

马铃薯休眠块茎上芽眼组织休眠机理研究^{*}

王 鹏, 连 勇^{**}, 金黎平

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘 要: 以早熟品种中薯 3 号和加工品种大西洋脱毒试管薯为试验材料, 通过对休眠块茎芽薯分离培养, 研究休眠块茎上芽离体培养后的生长发育变化。初步结果表明, 休眠马铃薯块茎上侧芽停止生长始于匍匐茎生长期, 主要受顶端优势的影响; 顶芽停止生长开始于块茎形成起始, 可能是因为匍匐茎上的细胞分裂中心和代谢重心转移影响; 在块茎休眠过程中顶芽和侧芽不生长主要是受到来自块茎内部因素的抑制; 当芽从休眠块茎上分离出来, 在培养基上能够很快的生长。马铃薯块茎休眠和块茎上芽的休眠可能是两种不同的生理机制所控制。

关键词: 马铃薯; 休眠芽; 顶端优势; 整体休眠

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 04-195-04

1 前 言

马铃薯块茎是由匍匐茎(包括顶芽、侧芽及基部次生组织)膨大而成, 匍匐茎发育时新形成的侧芽均处于不萌动状态。当块茎匍匐茎亚顶端开始膨大时, 顶芽受到抑制停止生长(分生组织没有细胞分裂的发生), 随着块茎的不断膨大, 匍匐茎上的顶芽及其侧芽便被包进块茎中, 形成块茎上的顶芽和侧芽芽眼。块茎收获后芽眼便随块茎整体进入休眠状态, 此时的马铃薯块茎即便给与最适宜的生长条件, 块茎也不能发芽生长, 直至休眠结束块茎才能够发芽生长^[1]。块茎不发芽一直是块茎处于休眠状态的标志, 以往研究马铃薯块茎休眠机理主要是借鉴植物种子休眠的研究结果和研究方法。马铃薯块茎是短缩的肉质茎, 在块茎休眠时期芽眼分生组织停止生长是由于生理休眠还是受块茎休眠的抑制? 芽的停止生长是否是块茎休眠的直接原因? 了解这些问题对进一步研究马铃薯块茎休眠机理以及进而调控块茎休眠是十分重要的。然而, 目前尚未见有关这方面的报道, 本试验在前期研究马铃薯块茎形

成机理的基础上, 以休眠试管薯为材料, 通过对休眠试管薯的芽薯分离培养, 研究芽的休眠原因及休眠芽和休眠薯块整体的关系。

2 材料与方 法

2.1 试验材料

试验材料以早熟品种中薯 3 号及加工品种大西洋 (Atlantic) 试管薯为供试材料。

2.2 试管薯诱导

脱毒试管薯诱导参考连勇报道的方法^[2], 于超净工作台上收取试管薯, 用无菌水冲洗试管薯表面的培养基, 在工作台上凉干, 封存于三角瓶中, 放 4℃冰箱一周备用。

2.3 休眠芽分离培养

在超净工作台上取休眠期试管薯, 在 40 倍解剖镜下分别切取 1~2 mm 顶芽、第一侧芽、第二侧芽, 以整薯为对照, 置入培养基上进行培养。试验设 4 次重复, 每重复 15 个小芽。

培养基: ① MS + 0.5 μMGA₃ + 3% 蔗糖 + 0.6% 琼脂, pH 0.8; ② MS + 3% 蔗糖 + 0.6% 琼脂, pH 5.8。

培养室温度 25℃, 光照 2000 lx。处理 3 d 后观察发芽情况。

2.4 数据收集

接种后第 3 d 起调查芽尖生长情况, 以芽长

* 国家自然科学基金资助项目, 批准号: 30070524

** 通讯作者 Corresponding author .

E-mail: lianyong@mail.caas.net.cn

收稿日期: 2002-04-11

作者简介: 王鹏(1974-), 男, 北京中科院在读博士生。

5 mm 以上作为芽再生或解除休眠的标准调查发芽率。试验数据采用新复极差法进行统计分析。

3 结果与分析

3.1 休眠块茎上各部位芽离体培养均能生长

从图 1 可以看出, 休眠试管薯上的芽被从薯块中分离出来后, 在两种培养基中均能够很快发芽生长。中薯 3 号的顶芽在 0.5 μMGA₃ 的培养基培养 3 d 后便可发芽生长。10 d 发芽率达到 65%, 15 d 发芽生长率已接近 100% (图 1)。第一侧芽、第二侧芽于培养 6 d 后开始发芽生长, 15 d 发芽率分别达 70% 和 20%。大西洋的顶芽、第一侧芽、第二侧芽在离体培养 5 d 后发芽生长, 14 d 发芽生长率分别达到 30%、15%、15%, 26 d 后顶芽发芽率将近 100%, 第一侧芽、第二侧芽达 70% 和 63% (图 2)。而培养在相同培养基上的整体薯块芽眼仍处于深陷状态, 没有萌动迹象发生, 处于深度休眠状态中。

