

# 番茄种间杂种离体培养及 F<sub>1</sub>再生株的分析鉴定

吴鹤鸣 陆维忠 余建明 周邗扬

(江苏省农业科学院农业生物遗传生理研究所)

徐鹤林 龙明生 余文贵 陆春贵

(江苏省农业科学院蔬菜研究所)

## 提 要

本文报道了不同栽培番茄与秘鲁番茄 (*Lycopersicon peruvianum*) PI 128657中8号株系进行种间杂交,以授粉后25~30天的未成熟种子进行离体培养,均成功地获得大量的杂种株。诱导培养基为MS培养基附加2,4-D 2mg/l + 2ip 1mg/l + 椰乳100ml/l;分化培养基为MS培养基附加2mg/l玉米素;生根培养基为MS培养基附加mg/l IBA。并对F<sub>1</sub>代再生株形态特性、细胞学、同工酶和抗性等进行观察和分析。

**关键词** 番茄; 种间杂种; 离体培养

野生型秘鲁番茄 (*L. peruvianum*) 能抗多种病害〔2、4、5〕,是番茄抗病育种的主要抗源。很早以来,各国利用野生型番茄与栽培番茄 (*L. esculentum*) 进行种间杂交,期望能选育出抗病、优质、丰产的新品种。但由于种间杂交的不亲和性,除了出现杂种胚败育外,还出现杂种不稔现象〔1、5、7、8〕。作者曾报道了栽培番茄‘北京早红’与秘鲁番茄PI128657中8号株系杂交,通过未成熟种子离体培养获得开花结果结实发芽力正常的杂种株〔3〕。本文进一步证实用不同番茄栽培种与秘鲁番茄PI128657中8号株系杂交后离体培养,均能获得杂种株的有效途径,并对其F<sub>1</sub>代再生株的习性进行观察。

## 材 料 与 方 法

采用抗“TMV”兼抗“CMV”病毒病的秘鲁番茄PI128657中8号株系为父本,农业性状优良的‘北京早红’、‘早粉2号’、‘524’、‘402’、‘皮特洛夫’为母本进行种间杂交,以及以‘364’栽培番茄为母本与F<sub>1</sub>代(北京早红×秘鲁番茄)杂交后进行离体培养。

MS为基本培养基,诱导愈伤组织培养基附加2,4-D 2mg/l; 2ip 1mg/l; 椰子乳100ml/l; 分化芽丛培养基MS附加2mg/l Zt; 生根培养基MS附加2mg/l IBA; 培养基

本文于1988年12月收到,1990年1月收到修改稿。

的pH调至5.8, 高压灭菌消毒。

授粉后25~30天的完整果实, 用75%酒精表面消毒15分钟, 然后用无菌水冲洗4次。在无菌条件下, 解剖出果内未成熟种子接种在诱导培养基上。培养温度为 $25 \pm 2$  °C, 用日光灯每天照明14h, 光强约2000Lx。移栽前一天, 将试管塞打开, 灌薄层水, 移栽时将根上粘着的培养基洗净, 移入消毒处理土壤的小钵内, 保湿一周, 成活率达90%以上。

再生株生长期进行形态特性观察; 用醋酸洋红或苏木精染色观察花粉母细胞减数分裂期的染色体数; 用醋酸洋红/甘油混合液(1:1)检查花粉粒活力<sup>[6]</sup>。用聚丙烯酰胺凝胶电泳测定过氧化物同功酶。用“TMVO”株系和1株系、1·2株系及CMV厥叶株系和强株系进行人工苗期接种, 进行抗病性鉴定。

## 结果与分析

### 一、种间杂种再生株的诱导

1. 愈伤组织的诱导 供试的栽培番茄与秘鲁番茄杂交后, 取授粉后25~30天的未成熟种子为外植体, 培养在诱导培养基上。经30~40天的培养, 种子表面出现肿胀, 继而局部出现愈伤组织, 其出愈率见表1。大多数愈伤组织结构紧密或呈颗粒状, 在继代培养中不再生长, 逐渐枯萎而死。仅有较疏松的愈伤组织(图版I—1)在相同的新鲜培养基上继代培养1~2次后, 才能分化出绿色芽点。

