

文章编号:1003-8701(2013)01-0072-03

激素和外植体对辣椒愈伤组织诱导的影响

毛光志,刘彦珍,李奇阳

(安阳工学院,河南 安阳 455000)

摘要:本实验以辣椒优良品种的种子为试验材料,接种在 MS 培养基上培养无菌苗,再分别以无菌幼苗的子叶、胚轴、根为外植体,接种在添加有不同浓度 6-BA 和 2,4-D 的 MS 培养基上进行愈伤组织诱导。结果表明:以下胚轴为外植体,诱导的愈伤组织质量最好和出愈率最高,愈伤组织诱导的适宜培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L +2,4-D 2.0 mg/L。

关键词:辣椒;激素;外植体;愈伤组织

中图分类号:S641.303.6

文献标识码:A

Effects of Hormones and Explants on Callus Induction of Pepper

MAO Guang-zhi, LIU Yan-zheng, LI Qi-yang

(Anyang Institute of Technology, Anyang 455000, China)

Abstract: In this experiment, seeds of fine pepper variety were used as test material and they were cultured on MS medium to get aseptic seedlings. Then the cotyledon, hypocotyl and root of aseptic seedlings were adopted as explants and cultured on MS medium with different concentrations of 6-BA and 2,4-D to induce callus. The results showed that the quality and induction rate of callus were better when hypocotyl was used as explants. The optimum medium of callus induction was MS+0.5mg/L 6-BA + 2.0mg/L 2,4-D.

Keywords: Pepper; Hormones; Explants; Callus

辣椒(*Capsicum frutescens* L.)愈伤组织的诱导是辣椒杂种优势固定、优良品种快速繁殖和遗传转化的基础^[1],在诱导愈伤组织的过程中,不同部位的外植体和不同的激素浓度对愈伤组织的影响不一样,需要进一步探索^[2-5]。本研究通过培养辣椒种子获得无菌苗,然后以无菌幼苗的不同部位作为外植体诱导获得愈伤组织,旨在筛选辣椒愈伤组织诱导的最适培养基和最适外植体,以便为辣椒杂种优势固定、优良品种快速繁殖和遗传转化提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

牛角椒优良品种。

1.2 实验方法

1.2.1 实验方案

无菌种子苗培养采用 MS 培养基,添加有 10 g/L 的琼脂粉和 3%的蔗糖,不含激素。

愈伤组织诱导采用 MS 培养基,添加 10 g/L 的琼脂粉和 3%的蔗糖,再加入不同浓度的 2,4-D 和 6-BA 配制成培养基。共有 3 个处理,每个处理接种 4 瓶,每瓶接种 4 个外植体(表 1)。

1.2.2 实验步骤

将辣椒种子用纱布包起来放入 55℃ 热水中浸种 30 min。然后在超净工作台上用 75%的酒精溶液表面灭菌约 30 s,接着用 0.1%的升汞溶液浸泡 10 min 并轻微振荡,之后用无菌水冲洗 5~6 次彻底洗去残余的升汞并置于无菌滤纸上吸干水分。将无菌种子接种在 pH 值为 5.8、添加有 10 g/L 的琼脂粉和 3%的蔗糖的不含激素的 MS 培养基中,每瓶接种 5~6 粒种子,封口后置于光照强度为 2 000 lx、光照时间为 10 h/d、温度为 26℃ 的无菌培养室中培养。

培养 4 周后,无菌苗的下胚轴长至 5 cm 左右

收稿日期:2012-09-24

作者简介:毛光志(1976-),男,讲师,硕士,主要从事蔬菜遗传育种的研究工作。

时,以根、子叶和下胚轴为外植体接种在含有 2,4-D 或 6-BA 的 MS 培养基上,在温度为 26℃、光照强度为 2 000 lx 和光照时间为 10 h/d 的无菌室中进行愈伤组织的诱导。

1.2.3 调查与统计

观察无菌苗的生长情况,待无菌苗下胚轴长至 5 cm 左右时,进行继代培养诱导愈伤组织。分别在第 10 d 和第 16 d 观察愈伤组织的生长情况,并记录观察结果(表 2、表 3)。同时观察褐化及污染等情况。

