

灭菌方式及过滤灭菌 IAA 和 ZT 浓度对番茄子叶分化的影响

夏文浩 王虹

山东省乳山市农业局

DOI:10.32629/as.v1i2.1453

[摘要] 本试验以番茄“中蔬四号”品种为试材,研究了不同灭菌方式的及过滤灭菌的不同浓度 IAA 和 ZT 组合对番茄子叶分化的影响。结果表明,过滤灭菌的 IAA 和 ZT 对番茄的子叶分化的影响较高压灭菌好,诱愈率达到 100%,诱芽率达到 96.7%;过滤灭菌的不同浓度 IAA 和 ZT 组合对番茄子叶分化的影响不同,其中以 IAA0.1mg/L+ZT2.0mg/L 的浓度组合为最佳,诱愈率达到 100%,诱芽率达到 96.7%。

[关键词] 番茄; 激素; 灭菌; 诱愈; 诱芽

本实验比较研究了高压灭菌和过滤灭菌后的 IAA 和 ZT 对番茄子叶分化的影响,以及过滤灭菌的 IAA 和 ZT 不同浓度组合对番茄子叶分化的影响,从而筛选出了诱导愈伤组织和诱导不定芽的最佳浓度组合,为番茄子叶再生体系的完备奠定了基础。

1 材料与方

1.1 试验材料

本试验所选品种为番茄“中蔬四号”。

1.2 播种培养基

以 1/2MS 培养基为基本培养基,配方: 1/2MS+蔗糖 30g/L+琼脂 6.5g/L, pH 调至 5.8, 在 121℃ 下湿热灭菌 20min。

1.3 无菌苗的获得

番茄种子先用水清洗干净,然后用 75%乙醇浸泡消毒 30s,无菌水冲洗 3~5 次,再置于加有土温的 20%次氯酸钠中灭菌消毒 20min,在此之间要不断的搅拌或摇晃,尽量让消毒液与种子表面充分接触,之后用无菌水冲洗 3~5 次,然后接种于 1/2MS 固体培养基上,在暗培养箱中催芽,培养 3 天后种子开始萌芽,此时将萌芽的种子移至光照下培养,起初两片叶子是并在一起的,7 天后子叶展开即为无菌苗。

1.4 不同灭菌方式的 IAA 和 ZT 对番茄子叶分化的影响

以 MS 培养基为基本培养基,采用 MS+IAA0.1mg/L+ZT2.0mg/L 的配方, pH 调至 5.8, 每升加蔗糖 30g, 琼脂 6.5g。在激素的使用中,采用 2 种方式,一种是先加入未过滤灭菌的 IAA 和 ZT 后再高压灭菌,另一种是直接高压灭菌后待温度降至 50℃,加入已过滤灭菌的 IAA 和 ZT。

取无菌苗,在超净工作台上,于展开的子叶近轴端和远轴端各切一刀,剩余部分切成 0.5cm×0.5cm 大小的子叶块,背面向上平放于不同灭菌方式的 MS 培养基中。每个处理接入 10 个外植体,每 2 周继代一次。4 周后统计愈伤组织的诱导及芽的分化情况。

1.5 过滤灭菌不同浓度的 IAA 和 ZT 组合对番茄子叶分化的影响

以 MS 培养基为基本培养基, pH 调至 5.8, 每升加蔗糖 30g, 琼脂 6.5g, 在 121℃ 下湿热灭菌 20min。经高压灭菌后,根据

不同浓度组合,分别加入 IAA 和 ZT。IAA 设 0.05mg/L、0.1mg/L、0.2mg/L 3 个水平,ZT 设 1.0mg/L、1.5mg/L、2.0mg/L 3 个水平,共 9 种不同浓度组合的处理。

将切好的子叶块背面向上,平放于不同浓度组合的 MS 培养基中。每个处理接入 10 个外植体,每 2 周继代一次。4 周后统计愈伤组织的诱导及芽的分化情况。

2 结果与分析

2.1 高压灭菌和过滤灭菌的 IAA 和 ZT 对番茄子叶分化的影响

接种后光下培养 4~5d 后子叶的颜色变为淡绿色,叶片中间呈紫色,子叶局部肥厚增大,切口边缘膨大并产生不规则卷曲;10d 后子叶变为黄绿色,更加肥大,在子叶的切口两端形成绿色的小突起,突起逐渐增多增大,形成绿色且紧密的愈伤组织;20d 后子叶愈伤组织的边缘开始产生深绿色针尖状小点;27d 后子叶的愈伤组织的边缘小点部位分化出大量不定芽,并进一步发育成苗或叶。

