

# 影响辣椒愈伤组织诱导的关键因素分析

高素燕, 李素文, 吕敬刚, 焦定量, 黄亚杰

(天津科润蔬菜研究所, 天津 300384)

**摘要:**以 24 个辣(甜)椒品种为试材,研究了基因型、外植体、激素配比对愈伤组织诱导率的影响。结果表明:不同基因型愈伤组织诱导率差异显著,最高可达 100%,最低为 24%;真叶和茎段均可诱导出愈伤组织,茎段诱导效果好于真叶;以添加 1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA 的 MS 培养基为愈伤组织诱导的最佳培养基。

**关键词:**辣椒;愈伤组织;组织培养

**中图分类号:**S 641.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)07-0099-03

辣椒(*Capsicum annuum* L.)属茄科辣椒属一年生或多年生草本植物,世界各地均有栽培。辣椒组织培养是辣椒优良品种快速繁殖、突变体保存利用及基因工程的基础,特别是近年来,随着基因工程的兴起,通过改造基因来培育辣椒抗病品种越来越受到重视<sup>[1]</sup>,人们能定向地将一些抗病虫害的基因导入辣椒,以便改良辣椒种质资源。采用组织培养可以直接诱变和筛选出具有抗病、抗虫等优良性状的品种,有利于保存辣椒种质资源。

尽管目前国内外已有对辣椒组织培养和再生体系研究的相关报道<sup>[2-3]</sup>,但辣椒组培存在基因型差异大、再生周期长、再生频率低等难题,获得再生苗较难,限制了

组培技术在辣椒育种上的应用,因此,研究辣椒离体组织培养,特别是研究辣椒离体再生的关键影响因素对大量获得再生苗具有现实意义,同时也有助于辣椒单倍体培养、遗传转化等技术的发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为搜集到的 24 个辣(甜)椒品种,类型包括羊角椒、牛角椒、甜椒,熟性有极早熟、早熟、中熟和中晚熟,具体品种见表 1。

### 1.2 试验方法

从成熟辣椒植株上选取幼嫩叶片和茎段以 70%酒精浸泡 30 s,5% NaClO 灭菌 15 min,无菌水冲洗 3~4 次,接种于不含激素的 MS 培养基上。将叶片切成 1 cm×1 cm 的小块,茎段切成 0.5 cm 小段,平铺接种于含 KT、6-BA、NAA 的 MS 培养基(配比浓度见表 2),以不含激素的 MS 培养基为对照,20 d 后统计其愈伤组织

**第一作者简介:**高素燕(1983-),女,硕士,助理研究员,研究方向为辣椒遗传育种。E-mail:gsygsy0321@163.com

**基金项目:**天津市应用基础及前沿技术研究计划重点资助项目(11JCZDJC17500)。

**收稿日期:**2013-11-13

## Effect of Two Different Growth-regulators Combination on Callus Induction of *Amorphophallus*

HU Xuan-ping<sup>1,2</sup>

(1. School of Biological Sciences and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong, Shaanxi 723000; 2. Shaanxi Key Laboratory of Bio-resources, Hanzhong, Shaanxi 723000)

**Abstract:** Taking *Amorphophallus* as material, the effect of the two growth-regulators combination exerted on callus induction from coleoptile explants of *Amorphophallus* were researched. The result showed that the two growth-regulators combination had significant influence on callus induction from coleoptile explants both in static variable of the rate of expanding and callus induction and dynamic ratio of the speed of callus induction ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Taking the comprehensive effect into consideration, the appropriate growth-regulators combination for callus inducing were 6-BA : NAA = 1.0 : 2.0, KT : 2,4-D = 0.5 : 2.0 or KT : 2,4-D = 1.0 : 2.0.

**Key words:** *Amorphophallus*; growth-regulators combination; callus

表 1 供试材料及主要特性

编号	品种名称	主要特性	编号	品种名称	主要特性
1	“东岳”	大牛角,辣,极早熟	13	“长帅”	大羊角、辣、早熟
2	“格美长椒”	大羊角,辣,早熟	14	“欧卡”	甜椒、中熟
3	“中亲 208”	大牛角,辣,中早熟	15	“富贵”	甜椒、早熟
4	“太空神剑”	羊角,中早熟	16	“红宝石”	甜椒、中早熟
5	“8 欧甜椒”	荷兰大果、中熟、方形果	17	“206 甜椒”	早熟
6	“宫崎”	大羊角,辣,极早熟	18	“红英达”	甜椒、中熟
7	“海丰 70”	中早熟、方果	19	“强者”	甜椒、早熟、长方果
8	“巨园 216”	中熟、方果	20	“中椒 107”	甜椒、早熟、方果
9	“中椒 105”	极早熟,方果	21	“丰田甜椒”	极早熟、长方果
10	“巴顿”	甜椒、中晚熟	22	“超大太空”	甜椒、中熟
11	“津椒 10 号”	甜椒、中熟、方形果	23	“环球 201”	甜椒、中晚熟
12	“宝禄”	大羊角、辣、极早熟	24	“丰盛大甜椒”	中晚熟

