

不同育性番茄叶片组织培养的差异研究

毛秀杰, 孙中峰, 武艳莉

(河北科技师范学院, 河北 昌黎 066600)

摘 要:以雄性不育系番茄 JL-2 和冀东 216 为材料, 以叶片作为外植体, 用不同激素, 不同浓度配方, 诱导不同育性番茄叶片愈伤组织、不定芽及其不定根, 筛选出高效再生的番茄组织培养基。结果表明: MS+6-BA 3.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L (pH 5.86) 对冀东 216 的愈伤组织的诱导效果最佳, 诱导率为 81.0%, MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L (pH 5.86) 对雄性不育系叶片的愈伤组织的诱导效果最佳, 诱导率为 66.7%; MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对冀东 216 诱导芽及茎效果好, 诱导率达到 64.3%; MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对雄性不育系诱导不定芽效果好, 诱导率为 58.3%; MS+6-BA 3.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对冀东 216 生根的诱导效果好。

关键词: 番茄; 雄性不育系; 冀东 216; 组织培养

中图分类号: S 641.203.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)07—0056—04

番茄是我国主要的栽培蔬菜之一, 20 世纪 50 年代发展迅速^[1], 其品种多样, 适应范围广、产量高、营养丰富。随着栽培面积的不断増加, 番茄品种在不断更新换代, 新品种在生产上不断应用^[2,4], 生产上常规种子的繁殖存在着繁殖系数低、易混杂等特点, 随着植物组织培养技术的发展, 为番茄品种快速繁殖提供了新的途径^[5,6]。番茄作为一种重要的蔬菜模式作物, 其组织培养的研究取得了很大的进展, 番茄的组织培养自 1922 年 Robbins 首次报道离体根尖培养成功以来, 国内外相继有采用不同番茄的外植体, 如胚、茎段、茎尖、花药及原生质体等组培成功的报道。番茄组织培养发展很快, 在许多方面起着重要的作用, 主要应用于植物育种(单倍体培育、三倍体培育、离体授粉受精)、园艺学和林学(培育无病毒植株、进行无性繁殖), 还可进行种质资源的保存^[7]。现以雄性不育系 JL-2 番茄和可育品种冀东 216 为试验材料, 以叶片作为外植体, 以优化培养基配方, 筛选出高效再生的番茄组织培养基, 为探讨雄性不育系种质资源的保存方法及遗传转化奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试品种为“冀东 216”和“雄性不育系 JL-2”, 来自河北科师范学院。

第一作者简介: 毛秀杰(1971-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事蔬菜遗传育种研究工作。E-mail: maoxiujie@126.com。

基金项目: 国家农业成果转化资助项目(2007GB2A200301)。

收稿日期: 2009—02—20

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件 以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度激素 6-BA 和 IAA, 进行愈伤组织的诱导、不定芽的分化及不定根的生成, 不同阶段的激素处理浓度见表 1。培养基蔗糖浓度 30~40 g/L, 琼脂为 7.5 g/L, pH 5.86。用高压灭菌锅在 121℃下灭菌 15 min, 灭菌后放置在平处待其凝固, 放置 1 d 后使用, 培养温度为 (23±2)℃, 每天光照 12 h, 光照强度 1 500 lx。

1.2.2 材料处理 将取来的不同育性(雄性不育系 JL-2 和冀东 216)的番茄外植体(叶片)用自来水冲洗 10 min, 蒸馏水冲洗 2 次, 用 75%酒精浸 30 s, 再用无菌水冲洗 3 次; 进入无菌操作室后, 用 5%次氯酸钠浸 4 min, 不断摇动, 使其充分消毒, 最后用无菌水冲洗 3 次。

