

不同激素组合对苦瓜不定芽诱导的影响

潘绍坤, 杜晓荣, 屈小江 (成都市第一农业科学研究所, 四川成都 610072)

摘要 [目的] 为了研究不同激素处理对苦瓜不定芽诱导的影响。[方法] 在 3 因素 4 水平正交设计的组织培养中, 将苦瓜无菌实生苗长度为 1 cm 左右的顶芽或带芽茎段分别接种于不同激素组合的 MS + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 5.5 g/L 的培养基中, 研究细胞分裂素(BA、KT、ZT)和不同生长素(NAA、IBA、2,4-D、IAA)组合对苦瓜不定芽诱导的影响。[结果] 不同激素组合及浓度对不定芽诱导均有很大影响。在 BA-Auxin 组合的各处理中, 不定芽再生率和不定芽平均高度均最高, 分别为 41.92%、1.5 cm, 与其他处理差异极显著。BA 和 IBA 组合效果最好, 苦瓜不定芽诱导的最适培养基为 MS + 2 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA。[结论] 该研究为建立优良品种高效、实用的离体再生体系奠定了基础。

关键词 苦瓜; 组织培养; 激素; 不定芽诱导

中图分类号 Q945 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)22-06760-02

Effects of Different Hormones on Induction of Adventitious Buds in *Momordica charantia* L.

PAN Shao-kun et al (Chengdu First Institute of Agriculture Science, Chengdu, Sichuan 610072)

Abstract [Objective] The research was conducted to study the effects of different hormones on the induction of adventitious buds in *Momordica charantia* L. [Method] In the tissue culture with 3-factor and 4-level design, the terminal buds or stem with buds (1 cm length) of sterile seedlings in *M. charantia* L. were inoculated in the medium with MS + 30 g/L sucrose + 5.5 g/L agar supplemented with different hormone combinations. The effects of different combinations of cytokinins (BA, KT, ZT) and auxins (NAA, IBA, 2,4-D, IAA) on the induction of adventitious buds in *M. charantia* L. were studied. [Result] The results showed that the different hormone combinations and hormone concentration all had greater effects on the induction of adventitious buds. The regeneration rate and average height of adventitious bud in every treatments of the BA-Auxin combination were all highest, being 41.92% and 1.5 cm respectively, which had extremely significant difference with other treatments. The combination of BA and IBA had the best effect. And the optimum medium for the induction of adventitious buds in *M. charantia* L. was MS + 2 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA. [Conclusion] The study laid the foundation for establishing an efficient and practical regeneration system *in vitro* for excellent varieties.

Key words *Momordica charantia* L.; Tissue culture; Hormone; Induction of adventitious buds

苦瓜(*Momordica charantia* L.)属于葫芦科苦瓜属, 为 1 年生蔓生草本植物。国内外研究发现, 苦瓜组织培养中愈伤组织生成较容易, 而不定芽再生却较困难, 不定芽再生率很低, 而不定芽再生率又是建立高效离体再生体系的关键^[1-4]。在前人研究的基础上, 以顶芽、带芽茎段为外植体, 通过正交设计, 笔者研究了细胞分裂素(BA、KT、ZT)和生长素(NAA、IBA、2,4-D、IAA)组合对苦瓜不定芽诱导的影响, 旨在为建立优良品种高效、实用的离体再生体系提供基础。

1 材料与方法

1.1 材料 供试苦瓜品种为“绿人”, 由农友种苗股份有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 无菌苗的获得。剥去成熟种子的种皮, 置于 0.1% 升汞消毒 8 min, 用无菌水冲洗 5 次, 然后接种于 MS + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 5.5 g/L、pH 值 5.8 的固体培养基中。培养温度为 (25 ± 1) °C, 光照 12 h, 光强 2 000 lx。培养 20 d 后, 截取无菌苗顶芽、带芽茎段作为外植体。

1.2.2 试验设计。将长度为 1 cm 左右的顶芽和带芽茎段分别接种于不同激素组合的 MS + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 5.5 g/L 的固体培养基中。细胞分裂素为 BA、KT、ZT, 生长素为 NAA、IBA、2,4-D、IAA。细胞分裂素浓度分别为 0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L, 生长素浓度分别为 0.01、0.05、0.10、0.50 mg/L。试验采用三因素四水平正交设计(表 1)。BA-Auxin 表示细胞分裂素 BA 与生长素组合的所有处理; KT-Auxin 表示细胞分裂素 KT 与生长素组合的所有处理; ZT-Auxin 表示细胞分裂素 ZT