表1 栽培番茄×秘鲁番茄离体培养的出愈率

Table 1 The frequency of callus induction of *Lycopersico esculentum* × *L. peruvianum*

品种组合 Varietal combination	接种数 No. of inoculated seed	出愈数 No. of callus	出愈率 Frequency of callus induction %
北京早红×秘鲁 Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i>	6142	3212	52.31
早粉2号×秘鲁 Zaofen 2 × <i>L. peruvianum</i>	4546	2519	55.41
402×秘鲁 402 × <i>L. peruvianum</i>	2693	1356	50.35
524×秘鲁 524 × <i>L. peruvianum</i>	1940	998	51.60
皮特洛夫×秘鲁 Pitelufu × <i>L. peruvianum</i>	3352	1822	54.33
364×F <sub>1</sub> (北京早红×秘鲁) 364×F <sub>1</sub> (Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i> )	1767	1012	57.27

2. 芽丛的分化 当愈伤组织表面出现绿色芽点时, 立即转入分化培养基, 经20~30天的光培养, 出现绿色芽丛(图版I—2), 其绿苗分化率见表2。每块愈伤组织可产生2~7个不定芽(图版I—3), 经2~3次不定芽的增殖培养, 然后转移到生根培养基。

3. 根的诱导 不定芽达2~3cm高时(图版I—4), 将其切下, 转入生根培养基, 7天后均能开始生根; 当幼苗长到4~5片真叶, 根长达3~4cm时, 将再生

表2 栽培番茄×秘鲁番茄离体培养的绿苗分化率

Table 2 The frequency of green bud formation of *L. esculentum* × *L. peruvianum*

品种组合 Varietal combination	出愈数 No. of callus	分化芽愈伤数 No. of callus with green bud	分化率 Frequency of green bud formation(%)
北京早红×秘鲁 Beijing Zaohong× <i>L. peruvianum</i>	3212	145	4.51
早粉2号×秘鲁 Zaofen2× <i>L. peruvianum</i>	2519	108	4.28
525×秘鲁 524× <i>L. peruvianum</i>	998	20	2.9
402×秘鲁 402× <i>L. peruvianum</i>	1356	48	3.5
皮特洛夫×秘鲁 Pitelufu × <i>L. peruvianum</i>	1822	23	1.2
364×F <sub>1</sub> (北京早红×鲁秘) 364×F <sub>1</sub> (Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i> )	1012	19	1.86

株移到装有消毒土壤的钵中, 移栽后保湿一周, 成活率达90%以上, 共获得4530多株苗。

## 二、F<sub>1</sub>代再生株的分析

1. 形态比较 F<sub>1</sub>代的叶形, 524×秘鲁的叶形倾向于秘鲁番茄, 叶片小, 叶尖较尖; 其它组合的叶形表现为双亲性状的中间型, 叶片薄而大, 色浅, 叶尖偏圆, 但植株均高, 茎细呈蔓生型, 表现野生性状。栽培番茄与秘鲁番茄的花瓣和萼片的形状和大小有明显差异。而F<sub>1</sub>代的花瓣和萼片介于两亲本之间(图版I—6、7)。栽培番茄的柱头不外露, 而秘鲁番茄的柱头是外露的, F<sub>1</sub>代的柱头略微外露。4530株F<sub>1</sub>代植株中, 仅有部分F<sub>1</sub>代植株能开花结果结籽(图版II—8), 发芽正常, 多数只开花不结果, 表现出自交不亲和性。F<sub>1</sub>代果皮颜色均显示出中间性状。364×F<sub>1</sub>(北京早红×秘鲁)的果实明显大于其它组合, 不仅果色变深, 而且果形也发生变异(图版II—9、表3)。

