

厚壁毛竹展叶期竹秆内源激素特征

方楷 杨光耀 杨清培 施建敏 于芬

(江西农业大学 江西省竹子种质资源与利用重点实验室 江西 南昌 330045)

摘要:应用高效液相色谱(HPLC)技术测定了厚壁毛竹展叶期竹秆不同高度位置上内源激素的组成及含量。结果表明:展叶期竹秆中内源激素的平均含量($\mu\text{g/g}$)从高到低依次为:GA₃(77.30 ± 5.81)、IBA(4.36 ± 0.85)、IAA(3.21 ± 0.73)、ZT(2.63 ± 0.26)、2-ip(2.22 ± 0.35)、6-BA(2.01 ± 0.28)、ABA(1.40 ± 0.10)。2-ip、GA₃、ABA、6-BA和ZT的含量均随竹秆位置降低而不断下降,但2-ip、GA₃和ABA的含量在中部下降不明显,而梢部和基部位置均呈明显下降趋势;6-BA含量随竹秆位置降低呈近线性减小;ZT含量在梢部下降较快,而中部和基部下降不明显。不同位置按IAA、IBA含量的高低均排列为:中部、梢部、基部。内源激素含量间有明显的相关性,GA₃与2-ip的相关性达到极显著水平($R=0.854$, $P<0.01$)。ZT与GA₃、ABA间、2-ip与ABA间的相关性均达到显著性水平($P<0.05$)。

关键词:厚壁毛竹;内源激素;展叶期竹秆

中图分类号:S795.702 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2012)01-0054-05

The Features of Endogene Hormone in Culm of *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen' in Its Leaf-expansion Stage

FANG Kai, YANG Guang-yao, YANG Qing-pei, SHI Jian-min, YU Fen

(Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045)

Abstract: The composition and contents of endogenous phytohormones in the culm of *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen' at different heights in its leaf-expansion stage were studied. The results showed that the phytohormones ordered ($\mu\text{g/g}$) by the content in its leaf-expansion stage culm were that GA₃(77.30 ± 5.81) > IBA(4.36 ± 0.85) > IAA(3.21 ± 0.73) > ZT(2.63 ± 0.26) > 2-ip(2.22 ± 0.35) > 6-BA(2.01 ± 0.28) > ABA(1.40 ± 0.10). In general, the contents of endogene hormones (2-ip, GA₃, ABA, 6-BA and ZT) decreased with the decreasing of height. The contents of 2-ip, GA₃ and ABA decreased remarkably at both the upper and basal parts, and slightly at the middle parts and that of ZT decreased faster at the upper parts than at both the middle and basal parts. In addition, the content of 6-BA decreased linearly. The sequences ordered by the contents of IAA, IBA were central section > the end > the basal. Extremely significant correlation was found between GA₃ and 2-ip ($R=0.854$, $P<0.01$), and the correlations between ZT and GA₃, ZT and ABA were all significant at the 0.05 level.

Key words: *Phyllostachys edulis* 'Pachyloen'; endogenous phytohormones; leaf-expansion stage culm

厚壁毛竹(*Phyllostachys edulis* 'Pachyloen')的竹秆可达12 m高,且髓心部分的细胞解体相对较少,秆壁厚(基部3~4 cm,中部1.4~1.8 cm,上部近实心),是等径毛竹的1.8~2.0倍^[1-3]。竹材冲击

收稿日期:2011-09-09 修回日期:2011-10-17

基金项目:国家自然科学基金项目(30760204)

作者简介:方楷(1982—),男,硕士,主要从事竹类资源利用研究, E-mail: fkbota@126.com。

韧性和纤维性状与毛竹相同^[4-5],但厚壁毛竹胸围仅介于 12.88 ~ 22.0 cm^[1-2]。厚壁毛竹作为竹材优良的毛竹栽培变种,有较高的种质价值和经济价值,培育大径级厚壁毛竹有十分重要的意义。

