

红掌叶片离体培养过程中内源激素含量的变化

夏时云¹, 麦瑜玲², 许继勇³, 刘焕新⁴, 郑添群², 林书瀚², 郑少平²

(1. 天津市农业生物技术研究中心, 天津 300384; 2. 汕头市巾疏花卉有限公司, 广东 汕头 515041;

3. 汕头投资建设总公司, 广东 汕头 515041; 4. 天津市花卉产业中心, 天津 300112)

摘要:应用酶联免疫吸附测定法(ELISA)研究了红掌叶片愈伤组织诱导和植株再生过程中内源激素的含量变化。结果表明:内源激素 IAA, GA₃, ABA, ZR 在幼嫩叶片内的含量均较高;而在愈伤组织诱导阶段,4 种内源激素均呈下降趋势;在植株再生过程中,内源 IAA 和 GA₃ 含量继续下降,ABA 和 ZR 含量的变化因品种而异,粉冠军内源含量开始回升,亚历桑娜则继续下降至最低水平;在小苗移栽后,粉冠军的 4 种内源激素含量均急剧回升并保持较高水平,亚历桑娜中内源 IAA 和 GA₃ 含量继续下降至最低水平,而内源 ABA 和 ZR 含量回升保持较高水平。

关键词:红掌; 离体培养; 内源激素

中图分类号:S682.1⁺9; Q813.1⁺3 文献标识码:A 文章编号:1000-7091(2006)03-0016-03

Study on Endogenous Hormones Changes During Leaf *in Vitro* Culture of *Anthurium andraeanum*

XIA Shi-yun¹, MAI Yu-ling², XU Ji-yong³, LIU Huan-xin⁴,
ZHENG Tian-qun², LIN Shu-han², ZHENG Shao-ping²

(1. Tianjin Agricultural Biotechnology Research Center, Tianjin 300384, China; 2. Shantou Zhongshu Flower Company Ltd, Shantou 515041, China; 3. Shantou Investment Constriction General Company, Shantou 515041, China; 4. Tianjin Flower Industrial Center, Tianjin 300112, China)

Abstract: Changes of endogenous hormones during the callus induction and buds differentiation in *Anthurium andraeanum* were studied by ELISA. The results showed that there was high content level of IAA, GA₃, ABA, and ZR in leaflets, while they decreased during callus induction stage. The contents of IAA, GA₃ kept decreasing, ABA, ZR of Ping Champion had increased slightly and that of Arizon were at low level respectively. After the plantlet transplanted, the four endogenous hormones in Pink Champion increased sharply while IAA, GA₃ in Arizon still kept low level and ABA, ZR increased to a high level.

Key words: *Anthurium andraeanum*; *In vitro* culture; Endogenous hormones

红掌(*Anthurium andraeanum*)是国内外著名的观赏花卉。自1974年Pierik首次离体培养红掌取得成功以来^[1],国内外对红掌进行组培快繁的报道已有不少^[2~9],但由于所采用的外植体和培养方法不同,所得结果很不一致,种苗质量也很不稳定。植株生长发育过程与植株内源和外源激素的种类、含量及配比等有密切的关系。Fosket认为,各种愈伤组织分化时,对外源激素的要求不同,主要是受内源激素的影响,但至今未见有关红掌组织培养过程中内源

激素含量变化规律的研究报道。因此,通过研究红掌组织培养不同阶段内源激素含量的变化及调控机理,合理调整培养基中外源激素配比,将有利于获得高质量的种苗。

1 材料和方法

1.1 供试材料

亚历桑娜和粉冠军两个品种刚展开或未完全展开的幼嫩叶片,采用同样的培养基诱导出的发育良

好的愈伤组织以及愈伤组织上再生的小植株和移栽于基质上的成活小植株。以上材料置- 30℃ 冷冻保存, 待测。

1.2 测定方法

按中国农业大学生物技术学院开发的(ELISA)试剂盒所附的测定方法, 提取和测定幼叶及其离体培养各阶段组织内 IAA, GA₃, ABA 和 ZR 4 种内源激素的含量。重复 3 次, 取平均值做统计分析。

2 结果与分析

2.1 内源 IAA 含量的变化

从表 1 可看出, 两个品种在幼叶、愈伤组织及再生植株中内源 IAA 含量呈相似的变化曲线, 即由高到低的过程, 幼嫩叶片的 IAA 含量较高, 而在愈伤组织形成和植株再生阶段 IAA 含量大幅度下降。从 IAA 含量值看, 品种间有明显差异, 前 3 个培养阶段亚历桑娜均远高于粉冠军, 到第 4 个阶段, 即植株移栽成活时, 粉冠军植株体内内源 IAA 含量急剧回升甚至比母株幼叶还高出 74. 6%, 而亚历桑娜仍继续下降, 只相当母株幼叶含量的 1. 8%。

