

# 圆叶椒草的组织培养与植株再生研究

纪春艳<sup>1</sup>, 李睿怡<sup>2</sup>, 张彩丽<sup>3</sup>, 王 訢<sup>1</sup>

(1. 牡丹江师范学院 生命科学与技术学院, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030;

3. 齐齐哈尔市甘南二中, 黑龙江 甘南 162100)

**摘 要:**以圆叶椒草茎段为试材, 采用植物组织培养方法, 研究了 6-BA、NAA、IBA 对圆叶椒草的愈伤组织诱导、不定芽分化以及试管苗生根培养的影响, 以期筛选出愈伤组织和芽分化以及生根诱导的最佳培养基。结果表明: 愈伤组织诱导、愈伤组织和不定芽分化最理想的培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 试管苗生根培养最佳培养基为 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+0.5%活性炭。

**关键词:**圆叶椒草; 茎段; 愈伤组织

中图分类号: S 682.103.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)24-0138-03

圆叶椒草为胡椒科椒草属常绿多年生观叶性小型草本植物, 别名碧玉, 原产于委内瑞拉。药用可祛风除湿, 止咳祛痰, 用于风湿筋骨疼痛, 哮喘; 外用治跌打损伤、骨折等。由于四季常青, 有助于净化室内空气, 同时其浓绿的叶色对缓解眼疲劳具有一定功效, 因而备受人们喜爱。常规条件下, 圆叶椒草属主要以扦插繁殖为主, 繁殖花叶品种时宜采用分株繁殖, 但在大量扩繁时, 采用组织培养方法可以克服扦插繁殖周期长、繁殖率低的不足。目前胡椒科椒草属荷叶椒草组培有过报道<sup>[1]</sup>, 但圆叶椒草组培尚未见报道。该试验对圆叶椒草属诱导形成愈伤组织的快繁体系进行研究, 以满足生产之需<sup>[2]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

圆叶椒草购于花鸟鱼市场, 选取生长健壮的植株作为试验材料。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌外植体材料的获得 选取生长健壮的圆叶椒草的茎段, 自来水冲洗 30 min, 阴干, 在超净台上, 用 75% 酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗, 用 0.1% 升汞浸泡材料, 消毒 6 min, 无菌水冲洗, 用灭菌吸水纸吸干材料表面的水分, 切成 0.5~1.0 cm 小段, 作为外植体<sup>[3]</sup>。

1.2.2 愈伤组织及芽的诱导 以 MS 为基本培养基, 附加蔗糖 30 g/L、琼脂粉 7 g/L、6-BA、KT 及 NAA、IBA, pH 调至 5.8<sup>[4-5]</sup>。将外植体接种于 1~10 号培养基中, 置于培养温度在 (25±1)℃, 光照强度为 30~

40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  的培养室培养。待芽长至 0.5~1.0 cm, 从基部切下, 进行继代培养。

1.2.3 生根培养 取健壮试管苗, 以 1/2 MS 为基本培养基, 附加蔗糖 30 g/L, 琼脂粉 7 g/L, 加少量活性炭和 NAA<sup>[6]</sup>, pH 调至 5.8, 培养条件同上。

1.2.4 练苗移栽 当根数达 3~5 根, 健壮时, 打开瓶口练苗 2~3 d, 之后取小苗, 洗去琼脂, 移栽到富含腐殖质土质的花盆中<sup>[7]</sup>, 保温保湿, 避光直射。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素对愈伤组织和分化芽的诱导

1~10 号培养基中的诱导愈伤组织形成与分化出芽率见表 1。方差分析采用 DPS V3.01 专业版软件, 结果见表 2; 多重比较分析采用 LSD 法, 结果见表 3。

由表 2 可知, 处理间差异显著, 即不同浓度激素对愈伤及芽的诱导效果有很大差异。当 6-BA 的浓度为 1.0 mg/L 时, 1 号培养基中培养的外植体形成愈伤组织的效果最好。培养 20 d, 外植体膨大开始形成愈伤(图 1), 16 d 分化形成绿色芽点并形成芽(图 2A), 20 d 后生成芽丛(图 2B); 2 号培养基绝大多数形成愈伤组织但没有出芽, 3、4、5 号培养基中外植体愈伤组织形成较少且出芽率很低; 当 6-BA 的浓度为 1.5 mg/L 时, 7 号培养基中的外植体全部形成愈伤并且出芽, 8、9 号形成愈伤的外植体数较多但出芽较少, 10 号愈伤形成较少且没有出芽, 6 号形成愈伤及出芽率最低。另外, 由表 3 可知, 1 号与 7 号的诱导效果没有显著差别, 说明 1 号和 7 号都是最适浓度培养基。此外, 该试验还用 KT 与 2 种生长素的相同浓度组合做了比较, 效果均不太理想。