2. 细胞学分析 两亲本植株的花粉母细胞减数分裂终变期分析证明形成有规则的12条二价体。但在栽培番茄×秘鲁番茄的各组合所产生的F<sub>1</sub>代中, 据花粉母细胞减数分裂终变期和中期I的观察, 有部分F<sub>1</sub>代植株是二倍体(2n=24)(图版II—10)。而有少部分F<sub>1</sub>代植株为四倍体(2n=48), 这种四倍体植株在减数分裂终变期出现不定的多价体类型, 从不定的单价体到四价体等, 往往几个四价体是链形或环形(图版II—11)。这种四倍体植株, 一般茎粗, 叶片厚、偏圆、叶色深、有皱褶。在二倍体的F<sub>1</sub>代中检查其花粉母细胞减数分裂中期I时, 也观察到染色体落后现象。但各组合的F<sub>1</sub>代之间有差异(表4)。四分体也不规则, 有二分体、三分体、五分体等, 且观察到微核, 以及在同一视野内比原四分体大几倍的巨型四分体。当花粉粒成熟时, 出现大小不一的花粉粒。

在F<sub>1</sub>代植株花粉成熟时检查各组合的花粉粒的活力。从每个植株上随机取3朵花, 每个组合取10棵植株。在醋酸洋红/甘油混合液(1:1)中染色, 花粉粒圆而着色深的认为是有生活力的<sup>[6]</sup>, 在显微镜下计数统计(表5)。

表3 F<sub>1</sub>代结果、结籽的比例和果重、果皮颜色\*Table 3 The proportion of plants with fruit, seed and fruit weight, pericarp colour in regenerated plants (F<sub>1</sub>)

品种组合 Varital combination	F <sub>1</sub> 代植株数 No. of plant(F <sub>1</sub> )	结果结籽植株数 No. of plants with fruit and seed	百分数 Percentage (%)	果重 Fruit weight(g)	果皮颜色 Colour of fruit coat
秘鲁番茄 <i>L. peruvianum</i>					浅绿色 Light green
北京早红 Beijing Zaohong					红色 Red
早粉2号 Zaofen 2					粉红色 Light red
524					红色 Red
402					红色 Red
364					红色 Red
北京早红×秘鲁 Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i>	2238	656	29.3	4.5	淡黄色 Light yellow
早粉2号×秘鲁 Zaofen 2 × <i>L.</i> <i>peruvianum</i>	1183	92	7.8	4.16	黄色 Yellow
524×秘鲁 524 × <i>L.</i> <i>peruvianum</i>	599	120	20.03	5.6	淡黄色 Light yellow
402×秘鲁 402 × <i>L.</i> <i>peruvianum</i>	436	95	21.79	8.74	淡黄色 Light yellow
364×F <sub>1</sub> (北早×秘鲁) 364 × F <sub>1</sub> (Bei jing Zaohong × <i>L. peruvianum</i> )	112	36	32.14	10.98	深黄色 Deep yellow
		果实内无籽			

注: 果重为5个果实平均重, 果色为成熟时果色。

Note: The fruit-weight is average weight of 5 fruits. The pericarp colour is observed at mature.

3. F<sub>1</sub>代的同功酶分析 过氧化物酶同功酶谱分析表明, 秘鲁番茄PI128657中8号株系的酶谱为POX 1a, 2a, 3a, 4a, 5a, POX 1b, 2b, 3b, 4b和POX 1c, 2c; 而北京早红、524、402、早粉2号等栽培番茄的酶谱可分为POX 2a, 3a, 4a, 5a, POX 1b, 2b, 3b, 4b和POX 1c, 2c。父本具有POX 1a谱带, 而母本没有, 但母本的POX 4b比父本明显加强。而在各个组合的F<sub>1</sub>中, 都具有父母本的谱带(图版I—12)。

4. F<sub>1</sub>代的抗性鉴定 在北京早红×秘鲁番茄的F<sub>1</sub>代中, 用弱侵染力的TMV0株系和1株系以及强侵染力的TMV 1·2株系接种100株, 均表现抗性。而北京早红则严重感病; 同时, 在300株F<sub>2</sub>代中有7.5%植株高抗CMV厥叶株系, 说明有少数植株既高抗TMV、又高抗CMV株系。在早粉2号×秘鲁、524×秘鲁、402×秘鲁等各组合中, 其各F<sub>1</sub>代用弱侵染力的TMV0株系和1株系和强侵染力的TMV 1·2株系以及CMV厥叶株系接种300株均抗TMV, 其中有部分F<sub>1</sub>代既抗TMV, 又抗CMV。

表 4 各组合F<sub>1</sub>代花粉母细胞减数分裂中期 I 时落后染色体的比例Table 4 The proportion of lagging chromosome of F<sub>1</sub> pollen mother cell meiosis at metaphase in varied combinations.

