

菌株 Cy-1 代谢产物中激素类物质分析测定

季 青 董 平 龙 涛 古丽努尔

(新疆农业科学院微生物研究所 乌鲁木齐 830000)

摘要: 应用生物学方法对所研制的防治棉花等作物土传病害的微生物制剂进行了分析测定, 结果表明制剂中含有生长素、细胞分裂素和赤霉素等激素类物质。

关键词: 代谢产物, 激素, 分析测定

中图分类号: Q-331 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)-04-0281-03

ANALYSIS OF HORMONES IN METABOLIC PRODUCTS FROM MICROBIAL STRAINS FOR CONTROL OF COTTON DISEASES

JI Qing DONG Ping LONG Tao Gulinuer

(Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Sciences, Ulumuqi 830000)

Abstract: The Microbial Preparations developed for control of cotton soil-borne diseases were analyzed with biological methods. It showed that the preparations contained heteroauxin(IAA), kinin(KT), and gibberellin(GA3).

Key words: Metabolic products, Hormones, Biological analysis

我们研制的微生物制剂应用于棉花、蔬菜、瓜类等作物上后, 植株苗齐茁壮, 生长势增强, 棉花有效铃数增加, 最终表现出产量的增加。为了揭示微生物制剂的作用机理, 本文开展了以生物学方法对微生物代谢产物中的激素类物质进行分析测定的研究工作。

1 材料与方法

1.1 生长素(IAA)类物质的测定

1.1.1 微生物代谢产物的制备: 以菌种 CY-1 (*Bacillus* spp.) 发酵后, 经乙酸乙酯萃取, 再真空浓缩。

1.1.2 制备小麦胚芽鞘: 取少许小麦种子洗净, 灭菌, 促其发芽, 再切下长 5mm 胚芽鞘。

1.1.3 IAA 标准关系的确定: 首先配制 IAA 浓度为 10 μ g/mL、1 μ g/mL、0.1 μ g/mL、0.01 μ g/mL、0.001 μ g/mL 的标准溶液, 以缓冲液为对照, 重复 3 次。在各浓度的溶液中分别放入芽鞘 10 段, 置于 25 $^{\circ}$ C 黑暗条件下培养

24h, 取出芽鞘, 测量其长度。从而确定芽鞘伸长与 IAA 浓度的关系。

1.1.4 代谢产物中 IAA 类物质的测定: 将代谢产物原液稀释至 10、100 和 1000 倍, 以培养基为对照, 再分别加入小麦胚芽鞘, 25 $^{\circ}$ C 黑暗培养 24h, 测量长度。从标准关系计算出相应的 IAA 含量。

1.2 细胞分裂素(KT)类物质的测定

1.2.1 微生物代谢产物的制备: 同 1 所述。

1.2.2 萝卜子叶的制备: 用砂培法培养萝卜幼苗, 剪下长势一致的子叶备用。

1.2.3 KT 标准关系的确定: 配制含 N⁶-苄基腺嘌呤 2 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、15 μ g/mL、20 μ g/mL 的标准溶液, 重复 3 次, 后置入萝卜子叶 1g, 在 25~30 $^{\circ}$ C 黑

暗条件下放置 48h, 然后用比色法(波长为 600nm)测定叶片的叶绿素含量。从而确定叶绿色含量与 KT 浓度的关系。

1.2.4 代谢产物中 KT 类物质的测定: 将代谢产物原液稀释至 10、100 和 1000 倍, 以培养基为对照, 再分别加入萝卜子叶, 25~30℃ 黑暗条件下培养 48h, 测定叶绿素的含量。由标准关系计算出代谢产物中 KT 类物质的含量。

1.3 赤霉素(GA₃)类物质的测定

1.3.1 微生物代谢产物的制备: 同 1 所述。

1.3.2 大麦去胚种子制备: 取饱满大麦种子 500 粒, 切除有胚的一半, 将无胚的另一半灭菌, 备用。

1.3.3 GA₃ 标准关系的确定: 配制 GA₃ 浓度分别为 10⁻⁵mol/L、10⁻⁶mol/L、10⁻⁷mol/L、10⁻⁸mol/L 的标准溶液。将去胚种子分别置入各浓度溶液内, 重复 3 次。在 25℃ 条件下培养 24h, 然后分别测定其 α-淀粉酶的活性。确定 GA₃ 含量与 α-淀粉酶活性的标准关系。

