第1卷 第3～4期
1995年11月

植物营养与肥料学报
PLANT NUTRITION AND FERTILIZER SCIENCES

Vol.1 No.3～4
Nov. 1995

钛对离体黄瓜子叶几种生理指标的影响

张莉枝　李　枞　宋艳茹　　万春侯

（中国科学院植物研究所，100044）　（中国科学院能源研究所，100101）

摘　要

将黄瓜种子在(25±1)℃暗中或光下萌发，其子叶离体后，用不同浓度的螯合钛处理，结果表明：螯合钛对黄瓜子叶的扩张、叶绿素合成、类胡萝卜素的积累、核酸含量的增加有明显的促进作用，其中在光照条件下经螯合钛处理后的离体黄瓜子叶，其鲜重和核酸的增加比暗中明显，且光下比暗中螯合钛对DNA的合成影响更为显著。

关键词　螯合钛，叶绿素，类胡萝卜素，DNA，RNA

钛是一种过渡元素，在土壤中，一般以硅酸盐形式存在，植物很难利用。近一个世纪以来，钛对植物生长的作用一直受到人们的关注。早在1913年Tratta-Mosca用钛酸钾做实验，就发现其对植物生长有良好作用[17]；Nemec等[6,16]用水培进行试验发现钛对豌豆、苜蓿等的生长有促进作用。Young[12]认为适当浓度的钛对牛草生长有利；Baum [13]用玉米、黑麦、菜豆等进行试验，表明一定浓度的二氧化钛对它们的生长有促进作用，浓度过高则发生抑制作用。Gericke[15]发现硫酸钛和二氧化钛对大麦根系的生长有利；尤其是须根；Federow [14]观察到缺钛使甜菜生长不良。七十年代中期Pais等[10]开始利用螯合钛(Vc-Ti)溶液对果树、蔬菜、粮食和饲料作物以及观赏植物及药用植物等进行试验，表明在浓度适宜时，有增产和改善作物品质的效果。

近年来，利用螯合钛制剂(一种钛盐和羟基化合物反应形成的钛螯合物，含钛量4000μ g/mL)，进行田间试验表明，螯合钛可以调节植物的生长发育，加速作物对大量元素和微量元素的吸收，促进根系发达，增强光合作用和某些酶的活性，促进干物质的积累。

本研究采用不同浓度的螯合钛(不含N、P、K等大量元素及任何生物和化学激素)处理黄瓜子叶，测其鲜重、叶绿素、类胡萝卜素与核酸的含量，以探求螯合钛的增产机理。

一、材料与方法

（一）试验材料和处理

试验用黄瓜(*Cucumis Sativus* L.)品种为津研4号，种子经流水冲12小时，5%次氯酸钠消毒5～10分钟，无菌水冲洗至无次氯酸钠味为止，有序地摆在垫有四层滤纸加适量无菌水的培养皿中，置于(25±1)℃暗中或光照培养箱内，其间加水保持滤纸湿润，培养5天。在安全绿灯下切取5天苗龄的子叶(完全除去胚轴及胚)，分别用2、4、8μ g/mL的螯合钛处理(以不加激素并不含钛的MS培养基[9]为对照)。置于(25±1)℃光下(1600lx)或暗中培养一定时间[3]，进行各种指标的测定。

（二）分析测定方法

叶绿素的提取方法为DMSO[7]法，用557分光光度计在波长645nm，663nm测光吸收，根据Arnon公式进行计算。

类胡萝卜素的测定采用稍加修改的Longo等[8]的方法。暗中处理24小时的子叶用水漂洗，滤纸吸干后，在99.5%的丙酮中研磨(0℃)，玻璃漏斗过滤后定容[2]，用557分光光度计在波长450nm测定光密度，以其平均消光系数为E_{1cm} = 2500，计算类胡萝卜素含量。

