

# 不同基因型番茄高效组培再生体系的建立

裴华丽, 李美芹, 刘永光, 薛其勤, 乔 宁, 吕金浮

(潍坊科技学院, 山东 寿光 262700)

**摘 要:**以‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’3 种番茄为试材,用番茄的下胚轴、子叶、真叶为外植体,研究了不同基因型、不同外植体材料和不同激素浓度对番茄再生体系的影响,以期筛选出适宜不同基因型番茄离体培养的最佳培养条件。结果表明:3 个番茄品种均在 MS+2.0 mg/L BA+0.30 mg/L NAA 培养基中的愈伤组织诱导率最高。‘特大瑞光’诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+0.10 mg/L NAA;‘菜都 982F<sub>1</sub>’诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA;‘菜都六号’诱导不定芽分化的最佳培养基为 MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA。3 个不同番茄品种在 MS+0.05 mg/L NAA 培养基中均获得了最佳的生根效果。

**关键词:**番茄;组织培养;再生体系

**中图分类号:**S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0119-03

番茄 (*Lycopersicon esculentum* Mill) 属茄科 (Solanaceae) 番茄属 (*Lycopersicon*) 1 a 生或多年生植物,是一种重要的世界性蔬菜。番茄是生物学领域研究最多的模式植物之一,也是最早进行基因转化研究的高等植物,现已获得抗病毒、抗虫、延长贮藏期、改善品质等的转基因番茄<sup>[1]</sup>。番茄再生体系的建立是成功进行遗传转化的前提和基础。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,国内外研究人员在这方面进行了较多的研究。研究表明,番茄再生体系因基因型、外植体、激素种类及浓度而异<sup>[2-8]</sup>。该研究选用品质好、产量高、深受消费者喜爱、但不抗番茄黄化曲叶病毒的鲜食番茄品种‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’为材料,分别以番茄下胚轴、子叶和真叶作为外植体,系统地研究了不同基因型、不同外植体材料、不同激素浓度对番茄再生体系的影响,以期筛选出适宜不同基因型番茄离体培养的最佳培养条件,为建立一套优化的组培再生体系,进行外源基因的遗传转化,获得抗黄化曲叶病毒的番茄品种奠定基础。

**第一作者简介:**裴华丽(1978-),女,山东潍坊人,硕士,讲师,现主要从事植物生物技术等研究工作。E-mail:peihuali2@163.com.

**责任作者:**李美芹(1968-),女,山东潍坊人,博士,副教授,现主要从事生物学等方面的教学与科研工作。

**基金项目:**山东省科技发展计划资助项目(2010GNC10915);山东省高等学校科技计划资助项目(J12LE56)。

**收稿日期:**2012-10-22

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

番茄品种:‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’,均购于寿光市金田种苗有限公司。

培养基:种子发芽的培养基:MS 和 1/2MS。诱导愈伤及不定芽的培养基:以 MS 为基本培养基,添加不同种类和浓度的激素配比。生根培养基:以 MS、1/2MS 为基本培养基,并分别添加不同浓度的 IBA、NAA。以上培养基均含 3%蔗糖,添加 0.7%琼脂,pH 5.8~6.0。培养基分装后,在 121℃下,高温灭菌 20 min。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的获得 选取饱满、大小一致、新鲜的番茄种子用清水反复冲洗数次,先后用 70%的酒精对番茄种子消毒 30 s、20%次氯酸钠消毒 10 min,无菌水冲洗 4~5 遍,无菌滤纸吸干后,接种于种子发芽培养基中。暗培养至大多数种子发芽露白后,将其放到每天光照 16 h,光照强度 1 600~1 800 lx,温度(24±2)℃的条件下培养。比较 2 种不同培养基对番茄种子发芽率的影响。

1.2.2 外植体培养 选取真叶、子叶、下胚轴作为外植体进行培养。真叶、子叶切去叶尖、叶柄,其余部分切成 0.5 cm×0.5 cm 大小的叶块,接种至诱导培养基,每瓶接种 10 片;下胚轴切成长度约 0.5~0.6 mm 的切段<sup>[9]</sup>,水平接种至诱导培养基,每瓶接种 10 段。培养条件同 1.2.1。

