

不同激素对马铃薯组培苗生长特性及酶活性的影响

吴晓玲, 姚新灵, 柳金凤

(宁夏大学生命科学学院, 宁夏银川 750021)

摘要: 研究不同激素对比对马铃薯组培苗生长特性和酶活性等的影响, 结果表明, 在试验期间, 以 M2 处理 (MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA) 的马铃薯株高和鲜重最大, 过氧化物酶活力最高, 而 M3 处理 (MS + 0.2 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA) 的植株根数和叶绿素含量最多, 硝酸还原酶活性最高。因此马铃薯组织培养的最佳激素配比为: MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 ~ 1.0 mg/L 6-BA。

关键词: 马铃薯; 组织培养; 激素; 叶绿素; 过氧化物酶; 硝酸还原酶

中图分类号: S532.035.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)01-0085-03

马铃薯的产量和品质对其产业化发展至关重要。生产上绝大多数是利用块茎进行无性繁殖, 而马铃薯生产中普遍存在种性退化现象, 退化植株长势衰弱, 株形矮化, 分枝减少, 薯块变小, 产量逐年下降。造成退化的原因有多种, 综合而言, 主要是薯块生长锥细胞发生阶段性衰老, 导致种性退化, 而病毒和细菌病害的侵染, 以及肥水、营养条件不良等都会加剧其退化程度。研究发现, 有 30 多种病毒感染马铃薯, 并引起品种退化, 严重影响马铃薯生产。因此提高马铃薯产量和质量已迫在眉睫, 植物组织培养技术的发展为此提供了技术支持。

通过微茎尖组织培养技术能使马铃薯脱除病毒^[1]。但许多脱毒苗在组培过程中很难成活, 主要是因为没有找到适宜的培养基配方。所以在马铃薯组培过程中常存在成活率低等的问题。本研究旨在选择马铃薯组培的最佳培养基配方, 并在试验过程中观测马铃薯组培幼苗的生物学特性及生理特性, 为大规模生产马铃薯幼苗提供依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

仪器: 分光光度计、电子顶载天平、研钵、容量瓶、小漏斗、真空泵(注射气筒)、离心机、滴管、移

液管、量筒、试管、保温箱(恒温水浴)、烧杯。

试剂: 95% 乙醇、石英砂、碳酸钙粉、磷酸缓冲溶液、愈创木酚溶液、双氧水、三氯乙酸、亚硝酸钠标准溶液、对氨基苯磺酸溶液、 α -萘胺溶液、硝酸钾异丙醇磷酸缓冲液的混合液。

1.2 材料

试验材料为青薯 215, 于 2004 年 11 月 17 日将带芽马铃薯种到花盆当中, 定期浇水, 备用。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 使用的基础培养基为 MS 培养基。3 种激素: 赤霉素(GA)、萘乙酸(NAA)、细胞分裂素(6-BA), 设 5 种组合。M1: MS + 0.2 mg/L GA + 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA; M2: MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA; M3: MS + 0.2 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA; M4: MS + 0.1 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA; M5: MS + 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA。pH 值均为 5.8, 琼脂 0.8%, 蔗糖 3%。

1.3.2 消毒与接种 配好培养基后, 接种前对马铃薯愈伤组织进行清洗, 灭菌水冲洗 3 次, 用 70% 酒精浸泡 2 ~ 3 min, 灭菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 升汞浸泡 2 ~ 3 min, 灭菌水冲洗 4 次, 放入灭菌好的铺有几层滤纸的培养皿里, 将酒精里浸泡的镊子和解剖刀在酒精灯上反复灼烧灭菌, 待冷却后将外植体植入配好的培养基上, 整个操作必须靠近酒精灯旁, 以免污染。每种处理重复 5 瓶, 每瓶接外植体 5 块。

1.3.3 培养条件 置于 ZRX-1000DC 智能人工气候培养柜(杭州钱江仪器设备有限公司制造)中, 光照 1 500 lx, 12 h 光照, 12 h 黑暗, 相对湿度 70%,

收稿日期: 2006-07-21

基金项目: 国家自然科学基金项目资助(编号: 30160010)。

作者简介: 吴晓玲(1973—), 女, 宁夏同心人, 硕士, 讲师, 从事细胞工程方面的研究和教学工作。Tel: (0951) 2062129; E-mail: wuxiaol@nxu.edu.cn。

供氧充分。

1.4 试验方法及数据统计

试验开始每间隔 2 d 测 1 次株高。鲜重 = 出瓶物鲜重 - 接种时外植体鲜重。用分光光度法测定叶绿素含量^[2], 愈创木酚法测定过氧化物酶活性^[2], 第 42 d 用活体法测定硝酸还原酶活性^[3]。

