

刘慧颖,韩玉燕,蒋润枝,等.糖对莲藕实生苗不定根形成及过氧化物酶活性的影响[J].江苏农业科学,2019,47(16):155-158.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.16.034

糖对莲藕实生苗不定根形成及过氧化物酶活性的影响

刘慧颖,韩玉燕,蒋润枝,程立宝

(扬州大学园艺与植物保护学院,江苏扬州 225009)

摘要:利用不同浓度蔗糖、葡萄糖、果糖溶液处理莲藕实生苗,研究不同糖处理对莲藕实生苗不定根形成和过氧化物酶(POD)活性的影响。结果表明 10、20、30 g/L 蔗糖处理的实生苗均能促进莲藕不定根的形成,而 50 g/L 的蔗糖具有明显的抑制作用。利用 10、20、30 g/L 葡萄糖处理的莲藕实生苗与对照相比无明显变化,40 g/L 和 50 g/L 的葡萄糖对不定根发生起明显抑制作用。利用 10、20、30、40、50 g/L 的果糖处理莲藕实生苗,前期与对照相比无明显变化,后期随着果糖溶液浓度的升高,对不定根的形成具有抑制作用。利用不同浓度蔗糖处理莲藕实生苗,观察 POD 活性的变化,结果表明不同浓度蔗糖处理过的莲藕实生苗 POD 活性在 0~8 d 均呈现先下降后上升再下降的趋势。总之,不同类型的糖影响莲藕实生苗不定根的形成效果不同,这为进一步挖掘调控莲藕不定根形成的机制奠定了坚实的理论基础。

关键词:糖类;莲藕;不定根;过氧化物酶;实生苗

中图分类号: S645.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)16-0155-04

莲藕(*Nelumbo nucifera* Gaertn)是睡莲科(Nymphaeaceae)莲属多年生水生草本植物^[1],种质资源丰富^[2]。原产于印度,后来引入中国,是我国栽培面积最大的水生蔬菜^[3]。以膨大根状茎(俗称藕)供食用,且药用价值相当高,深受广大人民的喜爱,是我国主要出口创汇型蔬菜之一^[4]。莲藕的根有 2 种,一种是主根,另一种是不定根。主根是莲子播种后,由种子的胚根所形成的,但主根不发达,不定根直接影响莲藕植株的生长发育。莲藕不定根较多,发达的不定根不仅起到固定、支持植物的作用,还能从土壤中吸收植物生长发育必需的水分和无机盐。糖起到提供营养成分和信号分子的双重作用,且与植物激素作用影响根系生长发育^[5]。

糖类又称碳水化合物,是多羟基醛或多羟基酮及其缩聚物和某些衍生物的总称^[6],一般由碳、氢与氧 3 种元素所组成^[7],是植物体内重要的碳源和能源^[8],它不仅参与能量代谢,还调控植物的生长发育和生理过程,糖类在种子萌发、生根、发育等方面都有举足轻重的作用^[9]。

蔗糖为等量的葡萄糖和果糖结合而成,是植物体内碳水化合物运输的主要形式,也是光合作用的主要产物,有储藏、积累和运输糖分的作用。蔗糖在体内能被充分氧化分解产生 CO₂ 和 H₂O,并提供能量,是生物重要的碳源和能量提供者,同时蔗糖是生物细胞、蛋白质等的必需组成成分,因此它在生物的生长发育、代谢生理和繁殖等过程中发挥着重要的作用^[10]。葡萄糖易溶于水,是自然界中最为重要且分布最广的一种单糖,在植物的生长与干物质的积累方面具有积极作

用^[11],也是新陈代谢中间产物和活细胞的能量来源,植物可通过光合作用产生葡萄糖^[12]。果糖是葡萄糖的同分异构体,它能与葡萄糖结合生成蔗糖^[13]。

过氧化物酶(POD)是活性较高的一种酶,大量存在于植物体内,在植物生长发育过程中它的活性不断发生变化,参与呼吸作用和光合作用,同时与生长素代谢密切相关^[14]。我们前期证明了生长素是莲藕不定根形成的直接调控者,所以本试验在研究蔗糖、葡萄糖和果糖对莲藕实生苗不定根形成影响的基础上,进一步探讨了蔗糖处理对莲藕植株 POD 活性的影响,为进一步探究糖及激素调控莲藕不定根形成的机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为莲藕品种太空莲 36 号,由扬州大学园艺与植物保护学院提供。

