

# 不同植物生长调节剂对黄秋葵组织培养的影响

孙骏威<sup>1</sup>, 方晓峰<sup>1</sup>, 陈 珍<sup>2</sup>

(1. 中国计量学院 生命科学院, 浙江 杭州 310018; 2. 台州学院 生命科学院, 浙江 临海 317000)

**摘 要:**以黄秋葵无菌实生苗的带一叶一芽的茎段为外植体, 研究了不同植物生长调节剂处理对丛生芽诱导和不定芽生根的影响。结果表明: 当外植体接种于 1/2MS 基本培养基中, 一定的浓度范围内, IAA 浓度的增加显著促进了黄秋葵茎段的分化率和增殖率, 而 6-BA 的存在提高了 IAA 的这种促进作用, 但并不明显, 最优组合为 IAA 1.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L。待丛生芽生长到 1 cm 以上, 切出单个不定芽, 接入添加不同 NAA 浓度的 1/4MS 基本培养基中, 发现生根率和生长状况在 NAA 0.1 mg/L 时表现最好。

**关键词:**黄秋葵; 植物生长调节剂; 茎段; 丛生芽诱导; 生根

**中图分类号:**S 649 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0139-03

黄秋葵(*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.])为锦葵科(Malvaceae)秋葵属草本植物, 别名秋葵、黄葵、补肾草、咖啡黄葵、羊角菜、羊角豆、越南芝麻等。其嫩荚含有丰富的蛋白质、微量元素和由果胶、牛乳聚糖和阿拉伯树胶等组成的黏性多糖, 是一种具有较高营养价值的新保健蔬菜<sup>[1]</sup>; 其分枝嫩尖、幼叶和花亦可用作蔬菜<sup>[2]</sup>。供食用之外, 黄秋葵根、茎、花、种子还可入药, 其性寒、味淡, 具利咽、通淋、下乳和调经之功效, 主治咽喉肿痛、小便淋涩、产后乳汁稀少、月经不调<sup>[3]</sup>, 临床用于治疗皮肤癌、烫伤和烧伤等<sup>[4]</sup>。此外, 黄秋葵株体挺拔优美, 可于园林、庭院、花坛四周、路旁、池边等地种植, 是绿化和美化的良好材料<sup>[5]</sup>。目前对黄秋葵的研究主要集中于生理和栽培技术方向。对于黄秋葵的组织培养与快速繁殖的报道并不多, 仅有刘国民等<sup>[6]</sup>、吴丹丹<sup>[7]</sup>和丰锋<sup>[8]</sup>3篇。其中刘国民等<sup>[6]</sup>和吴丹丹<sup>[7]</sup>利用茎段为外植体, 通过诱导愈伤组织途径以产生胚状体或(和)不定芽; 丰锋<sup>[8]</sup>以无菌实生苗的子叶和部分下胚轴的顶芽为外植体, 利用植物生长调节剂诱导愈伤化的下胚轴发生不定芽。刘国民等<sup>[6]</sup>还报道茎段也可以通过微扦插来实现快繁, 但这种繁殖速度相当有限, 每次只能达到 3~4 倍的繁殖。该研究以无菌实生苗的带一叶一芽的茎段为外植体, 通过设计比较不同植物生长调节剂的组合, 获得大量的不定芽, 可实现

黄秋葵的快速大量繁殖。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

黄秋葵种子先用 75% 酒精浸泡消毒 1~2 min 后, 无菌水冲洗 3 次, 随后用 0.2% HgCl<sub>2</sub> 溶液浸泡消毒 15~20 min, 无菌水冲洗 3~5 次以清除残余的 HgCl<sub>2</sub> 后, 接种于大量元素减半的 MS 基本培养基(简称 1/2MS 培养基, 下同)上, 培养基中蔗糖浓度为 3%, 琼脂浓度为 0.7%, pH 5.8~6.0, 下同。先进行暗培养, 温度为(25±1)℃, 萌动发芽后培养条件为 14 h 光/10 h 暗, 光照强度 30~40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 下同。接种 3 d 后种子萌芽, 后形成无菌苗。待苗长至 6~7 cm 后, 把带一叶一芽的茎段切下, 进行以下试验。

### 1.2 试验方法

1.2.1 不同植物生长调节剂处理对茎段丛生芽诱导的影响 切下来的茎段, 以正常芽序插入添加以下植物生长调节剂组合的 1/2MS 培养基中: ①6-BA 1.0 mg/L; ②6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ③NAA 0.1 mg/L; ④TDZ 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ⑤TDZ 0.3 mg/L; ⑥TDZ 0.3 mg/L+IAA 0.5 mg/L; ⑦IAA 0.5 mg/L; ⑧6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L。平时观察丛生芽诱导率, 25 d 时统计丛生芽诱导率。

