

# 茄子离体培养研究现状

丁建庭

(哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

**摘要:**茄子(*Solanum melongena* L)是重要的蔬菜作物,但易遭受病虫害的侵袭。国内外在茄子组织培养、原生质体培养、花药和小孢子培养、基因转化等方面的研究有长足进步,为茄子培养抗虫病、高产优质新品种提供了新途径。

**关键词:**茄子;组织培养

[中图分类号]TP392

[文献标识码]A

[文章编号]1003-6180(2008)01-0029-02

茄子(*Solanum melongena* L)在欧洲、北美洲、东南亚各国都有栽培,在我国的栽培面积非常大,是我国重要的夏季蔬菜,茄子的营养价值非常高,但易遭受病虫害的侵袭,给茄子的商业性造成极大的损失。常规育种方法在茄子品性改良方面有重要作用,但常规育种有其局限性,如选育年限长、远缘杂交不亲合及种质资源匮乏等问题。近年来发展起来的组织培养、原生质体培养、花粉和小孢子培养、基因转化等方面的组织培养技术,为茄子选育抗虫病、高产优质的新品种开创了新途径。

## 1 组织培养

1969年, Yamada等通过合子胚诱导产生愈伤组织,获得了再生植株。在此之后,茄子各器官几乎都有组织培养和植株再生的研究。从幼苗外植体器官如茎、叶、叶柄、子叶、根、下胚轴等获取再生植株是茄子离体培养研究最多的领域。但不同外植体、不同基因型、不同外界条件的愈伤组织的再生频率和再生途径有很大差异。

Sharma和Ragam对同种植株不同组织的诱导频率进行了比较,认为子叶和真叶易形成体细胞胚,而下胚轴易形成不定芽。在同一下胚轴外植体上,其器官发生能力存在一个有顶向基的梯度,芽诱导的数量从下胚轴基部向顶部递减。影响不定芽和体细胞形成频率最大的是基因型,分别高达57.4%和71.8%。Gledie等对7个茄子品种的实验表明,体细胞胚的诱导频率为5.6%~26.2%。因此,选用合适的基因型材料和外植体部位是建立茄子高效离体再生系统的重要因素。

除基因型和外植体部位外,外源激素和外界温度对茄子离体培养具有一定影响。Matsuoka和Hirata<sup>[1]</sup>发现, NAA诱导体细胞发生,这种诱导作用受到细胞分裂素的抑制,而器官发生则受到细胞分裂素的刺激而提高诱导频率。赵富宽<sup>[2]</sup>等

以西安绿茄为材料,测定了2,4-D与KT配比对叶肉愈伤组织诱导的关系。结果显示,当2,4-D为0.3 mg/L, KT为1.0 mg/L时,培养基对叶肉愈伤组织的诱导率最高(53.6%)。他们还分析了低温胁迫对茄子叶片离体培养的影响,以5~6℃和10~11℃分别进行低温处理,均获得了愈伤组织,在这两个低温条件下产生的愈伤组织的低温伤害率均低于常温培养产生的愈伤组织。由此,我们可以利用茄子离体培养过程产生的无性变异加以低温选择,增强植物对低温的抗逆性。光照、糖、渗透压等对茄子离体培养也有很大影响。

## 2 花药和小孢子培养

通过对花药和小孢子培养可以获得单倍体植株,缩短获得纯系的时间,对选育有利品种具有重要意义。1975年,茄子花药的离体培养就已获得单倍体植株,技术较为成熟。2000年,程继鸿摸索出弱光胁迫下茄子花药离体培养再生条件,获得了再生植株。小孢子离体培养也成功获得了单倍体植株,和花药相比有排除母体干扰的优越性,但诱导率很低,影响了小孢子离体培养的实践应用。

## 3 原生质体培养

原生质体培养是体细胞融合的基础,是进行遗传操作的理想受体,通过原生质体融合进而实现了体细胞杂交可以克服各种杂交不亲和的问题。自1981年Saxena等培养叶肉原生质体获得再生植株以来,这方面的研究开展很多。原生质体的来源和它的生长条件对原生质体的获得率、活力恢复有重要意义。目前,已从叶肉、茎、叶柄、细胞悬浮培养物分离得到原生质体。多数情况下,叶肉组织是首选材料,它的原生质较易获得。Gledie用叶片离体培养得到胚性愈伤组织的悬浮培养物分离原生质体,获得再生植株。Saxena等报

道,相同激素浓度条件下,不同光照对芽稍进行处理,原生质体获得率有很大不同.分化培养基中激素的浓度和种类,对芽的形成也有明显影响.分离得到的原生质体的成苗方式有两种,胚状体途径和愈伤组织途径.目前,茄子大都经愈伤组织成苗.也有经胚状体成苗的报道<sup>[3]</sup>,但成苗率较低.

