

辣椒组织培养再生体系的建立与应用

邱萃¹, 何水林²

(1. 福建农林大学园艺学院; 2. 福建农林大学生命科学学院, 福建 福州 350002)

摘要: 综述了辣椒再生体系的建立及其转基因等方面的研究进展, 以期为进一步建立辣椒高效组织培养再生体系以及开展其在基因工程中的应用研究提供依据。

关键词: 辣椒; 组织培养; 转基因

中图分类号: S641.3 文献标识码: A 文章编号: 1673-0925(2006)04-0304-05

Progress in the construction of *in vitro* regeneration system of pepper and its application

QIU Cui¹, HE Shui-lin²

(1. College of Horticulture; 2. College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The progress in the construction of *in vitro* regeneration system of pepper (*Capsicum annuum*) and its gene transformation were summarized, in order to help the further study of *in vitro* culture and gene transformation of pepper.

Key words: pepper; *in vitro* culture; gene transformation

辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 又名番椒、海椒、青椒、椒子等, 是一种重要的茄科蔬菜作物, 在世界各地广为栽培。辣椒含有人体必需的碳水化合物、蛋白质以及各种维生素等, 具有很高的营养价值。辣椒果实中的辣椒素能与人体内一类称作“细胞色素 P-45”的生物酶相互作用, 抑制致癌物质的形成, 因此具有很高的药用价值^[1]。中国是世界上最大的辣椒种植国^[2], 适宜生产优质辣椒, 在国际市场竞争中具有很大潜力^[3]。辣椒组织培养再生体系及其遗传转化体系的建立, 是现代遗传改良方法在辣椒育种上应用的重要基础。通过基因工程技术和细胞工程等遗传改良技术培育辣椒新品种是提高产量、改良品质的关键。辣椒组织培养再生体系的研究和应用近年来引起了人们的高度关注, 并取得了显著的进展。本文综述了辣椒组织培养再生体系的建立与应用的研究进展, 旨在为进一步开展辣椒生物技术育种奠定基础。

1 辣椒组织培养与再生体系的建立

自从 Gunay et al^[4] 首次开展辣椒组织培养工作以来, 国内外相继出现采用不同的辣椒外植体, 如子叶^[5]、茎尖^[6,7]、茎段^[8,9]、叶片^[10,11]、下胚轴、子叶柄^[12]、花药及其原生质体^[13] 等进行组织培养的报道。但辣椒组织培养具有很强的基因型特异性, 再生效率不理想, 在多数试验中植株的再生周期长或分化频率低。其不定芽的生长能力较差, 有的甚至停留在芽诱导阶段而不能进一步生长。这在很大程度上限制了辣椒基因工程的研究进展。目前主要通过筛选高诱导率的基因型、优化激素配比、添加生长因子以及改变培养方式等途径来提高其再生效率。

1.1 组织培养的影响因子

1.1.1 基因型 辣椒组织培养受基因型影响很大, 不同基因型的分化效率差别很大^[14]。沈火林等^[15] 报道 35 个辣椒品种再生芽的诱导率为 40% - 100%, 并认为辣味型品种比甜味型品种更容易诱导出芽。Szasz et al^[16] 对 17 个辣椒品种的研究结果也与其相同。龙凤等^[17] 也认为不同基因型辣椒的子叶、下胚轴在离体培养条件下, 芽分化频率差别较大 (变化范围在 50% - 90%)。其他一些研究也表明, 基因型材料对辣椒离体培养植株再生体系有显著影响^[18,19]。因此, 选择适当的基因型材料是建立高效植株再生体系的一个重要环节^[2]。

