

# 不同番茄品种再生体系的比较

赵明珠, 张美萍

(吉林农业大学 生命科学院 吉林 长春 130118)

**摘要:**以“大红番茄”、“红牛奶番茄”“粉冠 888”3 种番茄为试材,选取 7 d 苗龄无菌苗的子叶和胚轴为外植体,对外植体基因型、分化培养基及生根培养基进行筛选,建立番茄再生体系,以期为进一步进行人参大片段 DNA 转化番茄的研究奠定基础。结果表明:“粉冠 888”可为遗传转化提供大量稳定的外植体来源,适宜的分化培养基为 MS+6-BA 1.0~2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L,生根培养基为 MS+IAA 0.5 mg/L。

**关键词:**番茄;再生体系;培养基

**中图分类号:**S 641.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)09-0127-03

番茄是茄科(Solanaceae)番茄属(*Lycopersicon*)植物,原产于南美热带地区<sup>[1]</sup>。番茄不仅是全世界栽培最为普遍的果菜之一,而且是生物学上研究最多的模式植物之一。作为一种世界性蔬菜作物,它的广泛栽培及其在遗传理论上的深入研究为基因工程扩宽资源打下了坚实的基础,在基因工程扩宽种质资源上得到了极大的发展。

近年来,随着植物转基因技术的发展,外源基因转入番茄的研究也越来越多,这不仅使人们获得了农艺性状改良的番茄新品种(如抗虫、抗病、抗除草剂、抗逆、果实的延熟保鲜等)<sup>[2]</sup>,而且利用植物转基因技术还可使番茄作为生产食用疫苗的生物反应器<sup>[3]</sup>。国内都是对单基因的转移进行研究,尚未见到大片段 DNA (> 100 kb)对番茄遗传转化的研究。国际上,Hamilton 等报道了 150 kb 人类 DNA BIBAC 在农杆菌介导下在番茄中实现了整片断转化和世代稳定遗传<sup>[4]</sup>。

多数遗传转化都是建立在良好的组织培养系统基础之上的,番茄组织培养的研究工作一直在进行<sup>[5-9]</sup>,但由于基因型、外植体间差异及激素种类与浓度的不同,试验结果也不尽相同。该实验对几个不同品种的番茄进行了初步研究,建立了一套优化的番茄组织培养与再生体系,为进一步进行人参大片段 DNA (未发表)转化番

茄的研究打下了良好的基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

“大红番茄”(购自长春市吉祥地种业有限公司),“红牛奶番茄”(购自吉林鑫丰蔬菜种子商店),“粉冠 888”(购自西安市群星种业有限责任公司)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 无菌苗的获得** 将番茄种子用 70% 的酒精浸泡 30 s,再用 10% 的次氯酸钠处理 7~8 min,无菌水冲洗 3~5 次后,接种于 MS 培养基上。光照强度 1 600~1 800 lx,光照时间 16 h/d,温度(25±1)℃,湿度 70%。分别于 4 d 和 7 d 后统计种子萌发率。

**1.2.2 分化培养基的优化** 以 MS 为基本培养基 IAA 浓度为 0.2 mg/L,对 6-BA 浓度进行考察。取 7 d 苗龄无菌苗,切取子叶、胚轴作为外植体行培养。子叶去叶尖、叶柄,其余部分切成 0.5 cm×0.5 cm 大小的子叶块,近轴面向下接种于分化培养基上;胚轴切去胚根与生长点,其余部分切成长度为 0.8~1.0 cm 的切段,每个浓度接种 100 块外植体。接种后每 7 d 观察统计 1 次,记录不同分化培养基上的诱导及分化情况。分别于接种后 14、28、15 d 统计愈伤形成率、不定芽分化率及不定芽分化数。不定芽分化率=分化不定芽的外植体数/接种的总外植体数×100%;不定芽分化数=分化的不定芽总数/分化的不定芽的外植体数×100%。

表 1 诱导愈伤及不定芽分化培养基激素配比 mg/L

培养基编号	6-BA	IAA
A1	0.5	0.2
A2	1.0	0.2
A3	2.0	0.2
A4	3.0	0.2

第一作者简介:赵明珠(1985-),女,在读硕士,研究方向为植物分子生物学与基因工程。E-mail: zhaomingzhu0125@yahoo.cn。  
责任作者:张美萍(1964-),女,教授,博士研究生导师,研究方向为药用植物功能基因组学。E-mail: wzhaoyun@tom.com。  
基金项目:吉林省教育厅“十一·五”科学技术研究资助项目(吉教科合字[2009]第 48 号)。  
收稿日期:2011-02-24

