

文章编号: 1673-9868(2011)08-0021-06

多效唑和温光对马铃薯组培苗 内源激素及微型薯诱导的影响

肖关丽¹, 龙雯虹², 郭华春¹

1. 云南农业大学 农学与生物技术学院, 昆明 650201; 2. 云南农业大学 园林园艺学院, 昆明 650201

摘要: 试验在 MS 基本培养基上设 0 h 15 °C 和 16 h 25 °C 不添加生长调节剂, 16 h 25 °C 添加多效唑(PP₃₃₃) 0.1 mg/L, 0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 共 5 个处理, 研究各处理微型薯诱导及内源激素变化. 结果表明: 在低温黑暗(0 h 15 °C)和培养基中添加 PP₃₃₃ 的高温长日(16 h 25 °C)条件下, 组培苗中赤霉素(GA₃)质量分数在后期下降, 能诱导微型薯形成; 在 16 h 25 °C 不添加生长调节剂的条件下, GA₃ 质量分数较高, 不能形成试管薯. 在培养基中添加 PP₃₃₃ 可抑制组培苗 GA₃ 的合成, 同时诱导试管薯形成, 其微型薯数量和质量均优于 0 h 15 °C 处理条件. 对脱落酸(ABA)和茉莉酸(JA)的测定结果表明: 无论试管薯形成与否, 组培苗内 ABA 和 JA 的质量分数均随组培苗的生育进程呈上升趋势. 因此, GA₃ 下降是微型薯形成的必要条件, PP₃₃₃ 可通过调节内源激素质量分数来逆转高温长日对块茎形成的抑制作用, ABA 和 JA 与组培苗衰老的关系比与块茎形成的关系更为密切.

关键词: 试管薯; 温光; 激素; 多效唑(PP₃₃₃)

中图分类号: S532

文献标志码: A

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)经几代种植后, 茎秆纤弱, 叶片卷曲, 皱缩或花叶, 块茎变形或变小, 薯皮龟裂, 产量下降, 逐步失去种用价值. 目前, 茎尖脱毒培养已成为恢复马铃薯种性的一种常规手段, 针对不同品种通过茎尖脱毒、组培苗培养和诱导微型薯形成后应用于生产实际. 在微型薯诱导过程中, 培养条件如温度、光照和生长调节剂的添加会影响诱导效果, 且与内源激素关系密切. 在马铃薯脱毒培养过程中, 针对不同品种如何有效诱导试管薯形成已有不少研究, 一般采用暗培养, 添加适当外源激素, 在高质量分数蔗糖培养基上转接脱毒茎段即可诱导试管薯形成^[1-5]. 但在生产实际中, 采用暗培养进行微型薯诱导时, 组培苗不能进行光合作用, 块茎形成的营养完全来自于培养基和早期苗体积累, 试管苗缺乏光照, 生长势不强, 甚至会出现白化现象, 最终导致虽然能诱导试管薯的形成, 但试管薯小, 且组织幼嫩, 在网室中培养较为困难. 有关 PP₃₃₃ 在马铃薯组织培养中的应用已有不少研究报道, 但多是在诱导条件下研究其对组培苗生长和块茎形成的影响^[1,6-7], 少见 PP₃₃₃ 对试管薯形成机理的报道. 有关内源激素在马铃薯组培苗生长及微型薯诱导过程中的变化也有不少报道, 赤霉素在块茎形成过程中减少是结薯的重要原因已得到很多研究者的认同. 据 Escalante 等^[8]报道, 在试管薯的诱导过程中,

收稿日期: 2010-06-03

基金项目: 国家马铃薯产业体系资助项目(nycytx-15); 云南省自然科学基金资助项目(2009ZC068M).

作者简介: 肖关丽(1972-), 女, 云南昭通人, 副教授, 博士, 主要从事作物栽培生理研究.

通信作者: 郭华春, 教授.