表 1 两个品种在不同阶段内源激素的含量

Tab. 1 Endogenous hormones content at different stages of the two varieties

培养阶段 Culture Stage	品种 Cultivars	IAA	GA ₃	ABA	ZR	ZR/ IAA
母株幼叶 Young leaf	粉冠军	27. 2	44. 9	185. 6	82. 7	3. 04
	亚历桑娜	142. 4	44. 9	205. 6	157. 2	1. 10
愈伤组织 Callus	粉冠军	10. 2	33. 4	34	23. 4	2. 29
	亚历桑娜	99. 7	16. 1	56. 5	100. 9	1. 01
再生植株 Plantlet	粉冠军	8. 7	13. 7	53. 6	41. 9	4. 82
	亚历桑娜	21. 7	14. 5	25. 5	0. 2	0. 01
移栽植株 Transplanted plantlet	粉冠军	47. 3	14. 2	79. 3	88. 1	1. 86
	亚历桑娜	2. 5	9. 1	222. 8	1. 3	0. 52

2.2 内源 GA₃ 含量的变化

由表 1 可看出, 两个品种在 4 个不同阶段内源 GA₃ 含量的变化与 IAA 十分相似, 也都经历了由高到低的过程。在幼嫩叶片中内源 GA₃ 含量最高, 而且两个品种的含量水平近乎一致。随着愈伤组织诱导和再生小植株分化, 内源 GA₃ 含量逐渐下降, 诱导愈伤时的下降幅度更大些, 再生植株中粉冠军 GA₃ 含量又略低于亚历桑娜。到植株移栽成活时, 粉冠军的 GA₃ 含量略有回升, 亚历桑娜则降低到最低点。

2.3 内源 ABA 含量的变化

由表 1 可看出, 虽然品种间在不同培养阶段内源 ABA 含量存在较明显的差异, 但均随着组培过程的延伸, 而呈现高- 低- 高的变化趋势。在愈伤组织诱导阶段, 内源 ABA 含量急剧减少, 只相当于幼嫩叶含量的 12% ~ 27%; 再生植株分化阶段, ABA 含量变化趋缓; 再生小植株移栽时, 其内源 ABA 又很快回升, 亚历桑娜的含量甚至超过母株幼嫩叶, 粉冠军虽然未回升到幼嫩叶的水平, 但也大幅超过另 2 个培养阶段的含量。

2.4 内源 ZR 含量的变化

同内源 ABA 含量的变化趋势相似, 两个品种在不同培养阶段内源 ZR 含量同样经历了高一低一高的变化, 但品种间的含量及变化幅度有极显著差别。粉冠军的幼嫩叶片和移栽成活小植株中的内源 ZR 含量均显著高于愈伤组织和再生植株; 亚历桑娜的 ZR 含量则呈现直线下降, 且变化剧烈, 植株再生阶段只能检出微量, 但在幼嫩叶片和脱分化形成的愈伤组织中含量却显著高于粉冠军, 表明亚历桑娜叶片和愈伤组织中含有大量的内源细胞分裂素。

2.5 ZR/ IAA 比值的变化

红掌在组培过程中不同阶段的内源激素含量是不断变化的, 进而使得 ZR/ IAA 的比值也不断发生变化, 不同的品种间也有较明显的差异。从表 1 可以看出, 粉冠军在 4 个不同阶段 ZR/ IAA 比值远高于亚历桑娜, 特别是在植株再生阶段, 粉冠军 ZR/ IAA 比值高达 4. 82, 而亚历桑娜仅有 0. 009, 这表明在此阶段亚历桑娜内源生长素 IAA 占有绝对优势, 而其内源细胞分裂素含量较少。植株再生阶段 ZR/ IAA 比值较小时, 不利于芽分化, 再生植株少, 为了获得足够的再生植株, 在此阶段应保持较高的细胞分裂素水平。

3 讨论

研究证明, 植物激素几乎参与了植物生长过程中所有生理调节, 包括从组织的生长、分化到种子休眠、果实发育、性别的分化以及衰老、抗逆性等等。自从 1928 年 Went 分离出生长素以来, 植物激素的研究一直很受重视, 研究核心就是激素的生理作用及其机理, 而最终目的则是希望通过调节植物体内激素水平以实现人为控制植物的生长发育。丁静等分析了棉花幼铃中内源激素的变化后发现, IAA 等几种激素水平都随幼铃生长而上升。商慧深研究发

现,棉纤维伸长及干重增加的最快速度与 IAA, ABA, GA₃ 的含量高峰密切相关^[10]。细胞分裂素能够促进细胞分裂生长,促进芽的分化,而植物生长素则促进植物愈伤组织的形成和根的发生,所以,调控植物组织培养过程中细胞分裂素与生长素之间的合理比值,有助于实现各阶段的培养目的,并取得理想效果。

根据对红掌叶片愈伤组织诱导和植株再生过程内源激素含量变化的研究结果,可以归纳为以下几点。

第一,红掌的幼嫩叶片在接种诱导前,其体内的 4 种内源激素含量均较高,表明幼嫩叶片中,在没有外源激素因素影响下,各种内源激素的含量暂时处于一种较高而又稳定的状态。从本试验的结果来看,两个品种中,亚历桑娜的 4 种内源激素均高于粉冠军,叶片中内源 IAA 和 ZR 等激素含量高。在脱分化时,是否也必须添加较高浓度的 IAA 等才能脱分化还需进一步试验。