表 1 培养基激素浓度

Table 1 The installing of hormonal concentration of medium organizations				
培养的种类 Type of foster	序号 No.	基本培养基 Basic medium organizations	6-BA /mg·L ⁻¹	IAA /mg·L ⁻¹
愈伤组织诱导 The callus induction	1	MS	2.5	0.3
	2	MS	2.0	0.3
	3	MS	3.0	0.3
不定芽的分化 The differentiation	4	MS	2.0	0.1
	5	MS	2.0	0.2
	6	MS	2.0	0.3
不定根的诱导 The induction of adventitious roots	7	MS	3.5	0.1
	8	MS	3.5	0.2
	9	MS	3.5	0.3

1.2.3 接种 在超净工作台上操作, 用 75%酒精将手消毒, 同时对镊子、剪刀等工具进行消毒, 点燃酒精灯将所用器材进行灭菌, 取外植体放入灭菌后的培养皿中,

将操作的台面用脱脂棉擦拭。接种时, 将叶片以主脉为中心, 剪成 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 放入三角瓶中, 每瓶接种 3 片叶, 叶片正面向上。试验包括 2 个品种, 3 个不同浓度激素, 共设置 6 个处理, 每个处理重复 7 瓶。三角瓶瓶口在火焰附近灭菌后, 迅速封好瓶口, 尽量减少菌的污染, 全部接种完毕放入人工气候箱中培养。培养 15 d 时, 调查愈伤组织诱导率, 出愈率=(诱导愈伤组织外植体数/接种外植体数)×100%; 培养 40 d 时, 调查不定芽分化率, 愈伤组织不定芽诱导率(%)=(具不定芽分化的愈伤组织块数/继代愈伤组织块数)×100%; 将分化出芽的材料转移到生根培养基上诱导生根, 培养 10 d 时, 目测观察根的生长情况。

2 结果与分析

2.1 不同浓度激素组合对叶片愈伤组织的诱导

外植体叶片 2~3 d 时, 叶片颜色由绿色开始变为淡绿色, 叶片开始膨大, 边缘有许多小突起, 并向外卷, 有的叶片局部肥厚增大, 略显不规则的卷曲, 有的变黄干枯, 8 d 后叶片更大, 切口两端有明显的愈伤组织, 并且在叶脉附近产生白色或灰色的愈伤组织(见图 1、2); 冀东 216 比雄性不育系产生的愈伤组织多, 褐化较雄性不育系少, 褐化均出现在剪口处; 当培养 15 d 时, 外植体上出现了肉眼可见的绿色芽点, 以培养基 3 号对冀东 216 的愈伤组织的诱导最好, 而培养基 2 号对雄性不育系的愈伤组织的诱导最好。

表 2 表明, 不同浓度激素组合对番茄叶片愈伤组织诱导有很大的影响。3 号培养基 6-BA 3.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L 的组合对冀东 216 的愈伤组织的诱导效果最好, 愈伤组织的诱导率为 81.0%, 并且生长的愈伤组织为淡绿色或绿色, 结构密, 绿色芽点多。对于雄性不育系的愈伤组织的诱导以 2 号培养基 6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L 的诱导效果好, 愈伤组织的诱导率为 66.7%, 并且生长的愈伤组织为淡绿色或灰白色, 结构疏松, 绿色芽点少。

表 2 不同浓度激素对番茄叶片愈伤组织的诱导的表现

Table 2 The induced expressions of different hormones and concentrations on tomato leaves callus						
序号 No.	6-BA /mg ⁺ L ⁻¹	IAA /mg ⁺ L ⁻¹	接种块数		愈伤组织诱导率	
			Inoculated pieces/ piece		The rate of the callus induction/%	
			冀东 216	雄性不育系	冀东 216	雄性不育系
			Jidong 216	Male sterile lines	Jidong 216	Male sterile lines
1	2.5	0.3	21	21	38.1	23.8
2	2.0	0.3	21	21	61.9	66.7
3	3.0	0.3	21	21	81.0	57.1

注: 培养时间为 15 d. Note: Fostering/ Fostered time is 15 d.

