番茄叶片及试管苗茎段组织培养

郭碧霞 李鹏飞

(园艺系)

提 要

本试验所采用的培养基是MS(4 62)培养基减去CoCl₂ · 6 H₂O,同时把其原配 方中的 烟酸份量及维生素B₆份量提高10倍,维生素B₁份量提高40倍。附加的植物激 素 有 激 动 素 (K) , 1 5 引哚乙酸(IAA) 及萘乙酸 (NAA) 。 K与IAA的相互剂量及比值,在诱发叶片愈伤 组织分化出芽时以K₄IAA₄的效应最好。诱发出根方面,对叶片愈伤组织分化形成的苗株 来 说,以K₉NAA₆₋₂最有效,对试管苗株茎段来说则K₀IAA₆₋₂及K₀NAA₆₋₂均有良好 效应。

前言

番茄是一年生作物,传代一般靠种子。但在某种情况下,通过叶片组织培养,可以 解决育种上一些特殊可贵材料的保存与繁殖问题。

栽培番茄粤农与野生番茄秘鲁(Lycopersicon peruvianum (L_•) Mill_•) 远缘杂交的 F_1 代植株是得之不易的抗病抗逆育种材料。但此 F_1 代植株自花授粉不亲和,不结果,只能靠一般园艺插枝方法繁殖保存,但在广州地区,插条不易渡夏,高温季节,成活率很低。

本试验的目的是为了克服这个困难,探讨如何利用叶片组织培养技术,通过愈伤组织,分化出新的苗株,同时利用试管苗株茎段组织培养方法,加大繁殖系数,并把由此培殖出的试管中苗株,保存在空调室内低温渡夏秋植,使今后类似上述这样的难得而可贵的育种材料的保存,繁殖及渡夏问题能更妥善地获得解决。

材料和方法

(一) 培养基

1. 基本培养基:本试验所采用的培养基,基本上为MS ('62),而从其原配方中减除去 $CoCl_2 \cdot 6$ H₂O,并把其中的烟酸份量及维生素 B_6 份量提高10倍,维生素 B_1 份量提高40倍。

对基本培养基,分别附加不同浓度水平的植物激素,浓度单位均为毫克/升。

2. 诱发芽分化培养基:是以基本培养基附加激动素(Kinetin,以下简称K)及吲哚乙酸(以下简称IAA)而成。

1986年3月27日收稿

K与IAA各以不同剂量及比值相互配合,编成A,B及C三个组,共9个组合(表1)。

3. 诱发试管苗株出根培养基:是以基本培养基分别附加下列组合的植物激素而成: K₀IAA₀, K₁IAA₁, K₁IAA₄

表	1 K	与IAA的组合	
A	K ₁ IAA ₁	K i IAA 2	K ₁ IAA ₄
В	K, IAA,	K ₁ IAA ₂	K ₂ IAA ₄
С	K 4IAA 1	K ,IAA 2	K 4IAA 4

K₂IAA₂, K₄IAA₄, K₀NAA₀.₂ (茶乙酸,以下简称NAA)。

4. 诱发试管苗株茎段出根培养基:是以基本培养基分别附加下列组合的植物激素而成: K₀IAA₀, K₀IAA₀, K₂IAA₀, K₂IAA₀,

(二) 培养材料及消毒处理

1. 以栽培番茄粤农 2 号杂交野生番茄秘鲁的F₁代植株生长末期的 茎 端嫩叶为培养材料。茎端嫩叶经吐温80 (Tween80) 稀释液漂洗半分钟后,用蒸馏水冲洗干净,然后在无菌条件下转入0.1%HgCl液中浸20分钟灭菌。最后用无菌水漂洗 3 ~ 4 次。

在经灭菌后的接种箱内或超净工作台上,用无菌解剖刀尖,割切嫩叶为小块。每小块面积为0,25cm²左右,将小块分别接种人试管内培养基表面上。

- 2. 以试管苗株叶片为培养材料:由于试管苗是无菌苗,切取的材料无须消毒。在 灭菌条件下把叶片切成小块,直接接种。
 - 3. 以试管苗株茎段为培养材料: 把试管大苗株切取成茎段(带1~2个叶节)直接竖直插入试管培养基内。

培养条件

- (一) 光照强度1~2千勒克司 (Klx)。
- (二) 培养温度25±3°C。
- (三) 光照时数8~10小时

培养结果

(一) 大田老母株嫩叶培养结果

接人后第6天,A组出现愈伤组织较少,B组及C组愈伤组织显著增加,到第22天,A组没有出现分化芽,B组有之,C组分化芽最好,尤以 K_4 IAA。—个组合,分化芽最多且壮(表2)。

(二) 试管苗叶培养结果

接种后经 $15\sim22$ 天,叶块愈伤组织先后分化出芽。C 组分化效 应较好,其中 尤 以 K_4IAA_2 及 K_4IAA_4 两组合为最佳,分化出的芽既多且壮。 K_4IAA_4 出现有盲芽现象,即长出一片粗壮叶片,而没有顶芽。B 组则分化出芽甚少(表 3)。

(三) 试管苗株培养分化出根结果

把试管苗株继代人诱发根分化培养基后,以K₀NAA_{0.2}一个组合的效应表现最好。 移人后第 5 天开始现根,第12天全部发根(表 4)。

(四) 试管苗株茎段培养分化出根结果

带节苗株茎段插入诱发根分化培养基后的第5天现根。一般在15天左右长成为一个完整植株,可移出盆栽。K。IAA。... 及K。NAA。... 两组合的效应均好(表5)。