表 1 试验处理方案

处理	2,4-D (mg/L)	6-BA (mg/L)	根		子叶		胚轴	
			每瓶个数	瓶数	每瓶个数	瓶数	每瓶个数	瓶数
1	2.0	0	4	4	4	4	4	4
2	0	0.5	4	4	4	4	4	4
3	2.0	0.5	4	4	4	4	4	4

2 结果与分析

2.1 激素对愈伤组织诱导的影响

在本试验研究中,激素对辣椒幼苗的愈伤组织诱导有明显的影响。根据观察和记载的实验结果分析,在以根、子叶和胚轴作为外植体诱导愈伤组织时,单独使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 和 0.5 mg/L 的 6-BA 诱导愈伤组织率均没有同时使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 和 0.5 mg/L 的 6-BA 诱导的愈伤组织率高。单独使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 诱导的愈伤组织少而紧密;单独使用 0.5 mg/L 的 6-BA 在第 10d 诱导的愈伤组织少而紧密,但在第 16 d 时生长量大而疏松。综合表明同时使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 和 0.5 mg/L 的 6-BA 时,各外植体的出愈率都较高且生长的愈伤组织量大而疏松。

2.2 不同处理时间对愈伤组织生长的影响

研究结果(表 2 和表 3)表明,除了在处理 1 的条件下以根为外植体时,愈伤组织的诱导率为 0,其他条件下各外植体都有不同程度的出愈率。处

理 16 d 与处理 10 d 相比,处理 16 d 后,出愈率有不同程度的提高,其中在处理 3 的条件下,子叶和胚轴の出愈率分别提高到 91.7%和 100.0%,而且得到的愈伤组织颜色正常、量大且疏松;其次是在处理 2 的条件下,子叶和胚轴の出愈率分别提高到 75.0%和 83.3%,而且愈伤组织颜色正常、量大而疏松。综合表明,以子叶和胚轴为外植体,处理 16 d 可以得到较多的愈伤组织。

2.3 外植体对愈伤组织诱导的影响

研究结果(表 2 和表 3)表明,不同的外植体在不同的处理条件下,愈伤组织的诱导率不同。以根为外植体时,除在处理 16 d 时,愈伤组织的诱导率达 50.0%以外,其他情况下,愈伤组织的诱导率均较低;在以子叶和胚轴为外植体时,在处理 3 的条件下,愈伤组织的诱导率最高,其次是处理 2,愈伤组织诱导率最差的是在处理 1 的条件下,而且在处理 1 的条件下,生长的愈伤组织量少而紧密。综合分析表明,胚轴是最理想的外植体,其次是子叶。

表 2 辣椒幼苗外植体培养 10 d 后的愈伤组织

处理	根部出愈率(%)	子叶出愈率(%)	胚轴出愈率(%)	颜色	生长情况
1	0	25.0	50.0	透明	少量紧密
2	8.3	41.7	50.0	浅绿	少量紧密
3	25.0	66.7	83.3	白色	大量疏松

表 3 辣椒幼苗外植体培养 16 d 后的愈伤组织

处理	根部出愈率(%)	子叶出愈率(%)	胚轴出愈率(%)	颜色	生长情况
1	0	50.0	75.0	透明	少量紧密
2	25.0	75.0	83.3	浅绿	大量疏松
3	50.0	91.7	100.0	白色	大量疏松

3 小结与讨论

本实验的研究结果表明,以根、子叶和胚轴为外植体诱导愈伤组织时,处理 16 d 可以得到较高

的愈伤组织的诱导率;其中以子叶和胚轴为外植体,在同时使用 2.0 mg/L 的 2,4-D 和 0.5 mg/L 的 6-BA 的条件下,愈伤组织的诱导率最高,分别达到 91.7%和 100%,而且愈伤组织颜色呈白色、量大而疏松。

本实验所加的植物生长物质有 6-BA 和 2,4-D,单独使用 6-BA 和 2,4-D 时,其诱导效果均没有同时使用两种激素的效果好。当 6-BA 与 2,4-D 结合使用时愈伤组织疏松,愈伤组织诱导量增加,其长势很好,颜色呈白色并且呈膨大状,出愈率最高。这与以往的研究结果不一致^[6-9],可能与不同品种的基因型有关^[10]。

