

白脉椒草的组织培养与快速繁殖

张善信, 陈春满*, 何蜜丽

东莞市生物技术研究所, 广东东莞 523086

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Peperomia puteolata* Trel.

ZHANG Shan-Xin, CHEN Chun-Man*, He Mi-Li

Dongguan Biotechnology Institute, Dongguan, Guangdong 523086, China

1 植物名称 白脉椒草(*Peperomia puteolata* Trel.)。

2 材料类别 叶片和茎段。

3 培养条件 愈伤组织诱导培养基: (1) MS+6-BA 2 mg·L⁻¹ (单位下同); (2) MS+6-BA 2+2,4-D 0.02。不定芽诱导培养基: (3) MS+6-BA 0.5。不定芽增殖培养基: (4) MS+6-BA 0.2+KT 0.3。壮苗培养基: (5) 1/2MS (大量元素减半, 下同)+0.5 g·L⁻¹ 活性炭。生根培养基: (6) 1/2MS+1 g·L⁻¹ 活性炭。上述培养基均加入 3% 白糖和 0.5% 琼脂, pH 5.8~6.0。培养温度为(25±2) °C; 光照时间 12 h·d⁻¹, 光照强度 25 μmol·m⁻²·s⁻¹ 左右。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的处理 从母株上取叶片及嫩芽茎段, 茎段切成长 2 cm 左右, 每段带有 1 个节位, 叶片单张取下。在流水下冲洗茎段和叶片上下表面, 并用洗衣粉水轻刷表面, 再用无菌水冲洗干净。在超净工作台上先用 75% 的酒精表面擦一遍, 再用 0.1% 的 HgCl₂ 溶液浸泡消毒, 并不断振荡 5~6 min, 用无菌水冲洗 5~6 次。将嫩叶切成 1~2 cm 大小的方块, 接种于培养基(1)中, 老叶叶面纵切成 1 mm 厚的切片, 平放于培养基(2)中, 每瓶 4~5 片; 茎段切成约 1 cm 长度, 每段带有一个节位, 接种于培养基(1)中, 每瓶接种 1 个茎段。

4.2 不定芽的诱导、增殖和壮苗 在诱导培养基(1)上培养 10~15 d, 嫩叶叶片切面周围开始膨大变厚, 20~30 d 后, 切面开始有愈伤组织出现(图 1)。老叶纵切片在诱导培养基(2)上培养 15~25 d, 切面开始有颗粒状的绿色愈伤组织出现, 随着培养时间的延长, 颗粒状的愈伤组织密集分布于纵切面上, 部分愈伤组织开始芽点的分化(图 2)。在诱导培养基(1)上培养 15~25 d, 茎段上的腋芽开始萌发, 继续培养 10~15 d, 芽点基部膨大成愈伤组织状, 顶部分化成小芽。将愈伤组织团切下, 转入不定芽诱导培



图 1 白脉椒草嫩叶产生的愈伤组织



图 2 白脉椒草老叶纵切产生的愈伤组织

培养基(3)上, 20~30 d 后大部分的愈伤组织开始有不定芽产生(图 3)。去除基部的褐化部分后, 将丛芽转入同种培养基上继代培养 2~3 次, 增殖系数可达 2.5~3.0。随着芽的快速增殖, 部分苗开始有玻璃化现象产生(图 4)。此时将增殖团块转入增殖培养基(4)上, 不定芽团块可稳定增殖, 无玻璃化现象发生(图 5)。当不定芽增殖到一定数量时, 将带有 3~5 个芽的不定芽团块转移到培养基(5)上壮苗培养。20~30 d 后, 苗迅速长大。此时可将平均高度 1.0 cm 以上、最大叶片 0.4 cm 以上、带有 3~5 个芽

收稿 2010-04-29 修定 2010-05-13

资助 广东省农业科技计划项目基金(2007B020810002)。

* 通讯作者(E-mail: chen Chunman@163.com; Tel: 0769-22401023)。

的团块切下, 转入培养基(6)上进行团块生根培养。

4.3 生根与移栽 团块芽在培养基(6)上培养7~10 d, 基部开始出现白色根点, 随后根系逐渐伸长, 生根率达100% (图6)。培养约25~30 d, 每团有3~5条1~2 cm的白色根系。当团块苗平均高1.5 cm



图3 白脉椒草不定芽的产生

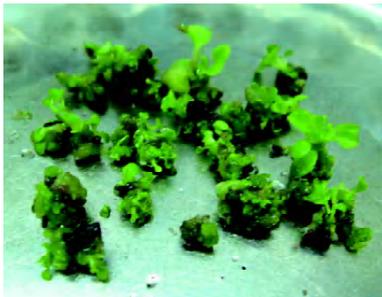


图4 白脉椒草玻璃化的愈伤组织和不定芽



图5 白脉椒草不定芽增殖



图6 白脉椒草不定芽生根

以上时, 便可出瓶移栽。移栽前先将瓶苗移至常温下光强 $37.5\sim 62.5 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 的地方炼苗7~10 d, 然后将瓶苗取出, 洗去附着在根部的培养基, 用甲基托布津或多菌灵1000倍溶液浸泡5~6 min, 捞起栽种于泥炭和珍珠岩(3:1)混合基质中, 放置在遮光度50%~60%、湿度80%以上的温室大棚中。1个月后, 成活率达95%以上; 2个月后, 出圃率可达90%以上。

5 意义与进展 白脉椒草属胡椒科(Piperaceae)草胡椒属植物, 原产哥伦比亚、秘鲁。别名: 白脉椒豆瓣绿、弦月椒草。植株高15~30 cm不等, 茎直立生长, 红褐色, 叶3~4片轮生, 具红褐色短柄, 质厚, 稍呈肉质, 椭圆形, 全缘, 叶端突起, 呈尖形, 叶长5~8 cm, 宽3~5 cm, 叶色深绿, 新叶略呈红褐色, 在光照充足的条件下尤为明显, 叶面有5条凹陷的月牙白色脉纹, 穗状花序细长(图7)。白脉椒草喜温暖、湿润的半荫环境, 生长适温 $20\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$, 稍耐干旱, 不耐寒, 忌阴湿。对空气湿度要求不是很高, 能在干燥的居室内正常生长。常规的繁殖方法是分株或扦插繁殖, 繁殖速度很慢。采用组织培养方法, 在短期内可得到大量种苗, 具有较好的市场价值。现在该品种已进入规模化商品繁殖阶段。同属的双色豆瓣绿(李文安和王玲1988)、西瓜皮椒草(张瑞麟和范敏2002)、荷叶椒草(蒋雄辉等2008)的组织培养已有报道, 但白脉椒草的组织培养和快速繁殖的报道迄今未见。



图7 白脉椒草成品苗

参考文献

- 蒋雄辉, 陈春满, 何蜜丽, 叶燕(2008). 荷叶椒草的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯, 44 (3): 518
李文安, 王玲(1988). 双色豆瓣绿的快速繁殖. 植物生理学通讯, (6): 43
张瑞麟, 范敏(2002). 西瓜皮椒草的组织培养及快速繁殖. 植物生理学通讯, 38 (1): 45