

毛竹成竹过程中内源激素动态变化

方楷¹ 杨光耀¹ 杨清培¹ 黄俊宝² 施建敏¹ 于芬¹

(1. 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; 2. 江西农业大学 江西省作物生理生态与遗传育种重点实验室 江西 南昌 330045)

摘要:应用高效液相色谱(HPLC)技术,分析笋期和展叶期毛竹6种内源激素含量的变化。结果表明,随竹笋的生长,ZT、GA₃的含量均不断增加。各器官按ZT含量高低排列的顺序为: 笋根(5.66 μg/g,鲜质量) > 笋体、笋基和笋莛(1.83~2.20 μg/g) > 箨片和笋尖(分别仅为0.77、0.96 μg/g)。箨片、笋体、笋基、笋莛、笋根的GA₃含量介于22.40~28.09 μg/g,明显高于笋尖含量(仅14.67 μg/g)。展叶期毛竹含ZT、6-BA、2-ip、GA₃、ABA和IBA,但IBA在竹叶和竹秆中未检出。竹叶的内源激素含量最高,其次为竹枝、竹根和竹秆,而竹莛的含量最低。竹秆的内源激素含量呈向基性降低,其中ZT、2-ip和6-BA的含量在梢部大幅下降,中部一梢部的变化不明显。而ABA的含量最低,且各位置间的变化不明显。

关键词:毛竹;内源激素;笋期;展叶期

中图分类号:S795.7.02 文献标志码:A 文章编号:1000-2286(2011)06-1107-05

Dynamic Changes of Endogenesis Hormone in Bambooformation Course (*Phyllostachys edulis*)

FANG Kai¹, YANG Guang-yao¹, YANG Qing-pei¹,
HUANG Jun-bao², SHI Jian-min¹, YU Fen¹

(1. Jiangxi Provincial Key Laboratory for Bamboo Germplasm Resources and Utilization, JAU, Nanchang 330045, China; 2. Jiangxi Provincial Key Laboratory of Crop Physiology, Ecology and Genetic Breeding, JAU, Nanchang 330045, China)

Abstract: The changes in the content of endogenous phytohormones of *Phyllostachys edulis* during the bamboo shoot and bamboo formation stages were determined by HPLC. The results showed that the contents of both ZT and GA₃ increased with the growth of bamboo shoot. The parts ordered by the content (μg/g, measured by fresh weight) of ZT in bamboo shoot were: stump root (5.66 μg/g) > middle part, basal part, and stump (1.83-2.20 μg/g) > shoot vagina, distal part (0.77, 0.96 μg/g respectively). The GA₃ contents of shoot vagina, middle part, basal part, stump, stump root were between 22.40-28.09 μg/g, but that of distal part was 14.67 μg/g. ZT, 6-BA, 2-ip, GA₃, ABA and IBA were detected in the bambooformation course, but there was no IBA in leaf and culm. On the whole, the max content of endogenous phytohormones was founded in leaf, and then branch, root and culm, the content of hormones in stump was the lowest. In culm during the bambooformation course in, the content of GA₃ decreased towards the lower positions. ZT 2-ip and 6-BA decreased rapidly in culm distal part, and lightly in both middle and basal parts. But the contents of ABA were the lowest comparatively at all positions of culm.

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,助理实验师,主要从事竹类资源利用研究, E-mail: fkbobotany@126.com。

Key words: *Phyllostachys edulis*; endogenous phytohormones; bamboo shoot course; bambooformation course

毛竹(*Phyllostachys edulis*)在我国分布广,生长快,产量高,用途广,是经济价值最高的竹种之一^[1]。毛竹林经营技术多以水肥管理为主^[2],尽管施加外源激素能产生明显的效果,但外源激素施用并未在实际生产经营中广泛应用^[2-3]。毛竹成竹过程中竹笋高生长、嫩枝和嫩叶的伸展过程都遵循“慢—快—慢”的生长节律^[1,4],各器官(组织)中内源激素的组成和含量是施用外源激素的依据,对毛竹竹笋及幼竹的内源激素变化进行深入研究,具有非常重要的意义^[2-4]。