1.3.4 代谢产物中 GA₃ 类物质的测定: 将代谢产物原液稀释至 10、100 和 1000 倍, 以培养基为对照, 再分别加入大麦去胚种子, 25℃ 培养 24h, 测定 α-淀粉酶的活性, 由标准关系计算出代谢产物中 GA₃ 类物质的含量。

2 结果与讨论

2.1 IAA 类物质的测定

2.1.1 标准关系的确定: 经测定, IAA 浓度在 0.001~1μg/mL 内, 小麦芽鞘长度增长的百分数与 IAA 浓度的负对数呈线性关系。

2.1.2 代谢产物中 IAA 类物质的测定: 代谢产物中 IAA 含量的测定结果如下:

表1 代谢产物中IAA浓度的测定结果

代谢产物 稀释倍 数	处理芽 鞘长度 (cm)	对照芽 鞘长度 (cm)	芽鞘 伸长率	-Lg C	IAA 浓度 (μg/mL)
10	0.841	0.705	27.2	1.75	0.01778
100	0.955	0.878	15.4	2.71	0.001949
1000	0.865	0.831	6.8	3.84	0.0001445

由上述测定结果可以看出, 代谢产物中具有 IAA 类物质。

2.2 KT 类物质的测定

2.2.1 标准关系确定: 经测定, 叶绿素浓度在 20~50mg/L 内, 分别与 OD₆₀₀、KT 浓度呈线性关系。

2.2.2 代谢产物中 KT 类物质的测定: 测定不同浓度培养基浸泡 48h 后萝卜子叶叶绿素的含量, 作为对照。

不同浓度代谢产物浸泡 48h 后萝卜子叶叶绿素及 KT 含量如下所示:

表2 不同浓度代谢产物浸泡48h后萝卜子叶叶绿素及KT含量

代谢产物 稀释倍数	OD ₆₀₀	叶绿素 浓度 mg/L	与对照相 减之叶绿 素浓度	细胞分裂 素KT浓度 μg/mL
10	0.373	58.9	46.3	21.5
100	0.172	28.1	14.8	3.1
1000	0.107	19.9	5.7	0

由上述测定结果可以看出, 代谢产物中具有细胞分裂素类物质。

2.3 赤霉素(GA₃)类物质的测定

2.3.1 标准关系确定: OD₅₈₀ 是溶液中淀粉含量的标志, OD₅₈₀ 越高, 溶液中淀粉含量越高, 淀粉酶的活力也就越小, 因此用 1-OD₅₈₀ 来表示淀粉酶的活力大小。经测定赤霉素浓度与淀粉酶活力呈线性关系。

2.3.2 代谢产物中赤霉素类物质的测定: 代谢产物中赤霉素类物质的测定结果如下:

表3 代谢产物中赤霉素类物质的测定结果

代谢产 物稀释 倍数	OD ₅₈₀	1-OD ₅₈₀	赤霉素 GA3浓度 g/L	原液赤霉 素浓度 g/L	平均 浓度 g/L
10	0.583	0.417	1.78×10 ⁻⁶	1.78×10 ⁻⁵	
100	0.621	0.379	2.34×10 ⁻⁷	2.34×10 ⁻⁵	3.33×10 ⁻⁵
1000	0.716	0.284	5.86×10 ⁻⁸	5.86×10 ⁻⁵	

由上述测定结果可以看出, 代谢产物中存在赤霉素类物质, 其浓度为 3.33 × 10⁻⁵g/L。

实验结果表明我们所研制的微生物制剂中含有生长素、细胞分裂素和赤霉素类物质。

通过这项研究揭示了该微生物制剂促进植物生长的生理学作用机制, 与同类微生物制剂的研究结果相吻合。由于所研制的制剂中含有激素类物质, 因此, 在作物上施用制剂后, 生长旺盛, 产量增加, 品质提高。

本实验所建立的生物学测定方法为代谢产物工业化生产过程的检测提供了重要依据。

参 考 文 献

- [1] 徐同. 植物病理学报, 1993, 23(1): 63~67.
- [2] 蒋细良. 生物防治通报, 1994, 10(2): 76~81.
- [3] 梅汝鸿, 陈壁, 鲁素芸等. 棉花枯黄萎病的生物防治研究. 全国生物防治学术讨论会论文集, 1995, 277.

- [4] Whipps J M. Biocontrol Science and Technology. 1992, 2: 3~24.
- [5] McQuiken M P, Mitchell S J, Budge S P *et al.* Plant Pathology, 1995, 44: 883~896.
- [6] Callow J A. Botanical Research, 1997, 26: 1~134.