2.2 不同浓度激素组合对愈伤组织诱导不定芽的影响

将长出愈伤组织以及有绿色芽点的外植体进行培养。愈伤组织不断生长的同时, 其表面逐渐变为淡绿

色, 出现绿色芽点的愈伤组织, 其芽点不断生长(见图 3、4)。不定芽分化的百分率在 2 种激素的不同浓度组合间存在很大的差异。从表 3 看出, 6 号培养基(冀东 216)中的不定芽诱导率最高为 64.3%, 并且 6 号培养基中的芽长出 3 个小新叶(茎状)分别长 2.5、1.3、1.1 cm, 从叶脉处长出许多的小绿芽, 并且新叶上有白色颗粒状物存在。5 号培养基中(雄性不育系)不定芽诱导率最高为 58.3%, 且培养出的芽长出 3 个新的小芽, 愈伤组织淡绿、灰白, 逐渐增大, 形成团状。这一结果表明同一浓度不同育性番茄叶片组织培养, 冀东 216 不定芽的诱导效果比雄性不育系的诱导效果好。6 号培养基中的冀东 216 的不定芽的诱导率为 64.3%, 而雄性不育系不定芽的诱导率为 50%。不同浓度同一番茄品种诱导效果也不尽相同, 冀东 216 番茄不定芽的诱导率分别不同, 6 号培养基中的材料诱导率明显高于其他的浓度组合, 材料生长状况也优于其他的浓度组合。

表 3 不同浓度激素组合对愈伤组织诱导不定芽的影响

Table 3 The effects of different hormones and concentrations on tomato leaves Callus						
序号 No.	6-BA /mg ⁺ L ⁻¹	IAA /mg ⁺ L ⁻¹	培养的块数		不定芽诱导率 The rate of adventitious buds induction/%	
			The pieces of fostering/ piece			
			冀东 216	雄性不育系	冀东 216	雄性不育系
			Jidong 216	Male sterile lines	Jidong 216	Male sterile lines
4	2.0	0.1	12	12	3.3	16.7
5	2.0	0.2	12	12	5.0	58.3
6	2.0	0.3	14	16	64.3	50

注: 培养时间为 40 d. Note: Fostering/ Fostered time is 40 d.

2.3 不同浓度激素组合诱导不定根的表现

由于各种条件的影响, 污染、褐化严重, 冀东 216 和雄性不育系用于诱导生根的材料逐渐减少。雄性不育系只是愈伤组织增大, 变成灰白色, 不定芽基本没有什么变化, 随着培养时间的延长, 愈伤组织进一步变灰, 有的愈伤组织变褐, 变干, 逐渐死亡。为此对于雄性不育系诱导生根还有待于进一步研究。而将 6 号培养基中的材料(冀东 216)转移到生根培养基上诱导生根, 在第 10 天进行观察, 苗生长健壮, 茎叶分化明显, 根细长, 并且根上有稀少根毛, 但根的数量明显的少(见图 5); 第 16 天观察时, 9 号培养基中的材料的茎有很少分枝, 茎高分别为 6、5、4 cm, 根细长, 根毛增多(见图 6); 第 22 天观察时, 9 号培养基中材料的茎有更多分支, 茎逐渐增长, 分别高 10、8、5、3 cm, 根细长且数量增多, 布满瓶底, 此外还有许多的小绿芽的突起, 新叶上仍然有白色颗粒状物的存在。

3 讨论

不同浓度组合对诱导同一品种番茄叶片产生愈伤组织、不定芽、不定根的效果不同; 同一浓度对不同育性番茄叶片愈伤组织、不定芽以及不定根的诱导效果也不

同。MS+6-BA 3.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L(pH 5.86)对冀东 216 的愈伤组织的诱导效果最佳,诱导率 81.0%;MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L (pH 5.86)对雄性不育系叶片的愈伤组织的诱导效果最佳,诱导率为 66.7%;MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对冀东 216 诱导芽及茎效果好,诱导率达 64.3%;MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对雄性不育系诱导不定芽效果好,诱导率为 58.3%;MS+6-BA 3.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L+蔗糖 40 g/L+琼脂 7.5 g/L 对

