

不同培养基配方对 L-402 番茄愈伤组织的诱导研究

周金梅, 宫敬利

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘要: 在番茄的组织培养过程中, 愈伤组织生成的难易程度和数量直接影响到番茄组培苗培育的成功与否, 试验选用 L-402 番茄品种的叶片作为外植体, 通过 4 个水平浓度的 IAA 和 5 个水平浓度的 6-BA 进行比较试验, 寻求诱导愈伤组织途径。结果表明: MS 为基本培养基, 采用 0.2 mg/L IAA 水平、1.5 mg/L 6-BA 水平进行 L-402 番茄愈伤组织诱导效果最好。

关键词: L-402 番茄; 愈伤组织; 6-BA; IAA

中图分类号: S 641.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)21-0158-03

番茄, 别名臭柿、西番柿、西红柿等。原产秘鲁, 20 世纪 50 年代后在我国开始大量栽培, 现在已经成为一种常见的蔬菜和水果。L-402 番茄是由辽宁省农业科学院园艺研究所选育的番茄一代杂交种, 目前在东北地区得到了广泛的推广。该品种果实扁圆形, 粉红色, 稍有绿果肩, 果面光滑, 果脐小, 平均单果重 250 g 左右, 一般 667 m² 产量 6 500 kg, 对病毒病和青枯病抗性较强, 适宜露地及保护地栽培。但目前生产上用播种法进行繁殖, 种子价格高、幼苗期的养护管理要求非常严格, 这些都影响到繁殖系数和生产成本。随着生物技术的发展, 其大量、快速、高效的特点使人们开始尝试采用离体繁殖的方法繁殖番茄, 已有成功的组培育苗报道。番茄的组培途径一般为: 幼叶—愈伤组织—不定芽—继代—生根—成苗^[1], 但在这个过程中, 幼叶转化为愈伤组织最为关键, 愈伤组织生成的数量和难易程度直接影响到番

茄组培苗培育的成功与否。因此针对 L-402 番茄品种, 该试验尝试选用多个配方对其幼叶进行诱导, 寻求出诱导愈伤组织的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 L-402 番茄的幼叶作为外植体, 从播种繁殖的植株上取材。播种的种子购于辽宁奇山种业有限责任公司。选用 MS 基本培养基、6-BA、IAA 2 种激素配比, 加入蔗糖的琼脂固体培养基, 用 100 mL 三角瓶及 500 mL 玻璃瓶培养^[2]。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基及添加成分 基本培养基为 MS 培养基, 激素选用 6-BA 和 IAA, 琼脂为 7 g/L, 蔗糖 30 g/L, 培养基 pH 5.6~5.7^[3,4]。在 IAA 为 0.1 mg/L 水平条件下, 变动 6-BA 的用量, 分别记作: A₁: MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₂: MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₃: MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.1 mg/L; A₄: MS+6-BA 2.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L。在 IAA 为

第一作者简介: 周金梅(1976-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为园艺植物的育种与栽培。

收稿日期: 2010-07-22

Study on the Technology of Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ulmus pumila* cv. JinYE

TANG Xiao-jie MENG Fan-li CHENG Guang-you

(College of Beihua University, Jilin, Jilin 132013)

Abstract: The technology of tissue culture and rapidly propagation of *Ulmus pumila* cv. JinYE was studied in MS medium plus 6-benzyladenine (6-BA) and indolebutyric acid (IBA). The results showed that the more hormone content in medium, the more callus will be. The number of adventitious buds in MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L were more than other medium. The good medium to induce root was 1/2MS+IBA 1.5 mg/L (96% rooted ratio). There was higher proportion of viability planted test-tube seedlings in the humus soil.

Key words: *Ulmus pumila* cv. JinYE; tissue culture; propagation

0.2 mg/L 水平条件下, 变动 6-BA 的用量, 分别记作: B₁: MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L; B₂: MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.2 mg/L; B₃: MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L; B₄: MS+6-BA 2.5 mg/L+IAA 0.2 mg/L。在 IAA 为 0.3 mg/L 水平条件下, 变动 6-BA 的用量, 分别记作: C₁: MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L; C₂: MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L; C₃: MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.3 mg/L; C₄: MS+6-BA 2.5 mg/L+IAA 0.3 mg/L。在 IAA 为 0.4 mg/L 水平条件下, 变动 6-BA 的用量, 分别记作: D₁: MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L; D₂: MS+6-BA 1.5 mg/L+IAA 0.4 mg/L; D₃: MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L; D₄: MS+6-BA 2.5 mg/L+IAA 0.4 mg/L。

1.2.2 材料处理 选择健壮无病的 L-402 番茄嫩叶, 将其从母株上剪下, 清水冲净, 然后用流水冲洗 30 min, 再用 75%的乙醇浸泡 15 s 接着用 0.1%升汞溶液浸泡 2 min, 最后用蒸馏水冲洗 3~4 次。接种时嫩叶切割大小为 5 mm×5 mm, 分别接入上述 4 种配比的诱导分化培养基上^[9]。