## 4 基因转化

把外源基因稳定的导入植物是现代植物育种的一种重要手段.农杆菌介导转化法是茄子转基因的常用方法<sup>[4]</sup>.1988年,Guir和Sink用农杆菌转染茄子外植体,首次获得愈伤组织. Rotino和Gleddie等用根癌农杆菌转染获得了卡那抗性植

株,且具有稳定的遗传性.具有经济价值的转基因研究近年来成为研究热门.迄今为止,已在抗病、抗逆、未受精单性果实培育等方面取得了很大进展<sup>[5]</sup>.

## 5 展望

茄子是一种重要的蔬菜作物,但易遭受病虫害的侵袭,化学药剂虽能保护作物,但污染环境,危害人体健康,因此,我们需要新的育种方式.随着茄子离体培养技术的不断成熟,应用各种选择压进行诱变并筛选抗逆、抗病虫等变异系的前景十分可观.

### 参考文献

- [1] Matsuoka H, Hinata K. NAA-induced organogenesis and embryo-genesis in hypocotyl callus of *Solanum melongena* L[J]. *Exp Bot*, 1979, 30, 363-370.
- [2] 赵富宽,高遐虹,程继鸿.激素与低温胁迫在茄子叶片组织培养中的效应[J].北京农学院学报,2001(2):29-30.
- [3] Gleddie S. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension derived protoplasts of *Solanum melongena* (eggplant) [J]. *Can. J. Bot*, 1986, 64, 355-361.
- [4] 金丹丹.茄子组织培养与基因工程研究进展[J].分子植物育种,2004,2(6):861-866.
- [5] 姚春娜,孔英珍,王亚馥.茄子生物技术研究进展[J].生命科学,2002,14(4):245-247.

编辑:琳莉

# 根癌农杆菌介导的水稻遗传转化

刘永巍<sup>1</sup>,田红刚<sup>1</sup>,李玉华<sup>2</sup>,孟昭河<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农垦科学院水稻研究所,黑龙江 佳木斯 154025;2. 黑龙江省农科学院克山马铃薯研究所,黑龙江 克山 161606)

**摘要:**以梗稻、空育 131、垦鉴稻 7 号成熟胚、幼胚诱导的愈伤组织为材料,将反义蜡质基因导入受体材料.经两次抗性筛选后,转入分化培养基中分化培养后获得转基因小苗.成熟胚和幼胚的转化效果比较,幼胚优于成熟胚.将转化植株进行 PCR 鉴定,证明外源目的基因已经整合到植株中.

**关键词:**水稻;根癌农杆菌;反义蜡质基因;遗传转化

[中图分类号]S330.25

[文献标识码]A

[文章编号]1003-6180 (2008) 01-0030-03

水稻是重要的粮食作物,全世界约有三分之一以上的人口以稻米为主食,因此,提高水稻产量、改良稻米品质关系到人类的发展和健康.近年来,应用基因工程技术导入外源有利基因已创造出一批抗病、抗虫、抗逆的水稻新品种、新品系.本实验采用根癌农杆菌介导的遗传转化方法,将反义编码 Waxy(蜡质基因)片段基因导入水稻中.通过成熟胚和幼胚转化效果的比较,以期获得转化的最佳受体.

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

水稻 梗稻 (*Oryza sativa* L. Sub.

*Japonica*)、空育 131、垦鉴稻 7 号.农杆菌 EHA105 菌种、P13W4 质粒由上海植物生理研究所遗传因子研究组构建并提供,含有蜡质基因启动子、蜡质基因反义片段和 GUS 基因.

### 1.2 培养基

**外植体培养基** 培养基中均加入水水解酪蛋白 0.5 g/L,蔗糖 30 g/L,葡萄糖 10 g/L,琼脂粉 8 g/L.

①愈伤组织诱导培养基:N6+2,4-D 2 mg/L (单位下同)+KT 0.5 +NAA 0.5 pH=5.8

②共培养培养基:N6+2,4-D 2 +乙酰丁香酮 100 μmol/L pH=5.2

③筛选培养基:N6+2,4-D 2 +KT 0.5 +