

## 番茄子叶愈伤组织直接分化成花及果实

吴正景<sup>1,\*</sup>, 程智慧<sup>2</sup>, 孙淑伟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>河南科技大学林学院, 洛阳471003; <sup>2</sup>西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌712100

**摘要:** 番茄(品种‘小番茄’)的子叶经一定条件诱导产生愈伤组织, 随后在愈伤组织上直接产生花蕾, 并可以开花结果。结果显示离体培养中的IBA在其成花诱导中起关键作用。IBA可能是番茄成花基因的启动信号。

**关键词:** 番茄; 愈伤组织; 成花决定; IBA

## Floral and Fruit Differentiated Directly from Callus of Tomato Cotyledon

WU Zheng-Jing<sup>1,\*</sup>, CHENG Zhi-Hui<sup>2</sup>, SUN Shu-Wei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Forest, Henan Sci-Tech University, Luoyang 471003, China; <sup>2</sup>College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

**Abstract:** The calli were induced from the cotyledon of tomato (cv. ‘Microtom’) in culture. The callus could produce directly flower buds which could further flower and fruit. IBA played a critical role in the process. It may be a start signal to active tomato flowering decision genes.

**Key words:** tomato; callus; flowering induction; IBA

植物花芽分化是一个活跃的研究领域。通过拟南芥突变体和金鱼草的研究, 已对植物花芽器官分化机制做了大量的研究, 提出了ABC、ABCD、ABCDE等花器官分化的模型。然而环境条件诱导花芽分化的机制仍不清楚, 如植物通过一定的光周期和春化作用后如何使生长点由营养生长向生殖生长转变的机制还未被揭示。这主要是植物成花诱导研究中存在着时、空难题。如光周期的作用部位是叶片, 但反应部位是生长点, 而春化作用的时间有几天到几十天的跨度, 难以发现其中关键物质的细微变化。体内研究手段的限制使植物成花诱导研究一直没有得到突破性结果。如果能够建立一个离体成花诱导的实验平台, 就会大大方便植物成花诱导的研究。

植物愈伤组织是一种脱分化状态, 理论上可以分化出各种器官, 如根、叶、芽, 或变态的芽、根(如鳞片, 球茎等), 但直接形成花蕾的报道不多, 尤其营养生长阶段的外植体未见有直接成花的报道。本实验观察到‘小番茄’(‘Microtom’)的子叶经一定条件诱导产生愈伤组织, 并在愈伤组织上直接产生花蕾, 且可以开花结果。

### 材料与方法

取番茄品种‘小番茄’(*Lycopersicon esculentum*

Mill. cv. ‘Microtom’)子叶用75%酒精浸洗15 s, 0.1%升汞浸泡10 min, 无菌水洗4次, 每次3~4 min; 表面消毒后的叶片切成0.5 cm<sup>2</sup>, 接种在含不同激素的MS培养基上。激素组合为W1: NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>(单位下同)+6-BA 2.0; W2: NAA 0.2+TDZ(苯基噻二唑基脲) 0.5; W3: IBA 0.05+6-BA 2.0; W4: IBA 0.1+6-BA 2.0; W5: IBA 0.2+TDZ 0.5。每种培养基加入蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>, 琼脂粉7.0 g·L<sup>-1</sup>。温度(26±2) °C, 光照时间12 h·d<sup>-1</sup>, 光照强度20 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

### 实验结果

#### 1 不同激素对愈伤组织形成和分化的影响

外植体培养7 d愈伤组织开始出现, 20 d时形成明显团状。含有TDZ的培养基(W2、W5)中的愈伤组织生长快, 色泽白, 半透明状; W3中的IBA含量低于W4, 其愈伤组织的生长也慢(表1)。说明生长素和细胞分裂素均影响了番茄叶片外植体愈伤组织的生长。白色愈伤组织没能够进一步分化,

