

蓝花丹叶片不定根的诱导与光质对其白花丹素积累影响

朱原¹, 高素萍^{1,2*}, 罗良旭¹, 胡菊¹, 雷霆², 付晓凤³

(1. 四川农业大学风景园林学院, 成都 611130;

2. 四川农业大学园林研究所, 成都 611130; 3. 广西大学林学院, 南宁 530004)

摘要:【目的】探索一种由叶片直接诱导不定根的方法,并试图回答光质是否能促进蓝花丹不定根中白花丹素积累。【方法】首先以无菌叶片为组培外植体,采用 NAA 和 KT 激素组合直接诱导出不定根,在此基础上,用不同的光质(红光、蓝光、不同比例的红蓝复合光)处理不定根,测定其干物质及白花丹素积累量。【结果】结果表明:①所有添加 NAA 处理均能直接诱导叶片产生不定根,未添加 NAA 处理生根率为零。NAA 中添加 KT 会延迟不定根发生的时点,但能产生更多的不定根;②单蓝光抑制蓝花丹叶片不定根干物质的积累,单红光则没有显著影响,复合作用后,红蓝光 3:1 与 1:1 时呈现出促进作用,随着蓝光比例的增加又显现为抑制作用;③单蓝光、红蓝光 1:3、1:1 的促进不定根中白花丹素的积累作用最强,红光比例超过蓝光时则不利白花丹素的积累,单红光也有同样的不利作用。所有处理的白花丹素含量均呈现先增后减的趋势,第 30 天时的含量最高。【结论】在蓝花丹叶片诱导不定根发生过程中 NAA 是主导激素,KT 与 NAA 交互作用能一定程度上提高不定根产量,故以 NAA 0.5 mg/L+KT 0.1 mg/L 诱导蓝花丹叶片不定根发生的效果最佳。光质对蓝花丹不定根中次生代谢产物积累以及生长发育有着显著影响,且红、蓝光对它们的作用呈现相反的作用。红、蓝光 1:1 的光质对不定根连续处理 30 d 可得到单位时间含量较高的白花丹素。

关键词:蓝花丹;白花丹素;不定根;光质;外源激素

中图分类号:Q945.79 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-2650(2018)03-0337-07

Adventitious Roots Induction from Leaves Explants *in vitro* and Effect of Light Quality on Its Plumbagin Accumulation in *Plumbago auriculata* Lam.

ZHU Yuan¹, GAO Su-ping^{1,2*}, LUO Liang-xu¹, HU Ju¹, LEI Ting², FU Xiao-feng³

(1. College of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

2. Garden Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China;

3. Forestry College, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract:【Objective】The aim of this study was to explore a method of direct induction of adventitious roots from leaves and to answer whether the light quality could promote the accumulation of plumbagin in adventitious roots of *P. auriculata*. 【Method】The adventitious roots were induced by NAA or/and KT from leaves explants *in vitro* and they were cultivated under with different light quality (red or/and blue). Dry mass and plumbagin were measured. 【Results】① Leaves explants could directly induce adventitious roots among all treatments supplied with NAA but the rooting rate of explants was zero without NAA. ② Single blue light inhibited the accumulation of dry matter of adventitious roots. However, no significant effect was found in single red light treatment. Both red-blue light with ratio of 3:1 and 1:1 showed promoting

收稿日期:2017-09-13

基金项目:四川省应用基础研究项目(17YYJC0121);四川省科技计划项目(2017NZ0008)。

作者简介:朱原,硕士研究生。*责任作者:高素萍,博士,教授,主要从事园林植物研究,E-mail:gao_suping@sicau.edu.cn。

effect. The inhibition effect seemed to increase with increasing blue light ratio. ③ Single blue light, red-blue light with ratio of 1:3 and 1:1 had stronger promotion effect than other light quality in the accumulation of plumbagin. However, there were negative effects when red light ratio exceeded blue light ratio. Single red light also had similar adverse effects. The content of plumbagin tended to increase first and then decrease in all treatments, with maximum value appearing on 30 days. 【Conclusion】 In addition, NAA was the dominant hormone during the process of adventitious root induction. The interaction between KT and NAA could, to some extent, increase the yield of adventitious root. The combine of 0.5 mg/L NAA and 0.1 mg/L KT achieve was the best to induce adventitious roots from leaves. The light quality had a significant effect on the accumulation of secondary metabolites and the growth and development in adventitious roots. However, red light had an opposite effect compared with blue light. Red-blue light with 1:1 ratio on 30 days obtained highest content of plumbagin in adventitious roots.

