

DOI:10.11937/bfyy.201522018

樟树插穗对不同浓度牛血清白蛋白处理的反应

黄绍辉¹, 刘艳²

(1. 徐州工程学院 环境工程学院, 江苏 徐州 221008; 2. 徐州工程学院 机电工程学院, 江苏 徐州 221008)

摘要:为探讨牛血清白蛋白(BSA)与植物扦插苗根系发育的关系,以园林植物樟树(*Cinnamomum camphora*)为试材,研究了不同浓度外源 BSA 对樟树扦插苗的生理和形态响应。结果表明:BSA 浓度低于 $7.58 \mu\text{mol/L}$ 时,比对照提高了扦插苗的生根率、显著增加了侧根数和平均根长,使植物内源 GA、ABA、ZR 和 IAA 含量的变化向有利于根系形成和生长的方向变化,对扦插苗不定根形成有不同程度的促进作用。而高浓度的 BSA($\geq 15.15 \mu\text{mol/L}$)比对照降低了扦插苗的生根率、显著减少侧根数和平均根长,使植物内源 GA、ABA、ZR 和 IAA 含量的变化向不利于根系形成和生长的方向变化,对扦插苗不定根形成有不同程度的抑制作用。低浓度的 BSA 浸泡有利于插穗生根及根系的构建,而高浓度则相反。

关键词:牛血清白蛋白;樟树;扦插繁殖;根系;植物内源激素

中图分类号:S 791.253 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)22-0064-05

种子繁殖容易产生性状分离,为了保持植物的特定性状,国内外开展了大量的植物扦插繁殖研究,并针对不同树种开发和推广使用不同的外源物质促进插穗根系的形成及生长。牛血清白蛋白(BSA)的添加能增加根系生长^[1],具有不同于生长素和乙烯的发生作用的信号通路^[2]。因此,研究和了解外源物质 BSA 对插穗根系形成的特点,对更好地制订和推广扦插繁殖技术显得尤为必要。扦插季节、方式和土壤对樟树扦插苗生长影响极显著,对侧根数量影响不明显^[3],无论是硬枝扦插还是嫩枝扦插,梢部的插穗效果最好^[4],长度为 10~15 cm 的插穗效果最好^[5]。不同粗度和长度的插穗对樟树生根率有显著影响,其中长度为 15 cm 时生根率最高,为 89.01%,粗度为 0.4~0.5 cm 时生根率最高,为 91.23%^[6]。扦插季节对樟树大田扦插的成活率及苗高、地径和侧根生长影响显著,成活率 7、8 月份最高,9 月份最低,扦插苗当年长缓慢,但第 2 年显著加快;1 年生苗木中,4、5 月份扦插苗的地径、苗高和侧根生长显著高于 6、7、8、9 月份的扦插苗,扦插后加强肥水和田间管理,4、5 月份扦插苗当年能够达到上山造林苗木标准;樟树规模化大田扦插育

苗以 4、5、8 月份为宜^[7]。心土类型对樟树扦插成苗率及幼苗的高、径和侧根生长均有显著影响,但对侧根数量的影响不明显^[8]。500 mg/L 萘乙酸(NAA)成活率最高,其成活率达到 95.42%;100 mg/L 的 ABT 1 号生根粉扦插成活率最高,为 96.92%^[9]。选取粗度在 0.5 cm 以上、长度 5.0 cm 的短根作为插穗进行扦插成活率较高,若采用萘乙酸稀释液 200 mg/L 处理 1 h,可以促进短根插穗生根、提高成活率^[10]。在正常栽培条件下,樟树插穗根系构建及内源植物激素与外源 BSA 的相关关系,目前并不清楚。现以徐州工程院校园内栽培的园林植物樟树为试验材料,利用扦插繁殖试验,研究了扦插后 49 d 内每周 4 种主要植物内源激素(IAA、ZR、GA 和 ABA)含量的变化以及经过正常苗木管理冬季过后扦插成活率的变化,探索不同浓度的外源牛血清白蛋白浸泡处理插穗对插穗根系构建的影响,以期为优良樟树扦插繁殖外源物质的选择和科学制定技术措施提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为徐州工程学院中心校区校园内生长正常的樟树。剪取长度为 7~10 cm 的嫩枝插穗,插穗粗度为 0.3~0.4 cm,保留 2~3 片半叶。

1.2 试验方法

对插穗用 5 种 BSA 浓度(1.52、7.58、15.15、22.73、

第一作者简介:黄绍辉(1967-),男,博士,讲师,现主要从事植物发育生物学等研究工作。E-mail: xzhshui@163.com.

