

番茄愈伤组织诱导的初步研究

马义勇¹, 颜雪芬², 刘思言², 马红丹², 刘 强², 关淑艳²

(1. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以 4 个番茄品种为试材, 从中筛选出发芽率最高的品种为“法国粉玫瑰”, 并以此品种为材料, 针对不同外植体种类、激素组合等因素对愈伤组织生成的影响进行了初步的研究。结果表明: 子叶愈伤生成的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+1.0 mg/L 2,4-D; 茎段愈伤生成的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D。

关键词:番茄; 愈伤组织; 最佳培养基

中图分类号:S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0106-03

番茄(*Lycopersicon esculentum*)是茄科(Solanaceae)番茄属(*Lycopersicon*)1 a 生或多年生草本双子叶植物, 又名西红柿, 其果实含有多维生素、糖类、无机盐类, 还含有柠檬酸和苹果酸, 兼有食用、药用、观赏等三重价值^[1-4], 其市场需求日益扩大, 是我国乃至全世界重要的栽培蔬菜。同时, 由于它是典型的双子叶植物, 具有自花授粉、染色体图谱较清楚、较易栽培等优点, 而成为生物学领域研究最多的模式植物之一。作为各国实验室植物转基因工作的基础, 番茄再生系统的建立至关重要, 番茄再生系统的建立是番茄基因工程育种、杂种优势固定和优异种质保存的前提^[5-9]。该试验通过对番茄愈伤组织进行诱导研究, 试图获得优良的番茄愈伤组织, 为番茄的遗传育种、基因转化、快速繁殖技术等打下良好的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

番茄种子(“法国粉玫瑰”、“台湾红女”、“金皇子”、“绿萝成”)均购于正规的种子商店。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌实生苗的获得 分别选取饱满、大小一致、新鲜的“法国粉玫瑰”(A)、“台湾红女”(B)、“金皇子”(C)、“绿萝成”(D)4 种番茄种子用清水冲洗干净备用。种子用 75% 的酒精消毒 30 s, 然后用 3% 的次氯酸钠消毒 3 min, 无菌水冲洗 3~4 次。接种于无植物生长调节

剂的 MS 和 1/2MS 培养基上。置于光照培养箱中, 温度 26℃, 光照 8 h/d 培养待其发芽。于 7 d 后统计其发芽率, 选择发芽率高和发芽效果较好的品种进行后续试验。

1.2.2 愈伤组织的诱导 取无菌的番茄实生苗, 用解剖刀和镊子将子叶和茎分别切割成小块接种到上以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 BA 和 2,4-D 愈伤组织诱导培养基上^[10-12]。培养条件为温度 26℃, 光照 12~16 h/d, 湿度 80%, 光照强度为 1 500~2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同基因型对不定芽诱导的影响

取“法国粉玫瑰”(A)、“台湾红女”(B)、“金皇子”(C)、“绿萝成”(D)分别在相同培养条件下进行萌发试验, 接种 7 d 后观察。由表 1 和图 1 可知, A 品种有最高的发芽率 95.0%, 因此确定以“法国粉玫瑰”为试材, 做进一步的研究。

表 1 不同番茄品种无菌萌发的影响

品种	接种数/个	发芽数/个	发芽率/%
A	40	38	95.0
B	40	15	37.5
C	40	28	70.0
D	40	21	52.5

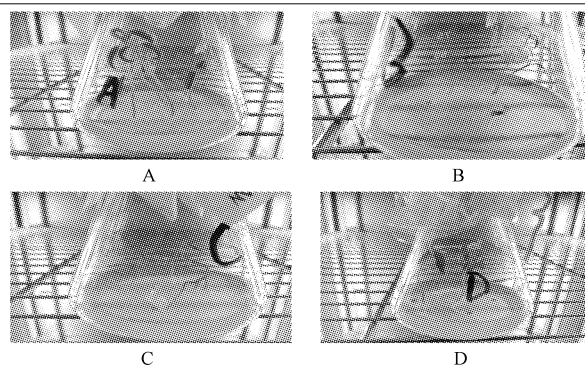


图 1 不同番茄品种的无菌苗

第一作者简介:马义勇(1970-), 男, 吉林桦甸人, 本科, 农艺师, 研究方向为生物技术与遗传育种。

责任作者:关淑艳(1971-), 女, 吉林榆树人, 博士, 副教授, 研究方向为生物技术作物遗传育种中的应用。

基金项目:国家转基因专项资助项目(2011ZX08003-005); 吉林省科技厅成果转化补助资助项目(20095044)。

收稿日期:2011-12-26

2.2 激素对番茄愈伤组织形成的影响

2.2.1 不同激素浓度对比对(子叶)愈伤组织形成的影响 分别切取“法国粉玫瑰”无菌实生苗的子叶和茎段,将其放入以 MS 为基本培养基,附加不同激素浓度的愈伤组织诱导培养基中,经过 12 d 后,统计其结果。由表 2 可知,番茄子叶诱导愈伤组织生成的最佳培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+2,4-D 1.0 mg/L,诱导率达到了 94.4%(图 2)。