1.1.2 外植体 辣椒的子叶、茎尖、下胚轴等都可以作为外植体进行组织培养。有报道^[20] 表明可用成熟

收稿日期: 2006-08-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30571128)。

作者简介: 邱萃 (1981-), 女, 硕士。研究方向: 蔬菜生物技术。

的合子胚进行突尼斯辣椒的离体培养。大部分研究表明下胚轴的诱导效率低于子叶^[3,15]。刘国民等^[8]认为形成丛芽的能力大小依次为:下胚轴 > 子叶 > 胚根;柳建军等^[21]认为带柄子叶的分化显著优于子叶和下胚轴;但崔群香等^[19]对试验综合成苗系数与诱导频率进行研究,认为去根和子叶的苗尖更有利于彩色辣椒离体再生成功。因此以辣椒幼苗为外植体,大多采用无菌苗子叶建立离体再生系统。陈静娴等^[22]认为来源于同一器官不同部位的外植体也能影响组织培养的效果,如子叶的叶缘部分很难生长、分化,而子叶的中部能够形成较理想的愈伤组织,且成苗率也高。以植物不同器官为外植体的组织培养效果有差异,这可能是由于植物器官内源激素分布不均造成的。

诱导芽分化有以下2条途径,即直接诱导成芽和形成愈伤组织后再分化成芽。在辣椒的离体培养中,多数选择从子叶直接诱导芽分化途径,可以获得很高的分化率;而从愈伤组织再分化成芽,虽也可再生植株,但较费时,且诱导效率低^[15]。

子叶外植体的大小对再生苗的诱导也有一定影响。外植体较大,愈伤组织形成快,但分化率有所下降;外植体过小,分化慢且后期伸长困难。一般接种的下胚轴切段长0.2-0.5 cm左右,子叶切块为0.3 cm × (0.3-0.5) cm^[1]。何晓明等研究认为叶片被切成0.5 cm × 1 cm小块时诱导再生芽的效果较好^[10]。此外,外植体切口应尽量平整,否则会影响不定芽的诱导效率。

1.1.3 苗龄 辣椒苗龄对再生频率也有很大影响。一般认为适于离体培养的子叶叶龄为12-16 d。叶龄增加,再生能力降低。柳建军等^[23]认为无菌苗苗龄的大小,对带柄子叶的分化再生能力有很大影响,3 d的苗几乎不分化;6-12 d的苗分化率较高,其中6-9 d的苗分化率最高,分化能力最强;苗龄达15 d的分化率明显降低,且分化的芽数也少。吴纲^[24]也认为苗龄为10-15 d时分化能力最强。但周钟信等^[25]以30 d叶龄子叶为外植体进行培养,也获得再生植株,而且芽分化率、移栽成活率均为100%。

1.1.4 培养基 (1)基本培养基的影响。培养基也是离体培养的关键因素。目前辣椒组织培养所用的基本培养基绝大多数是MS培养基;但2003年Li et al^[26]采用DM1培养基,即以MS中的盐和维生素B₅为基本培养基进行子叶培养,花药培养使用NTH培养基^[27]。何晓明等^[13]则使用KM8P培养基进行原生质体培养。基本培养基不仅为外植体提供代谢所需的养分,而且对外植体的植株再生有影响^[11]。王朋等^[11]认为培养基中铵态氮与硝态氮的比例和钾、钙、镁之比明显影响叶片的再生频率,硝态氮与铵态氮较适宜的比例为4:1,钾、钙、镁较适宜的比例为3:3:1。

(2)激素的影响。前人研究表明,基本培养基对辣椒组织培养的影响不显著,而基本培养基中附加的激素种类、不同激素之间的配比以及其他生长因子对辣椒组织培养有较大影响。

一般认为细胞分裂素影响细胞分裂、顶端优势的变化和茎的分化。因此在培养基中加入细胞分裂素的目的,主要是促进细胞分裂和不定芽的分化^[28]。但有报道表明细胞分裂素还可以刺激辣椒花芽的分化^[14]。李慧英等^[29]对不同含量的BA、ZT、KT等细胞分裂素对辣椒子叶再生频率的影响进行分析,结果表明,BA、ZT的最佳含量分别为4.0、3.0 mg · L⁻¹,KT基本上不能诱导不定芽。何晓明等^[10]也认为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,这与其他研究^[20]的结果一致。

