

影响草莓茎尖快繁因素的分析

徐启红^{1,2}, 王成^{1*}, 任平国², 张胜², 侯凯³

(1. 河南大学生命科学院, 河南开封 475001; 2. 漯河职业技术学院, 河南漯河 462000; 3. 漯河天翼生物工程有限公司, 河南漯河 462000)

摘要 [目的] 分析几种影响草莓茎尖快繁的因素。[方法] 以“童子1号”草莓为试材, 对草莓茎尖培养快繁中茎尖取材大小、生长调节剂、碳源等影响因素进行分析。[结果] 以0.5 mm大小的茎尖接种, 脱毒率最高, 成活率最理想。诱导“童子1号”草莓茎尖成活与生长的最适培养基、最优增殖培养基均为MS+BA 0.5 mg/L。IBA浓度为800 mg/L时, 组培苗瓶外生根不仅有较高的生根率和生根数, 而且获得了较壮的生根苗。蔗糖和白砂糖作碳源时, 繁殖系数较理想, 以白砂糖最为适宜。[结论] 草莓茎尖快繁应以0.5 mm大小的茎尖为材料, 诱导分化培养基、继代增殖培养基均为MS+BA 0.5 mg/L, 组培苗瓶外生根蘸取的最佳生长调节剂为800 mg/L IBA。

关键词 草莓; 茎尖培养; 快繁

中图分类号 S668.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)22-09403-02

Analysis on Influence of Several Factors on Rapid Propagation of Shoot Tip of Strawberry

XU Qi-hong et al (College of Life Science, Henan University, Kaifeng, Henan 475001)

Abstract [Objective] The study was to analyze the several factors of influenced the rapid propagation of shoot tip of strawberry. [Method] With strawberry variety Tongzi 1 as tested material, the factors influencing the size of material, growth regulators, carbon source in rapid propagation of shoot tip of strawberry were analyzed. [Result] The virus elimination rate of inoculation with 0.5 mm shoot tip was highest and its survival rate was most ideal. The optimum medium and best multiplication medium of induction shoot tip survival and growth of strawberry Tongzi 1 all was MS+BA 0.5 mg/L. When the concn. of IBA was 800 mg/L, the in vitro rooting of tissue culture seedling not only had high rooting rate and root number, but also obtained stronger rooting seedlings. With sucrose and sugar as carbon source, the propagation coefficient was ideal and that of sugar was optimum. [Conclusion] The rapid propagation of shoot tip of strawberry should use 0.5 mm shoot tip as material. The differentiation and subculture medium was MS+BA 0.5 mg/L. The optimum growth regulator for soaking the root of tissue culture seedling was 800 mg/L IBA.

Key words Strawberry; Shoot tip culture; Fast reproduction

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)是蔷薇科草莓属宿根性多年生草本植物, 为世界性水果, 其栽培面积和产量在世界浆果类水果生产中仅次于葡萄^[1]。草莓具有适应性广、栽培容易、结果早、产量高、收益好等优点, 是一种经济价值较高的天然高档食品^[2], 除供鲜食外, 还可加工成罐头、酱、酒、饮料等制品, 并有较高的医疗保健作用^[3]。但由于长期的匍匐茎无性繁殖, 易受病毒侵染而使品种退化^[4], 产量、质量下降明显。为此, 笔者自2006年起开展了草莓试管苗低成本快繁技术的研究^[5], 对影响草莓茎尖培养快繁的因素进行分析, 以期提高生产率。

1 材料与方法

1.1 材料 “童子1号”草莓, 由漯河天翼生物工程有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理。 自田间选取健壮的“童子1号”草莓母株上生长充实而小叶尚未展开的匍匐茎顶端约2~3 cm长的顶芽, 用自来水冲洗2~3 h后, 在超净台上进行灭菌处理。先用小镊子摘除匍匐茎的外部大叶, 用70%的酒精消毒30 s, 再置于0.1%的升汞中消毒6~8 min, 然后用无菌水冲洗6~8遍。