毛竹竹笋的内源激素种类繁多,现已在毛竹竹笋中鉴定出顺式和反式玉米素(ZT)、赤霉素(GAs)、吲哚-3-乙酸(IAA)等近40种的成分^[5-8]。江奎宏等^[9]和郑郁善等^[10]研究了毛竹笋期的竹笋和成年毛竹各器官(组织)中IAA、GA₃和脱落酸(ABA)的含量及分布规律。随后又发现内源激素含量变化与相应笋体生长呈有显著的相关性^[11-12]。毛竹内源激素作用于竹子生长的全部过程,但目前的研究还主要限于笋期的内源激素研究。本文应用高效液相色谱法分析毛竹成竹过程中ZT、异戊烯基腺嘌呤(2-ip)、6-卞氨基嘌呤(6-BA)、GA₃、ABA和4-吲哚-3-丁酸(IBA)含量的变化规律,旨在揭示毛竹成竹过程中竹秆等器官(组织)激素含量的协同变化,为毛竹林高效培育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

采样地位于江西农业大学竹种园。分别于2010年3月5日(初期)、2010年3月25日(上升期)、2010年4月4日(上升期)和2010年4月15日(幼竹期)采集生长健壮、大小均匀、离地高度基本一致的竹笋(幼竹)。笋期毛竹竹笋分为箨片、笋尖、笋体、笋基、笋节和竹根6个部分取样,各生长阶段均重复采样3株。测定幼竹不同部位的激素变化,以竹节、竹根、竹枝、竹叶、竹秆分别采样,其中竹秆先分为梢部、中部、基部3个位置,每个位置又设定上、中、下3个采样点,重复采样5株。

ZT、GA₃、2-ip、6-BA、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。

1.2 植物激素的提取方法

称取5g新鲜样品,加入100mL预冷体积分数为80%甲醇,匀浆捣碎转移到三角瓶,4℃浸提过夜。过滤后收集滤液,滤渣再浸提2次,合并滤液。滤液经40℃减压蒸发至没有甲醇残余。加入50mL石油醚(沸点30~60℃)脱色3次,弃醚相。水相用10g/LNaOH溶液调节pH至8.0,加0.5gPVP,震荡30min,过滤。滤液用冰乙酸调节pH至2.9,加入50mL乙酸乙酯萃取3次,合并酯相,40℃减压蒸干。用流动相溶剂溶解残渣,定容至10mL,4℃冷藏备用。

1.3 色谱条件及分析方法

色谱柱为Spherisorb C₁₈(4.6mm×250mm,5μm),柱温35℃,流动相为V(甲醇):V(1%乙酸)=4:6。紫外检测波长254nm,进样量10μL。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0.22μm针孔过滤器过滤。采用分段洗脱程序:0~10min,流速0.8mL/min,V(甲醇):V(1%乙酸)=4:6;10~10.5min,体积比增大至5:5,流速增大至1.5mL/min(均以线性变化);10.5min后,保持流速和体积比不变,运行18min。保留时间定性分析,外标校准曲线法定量分析^[13]。

2 结果与分析

2.1 笋期内源激素含量变化

毛竹竹笋不同部位的提取物中可检测出ZT和GA₃(表1)。由表1可知,笋节提取物中ZT含量最高,平均达5.66μg/g(鲜质量,下同)。其次为笋体、笋基和笋节,ZT的含量介于1.83~2.20g/g。而箨片和笋尖的含量最低,分别仅为0.73、0.96μg/g。箨片、笋体、笋基、笋节、笋节的GA₃含量均较高,介于22.40~28.09μg/g,笋尖的含量较低,仅为14.67μg/g,为笋体等含量的2/3~1/2。

