

基于番茄‘208’的离体培养技术研究

张慧英, 马 琴, 黄 格, 韦琳松

(广西大学 农学院, 广西 南宁 530004)

摘 要: 试验以 6-BA、KT、IAA、NAA 等不同的细胞分裂素、生长激素对番茄外植体的愈伤组织诱导、愈伤组织分化、外植体直接诱导不定芽及芽增殖的影响进行研究。结果表明: 用茎段或子叶做外植体, 愈伤组织诱导和分化最佳配方均为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L; 子叶茎段直接产生不定芽的最佳配方为 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2~0.5 mg/L。

关键词: 番茄; 组织培养; 愈伤组织; 分化; 增殖

中图分类号: S 641.203.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)06-0168-02

番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill)又称西红柿, 属茄科(Solanaceae)番茄属(*Lycopersicon*)多年生草本植物, 但在栽培过程中往往被作为 1 a 生植物种植。番茄种子内含脂肪, 可以提炼食用油。还含有糖、有机酸、维生素等营养成分。番茄中的番茄红素和胡萝卜素具有抗氧化功能及预防衰老和癌症等功效, 成为风靡世界的健康食品^[1]。番茄一般以种子繁殖, 在栽培过程中番茄很容易受到多种病虫害、干旱、寒冷等因素影响, 致使品种质量变差、产量降低、抗性降低等, 利用植物组织培养技术研究番茄快速繁殖技术、对番茄的转基因操作、杂交育种、种质资源保存等问题均有较大的意义。但番茄组织培养具有很强的基因型特异性, 选择合适的培养基是个重要的环节^[2-4]。试验利用组织培养技术, 研究适合于华南地区大面积推行栽培的全能型番茄品种—超级美星番茄‘208’的离体培养技术, 为良种番茄生产的规范化、标准化、产业化以及转基因再生体系的建立提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

超级美星番茄‘208’番茄种子。选取健康, 色泽、大小均匀的番茄种子, 用常规方法灭菌, 将种子接种到配置好的 1/2MS 培养基中培养 20 d, 得到无菌实生苗备用。

1.2 试验方法

1.2.1 不同激素组合对愈伤组织诱导的影响 在无菌条件下, 分别剪取无菌苗的子叶和茎段, 子叶和茎段切成约 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 接种到不同激素组合的愈伤组织诱导培养基上, 每个处理接种 10 瓶, 每瓶 3~5 块, 每隔 3 d 观察 1 次, 15 d 以后统计愈伤组织诱导率。

1.2.2 不同激素组合对愈伤组织分化的影响 选取继代 20 d 的浅绿色致密的愈伤组织, 夹成绿豆粒大小的块状, 接种到以 MS 为基本培养基, 分别接种到添加不同浓度的 6-BA、NAA、IAA 的诱导培养基上。每个处理接种 10 瓶, 每瓶 3~5 块愈伤组织, 每隔 3 d 观察 1 次, 30 d 后统计愈伤组织分化率及不定芽高度。

1.2.3 6-BA、KT 不同浓度与 IAA 配比对不同外植体不定芽诱导的影响 在无菌条件下, 分别剪取无菌苗的子叶和茎段, 叶片切成约 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 茎段切成约 0.5 cm 长的小段接种到诱导叶直接分化产生不定芽的培养基上, 以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 IAA (0.2、0.5 mg/L) 和 6-BA (1.0、2.0 mg/L) 或 KT (1.0、2.0 mg/L) 配比, 每个处理接种 9 瓶, 每瓶 5 块, 每隔 3 d 观察 1 次, 30 d 以后统计不定芽数及出芽率。试验所用培养基均添加 0.6% 的琼脂, 食用白糖 3%, pH 5.8。

1.2.4 培养条件 培养室温度 (25±2)℃, 光照时间 14 h/d, 光照强度为 1 500~2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 器官发生型途径

2.1.1 不同激素组合对愈伤组织诱导的影响 由表 1 可知, 6 种不同激素组合的诱导培养基上均能诱导出愈伤组织, 诱导率没有明显的差异, 均在 80% 以上, 但愈伤组织的类型上有很大差异, 添加 2, 4-D 的培养基中子叶的愈伤组织均为黄白色疏松, 茎段的愈伤组织均为灰白色疏松; 而 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 中的子叶和茎段愈伤组织均为浅绿色致密, 愈伤组织诱导率最高 93%, 绿芽最多; 其它配方的愈伤组织诱导率也达 90% 以上, 但愈伤组织为浅绿色疏松或灰白色疏松, 没有分化能力。结果表明, MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 为最佳诱导培养基, 且子叶比茎段诱导率高。

第一作者简介: 张慧英(1955-), 女, 广西临桂人, 副研究员, 现从事生物技术育种工作。E-mail: zhanghy955@sina.com。

收稿日期: 2009-12-20

表1 不同激素组合对番茄外植体愈伤组织诱导率的影响

培养基 mg·L ⁻¹	外植体	接种外	出愈外	愈伤组 织生长 状况	诱导率 /%
		植体数 /块	植体数 /块		
MS+6-BA 0.5+2.4-D 0.5	子叶	36	33	黄白色疏松	92
	茎段	40	37	灰白色疏松	93
MS+6-BA 1.0+2.4-D 0.5	子叶	36	31	黄白色疏松	86
	茎段	42	35	灰白色致密	83
MS+KT 0.5+2.4-D 0.5	子叶	32	28	黄白色疏松	88
	茎段	40	33	灰白色疏松	83
MS+KT 1.0+2.4-D 0.5	子叶	33	30	黄白色疏松	90
	茎段	36	32	灰白色疏松	89
MS+6-BA 2.0+IAA 0.5	子叶	43	40	浅绿色致密	93
	茎段	40	36	浅绿色致密	90
MS+KT 2.0+IAA 0.5	子叶	40	37	浅绿色疏松	91
	茎段	40	36	灰白色疏松	90

