

外植体和培养因子对草莓不定芽诱导的影响

牛建新 鲁晓燕 于艳华

(石河子大学农学院园艺园林工程系)

摘要 通过试验研究了不同外植体和培养因子对草莓不定芽诱导的影响。结果表明,未伸长的幼嫩叶柄和未展开的幼嫩叶柄是比较好的外植体,易产生愈伤组织和不定芽。在不同激素中以 6-BA 效果较好,尤其是以 6-BA 和 IAA 配合使用效果最好。接种后先暗培养一周则更有利于愈伤组织的形成和不定芽的分化。

关键词 草莓 愈伤组织 不定芽 诱导率

草莓生产中的主要问题是草莓病毒病害严重,防治病毒病的主要途径有两条,一是生产无病毒苗,这在国内外生产上已开始用^[1-2],二是培育抗病毒的品种,这是当务之急。传统技术一般是通过杂交育种把抗病品种的抗病基因引入易感病而其他性状优良的品种中。但有些果树存在不亲和障碍,因此,杂交育种在抗病育种中的作用是很有限的,而遗传转化技术可以克服这两个困难,但转化成功的前提是建立高频率和稳定的组织培养再生系统。本实验通过组织培养研究各种不同外植体和培养条件对产生愈伤组织和不定芽的影响。选择出有利于产生愈伤组织和不定芽分化的适宜条件,建立高频再生系统,为草莓脱毒快繁和基因转导奠定良好基础。

1 材料与方法

1.1 材料 供试品种:新明星

1.2 方法

1.2.1 无菌苗的获得 1996年7月,在园林系果园内,选择新明星品种,随机采集匍匐茎作为试材。将材料用自来水反复冲洗;然后去除已长出的小叶,用75%的乙醇浸沾3~4s,再迅速移入无菌水冲洗3次,每次3min。随后,将材料移入0.1%升汞溶液中浸泡7~8min,取出后再用无菌水冲洗3~4次,每次5~10min。在超净工作台上,用无菌尖头镊子将匍匐茎尖外面的包叶可能剥去。然后,用镊子将幼叶一一剥去,切取尽可能小的茎尖,接种到C₁培养基中培养,获得试管苗。培养室温度控制在20~28℃,光照3000lx,每天光照8~10h。

1.2.2 不定芽的诱导 诱导不定芽的培养基见表1。

取无菌试管苗的茎尖、叶柄、叶切片在无菌条件下接种到各种培养基上(见表1),在前述条件下培养,观察茎尖分生丛芽及叶柄、叶切片的愈伤组织形成和分化不定芽的情况,经45d后,统计不定芽诱导率。

表1 诱导不定芽培养基的代号和成分

培养基代号	培养基成分
C ₁	MS+6-BA1mg/l+IAA2mg/l
C ₂	MS(无激素)
C ₃	MS+2,4-D1mg/l
C ₄	MS+ZT1mg/l
C ₅	MS+KT1mg/l
C ₆	MS+6-BA1mg/l
C ₇	MS+IAA1mg/l
C ₈	MS+6-BA1mg/l+IAA1mg/l
C ₉	MS+6-BA0.1mg/l
C ₁₀	MS+6-BA0.5mg/l
C ₁₁	MS+6-BA1.5mg/l
C ₁₂	MS+6-BA2.0mg/l

2 结果与分析

2.1 不同外植体对不定芽诱导的影响 分别将试管苗的茎尖、未伸长的幼嫩叶柄、伸长叶柄、未展开嫩叶切片与完全展开叶切片接种到C₁培养基中,结果发现,茎尖接种一周后,很快萌发,经半个月左右,能够看到茎尖分化组织周围不断产生小芽,形成芽丛,芽分化率高,质量好。叶柄在接种一周后,绝大部分都于两端膨大产生淡黄色愈伤组织,但较小,45d后,未伸长的幼嫩叶柄有83.3%产生不定芽,而伸长的较老叶柄只有27.8%的产生不定芽(见表2)。叶片产生愈伤组织的高峰期较叶柄晚10d左右,接种后5d天左右,叶切

稿件修回日期:1998-11-20

片膨大,经 45d 后,幼嫩叶切片有 77.8% 的产生不定芽,而展开叶切片只有 33.3% 产生不定芽(见表 2)。

表 2 外植体种类对不定芽诱导的影响

培养基 代号	外植体 种 类	接种数	愈伤组 织块数	愈伤组织 诱导率%	不定 芽数	不定芽诱 导率%
C ₁	未伸长的嫩叶柄	36	36	100	30	83.3
C ₁	伸长的叶柄	36	20	55.5	10	27.8
C ₁	未展开幼叶切片	36	36	100	28	77.8
C ₁	展开叶切片	36	16	44.4	12	33.3