试验结果表明, 6-BA 和 NAA 组合的培养基比 6-BA 和 IBA 的组合更适合愈伤及芽的诱导, 其中 1 号 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 7 号 6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的培养基效果最好。但从经

第一作者简介: 纪春艳(1964-), 女, 教授, 现主要从事细胞生物学及植物细胞工程等研究工作。

基金项目: 黑龙江省教育厅科技面上资助项目(11551516)。

收稿日期: 2011-11-07

表 1 不同浓度配比的激素对愈伤组织及芽的诱导效果比较

培养基号	激素 /mg·L <sup>-1</sup>	接种外植体的总数/个	愈伤或分化出芽的外植体总数/个	愈伤或分化出芽率/%
1	6-BA 1.0+NAA 0.1	40	37(愈伤且出芽)	92.5
2	6-BA 1.0+NAA 0.2	40	33(愈伤)	82.5
3	6-BA 1.0+NAA 0.5	40	19(愈伤)	47.5
4	6-BA 1.0+IBA 0.2	40	21(愈伤)	52.5
5	6-BA 1.0+IBA 0.5	40	18(愈伤)	45
6	6-BA 1.5+NAA 0.1	40	15(愈伤)	37.5
7	6-BA 1.5+NAA 0.2	40	40(愈伤且出芽)	100
8	6-BA 1.5+NAA 0.5	40	31(愈伤)	77.5
9	6-BA 1.5+IBA 0.2	40	30(愈伤)	75
10	6-BA 1.5+IBA 0.5	40	20(愈伤)	50

注:培养天数为 25 d;光照为 12 h/d;培养温度为(25±1)℃。表 4 同。

表 2 不同培养基对愈伤组织及芽的诱导效果方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著水平
区组间	1.44	9	0.16	0.637	0.7626
处理间	74.64	9	8.2933	32.994	0.0000
误差	20.36	81	0.2514		
总变异	96.44	99			

济利益的角度考虑,如果大批量生产,则 1 号要优于 7 号。

## 2.2 NAA 对根诱导的影响

移苗至生根培养基中培养 20 d 后,不同浓度的 NAA 对根的诱导情况见表 4。结果表明,添加活性炭的培养基生根情况要明显好于不添加活性炭的培养基,其中 2 号培养基中小苗生根情况最佳,5 d 后根长

表 4 不同浓度的生长素对根的诱导效果比较

培养基号	激素 /mg·L <sup>-1</sup>	无根苗数 (无活性炭)/个	生根数 (无活性炭)/个	无根苗数 (加 0.5%活性炭)/个	生根数 (加 0.5%活性炭)/个
1	NAA 0.2	20	2	20	4
2	NAA 0.5	20	16	20	20
3	NAA 1.0	20	3	20	5
4	NAA 1.5	20	2	20	5



图 1 愈伤组织

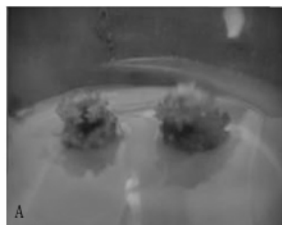


图 2 愈伤组织形成丛芽

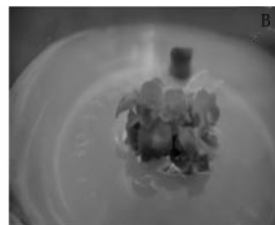


图 3 2 周后的生根情况

## 3 结论

该试验结果表明,在不同激素不同浓度的配比下,以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为培养基进行愈伤组织及芽诱导时效果最佳,生根诱导时以 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+0.5%活性炭为培养基进行培养效果最佳。

## 参考文献

[1] 蒋雄辉,陈春满. 荷叶椒草的组织培养与植株再生[J]. 植物生理学通讯,2008(3):518.  
[2] 林贵美,韦华芳,李小泉,等. 蛇莲的组织培养与快速繁殖[J]. 植物

表 3 不同培养基间多重比较分析

处理	均值	5%显著水平	1%极显著水平
7	4.00	a	A
1	3.90	a	A
2	3.30	b	B
8	3.10	b	B
9	3.00	b	B
4	2.10	c	C
10	2.00	c	CD
3	1.90	cd	CD
5	1.80	cd	CD
6	1.50	d	D

可达到 1 cm(图 3)。1、3、4 号培养基的苗生根率均不足 20%。结果表明,生根培养时以 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+活性炭 0.5%为诱导激素效果最佳。

生理学通讯,2007(6):508.  
[3] 杨琳,徐莺,陈放. 霸王鞭的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2006(12):1125.  
[4] 李秀维. 瑞香狼毒的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2005(2):59.  
[5] 龚伟,胡庭兴,宫渊波,等. 叶子花茎段愈伤组织的诱导及其植株再生的研究[J]. 园艺学报,2005,32(6):1125-1128.  
[6] 蒋泽平,王国良,梁珍海,等. 乐昌含笑离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2005(2):67.  
[7] 宋会访,葛红,周媛,等. 桂花离体培养与快速繁殖技术的初步研究[J]. 园艺学报,2005,32(4):738-740.

