

AgNO₃ 诱导的苦瓜纯雌系完全花分化与幼叶和花蕾中内源激素的关系

王日升^{1,2,3}, 张曼², 周生茂², 方锋学², 杨丽涛¹, 李杨瑞^{3,*}

¹广西大学农学院, 南宁 530005; ²广西农业科学院蔬菜研究中心, 南宁 530007; ³广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007

摘要: 本文用酶联免疫检测(ELISA)技术研究三叶一心期喷施AgNO₃诱导苦瓜纯雌系完全花分化过程中花蕾与幼叶中内源激素含量变化。结果显示: 喷施AgNO₃后幼叶中 IAA、GA₃、ZR 和 ABA 含量与喷水的相比, 都是先下降后增加。AgNO₃ 处理的花蕾中这4种激素含量在72 h内没有一致变化规律, 但变化幅度大于幼叶的, 表明生殖器官的内源激素对苦瓜性别分化影响比营养器官的大。AgNO₃ 处理后24~48 h内, 花蕾中这4种激素的含量明显低于喷水的, 而其余时间则高于喷水的。此外, AgNO₃ 处理的花蕾中 ABA/IAA、ZR/IAA 和 GA₃/IAA 比值也在24~48 h发生剧烈的变化, 48 h之后这些激素比值与喷水的相差不大。这些结果说明了 AgNO₃ 处理后24~48 h是苦瓜纯雌系性别分化的关键时期, IAA 可能是诱导纯雌系苦瓜雄性分化的关键激素。

关键词: 苦瓜; 纯雌系; 完全花; 内源激素; AgNO₃

Relationship between Differentiation of Complete Flower Induced by AgNO₃ and Endogenous Hormones in Young Leaves and Flower Buds of *Momordica charantia* L. Gynoecious Line

WANG Ri-Sheng^{1,2,3}, ZHANG Man², ZHOU Sheng-Mao², FANG Feng-Xue², YANG Li-Tao¹, LI Yang-Rui^{3,*}

¹Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China; ²Vegetable Research Center, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; ³Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Laboratory, Nanning 530007, China

Abstract: Four endogenous hormones in flower buds and young leaves of gynoecious bitter melon (*Momordica charantia*) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) during differentiation of complete flower induced by AgNO₃ at three-leaf-one-apical stage. The results showed that contents of ABA, IAA, GA₃ and ZR in young leaves decreased firstly then increased after being sprayed with 300 mg·L⁻¹ AgNO₃. Contents of the 4 endogenous hormones in flower buds treated with AgNO₃ didn't show the same change in 72 h, but which changed more greatly than those in young leaves, indicating that the endogenous hormones in reproductive organs had greater influence on sex differentiation than those in vegetative organs. Contents of the 4 endogenous hormones in flower buds during 24–48 h after treatment with AgNO₃ were significantly lower than those of the control, but higher in the rest time. Furthermore, the ratios of ABA/IAA, ZR/IAA and GA₃/IAA in flower buds treated with AgNO₃ changed intensively in 24–48 h, but they were similar with the control after 48 h. It suggested that 24–48 h after AgNO₃ treatment was the important period for the sex differentiation in gynoecious bitter melon induced by AgNO₃, and IAA may be the leading hormone for male differentiation in gynoecious bitter melon induced by AgNO₃.

Key words: bitter melon (*Momordica charantia*); gynoecious; complete flower; endogenous hormone; AgNO₃

苦瓜为葫芦科苦瓜属一年生雌雄同株异花的草本植物, 嫩瓜富含维生素C和苦瓜素等营养成分, 是炎热季节的主选蔬菜之一。苦瓜杂交种在生产上深受欢迎。以苦瓜纯雌系为母本杂交制种具有节约人力、物力、财力和时间等优势, 其杂交种表现早熟、丰产、雌花率高和抗逆性强等优点(万新建等 2002), 而纯雌系只开雌花不开雄花造成自

