

IBA 和 NAA 对山杜英组培苗生根过程中内源 IAA、ABA 含量变化的影响

辜云杰¹, 江波²

(1.四川省林业科学研究院, 四川 成都 610081; 2.杜甫草堂博物馆, 四川 成都 610071)

摘要: 本文研究山杜英组培苗生根过程中内源 IAA、ABA 含量变化规律。结果表明, 培养基添加 IBA 和 NAA 后, 在生根过程中内源 IAA、ABA 含量变化类似, 根点出现前内源 IAA、ABA 含量一直上升, 根点出现后含量开始下降, 产生愈伤组织时两种处理的 IAA/ABA 分别是 2.526 和 3.226。在不添加外源生长素情况下, 内源 IAA 含量一直维持在较低水平, 而内源 ABA 含量一直呈现上升趋势, IAA/ABA 始终都在 1.211 以下。

关键词: 山杜英; 内源; IAA; ABA; 根分化

中图分类号: Q945

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2006)03-0025-03

Effects of IBA and NAA on Endogenous IAA and ABA in the Differentiation of Adventitious Root *in Vitro* of *Elaeocarpus sylvestris*

GU Yun-jie¹, JIANG Bo²

(1.Sichuan Academy of Forestry Sciences, Chengdu 610081, Sichuan China; 2.Chengdu Dufu's Thatched Cottage Museum, Chengdu 610071, Sichuan China)

Abstract: The contents of endogenous IAA and ABA in the differentiation of adventitious root *in vitro* of *Elaeocarpus sylvestris* were studied. The results showed that the contents of endogenous IAA and ABA in plantlets *in vitro* treated with IBA and NAA increased before rooting, and then began to decrease when the root was observed; the ratios of IAA to ABA were 2.526 and 3.226, respectively when the calli were visible. Treated without any hormones, the content of endogenous IAA maintained low level, but the content of endogenous ABA increased constantly in root differentiation. Accordingly the ratio of IAA to ABA was under 1.211.

Key words: *Elaeocarpus sylvestris*; endogenous; IAA; ABA; differentiation of adventitious root

IAA 对植物生长和形态建成有着广泛的影响, 已知 IAA 一个非常重要的生理功能就是促进不定根的形成。徐继忠等^[1]认为, IBA 对生根的作用是通过内源 IAA 而起作用的; 朱青松^[2]等在普通烟草髓愈伤组织的培养过程中发现, 外源 NAA 能促进内源 IAA 的合成, 从而有利于根的形成。传统的激素理论认为, ABA 是一种抑制剂, 主要功能是诱导植物器官脱落。但近年来的一些研究表明, ABA 除了抑制生长和促进衰老等生理功能外, 还有很多促进生长的效应, 如诱导种子贮藏蛋白的合成、促进不定根的形成、促进同化物质的输入、诱导植物体细胞胚的发生和发育等^[3]。ABA 促进生根的效应被认为是拮抗赤霉素抑制生根的效果^[4]。内源 IAA 和 ABA 对诱导不定根分化起着十分重要的作用, 但在根分化过程中两者变化趋势并非一致, 而且内源 IAA 和 ABA 含量受多种因素影响, 变化幅度大。不过, 在不同发育阶段 IAA/ABA 比值差异比较小, 这也在一定程度上反映了调节植物生理过程中内源激素的平衡。常永健等^[4]、郑均宝等^[5,6]均认为, 生根率越高, IAA/ABA 比值也越高。在杨树和苹果生根实验中, 杨树继代培养的嫩茎 IAA/ABA 为 1~2 之间, 在无任何生长素的情况下, 生根率高达 90% 以上, 而苹果继代嫩茎中 IAA/ABA 为 0.3~0.4 之间, 在无任何生长素情况下生根率几乎为零^[5]。因此, 用

