

试管薯休眠的破除 及内源激素含量变化研究

刘芳, 杨元军*, 董道峰, 王培伦, 马伟清, 陈广侠, 马蕾

(山东农业科学院 蔬菜研究所/山东省设施蔬菜生物学重点实验室/国家蔬菜改良中心山东分中心, 山东 济南 250100)

摘要: 研究马铃薯试管薯休眠的破除及内源激素含量的变化, 以为生产上试管薯休眠破除的方式提供参考。以收获 15 d 的薯引 1 号试管薯为材料, 应用赤霉素和 Rindite 处理破除其休眠。在打破休眠过程中, 测定试管薯的休眠强度、休眠幅度和内源激素含量的变化。结果表明, 10~40 mg 的赤霉素和体积分数 2% 的 Rindite 都可以缩短马铃薯的休眠期, Rindite 可以缩短休眠强度 21 d, 赤霉素可以缩短休眠强度 9~14 d。不同的处理解除休眠时, 内源激素含量的变化趋势不同, 整体上赤霉素处理和 Rindite 处理的 GA 含量高于对照。

关键词: 马铃薯试管薯; 赤霉素; Rindite; 破除休眠; 内源激素含量
中图分类号: S532 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2286(2012)03-0451-04

A Study on Release of Dormancy of Potato Microtuber and Dynamic Changes of Intrinsic Hormones

LIU Fang, YANG Yuan-jun*, DONG Dao-feng, WANG Pei-lun,
MA Wei-qing, CHEN Guang-xia, MA Lei,

(Vegetable Research Institute of Shandong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Installation Vegetable Biology of Shandong Province; Shandong Branch Center of National Center for Vegetable Improvement; Jinan 250100, China)

Abstract: The release of the dormancy of potato microtuber and the changes of intrinsic hormones were studied to provide information for release of dormancy of potato microtuber in production and scientific research. Potato microtubers were treated with gibberellic acid and Rindite to investigate their effect on dormancy release. The dormancy time, sprouting time, intrinsic hormones were measured in this experiment. The result showed that 10-40 mg/L gibberellic acid could shorten dormancy time by 9-14 days, and Rindite reduced dormancy time by 21 days. The dynamic changes in the contents of intrinsic hormones were different in the three treatments. And in whole the GA contents in the gibberellic acid treatment and the Rindite treatment were higher than that of the control.

Keywords: potato microtuber; gibberellic acid; Rindite; dormancy released; intrinsic hormones contents

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是继水稻、小麦、玉米之后的世界第四大作物, 在世界和中国都有着广泛的种植面积。随着近几年来马铃薯产业的迅猛发展, 产业链各个环节都需要高效运转, 作为产业链新源头——试管薯的休眠就需要快速破除。目前对微型薯和生产薯休眠破除的研究比较多。温利君^[1]的研究表明, 12 mg/L 赤霉素浸泡微型薯, 发芽效果最好。李刚等^[2]的研究表明, 一定剂量的 Rindite

收稿日期: 2012-01-31 修回日期: 2012-04-08

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-10-ES10)

作者简介: 刘芳(1979—), 女, 助理研究员, 硕士, 主要从事马铃薯栽培和育种研究, E-mail: liufangcau@163.com;

*通讯作者: 杨元军, 副研究员, 博士, E-mail: yangyuanjun@263.net.cn.

熏蒸试验种薯,可以缩短块茎的休眠期。而对试管薯相关方面的研究较少,王鹏等^[3]的研究表明,沾取 0.014 5 $\mu\text{mol/L}$ 的赤霉素针刺块茎的顶芽、第一侧芽,可以快速打破试管薯的休眠。但是,对不同浓度的赤霉素浸泡效果和 Rindite 处理效果缺乏研究。因此,本试验研究了这两种药剂破除试管薯休眠的效果。并且,测定了它们在破除休眠过程中内源激素含量的变化,以期从激素水平上解释赤霉素和 Rindite 破除休眠的机理,为马铃薯破除休眠的方式提供新的参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验采用收获 15 d 的薯引 1 号试管薯为材料,诱导试管薯培养基:MS 培养基+5 mg/L 6-BA+5 g/L 活性炭,诱导环境:23 $^{\circ}\text{C}$ 、黑暗条件。