与生长素组合的所有处理。在外植体培养 30 d 后, 进行数据统计, 用邓肯氏新复极差法进行多重比较、方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对愈伤组织诱导的影响 取 20 d 苗龄的“绿人”苦瓜无菌苗顶芽或带芽茎段, 接种于细胞分裂素—生长素组合的初代培养基上, 培养 1 周后有愈伤组织产生。在不同培养基中, 愈伤组织大小和颜色有所不同。从颜色来看, 愈伤组织主要有黄绿、白绿、黄 3 种颜色。BA、KT、ZT 与生长素的组合中, 1、6、12、15 号培养基中形成的愈伤组织为白绿色, 体积较大, 质地疏松, 易切割; 3、8、10、13 号培养基中形成的愈伤组织为黄色, 体积最大, 切分后中间为绿色; 其余培养基中形成的愈伤组织为绿色, 质地致密, 有活力。

表 1 不定芽诱导试验正交设计

处理	生长素浓度//mg/L	生长素种类	细胞分裂素浓度//mg/L
1	0.01	NAA	0.5
2	0.05	IBA	0.5
3	0.10	2,4-D	0.5
4	0.50	IAA	0.5
5	0.01	IAA	1.0
6	0.05	NAA	1.0
7	0.10	IBA	1.0
8	0.50	2,4-D	1.0
9	0.01	IBA	2.0
10	0.05	2,4-D	2.0
11	0.10	IAA	2.0
12	0.50	NAA	2.0
13	0.01	2,4-D	3.0
14	0.05	IAA	3.0
15	0.10	NAA	3.0
16	0.50	IBA	3.0

2.2 不同激素组合对不定芽诱导的影响

2.2.1 同一种类细胞分裂素处理内的比较。表 2 表明, 加入

基金项目 四川省“十一五”攻关课题。

作者简介 潘绍坤(1980-), 女, 四川乐山人, 助理农艺师, 从事组织培养方面的研究。

收稿日期 2007-04-17

2,4-D 的各个处理中(处理号为 3、8、10、13)没有不定芽的再生,不定芽再生率为 0;加入 NAA 的各个处理中,不定芽再生率较低,均低于 12%;而加入 IBA、IAA 的各个处理中,不定芽再生率都相对较高。在 BA-Auxin 组合的各个处理中,9 号处理愈伤组织为黄绿色,不定芽再生率最高,为 41.92%,与其他处理达到 0.01 显著差异。在 KT-Auxin、ZT-Auxin 组合的各个处理中,9 号处理的不定芽再生率最高,分别为 35.07%、41.72%,分别与同组其他处理达到 0.01 显著差异。

2.2.2 不同种类细胞分裂素处理间的比较。当生长素种类、浓度相同,细胞分裂素浓度相同,仅细胞分裂素种类不同时,不定芽诱导率、不定芽高度也明显不同。表 2 表明,在同一水平下,KT-Auxin 组合不定芽再生率明显低于 BA-Auxin、ZT-Auxin 组合。与 ZT-Auxin 相比,BA-Auxin 组合最高的不定芽再生率为 41.92%,而 ZT-Auxin 组合最高的不定芽再生率为 41.72%。研究表明,加入 2.0 mg/L BA 时,不定芽诱导效果最好。

表 2 不同激素组合对苦瓜不定芽再生率的影响 %

处理	BA-Auxin 组合	KT-Auxin 组合	ZT-Auxin 组合
1	4.34jI	3.23jI	5.06jI
2	23.21dD	15.92bB	20.74cC
3	0jJ	0kJ	0jJ
4	10.32hH	8.65hG	10.54hH
5	23.55cC	14.11dD	17.57fF
6	11.89gG	8.67gG	10.56hH
7	19.88fF	15.24cC	18.13eE
8	0jJ	0kJ	0jJ
9	41.92aA	35.07aA	41.72aA
10	0jJ	0kJ	0jJ
11	23.25dD	9.77fF	19.71dD
12	0jJ	0kJ	0jJ
13	0jJ	0kJ	0jJ
14	21.58eE	6.72iH	16.70gG
15	0jJ	0kJ	0jJ
16	26.50bB	12.75eE	32.19bB

注:同列小写、大写字母分别表示差异在 0.05、0.01 水平显著。下表同。

2.3 不同激素组合对不定芽高度的影响 不定芽高度对有效苗的产生有直接的影响。表 3 表明,不同细胞分裂素种类对不定芽高度的影响不同。分别加入 BA 和 ZT 的处理,不定芽高度差别不大;在处理号为 2、11、14 的处理中,BA-Auxin 组合的不定芽高度高于 ZT-Auxin 组合。而在加入 KT 的各个处理中,不定芽高度低于加入 BA 和 ZT 的处理。不同生长素种类和浓度、不同细胞分裂素浓度对不定芽高度有不同的影响。加入 IBA、IAA 的处理中,不定芽高度较大,加入 NAA 的处理次之,而加入 2,4-D 的效果最差。而 9 号处理不定芽高度均最大,与其他处理之间存在 0.01 水平显著差异。所以,BA-IBA 组合更有利于“绿人”苦瓜不定芽的诱导。在 MS + 2 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA 培养基中,不定芽再生率为 41.92%,效果最好。

