

辣椒远缘杂交胚拯救技术操作规程

Technical Regulation for embryo rescue of Distant Hybrid in Pepper

地方标准信息服务平台

2021 - 08 - 29 发布

2021 - 10 - 29 实施

目 次

前言	III
1 范围	1
2 术语和定义	1
3 试剂和设备	1
4 胚拯救培养基制备	2
5 胚拯救技术流程	2
附录 A（资料性） 辣椒胚拯救培养基配方	3

地方标准信息服务平台

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由湖南农业农村厅提出。

本文件由湖南省农业标准化技术委员会归口。

本文件主要起草单位：湖南农业大学、湖南省蔬菜研究所。

本文件主要起草人：杨博智、周书栋、郑井元、马艳青、戴雄泽、李雪峰、张竹青、陈文超、杨莎、梁成亮、李鑫、邹学校。

地方标准信息服务平台

辣椒远缘杂交胚拯救技术规程

1 范围

本文件规定了辣椒远缘杂交胚拯救的术语和定义、试剂和设备、培养基制备、胚拯救技术流程等操作规程。

本文件适用于辣椒远缘杂交胚拯救。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

2.1

远缘杂交

指不同种、属或亲缘关系更远的植物类型间进行的杂交。

2.2

胚拯救

植物远缘杂交获得的合子胚常在发育早起阶段就败育或退化，无法收获杂交种子。胚拯救指采用组织培养技术，将合子胚转至适合的培养基中离体培养，使其能正常发育成完整植株的方式。

3 试剂和设备

3.1 试剂

所有试剂等级均为分析纯，见表 1。

表 1 辣椒远缘杂交胚拯救技术所需试剂

试剂	名称
无机试剂	次氯酸钠、氢氧化钠、盐酸、硝酸铵、硝酸钾、氯化钙、七水硫酸镁、磷酸二氢钾、碘化钾、硼酸、四水硫酸锰、七水硫酸锌、钼酸钠、氯化钴、硫酸亚铁、EDTA 二钠盐、
有机试剂	酒精、肌醇、烟酸、盐酸吡哆醇、盐酸硫胺素、甘氨酸、叶酸、生物素
植物生长调节剂	萘乙酸、激动素、赤霉素、6-苄氨基腺嘌呤、吲哚-3-乙酸
其他	琼脂粉、蔗糖

3.2 仪器设备

超纯水仪、电子分析天平（精确度：0.0001 g）、pH 计（或 pH 试纸）、刻度容量瓶（量程分别为 100 mL、500 mL）、移液枪（量程分别为 100 μL、1 mL、10 mL）、低温冷藏冰箱（温度范围：0~10℃）、高压蒸汽灭菌锅

4 胚拯救培养基制备

4.1 培养基类型

培养基包括胚拯救培养基和幼胚分化成苗培养基，其配方见附录 A。

4.2 消毒和灭菌

培养基配制好后，调 pH 值为 5.8，置于高压蒸汽灭菌锅中 121℃，1.05 kg/cm² 条件下灭菌 15 min。

5 胚拯救技术流程

5.1 授粉

收集父本花粉，选取母本植株上将开未开的花苞，去除雄蕊，对其进行人工授粉，授粉 24 h 后用 75 mg/L 的 2,4-D 溶液涂抹母本植株上授粉花苞的花梗。

5.2 幼胚培养

选用辣椒为授粉后 18 d 获得的青果，流水下冲洗果实表面 30 s，在超净工作台中，用 75% 酒精棉球擦拭果实表面，用消毒后的解剖刀将果实竖切成两半，再用无菌镊子取出果实内未成熟种胚，接种至胚拯救培养基中，黑暗培养至胚根产生。培养温度为 (28±1)℃。

5.3 幼胚分化成苗

在超净工作台中，取出带胚根的辣椒胚，剥离种皮，接种于幼胚分化成苗培养基中培养至成苗。培养条件为光照阶段 (28±1)℃，黑暗阶段 (20±1)℃，光照时间 16 h/d，光照强度 2000 lx。

5.4 炼苗与移栽

待再生苗长至 (4~7) 片真叶时，打开培养瓶瓶盖，置光照培养室中适应外界环境 2 d~3d 后。将组培苗取出，洗净根部的培养基，移栽至基质中黑暗条件下炼苗，温度为 (28±1)℃，湿度 90%。炼苗 5 d 后，将室内环境逐步调整到与辣椒苗在外界生长的环境相近，继续培养 15 d，移栽幼苗至室外。

附 录 A
(资料性)
辣椒胚拯救培养基配方

培养基名称	配方成分
胚拯救培养基	825 mg/L 硝酸铵、950 mg/L 硝酸钾、220 mg/L 氯化钙、185 mg/L 七水硫酸镁、85 mg/L 磷酸二氢钾、0.5 mg/L 碘化钾、6.2 mg/L 硼酸、22.3 mg/L 四水硫酸锰、8.6 mg/L 七水硫酸锌、0.25 mg/L 钼酸钠、0.025 mg/L 氯化钴、27.8 mg/L 硫酸亚铁、37.8 mg/L EDTA 二钠盐、100 mg/L 肌醇、0.5 mg/L 烟酸、0.5 mg/L 盐酸吡哆醇、0.5 mg/L 盐酸硫胺素、2 mg/L 甘氨酸、0.5 mg/L 叶酸、0.05 mg/L 生物素、0.05 mg/L α-萘乙酸、0.25 mg/L 激动素、0.2 mg/L 赤霉素、6 g/L 琼脂粉、30 g/L 蔗糖
幼胚分化成苗培养基	1650 mg/L 硝酸铵、1900 mg/L 硝酸钾、440 mg/L 氯化钙、370 mg/L 七水硫酸镁、170 mg/L 磷酸二氢钾、0.83 mg/L 碘化钾、6.2 mg/L 硼酸、22.3 mg/L 四水硫酸锰、8.6 mg/L 七水硫酸锌、0.25 mg/L 钼酸钠、0.025 mg/L 硫酸铜、0.025 mg/L 氯化钴、27.8 mg/L 硫酸亚铁、37.3 mg/L EDTA 二钠盐、100 mg/L 肌醇、0.5 mg/L 烟酸、0.5 mg/L 盐酸吡哆醇、0.1 mg/L 盐酸硫胺素、2.0 mg/L 甘氨酸、2 mg/L 6-氨基腺嘌呤、0.5 mg/L 吲哚乙酸、6 g/L 琼脂粉、30 g/L 蔗糖

地方标准信息服务平台