

间苯二酚、水杨酸对绿豆下胚轴不定根形成的作用

李玲

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

摘要 20-100mg L⁻¹ 间苯二酚能明显地促进绿豆下胚轴不定根的形成, 与 20mg L⁻¹ IBA 混合处理具加成效应, 其作用在于降低生根初期 IAA 氧化酶和多酚氧化酶活性, 10-100mg L⁻¹ 水杨酸抑制下胚轴不定根的形成, 随处理浓度的加大, 对生根数目、生根范围和根重的抑制作用增加, 水杨酸处理后 1-3d, 能提高 IAA 氧化酶和多酚氧化酶的活性。

关键词 间苯二酚; 水杨酸; 不定根; IAA 氧化酶; 多酚氧化酶

EFFECTS OF RESORCINOL AND SALICYLIC ACID ON THE FORMATION OF ADVENTITIOUS ROOTS IN HYPOCOTYL CUTTINGS OF *VIGNA RADIATA*

Li Ling

(Department of Biology, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract Twenty to 100mg L⁻¹ resorcinol(Res)stimulated the formation of adventitious roots in hypocotyl cuttings of mung bean. Mixtures of the resorcinol with 20mg L⁻¹IBA showed more effective than IBA or Res alone in promoting adventitious root formation. The essential role of Res in promoting adventitious roots was in relation to the increasing activities of IAA oxidase and polyphenol oxidase in the early stages of root regeneration. ten to 100 mg L⁻¹ salicylic acid (SA) inhibited adventitious root formation and decreased the weights of roots in hypocotyl cuttings. When SA was mixed with IBA (20mg L⁻¹), a decrease of root number was observed with the increasing concentrations of SA. Three days after SA (60mg L⁻¹) treatment, the activities of IAA oxidase and polyphenol oxidase increased in hypocotyl cuttings.

Key words Resorcinol; Salicylic acid; Adventitious root; IAA oxidase; Polyphenol oxidase

间苯二酚(简称 Res)和水杨酸(简称 SA)是存在于植物体内重要的酚类物质, 它们在植物生长发育中的作用已有报道^[1-3]。而间苯二酚和水杨酸对不定根形成的作用及原因一直缺乏深入的

90 级同学吴敬华、叶添谋参加部分实验工作

1995-02-13 收稿; 1995-05-04 修回

研究。Kling 等^[4]曾指出, 间苯二酚不影响绿豆下胚轴不定根的形成数目; 水杨酸略能增加不定根数目。本文则阐明间苯二酚、水杨酸对绿豆下胚轴不定根形成的作用, 并初步研究其原因。

1 材料和方法

1.1 材料和处理

绿豆 (*Vigna radiata*) 种子经消毒、浸泡后, 于 $28 \pm 2^\circ\text{C}$ 暗萌发 48h, 然后光照培养 (每天光照 12h, 光强 $0.1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 相对湿度 80%)。选取上胚轴 1–3cm, 下胚轴 5–6cm 的幼苗, 切去子叶以下 4cm 的部分, 插在分别含有 Res、SA 溶液的烧杯中处理 12h, 以清水为对照, 然后将下胚轴切段插在砂培中光照生长 5d。

1.2 测定方法

计算在下胚轴长出的长于 0.5cm 的不定根数目、根长度和生根范围 (每次处理 15–20 个插条进行统计)。

IAA 氧化酶活性测定 按 Bansal 的方法^[5], 酶活性以降解 IAA $\text{nmol mg}^{-1}\text{蛋白质 min}^{-1}$ 表示。

多酚氧化酶活性测定 按照朱广廉等的方法^[6], 以每分钟内 $\text{OD}_{525\text{nm}}$ 变化 0.01 为 1 个酶活性单位, 用酶单位 $\text{mg}^{-1}\text{蛋白 min}^{-1}$ 表示酶活性。