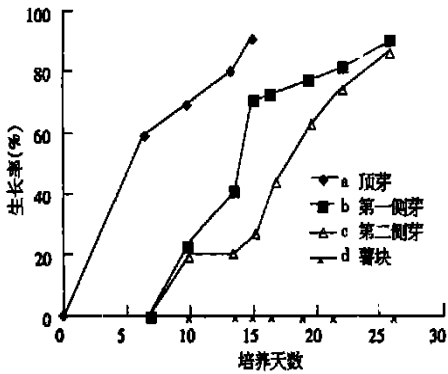


图 1 中薯 3 号不同部位芽在含有 GA₃ 的 MS 培养基上生长率

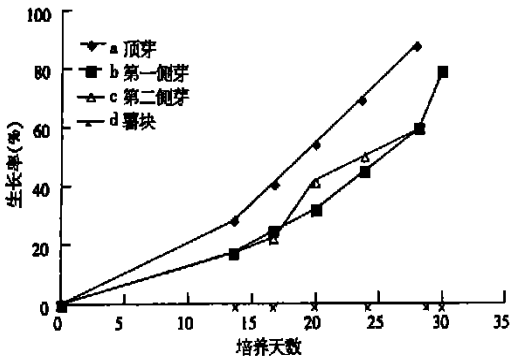


图 2 大西洋不同部位芽在含有 GA₃ 的 MS 培养基上生长率

在不加任何外源激素的 MS (1962) 基本培养基上, 中薯 3 号的顶芽、第一侧芽、第二侧芽在离体培养 8 d 开始生长, 15 d 顶芽发芽生长率达 60%, 第一侧芽、第二侧芽发芽生长率达到 25%、15%, 25 d 后顶芽发芽生长率达 90%, 第一侧芽、第二侧芽生长率也达 55%、40% (图 3)。大西洋的顶芽、第一侧芽、第二侧芽在离体培养 10 d 开始发芽生长, 30 d 后顶芽发芽生长率达 80%, 第一侧芽、第二侧芽发芽生长率也达到 73%、70% (图 4)。同样, 培养在相同培养基上的整体薯块芽眼仍处于深陷状态, 没有萌动迹象发生, 处于深度休眠状态中。

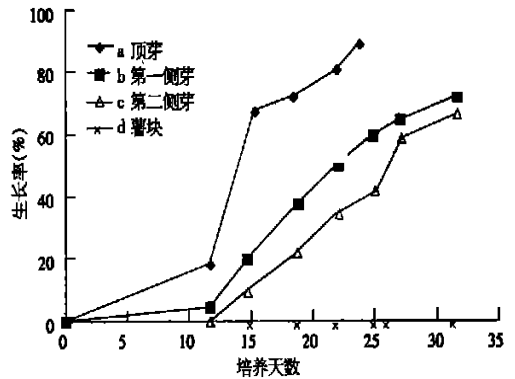


图 3 中薯 3 号不同部位芽在 MS 培养基上生长率

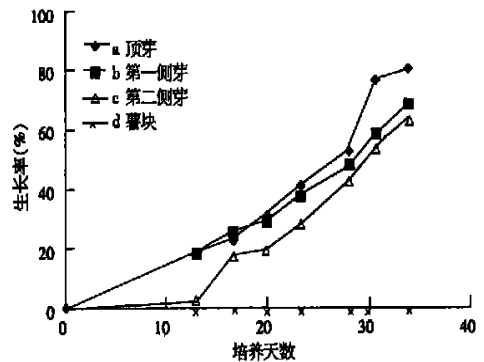


图 4 大西洋不同部位芽在 MS 培养基上生长率

试验结果表明, 芽在适合生长的环境条件下能很快生长, 而休眠块茎给与适宜的条件仍不能生长。说明休眠块茎上的芽没有处于真正意义上的休眠状态 (根据欧盟马铃薯块茎休眠定义), 休眠块茎上的芽不生长是由于受到块茎整体休眠或来自于块茎中某些生长物质的影响。当芽从块茎中分离出来后, 解除了上述因素的限制, 能够很快发芽生长。在块茎形成时, 顶芽、侧芽在块茎进入休眠状