1.2 试验方法

赤霉素处理:在 28 $^{\circ}\text{C}$ 下,采用不同浓度的赤霉素浸泡试管薯 15 min (表 1),接着通风干燥 24 h,然后放置于 28 $^{\circ}\text{C}$ 的培养箱内催芽。

Rindite (将二氯乙醇、二氯乙烷、四氯化碳按 7:3:1 的比例混合)处理:温度为 28 $^{\circ}\text{C}$,在 18 L 的干燥器里,采用不同体积分数的 Rindite 处理试管薯 72 h (表 2)。然后通风 24 h,再将其放置在 28 $^{\circ}\text{C}$ 、湿度为 80% 的培养箱内。

每个处理 60 粒,设置 3 个重复。每 3.5 d 统计试管薯的发芽数,计算休眠强度和休眠幅度。从试验处理到 90% 块茎发芽 (芽长 2 mm) 的这段时间为休眠强度,从 10% 的薯块发芽到 90% 的薯块发芽的这段时间为休眠幅度^[4-6]。每周取 3 粒试管薯,液氮冷冻后 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存,以备激素测定。激素测定采用酶联免疫法 (ELISA)^[7],ELISA 试剂盒由中国农业大学化控中心提供。

2 结果与分析

2.1 赤霉素破除休眠的效果

从表 1 可以看出,4 个浓度的赤霉素都可以快速的打破试管薯的休眠,缩短休眠强度 9~14 d,但是各浓度处理间差异不明显。并且处理种薯没有出现腐烂现象。赤霉素处理虽然可以缩短休眠时间,但是,休眠幅度却略有增加。

表 1 赤霉素破除试管薯休眠的效果
Tab.1 The effects of gibberllic acid on microtuber dormancy

赤霉素质量浓度/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Gibberllic acid concentration	浸泡时间/min Soaked time	休眠强度/d Dormancy time	休眠幅度/d Sprouting time
0	15	56	26.5
10	15	47	30
20	15	42	28
30	15	42	24.5
40	15	44	28

2.2 Rindite 破除休眠的效果

表 2 Rindite 破除试管薯休眠的效果
Tab.2 The effects of Rindite on microtuber dormancy

体积分数/% Concentration	处理时间/h Treated time	休眠强度/d Dormancy time	休眠幅度/d Sprouting time	腐烂率/% Rotting rate
0		56	28	0
2	72	35	28	0
4	72			36.20
6	72			69.44
8	72			92.00

低体积分数的 Rindite,可以显著的缩短试管薯的休眠期 (表 2)。2%体积分数的 Rindite 处理时,休眠强度缩短 21 d;但是随着体积分数的升高,试管薯开始腐烂,4%体积分数的 Rindite 处理时,腐

烂率达 36.20%。并且体积分数越高,腐烂越严重,8%体积分数的 Rindite 处理时,腐烂率为 92.00%。

2.3 休眠破除过程的激素变化

对用 10 mg/L 的赤霉素处理和 2%体积分数的 Rindite 处理试管薯休眠破除过程中各种内源激素含量的变化进行了测定。本文中 GA 表示内源赤霉素, IAA 表示内源吲哚乙酸, ABA 表示内源脱落酸。从图 1 可以看出,在休眠破除过程中,3 种处理 GA 含量的变化趋势不同。赤霉素处理后,试管薯的 GA 整体上呈现下降趋势。Rindite 处理后 GA 含量变化不大。而对照处理则是先下降,1 周后趋于平稳,第 5 周后开始上升,然后再下降。另外,在培养过程中,赤霉素处理的薯块和 Rindite 处理的 GA 含量整体上都高于对照处理,尤其是赤霉素处理的 GA 含量明显的高于其它两个处理。

从图 2 可以看出, IAA 的含量变化呈现跳跃式变化。在处理开始时, Rindite 处理和赤霉素处理的试管薯 IAA 含量明显高于对照。另外,3 个处理在跳跃式变化时的峰值、谷值也不同,对照处理的峰值最高, Rindite 处理次之,赤霉素处理的最低;对照处理的谷值为最低。由此可见,对照的峰值高于 Rindite 处理和赤霉素处理,对照的谷值低于 Rindite 处理和赤霉素处理。

