

加工番茄子叶和下胚轴离体植株再生的研究^{*}

张丽华¹, 程智慧¹, 李海燕², 王宝云³, 陈丽萍¹, 刘 绍¹

(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100;

2 山东省德州市 蔬菜办, 山东 德州 253016;

3 山东省潍坊市 坊子区农业局, 山东 潍坊 261000)

[摘 要] 以加工番茄BO 2和BO 4无菌苗的子叶和下胚轴为外植体, 以MS为基本培养基, 研究了不同浓度的ZT, 6-BA与不同浓度的IAA组合对外植体芽诱导的影响。结果表明, 在不同浓度的ZT和IAA组合中, 对2个番茄品种的子叶和下胚轴外植体芽诱导均以MS+1.0 mg/L ZT+0.05 mg/L IAA培养基为最好, BO 2品种子叶和下胚轴的出芽率分别为32.7%和24.5%, BO 4品种的分别为37.3%和28.2%; 在不同浓度的6-BA和IAA组合中, 诱导BO 2外植体出芽率最高的培养基是MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA, 子叶和下胚轴的出芽率分别为27.3%和14.5%; 诱导BO 4品种子叶和下胚轴出芽率最高的培养基分别为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA和MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA, 子叶和下胚轴的出芽率均为28.2%; 在MS+0.1 mg/L IAA培养基上, 加工番茄BO 2再生芽1周左右就能长出根, 形成完整的小植株。

[关键词] 加工番茄; 子叶; 下胚轴; 植株再生

[中图分类号] S641.204⁺.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)07-0106-05

随着现代生物工程技术的发展, 对植物再生体系建立及外源基因在植物细胞中表达的研究不断深入, 利用基因工程技术进行作物品质改良的研究工作也日渐增多。在这类研究中, 番茄是应用最广泛的材料之一。

加工番茄在番茄生产和销售中占有重要的地位, 美国、意大利、西班牙和希腊等国家对加工番茄的需要量超过鲜食番茄。目前, 加工番茄种植在我国发展迅速, 新疆因其独特的自然条件而成为加工番茄的主要产区。据统计^[1], 1999年我国加工番茄的种植面积达2.7万hm², 年产约120万t, 但仍有许多问题需要解决。

在鲜食番茄离体再生研究方面, 大多以子叶、下胚轴或真叶^[2-4]为外植体, 也有的以须根^[5]为外植体, 研究了ZT, 6-BA或KT等细胞分裂素类物质与IAA和2, 4-D等生长素类物质相结合对外植体离体再生的影响, 而对加工番茄植株再生的研究还较少。

本试验以加工番茄的子叶和下胚轴为外植体, 研究了不同激素对比对芽诱导的影响, 以建立加工番茄高频再生系统, 为进一步的遗传转化奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材 料

以加工番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)品种BO 2和BO 4为试材, 加工番茄种子由新疆农业科学院石河子蔬菜研究所提供。

1.2 方 法

1.2.1 番茄无菌苗的培养 将种子放入100 mL/L的次氯酸钠溶液中消毒30 min, 然后用无菌水冲洗种子4~5次, 接于MS基本培养基上进行培养。培养室温度25℃, 在培养的前5~6 d对种子遮光, 随后照光4~5 d, 每天光照14 h, 光照3 000 lx。待无菌苗高7~8 cm、子叶展平时, 取子叶和下胚轴进行接种。

1.2.2 培养基 以MS为基本培养基, 添加不同浓度的ZT, 6-BA与IAA的激素组合构成不同诱芽培养基。

1.2.3 外植体的接种 在超净工作台上切下子叶和下胚轴, 在子叶的近轴端和远轴端各切一刀, 每片子叶切分为2块外植体, 下胚轴切成长约0.5 cm的切段, 接于不同培养基上进行培养。

^{*} [收稿日期] 2005-09-15

[基金项目] 西北农林科技大学优秀青年人才专项(08080214); 新疆建设兵团博士点基金

[作者简介] 张丽华(1974-), 女, 山东东阿人, 讲师, 主要从事蔬菜栽培生理与分子生物学研究。

2 结果与分析

2.1 外植体的形态变化

外植体培养 6~7 d 时, 子叶的颜色由绿色开始变为淡绿色, 子叶局部肥厚增大, 略显不规则的卷曲; 下胚轴外植体略显肿胀, 这表明已有愈伤组织产生。2 周后下胚轴呈黄白色, 切口产生许多愈伤组织, 肿胀更突出, 呈哑铃状; 子叶变为黄绿色, 更加肥大, 切口两端有明显的愈伤组织产生。4 周后子叶和外植体上均出现了肉眼可见的绿色芽点, 这些芽点能进一步发育成苗或叶。