毛竹笋期的内源激素研究表明,从竹笋梢部到基部,促进生长类激素(IAA、GA₃ 等)的含量呈递减趋势,而抑制生长的激素(如 ABA)含量则不断增高^[6-8]。厚壁毛竹在展叶期,竹笋向新竹转变,竹秆生长过程停止,竹秆基部的组织结构基本成熟,纤维素和半纤维素等成分在细胞壁的沉降速率逐渐降低,细胞壁增厚也逐渐减慢^[9-11]。内源激素分布格局对竹秆不同位置上的代谢活动产生深刻的影响^[7-8,12],随后影响到新竹生产力和竹笋地径的逐年变化。本文旨在探究厚壁毛竹展叶期竹秆的激素分布特征,为厚壁毛竹竹林培育技术提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采样地位于江西农业大学竹种园。2010 年 4 月 15 日,选择生长健壮、大小均匀、高度基本一致的展叶期厚壁毛竹代表样株。除去梢部末端笋箨后,展叶期竹秆按高度先分为梢部、中部、基部 3 个位置,每个位置又细分上、中、下 3 点(每株共 9 个测试点),重复采样 5 株。

1.2 内源激素提取

称取 5 g 新鲜样品,加入 100 mL 预冷 $\varphi = 80\%$ 甲醇,匀浆捣碎,4 °C 浸提过夜。过滤,滤渣再浸提 2 次,过滤后合并滤液。滤液经 40 °C 减压蒸馏至没有甲醇残余。加入 50 mL 石油醚(沸点 30 ~ 60 °C)脱色 3 次,弃醚相。水相用 $\rho = 1\%$ NaOH 溶液调节 pH 至 8.0,加 0.5 g PVP 震荡 30 min 过滤。滤液用冰乙酸调节 pH 至 2.9,加入 50 mL 乙酸乙酯萃取 3 次,合并酯相,40 °C 减压蒸干。用流动相溶剂溶解残渣,定容至 10 mL,4 °C 冷藏备用。ZT、GA₃、2-ip、6-BA、IAA、ABA 和 IBA 标准品均为 Sigma 公司提供,甲醇为色谱纯,其他试剂为分析纯,实验用水为超纯水。

流动相、激素标准品溶液和样品测试溶液在测定前均用水系 0.22 μm 针孔过滤器过滤。

1.3 色谱条件及分析方法

色谱柱为 Spherisorb C₁₈ (4.6 mm × 250 mm, 5 μm),柱温 35 °C。紫外检测波长 254 nm,进样量 10 μL 。采用分段洗脱程序:0 ~ 10 min,流速 0.8 mL/min,流动相为 V(甲醇):V($\varphi = 1\%$ 乙酸) = 40:60; 10 ~ 10.5 min, V(甲醇):V($\varphi = 1\%$ 乙酸) = 50:50,流速增大至 1.5 mL/min; 10.5 min 后,流速和体积比不变,运行 18 min。采用保留时间定性分析,外标校准曲线法定量分析。

2 结果与分析

2.1 竹秆细胞分裂素的含量变化

不同高度位置上,厚壁毛竹展叶期竹秆中 2-ip、6-BA 和 ZT 含量的变化规律有显著差异(图 1)。由图 1 可知,展叶期竹秆中 2-ip 的含量介于 (0.52 ± 0.03) ~ (4.12 ± 0.92) $\mu\text{g/g}$,平均为 (2.22 ± 0.35) $\mu\text{g/g}$ 。其中梢部 2-ip 含量最高,达 (4.12 ± 0.92) $\mu\text{g/g}$,随高度的降低,2-ip 含量先降低至 (1.31 ± 0.85) $\mu\text{g/g}$,随后在中部有所上升为 (3.26 ± 1.05) $\mu\text{g/g}$,而在基部降至最低,仅 (0.52 ± 0.03) $\mu\text{g/g}$ 。

