

6-BA 和氨基酸对黄瓜子叶离体培养成花的影响

周俊辉^{1,*} 周家容² 林毕成¹ 丁谨¹

仲恺农业技术学院¹园艺系, ²基础部, 广州 510225

摘要 在基本培养基的筛选中, 1/2MS 培养基中附加 0.10 mg·L⁻¹ 6-BA 能显著提高离体黄瓜子叶的开花率, White 培养基中附加 2.00 mg·L⁻¹ 的 KT 下开花率也有明显提高, 但植株矮小、瘦弱, 整株变黄, 甚至透明化, 长势极差。浓度在一定范围的 6-BA(0.01~0.50 mg·L⁻¹)对黄瓜子叶开花率影响不大, 但在高浓度(0.50 mg·L⁻¹)下, 植株生长势差, 开花迟, 低浓度(0.01 mg·L⁻¹)下, 生长势较好。相同浓度的 L-丙氨酸和 L-酪氨酸均明显促进黄瓜子叶开花, 且开花早; 而甘氨酸对黄瓜子叶开花则有一定的抑制, 开花率低。

关键词 黄瓜; 子叶; 离体开花; 基本培养基; 6-BA; 氨基酸

Influences of 6-BA and Amino Acids on Flower Formation from Cotyledons of Cucumber *in vitro*

ZHOU Jun-Hui^{1,*}, ZHOU Jia-Rong², LIN Bi-Cheng¹, DIN Jin¹

¹Department of Horticulture, ²Basic Department, Zhongkai Agrotechnical College, Guangzhou 510225

Abstract Cotyledon explants without embryonic axes from 'Yuexiu No.1' cucumber were cultured on different media. The results indicated that, the flowering rate was obviously increased by 1/2 MS medium supplemented with 0.10 mg·L⁻¹ 6-BA. Although the higher flowering rate was got by White medium supplemented with 2.00 mg·L⁻¹ KT but the plant was small, thin and etiolation. There was not obvious differences in flower rate on 1/2MS medium containing 0.01, 0.05, 0.10 and 0.50 mg·L⁻¹ 6-BA. The plant grew well at a low concentration of 6-BA but at a high concentration grew badly. The flowering rate was improved obviously by 1/2 MS medium supplemented with 2.00 mg·L⁻¹ L-alanine and 2.00 mg·L⁻¹ L-tyrosine respectively, while glycine presented inhibition, the lower flowering was recorded.

Key words cucumber; cotyledon; *in vitro* flowering; basic medium; 6-BA; amino acid

近年来, 以植物的茎尖、茎段、叶片、子叶和胚轴等作外植体进行离体培养研究开花的报道很多^[1]。其方法简便, 不受季节限制, 培养条件可根据要求调节, 是植物开花研究中比较理想的手段。离体条件下花芽分化和开花的方式一般有 3 类: 外植体经过或不经愈伤组织, 分化形成再生苗, 再生苗在试管中开花; 外植体形成愈伤组织, 由愈伤组织直接形成花芽; 外植体不经过愈伤组织阶段, 直接由切口上分化出花芽。

以黄瓜子叶研究开花生理的工作已不少^[2,3], 除了任红旭等^[1,3]、王利琳和梁海曼^[4,5]分别用低氮营养和 pH 预培养的方法在黄瓜子叶得到较高的开花率外, 大多数报道中的开花率并不高, 从 5.46% 到 46.50% 不等^[6~10]。Juboory 等^[11]的实验表明, 只有在 6-BA 浓度大于 0.10 mg·L⁻¹ 即 0.20~0.50 mg·L⁻¹ 时, 离体黄瓜子叶才能开花。在组织培养的培养

基中, 一般除甘氨酸外未见用其它氨基酸, 因此, 对氨基酸在外植体成花过程中的作用知之甚少。陈永宁和李文安^[12]认为 L-色氨酸影响烟草花柄离体培养下的花芽分化, 但以之研究其他植物的报道不多。为此, 我们以黄瓜子叶为材料进行离体培养, 探讨不同基本培养基、不同浓度 6-BA、不同氨基酸种类对离体黄瓜子叶开花的影响, 以期能提高其开花比率, 为研究其他植物试管开花提供参考。

