

昆虫多糖促进水稻生长及提高抗逆性机理分析

毕锐 史树森 董立环 崔娟 李春光 (吉林农业大学, 吉林长春 130118)

摘要 [目的] 研究昆虫多糖促进水稻生长的作用机理。[方法] 通过测定不同脱乙酰度、不同浓度昆虫多糖处理的水稻叶绿素含量、根系活力、过氧化物酶含量、可溶性糖和蛋白质含量来研究其作用机理。[结果] 结果表明, 昆虫多糖拌种处理水稻后叶绿素含量、根系活力、可溶性糖和可溶性蛋白质含量提高, 过氧化物酶含量降低, 可促进水稻的生长、增强抗逆性, 提高产量。[结论] 该研究为昆虫多糖的应用提供理论依据。

关键词 机理; 昆虫多糖; 水稻

中图分类号 S511 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)34-14887-02

Mechanism Analysis on Insect Polysaccharide Improvement Rice Growth and Increase Resistance

Bi Rui et al (Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract [Objective] The purpose was to study the mechanism of insect polysaccharide improvement rice growth. [Method] The chlorophyll content, root activity, peroxidase content, soluble sugar and protein content of rice treated by deacetylation and insect polysaccharide with different concentration were determined to analyze mechanism. [Result] The results indicated that treating rice seed with insect polysaccharide could increase the chlorophyll content, activity of roots, soluble sugar content and soluble protein content of rice and decrease peroxidase content, which would improve rice growth and increase rice resistance, and then get high yield. [Conclusion] This study will provide the theoretical references for application of insect polysaccharide.

Key words Mechanism; Insect polysaccharide; Rice

昆虫多糖是从昆虫体壁提取的几丁质脱去乙酰基后得到的一种天然高分子聚合物, 也是目前发现的自然界中唯一带正电荷的可食性动物纤维素——含氨基多糖的高分子化合物。由于其分子结构中存在游离的胺基, 使反应活性大大增强^[1], 这就决定了它从纺织、造纸到食品、环保、医药、农业、林业、轻工业和生物工程等领域中均有广泛应用^[2-5]。目前, 昆虫多糖因其能够促进根茎生长、增加作物的抗性、提高作物的产量等而被广泛应用于农业领域^[6-8]。笔者通过测定不同脱乙酰度、不同浓度处理水稻叶绿素含量、根系活力、过氧化物酶含量、可溶性糖和蛋白质含量来研究其作用机理。

1 材料与方 法

1.1 材料 各种脱乙酰度昆虫多糖, 由吉林农业大学资源昆虫研究室提供; 供试水稻品种为农大19; 仪器有75-1紫外分光光度计, SHZ-88恒温水浴振荡器, ES-180J电子天平, RXZ型智能人工气候箱; 主要药品与试剂: 乙酸乙酯, 次硫酸钠, 80%丙酮, TTC, 考马斯亮蓝, 牛血清蛋白, 蒽酮, 无水葡萄糖, 95%乙醇和愈创木酚。

1.2 方 法

1.2.1 试验设计。

1.2.1.1 一定浓度不同脱乙酰度拌种处理。准确称取一定

量脱乙酰度为75%、80%、85%、90%和95%的昆虫多糖溶于浓度为4%的柠檬酸溶液中, 配成浓度为250 ng/kg的昆虫多糖溶液, 对水稻进行拌种处理, 并设对照, 4次重复。播种在16.5 cm×11.5 cm的保鲜盒中, 放入温度白天25℃、夜晚15℃的人工气候箱中培养。

1.2.1.2 一定脱乙酰度不同浓度拌种处理。用脱乙酰度为80%的昆虫多糖配成2、10、50、250、1 250 ng/kg浓度梯度的昆虫多糖溶液, 对水稻进行拌种后, 处理方式同上。

1.2.2 测定方法。叶绿素含量用751-紫外分光光度计测定, 可溶性蛋白质含量用考马斯亮蓝法测定, 可溶性糖含量用蒽酮试剂和分光光度计测定, 根系活力测定用TTC法, 过氧化物酶活性测定用磷酸缓冲液和分光光度计测定。

