

多效唑对大蒜试管苗鳞茎化培养的影响

梁艳¹, 陈典², 黄晓梅²

(1.齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2.东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要: 以 MS 为基本培养基, 用大蒜茎尖外植体培养的试管苗进行离体培养试验。结果表明, 多效唑对大蒜试管鳞茎形成和膨大作用显著, 多效唑质量浓度为 2~8 mg/L 时, 随着质量浓度的增加, 多效唑对鳞茎形成与分化的抑制程度加深, 叶片和根系变短、变细弱; 诱导鳞茎形成和膨大的最适多效唑质量浓度为 6 mg/L; 多效唑处理后, 大蒜试管苗叶鞘中内源激素 IAA 与 ABA 的含量比急剧下降, 降低幅度越大, 鳞茎形成、膨大的效果越好。

关 键 词: 大蒜; 多效唑; 试管鳞茎; 内源激素

中图分类号: S633.4 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2010)01-0422-04

Effects of PP₃₃₃ on bulbing culture of garlic's test-tube seedlings

LIANG Yan¹, CHEN Dian², HUANG Xiao-mei²

(1.College of Life Science and Agriculture, Qiqihar University, Qiqihar, Harbin 161006, China; 2.College of Horticulture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract: *In vitro* experiments were carried out, using test-tube seedlings of garlic stem tip as explants and taking MS as basic culture medium. The results showed that PP₃₃₃ have a significant effect on formation of garlic bulb and enlargement *in vitro*. Within the 2~8 mg/L concentration range, raising concentration could inhibit the formation and differentiation of the bulb, the leaves and roots were shortened and thinned. The 6 mg/L PP₃₃₃ was the optimal treatment concentration for inducing formation and development of bulb. Variations in contents of endogenous hormone indicated that after PP₃₃₃ treatment, ratio of IAA to ABA inside leaf sheath in the test-tube garlic seedlings dropped suddenly, the greater the decrease, the better the expanding in the formation of bulb.

Key words: garlic; PP₃₃₃; bulblet *in vitro*; endogenous hormones

连年鳞茎无性繁殖严重影响大蒜 (*Allium sativum* L.) 的品质和产量^[1]。将大蒜试管苗培养形成试管微鳞茎, 再经驯化移入大田, 可以解决大蒜繁殖变异率高、驯化难的问题^[2]。多效唑能在极低质量浓度下抑制赤霉素的作用, 可使试管苗生长健壮, 对植株地下部(根茎、鳞茎、块茎)的形成与膨大具有调控作用^[3]。在生姜、洋葱、马铃薯、百合等植物的离体培养中添加一定质量浓度的多效唑, 可促进

试管鳞茎或块茎形成、膨大^[4-13]。朱仰元^[11]的研究表明, 多效唑对大蒜增产效果显著; 刘高琼等^[12]的研究表明, 培养基中添加一定质量浓度多效唑可促进大蒜试管微鳞茎的形成。笔者研究多效唑对大蒜试管微鳞茎形成及膨大的影响及试管微鳞茎形成过程中内源激素含量的变化, 旨在为应用化学调控剂调控大蒜试管微鳞茎生产提供理论依据, 更好地指导大蒜脱毒苗的生产。

收稿日期: 2010-01-24

基金项目: 农业部公益性行业(农业)科研专项(200903018)

作者简介: 梁艳(1979—), 女, 黑龙江齐齐哈尔人, 硕士, 讲师, 主要从事生物技术研究, liangyanyanliang@126.com

1 材料与方法

1.1 供试材料及主要仪器

阿城紫皮大蒜由东北农业大学园艺学院提供。主要仪器为美国 WA-TERS 公司生产的高效液相色谱系统(515HPLC Pump, C18(150 mm×3.9 mm)色谱柱, 2487 紫外检测器)。

1.2 方法

1.2.1 无菌试管苗的获得及鳞茎化培养

选用健康无病的大蒜, 去皮, 自来水冲洗干净后切除顶部, 用 10% NaClO 溶液浸泡, 杀菌消毒 10 min 后, 用无菌水冲洗 3 次, 无菌滤纸吸干水分, 于双目解剖镜下剥取带有 1~2 片叶原基的茎尖外植体, 接种于 MS+0.1 mg/L NAA +0.1 mg/L 2-ip 培养基上, 进行茎尖启动培养, 培养温度(22±1) °C, 光照度 2 000 lx, 每天光照 13 h。

