_5$  处理的蛋白质含量随钾水平提高而增多,  $K_{10}$  处理则略为下降 (图 3)。假球茎的蛋白质含量最高, 根其次, 叶最低。

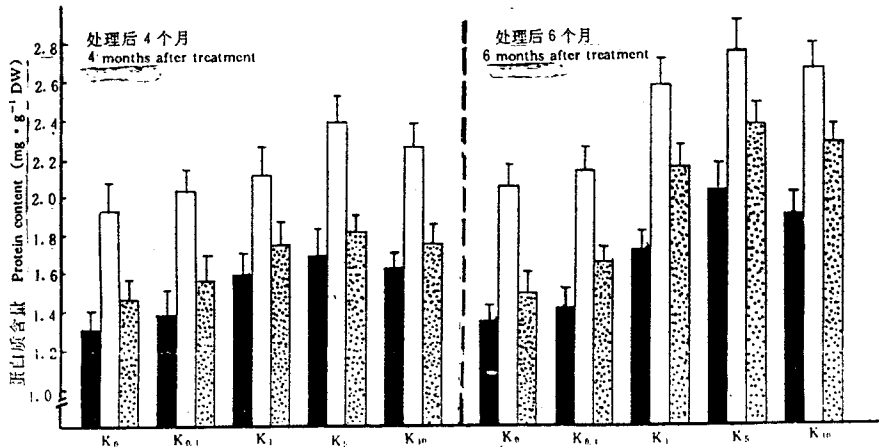


图 3 不同钾水平对墨兰体内蛋白质含量的影响

Fig. 3 Effects of different K levels on protein content in *C. sinense*

不同钾水平处理的游离氨基酸含量的变化趋势与蛋白质含量相反。 $K_0$  的游离氨基酸含量最高,  $K_{0.1}$  处理其次, 其余三种处理的游离氨基酸明显下降, 尤其是  $K_{10}$  处理 (图 4)。各器官的游离氨基酸含量由多到少的顺序是: 假球茎、根、叶。

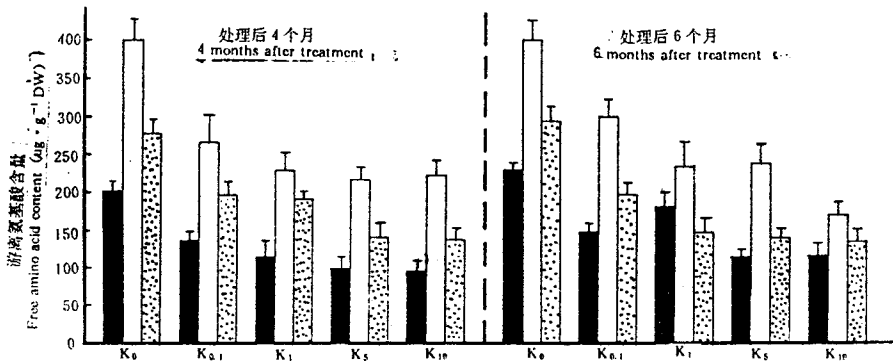


图 4 不同钾水平对墨兰体内游离氨基酸含量的影响

Fig. 4 Effects of different K levels on free amino acid content in *C. sinense*

### 三、丙酮酸激酶和硝酸还原酶活性

从表2可见,当钾缺乏时,墨兰体内丙酮酸激酶活性甚低,该酶活性随着钾水平增高而大幅度提高。 $K_{10}$ 处理该酶活性竟为 $K_0$ 处理的12—17倍(表2)。这说明钾浓度与丙酮酸激酶活性呈正相关。Besford<sup>[4]</sup>建议测定叶片丙酮酸激酶活性作为衡量叶片钾含量的一个指标。我们的工作也支持这个观点。假球茎的丙酮酸激酶活性最低,叶较高,根最高。

表2 不同钾水平下墨兰丙酮酸激酶和硝酸还原酶活性的变化(处理后5个月)

Table 2 Changes of the activities of pyruvate kinase and nitrate reductase at different K levels in *C. sinense* (5 months after treatment)

酶活性 Enzymic activity	器官 Organ	$K_0$	$K_{0.1}$	$K_1$	$K_5$	$K_{10}$
丙酮酸激酶 Pyruvate kinase ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein}$ $\text{min}^{-1}$ )	根 Root	$5.5 \pm 2.2$	$21.4 \pm 4.8^*$	$53.3 \pm 9.1^{**}$	$65.7 \pm 7.2^{**}$	$66.6 \pm 5.3^{**}$
	假球茎 Pseudocorm	UD	$10.9 \pm 2.7^*$	$27.0 \pm 3.0^{**}$	$31.8 \pm 6.4^{**}$	$33.7 \pm 3.0^{**}$
	叶 Leaf	$2.6 \pm 0.9$	$12.9 \pm 1.8^*$	$38.1 \pm 4.8^{**}$	$41.8 \pm 6.1^{**}$	$44.0 \pm 3.5^{**}$
硝酸还原酶 Nitrate reductase ( $\mu\text{mol NO}_2^- \cdot$ $\text{g}^{-1} \text{FW h}^{-1}$ )	根 Root	$0.78 \pm 0.31$	$1.01 \pm 0.16^*$	$1.15 \pm 0.42^{**}$	$1.25 \pm 0.29^*$	$1.20 \pm 0.25^*$
	假球茎 Pseudocorm	$0.64 \pm 0.21$	$0.85 \pm 0.28^*$	$1.04 \pm 0.29^{**}$	$1.14 \pm 0.22^{**}$	$1.09 \pm 0.25^{**}$
	叶 Leaf	$0.55 \pm 0.12$	$0.75 \pm 0.33^*$	$0.88 \pm 0.10^*$	$1.04 \pm 0.27^*$	$0.99 \pm 0.18^*$