核酸提取和测定方法根据修改的Tsui.C等[11]方法，以A260 10.D(光程1cm)等于31.7μ g/mL DNA或RNA计算。

二、结果与讨论

（一）螯合钛对子叶生长的作用

试验表明，不同浓度的螯合钛对离体黄瓜子叶的扩张影响不同，以2和4μ g/mL较为适宜，4μ g/mL的螯合钛效果显著。光下萌发的种子离体后，用不同浓度的螯合钛在暗中处理黄瓜子叶6～7天，发现40μ g/mL对子叶有药害，4μ g/mL 对子叶鲜重有明显效应。对照(20片子叶)处理后，每片由32.67mg增加到59.34mg，每片净增26.67mg；4μ g/mL处理的子叶每片则由34.40mg增至64.38mg，净增29.98mg，比对照增加了12.41%。暗中处理24小时，其鲜重超过对照9.20%；再照光40小时则超过对照14.98%。显然，钛对植物生长有一个最适浓度，浓度过高不仅对子叶扩张、叶绿素合成无益，甚至有害作用。

螯合钛对黄瓜子叶扩张的促进作用以在光下比暗中明显。如4μ g/mL螯合钛光下处理子叶，24小时鲜重增加16.2%，而暗中处理只增加8.2%(表1)。在暗中促进子叶扩张可能是由于螯合钛能加速植物细胞对水分、大量元素和微量元素的吸收，促进新物质的合成[1]；在光下促进子叶扩张则可能是螯合钛促进绿色组织进行光合作用，提高光能转换率。

总之，不论在光下还是暗中，2和4μ g/mL螯合钛均能促进黄瓜子叶扩张，鲜重增加，在光下处理比在暗中处理效果更显著。

表 1　螯合钛对离子体黄瓜子叶的重量的影响

Table 1　Effect of Ti-Chelator on the weight of cucumber cotyledons

处理 Treat.		50片叶子重(mg) Wt. of 50 cotyls.		每片子叶平均增重 Incr. wt. per cotyl. (mg)	增　重 Increas (%)
		处理前 Before treat.	处理后 After treat.		
暗中	CK (MS)	795±39.8	1046±36.6	5.0±0.15	-
	4μ g/mL	819±24.6	1100±44.0	5.6±0.22	8.2
	2μ g/mL	821±36.9	1093±54.7	5.5±0.30	4.6
光下	CK (MS)	797±47.8	1303±58.6	10.1±0.37	-
	4μ g/mL	834±33.4	1453±81.4	12.9±0.59	16.2
	2μ g/mL	856±17.1	1495±59.8	12.7±0.46	15.6

注：　为5次重复平均值。为了消除初重的差异，增重的百分比的计算为：
(处理增重／处理初重-对照增重／对照初重)／(对照增重／对照初重)

Note:　Average of 5 replications

（二）螯合钛对黄瓜子叶叶绿素、类胡萝卜素合成的作用

螯合钛均能不同程度地增加黄瓜子叶叶绿素的合成，且使叶绿素a的增加多于叶绿素b。暗

中萌发的黄瓜种子经螯合钛在暗中处理离体子叶24小时，再照光40小时，结果以4μ g/mL的钛使叶绿素含量增加最明显。对照组每克鲜黄瓜子叶的叶绿素a含量为0.643mg，叶绿素b为0.175 mg；4μ g/mL螯合钛处理后，叶绿素a的含量为0.854mg，叶绿素b的含量为0.21mg，总叶绿素增加30.56%（表3）。而在光下萌发的种子，在暗中处理离体子叶5～7天后，测得对照每克鲜黄瓜子叶叶绿素a的含量为0.61mg，叶绿素b的含量为0.18mg；4μ g/mL螯合钛处理后，叶绿素a的含量为0.76mg，叶绿素b的含量为0.22mg，叶绿素a高出对照24.59%，叶绿素b高出对照22.22%，总叶绿素高出24.50%。Fraetto-Mosco用钛酸钾试验测定烟草叶片的叶绿素合成发现叶绿素含量增加，这与我们的结论一致。林世青[3]等也证实钛能促进叶绿体膜的发育，增加PsⅡ电子受体库，提高PsⅡ光能转换效率，加快光合电子传递及ATP的合成，叶绿素a的增加比叶绿素b多。而叶绿素a是植物光合作用的反应中心，可见钛还可能通过提高叶绿素a的含量而提高光能转换率。绿色子叶离体后，置于暗中，螯合钛有助于维持较高叶绿素水平，有防衰保绿作用。用2和4μ g/mL的螯合钛处理黄化黄瓜子叶24小时，测定类胡萝卜素含量，结果表明4μ g/mL螯合钛使类胡萝卜素增加2.16%（对照1.255μ g/片，处理1.283μ g/片），而浓度为2μ g/mL的螯合钛对类胡萝卜素几乎无作用。类胡萝卜素虽不能直接参与植物光合作用的光反应过程，只起一种辅助作用，但它可以把所吸收的光能传递给叶绿素a，以促进光反应的进行，亦可保护受光激发的叶绿素，使它们避免受光氧化而破坏。可见，类胡萝卜素的增加最终也是有利于植物对光能的吸收和转化，从而有利光合作用，为作物的干物质积累和产量的提高奠定基础。表明，螯合钛在植物生理活动中一个重要的方面是促进光合作用。

