

马铃薯脱毒苗培养过程中内源激素变化规律研究

肖关丽, 郭华春, 刘鸿高, 沙本才, 林 春

(云南农业大学农学与生物技术学院, 昆明 650201)

摘要: 在马铃薯脱毒试管苗培养过程中, 对其生长发育特性进行观察及对内源激素进行测定, 结果表明: 在培养的 30 d 内, 随着植株高度、数、根长、根数、茎叶干重及根干重的不断增加, 内源激素也呈现有规律变化, ABA 在培养至 20 d 达峰值, 以后均保较高含量水平; CTK 在培养前 20 d 含量基本不变, 20~30 d 含量剧增; 而 IAA 在培养的 30 d 内, 含量是不断增加的。

关键词: 马铃薯脱毒苗; 组织培养; 生长发育; 内源激素

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1672-3635 (2003) 02-079-03

1 前 言

植物组织培养过程中, 内源激素对培养物的发展起重要影响, 不少科学工作者在一些植物上作过相关报道^[1~5]。马铃薯脱毒培养近年来已成为保持马铃薯优良种性一项有效技术。关于马铃薯内源激素方面的研究, 刘梦芸等做过马铃薯生育期间内源激素的测定^[6,7], 主要研究了内源激素与块茎增大间的关系。对马铃薯脱毒培养过程中内源激素的研究, 居玉玲等研究了内源激素对脱毒微型种薯休眠的影响^[8], 关于其培养过程内源激素的变化未见相关报道。本文报道了脱毒马铃薯组织培养过程中脱毒苗的生长变化及内源激素的变化规律, 为进一步提高脱毒马铃薯的组织培养提供理论依据。

2 材料与方 法

2.1 试验材料

供试品种为合作 88 的脱毒试管苗, 分别培养 10 d、20 d、30 d, 取 5 株对植株高度、叶片数、根长、根数、茎叶干重及根干重进行测定, 同时取 100~500 mg 试管苗迅速称得重并速冻于 20 °C 冰箱待用, 每次 3 个重复。

2.2 组织培养条件

基本培养基为 MS 培养基, 附加蔗糖 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 琼脂 $10\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 光照时间 16 h, 光强 3000lx , 温度 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

2.3 内源激素的测定

2.3.1 内源激素测定的种类

对生长素 (Indole³-acetic acid, Auxin, IAA)、细胞分裂素 (Cytodinin, CTK)、赤霉素 (Gibbirellin, GA)、脱落酸 (Abscisic acid, ABA) 进行测定。其中细胞分裂素测定异戊烯核苷 (6-(2-Isopentenyl) adenosine, iPA) 和玉米素核苷 (Ziattiniboside, ZRs) 两类。

2.3.2 内源激素测定方法

采用酶联免疫吸附测定法 (Enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)^[9~12], 试剂盒邮购自南京农业大学农学系植物激素研究室。

2.3.3 激素的提取和纯化

称取样品 100~500 mg (准确至 0.1 mg), 分三次加入预冷的 80% 甲醇共 3 ml, 在弱光下分次冰浴研磨, 匀浆液倒入离心管中, 于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 5000 rpm 离心 10 min, 倒出上清液, 残渣加 0.5 ml 80% 甲醇再离心一次, 合并上清液, 过 C_{18} 胶柱, 过滤液即可用于免疫测定。

2.3.4 免疫测定

IAA、ABA 免疫测定: 样液→甲酯化→氮气吹干→稀释缓冲液溶解→IAA 或 ABA ELISA。

CTK 免疫测定: 样液→氮气吹干→稀释缓冲

收稿日期: 2002-11-28

项目基金: 云南省科技厅主任基金, 项目编号: 2000C008R。

中国知网 <https://www.cnki.net> 肖关丽, 郭华春, 刘鸿高, 沙本才, 林春, 云南农业大学讲师, 主要从事作物生理教学与研究工作。

液溶解→CTK ELISA。

3 结果与分析

3.1 马铃薯脱毒苗培养过程生长发育变化

从表 1 可以看出, 在马铃薯脱毒苗培养过程中, 其植株高度、叶片数、根长、根数、茎叶干重、根干重都不同程度地得到增加。其中, 植株高度、根长、根数在前 20 d 增长快, 后面 10 d 增幅较小, 而叶片数、茎叶干重、根干重则是在整个培养过程不断增加的, 总趋势是前 20 d 培养苗的形态变化较大, 而后 10 d 则主要以物质积累为主。

3.2 马铃薯脱毒苗培养过程内源激素变化

从表 2 可以看出, 在马铃薯脱毒苗培养过程, 不同的内源激素, 其变化是不同的。IAA 在整个培养过程中是不断增加的, ABA 是在前 20 d 基本已达峰值, 后 10 d 一直维持这个比较高的含量水平, CTK 则是在前 20 d 增加很少, 在后 10 d 合成剧增, 含量可达第 20 d 的近 5 倍。

培养后期主要是细胞的物质充实时期, 所以总体表现出干重的增加。

b. 在马铃薯脱毒苗的培养过程中, 伴随植株的生长变化情况, 各种内源激素也在不断合成, 但各自积累的规律不相同。IAA 在整个培养过程中不断增加, ABA 在前 20 d 基本已达峰值, 后 10 d 维持前的高含量水平, CTK 是在前 20 d 含量增加很少, 在后 10 d 合成剧增。

c. 马铃薯脱毒苗的生长发育与内源激素变化关系密切。细胞的增殖、生长主要和 IAA 的合成有关, 而后期物质积累与转化则需要 IAA、CTK 的合成与高水平的 ABA, 它们对养分具有调集作用。说明马铃薯脱毒苗的生长发育是在内源激素的协同作用下完成的。

参 考 文 献

[1] Hirishi Kamada and Hiroshi Harada. Changes in the endogenous levels and effects of abscisic acid during somatic embryogenesis of *Daucus carota* L [J]. *Plant and Cell Physiol.* 1981, (22) 8: 1423-1429.