在组织培养中,生长素被用于诱导细胞的分裂和根的分化^[28]。合适的激素浓度配比对于诱导产生较好质量的愈伤组织及其随后的分化至关重要^[30]。各种激素组合均能不同程度地诱导出愈伤组织,但诱导效率和愈伤组织的质量不同。高浓度2,4-D最易诱导愈伤组织,但愈伤组织质地疏松透明,不能分化芽^[15],因此在愈伤组织和芽的诱导过程中一般不用2,4-D^[1]。何晓明等也认为2,4-D对不定芽的分化有明显的抑制作用,对NAA与IBA也有一定的抑制作用,但IAA与BA配合使用使叶片不定芽分化频率明显提高。但陈静娴等^[22]研究表明:生长素类物质对辣椒子叶的发根很敏感,生长素含量降到很低时仍有根的发生;完全去除生长素后才有正常芽的发生,这可能是由于辣椒内源生长素物质含量较高。

GA₃可诱导芽的伸长^[20],但若在芽分化培养基上添加GA₃,则会抑制芽分化,产生大量愈伤组织。何晓明等也认为分化培养基中加入GA₃,可以有效地促进不定芽伸长,但使不定芽的分化频率有所下降;当GA₃含量增至2.5 mg · L⁻¹时,不定芽的分化明显被抑制,且不定芽畸形生长,说明GA₃含量以1-1.5 mg · L⁻¹为宜^[10]。

杨国顺等^[31]认为ABA对辣椒子叶不定芽分化有一定的抑制作用,但在分化期添加ABA能显著提高不定芽的伸长率,从而推测ABA虽为一种生长抑制剂,但对植物器官完成正常的形态分化也有一定的促进作用。

(3) 有机添加物的影响。崔群香等^[19]研究表明,有机添加物尤其是不同配比的氨基酸对于辣椒离体再生至关重要;吴刚^[24]试验表明,添加椰子水(CW),对促进彩色辣椒子叶外植体分化成苗影响显著;另外培养基中添加有机物如 VB₅^[32]、水解酪蛋白和 LY(氨基酸混合物)^[33]、ZH^[34]等有机成分也能够提高辣椒的再生频率;黎定军等^[35]在辣椒组织培养中使用了 DJ 添加物,其中 w (辣椒幼苗茎叶提取汁液): w (卡那霉素) = 500:1,并配以 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA、 $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ AgNO₃,得到的分化率为 92.3%,伸长率为 57.8%。范志强等^[36]发现活性炭和 V_C 能有效地防止外植体褐化,但是对外植体的再生有一定的负面影响。

(4) AgNO₃ 的影响。硝酸银作为一种乙烯抑制剂,对于玉米胚性愈伤组织诱导再生植株有促进作用^[28]。一些研究者发现在诱导芽分化时,外植体切口易产生褐化现象,从而使芽的诱导受影响。添加一定浓度的 AgNO₃ 可以抑制褐变^[28],促进芽的分化。柳建军等^[23]试验表明,在筛选出的最佳培养基中添加 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AgNO₃,辣椒的分化率可显著提高,并且诱导时间缩短。有报道表明虽然 AgNO₃ 对分化有促进作用,但高浓度 AgNO₃ 也会导致畸形芽的形成。这可能是因为 Ag⁺ 为重金属离子,它虽抑制乙烯的产生而促进分化,但同时也对植物细胞的生理代谢有一定毒害作用^[28]。

(5) 培养条件的影响。辣椒组织培养通常在 25 ℃、12 - 16 h · d⁻¹ 光照、1200 - 2000 lx 光强条件下进行。沈火林等^[15]认为 4 ℃ 低温处理 1 h 或 40 ℃ 高温处理 0.5 h,可使不易分化芽的品种提高芽分化率近 1 倍;而对较易分化的品种效果不显著。提高蔗糖质量分数(6%)也有利于分化,暗培养不利于分化。周钟信等^[28]研究了温度、光强、光质和光照时间对辣椒离体培养的影响,发现适宜的培养温度为 26 - 28 ℃,采用 16 h 光照加 8 h 黑暗培养可获得较好的效果。周钟信等^[28]还认为用混合光(日光灯 + 白炽灯)培养优于日光灯,弱光(30 W)培养优于强光(150 W)培养。而在实际培养中一般采用日光灯为光源。