材料与方法

实验材料为广东省农业科学院蔬菜研究所

收稿 2003-06-16 修定 2003-10-17

资助 国家教育部“新世纪高等教育教学改革工程”(1292BD011)。

* E-mail: junhuizhou@163.com, Tel: 020-89003612

2002年11月生产的“粤秀1号”黄瓜(*Cucumis sativus*)。精选饱满的黄瓜种子,水漂洗后浸种6 h左右,剥去种皮,用0.1% HgCl_2 消毒5~10 min,用无菌水洗涤5次后,确保无残毒遗留,接种于不含任何激素的MS培养基(pH值为5.8, 0.6%琼脂)上,使其萌发成苗。选取7 d左右苗高约10 cm、健壮生长的黄瓜无菌苗,剪截其子叶(保留2~3 mm子叶基部叶柄,小心切除其上生长点)作为外植体,分别接种于附加3%蔗糖、0.8%琼脂的各种培养基(pH值为5.8)上,每瓶接种1个外植体,40 d左右开花。实验处理有:(1)不同基本培养基处理。将黄瓜子叶分别接种在MS+6-BA $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、MS+KT $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、1/2MS+6-BA $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、1/2MS+KT $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、White+6-BA $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、White+KT $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 等6种培养基上,观察子叶的开花情况,定时统计结

果,至开花凋谢后结束统计(其他处理同此)。(2)不同浓度6-BA处理。以筛选出子叶开花率较高的1/2MS作为基本培养基,分别附加0.01、0.05、0.10、0.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的6-BA。(3)不同氨基酸处理。以1/2MS作为基本培养基,附加0.10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA。把1/2MS培养基中通常使用的甘氨酸分别换成等量的丙氨酸和酪氨酸。

上述每个处理20瓶,重复3次。所有实验的培养温度均为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照度为1 500~2 000 lx,光照12 $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。采用SAS system v6.1进行方差显著性差异分析。

结果与讨论

1 离体子叶开花过程中的形态变化

在光照培养条件下,离体子叶接种5 d后即开始膨大,在基部逐渐出现绿色颗粒小突起,切

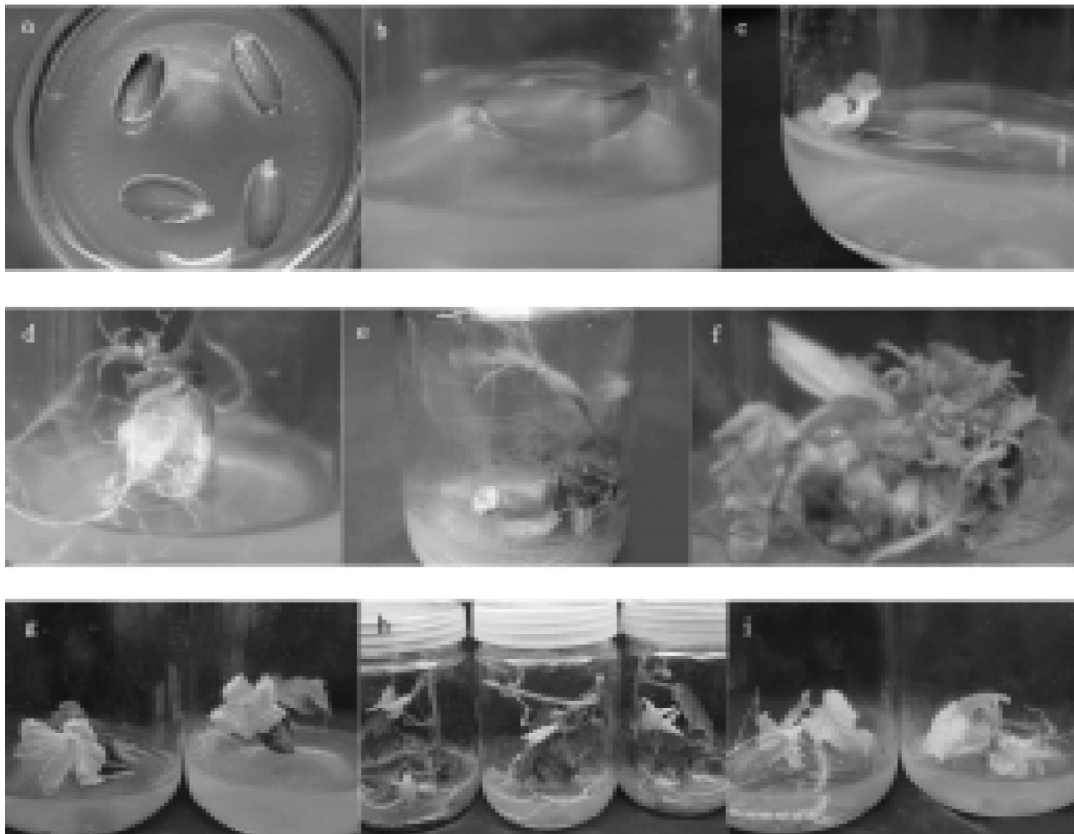


图1 “粤秀1号”黄瓜离体子叶开花过程中的形态变化和不同培养基对离体子叶开花的影响

Fig. 1 Morphology changes and effects of various media on flowering from cotyledon of ‘Yuexiu No. 1’ cucumber *in vitro*

a. 去掉顶芽后接种的子叶; b. 子叶膨大; c. 从子叶切口处产生愈伤组织和芽; d. 子叶直接产生的雌蕊群; e. 子叶间接产生的雌花; f. 子叶直接产生的雌花群; g. 子叶间接产生的雄花; h. 1/2MS+6-BA $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上开的花; i. White+6-BA $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上开的花。

