

DOI:10.11937/bfyy.201610037

6-BA 和 GA₃ 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗生长及可溶性糖含量的影响

覃杰明, 张党权, 何含杰

(中南林业科技大学 经济林培育与保护省部共建教育部重点实验室, 林业生物技术湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410004)

摘要:以铁皮石斛为试材, 在 NaCl 胁迫下, 研究了 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)和赤霉素(GA₃)对铁皮石斛幼苗生长、色素及可溶性糖含量的影响。结果表明: 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 可以显著提高 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗根的生长率, 而 4.0 mg·L⁻¹ GA₃ 则显著的提高其根的生长率, 但二者均降低铁皮石斛茎的生长率; 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 则可以降低叶绿素 b 含量, 而 4.0 mg·L⁻¹ 6-BA 则可以提高叶绿素的含量, 且不同浓度 6-BA 对叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量无显著性影响; 2.0 mg·L⁻¹ GA₃ 均可以提高叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量, 而 6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 则降低叶绿素 b 含量; 4.0 mg·L⁻¹ 6-BA 和 6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 均可以提高可溶性糖含量。因此, 添加适当浓度的外源植物激素可以促进铁皮石斛中可溶性多糖的合成与积累。

关键词:铁皮石斛; 6-BA; GA₃; 盐胁迫; 可溶性糖; 色素

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)10-0144-04

随着全球气候的变暖, 土壤盐碱化越来越严重, 并影响农、林、牧业的发展。在中国, 盐碱地主要分布在东北、华北、西北内陆地区以及长江以北沿海地带, 约有盐碱地 0.27 亿 hm², 其中耕地 0.06 亿 hm², 盐碱荒地 0.21 亿 hm²^[1]。在植物生长过程中, 土壤中高浓度的盐会形成渗透胁迫、离子毒害、营养失衡等伤害, 阻碍植物的生长或导致植株死亡^[2-4]。因此, 研究植物的耐盐机理及提高其抗盐性, 对农林业的可持续生产有重要的指导意义。

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)属兰科石斛属多年附生草本植物, 其根、茎中含有苯类、酚类、黄酮类等化合物, 现代药理学及临床应用研究表明, 铁皮石斛具有增强体质^[5]、抗疲劳^[6]、促消化^[7]、降血糖血压^[8-9]、抗肿瘤^[10]等功效。铁皮石斛的生长受到多种因素的影响^[11-15], 但鲜见有关外源激素在盐胁迫下对其生长和可溶性多糖含量影响的报道。现以铁皮石斛幼苗为试材, 探究 NaCl 胁迫下, 外源植物激素 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)和赤霉素(GA₃)对铁皮石斛幼苗生长、可溶性糖及色素含量的影响, 以期为其培育、开发和利用提供理论参考依据。

第一作者简介:覃杰明(1990-), 男, 硕士研究生, 研究方向为林业生物技术。E-mail: qinjieming1990@163.com。

责任作者:何含杰(1979-), 男, 博士, 讲师, 研究方向为植物生理和植物分子生物学。E-mail: hejie224@163.com。

基金项目:湖南省自然科学基金资助项目(2015JJ3178);长沙市科技攻关资金专项资助项目(K1406011-21)。

收稿日期:2015-12-16

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试盆栽铁皮石斛苗为 2015 年 2—7 月组培快繁的生根试管苗, 于 2015 年 7 月 20 日, 将生长状况良好的生根苗移栽至盆钵中, 盆钵规格为 10 cm × 10 cm × 15 cm, 每盆 3 株, 移栽基质为已消毒的优质松树皮, 上层铺盖苔藓用以保湿, 置于阴凉潮湿处进行常规养护管理。

1.2 试验方法

将试验材料随机分成 3 组, 每组 6 盆。将 NaCl (100 mmol·L⁻¹)溶解在 1/2 Hoagland 营养液中进行盐胁迫, 每天浇灌时间为 18:00—19:00。其中 1 组为对照组(CK), 处理方式为直接浇灌 1/2 Hoagland 营养液, 另外 2 组以不同浓度的外源激素 6-BA 和 GA₃ 处理, 每种激素的使用浓度分别为 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹, 每天均匀喷施叶片的正、反面, 以叶片附着 1 层小液珠为准。材料培养至第 15 天时取材, 用去离子水洗涤干净, 同时用直尺测量根长、株高。

1.3 项目测定

色素含量的测定参照李合生^[16]的方法; 可溶性糖含量测定参照张宪政^[17]的方法。

1.4 数据分析

试验数据采用 Excel 进行作图, 然后采用 SPSS 20.0 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 6-BA 和 GA₃ 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗生长的影响