试验仪器主要有离心机和酶标仪;试剂主要有过氧化物酶(peroxidase,POD)试剂盒。

1.2 糖对莲藕实生苗不定根形成的影响试验

将莲藕种子放置于 RXZ-300D 智能人工气候箱(浙江宁波东南仪器有限公司制造)中培养,白天温度设为 30℃,夜间温度设为 24℃,湿度设为 70%;待莲籽充分吸水(2 片子叶有裂缝)破壳后,选取长势相似的实生苗放置于塑料盒(长 22 cm×宽 15 cm×高 16 cm)中。该试验于 2017 年 10 月开展。利用不同浓度的蔗糖、葡萄糖和果糖(表 1)处理莲藕实生苗 3 d 后换清水培养,每个处理设置 3 个重复,每个重复 50 株实生苗,2 d 更换 1 次清水。

1.3 莲藕实生苗不定根数量的测定

待莲藕实生苗长出不定根之后,统计根长≥0.5 mm 的所有实生苗不定根数量,计算生根率:生根率=生根种子数/种子总数×100%。

收稿日期:2019-01-16

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(18)3066];江苏省和扬州大学“研究生培养创新工程”项目(编号:XJJCX18_070)。
作者简介:刘慧颖(1994—),女,江苏泰州人,硕士研究生,主要从事莲藕生长发育调控机制的研究。E-mail:2455583162@qq.com。
通信作者:程立宝,博士,副教授,主要从事蔬菜遗传育种与分子生物学。E-mail:lbcheng@yzu.edu.cn。

表 1 不同类型及浓度的糖处理

序号	处理	浓度
1	对照	清水
2	蔗糖	10、20、30、40、50 g/L
3	葡萄糖	10、20、30、40、50 g/L
4	果糖	10、20、30、40、50 g/L

1.4 POD 活性测定

采用过氧化物酶试剂盒测定样品中过氧化物酶的活性(苏州科铭生物技术有限公司提供)。按照提取液体积(mL):组织质量(g)为 10:1 的比例,在 1 mL 提取液中加入 0.1 g 混合样品的,进行冰浴匀浆,在 4℃下 10 000 g 离心机上离心 10 min,提取上清,放置冰上待测。测定步骤如下:

(1)将酶标仪或分光光度计预热 30 min 以上,调节波长至 470 nm,蒸馏水调零。

(2)将试剂一、试剂二、试剂三在测定前室温放置 10 min 以上,然后进行表 2 所示操作;在 96 孔板或微量石英比色皿中按顺序依次加入表 2 中试剂,并立即混匀计时,在 470 nm 下记录 30 s 和 90 s 的吸光度 D_1 、 D_2 。

表 2 样品测定

处理	体积(μL)
样本	10
蒸馏水	60
试剂一	120
试剂二	30
试剂三	30

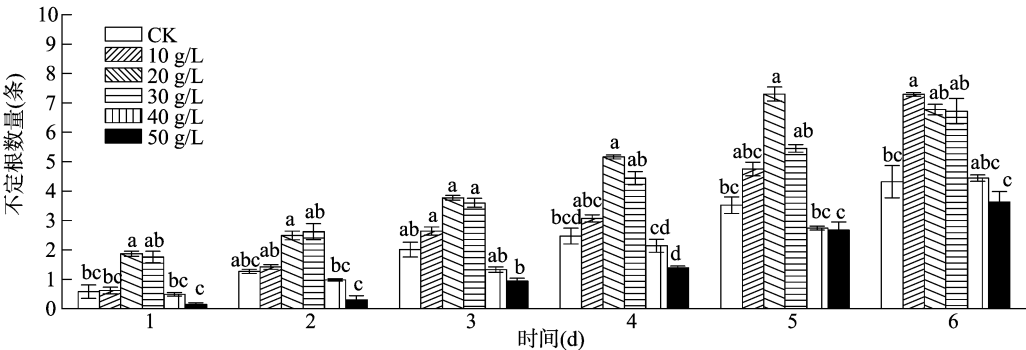


图1 不同浓度的蔗糖对莲藕实生苗不定根形成的影响

2.1.2 蔗糖对莲藕实生苗不定根生根率的影响 由表 3 可见,不同浓度的蔗糖对莲藕实生苗生根率的影响不同,与其他浓度的蔗糖处理和对照对比,10 g/L 蔗糖溶液处理后实生苗生根效果最好,在 6 d 时生根率已达 97%。20、30、40 g/L 蔗糖的处理,在 1~6 d 时不定根生根率也显著高于对照。50 g/L 蔗糖处理实生苗后,不定根生根率显著低于对照。上述结果表明,低浓度的蔗糖加速不定根的形成,而高浓度的蔗糖延缓了不定根的形成过程。