1.2.3 培养及观察 培养室光温可控, 温度控制在 20~24℃; 湿度在 80%; 光强 1 200~1 500 lx, 每天光照 8~10 h。从接种后第 2 天开始观察培养物生长情况, 统计外植体形成愈伤组织时期、愈伤组织出愈率, 最后计算愈伤组织生长量。出愈率(%)=发生愈伤组织的瓶数/接种叶片的总瓶数(未污染的)×100%; 愈伤组织生长量(g)=培养物的末重量(转瓶后的瓶重-转瓶前的瓶重)-初始接种物的初重量(接种后重量-接种前重量); 平均愈伤组织生长量=各瓶愈伤组织生长量总和/出愈瓶数。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA 对 L-402 番茄愈伤组织诱导影响

L-402 番茄嫩叶片转接到不同水平培养基上后, 5 d 左右时间, 嫩叶表面开始变得粗糙, 有许多亮点出现; 7 d 以后, 个别瓶中出现愈伤组织突起; 3 周后大部分瓶中形成愈伤组织; 4 周左右, 个别愈伤组织上部出现褐色状, 此时停止愈伤组织培养, 开始转瓶, 转后立刻称量, 记录数据。

2.1.1 IAA 0.1 mg/L 水平下 6-BA 用量对愈伤组织诱导的影响 由表 1 可知, 4 种培养基配方均可以诱导 L-402 番茄叶片形成愈伤组织, 从第 9 天开始 A₂ 最早形成愈伤组织, 以后其它配方中逐渐形成, 比较而言, A₂、A₃ 形成愈伤组织的时间较早, 出愈率也较高, 分别达到 87.5%和 75.0%。平均愈伤组织生长量最高为 A₂, 达到 7.2 g, 其次为 A₃、A₄。可见 IAA 在 0.1 mg/L 水平下 A₂ 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好。

表 1 IAA 0.1 mg/L 水平下不同浓度 6-BA 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导的影响

编号	6 BA 浓度 /mg · L ⁻¹	接种瓶数 /瓶	出愈率 / %	开始出愈 时间/ d	平均愈伤组 织生长量/ g
A ₁	1.0	40	62.5	14	3.9
A ₂	1.5	40	87.5	9	7.2
A ₃	2.0	40	75.0	13	5.8
A ₄	2.5	40	52.5	13	5.2

2.1.2 IAA 0.2 mg/L 水平下 6-BA 用量对愈伤组织诱导的影响 由表 2 可知, 4 种培养基配方也均可诱导 L-402 番茄叶片形成愈伤组织, 而且形成愈伤组织的出愈率均较高, 从第 8 天开始 B₂ 开始形成愈伤组织, 以后其它配方中逐渐形成, 其中 B₂、B₃ 形成愈伤组织的时间较早, 出愈率也较高, 分别达到 90.0%和 85.0%。平均愈伤组织生长量, 最高为 B₂, 达到 8.1 g, 其次为 B₃、B₄。可见 IAA 0.2 mg/L 水平下 B₂ 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好。

表 2 IAA 0.2 mg/L 水平下不同浓度 6-BA 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导的影响

编号	6 BA 浓度 /mg · L ⁻¹	接种瓶数 /瓶	出愈率 / %	开始出愈 时间/ d	平均愈伤组 织生长量/ g
B ₁	1.0	40	82.5	11	4.9
B ₂	1.5	40	90.0	8	8.1
B ₃	2.0	40	85.0	10	5.8
B ₄	2.5	40	72.5	13	6.3

2.1.3 IAA 0.3 mg/L 水平下 6-BA 用量对愈伤组织诱导的影响 由表 3 可知, 4 种培养基配方也均可以诱导 L-402 番茄叶片形成愈伤组织, 从第 10 天开始 C₂、C₃ 开始形成愈伤组织, C₁、C₄ 陆续形成, C₃、C₂ 配方中出愈率较高, 分别达到 82.5%和 77.5%。平均愈伤组织生长量, 最高为 C₃, 达到 6.8 g, 其次为 C₂ 6.7 g。可见 IAA 0.3 mg/L 水平下 C₃ 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好。

表 3 IAA 0.3 mg/L 水平下不同浓度 6-BA 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导的影响

编号	6 BA 浓度 /mg · L ⁻¹	接种瓶数 /瓶	出愈率 / %	开始出愈 时间/ d	平均愈伤组 织生长量/ g
C ₁	1.0	40	70.7	11	5.3
C ₂	1.5	40	77.5	10	6.7
C ₃	2.0	40	82.5	10	6.8
C ₄	2.5	40	65.0	12	4.9