基金项目:江苏省高校自然科学基金资助项目(12KJD180006);徐州市科技计划资助项目(XZZD1318)。

收稿日期:2015-07-24

45.45 $\mu\text{mol/L}$)的溶液浸泡处理 4 h,并均以无菌水进行对照处理。每个浓度处理 50 株插穗。栽培基质按蛭石:珍珠岩:河沙=2:2:3 比例配制成混合基质,2014 年 7 月 6 日把插穗扦插在培养基质中,3 次重复。

扦插前 7 d,用 2‰高锰酸钾溶液对基质消毒,插前 24 h 用清水冲洗干净。扦插时,在基质上打孔,采用直插法,扦插完毕后立即用喷壶浇水。次日白天每隔 1 h 起用自动喷雾装置进行喷雾,使圃地湿度保持在 95%左右。插完后用 1 000 mg/L 多菌灵溶液浇足浇透苗床,以防插穗发霉腐烂。在扦插 3 周后,喷洒适量甲基托布津溶液。每隔 15 d 叶面喷施复合肥和葡萄糖水溶液。插后及时用竹条在扦插床面做 40 cm 高的小拱棚,用 2 m 宽的新鲜农用薄膜密闭覆盖,四周用泥土压实、压紧;使温度保持约 25℃,光照为自然光。插后 45~55 d 打开农用薄膜西端通气透风;秋季根老化后每月施 1 次 0.5%~1.0%的复合肥。

1.3 项目测定

采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定 ABA、GA、IAA、ZR 4 种内源激素在插穗生根过程中的含量变化,内源激素的测定结果采用 Logit 曲线方法进行计算。试验仪器采用美国原装进口酶标仪宝特 Elx800,产地为美国,OD 精准度: $<1\%$ (2.0 OD)。

1.4 数据分析

试验数据采用 IBM SPSS Statistics 21 统计分析软件进行处理及统计分析,采用 GraphPad Prism 6 进行制图分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 BSA 处理对生根率的影响

由图 1 可知,使用 BSA 处理插穗,低浓度的 BSA 能明显提高插穗的生根率,高浓度的 BSA 则明显减低插穗的扦插生根率。1.52、7.58 $\mu\text{mol/L}$ 的 BSA 浸泡插穗时,生根率分别比对照提高 20.8%、18.7%;15.15、22.73、45.45 $\mu\text{mol/L}$ 的 BSA 浸泡插穗生根率分别比对照降低 6.3%、12.5%和 18.8%。