表 2 不同浓度螯合钛对黄瓜子叶叶绿素含量的影响

Table 2 Effect of Ti-Chelator on the chlorophyll contents of excised cucumber cotyledons

处理 Treat.		叶绿素a Chl.a 含量 Conc. (mg/g FW)	叶绿素a Chl.a 增加 Incr. (%)	叶绿素b Chl.b 含量 Conc. (mg/g FW)	叶绿素b Chl.b 增加 Incr. (%)	总叶绿素量 Tolal (mg/g. FW)	总叶绿素增加 Increase (%)
暗中	CK (MS)	0.643±0.02	-	0.175±0.007	-	0.818±0.027	-
	2	0.844±0.04	31.84	0.191±0.004	9.14	1.035±0.044	26.53
	4	0.854±0.02	32.92	0.214±0.007	22.28	1.068±0.027	30.56
	8	0.772±0.03	20.06	0.196±0.011	12.00	0.968±0.041	18.34
光下	CK (MS)	0.610±0.03	-	0.180±0.006	-	0.790±0.036	
	4	0.760±0.03	24.59	0.22±0.009	22.22	0.980±0.039	24.50

注：为20片子叶三次重复平均值。 Average of 20 cotyledons with 3 replications

（三）螯合钛对黄瓜子叶核酸含量的影响

从表3结果可以看出，无论是光下还是在暗中，DNA与RNA的合成均受到螯合钛的促进，其中2μ g/mL比4μ g/mL的螯合钛对核酸含量增加的作用更显著。螯合钛在光下对DNA含量的促进作用比在暗中大。可见，螯合钛在光下DNA增加更有利于细胞进行旺盛的有丝分裂，使细胞数增加；而RNA的增加表明螯合钛可促进DNA的复制与转录，也一定会有利于RNA的翻译，而使蛋白质含量增加，进而促进机体旺盛的新陈代谢与生长发育。

表 3　螯合钛对离体黄瓜子叶核酸含量在光下或暗中的影响

Table 3　Effect of Ti-Chelator on nucleic acid contents of excised cucumber cotyledons in light or in dark

项目 Item		CK (MS)	4μ g/mL	2μ g/mL
暗中	RNA (mg/cotyl.)	41.81±10.88	269.40±7.00	75.21±10.46
	增加 Increase (%)		11.4	13.8
	DNA (mg/cotyl.)	6.69±0.11	7.09±0.30	7.15±0.38
	增加 Increase (%)		6.0	6.9
光下	RNA (mg/cotyl.)	256.31±13.33	293.15±7.02	297.97±13.71
	增加 Increase (%)		10.5	12.3
	DNA (mg/cotyl.)	6.82±0.34	8.04±0.29	8.10±0.16
	增加 Increase (%)		17.9	18.8