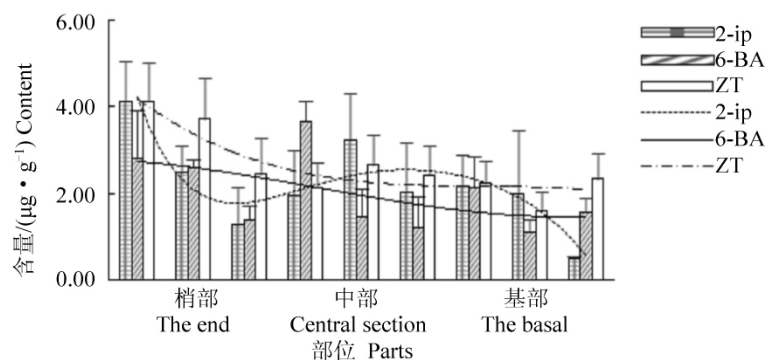


图 1 展叶期竹秆 2-ip、6-Ba 和 ZT 的含量

Fig. 1 The contents of 2-ip, 6-BA and ZT in leaf-expansion period culm

6-BA 和 ZT 含量在竹秆不同位置上的变化与 2-ip 存在明显区别(图 1)。由图 1 可知,竹秆 6-BA 的含量介于 (1.12 ± 0.28) ~ (3.66 ± 0.49) $\mu\text{g/g}$,平均为 (2.01 ± 0.28) $\mu\text{g/g}$,ZT 的含量介于 (1.61 ± 0.42)

~ (4.13 ± 0.90) μg/g, 平均为 (2.63 ± 0.26) μg/g。从竹秆梢部到基部 6-BA 和 ZT 的含量均呈不断下降的趋势。6-BA 的含量随高度降低呈近线性降低。ZT 含量在梢部降低较快, 从 (4.13 ± 0.90) μg/g 降低至 (2.15 ± 0.57) μg/g, 随后 ZT 含量趋于稳定。

2.2 竹秆生长素含量的变化

展叶期竹秆中生长素 (IAA 和 IBA) 的含量格局相似 (图 2)。由图 2 可知, 厚壁毛竹展叶期竹秆 IAA 的含量相对较低, 平均 (3.21 ± 0.73) μg/g 介于 (0.88 ± 0.04) ~ (6.01 ± 0.70) μg/g。IBA 的含量高于 IAA, 介于 (0.76 ± 0.09) ~ (7.65 ± 0.89) μg/g, 平均 (4.36 ± 0.85) μg/g。展叶期竹秆的 IAA 和 IBA 的含量均为梢部 - 中部含量最高 (梢部末端含量较低), 而基部含量相对较低。

2.3 竹秆 GA₃ 和 ABA 含量的变化

展叶期竹秆的 GA₃ 和 ABA 含量在不同高度位置的变化趋势相似 (图 3)。由图 3 可知, GA₃ 的含量介于 (60.57 ± 12.10) ~ (99.74 ± 14.80) μg/g, 平均为 (77.30 ± 5.81) μg/g。ABA 的含量介于 (1.02 ± 0.21) ~ (2.01 ± 0.38) μg/g, 平均为 (1.40 ± 0.10) μg/g, 明显低于前者。随高度的降低, 厚壁毛竹 GA₃ 和 ABA 的含量均呈下降的趋势, 其中梢部和基部部分降低较快, 而中部的含量变化很小。

2.4 内源激素含量的相关性分析

厚壁毛竹展叶期竹秆的内源激素之间存在较强的相关性 (表 1)。由表 1 可知, 内源激素间的相关关系以正相关为主, 不同激素间的相关性有明显差异, GA₃ 与 2-ip 的相关性达到极显著水平 (P < 0.01) 相关系数 (R) 为 0.854。ZT 与 GA₃、ABA 间, 2-ip 与 ABA 间的相关性均达到显著性水平 (P < 0.05, R 介于 0.684 ~ 0.758)。而 2-ip 与 ZT 间的相关性相对较大, R 为 0.637, 另外, IAA 与 6-BA 间, IBA 与 2-ip、ABA 间均呈现较弱的负相关关系 (R 介于 -0.152 ~ -0.165)。