口逐渐形成少量愈伤组织; 10 d左右开始长根和叶; 20~30 d后, 可明显看到绿色颗粒小突起以两条途径继续发育: 直接或间接分化形成花芽。前一花芽分化模式是绿色小突起直接分化形成花芽, 40 d后直接开花; 后一花芽分化模式是在小突起处先后分化发育形成茎和叶, 35 d后, 再在茎上分化形成花芽, 40~50 d后, 花芽完全开放, 开出黄色小花。花有雌花和雄花(图1-a~g)。培养中的黄瓜子叶不长或只长极少量愈伤组织, 开出的花多数为雄花, 绝大多数子叶属于间接花芽开花模式。单花花期雄花为6 d左右, 雌花约为5.5 d; 整瓶花期可以维持1个月左右。

2 不同基本培养基对黄瓜子叶开花的影响

从表1可以看出, 1/2MS培养基中附加0.10 mg·L⁻¹ 6-BA, 对黄瓜子叶开花有明显的促进, 开花率最高, 达51.67%, 开花量及植株生长情况均较理想。White培养基中附加2.00 mg·L⁻¹ KT, 黄瓜子叶的开花率也有明显的提高, 开花率达46.55%,

但植株矮小、瘦弱, 整株变黄, 甚至透明化, 而且每瓶开花量极少; 附加6-BA的White培养基培养出的植株也出现上述情况(图1-h~i)。据此我们认为, White培养基不适宜而1/2MS+6-BA 0.10 mg·L⁻¹是6种培养基中最适宜作为培养黄瓜子叶开花的培养基。

我们实验中1/2MS的培养条件下开花率只有51.67%, 与任红旭等人^[1,3]曾经报导黄瓜子叶开花率可高达100%之间差异较大。其原因可能与所选用的品种不同或种子贮存时间不同有关。

3 不同浓度6-BA对黄瓜子叶开花的影响

从表2可知, 虽然在4种浓度6-BA培养的离体黄瓜子叶的开花率方差分析无显著差异。但6-BA浓度较高(0.50 mg·L⁻¹)的植株出现较多的畸形叶, 生长势较差, 开花较迟; 而低浓度(0.01 mg·L⁻¹)6-BA的植株长势好, 每瓶开花量较多。这与Juboory等^[11]的结果不一致。

4 不同氨基酸对黄瓜子叶开花的影响

从表3可知, 用等量的丙氨酸或酪氨酸代替

表1 不同基本培养基对“粤秀1号”黄瓜子叶开花的影响

Table 1 Effects of various media on flowering from cotyledon of 'Yuexiu No. 1' cucumber *in vitro*

基本培养基	激素浓度/mg L ⁻¹	开花数	直接开花数	开花率/%	开花量	生长情况
MS	6-BA 0.10	5.33	1.00	26.67a	中	花大, 叶大、深绿, 茎较粗, 根数较多
	KT 2.00	4.75	1.33	23.73a	极多	花大, 叶大、深绿, 茎较粗, 根数较多
1/2MS	6-BA 0.10	10.33	1.33	51.67b	极多	花大, 叶大、深绿, 部分微黄, 茎粗, 根极多
	KT 2.00	4.33	0.67	22.81a	中	花大, 叶大、深绿, 部分微黄, 茎粗, 根极多
White	6-BA 0.10	4.56	2.67	25.00a	极少	花小, 叶片呈黄部分透明, 株型矮小, 根少
	KT 2.00	9.31	0.33	46.55b	极少	花小, 叶片呈黄部分透明, 株型矮小, 根少

接种数20, 重复3次。统计开花量时以平均每瓶开花数为准, 按如下分档: 极少(1~5朵·瓶⁻¹); 少(6~10朵·瓶⁻¹); 中(10~15朵·瓶⁻¹); 多(15~20朵·瓶⁻¹); 极多(20朵·瓶⁻¹以上)。下表同此。

表2 不同浓度6-BA对“粤秀1号”黄瓜子叶开花的影响

Table 2 Effects of different concentrations of 6-BA on flowering from cotyledon of 'Yuexiu No. 1' cucumber *in vitro*

