

IPT 对稻苗根系生长和三种内源激素水平的影响^X

张红心¹ 王伟中² 夏凯¹ 周燮¹

(¹南京农业大学农学系植物激素室, 江苏南京, 210095; ²淮阴市农业科学研究所, 江苏淮阴, 223001)

提 要 适宜浓度(0.1 mg/L)的 IPT (isoprothiolane) 浸泡水稻种子24小时, 稻苗的种子根长度, 侧根数目以及芽鞘节根长度, 根系的干重均受到显著的促进。与之相对应的是, IPT 处理后, 种子根的内源 IAA 和 ABA 的含量提高, 而 iPAs 和 ZRs 的含量下降。IPT 处理也增加了稻苗的根系活力, 提高了低温条件下 POD (过氧化物酶) 和 CAT (过氧化氢酶) 的活性。

关键词 稻苗; IPT; 植物激素; 根系生长

Effects of IPT on the Growth of Roots and Contents of IAA, Cytokins and ABA in Rice Seedling

ZHANG Hongxin¹ WANG Weizhong² XIA Kai¹ ZHOU Xie¹

(¹ Department of Agronomy, Nanjing Agric Univ., Nanjing, Jiangsu, 210095; ² Huaiyin Agricultural Research Institute, Huaiyin, Jiangsu 223001)

Abstract The seeds of hybrid rice cv. Shanyou 63 were soaked in IPT (isoprothiolane) solution with various concentrations (0.1~100.0 mg/L) for 24h. It was found that 0.1 mg/L IPT significantly promoted the length of seminal root and crown roots, and 0.1~100.0 mg/L IPT significantly promoted the lateral root number in seminal root. Subsequently, plant hormones contents in root were determined by enzyme-linked immunoassay assays (ELISAs). It was found that the contents of IAA and ABA increased in seminal root, whereas those of iPAs and ZRs decreased after IPT treatment. Finally, the root activities were determined. It was found that the TTC reducing capacity of roots increased obviously. Both POD and CAT activities in roots treated with IPT were higher than those of the control under low temperature.

Key words Rice seedling; IPT; Plant hormones; Root growth; POD; CAT

在早春季节, 稻的早育秧过程中, 常易因低温而发生毁灭性“立枯”死苗现象。周燮和曹显祖(1978)发现这类死苗的实质在于烂根, 是稻苗根系生长不良和活力下降, 而遭受土内腐霉菌(*Pythium* spp)入侵和危害的结果^[1]。因此, 一方面, 可使用对腐霉有特效的杀菌剂—敌克松和立枯灵^[2]; 另一方面, 则应从促进稻苗根系的生长和在低温期间的活力入手。

稻苗各器官之间存在着严格的“同伸关系”。第一完全叶出现之前, 稻苗只有一条种子根。需待第2完全叶出现, 才会有5~6条芽鞘节根。因此如何促进种子根的侧根原基的分化和伸长成了稻苗生长初期的当务之急。

X 江苏省教委联建重点学科项目97201资助

收稿日期: 1999203222, 接受日期: 1999210213

IPT (isoprothiolane) 是一种含硫烷基的丙烯酸结构的化合物, 常用于防治稻瘟病(商品名: 富士一号), 也是当前日本早稻育秧时用以防治非寄生型猝倒病(Nonparasitic damping off)的首选药剂^[3]。阳川和柳井^[4]发现它能促进菜豆下胚轴生根。大塚隆和坂齐^[3]报道 10^{-5} mol/L IPT 对稻的种子根的长度及侧根数目均有显著的促进效应。然而迄今未见报道的是 IPT 何以能够促进稻苗的根系生长, 它对稻根的生长素、细胞分裂素、以及其它激素含量的影响如何? 此外, IPT 处理能否提高稻根在低温下的活力, 这也是需要探查的内容之一。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试药剂为40%的 IPT 乳油, 由日本农药株式会社提供; 供试品种为汕优63, 种子经0.1%的 HgCl₂ 消毒10分钟, 然后进行 IPT 处理。

1.2 IPT 处理

1.2.1 种子分别浸入0.0, 0.1, 1.0, 10.0和100.0 mg/L 的 IPT 溶液24小时, 催芽露白后, 播于固定在盛有木村B 营养液容器的湿纱布上, 28℃, 12小时光照, 每天换营养液一次。在二叶期测定种子根长度, 芽鞘节根长度, 侧根数目, 地上部和地下部的干重以及根系活力。并取20株用于植物激素含量的测定。