\*和\*\*分别为5%和1%差异显著水平, Significant at 5% and 1% levels, respectively

UD: 测不出, Undetected

钾对墨兰体内硝酸还原酶活性也有影响。该酶活性随钾水平提高而加强,其中以 $K_5$ 处理最强, $K_{10}$ 处理又略为下降,与蛋白质含量变化趋势相同。根的硝酸还原酶活性最强,假球茎次之,叶最弱(表2)。

## 讨 论

从上述数据可知,随着墨兰植株生长和钾浓度的增加,体内可溶性糖、淀粉、纤维素和蛋白质等含量基本上不断升高,还原糖和游离氨基酸含量则逐渐下降。假球茎是还原糖、可溶性糖、淀粉、游离氨基酸和蛋白质的主要贮藏器官,纤维素则主要分布于叶片。

墨兰的钾含量较高,假球茎又贮存较多钾素,钾饥饿几个月才出现缺钾或低钾症状<sup>[3]</sup>,所以要尽早诊断墨兰体内钾状况,及时补施钾肥。结合前文<sup>[2]</sup>和本文的数据,我们初步提出以叶片钾含量、还原糖/可溶性糖含量比值和丙酮酸激酶活性等3种方法,去诊断墨兰体内钾状况(表3),供进一步研究参考。

前文<sup>[3]</sup>报告钾素促进光合和呼吸,生长快,花数多,抗病力强。本文又表明,钾素提高墨兰体内淀粉和蛋白质含量,为促进生长发育提供物质基础。在不同钾浓度中最理想的是 $K_5$ 而不是 $K_{10}$ ,可能因为 $K_{10}$ 浓度过高,影响其它离子如Ca、Mg和N的吸收<sup>[5]</sup>,从而影响养分平衡。

表3 墨兰体内钾状况的生理诊断  
Table 3 Physiological diagnosis of K in *C. sinense*

项 目 Item	缺 K Deficiency K	低 K Low K	足 K Sufficiency K
叶片 K 含量 (%) K content of leaf	<1.6	1.6—2.3	>2.5
还原糖/可溶性糖 (%) % of reducing sugar/ soluble sugar	>60	50—60	<50
叶片丙酮酸激酶活性 Pyruvate kinase activity in leaf ( $\mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein min}^{-1}$ )	<8	9—23	>24

钾素在抗逆性有多方面的功能。由于钾提高墨兰体内纤维素含量,减少游离氨基酸含量,加强呼吸,所以能抵抗病菌侵染<sup>[6]</sup>。纤维素是植物骨架的重要组成,增加细胞机械强度,因此钾素可使墨兰叶片挺直,花茎坚韧,褐斑病少,提高叶片和株姿的观赏价值。钾又能增加细胞中可溶性糖含量,增加渗透压,防止脱水,维持膜结构不受低温伤害,花朵在寒潮来临时不会冷死。

### 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. 人民教育出版社, 1929
- 2 袁晓华, 杨中汉. 植物生理生化实验. 高等教育出版社, 1983
- 3 潘瑞炽, 陈健源, 温兆清. 不同钾水平对钾饥饿墨兰生长发育和生理的影响. 热带亚热带植物学报, 1994; 2 (3)
- 4 Besford R T. Effect of replacing nutrient potassium by sodium in uptake and distribution of sodium in tomato plants. *Plant and Soil*, 1978, 50: 399—409
- 5 Cibes H R, Childers M F, Loustalot A J. Influence of mineral deficiency on growth and composition of *Vanilla* vines. *Plant Physiol*, 1947, 22: 291—299
- 6 Goss R L. The effects of potassium on disease resistance. In: *The role of potassium in agriculture*. Madison, USA, 1968, 221—241
- 7 Ireland R J, Deluca V. Isoenzymes of pyruvate kinase in etioplasts and chloroplasts. *Plant Physiol*, 1979, 63: 903—907
- 8 Peterson G L. A simplification of the protein assay method of Lowry et al, which is more generally applicable. *Annu Biochem*, 1977, 83: 346—356
- 9 Sherrard J H, Dalling M J. In vitro stability of nitrate reductase from wheat leaves. *Plant Physiol*, 1979, 63: 346—353

# INFLUENCE OF DIFFERENT POTASSIUM LEVELS ON CONTENTS OF CARBOHYDRATE AND PROTEIN IN *CYMBIDIUM SINENSE* FOLLOWING POTASSIUM STARVATION

Chen Jianyuan    Pan Ruichi    Wen Zhaoqing

(Research Center for Chinese Orchids, South China

Normal University, Guangzhou 510631)

## Abstract

*Cymbidium sinense* (Andr.) Willd. plants were cultured hydroponically in culture solution at different K levels following K starvation. The contents of carbohydrate and protein as well as some enzymes activities in various growth periods had been measured. With increasing K concentration, the contents of soluble sugar, starch, cellulose and protein in plants treated with 5 mmol/L KCl were increased by 125, 117, 127 and 41% respectively than those of the control. However, these KCl treated plants had reduced by 44 and 24% in the contents of reducing sugar and free amino acid respectively than those in the control. Pseudocorm was the major organ for storing reducing sugar, soluble sugar, starch, protein and free amino acid, but cellulose mainly distributed in leaf. When K was sufficient to plant requirement, the activity of pyruvate kinase in leaf increased by 15 times as against the control, and nitrate reductase was also about 1.8 times the activity of the control. The possible reason for K promoting growth, development and disease resistance in *C. sinense* was discussed. And, three methods of preliminary physiological diagnosis for K nutrition in this plant were also suggested.

**Key words:** *Cymbidium sinense* (Andr.) Willd.; Potassium; Carbohydrate; Protein; Pyruvate kinase activity