6-BA浓度/mg L ⁻¹	长叶数	开花数	直接开花数	开花率/%	开花量	生长情况
0.01	5.42	5.08	0	25.42a	极多	花大, 叶深绿色, 茎粗壮, 侧茎多, 根多
0.05	7.27	6.91	0.33	34.54a	极多	花大, 叶浅绿色, 有些边缘发黄, 茎短粗, 根较多
0.10	6.09	5.65	0	28.26a	中	花大, 叶浅绿色, 茎较细, 根较多
0.50	12.40	6.40	0.33	32.00a	中	花小, 部分叶畸形微黄, 植株较弱, 根少

基本培养基为1/2MS。

表3 不同氨基酸对“粤秀1号”黄瓜子叶开花的影响

Table 3 Effects of various amino acids on flowering from cotyledon of 'Yuexiu No. 1' cucumber *in vitro*

氨基酸类别	长叶数	开花数	直接开花数	开花率/%	开花量	生长情况
丙氨酸	12.98	11.93	0	59.65 b	多	花大, 叶浅黄色, 茎粗壮, 根较多
酪氨酸	13.92	12.14	1.33	60.71 b	极多	花大, 叶浅黄色略卷曲, 茎粗壮, 根少
甘氨酸	6.09	5.65	0	28.26 a	多	花大, 叶浅绿色, 茎较细, 根较多

培养基为1/2MS+6-BA 0.10 mg·L⁻¹。

甘氨酸后培养的黄瓜子叶开花率比直接用甘氨酸培养的均受到明显的促进, 丙氨酸和酪氨酸均能加速黄瓜子叶分化出茎叶, 但丙氨酸与酪氨酸培养的黄瓜子叶开花率之间无差异。

陈永宁和李文安^[12]曾报道, 浓度在4.00 mg·L⁻¹ 以上的L-色氨酸与0.20 mg·L⁻¹ 6-BA协同促进烟草花柄离体培养下花芽分化。在黄瓜子叶离体培养中, 常规MS培养基(只含甘氨酸)的开花率有高有低^[1, 3~8], 我们在前面的实验中高的也达51.67%, 这可能与品种、处理、种子寿命等因素有关。据报道, White培养基中加甘氨酸会抑制楼斗菜早期和中期阶段的花芽生长, 而在其他培养基中加甘氨酸则具有促进作用, 但抑制晚期阶段的芽生长^[13]。看来, 氨基酸对离体开花的影响还须作进一步的研究。

参考文献

- 任红旭, 陈雄, 赵晓俊等. 低氮素和水杨酸对黄瓜子叶离体培养中花芽分化的影响. 园艺学报, 1999, 26(2): 105~109
- 王利琳, 姜维梅, 胡江琴等. 黄瓜子叶培养物花芽形成和发育的观察. 杭州师范学院学报, 2000, (3): 53~55
- 任红旭, 陈雄, 王亚馥. 低氮营养与激动素对离体黄瓜子叶花芽分化的影响. 兰州大学学报, 1999, 35(2): 124~129
- 王利琳, 梁海曼. pH预培养对黄瓜子叶花芽分化和内源多胺及激素的影响. 上海农业学报, 1999, 15(3): 19~23
- 王利琳, 梁海曼. 培养基pH对离体黄瓜子叶形成花芽的影响. 杭州师范学院学报, 1997, (3): 73~77
- 朱诚, 梁海曼, 曾广文. 切割子叶对黄瓜子叶离体培养及去顶苗直接成花的影响. 浙江农业大学学报, 1999, 25(3): 233~235
- 庞基良, 孙坚红, 梁海曼. 黄瓜离体子叶切块培养直接分化花芽. 生物技术, 1994, 4(6): 9~11
- 庞基良, 林波, 梁海曼. 几种生长调节剂对离体培养黄瓜子叶直接开花的作用. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 185~188
- 周菊华, 马月珍, 罗紫娟等. Cu²⁺对离体培养下黄瓜子叶花芽分化的影响. 浙江大学学报, 2000, 23(3): 300~303
- 滕胜, 钟华鑫, 王利琳等. Ca²⁺对黄瓜子叶离体培养物花芽分化的影响. 植物生理学报, 2000, 26(6): 413~416
- Juboory AI, Skirvin RM, Williams DJ. Improved flowering of cotyledon derived shoots of Burpless hybrid cucumber *in vitro*. HortSci, 1991, 26(8): 1085
- 陈永宁, 李文安. L-色氨酸对烟草花柄离体培养下花芽分化的影响. 科学通报, 1992, (14): 1310~1312
- 邵宏波, 初立业. 离体植物花芽和花器官的发育研究进展. 广西植物, 1993, 13(3): 275~288