

彩色辣椒子叶愈伤组织诱导影响因素的研究

李永文, 李 红

(河北省保定职业技术学院农林与生物工程系, 071051)

摘 要: 选用 5 个品种的彩色辣椒品种, 研究了不同激素组合、培养方式、不同子叶生长发育时期对愈伤组织诱导和形成的影响, 以及不定芽分化情况。结果表明: 在 MS 固体培养基中添加 6-BA 5.0mg/L 时愈伤组织诱导频率明显高于其它激素组合; 进一步试验表明以半固体培养方式(琼脂含量为 2.5g/L)和无菌苗子叶处于初展期时进行愈伤组织诱导其诱导率明显提高, 且质量好; 将所获得的愈伤组织进一步培养不定芽分化率高达 100%。

关键词: 彩色辣椒; 子叶; 愈伤组织; 培养基

中图分类号: S 641.303.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0205-02

辣椒是茄科辣椒属一年生或多年生草本植物。学名 *Capsicum Annuum*. L. 起源于中南美洲、热带地区的墨西哥、秘鲁等地。在我国各地普遍栽培, 具有栽培面积大, 为夏秋季节的主要蔬菜之一^[1]。彩色辣椒(*Capsicum Annuum*. Var. *Grossum*. Bailey)与普通的青椒相比, 具有色彩艳丽, 品质脆甜的特点, 对于丰富蔬菜的花色品种有重要作用。目前彩色辣椒组织培养存在的主要问题是愈伤组织诱导率低、分化能力差以及不定芽伸长困难等, 严重影响了辣椒新品种的培育、遗传转化和快速繁殖技术应用等方面。研究选用 5 个彩色辣椒品种, 研究探索适合彩色辣椒子叶诱导条件, 提高愈伤组织诱导率和愈伤组织质量, 为进一步开展遗传转化、创新种质资源和选育新品种和建立高效繁殖体系奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

试验采用诺华产黄欧宝、桔西亚、白公主和国产黄椒和紫椒品种。将种子用纱布包裹后用 0.1% 的氢氧化钠浸泡 5min, 用流动水冲洗 30min 后, 用 70% 的酒精浸泡 1min, 再用 10% 的次氯酸钠溶液处理 15min, 无菌水冲洗 5~6 次, 用消毒后的无菌滤纸吸干种子表面的水分, 接种于诱导种子萌发的培养基上。

1.2 培养基

以 MS 培养基为基本培养基(Murashige 等, 1962), 并根据试验目的的需要附加不同浓度配比的 6-BA、NAA, 各种培养基均附加 30.0 g/L 蔗糖, 琼脂浓度因试验设计要求分别为 7.0g/L、2.5g/L 和 0 g/L, pH 5.8。

第一作者简介: 李永文(1964), 男, 副教授, 主要从事植物及植物生理、植物组织培养等课程的教学与研究工作, E-mail: lyw1963@163.com。
收稿日期: 2007-02-12

按常规方法配制培养基分装后于 121℃、压力为 1.1kg/cm² 的条件下灭菌 18min。

1.3 培养条件

光照度为 2 000Lx, 光照时间 12h/d, 温度为 25±1℃。

1.4 培养方法

首先将消毒后的彩色辣椒种子接种到诱导种子萌发的培养基上促其萌发, 彩色辣椒种子一般 2~3d 即可开始萌发, 当子叶展开后, 就可将子叶切下, 按原生长方向接种于各种培养基上培养进行愈伤组织的诱导。研究子叶发育时期、培养方式和不同激素组合等对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导和不定芽分化的影响, 以及继代和生根培养基等。以上试验均重复 3 次, 每次接种 30~50 个子叶外植体, 每瓶接种 2 个子叶外植体。

1.5 统计分析

在彩色辣椒子叶培养期间分别统计不同试验条件下的愈伤组织诱导率, 通过观察其生长和不定芽分化情况, 分析各种处理中最佳培养条件。愈伤组织诱导率=产生(愈伤组织外植体数/接种外植体数)×100%。以下均为诺华产黄欧宝试验结果。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

表 1 不同激素组合对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

培养基 (mg·L ⁻¹)	愈伤组织诱导率(%)		
	14d	21d	28d
①MS+6-BA 0.1+NAA 0.02	0.6	5.1	11.2
②MS+6-BA 1.0+NAA 0.2	2.3	11.6	15.3
③MS+6-BA 5.0	9.9	32.4	44.2

由表 1 可知经过不同激素组合试验表明, 采用固体培养方式以培养基③最为适宜彩色辣椒愈伤组织诱导和形成, 且具有较高的诱导频率。进一步的研究表明所

选材料的彩色辣椒品种在愈伤组织诱导和形成时虽有一些差异,但在培养基③均表现出近似的规律,获得了较高的愈伤组织诱导率。因此在以后的试验过程中均采用培养基③进行进一步的试验。

2.2 不同培养方式对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

表 2 不同培养方式对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

培养方式(琼脂含量 g/L)	愈伤组织诱导率(%)			
	7d	14d	21d	28d
① 固体培养(7.0)	0	9.9	32.4	44.2
② 半固体培养(2.5)	8.9	49.9	81.1	100
③ 液体静置培养	0	8.9	21.4	29.6

