

草莓组培育苗外植体的选择及茎尖组培快繁技术

郑晓峰

(黔东南民族职业技术学院 凯里 556000)

目前,草莓生产中的主要问题是病毒病危害严重。应用植物组织培养技术,不仅比常规育苗繁殖系数高、生长旺盛、成活率高,而且能解决种性退化、病毒病严重等问题^[1-2]。近年来,我国已开展了草莓茎尖、叶片、花药、胚和原生质体等方面的培养研究,并取得了一定的进展^[2-7]。笔者用从北京等地引进露地栽培的优良品种新世纪1号、促成栽培的优良品种章姬等品种,进行组培快繁研究。经过6年多试验示范,已掌握草莓匍匐茎尖组织培养技术,现我院组培中心可常年提供多种品种的草莓组培苗。

1 材料与方 法

以引自北京郁金香生物技术有限公司的新世纪1号、章姬草莓品种为供试材料。

芽诱导培养基设置4个处理:(1)knop溶液+MS微量元素+6-BA(6-苄氨基嘌呤)0.5 mg/L;(2)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA(萘乙酸)0.1 mg/L;(3)简易培养基+6-BA 0.5 mg/L;(4)MS+KT(6-糠基氨基嘌呤)1.0 mg/L+GA₃(赤霉素)5.0 mg/L。

继代增殖培养基设置4个处理:①MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L;②MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L;③MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L;④MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L。

生根壮苗培养基为MS。

上述培养基均附加白糖30 g/L和琼脂4 g/L,常规高压灭菌备用。培养条件:温度(23±2)℃,光照时间10~12小时/天,光照强度1500~2000 lx,pH值5.8。

外植体表面灭菌:用0.1%升汞进行不同时间处理试验,设2分钟、4分钟、5分钟、8分钟4个处理。各剪取20枚接种在MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上,15天后观察记录结果。

外植体不同部位的培养:剥取经消毒灭菌的匍匐茎茎尖、花药、叶片各20枚(叶片切成1 cm×1 cm小块),分别接种于MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上。每个处理接种20瓶,每瓶接种1枚。观察记录试验过程,4周后统计结果。

不定芽的诱导分化:剥取经消毒灭菌的匍匐茎

茎尖,分别接种于不定芽诱导培养基4种处理中。每个处理接种20瓶,每瓶接种1个茎尖。观察记录试验过程,4周后统计结果。

不定芽的继代增殖:用匍匐茎茎尖分化出的芽苗作试验材料,分别接种在继代增殖培养的4种处理中。每个处理接种10瓶,每瓶接种5苗。观察记录试验过程,4周后统计结果。

壮苗及生根培养:将继代增殖的瓶苗剪去部分根系和黄叶,分株接种于诱根培养基上。接种20瓶,每瓶接种10苗。观察记录试验过程。

2 结果与分析

2.1 升汞处理时间对匍匐茎茎尖灭菌的影响 升汞灭菌时间的长短,对草莓匍匐茎茎尖成活的影响十分明显。在本试验中,处理时间过长(5~8分钟),易使外植体褐变,甚至死亡;处理时间过短(1~3分钟),达不到灭菌效果而造成污染率增加。试验结果表明,以0.1%升汞处理4分钟较为适宜,成活率达46.67%。

2.2 外植体不同部位培养的比较 草莓外植体类型与成芽的快慢有着密切关系。试验结果表明,接种7天后首先是茎尖萌发不定芽,20~25天后在茎尖周围形成芽丛,并且芽分化率高,质量好。接种的叶片,10天后在叶周围产生乳白色的愈伤组织,70天后在愈伤组织上萌发不定芽。花药愈伤组织和不定芽的萌发比叶片晚5天。这与牛建新等报道相一致^[8]。

从对草莓匍匐茎茎尖、花药、叶片的培养对比来看,经一次培养,无论哪一个部位皆可发芽和生根成苗;但诱芽的先后顺序及质量不一样。花药培养和叶片培养都是先诱导形成愈伤组织,再由愈伤组织分化成不定芽,待性状稳定再继续则需4~5个月时间。匍匐茎茎尖培养不经过愈伤组织去分化和再分化的途径,直接诱导形成不定芽,接种45~60天后即可转入继代增殖,有利于进行大规模的工厂化育苗。同时,茎尖培养发芽率高,可达80%;而花药、叶片培养发芽率低,分别为45%、50%。这说明匍匐茎茎尖是草莓组培快繁中最好的外植体取材部位(见表1)。

表1 草莓不同外植体培养的比较

外植体类型	接种数/个	愈伤组织		不定芽		接种至发芽历期/天
		数量/个	诱导率/%	数量/个	诱导率/%	
匍匐茎尖	20	0	0	16	80	7
花药	20	14	70	9	45	75
叶片	20	15	75	10	50	70