培养至 15 d 时,对照处理(CK)及不同浓度 6-BA 处理的铁皮石斛幼苗根长度与第 0 天相比的变化率分别为 2.95%、7.14%、2.11%、2.11%(图 1 A),而喷施 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液的铁皮石斛幼苗根长度是对照根长度的 104.11%、99.18%、99.18%。培养至 15 d 时,铁皮石斛幼苗株高与第 0 天相比变化率分别为 8.48%、7.50%、3.18%、0.57%(图 1 A),而喷施 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液的铁皮石斛幼苗株高是对照幼苗株高的 99.11%、95.08%、92.74%,这说明外源

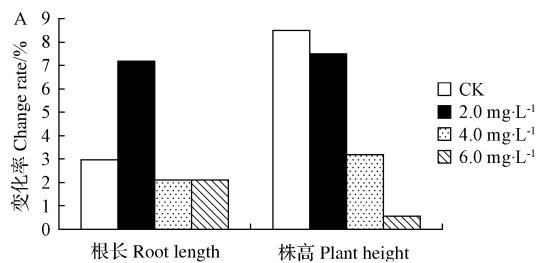


图 1 6-BA(A)和 GA₃(B)对铁皮石斛幼苗根和株高生长的影响

Fig. 1 Effects of 6-BA (A) and GA₃ (B) on growth of root length and plant height of *Dendrobium officinale* seedling

2.2 6-BA 和 GA₃ 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗叶片色素含量的影响

由图 2A、B、C 可知,培养至第 15 天时,2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 处理的铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素的含量分别为 0.790 1、0.327 3、0.179 9 mg·g⁻¹,较对照含量分别降低了 8.16%、8.45%、12.03%;4.0 mg·L⁻¹ 6-BA 处理的铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素的含量达到 0.977 8、0.381 1、0.214 7 mg·g⁻¹,较对照含量分别提高了 13.66%、6.60%、4.99%;而 6.0 mg·L⁻¹ 6-BA 则可以降低铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量,较对照含量分别降低了 1.48%、3.69%、5.72%,这说明中浓度的 6-BA 可以提高 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量,而低浓度或高浓度的 6-BA 则降低叶片中色素的含量。

培养至第 15 天时,2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 处理的铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 a 的含量分别为 0.947 1、0.914 8、0.897 4 mg·g⁻¹,较对照含量分别提高了 10.09%、6.33%、4.31%;处理后铁皮石斛幼苗叶片中叶绿素 b 的含量分别为 0.367 5、0.361 1、0.350 1 mg·g⁻¹,较对照含量分别提高了 2.08%、1.01%、-2.07%;处理后铁皮石斛幼苗叶片中类胡萝卜素的含量分别为 0.213 4、0.215 0、0.199 4 mg·g⁻¹,较对照含量分别提高了 4.35%、5.13%、-2.49%(图 2 D、E、F)。试验结果表明,低浓度 6-BA(2.0、4.0 mg·L⁻¹)可以提高 NaCl 胁迫下

植物激素 6-BA 对铁皮石斛的生长具有重要的调控作用。

培养至 15 d 时,对照(CK)处理及不同浓度 GA₃ 处理的铁皮石斛幼苗根长度与第 0 天相比的变化率分别为 2.95%、1.81%、12.44%、3.61%(图 1 B),而喷施 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 溶液的铁皮石斛幼苗根长度是对照根长度的 98.85%、109.18%、100.57%。培养至 15 d 时,铁皮石斛幼苗株高变化率分别为 8.48%、6.90%、6.00%、4.73%(图 1 B),而喷施 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 溶液的铁皮石斛幼苗株高是对照株高的 98.55%、97.71%、96.54%。试验结果表明,外源植物激素 GA₃ 对铁皮石斛幼苗根和茎的生长具有重要的调控作用。

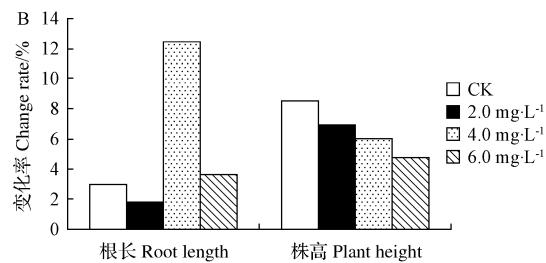


图 1 6-BA(A)和 GA₃(B)对铁皮石斛幼苗根和株高生长的影响

铁皮石斛幼苗叶片中色素的含量,且色素含量的增加与外源激素 GA₃ 的浓度成反比例关系;而高浓度 6-BA (6.0 mg·L⁻¹)则降低叶片中叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量。

