

文章编号:1000-694X(2012)03-705-04

东方百合鳞片生小鳞茎生长过程中的激素变化

安丽萍¹, 谢忠奎^{1*}, 李翊华², 安黎哲^{1,3}, 张亚娟¹

(1. 中国科学院寒区旱区环境与工程研究所, 甘肃 兰州 730000; 2. 河西学院 农学系, 甘肃 张掖 734000; 3. 兰州大学 生命科学学院, 甘肃 兰州 730000)

摘要:应用高效液相色谱仪测定东方百合“索蚌”鳞片繁殖小鳞茎过程中, 母鳞片、小鳞茎和新生根中 4 种内源激素赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)、脱落酸(ABA)和玉米素(ZT)的变化。结果发现, 小鳞茎形成过程中, 4 种内源激素中 ZT 和 GA₃ 在母鳞片中含量最高, IAA 在新生根中含量最高, ABA 在小鳞茎中含量最高。同时, 母鳞片和小鳞茎中 ZT、GA₃、ABA 和 IAA 都呈现不同幅度的上升趋势。小鳞茎形成过程中, 母鳞片中的 4 种激素中的 ZT 的净增长率最高为 109%; 小鳞茎的 4 种激素中 IAA 的净增长率最高, 为 102%; 在新生根中, 除了 ABA 其他 3 种激素都呈现上升趋势, 其中 ZT 的净增长率最高, 为 493%。

关键词: 东方百合; 鳞片繁殖; 小鳞茎; 脱落酸; 玉米素; 生长素; 赤霉素

中图分类号: Q946.885 文献标识码: A

百合切花是世界出口和消费量较大的 5 大切花之一, 近年来在中国的生产和消费量均呈急剧上升趋势, 种球需求量巨大, 但中国目前百合商品种球主要依靠进口, 品种选育和商品种球生产已成为扼制中国球根花卉产业发展的“瓶颈”。百合(*Lilium* spp.) 的繁殖方法很多, 有种子繁殖、鳞片扦插、茎生小鳞茎繁殖、分球繁殖、株芽繁殖和组织培养等。鳞片繁殖成本低、操作方便, 且繁殖系数高, 是目前种球商品化生产过程中必不可少的一环。中国在鳞片繁殖的抗病^[1]、繁殖系数, 生理机理方面展开了一些基础, 详见孙红梅等^[2]综述。但是有关小鳞茎形成和发育的生理机制研究尚非常薄弱, 还需要深入的研究鳞片繁殖环节的生理代谢机制。我们以东方百合为材料, 研究鳞片繁殖的小鳞茎形成和发育过程中内源激素的变化, 以期快速有效地繁殖出健康百合苗提出调控措施, 开展科学的人工增殖方法和规模生产百合种球提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验时间与场地

试验于 2009 年 4 月至 2009 年 8 月在中国科学院寒区旱区环境与工程研究所皋兰生态与农业综合试验站进行。

供试材料为东方百合“索蚌”(*Lilium oriental* ‘Sorbonne’) 的优质、健壮、无病虫害、周径为 14~16 cm 的国内自繁种球。

1.2 处理方法

取冷藏储藏的东方百合“索蚌”鳞茎, 在阴凉处令其缓慢升温, 用软毛刷刷去鳞茎表面的基质, 去除表面个别干瘪破损的鳞片, 将健康的外部鳞片沿基部小心的剥下, 注意不要损伤基部。用使百功可湿性粉剂 700 倍液消毒 30 min, 晾干。基质选用经过高温灭菌的蛭石, 湿度标准为抓一把蛭石, 手攥不出水, 松手不散为好。将准备好的鳞片和基质混合, 在塑料筐内铺均匀打孔的塑料袋, 底层铺一层蛭石, 上放一层鳞片, 一层蛭石一层鳞片, 将筐装满为止, 最后将塑料袋封口。然后放置于 20 °C 左右的环境中催生小鳞茎。