毛竹初期、上升期、盛期和展叶期,各器官(组织)的ZT和GA₃含量存在不同的变化趋势。对于

ZT 生长初期,各器官(组织)提取物 ZT 的平均值仅为 $1.19 \mu\text{g/g}$,上升期和盛期的含量分别增加至 2.38 、 $2.14 \mu\text{g/g}$ 。其中,箨片、笋基和笋壳提取物中 ZT 含量随生长过程均逐渐升高,如生长初期笋壳 ZT 含量仅 $0.55 \mu\text{g/g}$,而上升期和盛期分别达 2.23 、 $2.70 \mu\text{g/g}$ 。但笋尖、笋体和笋根则与之相反,如笋体 ZT 从初期的 $2.47 \mu\text{g/g}$,下降到盛期的 $1.23 \mu\text{g/g}$ 。对于 GA_3 ,生长初期的平均值仅为 $15.77 \mu\text{g/g}$,上升期和盛期的含量存在明显升高,分别达到 24.23 、 $27.01 \mu\text{g/g}$ 。其中,笋体和笋壳提取物中 GA_3 含量变化最明显,如生长盛期,笋体、笋壳中 GA_3 分别达到 32.09 、 $37.62 \mu\text{g/g}$,分别是生长初期的 2.3 倍、 3.5 倍。另外,从上到下的方向(笋尖、笋体、笋基、笋壳的方向),上升期和盛期竹笋的 ZT 和 GA_3 含量均呈现不断增加的趋势。而初期含量的变化无明显规律。

表 1 竹笋提取物中 ZT 和 GA_3 的含量Tab. 1 The contents of ZT and GA_3 in bamboo shoot extract

	ZT				GA_3			
	初期 Initial	上升期 Rising	盛期 Flourish	平均 Average	初期 Initial	上升期 Rising	盛期 Flourish	平均 Average
箨片 Shoot vagina	0.66	0.52	1.00	0.73	21.77	29.80	26.54	26.04
笋尖 Distal part	1.06	1.19	0.62	0.96	16.62	14.18	13.20	14.67
笋体 Middle part	2.47	1.87	1.23	1.86	13.92	21.18	32.09	22.40
笋基 Basal part	—	1.82	2.58	2.20	—	27.60	28.57	28.09
笋壳 Stump	0.55	2.23	2.70	1.83	10.85	31.13	37.62	26.53
笋根 Stump root	—	6.62	4.70	5.66	—	21.46	24.02	22.74
平均 Average	1.19	2.38	2.14	—	15.79	24.23	27.01	—

2.2 展叶期内源激素含量

展叶期毛竹的内源激素含量有明显的组织特异性(表 2)。由表 2 可知,展叶期毛竹竹壳、竹枝和竹根的提取物中检测出 ZT、6-BA、2-*ip*、 GA_3 、ABA 和 IBA,但竹叶和竹秆中检测出 5 种激素(除 IBA)。同时,竹壳等 5 个器官(组织)提取物中 GA_3 的含量平均值达 $111.50 \mu\text{g/g}$,明显高于其他 5 种内源激素(其余激素的含量介于 $1.08 \sim 2.37 \mu\text{g/g}$)。

6 种内源激素中, ZT 在竹枝和竹秆中的含量较高,分别为 2.60 、 $3.02 \mu\text{g/g}$,明显高于竹壳、竹叶和竹根中的含量(介于 $0.41 \sim 0.84 \mu\text{g/g}$)。IBA 在竹枝中的含量最高,达 $2.82 \mu\text{g/g}$,明显高于竹壳和竹根(分别仅为 0.99 、 $0.57 \mu\text{g/g}$)。而对于 GA_3 、2-*ip*、6-BA 和 ABA,各器官(组织)按含量由高到低依次为:竹叶、竹枝、竹秆、竹根、竹壳,其中竹叶中的含量远高于其他器官(组织),如竹叶中 GA_3 的含量为 $310.66 \mu\text{g/g}$,分别是竹秆、竹枝、竹根、竹壳含量的 3 倍、4 倍、12 倍和 19 倍,2-*ip* 的含量为 $5.58 \mu\text{g/g}$,分别是竹秆、竹枝、竹根和竹壳的 2 倍、3 倍、11 倍和 14 倍。

表 2 幼竹内源激素含量的变化

Tab. 2 Changes of endogenous hormones contents of young bamboo

	ZT	2- <i>ip</i>	6-BA	ABA	GA_3	IBA
竹壳 Stump	0.48	0.39	0.31	0.45	16.31	0.99
竹叶 Leaf	0.41	5.58	5.47	2.15	310.66	—
竹枝 Branch	2.60	2.74	3.51	1.45	94.97	2.82
竹根 Stump root	0.84	0.52	1.62	0.62	24.07	0.57
竹秆 Culm	3.02	1.79	2.38	0.81	75.76	—
平均 Average	1.08	2.31	2.73	1.17	111.50	1.46

竹秆的激素含量是各位置的算术平均值。

The endogenous hormones contents of culm were calculated by the average value of different compositions.