交繁殖困难, 须通过改变性别分化程序使之产生雄

收稿 2009-02-16 修定 2009-03-25

资助 国家科技支撑计划(2007BAD68B03)、公益性行业(农业)科研专项(nyhyzx07-007-1)、广西自然科学基金(桂科自0728065)、广西作物遗传生物技术重点开放实验室开放课题(桂科能0815011-6-1-14)、广西青年科学基金(桂科青0991077)。

* 通讯作者(E-mail: liyr@gxaas.net; Tel: 0771-3247689)。

性器官才能达到繁殖目的。

高等植物性别分化是目前开花生理研究中的重要内容,因为它决定着开花时间以及花和果实数量,进而影响到收获时间和农业产量。植物激素是性别分化的诱导信号,内源激素与纯雌系苦瓜分化完全花关系的研究,可揭示雌雄同株异花植物产生完全花过程中激素变化规律,具有较大的理论价值和实践意义。瓜类蔬菜性别分化与内源激素含量密切相关,不同激素水平对性别分化影响不同,同株雌雄花中激素含量差异很大(Yamasaki等2000;陈学好等2002;刘海河等2006;张建农和李计红2007)。AgNO₃可有效诱导苦瓜(杨葵等2004)、黄瓜(Beyer 1976)、节瓜(陈清华等1999)、西葫芦(戚艺军等2004)和瓠瓜(李曙轩1981)等葫芦科植物强/纯雌系的雌花转化为雄花/完全花。雌性系黄瓜受AgNO₃诱导的机理研究表明,AgNO₃导致茎尖GA₃增加,IAA和ZT减少(陈学好等2002);银离子是乙烯生物合成的竞争性抑制剂,能完全抑制乙烯利、生长素和1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)等诱导的黄瓜雌花形成过程进而分化为雄花(Takahashi和Jaffe 1984)。在瓜类蔬菜中普遍具有促雌作用的乙烯利在苦瓜性别表现上比较复杂:低浓度(25 μg·g⁻¹)下对植株具有中等强度的促雌效果,高浓度(100 μg·g⁻¹或更高)下促雌效果不明显或使雌花数减少(Ghosh和Basu 1983)。而AgNO₃诱导纯雌系苦瓜分化完全花与内源激素关系尚未见报道。

本文以纯雌性苦瓜‘X-黑-d-d’为材料,利用酶联免疫检测技术(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)测定300 mg·L⁻¹ AgNO₃喷施于三叶一心期纯雌系苦瓜后72 h内幼叶和花蕾内源ABA、IAA、ZR和GA₃含量,探讨纯雌系苦瓜分化完全花与花蕾和幼叶内源激素含量变化的关系。

材料与方 法

试材‘X-黑-d-d’是纯雌系苦瓜(*Momordica charantia* L.),由广西农科院蔬菜研究中心提供。种子浸种催芽后种植于设施大棚中,于三叶一心期用浓度为300 mg·L⁻¹ AgNO₃喷施全株至叶冠上液滴形成为止,以喷施蒸馏水为对照,每个处理40株,其中20株在处理12、24、36、48、60和72 h

后采集幼叶和花蕾作为研究材料,另外20株用来调查每个节位花的类型,试验重复3次。

采用中国农业大学作物化控室提供的植物激素ELISA试剂盒,用酶联免疫检测仪测定花蕾和幼叶中IAA、GA₃、ZR和ABA含量,每个样品重复3次,取平均值。采用SAS 8.0进行数据方差分析。以时间进程为横坐标,激素含量为纵坐标,利用软件Origin 7.5进行绘图。

结果与讨论

1 AgNO₃对纯雌系苦瓜性别分化的影响

调查300 mg·L⁻¹ AgNO₃及蒸馏水喷施纯雌系苦瓜后花的性别表现的结果表明,从第1朵花开始连续性地转化为完全花,每株平均有11朵完全花,之后恢复为纯雌花,而对照植株表现为纯雌性。由此表明,采用300 mg·L⁻¹ AgNO₃处理可诱导纯雌系苦瓜分化出完全花。解剖学分析显示,苦瓜雌花发育过程中可见到中途停止发育的雄蕊(汪俏梅和曾广文1997)。据此,可以推断本文所获得的苦瓜完全花是本该退化的雄蕊,它们受AgNO₃诱导后继续发育而形成。

