硼对棉花叶柄中无机营养、酚、酶活性和激素影响的研究*

王运华 周晓峰**

(华中农业大学微量元素研究室，430070)

摘 要

运用^{10}B径迹蚀刻，X—射线能谱测试技术、化学和生物学分析方法研究了硼对棉花叶柄的影响。结果表明：缺硼棉花叶柄中无机元素的运输、分布状况及元素间的平衡关系发生改变；6—磷酸葡萄糖脱氢酶、过氧化物酶活性提高；总酚、脱落酸、乙烯大量增加；生长素大量减少；导致叶柄组织功能衰退，物质运输受到严重影响。

关键词 硼，棉花叶柄，植物激素，酶

王运华等1975年在湖北省新洲县首次发现棉花缺硼产生“蕾而不花”症状，研究和推广应用硼肥的实践表明，在我国广大缺硼棉区，棉花施硼效益显著[1、2]。研究还发现缺硼棉花叶柄出现环带，环带叶柄率可用作棉花潜在性缺硼的诊断指标[3]。我们用扫描电镜观察发现，环带部位的维管形成层、木质部、韧皮部及髓部组织的结构发生异常变化[4]，对叶柄的运输功能产生严重影响。有报道指出，硼素营养状况对植物无机营养、酶活性、乙烯[5]、生长素[12]、酚类物质[11]等含量水平产生影响，激素与物质运输[9、13]、器官建成[10]等有关，过量的酚类物质对植物组织产生不良影响[5]。本实验采用土培试验，运用^{10}B径迹蚀刻技术、X—射线能谱技术，结合激素、酚和酶活性分析，研究缺硼对棉花叶柄中无机营养、酚、酶活性和激素的影响，探讨缺硼对棉花叶柄中物质运输的阻碍作用。

一、材料与方法

供试土壤为湖北省新洲县紫色砂岩发育的灰紫色土，基本农化性状：有机质0.26%，全氮0.04%，碱解氮23.10mg·kg^{-1}，速效磷2.05mg·kg^{-1}，速效钾46.17mg·kg^{-1}，速效硼0.081mg·kg^{-1}，pH（水提）8.25，$CaCO_3$1.81%。按每公斤土施入N0.20g，$P_2O_5$0.15g，K_2O0.20g，为保证营养平衡，每公斤土还施入$MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.25g和无硼阿农微量元素混合液1ml。试验用20×20cm米氏盆，内衬聚乙烯薄膜，每盆装土7公斤。供试棉花品种为鄂荆1号，每盆定苗1株。整个试验期间用二次去离子水浇灌，并设活动的玻璃钢瓦顶棚防雨水淋洗。

* 国家自然科学基金资助项目，华中农业大学兰威银副教授、徐珍秀高级工程师及中国农科院原子能研究所邓洪民研究员对本项研究给予了精心指导和大力支持，谨此致谢。

** 现在武汉市技术监督局工作

试验设两项处理：（1）缺硼（土壤本底含速效B 0.081mg·kg^{-1}）；（2）正常硼营养（以硼酸施B0.719mg·kg^{-1}，加上土壤含速效B 0.081mg·kg^{-1}，土壤中含速效B≈0.8 mg·kg^{-1}）。

取样时间以正常硼处理的生育期为准，两处理同时取样，并控制其叶位基本一致。取缺硼处理棉花叶柄的环带以上段和以下段及正常硼处理棉花叶柄对应的上、下段进行^{10}B径迹蚀刻测定和X—射线能谱分析；取缺硼叶柄的环带区和正常叶柄的中段测定过氧化物酶、6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性、总酚、生长素（IAA）、脱落酸（ABA）含量，以及乙烯（Eth）释放量。

过氧化物酶活性用愈创木酚法测定，6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性用欧阳光察介绍的比色法测定，乙烯照刘文燕的方法测定，IAA、ABA用酶联免疫法测定。

^{10}B径迹蚀刻测定：用锋利的刀片将新鲜样品切成所需的纵横段，再将其适度烘干，用油压机将其压成扁平的片状，经中子照射后再用化学蚀刻剂在70±2℃下蚀刻20分钟，然后在显微镜下随机取40个视野读α径迹数，用其平均值。

