

硼营养与植物细胞壁关系的研究进展^{*}

杨玉华 吴礼树 王运华 曹享云

(华中农业大学微量元素研究室 武汉 430070)

ADVANCES ON RESEARCH OF THE EFFECTS OF BORON ON PLANT CELL WALL

Yang Yuhua Wu Lishu Wang Yunhua Cao Xiangyun

(Laboratory of Microelement, Huazhong Agricultural University Wuhan 430070)

关键词 硼, 细胞壁

Key words Boron, Cell wall

植物必需的7种微量元素中,植物缺硼最为普遍,因而引起人们的广泛关注。半个多世纪以来,学者们对硼的生理功能和硼肥应用进行了广泛的研究,为农业生产作出了重大贡献。但由于硼元素的特殊性,至今对硼在植物体内的存在形式和基本生理功能仍不十分清楚。

不同植物的缺硼症状尽管各不相同,但一个显著的共同特征就是根尖和茎尖的伸长首先受到抑制。顶端生长依赖于细胞分裂和细胞伸长,由此可见,硼必然首先影响分生组织的细胞分裂和细胞伸长。

硼对细胞分裂的影响已进行了大量的研究。Whittington^[1]曾报道缺硼减少大豆有丝分裂的细胞个数。Cohen等^[2]用放射自显影响证明,完整的南瓜根尖中,缺硼早期有丝分裂完全停止。缺硼对RNA代谢的影响也已得到充分证明。Robertson等^[3]用³²P研究指出,缺硼影响RNA的合成,且在缺硼溶液中添加RNA后,植物的缺硼症状即可消失。但用完整的蕃茄幼苗所做的试验表明,虽然缺硼早期顶端分生组织细胞分裂停止,但形成层和侧生原基的发生并不受抑制^[4]。Hemberg^[5]也证明,硼是不定根生长必需的元素,并不是侧生原基形成所必需的元素。离体培养的棉花胚珠,缺硼反而促进愈伤组织的形成,抑制纤维的生长^[6],显微观察发现缺硼组织的细胞数目并不减少^[7,8]。因而,硼可能不是细胞有丝分裂所必需的。Cohen等^[2]认为:缺硼后有丝分裂活性的降低或停止,可能是由于缺硼抑制了有丝分裂后细胞的生长所致,而不是抑制了有丝分裂本身。但根尖细胞有丝分裂的停止显然是缺硼的早期症状之一,因此,应对此作进一步的研究,才能确定硼是否为细胞有丝分裂所必需。

硼对细胞延伸生长的影响已得到充分证明。将蕃茄幼苗转移到缺硼培养液中,6h根尖的伸长即停止^[9]。向日葵幼苗转移到缺硼培养液中,3h根尖的伸长就受到明显抑制,且恢复供硼后,根尖立即恢复伸长^[10]。根尖伸长对硼如此迅速的反应很难用硼仅影响细胞有丝分裂来解释,说明硼与细胞伸长有更

收稿日: 1997-11-07, 修回日: 1997-12-31。第一作者: 女, 1963年10月出生, 副教授, 从事专业: 植物营养与施肥, 研究方向: 植物营养生理。

* 国家自然科学基金和国家教委博士点基金资助项目。

直接的关系。

植物细胞壁作为界定细胞形状、调节细胞生长的一种活性细胞组分,在细胞分裂和伸长中均有非常重要的作用。研究表明,植物体内的硼绝大部分是以硼酸盐多糖络合物的形式和细胞壁结合在一起^[11]。显微观察发现,缺硼首先出现的症状就是细胞壁结构不正常^[9,10]。Jenkin 等^[12]发现,在溶去了细胞壁后,大麦耐高硼的基因就不再表达。而且硼对所有的维管植物是必需的矿质元素,但真菌和动物并不需要硼,也说明硼的生理功能主要是细胞外的。因而,研究硼与细胞壁结构及其代谢的关系,将有助于揭示硼在植物体内的基本生理功能。