1.3 生根培养基的筛选

将高 2~3 cm 的不定芽, 插入不同激素浓度的生根培养基中, 2 周后进行观察统计。

表 2 生根培养基的激素配比				
基本培养基	编号	IAA	IBA	NAA
MS	B00	—	—	—
MS	B11	0.2	—	—
MS	B12	0.5	—	—
MS	B13	1.0	—	—
MS	B21	—	0.5	—
MS	B22	—	1.0	—
MS	B23	—	2.0	—
MS	B31	—	—	0.1
MS	B32	—	—	0.2
MS	B33	—	—	0.3
MS	B34	—	—	0.4
MS	B35	—	—	0.5
MS	B36	—	—	1.0
1/2MS	B40	—	—	—
1/2MS	B41	—	0.5	—
1/2MS	B42	—	1.0	—
1/2MS	B43	—	2.0	—

1.4 移栽

待不定芽根系发达, 形成茁壮的再生苗时, 在培养箱中练苗 4~6 d(培养条件同上), 洗净根部残余的培养基, 植入土中, 外面扣保湿膜, 待小苗有新叶长出时, 逐渐通风摘掉保湿膜即可, 计算移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 种子的萌发率

不同品种在 MS 培养基上种子的萌发率不同, 由表 3 可看出, 在第 4 天和第 7 天, “大红番茄”种子的萌发率明显低于“红牛奶番茄”和“粉冠 888”, 无法为后期的遗传转化工作提供大量稳定的外植体来源, 因此放弃该品种。

表 3 不同品种番茄种子的萌发率 %			
萌发时间/d	大红番茄	红牛奶番茄	粉冠 888
4	36	82	84
7	48	90	92

2.2 不同激素浓度对愈伤组织形成、不定芽诱导的影响

大量研究证明, 6-BA 和 IAA 结合使用会提高番茄外植体的再生频率<sup>[10]</sup>, 该试验对这 2 个因素进行了分析。由表 4.5 可看出, 不同品种番茄子叶和胚轴的愈伤组织形成率、不定芽再生率及不定芽数目均随着 6-BA 浓度的增加而先增加后降低, 当 6-BA 浓度为 1~2 mg/L 时, 子叶和胚轴的愈伤形成率和分化率均高于 0.5 mg/L 及 3.0 mg/L, 且不定芽的长势较好, 但“粉冠 888”的愈伤率和分化率明显高于“红牛奶番茄”, 可以为后期的遗传转化打下良好的基础, 所以选择“粉冠 888”

表 4 不同培养基对子叶愈伤组织形成及不定芽分化的影响

基因型	培养基编号	接种数	愈伤率	分化率	不定芽的	芽的
			/ %	/ %	分化数	状态
红牛奶番茄	A1	100	62.0	37.0	1.10	+
	A2	100	100.0	65.0	1.90	++
	A3	100	100.0	68.0	2.10	+++
	A4	100	79.0	42.0	1.00	+
粉冠 888	A1	100	71.0	45.0	1.30	+
	A2	100	100.0	93.0	2.20	+++
	A3	100	100.0	95.0	2.50	+++
	A4	100	83.0	68.0	1.0	+

注: + 一般, ++ 较好, +++ 好(表 5 同)。

表 5 不同培养基对胚轴愈伤形成及不定芽分化的影响

基因型	培养基编号	接种数	愈伤率	分化率	不定芽的	芽的
			/ %	/ %	分化数	状态
红牛奶番茄	A1	100	59.0	33.0	0.90	+
	A2	100	100.0	63.0	1.60	++
	A3	100	100.0	66.0	1.90	+++
	A4	100	69.0	37.0	0.80	+
粉冠 888	A1	100	67.0	40.0	1.25	+
	A2	100	100.0	90.0	2.00	+++
	A3	100	100.0	92.0	2.20	+++
	A4	100	78.0	57.0	0.70	+

可作为后期的遗传转化材料。

2.3 再生植株生根

将高 2~3 cm 的不定芽插入生根培养基 2 周后的观察情况见表 6。由表 6 可看出, 添加不同激素浓度的培养基与空白 MS 和 1/2MS 培养基相比对不定芽的生根率影响明显不同。添加 IAA 和 IBA 的 MS 培养基生根率随激素浓度先升高后降低, 添加 NAA 的 MS 培养基生根率随激素浓度升高而降低, 添加 IBA 的 1/2MS 培养基生根率稳定, 但苗长势一般, 综合各种因素考虑, 该试验选择 MS+IAA 0.5 mg/L 作为生根壮苗培养基。