X—射线能谱测定：将新鲜材料制成徒手纵切片，用70%的乙醇固定10小时，再分别在25%和50%的二甲基亚砜中各浸泡1小时，放入－100℃铜柱孔内预冷10分钟后浸入液氮中冷却20分钟，再移入真空喷镀仪内，在10^{-5}E下喷碳，用JSM—35C型扫描电镜观察，并用EDAX—9100型X—射线能谱仪测定。

二、结果与讨论

（一）硼对棉花叶柄中无机元素运输、分布及平衡关系的影响

在花铃期，取样对棉花叶柄进行分段^{10}B径迹测定和X—能谱测定，结果分别列于表1，2。

表1 不同硼水平棉花叶柄不同部位α径迹数（单位：α径迹数/视野）

Table 1 Number of α-tracks of different parts of boron deficient and normal cotton Petiole (unit: mumber/field of vission)

处理 Treatments	上段 Top petiole	下段 Base petiole
－B	8.6±1.6	21.2±1.8
＋B	82.4±3.1	64.9±3.3

表1表明：缺硼棉花的α径迹数明显少于正常叶柄，缺硼叶柄的上段α径迹数明显较下段少，只为下段的40.6%，而正常叶柄上段α径迹数明显增多，为下段的128%，α径迹数与含硼量成正比。可见，缺硼叶柄中硼的运输受到阻碍。

表2表明：缺硼棉花叶柄筛管上、下段含Ca、S量相近，而正常叶柄筛管上段含Ca量较下段多，含S量较下段少；缺硼叶柄筛管与正常叶柄筛管相比，上段含Ca较少，含S、Cl较多，下段含Ca、S量相近，含Cl量较少。缺硼叶柄导管上段含Ca量较下段少，含S、Cl量较下段多，而正常叶柄导管上段含Ca量较下段多，含S、Cl量较下段少。缺硼叶柄导管与正常叶柄相比，上段含Ca、Cl、K量较少，含S量较多，下段含Ca量较多，含S、Cl、K量较少。缺硼叶柄髓部上段比下段含Ca量少，含S量多；而正常叶片上段比下段含Ca量多，含

表2　硼对棉花叶柄筛管、导管和髓部中Ca、S、Cl、K的分布和平衡关系的影响
（单位：原子数百分比）

Table 2　The content and distrbution of Ca, S, Cl and K in sieve tubes, vessels and pith of boron deficient and normal cotton petiole
(unit: Percentage of atom)

处理Treatments		筛管Sieve tubes			导管Vessels				髓部Pith			
		Ca	S	Cl	Ca	S	Cl	K	Ca	S	Cl	K
－B	上　段	50.81	48.93	0.26	32.80	64.83	2.04	0	39.10	60.90	0	0
	下　段	48.33	51.09	0.58	42.85	57.15	0	0	42.23	56.69	0.81	0.26
＋B	上　段	58.75	41.25	0	41.76	52.56	4.50	1.08	35.99	59.15	4.00	0.89
	下　段	49.27	48.89	1.84	11.71	75.50	9.01	3.78	7.78	84.09	8.13	0

S、Cl量少。缺硼叶柄髓部与正常叶柄相比，上段含Cl、K量较少，含S量较多，下段含Ca量较多，含S、Cl量较少。

综合表1和2可以看出，缺硼叶柄和正常叶柄相比，其上段含B、Ca量显著少于下段，而S、Cl量显著多于下段，至于K，仅在导管和髓部测出少量。表明硼的丰缺不仅对叶柄上下段的含B量，而且对Ca、S、Cl、K含量及各元素的平衡关系产生了较大影响。B、Ca之间表现为正相关，B多Ca也多，对棉花是有利的。因为B促进叶片同化产物的运输，B、Ca能维护细胞膜的完整性，促进生长素的运输，植物体内存在一定的Ca/B比，不仅为细胞壁的建成、也为B的其它生理功能所必需；Ca是细胞壁的结构成分，~对蛋白质的合成、多种酶活性和调节介质的生理均有重要作用，Ca作为细胞内功能第二信使，在与钙调素（CaM）结合后可调节细胞内多种重要酶的活性和细胞功能，其中重要的功能就是调节细胞的骨架[7]。虽然B、S之间表现为负相关，但我们并不认为缺B促进S在棉花叶柄中的运输，因为S在植物物内的主要功能是合成蛋白质所必需，由于缺B减少了棉花叶片中蛋白质的合成[6]，对S的同化利用减少，使S在叶柄上段积累。而正常的棉花叶片中蛋白质合成较多，对S的利用率较高，使S不致在叶柄上部积累。