1.3 样品采集

从催生小鳞茎长到米粒大小的时候开始取样。本试验从蛭石包埋第 35 天开始第一次取样, 之后每 10 d 取一次连续取样两个月。每次分别采取母鳞片, 新生小鳞茎和新生根的样品。称重后, 液氮速冻, 保存在 -70 °C 冰箱, 待测定用。

收稿日期: 2011-09-25; 改回日期: 2011-10-09

基金项目: 科技部农业成果转化项目(2011GB24910003); 中国科学院重要方向性项目(KSCX2-EW-B-1-8)资助

作者简介: 安丽萍(1980—), 女(汉族), 甘肃定西人, 博士, 主要从事植物生理生态研究。Email: lipingandy@gmail.com

* 通讯作者: 谢忠奎(Email: wxhcas@lzb.ac.cn)

1.4 测定方法

1.4.1 仪器、试剂与材料

1200 型高效液相色谱仪(美国 Agilent 公司); KQ-300E 型超声波清洗仪(昆山市超声仪器有限公司); KL512J 型数控恒温水浴氮吹仪(北京康林科技有限公司); Millipore SAS 67120 超纯水仪; IAA 和 ABA 标样(纯度 $\geq 99\%$, Sigma 公司); GA_3 和 ZT 标样(纯度 $\geq 97\%$, 进口); 甲醇、乙腈(色谱纯, 国产); 超纯水。

1.4.2 标准溶液的配制

分别准确称取 GA_3 、IAA、ABA、ZT 标样各 0.01 g, 于 4 只 10 ml 棕色容量瓶中, 用甲醇溶液(色谱纯)溶解并定容, 将 4 种试剂都配制成 $1\ 000\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 母液, 然后将 GA_3 、IAA、ABA、ZT 4 种试剂以流动相为溶剂配制成含有 4 种激素系列浓度梯度的标准混合溶液, 待测。

1.4.3 样品的制备

称取百合组织 5 g, 液氮研磨成粉末, 加入 100% 甲醇溶液 15 ml, 放置 $4\ ^\circ\text{C}$ 冰箱中过夜, 浸提液以 $3\ 600\ \text{转} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 收集上清液, 残渣用 10 ml 100% 甲醇重复浸提, $4\ ^\circ\text{C}$ 放置 30 min 后, 上述条件下离心 10 min, 合并两次所得的上清液, 混合均匀。吸取 6 ml 上清液, $30\ ^\circ\text{C}$ N_2 吹干, 用流动相溶解残渣并定容至 2 ml, 溶液经 $0.45\ \mu\text{m}$ 微孔滤膜过滤后上样, 用 HPLC 检测 4 种激素。每次样品 3 个重复。

1.4.4 HPLC 条件

Agilent XDB-C18($150\ \text{mm} \times 4.6\ \text{mm}, 5\ \mu\text{m}$); 柱温: $20\ ^\circ\text{C}$; 流动相采取梯度程序洗脱, V 甲醇: V 乙腈: V 水(含 0.05% 乙酸, $\text{pH}=3.4$), $0\sim 4.5\ \text{min}$ ($25:4:71$), $4.5\sim 11\ \text{min}$ ($25:4:71\sim 41:9:50$), 流速: $0.6\ \text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量: $20\ \mu\text{L}$; 采用切换波长法: $0\sim 7\ \text{min}, 270\ \text{nm}$; $7\sim 14\ \text{min}, 200\ \text{nm}$; $14\sim 20\ \text{min}, 270\ \text{nm}$, 以外标法进行定量测定。

2 结果与分析

2.1 GA_3 含量变化

从图 1 可以看出, 在小鳞茎形成初期, 在母鳞片和 小鳞茎中 GA_3 含量差别不大。随着小鳞茎的不断生长, GA_3 含量在母鳞片, 小鳞茎和 新生根根部都呈现不断上升趋势, 但上升率有差别。小鳞茎生长过程中, GA_3 含量在母鳞片 $>$ 新生根 $>$ 小鳞茎。