1.2.2 诱导分化培养。 在双筒解剖镜下由外向内逐层剥去幼叶, 直至闪亮半球形的顶端分生组织充分暴露出来, 切取0.1~1.0 mm不同大小茎尖分成若干组, 分别接种于附加不同浓度BA、NAA的MS诱导培养基上(此处所用培养基均以食用白砂糖代替蔗糖, 加入量为3%, 琼脂0.7%, 以自来水代替蒸馏水, pH值在高压灭菌前调至6.0), 每瓶接种3个材

料, 接种后移至培养室内培养。培养条件为光照1500~2500 lx, 14 h/d, 温度(22±4)℃(下同)。

1.2.3 增殖培养。 把诱导分化出的草莓小苗转接入继代增殖培养基, 接时把芽团分细小些, 约5株/瓶, 在增殖培养过程中30 d左右继代1次, 并记录组培苗的增殖情况。

试验中继代增殖培养基为: MS+BA 0.5 mg/L, 分别加入蔗糖、葡萄糖、麦芽糖和白砂糖作为碳源。

1.2.4 生根与移栽。 试验选用3种生长调节剂: IBA、NAA、IAA, 每种激素浓度分别为200、500、800和1000 mg/L。选择继代培养健壮的草莓苗, 剪取1.5~2.0 cm长的带顶芽的茎段, 将其基部蘸有一定浓度的生长素, 轻轻插入滤纸桥中, 放入棚内含有一定营养液的长方形容器内, 启动调控措施, 观察茎段的生根情况。

2 结果与分析

2.1 茎尖取材大小对草莓茎尖快繁的影响 分别切取0.1、0.3、0.5、0.8和1.0 mm不同大小茎尖, 分成若干组接种于MS+BA 0.5 mg/L诱导培养基上进行培养, 检测其脱毒率并记录成活率(表1)。

由表1可见, 草莓快繁中的脱毒对快繁技术的影响很大, 以0.5 mm大小的茎尖接种, 脱毒率最高, 成活率也最为理想。

2.2 生长调节剂对草莓茎尖快繁的影响

2.2.1 对茎尖成活率的影响。 以0.5 mm大小的茎尖, 接种到附加不同浓度BA、NAA的MS诱导培养基上, 结果表明(表2): 草莓茎尖的成活与生长都需要BA的参与, 而对NAA并无要求; BA的最适浓度为0.2~0.5 mg/L, 而以0.5 mg/L的成活率高。同时, BA浓度过高也会影响茎尖的成活与生长, 当BA浓度达到或超过1.0 mg/L时, 成活率明显下降。因此, 诱导“童子1号”草莓茎尖成活与生长的最适培养基为MS+BA 0.5 mg/L。

基金项目 河南省教育厅自然科学研究科技攻关项目(2007180035)。

作者简介 徐启红(1973-), 女, 河南沈丘人, 在读硕士, 讲师, 从事生理、生化方面的研究及教学工作。* 通讯作者。

收稿日期 2008-05-16

表 1 茎尖取材大小对草莓茎尖快繁的影响

Table 1 Effects of the size of stem-tip on the rapid propagation of strawberry stem tips

茎尖大小//mm Size of stem-tip	脱毒率//% Detoxification rate	成活率//% Survival rate
0.1	91.0	90.5
0.3	92.6	91.4
0.5	99.5	99.3
0.8	94.3	94.0
1.0	90.2	89.2

表 2 不同浓度的 BA、NAA 对草莓茎尖成活率的影响

Table 2 Effects of BA and NAA at different concentrations on the survival rate of strawberry stem tips

生长调节剂 Growth regulators//mg/L	萌发率//% Germination rate	平均苗高//cm Average seedling height
BA	NAA	
0.2	0	62.75
0.2	0.02	43.75
0.2	0.05	45.24
0.5	0	68.75
0.5	0.02	52.94
0.5	0.05	53.85
1.0	0	33.30
1.0	0.02	30.56
1.0	0.05	28.57

2.2.2 对草莓丛生芽增殖的影响。将诱导出的草莓健壮苗转接到 4 种继代培养基上:①MS+BA 0.2 mg/L;②MS+BA 0.2 mg/L+KT 0.1 mg/L;③MS+BA 0.5 mg/L;④MS+BA 0.2 mg/L+KT 0.1 mg/L。培养 30 d 后,调查芽的增殖情况,以增殖系数(增殖芽数与接种数之比)计,结果见图 1。

