

## 辣椒未受精子房愈伤组织诱导的研究

朱献辉<sup>1</sup>, 巩振辉<sup>1\*</sup>, 王乾宏<sup>2</sup>, 黄 炜<sup>1</sup>, 逯明辉<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100; 2. 信阳农业高等专科学校, 河南信阳 464000)

**摘 要:** 以 8 个辣椒(*Capsicum annuum* L.) 杂交品种的未受精子房为试材, 对辣椒未受精子房在不同试验条件下的离体培养进行研究。结果表明, 供试的 8 个品种中“辣优八号”品种愈伤组织的诱导率最高, 达 25%; 花药发育单核靠边期的子房诱导率最高; 70% 酒精 30 s + 0.1% 升汞是合适的消毒方法; 适宜的愈伤组织诱导培养基为 MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA, 愈伤组织在 MS + 1 mg/L NAA + 3 mg/L BA、MS + 1 mg/L NAA + 2 mg/L BA 与 MS + 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA 增殖培养基上均能不断增殖和膨大, 3 个增殖培养基间无明显差异。

**关键词:** 辣椒(*Capsicum annuum* L.); 未受精子房; 组织培养

**中图分类号:** S641.3

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1004-1389(2008)05-0310-07

## Studies on Inducement of Callus from Unfertilized Ovaries in Pepper

ZHU Xian-hui<sup>1</sup>, GONG Zhen-hui<sup>1\*</sup>, WANG Qian-hong<sup>2</sup>, HUANG Wei<sup>1</sup> and LU Ming-hui<sup>1</sup>

(1. College of Horticulture, Northwest A&amp;F University, Yangling Shaanxi 712100, China;

2. Xinyang Agricultural College, Xinyang He'nan 464000, China)

**Abstract:** The unfertilized ovaries of eight crossbreed pepper cultivars (*Capsicum annuum* L.) were tested to study isolated culture of the unfertilized ovaries under different experimental conditions. The results showed that the highest induction of callus from unfertilized ovaries of eight crossbreed pepper cultivars was “Layoubahao”, which was 25%; The highest induction rate of callus from ovaries with anthe occurred in late uninucleate stage; The optimum sterilization way was 70% alcohol 30s + 0.1% HgCl<sub>2</sub>; The optimum culture medium of calluses inductions from unfertilized ovaries in pepper were MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA; Calluses were proliferating and enlarging in culture mediums, these culture mediums are MS + 1 mg/L NAA + 3 mg/L BA, MS + 1 mg/L NAA + 2 mg/L BA and MS + 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA, and the results from these culture mediums didn't differ much from each other.

**Key words:** Pepper; Unfertilized ovary; Tissue culture

从子房离体培养诱导雌配子体产生单倍体植株与用花药培养一样在单倍体育种上具有重要的实用意义<sup>[1]</sup>。自 1976 年 SanNoeum 从未受精子房培养首次诱导出单倍体植株以来, 已从禾本科(Gramineae)、茄科(Solanaceae)、百合科(Liliace-

ae)、葫芦科(Cucurbitaceae)、菊科(Compositae)、藜科(Chenopodiaceae)、杨柳科(Salicaceae)、大戟科(Euphorbiaceae)、石竹科(Caryophyllaceae)等 9 科 21 种植物的未受精胚珠与子房诱导出单倍体植株<sup>[2]</sup>。辣椒(*Capsicum annuum* L.) 是一种

收稿日期: 2008-02-25 修回日期: 2008-04-10

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划(2006BAD01A7); 西北农林科技大学植物遗传育种专项(05YZ024-1)。

作者简介: 朱献辉(1982-), 男, 安徽蒙城人, 在读硕士, 研究方向为蔬菜生物技术与遗传育种。E-mail: davry2002@nwsuaf.edu.cn

\* 通讯作者: 巩振辉(1957-), 男, 陕西礼泉人, 博士生导师, 教授, 主要从事蔬菜种质资源与生物技术研究。E-mail: gzhh168@yahoo.com.cn