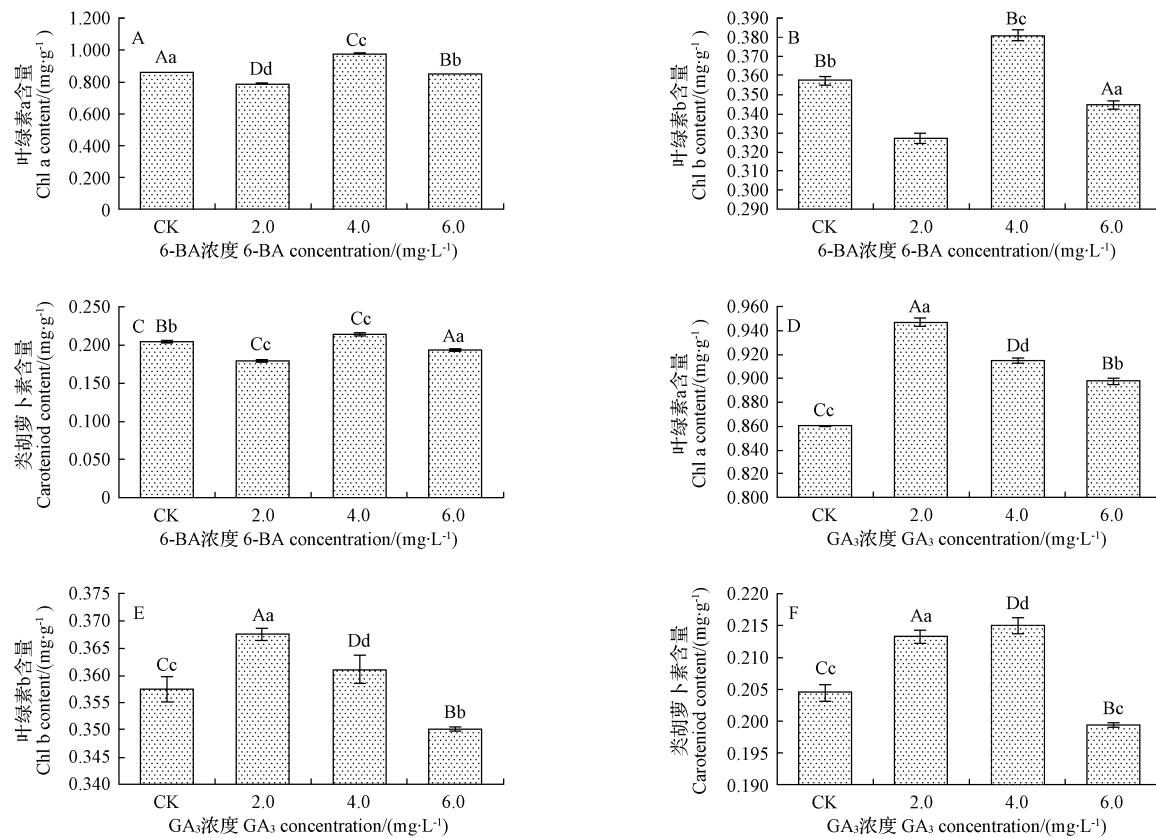
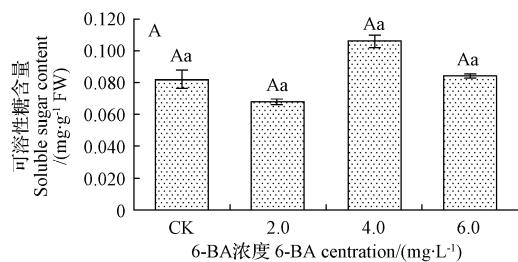
2.3 6-BA 和 GA₃ 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗可溶性糖含量的影响

由图 3 可知,不同浓度的 6-BA 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量的影响呈现“降低-上升-降低”的变化趋势。与对照相比,培养至 15 d 时,外施 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 可以降低 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量,降低了 17.07%;外施 4.0 mg·L⁻¹ 6-BA 则可以提高铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量,约为 0.106 mg·g⁻¹,提高了 29.27%;而外施 6.0 mg·L⁻¹ 6-BA 则对铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量无显著性影响(图 3A)。

不同浓度的 GA₃ 可以提高 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量(图 3 B)。培养至 15 d 时,外施 2.0、4.0、6.0 mg·L⁻¹ GA₃ 后,铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量分别达到 0.109、0.110、0.225 mg·g⁻¹,是对照含量的 1.33、1.34、2.74 倍。表明外源 6-BA 和 GA₃ 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量具有重要的调控作用。