2 结果与分析

2.1 对植株叶绿素含量的影响 不同脱乙酰度、不同用量的昆虫多糖拌种处理水稻种子, 随着脱乙酰度的提高, 叶绿素含量也随之增高(表1)。当脱乙酰度为85%、90%和95%时, 与对照相比叶绿素含量分别提高了29.94%、33.68%和49.38%, 均达到显著水平($P < 0.05$)。当用一定脱乙酰度不同用量的昆虫多糖处理水稻种子时, 也表现出了明显浓度效应, 呈抛物线形。当浓度处于中间值250 ng/kg用量时叶绿

表1 各处理对叶绿素含量影响差异显著性分析

Table 1 The difference significance analysis on the effects of different treatments on the content of chlorophyll

脱乙酰度 Deacetylation degree %	叶绿素含量 Chlorophyll content ng/g	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level	昆虫多糖浓度 Concentration of insect polysaccharide ng/kg	叶绿素含量 Chlorophyll content ng/g	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level
75	2.77	cd	BCD	2	2.12	ab	A
80	2.90	bcd	BCD	10	2.16	ab	A
85	3.22	abc	ABC	50	2.48	a	A
90	3.32	ab	AB	250	2.50	a	A
95	3.71	a	A	1 250	2.09	ab	A
CK	2.48	d	D	CK	1.66	b	A

注: 表中字母为差异显著性分析。下同。

Note: The letters denoted the results of difference significance analysis. The same as below.

作者简介 毕锐(1980-), 女, 吉林辽源人, 硕士, 助教, 从事资源昆虫开发与应用的教學与研究。

收稿日期 2008-11-13

素含量最高, 较对照提高50.94%, 达极显著水平($P < 0.01$)。

2.2 对根系活力的影响 当脱乙酰度为80%、85%、90%和95%时, 水稻幼苗根系活力与对照相比均达到显著水平($P <$

0.05), 而当脱乙酰度高达90%、95%时与对照存在极显著差异 ($P < 0.01$) (表2)。当用一定脱乙酰度不同用量的昆虫多糖处理水稻种子时, 也表现出了明显浓度效应。当用量为250、50 ng/kg 时根系活力与对照相比均达到极显著水平, 其余各浓度处理的根系活力也均有提高, 但没有达到显著水平。

表2 各处理对根系活力影响差异显著性分析

Table 2 The difference significance analysis on the effects of different treatments on the root activity

脱乙酰度 Deacetylation degree %	根系活力 Root activity ngTIF/ (g·h)	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level	昆虫多糖浓度 Concentration of insect polysaccharide ng/kg	根系活力 Root activity ngTIF/ (g·h)	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level
75	0.026 88	c	CD	2	0.110 39	bc	B
80	0.037 34	b	BC	10	0.140 44	b	B
85	0.037 50	b	BC	50	0.228 67	a	A
90	0.041 98	b	AB	250	0.265 21	a	A
95	0.051 78	a	A	1 250	0.106 11	bc	B
CK	0.025 68	c	CD	CK	0.081 97	c	B

表3 不同处理对过氧化物酶含量影响差异显著性分析

Table 3 The difference significance analysis on the effects of different treatments on the content of peroxidase

脱乙酰度 Deacetylation degree %	过氧化物酶含量 Peroxidase content U (g·min)	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level	昆虫多糖浓度 Concentration of insect polysaccharide ng/kg	过氧化物酶含量 Peroxidase content U (g·min)	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level
75	4 494.968	a	A	2	45 383.62	bc	B
80	4 468.492	a	A	10	42 936.82	bc	B
85	4 336.605	a	A	50	41 032.41	c	B
90	4 200.711	a	A	250	40 788.23	c	B
95	3 604.724	a	A	1 250	48 690.91	b	B
CK	4 817.958	a	A	CK	60 919.58	a	A

2.4 对可溶性糖含量的影响 昆虫多糖脱乙酰度为90%、95%时, 可溶性糖含量较高, 与对照相比达到极显著水平 ($P < 0.01$), 而当其脱乙酰度为75%、80%和85%时可溶性糖含

2.3 对过氧化物酶含量的影响 不同脱乙酰度、不同用量昆虫多糖拌种处理水稻种子, 对过氧化物酶含量影响表现出一定脱乙酰度和浓度效应(表3)。当脱乙酰度最高95%时, 其酶含量达到了最低值。当昆虫多糖用量为250 ng/kg 时, 酶含量最低, 与对照相比达到极显著差异 ($P < 0.01$)。

量有所提高, 但差异不显著。用不同用量昆虫多糖处理水稻种子, 250、50 ng/kg 处理与对照存在极显著差异 ($P < 0.01$), 其余各处理差异不显著(表4)。