重要的蔬菜作物和调味品,在亚洲、欧洲、中南美等地区被广泛栽培。中国是世界上最大的辣椒种植国家,2007 年全国的播种面积大约在 130 万  $\text{hm}^2$ ,产量 2 700 万 t。通过单倍体途径加速亲本纯系的选育,提高亲本优异基因的聚合是目前辣椒育种的重要途径之一。关于辣椒花药与小孢子培养的报道较多,但对辣椒子房培养以及孤雌生殖培养的研究尚未见报道。本试验旨在通过对影响辣椒子房培养诸因素的分析,优化辣椒子房培养技术体系,为辣椒孤雌生殖培养的进一步研究提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料与植株培养

本试验选用了羊角椒、甜椒和线椒 3 个类型共 8 个品种,分别为早红新秀、徐椒四号、特大牛角椒、农城椒 2 号、砺甜二号、咏春一号、超砺一号和辣优八号。所有种子均由西北农林科技大学辣(甜)椒课题组提供。为了保证在整个试验期间均能提供子房,本试验共分 3 次种植。第一次为 2006 年 1 月 20 日催芽,1 月 25 日播种于营养钵,在人工光照条件下育苗,2006 年 3 月 19 日分苗于蔬菜站阳畦内,4 月 20 日定植于露地,5 月 5 日开始采样。第二次 2006 年 7 月 17 日催芽,7 月 27 日播种于实验室营养钵内。第三次 2007 年 2 月 2 日催芽,2 月 13 日播种于在西北农林科技大学西林校区实验楼炼苗室营养钵内。

### 1.2 试验方法

1.2.1 愈伤组织的诱导 从可观测到花蕾开始,每天上午 8:00~10:00 用镊子采摘不同大小花蕾放入自封口塑料袋内,置冰盒带回实验室,用镊子剥去萼片,先在 70% 酒精中浸泡 30 s,然后再用 0.1% 升汞溶液浸泡 6~8 min,最后用无菌水冲洗 4 次,在超净工作台上无菌条件下剥去花萼、花瓣、雄蕊、花丝、花托,并尽量防止子房受到伤害,采用三因素、三水平正交表进行试验(表 1)。子房采用两种方法培养:①在超净工作台上,将花蕾的基部用无菌解剖刀切掉,再用无菌的镊子挤出子房,放入装有固体培养基的三角瓶中,密封后放在恒温箱中( $28 \pm 1^\circ\text{C}$ )培养。光照为 4 500 lx,每天 12 h。②把子房挤出后用解剖刀切成 2~5 mm 厚片<sup>[3]</sup>(纵切,横切)培养条件同上,愈伤组织每 40 d 继代一次。

1.2.2 愈伤组织的增殖 从所形成的子房愈伤

组织中挑选出乳白色,表面光滑、呈半透明状的愈伤组织转入以下 3 种增殖培养基进行培养:①MS + 1 mg/L NAA + 3 mg/L BA;②MS + 1 mg/L NAA + 2 mg/L BA;③MS + 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA,培养条件同上。

表 1  $L_9(3^3)$  正交试验因素水平

Table 1 Factor and level of  $L_9(3^3)$  orthogonal

水平 Level	因素 Factor		
	培养基 Medium	2,4-D /(mg/L)	BA /(mg/L)
1	MS	0.5	0.8
2	B <sub>5</sub>	0.8	1.0
3	N <sub>6</sub>	1.2	1.6

### 1.3 数据统计

子房接入愈伤培养基 40 d 后,统计愈伤组织形成数。每试验处理重复 3 次,每重复接 200 个外植体。数据采用 DPS 软件处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对子房培养的影响

