

绿豆插条生根过程中内源激素含量变化

王金祥^{1,2,*} 潘瑞炽²

¹ 华南农业大学资源与环境学院, 广州 510642; ² 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631

提要 绿豆插条离体后其 IAA 含量出现一个峰值, 乙烯利处理的 IAA 峰值出现在第 6 小时, 未经乙烯利处理的出现在第 12 小时, 与插条生根峰出现时间相符。乙烯利处理与否的插条生根过程中, 内源 GA₃ 含量在 0~30 h 内呈下降趋势, 随后略微上升; 内源 ABA 含量先升后降; 细胞分裂素 ZT 和 ZR 含量在总体上是下降的。

关键词 绿豆插条; 不定根; 激素

Changes in Endogenous Hormone Contents of Mung Bean During Adventitious Root Formation of Cuttings

WANG Jin-Xiang^{1,2,*}, PAN Rui-Chi²

¹College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642; ²College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631

Abstract Results demonstrated that IAA content peaks of cuttings treated with ethephon and the control of mung bean were occurred after treatment for 6 and 12 h respectively and consistent with the peaking of adventitious rooting. GA₃ content of treated cuttings and the control decreased during 0–30 h, then increased slightly, ABA level went up firstly and then down, and ZT and ZR contents of ethephon-treated cuttings and the control decreased all along.

Key words mung bean cutting; adventitious root; hormone

在插条不定根形成过程中内源激素含量变化是人们关心的问题。Berthon 和 Maldiney^[1]报道, 在不定根形成的早期无 IAA 峰出现, IAA 含量缓慢下降^[1]; 内源 GA₃ 和 ABA 在生根过程中变化的报道还不多, 有些报道表明生根过程中 ABA 含量先上升, 后下降^[2]; 薄层培养的莴苣不定根形成过程中玉米素(ZT)+玉米素核苷(ZR)含量一直缓慢下降^[3]。Pan 等^[4]报道绿豆插条生根过程中乙烯释放量分别第 6、24 和 48 小时出现 3 个峰, 峰值依次递减, 但他们对于绿豆插条生根过程其它植物激素含量的变化未作测定。总之, 插条不定根形成过程中的激素含量是有变化的。我们在前文中曾报道乙烯利促进绿豆插条生根, 最适浓度为 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 此种作用随绿豆插条生根的时间进程而异^[4]。为了探究其中的生理基础, 本文测定了 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利处理与否的绿豆下胚轴插条生根过程中的内源生长素 IAA、GA₃、ABA、ZT 和 ZR 含量变化。

材料与方 法

实验材料为绿豆 (*Phaseolus radiatus*)。标准 IAA、GA₃、ABA、ZR 和 ZT 均为 Sigma 公司产

品, 色谱洗脱液为 HPLC 级, 其它为国产分析纯。

绿豆培养方法见文献 4。绿豆插条用 $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的乙烯利处理 24 h 后, 改用蒸馏水处理 5 d, 每天更换蒸馏水; 以蒸馏水处理 6 d 的为对照。插条离体后每隔 6 h 取材制样。

参照文献 5~7 的方法提取植物激素, 除用 Sep-Pak C₁₈ 小柱纯化样品外, 其它步骤与之相同。制得的样品测定前用孔径为 0.45 μm 滤膜过滤。

测定 IAA、GA₃ 和 ABA 的仪器为 BECKMAN SYSTEM GOLD 液相色谱仪。洗脱液为水: 乙醇: 乙酸 = 60:35:5, 流速为 $0.5 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长为 254 nm。用外标法定性, 峰面积法定量, 测定重复 3 次。测定 ZT 和 ZR 时的洗脱液为甲醇和双蒸水, 色谱柱为 ODS C₁₈ 反相柱, 规格为 $5 \mu\text{m} \times 4.6 \text{ mm} \times 250 \text{ mm}$ 。梯度洗脱, 0~4 min 时双蒸水为 100%; 4~6 min 时, 甲醇变为 40%; 10~13 min 时, 甲醇升为 60%; 20~25 min 时,