参照徐启江等^[5]的方法, 取茎尖启动培养基培养 30 d、大小均匀、茎粗约 1.5 cm、株高约 3.5~5.0 cm 的幼苗, 保留基部约 2 cm 的切段, 分别接种于添加不同质量浓度(2、4、6、8 mg/L, 分别记为处理 1、处理 2、处理 3、处理 4)多效唑的 1/2MS+ 0.1 mg/L NAA +1.5 mg/L IBA 培养基上, 进行鳞茎化培养。培养条件同上。每个处理大蒜试管苗 30 株, 重复 3 次。于培养后 25、35、45、55、65、75 d, 调查平均鳞茎鲜重, 培养 75 d 时调查平均鳞茎直径、统计鳞茎发生数和形成率, 并于整个鳞茎化培养过程中观察植株叶片和根系生长状况。鳞茎形成率=(鳞茎发生数/培养苗总数)×100%; 鳞茎指数为同一鳞茎高度与直径之比。

1.2.2 鳞茎化培养过程中植株内源激素含量的测定

选取上述处理条件下培养的植株叶鞘基部 1~2 cm 切段, 测定其内源激素含量, 重复 3 次, 分别于处理后 15、25、35、45、55、65 d 取样, 用高效液相色谱测定其 IAA、GA、ABA 含量。色谱条件: 流动相甲醇、乙腈、0.6% 乙酸水溶液体积比为 50:5:45, 流速 0.8 mL/min, 检测波长 254 nm。

2 结果与分析

2.1 不同处理对大蒜试管苗微鳞茎形成的影响

由表 1 可见, 4 种处理均可形成试管微鳞茎; 随着多效唑质量浓度的增加, 鳞茎发生数减少。处理 1、

处理 2、处理 3 鳞茎形成率无显著差异, 而处理 1、处理 2 与处理 4 差异显著, 处理 3 与处理 4 差异不显著, 可见, 适宜浓度多效唑对鳞茎形成有促进作用, 但多效唑质量浓度为 8 mg/L 时对植株产生毒害作用, 使植株叶片卷曲, 提早枯萎黄化, 即多效唑浓度过大时抑制鳞茎的形成与分化。

表 1 不同处理对大蒜苗微鳞茎形成的影响

Table 1 Bulb formation of *Allium sativum* under different PP₃₃₃ treatment

处理	苗数/株	鳞茎发生数/株	鳞茎形成率/%
1	30	(33.33±1.53)aA	(111.33±5.13)aA
2	30	(33.00±1.00)aA	(110.00±3.00)aA
3	30	(31.67±1.15)abA	(109.00±3.46)abA
4	30	(30.67±0.58)bA	(102.00±1.73)bA

2.2 不同处理对大蒜试管苗微鳞茎膨大的影响

试验结果表明, 多效唑处理的鳞茎化培养试管苗抽生新叶数明显较少, 随着多效唑质量浓度的升高, 植株逐渐矮化, 地上部生长受抑制, 叶片和根系变短、变细弱; 多效唑处理的鳞茎膨大较早, 但膨大过程缓慢, 表明多效唑抑制大蒜试管苗上部生长, 促进地下部生长。

不同处理均在处理后 25~35 d 鳞茎膨大较快, 之后膨大速率减小, 在生长后期膨大加快(图 1); 较高浓度多效唑处理有利于鳞茎的形成和膨大, 但过高浓度多效唑处理对试管苗生长有毒害作用, 导致试管苗部分萎蔫, 甚至过早死亡。

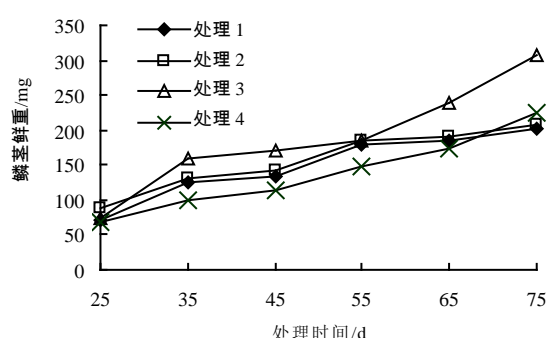


图 1 各处理大蒜试管苗鳞茎在不同处理时间的鲜重

Fig.1 Bulblet's fresh weight under different treatments

由表 2 可见, 平均鳞茎鲜重各处理间存在差异, 当多效唑质量浓度为 6 mg/L 时效果最好, 与其他各处理差异极显著; 鳞茎指数各处理间也有差异, 处理 3 极显著优于处理 1、处理 2, 但与处理 4 差异不显著, 因此, 在大蒜试管鳞茎化培养中, 多效唑质

量浓度以 6 mg/L 为宜。

表 2 处理后 75 d 大蒜试管苗的鳞茎指数和鲜重

Table 2 Index and fresh weight of bulb at 75 d under different PP₃₃₃ treatment

处理	鳞茎指数	鳞茎鲜重/mg
1	(1.19±0.01)aA	(201.43±10.61)cB
2	(1.17±0.01)bAB	(208.77±11.68)bcB
3	(1.15±0.01)cC	(307.07±7.61)aA
4	(1.16±0.01)bcBC	(225.27±9.36)bB