完整子房培养与切片培养试验表明,切片的子房无法形成愈伤组织。培养基是影响子房培养的重要因素之一。当子房接种于培养基中培养 8~10 d 后,在试验各处理中均发现从子房开始膨大。培养 13~18 d 后,发现有些膨大的愈伤组织是由花托和子房壁产生的愈伤组织,这些愈伤组织呈淡绿色的颗粒(图 1-A)(因为通过对愈伤组织解剖,还能发现残缺的子房),有些愈伤组织长成淡黄色的颗粒并逐渐膨大,逐渐变成白色颗粒的愈伤组织(图 1-B)(期间白点逐渐增多,最后呈白色。愈伤组织用流式细胞仪检测单倍体细胞占 60%~85%)。表 2 表明,虽然从 MS、B<sub>5</sub> 和 N<sub>6</sub> 3 种常用于子房培养的培养基均可在供试的 8 个品种中诱导出愈伤组织,但不同的培养基在愈伤组织诱导率方面均存在极显著差异,其中 MS 诱导辣优八号的诱导率最高,达 31.7%,而 N<sub>6</sub> 诱导辣优八号 8 诱导率仅为 3.5%。除咏春一号品种外,其余 7 个供试材料在 MS 和 B<sub>5</sub> 培养基上的诱导率均高于 N<sub>6</sub>。MS 培养基上的诱导率稍好于 B<sub>5</sub> 培养基上的诱导率。试验发现,MS 培养基上的子房有些出现红色愈伤组织(和通过辣椒果皮和幼嫩种子培养的愈伤相同),可能是辣椒子房壁形成的愈伤组织<sup>[4]</sup>(图 1-C),结果还有待于进一步试验。

表 2 不同培养基对愈伤组织形成的影响

Table 2 Effect of different media on the inducement of callus

基因型 Genotype	培养基 Medium	接种子房个数 No. of anther inoculated	愈伤组织形成数 No. of callus	愈伤组织诱导率/% Percentages of callus induction
早红新秀	MS	98	21	21.4 bcdeBCDE
Zaohongxinxiu	B <sub>5</sub>	96	17	17.7 defghiCDEFGHI
	N <sub>6</sub>	90	6	6.7 lmnKLM
徐椒四号	MS	86	19	22.1 bcdBCD
Xujiaosihao	B <sub>5</sub>	92	15	16.3 efg hijDEFGHIJ
	N <sub>6</sub>	80	5	6.3 mnKLM
特大牛角椒	MS	102	24	23.5 bcBC
Tedaniujiuojiao	B <sub>5</sub>	97	18	18.5 cdefghCDEFGH
	N <sub>6</sub>	92	10	10.8 klmJKL
农城椒 2 号	MS	84	22	26.2 bAB
Nongchengjiaoerhao	B <sub>5</sub>	82	12	14.6 ghijkFGHIJ
	N <sub>6</sub>	79	5	6.3 mnKLM
硕甜二号	MS	88	17	19.3 cdefgCDEFG
Tangtianerhao	B <sub>5</sub>	92	11	11.9 jklIJK
	N <sub>6</sub>	97	4	4.1 nM
咏春一号	MS	87	12	13.8 hijkGHIJ
Yongchunyhao	B <sub>5</sub>	81	10	12.3 ijkHIJK
	N <sub>6</sub>	83	15	18.1 cdefghCDEFGHI
超硕一号	MS	78	19	24.3 bcdeBCDE
Chaotangyhao	B <sub>5</sub>	64	13	20.3 cdefBCDEF
	N <sub>6</sub>	75	4	5.3 nLM
辣优八号	MS	60	19	31.7 aA
Layoubahao	B <sub>5</sub>	65	10	15.4 fghijk EFGHIJ
	N <sub>6</sub>	57	2	3.5 nM

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著,不同大写字母表示在 0.01 水平下差异显著。下表同。

## 2.2 不同种类和浓度的生长激素对愈伤组织诱导及增殖的影响

辣椒子房离体培养 10 d 后开始膨大,40 d 后开始出现愈伤组织。此试验采用农城椒 2 号品种的子房,以 MS 为基本培养基附加不同浓度的激素(表 3)。结果表明,在不同种类和浓度的激素下,子房愈伤组织的诱导率差异显著,MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L BA 培养基上愈伤组织诱导率最高,达 25.2%;MS + 1.2 mg/L 2,4-D + 0.8 mg/L BA 的培养基愈伤组织诱导率最低为 13.7%。两者差异极显著。随后愈伤组织转入(1)MS + 1 mg/L NAA + 3 mg/L BA (2)MS + 1 mg/L NAA + 2 mg/L BA (3)MS + 1 mg/L NAA + 1 mg/L BA 3 种增殖培养基进行培养,子房愈伤组织在 3 种增殖培养基上均能不断增殖和膨大,3 种增殖培养基间无明显差异。愈伤组织不断增殖并膨大,但仍为半透明状。经过 30 d 的培养后发现在处理 1 和 2 中,有一部分