IAA/ABA 比用 IAA 和 ABA 绝对量作为生根指标更好, 但 IAA/ABA 的相对高或低的数量化指标还有待进一步研究。

为此, 我们以山杜英 (*Elaeocarpus sylvestris*) 组培苗为试材, 探讨生根过程中内源 IAA、ABA 以及 IAA/ABA 的变化。

1 材料与方法

1.1 材料

通过组织培养获得的山杜英离体不定芽。

1.2 方法

1.2.1 材料的培养 取盆栽 3 年生山杜英幼嫩枝条, 剪取约 4~5cm 带腋芽茎段, 先在加有洗衣粉的洗涤液中浸泡 5min, 再用自来水冲洗 2~3h, 然后剪去展开的叶片, 并剪成 1.5cm 左右带芽茎段。在超净工作台上, 用 75% 酒精浸泡 20s, 然后转入 0.1% 升汞溶液中灭菌 8min, 并用无菌水冲洗 5~6 次。将灭菌的茎段接到启动培养基 (MS + BA 2.0mg/L + NAA 0.5mg/L + 蔗糖 3%) 上, 培养 40~50d 后, 将分化出芽的茎段接到增殖培养基 (MS + BA 2.0mg/L + IBA 0.5mg/L + 蔗糖 3%) 上培养, 经过 2~3 代培养后出现丛生芽。选取长势一致的丛生芽分成单株, 转至生根培养基上诱导生根^[7]。

在生根试验基础上, 选取 1/2MS + 蔗糖 2% 作为对照组培养基, 处理组培养基为 (1) 1/2MS + IBA 3.0mg/L + 蔗糖 2%; (2) 1/2MS + NAA 3.0mg/L + 蔗糖 2%。分别取诱导 0、4、8、12、16、20d 的培养材料, 用于测定内源 IAA、ABA 含量。

1.2.2 内源 IAA、ABA 含量测定 采用酶联免疫吸附测定法 (Enzyme-linked immunosorbent assays, ELISA), 参照何种佩^[8]方法进行。

主要仪器和试剂: 10、200 μ l 组合微量进样器 (排枪, 日本 NICHIRYO CO., LTD.), 酶标仪 (北京新风机械厂), L-16G-II 型高速冷冻离心机 (上海安亭科学仪器厂); IAA, ABA 抗原、抗体、标准物及二抗 (购自中国农业大学), 其余药品为分析纯。

测定步骤:

①生长调节剂提取 取不同发育时期的培养材料 1.0~1.5g, 迅速称重、包装、编号后用液氮速冻 10~15min, 放入低温冰箱 (-20°C) 保存。测定前取出, 在样品中加 2ml 样品提取液, 冰浴下研磨成匀浆, 转入 10ml 试管, 40°C 下提取 4h, 4 000rpm 离心 15min, 取上清液。

②样品测定 包被微孔板 → 洗板 → 加标准物 (制标准曲线)、待测样和抗体 → 竞争 → 洗板 → 加二抗 → 洗板 → 加底物显色 → 在酶标仪上记录 490nm 下 OD 值。

③结果计算 以生长调节剂标准样品浓度的自然对数 (以 $\ln[\text{IAA}]$) 为横坐标, 以显色值的 \log_{10} 值为纵坐标绘制标准曲线, 计算样品 OD 值的 \log_{10} 值, 并查标准曲线, 再转换为反对数, 即为样品中生长调节剂浓度 (ng/ml)。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂处理生根能力比较

在处理组 (1) 中, 单苗第 8d 基部开始膨大, 第 12d 出现白色根点, 平均根数为 6; 在处理组 (2) 中, 第 12d 基部开始膨大, 16d 出现白色根点; 对照组没有生根。生根 20d 后统计结果见表 1。

表 1 生长调节剂对生根的影响

代号	培养基(mg/L)	发根率(%)	生根数(条)
(1)	1/2MS + IBA 3.0 + 蔗糖 2%	89	6
(2)	1/2MS + NAA 3.0 + 蔗糖 2%	85	5
(3)	1/2MS + 蔗糖 2%	0	0

2.2 内源 IAA 含量变化

培养材料在培养的各个时期内源 IAA 的含量变化见图 1。从图 1 中可以看出, 处理 (1) 和处理 (2) 曲线变化趋势类似, 只是处理 (2) 中 IAA 含量上升在时间上要滞后一些。处理 (1)、(2) 中, 内源 IAA 含量一开始就上升, 分别在 12d 和 16d 达到峰值, 呈单峰曲线。内源 IAA 含量到达最高值的时间与出现根点的时间一致。在根开始伸长时, 内源 IAA 含量又开始下降。在对照中, 内源 IAA 含量变化

不明显,生根时期内波动很小。以上结果表明,添加外源 IBA 和 NAA,都能显著改变山杜英内源 IAA 含量的变化,从而促进根诱导分化。

2.3 内源 ABA 含量变化

培养材料在培养过程的各个时期内源 ABA 的含量变化见图 2。在处理(1)和处理(2)中,内源 ABA 含量在根开始伸长之前一直上升,之后开始下降;而在对照中内源 ABA 含量一直上升。经 IBA 和 NAA 处理后,内源 ABA 含量与对照相比在出现根后含量显著下降。这可能是因为培养材料刚脱离母体时,内源 ABA 含量开始升高,随着生根的进程,等出现根点时,内源 ABA 含量开始下降,在根伸长时期,内源 ABA 含量维持在较低水平有利于根的伸长。而不经任何外源生长调节剂处理时,材料内源 ABA 含量始终呈现上升趋势,而且含量维持在较高水平,从而不利于根的发生。