2.3 各处理大蒜试管苗微鳞茎叶鞘内源激素含量的变化

由图 2 可见,在鳞茎形成期至鳞茎膨大前期,叶鞘内 ABA 含量增加,并在处理前期上升幅度较大,在处理 45 d 达到最高,之后(鳞茎膨大后期)ABA 含量降低,表明在大蒜试管微鳞茎膨大的高峰期,叶鞘内 ABA 含量增加幅度较大。这与此时鳞茎膨大、鲜重增加(图 1)相吻合,处理 1 至处理 3 叶鞘内 ABA 含量随多效唑质量浓度的增加而逐渐增加,但处理 4 叶鞘内 ABA 含量低于其余 3 个处理。这与前面的结果一致,即 6 mg/L 多效唑处理大蒜试管微鳞茎形成、膨大的效果较好。

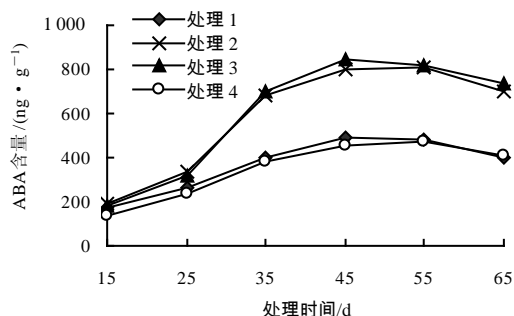


图 2 各处理叶鞘中的 ABA 含量

Fig.2 ABA content in the leaves's sheath under different PP₃₃₃ treatments

由图 3 可见,叶鞘中 GA 含量先降低后升高,45 d 后趋于稳定。

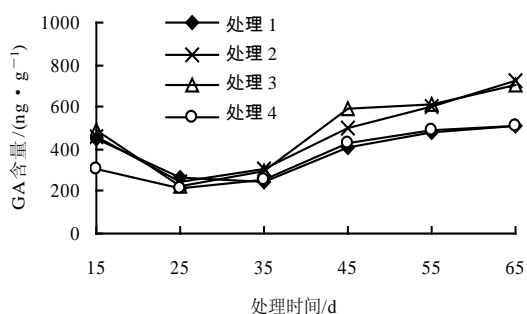


图 3 各处理叶鞘中的 GA 含量

Fig.3 GA content in the leaves's sheath under different PP₃₃₃ treatments

由图 4 可见,叶鞘中 IAA 含量随处理时间的增加呈先上升后递减的趋势,前 25 d IAA 含量变化幅度较大,呈递增趋势;25~35 d IAA 含量急剧下降;鳞茎膨大后期,IAA 含量趋于稳定,并维持在较低水平,可见,多效唑促进鳞茎形成主要是通过提高植株的内源 IAA 含量来实现的,但多效唑质量浓度过大时内源 IAA 含量变化不大,促进鳞茎形成、膨大的效果不佳。

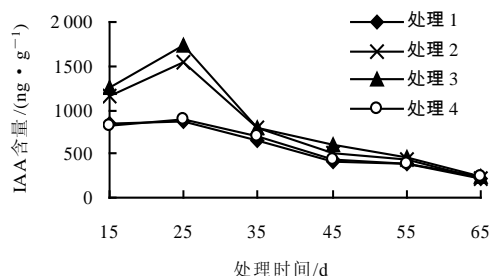


图 4 各处理叶鞘中的 IAA 含量

Fig.4 IAA content in the leaves's sheath under different PP₃₃₃ treatments

由图 5 可见,在处理 15~25 d,植株内 GA 与 ABA 的含量比急剧降低,并且含量比越小,诱导鳞茎的效果越好,与这一时期鳞茎膨大速率较快相吻合;处理后 25~35 d,GA 与 ABA 的含量比略有降低;35 d 后 GA 与 ABA 的含量比略有升高,并趋于稳定。

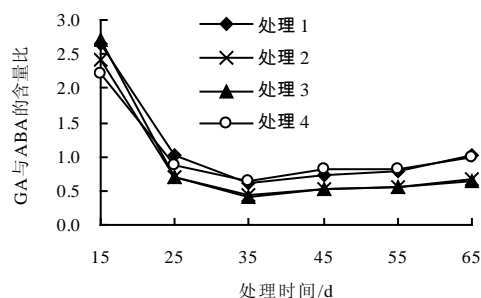


图 5 各处理叶鞘中 GA 与 ABA 的含量比

Fig.5 Ratio of GA to ABA inside leaf sheath under different PP₃₃₃ treatments

从图 6 可看出,各处理 IAA 与 ABA 的含量比在处理 15~35 d 呈急剧下降的趋势,6 mg/L 多效唑处理降幅最大,其鳞茎形成效果最好;在鳞茎膨大期内,IAA 与 ABA 的含量比趋于稳定,由此可见,多效唑通过降低鳞茎形成期和膨大前期 IAA 与 ABA 含量比来促进鳞茎的形成。