表 2 不同激素浓度对愈伤组织诱导的影响(子叶)

激素/mg·L ⁻¹		外植体数/个	形成愈伤数/个	诱导率/%
BA	2,4-D			
1.0	0.5	18	15	83.3
2.0	0.5	18	16	88.9
1.0	1.0	18	15	83.3
2.0	1.0	18	17	94.4
1.0	1.5	18	14	77.8
2.0	1.5	18	18	93.3

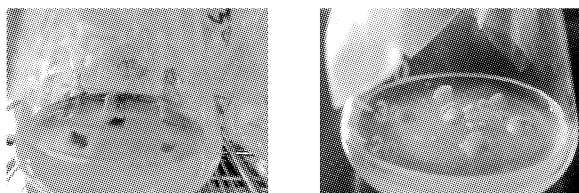


图 2 子叶最佳培养基生成的愈伤组织

2.2.2 不同激素和浓度对比对(茎段)愈伤组织形成的影响 切取“法国粉玫瑰”无菌苗的茎段,将其放入以 MS 为基本培养基,附加不同激素浓度的愈伤组织诱导培养基中,12 d 后统计结果,由表 3 和图 3 可知,以番茄的茎段为外植体材料诱导愈伤组织生成最佳的培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L,诱导率最高达到 100%。

表 3 不同激素浓度对愈伤组织诱导的影响(茎段)

激素/mg·L ⁻¹		外植体数/个	形成愈伤数/个	诱导率/%
BA	2,4-D			
1.0	0.5	18	13	72.2
2.0	0.5	18	18	100
1.0	1.0	18	16	88.9
2.0	1.0	18	15	83.3
1.0	1.5	18	14	77.8
2.0	1.5	18	17	94.4

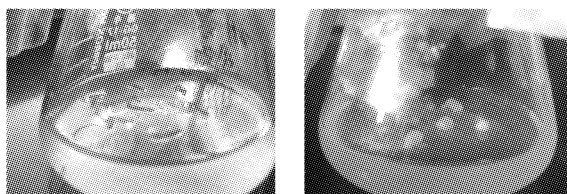


图 3 茎段最佳培养基生成的愈伤组织

3 结论与讨论

该试验结果表明,番茄基因型对番茄种子发芽有一定影响,因为不同品种的番茄具有不同的生理生化指

标,为了达到试验目的,选择发芽率高、长势良好的番茄品种 A“法国粉玫瑰”为试材。通过不同激素浓度对比对诱导生成愈伤组织进行研究得出,子叶愈伤生成的最佳培养基为:MS+2.0 mg/L BA+1.0 mg/L 2,4-D;茎段愈伤生成的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D。

番茄在组织培养中的植株再生能力与番茄的基因型、外植体类型以及培养基中添加的激素等因素密切相关。基因型对试管苗再生能力的影响比较大,于慧敏等^[13-15]研究了以下 10 个基因型不同的番茄,“合作 908”、“合作 906”、“千红 1 号”、“千红 2 号”、“樱桃番茄”、“蕃大茄红”、“丽多”、“圣吕美”、“上海 906”和“中蔬 4 号”,其中“合作 908”发芽率最高,培养 8 d 的发芽率为 94.3%,而该试验中“法国粉玫瑰”7 d 的发芽率 95.0%。外植体类型对组织培养和试管苗产生的影响也受到了普遍重视。在番茄的大量离体繁殖过程中,目前最常用的外植体是子叶、下胚轴、幼叶、茎段、幼嫩花絮和花梗,一般认为幼嫩的组织比老组织更容易诱导植株再生,所以该试验采用了子叶和茎段来研究。

不同的外植体往往需要添加不同的植物激素,许多人研究过 IAA 和 BA 配合的效果,还有人研究过 IBA 与 BA 的配合,效果不如 IAA 和 BA 的效果好,而对于 BA 和 2,4-D 的配合研究较少,所以该试验针对不同浓度的这 2 种激素对愈伤组织的影响进行了探讨。诱导茎段愈伤组织生成最佳的培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L,诱导率高达 100%。

