

组培条件对草莓脱毒试管苗玻璃化影响的研究

曹善东

(临沂师范学院生命科学学院, 山东 临沂 276005)

摘要: 试验对影响草莓脱毒试管苗玻璃化的培养基成分和浓度以及培养条件等因素进行了探讨研究。结果显示: 不适宜浓度的琼脂、大量元素和蔗糖以及不同的光照强度和不同封口材料, 在草莓试管苗培养过程中, 都会引起草莓脱毒苗玻璃化, 试验筛选出了控制草莓脱毒试管苗玻璃化的适宜条件。

关键词: 草莓; 脱毒苗; 试管苗; 玻璃化; 影响

中图分类号: S143, S572 文献标识码: A 文章编号: 1000-2324(2006)02-0172-03

STUDY OF INFLUENCE OF TISSUE CULTURE CONDITION ON VITRIFICATION OF STRAWBERRY VIRUS-FREE CUVETTE PLANTLET

CAO Shan-dong

(Department of Biology, Linyi Teachers' University, Linyi 276005, China)

Abstract: This paper studied the effect of component, concentration and cultivation condition of culture medium on strawberry virus-free cuvette plantlet. The results indicated that there were many factors which could make strawberry virus-free cuvette plantlet for vitrification, such as false agar, excessive element and sucrose, different illumination and seal paper. The correct conditions about controlling vitrification of strawberry virus-free cuvette plantlet were selected from the experiment.

Key words: Strawberry, Virus-free plantlets, Cuvette plantlet, Vitrification, Effect

1 研究背景

草莓作为一种重要的经济植物具有较高的栽培价值^[1], 草莓脱毒苗应用于生产实践, 可明显提高经济效益。并且, 利用组培快繁技术对草莓脱毒苗进行快速繁殖, 亦可实现草莓脱毒苗的工厂化育苗和草莓新品种的迅速推广^[2,3]。在植物组培过程中, 试管苗玻璃化现象广泛存在, 是试管苗生产中必须解决的问题之一。试管苗玻璃化现象主要表现为: 茎叶半透明, 颜色深浅不一, 色淡或暗绿, 外观呈水浸状, 叶表面完全无蜡质, 植株有时表现为生长快、植株高大, 但是多数时候表现为生长停滞^[4]。

导致玻璃苗发生的因素很多, 且不同植物的主导影响因素往往因种类而异。尽管试管苗玻璃化偶尔可在延长期恢复正常或通过诱导愈伤组织后重新分化形成正常苗, 但继代培养如果不能消除玻璃化现象, 不仅试管苗的分化能力低下, 难以继代增殖, 并且试管苗也难以发根成苗, 致使移栽也不易成活, 因而研究玻璃化苗发生的原因和预防措施, 消除玻璃化苗, 是植物组培中至关重要一环^[5,6]。

鉴于此, 本文以草莓脱毒苗无性系为实验材料, 通过改变培养基中的琼脂浓度、大量元素的浓度、糖的浓度、试管苗培养过程中光照强度及使用不同封口纸进行对比试验, 对引起草莓脱毒试管苗玻璃化的各种因素和条件进行了探讨和研究。现将试验结果总结如下。

收稿日期: 2004-02-12

基金项目: 临沂市科技局资助项目, 项目编号临(科)99第131号

Email: caolaoda@126.com

作者简介: 曹善东(1963-), 男, 副教授, 主要从事植物组织培养研究。

1 试验材料及方法步骤

1.1 试验材料

本试验所用丰香品种草莓脱毒苗引自山东农科院。脱毒苗经过组织培养,形成丛芽,分切后移入供试培养基中。

1.2 试验方法

供试培养基的基本培养基为 MS 培养基,按照事先设计的浓度,分别加入琼脂、大量元素和蔗糖,封口,在相应条件下恒温培养 26d,观察并记录实验结果。

另外,为确保获得最佳的实验效果,排除对玻璃化干扰的其它因素影响,在培养基中,加入一定量(1.0mg/L)的活性炭,以控制酚类物质的产生,防止出现褐化现象,影响结果。

1.3 试验步骤

1.3.1 琼脂浓度对草莓脱毒苗玻璃化的影响 以 MS 为基本培养基,设置琼脂浓度为 4.0g/L、6.0g/L、7.0g/L、8.0g/L、10.0g/L 5 个处理,8 次重复,附加 BA1.0mg/L + NAA0.01mg/L + 蔗糖 30g/L,选择丰香草莓品种作为试验材料,切取草莓丛生芽,分别接种于上述培养基上,接种后在条件为光照强度:2000 ~ 3000lx;光照时间:14h/d;培养温度:23℃ ± 2℃ 的光照培养室中恒温培养 26d,统计分析结果见表 1。

1.3.2 大量元素浓度对草莓脱毒试管苗玻璃化的影响 设置 1/4MS、1/2MS、MS、2MS,附加 BA1.0mg/L + NAA0.01mg/L + 蔗糖 30/L + 琼脂 7g/L,4 个处理,4 次重复,用丰香脱毒苗作试验材料,切取丛生芽接种于供试培养基,用聚乙烯膜封口,恒温培养 26d,统计结果见表 2。