本实验中选用的外植体为辣椒无菌苗的子叶、根和下胚轴,从诱导结果看,以下胚轴为外植体,愈伤组织诱导效果最好,是较理想的外植体。这与以往的研究结果不一致^[2-5],可能与基因型^[10]和外植体的状态有关。胚轴的表面积小并且内部是管状,营养及激素吸收效果好。子叶的适应能力没有胚轴强,有部分接入培养基后,出现褐化的现象,但是一旦长出愈伤组织效果还是很好的。而根

的愈伤组织则是很难长出,这可能与苗龄过长和根部的木质化程度较高有关。

参考文献:

- [1] 何建文. 辣椒组织培养及其在育种中的应用[J]. 贵州农业科学, 2009, 37(7): 6-9.
- [2] 王旭英, 朱道玉. 彩色辣椒愈伤组织的诱导与植株再生[J]. 河南农业科学, 2006(8): 101-103.
- [3] 张春芬, 孟玉平, 曹秋芬, 等. 辣椒的离体培养及再生体系研究[J]. 山西农业科学, 2008, 36(11): 34-37.
- [4] 柳建军, 于宏欣, 于彦丽. 辣椒离体培养及植株再生的研究[J]. 山东农业科学, 2001(2): 25-26.
- [5] 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.
- [6] 李永文, 李红. 彩色辣椒子叶愈伤组织诱导影响因素的研究[J]. 北方园艺, 2007(5): 205-206.
- [7] 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.
- [8] 李学宝, 陈光荣, 金波. 辣椒下胚轴离体培养的研究[J]. 华中师范大学学报(自然科学版), 1995, 29(3): 367-371.
- [9] 王迅, 洪亚辉. 辣椒愈伤组织辐射诱变及离体再生培养的研究[J]. 湖南农业科学, 2010(15): 11-13.
- [10] 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.

(上接第 64 页)

- [6] 仪慧兰. NaCl 对大麦的毒性实验[J]. 应用与环境生物学报, 1998, 4(1): 92-94.
- [7] 仪慧兰, 王强. NaCl 对大麦幼苗生长及姊妹染色单体交换的影响[J]. 植物研究, 1997, 17(2): 174-179.
- [8] Li-Changsheng, Chen-Xiquan, Haiehao, et al. A study on growth of plantation on soda-saline-alkali soil[J]. J. North-east For Univ, 1991, 11(2): 42-43.
- [9] 张新春, 庄炳昌, 李自超. 植物耐盐性研究进展[J]. 玉米科学, 2002, 10(1): 50-56.
- [10] Tester, M. Davenport, R.J. Na⁺ Transport and Na⁺ Tolerance in Higher plants[J]. Ann. Bot. 2003(91): 503-527.
- [11] 龚莉, 许建军. 甲醛对洋葱根尖细胞的遗传毒性效应[J]. 生态毒理学报, 2011, 6(2): 215-218.
- [12] 曾秀存, 许耀照, 王晓琴, 等. 氯化钠对豌豆根尖细胞的致畸效应[J]. 甘肃农业科技, 2009(6): 16-17.
- [13] 丁晓雯, 李红, 王海燕. 环磷酰胺对蚕豆根尖细胞微核率

的影响[J]. 食品科学, 2010, 31(1): 194-197.

- [14] 杜荣骞. 生物统计学(第3版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [15] 王洪刚, 张娟, 姜丽君. 小麦、大麦、玉米根尖细胞有丝分裂指数及分裂频率的研究[J]. 山东农业大学学报, 1989(4): 62-64.
- [16] 刘岩石, 彭学贤. 植物抗渗透胁迫基因工程研究进展[J]. 生物工程进展, 1997, 17(2): 31-37.
- [17] 王小军, 鲍文奎. 八倍体小黑麦耐盐细胞系产生的遗传机制[J]. 植物学报, 1998, 40(4): 330-336.
- [18] 贺道耀, 余叔文. 水稻高脯氨酸愈伤组织变异体盐胁迫下氨基酸和蛋白质组分的变化[J]. 植物生理学报, 1995, 21(2): 123-130.
- [19] 王燕, 孙晓东, 龚坚, 等. NaCl 培养液对植物根尖有丝分裂的影响[J]. 长江大学学报, 2009, 6(3): 52-53.
- [20] 时丽冉, 刘志华, 高汝勇. NaCl 胁迫对玉米根尖细胞染色体行为的影响[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 71-73.