2.1.2 不同激素组合对愈伤组织分化的影响 由表2可知,所有培养基的愈伤组织都能分化出芽,分化率在66%~84%之间,而不定芽的平均高度在2.25~3.30 cm之间。MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 和 MS+6-BA 2.0 mg/L+N AA 0.5 mg/L 培养基的子叶和茎段愈伤组织分化率均较高,分别为84%、81%和80%、83%;其中以MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 不定芽高度最高分别为3.30 cm 和3.12 cm。比其它配方提高0.08~1.05 cm,番茄子叶和茎段的愈伤组织分化的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L。

表2 不同激素组合对愈伤组织分化的影响

培养基 mg·L ⁻¹	外植体	接种愈	出芽愈伤	分化率 /%	不定芽 平均高度 /cm
		伤组织数 /块	组织数 /块		
MS+6-BA 1.0	子叶	43	29	67	2.70
	茎段	38	25	66	2.25
MS+6-BA 2.0	子叶	40	28	70	2.48
	茎段	42	34	83	2.92
MS+6-BA 2.0+IAA 0.5	子叶	45	38	84	3.30
	茎段	44	36	81	3.12
MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	子叶	36	29	80	2.65
	茎段	41	34	83	2.81

2.2 丛生芽增殖型途径

由表3可知,不同浓度6-BA、KT、与 IAA 配比对不同外植体不定芽诱导均有影响,番茄子叶和茎段在6种组合培养基上都能直接产生不定芽,但差异较大,子叶的最高出芽率为93.3%,最低出芽率为44.4%;茎段的

最高出芽率为86.7%,最低出芽率为24.4%。细胞分裂素不同浓度对番茄子叶和茎段直接产生不定芽有明显差异,当6-BA浓度为2.0 mg/L时,子叶的芽分化率为最高93.3%,比KT浓度为2.0 mg/L时,出芽率最高的73.3%提高20%。以茎段为外植体6-BA浓度2.0 mg/L时,茎段的芽分化率为最高86.7%。比同浓度的6-BA 2.0 mg/L的93.3%出芽率降低6.6%。BA对子叶或茎段直接诱导不定芽明显优于KT,子叶直接诱导不定芽优于茎段,以番茄子叶作外植体配方MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 出芽率最高。

表3 BA、KT 不同浓度与 IAA 配比对不同外植体不定芽诱导的影响

培养基/ mg·L ⁻¹	子叶			茎段		
	接种块 数/块	不定芽 数/个	出芽率 /%	接种块 数/块	不定芽 数/个	出芽率 /%
MS+6-BA 1.0+IAA 0.5	45	26	57.8	45	19	42.2
MS+6-BA 2.0+IAA 0.2	45	40	88.9	45	39	86.7
MS+6-BA 2.0+IAA 0.5	45	42	93.3	45	34	75.5
MS+KT 1.0+IAA 0.5	45	20	44.4	45	11	24.4
MS+KT 2.0+IAA 0.2	45	33	73.3	45	26	57.8
MS+KT 2.0+IAA 0.5	45	29	64.4	45	22	48.9

3 结论

利用超级美星番茄 208[®] 番茄子叶和茎段作为外植体进行愈伤组织的诱导与分化。以子叶作为外植体最佳,诱导率、分化率以及子叶直接产生不定芽的出芽率最高,MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 为最佳诱导培养基;番茄愈伤组织分化的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 比其他配方提高0.08~1.05 cm;BA对子叶或茎段直接诱导不定芽明显优于KT,子叶直接诱导不定芽优于茎段;以番茄子叶作外植体,培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 的出芽率最高。

参考文献

[1] 余诞年,吴定华,陈竹君.番茄遗传学[M].湖南:湖南科学技术出版社,1999:1-7.
[2] 梁美霞,李景富,谢立波,等.番茄组织培养存在的问题及对策[J].北方园艺,2004(3):74-75.
[3] 吴志刚,宋明,王志敏,等.番茄组织培养中无菌苗培养条件的优化[J].中国农学通报,2006,22(4):335-337.
[4] 何秀霞,陆一鸣,白杰英,等.番茄组织培养体系的建立及其影响因素的研究[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版),2003,18(1):30-33.

Tissue Culture of *Lycopersicum esculentum* Mill

ZHANG Hui-ying MA-Qin, HUANG-Ga WEI Lin-song
(College of Agriculture, Guangxi University, Nanning Guangxi 530004)

Abstract: To study Callus induction, callus differentiation and Bud differentiation, the different Explants of *Lycopersicum esculentum* Mill were cultured in vitro with different concentration, for example 6-BA, KT, IAA, NAA. The results indicated that the optimal medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L on the Callus induction and callus differentiation; the optimal medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2~0.5 mg/L on uncertain bud multiplication with the stem or cotyledon.

Key words: *Lycopersicum esculentum* Mill; tissue culture; Callu; differentiation; multiplication