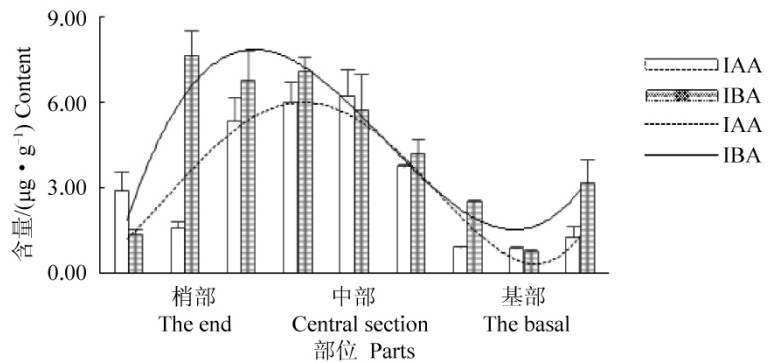


图 2 展叶期竹秆的 IAA 和 IBA 含量

Fig. 2 The contents of IAA and IBA in leaf-expansion period culm

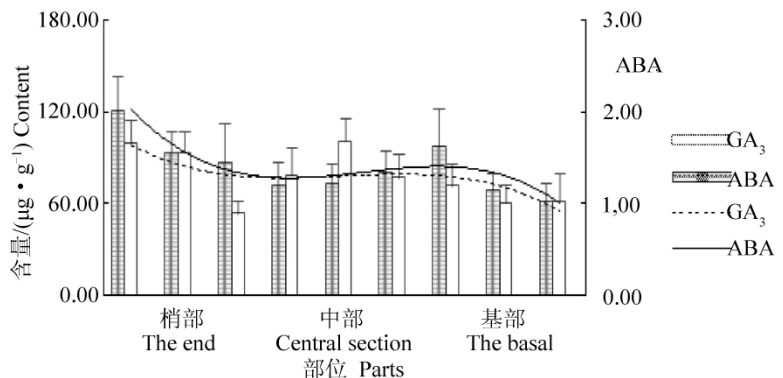


图 3 展叶期竹秆的 GA₃ 和 ABA 含量

Fig. 3 The contents of GA₃ and ABA in leaf-expansion period culm

表 1 内源激素含量间的性关系分析

Tab.1 The correlation analysis between the content of endogenous phytohormones

| | 2-ip | ZT | ABA | GA ₃ | IAA | IBA |
|-----------------|-------|-------|--------|-----------------|--------|--------|
| 6-BA | 0.333 | 0.427 | 0.383 | 0.442 | -0.152 | 0.307 |
| 2-ip | | 0.637 | 0.684* | 0.854** | 0.292 | -0.160 |
| ZT | | | 0.758* | 0.718* | 0.171 | 0.134 |
| ABA | | | | 0.465 | 0.241 | -0.165 |
| GA ₃ | | | | | 0.385 | 0.147 |
| IAA | | | | | | 0.281 |

* 表示在 0.05 水平显著相关; ** 表示在 0.01 水平极显著相关。

* , Correlation is significant at the 0.05 level; ** , Correlation is very significant at the 0.01 level.

3 结论与讨论

厚壁毛竹展叶期竹秆中, GA_3 的含量明显高于其它激素, 平均为 $(77.30 \pm 5.81) \mu\text{g/g}$, 其次为 IAA、IAA、ZT、2-ip、6-BA 和 ABA, 含量分别为 (4.36 ± 0.85) 、 (3.21 ± 0.73) 、 (2.63 ± 0.26) 、 (2.22 ± 0.35) 、 (2.01 ± 0.28) 、 $(1.40 \pm 0.10) \mu\text{g/g}$ 。 GA_3 含量比其它激素高出 1~2 个数量级, 笔者认为高浓度的 GA_3 可能是为了同时启动竹秆中部和梢部多个节上的展枝和展叶过程所必需, 与 GA_3 在鞭芽萌发和高生长时期的重要作用相似^[12-15]。另外, 本研究发现 ABA、IBA、ZT、IAA、2-ip 和 6-BA 的含量与笋期的含量接近^[12-15]。

现有的研究表明, 竹笋和成竹的 IAA 等内源激素含量均呈向基性降低, 而起抑制生长作用的 ABA 含量呈向基性增加^[6-8, 14-15]。与毛竹等竹种笋期的激素含量变化趋势相同, 厚壁毛竹展叶期竹秆的 2-ip、6-BA、ZT、 GA_3 和 ABA 均呈向基性降低, 其中 2-ip、 GA_3 和 ABA 的含量在梢部和基部位置上明显降低, 而 6-BA 和 ZT 的含量呈近线性降低 (ZT 的含量在梢部降低相对较快), 向基性降低的并非都是线性趋势, 可能是由竹秆在不同高度位置上细胞结构和功能的差异所引起的^[9-11]。由于生长素类激素的过度消耗, 快速生长期的甘蔗秆梢部 IAA 含量的下降^[16]。厚壁毛竹展叶期竹秆 IAA 和 IBA 的含量在中部较高, 其次为梢部, 而基部的含量相对较低, 可能是存在相同的原因。

