

# 激素配比对辣椒叶片愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

蒋 燕, 王进涛, 袁 红

(河南科技大学, 河南 洛阳 471003)

**摘 要:**以雄性不育系辣椒“071”的第9~11节叶片为外植体,研究了不同浓度激素配比对辣椒叶片愈伤组织诱导和不定芽分化的影响。结果表明:6-BA与NAA配合使用对愈伤组织的诱导效果较好,但不能促进不定芽的发生,其中6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L诱导愈伤组织速度快,诱导率为100%,愈伤组织良好。NAA浓度在0.05、0.1 mg/L,6-BA浓度在0.2~5.0 mg/L之间时,6-BA的浓度越高,愈伤组织越易发生褐化现象;6-BA和IAA配合使用,愈伤组织的分化率达50%左右,并促进不定芽的发生,其中6-BA 5.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L配比时,叶片不定芽生成诱导率较高为35.29%。N-苯基-N'-1,2,3-噁二唑-5-脲(TDZ)浓度为0.05、0.1 mg/L时,单独使用或与NAA、IAA配合使用,都无不定芽出现。

**关键词:**辣椒;叶片;愈伤组织分化;褐化;不定芽诱导

**中图分类号:**S 641.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0118-03

辣椒雄性不育系的研究一直受到育种者的高度重视<sup>[1-2]</sup>,利用雄性不育系,可降低制种成本,提高杂种程度。相继有采用辣椒外植体包括子叶<sup>[3]</sup>、茎尖<sup>[4]</sup>、茎段<sup>[5]</sup>、叶片<sup>[6-7]</sup>等组培成功的例子。崔群香等<sup>[8]</sup>、柳建军等<sup>[9]</sup>研究表明,不同基因型愈伤组织和不定芽的分化效率差别较大。辣椒组培多用MS培养基,添加不同激素对辣椒发芽和生根有一定影响<sup>[10]</sup>。除6-BA、IAA和NAA外,N-苯基-N'-1,2,3-噁二唑-5-脲(TDZ)能诱导外植体从愈伤组织形成到体细胞胚胎发生的一系列不同反应<sup>[11]</sup>。但是对辣椒成株或雄性不育系材料组培研究较少。该试验以辣椒雄性不育系“071”的成株叶片为外植体,研究其愈伤组织分化及诱导不定芽的生成情况等,以期采用叶片完成雄性不育系的扩繁与保存奠定基础,为进一步遗传转化提供技术支持。

**第一作者简介:**蒋燕(1966-),女,河南洛阳人,硕士,副教授,现主要从事园艺专业教学与科研工作。

**收稿日期:**2013-03-04

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

辣椒雄性不育系“071”由洛阳泰金园艺公司提供。培育无菌苗,选择生长健壮植株上端展开的9~11节叶片,剪成0.5 cm×1.0 cm的小块,进行培养。

### 1.2 试验方法

不同浓度配比组合:6-BA和NAA浓度梯度共10个随机区组处理组合,A1~A10,NAA浓度为0.1和0.05 mg/L,6-BA浓度分别为0.2、0.5、1.0、3.0、5.0 mg/L;6-BA和IAA共设置6个随机区组处理组合,B1~B6,6-BA浓度为5.0和3.0 mg/L,IAA浓度分别为0.2、0.5、1.0 mg/L;TDZ的浓度设置为0.05和0.1 mg/L,单独使用及与NAA 0.2、0.05 mg/L,IAA 0.2、0.5 mg/L配合使用。接种完毕后,在温度25℃,光照时数12~16 h/d、光照强度1 200~2 000 lx条件下进行培养。观察记录愈伤分化的时间、愈伤分化率、愈伤分化良好指数、芽分化时间、芽分化率等。

**Abstract:** Taking the seed yam as test material, the effect of different species compositions and concentrations of plant growth on seed yam callus induction were studied in the light and dark condition. The results showed that the stem segments and leaves under 6-BA 2.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L was a good combination at light, 6-BA 2.0 mg/L+NAA 4.0 mg/L was a good combination at dark; light was not suitable for micro-tubers induction, the optimal plant growth substances combination was 6-BA 2.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L and 6-BA 2.0 mg/L+NAA 4.0 mg/L at dark.