3 讨论

植物的生长受到多种因素的影响,如高温、盐、植物激素等,进而影响植物根、茎、叶的生长和发育。在盐胁迫条件下,植物细胞的渗透势会发生改变,通过多种机制调控植物的适应性。外施植物激素则可以调控植物

图 2 6-BA 和 GA₃ 对铁皮石斛幼苗色素含量的影响Fig. 2 Effects of 6-BA and GA₃ on contents of pigments of *Dendrobium officinale* seedling图 3 6-BA 和 GA₃ 对铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量的影响Fig. 3 Effects of 6-BA and GA₃ on contents of soluble sugar of *Dendrobium officinale* seedling

在胁迫环境下的生长和适应性。试验结果显示,喷施 2.0 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液可以提高 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗根的生长率,而喷施 4.0、6.0 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液则降低其根的生长率,说明高浓度的 6-BA 抑制铁皮石斛幼苗根的生长与伸长。喷施 2.0 mg·L⁻¹ GA₃ 溶液则降低 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗根的生长率,而喷施 4.0 mg·L⁻¹ GA₃ 溶液则提高其根的生长率,这说明 6-BA 和 GA₃ 对铁皮石斛根的生长具有重要的调节作用,而这种调控作用因激素种类和浓度的不同而有所差异。喷施不同浓度的 6-BA 和 GA₃ 溶液均降低 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗茎的生长率,此抑制作用与喷施 6-BA 和 GA₃ 的浓度成正比例关系,且 6-BA 的抑制作用较 GA₃ 显著。因此,6-BA 和 GA₃ 通过影响铁皮石斛根和茎的生长,进而影响整个植株的生长和发育。

叶绿素等色素是植物光合系统中重要的组成成分,对植物有机物的合成具有重要的作用。有研究报道,盐胁迫可以降低植物叶片中色素的含量^[18]。试验结果显示,低浓度 6-BA 对 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗叶绿素 b 含量有显著性的影响,而所有浓度的 6-BA 对叶绿素 a 和类胡萝卜素的含量均无显著性影响。低浓度的 GA₃ 对叶绿素 a、叶绿素 b 和类胡萝卜素的含量均有显著性影响,推测可能与铁皮石斛生长受抑制程度较弱相关。

植物对细胞渗透势的调节是植物适应环境胁迫的手段之一^[19]。植物受到环境胁迫时,细胞内可以积累可溶性糖等物质,用以调节体内的渗透势和维持蛋白质的稳定,并增强植物的抗逆性^[20~22]。已有的研究证实,添加外源植物激素,可以促进药用植物中有效成分的合成与积累^[23~24]。在铁皮石斛中,可溶性多糖是一类重要的

化合物,具有重要的药用价值和临床功效^[25]。试验结果表明,喷施 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 溶液可以显著的提高 NaCl 胁迫下铁皮石斛幼苗中可溶性糖含量,而喷施不同浓度的 GA₃ 溶液均可以提高幼苗中可溶性糖的含量,且喷施 $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ 溶液的效果较显著。试验结果表明,喷施适当浓度的 6-BA 和 GA₃ 溶液可以促进铁皮石斛幼苗中可溶性糖的合成与积累。因此,在铁皮石斛培养过程,可以适当添加外源植物激素,以促进植株体内可溶性多糖的合成与积累。植物受到胁迫时,会引起细胞内多种保护酶活性的变化。喷铁皮石斛幼苗适应盐胁迫及对 6-BA 和 GA₃ 响应是否与细胞内酶活性的调控相关是后续研究的重点。

