

辣椒茎段离体扦插快繁技术研究

朱士农, 崔群香, 刘卫东

(金陵科技学院, 江苏南京 210038)

摘要: 利用五彩椒茎尖培养进行快速繁殖周期短(40~50d), 且不存在基因型的差异, 但增殖系数较低(每周期扩大1倍)。为了进一步扩大繁殖系数, 克服其他外植体培养过程中基因型的影响, 利用牛角椒的无菌种苗进行了辣椒茎段培养, 筛选出了适宜的诱导茎段萌芽培养基和生根培养基。这两种培养基应用在不同来源的彩色辣椒无菌苗茎段, 结果同牛角椒培养结果相似。最终试验结果表明适宜辣椒茎段离体扩繁的培养基为 MS 无机盐+改良 MS 有机物+NAA 0.1mg/L+IAA 0.2mg/L+CH 400g/L+AgNO₃ 3.5mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L 和 MS 无机盐+改良 MS 有机物+IAA 0.5mg/L+GA₃ 0.25mg/L+CH 400g/L+AgNO₃ 3.5mg/L+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L; 生根培养基为 MS 无机盐+B5 有机物+NAA 0.1mg/L+IAA 0.2mg/L+AC0.2%+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L。利用茎段培养不仅大大缩短培养周期, 而且可以克服基因型的影响, 扩大繁殖系数, 提高种苗生产的效率。

关键词: 五彩椒; 茎尖; 茎段; 基因型

中图分类号: S604+.3 **文献标识码:** A

Research of in vitro Cutting for Fast-Propagation on Stem of Hot Pepper

Zhu Shinong, Cui Qunxiang, Liu Weidong

(Jinling Institute of technology, Nanjin, 210038)

Abstract: Although there were some advantage of short cycle and no difference between genotype on stem of hot pepper for fast-propagation, but the propagation coefficient was lower (1 times per cycle). For expanding propagation coefficient and overcoming influence between genotype in the course of cultivation, Stem of Niu-jiao pepper asepsis seeding was cultivated in this paper, and the fitting stem bud and rootage substrate were screened out. The effect of asepsis stem for cultivation on difference source of color pepper was same to Niu-jiao pepper. The results showed that fitting substrate for in vitro cutting for fast-propagation on stem of hot pepper was MS mineral salt + improved MS organic matter + NAA 0.1mg/L + IAA0.2mg/L + CH 400g/L + AgNO₃ 3.5mg/L+ sucrose 30g/L + agar 7g/L, MS mineral salt +improved MS organic matter+ IAA 0.5mg/L + GA₃ 0.25mg/L+CH 400g/L + AgNO₃ 3.5mg/L+ sucrose 3g/L + agar 7g/L; rootage substrate was MS mineral salt + B5 organic matter + NAA 0.1 mg/L + IAA 0.2mg/L + AC 0.2%+ sucrose 30g/L + agar 7g/L.

Key words: color pepper, stem apex, stem, genotype.

辣椒是一种重要的茄果类蔬菜和调味品, 果实营养丰富, 深受人们喜爱, 在亚洲、欧洲、中南美洲广泛栽培^[1,2]。种子需求量大, 种苗具有较大的市场效益, 快速繁殖的方法成为辣椒苗大批量生产的重要且可行的手段。组织培养和微型扦插是实现快繁的有效途径^[3,4]。自从 Gunay^[5]首次开展辣椒组培工作以来, 国内外相继采

用不同的辣椒外植体, 如子叶、茎尖、下胚轴、子叶柄、花药及原生质体等进行离体培养并获得成功。尤其以子叶和下胚轴为外植体建立的离体再生体系获得再生植株的研究居多^[6-14]。但辣椒组织培养具有很强的基因型特异性, 选择合适的基因型材料是建立高效率离体再生系统的一个重要环节。而茎段快繁可能是克服基

基金项目: 南京市科委科研基金资助项目“稀有蔬菜花卉组培快繁技术研究”(20011004)。

第一作者简介: 朱士农, 1963 年出生, 江苏溧水人, 金陵科技学院副教授, 在读博士, 主要从事蔬菜栽培生理的教学和科研工作。通信地址: 210038 江苏省南京市金陵科技学院。Tel: 025-83065261, E-mail: zhushinong@sina.com。