**Key words:** seed yam; callus; the plant growth substances

1.3 数据分析

愈伤组织良好指数计算方法参照肖启明等<sup>[12]</sup>统计方法:分“+”、“++”、“+++”三级,有效范围为 0.33~1.0 之间。不定芽的分化率(%)=分化出不定芽的组织块数/总的接种数×100%。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA 和 NAA 处理对辣椒愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

6-BA 和 NAA 不同浓度配比下,愈伤组织生长情况见表 1。从表 1 可以看出,大部分处理组合接种后 12 d 左右长出愈伤组织。NAA 浓度为 0.1 mg/L 时,随着 6-BA 浓度(0.2~3.0 mg/L)的增大,愈伤分化率逐渐增

高。当 6-BA 达 5.0 mg/L 时,愈伤分化率下降;第 17 天时,愈伤分化速度加快,愈伤组织分化稳定。A4 处理分化最快,分化率最高。A9 处理愈伤组织分化率较高,良好指数达最高。6-BA 浓度在 0.2~5.0 mg/L 之间,NAA 浓度越高,愈伤组织越易出现褐化发黑情况。褐化时间一般出现在第 22~25 天左右,褐化出现的时间早晚与程度与 NAA 浓度也有关。经过 35 d 培养,始终没有出现不定芽分化迹象,有根分化。可初步判定 6-BA/NAA 不易促进芽的分化。黄炜等<sup>[13]</sup>的研究也表明,6-BA/NAA 配比,在不同的辣椒品种中也会观察到根分化的出现。

表 1 不同浓度 6-BA 和 NAA 处理对辣椒愈伤组织诱导的影响

| 处理组合 | 6-BA<br>/mg·L <sup>-1</sup> | NAA<br>/mg·L <sup>-1</sup> | 愈伤分化率/% |       | 愈伤组织良好情况     | 愈伤组织<br>良好指数 | 愈伤组织<br>褐化情况 |
|------|-----------------------------|----------------------------|---------|-------|--------------|--------------|--------------|
|      |                             |                            | 12 d    | 17 d  |              |              |              |
| A1   | 0.2                         | 0.1                        | 14.29   | 78.57 | 11+ 0++ 0+++ | 0.33         | 无            |
| A2   | 0.5                         | 0.1                        | 26.67   | 46.67 | 3+ 4++ 0+++  | 0.52         | 无            |
| A3   | 1.0                         | 0.1                        | 50.00   | 58.33 | 1+ 3++ 3+++  | 0.76         | 褐色较浅         |
| A4   | 3.0                         | 0.1                        | 100     | 100   | 3+ 7++ 10+++ | 0.78         | 发黑           |
| A5   | 5.0                         | 0.1                        | 66.67   | 73.33 | 3+ 4++ 4+++  | 0.70         | 发黑           |
| A6   | 0.2                         | 0.05                       | 53.85   | 53.85 | 5+ 1++ 1+++  | 0.48         | 无            |
| A7   | 0.5                         | 0.05                       | 53.33   | 60.00 | 5+ 1++ 3+++  | 0.59         | 无            |
| A8   | 1.0                         | 0.05                       | 23.08   | 46.15 | 5+ 1++ 0+++  | 0.39         | 无            |
| A9   | 3.0                         | 0.05                       | 76.47   | 76.47 | 2+ 3++ 8+++  | 0.82         | 黑色严重         |
| A10  | 5.0                         | 0.05                       | 60.00   | 66.67 | 2+ 6++ 2+++  | 0.67         | 黑色严重         |

2.2 不同浓度 6-BA 和 IAA 对辣椒愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

6-BA/IAA 配合能够促进辣椒叶片愈伤组织的分化,结果见表 2。由表 2 可知,在较短时间内,愈伤组织的分化率已基本趋于稳定,但分化率较低。其中 B5 处理愈伤组织生长较好,其次为 B2 处理。B2、B3 2 组处理