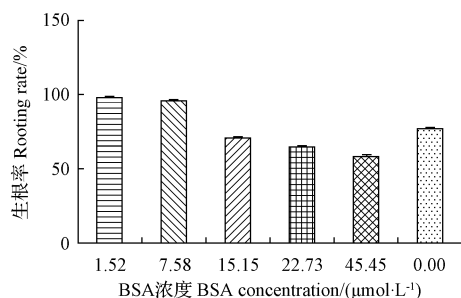


图 1 不同浓度 BSA 处理对生根率的影响

Fig. 1 Effect of different concentration of BSA treatment on rooting rate

2.2 不同浓度 BSA 处理对生根数量及根长度的影响

由图 2 可知,用中低浓度 BSA(1.52、7.58 $\mu\text{mol/L}$)浸泡处理插穗,使平均侧根数量增加,而高浓度的 BSA(15.15、22.73、45.45 $\mu\text{mol/L}$)处理使平均侧根数量降低;由图 3 可知,用中低浓度 BSA(1.52、7.58 $\mu\text{mol/L}$)浸泡处理插穗,平均根长数值升高,而高浓度的 BSA(15.15、22.73、45.45 $\mu\text{mol/L}$)处理使平均根长数值降低。统计分析表明,1.52 $\mu\text{mol/L}$ 的 BSA 浸泡处理显著提高($P<0.05$)平均侧根数量和平均根长;45.45 $\mu\text{mol/L}$ 的 BSA 浸泡处理均显著降低($P<0.05$)平均侧根数量和平均根长。

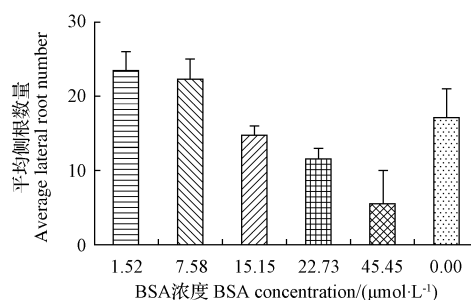


图 2 不同浓度 BSA 处理对侧根数量的影响

Fig. 2 Effect of different concentrations of BSA treatment on average lateral root number

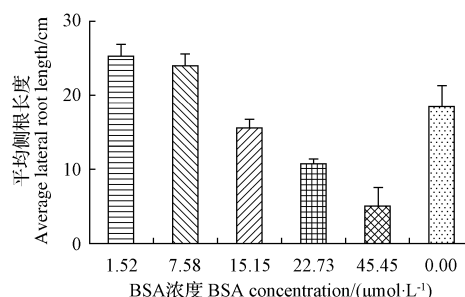


图 3 不同浓度 BSA 处理对平均侧根长的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of BSA treatment on average lateral root length

2.3 不同浓度 BSA 处理对扦插苗木内源激素 ZR 含量的影响

由图 4 可知,扦插后 7 d 内,不同浓度 BSA 处理的樟树内源 ZR 含量均快速下降,BSA 浓度越低($\leq 7.58 \mu\text{mol/L}$),下降的程度越小,BSA 浓度越高($\geq 15.15 \mu\text{mol/L}$),下降程度越大。值得注意的是,不同浓度 BSA 处理,内源 ZR 含量下降的速度不同。1.52 $\mu\text{mol/L}$ BSA 处理后 21 d 内源 ZR 含量下降到最低值,7.58 $\mu\text{mol/L}$ BSA 浸泡后 14 d 内源 ZR 含量下降到最低值。15.15 $\mu\text{mol/L}$ 以上浓度 BSA 浸泡处理后 14 d 内源 ZR 含量达到最低,第 28 天升高后又开始下降。第 35 天后,7.58 $\mu\text{mol/L}$ 以下浓度的 BSA 处理,樟树内源

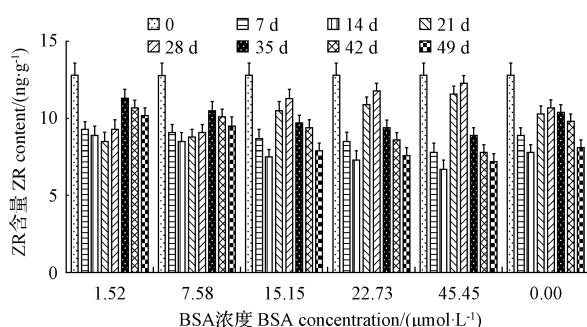


图4 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素ZR含量的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of BSA treatment on endogenous ZR content

ZR含量又开始下降。

2.4 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素IAA含量的影响

由图5可知,扦插后7d内,不同浓度BSA处理的樟树内源IAA含量均下降到最低值。但下降的幅度在不同处理浓度之间有差异。1.52 μmol/L BSA浸泡处理比7.58 μmol/L BSA处理使内源IAA含量下降幅度小,BSA浓度越大,内源IAA含量下降的幅度越大。在扦插后第28天内源IAA上升到一个较高的值,然后又开始下降,之后新的较高值也都低于插穗最初的IAA含量测定值。