Key words: *Plumbago auriculata*; plumbagin; adventitious root; light quality; phytohormone

蓝花丹(*Plumbago auriculata* Lam.)作为一种原产南非的新型木本花卉,已被许多国家引进并广泛认可。除具备优秀的观赏价值外,其次生代谢产物白花丹素的药用价值也尤为突出。白花丹素在白花丹科(Plumbaginaceae)植物的根部分布最为广泛,如蓝花丹、白花丹(*Plumbago zeylanica* Linn.),故而得名^[1]。根器官是用于获取白花丹素的最佳药源。目前,蓝花丹获得根的方法仍是全株挖取,虽然组培苗繁殖系数比播种苗高,但通常组培生根要经历“外植体-单芽-丛芽生根”的过程,培养周期较长^[2]。本研究试图寻求一种由叶片直接繁殖不定根的新方法,不仅具备了组织培养的优点,更明显的优点是不经过单芽、丛芽诱导过程,大大缩短了培养周期。

白花丹素(plumbagin, 5-hydroxy-2-methy-1,4-naphthoquinone, 5-羟基-2-甲基-1,4-萘醌)为萘醌衍生物,是蓝花丹的一种次生代谢产物。常规条件下植物次生代谢产物的积累是有限的,如何增加目标产物的单位含量仍然是当今研究热点和难题。次生代谢产物是植物应对逆境压力发生生物化学反应所形成的产物。已有研究表明,光质除影响植物的光合作用及生长发育外,还影响着植物的次生代谢过程^[3]。那么,光质的胁迫是否能促进白花丹素含量增加,目前国内外还未见文献报道。因此,本研究的首要工作是探究用叶片直接诱导不定根的方法,成功获得根后,再探究不同光质及其配比对不定根中白花丹素积累影响,寻求最佳光质配比,以期对白花丹素的生物药源获取提供新的途径和方法。

1 材料和方法

1.1 试验材料及培养环境

试验材料为蓝花丹无菌叶片,取自已建蓝花丹组织培养快繁体系的无菌苗^[6]。剪取大小基本相同,继代次数一致的同批次叶片为外植体,以含蔗糖 30 g/L、琼脂 5 g/L 的 MS 培养基为基础培养基, pH=5.8±0.1, 置入 121 °C 高压灭菌持续 17 min。培养温度(25±2) °C, 光周期 12 h, 光照强度 2 000 lux。每瓶接种 3 个外植体。

1.2 蓝花丹叶片直接诱导不定根方法

在 MS 基础培养基中添加 0、0.5、1.0、1.5 mg/L 的 NAA 和 0、0.1、0.2、0.3 mg/L KT, 进行 2 因素 4 水平的完全随机试验(见表 1), 重复 3 次。持续培养 30 d 后, 每处理随机选 5 个外植体, 洗净、吸除表面水分后, 测量有效根数、有效根长、有效生根率(根长 ≥ 3 cm)。称取外植体鲜重后, 置入 60 °C 烘箱持续

表 1 蓝花丹叶片直接诱导不定根的激素设计

Table 1 Design of hormones inducing leaves explants to produce adventitious roots mg·L⁻¹

处理 Treatment	NAA	KT	处理 Treatment	NAA	KT
1(CK)	0.0	0.0	9	1.0	0.0
2	0.0	0.1	10	1.0	0.1
3	0.0	0.2	11	1.0	0.2
4	0.0	0.3	12	1.0	0.3
5	0.5	0.0	13	1.5	0.0
6	0.5	0.1	14	1.5	0.1
7	0.5	0.2	15	1.5	0.2
8	0.5	0.3	16	1.5	0.3

48 h 至恒重并称取干重。上述指标皆取均值。根据上述结果,筛选出叶片直接诱导不定根的最佳激素及配比。

1.3 不同光质及配比处理叶片不定根试验

为避免外源激素可能对结果造成的影响和误差,根据 1.2 的结果选择最佳激素配比处理后的生根材料为外植体,先于 MS 基础培养基中培养 7 d 以释放其体内激素,而后试验均在 MS 基础培养基中进行。切取生长均匀一致的叶片不定根,在不同光质条件下持续培养 50 d,共 6 个处理(见表 2),每处理 5 次重复。以 LED 为光源,选用飞利浦 Green Power LED 专用组培灯,外层用遮光材料覆盖和遮蔽。每 10 d 取一次样,测得样品鲜重后,放入 80 °C 烘箱干燥至恒重后称取干重。烘干后的不定根辅以液氮研磨成粉供后续白花丹素含量测定使用。