1.2.2 种子在蒸馏水中浸泡24小时, 催芽露白后, 播于固定在盛有木村B 营养液容器的湿纱布上, 温度和光照条件与处理(1)相同, 待种子根长至2 cm 左右时, 向营养液中加入 IPT 至浓度为10.0 mg/L。在一叶一心期对稻苗进行4 处理3天, 并分别在处理后的第1、2、3天取20株稻根用以测定 POD (过氧化物酶) 和 CAT (过氧化氢酶) 的活性。

1.3 激素含量及酶活性的测定方法

植物激素的提取、纯化和测定: 在样品中加入80%的甲醇溶液(含10 mg/L 的丁羟甲苯), 弱光下冰浴匀浆, 10000g 离心15 min, 上清液经 C₁₈ 柱去除亲脂色素后, 取300 μL 用氮气吹干后, 溶于300 μL 的 PBS (10 mmol/L pH 9.2) 溶液, 用 ELISA 测定 iPA 和 ZR_s 含量^[5]。另取300 μL 的滤液, 用氮气吹干后, 溶于300 μL 的无水甲醇, 用重氮甲烷进行甲酯化处理, 氮气吹干, 溶解于300 μL 的 PBS 中, 用 ELISA 测定 IAA、ABA 的含量^[6]。

根系活力的测定: 用 TTC 还原法, 参见文献^[7]

POD 酶的活性测定: 用愈创木酚法^[8]以 OD_{470 nm} 波长下光密度每分钟上升0.1 为一个酶活性单位。

CAT 酶的活性测定: 参照 Chance 和 Machly (1955)^[9]的方法, 以 OD_{240 nm} 波长下光密度每分钟下降0.1 为一个酶活性单位。

2 结 果

2.1 IPT 对稻苗根系的影响

由图1可见: 各种浓度的 IPT 处理后, 均增加了种子根的侧根数目。0.1 mg/L, 1.0 mg/L, 10.0 mg/L 和100.0 mg/L 的处理分别比对照增加21.1%, 55.1%, 66.9% 和57.5%。图2表明: 0.1 mg/L IPT 对种子根长度的促进作用较明显, 比对照增加15.7%; 但未见1.0 mg/L 以上处理的 IPT 对种子根长度有促进作用, 提示侧根数目的增加和种子根的伸长存在某种相克的关系。0.1 mg/L 的 IPT 还对芽鞘节根的伸长有明显的促进作用, 比对照增加53.5%。但

当浓度达到或超过1.0 mg/L 时, 不再呈现这种促进效应。

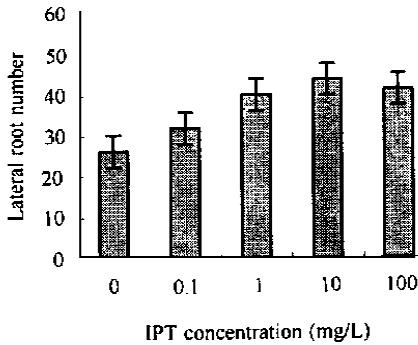


图1 IPT 对稻苗种子根侧根数目的影响

Fig 1 The effect of IPT on the lateral root number in seminal root of rice seedlings

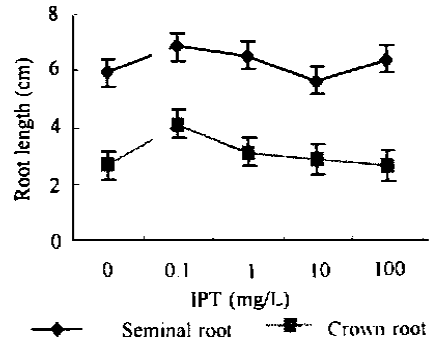


图2 IPT 对稻苗种子根和芽鞘节根长度的影响

Fig 2 The effect of IPT on the length of seminal root and crown root in rice seedlings

除100.0 mg/L 外, 其它 IPT 处理均增加了根系的干重, 其中尤以0.1 mg/L 处理的最显著, 比对照增加29.4%。各种 IPT 处理都增加了稻苗的根冠比, 其中以0.1 mg/L 为最明显, 比对照增加33.1% (图3)。

2.2 IPT 对根系活力及 POD 酶和 CAT 酶的影响

IPT 处理后, 以对 TTC 还原的能力为指标, 稻苗的根系活力大幅度增高, 0.1 mg/L、1.0 mg/L、10.0 mg/L 和100.0 mg/L 的 IPT 处理分别比对照增高34.1%、29.2%、111.3% 和123.8%。这提示 IPT 处理后, 根系的琥珀酸脱氢酶的活性得到大幅度增强 (图4)。

