

欧美山杨毛状根生长特性研究

孟凡娟¹, 刘淑云², 杨传平¹, 刘建新³, 刘艳辉⁴

(1. 东北林业大学, 林木遗传育种与生物技术教育部重点实验室, 黑龙江哈尔滨 150040; 2. 鸡东县鸡东镇农业服务中心, 黑龙江鸡东 158200; 3. 黑龙江省农业科学院, 黑龙江哈尔滨 150069; 4. 赤峰市喀喇沁旗十家满族乡人民政府, 内蒙古赤峰 024415)

摘要: 研究了欧美山杨毛状根的生长情况。发现: 在培养过程中, 毛状根一直处于旺盛的生长状态, POD 活性呈现逐渐上升趋势; 正常根呈现缓慢上升然后下降趋势; 二者的 SOD 活性均呈现先上升后下降的趋势; 可溶性蛋白含量均呈现先上升后下降的趋势。

关键词: 欧美山杨; 毛状根; 生长

中图分类号: S792.114 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)01-0089-02

Study of Growth Characters on Hairy Root of *Populus Tremula* × *P. tremuloides*

MENG Fan-juan¹, LIU Shu-yun², YANG chuan-ping¹, LIU Jian-xin³

(1. Key Laboratory of Forest Tree Genetic Improvement and Biotchnology, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040; 2. Jidong Town Agricultural Service Center of Jidong County in Heilongjiang Province, Jidong, Heilongjiang 158200; 3. Biotechnology Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150069; 4. The people Government of Shijia Manchu Village of Harqin Banner in Chifeng City, Chifeng, Inner Mongolia 024415)

Abstract: The growth of hairy root on *Populus tremula* × *P. tremuloides* was studied. The results were as follows: during cultivation process hairy root kept vigorous condition, POD activity showed upgrade gradually. The normal root showed upgrade then descending tendency. Their SOD activities offered upgrade firstly than descending latter tendency. The dissolubility protein all offered upgrade firstly than descending latter tendency.

Key words: *Populus tremula* × *P. tremuloides*; hairy root; growth

欧美山杨杂种(*Populus tremula* × *P. tremuloides*)是欧洲山杨和北美山杨的杂交种, 具有生长快、耐寒、耐贫瘠、树形高大、适应性强等特点, 是温寒带山地造林的优良树种^[1]。本研究以欧美山杨为研究材料, 以正常根为对照, 对其毛状根的生长情况进行了测定分析。

1 材料与方法

1.1 材料

将经 PCR 鉴定为阳性的、生长状态一致的毛状

根, 长约 3 cm, 移入 1/2MS 培养基。同样选取长至 3 cm 的正常根作为对照。每隔 5 d 测定一次, 每次随机选取 3 瓶, 处理 30 d。

1.2 方法

1.2.1 生长特性测定 将收获后的毛状根, 用自来水洗去琼脂, 滤纸吸干水分, 称鲜重, 同时在 60℃烘干毛状根后测定其干重。称重后的毛状根培养物保存于-80℃的冰箱中, 进行其它指标的测定。

1.2.2 酶活性及可溶性蛋白测定 超氧化物歧化酶(SOD)的活性采用氮蓝四唑(NBT)光还原法测定; 过氧化物酶(POD)活性采用愈创木酚法测定; 可溶性蛋白采用考马斯亮蓝法测定^[2]。

2 结果与分析

2.1 生长特性分析

欧美山杨毛状根在培养过程中鲜重呈现不断上升

收稿日期: 2008-10-13
基金项目: 黑龙江省博士后基金项目(LBH-Z06146); 黑龙江省教育厅基金项目(11533016); 黑龙江省自然基金项目(C200508)
第一作者简介: 孟凡娟(1975-), 黑龙江人, 讲师, 从事植物遗传研究。
Tel: 82192170; E-mail: mxf19751@163.com。
通讯作者: 杨传平(1957-), 黑龙江人, 教授, 从事植物遗传研究。
Tel: 82192170; E-mail: mxf19751@126.com。

趋势, 无明显的生长停滞期, 而欧美山杨正常根在培养的前 20 d 根鲜重呈现上升趋势, 但是在 20 d 后进入平台期, 生长量趋于平缓, 而且生长后期加粗黄化, 分枝能力差, 几乎无侧根产生, 但是毛状根在整个培养过程

中表现白色, 分枝程度极高(见图 1)。二者的干重变化趋势与鲜重变化趋势基本一致。这说明了毛状根在整个的培养过程中, 一直处于旺盛的生长状态, 而正常根积累的干物质量明显低于毛状根。