可溶性蛋白质用 Lowry 法^[7]测定。

各指标皆进行 3–4 次测定。

2 结果与分析

2.1 Res、SA 对下胚轴不定根形成的影响

间苯二酚在 $20-100 \text{mg L}^{-1}$ 浓度范围内, 促进绿豆下胚轴不定根形成 (图 1A), 在 $20-60 \text{mg L}^{-1}$ 浓度范围内, 对生根数目和根长度的促进作用显著, 并随处理浓度的升高, 促进效果增强。当处理浓度为 100mg L^{-1} 时, 生根数目和根长度接近对照, 但该浓度却是促进生根范围的适宜浓度, 推测与植物体内营养物质水平和分配状况有关。同样各浓度 Res 处理能增加不定根的重量, 其中以 60mg L^{-1} 浓度促进效果最好, 不定根鲜重和干重分别比对照增加 273% 和 94.4% (表 1)。

用 10mg L^{-1} 的水杨酸处理下胚轴插条, 除了能增加生根范围外, 生根数目和根长度与对照没有多大差别 (图 1B)。用大于 10mg L^{-1} 浓度的 SA 处理, 则抑制生根范围、根数和根的重量 (表 1), 抑制程度随处理浓度的加大而增加。SA 对根长度的影响, 在

表 1 Res 和 SA 对绿豆下胚轴不定根重量的影响
Table 1 Effect of resorcinol (Res) and salicylic acid (SA) on the weights of adventitious roots in hypocotyl cuttings from mung bean seedlings

处理 (mg L ⁻¹) Treatment	鲜重 Fresh weight (mg/cutting)	%	干重 Dry weight ($\mu\text{g}/\text{cutting}$)	%
对照 (H ₂ O)	20.2	100.0	62.0	100.0
Res	20	70.8	350.5	89.9
	60	75.5	373.8	120.5
	100	64.6	319.8	75.0
SA	20	17.5	86.6	46.0
	60	16.3	80.7	44.5
	100	13.4	66.3	31.0

20mg L⁻¹ 浓度时略有增加, 大于该浓度则出现抑制。

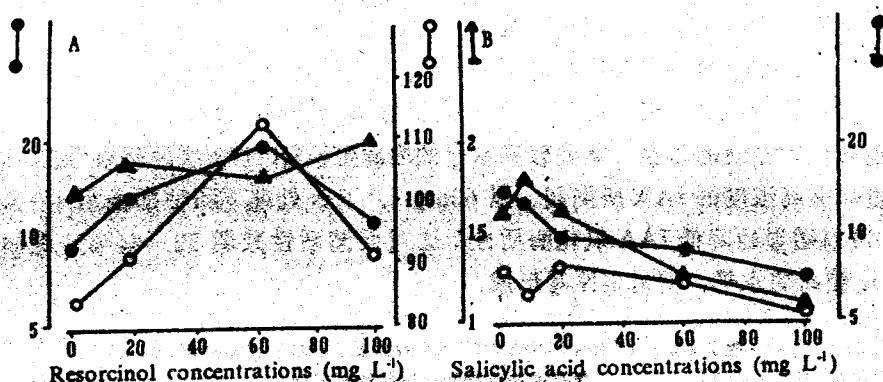


图1 不同浓度 Res(A)和 SA(B)对绿豆下胚轴不定根形成的作用
 Fig. 1 Effects of different concentrations of resorcinol and salicylic acid on adventitious roots formation in hypocotyl cuttings of mung bean.
 ●—● 根数/插条 Root number/cutting; ○—○ 根长/mm Root length (mm)
 ▲—▲ 生根范围(cm)/插条 Rooting extent (cm)/cutting

2.2 Res、SA 和 IBA 相互作用对不定根形成的影响

IBA 是生长素的一类, 促进植物茎不定根形成的作用比 IAA 强^[8]。本文用各种浓度的 Res 分别与 20mg L⁻¹ IBA 混合处理, 对不定根的形成产生促进作用, 呈现加成效应(图 2A), 生根率以 IBA 与 Res 混合处理的为最高, 单独 IBA 处理次之, Res 处理的最少。

