

潘杰,周经国,刘雷,等. 钾肥对铅胁迫延胡索幼苗生长及药用品质的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(4):149-152.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.038

钾肥对铅胁迫延胡索幼苗生长及药用品质的影响

潘杰,周经国,刘雷,李玟珂,谭俊,余顺慧

(三峡库区水环境演变与污染防治重庆高校市级重点实验室/重庆三峡学院,重庆万州 404100)

摘要:以延胡索为试验对象,通过土培试验研究钾肥对铅胁迫下延胡索幼苗的生长、抗氧化特性、铅含量及药用品质的影响。结果表明,施用 200 mg/kg 钾肥时,对各浓度铅胁迫对延胡索的影响具有最佳缓解作用。200 mg/kg 钾肥可以明显缓解铅胁迫对延胡索幼苗生长的抑制作用。500 mg/kg 铅胁迫下增施 200 mg/kg 钾肥可以显著提高植株叶片超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)的活性及可溶性糖含量($P < 0.05$),显著降低丙二醛(MDA)的含量($P < 0.05$)。在其余浓度的铅胁迫下增施适宜浓度钾肥后,幼苗的各生理指标均无显著变化,而过氧化物酶(POD)的活性则均降低。在各浓度的铅胁迫下增施适宜浓度钾肥后幼苗根部微核率明显降低($P < 0.05$),说明根部细胞染色体损伤减弱。铅胁迫下增施适宜浓度的钾肥可以影响延胡索幼苗地上部和地下部铅的积累,可以降低延胡索地上部分铅含量,增加地下部分铅含量。500 mg/kg 铅胁迫下增施 200 mg/kg 钾肥,延胡索的药用品质可以得到显著提高($P < 0.05$)。土壤中过量铅污染抑制延胡索幼苗生长和药用品质,适量施用钾肥可以通过影响延胡索抗氧化酶活性和渗透调节物质含量等方式达到缓解铅胁迫的目的。

关键词:延胡索;铅胁迫;钾肥;抗氧化特性;微核率;铅含量;药用品质

中图分类号: S567.21⁺9.06 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0149-04

铅是生物生长的非必需元素,土壤中过量的铅污染会对中药材造成毒害,降低产量。延胡索(*Corydalis yanhusu*),别称元胡、玄胡索、玄胡,为罂粟科紫堇属一年生草本植物,是常用的大宗药材,在我国安徽、江苏、浙江等地区广泛栽培,其地下块茎入药,有行气、活血、止痛的作用^[1]。延胡索容易受铅毒害,其伤害症状表现为生长缓慢、植株矮小等,产量受到严重影响,并通过食物链对人类的健康造成威胁^[2]。钾是植物生长所必需的营养元素,施钾肥可以提高农作物的产量,许多研究表明^[1-3],施钾肥可以提高中药材产量和药用品质。近年来,研究土壤中重金属含量对中药材富集重金属元素的影响较多^[3-6],但增施钾肥对减少中药材重金属含量的研究较少。本研究以延胡索幼苗为试验材料,研究在铅污染土壤上增施钾肥对延胡索幼苗生长、药用品质和食用安全性的影响,旨在为科学施肥提供理论依据,为延胡索经济高效、优质高产的栽培模式提供理论参考和实践指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 2014 年 10 月由浙江省东阳市农业局提供的延胡索块茎,经处理后储存于重庆三峡学院百安坝校区科研基地。从块茎中各选取块茎大小基本一致的地下块茎备用。

供试药品:钾肥为 K_2SO_4 ,铅为 $Pb(NO_3)_2$,均为分析纯,

均购自成都市高新区石羊化学制剂厂。

1.2 试验设计

铅处理浓度分别为 0、100、300、500、600、700、900 mg/kg,钾肥施用浓度(以 K_2O 计)为 0、100、200、400、800 mg/kg,每个处理 3 次重复。试验采用内径 30 cm、深 25 cm 的花盆,土壤样品过 2 mm 筛后,每盆装 9 kg 拌有对应重金属及钾肥的土壤,放置 15 d 后再次混匀。将已消毒的延胡索块茎播种于上述对应花盆中,每盆 5 块,同时施加适量的基肥(尿素浓度为 N 300 mg/kg,磷酸钙浓度为 P_2O_5 120 mg/kg)。定期检查延胡索的生长情况,进行常规人工管理,避免其他干扰。持续处理 5 个月,试验过程中各处理除铅、钾肥浓度不同外,其余环境条件保持一致。