收稿 2011-09-07 修定 2011-10-08

资助 国家自然科学基金(30370977)、国家“十一五”科技支撑计划(2007BAD79B01)和河南科技大学博士科研基金(09001216)。

\* 通讯作者(E-mail: wzjhaust@gmail.com; Tel: 0379-64282669)。

表1 番茄子叶在不同培养基上的分化情况

Table 1 Differentiation of tomato cotyledon on different medium

| 培养基代号 | 激素组成及浓度/mg·L <sup>-1</sup> | 愈伤组织诱导情况 | 叶芽/个·块 <sup>-1</sup> | 直接花蕾/个·块 <sup>-1</sup> |
|-------|----------------------------|----------|----------------------|------------------------|
| W1    | NAA 0.1+6-BA 2.0           | 绿, 量中    | 0                    | 0                      |
| W2    | NAA 0.2+TDZ 0.5            | 白, 量多    | 0                    | 0                      |
| W3    | IBA 0.05+ 6-BA 2.0         | 绿, 量少    | 2.1                  | 0.4                    |
| W4    | IBA 0.1+6-BA 2.0           | 绿, 量中    | 0.7                  | 3.5                    |
| W5    | IBA 0.2+TDZ 0.5            | 白, 量多    | 0                    | 0                      |

绿色愈伤组织能够进一步分化成叶、芽和花蕾(图1-A、B), 但含有NAA的W1培养基中的愈伤组织失去了再分化的能力(表1)。从直接花蕾发生情况来看, IBA可能在番茄成花诱导中起关键作用。