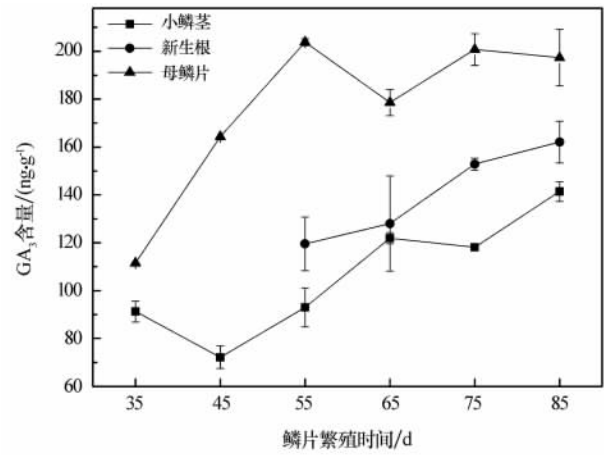


图 1 鳞片繁殖过程中 GA_3 含量的变化

Fig. 1 Variation of gibberellin concentration during *Lilium* spp. scale propagation process

2.2 IAA 含量变化

从图 2 可以看出, 在小鳞茎形成的前期, 母鳞片和 小鳞茎中的 IAA 含量相近。在后期, 小鳞茎中的 IAA 含量高于母鳞片。随着小鳞茎的不断生长, 母鳞片、小鳞茎和 新生根中 IAA 含量呈现不断上升趋势。新生根的 IAA 含量远远高于母鳞片和 小鳞茎。在小鳞茎形成过程中, 小鳞茎中 IAA 含量虽然最低, 但是增幅却最大为 102%。

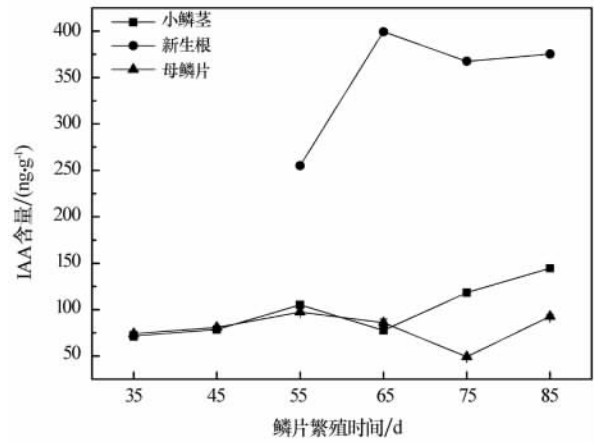


图 2 鳞片繁殖过程中 IAA 含量的变化

Fig. 2 Variation of indoleacetic acid concentration during *Lilium* spp. scale propagation process

2.3 ABA 含量变化

从图 3 可以看出, 在小鳞茎形成初期, 母鳞片和 小鳞茎中 ABA 含量差别不大。随着小鳞茎的不断生长, 在鳞片繁殖的第 55 天, 小鳞茎和 母鳞片中 ABA 含量都出现一个峰值。随后 ABA 含量在小鳞茎和 母鳞片中都呈现下降趋势, 但到小鳞茎生长

后期,小鳞茎中 ABA 含量又有回升,并且在后期小鳞茎中的 ABA 含量高于母鳞片。在小鳞茎生长过程中,新生根中的 ABA 含量在一直保持在很低水平。

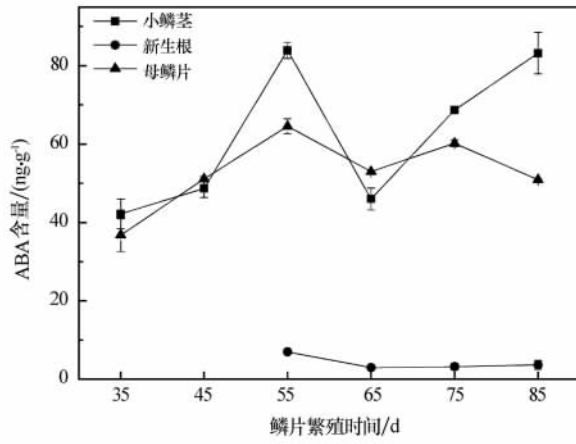


图3 鳞片繁殖过程中 ABA 含量的变化

Fig. 3 Variation of abscisic acid concentration during *Lilium* spp. scale propagation process