表4 不同处理对可溶性糖含量影响差异显著性分析

Table 4 The difference significance analysis on the effects of different treatments on the content of soluble sugar

脱乙酰度 Deacetylation degree %	可溶性糖含量 Content of soluble sugar %	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level	昆虫多糖浓度 Concentration of insect polysaccharide ng/kg	可溶性糖含量 Content of soluble sugar %	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level
75	18.65	bc	BC	2	16.77	bcd	ABC
80	18.71	bc	BC	10	16.88	abc	ABC
85	19.06	bc	BC	50	17.69	ab	AB
90	23.83	ab	AB	250	17.86	a	A
95	28.63	a	A	1 250	16.67	bcd	ABC
CK	16.02	c	C	CK	15.70	d	C

2.5 对可溶性蛋白质含量的影响 脱乙酰度为90%、95%时, 可溶性蛋白质含量分别提高了21.82%和23.02%, 达到极显著水平 ($P < 0.01$), 其余各处理可溶性蛋白质含量均有提高但与对照相比差异不显著。当昆虫多糖用量为250 ng/kg 时, 可溶性蛋白质含量达到最大值, 与对照存在极显著差异 ($P < 0.01$)。当昆虫多糖用量为1 250 ng/kg 时, 可溶性蛋白质含量下降(表5)。

3 结论与讨论

(1) 用脱乙酰度90%、95%昆虫多糖处理水稻种子, 可提高水稻的各项生化指标, 促进水稻生长和提高抗逆性; 用250、50 ng/kg 浓度的昆虫多糖处理水稻种子, 可得到类似的

结果。但总的看, 脱乙酰度95%和浓度梯度250 ng/kg 的处理效果要相对好一些。

(2) 昆虫多糖可提高叶绿素含量, 从而促进植物的光合作用, 加快植株生长, 有利于提高产量; 提高叶片内可溶性蛋白质和糖含量有利于延缓叶片衰老, 促进和延长光合作用; 提高根系活力, 增强了植株对水、肥的吸收和转化, 提高植物个体的生命活力, 增强抗逆性; 降低过氧化物酶含量, 可提高水稻生活力, 较好抵御外界不良环境。昆虫多糖处理水稻种子, 通过对各项生理生化指标的调节, 加快水稻生长, 增强水稻抗性, 最终提高水稻产量。

钠溶液和浓度0.05%升汞消毒30 s 的消毒方法效果比较好。

2.2 大羽藓孢子体适宜消毒方法的筛选 用浓度2.0%次氯酸钠溶液对大羽藓孢子体进行消毒培养,通过DPS v7.05软件污染率与消毒时间进行统计分析,结果见表3。由表3可见,消毒2 min 与4 min 在0.05水平无差异,消毒6、8、10 min 间达0.01显著水平。消毒时间为6 min 效果最好,污染率为0;消毒8 min 次之。

表2 大羽藓配子体适宜消毒方法的筛选结果

Table 2 The screening results of the suitable disinfection methods for *T. cymbifolium gametophyte*

编号 Nb.	接种茎叶体段数 个 Segment number of inoculated stem	污染率 Pollution rate
1	50	0.793 3 ±0.011 5 A
2	50	0.146 7 ±0.150 1 B
3	50	0.620 0 ±0.230 7 A
4	50	0.133 3 ±0.041 6 B

注:不同大写字母表示在0.01水平有差异。下同。

Note: Different capital letters mean difference at 0.01 level. The same as below.

表3 大羽藓孢子体适宜消毒方法的筛选结果

Table 3 The screening result of the suitable disinfection methods for *T. cymbifolium sporophyte*

消毒时间 min Disinfection time	总接种培养皿个数 Total dish number withinoculation	污染率 Pollution rate
2	18	1.000 0 ±0.000 0 A
4	18	0.9433 ±0.098 1 A
6	18	0.000 0 ±0.000 0 D
8	18	0.330 0 ±0.000 0 C
10	18	0.723 3 ±0.092 4 B

(上接第14888页)

表5 不同处理对可溶性蛋白质含量影响差异显著性分析

Table 5 The difference significance analysis on the effects of different treatments on the content of soluble protein