3 种处理的 ABA 含量变化趋势在前期基本一致,从第 4 周开始,发生不同的变化对照处理时(图 3)。对照处理的块茎内源 ABA 含量呈现上升趋势,经历了两次波峰, Rindite 和赤霉素处理时经历 1 个完整波峰。在处理起始阶段, Rindite 处理和赤霉素处理与对照处理的 ABA 含量相差不多。但在休眠解除时, Rindite 处理与对照处理的 ABA 含量比较接近,并且与处理起始阶段相比,变化不大,而赤霉素处理的 ABA 含量却很高。

3 讨论与结论

赤霉素和 Rindite 都可以缩短休眠时间, Rindite 效果更显著,可以缩短休眠期 21 d,赤霉素只能缩短休眠期 9~14 d。但是, Rindite 处理时体积分数过高会导致腐烂,所以在应用时一定要控制好用量。而对赤霉素浓度要求的范围比较广泛,在 10~40 mg/L 之间差异不大。赤霉素处理时,不同块茎对赤霉素的感应程度不同,所以虽然休眠强度降低了,但是休眠幅度却升高了^[8]。

在试管薯收获 15 d 到休眠解除这段时间, IAA 的含量最高,在 1 500 ng/g 上下波动, ABA 的含量次之,平均在 300 ng/g, GA 的含量最低,在 12 ng/g 以下。在休眠解除过程中, IAA、GA、ABA 3 种激素都在发生着不同的变化^[9-10]。3 种处理下,块茎内源激素含量的变化趋势不同,可能它们打破休眠的方式不同。在马铃薯自然通过休眠时,赤霉素含量呈现单波峰变化动态,可能是在块茎萌芽前,赤霉素含量需要积累到一定峰值,但在发芽时,它的含量又会下降^[11-12], IAA 含量与 ABA 含量呈现双波峰变化趋势。