（二）硼对棉花叶柄总酚含量和6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性的影响

表3　硼对棉花叶柄总酚含量的影响（微克/克鲜重）

Table 3　Effect of boron on total phenol of cotton petiole (Unit: μg/gfw)

处　理 Treatments	苗　期 Seedling stage	蕾　期 bud stage	花期 flower stage
－B	178.72	361.32	413.80
＋B	21.13	38.78	54.44

表3表明：缺硼处理棉花叶柄总酚含量大大高于正常叶柄，是正常叶柄总酚含量的7—9倍；缺硼叶柄总酚含量随着生育期的推移迅速而大量增加，而正常叶柄总酚含量始终保持低水平，增加很少。

在蕾期取样分析棉花叶柄6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性，结果表明：缺硼处理的棉花叶柄6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性显著高于正常叶柄，是正常叶柄的2倍多（表4）。

表4 硼对棉花叶柄6-磷酸葡萄糖脱氢酶活性的影响

Table 4 Relationship between boron and activity of glucose-6-Phosphate dehyrogenase of cotton petiole

处理 Treatments	酶活性 (△D340/gfw·min) Enzyme activity
- B	0.568
+ B	0.240

6—磷酸葡萄糖脱氢酶是磷酸戊糖途径中的关键酶，而磷酸戊糖途径是合成酚类化合物的前体物质[11]。本试验结果表明缺硼使棉花叶柄6—磷酸葡萄糖脱氢酶活性提高，导致酚类物质在叶柄中积累。据报道，酚类物质破坏细胞膜的结构，影响其渗透性，抑制植株对阴、阳离子的运输、同化[7]。酚类物质在筛管中央腔的碱性溶液中氧化成醌，不仅损坏筛管组织及细胞本身的结构，而且破坏韧皮蛋白质和丝状体的网[8]。由此可以认为，缺硼棉花叶柄由于酚类化合物大量积累，物质运输能力受到很大影响。

（三）硼对棉花过氧化物酶活性和激素含量的影响

1.硼对棉花叶柄过氧化物酶活性的影响：表5表明，缺硼处理的棉花无论哪个生育期，其叶柄过氧化物酶活性均显著高于正常叶柄，是正常叶柄的5—6倍，并且，随着生育时期的推移，缺硼处理叶柄酶活性的增加量也较正常处理大。

表5 硼对棉花叶柄过氧化物酶活性的影响（单位：△D470/0.1克鲜重·分）

Table 5 Relationship between boron and activity of peroxidase of cotton petiole (unit: △470/0.1 gfw, min)

处理 Treatments	苗期 Seedling stage	蕾期 bud stage	花期 flower stage
- B	5.620	5.900	7.400
+ B	0.976	1.040	1.360

过氧化物酶与植物细胞的衰老有关。该酶能氧化IAA，促进乙烯的生物合成[7]，随着植物组织衰老程度的加深，其活性逐渐增加[7]。过氧化物酶可与细胞膜紧密键合，或在Ca^{++}的存在下与细胞膜结合[7]，因此可能影响膜透性和无机离子的跨膜运输。缺硼叶柄由于过氧化物酶活性提高，组织衰老，功能衰退，物质运输能力减弱。

表6 硼对棉花叶柄ABA和IAA含量以及乙烯释放量的影响

Table 6 Effect of boron on content of ABA, IAA and ethylene evolution in cotton petiole

生育期 Growing period	处理 Treatments	ABA (P mol/gfw)	IAA (nmol/gfw)	Eth (nl/gfw.hr)
苗期	- B	16.92	26.13	—
	+ B	2.28	113.93	—
蕾期	- B	151.20	56.49	16.76
	+ B	5.52	164.05	5.10
花期	- B	73.56	65.32	—
	+ B	5.52	315.77	—