1.3 测定方法

1.3.1 生理指标测定 采用萘酚法测定可溶性糖含量^[7];采用硫代巴比妥酸法测定丙二醛(MDA)含量^[8];采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性。

1.3.2 微核率测定 切取长度为 5 mm 的根尖制片镜检。根尖用改良 Carnoy 固定液固定 20~24 h,转移至 70% 乙醇中于 0~4 ℃ 保存。加入 1 mol/L 盐酸在 60 ℃ 水浴下离解 8~10 min 直至根尖软化,在避光条件下用改性石炭酸品红浸泡染色 2~3 h。用乙醇和蒸馏水漂洗后制片镜检观察微核,计算微核率^[9]。

1.3.3 铅含量的测定 精确称取 0.200 0 g 各样品粉碎的延胡索,先加 2 mL 0.1 mol/L 的盐酸静置 25 min,后加入酸液(浓 HNO_3 与浓 H_2SO_4 体积比为 4:1),同时设空白对照组;用 MARS240 微波消解系统消解以上溶液后^[10],用 AA-6300 原子吸收分光光度计测定样品中的铅含量^[10]。

1.3.4 生物碱测定 延胡索块茎生物碱类含量的测定采用

收稿日期:2016-09-17

基金项目:重庆市应用开发计划项目(编号:cstc2014yykfA110024);三峡库区水环境演变与污染防治重庆高校市级重点实验室开放基金课题(编号:WEPK12012MS-08、WEPK12016LL-05);重庆三峡学院大学生创新性实验计划项目(编号:2017042)。

作者简介:潘杰(1977—),男,湖南常德人,博士研究生,讲师,主要从事环境生态学研究。E-mail:jie530@sina.com。

张静等的方法^[11]。

1.4 数据处理

数据处理和分析采用 Sigmaplot 10.0 软件。采用单因素方差分析方法 (One-way ANOVA) 检验不同处理之间的差异显著性, 其中, $P < 0.01$ 表示差异极显著, $P < 0.05$ 表示差异显著^[12]。

2 结果与分析

2.1 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗生长的影响

由图 1-a 可知, 土壤中未添加铅时, 随着钾肥浓度的增加, 延胡索幼苗的株高呈先增加后减小的趋势。当土壤中铅

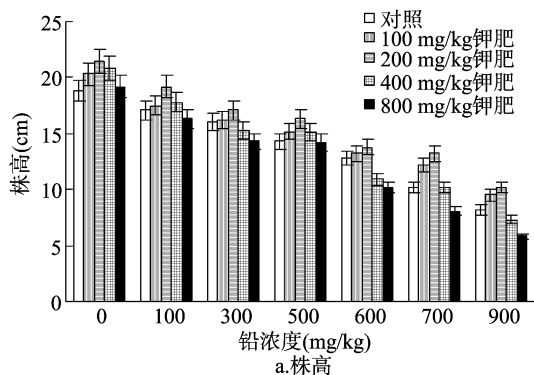
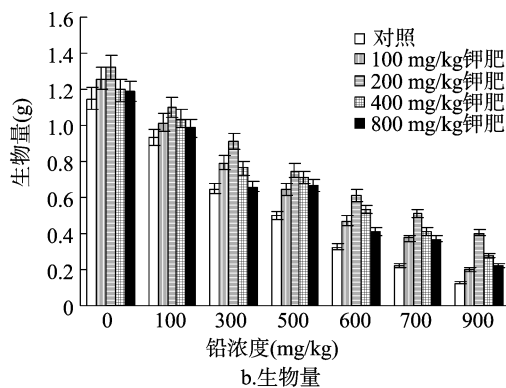


图1 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗株高和生物量的影响

浓度 ≥ 100 mg/kg 时, 在各浓度铅处理下, 随着钾肥浓度的增加, 延胡索幼苗的株高也呈先增后减的趋势。株高最大时表示钾肥对延胡索受到铅抑制的缓解作用最大, 且不同处理在株高最大时钾肥的浓度相同。表明钾肥存在最佳缓解浓度, 钾肥的最佳缓解浓度为 200 mg/kg, 此时的缓解作用最强。

由图 1-b 可知, 土壤中未添加铅时, 不同钾肥浓度均使幼苗生物量增大; 当钾肥浓度为 200 mg/kg 时, 幼苗生物量达最大值。当土壤中铅浓度 ≥ 100 mg/kg 时, 钾肥可以缓解铅胁迫对延胡索植株生物量积累的抑制作用, 使植株生物量增加。且在各铅浓度胁迫下, 均是在添加 200 mg/kg 钾肥时缓解作用最强。