对各种激素含量的相关性分析(表 3)。由表 3 可知,2-*ip* 与 6-BA、ABA、 GA_3 间和 6-BA 与 ABA 间均达到极显著的相关性(相关系数 R 介于 $0.969 \sim 0.983$, $P < 0.01$)。6-BA 与 GA_3 间和 ABA 与 GA_3 间的相关性也达到显著水平(R 分别为 0.926 、 0.944 , $P < 0.05$)。而 ZT 与 2-*ip*、6-BA、ABA、 GA_3 间的相关性均未达到检验显著性水平($R < 0.228$, $P > 0.05$)。

表3 内源激素含量间的相关性分析
Tab.3 The correlate analysis of endogenesis hormones

	其他部位 Other parts				竹秆 Culm			
	2-ip	6-BA	ABA	GA ₃	2-ip	6-BA	ABA	GA ₃
ZT	-0.072	0.054	-0.063	-0.228	0.773*	0.920**	0.806**	0.580
2-ip		0.969**	0.983**	0.980**		0.701*	0.762*	0.316
6-BA			0.978**	0.926*			0.853**	0.516
ABA				0.944*				0.673*

* 显著相关性水平(0.05), ** 极显著相关性水平(0.01)。

* correlation is significant at the 0.05 level, ** correlation is significant at the 0.01 level.

展叶期毛竹竹秆的5种内源激素(ZT、GA₃、2-ip、6-BA、ABA)的分布特征见图1。由图1可知,展叶期毛竹竹秆各位置的内源激素含量有不同的分布特征。GA₃的含量最高(介于50.73~120.09 μg/g),但不同位置上的起伏较大,同时,

GA₃的含量呈向基性降低。其次,ZT、2-ip和6-BA的含量在梢部均大幅下降,而在中部-基部下降不明显。梢部位置上,按激素水平由高到低依次为:ZT、6-BA、2-ip;而在中部-基部,3者间的含量高低无明显规律。ABA的含量均最低(仅为0.57~1.29 μg/g),笋尖含量相对较高,而基部的含量相对较低。

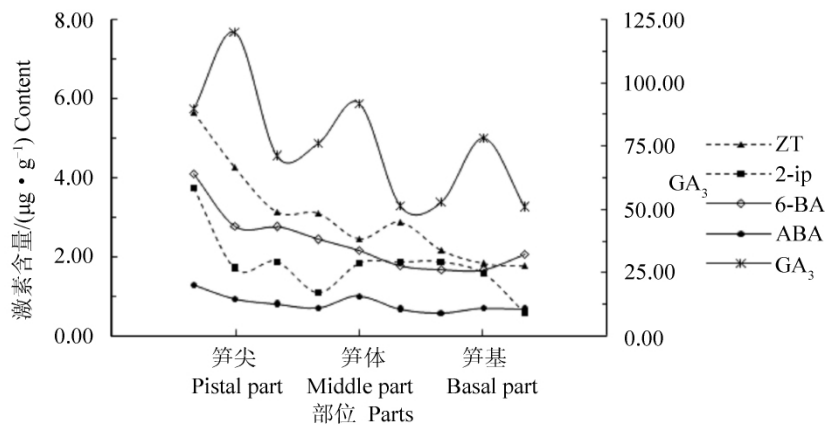


图1 内源激素含量与竹秆位置的关系

Fig.1 The relationship between the endogenous hormones contents and the parts of culm

竹秆不同位置上的内源激素的含量的相关性分析(表3),由表3可知,ZT与6-BA、ABA间和6-BA与ABA间的相关性达到极显著水平(R 介于0.806~0.920, $P < 0.01$),而ABA与GA₃、2-ip间和ZT与2-ip间的相关性均达到显著水平(R 介于0.673~0.773, $P < 0.05$)。