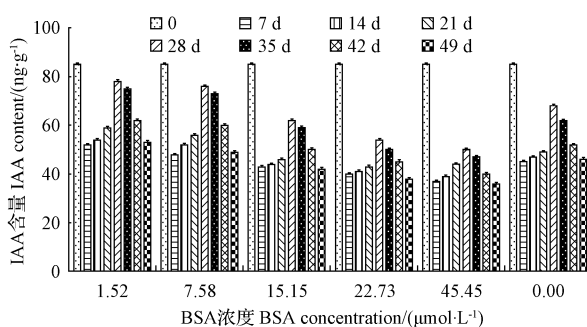


图5 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素IAA含量的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of BSA treatment on endogenous IAA content

2.5 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素GA含量的影响

由图6可知,扦插后第14天,各种浓度的BSA浸泡的樟树,其内源GA含量均下降到最低值。但下降的幅度在不同处理浓度之间有差异。高浓度BSA处理比低浓度BSA处理下降的幅度大。7.58 μmol/L以下浓度的BSA浸泡处理的插穗,在第28天重新达到一个比插穗初始GA含量高的新值。15.15 μmol/L以上浓度的BSA处理插穗,则在第35天达到一个比初始GA含量

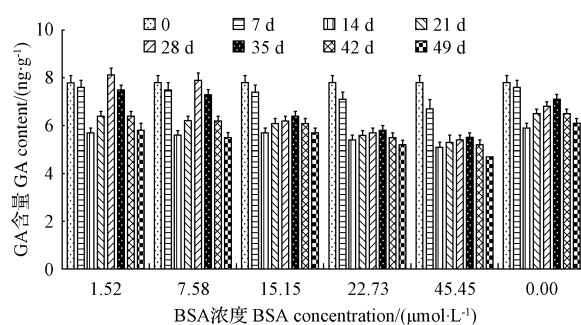


图6 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素GA含量的影响

Fig. 6 Effect of different concentrations of BSA treatment on endogenous GA content

低的值,之后GA含量又开始下降。

2.6 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素ABA含量的影响

由图7可知,扦插后第7天,各种浓度的BSA浸泡的樟树插穗,其内源ABA含量均下降到一个较低的值。但下降的幅度在不同处理浓度之间有差异。高浓度BSA处理比低浓度BSA处理下降的幅度大。各种浓度的BSA浸泡处理的插穗,在第14天重新达到一个ABA含量高值。7.58 μmol/L以下浓度BSA处理的插穗的ABA含量低于扦插当天测定的值,15.15 μmol/L以上浓度BSA处理的插穗,则在第14天达到一个比初始ABA含量高的值。第14天后各种浓度处理的插穗ABA含量又开始下降。高浓度处理的插穗下降的速度较快,而低浓度处理的插穗ABA含量则下降较慢。

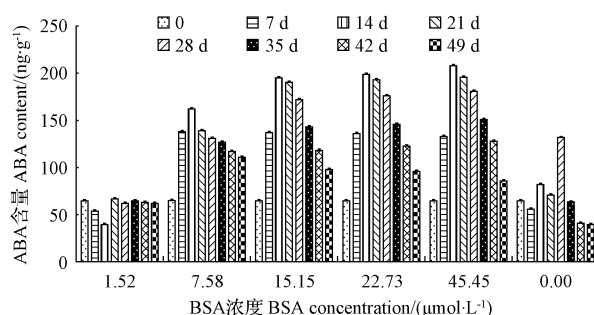


图7 不同浓度BSA处理对扦插苗木内源激素ABA含量的影响

Fig. 7 Effect of different concentrations of BSA treatment on endogenous ABA content

3 讨论与结论

在土壤中可用的氮有不同的存在形式,但硝态氮,铵态氮和氨基酸最为丰富^[11]。值得注意的是,氮严重不足时,侧根的形成几乎完全缺失^[12]。氮获取的形式影响植物生物量的分配^[13]。根的发育与硝酸盐的有效性有关^[14]。众所周知,NO₃⁻和N代谢对根系发育和N的转