使用 GA_3 的抑制剂 BAS-111 能使试管薯匍匐茎变短, 结薯数、薯直径和薯质量增加; 而使用 GA_3 却得到相反的结果, 证明了内源 GA_3 的减少是结薯的重要条件. Xu 等^[9] 报道, 在非诱导结薯的条件下, 培养苗中赤霉素(GA_1)保持高水平; 而在诱导结薯的条件下, GA_1 在匍匐茎形成期质量分数上升, 在结薯期下降, 因此认为 GA_1 下降是块茎形成的主导因子, 与 Escalante 等^[8] 的报道一致. Cottle 等^[10] 研究了 ABA 处理对组培苗的影响, 发现在培养基中添加 ABA 后会引引起组培苗与细胞壁木栓化相关的多聚物和过氧化物酶增加, 认为 ABA 可能对块茎形成有作用; 也有研究者认为 ABA 不是块茎形成的主导因子^[11]. Gao 等^[12] 和 Cenzano 等^[13] 认为 JA 与块茎形成有关; 而 Jackson 等^[14] 对组培喷施 JA 后没有诱导块茎形成, 认为 JA 与块茎形成无关. 低温黑暗可诱导试管薯形成, 但诱导效果有待提高, 可通过添加生长调节剂来提高诱导效率. 微型薯诱导与内源激素间的关系密切, 但除赤霉素外, 其他激素与块茎形成的关系有待进一步研究证实. 本试验研究温光条件下 PP_{333} 对马铃薯试管薯诱导的影响及组培苗中内源激素的变化, 探讨 PP_{333} 在马铃薯试管薯诱导过程的作用机理, 明确 ABA 和 JA 对微型薯诱导的作用, 为进一步提高马铃薯试管薯诱导效率提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

合作 88 和大西洋脱毒试管苗.

1.2 培养条件

基本培养基为 MS 培养基, 蔗糖质量分数为 9%, 光强为 6 000 lx. 设 2 个温光处理, 其中 1 个为暗培养 15 °C, 不添加生长调节剂, 记为处理 A; 另一个为 16 h 25 °C, 设不添加生长调节剂和添加 PP_{333} 0.1 mg/L, 0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 共 4 个处理, 分别记为处理 B, C, D 和 E, 每处理培养 30 瓶, 每瓶接种 10 个长约 1 cm 的脱毒苗茎段.

1.3 取样及观察

在组培苗生长过程中, 每隔 7 d 取样 1 次, 对 A, B 和 D 3 个处理随机取 3 瓶, 每瓶取 100~500 mg 组培苗速冻于 -20 °C 冰箱内, 备测内源激素, 培养 3 周时, 每处理取 3 瓶测组培苗高度、根鲜物质量和苗体鲜物质量, 其余组培苗观测结薯所需天数、结薯数和鲜薯质量.

1.4 内源激素 GA_3 , ABA 和 JA 的测定

用酶联免疫吸附测定法对内源激素 GA_3 , ABA 和 JA 进行测定, 操作步骤为每份样品分 3 次加入预冷的 80% 甲醇共 3 mL, 在弱光下分次于冰浴中研磨, 匀浆液倒入离心管中, 于 4 °C, 5 000 r/min 离心 10 min 后倒出上清液, 残渣加 1 mL 80% 甲醇后再离心 1 次, 合并上清液, 过 C_{18} 胶柱, 过滤液用氮气吹干后, 再用磷酸盐缓冲液 (pH=7.5) 溶解用于免疫法测定^[15-16], 试剂盒购自中国农业大学作物化学控制研究室.

1.5 统计分析

内源激素测定结果用 Excel 计算平均数 ± 标准差, 组培苗生长情况和微型薯质量采用 LSD 法进行方差分析和多重比较.

2 结果与分析

2.1 不同培养条件下培养效果比较

2.1.1 不同培养条件下组培苗生长情况

从表 1 可知, 合作 88 和大西洋组培苗在高温长日的 B, C, D 和 E 处理中, 苗高比 A 处理有不同程度的降低, 添加 PP_{333} 的 C, D, E 处理与 A 处理的差异具有统计学意义, 不添加 PP_{333} 的 B 处理略高于 C, D 和 E

处理, 差异不具有统计学意义; 从组培苗的苗质量来看, A 处理的苗质量低于其他处理, 添加 PP₃₃₃ 的 3 个处理, 组培苗质量有不同程度增加, A 处理苗质量与添加较高质量分数 PP₃₃₃ 的处理差异具有统计学意义, 在 B, C, D 和 E 4 个处理中, 以 B 处理的苗质量和根质量最低, 但差异不具有统计学意义. 说明低温黑暗不利于组培苗有机物质的积累, 培养基中添加 PP₃₃₃ 可降低组培苗高度和增加苗体质量.

