

法兰地草莓花药培养技术研究

张 敏, 孙红绪, 王群艺

(三峡职业技术学院 生物工程系, 湖北 宜昌 443003)

摘 要:以法兰地草莓为试材, 研究了不同 6-BA 浓度、不同碳源、不同基本培养基对法兰地草莓花药愈伤组织诱导的影响, 不同组合的细胞分裂素对愈伤组织诱导分化的影响。结果表明: 6-BA 浓度 1 mg/L、麦芽糖作碳源、MS 为基本培养基最适合法兰地草莓愈伤组织诱导。细胞分裂素以 6-BA 2 mg/L+ZT 2 mg/L 组合最适合诱导不定芽分化。试验中观察到: 法兰地草莓花药直接接种于 MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L+麦芽糖 30 g/L 的培养基上, 70 d 后可直接诱导出不定芽, 其分化率高达 11%。

关键词: 法兰地草莓; 花药培养; 愈伤组织诱导; 不定芽分化

中图分类号: S 668.403.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)04—0083—02

法兰地草莓由于具有结果早、产量高、抗病性强、硬度好、货架期长等特点, 近年来在三峡地区大量栽培。但由于长期的无性繁殖, 植株病害加重, 产量、品质逐渐衰退。为此, 该试验利用草莓的花药作外植体, 进行了法兰地花药培养脱毒^[1-2] 技术的研究, 旨在为法兰地草莓生产提供大量无病毒优质种苗, 为提高法兰地草莓产量、品质提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

法兰地草莓花药采自宜昌市猇亭区红港村草莓基地。花药采回后放 4~5℃冰箱中冷藏 2 d 后接种。

1.2 方法

从供试材料上取 4~6 mm 大小的花蕾(花粉发育处于单核期), 常规方法消毒后, 在净化工作台上剥取花药, 立即接种, 培养基中琼脂均为 6.5 g, pH 值均为 5.8, 培养室内温度控制在 25~28℃, 光照时间为每天 14 h, 光照强度 1 500~2 000 lx。选择试验因素有: ①不同 6-BA 浓度对花药愈伤诱导效果试验。6-BA 浓度分设 1、2、3、4 mg/L 4 个处理。②不同碳源对花药愈伤诱导效果试验。碳源分设果糖、麦芽糖、葡萄糖、蔗糖 4 个处理。③不同基本培养基对花药愈伤诱导效果试验。基本培养基分设 MS、B₅、N₆、W₁₄ 4 个处理。④不同细胞分裂素对愈伤组织诱导分化效果试验; 设 6-BA 2 mg/L、KT 2 mg/L、6-BA 2 mg/L+KT 2 mg/L、6-BA 2 mg/L+ZT 2 mg/L 4 个处理。采用单因子试验, 每处理 3 次重复, 每个重复接种 5 瓶, 花药愈伤诱导每瓶接种花药 18~20 粒; 愈伤组

织诱导分化每瓶接种 D 0.5 cm 大小愈伤组织 5~6 块。

2 结果与分析

2.1 不同 6-BA 浓度对花药愈伤诱导分化的影响

将花药接种在基本培养基为 MS, NAA 0.2 mg/L, 蔗糖 30 g/L, 6-BA 浓度分别为 1、2、3、4 mg/L 4 种培养基上, 置于前述培养条件下, 40 d 后的统计结果。由表 1 可知: 不同浓度的 6-BA 对法兰地花药愈伤诱导有较大的差异。其中以 1 mg/L 的浓度最适合愈伤诱导, 且愈伤生长速度快, 体积大, 而相对较高浓度的 6-BA 愈伤诱导效果较差, 且愈伤生长速度慢, 体积小。