结果表明(图 1):芽的增殖与茎尖诱导一样,也受 BA 促进的影响,添加 KT 反而会影响芽的增殖率,导致其下降。但添加 KT 或高浓度 BA 有助于苗的长高,出于增殖的目的,最优增殖培养基选为 MS+BA 0.5 mg/L。

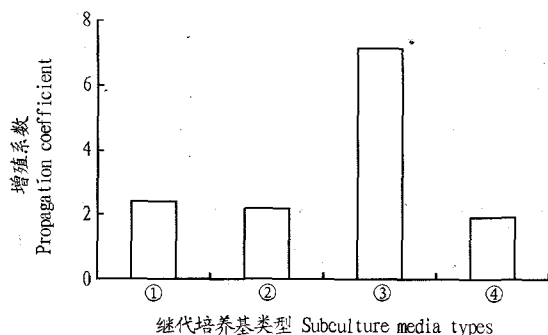


图 1 不同浓度的 BA、KT 对草莓丛生芽增殖的影响

Fig.1 Effects of BA and KT at different concentrations on the clumping bud generation of strawberry

2.2.3 对草莓瓶外生根的影响。选用不同浓度的 IBA、NAA、IAA 生长调节剂进行草莓瓶外生根试验,结果表明(图 2),“童子 1 号”草莓组培苗对 3 种激素在不同的浓度下相差不多,只是在生根数和生根率上,IBA 较其他 2 种激素略强一些。当 IBA 浓度为 800 mg/L 时,不仅有较高的生根率和生根数,而且获得较壮的生根苗。

2.3 不同碳源对草莓茎尖快繁的影响 把诱导分化出的草莓小苗分别转接入以蔗糖、葡萄糖、麦芽糖和白砂糖作为

碳源的继代增殖培养基中,培养 30 d,观察比较各自的繁殖情况,以繁殖系数(繁殖数与接种数之比)计。结果表明(图 3),采用麦芽糖作为碳源的繁殖系数最小,而蔗糖和白砂糖作为碳源较为理想且差别不大。考虑到降低生产成本等因素,以选择白砂糖最为适宜。

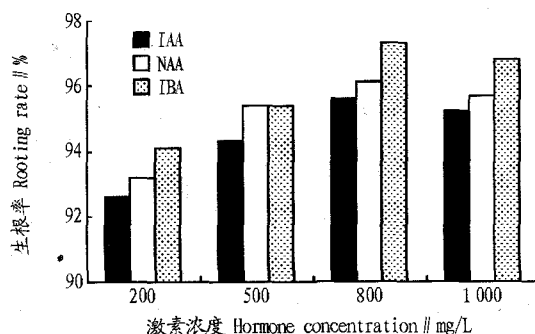


图 2 不同浓度的 IBA、NAA、IAA 对草莓生根的影响

Fig.2 Effects of IBA, NAA and IAA at different concentrations on the rooting of strawberry

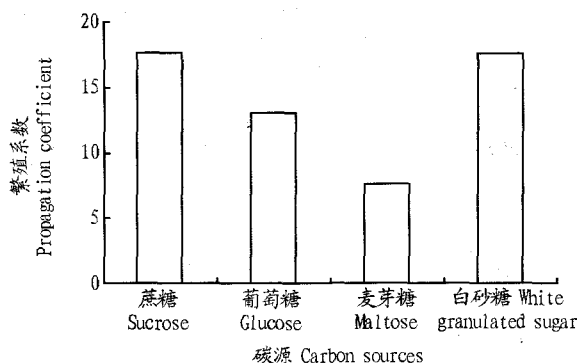


图 3 不同碳源对草莓茎尖快繁的影响

Fig.3 Effects of different carbon sources on the rapid propagation of strawberry stem tips

3 结论与讨论

该研究结果表明,草莓快繁应以 0.5 mm 大小的茎尖为材料,诱导分化培养基配方为:MS+BA 0.5 mg/L;继代增殖培养基 MS+BA 0.5 mg/L;组培苗瓶外生根蘸取的最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L。不同学者对草莓茎尖培养基基本培养基试验结果的报道有差异,如陈振光认为草莓茎尖培养激素用量宜低,BA 浓度过高,形成的芽丛生会长会停滞,呈莲座状^[6],这可能与品种有关。在“童子 1 号”草莓茎尖诱导过程中,BA 浓度在 0.5 mg/L,不加 NAA 反而效果好。这与董淑英、何欢乐等的研究报道一致^[7-8]。