2.4 ZT 含量变化

从图4可以看出,在小鳞茎形成过程中,ZT含量在母鳞片、小鳞茎和新生根中呈现不断上升趋势,但上升程度不同。新生根中ZT的含量从55d到85d,净增长率达到492%,为4种激素中最高。母鳞片中的ZT含量在整个小鳞茎形成过程中远远高于小鳞茎和新生根。

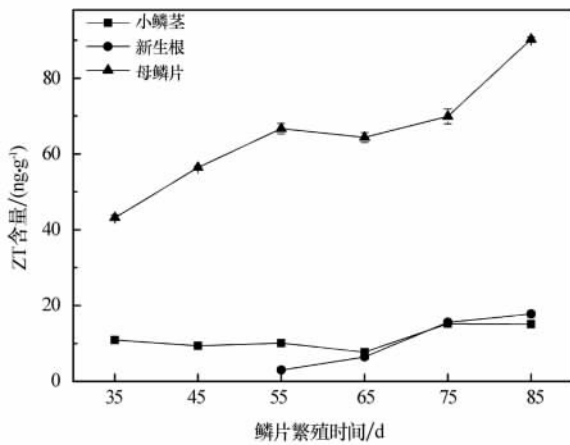


图4 鳞片繁殖过程中 ZT 含量的变化

Fig. 4 Variation of zeatin concentration during *Lilium* spp. scale propagation process

3 结论与讨论

百合鳞片繁殖过程中,母鳞片、新生根和小鳞茎内部发生着不同的生理变化。鳞片富含淀粉,淀

粉是百合鳞茎中碳水化合物的重要贮藏形式^[3]。鳞片繁殖的整个过程中,母鳞片的淀粉在淀粉降解酶作用下生成可溶性糖,供新鳞茎生长发育。随着小鳞茎的形成,母鳞片的淀粉逐渐减少,可溶性糖含量升高,新鳞茎淀粉逐渐积累^[4]。百合鳞片中含有多种激素类物质,它们同样在鳞片繁殖过程中对籽球的生长发育起着不同的调控作用。本研究发现小鳞茎形成过程中,母鳞片中的 ZT、GA₃、ABA 和 IAA 都呈现不同程度的上升,净增长率最高的为 ZT (109%),而 IAA 的上升幅度最小。郝京辉^[5]对新铁炮百合鳞片繁殖的研究中发现,在小鳞茎形成过程中鳞片中的 ABA 的含量呈上升趋势。这与本试验结果一致。但是 GA₃ 的结果与本试验的正好相反。其原因可能是因为百合品种差异或者鳞片繁殖条件不同^[5]。李玲玲等^[6]报道用不同浓度 GA₃ 处理毛百合鳞片大大提高了鳞片扦插成活和生根,但对小鳞茎的膨大作用不大。由此我们可以推断鳞片中的 GA₃ 的升高对小鳞茎的形成和新生根的生成有促进作用。

