

环糊精对绿豆下胚轴不定根形成的影响

张铭光

(华南师范大学生物系, 广州 510631)

摘要 10^3-10^2 mol/L β -环糊精能明显促进绿豆插条不定根根原基形成, 增加不定根数目和总根长。 10^4-10^2 mol/L β -环糊精能提高不定根的鲜重、干重和可溶性蛋白质含量, 降低 IAA 氧化酶活性, 减少不定根的平均根长, 但对下胚轴的鲜重和干重影响不明显。 10^3 mol/L β -环糊精能提高插条的不定根活力。

关键词 β -环糊精; 不定根; IAA 氧化酶; 可溶性蛋白质; 根活力

中图分类号 Q945.39

EFFECT OF CYCLODEXTRIN ON ROOTING IN HYPOCOTYL CUTTINGS OF MUNG BEAN

Zhang Mingguang

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

Abstract β -cyclodextrin promoted the formation of adventitious roots in cuttings of mung bean. 10^3-10^2 mol/L β -cyclodextrin stimulated the formation of adventitious root primordia and increased the adventitious root number and the length of total adventitious roots. 10^4-10^2 mol/L β -cyclodextrin enhanced the fresh weights, dry weights and content of soluble protein of adventitious roots, and decreased the average length per adventitious root and activity of IAA oxidase in hypocotyl cuttings. 10^3 mol/L β -cyclodextrin raised the adventitious root activities. No obvious effects of β -cyclodextrin were found on the fresh weight and dry weight of hypocotyls.

Key words β -cyclodextrin; Adventitious root; IAA oxidase; Soluble protein; Rooting ability

环糊精(Cyclodextrin)已广泛应用于分析化学、医药、食品工业以及农业生产研究等领域^[1]。我国也开展了环糊精应用于农作物的研究。据报道, 喷洒环糊精能使番茄增产7%, 并能提高果实的营养价值^[2]。环糊精能提高麦类作物的分蘖数、叶绿素含量及光合速率^[3]。目前未见有环糊精对植物生根影响的报道。本文探讨环糊精促进植物生根的生理功能, 为拓展环糊精在农业生产的应用提供依据。

1 材料和方法

材料与处理 试验用的 β -环糊精(以下简称 β -CD)是广东省郁南县环糊精厂产品。 β -CD

分子量为 1135。纯度为 95%。绿豆 (*Vigna radiata*) 种子经表面消毒、浸泡后, 于 $27 \pm 2^\circ\text{C}$ 暗萌发 48 h, 然后播于已消毒的湿沙中, 室外自然光培养。待幼苗上胚轴长至 5–10 mm 时, 取长势一致的幼苗, 切去根部, 分别插在装有 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} mol/L β -环糊精的烧杯中处理 12 h, 以清水作对照。然后把插条插在装有湿沙的培养盒中光照培养。每天光照 12 h, 光强为 1500 lx。

测定方法 处理后第五天计算不定根鲜重、干重、长度和数目; 计算下胚轴鲜重和干重。用 FAA 固定液固定经 β -CD 处理的不同天数的下胚轴 24 h, 用醋酸洋红染色, 经乙醇脱水和二甲苯透明后, 计算染成红色的根原基数。用考马斯蓝 G-250 法^[4]测定下胚轴基部 1.5 cm 及不定根的可溶性蛋白质。参照张志良的方法^[5]测定下胚轴基部 1.5 cm 及不定根的 IAA 氧化酶活性。根活力按 α -萘胺氧化法^[5]测定。

2 结果与分析

2.1 β -CD 对插条根原基发生的影响

从表 1 可知, 对照和 β -CD 处理的插条在处理 24 h 均见根原基发生。到 48 h, 根原基数达最高值。但经 10^{-3} mol/L 和 10^{-2} mol/L β -CD 处理的发根力明显强于对照, 分别达到显著和极显著水平。根原基形成后不断生长, 陆续突出下胚轴表皮形成不定根。到 72 h, 各处理的插条未突出下胚轴表皮的根原基数明显下降。表明插条产生根原基的能力下降, 对照未突出表皮的根原基数只有 24 h 的 78%。但经 β -CD 处理的发根力的下降速度减慢, 其中 10^{-2} mol/L 处理的达极显著水平。而且经 β -CD 处理的未突出表皮的根原基数也明显多于 24 h 的水平。可见, β -CD 不仅可以提高发根力, 还可减缓发根力的下降速度。据观察, 扦插第 3 天以后, 基本上是根原基的生长并形成不定根, 只有极少新根原基产生。