脱乙酰度 Deacetylation degree %	可溶性蛋白质含量 Content of soluble protein ng/g	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level	昆虫多糖浓度 Concentration of insect polysaccharide ng/kg	可溶性蛋白质含量 Content of soluble protein ng/g	显著水平0.05 0.05 significant level	极显著水平0.01 0.01 extremely significant level
75	35.953 40	ab	AB	2	45.627 38	bc	ABC
80	36.154 93	ab	AB	10	47.744 27	ab	AB
85	36.259 63	ab	AB	50	48.061 33	ab	AB
90	39.065 86	a	A	250	49.273 67	a	A
95	39.448 22	a	A	1 250	44.526 18	cd	BC
CK	32.067 61	b	B	CK	41.700 31	d	C

参考文献

- 王维荣, 裴真明, 欧阳光察. 几种因子对黄瓜幼苗几丁质酶的诱导作用(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(4): 263-266.
- 严俊. 甲壳素的化学和应用[J]. 化学通报, 1984(11): 26-31.
- RHODES J, ROLLERS S. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and food[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(5): 80-86.
- 张文清, 柴平海, 金鑫荣, 等. 壳聚糖及其衍生物在化妆品中的应用[J]. 高分子通报, 1999(2): 73-75.
- BACONA, MAJIN J, SZER P J, et al. Carbohydrate biopolymer enhance antibody responses to M-cosal delivered vaccine antigens[J]. Infection and Immunity, 2000, 68(10): 5764-5770.
- 胡问玉, 邹良栋. 壳聚糖涂膜对苹果保鲜效应[J]. 植物生理通讯, 1998, 34(1): 17-19.
- 于汉寿, 吴汉章, 张益明, 等. 水溶性壳聚糖对水稻恶苗病和油菜菌核病的作用[J]. 江苏农业科学, 1998(5): 38-40.
- 徐本美, 白克智, 傅凯. 脱乙酰甲壳素对种子萌发的影响[J]. 种子, 1996(3): 50-52.
- 陆家安, 张承妹, 侯根宝, 等. 脱乙酰壳聚糖活性生物制剂对水稻生长的影响[J]. 上海农业学报, 2002, 18(4): 31-34.
- YAO Q, SUN T, ZHOU D X, et al. Antioxidant activity of carboxymethyl chitosan with different substituted degrees[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(1): 5-7, 59.

3 结论与讨论

苔藓植物组织培养是否能够成功, 苔藓植物组织材料的消毒是基础而关键的一步。曹同等设置了12个次氯酸钙的浓度对孢子体和配子体进行消毒, 发现当浓度为12.0%时孢子的存活率最好, 而配子体则在次氯酸钙浓度为9.0%时最好^[5]。李晓毓等通过对不同表面消毒剂及其用量和消毒时间的比较, 最后综合考虑选择浓度0.05%氯化汞溶液消毒60 s 对尖叶匍灯藓外殖体进行消毒培养^[6]。

由于苔藓植物非常矮小, 大多植物体是由单层细胞组成, 不同种类、不同材料的消毒方法也不同, 所以消毒剂的选择和消毒时间的控制都很难把握。70%的酒精穿透能力很强, 用其处理后苔藓植物配子体迅速失绿, 再用升汞消毒则对其伤害非常大, 所以常规的植物组织培养消毒方法对苔藓植物并不适用^[3]。次氯酸钠对植物体的伤害相对较小, 笔者采用正交试验设计筛选出0.5%次氯酸钠溶液+0.05%升汞消毒60 s 的方法比较适用于大羽藓配子体组培初代培养。大羽藓孢蒴由多层细胞组成, 消毒剂的浓度应该相对加大, 消毒时间加长, 这样才能达到理想的消毒效果, 经过多次试验筛选, 用2.0%次氯酸钠消毒6 min, 其污染率为0, 孢子的萌发率达90%以上。

参考文献

- 吴鹏程. 中国苔藓志 第六卷[M]. 北京: 科学出版社, 2002: 248-250.
- 衣艳君. 中国药用苔藓植物资源[J]. 中草药, 2000, 31(8): 624-628.
- 付素静. 五种观赏藓类植物的配子体发生与组织培养[M]. 南京: 南京林业大学, 2006.
- 于传梅. 五种苔藓植物的组织培养[M]. 上海: 华东师范大学, 2007.
- 曹同, 陈静文, 娄玉霞. 苔藓植物组织培养繁殖技术及其应用前景[J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 2005, 34(4): 52-56.
- 李晓毓, 吴翠珍, 熊源新, 等. 尖叶匍灯藓的组织培养及显微观察[J]. 山地农业生物学报, 2006, 25(3): 217-222.