

油菜素内酯生理效应的研究进展

曹云英¹ 许锦彪² 赵 华¹

(1. 南通大学生命科学学院 江苏南通 226007; 2. 南通大学图书馆 江苏南通 226007)

摘要:收集了国内外有关油菜素内酯的文献报道和试验结果,综合阐述了该类物质的生理效应。重点介绍了它在植物组织培养上的作用及其应用效果,并提出今后研究的方向。

关键词 油菜素内酯 生理效应 植物组织培养

油菜素内酯(Brassinolide,简称BR),于1979年从油菜(*Brassica napus*)花粉中分离出来,是具有高活性的甾醇内酯类结晶物。以后又陆续从许多不同植物的不同器官中分离得到BR或其类似物,这些结构上相似的甾醇类物质统称为油菜素类固醇(Brassinosteroids,BRs)。研究表明,BR是植物正常生长和发育所必需的,目前已被公认为一类新型植物激素。

近年来研究发现,BR及BR类似物的生理功能十分广泛,主要包括细胞伸长与分裂、光合作用、维管分化、育性、逆境反应等方面。

1 促进细胞伸长和分裂

10 ng的BR处理幼苗第2节间,便可以引起该节间显著伸长弯曲,细胞分裂加快,节间膨大,甚至开裂。BR之所以能促使细胞分裂和伸长,是因为BR可使绿豆和斑豆的DNA、RNA聚合酶活性增加,故促进DNA、RNA和蛋白质的合成。BR还刺激质膜上ATP酶活性,使H⁺分泌到细胞壁,壁可塑性增加,促使细胞伸长。Hu等^[1]的研究表明油菜素内酯促进细胞分裂很可能是因为油菜素内酯激活了CycD₃转录因子,因为细胞分裂素正是通过该基因而促进细胞分裂的。在适宜的生长素和细胞分裂素条件下,矮牵牛离体叶片叶肉细胞原生质体再生的实验中,添加10~100 nM BR可加速培养最初12 h的细胞分裂,但对培养72~120 h后的细胞分裂几乎没有影响;添加1 μM BR能增加最初的细胞分裂,但却抑制后期的细胞分裂频率达20%;在生长素浓度稍适宜的条件下,10~100 nM BR不仅能加速最初的细胞分裂,而且能显著地增加培养

72~120 h后的细胞分裂频率^[2]。

外源添加nM到μM水平的BR,会引起双子叶植物的下胚轴、上胚轴、花梗显著伸长,单子叶植物的胚芽鞘、中胚轴也显著伸长^[3]。研究发现,BR促进细胞的扩展与伸长时伴随有质子的外出以及细胞膜超极化的发生,而这种现象被认为与细胞的扩展与极性生长有关^[4]。

2 提高光合作用的能力

BR可促进植物的光合作用,BR处理可引起花生可溶性糖含量的提高。玉米苗期喷施不同浓度的BR,在3~6 d内对光合速率产生明显的效应^[5]。大豆苗期喷施0.01 mg/LBR溶液,对叶片的光合作用及CO₂叶肉传导有所促进^[6]。表油菜素内酯(epi-BR)可促进黄瓜栅栏细胞变大,层数增加,淀粉粒积累增加,有利于养分的吸收和转运,增加CO₂同化及其同化物向库中的转运,提高K⁺吸收速率。这说明epi-BR能促进光合产物的运输,调节营养的分配,进而促进光合作用,促进生长^[7]。

另外,油菜素内酯可解除光对生长的抑制作用,特别是660 nm的红光,抑制绿豆上胚轴的生长,BR可解除这种抑制,从而促进生长。

总之,BR一方面能维持较高的叶绿素含量,提高叶片的净光合速率;另一方面还可促进光合产物的运输;维持较高的可溶性蛋白质含量;且可解除光对生长的抑制作用。从而提高光合速率,促进光合作用,促进生长。

3 促进导管的分化

BR在导管分化过程中起着重要的作用。用nM水平的外源BR处理菊芋外植体24 h后,导管分子分化速度提高,而一般导管分子分化时间需要72 h^[3]。Uniconazole是一种赤霉素和BR生物合成的抑制剂,它可阻止百日草叶肉细胞分化成导管,但添加BR可以恢复叶肉细胞分化导管这个进程,而施用赤霉素则不能恢复这个进程^[8]。