冀东 216 生根的诱导效果好,而雄性不育系生根的诱导还有待于进一步研究,同时在研究过程中褐变、污染等其他的一些问题依然存在。

基因型是影响番茄组织培养效果的重要因素^[8],在相同培养基上,不同育性的番茄品种存在着不同的分化率。李铁松、王关林^[9]研究表明,不同育性的番茄品种外植体的再生能力不同,基因型差异反映出品种间内源水平的不同。由 2、3、5、6 号的浓度组合也可以看出,相同的培养基上不同育性的番茄品种获得的愈伤组织百分率和不定芽的分化率不同,是否是基因型不同造成的差异还有待于进一步研究。



图 1 雄性不育系愈伤组织
(接种后第 8 天)

Fig. 1 The callus induction of male sterile lines
(No. 8 d after the inoculated)



图 2 冀东 216 愈伤组织
(接种后第 8 天)

Fig. 2 The callus induction of Jidong 216
(No. 8 d after the inoculated)

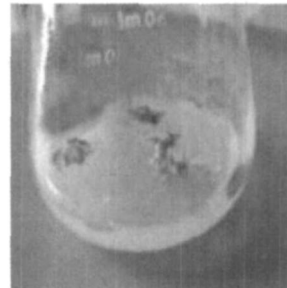


图 3 雄性不育系不定芽
(不定芽培养第 5 天)

Fig. 3 The adventitious buds of male sterile lines
(Fostered adventitious buds No. 5 d)



图 4 冀东 216 不定芽
(不定芽培养第 5 天)

Fig. 4 The adventitious buds of Jidong 216
(Fostered adventitious buds No. 5 d)



图 5 冀东 216 不定根
(不定根培养第 10 天)

Fig. 5 The adventitious roots of Jidong 216
(Fostered adventitious buds No. 10 d)



图 6 冀东 216 不定根
(不定根培养第 16 天)

Fig. 6 The adventitious roots of Jidong 216
(Fostered adventitious buds No. 16 d)

参考文献

- [1] 山东农业大学. 蔬菜栽培学各论. 北方本第 3 本[M]. 北京: 农业出版社, 1999: 154-155.
- [2] Ammirato P V, Evance D A, Sharp W R, et al Handbook of plant cell culture[M]. New York: Macmillan Pub Co. 1983: 82.
- [3] 乐锦华, Paul R, 杨国成. BA 和激素对试管番茄愈伤组织形态发生的影响[J]. 园艺学报. 1991, 18(1): 44-48.
- [4] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.
- [5] 郭碧霞, 李鹏飞. 番茄叶片及试管苗茎段组织培养[J]. 华南农业大学学报, 1986, 7(4): 17-22.

- [6] 蒋有铨, 周枫, 彭朝华. 不同激素配比对番茄叶片外植体分化的影响[J]. 华北农学院学报, 1988, 4(3): 115.
- [7] 拉兹丹 M K. 植物组织培养导论[M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 187-197, 241-242.
- [8] 何秀霞, 陆一鸣, 白杰英. 番茄组织培养体系的建立及影响因素的研究[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版), 2003, 18(1): 30-33.
- [9] 李铁松, 王关林. 番茄外植体诱导直接分化不定芽建立高频再生系统[J]. 辽宁师范大学学报(自然科学版), 2003, 26(2): 178-182.
- [10] 缪耀梅, 李开彪, 叶添谋. 组织培养过程中污染和褐化的防治[J]. 韶关学院学报, 2003, 24(6): 101-103.