表 1 不同 6-BA 浓度对花药愈伤诱导分化情况

处理 /mg·L ⁻¹	接种花药 粒数	愈伤 分化数	愈伤 分化率/%	愈伤分化 状况
1	289	249	86	颜色淡绿色 体积大 增殖快
2	286	206	72	颜色淡绿色 体积较大 增殖较快
3	296	181	61	颜色淡绿色 体积较小 增殖较慢
4	290	139	48	颜色淡绿色 体积小 增殖慢

2.2 不同碳源对花药愈伤诱导分化的影响

将花药接种在 MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 碳源分别为果糖 30 g/L、麦芽糖 30 g/L、葡萄糖 30 g/L、蔗糖 30 g/L 4 种培养基上, 置于前述培养条件下, 40 d 后统计愈伤分化数, 70 d 后统计植株直接分化数, 结果如表 2。试验表明, 不同碳源对花药愈伤诱导分化有较大差异, 以麦芽糖诱导愈伤分化效果最好 98%^[3], 达到了目前草莓花药愈伤诱导率的最高水平; 葡萄糖、蔗糖诱导愈伤效果较好, 而果糖诱导愈伤效果最差; 同时, 从表 2 还可知, 采用果糖、麦芽糖、葡萄糖作碳源均可诱导花药直接分化出不定芽, 且麦芽糖诱导不定芽直接分化率高达 11%, 达到了目前诱导花药直接分化不定芽的最高水平^[1-2], 这一试验结果为迅速获取法兰地无病毒原种提供了一条新的途径。

第一作者简介: 张敏(1966), 女, 湖北当阳人, 本科, 讲师, 现从事植物组织培养的教学和科研工作。E-mail: zhangmin@tcg.edu.cn。
收稿日期: 2008-12-10

表2 不同碳源对花药愈伤诱导分化情况及不定芽直接分化情况

处理	接种花药粒数	愈伤分化数	愈伤分化率/%	愈伤分化状况	不定芽直接分化数	不定芽直接分化率/%
果糖	290	42	14.3	颜色淡绿色, 体积蚕豆大	9	3.2
麦芽糖	290	284	98	颜色绿色 体积绿豆大	32	11
葡萄糖	296	256	86.4	颜色绿色 体积绿豆大	7	2.4
蔗糖	296	255	86	颜色淡绿色, 体积蚕豆大	0	0

2.3 不同基本培养基对花药愈伤诱导分化的影响

将花药接种在 6-BA 1 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 蔗糖 30 g/L, 基本培养基分别为 MS、B₅、N₆、W₁₄ 的 4 种培养基上, 置于前述培养条件下, 40 d 后统计愈伤分化数, 结果如表 3。试验表明, 不同基本培养基对诱导法土地花药愈伤分化差异较大。以 MS 培养基最适合法土地花药愈伤诱导, 而 B₅、N₆、W₁₄ 均不适合作法土地花药愈伤诱导培养基。这与徐振南、万蜀渊的试验结果有一定差异, 可能与草莓基因型有很大关系。

表3 不同基本培养基对花药愈伤诱导分化情况

处理	接种花药数	愈伤分化数	愈伤分化率/%	愈伤生长状态
MS	289	249	86	颜色淡绿色 体积大 增殖快
B ₅	280	28	10	颜色灰白色 体积小 增殖慢
N ₆	285	0	0	未分化
W ₁₄	285	0	0	未分化

2.4 不同组合细胞分裂素对愈伤组织诱导分化的影响

将 D 0.5 cm 的愈伤组织接种在 MS + NAA 0.2 mg/L + 蔗糖 30 g/L, 细胞分裂素分别为 6-BA 2 mg/L、KT 2 mg/L、6-BA 2 mg/L + KT 2 mg/L、6-BA 2 mg/L + ZT 2 mg/L 4 种培养基上, 90 d 后统计分化结果, 见表 4。试验表明: 不同组合的细胞分裂素对诱导法土地愈伤组织分化不定芽的差异较大。以 6-BA 2 mg/L + ZT 2 mg/L 组合最适合诱导分化, 其分化率高达 38.7%, 明显高于其它处理; 6-BA 2 mg/L + KT 2 mg/L、KT 2 mg/L 2 处理诱导分化率均较低; 而 6-BA 2 mg/L 不能诱导分化。诱导分化出的无根植株转入 1/2MS + NAA 0.2 mg/L + AC 1% + 蔗糖 20 g 的生根培养基上, 15 d 后根