2.2 外源激素对不定芽诱导的影响 从表 3 可见,2,3-D 和 6-BA 对产生愈伤组织效果较好,而 6-BA 和 IAA+6-BA 的处理产生不定芽的效果好,其中尤以 IAA+6-BA 诱导不定芽效果最好。

2.3 不同 6-BA 浓度对不定芽诱导的影响 从表 4 可以看出,随 6-BA 浓度增大,产生愈伤组织的百分率增大,而以 6-BA 浓度为 1.0mg/l 时,不定芽诱导率最高。

表 3 外源激素对不定芽诱导的影响

培养基 代号	激素种类	接种数	愈伤组 织块数	愈伤组织 诱导率%	不定 芽数	不定芽诱 导率%
C ₂	无激素	36	20	55.6	2	5.6
C ₃	2,4-D	36	36	100	7	19.6
C ₄	ZT	36	18	50	1	2.7
C ₅	KT	36	18	50	3	8.3
C ₆	6-BA	36	36	100	10	27
C ₇	IAA	36	20	55.6	5	13.9
C ₈	IAA+6-BA	36	25	69.0	12	33.3

注:接种的外植体均为已伸长的叶柄

2.4 培养条件对不定芽诱导的影响 从表 5 可以看出,先暗培养一周,在进行光培养,叶柄产生的愈伤组织分化出的不定芽百分率较高。

3 讨论

3.1 在草莓外植体诱导不定芽的过程中,除材料基因型的显著影响外^[3],外植体本身是一个重要的影响因

素,不定芽的诱导率不仅受到外植体种类的影响,对外表 4 不同浓度 6-BA 对不定芽诱导的影响

培养基 代号	6-BA 浓度 (mg/l)	接种数	愈伤组 织块数	愈伤组织 诱导率%	不定 芽数	不定芽诱 导率%
C ₉	0.1	36	20	55.6	2	5.6
C ₁₀	0.5	36	29	80.6	6	16.7
C ₆	1.0	36	36	100	11	30.6
C ₁₁	1.5	36	36	100	7	19.4
C ₁₂	2.0	36	36	100	5	13.9

注:接种的外植体均为已伸长的叶柄

表 5 培养条件对不定芽诱导的影响

培养基 代号	培养条件	接种数	愈伤组 织块数	愈伤组织 诱导率%	不定 芽数	不定芽诱 导率%
C ₁	先暗培养一周 再光培养	35	35	100	14	40
C ₁	直接光培养	35	32	91.4	10	28.6

注:接种的外植体均为已伸长的叶柄

植株的幼嫩程度要求也很严格,在实验中发现,试管苗完全展开的叶切片,效果最差,而越嫩的叶切片,产生不定芽的诱导率较高,叶柄也是如此,所以在选择外植体时,最好选择幼嫩的为宜。

3.2 不定芽发生部位往往在愈伤组织表面,初为绿色小点,后逐渐增大成芽,愈伤组织分化成器官主要受激素种类及激素浓度比的控制^[4]。试验结果表明,先暗培养一周,再进行光培养,不定芽的诱导率较高,可能是由于生长素 IAA 在光下易分解,先暗培养,减少了分解,提高了 IAA 的浓度,有利于不定芽的分化。

参考文献

1 牛建新等. 草莓无病毒苗快速繁殖技术研究. 石河子农学院学报, 1995, 4: 35~38
2 牛建新等. 草莓花药培养再生植株诱导研究. 石河子农学院学报, 1996, 1: 21~24
3 邓明琴. 草莓科研文选. 沈阳: 辽宁科技出版社, 1990
4 白宝璋等. 植物生理学. 中国科学技术出版社, 1994.

封面说明

郭亚华,女,副研究员,1954 年 7 月生。1980 年毕业于南开大学生物系,遗传专业,自毕业以来,一直从事生物技术研究工作,曾参与及主持国家农业部、国家 86-3 及省科委、省自然科学基金等多项重点科研项目“蔬菜花药培养”及“单倍体育种”、“蔬菜航天诱变技术研究及应用”、“蔬菜外源 DNA 导入技术研究与应”等,曾先后育成花培茄子新品种“龙单一号”、新品系 86-1、辣椒新品种“龙椒五号”,首次育成太空椒“卫星 87-2”及太空番茄 KF94631、外源 DNA 导入新品系辣椒 9216、9218、9219 等,加工型小水黄瓜 cj90-4、90-12、90-22 等新品系,先后获得省科技大会奖,省政府及农业科技进步奖多项。并在国家 1~2 级刊物上发表论文 10 余篇。