1.2.3 幼苗培养 选取顶芽正常、生长健康的再生幼芽,将基部愈伤组织及培养基完全切除,转接到生根培

培养基上培养,使其形成完整植株。每瓶接种 1 个幼芽。培养条件同上。

1.2.4 练苗与移栽培养 待幼苗长出侧根后揭开瓶盖,向培养瓶中倒入少量无菌水(漫过培养基 3~5 mm),将培养瓶放置在阴凉通风处进行练苗。3 d 后洗净根部培养基,将幼苗转入土壤中,前 7 d 用透明的塑料薄膜罩住小苗,弱光培养,之后移入自然环境中培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对番茄种子发芽率的影响

由表 1 可知,‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’3 个番茄品种在 1/2MS 培养基中其种子的发芽率均明显高于 MS 培养基中种子的发芽率,接种后第 12 天的 1/2MS 培养基中 3 个品种番茄种子发芽率均为 100%,而 MS 培养基中 3 个品种番茄种子的发芽率分别为:‘特大瑞光’82%、‘菜都 982F<sub>1</sub>’87%、‘菜都六号’92%。可见,3 个番茄品种在 1/2MS 培养基中的发芽率均明显高于在 MS 培养基中的发芽率;但在同一种培养基中 3 个品种番茄的发芽速度存在一定差异。

表 1 不同培养基对番茄种子发芽率的影响

观察 时间	MS 培养基			1/2MS 培养基		
	/d	‘特大瑞光’	‘菜都 982F <sub>1</sub> ’	‘菜都六号’	‘特大瑞光’	‘菜都 982F <sub>1</sub> ’
3	20	37	33	25	46	44
6	42	51	53	67	83	79
9	69	74	81	82	92	95
12	82	87	92	100	100	100

### 2.2 不同激素浓度对番茄不同外植体愈伤组织的诱导

接种 14 d 后,下胚轴、子叶、真叶都形成愈伤组织,切口边缘均出现不同程度的膨大。下胚轴外形呈骨状,整个下胚轴肿胀,两端形成肉眼可见的愈伤组织。子叶、真叶边缘弯曲膨大,出现大量绿色的胚状体。由表 2 可知,‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’、‘菜都六号’3 个不同番茄品种的下胚轴、子叶、真叶诱导愈伤组织的诱导情况无明显差异。当 BA 浓度一定时,3 个不同番茄品种的外植体诱导愈伤组织的形成率均随着 NAA 浓度增加先升高后降低;当 NAA 浓度一定时,BA 浓度增加愈伤组织的形成率反而降低。当 NAA 浓度大于 0.3 mg/L 时所形成的愈伤组织体积较大,但颜色较淡、质地疏松。当 NAA 浓度降低所形成的愈伤组织结构致密,颜色翠绿,生长速度快。由表 2 还可知,‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’3 个不同番茄品种的下胚轴、子叶、真叶诱导愈伤组织的最佳培养基是 MS+2.0 mg/L BA+0.30 mg/L NAA,该培养基中生长的愈伤组织颜色翠绿、致密,生长速度快,容易分化出绿色的不定芽。

### 2.3 不同激素浓度对番茄不同外植体不定芽分化影响

将愈伤组织转移到相同培养基上继续培养,让其绿色的胚状体继续生长,10 d 后绿色的胚状体上分化出很

多小芽点,21 d 后,统计愈伤组织上不定芽的形成情况。试验发现,不同浓度配比的 BA、NAA 处理诱导不定芽的形成存在明显差异,且同一品种的不同外植体不定芽的分化率也存在一定差异。3 个番茄品种外植体分化率最高的是子叶,其次是真叶,分化率最低的是下胚轴。由表 3 可以看出,‘特大瑞光’番茄品种在 MS+2.0 mg/L BA+0.10 mg/L NAA 处理中的不定芽分化率最高,其中子叶的分化率最高为 83.9%,其次是真叶 79.0%,分化率最低的是下胚轴为 42.9%。‘菜都 982F<sub>1</sub>’番茄品种在 MS+2.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 处理中的不定芽分化率最高,其中子叶的分化率最高为 84.6%,其次是真叶 59.4%,分化率最低的是下胚轴为 56.8%。‘菜都六号’番茄品种在 MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 处理,处理中的不定芽分化率最高,其中子叶的分化率最高为 89.3%,其次是真叶 81.8%,分化率最低的是下胚轴为 66.5%。