2.2 葡萄糖对莲藕实生苗不定根形成的影响

2.2.1 葡萄糖对莲藕实生苗不定根形成数量的影响 由图 2 可见,利用同浓度的葡萄糖处理莲藕实生苗,在处理后的 1~6 d,10 g/L 和 20 g/L 的处理与对照相比,不定根数量无明显变化,40 g/L 和 50 g/L 的葡萄糖显著抑制了莲藕不定根形成的数量。30 g/L 葡萄糖的处理在 1~4 d 时,与对照相比无

(3)POD 活性的计算。单位定义:在 1 mL 反应体系中 1 g 组织 1 min $D_{470\text{ nm}}$ 变化 0.005 为 1 个酶活力单位。

$$\text{POD}(\text{U/g}) = V_{\text{总}} \times \Delta D \div (V_{\text{样}} \times m \div V_{\text{提}}) \div 0.005 \div T = 4\,000 \times \Delta D \div m。$$

式中: $V_{\text{总}}$ 为反应体系总体积,mL; $V_{\text{样}}$ 为加入样本体积,mL; m 为样本质量; $V_{\text{提}}$ 为加入提取液体积,mL; T 为反应时间,min; $\Delta D = D_2 - D_1$ 。

1.5 数据分析

试验数据采用 SPSS 16.0 软件中 One - Way ANOVA、Excel 分析 Duncan's 法($P < 0.05$)进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 蔗糖对莲藕实生苗不定根形成的影响

2.1.1 不同浓度蔗糖处理对莲藕实生苗不定根数量的影响

利用不同浓度的蔗糖溶液(10、20、30、40、50 g/L)处理莲藕实生苗,结果(图 1)表明,低浓度的蔗糖处理在调查天数内显著增加实生苗不定根数量,其中 20 g/L 的蔗糖处理效果显著好于 10、30、40、50 g/L 的处理。研究发现在 1~6 d,20 g/L 和 30 g/L 的蔗糖处理莲藕实生苗后,不定根形成数量均显著高于清水对照,而 10 g/L 蔗糖处理在前期促进作用不明显,后期促进效果逐渐增强;40 g/L 蔗糖的处理在 1~6 d 内不定根形成的数量与对照相比无明显差异,而 50 g/L 的浓度显著抑制莲藕实生苗不定根的形成。以上结果表明,低浓度蔗糖促进莲藕实生苗不定根的发生,而高浓度的蔗糖起到抑制作用。

表 3 不同浓度蔗糖溶液处理后莲藕实生苗生根率的变化

蔗糖浓度(g/L)	生根率(%)					
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
CK	16bc	46ab	59ab	68ab	74a	76ab
10	18abc	60a	77a	81a	86a	97a
20	48a	64a	70a	81a	86a	87a
30	37ab	50ab	68ab	75ab	77a	82a
40	16bc	3bc	49b	59b	64ab	75ab
50	1c	8c	22c	31c	48b	54b