参考文献

- [1] 彭星元植物组织培养技术[M]. 北京:高等教育出版社,2006:65-66.
- [2] 刘清波,赵燕,蔡能. 珍珠番茄快速繁殖技术[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2003,29(2):124-126.
- [3] 刘士勇,刘守伟. 番茄组织培养中应注意的问题[J]. 北方园艺,2006(2):119-120.
- [4] 罗素兰,田嘉珺,长孙东亭. 番茄高效再生体系的建立[J]. 海南大学学报(自然科学版),2002,20(4):314-318.
- [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,2004(3):74-75.
- [6] 叶志彪,李汉霞,周国林. 番茄子叶离体培养与再生植株[J]. 华中农业大学学报,1994,13(3):291-295.
- [7] 苏彩霞,霍秀文,堰庆海,等. 番茄子叶、下胚轴植株再生体系的建立[J]. 内蒙古农业大学学报,2006,27(4):91-95.
- [8] 卫志明,许智宏. 番茄叶组织培养中植株再生的初步研究[J]. 植物生理学通讯,1979(1):10-11.
- [9] 王全华,葛晨辉,曹守军,等. 番茄组织再生及其遗传转化体系的优化[J]. 青岛农业大学学报,2007,24(1):24-27.
- [10] 张丽华,程智慧,李海燕,等. 加工番茄子叶和下胚轴离体植株再生的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2006,34(7):106-109.
- [11] 姜国勇,郭宝太,金德敏,等. 番茄高效再生体系及基因转化体系的建立[J]. 莱阳农学院学报,1998,15(2):84-88.
- [12] 李晓东,刘玲,陈杭,等. 樱桃番茄再生系统的研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(1):57-59.

白花丹参组织培养技术的研究

亓翠英¹, 李绪霞¹, 王 宁², 王峰祥¹, 张福鑫¹

(1. 莱芜职业技术学院 生物技术研究, 山东 莱芜 271100; 2. 莱芜市林业局, 山东 莱芜 271100)

摘 要:以白花丹参叶为外植体,研究了外植体种类、激素比例、琼脂浓度、活性炭等培养条件对组培快繁的影响。结果表明:培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+琼脂 7%适宜 2 种愈伤组织诱导;培养基 MS+KT 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+琼脂 8%+活性炭 0.3%能有效预防玻璃化苗,适宜健壮芽苗增殖;培养基 1/2MS+IBA 0.2 mg/L+琼脂 8%(或同时添加 0.3%活性炭)有利于试管苗根系的生长,生根率达到 100%。试管苗移栽成活率达到 95%。

关键词:白花丹参;愈伤组织;玻璃化防治;生根

中图分类号:S 567.5⁺3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)06-0108-03

白花丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba C. Y. Wuet H. Wü)为唇形科鼠尾草属丹参的变型^[1],主要分布于山东莱芜及泰山周边地区,属珍稀濒危药用植物^[2]。研究证明,白花丹参具有显著的扩张冠状血管及周围血管的作用,对治疗血栓闭塞性脉管炎有独特疗效^[3]。目前白花丹参栽培种分化类型多,品种退化不一,抗性差,存在严重的重茬障碍,利用抗性较强的野生种进行良种选育,选择具备特异性、稳定性和一致性的新品种极有必要^[4]。除此以外,丹参的传统分根或芦头繁殖法,不仅繁殖速度慢,而且品质容易退化、产量下

降。建立丹参无性繁殖体系,可以快速大量繁殖优良的白花丹参种苗,可望从根本上解决白花丹参种植过程中的品种分化和质量控制问题。关于白花丹参组织培养研究现已见报道^[5-7]。在参照前人对白花丹参研究的基础上,就组织培养过程的几个关键问题进行了研究,对培养条件进行了摸索,提出了更为简便易行的提高愈伤组织诱导率、防治试管苗玻璃化、促进生根的措施,筛选出了适宜的分化、继代、生根培养基。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2010 年 8 月至 2011 年 5 月进行,以采自山东省莱芜市九龙山的野生白花丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba C. Y. Wuet H. Wü)及于山东省莱芜市苗山镇紫光生态园白花丹参栽培过程中发现的不育变异品种(*Salvia miltiorrhiza* Bge. f. alba C. Y. Wuet H. Wü, 'buyu')

第一作者简介:亓翠英(1976-),女,山东莱芜人,硕士,讲师,研究方向为植物分子细胞遗传学。E-mail:qcuiying@163.com。

基金项目:山东省自然科学基金资助项目(Y2008D14);莱芜职业技术学院科研基金资助项目。

收稿日期:2011-12-21

[13] 乐锦华,Read P E,杨国臣. BA 和激素对试管苗番茄愈伤组织形态发生的影响[J]. 园艺学报,1991,18(1):44-48.

[14] 何秀霞,陆一鸣. 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.

[15] 魏琴,周黎军,周锦霞,等. 激素对樱桃番茄两种外植体诱导再生植株的影响[J]. 广西植物,2002,22(5):441-443.

A Preliminary Study on Callus Induction of Tomato

MA Yi-yong¹, YAN Xue-fen², LIU Si-yan², MA Hong-dan², LIU-Qiang², GUAN Shu-yan²

(1. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 2. College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: With four tomato cultivars as materials, the highest germination rate of species was French pink roses was screened out, the effects of different explant types and hormones constitutions on callus formation were preliminary established. The results showed that optimum callus inducing medium was MS+2.0 mg/L BA+1.0 mg/L 2,4-D for cotyledon and MS+2.0 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D for stem.

Key words: tomato; callus; optimum medium