总之, 钾肥对铅胁迫下延胡索幼苗生长的缓解作用存在最适缓解浓度, 即存在最佳的钾肥浓度, 在最佳的钾肥浓度下, 其株高和生物量最大。

2.2 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗抗氧化特性的影响

由图 2 可知, 在未施用钾肥时, 随着铅浓度的增加, 延胡索叶片可溶性糖含量、SOD 活性及 CAT 活性呈先增大后减小的趋势, 且当铅的浓度为 300 mg/kg 时达到峰值; MDA 含量和 POD 活性呈上升趋势。施用 200 mg/kg 钾肥时, 当铅的浓度为 500 mg/kg 时, 钾肥使叶片可溶性糖含量、CAT 活性及 SOD 活性显著增加 ($P < 0.05$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$)。这表明, 当铅的浓度为 500 mg/kg 时, 钾肥缓解延胡索受铅胁迫造成膜脂质过氧化伤害是通过提高 SOD、CAT 活性来实现的; 在其他各浓度的铅处理下, 钾肥对延胡索叶片内可溶性糖含量、MDA 含量、CAT 活性及 SOD 活性均无显著影响。在各浓度的铅处理下施加钾肥, POD 活性均显著降低 ($P < 0.05$), 且稳定。可能是钾肥通过维持 POD 活性的相对稳定而使延胡索植株抵抗铅胁迫。同时提高可溶性糖含量, 降低 MDA 含量, 以延缓叶片衰老, 延长叶片的功能期^[13]。

2.3 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗根部微核率的影响

微核率可以反映染色体的受损程度^[14]。由图 3 可知, 未施用钾肥时, 幼苗根部微核率随铅浓度的升高而增加; 与未施用钾肥时相比, 加入适宜浓度的钾肥时, 根部微核率随着铅浓度的增加均显著减少 ($P < 0.05$)。说明施用钾肥可以缓解铅胁迫对延胡索幼苗根部染色体的损伤。

2.4 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗中铅积累的影响

由图 4 可知, 未施用钾肥时, 幼苗地上部、地下部铅含量随着铅浓度的增加而明显增加; 与未施用钾肥时相比, 添加

200 mg/kg 钾肥与 500 mg/kg 铅后, 幼苗地上部分铅含量降低 12%, 而地下部分铅含量增加 93%。表明施用钾肥有效保护了幼苗期延胡索地上部分免受铅胁迫的影响。