1 硼对细胞壁多糖生物合成的影响

细胞延伸生长时,细胞壁各组分也会发生相应的变化。一般来说,细胞壁中的纤维素和半纤维素含量上升,果胶含量下降^[13]。但在缺硼条件下,这些变化遭到破坏。缺硼组织中细胞壁物质总量显著增加^[4,14-17]。尽管缺硼根系的鲜重显著降低,细胞壁的量却未降低,还稍有升高^[15]。作者待发现的研究结果^[1]也证明,缺硼时,油菜根系和上部茎、叶中的细胞壁提取率均升高。这可能与缺硼时细胞延伸生长受阻,细胞壁增厚有关。

细胞壁组分在缺硼时也发生改变。离体培养的棉花胚珠,缺硼时抑制纤维素的合成^[6,18]。离体培养的胡萝卜细胞,缺硼使 $\beta(1 \rightarrow 4)$ 葡聚糖的合成下降,纤维素含量降低^[19],而 $\beta(1 \rightarrow 3)$ 葡聚糖的含量上升,胼胝质积累^[18,20]。油棕^[21]和蕃茄^[15]幼苗根系,缺硼使果胶和半纤维素含量增加,纤维素含量有所下降。

进一步的研究结果表明,缺硼对细胞壁多糖生物合成的抑制可能不是生长受阻的最初原因。缺硼时细胞壁组分变化的幅度,即使在细胞壁超微结构已发生显著改变时,不同研究者得出的结果也不一致。Augsten 等^[22]用放射性同位素示踪发现,缺硼对细胞壁前体物质结合到新细胞壁中的抑制作用并不具有普遍性。组织培养的烟草薄壁细胞,缺硼使细胞壁物质总量增加近 1 倍时,纤维素和果胶的比例基本不变^[16]。对胡萝卜培养细胞的细胞壁多糖成分分析结果也表明,缺硼时,只有甘露糖/葡萄糖的比例有所增加,其余单糖的比例保持不变^[19]。Kouchi 等^[15]和 Yamanouchi^[23]的研究结果显示,细胞壁组分的变化量很小,不足以引起分生组织生长的迅速停止。缺硼时细胞壁组分发生变化的时间也较晚。Goldbach 等^[19]用 ^{14}C 标记的葡萄糖研究分别缺硼 2 d 和 5 d 对胡萝卜培养细胞细胞壁纤维素合成的影响,结果发现,缺硼 2 d, ^{14}C 在细胞壁各组分间的分配与正常供硼差异不显著, ^{14}C 结合到细胞壁多糖中的总量有所上升,缺硼 5 d, ^{14}C 结合到纤维素中的量才显著下降。这一结论与缺硼数小时内细胞壁即增厚^[24]的现象不符合。

2 硼对细胞壁结构及其物理性质的影响

Skok^[25]曾假设:硼并不参与植物体内的新陈代谢,而与结构单元的形成或框架的建立有关,只有在获得足够的硼以形成正常的胞壁结构时,才能进行生长。如果这一假设正确,那么细胞中的硼就可能大部分和细胞壁结合在一起。研究表明,细胞内有 60%~98% 的硼和细胞壁结合在一起^[26-29]。且细胞内硼的分配强烈依赖硼的丰缺,缺硼时胞壁中的硼占细胞全硼量从 64% 上升到 97%;缺硼可使原生质中的硼浓度下降到接近于零,而细胞壁中的硼浓度下降到一定程度后就不再降低^[27]。电镜观察发现,缺硼使蕃茄根尖细胞壁结构发生显著改变时,膜系统和细胞基质并不发生降解^[15],即使在原生质硼浓度已降至极低水平时,缺硼组织至少在一个星期内保持绿色。这说明,极低浓度的硼可满足原生质的需要^[27]。Teasdale 等^[30]用组织培养法研究硼、钙、镁的相互关系时发现,培养基中适量的甘露糖醇加剧缺硼症状,因甘露糖醇和硼形成了稳定的络合物,使其不能被吸收利用,而高浓度的甘露糖醇(或其它糖类)反而减