2.硼对棉花叶柄激素含量的影响：表6表明，缺硼处理棉花花期叶柄的乙烯释放量明显大于正常叶柄，是正常叶柄的3倍多。缺硼棉花各生育期叶柄ABA含量大大高于正常叶柄，是正常叶柄的7—27倍，而正常叶柄IAA含量大大高于缺硼叶柄，是缺硼叶柄的3—5倍。从表6还可看到，缺硼棉花叶柄ABA含量在蕾期达到最高峰。同样，缺硼棉花叶柄内酚类物质也以

蕾期积累最快（表3）。Scoff指出，棉花生殖生长为需硼高峰期，若这时缺硼，则对棉花产生很大生理影响[13]。我们认为上述现象的产生与棉花在蕾期对硼营养反应敏感相关连。

据研究，植物激素对光合作用产物的运输及离子的膜运输[9]有调控作用，IAA作用于筛管分子和其它细胞膜上的质子泵和K^+泵，促进H^+的分泌和H^+/K^+交换，从而促进蔗糖进入韧皮部并在其中运输，促进无机离子在细胞之间的跨膜运输，而ABA的作用则相反[14]。植物激素对组织的形成也有调控作用，生长素能诱导植物维管组织的分化，刺激形成层的活动，促进木质部和韧皮部的发生，而乙烯和脱落酸对木质部的发生有抑制作用[12]。

缺硼破坏棉花叶柄内的正常激素平衡，可能影响到叶柄内细胞膜的功能及输导组织的发生，从而影响叶柄中的物质运输。

参考文献

[1] 华中农学院黄冈分院土肥组等，1978：棉花蕾而不花与硼素营养（田间试验部分）。中国农业科学，3：61—64。

[2] 王运华等，1980：棉花蕾而不花与硼素营养（盆栽培试验部分）。中国科学院微量元素学术交流会汇刊，科学出版社，108—113页。

[3] 刘武定、皮美美、王运华，1983：棉花缺硼与叶柄环带。中国棉花，5：26—29

[4] 周晓峰、王运华，1993：硼对棉花叶柄解剖结构的影响。华中农业大学学报，12（2）：122—125

[5] 谢青，1989：华中农业大学硕士论文

[6] 吴礼树，1987：硼钾营养对棉株含氮化合物的影响。华中农业大学学报，6（4）：336—346

[7] 北京农业大学主编，1980：植物生理学。农业出版社，第105页。

[8] 韩锦峰、王瑞新、贾志旺译，1986：A. J.库尔萨诺夫著，植物体内同化物的运输。科学出版社，第247页。

[9] 俞冶国、赖寿强，1984：植物激素对离子膜运输的调节控制。植物生理学通讯，5：8—12.

[10] 崔澈，1983：植物激素与细胞分化及形态发生的关系。细胞生物学杂志，2：1—6

[11] Shkolnik, M. ya., 1984: Trace elements in Plants. Elsevier Science Publishers B. V., P. 69-109.

[12] Scoff, H. D., 1975: Effect of lime on boron transport to and uptake by cotton. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. Vol. 39 (6): 1116-1121.

[13] Thomas, T. H.,1986: Hormonal control of assimilate movement and compartmentation. In: Bopp, M. led., 1986. Plant growth Substances 1985. Springer-verlag Berlin Heidelberg, P353-354.

EFFECTS OF BORON ON SOME ELEMENTS, PHENOL, ENZYME ACTIVITY AND HORMONE IN COTTON PETIOLE

Wang Yunnua Znou Xiaofeng

(*Dept. of Soil and Agrochemistry, Hua Zhong Agri. University*, 430070)

Summary

Some results from determining the content of B, Ca, S, Cl, K, Phenol, IAA, ABA, ethylene and the activities of glacose -6-phosphate dehydrogenase and peroxidase of both deficient and normal cotton petiole with ^{10}B tracd etching, X-ray spetrum, chemical and biochemical analysis showed that, in boron deficient cotton petiole, the transportation of boron was blocked, the distribution of Ca, S, Cl and K in sieve tubes, vessels as well as pith cells was changed and the balance state among these elements was destroyed. The content of phenol, ABA, ethylene and the activites of peroxidase and glucose-6-phosphate dehydrogenase were significantly increased but IAA content was significantly decreased.

Key Words Boron, Cotton petiole, Plant hormone, Enzyme.