系分化完整, 通过练苗成活即可作为无病毒苗^[4]用于生产。

表4 不同组合细胞分裂素对诱导不定芽分化的影响

处理/mg · L ⁻¹	接种愈伤块数	分化不定芽数	分化率/%
6-BA 2	75	0	0
KT 2	75	1	1.3
6-BA 2 + KT 2	75	2	2.7
6-BA 2 + ZT 2	75	29	38.7

3 小结与讨论

草莓花药培养具有简便易行脱毒效果好的优点, 可免去病毒检测过程, 被广泛应用草莓脱毒苗生产^[4]。但花药培养目前存在的主要问题是出愈率低和难形成不定芽。现综合前人的研究结果结合当前草莓生产的实际情况, 对法土地草莓进行了不同 6-BA 浓度、不同碳源、不同基本培养基对法土地草莓愈伤组织诱导率影响的研究, 进行了不同组合细胞分裂素对法土地愈伤组织诱导分化影响的研究。结果发现, 6-BA 浓度以 1 mg/L、麦芽糖作碳源、MS 为基本培养基可使法土地愈伤组织的生长质量和诱导率大大提高; 用 MS + 6-BA 2 mg/L + ZT 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 30 g/L 蔗糖组合诱导分化培养基, 不定芽的分化率也大大提高; 将花药直接接种于 MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 麦芽糖 30 g/L 的培养基上, 70 d 后可直接诱导出不定芽, 其分化率高达 11%。这种方式可省去愈伤诱导分化阶段, 较诱导分化提早 60 d 成苗, 是一条方便、快速获取无病毒植株的有效途径。

参考文献

- [1] 薛光荣, 杨振英, 朱秋英. 利用草莓花药培养培育无病毒植株[J]. 农业科技通讯, 1988(6): 19.
- [2] 薛光荣, 杨振英, 朱秋英. 草莓花药培养获得无病毒植株的技术研究[J]. 植物学通报, 1990, 7(1): 22-26.
- [3] 徐振南, 万蜀渊. 影响草莓花药培养效果的若干因素[J]. 上海农业学报, 1995, 11(3): 27-30.
- [4] 乔奇, 张振臣, 靳秀兰. 草莓花药培养脱毒技术研究[J]. 中国农业通报, 2003(2): 62-64.

Research on the Culture Technology of Falandi Strawberry Anther

ZHANG Min, SUN Hong-xu, WANG Qun-yi

(Bioengineering Department, Hubei Three Gorges Vocational and Technical College, Yichang, Hubei 443003, China)

Abstract: Took Falandi Strawberry as an experimental material, we made a research on the different densities of 6-BA, different carbon sources and different basic culture mediums' influence on Falandi Strawberry Anther's wound recovery tissue inducement. We also studied different combinations of cell division's influence on the division of wound recovery tissue inducement. The result showed that 6-BA density 1 mg/L, malt sugar as carbon source, and MS as basic culture medium were most suitable for Falandi Strawberry Anther's wound recovery tissue inducement. As to cell division, 6-BA 2 mg/L + ZT 2 mg/L combination was the best way for the division of inducing adventitious buds. From the experiment we observed that directly inoculating Falandi Strawberry anther on the culture medium of MS + 6-BA 1 mg/L + NAA 0.2 mg/L plus culture medium of malt sugar 30 g/L, 70 days later adventitious buds could be induced, and the rate of division tops 11%.

Key words: Falandi strawberry; The culture of anther; Wound recovery tissue inducement; The division of adventitious bud