水杨酸与 IBA 混合处理, 抑制了由 IBA 所诱导产生的生根效应, 随 SA 处理浓度的升高, 对 IBA 生根的抑制程度加强(图 2B)。

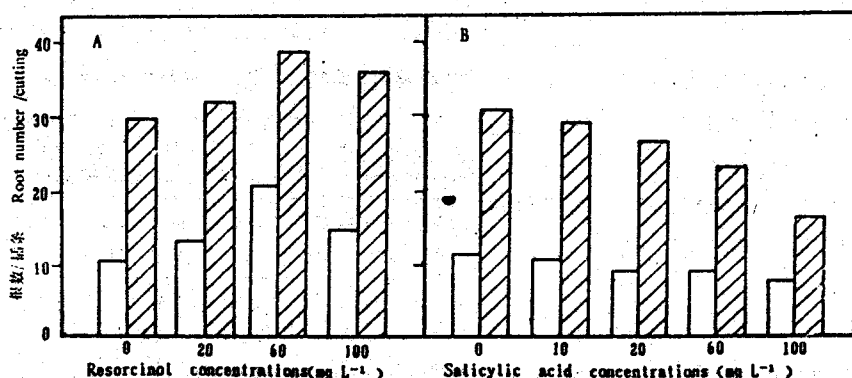


图2 不同浓度 Res、SA 分别与 20mg L⁻¹ IBA 混合处理对绿豆下胚轴不定根形成的作用
 Fig. 2 Effects of mixed applications of resorcinol (A) or salicylic acid (B) with IBA (20mg L⁻¹) on adventitious root formation in hypocotyl cuttings of mung bean

□ -IBA ▨ +IBA

2.3 Res 和 SA 对 IAA 氧化酶和多酚氧化酶活性的影响

目前认为, IAA 是促进不定根形成和生长的主要因素。植物组织中 IAA 氧化酶活性与 IAA 的分解代谢有关^[4,8]。为了认识 Res 促进绿豆下胚轴不定根形成的原因, 分析了 Res 对插条生根部位(即插条由下往上 2cm)内不定根形成过程中 IAA 氧化酶活性的影响。表 2 结果表明, 绿豆下胚轴在切除根系以后, 生根范围内的 IAA 氧化酶活性不断升高。Jackson 指出^[8], 不定根形成的初期是细胞脱分化和分裂的时期, 需要较高水平的内源生长素以诱导根原基的形成, 而根原基生长和分化的阶段却被高浓度的 IAA 所抑制。以 60mg L^{-1} Res 处理下胚轴插条后 1-3d(即不定根形成初期), 可以明显地降低 IAA 氧化酶活性, 比对照酶活性减弱 38-46%, 说明 Res 能维持插条体内 IAA 较高的水平, 促进根原基形成。

表 2 60mg L^{-1} Res 和 60mg L^{-1} SA 对绿豆下胚轴生根范围内 IAA 氧化酶和多酚氧化酶活性的影响

Table 2 Effects of resorcinol (60mg L^{-1}) and salicylic acid (60mg L^{-1}) on the activities of IAA oxidase and polyphenol oxidase in hypocotyl cuttings from mung bean seedlings during the formation of roots

处理后天数 Days after treatment	IAA 氧化酶 IAA oxidase ($\text{IAA nmol mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$)			多酚氧化酶 Polyphenol oxidase ($\text{units mg}^{-1} \text{ protein min}^{-1}$)		
	CK	Res	SA	CK	Res	SA
0	1.77			4.35		
1	5.25	3.71	9.58	11.92	4.90	20.27
3	8.33	4.56	13.18	20.39	19.64	34.20
5	17.81	9.47	13.25	18.15	11.88	3.60

经水杨酸处理的绿豆下胚轴生根范围内 IAA 氧化酶活性高于 Res 的处理, 与对照相比, 在下胚轴切除根系的第 1 天, 酶活性高于对照 87.0%, 直到生根第 5 天, SA 处理的酶活性才低于对照。SA 抑制绿豆下胚轴不定根的形成, 可能与它加强生根初期 IAA 的氧化分解、影响根原基的形成有密切关系。