1.3.3 蔗糖浓度对草莓脱毒试管苗玻璃化的影响 以 MS 为基本培养基,附加 BA1.0mg/L + NAA0.01mg/L,设置蔗糖浓度为 10g/L、20g/L、30g/L、40g/L、50g/L 等五个处理,8 次重复,选择丰香脱毒苗作为试验材料,接种后,恒温继代培养 26d,统计各处理出现的玻璃化苗率,结果见表 3。

1.3.4 光照强度对草莓试管苗玻璃化的影响 以 MS + BA1.0mg/L + NAA0.01mg/L + 糖 30g/L + 琼脂 7g/L 为基本培养基。将接种好的草莓脱毒苗用硫酸纸封瓶口,分别在暗(外裹黑纸)、1000lx、2000lx、3000lx、4000lx 等不同光照条件下恒温培养 26d,记录试验结果见表 4。

1.3.5 不同封口纸对玻璃化的影响 配制 MS + BA1.0mg/L + NAA0.01mg/L + 糖 30g/L + 琼脂 7.0g/L 培养基。分别用聚乙烯膜、硫酸纸、铝箔纸、聚乙烯膜(内衬白纸)封口,四个处理,10 次重复,在温室内进行恒温光照培养,统计分析结果见表 5。

2 试验结果及结果分析

2.1 琼脂浓度对丰香草莓脱毒苗玻璃化的影响

表 1 琼脂浓度对草莓脱毒苗玻璃化的影响

Table 1 The effect of agar concentration on vitrification of Strawberry Virus-free cuvette plantlet

琼脂/(g/L)	4.0	6.0	7.0	8.0	10.0	F
玻璃化苗/%	41.5	25.0	15.0	14.0	12.5	8.15**

($F_{0.01} = 4.87$)

经 F 值检验,琼脂浓度与草莓脱毒苗组培出现玻璃化苗的比例大小差异极显著。随琼脂用量的减少,玻璃化苗的数量、比例明显增加。其中以琼脂浓度为 4.0g/L 和 6.0g/L 两个处理玻璃化苗多。琼脂浓度为 8.0g/L 和 10.0g/L 时,玻璃化苗出现少。所以在进行草莓脱毒苗组培时,以琼脂浓度 7.0 ~ 8.0g/L 为好。其原因是:在琼脂用量较多的情况下,瓶内空气湿度小,试管苗玻璃化现象减轻。但需注意:与此同时降低了试管苗繁殖系数。

2.2 大量元素浓度对草莓脱毒试管苗玻璃化的影响

表 2 大量元素浓度对草莓试管苗玻璃化的影响

Table 2 The effect of excessive element concentration on vitrification of Strawberry virus-free cuvette plantlet

大量元素浓度	1/4MS	1/2MS	MS	2MS
玻璃化苗率/%	19.5	16.0	10.5	38.5

F:7.01 ** (F_{0.01} = 6.99)

F 值测定结果表明,处理间差异极显著。MS、1/2MS、1/4MS 三个处理间差异不显著,而 2MS 与其它三个处理比较,差异极显著。说明增加大量元素浓度,能增加草莓脱毒苗玻璃化苗的数量,减少大量元素用量可减少玻璃化苗的数量。这可能与培养基中 NH_4^+ 过多有关。

2.3 蔗糖浓度对草莓脱毒试管苗玻璃化影响

表 3 蔗糖浓度对草莓脱毒苗玻璃化的影响

Table 3 The effect of sucrose concentration on vitrification of strawberry virus-free cuvette plantlet

蔗糖浓度/(g/L)	10	20	30	40	50
玻璃化苗率%	31.5	22.0	14.0	11.5	10.5

结果分析和 r 显著性检验表明,蔗糖浓度对草莓脱毒组培苗玻璃化率影响显著,蔗糖浓度与草莓脱毒苗玻璃化之间的关系。总的看来,随蔗糖用量的减少,玻璃化苗增加。其中以蔗糖浓度为 10g/L 和 20g/L 两个处理玻璃化苗多,蔗糖浓度为 30g/L、40g/L 和 50g/L 时差异不显著,玻璃化苗出现较少。

其原因可能是:在蔗糖浓度高时,瓶内空气湿度变小,减轻了玻璃化现象,但成本也大幅度上升,并且也同时降低了试管苗繁殖系数。因此,考虑到成本,在进行草莓脱毒苗组培快繁时,以蔗糖浓度 30g/L 为好。

2.4 光照强度对草莓试管苗玻璃化的影响

表 4 光照对草莓脱毒苗玻璃化的影响

Table 4 The effect of illumination on vitrification of strawberry virus-free cuvette plantlet