收稿 2004-03-11 修定 2004-09-13

* E-mail: jinxiang@scau.edu.cn, Tel: 020-85280156

甲醇变为80%; 30~35 min 时甲醇变为100%。流速为1.0 mL·min⁻¹。检测波长为254 nm。用外标法定性, 峰面积法定量, 测定重复3次。

结果与讨论

1 内源 IAA 含量的变化

从图1可知, 在绿豆插条不定根形成过程中, 生根区的 IAA 含量出现一高峰, 未经乙烯利处理的 IAA 高峰出现在第12小时, 经乙烯利处理的在第6小时出现; IAA 高峰出现时间与插条生根高峰时间恰好一致^[4]; 随后 IAA 含量下降而维持在较低水平, 甚至低于起始水平。在诱导期0~12 h 内 IAA 含量急剧上升, 显示这段时间内生根区中 IAA 含量高有利于启动不定根原基细胞分裂, 导致根原基膨大, 至于乙烯利处理的 IAA 峰值比不作乙烯利处理的高, 是否是乙烯影响了 IAA 的合成与代谢, 还有待进一步研究。

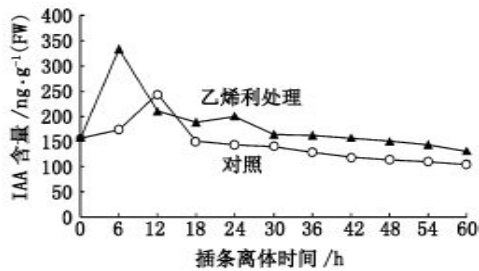


图1 绿豆插条中内源 IAA 含量变化

Fig. 1 Change in endogenous IAA content in mung bean cuttings

Blakesley等^[8]的研究表明山茱萸(*Cornus*)插条内源 IAA 水平在生根的早期有一个峰值, 而后含量下降, 认为这一峰值与根原基启动有关, 插条生根区早期内源 IAA 含量升高主要是因为顶端 IAA 的极性运输以及插条基部过氧化物酶(peroxidase, POD)活性降低; 酸性 POD 的活性在生根过程中24 h后一直升高^[8]。IAA 氧化酶(IAA oxidase, IAA_{ox})在生根过程中的变化趋势与 POD 的相似^[8~11]。IAA_{ox}活性在12 h即开始迅速上升^[11]。本文结果是未经乙烯利处理的插条中 IAA 的含量在12 h 出现峰值, 随后迅速下降, 这应该是 IAA_{ox}和 POD 活性在12 h 后上升的结果。乙烯利处理的插条中 IAA 峰出现早, 可能是因为外源乙烯影响了 IAA 合成的有关酶活性。

2 内源 GA₃ 含量的变化

经乙烯利处理的绿豆插条中内源 GA₃ 含量在

0~24 h 内下降, 下降速度也大; 随后开始呈缓慢上升态势, 第60小时接近处理前的水平(图2)。从绿豆下胚轴插条生根来看, 生根期间低水平 GA₃ 有利于不定根的生长。在第24 小时后 GA₃ 含量略微上升, 可能与不定根原基形成后生长而突出表皮有关。生根早期植物生长延缓剂促进绿豆插条生根^[12], 而它们是抑制内源 GA₃ 合成的, 这从另一方面证明生根早期低水平 GA₃ 有利于绿豆插条生根。