小鳞茎和新生根都是新生组织,其生长都需要鳞片提供营养物质。本试验研究结果显示,小鳞茎生长发育过程中,小鳞茎中的 ZT、GA₃、ABA 和 IAA 含量都有上升趋势,但上升幅度不同。IAA 的上升率最大 102%,ABA 次之,GA₃ 和 ZT 的上升率最低。小鳞茎中 IAA 和 GA₃ 含量较高。小鳞茎生长发育过程中,新生根中 ZT、GA₃ 和 IAA 都升高,其中 ZT 的增长率最高为 493%,IAA 的增长率为 47%,GA₃ 的增长率为 35%。而 ABA 呈下降趋势。新生根中 IAA 的含量最高。IAA 是生长促进型激素,其促进生根作用已经得到证实^[7]。高浓度的 IAA 对小鳞茎和新生根的生长起到促进作用。我们还发现 4 种激素在母鳞片、小鳞茎和新生根中的分布不同,ZT 和 GA₃ 在母鳞片含量最高,IAA 在新生根中含量最高,ABA 在小鳞茎含量最高。ABA 在植物中的作用一直是个热门研究领域,它是干旱响应激素^[8],抑制生长的激素^[9],对气孔关闭调控激素^[10]。但是在小鳞茎生长过程中为什么有高浓度的 ABA,可能在这个过程中各种激素之间达到平衡从而调控小鳞茎膨大,这方面还有待进一步深入研究。

参考文献 (References):

- [1] 郭芳,王亚军,谢忠奎,等. 诱导剂 OS 对切花百合病害及生理生化指标的影响[J]. 中国沙漠,2010,30(2):383-387.

- [2] 孙红梅,贾子坤,陆阳,等.百合鳞片扦插繁殖的研究进展[J].北方园艺,2009,(2):141-146.
- [3] 张月,孙红梅,沈向群,等.百合鳞茎发育和低温贮藏过程中淀粉粒亚显微结构的变化[J].园艺学报,2007,34(3):699-704.
- [4] Miller W B,Langhans R W. Low temperature alters carbohydrate metabolism in easter lily bulbs[J]. Hortscience,1990,25:463-465.
- [5] 郝京辉.新铁炮百合籽球的形态发生及其生理机制的研究[D].北京:中国农业大学,2004.
- [6] 李玲玲,雷家军.3种激素对毛百合鳞片扦插繁殖的影响[J].江苏农业科学,2010(2):174-175.
- [7] 孙兰弟,管利萍,张颖聪,等.沙生濒危物种霸王的高频植株再生研究[J].中国沙漠,2009,29(2):312-315.
- [8] 陈国仓,王洪亮,张承烈,等.河西走廊不同旱生植物内源激素和叶水势的比较研究[J].中国沙漠,1994,14(1):17-21.
- [9] 张勇,薛林贵,高天鹏,等.荒漠植物种子萌发研究进展[J].中国沙漠,2005,25(1):106-112.
- [10] 李师翁,薛林贵,冯虎元,等.植物保卫细胞中 ABA、H₂O₂ 和 NO 信号网络研究的进展[J].中国沙漠,2006,26(3):447-453.

Variation of Endogenous Phytohormones of *Lilium oriental* ‘Sorbonne’ during Scale Propagation

AN Li-ping¹, XIE Zhong-kui¹, LI Yi-hua², AN Li-zhe^{1,3}, ZHANG Ya-juan¹

(1.Cold and Arid Regions Environmental and Engineering Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China ; 2.Department of Agronomy, Hexi University, Zhangye 734000, Gansu, China ; 3.School of Life Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Variations of contents of endogenous hormones, namely Gibberellin (GA₃), Indoleacetic Acid (IAA), Abscisic Acid (ABA) and Zeatin (ZT), in scales, bulblets and new roots of *Lilium oriental* ‘Sorbonne’ during scale propagation process were analyzed using high-performance liquid chromatography. Results show that the four endogenous hormones have distinct distribution in scales, bulblets and new roots during bulblet formation and growth process; ZT and GA₃ concentrations are higher in scales than in bulblets and new roots; IAA concentration is higher in new roots than in scales and bulblets; ABA concentration is the highest in bulblets. All the four hormones have increasing trends in scales and bulblets with different increase rate during scale propagation. The net increasing rate of ZT concentration in scales is 109%, which is the highest among the four hormones. IAA concentration has a net increasing rate of 102% in bulblets. The hormones except ABA are in increasing trends in new roots, and the increasing rate of ZT concentration is the highest, by 493%.

Keywords: *Lilium oriental*; scale propagation; bulblet; abscisic acid; zeatin; indoleacetic acid; gibberellin