此外,有研究表明不同光质也会对草莓快繁产生影响^[9],这有待于今后进一步研究探讨。

参考文献

- [1] 张跃进,朱振林.大棚草莓配套栽培技术[M].上海:上海科学普及出版社,2000.
- [2] 曹攸义,刘国民.实用植物组织培养技术教程(修订本)[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002.
- [3] 赵密珍.草莓[M].北京:科学技术文献出版社,2005.
- [4] 高山林.草莓分生组织培养脱毒技术及其应用[J].北方园艺,2000,133(4):34-35.
- [5] 徐启红,任平国,张胜,等.草莓茎尖培养快繁技术研究[J].北方园艺,2008,184(1):183-185.
- [6] 陈振光.园艺植物离体培养学[M].北京:中国农业出版社,1996.

3 结论与讨论

3.1 西洋杜鹃试管苗开花的试验体系技术要点

3.1.1 氮源对西洋杜鹃花芽分化有抑制作用。低盐量、低硝酸盐的 1/2 Read 培养基较适合西洋杜鹃花芽的诱导,含琼脂 0.7% 半固体能保持培养基中一定的湿度有利于开花。

3.1.2 外植体的生理状态对花芽的分化有较大影响。茎尖分化的试管苗能诱导出花芽,而茎段、叶片分化的试管苗不能形成花芽,所以应选茎尖分化出的试管苗为花芽诱导的试验材料。

3.1.3 光照对花芽形成有显著影响。光强强度 3 000 lx,光照 16 h/黑暗 8 h 的光照条件适合对西洋杜鹃花芽的诱导。

3.1.4 培养基中加入 0.2% 活性炭能显著提高花芽诱导率。

3.1.5 激素种类与浓度对西洋杜鹃花芽诱导有显著影响。细胞分裂素 ZT、6-BA 不能诱导花芽的产生,生长素 IBA、NAA、IAA 都能不同程度地诱导花芽的形成。筛选出诱导花芽分化的最优培养基配方为:1/2 Read + IBA 2.0 mg/L + 0.2% AC。

3.2 植物激素与花芽分化 植物生理学和遗传学的研究表明开花过程受到多种因子的调控,影响植物开花的主要环境因子在很大程度上均是通过影响植物的内源激素及同化产物合成及流向而发生作用的^[3]。有报道称,通过单加 BA 或以生长素与细胞分裂素配合使用,可以促进花芽形成^[4-6]。该试验中诱导出花器官的激素均是生长素,这与以往用细胞分裂素诱导植物试管苗开花的情况不同。根据生长素的生理作用来看,生长素应比细胞分裂素更适宜对生殖器官的诱导。试验中使用的 IBA、NAA、IAA 虽然都是生长素,其生理功能在某些方面也相似,但效果却存在差异,IBA 效果最好,NAA、IAA 次之,说明外源激素的类别及用量对西洋杜鹃花芽诱导有显著影响。

3.3 活性炭与花芽分化 活性炭(AC)是组织培养工作中常用的物质之一,它具有大量的小孔,所以具有巨大的表面积,吸附能力强。目前对活性炭的报道主要在以下 3 方面:一是 AC 能促进试管苗出芽,还能提高苗质量;二是 AC 能提高花粉愈伤组织的诱导率,促进愈伤组织的生长和胚状体的形成,显著提高成苗率;三是 AC 能吸附培养基中有害物质,还能模拟黑暗环境,促进试管苗的生根。AC 在组培中对苗的促进作用最早是在烟草花药培养中发现的^[7]。后来在油菜、马铃薯、龙眼、玉米等的花药培养中均被证明有效。AC 对根茎的生长具有良好的促进作用,在壮苗培养基中加入 AC,壮苗效果更佳,苗生长快,且挺拔健壮^[8-12]。黄莺等在