表 2 激素浓度配比

培养基编号	NAA	6-BA	KT
MS1	0.5	1.0	—
MS2	0.5	3.0	—
MS3	0.5	5.0	—
MS4	0.5	7.0	—
MS5	0.5	9.0	—
MS6	0.5	—	1.0
MS7	0.5	—	3.0
MS8	0.5	—	5.0
MS9	0.5	—	7.0
MS10	0.5	—	9.0
MS11	0.05	1.0	—
MS12	0.1	1.0	—
MS13	1.0	1.0	—
MS14	1.5	1.0	—

生长情况。愈伤组织发生率=(产生愈伤的外植体数/接种外植体数)×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 基因型对愈伤形成的影响

辣椒是一种基因型执拗作物,在各种研究中,基因型均是关键影响因素,在辣椒组织培养中,也同样受基因型影响较大,从表 3 可以看出,在供试的 24 个基因型中,只有 16 个品种诱导出正常浅绿色愈伤组织,诱导率为 66.7%。在诱导出愈伤组织的品种中也存在较大差异,愈伤发生率最高的可达 100%,最低只有 24%,差异显著。因此,基因型是辣椒愈伤组织诱导的重要因素。

### 2.2 外植体对愈伤形成的影响

由图 1 可知,叶片和茎段均能诱导出愈伤组织,茎段的诱导效果更好。易形成愈伤组织的 7、17 号品种其茎段愈伤诱导率均达到 100%,而叶片诱导率分别为 91%、85%;11、18、19、21 号品种其茎段愈伤诱导率也均

表 3 基因型对愈伤形成的影响

编号	愈伤发生率/%	编号	愈伤发生率/%
1	45.0	13	24.0
2	0	14	0
3	87.5	15	36.6
4	0	16	45.5
5	88.5	17	100.0
6	61.0	18	90.0
7	100.0	19	91.5
8	50.0	20	0
9	75.7	21	98.0
10	0	22	0
11	92.5	23	0
12	0	24	87.5

高于叶片,分别高出 3.35%、20%、11.6%、18.8%。另外,由叶片形成的愈伤通常质地过于紧密,颜色发白,不利于进一步诱导出芽,因此辣椒以茎段为外植体好于叶片。

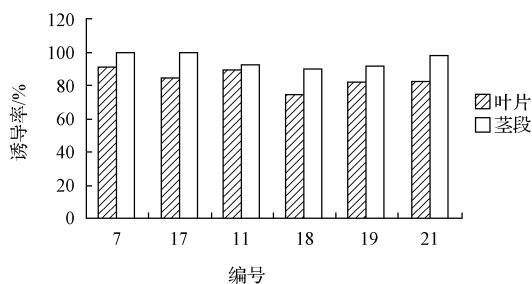


图 1 外植体对愈伤形成的影响

### 2.3 激素对愈伤形成的影响

用 KT、6-BA、NAA 3 种激素对辣椒茎段进行愈伤诱导。由图 2 可知,在 NAA 浓度相同的情况下,6-BA 浓度越高愈伤诱导率下降;在 6-BA 浓度不变的情况下,随着 NAA 浓度增加,愈伤诱导率先上升后下降;KT 与 6-BA 变化趋势一样,但诱导率不如 6-BA。辣椒愈伤组织诱导最佳激素配比为 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA。

## 3 讨论与结论

辣椒离体再生研究国内外均有报道,但是辣椒属于难再生植物,所以成功报道特别是成功获得大量再生苗的报道较少,并且大多数研究是由种子无菌播种获得的无菌苗上选取外植体,该研究利用成熟辣椒植株上的幼嫩叶片和茎段进行离体培养,这在国内外尚鲜见报道。从成熟植株上选取外植体使取材变得更加方便,能够缩短辣椒组培周期,为辣椒突变体材料扩繁和保存、种质资源保存、遗传转化奠定基础。