愈伤组织表面逐步形成淡黄色小颗粒(图 1-D)。随着培养时间的增加,淡黄色颗粒不断增大,且质地也相应变硬。其中在处理 1 中有 8 块愈伤组织形成淡黄色颗粒,占接种愈伤组织的 25%;处理 2 中有 3 块形成淡黄色颗粒,占接种愈伤组织的 9%,而在处理 3 中,愈伤组织仅不断膨大,无淡黄色颗粒结构形成,颜色变为半透明淡黄色(图 1-E)。随着培养基中 BA 浓度的增加,有利于辣椒子房愈伤组织形成颗粒结构。子房培养的许多研究认为,愈伤组织表面这种颗粒结构为芽原基,芽原基的形成有利于芽的分化。

## 2.3 不同基因型的影响

不同基因型材料的子房诱导率不同,即使在同一种内,同一试验方法和不同的材料间也有很大差别。本试验将 8 种不同基因型辣椒未受精子房置 MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA 培养基中培养,试验结果见表 4。从表 4 可知,从愈伤组织诱导率看,早红新秀与农城椒 2 号及辣

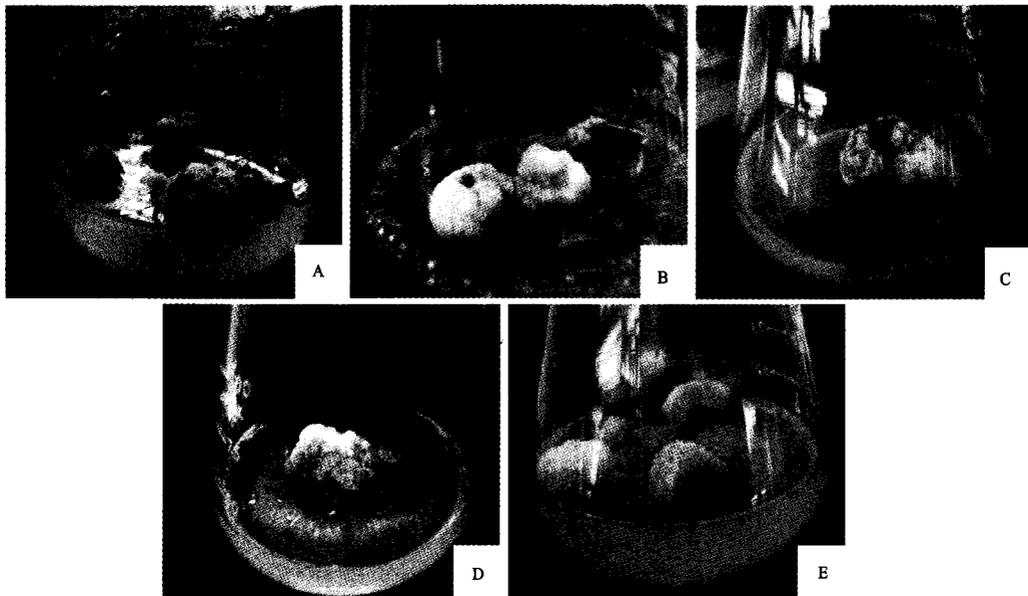
优八号间差异不显著;徐椒四号、特大牛角椒、  
甜二号和超畅一号间差异不显著。早红新秀、农  
城椒 2 号、辣优八号都与其他 5 个品种辣椒差异

