

## 研究报告 Original Papers

初代和继代培养葡萄试管苗的内源 IAA、ZR<sub>s</sub> 和 ABA 含量变化及其与生根的关系李胜<sup>1,\*</sup> 武季玲<sup>1</sup> 李唯<sup>1</sup> 杨德龙<sup>1</sup> 杨宁<sup>2</sup> 曹孜义<sup>1</sup><sup>1</sup>甘肃农业大学生命科学技术学院植物组织培养研究室, 兰州 730070; <sup>2</sup>西北师范大学生命科学学院, 兰州 730070

**摘要** 葡萄品种皇家秋天与藤稔初代试管苗在第10天(根原基发生)时内源 IAA 和 ABA 含量达最低点后上升; ZR<sub>s</sub> 含量达最高值后下降。皇家秋天继代试管苗的 IAA 在第8天(根原基发生)时达最低点, 而后上升达稳定值; ZR<sub>s</sub> 含量达最高值后下降; ABA 含量降至最低点后急剧上升, 在第10天(生根时)达最高值, 持续4d后又下降。藤稔继代苗在第6天(根原基发生)时 IAA 含量最低, 后上升, 持续到第12天后又下降; ZR<sub>s</sub> 含量达最高值后快速下降, 至第12天达稳定状态; ABA 含量达最低值后缓慢上升, 第10天(生根)达最高点后又下降。

**关键词** 葡萄; 试管苗; 内源激素

## Rooting and Changes in Endogeneous IAA, ZRs and ABA Contents in Test-tube Plantlets of Grape from Primary Culture and Subculture

LI Sheng<sup>1,\*</sup>, WU Ji-Ling<sup>1</sup>, LI Wei<sup>1</sup>, YANG De-Long<sup>1</sup>, YANG Ning<sup>2</sup>, CAO Zi-Yi<sup>1</sup><sup>1</sup>Plant Tissue Culture Laboratory, College of Life Science & Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;<sup>2</sup>College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China

**Abstract** The endogeneous IAA and ABA contents in the primarily cultured grape plantlets of both cvs. Huangjiaqiutian and Fujiminori reached the lowest value on 10th day, then ascended. While the endogeneous ZRs content was contrary. In the subcultured plantlets, the IAA content of cv. Huangjiaqiutian achieved the lowest value on 8th day and ascended to the stable value. Meanwhile, the ABA content achieved first the lowest value and ascended sharply to the highest value on 10th day, lasting for 4 days, then descended. For cv. Fujiminori, the IAA content achieved the lowest value on 6th day, then ascended, and descended again, till 12th day. After the ZRs content reached the highest value, then descend to the stable value till 12th day. After achieving the lowest value, ABA content ascended slowly to the highest value on 10th day, then descended.

**Key words** *Vitis vinifera* L.; test-tube plantlet; endogeneous hormone

在植物不同发育阶段, 不同种类的内源激素含量呈规律性的变化, 其效应可决定植物个体发育的正常进行。目前, 有关植物体内源激素变化的报道主要是大田植物, 而对植物组织培养中试管苗内源激素变化的报道则较少, 尤其是试管苗生根与内源激素相关性的报道更少, 已有的报道主要集中在胡桃 (*Juglans nigra*)<sup>[1]</sup>、橡胶树 (*Hevea brasiliensis*)<sup>[2]</sup>、桦树 (*Betula pendula*)<sup>[3]</sup>、栎树 (*Quercus robur*)<sup>[3]</sup>、豌豆 (*Pisum sativum*)<sup>[4]</sup>、美洲杉 (*Sequoia sempervirens*)<sup>[5]</sup>、毛白杨 (*Populus tomentosa*)<sup>[6~8]</sup> 等。为探讨葡萄试管苗离体生根能力与内源激素之间的相互关系, 本文以离体生根能力较