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下表同。

显著变化,在 5~6 d 时,不定根形成数量显著少于对照。综上所述,低浓度葡萄糖对莲藕实生苗不定根的发生无明显作用,而高浓度葡萄糖具有显著的抑制效果。

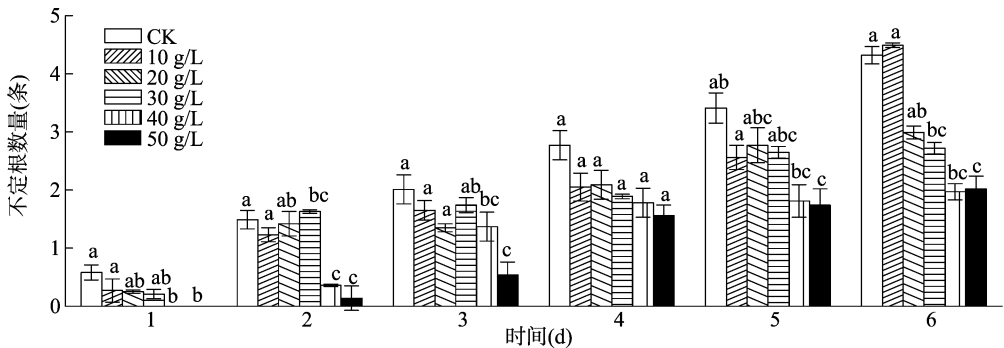


图2 不同浓度的葡萄糖对莲藕实生苗不定根形成的影响

2.2.2 不同浓度的葡萄糖对莲藕实生苗不定根生根率的影响 莲藕实生苗在不同浓度葡萄糖处理下,其生根率如表 4 所示,处理后 1~4 d,与对照相比,10、20、30、40 g/L 处理下的实生苗不定根发生率无明显变化,而浓度达到 50 g/L 时,不定根的发生明显变迟缓。处理后 5~6 d,除 5 d 时 50 g/L 处理外,各个处理和对照之间不定根发生率差异不显著。

表 4 葡萄糖对莲藕实生苗不定根生根率的影响

葡萄糖浓度 (g/L)	生根率(%)					
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
CK	23a	46a	59a	68a	74a	76a
10	21a	39a	54ab	60a	68ab	73a
20	20a	38a	52ab	68a	72a	75a
30	11a	42a	49ab	65a	69ab	72a
40	6a	23ab	52ab	54a	56ab	59a
50	0a	5b	25b	44a	48b	53a

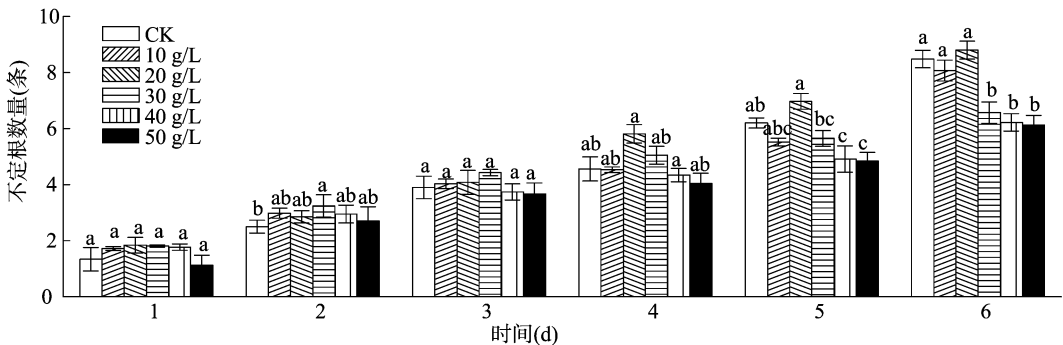


图3 果糖对莲藕实生苗不定根形成数量的影响

2.3 果糖对莲藕实生苗不定根形成的影响

2.3.1 果糖对莲藕实生苗不定根形成数量的影响 利用 10、20、30、40、50 g/L 的果糖处理莲藕实生苗,研究其对莲藕实生苗不定根形成数量的影响。结果(图 3)表明:在 1~6 d 时,10 g/L 和 20 g/L 的果糖对莲藕实生苗不定根的形成与对照相比无显著差异。30 g/L 和 40 g/L 的果糖在 1~4 d 时与对照相比变化不明显,在 5~6 d 时,不定根数量显著低于对照。50 g/L 果糖显著抑制了不定根的发生,在 1~6 d 时不定根数量明显低于对照。

2.3.2 果糖对莲藕实生苗不定根生根率的影响 莲藕实生苗在不同浓度果糖处理下生根率的变化如表 5 所示,10、20、30、40、50 g/L 的果糖处理后,生根率在 1~2 d 时均高于对照,在 3~6 d 时,不同浓度果糖溶液处理过的莲藕实生苗不定根生根率与对照相比均无明显变化。

表 5 不同浓度果糖溶液处理后莲藕实生苗生根率的变化

果糖浓度 (g/L)	生根率(%)					
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
CK	45ab	66a	81a	88a	93a	95a
10	65a	71a	79a	85a	84a	90a
20	58ab	75a	83a	87a	89a	93a
30	59ab	79a	84a	85a	86a	87a
40	53ab	75a	84a	86a	89a	92a
50	42b	74a	81a	87a	86a	92a