显著。其中辣优八号品种愈伤组织的诱导率最  
高,达 25%,而咏春一号仅为 12%,两者差异极显  
著。

表 3 不同激素浓度及对比对愈伤组织形成的影响

Table 3 Effect of hormone concentration and proportion on the callus induction

2,4-D 浓度/(mg/L) Concentration of 2,4-D	BA 浓度/(mg/L) Concentration of BA	接种子房个数 No. of ovaries inoculated	愈伤组织形成数 No. of callus	愈伤组织诱导率/% Percentages of callus induction
0.5	0.8	180	32	17.7 dC
	1.0	174	44	25.2 aA
	1.6	210	44	21 bcB
0.8	0.8	162	26	16 efD
	1.0	274	45	16.4 dfCD
	1.6	256	51	20 cB
1.2	0.8	204	28	13.7 gE
	1.0	291	43	14.8 fgDE
	1.6	200	43	21.5 bB



A. 花托和子房壁产生的愈伤组织; B. 子房形成的愈伤组织; C. 红色愈伤组织; D. 淡黄色颗粒愈伤组织; E. 半透明的愈伤组织  
A. Calluses from receptacle and ovary wall; B. Calluses formation from ovaries; C. Red calluses of unfertilized ovaries in pepper; D. Light yellow gritty calluses; E. Translucent calluses

图 1 辣椒子房愈伤组织的诱导与增殖

Fig. 1 Propagation and inducement of callus from unfertilized ovaries in pepper

表 4 不同基因型对愈伤组织形成的影响

Table 4 Effect of different genotypes on the inducement of callus

基因型 Genotype	接种子房个数 No. of ovaries inoculated	愈伤组织形成数 No. of callus	愈伤组织诱导率/% Percentages of callus induction
早红新秀 Zaohongxinxiu	120	28	23.3 aAB
徐椒四号 Xujiaosihao	154	27	17.5 bCD
特大牛角椒 Tedaniujiuojiao	173	28	16.1 bcCD
农城椒 2 号 Nongchengjiaoerhao	98	24	24.4 aA
畅甜二号 Tangtianerhao	106	15	14.1 bcCD
咏春一号 Yongchunyhao	125	15	12 cD
超畅一号 Chaotangyhao	140	25	17.9 bBC
辣优八号 Layoubahao	96	24	25 aA

## 2.4 花蕾的外部形态以及花药发育时期与子房的关系

从表 5 可以看出,在供试的 6 个材料中花药正、背面浅紫色所占比例与花药的发育时期有着较为密切的关系。当花药背面浅紫色占 1/4 时,该花药的花粉粒发育期以单核靠边期为主,供试的 6 个品种间基本一致,均在 70% 以上。因此,

可将辣椒花药正、反面浅紫色所占比例作为间接判断花药发育时期的一个简单而可靠的方法,免去接种时每个花蕾均需镜鉴而确定花粉粒发育时期这一复杂步骤,减少污染率,提高了接种率。不同子房发育时期的研究表明,不同作物子房培养要求的最适大孢子发育时期不同,而大孢子发育时期和小孢子的发育时期有相关性<sup>[5]</sup>。

表 5 花药颜色与花药发育时期的关系

Table 5 Relations between anther color and different stage of anther development

基因型 Genotype	花药正面浅紫色所占比率 The rate of light purple (front of anther)	花药背面浅紫色所占比率 The rate of light purple (front of back)	花药发育时期所占比例/% Percentages of different stage anther			
			四分体 Tetrad	单核中期 Medial uninucleate	单核靠边期 Late uninucleate	双核期 Binucleate
早红新秀	1/4	0	80	15	0	0
Zaohongxinxiu	1/3	0	15	85	5	0
	1/2	1/4	5	7.5	80	10
	2/3	1/3	0	7.5	10	85
	1/4	0	90	7.5	0	0
Xujiaosihao	1/3	0	15	87.5	0	0
	1/2	1/4	2.5	10	85	2.5
	2/3	1/3	0	5	15	80
	1/4	0	82.5	2.5	0	0
Tedaniujiuojiao	1/3	0	12.5	87.5	2.5	0
	1/2	1/4	12.5	10	75	10
	2/3	1/3	0	10	10	85
	1/4	0	80	20	0	0
Nongchengjiaerhao	1/3	0	12.5	87.5	0	0
	1/2	1/4	5	7.5	77.5	10
	2/3	1/3	0	5	5	90
	1/4	0	75	15	10	0
Tangtianerhao	1/3	0	15	77.5	7.5	0
	1/2	1/4	0	17.5	70	12.5
	2/3	1/3	0	5	7.5	87.5
	1/4	0	85	12.5	0	0
Layoubahao	1/3	0	15	80	5	0
	1/2	1/4	5	10	80	7.5
	2/3	1/3	2.5	10	12.5	7.5