态时, 可能发育状态不同, 顶芽发育较侧芽完全, 离体培养后顶芽优先生长。

3.2 不同部位休眠芽离体培养生长速度不同

从表 1 可以看出, 中薯 3 号休眠块茎芽在含有 0.5 μM GA₃ 培养基上, 顶芽、第一侧芽、第二侧芽和薯块之间, 在培养后第 14 d 时发芽率差异达到显著水平。在不含有任何激素的 MS 培养基上, 顶芽、第一侧芽、第二侧芽和薯块在处理 25 d 时发芽率差异也达到显著水平。大西洋处理芽发芽率均较中薯 3 号晚, 这可能是品种间的差异。顶芽在含 GA₃ 的培养基中, 顶芽发芽率和其它芽差异显著, 第一侧芽第二侧芽发芽生长差异不显著, 但均和薯块发芽率之间差异显著。在不含激素的培养基中, 顶芽和第一侧芽差异并不显著, 第一侧芽和第二侧芽差异也不显著, 但三者均和薯块发芽率差异显著。说明不同部位休眠芽离体培养生长速度不同, 顶芽和侧芽之间发芽率差异可能是由于在块茎进入休眠状态时, 块茎中的顶芽发育最为完全, 而侧芽发育则较不完全, 因此当顶芽及侧芽从块茎中分离后, 发芽率存在差异。

表 1 中薯 3 号不同部位休眠芽离体培养发芽数新复极差比较分析

处 理	差异显著性检验					
	发芽数*		MS+GA		MS	
	MS+GA	MS	5%	1%	5%	1%
顶芽	14	13.5	a	A	a	A
第一侧芽	10.75	8.25	b	B	b	B
第二侧芽	3.25	6	c	C	c	B
块茎	0	0	d	D	d	C

* 在 MS+GA₃ 培养基上发芽数为培养 14 d 统计数; 在 MS 培养基上发芽数为培养 25 d 统计数。

表 2 大西洋不同部位休眠芽离体培养发芽数新复极差比较分析

处 理	差异显著性检验					
	发芽数*		MS+GA		MS	
	MS+GA	MS	5%	1%	5%	1%
顶芽	14.5	12	a	A	a	A
第一侧芽	11	9.75	b	B	ab	A
第二侧芽	10.5	8.56	b	B	b	A
块茎	0	0	c	C	c	B

* 在 MS+GA₃ 培养基上发芽数为培养 26 d 统计数; 在 MS 培养基上发芽数为培养 30 d 统计数。

4 讨 论

马铃薯块茎是由匍匐茎膨大形成, 离体块茎收获后, 有一长的休眠期, 进入休眠状态后, 此时给予块茎合适的生长条件, 短期内也不能发芽生长^[1] (黑暗 15~25 °C 高湿度)。在块茎休眠时, 芽眼组织细胞处于不分裂状态^[3], 组织生长处于停滞状态。没有芽的生长, 此时认为芽也处于休眠状态。休眠马铃薯块茎上侧芽停止生长始于匍匐茎生长期, 主要受顶端优势的影响。顶芽停止生长开始于块茎形成起始, 可能是因为匍匐茎上的细胞分裂中心和代谢重心转移影响。连勇 (2000)^[4] 通过用免疫生物显微技术 (BrdU 标记) 对块茎休眠过程的 DNA 合成进行了跟踪观察, 发现块茎完全形成时 DNA 合成量从顶端分生组织向基部逐渐递减, 推断在进入休眠时, 顶芽发育最为完全。在块茎中顶部可能最先进入休眠状态, 顶芽最先受控于抑制物质, 此后休眠信号垂直向下传递, 因此, 顶芽最先解除休眠, 此后休眠信号通过第一侧芽、第二侧芽最后传导到基部。

在本试验中, 通过从仍处于休眠状态的薯块中分离休眠芽, 在合适的条件下培养, 能够很快的发芽生长, 并且在不加任何促进生长激素的培养基中, 芽也能够很快的发芽生长, 此时对照中的薯块在任何条件下, 均不能发芽生长。说明在块茎休眠过程中顶芽和侧芽不生长主要是受到来自块茎内部因素的抑制, 当芽从休眠块茎上分离出来, 在培养基上能够很快的生长, 可能是休眠块茎中存在有抑制顶芽生长的物质, 正是这种物质的作用, 使顶芽不能生长而处于休眠状态。这种物质的源库及种类目前尚不能确定, 有待进一步研究。当顶芽从块茎中分离出来时, 解除了抑制物质的影响, 侧芽也摆脱了顶端优势的影响, 因此在合适的条件下, 两者均能够很快的发芽生长。由于块茎本身是变态茎, 在形成块茎时, 顶芽发育更完全, 因此, 分离休眠芽后, 顶芽优先开始生长。块茎中存在有许多抑制芽生长的物质, 在激素水平上有 ABA 等, 关于 ABA 对块茎休眠的调控, 近来已有许多讨论, 目前的观点认为 ABA 并不是决定块茎休眠的唯一因素或抑制剂^[5]。对一些种子休眠来说, 休眠或休眠解除可能决定于激素, 而不一定包括抑制剂。研究表明, 休眠还涉及 ABA 以外的因素^[6]。如发现