2.1.2 不同培养条件下试管薯诱导情况

A 处理可诱导试管薯的形成, 且形成试管薯所需时间最短, 大西洋和合作 88 分别只需 21 d 和 14 d 便可形成块茎; B 处理不能诱导试管薯形成. 在高温长日条件下, 培养基内添加不同质量分数 PP₃₃₃ 的 C, D 和 E 处理均可诱导试管薯形成, 合作 88 的 3 个处理诱导试管薯形成的时间均为 21 d, 大西洋 C 处理形成试管薯所需时间较 D 和 E 处理短. 从诱导效果看, D 处理的效果较好, 两品种均表现为试管薯多, 单瓶鲜薯质量高, 与 A 处理鲜薯质量相比, 差异具有统计学意义或高度统计学意义(表 2).

表 1 不同培养条件下组培苗生长情况

培养基	合作 88				大西洋			
	苗高/cm	苗质量/g	根质量/g	总质量/g	苗高/cm	苗质量/g	根质量/g	总质量/g
A	12.30±2.13 aA	0.92±0.24 bA	0.81±0.15 bB	1.73±0.38 cB	12.70±2.86 aA	0.71±0.05 bA	0.67±0.47 aA	1.38±0.48 bA
B	8.80±3.89 abA	1.19±0.40 abA	0.96±0.29 bB	2.16±0.63 bcB	9.60±2.55 abAB	1.07±0.21 abA	0.88±0.04 aA	1.95±0.22 abA
C	7.20±0.36 bA	1.37±0.43 abA	1.33±0.38 bB	2.69±0.81 bcB	8.20±0.72 bAB	1.23±0.14 abA	0.95±0.87 aA	2.19±0.97 abA
D	6.80±1.05 bA	1.51±0.24 aA	1.51±0.24 bB	3.03±0.48 bB	8.00±0.46 bB	1.22±0.35 abA	1.04±0.14 aA	2.26±0.28 abA
E	6.80±0.18 bA	1.47±0.61 aA	6.80±1.18 aA	8.27±1.76 aA	7.20±0.66 bB	1.33±0.54 aA	1.37±0.21 aA	2.69±0.69 aA
	F=3.43	F=2.65	F=101.19	F=53.88	F=5.19	F=1.78	F=1.26	F=2.64

注: 相同字母表示差异不具有统计学意义, 不同小写字母表示 5% 水平差异具有统计学意义, 不同大写字母表示 1% 水平差异具有高度统计学意义. 下同.

表 2 不同培养条件下试管薯诱导情况

培养基	合作 88			大西洋		
	结薯始期 /d	结薯数/(个·瓶 ⁻¹)	鲜薯质量 /g	结薯始期 /d	结薯数/(个·瓶 ⁻¹)	鲜薯质量 /g
A	14	3.00±1.00 bAB	0.35±0.21 bBC	21	4.00±0.73 aA	0.52±0.22 bA
B	—	0.00±0.00 cB	0.00±0.00 cC	—	0.00±0.00 bB	0.00±0.00 cB
C	21	6.00±0.60 aA	0.56±0.15 bAB	28	5.00±2.65 aA	0.64±0.19 abA
D	21	5.00±1.00 abA	0.99±0.38 aA	35	6.00±2.00 aA	0.89±0.26 aA
E	21	5.00±0.40 abA	0.35±0.11 bBC	35	5.00±0.00 aA	0.73±0.22 abA
		F=9.24	F=13.58		F=8.68	F=16.10

注: “—”表示没有试管薯形成.

2.2 不同培养条件下组培苗内源激素 GA₃, ABA 和 JA 质量分数的变化

2.2.1 GA₃ 质量分数的变化

不同培养条件下组培苗内 GA₃ 质量分数的变化规律有差异(图 1), 0 h 15 °C 的 A 处理与高温长日添加了 PP₃₃₃ 的 D 处理在组培生长的后期呈下降趋势, 培养基中不添加 PP₃₃₃ 的高温长日处理(B 处理), GA₃ 质量分数在生长后期保持较高水平. 说明黑暗 15 °C 条件下, 组培苗后期 GA₃ 的合成受抑制, 而高温长日则相反, 培养基中添加 PP₃₃₃ 可抑制组培苗中 GA₃ 的水平.

2.2.2 ABA 质量分数的变化

3 个培养条件下, 组培苗内 ABA 的水平均表现为随组培苗生长, 苗体内 ABA 质量分数上升. 对同一培养时期组培苗内的 ABA 进行比较, 16 h 25 °C 条件下, 添加 PP₃₃₃ 的组培苗内 ABA 质量分数较其他两处理高, 这可能与培养基内添加 PP₃₃₃ 后抑制了组培苗中 GA₃ 的合成有关(图 2).