弱的葡萄品种皇家秋天和藤稔为材料, 研究不同继代周期生根能力不同的试管苗内源激素的差异性, 以期能为离体生根的葡萄新品种的微繁殖提供参考。

## 材料与方 法

选用离体生根能力较弱的葡萄 (*Vitis vinifera* L.) 品种藤稔和皇家秋天继代2年的试管苗和初代试管苗为材料。将皇家秋天和藤稔的初代和继代

收稿 2004-05-19 修定 2004-12-20

\*E-mail: lish@gsau.edu.cn, Tel: 0931-7631547

试管苗接种于GS培养基上, 每个处理120瓶, 每瓶接4个双芽茎段。培养条件均为: 光照度为 $45 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ , 光照时间 $16 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ , 温度 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ 。分两组实验, 每组随机抽取60瓶。(1) 接种后, 将60瓶试验材料随机分成3份, 即3个重复, 每个重复20瓶。每12 h观察统计皇家秋天和藤稔初代和继代试管苗根原基产生和生根情况。根原基的产生以试管苗双芽茎段基部剪口处及附近有明显膨大为标准; 生根的统计以根长 $\geq 1 \text{ mm}$ 为标准, 生根率=(生根的茎段数/80) $\times 100\%$ ; 根原基产生时间和生根时间分别为从接种后至双芽茎段产生根原基和生根高峰点所经历的时间。(2) 接种后2、4、6、8、10、12和14 d随机选取生长健壮无菌的皇家秋天、藤稔葡萄初代和继代试管苗, 每份鲜重0.2 g, 重复3次, 测定IAA、ZRs和ABA 3种内源激素, 测定方法参照文献8和9。

## 结果与讨论

### 1 初代和继代试管苗生根特性的比较

皇家秋天初代试管苗接种后第10天根原基产生, 第12天生根, 生根率为10.3%; 藤稔初代接种后于第10天根原基产生, 第12天生根, 生根率为13.3%; 皇家秋天继代苗于第8天根原基产生, 第10天生根, 生根率为55.7%; 藤稔继代苗在第6天根原基产生, 第8天生根, 生根率为95.6% (表1)。这些说明藤稔和皇家秋天的初代生根能力较继代苗差。

表1 皇家秋天和藤稔试管苗根系启动和生根的比较

Table 1 Root initiation and rooting of test-tube plantlets of grape cvs. Huangjiaqiutian and Fujiminori

品种		根原基产生时间/h	生根时间/h	生根率/%
皇家秋天	初代	240	288	10.3
	继代	192	240	55.7
藤稔	初代	240	288	13.3
	继代	144	192	95.6

### 2 初代和继代试管苗生根过程中内源激素含量的变化

初代皇家秋天与藤稔在第10天(根原基产

生), IAA含量达最低点, 而后上升; 而继代材料皇家秋天在第8天(根原基产生)时达最低点, 而后上升达稳定值; 继代藤稔试管苗在第6天(根原基产生)时含量最低, 而后持续上升到第12天后又下降(图1)。从总体上看, 在根系启动和根原基诱导时, IAA含量较低, 而在根伸长生长时, IAA含量上升, 直至完全生根后含量开始下降至稳定水平, 显示根的启动不需IAA或所需的IAA很少, 而根的伸长生长则需大量IAA。

初代皇家秋天与藤稔的内源ZRs含量在第10天(根原基产生)时达高峰, 而后下降; 皇家秋天的继代苗于第8天(根原基产生)时含量达到最高, 而后下降; 藤稔继代试管苗于第6天(根原基产生)达最高值, 而后快速下降, 第12天时达稳定状态(图2)。

初代皇家秋天与藤稔的内源ABA从开始接种后持续下降, 第10天(根原基产生)时含量达最低点, 而后上升; 皇家秋天继代苗在根原基产生以前与初代苗呈相同的变化趋势, 第8天(根原基产生)时含量降至最低点, 而后急剧上升, 生根时(第10天)达最高峰, 持续4 d后下降; 藤稔继代试管苗从开始接种后含量缓慢下降, 第6天(根原基产生)达最低点, 而后缓慢上升, 第10天(生根)达最高点后下降(图3)。由此可以看出, 根系启动阶段需要的ABA少, 或ABA不利于根系启动, 而在根伸长生长阶段则需要一定量的ABA, 或

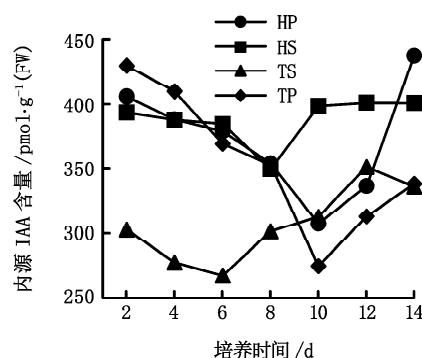


图1 不同生理状态葡萄试管苗的内源IAA含量变化  
Fig. 1 Changes in endo-IAA content in test-tube plantlets of grape indifferent physiological conditions