收稿日期: 2007-10-22, **修回日期:** 2007-11-2。

园艺园林科学

因型差异对再生频率影响,提高繁殖效率的有效手段。笔者利用五彩椒茎尖繁殖的生根培养基,以微辣型的辣椒品种牛角椒为试材,筛选适宜辣椒微型扦插快繁的培养基和培养程序,并应用到彩色甜椒上。

1 材料与方

1.1 材料及培养基 五彩椒的种子,牛角椒种子和彩色甜椒无菌实生苗及无菌再生苗。五彩椒来自商品种子,牛角椒来自江苏省农科院蔬菜所,彩色甜椒无菌苗来自金陵科技学院园艺系稀有蔬菜、花卉课题组。试验所用培养基见表1。

表1 培养基配方

培养基编号	有机物	NAA	IAA	IBA	蔗糖	CH	GA ₃	AgNO ₃	AC
1	MS 调整	0.1	0.2		30				
2	MS 调整	0.1	0.2		30	400			
3	MS 调整	0.1	0.2		30			3.5	
4	MS 调整	0.1	0.2		30	400		3.5	
5	B5			0.5	25				
6	B5			0.5	25	400			
7	B5			0.5	25			3.5	
8	B5			0.5	25	400		3.5	
9	B5		0.1		30		0.25	3.5	
10	MS 调整		0.5		30	400	0.25	3.5	
11	B5	0.1	0.2		30				0.2%

注:以上单位均为 mg/L;各培养基中添加 MS 无机盐并用 7g/L 琼脂粉固化, pH6.0, 121℃ 下灭菌 15min 备用。

1.2 试验方法

1.2.1 五彩椒的离体快速繁殖 试验于 2002 年 3 月 13 日—6 月 11 日在金陵科技学院园艺系生物技术实验室内进行。

(1) 无菌苗的获得:将五彩椒品种红星、黄星的种子在 55℃ 的热水中浸泡 10min, 75% 酒精浸泡 30s, 无菌水冲洗 1 次, 再用 0.1% 升汞浸 2~5min, 无菌水冲洗 3~4 次, 最后放入无菌水振荡 2 天(中间换水), 等到种子吐嘴时接种于 1/2MS 基本培养基上, 放入培养室暗室培养至种子萌动, 将萌动的种子接入基本培养基中, 20d 后长出无菌小植株备用。

(2) 诱导茎尖生根:剪取无菌辣椒苗的茎尖接入 11 号生根培养基中, 方法是在子叶节下留 1.5~2cm 的下胚轴剪下, 将下胚轴垂直插入培养基内, 放入培养室内光照培养。培养条件为(25±1)℃, 1000~2000lx, 12h/d。

(3) 扩繁:再次剪取生根苗的茎尖转入生根培养基中, 培养条件同上。

(4) 炼苗出瓶及移苗:1、强光闭瓶锻炼:将长出根的无菌苗移至 20000~35000lx 强光下闭瓶炼苗, 如果温度过高, 光照过强适当遮荫。2、开瓶锻炼:强光炼苗 7d 后开瓶锻炼 3~4d。3、过渡移栽:无菌苗根部的培养基用清水冲洗掉后, 栽到炼苗棚的无菌基质中。炼苗基质采用园土:珍珠岩:泥炭=1:1:1, 上面覆盖防虫网, 基质消毒方法是用 25% 多菌灵 1000 倍液湿润基质,

同时喷布刚移栽小苗, 以后每 1~2 周喷 1 次。

1.2.2 牛角椒茎段扦插繁殖 试验于 2006 年 2 月 21 日—8 月 24 日在金陵科技学院园艺系实验室进行。

(1) 无菌种苗获得:牛角椒成熟种子, 用 70% 的酒精浸泡 30s, 然后用 0.1% 的升汞处理 10min, 无菌蒸馏水冲洗 4~5 次, 接种到经高温灭菌的石英砂中, 于 28℃ 恒温箱中暗培养一周, 发芽后转入 12h/12h 光周期下培养。