2.3 不同植物生长调节剂配比对草莓不定芽诱导分化的影响 接种的4种培养基处理,先后都能诱导不定芽的分化。接种7天后,首先在MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上出现绿色芽点,随后不断增大,1个月后形成无根小苗;更换培养基,继代1~2次,经2个月培养形成芽丛,性状稳定,转继代增殖扩繁。Knop溶液和简易配方培养基诱导率明显不如另两个以MS为基本培养基的处理培养基。经比较发现,6-BA的诱芽速度比KT快,7天可发芽,且诱导率高。因此,可以确定MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L为草莓不定芽诱导

分化的适宜培养基(见表2)。

2.4 不同植物生长调节剂配比对草莓不定芽继代增殖的影响 细胞分裂素是植物组织培养中诱芽及增殖的关键物质,不同细胞分裂素促进离体培养芽增殖的效果不同,且同一种细胞分裂素浓度不同效果也不相同。试验结果表明,不论那种浓度,6-BA的增殖倍数明显比KT高,6-BA可高达7.6倍。就同一细胞分裂素来看,不论是6-BA还是KT,随着浓度的增加,增殖倍数也在增加;但植株长势和干物质重却随着浓度的增加而降低。因此,综合考虑,以MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L为不定芽继代增殖的适宜培养基(见表3)。

2.5 壮苗生根培养的效果 试管苗在继代增殖培养基中经多次继代后,也能形成根系,但苗弱,移栽成活率不高;转入去掉植物生长调节剂的MS培养基后,生长健壮,30天后移入基质,成活率可高达95%。

表2 不同培养基对草莓不定芽诱导分化的影响

培养基配方	接种数/个	诱芽数/个	诱导率/%	接种至出芽历期/天
Knop溶液+MS微量元素+6-BA 0.5 mg/L	20	6.9	34.6	14
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	20	15.5	77.5	7
简易培养基+6-BA 0.5 mg/L	20	5.6	28.0	15
MS+KT 1.0 mg/L+GA ₃ 5.0 mg/L	20	9.3	46.5	10

表3 不同植物生长调节剂配比对草莓组培不定芽继代增殖的影响

植物生长调节剂配方	每瓶接种株数	每瓶成苗株数	增殖倍数	干物质重/g·株 ⁻¹	植株长势	成苗时间/天
6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L	5	32	6.4	0.44	叶绿,苗壮	30
6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L	5	38	7.6	0.23	叶淡绿,苗弱	30
KT 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L	5	18	3.6	0.32	叶绿,苗较壮	30
KT 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L	5	24	4.8	0.12	叶淡绿,苗弱	30

注:基本培养基均为MS。

2.6 试管苗的驯化移栽 组培苗生根后,可转到移栽扦插室进行炼苗驯化。炼苗2天后,揭瓶盖,洗掉琼脂,再用50%多菌灵可湿性粉剂500倍液浸泡30分钟,移入基质中。通过多年试验表明,移栽基质和季节对移栽成活率影响极大。以腐质土:珍珠岩=3:1为较好移栽基质,移栽成活率达95%;3月至5月上旬为最佳移栽季节。过早,移栽驯化时间过长;过晚,移栽成活率下降。移栽1周后喷施营养液一次,2周后,可用0.1%磷酸二氢钾+尿素进行叶面喷施,每周2次。50天可形成商品苗。

3 讨论

外植体的褐化是草莓组培中较常出现、又较难解决的问题之一,往往易造成组培苗死亡率过高,性状难以稳定,无法形成较高的基数苗。本试验外植

体成活率不高,其原因有待进一步研究。

本试验中选用6-BA的增殖效果比KT增殖效果好;同时,6-BA的浓度虽然在1.0 mg/L时增殖倍数很高,但苗纤细、黄弱,因此,继代增殖的适宜培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白糖30 mg/L+琼脂4 g/L。当然,在基数苗较少的情况下,也可将6-BA提高到1.0 mg/L,继代1~2次后,再转入上述培养基。

参考文献

- [1] 程林梅. 草莓生物技术研究进展[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 39-43
- [2] 马崇坚, 廖佩颖. 草莓叶柄和叶片的组织培养[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(13): 3841-3842
- [3] 杭玲, 潘颖南, 黄卓忠, 等. 草莓匍匐茎尖组织培养与脱毒苗生产[J]. 广西农业科学, 1999(6): 319-320
- [4] 覃兰英, 邓世秀, 李青, 等. 培育草莓脱毒苗方法的研究[J]. 园艺学报, 1998, 15(3): 175-179

- [5] 吴伟民,余桂红,马鸿翔,等. 草莓花药愈伤组织继代培养和不定芽发生研究[J]. 江苏农业研究,1999,20(4):19-23
- [6] 覃兰英,徐光霞. 无病毒良种草莓苗的培育及栽培管理[M]. 北京:高等教育出版,1990
- [7] 张连忠,李文金,蔚承祥,等. 四季草莓“赛娃”的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(1):39