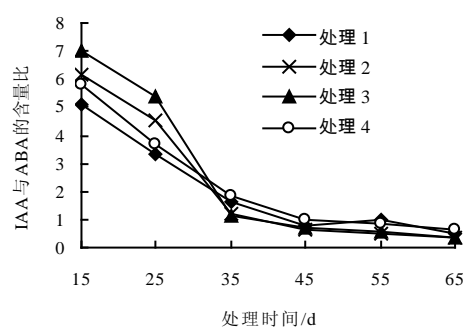


图 6 各处理叶鞘中 IAA 与 ABA 的含量比

Fig.6 Ratio of IAA to ABA inside leaf sheath under PP₃₃₃ different treatment

3 结论与讨论

一定质量浓度 (2~6 mg/L) 的多效唑促进大蒜鳞茎形成和膨大的效果显著, 对试管苗茎叶生长有抑制作用, 但鳞茎膨大过程缓慢。这在试管鳞茎工厂化生产中会导致生产周期延长。在大蒜试管苗鳞茎形成和膨大过程中, 多效唑浓度的控制非常关键, 浓度过高会对植株产生毒害作用, 抑制鳞茎的形成与分化, 其原因可能是鳞茎发生时, 试管苗自身激素维持在一个动态平衡状态, 而添加的外源激素促使这种平衡发生偏移, 从而破坏鳞茎发生时所需的激素比例。

大蒜试管鳞茎的诱导受多种因子影响, 激素, 尤其是生长素和细胞分裂素, 在调控离体器官发生中起关键作用。本研究中, 植株叶鞘 ABA 含量均显著增加, 与前人研究结果相一致。处理后 GA 含量先降低后增加, IAA 含量先增加后降低, 二者含量变化发生在同一时期, 但 GA 与 ABA 含量比的变化与鳞茎膨大关系不密切, 而 IAA 与 ABA 的含量比越小越有利于鳞茎形成。大蒜鳞茎诱导的原因可能是多效唑诱导植株内 IAA 与 ABA 的含量比来调控离体器官鳞茎的发生。

下一步将研究施用多效唑后植株体内叶绿素、

蛋白质和核酸的含量变化, 以便从多方面了解多效唑诱导大蒜鳞茎形成和膨大的机理。

参考文献:

- [1] 栾非时, 陈典, 崔喜波. 大蒜茎尖愈伤组织诱导、植株分化及变异的研究[J]. 北方园艺, 1993(4): 23-24.
- [2] 刘高琼, 索长江. 大蒜微繁殖技术研究现状与展望[J]. 中国蔬菜, 1997(1): 50-53.
- [3] Zhou W J, Xi H F. Effects of paclobutrazol and mixtalolon photosynthesis and yield of rape (*Brassica napus* L.) [J]. J of Plant Growth Regulation, 1993, 12: 157-161.
- [4] 姜玉东. 不同培养条件对分蘖洋葱试管鳞茎形成的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学园艺学院, 2004: 28-30.
- [5] 徐启江, 杨守志, 池春玉, 等. 分蘖洋葱试管鳞茎微繁殖技术研究[J]. 植物学通报, 2003, 20(1): 80-83.
- [6] 胡凤荣, 席梦利, 刘光欣, 等. 东方百合鳞茎快速增长的组培体系研究[J]. 分子植物育种, 2006(6): 75-78.
- [7] 张延龙, 梁建丽, 牛立新. 东方百合试管鳞茎膨大的研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006(6): 75-78.
- [8] 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, 2004, 30(3): 318-322.
- [9] 陈传红, 金卫根, 杨柏云, 等. 蔗糖和多效唑对试管生姜形成的影响[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(2): 146-150.
- [10] 鄢铮, 郭德章. 植物激素对马铃薯试管薯形成的影响[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(2): 84-86.
- [11] 朱仰元. 多效唑对脱毒大蒜产量的影响[J]. 北方园艺, 1999(3): 27.
- [12] 刘高琼, 李式军, 张学平. 大蒜试管鳞茎微繁殖技术研究[J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(3): 31-36.
- [13] Matsubara S, Chen D. *In vitro* production of garlic plants and field acclimatization[J]. Hort-Science, 1989, 24(4): 677-679.

责任编辑: 王赛群

英文编辑: 罗文翠