IAA 可能也参与种子休眠的调控^[7], 在深休眠种子萌发期间 IAA 和 ABA 含量都较低。一些研究认为马铃薯芽的休眠起因于基因组的阻遏^[8], 当用 GA₃ 或 2-氯乙醇处理芽引起基因组的去阻遏, 从而导致与 DNA 有关 RNA 合成。引起基因阻遏的可能是一些蛋白质因子, 这些蛋白因子可和其它代谢产物结合, 从而解除对基因的阻遏, 使块茎解除休眠, 因此这种阻遏蛋白亦可能是块茎休眠解除的抑制物质, 因此可以推测块茎内的抑制物质可能与之有关。

植物的休眠(如种子休眠)与生长抑制是植物生理学的重大理论课题, 对这两种不同的发育机理已有透彻的研究。但这两种机制在马铃薯块茎休眠中的存在, 却可能是一直错误地归纳入休眠这一单一机制控制中, 从我们的研究结果可以初步得出: 马铃薯块茎休眠和块茎上芽的休眠可能是两种不同的生理机制所控制。挫伤能引起马铃薯块茎内源激素的形成从而打破块茎休眠, 然而, 分别研究块茎和块茎上芽的休眠, 避免挫伤打破休眠的试验设计比较困难。本试验休眠块茎上的芽离体培养, 在取芽操作过程中不可避

免的使芽留有伤痕, 有可能造成结论的偏差, 因此, 该结果有待于进一步深入研究验证。

参 考 文 献

[1] Reust W. EAPR working group physiological age of the potato. *Potato Research*, 1986, 29: 268-271.

[2] 连勇编著. 马铃薯脱毒种薯生产技术 [M]. 中国农业科技出版社, 2001, 25-42.

[3] Campbell. Changes in cell cycle status and expression of p^{34cdc2} kinase during potato tuber meristem dormancy. *Physiologia Plantarum*, 1996, 98: 743-752.

[4] Lian Yong, Xu Xuhan, Henk Kieft, Andre M M Van Lammeren, Dick Vreugdenhil. Dormancy of potato tubers: an immunological analysis of DNA synthesis. *International Symposium on Biotechnology Application in Horticultural Crops*, September, 4 ~ 8, 2000, Beijing, China.

[5] Khan A A. *Bot Rev*, 1975, 41, 391-420.

[6] Webb D P and Wareing P F. *Planta*, 1972, 104, 115-125.

[7] Nikolaeva M G. In *Proc Int Symp Seed Physiol Woody Plants*. Kornick, 1968, pp39-44. Publish: Panstowowe, Wydawnictwo, Nankowe, Warszawa.

[8] Tuan D Y H and Bonner. *J Plant Physiol*. 1964, 39, 768-772.

THE PRIMARY RESEARCH OF THE DOMANT MECHANISM ON POTATO TUBER MERISTEM

WANG Peng, LIAN Yong, JIN Li-ping

(Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

ABSTRACT: Using cvs Zhongshu No. 3 and Atlantic as materials, the growth and development of the dormant buds *in vitro* were studied. The lateral buds on the dormant potato tuber stopped growing at the beginning of the growth of the stolon and were affected by apical dominance. The growth of the apical buds was arrested at the beginning of the development of potato tuber. The main reasons are that the center of the cell division and metabolism was transferred. However, it was suggested that, during the potato tuber dormancy, the apical buds and lateral buds on potato tuber were inhibited by internal factors of tuber. After the buds was excised from the potato tuber, they can grow rapidly on the MS medium. The dormancy of the potato tuber and the buds on potato tuber may be controlled by different mechanisms.

KEYWORDS: potato, microtuber, dormancy

会
讯

第五届世界马铃薯大会将于 2003 年 4 月 18 日至 25 日在云南省昆明市召开, 专业委员会现在开始征集会议论文, 要求中英文对照, 请将稿件(须附软盘)年内寄至《中国马铃薯》编辑部。
马铃薯专业委员会