中出现了不定芽分化,但分化率较低。6-BA/IAA 能够诱导出芽体,而 6-BA/NAA 只能诱导出愈伤组织,这与何晓明等<sup>[6]</sup>的试验结果相似。高浓度的 6-BA 有利于芽的分化,但愈伤组织诱导良好的,并不一定就能分化出不定芽,而良好的不定芽分化建立在良好的愈伤组织分化的基础上。

表 2 不同浓度 6-BA 和 IAA 对叶片愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

| 处理组合 | 6-BA<br>/mg·L <sup>-1</sup> | NAA<br>/mg·L <sup>-1</sup> | 愈伤分化率/% |       | 愈伤组织良好情况    | 愈伤组织<br>良好指数 | 不定芽分<br>化率/% |
|------|-----------------------------|----------------------------|---------|-------|-------------|--------------|--------------|
|      |                             |                            | 14 d    | 24 d  |             |              |              |
| B1   | 5.0                         | 0.2                        | 20.00   | 26.67 | 4+ 0++ 0+++ | 0.33         | 0            |
| B2   | 5.0                         | 0.5                        | 41.17   | 47.06 | 1+ 3++ 4+++ | 0.79         | 35.29        |
| B3   | 5.0                         | 1.0                        | 22.22   | 22.22 | 3+ 1++ 0+++ | 0.50         | 5.56         |
| B4   | 3.0                         | 0.2                        | 18.75   | 25.00 | 4+ 0++ 0+++ | 0.33         | 0            |
| B5   | 3.0                         | 0.5                        | 52.63   | 52.63 | 3+ 2++ 5+++ | 0.73         | 0            |
| B6   | 3.0                         | 1.0                        | 35.71   | 35.71 | 5+ 0++ 0+++ | 0.33         | 0            |

2.3 TDZ 对辣椒愈伤组织诱导和不定芽分化的影响

TDZ 单独使用以及和 6-BA、IAA、NAA 综合使用,7 d 左右分化出愈伤组织。但愈伤组织分化较少,未诱导出不定芽(图 1),可能是与 TDZ 的浓度偏低有关。Dabauza 等<sup>[14]</sup>使用 1.0~2.0 mg/L TDZ 诱导了不定芽的分化。

3 结论与讨论

6-BA 和 NAA 配合使用,能够有效的促进雄性不育系辣椒品种“071”成株叶片愈伤组织的分化。但不能有

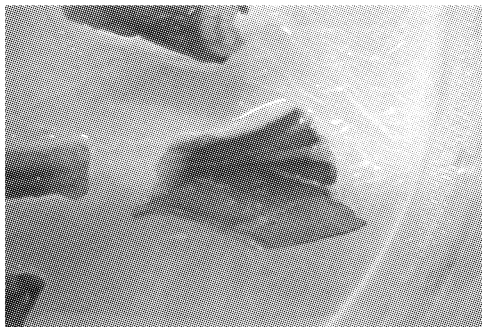


图 1 TDZ 诱导辣椒愈伤组织的效果

效的促进不定芽的分化。配比为 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,叶片愈伤组织分化率高,达到了 100%,愈伤组织分化情况好,且分化时间较短。配比为 6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 时,愈伤组织质量较好,愈伤组织分化率在 75%以上。6-BA 和 IAA 配合使用,可有效诱导芽的分化,诱导率达 35.29%,但对愈伤组织的诱导较差,分化率较低。TDZ 对辣椒叶片诱导愈伤并不太适合。虽然诱导愈伤组织时间较快,但只在主脉及较粗的侧脉伤口处有少量发出,没有不定芽的出现。