2.4 蔗糖对莲藕不定根 POD 活性的影响

由图 4 可知,不同浓度蔗糖处理的莲藕实生苗不定根 POD 活性在 0~8 d 均呈现先下降后上升再下降的趋势。0 d 时,30 g/L 蔗糖处理下的莲藕实生苗 POD 活性最高,与

20 g/L 和 40 g/L 处理的差异不显著,但均显著高于对照。在 2 d 时,所有浓度蔗糖处理的实生苗 POD 活性均高于对照组,且 40 g/L>30 g/L>20 g/L>50 g/L>10 g/L。处理后 8 d,10 g/L 和 20 g/L 的蔗糖处理显著高于对照及其他处理,其他浓度蔗糖处理之间差异不显著。

3 结论

本研究发现,20 g/L 蔗糖溶液能够显著提高莲藕实生苗不定根数量和生根率,而 50 g/L 蔗糖对不定根形成的数量和生根率起到显著的抑制作用。低浓度的葡萄糖对不定根形成无明显作用,而高浓度的葡萄糖和果糖显著抑制了不定根的发生;低浓度的果糖虽然对不定根数量没影响,但加速了不定根的发生时间。蔗糖处理后莲藕实生苗 POD 活性呈现先下降后上升再下降的趋势。

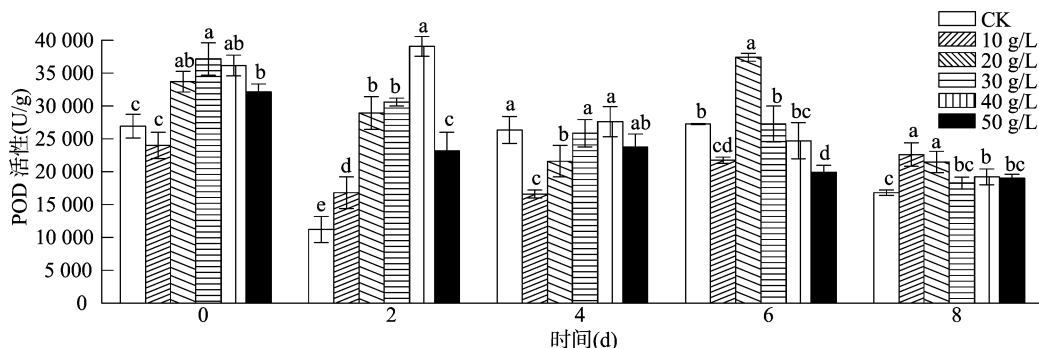


图4 蔗糖对莲藕实生苗不定根 POD 活性的影响

4 讨论

Takahashi 等已发现,蔗糖、葡萄糖和果糖可以明显促进拟南芥下胚轴不定根的发生^[15]。耿贝贝等研究表明低浓度蔗糖(1 g/L)可以诱导黄瓜不定根发生,而高浓度蔗糖(5 ~ 50 g/L)则不同程度抑制不定根的发生^[16]。本试验结果与之一致。胡江琴等报道高于 5 g/L 的蔗糖(20 ~ 120 g/L)对绿豆下胚轴不定根发生有不同程度的抑制作用^[17];但在丹参上观察到高浓度蔗糖(60 g/L)反而有利于不定根生长^[18]。黄韬等在对人参不定根培养的研究中发现 40 g/L 的蔗糖最有益于人参不定根的生长,当蔗糖浓度比较低时,不定根的生长状态较差,高浓度的蔗糖却对不定根的生长有一定的促进作用^[19]。本研究发现,低浓度蔗糖(10 ~ 30 g/L)可以诱导莲藕不定根形成,而高浓度蔗糖(40 ~ 50 g/L)则不同程度抑制了不定根的发生。葡萄糖和果糖在低浓度(10 ~ 30 g/L)无营养条件下对莲藕不定根的形成数量无明显影响,高浓度起抑制作用(40 ~ 50 g/L)。本试验结果与耿贝贝等人试验结果相似,与黄韬等人研究结果有出入,说明不同类型的糖对不同物种的作用可能不同。