2 结果与分析

2.1 不同激素比对马铃薯株高的影响

马铃薯组培苗自 22 d 后开始增长缓慢, 说明培养基内的营养成分已经减少。在生长期, 以 M2 处理 (MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA) 植株最高, M3 次之 (图 1)。可能是 M2 处理的激素配比水平可促使细胞分裂、扩大, 使马铃薯茎增粗, 抑制顶芽生长, 抑制衰老, 促进腋芽萌发, 诱导芽的分化^[4]。GA 具有促进植物增高的作用, 但 M1 处理添加了 GA 后, 在后期植株并没有明显增高, 反而低于其他处理, 可能是 GA 促进细胞分裂的作用时间较短, 也可能本试验浓度不适宜。

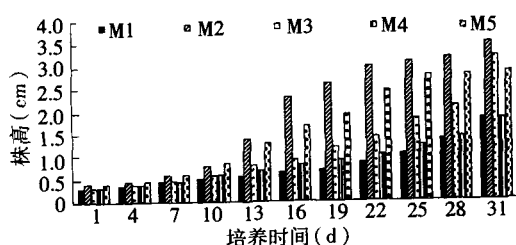


图 1 不同激素比对马铃薯组培苗株高的影响

2.2 不同激素比对马铃薯植株鲜重的影响

由图 2 可知, 不同激素比对马铃薯幼苗鲜重的影响各不相同, 其中以 M2 处理的马铃薯鲜重最高, M3 处理次之, 而 M4 处理最小。这可能是因为 M2 处理的激素配比较适合马铃薯生长, 而 M4 处理的 NAA 浓度较低, 仅为 0.1 mg/L, 使其鲜重最低, 可见适宜浓度的 NAA 在促进马铃薯苗增重方面具有重要作用。试验过程中还发现 M1 处理马铃薯幼苗的叶片数较多, 这可能是因为赤霉素具有促进完整植株生长的作用^[4]。

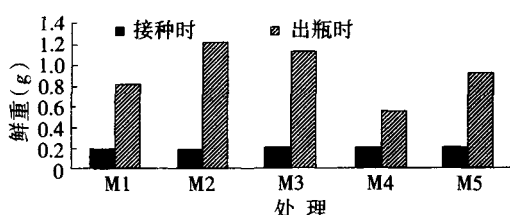


图 2 不同激素比对马铃薯鲜重的影响

2.3 不同激素比对马铃薯根数的影响

由表 1 可知, 在激素 6-BA 浓度相同的情况下, 各处理根数顺序为 M5 = M3 > M2 > M1 = M4, 这说明在一定范围内, NAA 浓度越大根数越多, 这是因为 NAA 起着诱导生根的作用^[4], 而加入赤霉素的培养基中其根数也有明显增加, 这跟赤霉素有刺激器官生长的作用有关^[5], 6-BA 相对 NAA 对马铃薯幼苗根数的影响较小, 且 6-BA 对根的生长一般起抑制作用^[5], 所以随其浓度越大, 增加的根数越少。

表 1 不同激素比对马铃薯根数的影响

培养时间 (d)	马铃薯根数 (条/株)				
	M1	M2	M3	M4	M5
18	3	4	5	4	6
32	6	7	8	6	8

注: 11 月 27 日接种, 12 月 15 日转接, 此间为 18 d, 12 月 29 日取出, 此间共为 32 d。

2.4 不同激素比对马铃薯叶绿素含量的影响

由图 3 可知, M3 处理的马铃薯叶绿素含量最多, 其次为 M5、M1、M2, M4 最低。叶绿素含量越多, 植物光合作用越强, 越有利于植物的生长。茎叶中叶绿素含量与光合强度以及氮素营养也有密切关系。因此, 测定植物叶绿素含量便成为研究植物光合作用与氮代谢必不可少的手段, 在作物育种, 科学施肥, 看叶诊断中有广泛的应用^[6]。5 种培养基内叶绿素含量的差异还与激素配比有着密切关系。加入 6-BA, 能减少叶绿素分解, 延缓叶片衰老^[6], 所以随其浓度增大, 叶绿素含量也增大, NAA 较 6-BA 对叶绿素含量的影响较小。

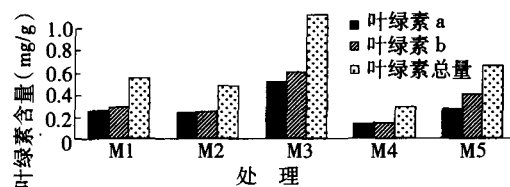


图 3 不同激素比对马铃薯叶绿素含量的影响

2.5 不同激素比对马铃薯叶绿素 a/b 的影响

叶绿素 a/b 的比值高低, 受物种、环境条件等因素的影响。一般耐阴植物叶绿素 a/b 的比值较低, 能强烈地利用蓝光, 适应于阴处生长, 其光合能力较强。由表 2 可知, 不同激素配比的培养基中叶绿素 a/b 值以 M2 处理 (MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA) 最大, M5 (MS + 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA) 处理最小, 说明一定范围内 NAA 和 6-BA