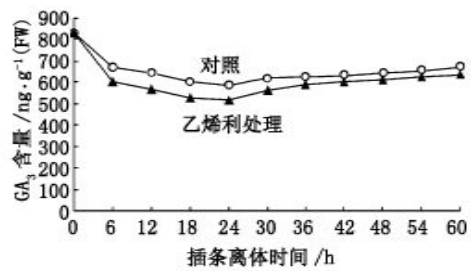


图2 绿豆插条中内源 GA₃ 含量变化

Fig. 2 Change in endogenous GA₃ content in mung bean cuttings

3 ABA 含量的变化

无论乙烯利处理与否的绿豆插条中, 内源 ABA 含量在插条离体后0~60 h 内有一个先升后降的变化过程, 下降速度较快; 在第6小时有一个小峰, 在54~60 h 略微上升(图3)。

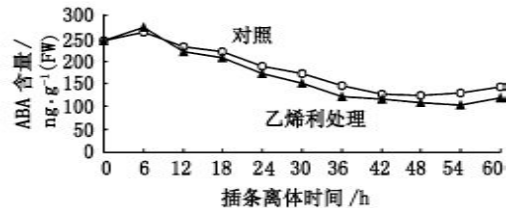


图3 绿豆插条中内源 ABA 含量变化

Fig. 3 Change in endogenous ABA content in mung bean cuttings

ABA 与 GA₃ 合成有共同的前体——甲羟戊酸, 内源 GA₃ 含量减少, ABA 合成的前体就有保障。因此, ABA 含量在0~6 h 内上升可能是 GA₃ 含量下降的结果。另外, ABA 合成受伤害诱导, 可能是插条切离母体后短时间内促进 ABA 合成之果。Maldiney 等也认为后期低水平的 ABA 有利于生根^[2]。

4 内源 ZT 含量的变化

在绿豆插条切离母体后的0~18 h 内, 内源 ZT 含量下降, 下降速度是乙烯利处理的大些; 第24

小时含量略微上升, 随后下降至很低水平(图4)。乙烯利处理的插条ZT下降速度快可能是因为释放的乙烯能促进ZT转化为O-糖苷形式^[13]。未经乙烯利处理的和处理的插条中ZT含量在0~18 h内都下降, 有利于维持高IAA/CTK比值, 利于不定根的形成^[3]。插条离体后的18~24 h内, 一般是根原基细胞开始分裂时期, ZT含量高, 因而细胞分裂得以顺利进行。同样, 插条生根组织中细胞分裂素氧化酶的活动也可能会影响ZT水平, 但外源乙烯是否会影响绿豆插条中ZT的氧化分解值得研究。

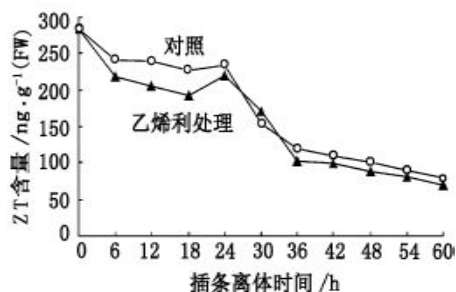


图4 绿豆插条中内源ZT含量变化

Fig. 4 Change in endogenous ZT content in mung bean cuttings

5 内源ZR含量的变化

内源ZR含量在生根过程中基本上呈下降趋势, 乙烯利处理的下降速度大些。有报道认为, 乙烯可加快结合型的细胞分裂素降解^[14], 还能催化ZR转化为腺嘌呤^[13]。ZR是玉米素核苷结合形式, 因此, 乙烯处理的绿豆插条内源ZR含量下降速度大于未经乙烯处理的。在18~24 h内ZR含量上升, 可能与ZR促进细胞分裂有关。

Bollmark等^[15]发现, 豌豆插条内源iPA的含量在生根早期上升, 到最后比ZR含量还高, 说明iPA可能参与不定根的形成过程。牡丹插条离体后15 d根原基已形成, iP含量达到最大值; 而