POD 参与了植物生长发育的全过程,随着物种种类和生长发育阶段等不同,POD 活性会发生变化。韩晴在对槐种子发育过程的研究中发现,在花后 60 ~ 90 d,种子叶细胞过氧化物酶活性从低到高,然后又呈现降低的变化趋势^[20],本试验结果与之相似,我们利用蔗糖处理莲藕实生苗,发现在 0 ~ 8 d 内 POD 活性呈现先下降后上升再降低的规律,说明莲藕实生苗不定根 POD 活性可能与蔗糖浓度有关。研究表明生长素调控了莲藕不定根的形成^[21],而 POD 活性与生长素代谢密切相关,所以过氧化物酶可能通过影响莲藕实生苗中生长素含量,进而影响不定根的发生。

参考文献:

- [1] 杨蒙立. 乙烯和生长素调控莲藕实生苗不定根形成的机制[D]. 扬州:扬州大学,2016.
- [2] 张新忠,陈宗懋,赵梅勤,等. 超高效液相色谱-串联质谱法测定莲藕、莲叶、莲子、田泥与田水中 12 种农药残留[J]. 分析测试学报,2018,37(10):1221-1229.
- [3] 康书静,钱前,朱丽. 生长素对水稻根系生长发育调控的研究进展[J]. 中国稻米,2014,20(4):1-8.
- [4] 路志芳,袁超,郝贵增,等. 莲藕淀粉的特性研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(15):157-160.
- [5] 李慧敏,梁永书,南文斌,等. 糖调控植物根系生长发育的研究进

- 展[J]. 中国农学通报,2015,31(14):108-113.
- [6] Williams L E, Lemoine R, Sauer N. Sugar transporters in higher plants: adversity of roles and complex regulation[J]. Trends Plant Sci, 2000,5(7):283-290.
- [7] Coruzzi G, Bush D R. Nitrogen and carbon nutrient and metabolite signaling in plants[J]. Plant Physiol,2001,125:61-64.
- [8] Finkelstein R R, Gibson S I. ABA and sugar interactions regulating development: cross-talk or voice sina crowd? [J]. Curr Opin Plant Biol,2001,5:26-32.
- [9] 黄奕,支添添,任春梅. 不同糖对拟南芥种子萌发和 ssd1 突变体细胞死亡的影响[J]. 安徽农业科学,2016,44(23):93-95.
- [10] 蒋润枝,马翠亭,冯先楚,等. 激素和叶面剪除对莲藕实生苗不定根形成及 POD 活性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):142-146.
- [11] 郎冬梅,秦嗣军,朱紫檀,等. 外源葡萄糖对山定子生长及根系氮素代谢的影响[J]. 应用生态学报,2018,29(3):797-804.
- [12] 张硕,黄豫谦,张飞雄. 蔗糖对小麦根生长和形态学的影响[J]. 安徽农业科学,2012,40(35):16987-16988.
- [13] 王治. 糖对拟南芥幼苗初生根生长影响的研究[D]. 北京:中央民族大学,2011.
- [14] 孙姗姗. 水分胁迫下糖类浸种对玉米萌发及根际微生物的影响[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2016.
- [15] Takahashi F, Sato-Nara K, Kobayashi K, et al. Sugar-induced adventitious roots in *Arabidopsis* seedlings[J]. J Plant Res,2003,116:83-91.
- [16] 耿贝贝,郭强,师慈,等. 低浓度蔗糖对黄瓜下胚轴不定根发生有诱导作用[J]. 南京农业大学学报,2009,32(3):157-159.
- [17] 胡江琴,王利琳,庞基良,等. 绿豆下胚轴正反插条件下无机盐和蔗糖对下胚轴不定根发生的影响[J]. 植物生理学通讯,2002(3):228-230.
- [18] Teo Y H, Beyrouthy C A, Norman R J, et al. Nutrient up take relationship to root characteristics of rice[J]. Plant and Soil,1995,171(2):97-302.
- [19] Kwak K S, Iijima M, Yamauchi A, et al. Carbon and nitrogen dynamics with aging in seminal root system of rice seedling[J]. Crop Science,1995,64(3):629-635.
- [20] 韩晴,冯建岭,韩浩,等. 茄子过氧化物酶的特性研究[J]. 山东食品发酵,2014(2):7-12.
- [21] Cheng L B, Jiang R Z, Yang J J, et al. Transcriptome profiling reveals an IAA-regulated response to adventitious root formation in lotus seedling[J]. Zeitschrift für Naturforschung C,2018,73:229-240.