1) 杨玉华,吴礼树,王运华,曹享云。硼营养对甘兰型油菜不同品种细胞壁硼含量的影响(待发表)。

缓缺硼症状, 他们认为这是因高浓度的甘露糖醇提供了足够的渗透压来支持因缺硼而机械强度减弱的细胞壁所致, 间接地证明了硼的生理功能主要表现在细胞壁的物理结构和物理性质上。硼作为细胞壁结构成分的假设能很好地解释硼的再利用率低, 必需在整个生育期供硼的事实。

硼对细胞壁结构的影响已得到充分证明, 根尖在几小时内, 花粉管在几分钟内就能看到缺硼现象, 特征就是细胞壁不正常^[24]。缺硼使细胞壁增厚, 中层紊乱^[14, 15, 31~34]。这些现象在细胞壁的纵向上最明显^[15, 27, 35]。缺硼细胞初生壁不光滑, 上面有与细胞壁物质混合的泡状聚集物在壁上不规则沉淀, 形成锯齿状的结构^[14]。

缺硼细胞的物理性质也发生改变。细胞的机械强度和塑性伸展能力降低, 细胞壁硬化^[27]。因而缺硼组织特别脆, 容易折断。无弹性的细胞壁不能承受正常的细胞延伸生长, 因而导致细胞伸长的迅速抑制。普遍认为, 果胶在细胞壁的塑性伸展能力上起关键作用^[36], 果胶组分及其组成的变化与细胞壁松弛密切相关^[13]。

目前的研究结果表明, 硼在细胞壁上通过和果胶相结合影响细胞壁的物理结构和物理性质。Loomis^[24]曾提出硼在细胞壁中的作用模式: 硼通过与果胶形成硼酸盐-酯的交联在延伸细胞壁的物理结构中起作用。依赖于pH的硼酸盐-酯键的快速解离和形成成为维持细胞连续生长所必需的细胞强度提供了保证, 从而控制伸展细胞壁延伸^[27, 30]。果胶多糖中含有大量的顺式多羟基结构, 为硼酸根的结合提供了可能。缺硼时, 细胞内高尔基体的体积、密度和结构均发生改变^[14, 15], 高尔基体负责从细胞质中运输细胞壁物质到细胞壁, 研究表明, 与高尔基体分泌有关的物质是果胶和半纤维素^[37]。果胶是中层和初生细胞壁的主要成分。用电镜观察缺硼的向日葵^[14, 31, 34]和蕃茄^[15]组织, 均发现细胞壁的增厚和中层紊乱度的增加相联系。缺硼症状首先出现在分生组织中, 分生组织的特点就是只有初生细胞壁的合成和伸展。

硼在细胞壁各组间的分配也支持Loomis的模式。Yamanouchi^[29]证明在52种高等植物中, 不溶于水但溶于0.5 mol/L HCl的硼与不溶于水和草酸盐但溶于0.5 mol/L HCl的果胶多糖有显著的相关性。Hu^[27]用化学和酶分组的方法证明, 南瓜叶和烟草培养细胞中, 有约70%的细胞壁硼和果胶结合在一起。Yamauchi等^[38]用果胶酶处理蕃茄叶片得到了硼-多糖复合物。Matoh等^[39]从小萝卜根细胞壁中分离出一种类似果胶的硼-多糖复合物, 约有80%的细胞壁硼和该复合物以四价的1-2硼酸根-二元醇的结构牢固地结合在一起。后来证明, 该复合物为二分子 H_3BO_3 联接的2条单链的鼠李半乳糖醛酸聚糖-II (RG-II)^[40~43], 该复合物是果胶长链中的一段^[44], 它对双子叶植物和非禾本科单子叶植物细胞壁中果胶基质的共价交联起重要作用^[41]。目前, 已在十字花科、豆科、禾本科等7个科24种高等植物中发现了RG-II^[45]。Yamauchi^[38]的研究表明, 硼、钙均和细胞壁中的果胶结合在一起, 对稳定中层的结构起重要作用, 缺硼降低钙和果胶的结合量, 果胶的结构也发生改变。Teasdale等^[30]认为硼、钙在细胞内结合在同一分子的不同结合位点上, 该受体分子只有在同时结合钙、硼后才能被活化。Pellerin^[43]已证明钙离子也是RG-II的组分之一。因此钙硼共同作用维持细胞壁的稳定性^[24, 32]。硼和细胞壁中果胶相结合的观点也很好解释了不同植物对硼的不同需要量。双子叶植物初生细胞壁中含有约1/3的果胶, 而单子叶植物果胶含量很少。因而双子叶植物的需硼量显著高于单子叶植物。同一植物中, 品种间的需硼量与其细胞壁中果胶的相对含量密切相关^[27]。