光照强度(1x)	0	1000	2000	3000	4000
玻璃化苗率/%	70.5	30.5	8.5	5.0	4.5

结果分析表明,草莓脱毒苗玻璃化苗率与光照强度之间存在极显著、负相关的关系,光照强度越高,玻璃化苗越少。完全黑暗时玻璃化苗最多,而且颜色黄白缺绿、苗叶细长,玻璃化严重。原因是:在黑暗条件下,植物的光合作用停止,影响了体内代谢和正常生理。因此,考虑到生产实际和成本,在草莓组培生产时,光照强度应在 20001X ~ 30001X 之间。

2.5 不同封口纸对玻璃化的影响

表 5 不同封口纸对玻璃化苗的影响

Table 5 The effect of seal paper on vitrification of strawberry virus-free cuvette plantlet

封口纸种类	聚乙烯膜	硫酸纸	铝箔纸	聚乙烯膜衬纸
玻璃化率/%	38.52	11.56	13.38	9.86

F = 3.11 * (F_{0.05} = 2.96)

经 F 值测定结果表明,各处理间差异显著。用聚乙烯膜(内衬白纸)和硫酸纸封口能明显减少玻璃化苗率。这是由于增加了瓶内的通气性,降低了瓶内湿度所致。

3 结论

3.1 琼脂浓度与草莓脱毒试管苗玻璃化苗率之间存在正相关的关系,且各琼脂浓度间差异极显著,琼脂用量越多,瓶内空气湿度越小,玻璃化程度就越轻。但同时试管苗繁殖系数降低。(下转第 180 页)

素,单单从形态学角度进行分类是不够的。只有综合各种分类方法(如:形态分类、数量分类、分子标记等)的结果,才能得到一个合理的分类体系。因此对蔷薇品种进行科学的分类还有许多工作要做。

参考文献

- [1] 张本.月季[M].上海:上海科学技术出版社,1998,13
- [2] 何子灿,钟扬,刘洪涛等.中国猕猴桃属植物叶表皮毛微形态特征及数量分类分析[J].植物分类学报,2000,38(2):121-136
- [3] 逯晓萍,吕学理,张众等.油用红花数量性状的多元遗传分析[J].中国油料作物学报,2004,26(2):39-42
- [4] 杭悦宇,黄春洪,穆森等.盾叶薯蓣叶片形态多样性研究[J].云南植物研究,2004,26(4):398-404
- [5] 刘建秀,朱雪花,郭爱桂等.中国假俭草种质资源主要性状变异及其形态类型[J].草地学报,2004,12(3):183-188
- [6] 包清珠,陈俊愉.梅及其近缘种数量分类初探[J].园艺学报,1995,22(1):67-72
- [7] 黄家平,戴思兰.中国兰花品种数量分类初探[J].北京林业大学学报,1998,20(2):38-43
- [8] 张西丽,周厚高,周森等.百合品种间的数量分类研究[J].广西植物,2000,20(4):325-328
- [9] 刘龙昌,向其柏.桂花品种数量分类研究[J].福建林学院学报,2004,24(3):233-236
- [10] 徐克学.数量分类学[J].北京:科学出版社,1994
- [11] 郑万钧等.中国树木志[M].北京:北京林业出版社,1985,700
- [12] 高志红,辛镇,盛炳成等.果梅品种数量分类研究[M].北京:北京林业出版社,1985
- [13] 吴高龄,宋德凤,徐尚钟等.数值分类法在玉米品种资源上的应用[J].玉米科学,2000,8(1):23-27

(上接第 174 页)

因此,琼脂浓度以 7.0~8.0g/L 为好。

3.2 大量元素浓度对草莓试管苗玻璃化的影响较大。增加大量元素浓度,能增加草莓脱毒苗玻璃化苗的数量,减少大量元素用量可降低玻璃化苗率。但大量元素含量过低,不利于试管苗的生长。

3.3 蔗糖浓度对草莓脱毒组培苗玻璃化率影响显著,随蔗糖用量减少,玻璃化苗增加,在蔗糖浓度高时,玻璃化现象减轻,但生产成本也大幅上升,试管苗繁殖系数降低。因此,草莓脱毒组培快繁时,以蔗糖浓度 30g/L 为好。

3.4 草莓脱毒苗玻璃化苗率与光照强度之间存在着极显著、负相关的关系,光照强度越高,玻璃化苗越少。

3.5 不同封口纸对试管苗玻璃化的影响也很大,用聚乙烯膜(内衬白纸)和硫酸纸封口能明显减少玻璃化苗率。

参考文献

- [1] 曹汝义,刘国民主编.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科技出版社,1996,11
- [2] 曹善东.MS 培养基中不同浓度有机物对草莓脱毒苗繁殖系数的影响[J].山东农业大学学报,2004,(2)
- [3] 曹善东.草莓脱毒组培快繁技术研究[J].山东林业科技,2002(5):19-21
- [4] 曹善东.不同碳源对草莓脱毒组培快繁的影响[J].山东林业科技,2003,(3):16-19
- [5] 钟士传等.控制毛白杨新无性系试管苗玻璃化的研究[J].山东林业科技,2000,(2):17-19
- [6] 丰峰等.芦荟组织培养中试管苗玻璃化的发生与防止[J].西南农业大学学报,2001,10:449-451