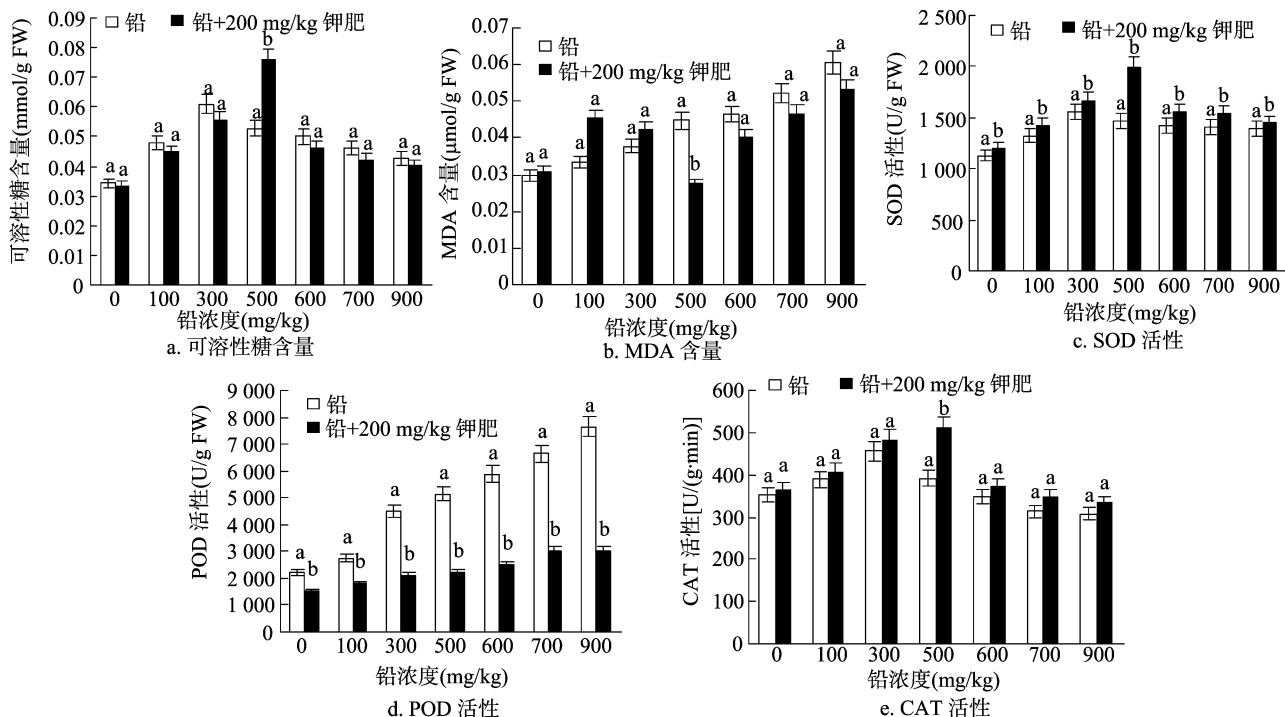
2.5 钾肥、铅胁迫对延胡索药用品质的影响

反映延胡索药用品质的主要指标是延胡索乙素的含量, 两者呈正相关。由表 1 可知, 与对照相比, 在 500 mg/kg 铅胁迫下, 可显著降低延胡索乙素的含量 ($P < 0.05$), 即延胡索药用品质降低。施用 200 mg/kg 钾肥可以影响延胡索的药用品质。与 500 mg/kg 铅胁迫相比, 在 500 mg/kg 铅胁迫下施用 200 mg/kg 钾肥可以显著增加延胡索乙素的含量 ($P < 0.05$)。

3 讨论

钾作为植物生长所必需的营养元素, 它可以参与植物体内的各种生理生化反应, 来维持植物的正常生理活动, 促进生长, 减轻铅的毒害作用^[15]。已有研究发现, 铅 + 钾肥处理小麦, 可以促进小麦幼苗干质量的增加, 即促进小麦幼苗生长^[16]。本研究发现, 施用钾肥可以缓解铅对延胡索幼苗生长的抑制作用。在各浓度铅胁迫下, 随着钾肥浓度的增加, 延胡索幼苗株高和生物量均呈现先增后降的趋势, 表明钾肥缓解铅胁迫存在最适浓度。各浓度铅胁迫下, 钾肥的最适浓度均为 200 mg/kg。由图 1-b 可知, 在铅胁迫下, 施用 200 mg/kg 钾肥后延胡索幼苗的生长状况均显著好于受到单一铅胁迫的对照, 而且也好于其他浓度钾肥与相同浓度铅组合。钾肥浓度过高或过低都不利于缓解铅对植株的伤害。可能过低浓度的钾处理具有较弱的缓解作用, 而过高浓度的钾处理加重了伤害 (可能增大了溶液浓度进而引起离子毒害和渗透胁迫)。

SOD 通过清除细胞中的 O_2^- 具有防止生物膜脂质过氧



不同小写字母表示在同一铅胁迫浓度下,不同处理之间在0.05水平上差异显著,下图同

图2 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗抗氧化特性的影响

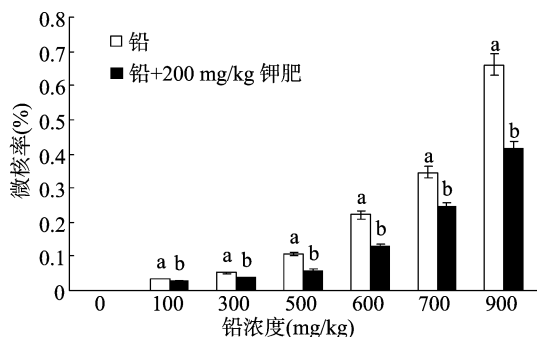


图3 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗根部微核率的影响

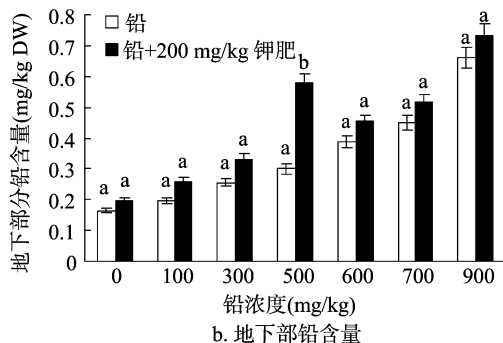
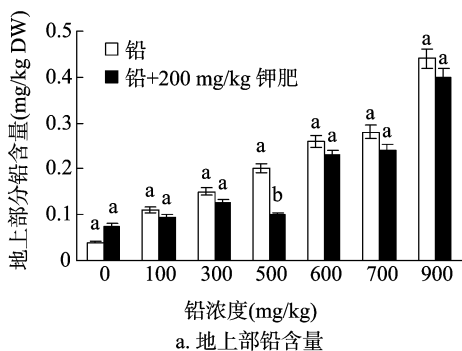