3 硼对细胞壁酶活性的影响

细胞壁酶具有催化细胞壁各组分的加工、聚合和解聚等功能, 对细胞壁网络结构的形成有主要作用。缺硼对组织水平酶活性的影响研究较多^[46, 47], 但对细胞壁酶活性的影响研究较少。作者待发表的研究结果²⁾表明, 缺硼时, 油菜根系和上部茎细胞壁中的过氧化物酶(POD)活性明显升高。细胞壁中过氧化

2) 杨玉华, 吴礼树, 王运华, 曹享云。硼营养对甘兰型油菜不同品种细胞壁过氧化物酶和IAA氧化酶活性的影响(待发表)。

物酶的主要功能之一是催化细胞壁中的结构蛋白、半纤维素和果胶的交联,从而降低细胞壁的延伸性,控制细胞的生长速度。缺硼条件下,细胞壁的硬化可能与过氧化物酶活性的升高有关。

缺硼时,油菜根系和上部茎细胞壁中的 IAA 氧化酶活性也有所升高²⁾。POD 和 IAA 氧化酶能共同调节内源 IAA 的含量。IAA 在诱导细胞壁的松弛、控制细胞的延伸生长上有重要作用。Bahnsack^[48]发现,根尖的伸长和 IAA 氧化酶活性对缺硼和再供硼有很相似的反应,中断供硼 6~12 h,根内 IAA 氧化酶的活性迅速提高,再供硼时,IAA 氧化酶活性立即下降,但它们对缺硼反应在时间上却有明显不同,在 IAA 氧化酶活性提高前 3 h,伸长生长已受抑制。因此可见,IAA 氧化酶活性的变化可能是缺硼的次生反应。

4 小结

总之,目前的研究结果显示,缺硼对植物细胞壁的影响主要表现在细胞壁结构的完整性上。硼通过与鼠李半乳糖醛酸聚糖-II(RG-II)形成B-RG-II复合物在细胞壁果胶网络的形成上起重要作用。缺硼时,新形成的果胶不能结合到细胞壁中,因此导致细胞壁结构的紊乱。但这仍不能完全解释缺硼时根尖和花粉管伸长的迅速抑制。因而,缺硼时细胞壁结构的改变是否导致其它代谢功能的改变,如酶活性、细胞膜的完整性和功能等,将是今后研究的重点。