注：为50片子叶5次重复平均值。　Average of 50 cotyledons with 5 replications

参 考 文 献

[1] 王建平，1992：891植物促长素在小麦生育后期的应用效果。891植物促长素试验示范(一)，891植物促长素研究协作组，134～138页。

[2] 宋艳茹等，1981：细胞分裂素和钾离子对离体黄瓜子叶扩张和代谢变化的比较研究。植物生理学报，7(1)：67～72。

[3] 林世青，徐黎，1992：钛对小麦光合功能的影响。891植物促长素试验示范(一)，891植物促长素研究协作组，208～211。

[4] 陶国清、宋艳茹等，1980：细胞分裂素对黄瓜子叶张开及下坯轴倒钩伸直的影响。植物学报，22(1)：37～40页。

[5] Arnon, D. L, 1949: Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenol Oxidase in Beta Vulganuis Physiol., 24:1

[6] Haas, A. R. C. and Reed, H. S., 1927: Significance of races of lements not ordinarily added to culture solution for growth of young orange trees. Bot. Gaz. 83:77.

[7] Hiscox, T, D. and. Israelstam, G. F., 1979: A method for the extraction of chlorophyll from leaf tissys without maceration. Canadian Journal of Botany, 57: 1332～1334. Gaz, Chim. Ital. 43:437～440.

[8] Longo, G. P., Olgimati, M., Rossi, G., Valente, M., Longo, C. P., 1978: Effect of brief treatments with benzyladenine on growth and development of Waterinelon cotyledons. Plant, Cul and Enviroments. 1: 89～43.

[9] Murashige, T. and Skoog, F. 1962: A revised medium for rapiod growth and bioassays with tabacco tissue cultures. Physiol. Planta 15: 473～497.

[10] Pais, I. 1983: The Biological Importance of Titanium, J. Plant Nutr. 6: 3～131.

[11] Tsui, C., Tao G. Q., Chen H. Y. et al., 1980: Effect of Cytokinins on the Expansion and Metabolism of Excised Cucumber Cotyledons, Aust. J. plantphysiol. 7: 227～236.

[12] Yong, R., 1935: Certain rarer elements in soils and their role in plant growth. Cornell Agr. Exp. ta. Mem, 174.

[13] Baum, Th., 1939: Zur Wirkung von Titanverbindung auf Pflanzen. Dissertction T. H. Minchen. Zit. K. chrrer. Biochemie der Spurenelemente. Paul Parey in Berlin und Hambury. 1955.

[14] Fedorowa, Die wirkung der purenelemente auf die Entwichlung der Zuckerruben in Wasserkulturen Enenda. (1940).

[15] Gericke, S., 1940: Beitrag zur Wirkung des Titans auf das Wurzel wachstum der Gerst. Prakt. Blatter F. Pflanzenbau. U. Pflanzenschutz. 18.

[16] Nemec, A. und Kas V., 1923: tudien Uber die Physiologische Bedeutung Des Titansum Pflanzenorganismus, Biochem. J. 140:583.

[17] Traetta-Mosca, F., 1913: Titan und die seltenen Elenente Metalle in den Ascehen der Blatter des in Italien Kultivierten Kentuckytabaks, Gaz, Chim. Ital, 43:437~440.

EFFECT OF TI-CHELATOR ON THE EXPANSION, SYNTHESIS OF CHLOROPHYLLY AND CAROTENOID OF EXCISED CUCUMBER COTYLEDONS

Zhang Lizhi Li Cong Song Yanru

(Institute of Botany, Academia Sinica, 100044)

Wan Chunhou

(Iast. of Energy soure, Academia sinica, 100101)

Summary

Seed of cucumber (*cucumis sativus* L, Var. Jin Yan No.4) were germinated on filter paper saturated with distilled water at (25±1)℃ in dark or in light for five days. The excised cotyledons were in Ti-chelator solution. The fresh weight, contents of the carotenoid, chlorophyll, RNA and DNA of cotyledons were determined. The results showed that there were significant promotion in exhancing the expansion of cotyledons, the accumulation of carotenoid, the synthesis of chlorophyll, and increase of nucleic acid. The fresh weight and content of nucleic acid of excised cucumber cotyledons treated by Ti-chelator in light was greater than in dark. The effect of 2μ g/mL Ti-chelator on DNA, RNA contents was a little bigger than 4μ g/mL Ti-chelator, and the effect of Ti-chelator on DNA synthesis in light was great than in dark.

Key Words Ti-chelator, Chlorphyll, Carotenoid, DNA, RNA.