## 2.5 不同消毒方法对辣椒子房培养污染的影响

3 种辣椒花蕾消毒方法对子房培养污染率的影响试验表明(表 6),花蕾在 70% 酒精中浸泡 30 s 后用 0.1% 升汞消毒 7 min 的消毒方法(B)最

好,污染率仅为 17%,但不消毒(CK)与只用 70% 酒精擦洗花蕾表面(A)的两种方法污染率较高,且与 B 处理效果差异极显著。所以,从实用的角度考虑,辣椒花蕾消毒应采用 B 处理种方法。

表 6 不同消毒方法对子房培养的影响

Table 6 Effect of different sterilization ways on contamination of ovaries

消毒方法 Ways of sterilization	接种子房个数 No. of ovaries inoculated	污染子房个数 No. of ovaries contaminated	污染率/% Percentage of contamination
(A) 70% 酒精擦洗花蕾表面 Surface-sterilized with 70% alcohol	50	20	40 bB
(B) 70% 酒精 30 s+0.1% 升汞 7 min (B) 70% alcohol 30 s+0.1% HgCl <sub>2</sub> 7 m	65	11	17 cC
(CK) 不消毒 (CK) No sterilization	40	33	82.5 aA

## 2.6 不同碳源及配比对辣椒未受精子房培养愈伤组织诱导的影响

表 7 为 5 种不同蔗糖和麦芽糖的配比对辣椒子房愈伤组织诱导的影响结果。从表 7 可见,处理 1 的愈伤诱导率农城椒 2 号为 21.6%,处理 2 为 21.8%,处理 3 和 4 均为 17%,与处理 1 和 2 差异极显著。早红新秀处理 1 的愈伤诱导率为

20.4%,处理 2 为 21.2%;处理 4 为 16.1%,处理 5 为 16.7%,与处理 1 和 2 差异极显著。愈伤组织生长状况:处理 3 下农城椒 2 号稍差,其他处理下无差异。结果表明,在两个供试材料中,对其愈伤组织的诱导率及愈伤组织的生长状况而言,以 3%蔗糖+3%麦芽糖为最适碳源。

表 7 不同碳源对愈伤组织形成的影响

Table 7 Effect of different carbon resources on callus induction

基因型 Genotype	处理 Treatment	接种子房个数 No. of ovaries inducted	愈伤组织形成数 No. of callus	愈伤组织诱导率/% Percentages of callus induced	愈伤组织生长状态 Growth condition of callus
农城椒 2 号 Nongchengjiaoerhao	1	120	26	21.6Aab	++
	2	110	24	21.8Aa	++
	3	118	20	17Bc	+
	4	105	18	17Bc	++
	5	100	21	21Aab	++
早红新秀 Zaohongxinxiu	1	98	20	20.4Ab	++
	2	99	21	21.2Aab	++
	3	120	25	20.8Aab	++
	4	118	19	16.1Bc	++
	5	120	20	16.7Bc	++

注:+,愈伤组织较发达;++,愈伤组织发达;1.6%蔗糖;2.4%蔗糖+2%麦芽糖;3.3%蔗糖+3%麦芽糖;4.2%蔗糖+4%麦芽糖;5.6%麦芽糖。

Note:+,strong callus;++,strong callus;1.6% sucrous;2.4% sucrous+2% maltose;3.3% sucrous+3% maltose;4.2% sucrous+4% maltose;5.6% maltose.

