

五彩椒(*Capsicum annuum* L.)的组织培养研究

李凤兰, 刘荣梅, 胡国富, 胡宝忠*

(东北农业大学生命科学学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 以抗寒性较强的五彩樱桃椒为试验材料, 对观赏椒的组织培养进行了研究。试验表明, 最佳外植体为茎尖, 茎尖的最佳消毒时间为3 min; 最佳诱导培养基为MS+6-BA 5 mg·L⁻¹+NAA 1 mg·L⁻¹; 最佳分化培养基为MS+6-BA 5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹, 最佳生根培养基为1/2MS+IBA 0.25 mg·L⁻¹。

关键词: 五彩椒; 抗寒性; 组织培养

中图分类号: S162.5; S682.4

文献标识码: A

五彩椒(*Capsicum annuum* L.)别名朝天椒, 五彩辣椒, 是辣椒的变种, 为茄科多年生半木质性植物。它是日本鹿儿岛园艺所培育的辣椒新品种, 近几年引入我国。此椒在南方为多年生, 在北方为1年生, 具有在12℃左右也能生长开花结实的特性, 因其转色期不同, 同一植株上的果实分绿、紫、黄、鲜红等颜色, 并且花果同株, 极为美观。现在五彩椒的栽培主要是采用种子繁殖的方法^[1], 所用种子为国外引进的F₁代杂种, 价格比较昂贵, 栽培成本较高, 同时在栽培过程中存在繁殖较慢, 繁殖系数低, 种性退化等问题, 这大大的影响了观赏椒在我国园林中的应用。采用组织培养的方法进行观赏椒的繁殖, 对于稳定品种性状, 降低栽培成本具有重要意义。关于观赏椒的离体培养的研究报道较多, 但多数是对蔬菜型的观赏椒进行培养^[2-5]。

本试验选用了具有较强抗寒性品种五彩樱桃椒作为研究对象进行组织培养研究, 目的是在短期内获得大量适合我国北方栽培的观赏椒种苗, 实现周年生产从而降低种苗成本。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验采用抗寒性较好的五彩樱桃椒作为试验材料。

收稿日期: 2008-04-25

作者简介: 李凤兰(1973-), 女, 黑龙江人, 讲师, 博士研究生, 主要从事为观赏植物的生殖生物学及组织培养研究。

* 通讯作者 E-mail: bzhu@neau.edu.cn

1.2 试验方法

1.2.1 最佳外植体以及消毒时间的选择

本研究在预试验阶段对不同的外植体进行了选择。接种外植体分别为观赏椒的茎尖、嫩叶、直径5 mm左右的果实以及芽, 每瓶接种4块。每个处理接种4瓶。

材料采用0.1%的升汞进行消毒, 茎尖灭菌时间为4、5、6、7 min; 叶片灭菌时间为3、4、5、6 min; 果实灭菌时间为0.5、1、1.5、2 min; 芽灭菌时间为2、3、4、5 min。然后接种在MS基本培养基上进行最佳消毒时间筛选, 主要统计污染率与褐化率。

1.2.2 最佳诱导培养基的选择

确定最佳外植体与消毒时间后, 将最佳外植体消毒处理后接种在含不同浓度生长素(6-BA与NAA)的MS培养基上, 统计诱导率, 确定最佳诱导培养基, 统计分化率。

1.2.3 最佳分化培养基的选择

将产生的愈伤组织接种在含不同浓度生长素(6-BA、NAA)的MS培养基上, 统计分化率, 确定最佳分化培养基。

1.2.4 生根与移栽

将培养到2 cm的苗切下, 插入到添加不同浓度的植物生长调节剂(NAA和IBA)1/2MS培养基上进行生根培养。将生根的组织培养苗移入盛有珍珠岩:草炭土(1:1)的营养钵中, 并用营养液浇灌或喷雾, 避光1周左右, 然后统计成活率。

以上每种培养基均附加3%蔗糖、0.75%琼

脂, pH 5.8~6.0, $1.1 \text{ kg} \cdot \text{cm}^{-2}$ 压力下灭菌 20 min。培养条件采用光照培养, 每天光照 12 h, 光照强度 2000 lx , 温度 $(25 \pm 2) \text{ }^\circ\text{C}$ 。

2 结果与分析

2.1 外植体以及最佳消毒时间的选择

将不同外植体接种在培养基中, 经 1 周培养后进行观察, 结果如表 1 所示。结果表明, 茎尖

的培养情况最好, 污染率、褐化率相对较低, 并且启动率很高, 在接种 5 d 后就有启动迹象, 1.5 周后发现明显膨胀, 随后长成乳白至浅黄色的愈伤组织。并且在不同的消毒处理中, 处理 3 min 的污染率和褐化率最低。因此, 初步选定以茎尖处理 3 min 作为进一步培养的条件。而在其他外植体的培养中发现, 果实和芽的污染率极高, 嫩叶的褐化率较高, 并且在接种两周后都无明显分化。