品种组合 Varietal combination	观察细胞数 No. of cell observed	染色体落后细胞数 No. of chromosome lag cells	染色体落后百分数 Percentage of chromosome lag
北京早红 × 秘鲁 Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i>	482	23	4.8
早粉2号 × 秘鲁 Zaofen2 × <i>L. peruvianum</i>	300	26	8.6
402 × 秘鲁 402 × <i>L. peruvianum</i>	300	32	10.6
524 × 秘鲁 524 × <i>L. peruvianum</i>	300	22	7.3
364 × F <sub>1</sub> (北早 × 秘鲁) 364 × F <sub>1</sub> (Beijing Zaohong × <i>L. peruvianum</i> )	300	38	12.7

表 5 各组合F<sub>1</sub>代成熟花粉粒的生活力Table 5 The vitality of F<sub>1</sub> mature pollen in varied combinations

品种组合 Varietal combination	观察花粉数 No. of pollen observed	有生活力的花粉数 No. of vital pollen	有生活力花粉百分率 Percentage of vital pollen
秘鲁番茄 <i>L. peruvianum</i>	4288	3448	80.41
北京早红 Beijing zaohong	4136	3998	96.91
早粉2号 Zaofen 2	3840	3575	96.24
402	5622	5364	95.41
524	4074	3916	96.12
北京早红 × 秘鲁 Beijingzaohong × <i>L. peruvianum</i>	3625	2441	67.33
早粉2号 × 秘鲁 Zaofen2 × <i>L. peruvianum</i>	5115	3151	61.60
524 × 秘鲁 524 × <i>L. peruvianum</i>	5319	3337	62.73
402 × 秘鲁 402 × <i>L. peruvianum</i>	3518	2235	63.53
364 × F <sub>1</sub> (北早 × 秘鲁) 364 × F <sub>1</sub> (Beijing zaohong × <i>L. peruvianum</i> )	3826	1985	51.88

## 讨 论

从试验中看到不同栽培番茄与秘鲁番茄的种间杂交, 虽然存在着严重的不亲和性, 但通过离体培养, 一般都可获得一定数量的杂种株, 由于株间的“杂交”, 使种间杂种

的自交不亲和性得到克服,从而顺利获得一定数量的杂种自交种子和后代。

观察各组合 $F_1$ 代的花粉母细胞减数分裂行为,它们的染色体数有 $2n=24$ ,但也都出现四倍体植株。其分裂行为总的趋势是一致的,但存在着一定的差异。各组合都以秘鲁番茄为同一父本进行杂交,在相同条件下离体培养,其杂种 $F_1$ 代能育程度有明显差异,从这里也可看出各组合核质互作程度,以及染色体配对水平差异,造成这种差异,虽然不是秘鲁番茄引起的,可能是由于一些母本染色体促进部分同源配对,而产生母本效应的反映。

### 参 考 文 献

- [1] 吴定华、李鹏飞, 1984, 番茄种间杂交结果初报。《园艺学报》3(4): 369~376。  
 [2] 吴定华, 1984, 番茄种间杂交的探讨。《园艺学报》11(1): 35~40。  
 [3] 吴鹤鸣、陆维忠、余建明、周邗扬、徐鹤林、龙明生、余文贵、陆春贵, 1987, 栽培番茄×秘鲁番茄杂种再生株的诱导和鉴定。《江苏农业学报》3(4): 7~13。  
 [4] 陈祖鉴、母锡金、孙安慈、钱南芬、郭仲琛译, 1983, 维管植物实验胚胎发生。科学出版社, 198~204  
 [5] Barbano, P.P. and L.D. Topoleski, 1984, Postfertilization hybrid seed failure in *Lycopersicon esculentum* × *L. peruvianum* ovules. J. Amer. Soc. Hort. Sci, 109(1) 95~100.  
 [6] Kinsara, A.S.N. Patnaik, E.C. Cocking and Porver, J.B., 1986, Somatic hybrid plant of *Lycopersicon esculentum* Mill and *Lycopersicon peruvianum* Mill. J. Plant Physiol. Vol 125 pp225~234.  
 [7] Smith, P.G., 1944, Embryo culture of a tomato species hybrid. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci 44: 413~416.  
 [8] Thomas, B.R. and D. Pratt, 1981, Efficient hybridization between *Lycopersicon esculentum* and *L. Peruvianum* via embryo callus. Theory Appl. Genet. 59(4): 215~219.