表 2 处理叶片不定根的不同光质及配比

Table 2 Design of different light quality combination for cultivating adventitious roots

标号 Mark number	处理 Treatment	峰值波长 The peak wavelength/nm	波长半径 Radius of the wavelength/nm
CK	白光	330~770	—
R	红光	660	20
B	蓝光	460	20
R:B= 1:1	红/蓝光 1:1	660/460	20
R:B= 3:1	红/蓝光 3:1	660/460	20
R:B= 1:3	红/蓝光 1:3	660/460	20

注:CK 表示该处理为白光对照,R 为红光处理,B 为蓝光处理,R:B 为红蓝复合光处理。

Note:CK=white light control check,R=red light treatment,B=blue light treatment,R:B=red and blue composite light.

1.4 HPLC 法分析叶片不定根中白花丹素含量

目前尚无 HPLC 检测蓝花丹中白花丹素的具体条件,故参考已发表同属植物白花丹^[4]的白花丹素测定方法,针对蓝花丹不定根材料的特点,对样品液和色谱条件加以调整,形成如下测定方法。

1.4.1 仪器与色谱条件

仪器平台为安捷伦 HPLC-1260 Infinity 二元液相色谱系统。优化的色谱条件为:Diamonsil C18,5 μm,4.6 mm×150 mm 色谱柱;流动相乙腈:超纯水(37:63);洗脱时间 30 min;流速 1.0 mL/min;进样量 20 μL;柱温 40 °C;检测波长 203 nm;灵敏度 0.16 AUFS。

1.4.2 标准品储备液制备及标准曲线绘制

白花丹素进口标准品(CAS:481-42-5, HPLC ≥ 98%)购自上海源叶生物科技有限公司。图 1 为标准品的色谱图,白花丹素的出峰时间在 21.176 min 附近。精确称取白花丹素标准品 25 mg,甲醇溶解并定容到 25 mL,配制成质量浓度为 1 mg/mL 的标准品储备液。取上述储备液 1 mL,再用甲醇定容稀释至 50 mL,在上述选定的色谱条件下分别进样 2.5、5、7.5、10、12.5、15 μL。以白花丹素浓度为横坐标,测得峰面积为纵坐标,绘制标准曲线(如图 2 所示),得白花丹素的线性回归方程为 $Y=150.3X-126.3$, $R^2=0.9999$ ($n=6$)。

1.4.3 样品液制备及白花丹素含量测定

将制得的不定根粉末过粗筛,准确称重后加 25 mL 甲醇,超声波 10 min 助溶,然后于 70 °C 回流提取 1 h,放冷至室温后补足失重,用 0.45 μm 微孔滤膜过滤,制得样品溶液用于 HPLC 分析,以外标法计算白花丹素含量。