2.1.4 IAA 0.4 mg/L 水平下 6-BA 用量对愈伤组织诱导的影响 由表 4 可知, 4 种培养基配方也均可以诱导 L-402 番茄叶片形成愈伤组织, 但出愈时间较晚, 均在第 10 天之后, 从出愈率来看, 各配方中相差不大, D₁、D₃ 相近, D₄ 最高达 67.5%。转瓶后计算出的平均愈伤组织生长量, 最高为 D₁, 达到 6.3 g, 最低为 D₄, 为 4.7 g。可见 IAA 0.4 mg/L 水平下 D₁ 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好。

表 4 IAA 0.4 mg/L 水平下不同浓度 6-BA 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导的影响

编号	6-BA 浓度 / mg · L ⁻¹	接种瓶数 / 瓶	出愈率 / %	开始出愈 时间/ d	平均愈伤组织 生长量/ g
D ₁	1.0	40	55.0	13	6.3
D ₂	1.5	40	52.5	14	5.7
D ₃	2.0	40	47.5	14	5.8
D ₄	2.5	40	67.5	16	4.7

2.2 不同浓度 IAA 对 L-402 番茄愈伤组织诱导的影响
比较各个水平, 从出愈率可知, B 水平最高, 达到 82.5%, 其次为 C 水平, 可见 IAA 0.2 mg/L、IAA 0.3 mg/L 水平下的出愈率较高, 平均生长量为 B>C>D>A。总体来说 B 水平无论出愈率还是生长量, 均优于其它水平。因此, 在诱导 L-402 番茄愈伤组织时候, IAA 选择 0.2 mg/L 较为理想。

表 5 不同浓度 IAA 诱导愈伤组织情况统计

各水平	接种总瓶数	平均出愈率/ %	平均生长量/ g
A	160	69.4	5.5
B	160	82.5	6.3
C	160	73.9	5.9
D	160	55.6	5.6

3 结论与讨论

不同浓度 6-BA 和 IAA 都可以诱导出愈伤组织, 可见以 MS 为基本培养基, 可选择 6-BA 和 IAA 2 种植物激素作为诱导 L-402 番茄愈伤组织, 但不同浓度诱导结果有一定的差异: 在 0.1 mg/L IAA 水平下 6-BA 1.5 mg/L 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好; 0.2 mg/L IAA 水平下 6-BA 1.5 mg/L 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好; 0.3 mg/L IAA 水平下 6-BA 2.0 mg/L 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好; 0.4 mg/L IAA 水平下 6-BA 1.0 mg/L 对 L-402 番茄叶片愈伤组织诱导效果较好。可以得出, 在诱导过程中 6-BA

的用量不宜过大, 一般不宜超过 2.0 mg/L。

比较 4 个水平的 IAA, 各水平均有一定的出愈率, 而且出愈率均大于 50%, 可见接种叶片会有一半能够诱导出愈伤组织, 因此采用叶片作为外植体很容易进行组培育苗, 综合比较, 出愈率 B>C>D>A, 平均生长量为 B>C>D>A, 因此 B 水平无论出愈率还是生长量, 均优于其它水平, 0.2 mg/L IAA 水平对诱导 L-402 番茄愈伤组织是最佳选择。

在植物组织培养中, 外源激素的使用是不可避免的, 6-BA 和 IAA 对于 L-402 番茄叶片的愈伤组织的形成影响很大^[6]。不同用量的 IAA 和 6-BA 结合使用, 诱导 L-402 番茄叶片的愈伤组织形成有一定的差异。鉴于愈伤组织的质量鉴别有一定难度, 另涉及到愈伤组织的分化状况及潜力时, 切合实际的数量指标很难确定, 该试验主要从出愈时间、出愈率、愈伤组织生长量 3 个具体指标上进行比较分析, 为 L-402 番茄组培育苗提供前提基础, 结合试验数据, 建议在激素的选择上采用 IAA 0.2 mg/L、6-BA 1.5 mg/L 浓度。当然在此基础上也可进一步的采用逐步添加和逐步排除的试验方法, 进一步缩小到具体的配方。

参考文献

[1] 刘示勇, 刘守伟. 番茄组织培养中应注意的问题[J]. 园艺学报, 2006 (2): 119-112.
[2] 崔德才, 徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 51-53.
[3] 彭星元. 植物组织培养技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 65-66.
[4] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学试验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 326-327.
[5] 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, 2007, 40: 33-36.
[6] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 45.

Effects of Different Culture Medium on Callus Induction of L-402 Tomato

ZHOU Jin-mei, GONG Jing-li
(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin132101)

Abstract: In the process of tomato tissue culture, the degree of callus formation ease or difficult and the number of callus directly affected the success of tomato tissue culture. So in the study, choosing leaves of L-402 Tomato as explants, by 4 level concentration IAA and 5 level concentration 6-BA to do comparison test, to find the way of inoculate transgenic callus. The results showed that its effect was the best that using 0.2 mg/L IAA level and 1.5 mg/L 6-BA level inducted callus of L-402 Tomato.

Key words: L-402 tomato; callus; 6-BA; IAA