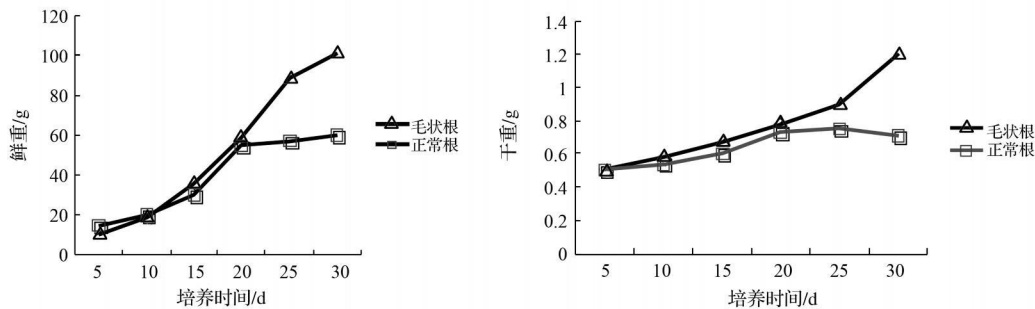


图 1 两种根干重、鲜重的变化

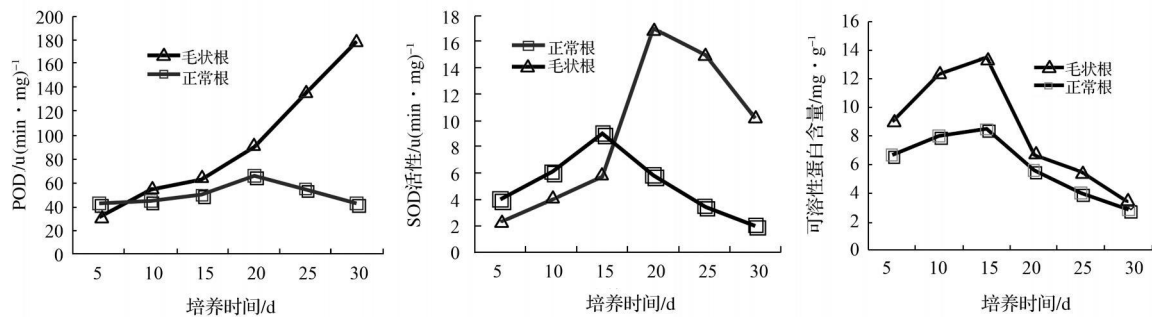


图 2 POD、SOD、可溶性蛋白的变化

2.2 酶活性及可溶性蛋白测定

随着培养时间的延长, 欧美山杨毛状根的 POD 酶活性呈现先逐渐上升趋势, 而正常根在培养前期呈现缓慢上升然后下降趋势。同时毛状根的 SOD 酶活性也呈现先上升后下降的变化趋势, 高峰期出现在 20 天左右, 随之迅速的下降, 而正常根的 SOD 酶活性也呈现先上升后下降的趋势, 但是高峰期提前, 而且活性明显低于毛状根。二者的可溶性蛋白含量均呈现先上升后下降的趋势, 其中毛状根的可溶性蛋白的含量在整个培养过程中, 均高于正常根。但是下降的幅度较大, 同时二者的可溶性蛋白含量的高峰期均出现在培养后的 15 d 左右。

3 结论和讨论

与常规组织培养材料相比较, 毛状根具有生长迅速、激素自养、生长条件简单次生物质含量高且稳定以及分化程度高、不易变异等特点, 同时可以利用 Ri 质粒促进生根^[3]、增强抗逆性、提高作物产量等^[4-5]。

在植物体内, SOD 和 POD 是植物酶促防御系统中重要的保护酶, 其活性直接影响清除衰老过程中产生自由基的能力, 所以通过对其进行测定, 可以综合评价毛状根的生长状态。本实验首次利用欧美山杨作为研

究材料, 对其进行毛状根的诱导, 研究结果发现其 SOD、POD 活性均高于正常根, 生活力较强, 同时干物质积累较多, 此结果与齐莹的研究结果一致^[6]。同时关于毛状根的诱导在毛白杨中也有所应用, 并获得了再生植株^[7]。在本实验中只是诱导出毛状根, 并没有获得再生植株, 还需要进一步研究。

参考文献:

[1] 詹亚光, 齐凤慧, 高瑞馨, 等. 欧美杂种山杨体细胞无性系变异的分析[J]. 植物学通报 2006 23(1): 44-51.

[2] 李合生. 植物生理生化试验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 258-260.

[3] Devi P, Rani S. Agrobacterium rhizogenes induced rooting of in vitro regenerated shoots of the hybrid helianthus annuus Helianthus tuberosus[J]. Scientia Horticulturae 2002 93: 179-186.

[4] Strobel G A, Nachmias A. Agrobacterium rhizogenes promotes the initial growth of bare root stock almond[J]. J Gen Microbiol 1985, 131: 1245-1249.

[5] Strobel G A, Nachmias A, Hess W M. Improvements in the growth and yield of olive trees by transformation with the Ri plasmid of Agrobacterium rhizogenes[J]. Can J Bot 1988, 26: 2581-2585.

[6] 齐莹. 黄芩毛状根培养及其毛花洋地黄 LAE 基因转化的研究[D]. 广州: 华南师范大学 2005.

[7] 刘兴菊. Ri 质粒转化三倍体毛白杨及外源基因表达的研究[D]. 保定: 河北农业大学 2005.