2.2 不同浓度的 ZT 和 IAA 组合对加工番茄 BO 2 和 BO 4 外植体芽诱导的影响

不同浓度 ZT 和 IAA 组合对加工番茄 BO 2 外

植体芽诱导的影响如表 1 所示。从表 1 可以看出, 1.0 mg/L ZT+0.05 mg/L IAA 组合对子叶和下胚轴 2 种外植体的芽诱导率均最高, 诱导产生的芽形态正常(图 1 和图 2), 出芽率分别为 32.7% 和 24.5%; 1.0 mg/L ZT+0.1 mg/L IAA 组合诱导的出芽率次之, 4.0 mg/L ZT+0.05 mg/L IAA 组合诱导的出芽率最低。

从表 1 还可以看出, 当 ZT 浓度为 1.0~4.0 mg/L 时, 随着 ZT 浓度的升高, 子叶外植体出芽率呈下降趋势; 对于子叶当 ZT 浓度高于 3.0 mg/L 时, 对于下胚轴当 ZT 浓度高于 2.5 mg/L 时, 即使能够诱导出芽, 芽也大多为畸形或玻璃化, 不能进一步长大成苗。

表 1 不同浓度 ZT 和 IAA 组合对加工番茄 BO 2 外植体芽诱导的影响

Table 1 Effects of ZT combined with IAA on bud induction of BO 2 processing tomato

激素浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of hormone		子叶 Cotyledon			下胚轴 Hypocotyl		
ZT	IAA	叶盘数 No of cotyledon explant	出芽叶盘数 No of bud induction cotyledon explant	出芽率/% Bud induction ratio	下胚轴切段数 No of hypocotyls explant	出芽下胚轴数 No of bud induction hypocotyls explant	出芽率/% Bud induction ratio
0.5	0.05	110	17	15.4	110	13	11.8
1.0	0.05	110	36	32.7	110	24	24.5
1.5	0.05	110	23	20.9	110	13	11.8
2.0	0.05	110	13	11.8	110	11	10.0
2.5	0.05	110	10	9.1	110	7	6.4
3.0	0.05	110	3	2.7	110	4	3.6
4.0	0.05	110	0	0	110	0	0
0.5	0.1	110	17	15.4	110	11	10.0
1.0	0.1	110	28	25.4	110	16	14.5
1.5	0.1	110	15	13.6	110	12	10.9
2.0	0.1	110	18	16.4	110	17	15.4
2.5	0.1	110	9	8.2	110	14	12.7
3.0	0.1	110	7	6.4	110	5	4.5
4.0	0.1	110	2	1.8	110	0	0



图 1 加工番茄 BO 2 子叶的诱导芽

Fig. 1 Bud induction of BO 2 cotyledons

由表 2 可知, ZT 与 IAA 组合对加工番茄品种 BO 4 芽的诱导效果与 BO 2 相似, 即以 1.0 mg/L ZT+0.05 mg/L IAA 组合对子叶和下胚轴 2 种外



图 2 加工番茄 BO 2 下胚轴的诱导芽

Fig. 2 Bud induction of BO 2 hypocotyls

植体的芽诱导率最高, 出芽率分别为 37.3% 和 28.2%; 1.0 mg/L ZT+0.1 mg/L IAA 组合诱导的出芽率次之。以上组合诱导产生的芽形态正常, 并能

发育成完整的小植株(图 3)。当 ZT 浓度为 1.0~4.0 mg/L 时,随着 ZT 浓度升高,子叶和下胚轴外植体出芽率总体呈下降趋势。当 ZT 浓度较高时,所诱导出的芽大多畸形或玻璃化,不能进一步长大成苗。



图 3 加工番茄BO 4 的诱导芽及再生植株

Fig 3 Bud induction and plant regeneration of BO 4

表 2 不同浓度 ZT 和 IAA 组合对加工番茄BO 4 外植体芽诱导的影响

Table 2 Effects of ZT combined with IAA on bud induction of BO 4 processing tomato

激素浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration of hormone		子叶 Cotyledon			下胚轴 Hypocotyl		
ZT	IAA	叶盘数 No of cotyledon explant	出芽叶盘数 No of bud induction cotyledon explant	出芽率/% Bud induction ratio	下胚轴切段数 No of hypocotyls explant	出芽下胚轴数 No of bud induction hypocotyls explant	出芽率/% Bud induction ratio
0.5	0.05	110	12	10.9	110	19	17.3
1.0	0.05	110	41	37.3	110	31	28.2
1.5	0.05	110	23	20.9	110	16	14.5
2.0	0.05	110	10	9.1	110	17	15.4
2.5	0.05	110	11	10.0	110	16	14.5
3.0	0.05	110	2	1.8	110	4	3.6
4.0	0.05	110	0	0	110	0	0
0.5	0.1	110	16	14.5	110	11	10.0
1.0	0.1	110	28	25.4	110	22	20.0
1.5	0.1	110	13	11.8	110	19	17.3
2.0	0.1	110	11	10.0	110	12	10.9
2.5	0.1	10	7	6.4	110	14	12.7
3.0	0.1	110	2	1.8	110	5	4.5
4.0	0.1	110	0	0	110	0	0