第二,当叶片诱导产生出愈伤组织时,体内这 4 种内源激素含量均显著下降,这可能与脱分化过程中内源激素的消耗有密切关系。关于随着红掌外植体脱分化愈伤组织形成,内源激素含量下降还未见相关报道。亚历桑娜在诱导出愈伤组织时,仍然含有足够的内源 IAA 和 ABA, ZR, 但仍然需要一定的细胞分裂素和较高的生长素,才能较好地进行脱分化而获得大量愈伤组织,原因有待进一步研究。Skoog 研究指出,愈伤组织的形成往往抑制 GA₃ 的诱导生成。本研究有关红掌叶片进行脱分化时 GA₃ 含量随着培养时间延长而降低的结果,与朱青松^[11]、陈季楚^[12]等在烟草上的研究结论一致。

第三,在再生植株分化阶段,两个品种的内源 IAA, GA₃ 仍然继续下降,粉冠军的含量低于亚历桑娜;而 ABA、ZR 含量及 ZR/IAA 值的变化因品种而异,粉冠军的 3 项含量指标开始反弹,并超过亚历桑娜。在粉冠军的分化培养基中只需保持较大浓度的细胞分裂素和极少量的生长素即可获得较多的植株,如 BA 保持在 0.2~0.5 mg/L 水平,不加生长素也可;亚历桑娜则需更高浓度的细胞分裂素,如 BA 保持 1.0 mg/L。

第四,再生植株移栽时,由于粉冠军的内源 ZR 相对 IAA 处于较高水平,不利于生根,可以在植株再生培养基中略微提高生长素用量或将再生植株单独作生根培养后再移栽。亚历桑娜在移栽时,植株内的 ZR 相对于 IAA 含量则较低,具有较强刺激生

根作用的 ABA 含量大幅度回升,这是内源激素的含量变化有利于根系的发生,我们在近几年的试验研究和大规模生产中,也发现亚历桑娜移栽前和移栽后根系特别多,而粉冠军则相对较少,这与其 4 种内源激素的含量多少和作用机理是一致的。

陈季楚、王兴发在烟草叶外植体分化和脱分化过程中几种内源激素变化的研究结果表明:启动细胞分化或脱分化似乎不是内源激素与外源激素两者的简单相加,而是激动素与生长素的比值所致^[12],本研究也得出同样的结论。这启示我们,外植体的脱分化和分化时,不同品种对外源激素要求不同,这显然与其内源激素含量有密切关系,内源激素含量及其与外源激素的合理调控与平衡是影响植物生长发育的重要目标。所以,深入研究内源激素在外植体脱分化和分化过程中的动态变化和作用机理具有重要意义。红掌在愈伤组织和植株再生的不同阶段,内源激素的含量及变化趋势各不同,品种间也有较明显的差异,因此,在实际生产中,应根据各种内源激素含量的变化规律,针对具体品种及不同阶段的需求进行外源激素的调控,才能较快较好地分化出健壮的再生植株。

参考文献:

- [1] Pierik R L M. Plantlet formation in Callus tissues *Anthurium andraeanum* Lindl [J]. *Scientia Hortilntmae*, 1974, 2: 193–198.
- [2] Pierik R L M. *Anthurium andraeanum* plantlet produced from cultivated *in vitro* [J]. *Physiol plant*, 1976, 37: 80–82.
- [3] 岑益群, 蒋茹敏, 邓志龙, 等. 安祖花离体增殖的形态发生与理化因子效应 [J]. *园艺学报*, 1993, 20(2): 187–189.
- [4] 高遐虹, 李 敏. 安祖花叶片的离体培养 [J]. *北京农学院学报*, 1995, 10(2): 35–37.
- [5] 浩仁塔本, 余伟莅. 安祖花的组织培养和快速繁殖 [J]. *植物生理学通讯*, 1995, 31(6): 433.
- [6] 张永红, 王莲英. 安祖花生长发育特性实探 [J]. *北京林业大学学报*, 1995, 17(2): 73–79.
- [7] 吕复兵, 王碧青, 廖飞雄, 等. 红掌叶片离体培养与植株再生研究 [J]. *广东农业科学*, 2002, (6): 24–25.
- [8] 黄君梅, 洪丽萍, 邹小鲁. 安祖花的离体培养及快速繁殖 [J]. *福建热作科技*, 2002, 27(1): 12–13.
- [9] 兰芹莫, 李启任, 何惠英, 等. 红掌愈伤组织诱导芽的分化 [J]. *园艺学报*, 2003, 30(1): 107–109.
- [10] 商慧深, 丁 静. 内源 IAA、ABA 和 GA₃ 与棉铃的关系 [J]. *植物生理学报*, 1986, 12(2): 178–186.
- [11] 朱青松, 梅康凤, 王沙生. 外源生长素对烟草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.
- [12] 陈季楚, 王兴发. 烟草叶外植体分化和脱分化过程中几种内源激素变化 [J]. *植物生理学通讯*, 1992, 28(5): 356–358.