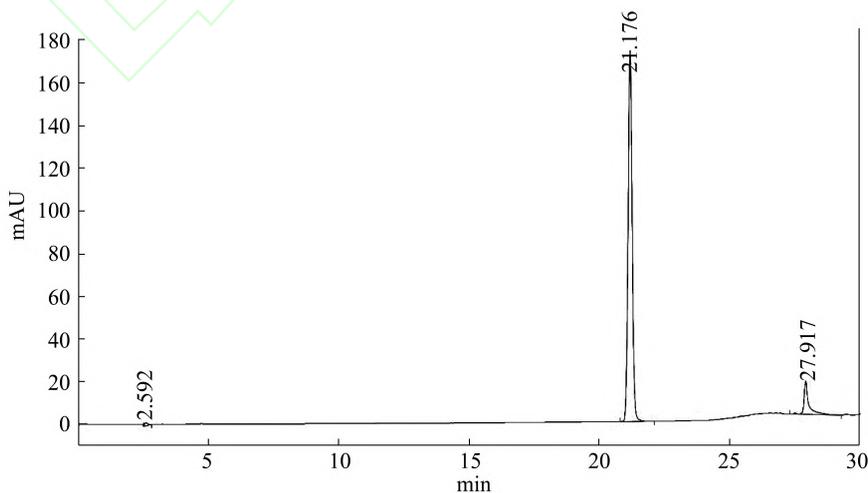


图 1 白花丹素标准品色谱图

Figure 1 Standard chromatogram of HPLC plumbagin

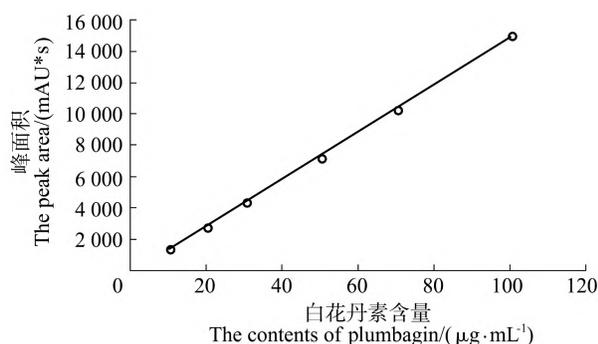


图 2 白花丹素标准品曲线

Figure 2 Standard curve of HPLC plumbagin

1.5 统计分析

计算各重复各指标数据的平均值和标准差,并进行方差分析、多重比较及差异显著性检验。数据计算和绘制图表工作借助 SPSS 和 Excel 软件完成。

2 结果与分析

2.1 蓝花丹叶片不定根的诱导

本实验观察到,蓝花丹叶片不定根的形成有两种诱导途径。一是从叶片切口处直接发生不定根,二是先形成愈伤组织再从其上长出不定根。由表 3 和表 4 可知,不添加 NAA 的处理,未能诱导叶片产生不定根,也无愈伤组织形成随着时间推移,叶片

开始大量发黄、后成褐色直至死亡。5 号配方 0.5 mg/L NAA+0 mg/L KT 的处理,最早开始生根,发生在第 8 天,其次是 6 号配方 0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT 处理,在第 9 天,其他处理在第 11~14 天间开始产生不定根。

表 3 不同处理对开始生根时间的影响

Table 3 The first rooted day of different treatments from leaves explants

处理 Treatment	时间 Time	处理 Treatment	时间 Time
1~4	—	11	11
5	8	12	11
6	9	13	14
7	11	14	14
8	12	15	13
9	14	16	14
10	13		

注:“—”表示处理 1~4 号培养期间均未生根。

Note: “—” means that leaves explants failed to product adventitious roots in treatment 1 to 4.

由表 4 可知,在添加有 NAA 的处理中,有效生根率和平均有效根长随激素浓度的增加大致呈现先升后降的规律。5 号和 6 号处理有效生根率最高,可达(100.00±0.00)%。6 号和 10 号处理(1.0 mg/L NAA+

表 4 不同处理对蓝花丹叶片不定根生成的影响

Table 4 The formation of adventitious roots from leaves explants under different hormone environment

处理号 Number of treatment	有效生根率 Effective rooting rate/%	愈伤诱导率 Callus induction rate/%	有效根长 Effective rooting length/cm	有效根数 Effective rooting number	不定根干鲜比 DW/FW
5	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	5.51±0.70 ^{bc}	21.67±4.15 ^c	0.14±0.015 ^{bc}
6	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	6.42±0.95 ^{ab}	48.00±5.67 ^a	0.17±0.010 ^a
7	97.78±3.85 ^a	100.00±0.00 ^a	5.44±0.89 ^{bc}	38.00±5.29 ^b	0.14±0.007 ^{bc}
8	95.56±3.85 ^a	100.00±0.00 ^a	5.34±1.15 ^{bc}	33.00±4.00 ^b	0.13±0.017 ^{cd}
9	68.89±3.84 ^{bc}	100.00±0.00 ^a	4.32±0.75 ^b	18.67±5.68 ^c	0.14±0.015 ^{bc}
10	97.78±3.85 ^a	100.00±0.00 ^a	7.84±1.03 ^a	40.67±2.08 ^b	0.16±0.017 ^{ab}
11	75.56±10.18 ^b	100.00±0.00 ^a	4.07±0.26 ^{cd}	13.00±4.58 ^{cd}	0.13±0.010 ^{cd}
12	55.56±10.18 ^c	100.00±0.00 ^a	3.79±0.43 ^{cd}	6.67±4.04 ^{de}	0.11±0.017 ^c
13	42.22±6.88 ^d	100.00±0.00 ^a	2.32±2.01 ^{de}	4.67±2.52 ^{de}	0.11±0.012 ^{de}
14	13.33±3.34 ^e	100.00±0.00 ^a	1.01±1.74 ^f	1.33±1.53 ^e	0.11±0.015 ^e
15	0.00±0.00 ^e	100.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.09±0.015 ^e
16	0.00±0.00 ^e	100.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^f	0.00±0.00 ^e	0.09±0.010 ^e