收稿日期:2006-05-08。

基金项目:南通大学校级一般项目(04 YL 11)。

作者简介:曹云英(1970-),女,讲师,硕士;主要从事植物组织培养方面的研究。

4 增强植物的抗逆性

BR 不仅影响植物的生长发育,而且也参与了植物的逆境反应。用 BR 处理逆境条件下的植物后,减缓了植物对多种逆境的反应。BR 可显著提高甘蓝型油菜和番茄的耐热性,且这种反应与 BR 诱导热激蛋白的表达有关^[9]。在水稻种子中应用 BRS 可减少在盐胁迫生长下的影响,防止光合色素的损失,增加硝酸还原活性^[10]。在研究渗透胁迫下的 3 个高粱品种的种子萌发和幼苗生长中,添加 28-高 BR 和 24-表 BR 均能有效增加萌发比例和促进幼苗生长,促进生长主要是 BRS 提高了可溶性蛋白和游离脯氨酸的含量,BRS 处理提高了过氧化氢酶活性和降低了过氧化酶活性及抗坏血酸氧化酶的活性^[11]。添加外源的 BR 可提高烟草和水稻的抗病能力^[11]。BR 还能提高其它的抗逆性,如抗除草剂^[13]等。

5 影响花粉发育与育性

BR 合成突变体与不敏感突变体表现为育性降低,表明 BR 可能与植株的育性有关^[14]。植物花粉中含有较多的内源 BR,花粉管的伸长已被证明与此有关,在 BR 合成突变体 cpd 中,雄性不育主要原因是由于花粉萌发过程中不能伸长所致^[15]。在拟南芥及芥菜中,外施 BR 可促进单倍体种子的形成以及发育为正常植株^[16]。这表明 BR 可影响植物的育性。

6 提高产量和品质

BR 具有提高光合效能(源)、增强“库”的活力,调节光合产物运转的“库源”关系,增加光合产物的积累。在草莓初花期用 0.05~0.2 mg/kg BR 水溶液处理叶面,使草莓平均单株产量比对照有极显著提高,增幅为 25%~50%。同时使果实的正品(一、二级果)率有所提高。果实的品质也明显优化,平均单果的可溶性固形物含量提高 1.5 度,香气增浓^[17]。0.1 mg/kg BR 处理西瓜,能增产 24%,其中着果率提高 9%,单瓜重增加 15%^[13]。初花期喷 24-eBR 能增加油菜结莢率,提高产量达 10%^[18]。提高许多农作物如水稻^[19]、大豆^[6]等的产量。

7 影响衰老进程

体外添加 BR 加速了叶片和子叶的衰老过程。同时过氧化物酶和脱氧歧化酶活性升高,过氧化物酶含量明显增加,说明 BR 可能通过调节氧化活性影响植物的衰老过程^[20]。在拟南芥 BR 突变体衰老延迟的表

型也表明 BR 有加速衰老进程的作用^[3]。

但用表油菜素内酯处理绿豆下胚轴切段却能够维持其细胞超微结构的完整性而延缓衰老过程,而对照下胚轴切段皮层细胞中的细胞器(如核、线粒体和内质网)在下胚轴离体 5 d 后解体消失^[21]。在水稻孕穗末期至始穗期施 0.01 mg/L 表油菜素内酯,可以显著提高水稻剑叶的叶绿素含量以及叶片的可溶性蛋白质,明显延缓叶片中总核苷酸和 RNA 降解的速率,延缓衰老^[19]。表油菜素内酯对大麦幼苗和整株叶片都有延缓衰老效应,能提高幼苗叶绿素的含量和降低电导率,减少 MDA 的积累;抽穗后期叶面喷施后,叶色明显变深,叶绿素含量增加^[22]。

8 在组织培养中的作用

BR 在组织培养上的作用主要表现在以下方面:

8.1 诱导愈伤组织形成和分化

在油菜下胚轴切段的培养中,发现在 MS 培养基中加入浓度为 10^{-5} ~ 10^{-1} mg/kg 的 BR,可促进油菜下胚轴愈伤组织形成;并且 BR 与其它激素配合使用可明显增加愈伤组织的分化^[23]。对本地旱桔和桃叶橙幼茎愈伤组织转化为胚状体的诱导效果明显优于 ABA,可提早 7~10 d 形成胚状体^[20]。