2 幼叶中内源激素含量的变化

从图1~4可以看出,与喷水的相比,喷施AgNO₃后幼叶中IAA、GA₃、ZR和ABA含量都是先下降,AgNO₃效应期过后又增加,而且,这4种激素的变化更加平缓。

3 花蕾中内源激素含量的变化

从图1~4可以看出,AgNO₃处理的花蕾中内源激素IAA、GA₃、ABA和ZR含量变化在72 h内没有一致的变化规律,但变化幅度大于幼叶的,尤以IAA变化幅度最大,表明生殖器官的内源激素对苦瓜性别分化影响比营养器官的大,而且IAA可能是AgNO₃诱导纯雌系苦瓜雄性分化的关键激素。有研究表明,黄瓜茎尖IAA含量明显下降是AgNO₃诱导雌性系黄瓜转雄分化的主要原因,内源IAA可能是黄瓜性别分化的关键激素(陈学好等2002),激素中IAA含量的增加是导致多数植物产生雄性不育原因之一(Sawhney和Shukla 1994),苦瓜外施IAA具有促雌的效果(Kabir等1989;Banerjee和Basu 1992)。本研究与已有报道相符。

AgNO₃ 处理后24~48 h内, 花蕾中 IAA 的含量明显低于喷水的, 在 36 h 含量达到最低值, 仅为喷水的 4.7%, 达到极显著水平($P < 0.01$), 而其余时间则高于喷水的。另外 3 种内源激素水平在该时间段内也表现同样规律。有研究表明, 高水平的 IAA 和 GA₃ 有利于黄瓜雌花的发育(陈学好等 2002)。据此认为, 24~48 h 是 AgNO₃ 处理纯雌系苦瓜后雄性分化的关键时期。原因可能是在该时间段内 AgNO₃ 诱导了 IAA 含量的降低, 启动了某些基因, 使得纯雌系苦瓜雌花中本该退化的雄蕊继续发育而形成完全花。我们将利用 cDNA-AFLP 技术研究 AgNO₃

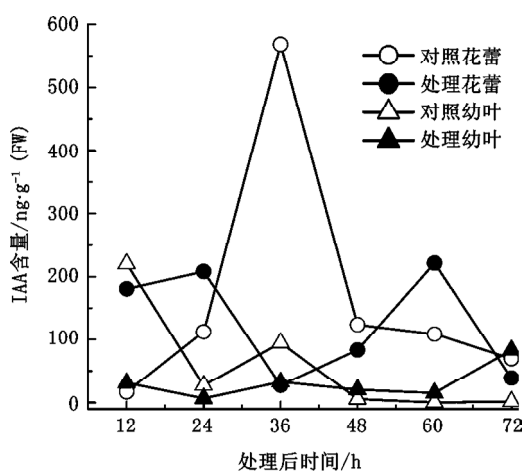


图1 AgNO₃ 处理后苦瓜幼叶与花蕾内源 IAA 含量变化
Fig.1 Changes of endogenous IAA contents in flower buds and young leaves of bitter melon after AgNO₃ treatment

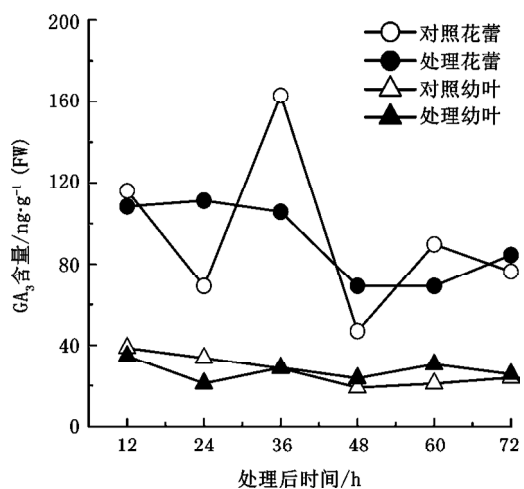


图2 AgNO₃ 处理后苦瓜幼叶与花蕾内源 GA₃ 含量变化
Fig.2 Changes of endogenous GA₃ contents in flower buds and young leaves of bitter melon after AgNO₃ treatment