(2) 培养方法:切取发芽后 10d 的种苗的苗尖培养在 9 号培养基中, 每瓶 2 个茎尖, 20d 后统计茎尖生根伸长百分率, 并将伸长的苗剪成数节分别接种到 1~8 号培养基中, 培养 20d 后统计伸长百分率。培养条件均为光照强度 2000lx, 光照时间 12h/d, 温度 (25±1)℃。将萌芽伸长的苗转入生根培养基中, 2 周后统计生根率。

1.2.3 彩色甜椒茎段扦插 试验于 2007 年 3 月 22 日—7 月 16 日在金陵科技学院园艺系实验室进行。

将不同来源的彩色甜椒无根苗, 剪成 1 叶 1 节, 扦插在 2 号、4 号和 10 号培养基中, 20d 后转入生根培养基中, 并统计伸长百分率。当侧芽及顶芽高 0.5~1cm 时, 转入 11 号生根培养基中诱导生根。

2 结果与分析

2.1 五彩椒茎尖生根繁殖

茎尖接入生根培养基内, 在第 2d 茎尖的底部就产

生白色的愈伤组织,4d 后便长出根,茎尖生根率达到 100%。经过 18d 培养后,茎尖都长出粗壮的白根,且长出 2~3 片真叶,叶色嫩绿(图 1)。切取新生植株的茎尖转入生根培养基,而切去原茎尖后的部分植株的侧芽萌发,形成正常的植株,萌发率达 95%(图 2)。

二次剪取的茎尖接入生根培养基内,7d 后便长出根,茎尖生根率达 100%,经过 10d 的培养后,茎尖都长出粗壮的白根,且长出 2~3 片真叶,嫩绿,形成正常的植株。再生的植株经炼苗后移入田间,成活率为 92%。

2.2 牛角椒茎段扦插培养

2.2.1 苗尖生长情况 苗尖培养 20d 后均伸长,产生新的叶片,平均每个苗尖切分 6.7 节(图 3);平均株高达

到 7.3cm;同时多数植株生根,生根率为 92.5%。

2.2.2 不同培养基中带叶茎段萌芽百分率结果 从表 2 可以看出,最有利于萌芽的培养基为 3 号和 4 号,其次是 8 号,然后是 7 号、1 号培养基,这些培养基的萌芽率均在 50%以上,且多数芽高在 0.5cm 以上(图 4),适宜于诱导生根,形成完整植株。

分析表明,AgNO₃ 在诱导辣椒茎段腋芽萌发中起最重要的影响作用,CH 与 AgNO₃ 共同使用也有利于辣椒腋芽萌发;在 MS 有机物基础上经过调整的有机物配方更利辣椒的茎段培养;3 号和 4 号培养基之间对萌芽率的影响差别很小,但 4 号培养基中产生的苗碧绿,更易生根及移栽成活。多数伸长的芽在生根培养 2 周后都能产生白色粗壮的根,生根率达到 80%以上。



图 1 彩椒红星茎尖生根

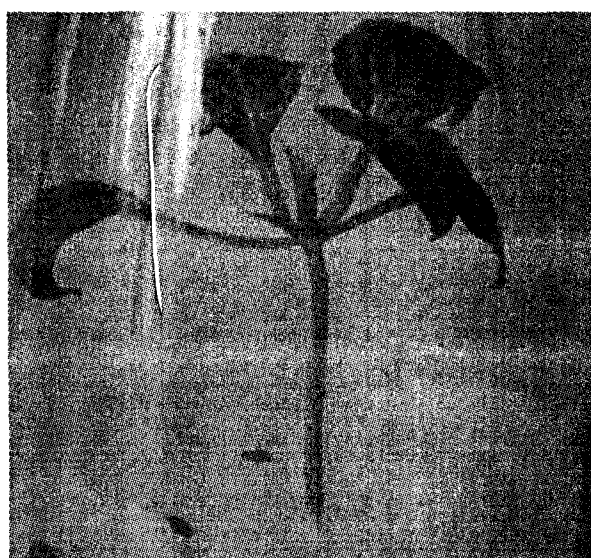


图 2 彩椒红星去茎尖植株萌芽成株



图 3 牛角椒茎段扦插培养



图 4 牛角椒茎段萌芽

表2 茎段萌芽百分率

培养基编号	接种节段 / 个	萌芽节段 / 个	萌芽百分率 / %
1	31	16	51.6
2	27	8	29.6
3	25	21	84.0
4	31	26	83.9
5	30	11	36.7
6	26	9	34.6
7	33	19	57.6
8	24	15	62.5