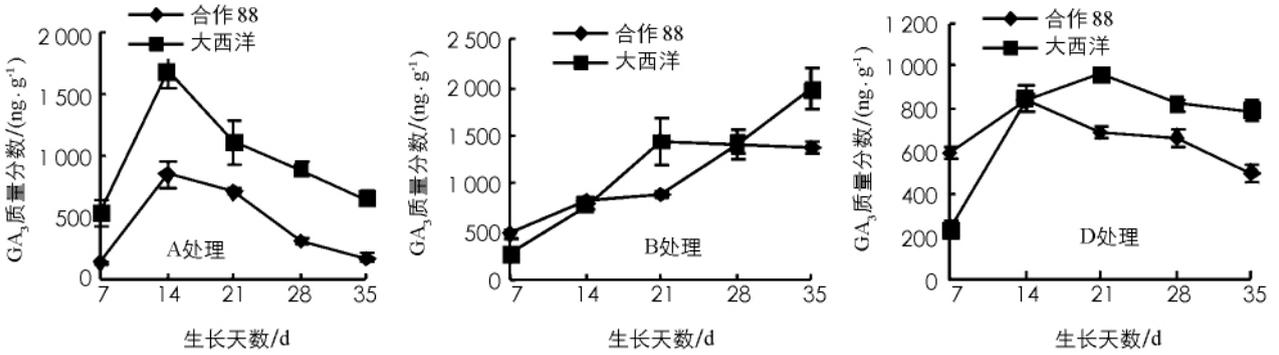


图 1 不同培养条件下组培苗中 GA₃ 质量分数的变化

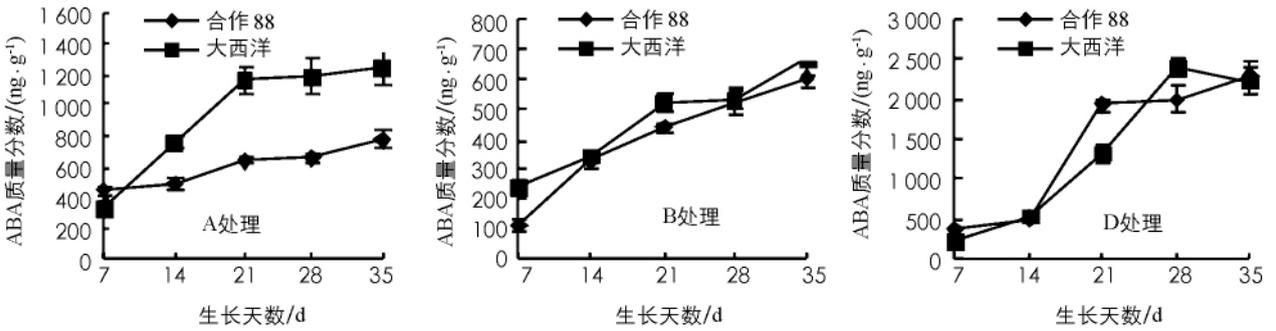


图 2 不同培养条件下组培苗中 ABA 质量分数的变化

2.2.3 JA 质量分数的变化

不同培养条件下组培苗内 JA 质量分数的变化规律与 ABA 的变化规律类似, 随组培苗生长, 组培苗内的 JA 质量分数上升, 在组培苗生长后期, 16 h 25 °C 条件下, 添加 PP₃₃₃ 的组培苗内 JA 质量分数较高, 而其他两个处理组培苗内的 JA 质量分数较低(图 3).