表 6 不同激素浓度的生根培养基对生根效果的影响

编号	生根率	平均根数	根形态	根长度	苗长势
	/ %	/ 条		/ cm	
B00	79.2	4.2	白、细	2.70	+
B11	100.0	13.5	白、细	4.30	++
B12	100.0	18.6	白、细	6.20	++
B13	85.0	12.1	白、细	3.20	+
B21	87.0	4.5	白、细	4.30	+
B22	85.4	3.2	白、细	3.00	—
B23	80.0	2.2	白、细	2.80	—
B31	100.0	19.2	灰、粗	1.75	+
B32	87.6	39.8	灰、粗	1.00	—
B33	85.0	23.0	灰、粗	0.60	—
B34	60.1	17.0	灰、粗	0.40	—
B35	60.0	16.4	灰、粗	0.30	—
B36	0	0	无	0	—
B40	100.0	12.5	白、细	3.10	+
B41	100.0	13.6	白、细	4.40	+
B42	100.0	15.8	白、细	4.80	++
B43	100.0	13.0	白、细	4.00	+

注: — 弱, + 较壮, ++ 壮。

2.4 移栽

将在 MS+IAA 0.5 mg/L 生根培养基中获得的再生植株移栽到栽培钵中, 移栽成活率为 90%。

3 讨论

3.1 基因型

大量研究证明, 基因型是影响番茄组织培养效果的重要因素, 在相同培养基上, 不同番茄品种间存在不同的分化率, “红牛奶番茄”和“粉冠 888”在 6-BA 浓度为 1.0~2.0 mg/L 时, 虽然都有极高的愈伤分化率, 但不定芽的分化率明显不同。因此, 选择合适的基因型在番茄组织培养中极为重要。

3.2 激素配比

在植物组织培养中, 生长素和细胞分裂素的浓度配比是外植体分化方向的重要决定因素。生长素与分裂素比值大时有利于愈伤的形成, 比值小时有利于细胞的分化<sup>[1]</sup>。试验中发现, 选择合适的生长素与分裂素浓度配比能提高外植体的再生频率。

3.3 生根壮苗

生根壮苗是植物组织培养中一个极其重要的环节。根系发达、生长健壮是再生苗移栽成活的基础。生根壮苗在番茄离体培养研究中起着举足轻重的作用, 也是番茄基因工程育种成功获得转基因植株的关键环节。在试验中发现, 在 MS 基本培养基中添加一定量的生长激

素, 能显著促进生根和壮苗, 但因为所用植物材料的基因型的差异, 不同材料的生根培养基需要通过试验确定。

参考文献

[1] 北京农业大学译. 蔬菜生物生理学基础[M]. 北京: 农业出版社, 1985.

[2] 乐锦华, Read P E, 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.

[3] 姜国勇, 翁曼丽, 金德敏, 等. 番茄转 TCS 基因植株的生物学性状研究[J]. 园艺学报, 1998, 25 (4): 395-396.

[4] Bishop G J, Nomura T, Yokota T, et al. The tomato DWARF enzyme catalyses C-6 oxidation in brassinosteroid biosynthesis[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1999, 96: 1761-1766.

[5] 孟祥栋, 张卫华, 马红, 等. 番茄子叶下胚轴植株再生技术的研究[J]. 山东农业大学学报, 1998, 29(1): 101-104.

[6] 任春梅, 高必达. 番茄子叶离体再生与移栽[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(3): 214-217.

[7] 杨学习, 张振臣, 蒋士君. 番茄子叶再生系统的初步研究[J]. 河南农业科学, 2003(3): 26-28.

[8] 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.

[9] 江晓玲, 俞宗义, 贺竹梅, 等. 番茄子叶外植体转化系统的优化[J]. 云南植物研究, 2004, 26(1): 118-120.

[10] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.

[11] 余延年. 番茄基因的分子标记与遗传作图[J]. 园艺学报, 1998, 25 (4): 361-366.

Comparison in Plant Regeneration of Different Varieties of Tomato

ZHAO Ming-zhu ZHANG Mei-ping

(College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** Using three kinds of tomatoes as material, 7 old days *in vitro* seedling cotyledon and hypocotyls were used as explant to filter genotype, differential medium and root medium in order to establish tomato regeneration system. The next step was using ginseng large DNA fragment transform tomato. The results showed that ‘Fenguan 888’ could provide lots of and stable explant, the suitable differentiation medium was MS+6-BA 1.0~2.0 mg/L+IAA 0.2 mg/L, and the suitable rooting medium was MS+IAA 0.5 mg/L.

**Key words:** tomato; regeneration system; medium