

黑麦胚性愈伤组织和体细胞胚胎形成过程中 内源 IAA 和 Zt 变化的初步研究

邢登辉

吴琴生* 刘大钧*

(首都师范大学农学系 北京 100037) (南京农业大学农学系 南京 210095)

体细胞胚胎发生已经成为许多植物细胞全能性得以实现的主要途径,黑麦也不例外。许多报道就外源生长素物质(2,4-D、Dicamba^[1]、CPA^[2]、Picloram^[3])、细胞分裂素类(6-BA^[4])以及 ABA^[5,6]等激素物质对体细胞胚胎发生的促进作用作了较为详细的论述。但是,阐明体细胞胚胎发生的内在原因,对这一技术的完善将具有更为实质性的意义。本试验正是基于这一思路,对黑麦体细胞胚胎发生过程中内源 IAA 和 Zt 的变化进行了初步研究。

1 材料和方法

1.1 胚性愈伤组织与体细胞胚胎的诱导

取黑麦幼穗愈伤组织^[7],培养在下列培养基上:MS + 2,4-D(2mg/L) + Kt(0.2mg/L) + NAA(0.2mg/L)。培养温度 26℃,光照 16h。每隔两个月继代一次。

1.2 内源 IAA 和 Zt 的测定

分别取各种类型愈伤组织 400~500mg,加入聚乙炔吡咯啉酮 50mg/g 愈伤组织和 30ml 80% 甲醇(含丁羟甲苯 10mg/L),在弱光下冰浴匀浆,将匀浆倒入离心管中,于 4℃ 放置 2d。然后,10000g 离心 30min,倒出上清液,残渣加 1mg 80% 甲醇,放置 1d 后,10000g 离心 30min,合并上清液(以上操作均在 4℃ 下进行)。然后测定样品中的 IAA 和 Zt 含量^[8]。重复测定 3 次。

2 结果

2.1 胚性愈伤组织与体细胞胚胎的获得

非胚性的白色皱折状愈伤组织经继代培养 2 个月后,产生大量胚状体。胚状体转移到去除 2,4-D 的培养基上,7d 后即发育成小苗。此发育过程可明显分为以下 5 个阶段(图版 1):A. 白色皱折状愈伤组织,细胞较长、液泡大、胞质浓厚、结构松散。B. 白色松脆型愈伤组织,大部分细胞长圆形、液泡较小、内含物较丰富、细胞结构较紧密。C. 淡黄色松脆型胚性愈伤组织,细胞近圆形、液泡小、胞质浓厚、富含淀粉粒。细胞结构紧密,有 3~10 个细胞构成的胚出现。D. 已着生胚状体的愈伤组织,愈伤组织上已产生大量胚状体。E. 胚状体已发育成苗。

以上结果表明,类似白色皱折状的非胚性愈伤组织具有发育成胚性愈伤组织的潜力。此外,这种胚性潜力的表达需要较长的继代周期(2 个月)。本实验中,在同样情况下,每月继代一次,未能获得胚性愈伤组织。Nadel^[9]曾报导了继代培养周期的延长有利于芹菜胚性潜的表达。

2.2 内源 IAA 和 Zt 含量

结果(表 1)表明,各状态愈伤组织的内源 IAA 和 Zt 含量显著不同。

表 1 各状态愈伤组织 IAA 和 Zt 含量

状态	内源激素 P/mol·g ⁻¹ Fw	
	Zt	IAA
A	588.57 ± 7.81	12.5 ± 1.3
B	1012.50 ± 25.26	
C	131.63 ± 3.22	
D	244.96 ± 6.97	9.6 ± 0.8
E	465.27 ± 5.92	715.1 ± 12.4

* : IAA 含量太低, 测不出

B 型愈伤组织的内源 Zt 含量数倍于其它各类愈伤组织, 而 B 型愈伤组织正是非胚性的 A 型愈伤组织到胚性的 C 型愈伤组织的中间过渡类型。据此, 似乎可以把内源玉米素含量的升高作为非胚性愈伤组织向胚性愈伤组织转化的标志或启动因子; A、B、C、D 四种类型的 IAA 含量均较低, 而 E 的 IAA 含量却急剧升高, 这说明胚状体的萌发和迅速生长需要高水平的内源生长素; 同时, 也说明 2.4-D 抑制内源 IAA 的产生, 从而抑制了胚状体的萌发。