表 1 β -环糊精处理后绿豆插条根原基数 (个/插条)

Table 1 Root primordium number per cutting of mung bean after β -cyclodextrin treatment

时间 Time (h)	β -环糊精浓度 (mol/L) Concentration of β -cyclodextrin			
	0	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
24	4.5(100.0)	4.6(102.2)	4.6(102.2)	5.2(115.6)
48	8.0(100.0)	8.0(100.0)	13.2*(165.0)	22.2**(277.5)
72	3.5(100.0)	5.3(151.4)	5.7(162.9)	13.5**(385.7)

*5% 显著水平; **1% 极显著水平

Significant at the 5% (*) or 1% levels (**).

其未突出表皮的根原基数均多于对照, 其中 10^{-2} mol/L 处理的达极显著水平。而且经 β -CD 处理的未突出表皮的根原基数也明显多于 24 h 的水平。可见, β -CD 不仅可以提高发根力, 还可减缓发根力的下降速度。据观察, 扦插第 3 天以后, 基本上是根原基的生长并形成不定根, 只有极少新根原基产生。

2.2 β -CD 对插条不定根生长的影响

表 2 可见, β -CD 在 10^{-4} – 10^{-2} mol/L 的浓度范围内, 均可增加插条不定根数量。生根数与 β -CD 浓度呈正相关。 10^{-3} mol/L 和 10^{-2} mol/L 浓度处理的生根数分别达到显著水平和极显著水平。

β -CD 处理后, 平均根长均短于对照, 10^{-2} mol/L 浓度处理的达极显著水平。但经 β -CD 处理的每个插条的总根长均长于对照。其中 10^{-2} 和 10^{-3} mol/L 浓度处理的都达极显著水平。可见, β -CD 具有促进

表 2 β -环糊精对绿豆插条根生长的影响

Table 2 Effect of β -cyclodextrin on the growth of roots in cuttings of mung bean

β -环糊精 β -cyclodextrin (mol/L)	根数 (条/插条) No. roots/cutting	%	根长 Length of roots (cm)			
			长度/根 Length/root	%	总根长/插条 root length/cutting	Total %
0	12.4	100.0	1.26	100.0	15.63	100.0
10^{-4}	13.9	112.1	1.16	92.1	15.94	102.0
10^{-3}	18.3*	147.6	1.19	94.4	21.45**	137.2
10^{-2}	26.9**	216.9	0.76**	60.3	19.78**	126.6

*5% 显著水平; **1% 极显著水平 Significant at the 5% (*) or 1% levels (**).

生根的作用。β-CD 处理后每根长度较短, 可能是由于根数多了而营养跟不上所致。

2.3 β-CD 对不定根及下胚轴鲜重和干重的影响

表 3 表明, β-CD 均能提高插条不定根的鲜重和干重。根鲜重和干重的增加与 β-CD 浓度呈负相关。据观察, 10⁻⁴ mol/L β-CD 处理的根较粗壮, 而且在处理后 96 h 可溶性蛋白质含量也较高, 这些可能是经 10⁻⁴ mol/L β-CD 处理的根鲜重和干重较高的原因之一。经 β-CD 处理的根干重明显大于对照, 干重与鲜重的比值均大于对照, 达显著水平。β-CD 对插条下胚轴鲜重、干重以及干重与鲜重的比值均影响不大。

表 3 β-环糊精对绿豆插条根和下胚轴鲜重、干重的影响

Table 3 Effects of β-cyclodextrin on fresh and dry weights of the roots and hypocotyls in cuttings of mung bean

β-环糊精 β-cyclodextrin (mol/L)	根 Root(mg/cutting)			下胚轴 Hypocotyl(mg/cutting)		
	鲜重 FW	干重 DW	干重/鲜重 DW/FW	鲜重 FW	干重 DW	干重/鲜重 DW/FW
0	35.4	2.2	0.062	113.9	9.2	0.081
10 ⁻⁴	41.0	4.2*	0.102*	118.1	9.7	0.082
10 ⁻³	39.3	3.6	0.092*	110.9	9.0	0.081
10 ⁻²	37.3	3.5	0.094*	108.9	8.7	0.080

*5% 显著水平 Significant at the 5% level.