目前已检测出的各种植物内源激素多达 300 多种^[14-15, 17], 而各种内源激素 (包括前体物质) 的生理功能不同^[17-23], 但仅有少数的几种内源激素的调节机制得到科学解释^[17-21]。竹笋的逐年增粗依赖于营养吸收和竹鞭和母竹中的物质积累^[24-27], 下一步的研究应借助分子探针等微量 (甚至痕量) 检测技术, 重点加强展叶期间内源激素对有关叶绿素合成、光和作用相关酶合成等的效应研究。

参考文献:

- [1] 杨光耀, 黎祖尧, 杜天真, 等. 毛竹新栽培变种——厚皮毛竹 [J]. 江西农业大学学报, 1997, 19(4): 97-98.
- [2] 郭起荣, 杜天真, 张露, 等. 厚皮毛竹生长特性研究 [J]. 江西林业科技, 1997(6): 3-4.
- [3] 郭起荣, 杨光耀, 杜天真, 等. 厚皮毛竹厚壁性状的表型遗传分析 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(6): 811-814.
- [4] 郭起荣, 杨光耀, 陈伏生, 等. 厚皮毛竹纤维形态研究 [J]. 江西农业大学学报, 1999, 21(2): 223-225.
- [5] 杨光耀, 郭起荣, 杜天真, 等. 厚皮毛竹材冲击韧性研究 [J]. 经济林研究, 2000(1): 38-39.
- [6] 郑郁善, 洪伟, 邱尔发, 等. 毛竹出笋期各器官激素分布特征的研究 [J]. 林业科学, 1998, 34(1): 100-104.
- [7] 杨彬. 毛竹笋体生长发育过程中内源生长素和脱落酸的动态研究 [J]. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 1997, 23(增刊): 195-196.
- [8] 丁兴萃. 毛竹笋体生长发育过程中内源激素的动态分析 [J]. 竹子研究汇刊, 1997, 16(2): 53-62.
- [9] 曹福亮, 楼崇. 毛竹林出笋与幼竹生长发育规律的研究 [J]. 竹子研究汇刊, 1991, 10(1): 64-71.
- [10] Gritsch C S, Murphy R J. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper* [J]. Ann Bot, 2005, 95(4): 619-629.
- [11] Lybeer B, Koch G, Acker J V, et al. Lignification and cell wall thickening in nodes of *Phyllostachys viridiglaucescens* and *Phyllostachys nigra* [J]. Ann Bot, 2006, 97(4): 529-539.
- [12] Davies P J. Plant hormones [M]. Third edition, Berlin: Springer, 2010.
- [13] 陆宪辉, 吴贵明. 毛竹 (*Phyllostachys pubescens*) 笋体生长及退败过程中生长调节物质的研究 [J]. 植物生理学通讯, 1979(1): 21-24.
- [14] 胡超宗, 金爱武, 张卓文. 雷竹竹鞭侧芽分化过程中内源激素的变化 [J]. 浙江林学院学报, 1996, 13(1): 1-4.
- [15] 何奇江, 汪奎宏, 华锡奇. 秋季出笋雷竹的氨基酸、激素和营养成分的分析研究 [J]. 科技通报, 2006, 22(4): 477-481.
- [16] 汪奎宏, 包其富. 毛竹笋期激素含量及其分布规律的研究 [J]. 竹子研究汇刊, 1989, 8(3): 35-46.
- [17] Cutler H G, Vliters A J. The natural auxins of the sugar cane ii. Acidic, basic, and neutral growth substances in roots and shoots from twelve days after germination of vegetative buds to maturity [J]. Physiologia Plantarum, 1962, 15(1): 27-42.
- [18] Santner A, Calderon Villalobos L I A, Estelle M. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth [J]. Nat Chem Biol, 2009, 5(5): 301-307.
- [19] Roldan V G, Fermas S, Brewer P B, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching [J]. Nature, 2008, 455: 189-194.
- [20] Sunayana M R, Sasikala C, Ramana C V. Rhodestrin: a novel indole terpenoid phytohormone from *Rhodobacter sphaeroides*