## 3 讨论

通过对子房的离体培养来诱导大孢子或雌配子体产生单倍体植株是国内外探索的一个新课题。它突破了传统胚胎学仅限于体内研究的局限,也为单倍体植物的诱导和利用开辟了新的技术路线。从子房离体培养诱导雌配子体的细胞产生单倍体植株在单倍体育种上同样具有重要实用意义。对辣椒来说,离体花药培养是得到单倍体的主要途径。由于花药培养存在胚状体诱导率低、再生植株分化率低、混倍现象严重、体细胞干扰、单倍体植株人工加倍效果不好、诱变畸变率较高、基因之间的重组率较低及重组二倍体不易获得等问题,限制了这项技术的发展和推广。大量实践研究表明,未受粉子房离体培养直接获得二倍体的频率较高,且诱导率高于花药培养,产生的再生植株在移植时较花药培养更容易成活。前人的研究表明,由孤雌生殖培养得到的纯系在农艺性状以及遗传力多样性等各个方面都没有任何下降,未受粉子房离体培养体系可以作为外源基因转化的良好受体,外源基因整合进入单倍体细胞的基因组后可以稳定地遗传,而不会发生分离。

与花药培养相比,离体雌核发育产生的单倍体具白化苗少(特别在禾本科中),后代染色体组成稳定、育种进程短等优势。因此,未受粉子房培养在辣椒及其他作物的育种实践中有巨大的应用潜力。此项技术在大白菜、油菜上已投入生产应用。目前的研究仅是一个开端,未授粉子房离体培养最终将成为辣椒育种的重要手段。

研究未授粉子房离体培养的最适宜条件,是一项全面而复杂的工作,它需要广泛研究各个因素对未授粉子房的影响,其中包括供体子房的发育阶段、培养基的组成成分以及接种后的培养条件等<sup>[6]</sup>。20 世纪 80 年代初,国内外学者进行了大量的植物未受精子房的组织培养研究,在小麦和烟草<sup>[7]</sup>、水稻<sup>[2]</sup>、玉米<sup>[8]</sup>、百合和青稞<sup>[9-10]</sup>都选用花粉发育在单核晚期的子房进行培养并都首次获得了单倍体植株。子房发育时期对于子房诱导愈伤起至关重要的作用,A. Gemes 等<sup>[11]</sup>的研究表明,不同采样时期对诱导黄瓜未授粉子房得到单倍体植株有一定影响,接种水稻大孢子时期的子房不能诱导雌核发育愈伤组织,而单核至成熟胚囊期的子房均能产生雌核发育愈伤组织<sup>[12-13]</sup>,且以单核至四核时期的诱导率较高<sup>[4]</sup>。而子房的

结构比较复杂,发育时期不容易确定,我们在试验中发现,用花药发育时期确定是可取的。本试验以农城椒 2 号为材料,在 MS + 0.5 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA 中培养比较了四分体时期,单核中期、单核靠边期和双核期花粉发育时期的子房四分体时期诱导率为 16.3%;单核中期 14.9%;单核靠边期为 24.2%;双核期为 18.6% (根据发育时期和外部形态的关系,以外部形态为依据,采花粉处于各个时期的子房)。结果表明,单核靠边花药发育时期的子房诱导率最高。不同基因型洋葱 (*Allium cepa*) 在培养中的诱导率差异明显<sup>[14-16]</sup>,在辣椒子房培养中,不同基因型之间愈伤组织诱导率存在显著差异。本试验供试的 8 个品种中,培养效果之间也存在明显差异,最高和最低间相差一倍多。一般认为,不同基因型间存在的诱导率的差异是一种受基因调控的遗传性,受显性或部分显性基因控制。在对外植体的消毒方面,辣椒的花蕾消毒与否对污染率的影响很大,可能是辣椒花蕾结构的影响。