- [8] 牛建新,鲁晓燕,于艳华. 外植体和培养因子对草莓不定芽诱导的影响[J]. 北方园艺,1999(3):30-31

收稿日期:2008-07-28;修回日期:2008-10-05

作者简介:郑晓峰(1965-),女,副教授,主要从事植物组织培养教学及研究工作。电话:13985296765,传真:(0855)2100303,E-mail:zxf5678@126.com

草莓组培苗瓶外生根研究初报

周恒罗静

(铜仁职业技术学院生物工程系 554300)

草莓果实营养丰富、酸甜可口,深受人们喜爱。近年来,生产上较多地采用组培法培养脱毒草莓苗并快速繁殖,但组培繁殖成本较高是一大难题。为此,我们进行了草莓组培苗瓶外生根的研究,探讨了影响瓶外生根的一系列因子,希望能将组培苗生根与驯化合一,简化繁苗程序,降低育苗成本。

1 材料与方 法

供试为草莓品种丰香组培苗。扦插基质有(1)珍珠岩:蛭石=1:1;(2)珍珠岩:椰糠:泥炭=2:1:1;(3)泥炭:沙=1:1;(4)珍珠岩:蛭石:沙=2:1:1;(5)珍珠岩:泥炭:沙=1:1:1。生根处理剂 IBA(吡啶丁酸)、NAA(萘乙酸),处理浓度均分别设 50、100、150 mg/L。

不同苗质组培苗瓶外生根试验:试验分 3 类苗质,以试管苗高度 4 cm 左右,5~6 片叶,叶色浓绿舒展为健壮苗;苗高 2~3 cm,3~5 片叶,叶色正常绿色为普通苗;苗高 1~2 cm,1~2 片叶,叶色淡薄为弱苗。将瓶内无根组培苗在室外散射光下炼苗 3 天后,取出洗净基部培养基,各类苗均用 IBA 100 mg/L 浸苗 10 分钟后,栽植于 2:1:1 的珍珠岩、椰糠、泥炭混合基质中。

不同栽培基质试验:将普通苗质的无根试管苗用 IBA 100 mg/L 溶液浸泡 10 分钟,栽植于上述 5 种不同种类及配比的基质中。

不同生根剂处理试验:将普通苗质的无根试管苗分别在浓度为 50、100、150 mg/L 的 IBA 及 NAA 溶液中浸基端 10 分钟,并栽植于 2:1:1 的珍珠岩、椰糠、泥炭混合基质中。

以上试验每处理均用苗 50 株,3 次重复。

2 结果与分析

2.1 草莓组培苗质量对生根成活的影响 试验结

果表明,苗质量对生根成活率影响明显。健壮苗瓶外生根成活率达 93.5%,明显高于普通苗(生根成活率 76.8%)和弱苗(生根成活率 44.2%)。在瓶外生根过程中选择健壮苗是获得成功的关键。

2.2 不同基质对草莓苗生根成活的影响 试验结果表明,成活率最高的是处理 I 基质,生根率较高的是处理 I 和 IV 基质,根长较长的是处理 II 和 V 基质,而平均生根数各基质间差异不显著。供试基质中,以基质 III 最差,各项测试指标均居末位(见表 1)。说明不同的基质对瓶外生根效果影响明显,这是因为不同的基质其通透性和营养成分不同。通过对比分析,我们认为基质 I 有良好的通透性但营养成分较少,组培苗生根后应及时移栽;基质 II 和 V 营养成分较好,有利于生根后苗木的后期生长,可适当延迟移栽时间,但通透性较差,在夏季高温季节建议不采用;基质 III 效果不理想,不宜作瓶外生根基质。

表 1 不同基质对草莓苗瓶外生根的影响

处理编号	成活率/%	生根率/%	生根量/条	最长根长/cm
I	91.7	94.5	4.1	3.1
II	82.2	82.3	5.2	3.5
III	56.7	63.4	3.3	1.8
IV	85.6	92.6	4.8	2.9
V	68.5	78.1	5.4	3.3

注:处理 I 为珍珠岩:蛭石=1:1;处理 II 为珍珠岩:椰糠:泥炭=2:1:1;处理 III 为泥炭:沙=1:1;处理 IV 为珍珠岩:蛭石:沙=2:1:1;处理 V 为珍珠岩:泥炭:沙=1:1:1。

2.3 不同植物生长调节剂对草莓苗生根成活的影响 NAA 和 IBA 对试管苗的生根有明显促进作用,是一类促进生根的植物生长调节剂。试验结果看出,NAA 和 IBA 对试管苗生根效果差异并不明显,但不同处理浓度却有明显不同的反应。两者最佳处理浓度均为 100 mg/L(见表 2)。

2.4 环境条件对草莓苗生根成活的影响 环境条