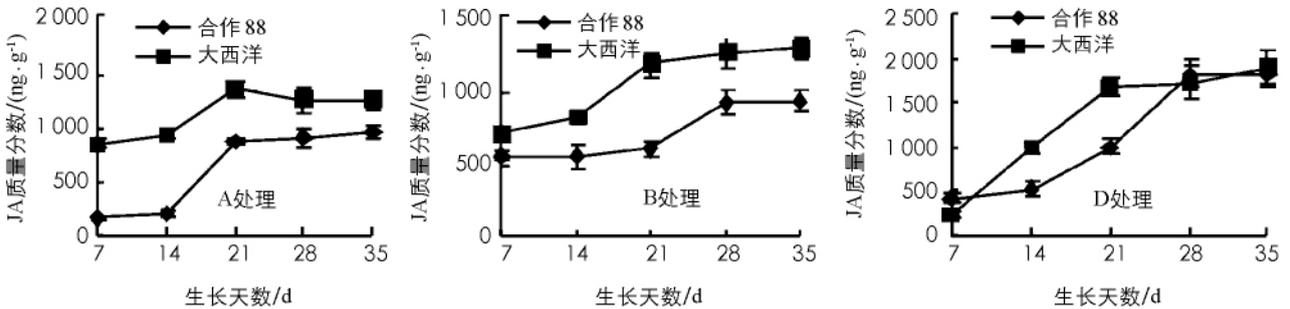


图 3 不同培养条件下组培苗中 JA 质量分数的变化

3 讨论

3.1 温光条件对试管苗生长过程中 GA₃ 的影响及与试管薯形成的关系

试验结果表明, 在低温黑暗(0 h 15 °C)或培养基中添加 PP₃₃₃ 的高温长日(16 h 25 °C)条件下, 组培苗中 GA₃ 的质量分数在后期均下降, 而在不添加 PP₃₃₃ 的高温长日(16 h 25 °C)(非诱导)条件下, GA₃ 的质量分数上升, 说明 GA₃ 在块茎诱导中具有重要作用.

有报道指出, 马铃薯块茎形成受高质量分数的 GA₃ 抑制^[17-19]. 本试验结果表明低温黑暗(0 h 15 °C)条件可诱导试管薯形成, 而高温长日(16 h 25 °C)条件下, 其组培苗长势虽然强于低温黑暗条件, 却不能诱导试管薯形成; 从块茎诱导期(培养 21 d)内源激素的测定结果看, 低温黑暗培养的组培苗中 GA₃ 的质量分数低于 16 h 25 °C 条件下培养的组培苗, 说明低温黑暗对 GA₃ 的合成产生抑制作用, 进而影响块

茎的形成.

3.2 PP₃₃₃ 在高温长日条件下对试管薯诱导的作用

在非诱导条件(16 h 25 °C)下, 培养基中添加 PP₃₃₃ 可诱导试管薯形成, 其原因在于 PP₃₃₃ 对内源激素产生了调控作用. 本试验中添加了赤霉素抑制剂 PP₃₃₃ 后, 组培苗中 GA₃ 质量分数低于对照, 说明 PP₃₃₃ 可调节内源激素质量分数, 尤其是 GA₃ 质量分数, 逆转高温长日对块茎形成的抑制作用.

3.3 温度、光照和生长调节剂对微型薯形成的协同作用

温光条件不仅是诱导试管薯形成的主导因子, 同时对组培苗的生长起重要作用. 黑暗低温虽可诱导块茎形成, 但黑暗抑制了组培苗生长, 使微型薯小、质量差. 光照条件下, 组培苗不仅可以利用培养基内的营养物质, 还可进行光合作用, 使组培苗长势良好. 添加外源激素对块茎诱导进行调控, 既使组培苗有较好的物质积累, 又可诱导其形成数量多、质量高的试管薯.

3.4 内源激素 ABA 和 JA 与组培苗衰老的关系

有关 ABA 和 JA 与块茎形成的关系存在争议, 有报道指出 ABA 和 JA 与块茎形成相关^[10, 12-13], 也有认为与块茎形成无关的报道^[11, 14]. 本研究结果表明无论在诱导还是非诱导条件下, 组培苗内 ABA 和 JA 的质量分数均随组培苗的生育进程呈上升趋势, 说明 ABA 和 JA 与组培苗衰老的关系应比与块茎形成的关系更为密切.

参考文献:

- [1] 张 梅, 孙治军, 杨守军. 多效唑(PP₃₃₃)在马铃薯组培快繁中的应用 [J]. 山东农业科学, 2006(4): 43-44.
- [2] 张 易, 杨 清, 陈 敏. 马铃薯野生种试管微型薯诱导研究 [J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 369.
- [3] 刘玲玲. 光照和培养基类型对马铃薯微型薯诱导结薯的影响 [J]. 黑龙江农业科学, 2004(6): 21-23.
- [4] 罗丽萍, 杨柏云, 蔡奇项. 马铃薯试管微型薯诱导的研究 [J]. 南昌大学学报: 理科版, 2002, 26(4): 372-374.
- [5] 赵佐敏. 马铃薯组培中不同因素对诱导试管薯的影响 [J]. 中国马铃薯, 2005, 19(5): 278-280.
- [6] 张志军, 李会珍, 姚宏亮, 等. 多效唑对马铃薯试管苗生长和块茎形成的影响 [J]. 浙江大学学报: 农业与生命科学版, 2004, 30(3): 318-322.
- [7] HARVEY B M R, CROTHERS S H, EVANS N E, et al. The Use of Growth Retardants to Improve Microtuber Formation by Potato (*Solanum tuberosum*) [J]. Plant Cell Tissue, Organ and Culture, 1991, 27(1): 59-64.
- [8] ESCALANTE B Z, LANGILLE A R. Photoperiod, Temperature, Gibberellin, and an Anti-Gibberellin Affect Tubercization of Potato Stem Segments in Vitro [J]. Hortscience, 1998, 33(4): 590-606.
- [9] XU Xin, van LAMMEREN A A, VERMEER E, et al. The Role of Gibberellin, Abscisic Acid, and Sucrose in the Regulation of Potato Tuber Formation in Vitro [J]. Plant Physiology, 1998, 117(2): 575-584.
- [10] COTTLE W, KOLATTUDUDY P E. Abscisic Acid Stimulation of Suberization: Induction of Enzymes and Deposition of Polymeric Components and Associated Waxes in Tissue Cultures of Potato Tuber [J]. Plant Physiology, 1982, 70(3): 775-780.
- [11] PALMER C E, SMITH O E. Effect of Abscisic Acid on Elongation and Kinetin-Induced Tubercization of Isolated Stolons of *Solanum tuberosum* L [J]. Plant and Cell Physiology, 1969, 10(3): 657-664.
- [12] GAO Xi-quan, WANG Fang, YANG Qing, et al. Theobroxide Triggers Jasmonic Acid Production to Induce Potato Tubercization in Vitro [J]. Plant Growth Regulation, 2005, 47(1): 39-45.
- [13] CENZANO A, VIGLIOCCO A, KRAUS T, et al. Exogenously Applied Jasmonic Acid Induces Changes in Apical Meristem Morphology of Potato Stolons [J]. Annals of Botany, 2003, 91(7): 915-919.
- [14] JACKSON S D, WILLMITZER L. Jasmonic Acid Spraying Does Not Induce Tubercisation in Short-Day-Requiring Potato Species Dept in Non-Inducing Conditions [J]. Planta, 1994, 194(2): 155-159.
- [15] 李宗霆, 周 燮. 植物激素及其免疫检测技术 [M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996: 272-277.

- [16] 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—57.
- [17] KUMAR D, WAREING P F. Factors Controlling Stolon Development in the Potato Plant [J]. *New Phytol*, 1972, 71(4): 639—648.
- [18] SMITH O E, RAPPAPORT L. Gibberellins, Inhibitors, and Tuber Formation in the Potato (*Solanum tuberosum*) [J]. *American Journal of Potato Research*, 1969, 46(6): 185—191.
- [19] GUO Hua-chun, XIAO Guan-li, SHA Ben-cai, et al. Effect of Sucrose Concentrations in Media of Potato Tuber Induction on Endogenous Hormones [C]. Kunming: Proceedings of the Fifth World Potato Congress, 2004: 153—155.

Effects of Temperature, Photoperiod and Pachobutrazol on Tuberization of Micro-Tuber Potato and Endogenous Hormones in the Plants

XIAO Guan-Li¹, LONG Wen-hong², GUO Hua-chun¹

1. College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. College of Landscape and Horticulture, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China

Abstract: Five treatments were set in MS medium, i. e. 0 h 15 °C and 16 h 25 °C without growth regulator addition and 16 h 25 °C with Pachobutrazol(PP₃₃₃) addition at 0, 1, 0.5 and 1.0 mg/L. Tuberization of micro-tuber of potato and change in endogenous hormone levels of the cultured plants in different treatments were studied. The results showed that micro-tuber formation was induced and Gibberellin acid(GA₃) content decreased in later stages of plant growth under 0 h 15 °C condition and 16 h 25 °C with PP₃₃₃ addition; GA₃ content was high and no tuber was formed under 16 h 25 °C (without PP₃₃₃) condition. GA₃ content was inhibited and micro-tuber was induced under 16 h 25 °C with PP₃₃₃ addition and the tuber quantity and quality were better than that of under 0 h 15 °C condition. Content of Absciscic acid(ABA) and Jasmonic acid(JA) increased with plant development regardless of tuber formation. It is, therefore, concluded that decrease in GA₃ content is necessary for tuber formation of potato, PP₃₃₃ can regulate the content of endogenous hormones and eliminate the inhibition of high temperature and long photoperiod, and content of ABA and JA is more closely related to senescence than to tuber formation.

Key words: micro-potato; temperature and photoperiod; endogenous hormone; Pachobutrazol

责任编辑 夏 娟