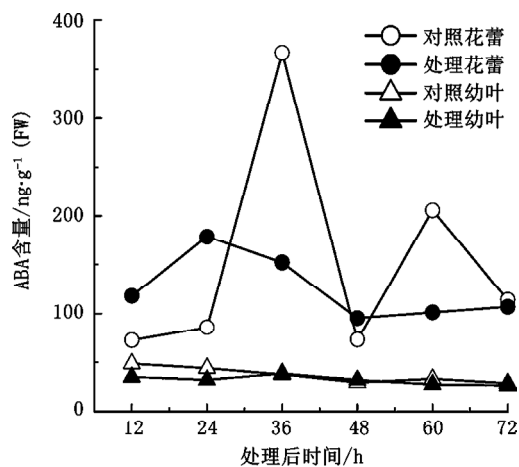


图3 AgNO₃ 处理后苦瓜幼叶与花蕾内源 ABA 含量变化
Fig.3 Changes of endogenous ABA contents in flower buds and young leaves of bitter melon after AgNO₃ treatment

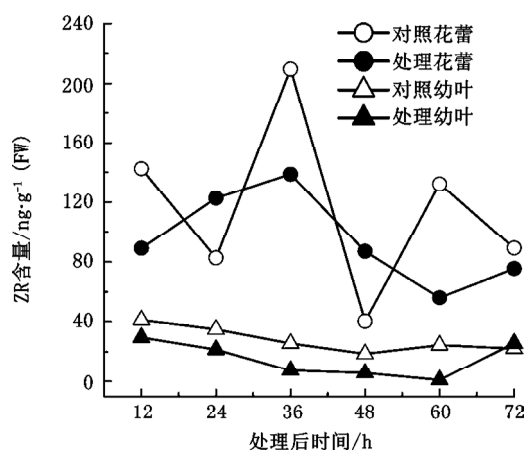


图4 AgNO₃ 处理后苦瓜幼叶与花蕾内源 ZR 含量变化
Fig.4 Changes of endogenous ZR contents in flower buds and young leaves of bitter melon after AgNO₃ treatment

诱导纯雌系苦瓜分化完全花过程中花蕾所发生的基因差异表达情况, 进一步探讨该过程中 AgNO₃ 调控纯雌系苦瓜分化完全花的机理。

4 花蕾中 ABA/IAA、ZR/IAA 和 GA₃/IAA 比值的比较

从图 5 可以看出, AgNO₃ 处理的花蕾中 ABA/IAA、ZR/IAA 和 GA₃/IAA 比值在 24~48 h 发生剧烈的变化, 48 h 之后这些激素比值的变化趋于平缓, 并且与喷水的花蕾中这些激素比值相差不大。进一步说明了 AgNO₃ 处理后 24~48 h 是 AgNO₃ 处理纯雌系苦瓜后性别分化的关键时期, IAA 可能是