痔 2

叶片接种后第22天分化出苗情况*

试管	A		组	В	3	组	C		组
编号	K ₁ IAA ₁	K1IAA2	k1IAA4	K 2IAA 1	K ₂ IAA ₂	K ₂ IAA ₄	k ₄ IAA ₁	K4IAA2	K4IAA4
1	0	0	0	芽+	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	O	0	0	o	芽++
3	0	0	0	0	芽+	0	0	o	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	芽+	0	0	芽+	0	0
в	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	0	0	0	0	0	0	0	0	芽++
9	0	0	0	0	0	0	0	0	0

^{• 0 --} 元; + -- 少量; + + -- 较多量(以下表同)。

表 3

接种15-22天后试管苗叶愈伤组织分化出芽情况

管试	В		组	С	组	-
编号	K ₂ IAA ₁	K,IAA,	K ₁ IAA ₄	K4IAA1	K4IAA2	K4IAA4
1	0	芽++	0	0	0	芽+
2	o	0	o	o	0	0
3	o	0	О	盲芽+	芽++	0
4	o	0	0	芽+	0	0
5	0	芽++	0	0	0	芽++
6	9	0	0	0	芽+	0
7	o	o	0	o	0	0
8	o	o	0	盲芽	0	0
9	o	0	o	o	0	0
10	O	0	0	0	0	O
11	0	0	0	芽+	0	O
12	0	0	0	0	芽++	0
13	o	0	0	盲芽	芽	0
14	O	0	0	0	芽++	芽+
15	0	0	0	0	0	o
16	6	0	0	0	0	o
17	0	0	0	0	0	芽+
18	0	0	0	0	0	芽++
19	0	0	0	0	0	0

表 4 接入后第12天试管苗株出根情况

试编	管号	K ₀ IAA ₀	K ₁ IAA ₁	K ₁ IAA ₄	K, IAA,	K4IAA4	K,NAA,,,
	1	0	0	0	0	0	根+++
	2	0	O	0	0	0	根+++
	8	0	o	0	0	0	根+++
	4	0	O	0	0	0	根+++
	5	0	O	0	0	0	根+++
	6	0	o	0	0	. 0	根+++
	7	0	O	0	0	0	根+++
	8	0	0	0	0	0	根+++
	9	0	O	0	0	0	根+++
:	10	0	0	0	0	0	根+++

表 5

接种后第12天试管苗株茎段出根情况

大管	K olaa o	K IAA	K2IAA _{0.2}	K ₂ NAA _{0.3}	K ₀ NAA _{0.2}
1	0	根++	0	0	根++
2	0	极++	0	0	根++
8	O	根++	0	0	根++
4	0	根++	0	0	根++
5	0	根++	o	0	根++
в	0	根++	0	0	根++
7	0	根++	o	0	根++
8	0	根++	0	0	根++
9	0	根++	0	0	根++

讨论及结论

- (一) 本试验用的基本培养基,是MS ('62) 基本培养基减去 $CoCl_{\bullet} \cdot 8$ H₂O。同时把MS ('62) 原配方中的烟酸份量及维生素 B_{\bullet} 份量提高10倍,维生素 B_{I} 份量提高40倍。试验结果说明,略去无妨于培养效果,增量亦起良好作用。
- (二) K与IAA的相互剂量及比值,在诱发叶片愈伤组织分化出芽方面,是个关键,K₄IAA₄的效应是最好的。这与Vasantha Padmanabhan氏等的试验 结果大致相同。
- (三) 在诱发出根方面,对叶片组织形成的苗株, $K_0NAA_0.2$ 是最 有效 的,而对苗株茎段来说 $K_0IAA_0.2$ 及 $K_0NAA_0.2$ 均有良好效应。
- (四)通过老母株嫩叶的组织培养,由愈伤组织重新分化出芽,长成为苗株,再利用试管苗株叶片繁殖出更多的试管苗株,继之又以试管苗株茎段往前增殖,在短时间内就可以增殖出大量苗株。

(五) 当炎夏或寒冬,利用空调室保存和繁殖试管苗,在适合季节时移植室外,这远比室外盆栽插枝繁殖保存为简易而可靠。

参考文献

- [1] 吴定华. 番茄种间杂交的探讨, 《园艺学报》: 11 (1) 1984: 35-41。
- [2] Vasantha Painanabhan, E. F. Paddock, and W.R. Sharp 1974 plantlet formation from Licopersion esculentum last callus. Can. J. Bot. 52, 1429-1432.

TISSUE CULTURE PROPAGATION OF THE INTERSPECIFIC F, HYBRID OF LYCOPERSICON ESCULENTUM X LYCOPERSICON PERUVIANUM

Kuo Pihsia Li Pengfi (Department of Horticulture)

ABSTRACT

Explants were obtained from young leaves of the field grown F₁ plant of L. esculentum cv. Yuet Nong, x L. peruvianum and cultured on a modified Murashige and Skoog medium with various combinations of indole-3-acetic acid (IAA), naphthaleneacetic acid (NAA) and kinetin(K). In the modified MS ('62) medium, CoCl₂, 6H₂O was omitted and nicotine acid as well as vitamin B₆ were increased 10 times as much and vitamin B₁ was increased 40 times as much as that used in the usual MS ('62) medium.

Shoot for nation occurred within 22 days and the combination of K_4 IAA $_4$ (4mg/liter of K+4mg/iter of IAA) was found to be the best. Root initiation was very common within 12 days at a combination of $K_0NAA_{0.2}$. Stem sections of the test tube plantlets, when grown on the same modified MS medium at a combination of $K_0NAA_{0.2}$ or $K_0IAA_{0.2}$, developed roots within 12 days.