2.3 不同浓度 6-BA 和 IAA 组合对加工番茄BO 2 和BO 4 外植体芽诱导的影响

不同浓度 6-BA 和 IAA 组合对加工番茄BO 2 和BO 4 外植体芽诱导的影响见表 3 和 4。由表 3 和表 4 可见,6-BA 与 IAA 组合对加工番茄外植体的芽诱导率均低于 ZT 与 IAA 组合。

表 3 不同浓度 6-BA 和 IAA 组合对加工番茄BO 2 外植体芽诱导的影响

Table 3 Effects of 6-BA combined with IAA on bud induction of BO 2 processing tomato

激素浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration hormone		子叶 Cotyledon			下胚轴 Hypocotyl		
6-BA	IAA	叶盘数 No of cotyledon explant	出芽叶盘数 No of bud induction cotyledon explant	出芽率/% Bud induction ratio	下胚轴切段数 No of hypocotyls explant	出芽下胚轴数 No of bud induction hypocotyls explant	出芽率 Bud induction ratio
1.0	0.1	110	29	26.4	110	15	13.6
2.0	0.1	110	25	22.7	110	11	10.0
3.0	0.1	110	19	17.3	110	9	8.2
1.0	0.2	110	22	20.0	110	9	8.2
2.0	0.2	110	30	27.3	110	16	14.5
3.0	0.2	110	20	18.1	110	12	10.9

表 3 表明, 加工番茄品种 BO 2 子叶和下胚轴 2 种外植体的出芽率均以MS+ 2 0mg/L 6-BA+ 0 2 mg/L IAA 培养基为最高, 其次为MS+ 1 0mg/L 6-BA+ 0 1mg/L IAA 组合培养基, 且子叶的出芽率均高于下胚轴。

表 4 不同浓度 6-BA 和 IAA 组合对加工番茄 BO 4 外植体芽诱导的影响

Table 4 Effects of 6-BA combined with IAA on bud induction of BO 4 processing tomato

激素浓度/(mg · L ⁻¹) Concentration of hormone		子叶 Cotyledon			下胚轴 Hypocotyl		
6-BA	IAA	叶盘数 No of cotyledon explant	出芽叶盘数 No of bud induction cotyledon explant	出芽率/% Bud induction ratio	下胚轴切段数 No of hypocotyls explant	出芽下胚轴数 No of bud induction hypocotyls explant	出芽率/% Bud induction ratio
1 0	0 1	110	26	23 6	10	23	20 9
2 0	0 1	110	30	27 3	110	25	22 7
3 0	0 1	110	22	20 0	110	21	19 1
1 0	0 2	110	31	28 2	110	17	15 3
2 0	0 2	110	23	20 9	110	31	28 2
3 0	0 2	110	21	19 1	110	23	20 9

2 4 再生芽诱导生根

当加工番茄 BO 2 的再生芽长至 1. 5~ 2 0 cm 时, 将其切下, 转接到MS+ 0 1mg/L IAA 培养基

表 4 表明, 诱导加工番茄 BO 4 子叶和下胚轴 2 种外植体出芽率最高的培养基分别是MS+ 1 0 mg/L 6-BA+ 0 2mg/L IAA 和MS+ 2 0mg/L 6-BA+ 0 2mg/L IAA, 子叶和下胚轴の出芽率均为 28 2%。

上, 1 周后就能长出 3~ 4 条长约 1. 5 cm 的须根, 发育成完整的小植株(图 4 和图 5)。



图 4 加工番茄 BO 2 再生芽诱导产生的根

Fig 4 Root induction of regenerated bud of BO 2

图 5 加工番茄 BO 2 的再生植株

Fig 5 Regenerated plant of BO 2

3 讨 论

在番茄芽的诱导中以 ZT 和 6-BA 用的较多^[6-9]。本研究结果表明, ZT 和 6-BA 与 IAA 相组合均能诱导 BO 2 和 BO 4 2 个加工番茄品种的子叶和下胚轴外植体芽再生, 子叶的出芽率稍高于下胚轴, 但出芽率均较低, 在本试验中最高的出芽率也只有 37. 3%。在试验中发现, 子叶和下胚轴外植体上能够产生大量的芽点, 但这些芽点大部分发育成了叶, 只有少部分发育成苗, 这可能与加工番茄营养生长势较弱有关。鲜食番茄营养生长旺盛, 其分枝能力很强, 在栽培上需要整枝打杈, 而加工番茄营养生长势弱, 在栽培上无需对其整枝就能很好地坐果。可能正

