

水培紫花苜蓿的茎段生根过程中内源激素含量变化

蒙海涛¹, 韩清芳^{1,*}, 贾志宽¹, 李子芳², 王莹²

¹西北农林科技大学干旱半干旱农业研究中心, 陕西杨陵 712100; ²天津农学院农学系, 天津 300384

摘要: 检测水培紫花苜蓿茎段生根过程中赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)和脱落酸(ABA)含量变化的结果表明: 离体茎段中, GA₃、IAA和ABA含量大幅度下降。愈伤组织形成前期ABA含量达到一个较高值。愈伤组织和不定根形成时期, GA₃含量保持较低水平; IAA含量上升, 生根期达到最大; ABA含量下降。生根后, GA₃含量仍保持较低水平; IAA含量迅速下降; ABA含量迅速上升。

关键词: 紫花苜蓿; 水培; 赤霉素; 生长素; 脱落酸

Changes of the Endogenous Hormone Contents in Alfalfa Stem Segments during the Rooting Process under Solution Culture

MENG Hai-Tao¹, HAN Qing-Fang^{1,*}, JIA Zhi-Kuan¹, LI Zi-Fang², WANG Ying²

¹The Agricultural Research Center in Arid and Semiarid Areas, Northwest Agriculture & Forestry University, Yangling, Shanxi 712100, China; ²Department of Agronomy, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384, China

Abstract: The changes of the endogenous hormones, which contained GA₃, IAA and ABA, in the alfalfa stem during the rooting process in solution culture were measured. The results suggested that the contents of GA₃, IAA and ABA greatly decreased in the isolated stem segments. Before the callus tissue developed, the contents of ABA reached a relative high point. The contents of GA₃ kept a relative low level during the development of the callus and the adventitious roots; the contents of IAA increased, which reached the highest point during the rooting process; the ABA contents decreased. After radication, the GA₃ content remained on a low point; the IAA contents rapidly decreased; concurrently, the contents of ABA rapidly increased.

Key words: alfalfa; solution culture; GA₃; IAA; ABA

在植物组织水培过程中, 不定根的发生受多种内外因素的影响, 内源植物激素是诱导不定根发生的主导因子。高振生(1994)认为根蘖紫花苜蓿水平根上膨大部位的形与内部赤霉素含量的增加有关, 而肖关丽等(2001)认为甘蔗继代培养绿苗中的内源 GA₁、GA₃ 与生根率呈显著负相关; 秦新民和梁倩华(1996)报道组培白花泡桐茎切段中提出 IAA 含量高峰与其根原基的出现高峰一致。而大多研究认为 ABA 是抑制生根的内源激素。为了探讨内源激素对紫花苜蓿生根的作用, 提高紫花苜蓿扦插成活率, 本文以紫花苜蓿品种 ‘WL-323’、‘牧歌 401’、‘路宝’ 和 ‘超级 13R’ 为材料, 检测其茎段水培生根过程中的内源激素含量变化, 以期能为紫花苜蓿保优传代和加速繁殖, 培育良种, 为提高紫花苜蓿生态环境的适应性提供参考。

材料与方法

紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)茎段取自西北农林科技大学农学院 2000 年种植的首蓿试验基地, 品种有 ‘WL-323’、‘牧歌 401’、‘路宝’ 和 ‘超级 13R’。用“对角线取样法”从田间取样, 于分枝期选择健壮无病虫害的枝条剪取中部茎段。以清水培养, 培养条件为温度 25℃, 湿度 70%。每隔 5 d 采一次样, 直到生根(以第一茎段生根为标准)和生根后 5 d 为止。