参 考 文 献

- Whittington W J. The role of boron in plant growth. II. The effect on growth of the radicle *J Exp Bot*, 1959, **10**: 93~103
- Cohen M S, Albert L S. Autoradiographic examination of meristems of intact boron-deficient squash roots treated with tritiated thymidine *Plant Physiol*, 1974, **54**: 766~768
- Robertson G A, Loughman B C. Reversible effects of boron on the absorption and incorporation of phosphate in *Vicia faba* L. *New Phytol*, 1974, **73**: 291~298
- Kouchi H, Kumazawa K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. II. Effect of boron deficiency on the cellular growth and development in root tips *Soil Sci Plant Nutr*, 1975, **21**(2): 137~150
- Hemberg T. Rooting experiments with hypocotyles of *Phaseolus vulgaris* L. *Physiol Plantarum*, 1951, **4**: 358~369
- Birnbaum E H, Beasley C A, Dugger W M. Boron deficiency in unfertilized cotton (*Glossypium hirsutum*) ovules grown *in vitro* *Plant Physiol*, 1974, **54**: 931~935
- 曹享云, 刘武定, 皮美美. 硼对棉花叶片解剖结构的影响 *华中农业大学学报*, 1988, **7**(3): 251~254
- 周晓峰, 王运华. 硼对棉花叶柄解剖结构的影响 *华中农业大学学报*, 1993, **12**(2): 122~125
- Albert L S. Ribonucleic acid content boron deficiency systems and elongation of tomato root tips *Plant Physiol*, 1965, **40**: 649~652
- Kouchi H, Kumazawa K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. I. Effect of boron deficiency on elongation of root tips and their morphological characteristics *Soil Sci Plant Nutr*, 1975, **21**: 21~28
- Bowen J E, Nissen P. Boron uptake by excised barley roots. I. Uptake into the free space *Plant Physiol*, 1976, **57**: 353~357
- Jenkin M, Hu H, Brown P *et al*. Investigation of boron uptake at the cellular level. In: Barrow N J ed. *Plant Nutrition—from Genetic Engineering to Field Practice*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1993. 157~160
- 李连朝, 王学臣. 水分亏缺对植物细胞壁的影响及其与细胞延伸生长的关系. *植物生理学通讯*, 1996, **32**(5): 321~327
- Hirsch A M, Torrey J G. Ultrastructural changes in sunflower root cell in relation to boron deficiency and added auxin *Can J Bot*, 1980, **58**: 856~866
- Kouchi H, Kumazawa K. Anatomical responses of root tips to boron deficiency. III. Effect of boron deficiency on sub-cellular structure of root tips, particularly on morphology of cell wall and its related organelles *Soil Sci Plant Nutr*, 1976, **22**: 53~71
- Wilson C M. Cell wall carbohydrates in tobacco pith parenchyma as affected by boron deficiency and by growth in tissue culture *Plant Physiol*, 1961, **36**: 336~341
- Yih R Y, Hille F K, Clark H E. Requirement of ginkgo pollen-derived tissue culture for boron and effects of boron deficiency. *Plant Physiol*, 1966, **41**: 815~820