运起信号调节作用^[15]。温室中扦插苗的生长对3种形式氮表现出类似的生长反应,但对 NH_4^+ 、 NO_3^- 和甘氨酸的吸收能力并不相同^[16]。

不同的植物种类对外源有机氮的反应不同。例如,SHINGAKI-WELLS等^[17]检测到小麦根在外源混合3个(丝氨酸、丙氨酸、甘氨酸)或2个(丝氨酸、丙氨酸)氨基酸时对缺氧耐受性的积极作用;减少的谷胱甘肽的处理促进番茄扦插苗根系的形成^[18]。课题组对观赏植物樟树的试验结果表明,中低浓度的BSA有利于插穗度过不良环境,尽快形成新的根系,而高浓度的BSA则不利于新根的形成。扦插繁殖是植物的一部分处于脱离母体在逆境中重新产生新个体的过程,推测外源有机氮有利于植物适应不良逆境,产生响应的形态和生理反应,而这种反应与有机氮的浓度有关。

该试验研究了樟树插穗对高分子质量有机氮存在的反应。结果表明,以BSA形式出现的蛋白质对植物形态和内源激素的影响与蛋白质浓度有关,即不论植物的营养状况如何,根表现出可测量的对有机营养物质的反应^[13]。BSA影响插穗的生根率,影响插穗侧根发生和根系结构,使插穗内源激素(ZR、IAA、ABA、GA)的含量在扦插后迅速下降,之后随BSA处理的时间和方式的改变发生不同程度的波动。

植物激素通过复杂的信号转导途径,形成复杂的相互作用网络,调节植物的生长和发育以响应外部环境的刺激。在植物激素对植物发育的可塑性调控研究中,植物根是一个特别有用的系统^[19]。在根系中,生长素参与侧根的形成,维持顶端优势和不定根的形成^[20]。现已证明不定根形成的所有阶段都依赖于或由内源性或外源性生长素调节^[18]。此外,外源生长素会促进不定根的形成和增加再生根的数量^[21]。虽然生长素在根的生长发育中起着至关重要的作用,其它几种植物激素则通过调节生长素的作用,进而影响根系的发育和结构^[22]。植物激素在调节植物生长、发育和对胁迫的反应等方面均起着重要的作用^[23]。因此,在扦插繁殖过程中测定不同时期插穗内源激素的含量可以明确插穗对所处逆境的反应。该研究表明,植物突然遭受逆境时,所测的4种内源激素含量会在短期内减到最低,而外源有机氮BSA的加入会使这种变化发生不同程度的改变。中低浓度的BSA使樟树插穗4种内源激素的含量和比例关系向有利于根系发育形成的方向变化,而高浓度的外源BSA使内源激素的含量和比例关系向不利于根系发育形成的方向变化。

该研究测定的4种激素对植物生长发育的作用已有很多研究。例如,生长素会强烈降低再生根的伸长生长^[24],纯化的沉积腐殖酸的作用与根系中NO和IAA浓度的增加以及依赖于NO-IAA途径的乙烯和ABA增

加有功能上的联系^[25],侧根在植物根系对生长素和细胞分裂素平衡的可塑性反应中是至关重要的^[26],ABA参与水稻幼苗对胁迫反应在蛋白质组水平^[27],ABA会明显抑制新梢生长以及OsKRP4、OsKRP5和OsKRP6基因的表达^[28],外源细胞分裂素的应用会抑制侧根的形成,减少细胞分裂素水平使转基因拟南芥植株显示出增加根分支和初生根生长^[22]。有证据表明“晚香玉”数量特征受GA₃处理的影响^[29]。最近,一个强大的连接N和激素之间的信号转导途径已被展现出来^[30]。