3 讨论

在不定芽诱导过程中,外植体本身就是重要的影响因素。有报道指出,葫芦科植物由于在萌发阶段具有较高的内源激素 IAA^[5],不需要外源激素或极低浓度的 2,4-D 即可诱导愈伤组织发生,然而在分化培养基中分化率极低甚至不能分化^[6]。在苦瓜中也有类似情况的发生。前人试验表明,苦瓜愈伤组织再分化不定芽难且诱导率低^[2-4,7],而由于顶芽、

表 3 不同激素组合对苦瓜不定芽平均高度的影响 cm

处理	BA-Auxin 组合	KT-Auxin 组合	ZT-Auxin 组合
1	0.5dCD	0.3dDE	0.5deCD
2	0.7cC	0.5cCD	0.5deCD
3	0fE	0eF	0fE
4	0.3eD	0.3dDE	0.3eDE
5	1.0bB	0.8bAB	1.0bAB
6	0.3eD	0.2dEF	0.3eDE
7	1.0bB	0.8bAB	1.0bAB
8	0fE	0eF	0fE
9	1.5aA	1.0aA	1.3aA
10	0fE	0eF	0fE
11	1.0bB	0.7bBC	0.8bcBC
12	0fE	0eF	0fE
13	0fE	0eF	0fE
14	0.7cC	0.5cCD	0.5deCD
15	0fE	0eF	0fE
16	0.6cdC	0.5cCD	0.6cdCD

带芽茎段具有芽点,可通过改变外界因子以促进芽点直接萌发成苗。在用愈伤组织不易分化的材料进行组织培养时,可以通过这一途径达到快速繁殖的目的。

植物组织培养中外植体芽的诱导不仅与生长调节剂的种类有关,而且与其组合、浓度有关。大量研究表明,组织培养过程中细胞分裂素对不定芽诱导起作用,不同种类的细胞分裂素对不同材料的作用差异较大,但大多数种类以 BA 最为有效,不同材料 BA 的最适浓度不同。在该试验中,BA 更有利于“绿人”苦瓜不定芽的诱导。这与前人研究其他瓜类蔬菜离体快繁的报道相一致^[8-11]。在苦瓜组织培养时,不同浓度的 4 种生长素均可诱导出愈伤组织。这与前人的研究结果相一致。而对于不定芽的诱导,IBA 的诱导效果最好,其次是 IAA、NAA、2,4-D。但是,王小荣等研究表明,在 BA 1 mg/L + NAA 0.5 mg/L 或 NAA 1.0 mg/L 的 MS 培养基中获得快速繁殖的不定芽^[12]。其中,生长素种类和浓度与该试验结果都有很大差异。这可能是由品种不同而造成的,仍有待进一步研究。

参考文献

- [1] ISLAM R, SARKAR K P, NADERUZZAMAN A. *In vitro* regeneration of plants from cotyledons of *Momordia charantia* L. [J]. *Plant Tissue Culture (Bangladesh)*, 1994, 4(2): 105 - 109.
- [2] 申洪业. 苦瓜下胚轴离体培养研究诱导形成愈伤组织[J]. *吉林蔬菜*, 1997(1): 3 - 4.
- [3] YANG M Y, ZHAO M J, ZENG Y, et al. Establishment of *in vitro* regeneration system of bitter melon [J]. *High Technology Letters*, 2004, 10(1): 44 - 48.
- [4] 唐琳, 苟小平. 用离体材料培养无性繁殖苦瓜[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 1999, 36: 144 - 147.
- [5] 熊长云, 张祖传. 一组丝瓜籽小分子核糖体蛋白的分离、纯化和性质[J]. *生物化学与生物物理学报*, 1998, 30(2): 142 - 146.
- [6] 于为常, 沈利爽, 文香玉, 等. 哈密瓜内源激素 IAA 的测定[Z]. 中国科学院遗传研究所, 1990: 40 - 41.
- [7] 苟小平, 唐琳. 苦瓜叶肉原生质体的培养[J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 1997, 29(3): 462 - 465.
- [8] 王吉明, 韦小敏. 植物生长调节剂在西瓜上的应用[J]. *中国西瓜甜瓜*, 2004(4): 17 - 18.
- [9] 侯爱菊, 朱延明, 杨爱霞, 等. 诱导黄瓜直接器官发生主要影响因素的研究[J]. *园艺学报*, 2003, 30(1): 101 - 103.
- [10] 邓向东, 耿玉轩, 路子显, 等. 外植体和培养因子对哈密瓜不定芽诱导的影响[J]. *园艺学报*, 1996, 23(1): 57 - 61.
- [11] 林文丽, 谢泽君. 小西瓜组织培养与快繁技术的研究[J]. *中国西瓜甜瓜*, 2004(6): 11 - 13.
- [12] 王小荣, 刘选明, 刘斌. 不同激素组合对苦瓜离体快速繁殖的调控[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2003, 26(4): 76 - 78.