3 结论与讨论

激素是毛竹成竹过程中的重要调节因素之一^[6,8]。本研究发现,各器官(组织)按ZT含量高低顺序排列为:笋根(5.66 μg/g) > 笋体、笋基和笋萼(介于1.83~2.20 μg/g) > 箨片和笋尖(分别仅为0.77、0.96 μg/g)。箨片、笋体、笋基、笋萼、笋根的GA₃含量介于22.40~28.09 μg/g,明显高于笋尖含量(仅14.67 μg/g)。展叶期毛竹含有ZT、6-BA、2-ip、GA₃、ABA和IBA(竹叶、竹秆未检测出IBA)。毛竹各器官(组织)中,竹叶内源激素的含量最高,而成年毛竹竹叶GA₃等含量也最高,其次为竹枝和竹根,而竹萼的含量最低。竹秆GA₃的含量最高,并随位置的降低而下降。其次为ZT、2-ip和6-BA 3者的含量在竹秆梢部均大幅下降,而中部-基部变化不明显。竹秆ABA的含量最低,且变化也最小。

从笋尖到笋萼,ZT和GA₃的含量均不断降低。从生长初期到盛期,ZT、GA₃的含量均不断增加,与现有研究结果相同^[11-12]。竹秆激素水平向基部降低逐渐被广泛证实^[9-12],但由于毛竹几乎同步完成各节的展枝、展叶过程,展枝后竹秆中部的枝条最健壮,所以竹枝和竹叶的建成不能用顶端优势控制模型来解释^[14-17]。这都意味着毛竹中可能存在区别于如小麦胚芽等对外源激素的传统反应机制^[14-17]。未来在外源激素处理研究中,应加强外源激素与内源激素的相互作用关系,外源激素处理对毛竹生长的影响。另外,新的植物内源激素(如独角金内酯)陆续被发现^[18-19],毛竹中也可能有类似功能的成分,利用新的检测手段发现新的生长调节物质及生长代谢中间体也应同步进行。

致谢:感谢江西农业大学/江西省作物生理生态重点实验室提供实验条件。

参考文献:

- [1]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.
- [2]陈建寅 兰林富.毛竹林现代经营技术初探[J].竹子研究汇刊,2001,20(3):8-14.
- [3]董文渊 谢泽轩.激素处理与塑料薄膜覆盖对斑竹竹鞭育苗的影响[J].西北林学院学报,1999,15(2):24-28.
- [4]Li R, Werger M J A, Kroom H D, et al. Interactions between shoot age structure, nutrient availability and physiological integration in the giant bamboo *Phyllostachys pubescens* [J]. *Plant Biology* 2000, 2(4): 437-446.
- [5]Koshimizu K, Iwamura H, Mitsui T, et al. Gibberellin-like substances in bamboo shoots [J]. *Nature* 1963, 198: 1306-1307.
- [6]Davies P J. *Plant hormones* [M]. 3rd ed. Berlin: Springer 2010.
- [7]Noboru M, Iriuchijima S, Takahashi N, et al. Isolation and structure of a novel C₂₀ gibberellin in bamboo shoot [J]. *Agric Boil Chem*, 1966, 30: 917-924.
- [8]Samsodin R R, Ichiro H, Tadashi Y, et al. Gibberellin biosynthesis in bambusoideae [J]. *Biosci Biotech Bioch*, 1996, 60(9): 1497-1499.
- [9]江奎宏 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.
- [10]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(专刊):100-104.
- [11]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.
- [12]杨彤.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,2000,23:195-196.
- [13]L Hong tao, L Yangfen, L Tianguang, et al. Simultaneous determination of phytohormones in plant extracts using SPME and HPLC [J]. *Chromatographia* 2007, 66(7/8): 515-520.
- [14]Santner A, Calderon Villalobos L I A, Mark Estelle. Plant hormones are versatile chemical regulators of plant growth [J]. *Nat Chem Biol* 2009, 5: 301-307.
- [15]Mcstee P. Hormonal regulation of branching in grasses [J]. *Plant Physiology*, 2009, 149(1): 46-55.
- [16]Liang Y, Harris J M. Respond of root branching to abscisic acid is correlated with nodule formation both in legumes and nonlegumes [J]. *Am J Botany* 2005, 92: 1675-1683.
- [17]Roldan V G, Fermas S, Brewer P B, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching [J]. *Nature*, 2008, 455: 189-194.
- [18]Sunayana M R, Sasikala C H, Ramana C H V. Rhodestrin: A novel indole terpenoid phytohormone from *Rhodobacter sp-baeroides* [J]. *Biotechnol Letters* 2005, 27: 1897-1900.
- [19]Mikihisa U, Atsushi H, Satoko Y, et al. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones [J]. *Nature* 2008, 455: 195-200.