辣椒子房的培养通常采用固体培养基,关于适合辣椒子房培养的基本培养基已有不同的报道,但主要集中在 MS、B<sub>5</sub> 和 N<sub>6</sub>。本研究结果表明,虽然 3 种培养基均可诱导子房产生愈伤组织,但从愈伤组织诱导的效果来看,MS 和 B<sub>5</sub> 培养基均略好于 N<sub>6</sub>,同时不同基因型对同一培养基的反应也存在不一致性。比较这 3 种培养基可以看出,其差异主要在微量元素上,MS 和 B<sub>5</sub> 比 N<sub>6</sub> 多了 Na<sub>2</sub>MO<sub>4</sub>、CoCl<sub>2</sub> 和 CuSO<sub>4</sub> 3 种微量元素,这 3 种盐在辣椒子房培养中可能起重要的作用。蔗糖和麦芽糖的不同配比对子房愈伤组织诱导率有显著差异,可能因为这两种糖的分子结构不同所致。不同种类和浓度的生长激素对子房离体培养愈伤组织的诱导与增殖影响不同,青稞<sup>[8]</sup>在只含 2 mg/L 2,4-D 的培养基上时,愈伤组织的诱导率为 7.27%,在 2 mg/L 2,4-D+4 mg/L BA 上的诱导率为 26.86%。2,4-D 与 BA 的适宜组合可提高愈伤组织的诱导率,而 NAA 与 BA 的搭配组合对促进愈伤组织的增殖效果更好。辣椒愈伤在

培养过程中极易褐化,加活性炭和 AgNO<sub>3</sub> 效果都不明显。子房愈伤组织的分化尚需进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1983. 209-211.
- [2] 周 嫦, 杨弘远. 从水稻未授粉的幼嫩子房培养出单倍体小植株[J]. 遗传学报, 1980, 7(3): 287-288.
- [3] 陈小鹏, 刘栓桃, 孙小镭, 等. 黄瓜未授粉子房的胚状体诱导研究初报[J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 148-151.
- [4] 杨金玲, 赵德修, 桂耀林, 等. 水母雪莲体细胞胚胎发生及其植株再生[J]. 西北植物学报, 2001, 21(2): 252-256.
- [5] 杨春雪, 申家恒. 星星草大、小孢子发生与雌、雄配子体发育的观察[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(6): 464-470.
- [6] 付迎军, 任海洋, 白艳凤, 等. 玉米未授粉子房离体培养及植株再生[J]. 玉米科学, 2005, 13(2): 33-35, 38.
- [7] 祝仲纯, 吴海珊. 从未授粉的小麦及烟草子房培养出单倍体植株[J]. 遗传学报, 1979, 6(2): 181-182.
- [8] 敖光明, 赵世绪, 李广华. 从未授粉的玉米子房培养出单倍体植株[J]. 遗传学报, 1982, 9(4): 281-282.
- [9] 谷祝平, 郑国钊. 百合未传粉子房的培养及其胚胎学观察[J]. 植物学报, 1983, 25(1): 24-28.
- [10] 谷祝平, 郑国钊. 从未授粉的青稞子房培养出单倍体植株[J]. 植物学报, 1984, 26(5): 549-551.
- [11] Gemes-Juhasz A, Balogh P, Ferenczy A, et al. Effect of optimal stage of female gametophyte and heat treatment on in vitro gynogenesis induction in cucumber (*Cucumis sativus* L.) [J]. Plant Cell Rep, 2002, 21: 105-101.
- [12] 周 嫦, 杨弘远. 诱导水稻胚囊产生愈伤组织的离体实验[J]. 遗传, 1981, 3(5): 10-12.
- [13] 周 嫦, 杨弘远, 田惠桥, 等. 水稻的未传粉子房培养[J]. 武汉大学学报: 自然科学版, 1983, (4): 146-153.
- [14] Keller J. Culture of unpollinated ovules, ovaries and flower buds in some species of the genus *Allium* and haploid induction via gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.) [J]. Euphytica, 1990, 47: 241-247.
- [15] Geoffriau E, Kahane R, Rancillac M. Variation of gynogenesis ability in onion (*Allium cepa* L.) [J]. Euphytica, 1997, 94: 37-44.
- [16] Bohanec B, Jaksc M, Ihan A, et al. Studies of gynogenesis in onion (*Allium cepa* L.): induction procedures and genetic analysis of regenerants [J]. Plant Sci, 1995, 104: 215-224.