1.2.2 不定芽分化植物生长调节剂组合的优化 根据 1.2.1 方法进行试验的结果, 各设置 3 个浓度梯度的 6-BA(0.5、2.0 和 5.0 mg/L)和 IAA(0.25、1.0 和 2.5 mg/L)组合, 设计正交实验。将无菌苗茎段以正常的芽序插入添加以上 6-BA 和 NAA 组合的 1/2MS 培养基内。平时观察丛生芽诱导度, 于 25 d 时统计分化率。

**第一作者简介:**孙骏威(1978-), 男, 硕士, 讲师, 现主要从事植物生理学研究。E-mail:juville@cjl.edu.cn。

**基金项目:**台州科技局资助项目(071KY07)。

**收稿日期:**2012-01-10

## 1.2.3 不同植物生长调节剂处理对黄秋葵生根的影响

将 1.2.2 方法筛选得到的最佳植物生长调节剂组合培养得到的丛生芽切开,分成单株,分别接种于添加 0、0.02、0.10 和 0.50 mg/L 浓度 NAA 的 1/4MS 培养基内,于 15 d 时统计生根率,并记录组培苗生长情况。1/4MS 基本培养基为 1/2MS 的各元素均减半,蔗糖 2%,琼脂的添加量和 pH 维持不变。

1.2.4 组培苗的移栽 待根长超过 5 cm、根数超过 5 条后,微开培养瓶瓶盖进行练苗,1 d 后取出洗净根部附着的培养基再移入室温土中继续练苗,土为小粉土,在苗上方罩一烧杯以保持湿润,10 d 后带土移栽入大田。

## 2 结果与分析

## 2.1 不同植物生长调节剂处理对茎段丛生芽诱导的影响

由表 1 可看出,1/2MS 基本培养基中添加 6-BA 1.0 mg/L、6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L、NAA 0.1 mg/L、TDZ 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/L 和 TDZ 0.3 mg/L 均不能诱导出丛生芽,而所有添加 IAA 的植物生长调节剂组合中均诱导出了丛生芽,其中,诱导率、增殖率和生长情况以 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.5 mg/L 为最好,IAA 0.5 mg/L 次之,TDZ 0.3 mg/L + IAA 0.5 mg/L 最差。而在未能诱导出丛生芽的植物生长调节剂组合中,以 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的腋芽生长速度和生长情况最好,然后是 6-BA 1.0 mg/L、NAA 0.1 mg/L、TDZ 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/L,最差的为 TDZ 0.3 mg/L。

表 1 不同植物生长调节剂组合对茎段丛生芽诱导的影响

Table 1 Effects of different plant growth regulator combination on clumpy buds induction from stem segments of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.]

| 序号<br>Sequence<br>number | 激素组合<br>Combination<br>of hormone | 诱导率<br>Induction<br>rate/% | 增殖率<br>Proliferation<br>rate/倍 | 生长情况描述<br>Growth condition<br>describe |
|--------------------------|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------|--|
| 1                        | 6-BA 1.0 mg/L                     | 0                          | 1.0                            | 仅见腋芽生长,生长较快                            |
| 2                        | 6-BA 1.0 mg/L +<br>NAA 0.1 mg/L   | 0                          | 1.0                            | 仅见腋芽生长,生长快                             |
| 3                        | NAA 0.1 mg/L                      | 0                          | 1.0                            | 根的生长速度要快过茎的伸长                          |
| 4                        | TDZ 0.3 mg/L +<br>NAA 0.1 mg/L    | 0                          | 1.0                            | 腋芽生长,但慢,且叶变黄                           |
| 5                        | TDZ 0.3 mg/L                      | 0                          | 1.0                            | 腋芽稍见生长,叶黄而慢                            |
| 6                        | TDZ 0.3 mg/L +<br>IAA 0.5 mg/L    | 47.6                       | 1.8                            | 少量出现丛生芽,叶稍黄                            |
| 7                        | IAA 0.5 mg/L                      | 60.0                       | 2.4                            | 有丛生芽,叶色尚可                              |
| 8                        | 6-BA 1.0 mg/L +<br>IAA 0.5 mg/L   | 67.5                       | 2.8                            | 有丛生芽,叶色浓绿                              |