表 2 不同激素浓度对番茄不同外植体愈伤组织形成的影响

激素 /mg·L <sup>-1</sup>		愈伤组织形成率/%								
BA	NAA	‘特大瑞光’			‘菜都 982F <sub>1</sub> ’			‘菜都六号’		
		下胚轴	子叶	真叶	下胚轴	子叶	真叶	下胚轴	子叶	真叶
2.0	0.02	84.3	78.4	74.4	80.8	78.8	79.8	78.2	70.5	77.7
2.0	0.05	93.5	80.2	88.2	88.5	82.0	84.2	80.2	74.5	88.4
2.0	0.10	89.3	83.3	79.6	92.3	86.3	92.6	86.4	88.3	82.3
2.0	0.20	92.2	86.8	91.5	92.7	90.2	93.7	90.7	90.2	88.7
2.0	0.30	97.1	98.2	92.3	98.2	94.5	98.5	100.0	96.1	100.0
2.0	0.40	93.2	88.1	86.7	90.3	91.1	93.4	96.3	90.2	92.1
3.0	0.02	59.6	72.7	74.2	80.6	69.4	60.9	64.1	78.3	73.1
3.0	0.05	61.9	84.5	87.3	94.1	70.9	70.8	88.6	82.9	92.6
3.0	0.10	67.8	82.4	90.3	88.9	78.3	40.9	66.9	95.2	91.5
3.0	0.20	81.2	80.0	74.2	88.3	80.7	80.0	76.8	83.7	90.3
3.0	0.30	89.0	78.7	88.0	92.0	93.2	78.3	90.2	92.0	88.7
3.0	0.40	81.2	71.9	80.1	87.7	86.9	73.3	87.0	89.2	82.3

表 3 不同激素浓度对番茄不同外植体不定芽形成的影响

激素 /mg·L <sup>-1</sup>		不定芽分化率/%								
BA	NAA	‘特大瑞光’			‘菜都 982F <sub>1</sub> ’			‘菜都六号’		
		下胚轴	子叶	真叶	下胚轴	子叶	真叶	下胚轴	子叶	真叶
2.0	0.02	34.3	72.7	71.8	44.2	70.2	50.1	45.4	66.4	49.1
2.0	0.05	36.8	78.3	76.3	56.8	84.6	59.4	50.3	70.8	59.1
2.0	0.10	42.9	83.9	79.0	42.3	73.0	49.0	53.2	84.4	65.0
2.0	0.20	39.7	79.1	75.6	39.1	66.0	34.0	55.1	87.5	56.2
2.0	0.30	36.2	76.3	69.7	35.4	63.0	34.7	60.3	87.5	74.4
2.0	0.40	30.1	69.1	66.1	30.0	58.8	29.0	54.3	78.2	69.0
3.0	0.02	31.8	66.7	62.3	41.2	56.7	48.8	55.2	82.3	77.2
3.0	0.05	33.4	70.3	64.7	49.8	63.6	50.0	66.5	89.3	81.8
3.0	0.10	36.3	76.9	72.4	43.8	74.8	47.3	63.7	80.0	63.0
3.0	0.20	35.5	74.8	70.0	42.9	75.4	41.7	59.5	82.3	59.2
3.0	0.30	33.0	69.1	68.3	39.7	67.0	39.2	51.3	79.1	52.0
3.0	0.40	29.7	67.9	62.1	33.3	63.2	36.5	44.2	70.7	49.8

### 2.4 不同激素浓度对番茄不同外植体不定芽生根影响

将分化不定芽状态好的外植体转接至新的含有相同激素的培养基上,培养至不定芽约 2 cm 高时由外植

体上切下,接种至附加不同浓度 IBA 及 NAA 的 MS 培养基中进行生根培养,10 d 后统计生根情况。由表 4 可知,生根率、平均生根数量、平均生根长度都随着 IBA 浓度的增加,先增加后减少。随着 NAA 浓度的增加,平均生根数量逐渐增加,但平均生根长度逐渐减少。添加 NAA 的培养基中的根状况均比添加 IBA 的培养基的根粗壮,平均生根长度长,移栽后更易成活。综合比较发现番茄在 MS+0.05 mg/L NAA 培养基中的生根效果最佳。

表 4 不同激素浓度对番茄不定芽生根的影响

激素 /mg·L <sup>-1</sup>	IBA					NAA				
	0	0.05	0.10	0.20	0.30	0.05	0.10	0.20	0.30	0.30
生根率/%	100	89.6	95.2	100	72.5	100	72.5	79.8	82.3	
平均生根数量/条	13.2	5.5	12.5	10.4	10.0	15.0	21.5	17.6	30.0	
平均生根长度/cm	3.2	2.0	3.3	2.8	2.0	2.5	1.5	0.8	0.5	
根的状况及侧根多少	细、多	细、多	细、多	细、多	细、多	细、少	粗、多	粗、多	粗、少	粗、少

