辣椒叶片离体培养与植株再生*

何晓明[1] 王 鸣[1] 王喆之[2]

(1 西北农业大学园艺系,陕西杨陵 712100) (2 陕西师范大学生物系,西安 710062)

摘 要 以辣椒无菌苗叶片为外植体,就激素对其不定芽分化及植株再生的影响进行了研究。结果表明,BA 对叶片不定芽的诱导效果最好,ZT 次之,KT 不能有效地诱导叶片形成不定芽;IAA 与 BA 相配合使叶片不定芽分化频率明显提高;IBA 或 NAA 与 BA 的激素组合使叶片不定芽分化频率有所不降;2,4-D 对叶片不定芽分化有明显的抑制作用。在分化培养基中添加 1.0 mg/L GA,有利于不定芽的伸长。不定芽伸长后在不含激素的 MS 或 MS+IAA 培养基上诱导生根,形成完整植株。

关键词 辣椒,叶片离体培养,植物激素,植株再生

中图分类号 S641.303.5

近年来,生物技术的应用和发展为辣椒育种尤其是抗性育种开辟了广阔的前景。花药培养[1]及茎尖[2,3]、茎尖分生组织[4]、子叶和下胚轴[5,6]等外植体离体培养体系的建立,为体细胞突变体的筛选和外源基因的导入等新兴育种方法提供了技术保证。叶片是一种取材方便、广泛用于植物基因工程的外植体。但关于辣椒叶片离体培养方面的系统研究国内迄今尚未见报道。本研究以无菌苗叶片为外植体,研究外源激素对其不定芽分化、伸长及植株再生的影响,旨在建立辣椒离体培养及植株再生体系,为进一步进行体细胞突变体筛选、外源基因导入等遗传操作奠定基础。

1 材料与方法

辣椒品系 120 由本系种质资源课题组提供。种子以 70%乙醇浸泡 30 s,0.1%$HgCl_2$ 灭菌 7 min,无菌水冲洗 3～4 次,接种于不含激素的 MS 培养基上。取无菌苗第 2～3 片真叶,切成 0.5 cm×1 cm 小块,接种于附加不同组合、不同浓度激素的 MS 培养基上。培养温度 25±2℃,光照 1400 lx,每日光照 14 h. 培养 30 d 后统计其不定芽分化频率。不定芽长至 0.5～1 cm,在 MS 无激素培养基或 MS+IAA0.5 mg/L 培养基上诱导生根,待其基部形成完整的根系后,栽入盛有蛭石和砂土的营养钵中并加盖玻璃罩保湿。

2 结果与分析

2.1 细胞分裂素对叶片不定芽分化的作用

将辣椒叶片外植体分别接种于附加 BA、ZT 及 KT 的 MS 培养基上。2 周后在附加 BA 或 ZT 的培养基上,部分叶片切口处形成浅绿色质地致密的愈伤组织(图版 1),并在愈伤组织上出现绿色芽点继而形成不定芽(图版 2);部分叶片切口处直接分化出不定芽

收稿日期:1995-06-27
*国家博士点基金资助项目。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(图版3);而在含KT的培养基上叶片切口处仅形成质地致密、表面呈白色绒毛状的绿色愈伤组织,未发生器官分化。BA与ZT相比,前者对辣椒叶片不定芽分化的诱导效果较好(表1)。试验中还观察到在含ZT的培养基中诱导形成的不定芽常有玻璃化现象。

表1 细胞分裂素对辣椒叶片不定芽分化的影响

种类	浓度(mg/L)	接种外植体数	分化外植体数	分化频率(%)
BA	1	20	0	0
	2	20	2	10.00
	4	20	3	15.00
ZT	1	20	0	0
	2	20	0	0
	4	20	1	5.00
KT	1	20	0	0
	2	20	0	0
	4	20	0	0

表2 BA浓度对辣椒叶片不定芽分化的影响

BA浓度(mg/L)	接种外植体数	分化外植体数	分化频率(%)
2	20	2	10.00
4	20	3	15.00
6	20	8	40.00
8	24	8	33.33
10	22	8	36.37

2.2 不同浓度BA对叶片不定芽分化的影响

表2表明,BA浓度在2～6 mg/L范围内,叶片不定芽分化频率随BA浓度的提高呈上升趋势;而BA浓度由6 mg/L增至10 mg/L,不定芽分化频率则有所下降。且当BA浓度高于8 mg/L时,部分愈伤组织发生褐化,诱导出的部分不定芽畸形生长,说明高浓度BA对愈伤组织和不定芽的生长具有不利影响。在诱导辣椒叶片不定芽分化时,BA浓度以6 mg/L为宜。

2.3 不同激素配比对叶片不定芽分化的影响

在附加6 mg/L BA的MS培养基上分别加入2,4-D、NAA、IBA和IAA,发现其对辣椒不定芽的分化产生截然不同的影响。2,4-D对不定芽的分化有明显的抑制作用,NAA与IBA也有一定的抑制作用。但IAA与BA相配合则可明显促进不定芽的分化(表3)。