1.2 花药、原生质体及胚培养的研究进展

除以子叶、下胚轴等为外植体进行组织培养外,辣椒花药培养也取得了较大进展。早在 1973 年,王玉英等就报道通过花药培养获得了辣椒单倍体植株^[37]。张子君等^[27]通过花药培养诱导胚状体成苗,其诱导率在 5% 左右。我国已经通过花药培养选育出海花系列辣椒优良品种,并在生产上大面积推广种植^[36]。但总的来讲,辣椒花药培养的效率偏低,这限制了其在辣椒双、单倍体育种中的应用。

原生质体是理想的遗传操作受体。何晓明等^[13]通过辣椒品系 WIP199 原生质体培养获得愈伤组织,再分化成苗,5 个月后获得了再生苗,原生质体的分化率为 7%,愈伤组织诱导效率为 11%,因此原生质体培养的效率并不理想。目前利用辣椒原生质体作为受体进行基因操作的报道仍不多见。

采用胚培养可克服胚的败育,缩短选育时间,提高常规杂种优势育种的效率。Marla et al 对未成熟和成熟的合子胚进行诱导,通过体细胞胚胎发生途径获得再生植株,建立和完善了合子胚早期鉴别的方法和离体培养技术。Arous et al^[20]也用成熟的合子胚培养,获得成功。国内只有徐矿红等^[38]进行了辣椒成熟胚培养的研究,利用组织培养手段,选用 1/2 MS 固体培养基对辣椒成熟胚进行培养,使其萌发成苗,然后移栽于大田,便可以采收到在遗传上无异于亲代的种子。这一技术为辣椒种质资源的收集提供了一条新的有效途径。

综上所述,目前辣椒组织培养已经取得了较大进展,但仍然有一些难题急需解决。首先,辣椒组织培养具有较明显的基因型依赖性,不同品种及变种之间的组织培养效果差别很大,这限制了组织培养技术的应用;其次,辣椒离体培养过程中有一个关键问题是再生芽不易进一步伸长,大多只能见到叶状丛芽。辣椒不定芽伸长困难,这一直是建立高频再生系统的障碍^[11]。根据郑文静等的报道,辣椒不定芽伸长难的主要原因是由于其内源生长素水平较低,如离体培养时无外源生长素补充就会出现丛芽等问题,以致成苗率较低^[9]。另外辣椒组织培养还存在褐化现象严重等问题。花药、原生质体及胚再生培养周期长,再生效率低,且重复性不够好。针对以上问题,今后研究的重点应放在最佳基本培养基的筛选以及激素种类和浓度的最佳搭配^[39]等方面。

2 辣椒遗传转化研究进展

探索和建立新的、更为高效的植物遗传转化体系是为了方便、有效地将外源基因导入植物体内。近年来,随着基因工程技术的日臻完善,目的基因的分离、高效表达载体的构建、植物再生体系的建立以及外源基因在植物细胞内表达调控等方面研究的不断深入,许多重要农作物的转基因工程研究都取得了重大突破,获得了一批优质、抗病虫害、抗除草剂和抗逆的转基因作物^[40]。

植物转基因常用的方法有农杆菌介导转化法、微弹轰击法(基因枪法)、聚乙二醇法、电穿孔法、声波法及花粉管途径法等。辣椒转基因最常用的方法是根癌农杆菌介导的叶盘转化法。Liu et al^[41]首先对用根癌农杆菌转化辣椒子叶和下胚轴的研究作了报道, Chunzhi et al^[42]、Zhang et al^[43]先后获得了转基因植株。目前,辣椒转基因已经应用于以下几个领域。

2.1 抗病毒基因工程

周钟信等^[25]将黄瓜花叶病毒衣壳蛋白(CMV cp)基因转入了西椒1号。Yu et al^[44]也将CMV cp基因转入了中华2号。毕玉平等^[34]在构建了TMV cp和CMV cp双价表达载体和建立了辣椒高效转化体系的基础上,用农杆菌介导法转化了农大40号和湘研1号。李华平等^[45]将CMV cp基因用农杆菌介导法转入华椒17号。商鸿生等^[46]用CMV和TMV的cp基因转化了线辣椒的优良品种陕8212,建立了F₁代纯合系。