### TISSUE CULTURE OF TOMATO INTERSPECIFIC HYBRID AND IDENTIFICATION OF THESE REGENERATED PLANTS ( $F_1$ )

Wu Heming, Lu Weizhong, She Jianming, and Zhou Hanyang  
(Institute of Agrobiological Genetics and Physiology, Jiangsu  
Academy of Agricultural Sciences)

Xu Helin, Long Mingsheng, Yu Wengui, and Lu Chungui  
(Institute of Vegetable Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences)

#### Abstract

The interspecific cross between *Lycopersicon esculentum* (several cultivars) and *L. peruvianum* (strain 8 of variety PI 128657) was

reported in this paper. The immature hybrid seeds of 25~30 days after pollination were cultured *in vitro*. The hybrid plants were all successful obtained.

Using MS medium as the basis medium, 2,4-D 2ip and coconut milk were applied for callus formation and bud differentiation. Adventitious buds were multiplied on MS medium containing ZT. MS medium with IBA was used as the rooting medium.

Morphological, cytological, resistant observation and electrophoretic analysis of isozyme peroxidase were made in F<sub>1</sub> regenerated plants.

**Key words** Tomato; Interspecific hybrid; Tissue culture; Regenerated plant

---

## 深切悼念陈世儒先生

我国著名的蔬菜遗传育种学家, 中国园艺学会副理事长、《园艺学报》责任编辑、农业部蔬菜专家顾问组成员、西南农业大学园艺系教授陈世儒先生, 因病医治无效, 于1990年9月8日在北京逝世, 终年66岁。

陈世儒先生毕生致力于蔬菜遗传育种教学和科研工作, 治学严谨、辛勤耕耘、待人诚恳、平易近人, 为我国蔬菜事业的发展做出了杰出的贡献, 受到广大师生和科技人员的尊重和爱戴。陈世儒先生的逝世, 是我国蔬菜教育和科技事业的一大损失。我们怀着沉痛的心情表示深切悼念。