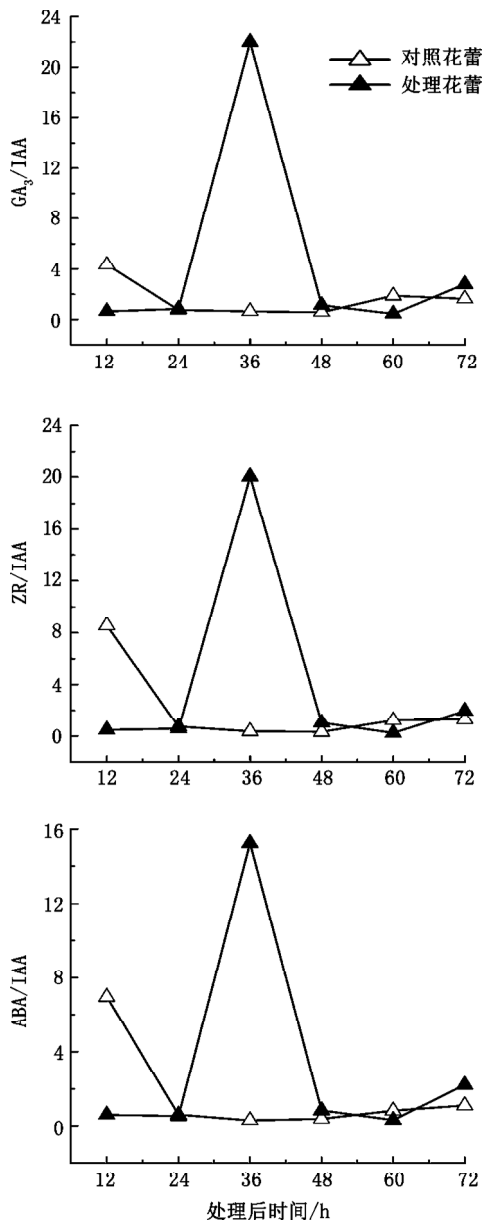


图5 AgNO_3 处理后苦瓜花蕾中内源 GA_3/IAA 、 ABA/IAA 和 ZR/IAA 比值的变化

Fig.5 Changes of endogenous GA_3/IAA , ABA/IAA and ZR/IAA in flower buds of bitter melon after AgNO_3 treatment

AgNO_3 诱导纯雌系苦瓜雄性分化的关键激素。

参考文献

- 陈清华, 彭庆务, 卓齐勇, 赫新洲, 林毓娥, 黎庭耀(1999). 节瓜强雌系化学诱雄剂的筛选及应用. 广东农业科学, (3): 26~27
- 陈学好, 曾广文, 曹碚生(2002). 黄瓜花性别分化和内源激素的关系. 植物生理学通讯, 38 (4): 317~320
- 李曙轩(1981). 乙烯利及赤霉素对瓠瓜性别的影响. 植物生理学报, 7 (3): 265~271
- 刘海河, 侯喜林, 张彦萍, 尹雅乐(2006). 西瓜核雄性不育系雄花蕾发育过程中内源激素和多胺动态变化分析. 园艺学报, 33 (1): 143~145
- 戚艺军, 程国旺, 王春生, 吴李君(2004). 西葫芦花发育特性及其化学改良措施. 安徽农业大学学报, 31 (4): 452~455
- 万新建, 陈学军, 缪南生, 方荣(2002). 我国苦瓜的研究现状及展望. 江西农业学报, 14 (3): 46~50
- 汪俏梅, 曾广文(1997). 苦瓜性别分化的形态与组织化学研究. 浙江农业大学学报, 23 (2): 149~153
- 杨葵, 唐燕琼, Sakamoto M (2004). AgNO_3 , GA_3 和温度对苦瓜纯雌、雄株系性别分化的影响. 热带作物学报, 25 (3): 80~84
- 张建农, 李计红(2007). 甜瓜不同性别花蕾发育中激素和多胺的变化. 园艺学报, 34 (5): 1195~2000
- Banerjee S, Basu PS (1992). Hormonal regulation of flowering and fruit development: effect of gibberellic acid and ethrel on fruit setting and development of *Momordica charantia* L. Biol Plant, 34 (1~2): 63~70
- Beyer E (1976). Silver ion: a potent antiethylene agent in cucumber and tomato. HortScience, 11: 195~196
- Ghosh S, Basu PS (1983). Hormonal regulation of sex expression in *Momordica charantia*. Physiol Plant, 57 (2): 301~305
- Kabir J, Chatterjee R, Biswas B, Mitra SK (1989). Chemical alteration of sex-expression in *Momordica charantia*. Prog Hort, 21 (1~2): 69~72
- Sawhney VK, Shukla A (1994). Male sterility in flowering plants: are plant growth substances involved? Am J Bot, 81 (12): 1640~1647
- Takahashi H, Jaffe MJ (1984). Further studies of auxin and ACC induced feminization in the cucumber plant using ethylene inhibitors. Phyton (Buenos Aires), 44 (1): 81~86
- Yamasaki S, Fujii N, Takahashi H (2000). The ethylene-regulated expression of CS-ETR2 and CS-ERS genes in cucumber plants and their possible involvement with sex expression in flowers. Plant Cell Physiol, 41 (5): 608~616