因此, 加工番茄的出芽率才较低。

不同激素组合对 2 个番茄品种子叶和下胚轴的芽诱导率有差异, ZT 与 IAA 组合对外植体的芽诱导率高于 6-BA 与 IAA 组合。较高浓度的 ZT 与 IAA 组合时, 外植体上能够产生很多的芽点, 但这些芽点大多不能进一步发育, 少数能够发育成苗, 但发育成的苗玻璃化, 尤其是下胚轴外植体玻璃化程度更高。6-BA 与 IAA 组合的出芽率虽较低, 但未出现玻璃化现象。

番茄愈伤组织芽的起源属于外起源, 根的起源为内起源^[10-11]。在再生芽根的诱导中, 0 1mg/L IAA 能够诱导再生芽产生大量的根, 移栽后易于成活, 这与罗素兰等^[9]的研究结果一致。番茄虽然易于

生根,但如果在诱根时使用的生长素浓度太大,会在再生芽的基部先发生一些愈伤组织,在愈伤组织内部再发生许多不定根,这种不定根由于与茎中的微管组织之间被多层薄壁细胞相隔,根内的维管束不

能与茎中维管束相通,移栽后不易成活^[10]。所以为了提高再生植株的移栽成活率,在进行根的诱导时宜使用较低浓度的生长素。

[参考文献]

- [1] 李君明,徐和金,周永健.加工番茄生产的现状及品种遗传改良浅析[J].中国蔬菜,2001(6):52-53
- [2] 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):26-29
- [3] Kut S A, Evans D A. Plant regeneration from cultured leaf explants of eight wild tomato species and two related *Solanum* species[J]. *In Vitro*, 1982, 18: 593-598
- [4] Uddin M F, Taher M A, Islam S M A, et al. Effect of variety and plant growth regulators in MS medium on shoot induction from virus infected calli of tomato[J]. *Journal of Biological Sciences*, 2004, 4(4): 521-526
- [5] Moghaieb R A, Saneoka H, Fujita K. Shoot regeneration from Gus-transformed tomato (*Lycopersicon esculentum*) hairy root[J]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2004, 9: 439-449
- [6] 叶志彪,李汉霞,周国林.番茄子叶离体培养的植株再生[J].华中农业大学学报,1994,13(3):291-295
- [7] 叶志彪,李汉霞.雪花莲外源凝集素基因转化番茄[J].植物学报,2000,42(7):719-723
- [8] 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:自然科学版,2003,26(2):178-182
- [9] 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
- [10] 陈火英,张建华,俞俊棠,等.番茄离体培养过程中器官发生的细胞组织学观察[J].武汉植物学研究,2001,19(2):91-95
- [11] Kartha K K, Gamborg O L, Shyluk J P, et al. Morphogenetic investigations on *in vitro* leaf culture of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill, cv. Starfire) and high frequency plant regeneration[J]. *Z Pflanzenphysiol*, 1976, 77: 292-301

Study on cotyledon and hypocotyl plant regeneration of processing tomato *in vitro*

ZHANG L i-hua¹, CHENG Zh i-hui¹, L I Ha i-yan², WANG Bao-yun³, CHEN L i-ping¹, L IU Shao¹

(1 College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Dezhou Vegetable Office, Dezhou, Shandong 253016, China;

3 Weifang Fangzi Agricultural Bureau, Weifang, Shandong 261000, China)

Abstract: Cotyledons and hypocotyls of BO 2 and BO 4 processing tomatoes were used as explants to study the effects of different concentrations of ZT, 6-BA combined with different concentrations of IAA on bud induction. The results showed that the best shoot induction medium for cotyledon and hypocotyls explants was MS+ ZT 1.0 mg/L + IAA 0.05 mg/L in different combinations of ZT and IAA. The shoot induction ratios were 32.7% and 24.5% for BO 2 cotyledon and hypocotyls explants and 37.3% and 28.2% for BO 4 cotyledon and hypocotyls explants respectively. Among different combinations of 6-BA and IAA, the best medium for BO 2 was MS+ 6-BA 2.0 mg/L + IAA 0.2 mg/L and the shoot induction ratio was 27.3% and 14.5% for cotyledon and hypocotyls explants respectively. The most suitable induction medium for cotyledon and hypocotyls explants of BO 4 was MS+ 6-BA 1.0 mg/L + IAA 0.2 mg/L and MS+ 6-BA 2.0 mg/L + IAA 0.2 mg/L respectively and the shoot induction ratio was 28.2%. The root could be induced after the regenerated buds were planted in MS+ IAA 0.1 mg/L one week later.

Key words: processing tomato; cotyledons; hypocotyls; plant regeneration