在棉花下胚轴培养中,多数品种存在诱导愈伤分化及胚性愈伤再生能力保持的难题。0.01 mg/kg BR 能使陆地棉 Coker 201,312 两品种分化产生胚性愈伤组织,并有效地保持该种愈伤组织的生活力和胚胎发生能力。0.01 mg/kg BR + 0.5 mg/kg IAA 促进 Coker 201,312 两品种体细胞胚胎发生,0.01 mg/kg BR + 0.05 mg/kg 2,4-D 能诱导所有供试品种产生疏松黄绿色愈伤组织,2,4-D 用量逐步降低或除去后,一些品种便分化产生胚性愈伤组织或体细胞胚状体^[24]。

在研究表油菜素内酯对拟南芥细胞体外分泌的影响的实验中,epi-BR 不仅能促进愈伤组织的增殖,而且能有效地诱导愈伤组织转绿,继而分化绿芽和长成小植株,其诱导频率高达 70% 以上。电镜观察表明,epi-BR 诱导的转绿细胞中的叶绿体发育正常^[25]。

何宇炯等^[26]研究了 epi-BR 对珍珠菜叶片愈组织诱导的影响,结果表明,MS 培养基中含有 epi-BR 后,愈伤组织的诱导频率明显提高,比不加任何激素的高 1~6 倍,如在该系统中加入 6-BA, epi-BR 不仅能显著提高愈伤组织的产生,而且能使愈伤组织中的蛋白组分发生明显的改变,这种协同效应强于 IAA 和 6-BA 的协同效应。

Lu 等^[27]研究 BR 在促进狐米草愈伤组织生长的

实验中,以 MS 为基本培养基,用 BR 辅以 IAA 和 6-BA,发现把 IAA 的浓度固定在 0.2 mg/L,6-BA 的浓度固定在 3.0 mg/L,较高浓度(0.03 mg/L)的 BR 处理较适合狐茅草愈伤组织生长及再生。

曹云英等^[28]研究 BR 对卷丹愈伤组织生长及分化的影响。结果表明,MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 培养基中添加不同浓度的 BR (0.001 ~ 1.0 mg/L)后,愈伤组织鲜重增加率、愈伤组织分化率均有显著提高,浓度为 0.01 mg/L 处理愈伤组织鲜重增加率最高,是对照的 249%;浓度为 0.1 mg/L 处理愈伤组织分化率最高,是对照的 441%。

8.2 促进苗的生长与再生

诱导培养基上附加 0.02 mg/L 表油菜素内酯(epi-BR)能使小麦绿苗分化率由 25.7% (对照)提高至 47.2%^[29]。表高油菜素内酯(epihomobrassinolide, BR-120)能增加满天星组培苗的节数,并缩短节间距,使苗健壮,最适浓度为 1.0 mg/L^[30]。在培养基中添加 24-表油菜素内酯 0.1 μ M 促进甜椒丛生芽的茎干延长^[31]。Lu 等^[27]研究发现,较低浓度(0.005 mg/L)的 BR 处理较适合狐茅草再生苗的生长。BR 可促进紫草色素的形成和生长^[32]。

8.3 抑制根的生长

BR 强烈抑制根的生长和发育。BR 和 IAA 在许多方面作用相似,关于两者协同作用的报道很多。但在根的伸长方面作用大不相同,IAA 促进根伸长而 BR 抑制根的伸长。由于乙烯对根的伸长起抑制作用,BR 能够促进乙烯合成进而抑制根的伸长^[33]。但有时低浓度的 BR (< nM)也能促进根的伸长与不定根的形成,有证据表明内源 BR 控制了侧根的启动^[34]。

8.4 促进生理生化指标的提高

表油菜素内酯处理油菜幼苗,可明显促进下胚轴伸长,增加子叶面积,同时降低蛋白质含量及子叶中可溶性糖含量,SDS-PAGE 检测蛋白结果表明,用 epi-BR 处理后,下胚轴和子叶中的蛋白组分均发生明显的改变^[35]。

朱广廉等^[36]用饲喂蛋白质和核酸合成的放射性前体 [³H] Phe、³H-尿嘧啶和 ³H-胸腺嘧啶,证实了 BR 能促进绿豆上胚轴的生长和蛋白质、RNA 及 DNA 的合成。用蛋白质和核酸合成制剂进一步探讨它们对上胚轴伸长的抑制作用与蛋白质、RNA、DNA 和 mRNA 合成之间的关系。证明了上胚轴的伸长依赖于蛋白质和核酸的合成,尤其是依赖于 mRNA 的合成。说明 BR 是在转录水平上的调节基因。