注:处理 1~4 中前 4 个指标无法测得,干鲜比测定无意义,故未列出。表中数据代表平均值±标准差,不同小写字母表示显著差异(P<0.05),下同。

Note: Front four indicators could not measure in the table for treatment 1 to 4, and the follow-up statistics is meaningless. Data is shown by mean values and standard errors in this table, and different lowercase letters mean significant difference at 0.05 levels, the same as below.

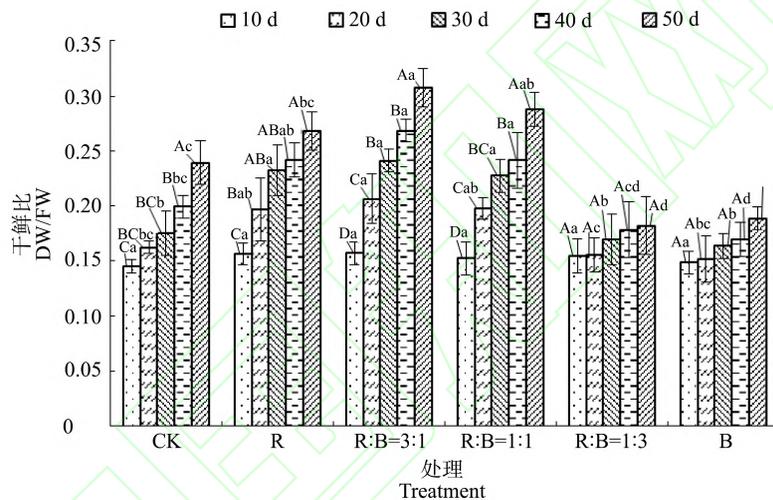
0.1 mg/L KT)的平均有效根长最长,分别为(6.42±0.95) cm、(7.84±1.03) cm,显著高于其他处理,且根系长势良好。不定根生物量积累(干鲜比)与不定根的形态变化有相似趋势,随着处理激素浓度的增加,干鲜比先增后减,在6号和10号处理中达峰值,分别为0.17±0.010和0.16±0.017,两者间差异不显著。

综合权衡各指标,本实验认为选择MS+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT培养基配方,在温度(25±2) °C,光周期12 h,光照强度2 000 lux环境下,能成功诱导蓝花丹叶片直接发生不定根。

2.2 不同光质对叶片不定根干物质积累的影响

由图3可知,培养50 d后,在单红光(R)处理下,干鲜比与白光对照处理(即CK)差异不显著。红蓝

复合光处理中,蓝光占比为25%和50%时(即R:B=3:1和R:B=1:1),相比对照表现出有利于不定根的物质积累,随着处理时间的延长干鲜比逐渐增加,差异拉大且显著;蓝光占比为75%时(即R:B=1:3),不定根干鲜比逐渐下降,且显著低于前两个处理,甚至在培养的后期(如40 d和50 d)显著低于对照处理。单蓝光(B)处理时,不定根干鲜比亦显著低于对照,且与红蓝复合蓝光占比为75%处理时相同,其不定根干物质积累随着培养时间的延长并未表现出明显的增长。结果表明,单蓝光抑制蓝花丹叶片不定根干物质的积累,单红光对其没有显著影响,而两种光复合作用后,蓝光占比25%和50%时对干物质积累呈现促进作用,而随后蓝光比例的增加逐步显现出抑制作用。



图中所有数据为平均值±标准差(Mean±SD;n=5),大写字母表示同一光质不同时间处理组间的差异显著(P<0.05),小写字母表示不同光质处理组间的差异显著(P<0.05)。

In this figure, all data are mean with standard deviation (Mean±SD;n=5),the capital letters meant significant differences in the different time-treatment row of same light quality (P<0.05). The small letters meant significant differences in the different treatment row of light qualities(P<0.05).