植物内源激素提取参照郑均宝等(1991)、姚永宏等(2005)和曾庆钱等(2006)文中的方法。赤霉

收稿 2007-11-23 修定 2008-04-18

资助 陕西省自然科学基金(2006C105)和西北农林科技大学植物育种专项(05YZ019)。

* 通讯作者(E-mail: hanqf88@126.com; Tel: 029-87080168)。

素(GA₃)、生长素(IAA)和脱落酸(ABA)的含量采用岛津(Shimadzu)高效液相色谱仪测定。色谱柱为Hibar RT Lichrospher C18柱(250 mm×4.0 mm, 5 μm), 色谱条件选择流动相为 V_{甲醇}:V_水:V_{乙酸} = 40:59:1, 柱温 35 , 流速 0.80 mL·min⁻¹, 检测波长 254 nm, 进样量 25 μL。各种内源激素标样(标样均为 Sigma 的产品), 在确定的色谱条件下进样, 记录保留时间, 制定标准曲线, 测定标样赤霉素(GA₃)的保留时间 $t_r(9.200 \pm 0.058)$ s, 相关系数 $r=0.9988$, 生长素(IAA)的 $t_r(16.100 \pm 0.080)$ s, $r=0.9982$, 脱落酸(ABA)的 $t_r(25.120 \pm 0.200)$ s, $r=0.9998$; 将经过前处理的样品在同样的色谱条件下进样, 根据标准曲线计算样品中内源激素的含量。数据采用 SASS 和 Microsoft Excel 应用软件统计分析。

结果与讨论

1 紫花苜蓿茎段的生根过程和不同品种茎段的生根率

紫花苜蓿茎段插穗生根属于愈伤组织生根型(牛山等 2007), 经历愈伤组织的产生、发育和不定根的形成过程。茎段扦插后, 先在下切口附近的细胞引起木栓层化, 形成很薄的薄膜来保护伤口和防细菌感染。接着伤口附近的形成层开始分裂成愈伤组织, 进而愈伤组织细胞转化为根原始体, 逐渐形成根原始体的原形成层柱, 继而产生根冠和分生组织等结构, 形成组织上完善的根原始体。根原始体通过细胞的纵向分裂和伸长, 穿出体外形成根。根据我们观察, 紫花苜蓿茎段水培 11 d 时有大量的愈伤组织形成, 不定根的形成基本上为 13~18 d, 愈伤组织产生到不定根的形成大致为 3~5 d。不同品种的愈伤组织形成和生根时间不同(表 1), 4 个品种的生根时间早晚差异最大

表 1 不同品种紫花苜蓿茎段的生根率和生根时间

Table 1 The percentage of rooting and formation of roots in different alfalfa stem segments

品种	50% 愈伤组织形成的时间/d	生根时间/d	生根率/%
'WL-323'	11	15	82
'牧歌 401'	10	13	73
'路宝'	12	16	77
'超级 13R'	13	18	71