表 1 不同外植体和最佳消毒时间的筛选

Table 1 Screening of the different explant and optimum sterilized time

取材部位 Explant	消毒时间(min) Sterilized time	接种数量 No. of explants	污染率(%) Contamination rate	褐化率(%) Rate brown
茎尖 Shoot tip	2	30	6.25	6.25
	3	30	0	6.25
	4	30	0	61.3
	5	30	0	43.8
嫩叶 Tender leaf	3	30	12.5	43.8
	4	30	12.5	62.5
	5	30	6.25	81.3
	6	30	0	87.5
果实 Fruit	0.5	30	100	100
	1	30	100	100
	1.5	30	100	100
芽 Bud	2	30	100	100
	2	30	62.5	12.5
	3	30	43.8	43.8
	4	30	25	62.5
	5	30	18.8	62.5

2.2 最佳诱导培养基的选择

在确定了最佳的外植体和消毒时间后, 添加了不同浓度植物生长调节剂的 MS 培养基进行了最佳诱导培养基的筛选。试验结果如表 2 所示, 可知, 最佳诱导培养基为添加浓度为 $6\text{-BA } 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{NAA } 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基。

2.3 最佳分化培养基的选择

将已经培养得到的愈伤组织转接种在含不同浓度生长素的培养基上, 统计分化情况, 确定最佳分化培养基。生长素浓度如表 3 所示。由于观赏椒属于半木质植物, 组织培养周期长, 生长缓慢, 大概在培养了 4 周左右才有芽点出现, 然后出现芽丛。由结果可以看出, 在添加 $6\text{-BA } 5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MS 培养基中, 分化率最高为 86%, 确定为最佳诱导分化培养基。在试验中发现, 随着 6-BA 的添加量的升高, 褐化率明显提

高了, 而且愈伤块分化率也出现了明显地下降。

2.4 生根培养

将产生的健壮不定芽分别转接到生根培养基上, 进行生根培养。结果如表 4 所示, 20 d 后调查表明, 附加 NAA 的培养基不利于根诱导, 根生长缓慢细弱且呈绒毛状。芽苗在 $\text{MS} + 6\text{-BA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上生根效果最明显, 生根率达 93%, 根生长较快、健壮, 并于 1 周后形成根系。比较根的生长情况, 诱导生根的最佳组合为: $1/2\text{MS} + \text{IBA } 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.5 移栽

对生根的小苗(小苗长至 4~5 cm 时, 生长了 4~6 条根)进行移栽。采用的基质为珍珠岩:草炭土(1:1)组成的培养土中, 进行荫蔽、遮光培养, 保持高湿。培养 10 d 左右长出新叶, 成活率达 98% 以上。

表 2 最佳诱导培养基的选择

Table 2 Selection of the optimum medium of inducing

编号 Code	培养基 Medium	6-BA(mg·L ⁻¹)	NAA(mg·L ⁻¹)	接种数量 No. of explants	诱导率(%) Rate of callus induced
1	MS	4	0.5	30	50.0
2	MS	4	1.0	30	62.5
3	MS	4	1.5	30	56.3
4	MS	5	0.5	30	62.5
5	MS	5	1.0	30	93.6
6	MS	5	1.5	30	75.0
7	MS	6	0.5	30	56.3
8	MS	6	1.0	30	75.0
9	MS	6	1.5	30	68.8

表 3 最佳分化培养基的选择

Table 3 Selection of the optimum medium of differentiation

编号 Code	培养基 Medium	6-BA(mg·L ⁻¹)	NAA(mg·L ⁻¹)	接种数量 No. of explants	褐化率(%) Rate of brown	分化率(%) BDR
1	MS	5	0.1	30	10	86
2	MS	5	0.5	30	15	52
3	MS	5	1.0	30	12	10
4	MS	6	0.1	30	26	62
5	MS	6	1.5	30	29	30
6	MS	6	1.0	30	24	21
7	MS	7	0.1	30	57	37
8	MS	7	0.5	30	48	40
9	MS	7	1.0	30	45	15

表 4 最佳诱导培养基的选择

Table 4 Selection of the optimum medium of taking root

试验组 EG	IBA(mg·L ⁻¹)	NAA(mg·L ⁻¹)	培养时间(d) Culture time	接种数量 No. of explants	生根芽数 Rooting buds	生根率(%) Rooting rate	生长情况 Growing situation
1	0.10		15	30	14	46.7	根较粗壮、数量少
2	0.20		15	30	20	66.7	根粗壮、数量教多
3	0.25		15	30	27	90.0	根较粗壮、数量多
4		0.1	15	30	18	60.0	根较多、较细弱
5		0.2	15	30	10	33.3	根细弱、呈绒毛状
6		0.5	15	30	4	13.3	根较细弱、呈绒毛状