2.4 β-CD 对 IAA 氧化酶活性的影响

植物组织中的 IAA 氧化酶催化 IAA 的氧化, 其活性与 IAA 水平呈负相关。为了解 β-CD 促进生根的原因, 本文测定了 β-CD 处理后绿豆插条基部 IAA 氧化酶的活性变化(表 4)。β-CD 可以抑制 IAA 氧化酶活性。不同浓度 β-CD 以及处理后不同时间的抑制效果不同。处理后第 1、2 天的抑制程度与 β-CD 浓度呈正相关, 处理后第 4 天效果则相反, IAA 含量相应提高。10⁻² mol/L β-CD 处理插条后 1-3 天, IAA 氧化酶活性较低, 在 24 h 和 72 h, 其 IAA 氧化酶活性只有对照的 64.4% 和 62.5%, 96 h 时酶活性稍低于对照。这些都利于插条的较高 IAA 水平, 促进根原基形成和根生长。

表 4 β-环糊精对绿豆插条 IAA 氧化酶活性和可溶性蛋白质含量的影响

Table 4 Effects of β-cyclodextrin on the activity of IAA oxidase and the content of soluble protein in cuttings of mung bean

时间 Time (h)	IAA 氧化酶活性 IAA oxidase activity (μg g ⁻¹ FW h ⁻¹)				可溶性蛋白质 Soluble protein (mg g ⁻¹ FW)			
	β-CD (mol/L)				β-CD (mol/L)			
	0	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²	0	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²
24	736.09	670.26	565.73	489.00	5.34	5.04	4.95	4.72
48	1003.09	1103.82	993.53	987.22	5.30	5.17	5.54	5.25
72	2747.01	1298.20	1229.20	1717.64	4.28	4.61	4.79	4.51
96	766.80	480.35	631.50	706.40	3.59	4.35	4.16	3.99

2.5 β-CD 对可溶性蛋白质含量的影响

β-CD 处理后 24 h, 各处理的插条可溶性蛋白质含量均低于对照。处理后 48 h, 可溶性蛋白质含量迅速提高, 并在此时达到峰值, 10⁻³ mol/L 浓度处理的已高于对照, 其他两个处理的也接近对照。处理后 72 h 和 96 h, 各处理的可溶性蛋白质含量虽随时间推移而下降, 但均高于对照。经 β-CD 处理的可溶性蛋白质含量的下降速度明显低于对照, 尤其是 10⁻⁴ mol/L β-CD 处理的下降速度最低。对照的可溶性蛋白质含量在 24 h 开始一直下降, 其下降速度均大于各浓度 β-CD 处理(表 4)。可见, β-CD 可增加插条蛋白质合成或降低分解。

2.6 β-CD 对插条根活力的影响

试验结果表明, 10⁻³ mol/L β-CD 能提高插条的根活力(图 1)。根活力强弱与整个植物生命活动密切相关。春小麦根系活力与植株生长发育呈正相关。水稻根系对 α-萘胺氧化力降低

时,根系对氮、磷、钾的吸收也降低^[6]。βCD 提高绿豆插条根活力,加强根系的吸收功能,有利于插条的正常生长发育。

3 讨论

据研究^[7,8],不定根形成过程分为诱导期、起始早期、起始晚期和生长分化期四个阶段。起始早期出现细胞分裂,起始晚期需要 IAA(吲哚乙酸)水平较低,形成根原基。IAA 是促进不定根形成的主要激素,在不定根的起始和发育中起着中心功能。IAA 氧化酶活性低利于诱导期积累 IAA,促进细胞脱分化。经 β-CD 处理的绿豆插条基部 IAA 氧化酶活性较低,利于积累较多的 IAA,促进细胞脱分化和细胞分裂。β-CD 处理后 48 h 和 72 h, IAA 氧化酶活性提高, IAA 减少,促进根原基形成。之后, IAA 氧化酶活性降低, IAA 水平提高,促进根原基生长形成不定根。高浓度的 IAA 会抑制根原基形成^[7]。