图3 不同光质对蓝花丹叶片不定根干鲜比的影响

Figure 3 Effects of different light qualities on the DW/FW in adventitious root of *P. auriculata*

2.3 不同光质对叶片不定根中白花丹素含量的影响

由表5可知,与对照相比,单蓝光(B)以及红光占比25%和50%(即R:B=1:3,R:B=1:1)的红蓝复合光处理相同天数时,不定根中白花丹素的含量明显更高,但处理之间无显著差异;红光占比75%的红蓝复合光(R:B=3:1)和单红光(R)处理组的白花丹素含量则显著低于对照组。所有处理的不定根均在培养30 d时白花丹素含量显著高于其他处理天数,且在蓝光占比大于等于50%的光质处理中,获得显著最大的白花丹素含量,即(580.80±11.15) μg/g(复合光R:B=

1:3) μg/g和(582.02±15.69) μg/g(单蓝光B)。这说明一定比例的红蓝复合光有利于蓝花丹叶片不定根中白花丹素的积累,其中以单蓝光和红蓝复合光(其中蓝光占比为75%和50%)促进作用较强,但红光比例超过50%的红蓝复合光处理则不利于不定根中白花丹素的积累,单红光也有同样不利的作用。随着一定范围内培养时间的延长,所有光质处理下白花丹素含量呈现先增加后降低的趋势。

3 讨论与结论

本文是在不破坏蓝花丹野生种群及全株植物

表 5 不同光质对蓝花丹叶片不定根中白花丹素含量的影响
Table 5 Effect of different light quality on the contents of plumbagin in
adventitious root of leaves of *P. auriculata*

处理 Treatment	时间 Time				
	10 d	20 d	30 d	40 d	50 d
CK	269.68±15.71 ^{1b}	319.84±9.46 ^{2b}	519.84±9.46 ^{3b}	369.53±25.99 ^{4b}	267.30±20.20 ^{5b}
R	219.45±18.23 ^{3c}	230.72±14.90 ^{4d}	390.80±12.30 ^{4d}	333.63±14.23 ^{3c}	222.33±13.52 ^{3c}
R:B=3:1	231.58±20.83 ^{3b}	274.00±21.21 ^{3c}	452.48±23.88 ^{4c}	337.28±9.33 ^{3b}	229.88±7.55 ^{3c}
R:B=1:1	299.45±16.94 ^{1a}	384.05±12.96 ^{2a}	580.80±11.15 ^{3a}	440.30±30.19 ^{3a}	292.33±23.31 ^{1ab}
R:B=1:3	327.35±13.49 ^{1a}	406.55±13.37 ^{2a}	605.14±10.64 ^{3a}	457.03±9.05 ^{3a}	307.31±12.10 ^{1a}
B	309.24±6.20 ^{1a}	380.65±18.08 ^{2a}	582.02±15.69 ^{3a}	430.82±12.52 ^{3a}	316.06±11.17 ^{1a}

注:表中所有数据为平均值±标准差(Mean±SD;n=5),同一列大写字母表示同一光质不同时间处理组间的差异显著($P<0.05$),小写字母表示不同光质处理组(即同一列数据)间的差异显著($P<0.05$)。

Note: In the table, all data are mean with standard deviation (Mean±SD;n=5), the capital letters meant significant differences in the different time-treatment row of same light quality ($P<0.05$). The small letters meant significant differences in the different treatment row of light quality ($P<0.05$).

前提下,寻求一种获取白花丹素的新途径,即以无菌叶片为外植体直接诱导产生不定根。实验表明,此过程中适宜的外源激素是必要的,其中最佳培养基为 MS+NAA 0.5 mg/L+KT 0.1 mg/L。当成功诱导不定根后,必要的光质胁迫对不定根中白花丹素积累是有利的。综合干物质积累和白花丹素含量情况,本文以红、蓝光质比 1:1 连续处理 30 d 为最佳收获方案,而此时单位白花丹素产量为(580.80±11.15) $\mu\text{g/g}$ (即 0.058%±0.001%)。这一结果优于 J. Deshpande 等^[5]通过组培蓝花丹愈伤组织获取组培苗植株的单位白花丹素含量(0.032%),说明本研究用叶片直接诱导不定根的方法是有效的,同时也比诱导愈伤组织再生出植株的周期更短。

