

离体玉米茎尖直接形成雌、雄花序过程中的内源激素含量变化

李学红^{1,*}, 李冬玲¹, 程贯召¹, 王效忠¹, 尹小燕², 张举仁²

¹ 潍坊学院生物系, 山东潍坊 261061; ² 山东大学生命科学学院, 济南 250100

用我们实验室建立的离体玉米茎尖培养体系(李学红和张举仁 1999), 测定了离体玉米茎尖分生组织直接形成雌、雄花序过程中的内源 ZRs、DHZRs、iPAs、IAA、GA_{1/3}、ABA 的含量变化。玉米(*Zea mays* L.)自交系‘515’的种子经 0.1% HgCl₂ 溶液灭菌后, 置暗箱中萌发。剥取无菌苗(3~4 d 龄)的茎尖分生组织置于含有 500 mg·L⁻¹ 水解酪蛋白、2 mg·L⁻¹ 6-BA 和 3% 蔗糖的改良 MS 培养基上暗培养 40 d。培养期间定期观察玉米茎尖分生组织的生长状况, 并随机取样(重复 3 次), 样品称重后放入液氮中速冻, 置于 -70 °C 的冰箱中保存, 用于测定内源激素含量。

根据我们以前的观察(李学红和张举仁 1999), 玉米自交系‘515’的茎尖分生组织诱导培养 8~10 d 时有不定芽形成, 多数茎尖产生 2~3 个不定芽。25 d 左右时, 外植体上出现微小苞叶, 包围着尚

未伸长或已经伸长的生长锥; 35~40 d 时, 生长锥经过迅速膨大和伸长形成肉眼可见的花序轴, 标志着茎尖分生组织由营养生长转向生殖生长。因此, 实验选取 10~40 d 的离体培养茎尖作内源激素含量测定。以 3~4 d 龄无菌苗的茎尖分生组织为对照, 标记为 0 d。测定内源激素时, 先将样品于液氮环境中研磨成细粉, 加入预冷的甲醇后于冰浴环境中匀浆(需在弱光下操作)。匀浆液于 4 °C 下以 5000×g 离心 10 min, 取上清液定容后置于 -40 °C 冰箱中暗保存备用。取 300 μL 上清液经氮气吹干去除甲醇, 以溶剂(乙酸乙酯)萃取法纯化内源植物激素后用于含量测定。ZRs、DHZRs、iPAs、IAA、ABA 和 GA_{1/3} 试剂盒由南京农业大学植物激素研究室生产, 参照周燮等(1996)文中方法和 ELISA 试剂盒使用说明书。得到如下结果(表 1)。

表 1 玉米自交系‘515’茎尖离体培养过程中的内源激素含量变化

培养时间/d	内源激素含量/pmol·g ⁻¹ (FW)						
	ZRs	DHZRs	iPAs	IAA	GA _{1/3}	ABA	CTKs/IAA
0 (对照)	63.22±49.38	30.01±12.11	81.66±12.59	19.27±5.67	5.78±1.32	痕量	—
10	74.4±34.44	7.7±5.14	10.34±3.37	16.03±0.78	22.08±7.35	0.049±0.006	5.77
20	81.93±44.02	60.37±20.05	33.47±7.72	17.34±1.72	21.07±5.21	0.016±0.012	10.34
25	156.91±45.47	63.49±12.35	63.42±8.66	20.41±7.22	22.02±0.97	0.021±0.014	9.01
30	198.05±91.91	79.53±9.84	51.21±3.34	28.00±3.34	24.56±4.95	0.034±0.012	10.67
35	165.09±10.70	199.27±64.24	42.48±2.32	14.37±6.50	25.42±7.24	0.043±0.011	28.11
40	77.92±29.48	113.41±47.61	65.88±12.20	11.44±6.18	37.31±5.17	0.043±0.012	22.56

1. 离体培养后 30~35 d 细胞分裂素总含量明显增加。离体培养初期(10~20 d), 茎尖分生组织中内源 ZRs、DHZRs 含量较低, 随着培养时间的延长, CTKs 于 40 d、ZRs 和 DHZRs 含量分别于 30 d、35 d 左右达到最高值, 显示 CTKs 可能参与玉米茎尖分生组织生长状态转变的前期调节。iPAs 含量在整个离体培养期内未出现明显的峰值增加, 显示出与茎尖分生组织生长状态转变之间

无直接关系。

2. 茎尖分生组织中的内源赤霉素在整个离体培养过程中持续增加, 培养开始时(0 d), GA_{1/3} 含量很低, 随着培养时间的延长, 内源 GA_{1/3} 含量呈现持续增加趋势, 40 d 时(即花序产生前后)

收稿 2007-05-08 修定 2007-07-06

资助 山东省自然科学基金(Y98D08056)。

* E-mail: elxhong@126.com; Tel: 0536-8785660

增加 6.45 倍。表明培养初期(0~10 d) $GA_{1/3}$ 急剧增加可能与此时茎尖中茎节的轻微伸长有关, 而后期则可能参与促进茎尖分生组织的发育分化, 也就是说与茎尖分生组织由营养生长转向生殖生长有关。

3. 离体培养初期, 茎尖分生组织中内源 IAA 含量逐渐增加, 25~30 d 增至峰值。35~40 d 时开始下降, 此时正是营养生长转向生殖生长期, 显示 IAA 参与茎尖分生组织发育的调控, 但

未显示其与生长状态的转变有直接联系, 它可能是间接参与调控茎尖由营养生长转向生殖生长的。

4. 内源 ABA 的含量变化不明显, 显示其与花序发生没有关系。

参考文献

- 李学红, 张举仁(1999). 离体玉米茎尖培养过程中直接产生雌、雄花序的研究. 中国科学(C 辑), 26 (2): 186~193
- 周燮, 郑志富, 陈溥言(1996). 专一识别脱落酸甲酯的单克隆抗体的制备和应用. 植物生理学报, 22: 284~290