## 2.5 移栽

将在 MS+0.05 mg/L IAA 生根培养基中获得的再生植株,练苗后移栽到栽培钵中,移栽成活率为 94%。

## 3 结论与讨论

该试验结果表明,基因型及外植体是影响番茄组织培养效果的重要因素。在同一种培养基上 3 个不同番茄品种的发芽速度存在一定差异,其原因可能是 3 个番茄品种的基因型不同而导致的。在相同培养基上,‘特大瑞光’、‘菜都 982F<sub>1</sub>’和‘菜都六号’3 个不同品种番茄的出愈率差异不大,但分化率差异较大,表明不同基因型番茄及不同外植体的组织分化及再生能力存在较大差异。这与李铁松等<sup>[3]</sup>、马杰等<sup>[10]</sup>的研究结果相似。另外马杰等研究表明,番茄的植株出愈率及分化率均为真叶>子叶>下胚轴<sup>[10,4]</sup>,但该研究结果与马杰等的研究情况不一致,该研究发现,番茄植株出愈率为下胚轴>真叶>子叶;分化率为子叶>真叶>下胚轴。3 个番茄

品种外植体诱导愈伤组织形成的最佳培养基为 MS+2.0 mg/L BA+0.30 mg/L NAA。‘特大瑞光’番茄在 MS+2.0 mg/L BA+0.10 mg/L NAA 处理中的不定芽分化率最高达到 83.9%;‘菜都 982F<sub>1</sub>’番茄品种在 MS+2.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 处理中的不定芽分化率最高为 84.6%;‘菜都六号’番茄品种在 MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA 处理中的不定芽分化率最高为 89.3%。3 个不同番茄品种在 MS+0.05 mg/L NAA 培养基中均获得了最佳的生根效果。该研究为进一步的基因遗传转化研究提供了可靠的理论依据和相应的技术保障。

## 参考文献

- [1] 曹慧颖,夏润玺,吕淑霞,等. 提高农杆菌介导番茄遗传转化效率的研究[J]. 北方园艺,2008(1):178-180.
- [2] 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.
- [3] 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,2003,20(2):178-182.
- [4] 罗素兰,田嘉璐,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),2003,20(4):314-316,323.
- [5] 陆瑞菊,黄剑华,孙月芳,等. 番茄下胚轴愈伤组织高频率诱导与植株再生[J]. 上海农业学报,1997,13(2):16-18.
- [6] 欧阳波,李汉霞,叶志彪. 玉米素和 IAA 对番茄子叶再生的影响[J]. 植物生理学通讯,2003,39(3):217-218.
- [7] 陈火英,张建华,庄天明,等. 番茄下胚轴离体诱导成株的激素调控[J]. 上海农业学报,1999,15(2):26-29.
- [8] 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.
- [9] Ozyigit, I I, Kahraman M V, Ercan O. Relation between explant age, total phenols and regeneration response in tissue cultured cotton (*Gossypium hirsutum* L.)[J]. African Journal of Biotechnology, 2007, 6(1):3-8.
- [10] 马杰,邱栋梁. 番茄组培再生体系优化研究[J]. 中国农学通报,2011, 27(8):185-189.

## Study on Tissue Culture and Regenerative System of Different Varieties of Tomato and Different Explants

PEI Hua-li, LI Mei-qin, LIU Yong-guang, XUE Qi-qin, QIAO Ning, LV Jin-fu  
(Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700)

**Abstract:** Taking ‘Tedaruiguang’, ‘Caidu982F<sub>1</sub>’ and ‘Caidu No. 6’ as materials, the hypocotyls, with cotyledon and true leaf of tomato as explants, the effect of different genotype, different explants and different concentrations of hormone on regenerative system of tomato were studied, in order to obtain the best way of regenerative system of different varieties of tomato. The results showed that callus of three different varietal tomatoes could be induced in MS media with 2.0 mg/L BA plus 0.30 mg/L NAA. The suitable differentiation medium for ‘Tedaruiguang’ was MS+2.0 mg/L BA+0.10 mg/L NAA. The suitable differentiation medium for ‘Caidu982F<sub>1</sub>’ was MS+2.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA. The suitable differentiation medium for ‘Caidu No. 6’ was MS+3.0 mg/L BA+0.05 mg/L NAA. The suitable rooting medium for three different varietal tomatoes was MS+0.05 mg/L NAA.

**Key words:** tomato; tissue culture; regeneration system