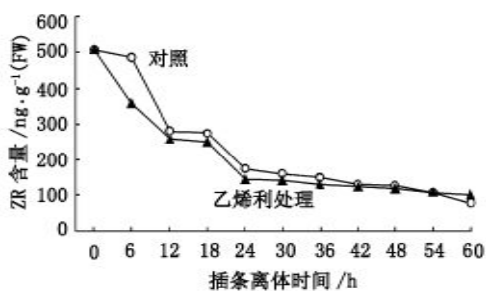


图5 绿豆插条中内源ZR含量变化

Fig. 5 Change in endogenous ZR content in mung bean cuttings

9RiP[N⁶-(D²-isopentenyl)adenosine]含量在根形成的诱导期, 第3天达到峰值^[16]。这些说明, 插条生根过程中各种细胞分裂素水平的变化规律是不同的。

总之, 根据本文结果推论, $5 \times 10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利影响绿豆插条生根区内源激素的含量变化可能是其促进生根的原因之一。

参考文献

- Berthon JY, Maldiney R. Endogenous levels of plant hormones during the course of adventitious rooting in cuttings of *Sequoiadendron giganteum in vitro*. *Biochem Physiol Pfl*, 1989, 184: 405~411
- Maldiney R, Pelese F, Pilate B et al. Endogenous levels of abscisic acid, indole-3-acid, zeatin and zeatin-riboside during course of adventitious root formation in cuttings of *Craigeella*. *Physiol Plant*, 1986, 68: 426~430
- 李颖章, 韩碧文. 薄层培养的菊苣不定根分化中内源IAA和细胞分裂素的动态变化. *植物生理学通讯*, 1995, 31(2): 97~99
- Pan RC, Wang JX, Tian XS. Influence of ethylene on adventitious root formation in mung bean hypocotyls cuttings. *Plant Growth Regul*, 2002, 36: 135~139
- 丁静, 沈镇德, 方亦雄等. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定. *植物生理学通讯*, 1979, (2): 27~39
- 谈锋. 植物激素的高效液相色谱. *植物生理学通讯*, 1986, (5): 15~23
- 王金祥, 傅建华, 陈良碧. 三种禾本科植物花粉中激素, 维生素含量比较研究. *湖南师范大学学报(自然科学版)*, 1999, 22(2): 81~84
- Blakesley D, Weston GD, Elliott MC. Endogeneous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid during the rooting of *Cornus coggygia* cuttings taken at different times of the year. *Plant Growth Regul*, 1991, 10: 1~12
- Mato MC, Vieitez AN. Changes in auxin protectors and IAA oxidases during the rooting of chestnut shoots *in vitro*. *Physiol Plant*, 1986, 66: 491~494
- Ben Efraim J, Gad AE, Cohen P et al. The effect of 4-chlorosorcinol on the endogeneous levels of IAA, ABA and oxidative enzymes in cuttings. *Plant Growth Regul*, 1990, 9: 97~106
- Pan RC, Tian XS. Comparative effect of IBA, BSAA and 5, 6-Cl₂-IAA-Me on the rooting of hypocotyls in mung bean. *Plant Growth Regul*, 1999, 27: 91~98
- Pan RC, Zhao ZJ. Synergistic effects of plant growth retardant and IBA on the formation of adventitious roots in hypocotyl cuttings of mung bean. *Plant Growth Regul* 1994, 14: 15~19
- Taverner E, Letham DS, Wang J et al. Influence of ethylene on cytokinin metabolism in relation to *Petunia corolla* senescence. *Phytochem*, 1999, 51: 341~347
- Bollmark M, Eliasson L. Ethylene accelerates the breakdown of cytokines and thereby stimulates rooting in Norway spruce hypocotyl cuttings. *Physiol Plant*, 1990, 80: 534~540
- Bollmark M, Kubat B, Eliasson E. Variation in endogeneous cytokinin content during adventitious root formation in pea cuttings. *J Plant Physiol*, 1988, 132: 262~265
- Bouza L, Sotta JB, Miginiac E. Relationship between auxin and cytokinin contents and *in vitro* rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.). *Plant Growth Regul*, 1994, 15: 69~73