- [J]. *Biotechnol Letters*, 2005, 27(23/24): 1897-1900.
- [21] Franklin D C. Synchrony and asynchrony: observation and hypotheses for the flowering wave in a long-lived semelparous bamboo [J]. *J Biogeogr*, 2004, 31(5): 773-786.
- [22] Mcstee P. Hormonal regulation of branching in grasses [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 46-55.
- [23] Liang Y, Harris J M. Respond of root branching to brasicic acid is correlated with nodule formation both in legumes and nonlegumes [J]. *Am J Bot*, 2005, 92: 1675-1683.
- [24] 曾庆斌, 阳著平, 顾国东. 毛竹实生林生长发育进程研究 [J]. *中国林业* 2009(8): 46.
- [25] 程晓阳, 方乐金, 詹鸿章, 等. 立地条件对毛竹实生林生长发育影响的研究 [J]. *世界竹藤通讯* 2004, 2(4): 26-27.
- [26] 陈双林, 吴柏林, 吴明, 等. 新造毛竹林林分结构年际演替规律及影响因子 [J]. *浙江林学院学报* 2004(4): 393-397.
- [27] 张卓文, 汤景明, 熊艳平, 等. 雷竹引种后地下鞭生长规律研究 [J]. *华中农业大学学报* 2001, 20(1): 77-80.

(上接第43页)

- [3] 张玉环. 荷花的花文化及园林应用 [J]. *现代农业科技* 2009(4): 64-65.
- [4] 潘瑞炽. *植物生理学* [M]. 北京: 高等教育出版社 2004: 56-57.
- [5] 任全伟. 荷花的栽培繁殖 [J]. *中国花卉园艺* 2008(12): 12-15.
- [6] 张尚法, 孔向军. 太空莲子优质高效栽培技术 [J]. *四川农业科技* 2005(12): 12.
- [7] 黄素英, 郑宝东. 微波法乙醇提取莲子酚类物质的工艺 [J]. *亚热带农业研究* 2009, 5(3): 203-206.
- [8] Wu Jinzhong, Zheng Yuanbin, Chen Tiqiang et al. Evaluation of the quality of lotus seed of *Nelumbo nucifera* Gaertn. from outer space mutation [J]. *Food Chemistry*, 2007, 105: 540-547.
- [9] Yen Gowchin, Duh Pinder, Su Huiju. Antioxidant properties of lotus seed and its effect on DNA damage in human lymphocytes [J]. *Food Chemistry* 2005, 89: 379-385.
- [10] 刘伯康, 陈惠英, 颜国钦. 数种传统之食用植物甲醇萃取物抗氧化性之研究 [J]. *中国农业化学会志(中国台北)*, 1999, 37(1): 105-116.
- [11] 魏英辉, 黄新忠, 罗银华, 等. 子莲新品种“建选17号”亲本分子鉴定 [J]. *江西农业学报* 2007, 19(2): 43-45.
- [12] 郑宝东, 郑金贵, 曾绍校. 中国莲子种质资源遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. *中国食品学报* 2006, 6(1): 138-143.
- [13] 唐辉, 李锋, 王满莲, 等. 广西岩溶特有药用植物广西美登木的光合生理特性研究 [J]. *河南农业科学* 2009(8): 113-116.
- [14] 曾小平, 赵平, 蔡锡安, 等. 25种南亚热带植物耐阴性的初步研究 [J]. *北京林业大学学报* 2006, 28(4): 88-95.
- [15] 白伟岚, 任建武, 高永伟, 等. 园林植物的耐荫性研究 [J]. *林业科技通讯*, 1999(2): 12-15.
- [16] 采列尼克. 木本植物耐阴性的生理学原理 [M]. 北京: 科学出版社, 1986: 180-196.