HP、HS 分别表示皇家秋天葡萄初代培养和继代培养的试管苗; TP 和 TS 分别表示藤稔葡萄初代培养和继代培养的试管苗。图2、3同此。

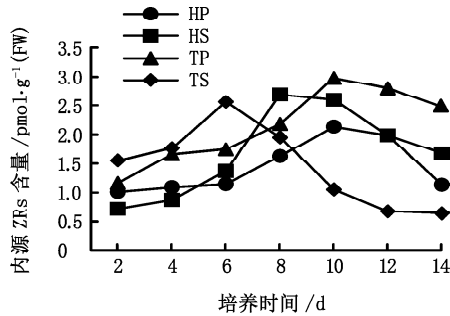


图2 不同生理状态葡萄试管苗的内源ZR<sub>s</sub>含量变化

Fig. 2 Changes in the endo-ZR<sub>s</sub> content in test-tube plantlets of grape in different physiological conditions

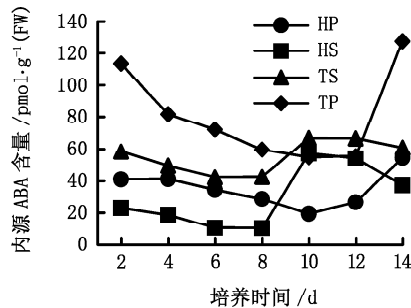


图3 不同生理状态葡萄试管苗的内源ABA含量变化

Fig. 3 Changes in the endo-ABA content in test-tube plantlets of grape in different physiological conditions

ABA 有利于根的伸长生长。

综上所述, 皇家秋天和藤稔的初代与继代试管苗在根系启动阶段, 内源 ZR<sub>s</sub> 含量上升, IAA 与 ABA 含量下降。在胡桃胚容易生根的子叶联结区域细胞分裂素特别是二氢玉米素及其核苷(ZRs)水平高, 而 IAA 和 ABA 水平低<sup>[1]</sup>; 采用绿豆下胚轴<sup>[10]</sup>和补骨脂(*Psoralea corylifolia*)<sup>[11]</sup>诱导生根中发现过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性分别升高, 与生根呈正相关。这可能是根系启动阶段需要较高的氧化态进行物质氧化代谢和大量的氧化酶类的合

成, 而酶蛋白的合成需大量的特殊 tRNA, 部分 ZR<sub>s</sub> 又是 tRNA 的组成成分, 因而 ZR<sub>s</sub> 含量增高, 而对 IAA 与 ABA 无特殊的需求, 所以表现含量较低。而根系伸长生长阶段, 上述 3 种激素的变化则刚好相反。这可能是根系伸长生长不需 ZR<sub>s</sub> 或需要量少, 而需要较高浓度的 IAA 促进根的伸长生长, ABA 也具有类似的效应。

### 参考文献

- 1 Feito I, Gea MA, Fernandez B et al. Endogenous plant growth regulators and rooting capacity of different walnut tissues. *Plant Growth Regul*, 1996, 19(2): 101~108
- 2 Perrin Y, Doumas P, Lardet L et al. Endogenous cytokinins as biochemical markers of rubber-tree (*Hevea brasiliensis*) clone rejuvenation. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1996, 47(3): 239~245
- 3 Marks TR. The role of the shoot apex in controlling rhizogenesis *in vitro*. *Plant Growth Regul*, 1996, 20(1): 57~60
- 4 Koukourikou-Petridou MA, Bangerth F. Effect of changing the endogenous concentration of auxins and cytokinins and the production of ethylene in pea stem cuttings on adventitious root formation. *Plant Growth Regul*, 1997, 22(2): 101~108
- 5 Blazkova A, Sotta B, Tranvan H et al. Auxin metabolism and rooting in young and mature clones of *Sequoia sempervirens*. *Physiol Plant*, 1997, 99(1): 73~80
- 6 Bellamine J, Penel C, Greppin H et al. Confirmation of the role of auxin and calcium in the late phases of adventitious root formation. *Plant Growth Regul*, 1998, 26(3): 191~194
- 7 李胜, 杨德龙, 李唯等. 植物试管苗离体生根的研究进展. *甘肃农业大学学报*, 2003, 38(4): 373~384
- 8 李胜. 葡萄试管苗离体生根机理的研究[博士研究生论文]. 兰州: 甘肃农业大学, 2003
- 9 吴松如, 陈婉芬, 周燮. 酶联免疫法(ELISA)测定内源植物激素. *植物生理学通讯*, 1988, (3): 62~64
- 10 郑成木, 刘进平. 热带亚热带植物微繁殖. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001. 25~31
- 11 Neves C, Sa MC, Amancio S. Histochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> by tissue printing as a precocious marker of rhizogenesis in grapevine. *Plant Physiol Biochem*, 1998, 36(11): 817~824