由表 2 可知经过不同培养方式试验表明,培养方式对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导和形成影响较大,在半固体培养方式下愈伤组织出现早而且诱导率高,所形成的愈伤组织呈现绿色且致密,并且极易分化出不定芽。半固体方式进行彩色辣椒子叶愈伤组织诱导效果好,主要是因为不仅解决了固体培养外植体吸收营养较难的问题,还解决了液体静置培养方式植物材料氧气供应问题,再加上植物激素的有效刺激,更加有利于愈伤组织的诱导和形成。同时对其它品种的彩色辣椒进行的试验得到了近似的结果。

2.3 不同叶龄对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

表 3 不同日龄对彩色辣椒子叶愈伤组织诱导的影响

子叶生长日龄	愈伤组织诱导率(%)			
	7d	14d	21d	28d
① 初展子叶	8.9	49.9	81.1	100
② 20d 子叶	0	19.8	38.6	59.3
③ 30d 子叶	0	0	7.8	12.4

由表 3 可知不同子叶叶龄对彩色辣椒子叶愈伤组织的影响较大,试验表明彩色辣椒子叶以初展期效果最好。愈伤组织诱导率随子叶日龄增加而呈现逐渐下降的趋势,愈伤组织不定芽分化能力也随之下降,这可能与子叶初展时期细胞发育时期有关,初期子叶细胞分化程度低容易进行脱分化诱导恢复分裂能力,而当子叶发育后期随营养消耗细胞已经进入到衰老阶段其脱分化能力大幅下降,从而导致脱分化能力下降,这可能是愈伤组织诱导率下降的主要原因。进一步研究表明不同品种的彩色辣椒具有相似的规律。

2.4 不定芽分化和生根培养

根据以上试验结果,子叶外植体采用初展期子叶,培养基采用 MS+6-BA 5.0 mg/L+30.0 g//L 蔗糖+2.5 g/L 琼脂 pH5.8 上进行培养,诱导产生的愈伤组织具有生长速度快,致密,呈现浅绿色,菜花状等特点,随培养时间的延长所接种材料呈现出很强的分化能力,所有材料全部分化出大量不定芽和部分叶状体,少量芽体

可以伸长,但大部分不定芽伸长出现困难。所研究的 5 个彩色辣椒品种均有相似规律。当继代培养基中加入一定浓度 GA₃ 后不定芽伸长困难的情况有所改善。生根培养选取苗高 2cm 左右试管苗,接种于配方为 1/2 MS+NAA 0.5mg/L 的生根培养基上,培养 8~10d 后即可生根,生根率达到 66.3% 以上。生根后的试管苗按照常规移栽方法进行驯化移栽。

3 讨论

辣椒离体培养主要用于遗传转化、培育新品种和快速繁殖等方面。在辣椒外植体中子叶是遗传转化及快速繁殖等的最佳材料。有关辣椒及彩色辣椒子叶离体培养研究均有报道^[2-9]。彩色辣椒子叶再生体系的建立关键:第一步就是提高愈伤组织的诱导率和形成易于分化出不定芽的高质量的愈伤组织。第二步就是要培养出的不定芽能够伸长,以便进一步培养利用。

张金文等^[9]在研究辣椒培养时认为,12~16d 苗龄的子叶外植体分化频率较高,与该试验中彩色辣椒子叶培养选取无菌苗培养的初展子叶的试验结果相类似。在以 MS 为基本培养基,附加 6-BA 5.0mg/L 并且在琼脂含量 2.5g/L 的半固体状态下培养可以获得愈伤组织高频诱导,并且愈伤组织质量高,再进一步培养中极易进行分化出大量不定芽来。而在同样的条件下如若进行固体和液体静置培养以及取材子叶日龄延长等均会大幅降低愈伤组织诱导率,而且所形成的愈伤组织质量不高不利于进一步培养。在对诱导形成的不定芽所做的芽伸长的诱导和生根培养其结果与前人报道一致^[8],在芽伸长培养基中添加一定浓度的 GA₃ 可促进芽伸长,利于试管苗的生根培养。

参考文献:

[1] 山东农业大学. 北方本地蔬菜栽培学各论[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2005, 186-195.
[2] 王玉文, 杨美珠, 潘乃雅, 等. 甜椒的离体再生及基因转化[J]. 植物学报, 1991, 33(10): 78-786.
[3] 曹冬孙, 贾士荣. 青椒子叶培养及植株再生[J]. 园艺学报, 1993, 20(2): 171-175.
[4] 周钟信, 张宏江, 刘艳军, 等. 辣椒子叶离体培养再生植株[J]. 华北农学报, 1994, 9(2): 59-63.
[5] 何晓明, 王鸣, 王命之. 辣椒子叶原生质体培养和植株再生[J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 298-300.
[6] 孙月芳, 陆瑞菊, 黄剑华. 杂种甜椒的快速繁殖(简报)[J]. 植物生理学讯, 2001, 37(3), 215-216.
[7] 余小林, 李乃坚, 黄自然, 等. 辣椒子叶离体培养和植株再生体系建立[J]. 园艺学报, 2000, 27(1): 42-46.
[8] 刘卫东, 崔群香, 夏维东, 等. 彩色辣椒子叶离体培养技术的研究[J]. 扬州大学学报, 2003, 24(1): 63-66.
[9] 张金文, 范兴中, 王莹. 辣椒离体培养及再生体系的研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(9): 1893-1899.