中国园艺学会

1990年9月

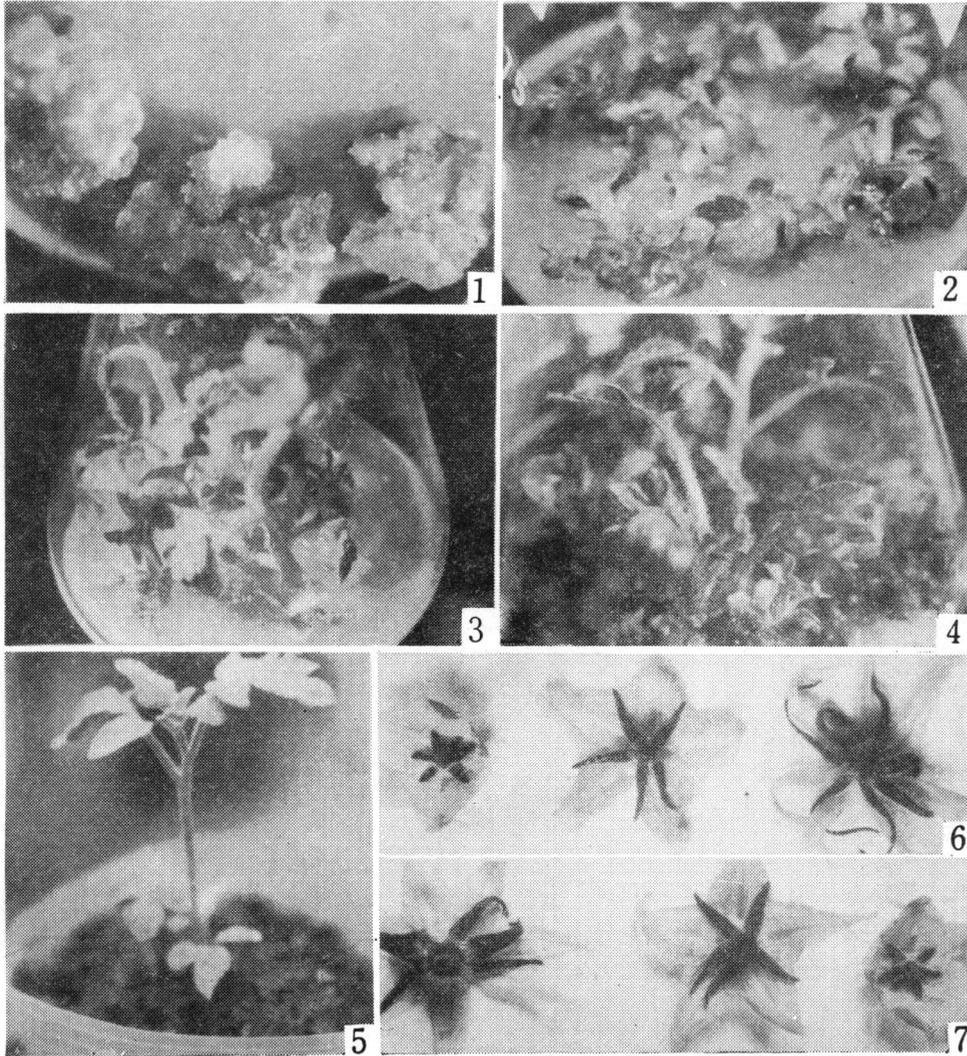
---

## 欢迎订阅1991年科技期刊

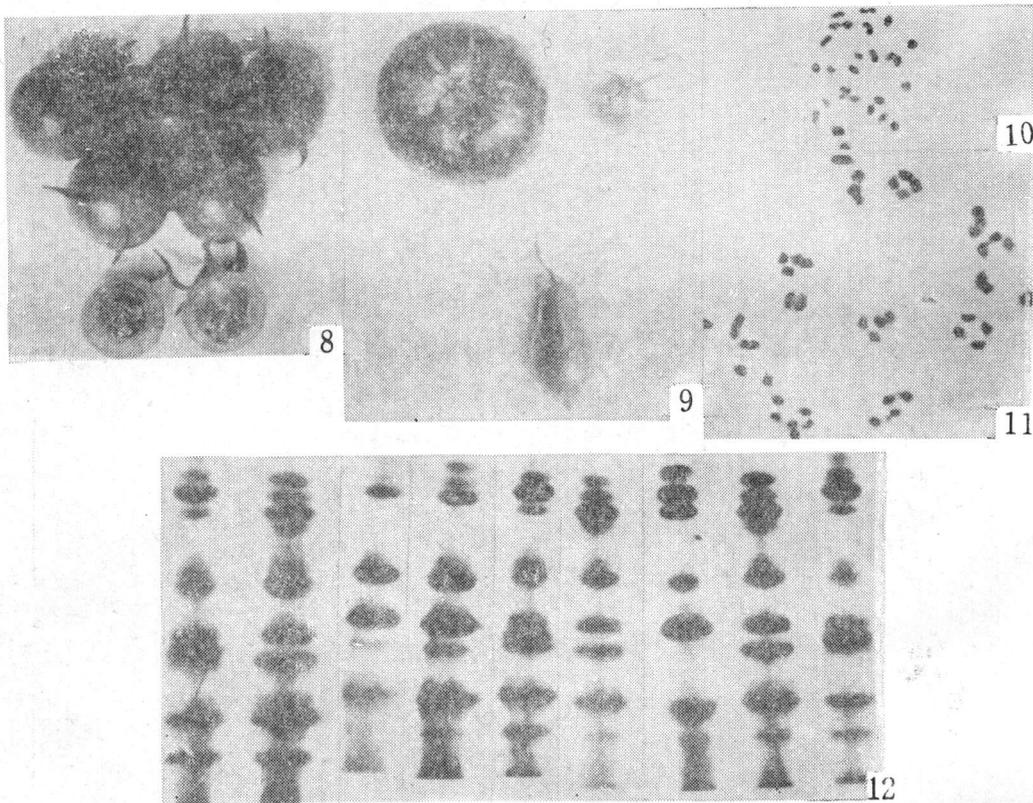
《中国农业科学》是中国农业科学院主办的综合性农牧业科学学术刊物。主要报道我国农牧业科学在基础理和应用技术研究方面的学术论文, 重要科研成果的专题报告, 各学科研究的新进展和综述等。本刊为双月刊, 国内每册定价3.20, 全年19.20元。全国各地邮局办理订阅, 代号: 2—138。国外发行由中国国际图书贸易总公司承办, 代号: BM43元。有漏订者, 可到北京西郊白石桥路30号《中国农业科学》编辑部补购。邮政编码100081。