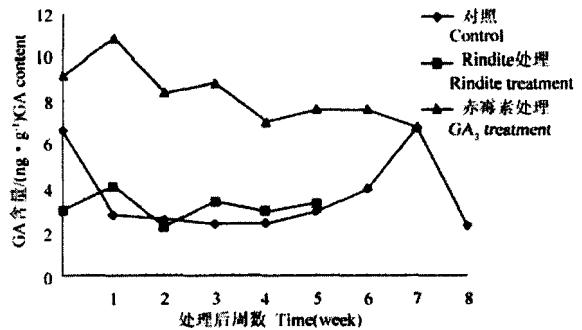


图 1 休眠破除过程中的 GA 含量变化

Fig.1 Changes of GA contents in microtuber dormancy released

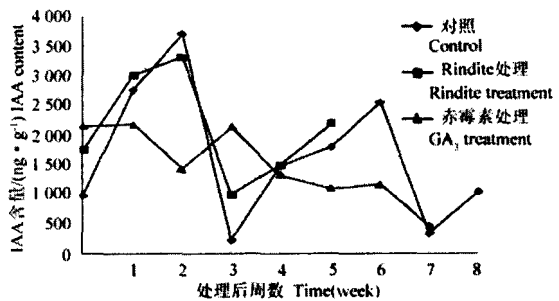


图 2 休眠破除过程中的 IAA 含量变化

Fig.2 Changes of IAA contents in microtuber dormancy released

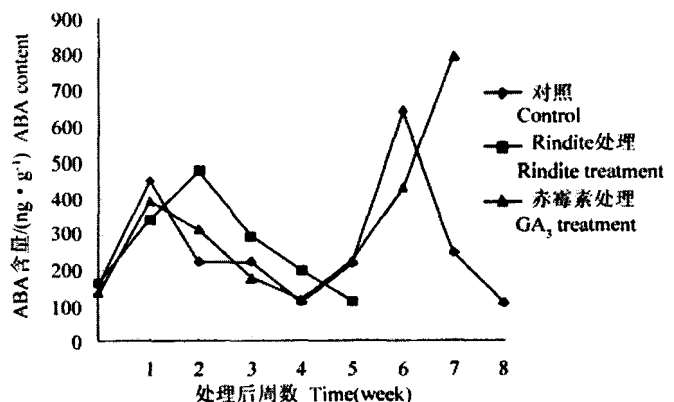


图 3 休眠破除过程中的 ABA 含量变化

Fig.3 Changes of ABA contents in microtuber dormancy released

Rindite 处理时, GA 含量上下波动, 并且整体上高于对照处理, IAA 含量呈现跳跃式下降。赤霉素处理时, 由于直接增加了外源赤霉素浓度, 所以块茎内源赤霉素浓度明显增加^[13]。这两种化学试剂打破休眠时, 赤霉素的含量整体上都高于对照, 而赤霉素通常认为在打破休眠中起着促进芽生长的作用^[14], 这可能是它们快速破除休眠的原因。但是至于赤霉素增加的途径, 是通过直接吸收外源激素还是内部调节产生, 有待于进一步探讨。

马铃薯块茎的休眠受到多种因素的控制, 既有一些生长物质的调控, 又有激酶及一些蛋白因子的调控^[15]。赤霉素是作为生长物质来调控块茎休眠, 而 Rindite 可能作为完全不同的另一类物质来调节休眠。块茎休眠的分子机理是十分复杂的, 涉及到许多的蛋白和基因。休眠和发芽相关的基因大致分为调节基因、与光和能量代谢有关的基因、与外界逆境胁迫相关的基因、与植物激素 (IAA) 相关的基因、未知同源性及功能基因^[15-16]。Rindite 和赤霉素是参与了哪一条途径来打破休眠, 目前还没有搞清楚, 需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] 温丽军,刘君馨,崔金丽,等.早熟马铃薯脱毒微型薯打破休眠的研究[J].河北农业科学, 2007, 11(1): 25-26.
- [2] 李刚,刘汉文,刘常宏. R S 打破马铃薯休眠期效果观察[J].中国马铃薯, 1991, 5(2): 99-102.
- [3] 王鹏,连勇,金黎平.赤霉素解除马铃薯块茎休眠的调控敏感位点初探[J].中国马铃薯, 2002, 16(2):67-69.
- [4] 杨万林,隋启君.马铃薯不同基因型微型薯休眠特性及调控研究[J].山地农业生物学报, 2003,22(1):5- 8.
- [5] 孙茂林,杨万林,李树莲,等.马铃薯的休眠特性及其生理调控研究[J].中国农学通报, 2004, 20(6):81- 85.
- [6] 刘琦,南相日,刘文萍.马铃薯微型薯诱导及打破休眠方法研究[J].农业科技通讯, 2009(8):52-55.
- [7] 王雄,施婷婷,曾荣,等.GA₃ 处理对纽荷尔脐橙留树保鲜果实内源激素变化的影响[J].江西农业大学学报,2010,32(1):57-60.
- [8] 刘芳,杨元军,董道峰,等.马铃薯微型薯休眠破除方法的比较[J].山东农业大学学报, 2011, 42(2): 183-186.
- [9] 屈玉玲,古瑜,王炳君.马铃薯脱毒微型种薯打破休眠的研究[J].华北农学报, 2001,16(4):36-41.
- [10] Sukhova L S, Machckova I, Eder J, et al. Changes in the levels of free IAA and cytokinins in potato tubers during dormancy and sprouting[J].Biologia Plantarum, 1993, 35(3):387-391.
- [11] Jeffrey C, Suttle. Physiological regulation of potato tuber dormancy[J].American Journal of Potato Research, 2004, 81:253-262.
- [12] Bhargava R.Changes in abscisic and gibberellic acids contents during the release of potato seed dormancy[J].Biologia Plantarum, 1997, 39(1):41-45.
- [13] 李秉真,刘梦云,刘奎彬.不同储藏温度下马铃薯的萌芽和内源激素含量的变化[J].植物生理学通讯, 1999, 35(2): 105-107.
- [14] Dick Vreugdenhil. The canon of potato science: 39 dormancy[J].Potato Research, 2007, 50:371-373.
- [15] 张丽莉,陈伊里,连勇.马铃薯块茎休眠及休眠调控研究进展[J].中国马铃薯, 2003, 17(6):352-356
- [16] 司怀军,张宁,王蒂.马铃薯块茎休眠和发芽的分子机理及调控策略[J].中国马铃薯, 2007, 21(2): 104-107.