- 18 Dugger W M, Plamer R L. Effect of boron on the incorporation of glucose from UDP-glucose into cotton fibers grown *in vitro* *Plant Physiol*, 1980, **65**: 266~ 273
- 19 Goldbach H, Amberger A. Influence of boron nutrition on cell wall polysaccharides in cell cultures of *Daucus carota* L. *J Plant Physiol*, 1986, **123**: 263~ 269
- 20 Van de Venter H A, Currier H B. The effect of boron deficiency on callose formation and ^{14}C translocation in bean and cotton *Amer J Bot*, 1977, **64**: 861~ 865
- 21 Rajaratnam J A Lowry J B. The role of boron in the oil palm. *Ann Bot*, 1974, **38**: 193~ 200
- 22 Augsten H, Eichorn B. Biochemistry and physiology of the effect of boron in plants *Biol Rundsch*, 1976, **14**: 268~ 285
- 23 Yamanouchi M. The role of boron in higher plants II. The influence of boron on the formation of pectic substances *Bull Fac Agric Tottori Univ*, 1973, **17**: 21~ 27
- 24 Loomis W D, Durst R W. Chemistry and biology of boron *Biofactors*, 1992, **3**: 229~ 239
- 25 Skok J. The substitution of complexing substances for boron in plant growth *Plant Physiol*, 1957, **32**: 308~ 312
- 26 Durst R W, Loomis W D. Substitution of germanium for boron in suspension-cultured carrot cells *Plant Physiol*, 1984, **75S**: 14
- 27 Hu H, Brown P H. Localization of boron in cell walls of squash and tobacco and its association with pectin: Evidence for a structural role of boron in the cell wall *Plant Physiol*, 1994, **105**: 681~ 689
- 28 Matoh T, Ishigaki K, Mizutani M *et al* Boron nutrition of cultured Tobacco BY-2 cells I. Requirement for and intracellular localization of boron and selection of cells that tolerate low levels of boron *Plant Cell Physiol*, 1992, **33** (3): 1135~ 1141
- 29 Yamanouchi M. The role of boron in higher plants I. The relations between boron and calcium or the pectic substance in plants *J Sci Soil Manure Jpn*, 1971, **42**: 207~ 231
- 30 Teasdale R D, Richards D K. Boron deficiency in cultured pine cells: Quantitative studies of the interaction with Ca and Mg *Plant Physiol*, 1990, **93**: 1071~ 1077
- 31 Lee S G, Arnoff S. Investigations on the role of boron in plants III. Anatomical observations *Plant Physiol*, 1966, **41**: 1570~ 1577
- 32 Lorenz O A. Internal breakdown of table beets In: Cornell University Agricultural Experiment Station ed *Memoir* 246 New York: Cornell University, 1942
- 33 Spurr A R. The effect of boron on cell wall structure in celery. *Amer J Bot*, 1957, **44**: 637~ 651
- 34 Stark J R. Effect of boron on the cell wall structure in sunflower *Acta Soc Bot Pol*, 1963, **32**: 619~ 623
- 35 Slack C R, Whittington W J. The role of boron in plant growth III. The effects of differentiation and deficiency on radicle metabolism. *J Exp Bot*, 1964, **15**: 495~ 514
- 36 Jarvis M C. Structure and properties of pectin gels in plant cell wall *Plant Cell Environ*, 1984, **7**: 153~ 164
- 37 Northcote D H. Sites of synthesis of the polysaccharides of the cell wall In: Pridham J B ed *Plant Carbohydrate Biochemistry*. New York: Academic Press, 1974 165~ 181
- 38 Yamauchi T, Hara T, Sonoda Y. Distribution of calcium and boron in the pectin fraction of tomato leaf cell wall *Plant Cell Physiol*, 1986, **27**(40): 729~ 732
- 39 Matoh T, Ishigaki K, Ohno K *et al* Isolation and characterization of a boron-polysaccharide complex from radish roots *Plant cell Physiol*, 1993, **34**(4): 639~ 642
- 40 Kobayashi M, Matoh T, Azuma J. Two chains of rhamno-galacturonan II are cross-linked by borate-diol ester bonds in higher plant cell walls *Plant Physiol*, 1996, **110**: 1017~ 1020
- 41 O'Neill M A, Warrenfeltz D, Kates K *et al* Rhamnogalacturonan-II, a pectic polysaccharide in the walls of growing plant cells, forms a dimer that is covalently cross-linked by a borate ester *J Biol Chem*, 1996, **271**: 22923~ 22930
- 42 Ishii T, Matsunaga T. Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydr Res*, 1996, **284**: 1~ 9
- 43 Pellerin P, Doco T, Vidal S *et al* Structural characterization of red wine rhamnogalacturonan II. *Carbohydr Res*, 1996, **290**: 183~ 197
- 44 Thomas J R, Darvill A G, Albersheim R. Isolation and structural characterization of the pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II from walls of suspension-cultured rice cells *Carbohydr Res*, 1989, **185**: 261~ 277
- 45 Matoh T, Kawaguchi S, Kobayashi M. Ubiquity of a borate-rhamnogalacturonan II complex in the cell walls of higher plants *Plant Cell Physiol*, 1996, **37**: 636~ 640
- 46 彭青枝, 皮美美, 曹享云等. 硼对油菜不同品种酶活性和根系活力的影响 *植物营养与肥料学报*, 1996, **2**(3): 233~ 237
- 47 曹享云, 刘武定, 皮美美等. 对缺硼反应不同的油菜品种根系活力和酶活性的差异 *中国油料*, 1997, **19**(2): 19~ 21
- 48 Marschner H 著. 高等植物的矿质营养 曹一平, 陆景陵等译 北京: 北京农业大学出版社, 1991 196~ 197