张华等^[37]研究了 BR 对培养的滇紫草细胞产生紫

草色素的影响。结果表明,在滇紫草细胞悬浮培养体系中加入最适浓度的 BR (10^{-5} μ g/ml)可以显著促进紫草色素的形成(增长 73.4%),并且在低浓度下 BR 可以轻微促进细胞生长,但 BR 并不能代替其它植物生长调节剂,如 IAA、NAA 和 BA。此外,BR 对植物次生代谢途径中相关酶——苯丙氨酸裂解酶(PAL)的活性表现出显著的影响。进一步研究发现,BR 可以显著提高 PHB-香叶基转移酶的活性,而同时显著降低 PHB-葡萄糖基转移酶的活性,推测 BR 促进紫草色素合成的一种机制可能是影响紫草色素合成中的重要酶类的酶活性,从而调节紫草色素合成的前体物质的供给和分流,最终促进紫草色素的合成^[38]。

综上所述,油菜素内酯对植物生理作用的影响是非常广泛的。现在油菜素内酯在生理和分子生物学手段结合后研究取得一定成绩,特别是运用突变体研究光形态建成,更好地阐明油菜素内酯的生理作用。同时随着油菜素内酯研究的深入,人们对激素间的相互作用以及激素与其它信号间的相互作用也将得到进一步的认识,进而为植物生长发育和对环境适应的研究做出更大贡献。但是,油菜素内酯的研究还不够深入,它在光调节中的作用的研究才刚刚起步,还有许多问题有待解决。比如油菜素内酯是如何参与光形态建成的,又是怎样作用于光调节基因而影响它们表达的,光信号又是如何作用于油菜素内酯而起到光调节作用的,油菜素内酯与细胞分裂素是否存在协同调控作用,又是如何来协同的。是由于油菜素内酯种类不同造成植物衰老影响的差异,还是由于植物种类不同而引起不同的反应,这均有待进一步的研究。

参考文献

- 1 Hu Yuxin, Fang Bao, Li Jiayang. Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD 3-induction pathway in Arabidopsis[J]. The Plant Journal, 2000, 24(5): 693 - 701.
- 2 Oh M-H, Clouse S D. Brassinolide affects the rate of cell division in isolated leaf protoplasts of *Petunia hybrida*[J]. Plant Cell Reports, 1998, 17: 921 - 924.
- 3 Clouse S D. and Zurek D M. Molecular analysis of brassinolide action in plant growth and development[A]. In: Brassinosteroids chemistry, bioactivity, and application[C]. Washington D. C: America Chemical Society, 1991, 122 - 140.
- 4 Cao H P, Chen S K. Brassinosteroid induced rice lamina joint initiation and its relation to indole 3-acetic acid and ethylene[J]. Plant Growth Regulation, 1995, 16: 189 - 196.
- 5 郝建军, 玄美淑, 何若韞等. 油菜素内酯对玉米幼苗光合速