IAA 影响核酸的转录和翻译,促进蛋白质合成^[9]。β-CD 处理降低插条基部 IAA 氧化酶活性可能是可溶性蛋白质含量增加的原因之一。可溶性蛋白质含量增加,提高了插条基部细胞的营养物质水平,有利于细胞的分裂和生长,形成不定根。据报道^[10],植物叶的 RuBP 羧化酶/加氧酶含量接近叶可溶性蛋白质含量的 50%。叶可溶性蛋白质总含量虽然不断变化,但 RuBP 羧化酶/加氧酶占可溶性蛋白质含量的比例比较稳定,酶的比活性也相当稳定。RuBP 羧化酶在卡尔文循环的羧化阶段起重要作用,催化 CO₂ 的同化,提高光合速率。β-CD 处理提高插条可溶性蛋白质含量,对提高光合作用和碳水化合物合成是有利的。

韩发等报道^[2],环糊精明显提高番茄叶绿素含量和可溶性糖含量,促进果实干物质积累,促进营养器官生长,茎枝增粗,叶面积增大,番茄产量增加。当插条扦插后切段内的可溶性碳水化合物在根原基形成前积累于切段基部。增加 IAA 含量可加速糖分在切段基部积累,促进生根^[7]。β-CD 处理后插条基部 IAA 氧化酶活性低于对照,利于 IAA 含量提高,积累糖分,促进不定根形成和生长,增加不定根数。β-CD 处理还增加插条可溶性蛋白质含量。这些都利于增加不定根的鲜重和干重。本实验结果与韩发的研究一致。

参考文献

- 1 芮海凤. 环糊精在生化研究、农业、药物及食品加工中的应用. 生物化学与生物物理进展, 1985, (1):27-31
- 2 韩发, 李延平. 环糊精对番茄增产效应的研究. 园艺学报, 1990, 17(2):139-143
- 3 韩发, 贲桂英, 马晓明. 环糊精对麦类作物生长发育及生理功能的影响. 高原生物学集刊, 1987, (6):177-182
- 4 李琳, 焦新之. 应用蛋白染色剂考马斯蓝 G-250 测定蛋白质的方法. 植物生理学通讯, 1980, (6):52-55
- 5 张志良主编. 植物生理学实验指导(第二版). 北京: 高等教育出版社, 1990, 59-212
- 6 倪文. 光对稻苗根系生长及其生理活性的影响. 作物学报, 1983, 9(3):199-203
- 7 潘瑞炽, 李玲. 植物生长发育的化学调控. 广州: 广东高等教育出版社, 1995, 52-70
- 8 Jarvis B C. Endogenous control of adventitious rooting in nonwoody cuttings. In: Jackson M B ed. New Root Formation in Plants and Cuttings. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht. 1986, 191-222
- 9 Wilkins M B ed. Advanced Plant Physiology. London: Pitman Publishing Limited. 1984, 13-16
- 10 朱根海, 张荣钰. 叶片含氮量与光合作用. 植物生理学通讯, 1985, (2):9-12

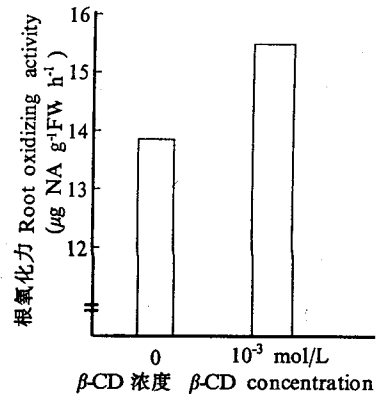


图1 β-CD 对绿豆插条根系活力的影响
Fig. 1 Effect of β-cyclodextrin on rooting ability in cuttings of mung bean