蓝花丹叶片能直接诱导不定根,说明该植物具有营养繁殖作用。此外,实验观察到其生根的两种途径反映了该植物的营养生殖途径并非单一,其机制机理还需进一步研究。实验还观察到一个有趣现象,NAA 均能成功诱导叶片产生不定根,而未添加 NAA 的处理无一生根,说明 NAA 是主导蓝花丹叶片生根的外源激素。这与前人所说生长素在不定根发生过程中占据主要地位的结论^[6]相符。林士杰等^[7]对“黑林 1 号”杨叶片研究指出 ZR(玉米素核苷,trans-Zeatin-riboside)对根原基的发生没有显著影响,但在随后不定根生长过程中仍有着不可忽视的作用。在 5-8 和 9-12 号处理中,随着 KT 浓度的提高,有效根长和根数起初升高而后下降,也就是说低浓度 KT 虽然会延迟不定根发生的时点,却有利于不定根生长和发育,由此可见 KT 虽然延缓了不定根发生的启动,但对不定根的增加起着促进作用,这可

能是因为加入 KT 引起叶片体内各内源激素发生变化,进而影响了不定根的分化生长发育。

干鲜比是用以衡量单位鲜重中生物量的积累程度。在本研究中,红、蓝复合光 3:1 与 1:1 对蓝花丹叶片不定根的生物量积累具有较强的促进作用,而随着蓝光比例的逐步增加,干鲜比明显开始下降,这说明短波光对生长量有一定的抑制。生物量的积累与光合产物的积累分布有着密不可分的联系^[8],红、蓝复合光可能是促进了蓝花丹叶片某些光合产物的生成,从而提高了不定根生物量的积累。长波光(如红光)有利于根系的生长,可能是因为其参与了碳代谢,刺激了光合产物的合成(如可溶性糖等),进而促进了根系生长^[9-10]。

光质对植物的次生代谢物含量有较大影响^[11-13],不同光质对次生代谢物的影响不同,同一光质对不同次生代谢物的影响也不尽相同^[14]。王丽娟等^[15]对草莓进行光质处理研究中发现,蓝膜处理下果实的类黄酮类和酚类含量积累量最大,而红膜处理最小。王红星^[16-17]等发现,蓝光能显著提高库拉索芦荟和木立芦荟中总蒽醌含量。这些与本文红、蓝复合光中蓝光占比越高越利于不定根中白花丹素积累的结果类似。张坤晓等^[18]发现拟南芥根的避光性是蓝光特异的,仅在蓝光照射下根才具有避光生长的特性,这种特性也可能是导致本文中单蓝光处理下不定根干鲜比与白花丹素含量与对照差异不显著的原因。

外界环境胁迫对植物造成最终伤害均表现为 ROS(植物体内活性氧类物质,reactive oxygen species)爆发而引起的氧化胁迫^[19]。植物体内氧化还原平衡是由抗氧化酶组成的酶促反应系统和还原态物质

组成的非酶促反应系统共同维持的^[20]。其中,酚类物质处于非酶促反应系统中,具有一定的还原能力。白花丹素为醌类化合物,隶属酚类物质,同样也有相应的还原能力。在受到某些光质胁迫时白花丹素含量增加,说明光质调控的白花丹素积累可能是控制不定根氧化还原能力的关键点,导致白花丹素与ROS或其他氧化物质发生非酶促反应,保护植物细胞抵御或免受侵害^[21]。

前人报道,紫花丹不定根培养至34 d时白花丹素含量最高^[22],本文对蓝花丹的研究也得到相似结论。随着培养时间增加,在40 d、50 d时白花丹素含量规律性降低,其原因可能与初生代谢有关。初生代谢过程中产生的初生代谢产物多为次生代谢的初始物或重要参与物质,能够引发次生代谢中某些酶促反应,经过一系列的变化次生代谢产物开始产生并积累。因此,所有次生代谢物积累均具有一定的规律^[11]。进而本文推测第30 d后含量下降可能有以下4个方面原因:一是初生代谢进行到一定时间形成的初生代谢物含量降低,影响了下游的次生代谢的有效进行;二是蓝花丹叶片在受到胁迫后,不仅激发了次生代谢产物这一保护机制,而同时引发了另外几种保护机制,彼此之间相互协调共同保护,胁迫一段时间后,蓝花丹叶片自我适应及自我保护能力上升,不再需要次生代谢产物这一保护机制,故减少了该途径的能量供给,从而导致白花丹素含量的降低;三是不定根中白花丹素发生降解,转化为其他化合物,且降解率大于合成率;四是白花丹素从外植体中释放到了培养基中,且释放量大于自身合成量。总之,导致白花丹素含量下降这一现象的原因还尚未明确,仍待下一步的研究。