参 考 文 献

- [1] Zimny J, Lorz H. Plant Breeding, 1989, **102**: 80~100.
- [2] Close K R, Gallagher-ludem L A. Plant Sic. 1989, **62**: 245~252.
- [3] Eapen S, George L. Plant Sic, 1989, **61**: 127~130.
- [4] Rengell Z, Jelaska S. Plant Physiol, 1986, **124**: 386~392.
- [5] Brown C *et al.* J Plant physiol, 1989, **133**: 727~733.
- [6] Javed A Q. *et al.* Plant Cell Tissue Organ Cult, 1989, **18**: 55~69.
- [7] 邢登辉, 吴琴生, 刘大钧. 作物学报, 1995, **21**(6): 759~761.
- [8] 张能刚. 南京农业大学学报, 1990, **13**(1).
- [9] Nabel B L, Altman A. Plant Cell Tissue Organ Cult. 1990, **20**: 119~124.

Changes of Endogenous Hormone (IAA, Zt) in the Development of Embryogenic Callus and Somatic Embryoids of Rye (*Secale cereale* L.)

Xing Denghui Wu Qinsheng* Liu Dajun*

(Capital Normal University, Beijing 100037)

(Naijing Agricultural University, Naijing 210095)*

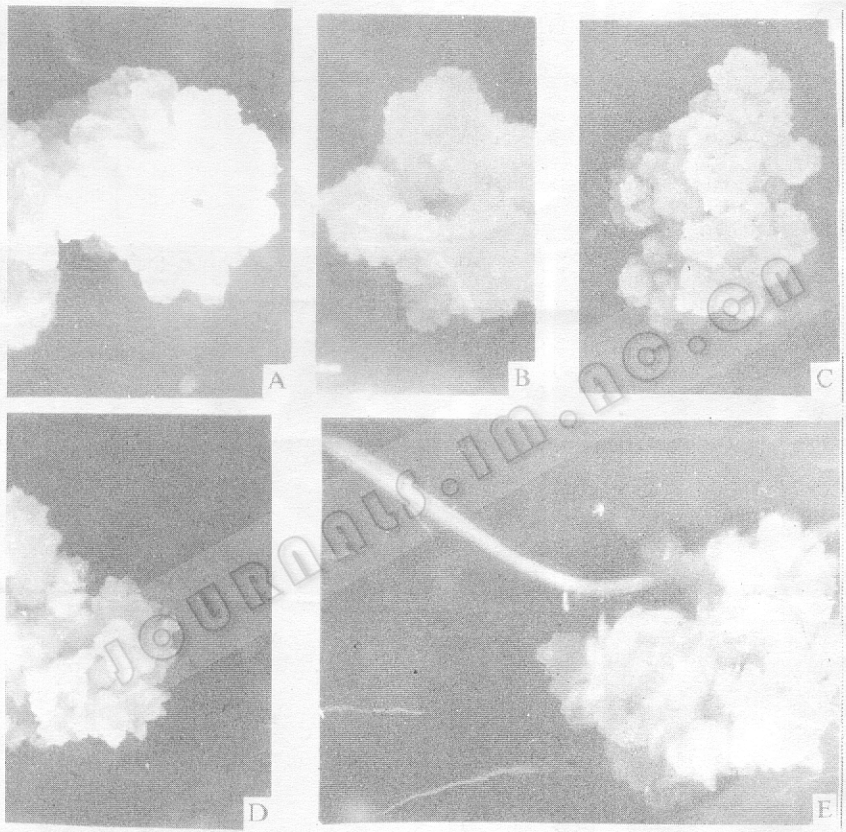
Abstract The changes of endogenous hormone (IAA, Zt) in the development of embryogenic callus and somatic embryoids of rye have been showed by means of ELISA. In the transformation from nonembryogenic to embryogenic callus, Zt seems to play an important role. In addition, high level IAA is necessary to further growth and development of somatic embryoids.

Key words *Secale cereale* L., embryoid, IAA, zeatin(Zt)

邢登辉等：黑麦胚性愈伤组织和体细胞胚胎形成过程中
内源 IAA 和 Zt 变化的初步研究

图版 I

Xing Denghui *et al.* : Changes of endogenous hormone (IAA, ET) in the development of embryogenic callus and somatic embryos of rye (*Secale cereale* L.) plate I



- A. White, wrinkled callus
- B. White, friable callus
- C. White - yellow, friable, embryogenic callus
- D. The callus with embryoids
- E. The callus regenerated seedlings