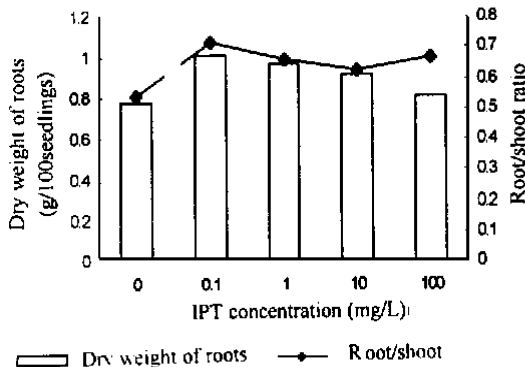


图3 IPT 处理对稻苗根系干重及根冠比的影响

Fig 3 The effects of IPT on the dry weight of roots and root/shoot ratio in rice seedlings

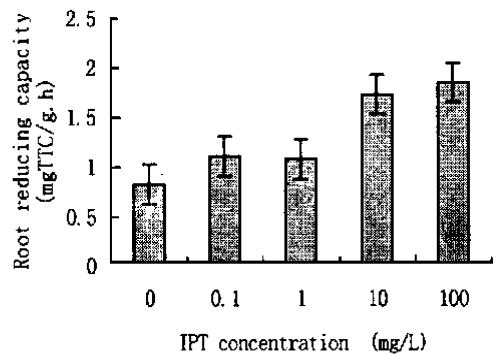


图4 IPT 对稻苗根系还原力影响

Fig 4 The effects of IPT on the root reducing capacity of rice seedlings

低温处理后, 稻苗根系的 POD 酶的活性显著下降, 但稻苗经 IPT 处理后, 可以部分地恢复 POD 酶活性, 其活性在低温处理后的1, 2, 3天分别比未经 IPT 处理的增加15.3%、63.4%、38.2%。同 POD 酶的变化趋势相反, 经2~3天的低温处理后, 稻苗根系的 CAT 酶的活性显著上升, 而配有 IPT 处理的 CAT 酶活性上升的幅度更大 (图5)。

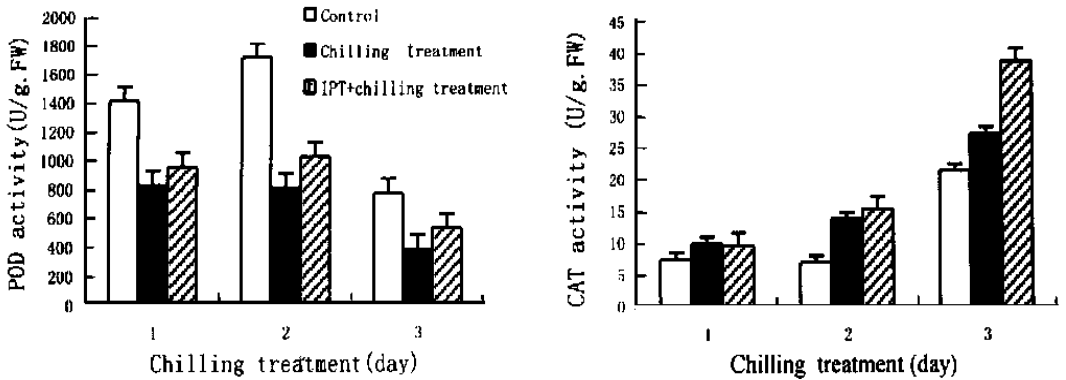


图5 IPT 处理对低温条件下稻苗根系的 POD, CAT 酶活性的影响

Fig 5 The effects of IPT on POD and CAT activities in the roots of rice seedlings

2.3 IPT 对稻苗内源激素含量的影响

IPT 处理后, 稻苗种子根的内源 iPA s 和 ZR s 的含量均显著下降, 0.1 mg/L、1.0 mg/L、10.0 mg/L 和 100.0 mg/L 的处理的 iPA s 的含量分别是对照的 41.3%、35.9%、28.6% 和 51.4%, 而 ZR s 的含量分别是对照的 57.3%、44.5%、63.6% 和 82.8% (图 6 a, b)。与此相反, IPT 处理后, IAA 的含量则显著上升, 上述系列浓度的 IPT 处理分别为对照的 1.9 倍、1.2 倍、1.3 倍和 1.4 倍 (图 6 c)。

IPT 处理也增加了稻苗种子根的 ABA 含量, 0.1 mg/L、1.0 mg/L、10.0 mg/L 和 100.0 mg/L 的处理分别是对照的 1.4、1.2、1.4 和 2.1 倍 (图 6 d)。