该研究结果表明,外源牛血清白蛋白(BSA)配制成低浓度溶液浸泡樟树插穗时,扦插生根率比对照明显提高,平均生根数量比对照增加,平均侧根长度比对照大,而高浓度的处理结果则相反。4种内源激素IAA、GA、ZR和ABA的含量出现明显变化,低浓度处理的插穗其激素的变化趋势有利于插穗生根和根系生长,而高浓度处理的变化趋势与对照一致,但变化幅度更大,不利于根系的发生和生长。该研究增加了对有机氮影响植物插穗根系生长和内源激素变化的理解,强调了园林植物经营中应用有机氮的必要性。

参考文献

- [1] CHANYARAT P L, THIERRY G A L, DORIS R, et al. Plants can use protein as a nitrogen source without assistance from other organisms[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(11): 4524-4529.
- [2] THIERRY G A L, YURI T, ANTHONY Y, et al. Effects of externally supplied protein on root morphology and biomass allocation in *Arabidopsis* [J]. Nature (Scientific Reports), 2014, 4: 5055.
- [3] 黎祖尧, 李江, 张丽霞, 等. 芳樟大田规模化扦插育苗试验研究[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(1): 144-149.
- [4] 向凡. 插条部位对樟树扦插生根的影响[J]. 四川林业科技, 2014, 35(1): 63-64.
- [5] 石兆明, 郑鹏, 易桂林, 等. 插条长度对樟树扦插生根的影响[J]. 河北林业科技, 2013(5): 19-20.
- [6] 杨冬玲, 龚晓静. 插条粗度和长度对樟树硬枝扦插生根率的影响[J]. 现代农业科技, 2013(6): 150.
- [7] 黎祖尧, 姜漾, 万文, 等. 季节对芳樟规模化大田扦插育苗的影响研究[J]. 江西农业大学学报, 2013, 35(3): 451-455.
- [8] 黎祖尧, 晓霞, 姜漾, 等. 心土对芳樟大田扦插育苗的影响研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(10): 1-4.
- [9] 郑鹏, 石兆明, 钟林茂, 等. 宜宾市市树油樟嫩枝扦插成活率研究[J]. 中国城市林业, 2013, 11(6): 58-59.
- [10] 张曼恒, 张汉卿, 刘二东, 等. 耐寒樟树的短根扦插快速繁殖技术研究[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(24): 5704-5707.
- [11] MILLER A J, CRAMER M D. Root nitrogen acquisition and assimilation[J]. Plant and Soil, 2004, 274: 1-36.
- [12] BENJAMIN D G, RICARDO F H, SWETLANA F, et al. Plasticity of the *Arabidopsis* root system under nutrient deficiencies[J]. Plant Physiology, 2013, 163(1): 161-179.
- [13] CAMILA A C, HENRIK S, LINDA G, et al. Patterns of plant biomass partitioning depend on nitrogen source[J]. Plos One, 2011, 6(4): e19211.