2.3 彩色甜椒茎段扦插繁殖

彩色辣椒茎段增殖倍数分别为2号2.2(33/15);4号2.44(39/16);10号3.06(98/32);茎段在3种培养基中的萌芽率分别为2号54.5%(18/33);4号46.2%(18/39);10号62.2%(61/98),3个品种之间无明显差异。10号培养基中彩色辣椒茎段增殖倍数高,并且萌芽的茎段叶片碧绿,生长较好,因此茎段增殖以10号培养基为好。萌芽的茎段在培养基中培养1个月后高度均可达到1cm左右,转入生根培养基2周后都能产生白色粗壮的根,生根率达到80%以上。

3 讨论

五彩椒茎尖培养可以进行快速繁殖,周期约为50d可形成一批新的再生小植株。二次剪过的茎尖培养成小植株约需30d。

辣椒组织培养中常会出现茎芽黄化和落叶现象,许多报道称培养基中添加一定浓度的CH或AgNO₃可以减轻黄化现象,笔者也发现单独添加3.5mg/L的AgNO₃或与CH配合使用可以明显减轻牛角椒的黄化,促进腋芽萌发,而以配合使用更为有利。在MS基本培养基的基础上适当调整有机物成分和浓度更有利于各种辣椒的茎段培养。

利用无菌苗的茎段进行牛角辣椒的繁殖比从子叶或下胚轴离体再生可以大大缩短时间,利用该方法从播种开始到成苗仅需要2个多月(生根需10d);并且由于平均每株苗可以切成5.1段(244/48),以诱芽率80%计算,每次可以扩繁4倍,假如每株扩繁次数增加则繁殖系数会大幅度增加。

在研究中还发现诱导茎段腋芽萌发在不同的辣椒中不存在明显的基因型的影响,因此,茎段快繁可能是克服基因型影响,实现优良辣椒种苗的快速繁殖的有效手段。但是在增殖的过程中发现试管苗在培养瓶内

已经现蕾,因此辣椒茎段扩繁连续不能超过3次,扩繁倍数及程序优化还有待于进一步的研究。

参考文献

- [1] 浙江农业大学主编.蔬菜栽培学各论(南方本)(第二版).北京:农业出版社,1985.
- [2] 邹学校,马艳青,周群初,等.湘研辣椒种子的准时生产制[J].湖南农业大学学报,2001,27(3):192-196.
- [3] 董兆龙,陈沁,刘文轩,等.辣椒子叶和下胚轴离体培养再生[J].上海大学学报(自然科学版),2003,(4):148-153.
- [4] 李洪艳,王关林,姜丹,等.微型扦插快速繁殖辣椒试管苗的研究.辽宁师范大学学报(自然科学版),2002,25(3):296-297.
- [5] Gunay A L, Rao R S. In vitro plant regeneration from hypocotyls and cotyledon explants of red pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plant Sci. Lett, 1978(11):365-372.
- [6] 缪武,刘志敏.辣椒离体培养研究进展[J].辣椒杂志(季刊),2005,(2):1-4.
- [7] 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.
- [8] 唐亮,刘文轩.辣椒再生体系的建立及基因工程研究进展[J].中国蔬菜,2003,(6):59-62.
- [9] 刘卫东,崔群香,夏维东,等.彩色辣椒子叶离体培养技术的研究[J].扬州大学学报(农业与生命科学版),2003,24(1):63-66.
- [10] 崔群香,朱士农,刘卫东.彩色辣椒子叶离体再生培养基的筛选[J].江苏农业科学,2005(2):73-74.
- [11] 郝嵘嵘,戚家华,王子霞,等.辣椒子叶的离体再生培养.[J]新疆农业科学,1993,(2):121-122.
- [12] 葛扣麟,匡限哲,田中正武.辣椒属不同野生种的组织培养与植株再生.上海农业学报,1991,7(4):10-16.
- [13] Arroyo A L, Rao P S. In vitro plant regeneration from cotyledon and hypocotyls segments in two bell pepper cultivars. Plant cell Rep. 1991,10(8):414-416.
- [14] 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.

(责任编辑:刘艳鹏)