对多酚氧化酶活性测定的结果显示, 下胚轴切除根系后 1-3d, 对照、Res 与 SA 处理的酶活性皆升高, 生根第 3 天达到最大值, 然后迅速降低。其中经 Res 处理的插条生根范围内多酚氧化酶活性低于对照和 SA 的处理, 在生根第 1 天, Res 处理的酶活性变化不大, 到第 3 天则快速增加, 接近对照水平。SA 处理的酶活性在生根的第 1、3 天, 分别比对照提高 70% 和 68%, 第 5 天又急剧降低, 且低于对照和 Res 处理的活性。

3. 讨论

植物形成不定根的能力, 除了与植物本身再生能力的遗传特性有关外, 还与生根部位内 IAA 水平和抑制生根的物质水平有关。植物体内酚类物质的种类较多, 由于它们与 IAA 的代谢关系密切, 所以是重要的生根辅助因子^[4,8]。Res 和 SA 为简单酚类物质, 它们影响着 IAA 的氧化分解, 从而也影响着不定根的形成。我们的工作结果表明, Res 能降低生根初期生根范围内 IAA 氧化酶

的活性, 维持较高水平的 IAA, 促进根原基形成。已知外施 IBA, 也需在体内转变成 IAA 后才起促进生根的作用, Res 与 IBA 混合使用, 对不定根形成具加成效应, 可能也与它们有效地限制 IAA 氧化酶的氧化作用有关。SA 的结构、羟基数量及位置与 Res 不同, 它抑制 IAA 氧化酶活性是抑制绿豆下胚轴不定根形成的原因之一。

Haissg 指出^[9], 植物体内在诱导根原基形成时含有一个包括多酚氧化酶的“信号”。在正常状态下, 酚类物质存在于液泡内, 切除根系后, 受伤的细胞内释放出酚类物质与多酚氧化酶接触而起作用。一般情况下生根初期的多酚氧化酶活性较强。由于不同的酚类物质对 IAA 的水平 and 代谢的作用不同, 故对不定根形成的影响有促进和抑制的报道^[9]。有人用 4-氯间苯二酚处理菜豆插条, 抑制多酚氧化酶活性, 酚类物质含量高, 诱导不定根的形成^[5,6]。

我们的实验结果表明, SA 抑制绿豆下胚轴不定根的形成, 并对 IBA 诱导的生根起抑制作用, 因为它使生根初期的 IAA 氧化酶和多酚氧化酶活性增强, 减少生根范围内 IAA 和酚类物质含量^[4]。

参考文献

- 1 Ilya R. Role of salicylic acid in plants. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1992, 43:439-443
- 2 Lee T T. Effects of phenolic substances on metabolism of exogenous indole-3-acetic acid in maize stem. *Physiol Planta*, 1953, 50:107-112
- 3 Malik C P, Parmar U, Singh P. Phenolic acid effects on peanut growth and oil production. *Plant Physiol*, 1986, 6: 1-3
- 4 Kling G J, Meyer M M Jr. Effects of phenolic compounds and indole acetic acid on adventitious root initiation in cuttings of *Phaseolus aureus*, *Acer saccharinum* and *A. griseum*. *HortScience*, 1983, 18(3):352-354
- 5 Bansal M P, Nanda K K. IAA oxidase activity in relation to adventitious root formation on stem cuttings of some forest tree species. *Exp Bot*, 1981, 37:1273-1274
- 6 朱广康, 钟海文, 张爱琴. 植物生理学实验. 北京: 北京大学出版社, 1990, 37-39
- 7 Lowry O H et al. Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem*, 1951, 193:265
- 8 Jackson M B. *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Boston: Martinus Nijhoff Publishers, 1988, 201-207
- 9 Haissg B E. Influences of auxins and auxin synergists on adventitious root primordium initiation and development. *New Zealand J Forestry sci*, 1974, 2:311-323