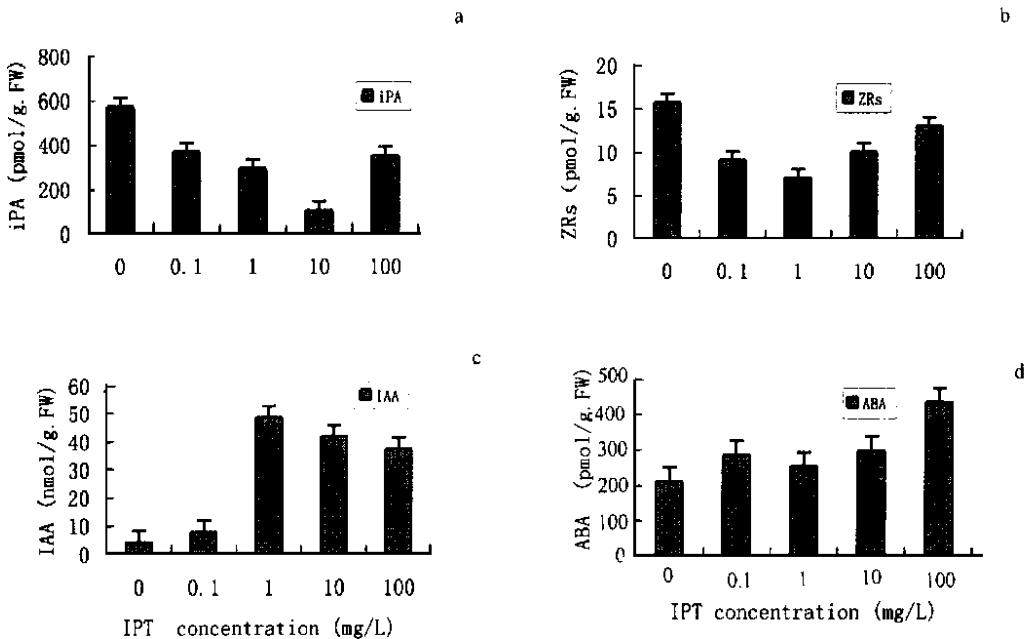


图6 IPT 对稻苗种子根内源 IAA, iPA s, ZR s 和 ABA 含量的影响

Fig 6 The effects of IPT on the contents of iPA s, ZR s, IAA and ABA in the seminal roots of rice seedlings

芽鞘节根的内源 IAA, ABA 的水平也因 IPT 处理而上升, 对 IAA 而言, 以 0.1 mg/L 的处理最明显, 为对照的 5.6 倍; 对 ABA 而言, 以 10.0 mg/L 的处理最明显, 为对照的

2.8倍(图7)。

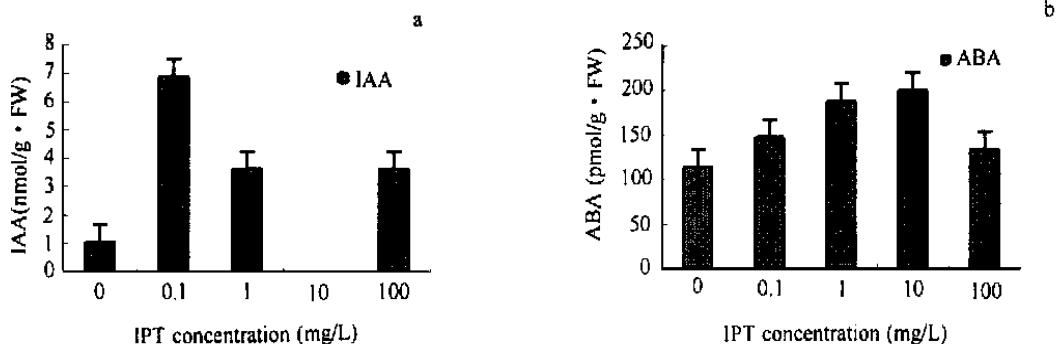


图7 IPT 对稻苗芽鞘节根内源 IAA, ABA 含量的影响

Fig. 7 The effects of IPT on the contents of IAA, ABA in the crown roots of rice seedlings

3 讨论

关于早育稻秧的“立枯”病因是相当复杂的,除了土壤病原菌在低温条件下侵染稻根外,究竟有没有非寄生性的猝倒型生理病? 秃泰雄^[10]对此持肯定态度,但缺乏用灭菌土进行严格试验,仍待进一步证实。然而,在使用土壤杀菌剂的同时,若能增强稻苗根系的生长和活力,显然可以更好地防止“立枯”死苗。基于这种认识,我们选用了 IPT 并开展了对它的促根生理的研究。