- 率与呼吸效率的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 1990, 21(1): 43-47.
- 6 骆炳山. 油菜素内酯对大豆生长及结实性的影响[J]. 植物生理学通讯, 1986(2): 14-17.
 - 7 丁景新, 马国瑞, 黄素青等. 表油菜素内酯对黄瓜的生理效应[J]. 浙江农业大学学报, 1995, 21(6): 615-621.
 - 8 Iwaski T, Shibaoka H. Brassinosteroids act as regulators of tracheary-element differentiation in isolated *Zinnia mesophyll* cells [J]. *Plant Cell Physiol*, 1991(32): 1 007-1 014.
 - 9 Dhaubhadel S, Chaudhary S, Dobinson K F et al. Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings[J]. *Plant Mol Biol*, 1999, 40: 333-342.
 - 10 Anuradha S, Seeta Ram Rao S. Application of brassinosteroids to rice seeds (*Oryza sativa* L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity[J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 40: 29-32.
 - 11 Vardhini B V, Seeta Ram Rao S. Amelioration of osmotic stress by brassinosteroids on seed germination and seedling growth of three varieties of sorghum[J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 41: 25-31.
 - 12 Hideo Nakashita, Michiko Yasuda, Takako Nitta, et al. Brassinosteroid functions in a broad range of disease resistance in tobacco and rice[J]. *The Plant Journal*, 2003, 33: 887-898.
 - 13 陈其庚, 吴少华. 油菜素内酯(第六大类激素)的功用[J]. 福建果树, 1996(2): 27-29.
 - 14 Clouse S D, Sasse J M. Brassinosteroids: essential regulators of plant growth and development [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 427-451.
 - 15 Szekeres M, Nemeth K, Konec-Kalman Z, et al. Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP 90, a cytochrome P 450, controlling cell elongation and de-etiolation in *Arabidopsis* [J]. *Cell*, 1996(85): 171-182.
 - 16 Kitami Y. Induction of parthenogenetic haploid plants with brassinolide[J]. *Jpn J Genet*, 1994(69): 35-39.
 - 17 吴少华, 刘国锋. 油菜素内酯在草莓上的应用[J]. 科技通报, 1992, 2: 126.
 - 18 赵毓橘. 油菜素内酯的研究进展[J]. 植物学通报, 1995, 12(专辑): 30-34.
 - 19 翁晓燕, 蒋德安, 陆庆等. 表油菜素内酯对水稻产量和光合特性的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1995, 21(1): 51-54.
 - 20 Mandava N B. Plant growth-promoting brassinosteroids[J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1988, 39: 23-52.
 - 21 陈利萍, 汪炳良, 陈季楚等. 表油菜素内酯对绿豆下胚轴切段皮层细胞超微结构的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2001, 27(4): 451-453.
 - 22 郭本森. 表油菜素内酯对大麦叶片衰老的生理效应[J]. 植物学通报, 1996, 13(增刊): 55-57.
 - 23 蔡得田, 吕金桥, 祝虹等. 油菜素内酯促进油菜愈伤组织形成和分化的双重作用[J]. 华中农业大学学报, 1989, 8(1): 10-15.
 - 24 王武, 张献龙, 刘金兰. 油菜素内酯对陆地棉体细胞胚胎发生的影响[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(1): 15-18.
 - 25 陈季楚, 徐玛娣, 赵毓橘. 表油菜素内酯对拟南芥细胞分化的影响[J]. 植物生理学报, 1996, 22(4): 399-403.
 - 26 何宇炯, 黄丹枫. 表油菜素内酯对珍珠菜叶片愈伤组织诱导的影响[J]. 应用与环境生物学报, 1997, 3(2): 95-99.
 - 27 Lu Zhou, Huang Min, Ge Dong-Ping, et al. Effect of brassinolide on callus growth and regeneration in *Spartina patens* (Poaceae) [J]. *Plant Cell, Tissue and organ Culture*, 2003, 73: 87-89.
 - 28 曹云英, 许锦彪, 赵华. 油菜素内酯对卷丹愈伤组织生长及分化的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2005, 27(2): 172-174.
 - 29 秦跟基, 杨琴. 表油菜素内酯对小麦花药培养效率的影响[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(4): 9-12.
 - 30 李启任, 王小柱. 表高油菜素内酯在满天星组培中的应用[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1999, 21(5): 413-415.
 - 31 Martine Franck-Duchenne, Yuwen Wang, Sofia Ben Tahar, et al. In vitro stem elongation of sweet pepper in media containing 24-epi-brassinolide[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, 53: 79-84.
 - 32 Yang Y-H, Zhang H and Cao R-Q. Effect of Brassinolide on growth and shikonin formation in cultured *Onosma paniculatum* cells[J]. *Plant Growth Regulation*, 1999, 18: 89-92.
 - 33 Roddick JG, Guan M. Brassinosteroids and root development [A]. In: Brassinosteroids. Chemistry, bioactivity and applications [C]. Cutler HG, Tolota T, Adam G., American Chemical Society, Washington, DC, 1991, 231-245.
 - 34 Clouse S D, Hall A F, Langford M, et al. Physiological and molecular effects of brassinosteroids on *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Growth Regulation*, 1993, 12: 61-66.
 - 35 何宇炯, 徐如涓. 表油菜素内酯对油菜幼苗生长及其可溶性糖和蛋白质含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 1995, 31(1): 37-39.
 - 36 朱广廉, 张建国. 油菜素内酯促进绿豆上胚轴伸长与蛋白质和核酸合成的关系[J]. 植物学报, 1994, 36(8): 607-613.
 - 37 张华, 向阳海, 杨永华. 油菜素内酯促进滇紫草细胞产生紫草色素初探. 南京大学学报(自然科学版), 1999, 35(2): 151-155.
 - 38 Yang Yong-Hua, Huang Jie, Ding Jian. Interaction between exogenous brassinolide, IAA and BAP in secondary metabolism of cultured *Onosma paniculatum* cells [J]. *Plant Growth Regulation*, 2003, 39(3): 253-262.