表2 不同激素对比对马铃薯叶绿素 a/b 的影响

处理	M1	M2	M3	M4	M5	F
叶绿素 a/b	0.901	0.949	0.814	0.856	0.703	6.795**

的浓度越大,叶绿素 a/b 值越小,光合能力越低。

2.6 不同激素对比对马铃薯过氧化物酶活性的影响

过氧化物酶在植物体内普遍存在,是活性较高的一种酶。它与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化等有密切关系,在植物生长发育过程中,其活性不断发生变化。因此,过氧化物酶活性可以反映某一时植物体内代谢的变化^[2]。由表3可知,M2处理的过氧化物酶含量最高,达45.00 U/(g·min),说明其对活性氧的清除能力最强,可能是因为M2处理的激素配比活化了马铃薯的酶系统,协调了内源激素水平。而M1处理加入赤霉素,其酶活性仅次于M2,这是因为赤霉素可刺激植物体内生物素的合成^[5]。其他3种培养基过氧化物酶活性相对较低,可能是因为细胞分裂素浓度过高(均为1.0 mg/L),反而抑制了细胞清除活性氧的能力。据报道,细胞分裂素6-BA除有解除顶端优势的作用,促进侧芽生长外,还似乎与生长素有对抗作用^[5]。

表3 不同激素对比下的马铃薯过氧化物酶活性

处理	M1	M2	M3	M4	M5	F
过氧化物酶活性(μg/min)	42.32	45.00	36.82	34.09	35.00	16.95**

2.7 不同激素对比对马铃薯硝酸还原酶活力的影响

硝酸还原酶是氮素同化中的关键酶,它对植物的光合作用和能量代谢均有重要影响。因此,硝酸还原酶是作物营养和选种的双指标^[7]。由图4可知,M3处理硝酸还原酶活性最高,M5次之,其他处理相对较少,说明M3更适合马铃薯再生苗的生长,此时马铃薯对氮素的同化能力最强。而NAA浓度对酶含量影响较小。加入赤霉素的培养基中硝酸还原酶的活性也相对较高,因为赤霉素可以促进许多水解酶的活性,使贮藏物质分解,提供了植物生长所需的物质和能量,也可激活转化酶的活性^[5]。

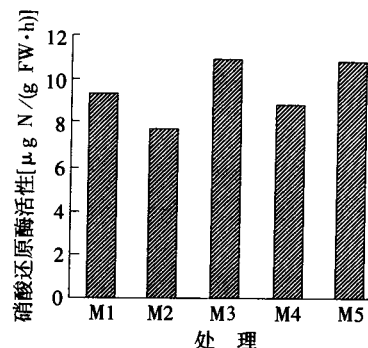


图4 不同激素对比对马铃薯硝酸还原酶活性的影响

3 讨论

各处理马铃薯组培苗株高和鲜重均呈上升趋势,以M2处理(MS+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA)马铃薯植株最高。M3(MS+0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA)、M5处理(MS+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA)植株根数最多,这是因为萘乙酸NAA有诱导生根的作用^[4],其浓度越大,根数越多。M3处理叶绿素含量最多,这是因为6-BA可减少叶绿素分解,延缓叶片衰老,这与刘钟栋的报道一致^[7],随其浓度增大,叶绿素含量越多。因此,M3的激素配比更有利于马铃薯幼苗的生长。M2处理的过氧化物酶活力最大,细胞分裂素6-BA与生长素有对抗作用^[5],而过氧化物酶又与呼吸作用、光合作用及生长素的氧化有密切关系^[2],所以,6-BA浓度越小,过氧化物酶含量越多。M3处理的硝酸还原酶活性最高,对氮素的同化能力最强。

参考文献:

- [1]朱建华,彭士勇.植物组织培养实用技术[M].北京:中国计量出版社,2002:126-127.
- [2]李合生.植物生理生化实验原理与技术[M].北京:高等教育出版社,2000:121-123.
- [3]邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:中国农业出版社,1995.
- [4]潘瑞炽.植物组织培养[M].3版.广州:广东高等教育出版社,2003:151-152,23-27.
- [5]袁文达.园艺植物组织培养[M].上海:上海科学技术出版社,1986:42-43.
- [6]周云龙.植物生物学[M].北京:高等教育出版社,1999.
- [7]刘钟栋.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,1989:79-80.