图4 钾肥对铅污染土壤延胡索幼苗地上部和地下部铅含量的影响

CAT 也具有防止生物膜脂质过氧化造成伤害的作用,它可以与 SOD 共同作用将 H_2O_2 分解为 O_2 和 H_2O 。本研究发现,CAT 活性与 SOD 活性相似,在 500 mg/kg 铅胁迫下,延胡索幼苗通过钾肥提高 CAT 活性以降低铅胁迫引起的过氧化伤害。

化作用,从而保护生物膜^[17]。本研究发现,钾肥在 500 mg/kg 铅处理下显著提高了延胡索幼苗的 SOD 活性 ($P < 0.05$),表明在此浓度铅胁迫时,钾肥减轻铅胁迫造成的过氧化损伤可能通过提高 SOD 活性来完成。而钾肥在其余浓度铅处理下,幼苗的 SOD 活性与对照相比均无显著变化,表明此组合对延胡索 SOD 活性无显著影响。POD 也是植物体内的抗氧化酶之一。本试验测得,施加钾肥在各浓度铅处理幼苗,其 POD 活性显著下降 ($P < 0.05$),而且 POD 活性在各处理之间无显著变化,这表明在 500 mg/kg 铅胁迫下,钾肥使延胡索幼苗抵抗铅胁迫可能通过维持 POD 活性的相对稳定来实现。

MDA 是膜脂质过氧化标志性产物,其含量与膜脂质过氧化呈正相关。本研究,延胡索幼苗在 500 mg/kg 铅胁迫下添加钾肥后,MDA 含量与对照相比显著下降 ($P < 0.05$),膜脂质过氧化得到缓解。而低浓度铅胁迫下,经钾肥处理后延胡索幼苗的 MDA 含量却增加,不能缓解膜脂质过氧化,可能

表 1 钾肥、铅胁迫对延胡索药用品质的影响

处理	延胡索乙素含量 (mg/g)
对照	0.438 2 ± 0.012 3a
500 mg/kg 铅	0.191 0 ± 0.021 2b
500 mg/kg 铅 + 200 mg/kg 钾肥	0.352 3 ± 0.001 2c

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

是钾肥使 POD 活性维持在一个较低而稳定的水平。

铅胁迫诱导植物根尖细胞 DNA 结构的变化,导致染色体结构受损^[18]。研究表明,铅胁迫诱导马尾松根尖细胞产生染色体端部断裂,进而形成“后期桥”和断片,有的则产生落后染色体,这些染色体断片和落后染色体最终形成微核^[18]。本试验结果表明,在各浓度铅胁迫下,与对照相比,添加钾肥的幼苗的微核率显著降低,表明钾肥对铅胁迫引起的染色体结构损伤起缓解作用。

目前,降低作物对铅吸收和积累的主要手段是用化学方法来缓解铅毒害。前人研究表明,钾肥对土壤中重金属的影响主要表现在钾肥伴随阴离子影响重金属形态、吸附解吸过程及生物有效性等方面,从而减少植物对铅的吸收;钾参与了铅胁迫下小麦对铅的吸收与转移,大部分铅停留在根部,少量向地上部迁移,从而缓解了地上部分的铅毒害^[15]。本研究的结果与之一致,施加钾肥后,延胡索幼苗地上部铅含量降低而地下部铅含量增加,地上部的铅毒害被缓解。钾一直被公认为是植物生产中的品质元素。研究表明,施钾肥不仅可以显著提高中药材产量,还可以改善其药用品质,因为它是生物体内多种酶的活化剂,参与植物体内的许多代谢过程,缺钾会导致叶片内新陈代谢过程紊乱。

反映延胡索药用品质的主要指标是延胡索乙素的含量。本试验在延胡索收获时测定延胡索块茎中延胡索乙素的含量,结果表明,与 500 mg/kg 铅胁迫相比,添加 200 mg/kg 钾肥可以增加延胡索乙素的含量,改善其药用品质。说明在铅胁迫下,添加适宜浓度的钾肥有利于延胡索乙素的合成。可能的原因是钾与铅结合形成复合物或拮抗铅,减少植物对铅的吸收;促进了延胡索块茎铅向地上部分转移,减少了块茎中铅的含量,从而缓解了块茎中铅胁迫对次生代谢产物——延胡索乙素合成的影响,延胡索乙素含量增加,药用品质得到改善。因此,在铅胁迫下,添加 200 mg/kg 钾肥可以使延胡索的药用品质得到改善。