IPT 确实是一种较理想的促根剂,其有效浓度覆盖了4个数量级。用0.1 mg/dL (约 3.82×10^{-7} mol/dL) IPT 浸泡稻种24小时,即可使种子根的侧根数目比对照增多21.1%;当浓度为10.0 mg/dL,侧根数目的增加幅度最大,高出对照66.9%(图1)。与之相对应的是0.1~10.0 mg/dL 的 IPT 处理的稻苗根系干重和根冠比都有较大幅度的增加(图3)。

在探查 IPT 促进侧根生长的激素生理背景方面,本文提供了三方面的证据。首先,0.1 mg/dL 的 IPT 处理即可使种子根内 IAA 含量明显增加,随着 IPT 剂量的提高,内源 IAA 的含量也相应增加,而 IAA 是诱导侧根原基发生的主要信号^[11]。其次,各种剂量的 IPT 处理都可使两类细胞分裂素(ZR 和 iPA)的含量下降,而细胞分裂素可强烈抑制侧根原基的启动^[12]。江玲等^[13, 14]以莴苣和马尾松为材料,也发现根中 IAA 的水平上升促进侧根原基分化而细胞分裂素含量较多会抑制侧根原基的发生。因此,种子根内较高比值的 IAA/CTKs 构成了促进侧根大量发生的主因。此外, IPT 处理后,种子根 ABA 含量也比对照明显增多(20%~110%)。而适宜浓度的 ABA 可加强较高比值的 IAA/CTKs 对生根的促进效应^[15]。

Pilet 等^[16]认为,根系中的内源 IAA 存在一个阈值,低于此阈值,则 IAA 促进根的伸长,我们的实验结果表明:低浓度的 IPT 提高了种子根和芽鞘节根的 IAA (图6c)含量的同时,也较显著促进种子根和芽鞘节根伸长(图2),这提示稻苗根系中的内源 IAA 仍在促进伸长的阈值之下。

通常,在喜温植物的根部,与糖酵解有关的酶类相比,线粒体酶类的活性更易受零上低温的抑制。因而,在本研究中选用了定位于线粒体内膜的琥珀酸脱氢酶,以其活性反映根系呼吸代谢中的稳态机制乃至活力。IPT 处理对此显示出强烈的促进效应(图4)。另一方面,低温胁迫下的 POD 酶活性因 IPT 处理而减少降幅;CAT 酶活性则显著上升(图5)。提示 IPT

也加强了稻根内清除过氧化物自由基的保护酶系统。

总之, 适宜浓度的 IPT 处理可较全面而均衡地促进种子根长度及侧根数目, 芽鞘节根的出现期, 根系干重和根冠比。但较高浓度的 IPT 对种子根和芽鞘节根的伸长促进不明显, 这可能是由于 IPT 提高稻根内源 IAA 水平的同时, 促进了乙烯的形成^[17], 而乙烯反过来抑制根的伸长。

参 考 文 献

- 1 周燮, 曹显祖 早稻烂秧及其防治 上海: 上海科学技术出版社, 1978
- 2 周燮, 叶钟音 怎样防止早稻烂秧 北京: 农业出版社, 1978, 78~ 112
- 3 阳川昌范, 柳井 功 植物的化学调节, 1983, 18(1): 71~ 76
- 4 大塚隆, 坂齐 植物的化学调节, 1991, 26(1): 25~ 35
- 5 陈以峰, 周燮 华北农学报, 1996, 11(1): 97~ 102
- 6 张能刚, 周燮, 吴颂如 南京农业大学学报, 1990, 3(1): 116~ 119
- 7 袁晓华, 杨中汉 植物生理生化实验, 北京: 高等教育出版社, 1983, 128
- 8 Miller A R, T J Kelley, C V M ujer: *Phytochemistry*, 1990, 29: 705~ 709
- 9 Chance B, A C M aehly. *Methods of Enzymology*, vol^o: New York Academic Press, 1955. 764
- 10 秃泰雄 植物的化学调节, 1995, 30(2): 211
- 11 Jocelyn E. M. , N. B Philip. *Trends in Plant Science*, 1997, 2(10): 390~ 396
- 12 MacIsaac SA, V K Sawhney, Y Pohorecky. *Physiol Plant*, 1989, 77: 287~ 293
- 13 江玲, 王章荣, 周燮 植物学报, 1998, 40(3): 251~ 255
- 14 江玲, 周燮, 王章荣 南京农业大学学报, 1998, 21(2): 1~ 6
- 15 陆玲, 周燮 植物生理学报, 1992, 18(2): 173~ 178
- 16 Pilet PE, M Saugy. *Planta*, 1985, 164: 254
- 17 李宗霆, 周燮 植物激素及其免疫检测技术 南京: 江苏科学技术出版社, 1996