## 2.2 不定芽分化植物生长调节剂组合的优化

根据 1.2.1 方法进行试验,对初筛结果的 2 个植物

生长调节剂 6-BA 和 NAA 进行了正交设计,由表 2 可知,IAA 浓度的增加显著促进了黄秋葵茎段的分化率和增殖率,而 6-BA 的存在提高了 IAA 的这种促进作用,尽管作用并不明显。不过,过高浓度的 IAA 和 6-BA 对于分化率和增殖率的影响均不十分明显,而且随着二者浓度的提高,不定芽的生长势变差,甚至出现玻璃化现象。所以,就分化率和增殖率 2 项指标而言,较适合的植物生长调节剂组合为 IAA 1.0 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L、IAA 2.5 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 和 IAA 2.5 mg/L + 6-BA 5.0 mg/L,但考虑到植物生长调节剂使用剂量和不定芽的生长状况,最优培养基应为 IAA 1.0 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L。

表 2 不同 IAA 和 6-BA 浓度组合对黄秋葵茎段诱导不定芽分化的影响

Table 2 Effects of different concentrations combination on clumpy buds induction from stem segments of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.]

| 序号<br>Sequence<br>number | IAA 浓度<br>IAA concentration<br>/mg · L <sup>-1</sup> | 6-BA 浓度<br>6-BA concentration<br>/mg · L <sup>-1</sup> | 分化率<br>Differentiation<br>rate/% | 增殖率<br>Proliferation<br>rate/倍 |
|--------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------------------|
| 1                        | 0.25   | 0.5  | 50±2c                            | 2.00±0.10d                     |
| 2                        | 1.0  | 0.5  | 68±2b                            | 2.37±0.06c                     |
| 3                        | 2.5  | 0.5  | 76±2a                            | 2.77±0.06b                     |
| 4                        | 0.25   | 2.0  | 52±3c                            | 2.33±0.12c                     |
| 5                        | 1.0  | 2.0  | 71±2ab                           | 2.95±0.06a                     |
| 6                        | 2.5  | 2.0  | 75±2a                            | 3.03±0.06a                     |
| 7                        | 0.25   | 5.0  | 53±3c                            | 2.43±0.12c                     |
| 8                        | 1.0  | 5.0  | 72±2ab                           | 2.80±0.10b                     |
| 9                        | 2.5  | 5.0  | 74±3a                            | 3.07±0.06a                     |

## 2.3 不同 NAA 浓度对生根的影响

由表 3 可知,无激素的 1/4MS 基本培养基中也能生根,但在一定范围内随着 NAA 浓度的增加,生根率得到提高,发根的速度加快,根变得粗壮,根的数量也增加,侧根也生长得很快,此时移栽成活率也更高;但在高浓度(0.50 mg/L)的 NAA 时,生根速度不再加快,根的数目也不再增加,但根更粗更短,且少有侧根,此类根不利于吸水吸肥,故移栽不易成活。综合看来,在 NAA 0.10 mg/L 时,生根率和生根表现最好。

表 3 不同 NAA 浓度处理对黄秋葵生根的影响

Table 3 Effects of different NAA concentration treatments on rooting of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.]

| 激素<br>Hormone       | 生根率<br>Rooting rate/% | 生根情况<br>Rooting condition  |
|---------------------|-----------------------|----------------------------|
| 1/4MS               | 72.5                  | 根细长,10 d 开始生根,根 2~3 条,生长较慢 |
| 1/4MS+NAA 0.02 mg/L | 85.0                  | 根稍长,8 d 开始生根,根 4~5 条,生长尚可  |
| 1/4MS+NAA 0.10 mg/L | 95.0                  | 根较粗,7 d 开始生根,根 4~6 条,生长快   |
| 1/4MS+NAA 0.50 mg/L | 97.5                  | 根粗且短,8 d 开始生根,根 4~6 条      |