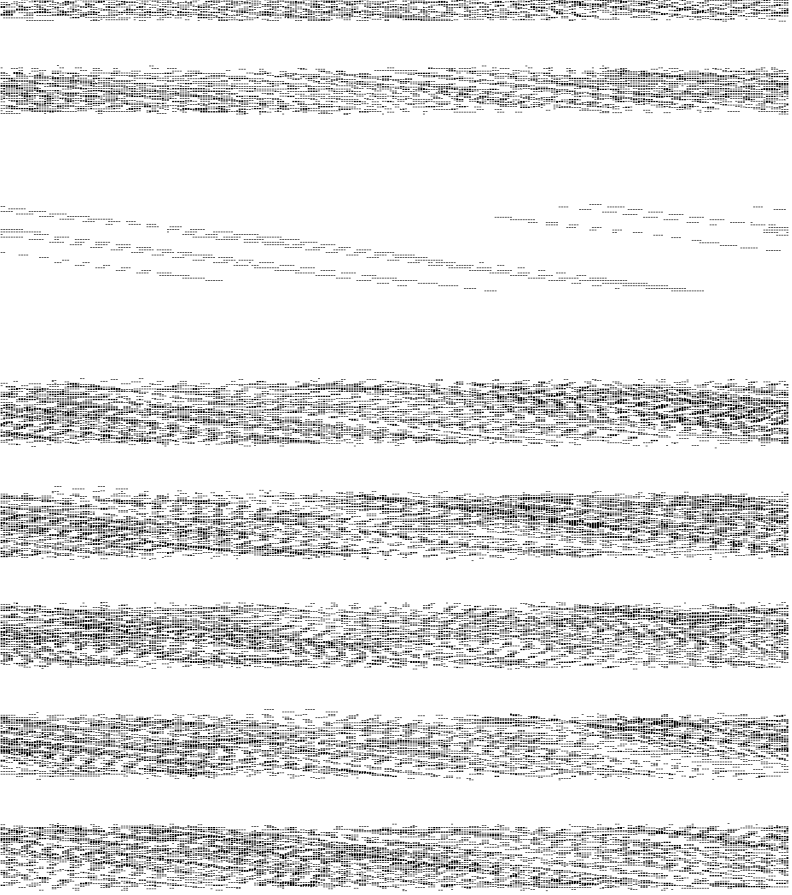
表3 不同激素配比对辣椒叶片不定芽分化的影响

激素配比(mg/L)					接种外植体数	分化外植体数	分化频率(%)
BA	2,4-D	NAA	IBA	IAA			
6.00	—	—	—	—	20	8	40.00
6.00	0.25	—	—	—	20	0	0
6.00	0.50	—	—	—	22	0	0
6.00	—	0.50	—	—	20	4	20.00
6.00	—	1.00	—	—	0	0	0
6.00	—	—	0.50	—	22	4	18.18
6.00	—	—	1.00	—	22	4	18.18
6.00	—	—	—	0.50	20	9	45.00
6.00	—	—	—	1.00	18	14	77.78

2.4 GA_3对不定芽分化及伸长的影响

由辣椒外植体分化形成的不定芽常呈丛生状,其中只有少部分(约13%)可以伸长。在分化培养基中加入GA_3可以有效地促进不定芽伸长(图版4),但使不定芽的分化频率有所下降,当GA_3浓度增至2.5 mg/L时,不定芽的分化明显被抑制,且不定芽畸形生长,说明促进不定芽伸长时GA_3的浓度以1～1.5 mg/L为宜。

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

王喆之等[7]在灯笼果组织培养中报道过IAA与BA配合可促进不定芽的分化，作者在辣椒离体培养研究[6]及本试验也发现IAA与BA配合可以大幅度提高外植体不定芽分化频率，看来IAA与BA对不定芽分化的协同促进作用在组培中具有一定的普遍性。

辣椒的不定芽难以伸长是辣椒组织培养中植株再生的重要障碍之一。曹冬孙等曾以在分化培养基中加入GA_3的方法促进不定芽伸长[5]，本试验结果证实了这一方法，但也发现GA_3对不定芽的分化具有一定的抑制作用。这种抑制作用在烟草组织培养中虽曾有过报道[10]，但仍有必要进一步深入研究。

参 考 文 献

1 王玉英，孙敬三，王敏驹等. 小黑麦(*Triticale*)和辣椒(*Capsicum annuum*)花粉植株的诱导. 中国科学，1973(1)：104～107

2 王 鸣，孙振久. 辣椒茎尖培养快速繁殖的研究. 西北园艺，1990(1)：15～19

3 Agrawal S, Chandra N. Shoot tip culture of pepper from micropropagation. Curret Science, 1988,57(24):1347～1349

4 孙振久，王 鸣. 辣椒茎尖分生组织培养. 植物生理学通讯，1988(5)：30～31

5 曹冬孙，贾士荣. 青椒子叶培养及植株再生. 园艺学报，1993,20(2)：171～175

6 何晓明，王 鸣，王喆之等. 辣椒子叶、下胚轴离体培养与植株再生. 西北植物学报，1995,15(7)：64～67

7 王喆之，张大力，郝联芳. 灯笼果组织培养的研究. 西北植物学报，1991,11(1)：44～49

8 许智宏，刘桂云. 赤霉素对烟草组织培养中芽的形成的抑制效应. 实验生物学报，1980,13(1)：53～57

In Vitro Plant Regeneration from Leaf Explants of Pepper (*Capsicum annuum* L.)

He Xiaoming[1] Wang Ming[1] Wang Zhezhi[2]

(1 *Department of Horticulture, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi*, 712100)

(2 *Department of Biology, Shaanxi Normal University, Xi'an*, 710062)

Abstract Effects of hormones on differentiation of adventitious buds and plant regeneration were studied in leaf culture of pepper *in vitro*. BA was considered as the best growth regulator for adventitious bud differentiation within 9 cytokinins. The combination of IAA and BA raised the differentiation frequency obviously. The highest differentiation frequency of adventitious buds was obtained in the medium MS+BA6.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L, while the lower ones were observed in the combinations of IBA or NAA with BA. 2, 4-D, however, showed the inhibition effect on the bud differentiation. Adding GA_3 in differentiation media promoted the elongation of adventitious buds. The elongated shoots rooted in media MS without hormone or MS+IAA, and developed into complete plants.

Key words pepper (*Capsicum annuum*), leaf culture, hormone effect, plant regeneration

?1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net