# 不同酿酒葡萄品种白藜芦醇合酶基因的克隆和序列分析

宋长征, 张振文

(西北农林科技大学 葡萄酒学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**以红葡萄品种“赤霞珠”、“品丽珠”、“黑比诺”和白葡萄品种“雷司令”为试材,采用改良 CTAB 法提取葡萄叶片组织中的 DNA,并扩增得到 4 个酿酒葡萄品种的白藜芦醇合酶基因部分片段。结果表明:红葡萄品种“赤霞珠”、“品丽珠”、“黑比诺”的扩增产物均为 1 419 bp,白葡萄品种“雷司令”扩增产物为 1 417 bp。通过序列多重比较分析,所得到的 4 个白藜芦醇基因片段与 Genbank 中河岸葡萄(AF128861)的该基因序列同源性较高(90%以上),外显子区同源性高于内含子;红色葡萄姊妹品种之间、红色葡萄不同品种之间、红色葡萄与白色葡萄品种之间的序列同源性依次递减。

**关键词:**酿酒葡萄;白藜芦醇;合酶基因;克隆;序列分析

**中图分类号:**S 663.1;Q 81 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)24-0140-05

白藜芦醇(Resveratrol 3,4',5-trihydroxystilbene,简称 Res)是一种只在生理条件下存在的芪二酚化合物(1,2-二苯乙烯,Stilbene),是植物为抵抗外界刺激而分泌的一种植物抗毒素<sup>[1]</sup>。它是在白藜芦醇合酶的催化作用下,以 1 分子 4-香豆酰辅酶 A 和 3 分子丙二酰辅酶 A 为底物合成的<sup>[1]</sup>,1940 年首次从毛叶藜芦的根部获得<sup>[2]</sup>。它具有许多医疗保健作用,如抗氧化、抗肿

瘤、抗血小板凝聚、抗细菌和真菌、防止人体低密度脂蛋白氧化等<sup>[1,3]</sup>,因此,Res 已成为科学家们高度重视的天然活性成分。研究表明,白藜芦醇合酶(Resveratrol synthase,简称 RS)是白藜芦醇合成途径中的关键酶,且是白藜芦醇生物合成中唯一必需的酶,它只存在于有白藜芦醇合成的植物中,大多数作物都缺乏白藜芦醇合酶基因<sup>[4]</sup>。不同植物或同种植物不同组织部位中白藜芦醇含量又有明显差异<sup>[5-6]</sup>。因此,对 RS 基因序列的深入研究有助于构建表达载体,培育转基因植物、微生物,为提高植物的抗性和人类的健康水平提供有效的途径<sup>[7-8]</sup>。该研究利用改良 CTAB 法提取葡萄叶片组织中的 DNA,根据文献<sup>[2]</sup>的序列(Genbank 登录号 AF128861)设计引物,并采用简单易行的 PCR 方法扩增得到 4 个酿酒葡萄品种的白藜芦醇合酶基因的部分片段序列,利用相关软件进行了不同酿酒葡萄品种白藜芦醇合酶基因序列的分析。

**第一作者简介:**宋长征(1989-),男,安徽宿州人,本科,研究方向为葡萄与葡萄酒工程。E-mail:sczl103@gmail.com。

**责任作者:**张振文(1960-),男,陕西铜川人,硕士,教授,博士生导师,现主要从事葡萄与葡萄酒研究工作。E-mail:zhangzhw60@nwsuaf.cn.com。

**基金项目:**国家现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-30-9)。

**收稿日期:**2011-09-15

## Research on Tissue Culture and Plant Regeneration of *Peperomia obtusifolia*

JI Chun-yan<sup>1</sup>, LI Rui-yi<sup>2</sup>, ZHANG Cai-li<sup>3</sup>, WANG Zhu<sup>1</sup>

(1. Institute of Life Science and Technology, Mudanjiang Normal University, Mudanjiang, Heilongjiang 157012; 2. Institute of Horticultural, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 3. Qiqihar Gannan No. 2 Middle School, Gannan, Heilongjiang 162100)

**Abstract:** Taking the round leaf segments of pepper stems as test materials, the effect of 6-BA, NAA, IBA on pepper grass callus induction, adventitious bud differentiation and plantlet rooting were studied, to filter out the callus and shoot induction of differentiation and the best rooting medium. The results showed that MS+1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L for the conduct of callus induction, callus and adventitious buds optimal differentiation medium, 1/2MS+NAA 0.5 mg/L+0.5% activated carbon were the best medium for *in vitro* rooting culture.

**Key words:** *Peperomia obtusifolia*; caulis segment; tissue culture