## 3 讨论与结论

刘国民等<sup>[6]</sup>在使用的 5 种培养基中发现,添加细胞

分裂素类植物生长调节剂会使所接种的茎段材料愈伤组织化而不能形成丛芽,甚至连腋芽也不能萌发,只有单独使用生长激素才能以使腋芽萌发,并产生良好根系,形成完整植株。但是,其所用的细胞分裂素 KT。丰锋<sup>[8]</sup>用 6-BA 和 NAA 的组合,成功促进愈伤化的下胚轴不定芽的发生。但在该研究中的初步筛选中,6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 6-BA 1.0 mg/L 均无法诱导出丛生芽,这有可能与在试验中使用的 6-BA 浓度有关,因为丰锋<sup>[8]</sup>报道的最佳的组合 6-BA 6.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;不过在 IAA 和 6-BA 的正交设计结果中,5.0 mg/L 浓度的 6-BA 容易发生不定芽的生长势变差,这与吴丹丹<sup>[7]</sup>的结果相一致,说明高浓度的 6-BA 对外植体有毒害影响,而这有可能与植物的内源激素有关。该研究中采用 IAA 和 6-BA 组合,成功地诱导出了丛生芽,而刘国民等<sup>[6]</sup>报道 IAA 只能促进黄秋葵茎段的腋芽萌发,其效果不如 IBA,但并未给出具体数据,这种差异有可能与采用的基本培养基和试验材料不同有关。

在该研究中,最优生根培养基中的植物生长调节剂处理是 NAA 0.1 mg/L,这与吴丹丹<sup>[7]</sup>的结果是相一致的,与丰锋<sup>[8]</sup>的 0.2 mg/L 稍有出入,但其实是不冲突的,因为该试验中并未设计 NAA 0.2 mg/L 的梯度,且在吴丹丹<sup>[7]</sup>的报道中,NAA 0.2 mg/L 的生根效果与 NAA 0.1 mg/L 相差无几。不过有区别的是,该研究中采用的基本培养基是 1/4MS,丰锋<sup>[8]</sup>采用的是 MS,吴丹丹<sup>[7]</sup>采用的是 1/2MS,而从试验数据上来看,用 1/4MS 和 1/2MS 为基本培养基的生根率要高于用 MS 作为基

本培养基的,这与以前的研究<sup>[9]</sup>是相一致的,这可能是因为 MS 基本培养基中无机盐离子质量浓度过高,而高浓度的无机盐对根的生长有抑制作用所致。

以上结果表明,该试验建立了以无菌实生苗的带一叶一芽的茎段为外植体的离体快繁体系:在添加 IAA 1.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L 的 1/2MS 基本培养基中培养诱导得到丛生芽,切出单个不定芽于添加 NAA 0.1 mg/L 的 1/4MS 基本培养基中生根,后于小粉土中保湿保温移栽,成活率可达 95%。

#### 参考文献

- [1] 刘娜. 黄秋葵的综合利用及前景[J]. 中国食物与营养, 2007(6): 27-29.
- [2] 李春梅, 曹毅. 不同播期对黄秋葵生长及发育的影响[J]. 长江蔬菜, 2008(6): 31-32.
- [3] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1999: 4322-4323.
- [4] 吴燕春, 谢金鲜. 黄秋葵的研究进展[J]. 中医药学刊, 2005, 23(10): 1898-1899.
- [5] 刘东祥, 叶花兰, 刘国道. 黄秋葵的应用价值及栽培技术研究进展[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15): 3718-3720, 3725.
- [6] 刘国民, 李娟玲, 王英义, 等. 黄秋葵组培快繁的研究[J]. 云南植物研究, 2002, 24(4): 521-524.
- [7] 吴丹丹. 黄秋葵组织培养及胚性细胞悬浮体系的建立[D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [8] 丰锋. 黄秋葵子叶离体再生体系的建立[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(1): 81-84.
- [9] 徐涌, 孙骏威, 陈珍. 不同植物生长调节剂处理对吴茱萸组织培养的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2011, 28(3): 500-504.

## Effects of Plant Growth Regulator on Tissue Culture of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.]

SUN Jun-wei<sup>1</sup>, FANG Xiao-feng<sup>1</sup>, CHEN Zhen<sup>2</sup>

(1. College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018; 2. School of Life Sciences, Taizhou University, Linhai, Zhejiang 317000)

**Abstract:** The effects of different plant growth regulator treatments on induction of clumpy buds and rooting in *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.] plants were studied, the stem segments with one leaf and one axillary bud of seedlings derived from sterile germination were used as explants. The results showed that when the explants were inoculated on 1/2MS basic medium, in a certain concentration range, the increase of IAA concentrations significantly promoted the ratio of differentiation and proliferation, and the presence of 6-BA could increase the role of IAA treatments, but not obviously, so the optimal combination was IAA 1.0 mg/L+6-BA 2.0 mg/L. After the buds grew to more than 1 cm, the single buds were cut out to inoculate on 1/4MS basic medium adding different NAA concentrations, and the optimal rooting rate and growth performance was found in the treatment of NAA 0.1 mg/L.

**Key words:** *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench [*Hibiscus esculentus* L.]; plant growth regulator; stem segments; induction of clumpy buds; rooting