## 2 试管果实同田间果实比较

试管果实的大小与大田果实无差异, 但果实顶

端有明显的突起, 同使用防落素等植物激素后的形状相似, 且果实直至红熟不产生种子(图1-C、D)。

## 3 果柄处切片观察

沿果柄中间纵切, 观察果柄在愈伤组织中的起源。从图1-E、F中可明显看出果柄发源于愈伤组织。

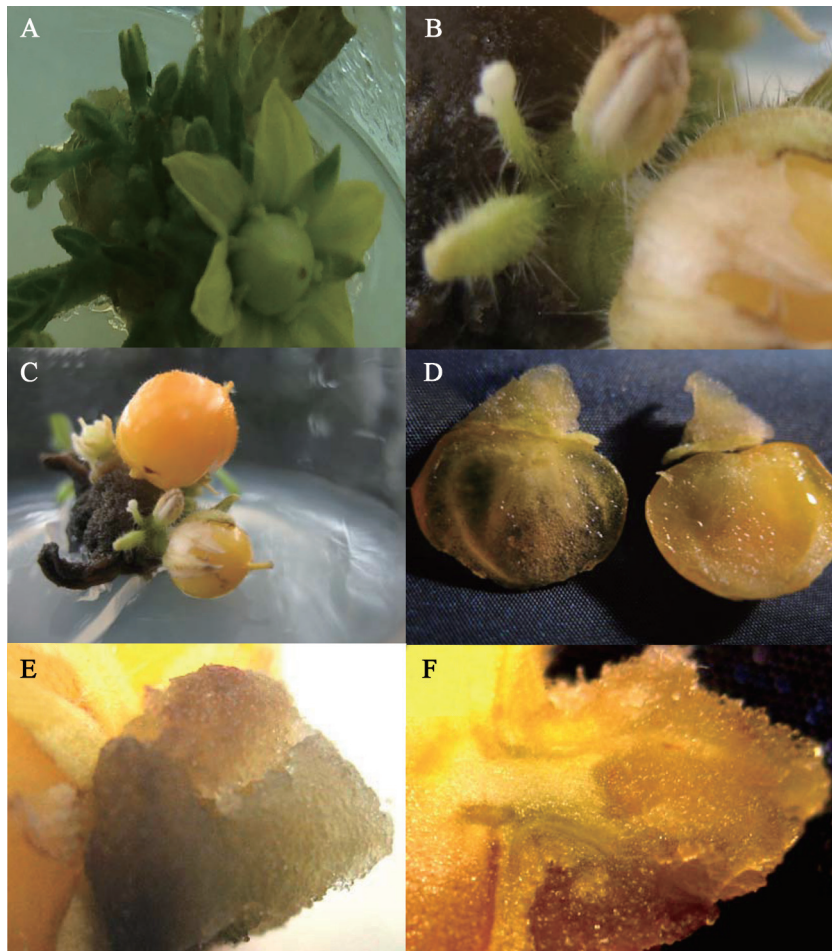


图1 番茄子叶愈伤组织诱导成花及坐果现象

Fig.1 Flowering and fruiting of callus from tomato cotyledon

A: 番茄试管花蕾及开花坐果; B: 番茄再生花器官在愈伤组织上着生; C: 再生番茄果实形状; D: 再生番茄果实切片; E: 再生番茄果实着生于愈伤组织上; F: 再生番茄果柄着生于愈伤组织内(纵切)。

## 讨 论

McDaniel等(1989)研究烟草发现, 在无激素的LS培养基上用来自营养生长期的烟草(cv. 'Wisconsin 38')幼苗茎秆的外植体获得约0.2%的花芽再生率, 但不是直接出花。花梗组织的培养可直接得到花, 没有叶的分化(Van den Ende等1984)。Heylen和Vendrig (1988)对烟草花序枝薄层细胞培养, 配合细胞分裂素, 人工合成激素(NAA, CTA)比天然激素(IAA, IBA)可获得更多的花芽。在植物离体培养中发现来源于花器官的外植体, 如花序轴、花柄、花被、花丝等在适合的培养条件下直接分化花芽, 而来源于营养生长状态的外植体仅靠调整培养基成分诱导花芽直接分化则较困难(陈永宁1995)。利用免疫技术检测到与外植体分化状态有关的一些物质可以在离体培养条件下得到保留(陈永宁1992); 同样大岩桐离体培养也得到近似结果(庞基良等2004)。Rao等(2005)发现'小番茄'('Microtom')再生苗试管内容易开花结果。本实验结果表明, '小番茄'子叶经诱导形成愈伤组织后可直接形成花芽并在培养瓶中开花, 结实。这一结果有可能发展成为研究开花调控机制的实验平台, 为研究开花基因的表达调控创造条件。在外源激素的调节作用下, '小番茄'子叶经过诱导启动了开花调控基因, 从而使愈伤组织从营养生长进入生

殖生长, 证明激素可能是番茄成花基因的启动信号。

'小番茄'是一种极早熟的番茄品种, 4~5片真叶就开始现蕾, 80 d左右果实即成熟。普通栽培番茄外植体离体培养没有从愈伤组织直接分化花芽现象, 这可能同其种质特性有关。小番茄子叶培养诱导成花的现象为研究植物成花决定机制提供了一个实验平台。

## 参考文献

- 陈永宁(1992). 植物细胞在离体培养条件下的决定问题. 植物生理学通讯, 28 (2): 156~158
- 陈永宁(1995). 未来开花研究之管见. 植物生理学通讯, 31 (5): 375~384
- 庞基良, 王利琳, 胡江琴, 梁海曼(2004). 赤霉素对大岩桐花蕾离体培养直接再生花芽的影响. 实验生物学报, 37 (3): 241~246
- Heylen C, Vendrig JC (1988). The influence of different cytokinins and auxins on flower neoformation in thin cell layers of *Nicotiana tabacum* L. Plant Cell Physiol, 29 (4): 665~671
- McDaniel CN, Sangrey KA, Jegla DE (1989). Cryptic floral determination: stem explants from vegetative tobacco plants have the capacity to regenerate floral shoots. Dev Biol, 134: 473~478
- Rao KV, Kiranmayee K, Pavan U, Sree TJ, Rao AV, Sadanandam A (2005). Induction of multiple shoots from leaf segments, *in vitro*-flowering and fruiting of a dwarf tomato (*Lycopersicon esculentum*). J Plant Physiol, 162 (8): 959~962
- Van den Ende G, Croes AF, Kemp A, Barendse GWM (1984). Development of flower buds in thin-layer cultures of floral stalk tissue from tobacco: role of hormones in different stages. Physiol Plant, 61: 114~118