培养烟草花药时发现,在 H 培养基上加入 1.0% ~ 2.0% AC 能提高烟草花药的成苗率,证明了是 AC 促进了杂质中微量元素与培养基中大量元素互作的结果。目前,AC 的应用主要还是在生根方面,其他方面应用较少,而在花芽诱导方面的文章至今未见。该试验中,经 AC 培养一段时间后再转瓶对花芽的诱导有明显的促进作用,是 AC 模拟的暗环境对花芽有促进,还是 AC 的吸附作用起了促进作用,或是 AC 促进了培养基中微量元素与大量元素,或激素的互作效果促进了花芽的形成?总之,AC 对花芽的促进机理有待进一步研究和探讨。

3.4 生根作用与花芽分化 在离体成花的诱导中,离体培养的植物并不需要长成一棵完整植株才会开花。在兰科植物的花芽诱导中,Kostenyuk 发现,生根反而推迟或抑制了兰花花芽的诱导。而又有人在豌豆的离体试管开花中发现,如果豌豆没有经过生根诱导,很难开花。该试验中,生根作用影响了花芽的质量并推迟了开花时间。试验发现,试管苗底端和叶片诱导出根的植株花芽的诱导率低,开花时间较未形成根的植株晚 1 个月。可能是根形成后小植株由于自身的调节作用,对外源激素的敏感性降低,也可能是在花芽诱导的过程中由于根的形成使植株内源激素发生改变,从而抑制了开花诱导和开花时间,其影响开花的内在因素有待进一步探讨。

参考文献

- [1] 高林旭. 西瓜植株性器官的分化与形成[J]. 中国西瓜甜瓜, 2001(4): 2-5.
- [2] 刘燕, 陈训. 西洋杜鹃试管苗开花研究[J]. 种子, 2007, 26(1): 6-8.
- [3] CHANG W C, HSING Y I. In vitro flowering of embryoids derived from mature root callus of ginseng (*Panax ginseng*) [J]. Nature, 1980, 28(4): 341-343.
- [4] AMMAR S, BENHADIS A, TRIPATHI B K. Floral induction in date palm seedling (*Phoenix dactylifera* L. Deglet Nour) cultured in vitro [J]. Can J Bot, 1990, 68: 137-142.
- [5] DICKENS C W, VAN STADEN J. The in vitro flowering of *Kalanchoe daigremontiana* Poellniz. II Three factors of growth regulators and galliacid [J]. Plant Cell Physiol, 1990, 31: 757-762.
- [6] 陆文梁, 郭仲探, 王雪洁. 风信子外植体直接分化花芽的研究——I 花芽和营养芽形态发生的控制 [J]. 中国科学: B 辑, 1986(5): 491-500.
- [7] ANAGNOSTAKIS S L. Haploid plants from anthers of tobacco enhancement with charcoal [J]. Plant, 1974, 115: 281-283.
- [8] 何为中, 王天算. 活性炭对甘蔗腋芽诱导及增殖的影响 [J]. 广西甘蔗, 1992(1): 1-3.
- [9] 刘用生, 周琳, 李秀菊. 离体培养条件下打破中国樱桃胚休眠的方法 [J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 293-294.
- [10] 刘桂珍, 梁国平, 王兰岚. 巴西木的组织培养和快速繁殖研究 [J]. 园艺学报, 1997, 24(3): 303-304.
- [11] 王敬驹, 匡柏健, 曾慧. 提高甘蔗组织培养效率的研究 [J]. 植物学通报, 1983, 1(2): 17.
- [12] 李素珍, 张贵生, 石可为. 活性炭对芦苇试管苗生根和生长的影响 [J]. 上海蔬菜, 1996(3): 31-32.
- [8] 何欢乐, 阳静, 蔡润, 等. 草莓茎尖培养快繁体系研究 [J]. 上海交通大学学报, 2003(12): 61-65.
- [9] 周厚成, 罗静, 赵霞, 等. 不同培养条件对幸香草莓离体叶片再生的影响 [J]. 果树学报, 2003, 24(1): 105-108.

(上接第 9404 页)

[7] 董淑英, 李世润. 草莓离体培养产生匍匐茎研究 [J]. 北方园艺, 1999, 126(3): 28-29.