4 结论

(1)钾肥可以缓解铅胁迫对延胡索幼苗的毒害效应,且钾肥处理存在最适浓度效应。钾对铅胁迫下延胡索的生长均具有较好的促进作用。

(2)适宜浓度的钾肥影响铅胁迫下延胡索幼苗的抗氧化特性。添加适宜浓度钾肥与 500 mg/kg 铅处理,可以提高延胡索幼苗叶片 SOD、CAT 的活性,稳定 POD 的活性,使铅造成的过氧化铅胁迫降低,膜脂质过氧化伤害得到缓解。

(3)适宜浓度的钾肥可以降低铅胁迫造成的延胡索幼苗

根部细胞的微核率,染色体损伤得到缓解。

(4)在 500 mg/kg 铅胁迫下,适宜浓度的钾肥可以使幼苗地上部铅含量降低,地下部铅含量增加,保护地上部分免受铅毒害。

(5)施用适宜浓度的钾肥可以显著提高 500 mg/kg 铅胁迫下收获期延胡索的药用品质。在 500 mg/kg 铅胁迫下,添加适宜浓度钾肥可以显著提高延胡索中延胡索乙素的含量($P < 0.05$)。

参考文献:

[1]余顺慧,刘双琳,方荣美,等. 铜污染对延胡索生长和铜积累的影响[J]. 贵州农业科学,2016,44(2):133-136.

[2]陈 星,王小丽,吴洁宁,等. 铅胁迫对狗牙根生理特性和铅积累的影响[J]. 贵州农业科学,2015,43(1):167-170.

[3]周守标,李思亮. 重金属污染下植物生理生态反应及富集机制的研究进展[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版),2007,30(3):331-337.

[4]姚 慧,蔡庆生. 缓解植物重金属胁迫伤害的途径及其机理[J]. 浙江农业科学,2011(1):144-147.

[5]陈雪梅,姚 婧,王友保,等. 外源钾对铜胁迫三叶草种子萌发与幼苗生长的影响[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版),2008,31(5):464-468.

[6]李国军,李 华,狄贞珍,等. 不同钾水平对幼苗期玉米铬的吸收和生理特性的影响[J]. 农业环境科学学报,2009,28(11):2246-2250.

[7]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.

[8]赵世杰,许长成,邹 琦,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):207-210.

[9]罗 劼,王伟浩,杜 智,等. 用根尖微核测定技术检测重金属铬的毒性[J]. 科技创新与应用,2013(17):70.

[10]余顺慧,黄怡民,潘 杰,等. 铜胁迫对 2 种三峡库区消落带适生植物生长及铜积累的影响[J]. 西南农业学报,2014,27(3):1196-1201.

[11]张 静,周 浓,祁俊生,等. HPLC 同时测定不同产地延胡索中的 6 种生物碱[J]. 华西药学杂志,2016,31(4):415-419.

[12]汪蹇跃,王宇涛,曾琬淋,等. Ca^{2+} 和 K^{+} 对拟南芥幼苗铅毒害的缓解作用[J]. 植物学报,2014,49(3):262-272.

[13]李向东,王晓云,张高英,等. 花生衰老进程的研究[J]. 西北植物学报,2001,21(6):1169-1175.

[14]闫志刚,王传清,张爱宁,等. 用蚕豆根尖微核实验分析水中铬的遗传毒性[J]. 山西化工,2011,31(2):71-74.

[15]王小晶,陈 怡,唐 静,等. 钾肥对铅污染土壤白菜生长及品质的效应[J]. 生态与农村环境学报,2016,32(2):315-319.

[16]陈 苏,孙丽娜,孙铁珩,等. 钾肥对铅的植物有效性的影响[J]. 辽宁工程技术大学学报(自然科学版),2007,26(2):285-288.

[17]赵士诚,孙静文,马有志,等. 镉对玉米幼苗活性氧代谢、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其基因表达的影响[J]. 中国农业科学,2008,41(10):3025-3032.

[18]吴若菁,庄 捷,陈清松,等. 铅胁迫下马尾松微核率与生理指标变化的相关分析[J]. 林业科学,2010,46(8):78-83.