为 5 d。生根后第 5 天的生根率从大到小依次为 'WL-323' > '牧歌 401' > '路宝' > '超级 13R'。

2 不同品种紫花苜蓿茎段生根过程中的内源激素含量变化

从图 1~3 可以看出, (1)紫花苜蓿茎段离体时的 GA₃、IAA 和 ABA 含量均表现出大幅度的下降,

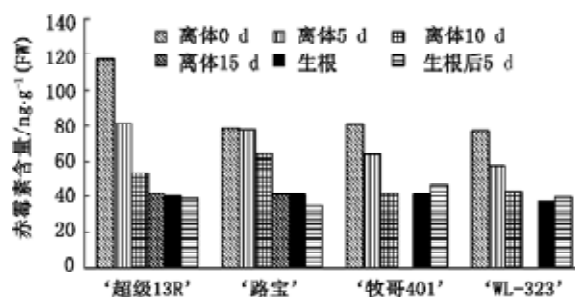


图 1 紫花苜蓿茎段水培生根过程中的 GA₃ 含量变化

Fig.1 Changes of GA₃ contents in alfalfa stem segments

during the rooting process in solution culture

'WL-323' 和 '牧歌 401' 在离体 15 d 和 13 d 就生根, 所以没有离体 15 d 的值。下图同此。

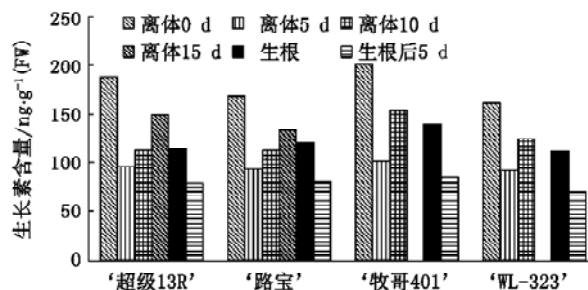


图 2 紫花苜蓿茎段水培生根过程中的 IAA 含量变化

Fig.2 Changes of IAA contents in alfalfa stem segments

during the rooting process in solution culture

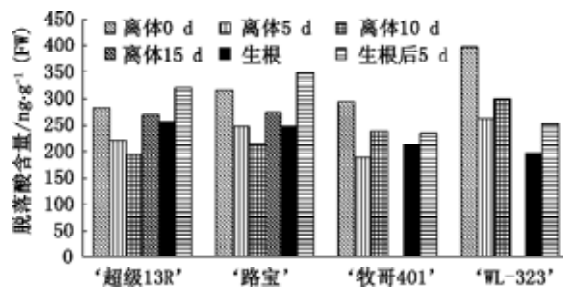


图 3 紫花苜蓿茎段水培生根过程中的 ABA 含量变化

Fig.3 Changes of ABA contents in alfalfa stem segments

during the rooting process in solution culture

可能是植物组织伤口部位过氧化物酶活性增强, 激素和营养物质消耗加速, 以致茎段内源激素含量下降。(2)生根过程中 GA_3 含量均呈下降趋势, 不同品种茎段的 GA_3 含量及其下降速率有一定的差异。从总体上讲, 茎段的 GA_3 含量大小依序为‘超级13R’>‘路宝’>‘牧歌401’>‘WL-323’。一般来讲, 水培10 d后是紫花苜蓿茎段的愈伤组织形成和不定根产生时期, GA_3 含量大幅度下降, 并且直到生根维持一个较低值(图1), 这与低水平 GA_3 有利于不定根形成的观点(肖关丽等2001)相符。(3)不同品种的 IAA 含量在整个生根过程中的变化趋势均为降-升-降。4个品种的 IAA 含量的峰值出现时间不同, 但均在不定根产生前期上升(图2), 其含量的高峰与根原基出现的高峰相一致, 这与生长素是诱导不定根形成的主要因素的观点(秦新民和梁倩华1996)相符。从图2可以看出, ‘WL-323’和‘牧歌401’在水培0~5 d内茎段 IAA 含量下降, 5~10 d回升, 10 d后下降; ‘路宝’和‘超级13R’在水培0~5 d内茎段 IAA 含量下降, 5~15 d内回升, 15 d后下降。(4)不同紫花苜蓿品种茎段水培过程中 ABA 含量变化趋势均为降-升-降, 其中‘WL-323’和‘牧歌401’相近, 水培0~5 d内下降, 5~10 d回升, 10~15 d又开始下降, 生根后变化较小。‘路宝’和‘超级13R’的变化趋势相似, 水

培开始到10 d期间下降, 10~15 d内回升, 随后又下降。所有品种 ABA 含量在不定根形成前期出现一个较高值, 生根期下降(图3), 说明根原基的产生需要一定浓度的内源 ABA, 但生根后 ABA 含量回升。

总之, 根据本文结果得出, 紫花苜蓿茎段扦插生根过程中, IAA 含量的高峰与根原基出现的高峰是相一致的, 低水平的 GA_3 含量和一定浓度的 ABA 含量有利于不定根的形成。

参考文献

- 高振生(1994). 苜蓿根蘖性状遗传及其生理生态的研究[博士学位论文]. 北京: 中国农业大学, 30~36
- 牛山, 韩清芳, 贾志宽(2007). 不同处理对苜蓿扦插生根能力的影响. 西北农业学报, 16 (1): 149~152
- 秦新民, 梁倩华(1996). 白花泡桐不定根发生过程中内源激素和 RNA 的变化. 热带亚热带植物学报, 4 (1): 52~56
- 肖关丽, 杨清辉, 李富生, 杨生超(2001). 甘蔗组培苗继代培养中内源激素与绿苗生根率关系研究. 云南农业大学学报, 16 (4): 271~273
- 姚永宏, 吴全, 李忠林, 邓祖玲, 彭萍, 刘奕清, 孟元祥(2005). 茶树插穗生根过程中内源激素动态变化. 西南农业大学学报(自然科学版), 27 (6): 795~798
- 曾庆钱, 陈厚彬, 鲁才浩, 李建国(2006). HPLC 测定荔枝不同器官中内源激素流程的优化. 果树学报, 23 (1): 145~148
- 郑均宝, 刘玉军, 裴保华, 蒋湘宁(1991). 几种木本植物插穗生根与内源 IAA, ABA 的关系. 植物生理学报, 17 (3): 313~316