2.2 抗真菌基因工程

由于现阶段基因分离技术还不够完善,有用的目的基因的获得受到很大限制,尤其抗真菌的目的基因更少, Kim et al^[47]将有抗真菌病基因(RIP基因)的POA-RIP导入辣椒。

2.3 抗细菌基因工程

李乃坚等^[48]将昆虫抗菌肽B、D基因构建而成的双价质粒Pcdb-Ⅱ导入辣椒,获得了1200多株再生植株。分子生物学检测及抗性试验表明,转基因辣椒不但显示抗菌肽基因整合的信号,而且对青枯假单胞菌也表现出较强的抗性。

2.4 抗虫基因工程

目前应用广泛的抗虫基因主要有Bt基因、CpT I(胰蛋白酶抑制剂基因)和植物凝集素基因等,而辣椒抗虫基因的研究报道还较少,柳建军等^[23]将基因CpT I转入益都羊角椒中;王朋等^[11]将CpT I基因导入辣椒,获得了抗性植株。

Tsaftarris et al^[49]报道了将耐除草剂基因(pat基因)的质粒PKB16.41导入红辣椒。

3 展望

在高频离体植株再生体系基础上开展外源基因的转移,或花药、花粉、小孢子的培养,是选育优质、高抗育种材料和培育优良辣椒品种的有效途径之一。它能极大地缩短育种年限,节约人力、物力和财力,但其应用潜力的发挥依赖于高效离体培养再生体系的建立。由于选材以及其他方面的原因,多数试验中,辣椒的再生周期长或分化频率低、不定芽生长能力差,有的甚至停留在芽的诱导阶段,因此尚不能满足利用基因工程育种培育大量转基因苗的要求。将来可望通过优化培养基和培养条件,建立与各种基因型辣椒材料相适应的离体再生培养体系,从而促进生物技术辣椒育种中的应用。

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,邹学校,周群初,等.辣椒子叶离体培养植株再生研究[J].长江蔬菜,2003(6):36-39.
- [3] 上官晓霞,吴霞,张林水,等.辣椒农杆菌介导转化体系的建立及外源基因的转化[J].华北农学报,2003,18(2):5-8.
- [4] GUNAY A L, RAO R S. *In vitro* plant regeneration from hypocotyl and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plant Sci Lett, 1978(11):365-372.
- [5] 周雪飞,刘春松,唐茂菊,等.辣椒子叶组织培养[J].长江蔬菜,2001(7):32-33.
- [6] 周俊,彭湘儒.辣椒茎尖培养脱毒研究[J].西北农业学报,1996,5(3):23-26.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 吴鹤鸣,赵华命.辣椒茎、叶离体培养中生长调节剂的作用[J].江苏农业学报,1992,8(4):48.
- [10] 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.
- [11] 王朋,王关林,方宏筠.抗虫基因(CpT I)辣椒转化的初步研究[J].沈阳农业大学学报,2002,33(1):30-32.
- [12] DONG C Z. Transgenic tomato and pepper plants containing CMV Sat. RNA DNA[J]. Acta Horticulture, 1995,402:78-76.