麻江红蒜茎尖愈伤组织诱导及植株再生研究

郑晓峰, 黄刚

(黔东南民族职业技术学院, 贵州 凯里 556000)

摘要: 采用不同激素配比对麻江红蒜茎尖愈伤组织诱导及植株再生进行研究。结果表明: 茎尖愈伤组织诱导的适宜培养基为: B₅+2, 4-D 2.0 mg/L; 不定芽诱导的适宜培养基为: B₅+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L; 不定芽增殖的适宜培养基为: B₅+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 适宜的生根培养基配方为 B₅+6-BA 0.01 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

关键词: 麻江红蒜; 愈伤组织; 组织培养

中图分类号: S 633.403.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)07-0059-03

大蒜(*Allium sativum* L.)为百合科葱属蔬菜, 多年生宿根草本。在我国已有 2 000 多年的种植历史, 对人类具有重要的食用和医疗保健价值^[1]。大蒜具有杀菌、抑菌、抗毒等医疗、保健功能。对高血脂、高胆固醇、糖尿病、心脏病及胃、肠、肝、肺、乳腺等癌症有减轻症状及治疗作用。黔东南州麻江县种蒜历史悠久, 产品质量优良, 有较高的知名度。通过多年选种选育, 培育出了外型美观, 香辣浓郁, 内容物丰富, 独具特色的麻江红蒜。

第一作者简介: 郑晓峰(1965-), 女, 副教授, 现主要从事植物组织培养教学及研究工作。E-mail: zxf5678@126.com。
基金项目: 贵州省黔东南州科技局 2006 年度州级科技三项费专项经费资助项目。
收稿日期: 2009-02-20

因其外皮多为紫红色而得名。其营养成分和品质居全国同类产品之首。2003 年荣获“中国红蒜之乡”和首届贵州省农特产品“优质农产品”称誉。近年来, 由于多年的无性繁殖, 病毒普遍发生, 导致种性严重退化, 单产降低, 品质变劣, 影响大蒜产量的进一步提高^[2]。目前已建立了以茎尖、根尖、真叶、贮藏叶、茎盘、切块、花药和花原始体等为外植体的多种大蒜组织培养再生体系^[3]。通过愈伤组织获得的再生植株, 容易产生变异, 遗传稳定性差^[3-9]。关于大蒜愈伤组织诱导体细胞再生植株的报道较多^[3-9]。而以茎尖诱导愈伤组织的报道不多^[5], 仅有几例。现以茎尖作为外植体, 研究不同激素组合对麻江红蒜茎尖愈伤组织的诱导及植株再生的影响, 为建立麻江红蒜组培快繁体系和丰富麻江红蒜的种质资源提供一定的理论依据。

Ertility of Different Tomato to Leaves Tissue Culture Differences

MAO Xiu-jie, SUN Zhong-feng, WU Yan-li

(Hebei Normal University of Science and Technology, Changli, Hebei 066600 China)

Abstract: The male sterile varieties of tomato and Jidong 216 were used as materials in this paper, took leaves as explants, with different hormones, different concentrations of formulations, induced by different fertility of tomato leaves Callus, adventitious buds and rooting, selected medium organizations of efficient and renewable tomato. The results showed that: MS+6-BA 3.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7.5 g/L (pH 5.86) expressed the best results of the callus induction on Jidong 216, the induction rate was 81.0%. MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+sucrose 30 g/L+agar 7.5 g/L (pH 5.86) expressed the best results of the leaves on the male sterile varieties, the rate was 66.7%. the stem and bud on Jidong 216 was expressed well induced by MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L+sucrose 40 g/L+agar 7.5 g/L, the rate was 64.3%. the adventitious buds on the male sterile varieties was expressed well by MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L+sucrose 40 g/L+agar 7.5 g/L, the rate was 58.3%. MS+6-BA 3.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L+sucrose 40 g/L+agar 7.5 g/L expressed the best results of the roots on Jidong 216.

Key words: Tomato; Male sterile lines; Jindong 216; Tissue culture