参考文献

- [1] 阿吉艾克拜尔,邵孝侯,常婷婷,等. 我国盐碱地改良技术和方法综述[J]. 安徽农业科学,2013,41(16):7269-7271.
- [2] 宁建凤,郑青松,杨少海,等. 高盐胁迫对罗布麻生长及离子平衡的影响[J]. 应用生态学报,2010,21(2):325-330.
- [3] 秦伟,韩晶,克热木·伊力. 盐胁迫对榅桲组培苗生长及其生理特征的影响[J]. 西北植物学报,2008,28(12):2467-2471.
- [4] 於丙军,罗庆云,刘友良. NaCl 胁迫下野生和栽培大豆幼苗体内离子的再转运[J]. 植物生理与分子生物学报,2003,29(1):39-44.
- [5] 赵嘉,吕圭源,陈素红. 石斛“性味归经”的相关药理学研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志,2009,19(6):388.
- [6] 鹿伟,陈玉满,徐彩菊,等. 铁皮石斛抗疲劳作用研究[J]. 中国卫生检验杂志,2010,20(10):2488.
- [7] 吴人照,陈军贤,夏亮,等. 铁皮枫斗颗粒(胶囊)治疗慢性萎缩性胃炎气阴两虚证临床研究[J]. 上海中医药杂志,2004,38(4):28.
- [8] 陈泳荪,刘文洪. 铁皮石斛多糖提取工艺及其对高糖诱导血管内皮细胞 NF-κB 表达干预的研究[J]. 山西中医学院学报,2011,12(2):28.
- [9] 周德龙. 高血压病的中医治疗[J]. 四川中医,2011,29(4):44.
- [10] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPP1a-1 的理化性质及抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发,2007(19):578-583.
- [11] 徐步青,崔永一,郭岑,等. 不同光照强度和培养时间下铁皮石斛类原球茎生物量、多糖和生物碱量的动态变化[J]. 中草药,2012,43(2):355-359.
- [12] 高亭亭,斯金平,朱玉球,等. 光质与种质对铁皮石斛种苗生长和有效成分的影响[J]. 中国中药杂志,2012,37(2):198-201.
- [13] 黎万奎,胡之壁,周吉燕,等. 人工栽培铁皮石斛与其他来源铁皮石斛中氨基酸与多糖及微量元素的比较分析[J]. 上海中医药大学学报,2008,22(4):80-83.
- [14] 杨岚,师帅,王红娟,等. 水杨酸对高温胁迫下铁皮石斛幼苗耐热性的影响[J]. 西北植物学报,2013,33(3):534-540.
- [15] 艾娟,严宁,胡虹,等. 温度对铁皮石斛生长及生理特性的影响[J]. 云南植物研究,2010,32(5):420-426.
- [16] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2001:134-137.
- [17] 张宪政. 植物生理实验指导[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,1989:264-267.
- [18] 刁丰秋,章文华,刘友良. 盐胁迫对大麦叶片类囊体膜组成和功能的影响[J]. 植物生理学报,1997,23(2):105-110.
- [19] 张海燕,赵可夫. 盐分和水分胁迫对盐地碱蓬幼苗渗透调节效应的研究[J]. 植物学报,1998,40(1):56-61.
- [20] HEUER B. Osmoregulatory role of proline in water-and salt-stressed plants[M]//PESSARAKLI M. Handbook of Plant and Crop Stress. New York: Marcel Dekker, 1994:363-381.
- [21] ASHRAF M, FOOLAD M R. Improving plant abiotic-stress resistance by exogenous application of osmoprotectants glycine betaine and proline[J]. Environmental Experiment Botany, 2007, 59(2):206-216.
- [22] SINGH N K, HANNA A K, HASEGAWA P M, et al. Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl[J]. Plant Physiology, 1985, 79(1):126-137.
- [23] 徐立新,赵寿经,梁彦龙,等. 外源调节物质对人参毛状根生长及皂苷合成的影响[J]. 吉林大学学报,2010(6):1619-1623.
- [24] 徐咏梅. 外源激素对杜仲次生代谢物含量的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2007.
- [25] 鲍素华,查学强,郝杰,等. 不同分子量铁皮石斛多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2009(21):123-127.

Effect of Exogenous Hormones 6-Benzylaminopurine and Gibberellin A₃ on Growth and Contents of Soluble Sugar of *Dendrobium officinale*

QIN Jieming, ZHANG Dangquan, HE Hanjie

(Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-Wood Forest Trees, Ministry of Education, Central South University of Forestry and Technology / Hunan Provincial Key Laboratory of Forestry Biotechnology, Changsha, Hunan 410004)

Abstract: Taking seedling of *Dendrobium officinale* as materials, under salt stress condition ($100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$), the effects of 6-Benzylaminopurine (6-BA) and gibberellin A₃ (GA₃) on its growth, contents of pigments and soluble sugar were studied. The results showed that the growth rate of root of *Dendrobium officinale* treated by $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA was enhanced remarkably, and $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ obviously raised its growth rate of root, but both 6-BA and GA₃ reduced growth rate of stem. $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA decreased the content of chlorophyll b, while $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA increased the content of chlorophyll b, but different concentration of 6-BA had no obvious effects on the contents of chlorophyll a and carotenoid. $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ lifted the contents of chlorophyll a, chlorophyll b and carotenoid, but $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ reduced the content of chlorophyll b. Both $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃ enhanced the content of soluble sugar. So adding appropriate concentration of exogenous hormones promoted synthesis and accumulation of soluble sugar in seedling of *Dendrobium officinale*.

Keywords: *Dendrobium officinale*; 6-Benzylaminopurine; gibberellin A₃; salt stress; soluble sugar; pigment