2.4 内源 IAA/ABA 值变化

培养材料在培养过程的各个时期内源 IAA/ABA 值变化见图 3。从图 3 中可以看出,在处理(1)、(2)中,IAA/ABA 值都在生根第 16d 最大,处理(1)出现愈伤组织时 IAA/ABA 值为 2.526,处理(2)中出现愈伤组织时 IAA/ABA 值为 3.226,而对照在整个生根时期内 IAA/ABA 值都在 0.811~1.211,变化幅度不大。

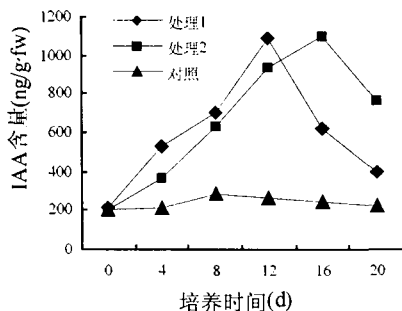


图1 培养过程中内源 IAA 含量变化

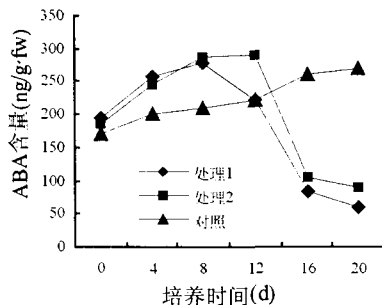


图2 培养过程中内源 ABA 含量变化

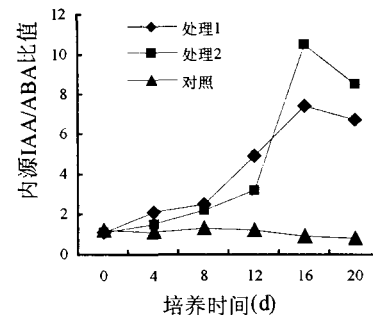


图3 培养过程中内源 IAA/ABA 变化

3 讨论

在山杜英生根培养中分别添加 IBA、NAA 后,平均生根率为 89%和 85%,而在不添加任何外源生长调节剂的情况下几乎没有生根,说明外源生长调节剂能显著提高生根率。究其原因,是在外源生长调节剂作用下,山杜英植物体内的内源 IAA、ABA 及其 IAA/ABA 发生了变化。常永健等^[4]、郑均宝等^[5,6]均认为生根率越高,IAA/ABA 值越大,本研究结果也支持这一结论。在经 IBA 与 NAA 处理后,IAA/ABA 值在出现根点时分别为 4.927 和 10.549,而不使用任何外源生长调节剂时,IAA/ABA 值在整个生根过程中都在 1.211 以下,因而初步判断,促使山杜英生根的 IAA/ABA 值至少应该在 1.211 以上。当然,山杜英生根的 IAA/ABA 临界值还需进一步研究。

参考文献:

- [1] 徐继忠,等. 桃硬枝插条内源激素(ABA、IAA)含量变化对生根的影响[J]. 园艺学报, 1989,16(4): 275-277.
- [2] 朱青松,等. 外源生长素对烟草髓愈伤组织分化和内源 IAA 含量的影响[J]. 北京林业大学学报, 1999,21(1): 22-25.
- [3] 王颖,等. ABA 促进针叶树体细胞胚胎分化[J]. 植物生理学通讯, 2002,38(3): 273-278.
- [4] 常永健,等. 苹果茎尖培养中植物激素与不定根形成关系的研究[J]. 河北农业大学学报, 1991,14(4): 1-5.
- [5] 郑均宝,等. 几种木本植物插穗生根与内源 IAA、ABA 的关系[J]. 植物生理学报, 1991,17(3): 313-316.
- [6] 郑均宝,等. 杨和苹果离体茎尖培养和愈伤组织分化与内源 IAA、ABA 的关系[J]. 植物生理学报, 1999,25(1): 80-86.
- [7] 石大兴,等. 山杜英离体培养植株再生的研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 245-248.
- [8] 何种佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 农业大学出版社, 1993.