《长江蔬菜》是由农业部蔬菜办公室会同长江流域上海、武汉重庆等13个省市蔬菜主管部门联合主办。本刊为双月刊, 每期定价1元, 全年6元。公开发行, 全国各地邮局订阅, 邮发代号38—129。编辑部地址: 湖北汉口万松园路15号; 邮政编码, 430022。

《落叶果树》为季刊, 每期定价1.35元(含包装邮寄费0.3元。), 全年4期共6.6元。订阅处山东: 省泰安市山东果树所《落叶果树》编辑部、邮政编码271000。



1. 402×秘鲁的愈伤组织。 2. 524×秘鲁的愈伤组织产生绿色芽丛 3. 4. 早粉2号×秘鲁的愈伤组织产生不定芽 5. 北京早红×秘鲁的再生株 6. 从右至左 秘鲁、F<sub>1</sub>代、524的花瓣萼片 7. 从右至左 早粉2号、F<sub>1</sub>代、秘鲁的花瓣和萼片  
 1. Calli of 402 × *L. peruvianum* 2. Green buds from callus of 524 × *L. peruvianum*  
 3, 4. Adventitious buds from callus of Zaofem 2 × *L. peruvianum* 5. Regenerated plant of Beijing Zaohong × *L. peruvianum* 6. Petals and sepals (from right to left; *L. peruvianum* F<sub>1</sub>, 524) 7. Petals and sepals (from right to left; Zaofem 2, F<sub>1</sub>, *L. peruvianum*)



8. 524×秘鲁的F<sub>1</sub>代再生株结果结籽 9. 上部右364番茄果实, 左F<sub>1</sub>(北京早红×秘鲁)再生株果实, F是364×F<sub>1</sub>(北京早红×秘鲁)代再生株的果实 10. F<sub>1</sub>代再生株二倍体染色体数 11. F<sub>1</sub>代再生株四倍体染色体数 12. F<sub>1</sub>代再生株过氧化物酶谱带(从左至右, 秘鲁、北京早红、F<sub>1</sub>(北早×秘鲁)、524、F<sub>1</sub>(524×秘鲁)、早粉2号、F<sub>1</sub>(早粉×秘鲁)、402、F<sub>1</sub>(402×秘鲁))

8. Fruits and seeds of regenerated plant (F<sub>1</sub>) of 524 × *L. peruvianum* 9. Fruits of regenerated plant (right: 364; left: F<sub>1</sub> of Beijing Zaohong × *L. peruvianum*; down: 364 × F<sub>1</sub> of Beijing Zaohong × *L. peruvianum*). 10. Chromosome numbers (2n=24) of Regenerated plant (F<sub>1</sub>). 11. Chromosome numbers (4n=48) of regenerated plant(F<sub>1</sub>). 12. The zymogram patterns of isoperoxidase (from left to right: *L. peruvianum*, Beijing Zaohong, F<sub>1</sub> of Beijing Zaohong × *L. peruvianum*, 524, F<sub>1</sub> of 524 × *L. peruvianum*, Zaofen 2, F<sub>1</sub> of Zaofen 2 × *L. peruvianum*, 402, F<sub>1</sub> of 402 × *L. peruvianum*)