由表 1 可知,在相同的 IAA 和 ZT 浓度组合条件下,不同的灭菌方式对番茄子叶愈伤组织的形成影响不大,高压灭菌的诱愈率为 93.3%,过滤灭菌的诱愈率为 100%,差异不显著。但对芽的分化有一定影响,过滤灭菌的番茄子叶不定芽的分化率显著高于高压灭菌的,诱芽率达到 96.7%;而高压灭菌的诱芽率为 86.7%。

表 1 不同灭菌方式的 IAA 和 ZT 对番茄子叶分化的影响

处理	外植体数	诱愈数	诱愈率 (%)	诱芽数	诱芽率 (%)
高压灭菌	10	9.33	93.3±0.58aA	8.67	86.7±0.58bA
过滤灭菌	10	10.0	100.0±0.00aA	9.67	96.7±0.58aA

注: 以上数据为三次重复的平均值±SD,采用邓肯氏新复极差法检测显著性差异(下同)。

2.2 过滤灭菌不同浓度的 IAA 和 ZT 组合对番茄子叶分化的影响

培养 10d 后,子叶明显增大增厚,颜色变淡,切口两端形

成绿色的小突起,随即产生愈伤组织;27d 后子叶的愈伤组织的边缘小点部位分化出大量不定芽,并进一步发育成苗或叶。

表2 过滤灭菌不同浓度的 IAA 和 ZT 组合对番茄子叶分化的影响

处理	激素组合 (mg/L)		外植体数	诱愈数	诱愈率 (%)	诱芽数	诱芽率 (%)
	IAA	ZT					
1	0.05	1.0	10	8.67	86.7±0.58bA	8.33	83.3±0.58bA
2	0.05	1.5	10	9.00	90.0±1.00abA	8.33	83.3±0.58bA
3	0.05	2.0	10	9.33	93.3±0.58abA	8.67	86.7±0.58abA
4	0.1	1.0	10	9.33	93.3±0.58abA	9.00	90.0±0.00abA
5	0.1	1.5	10	9.67	96.7±0.58abA	9.33	93.3±0.58abA
6	0.1	2.0	10	10.00	100.0±0.00aA	9.67	96.7±0.58aA
7	0.2	1.0	10	8.67	86.7±0.58bA	8.67	83.3±0.58bA
8	0.2	1.5	10	9.00	90.0±1.00abA	9.00	86.7±0.58abA
9	0.2	2.0	10	9.00	90.0±0.00abA	9.00	83.3±0.58bA

由表2可知,番茄子叶的诱愈率和诱芽率随着ZT浓度的增加而增长,但增长到一定浓度时就不再增长反而呈现下降趋势。可见一定浓度范围的ZT对番茄子叶愈伤组织的诱导有促进作用,当ZT浓度达到2.0mg/L时诱导率最高,几乎每个外植体都能分化出愈伤组织和不定芽。在ZT同一浓度水平时,番茄子叶的褐变率随着IAA浓度的变化而变化,IAA在

诱导分化时降低褐变率,IAA0.1mg/L时效果最好。处理6的诱愈率显著高于处理1和7,其余各处理间差异均不显著,9种处理中以处理6的诱愈率最高;处理6的诱芽率显著高于处理1、2、7和9,其余各处理间差异均不显著,9种处理中以处理6的诱芽率最高。过滤灭菌不同浓度组合的IAA和ZT对番茄子叶分化的影响,以IAA0.1mg/L+ZT2.0mg/L的浓度组合为最佳,诱愈率达到100%,诱芽率达到96.7%。

3 结论

3.1 在相同的IAA和ZT浓度组合条件下,过滤灭菌的IAA和ZT对番茄子叶分化的影响作用较高压灭菌的好,诱愈率达到100%,诱芽率达到96.7%。

3.2 过滤灭菌不同浓度的IAA和ZT组合对番茄子叶分化的影响不同,其中以IAA0.1mg/L+ZT2.0mg/L的浓度组合为最佳,诱愈率达到100%,诱芽率达到96.7%。

[参考文献]

[1]常婧.番茄快繁及遗传转化体系的优化研究[D].山西农业大学,2015,(07):26+29.
 [2]杨冬业,张丽珍,徐淑庆.6-BA对番茄外植体诱导分化及再生的影响[J].江苏农业科学,2011,39(03):57-58.
 [3]朱宗文,查丁石,郭世荣,等.~(60)Co-γ辐射对番茄离体子叶再生及不定芽分化的影响[J].上海农业学报,2010,26(03):1-4.