3 讨 论

3.1 培养过程中的褐变问题

外植体的褐变是植物组织培养中常见的现象，是由于组织中的酚类物质经氧化后产生棕褐色的醌类物质造成的。这类物质可抑制细胞中其他酶的活性，影响细胞的正常代谢，严重时可导致组织的死亡^[6]。褐变产生的影响因素有植物种类及基因型、外植体部位及生理状态、培养基成分(如培养基成

分中的无机盐、蔗糖浓度、激素以及 pH)、培养条件等。外植体的褐变是植物组织培养成功的主要障碍之一。

本研究发现辣椒的外植体在组培过程中，褐变现象尤其严重，这同范志强等的研究结果相一致^[7]。在本试验中，观赏椒的叶、果实、芽都发生了严重的褐变，尤其是果实。这可能是在初期培养过程中，基本培养基中高浓度的盐促进酚类物质大量外渗，此外，培养基中的 Cu²⁺ 和 Mn²⁺ 的存在可以刺

激酚氧化酶的活性, 促进醌的合成, 加重了外植体的褐化程度。其中果实的切面较大, 因此, 更容易被酚类物质氧化。另外 6-BA 的添加量对于外植体的褐化也具有较大的影响。在同种基本培养基上, 6-BA 的添加量与外植体的褐化率呈正相关, 这同其他人的报道结果一致^[8]。

3.2 观赏椒植株再生较为困难

由于选材以及其他原因的影响, 多数试验中植株再生周期长或分化频率低, 不定芽生长能力差, 有的甚至只停留在芽诱导阶段, 不能进一步生长^[2]。辣椒离体再生成功报道很多^[9-13], 但与茄科其他作物如番茄, 马铃薯和烟草相比, 其再生频率偏低, 主要是因为芽伸长困难, 不同生理状态和培养基成分对芽伸长有影响。罗素兰等研究表明子叶的再生能力比其他外植体再生能力强, 而且子叶叶龄以 10~16 d 为宜, 叶龄增加, 再生力下降, 辣椒的再生频率不足, 尚不能满足基因工程育种对辣椒再生体系的要求^[13]。本试验选择了成体植株中的茎尖, 在分化诱导中也出现了分化周期长的问题, 在 3 周左右才出现分化的现象, 表明观赏椒的分化十分困难。

[参 考 文 献]

[1] 李敏侠. 观赏辣椒特性与栽培要点[J]. 陕西农业科学, 2003

(4): 64.

- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] 吴纲. 彩色辣椒子叶离体培养研究初报[J]. 江苏林业科技, 2002, 29(4): 31-33.
- [6] 黄丹莹, 江贵波. 植物组织培养褐变产生的因素及对策[J]. 广西轻工业, 2006(5): 31-32.
- [7] 范志强, 杜希华, 蹇兆忠, 等. 辣椒组织培养中褐变问题的研究[J]. 山东农业科学, 2000(6): 35-36.
- [8] 淡明, 海波, 郭安平, 等. 黄灯笼辣椒组织培养中防褐变的研究[J]. 福建热作科技, 2006, 31(2): 1-4.
- [9] 李明军, 焦滨, 刘颖, 等. 朝天椒的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(2): 134-135.
- [10] 唐亮沁, 邓志瑞, 汤湘雍, 等. 辣椒茎尖离体培养及植株再生[J]. 上海大学学报, 2004, 10(5): 497-502.
- [11] 何小明, 王鸣, 王吉. 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.
- [12] 邱萃, 何水林. 辣椒组织培养再生体系的建立与应用[J]. 亚热带农业研究, 2006, 2(4): 304-308.
- [13] 罗素兰. 辣椒组织培养中的主要问题与对策[J]. 海南师范学院学报, 2001, 14(2): 34-36.

Study on the tissue culture of *Capsicum annuum* L.

LI Fenglan, LIU Rongmei, HU Guofu, HU Baozhong

(College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In this article, the tissue culture of *Capsicum annuum* L., which had high cold resistance was investigated. The results showed that the optimum explants was stem apex, and sterilized time of explants was 3 min; the optimum medium of inducing was MS+6-BA 5 mg·L⁻¹ + NAA 1 mg·L⁻¹, the optimum medium of differentiation was MS+6-BA 5.0 mg·L⁻¹+ NAA 0.1 mg·L⁻¹, the optimum medium of rooting was 1/2MS+IBA 0.25 mg·L⁻¹.

Key words: *Capsicum annuum* L.; cold resistance; tissue culture