- [13] 何晓明,王鸣,王喆. 辣椒子叶原生质体培养和植株再生[J]. 园艺学报,1997,24(3):298-300.
- [14] MAGDALENA T S, LUCYNA D, MARIA S. Effect of cytokinins on *in vitro* morphogenesis and ploidy of pepper *Capsicum annuum* L. [J]. Electronic Journal of Polish Agriculture Universities, 2002,5:1.
- [15] 沈火林,王志源,蒋健箴,等. 辣椒的组织培养与植株再生[J]. 北京农业大学学报,1993,19(2):73.
- [16] SZASZ A, NERVO G, FAYI M. Screening for *in vitro* shoot-forming capacity of seedling explants in red pepper (*Capsicum annuum* L.) gene types and efficient plant regeneration using thidiazuron[J]. Plant Cell Report,1995,14(10):666-669.
- [17] 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.
- [18] 曹冬孙,贾士荣. 青椒子叶培养及植株再生[J]. 园艺学报,1993,20(2):171-175.
- [19] 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.
- [20] AROUS S, BOUSSAID M, MARRAKCHI M. Plant regeneration from zygotic embryo hypocotyls of *Tunisian chili* (*Capsicum annuum* L.) [J]. Appl Hort, 3(1):17-22.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 周钟信,粟密兰,陈德芬,等. 辣椒诱导再生及黄瓜花叶病毒外壳基因转化研究初报[J]. 华北农学报,1991,6(4):69-72.
- [26] LI D, ZHAO K, XIE B, et al. Establishment of a highly efficient transformation system for pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plant Cell Report, 2003,21:785-788.
- [27] 张子君,徐矿红,田云. 辣椒花药培养诱导胚状体成苗[J]. 辽宁农业科学,2000(4):43-45.
- [28] 周钟信,张宗江,刘艳军,等. 辣椒子叶离体培养再生植株[J]. 华北农学报,1994,9(2):59-63.
- [29] 李英慧,李艳,杭晓明,等. 细胞分裂素对辣椒子叶再生的影响[J]. 园艺学报,2001,28(3):270-272.
- [30] 李学宝,陈光荣,金波. 辣椒 (*Capsicum annuum* L.) 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.
- [31] 杨国顺,谢丙炎,蒋芳玲,等. 多胺与脱落酸对辣椒子叶再生的影响[J]. 园艺学报,2003,30(5):603-605.
- [32] 叶志彪,李汉霞,张健,等. 辣椒转基因植株再生[J]. 植物学报,1993(35):88-93.
- [33] 余小林,李乃坚,黄自然,等. 辣椒子叶离体培养和植株再生体系的建立[J]. 园艺学报,2000,27(1):42-46.
- [34] 毕玉平,单蕾,王兴军,等. 双抗 TMV + CMV 辣椒转基因工程植株的再生及抗病毒鉴定[J]. 华北农学报,1999,14(3):103-108.
- [35] 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.
- [36] 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.
- [37] 王立浩,张宝玺. 辣椒花药培养研究进展[J]. 中国蔬菜,2001(3):52-53.
- [38] 徐矿红,张子天,田云. 辣椒成熟胚培养技术在种质资源搜集中的应用[J]. 辽宁农业科学,2000(1):28-29.
- [39] 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:自然科学版,2001,14(2):34-36.
- [40] 余小林,李乃坚,李颖,等. 辣椒不同品种与不同分化批次的再生植株对其基因转化频率的影响[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2000,36(4):437-440.
- [41] LIU W, PARTOTT W A, HILCDEHRAND D F, et al. Agrobacterium induced crown gall formation in bell pepper and formation of shootlike structure expressing introduced genes [J]. Plant Cell Report,1990,9:360-364.
- [42] CHUNZHI D. Transgenic sweet pepper plants containing CMV Sat-RNA cDNA [J]. Acta Horticulture,1995,402:78-79.
- [43] ZHANG Y F. Transgenic sweet pepper plants from agrobacterium mediated transformation [J]. Plant Cell Report,1996,16(1/2):71-75.
- [44] YU X Z. Transgenic sweet pepper plants from agrobacterium mediated transformation [J]. Plant Cell Report,1996,16:71-75.
- [45] 李华平,胡晋生,王敏,等. 黄瓜花叶病毒衣壳蛋白基因转化的辣椒的研究[J]. 病毒学报,2000,16(3):276-27.
- [46] 商鸿生,王旭,徐秉良,等. CP 基因转化的线辣椒抗卡那霉素和抗 CMV 特性的遗传[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2001,29(5):103-106.
- [47] KIM Y H. Improvement in plant disease resistance using an anti-fungal protein gene [J]. Proceedings Vienna Austria,1995,7:147-155.
- [48] 李乃坚,余小林,李颖,等. 双价抗菌肽基因转化辣椒[J]. 热带作物学报,2000,21(4):45-51.
- [49] TSAFTARRIS A. The development of herbicide-tolerant transgenic crops [J]. Field Crop Research,1996,45:115-123.