辣椒组培受基因型影响较大,这在很多研究中得到证明。沈火林等<sup>[4]</sup>报道 35 个辣椒品种再生芽诱导率为

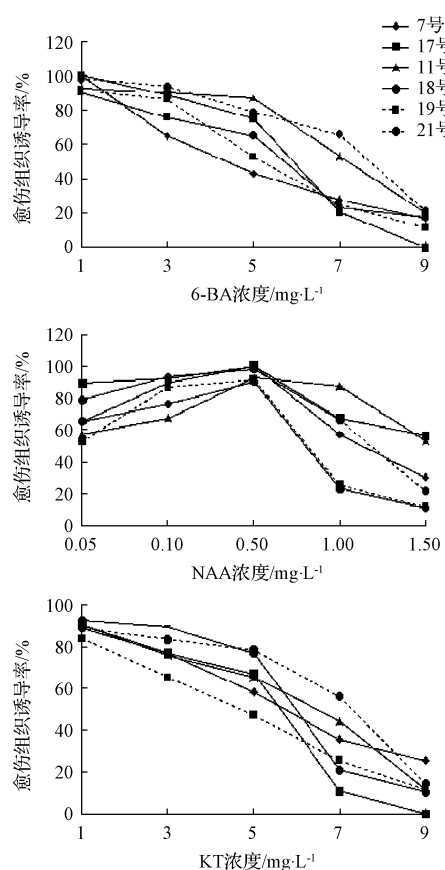


图2 激素种类和对比对愈伤形成的影响

40%~100%, Szasz 等<sup>[5]</sup>对 17 个辣椒品种的研究结果也与其相同。其它一些研究也表明,基因型对辣椒离体培养再生体系有显著影响<sup>[6-8]</sup>,该研究也得到相同结果。外植体的选取部位和大小也对辣椒离体诱导有一定影响,辣椒幼苗外植体类型包括子叶、子叶柄、下胚轴、茎尖、茎段、真叶等,其中以子叶和下胚轴为外植体获得再生植株的成功报道较多<sup>[9-11]</sup>,而以茎段为外植体较难诱导,该研究是以带芽茎段为外植体,因此具有较好的诱导效果,愈伤诱导率优于真叶。另外,合适的激素配比

对辣椒愈伤组织的诱导及以后的分化都至关重要,6-BA 和 NAA 组合被较多地用于愈伤组织和不定芽的诱导中,但有关其最佳浓度配比不同研究者得出不同结论,这可能是由基因型差异造成的。

该研究成功诱导出愈伤组织但未诱导出不定芽,究其原因可能是成熟植株本身再生能力较差;未找到愈伤组织诱导不定芽最佳培养条件和激素配比。因此,以后的研究重点应放在不定芽诱导培养基的优化上,或是由带芽茎段直接诱导再生芽,从而缩短培养周期。

### 参考文献

- [1] 马艳青,张西露. 湖南辣椒产业现状及发展思考[J]. 湖南农业科学, 2009(12):56-60.
- [2] Gunay A L, Rao P S. *In vitro* plant regeneration from hypocotyls and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plant Science Letters, 1978, 11(3-4):365-372.
- [3] Arrogo R, Revilla M A. *In vitro* plant regeneration from cotyledon and hypocotyls segments in two bell pepper cultivars [J]. Plant Cell Rep, 1991 (10):414-416.
- [4] 沈火林,王志源,蒋健箴,等. 辣椒的组织培养与植株再生[J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(2):73.
- [5] Szasz A, Nervo G, Fayim. Screening for *in vitro* shoot-forming capacity of seedling explants in red pepper (*Capsicum annuum* L.) gene types and efficient plant regeneration using thidiazuron [J]. Plant Cell Report, 1995, 14 (10):666-669.
- [6] 龙凤,张金文. 辣椒子叶和下胚轴的离体培养及高效再生体系的建立[J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40(1):31-37.
- [7] 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.
- [8] 崔群香,朱士农,刘卫东. 彩色辣椒离体培养外植体及诱导培养基的筛选[J]. 金陵科技学院学报, 2005, 21(1):78-81.
- [9] 罗素兰,王鹏程,张转,等. 辣椒离体高效再生体系及其卡那霉素筛选体系的建立[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2003, 21(1):51-57.
- [10] 邓明华,邹学校,周群初,等. 辣椒子叶离体培养植株再生研究[J]. 长江蔬菜, 2003(6):36-39.
- [11] 上官晓霞,吴霞,张林水,等. 辣椒农杆菌介导转化体系的建立及外源基因的转化[J]. 华北农学报, 2003, 18(2):5-8.

## Analysis of Key Factors on Influencing Callus Induction of Pepper

GAO Su-yan, LI Su-wen, LV Jing-gang, JIAO Ding-liang, HUANG Ya-jie  
(Tianjin Kernel Vegetable Research Institute, Tianjin 300384)

**Abstract:** Taking 24 hot (sweet) pepper varieties as materials, effects of genotype, explant, hormones on callus induction rate were studied. The results showed that callus induction rate of different genotype were significant differences, up to 100%, minimum of 24%; both leaf and stem could induce callus, and stem was better; the best medium was MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA.

**Key words:** pepper; callus; *in vitro* culture