参考文献:

- [1] VIJVER L M. Distribution of plumbagin in the *Plumbaginaceae* [J]. *Phytochemistry*, 1972, 11(11): 3247-3248.
- [2] 陈毅. 蓝雪花(*Plumbago auriculata*)植物组织培养技术研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2013.
- [3] 刘晓英, 徐志刚, 常涛涛, 等. 不同光质 LED 弱光对樱桃番茄植株形态和光合性能的影响[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(4): 725-732.
- [4] 韦燕飞, 张园, 李景强, 等. HPLC 测定不同采收途径及不同部位白花丹中白花丹醌的含量 [J]. *辽宁中医杂志*, 2012, 39(10): 2023-2025.
- [5] DESHPANDE J, LABADE D, SHANKAR K, et al. In vitro callus induction and estimation of plumbagin content from *plumbago auriculata* Lam [J]. *India Journal of Experiment Biology*, 2014, 52(11): 1122-1127.
- [6] DAVIS T D, HAISSIG B E. *Biology of adventitious root formation* [M]. New York: Plenum Press, 1994: 275-280.
- [7] 林士杰, 姜静, 冯昕, 等. 黑林 1 号杨组培叶片不定根的发生与内、外源激素关系的研究[J]. *林业科技*, 2006, 31(1): 8-11.
- [8] SAMUOLIENÉ G, SIRTAUTAS R, BRAZAITYTĖ A, et al. The impact of red and blue light-emitting diode illumination on radish physiological indices [J]. *Central European Journal of Biology*, 2011, 6(5): 821-828.
- [9] 郑洁, 胡美君, 郭延平. 光质对植物光合作用的调控及其机理 [J]. *应用生态学报*, 2008, 19(7): 1619-1624.
- [10] 林啸. 光质诱导的钙信号对铁皮石斛原球茎生长及次生代谢产物积累的影响[D]. 成都: 四川农业大学, 2015.
- [11] 胡荣, 冉继春, 杨荣平, 等. 不同生长发育期味连次生代谢产物积累变化研究[J]. *中国现代应用药学*, 2015, 32(6): 649-652.
- [12] 巩彪, 靳志勇, 刘娜, 等. 光质对紫背天葵生长、次生代谢和抗氧化胁迫的影响[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(11): 3577-3584.
- [13] JIAO Y, LAU O S, DENG X W. Light-regulated transcriptional networks in higher plants [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2007, 8(3): 217-230.
- [14] 苏文华, 张光飞, 李秀华, 等. 光强和光质对灯盏花生长与总黄酮量影响的研究[J]. *中草药*, 2006, 37(8): 1244-1247.
- [15] 王丽娟, 张学英, 徐金娥, 等. 不同光质对草莓果实花青苷、酚类物质及类黄酮物质的影响[J]. *河北农业大学学报*, 2009, 32(2): 54-57.
- [16] 王红星, 王进, 李景原. 光质对库拉索芦荟生物活性物质的影响[J]. *北方园艺*, 2009, 33(12): 56-58.
- [17] 王红星, 郭翠红, 李景原. 光质对木立芦荟萜醌类物质的影响[J]. *安徽农业科学*, 2009, 37(10): 4487-4488.
- [18] 张坤晓. 蓝光诱导 PIN3 极性定位在根避光反应中的作用研究 [D]. 武汉: 武汉大学, 2013.
- [19] GONG B, LI X, BLOSZIES S, et al. Sodic alkaline stress mitigation by interaction of nitric oxide and polyamines involves antioxidants and physiological strategies in *Solanum lycopersicum* [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2014, 71(6): 36-48.
- [20] LI Y H, CHEN L, GAO R G, et al. Effects of LED qualities on quality and antioxidation capacity of eggplant fruits [J]. *The Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(9): 2728-2734.
- [21] MERZLYAK M N, CHIVKUNOVA O B, SOLOVCHENKO A E, et al. Light absorption by anthocyanins in juvenile, stressed, and senescing leaves [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, 59(14): 3903-3911.
- [22] PANICHAYUPAKARANANT P, TEWTRAKUL S. Plumbagin production by root cultures of *Plumbago rosea* [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2002, 5(3): 11-12.

(本文审稿: 阮少宁; 责任编辑: 巩艳红; 英文编辑: 徐振锋)