[2] Nora A Choveaux and J Van Staden. The effect of 1-naphthaleneacetic acid on the endogenous cytokinin content of aseptically cultured bark segments of *Salix babylonica* [J]. *Plant and Cell Physiology*, 1981, 7 (2): 1207-1214.

[3] 郑均宝, 梁海永, 王进茂等. 杨和苹果离体茎尖培养和愈伤组织分化与内源 IAA、ABA 的关系 [J]. *植物生理学报*, 1999, (25) 1: 80-86.

[4] 肖美丽, 杨清辉, 李富生等. 甘蔗愈伤组织分生绿苗内源激素变化规律研究 [J]. *西南农业大学学报*, 2002, 4: 337-339.

[5] 郭延平, 李嘉瑞. 多效唑对猕猴桃离体试管苗生长及内源激素的影响 [J]. *园艺学报*, 1994, 21 (1): 26-30.

[6] 刘梦芸, 蒙美莲, 门福义等. 马铃薯生育期间内源激素的变化 [J]. *马铃薯杂志*, 1996, 4 (10): 197-202.

[7] 刘梦芸, 毛雪飞, 门福义等. 马铃薯块茎内源激素的变化与块茎增大生长的相关性 [J]. *华北农学报*, 1997, 12 (2): 86-92.

[8] 居玉玲, 古瑜, 王炳君等. 马铃薯脱毒微型种薯打破休眠的研究 [J]. *华北农学报*, 2001, 16 (4): 36-41.

[9] 吴颂如, 陈婉芬, 周燮. 酶联免疫法 (ELISA) 测定内源激素 [J]. *植物生理学通讯*, 1988, 5: 53-54.

[10] 段留生, 田晓礼, 白崧等. 异戊烯基腺嘌呤核苷 (iPA) 的间接酶联免疫吸附测定 [J]. *中国农业大学学报*, 1998, 3 (1): 27-32.

[11] 张能刚, 周燮, 吴颂如. 吡啶乙酸间接酶联免疫法的建立 [J]. *南京农业大学学报*, 1990, 13 (1): 116-119.

[12] 丁静, 沈镇德, 方亦雄等. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定 [J]. *植物生理学通讯*, 1979, 2: 27-39.

表 1 马铃薯脱毒苗培养过程生长发育变化

培养天数 (d)	植株高度 (cm)	叶片数	根长 (cm)	根数	茎叶干重 (cm)	根干重 (g)
10	5.1	7.2	2.9	3.2	0.0054	0.0002
20	6.2	9.8	6.1	4.4	0.0110	0.0010
30	6.3	12.4	76	4.6	0.0232	0.0028

表 2 马铃薯脱毒苗培养过程内源激素变化 (nmol·g⁻¹·FW)

培养天数 (d)	IAA	ABA	CTK
10	0.174	0.273	0.105
20	0.198	0.458	0.110
30	0.214	0.456	0.539

4 讨 论

a. 在马铃薯脱毒苗的培养过程中, 植株高度、叶片数、根长、根数、茎叶干重、根干重的增加变化规律不尽相同。培养前期主要是植株高度、根长、根数的增加, 而后期主要是茎叶干重、根干重的增加, 这与细胞生长的规律密切相关, 前期主要是细胞的增殖、长大时期, 所以形态变化较大, 而

DYNAMICS OF ENDOGENOUS HORMONES IN THE COURSE OF IN VITRO CULTURE OF POTATO VIRUS-FREE PLANTLETS

XIAO Guan-li, GUO Hua-chun, LIU Hong-gao, SHA Ben-cai, LIN Chun

(Root and Tuber Crops Research Institute of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

ABSTRACT: During the course of virus-free plantlet culture of potato, the dynamics of endogenous hormones was investigated. Plant height, number of leaves, length of roots, number of roots, dry weight of stem and leaves, and dry weight of roots were increased with culture. At the same time, the endogenous hormones changed with plantlet growth. The content of ABA reached peak when virus-free plantlet had been cultured for 20 days, then the content held high for another 10 days. The content of CTK was low for 20 days, but it increased quickly from the 20th to 30th day. The content of IAA increased continuously in the course of culture.

KEY WORDS: potato virus-free plantlet; tissue culture; growth; endogenous hormones

浙江省台州市路桥区新桥正大筛网厂

马铃薯专业委员会推荐生产厂家 防虫网专业生产厂家

向您提供——农研实验良繁实验系列产品

本厂是以生产农林科研实验繁育良种用品为主的综合性大型定点企业, 历史悠久, 产品畅销全国。目前全国已有近 4000 项科研课题, 2000 余个良种公司、良繁场等单位使用本产品, 深受广大用户的一致好评, 欢迎来函来人洽谈。

尼龙筛网	40 目 1.60 元/m	60 目 1.90 元/m	30 目 1.40 元/m	50 目 1.80 元/m
种子袋	35×24cm 0.45 元/条	45×30cm 0.65 元/条		
	40×60cm 1.05 元/条	48×70cm 1.60 元/条		
塑料标签	4.5×3 160 元/万张			
遮阳网	70% 0.80 元/m			
插地牌	0.40 元/套			

本厂产品质量实行三包, 代办托运, 如需特殊规格, 请提前联系。

厂址: 浙江省台州市路桥区新桥镇凤阳庄路 9 号

电话: 0576-2615684 传真: 0576-2615813

厂长: 夏仙林

开户行: 路桥区农行新桥分理处

邮 编: 318055

手 机: 013906570923

联系人: 徐秀娇

帐 号: 331021089874021731