该试验结果表明,6-BA+IAA 处理组合比 6-BA+NAA 能有效的诱导不定芽的分化,但分化率偏低。培养基中添加有机成分能提高其再生频率<sup>[15]</sup>。试验诱导出的不定芽多倒长在培养基内,不利于其进一步生长。是否叶片的放置方向与不定芽的生长方向相关,需要进一步的试验。成株叶片不定芽诱导和采用子叶诱导比较,后者愈伤组织分化早,分化频率高,出现丛生芽的数量也较多。相比之下,使用生理年龄更小的子叶更具有优势,但是用子叶进行诱导,首先要用种子培养出幼苗,这对雄性不育系来说是一个不利的方面。而且采用子叶诱导,材料偏少,不能够进行大规模的再生繁殖,因而采用叶片诱导是一个值得研究的方向。降低植物材料的生理年龄,采用无菌苗产生的真叶进行诱导,加入一些有机物、AgNO<sub>3</sub> 等物质将是对雄性不育系再生体系研究的下一个方向。

#### 参考文献

[1] 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.

[2] 邓明华,文锦芬,邹学校,等. 辣椒细胞质雄性不育系离体培养植株再生研究[J]. 中国农学通报,2005,21(10):63-65.

[3] 周雪飞,刘春松,唐茂菊,等. 辣椒子叶组织培养[J]. 长江蔬菜,2001,12(7):32-33.

[4] 唐亮,陈沁,邓志瑞,等. 辣椒茎尖离体培养及植株再生[J]. 上海大学学报(自然科学版),2004,10(5):497-502.

[5] 刘国民,林栖凤,李任珠,等. 耐盐辣椒下胚轴和茎段离体培养与植株再生研究初报[J]. 海南大学学报(自然科学版),1999,17(1):55-58.

[6] 何晓明,王鸣,王喆之. 辣椒叶片离体培养与植株再生[J]. 西北农业大学学报,1996,24(1):93-96.

[7] 王朋,王关林,方宏筠. 抗虫基因(CpTD)辣椒转化的初步研究[J]. 沈阳农业大学学报,2002,33(1):30-32.

[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] 柳建军,于洪欣,周玉,等. 辣椒的离体再生及抗虫基因转化的研究[J]. 山东师范大学学报(自然科学版),2002,17(4):74-76.

[10] 陈静娴,聂凡. 辣椒子叶培养及其植株再生的研究[J]. 安徽农业科学,1990,45(3):255-257.

[11] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物调节剂[J]. 植物学通报,2003,20(2):227-237.

[12] 肖启明,欧阳河. 植物保护技术[M]. 北京:高等教育出版社,2005.

[13] 黄炜,巩振辉. 辣椒离体再生体系研究[J]. 中国农学通报,2005,21(12):268-271.

[14] Dabauza M, Pena L. High efficiency in sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) tissues from different seeding explants[J]. Plant Growth Regulation, 2001,33(3):221-229.

[15] 黎定军,张宝玺,赵开军,等. 辣椒子叶高效植株再生体系的建立[J]. 园艺学报,2002,29(1):25-29.

## Effect of Hormone Combinations on Callus Induction and Adventitious Bud Differentiation of Pepper Leaves

JIANG Yan, WANG Jin-tao, YUAN Hong

(Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

**Abstract:** Taking the section 9~11 blade male sterile pepper '071' as explants, the effects of different concentrations of hormone combinations on callus induction and adventitious bud differentiation of pepper leaves were studied. The results showed that the callus induction effect of the use of 6-BA and NAA was good, but could not promote adventitious bud differentiation occurred. On the medium of 6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, the callus had the fastest induction speed, with callus induction rate 100%. The concentration of NAA in the 0.05, 0.1 mg/L, 6-BA concentration in 0.2~5.0 mg/L, the higher the concentration of 6-BA, the callus was prone to browning; and with the use of 6-BA and IAA, the callus differentiation rate was about 50%, and could promote the occurrence of adventitious bud differentiation. With 6-BA 5.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L ratio, bud induction rate of leaf blade was higher for 35.29%. The concentration of TDZ was 0.05, 0.1 mg/L, used alone or in conjunction with the NAA, IAA, all without exception bud emergence.

**Key words:** pepper leaves; callus; differentiation; browning; adventitious bud differentiation