- [14] CE'LINE C, SANDRINE M, SOPHIE M, et al. The auxin-signaling pathway is required for the lateral root response of *Arabidopsis* to the rhizobacterium *Phyllobacterium brassicacearum*[J]. *Planta*, 2010, 232(6):1455-1470.
- [15] SOPHIE M, GUILHEM D M L, TIMOTHY J, et al. Nitrate-dependent control of root architecture and N nutrition are altered by a plant growth-promoting *Phyllobacterium* sp.[J]. *Planta*, 2006, 223(3):591-603.
- [16] AMY E M, WILLIAM D B. Alpine plants show species-level differences in the uptake of organic and inorganic nitrogen[J]. *Plant and Soil*, 2003, 250(2):283-292.
- [17] SHINGAKI-WELLS R N, HUANG S, TAYLOR N L, et al. Differential molecular responses of rice and wheat coleoptiles to anoxia reveal novel metabolic adaptations in amino acid metabolism for tissue tolerance [J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(4):1706-1724.
- [18] JAROSŁAW T, ANDRZEJ T. Glutathione and glutathione disulfide affect adventitious root formation and growth in tomato seedling cuttings[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2010, 32(2):411-417.
- [19] ADRIANA G A, MARIA S, BERENICE G P, et al. Hormone symphony during root growth and development [J]. *Developmental Dynamics*, 2012, 241(12):1867-1885.
- [20] ANGELA H, GRAZIELLA B, CLAUDE D, et al. Plant root growth, architecture and function[J]. *Plant Soil*, 2009, 321(1-2):153-187.
- [21] BLAKESLAY D, WESTON G D, HALL F J. The role of endogenous auxin in root initiation. Part I: evidence from studies on auxin application and analysis of endogenous level [J]. *Plant Growth Regul*, 1991(10):341-353.
- [22] WERNER T, MOTYKA V, LAUCOU V, et al. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity [J]. *Plant Cell*, 2003(15):2532-2550.
- [23] FUYOU D, GUIHUA R, LIU H W. Analytical methods for tracing plant hormones [J]. *Anal Bioanal Chem*, 2012, 403(1):55-74.
- [24] TYBURSKI J, TRETYN A. The role of light and polar auxin transport in root regeneration from hypocotyls of tomato seedling cuttings[J]. *Plant Growth Regul*, 2004, 42(1):39-48.
- [25] VERO'NICA M, EVA B, ROBERTO B, et al. NO and IAA Key Regulators in the shoot growth promoting action of humic acid in *Cucumis sativus* L. [J]. *J Plant Growth Regul*, 2014, 33(2):430-439.
- [26] KROME K, ROSENBERG K, DICKLER C, et al. Soil bacteria and protozoa affect root branching via effects on the auxin and cytokinin balance in plants [J]. *Plant Soil*, 2010, 328(1-2):191-201.
- [27] RANDEEP R, SETSUKO K. Absciscic acid promoted changes in the protein profiles of rice seedling by proteome analysis [J]. *Molecular Biology Reports*, 2004, 31(4):217-230.
- [28] MEGURO A, SATO Y. Salicylic acid antagonizes abscisic acid inhibition of shoot growth and cell cycle progression in rice [J]. *Sci Rep*, 2014(4):4555.
- [29] MOAZZAM H A, ZEYNAB R, JAFAR A. Response of tuberose (*Polygonatum tuberosum* L.) to gibberellic acid and benzyladenine [J]. *Hort Environ Biotechnol*, 2011, 52(1):46-51.
- [30] PHILIPPE N, ELÉONORE B, ALAIN G. Nitrogen acquisition by roots: physiological and developmental mechanisms ensuring plant adaptation to a fluctuating resource [J]. *Plant Soil*, 2013, 370:1-29.

Response of *Cinnamomum camphora* Cuttings to Different Concentration of Bovine Serum Albumin Treatment

HUANG Shaohui¹, LIU Yan²

(1. College of Environmental Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou, Jiangsu 221008; 2. College of Mechanical and Engineering, Xuzhou Institute of Technology, Xuzhou, Jiangsu 221008)

Abstract: In order to investigate the relationship between bovine serum albumin (BSA) and the development of plant root cuttings. The garden plant *Cinnamomum camphora* was used as experimental material, and the effect of different concentration of exogenous BSA on *C. camphora* cutting seedlings physiological and morphological response were studied. The results showed that the applying appropriate BSA ($\leq 7.58 \mu\text{mol/L}$) was able to increase the cutting root rate and lateral root number and average length of root, enhance root activity and conducive the plant endogenous GA, ABA, ZR and IAA contents changed in the direction of promoting the growth of roots and adventitious root formation of cuttings. However, high concentration of BSA ($\geq 15.15 \mu\text{mol/L}$) had different extent inhibition effect, and reduced the number of lateral roots, average root length and rooting rate than the control, and the plant endogenous GA, ABA, ZR and IAA contents changed in the direction of inhibiting adventitious root formation and the growth of root in different degrees. Low concentration of BSA soaking was conducive to rooting and root constructing, while high concentration on the contrary.

Keywords: bovine serum albumin; *Cinnamomum camphora*; cutting propagation; root system; plant endogenous hormone