

达赛莱克特草莓离体培养快繁体系的建立

朴日子, 曹后男, 宗成文

(延边大学 农学院, 吉林 龙井 133400)

摘要:以达赛莱克特草莓品种的匍匐茎茎尖为起始材料, 进行离体培养, 分化出再生植株。通过试验, 筛选出芽分化、继代增殖、生根的适宜培养基, 系统的建立了草莓新品种较高频率的组培快繁体系。结果表明: 以 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基诱导产生不定芽, 在 MS+6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.06 mg/L 培养基上增殖系数较高, 可达 9.73 倍, 有效苗最多。用 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L+AC 0.15% 的生根培养基上, 生根率高达 100.00%。最佳练苗基质是腐殖土: 河沙为 3:1, 移栽大田成活率达 98%。

关键词:草莓; 离体培养; 培养基; 快繁体系; 激素

中图分类号: S 688.403.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)02-0145-03

草莓(*Fragara ananassa* Duchesne)在世界小浆果生产中荣居榜首, 我国多数地区广泛栽培^[1]。近年来市场上草莓需求量急剧增加, 种植草莓已成为果农致富的途径之一^[2]。但在种植老区病害日趋严重, 导致植株长势差产量低, 严重影响了草莓生产的健康持续发展^[3]。因此, 有必要根据市场需求更新草莓优质品种^[4]。达赛莱克特草莓是法国达鹏种苗公司培育的专利新产品, 该品种秧苗粗壮, 生长势强, 根系非常发达。丰产性好, 一般株产量 300~500 g, 且果个大小均匀。果面为深红色, 果肉全红, 质地硬。果实品味极佳, 固形物含量达 8%~12%, 最高的达到 16%, 采收期有浓郁的芳香。耐贮运, 四季结实, 夏、秋春季可供应市场, 具有很高的经济价值。该品种为中、早熟品种, 适应性和抗病虫害能力强。适合于北方露地、拱棚、温室栽培。由于新品种市场上并未普及, 故进行组织培养繁殖试验。以匍匐茎茎尖为外植体, 建立稳定高效的新品种草莓芽分化、继代增殖、生根驯化和移栽等一系列技术体系, 不仅能快速培养出大量优质种苗, 而且能取得较好的经济效益。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以种植于延边大学农学院果树农场教学试验基地的草莓品种“达赛莱克特”为试验材料, 匍匐茎茎尖作为外植体。

1.2 试验方法

在生长健壮的母株上, 摘取 2~3 cm 的匍匐茎茎

尖, 用纱布包好, 清水下冲洗 2 h, 然后无菌水冲洗 2 次。在无菌条件下, 于 75% 酒精中消毒 30 s, 无菌水冲洗 1 次, 用 0.1% 升汞消毒 3 min, 再用无菌水冲洗 5 次, 无菌滤纸吸干水分后, 切取 0.5 cm 茎尖接种到分化培养基中培养, 20 d 后即形成小芽苗。将诱导出的芽苗接种于增殖培养基上, 培养 25 d 后小苗快速繁殖, 当小苗高 2~2.5 cm 时转接到生根培养基上诱导生根, 25 d 后即可驯化练苗。

芽分化培养基用 MS 添加 6-BA 和 NAA 组成, 6-BA 浓度为 0.1、0.5、1.0 mg/L, NAA 浓度为 0、0.01、0.05 mg/L。不定芽增殖培养基 MS 为基本培养基附加不同激素 6-BA 和 IBA 组成, 6-BA 浓度为 0.4、0.6、0.8 mg/L, IBA 浓度为 0.2、0.4、0.6、0.8 mg/L。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基添加 IBA 和 NAA 不同激素组合的 4 种(表 1)培养基中培养。以上所用培养基均附加蔗糖 3%, 琼脂 0.7%, 调 pH 5.8~6.0。培养条件: 培养温度为 (25±2)℃, 光下培养条件均为 2 000~2 500 lx, 光照时间为 14 h/d。

2 结果与分析

2.1 6-BA、NAA 不同组合对外植体芽分化的影响

将外植体分别接种在以 MS 为基本培养基添加不同浓度 6-BA 和 NAA 组合的培养基上, 培养 7 d 后茎尖均陆续开始萌动, 培养 10 d 后开始长出第 1 个小时叶, 培养 20 d 观察结果见图 1。

由图 1 可知, 试验范围内, 从芽分化和平均株高 2 种生长情况来看, 6-BA (0.1、0.5、1.0 mg/L) 3 种处理中, 不含 NAA 的生长表现普遍差, 添加 NAA 浓度 0.01 g/L 时, 芽苗分化及生长表现普遍好, 其中, 6-BA 浓度 0.5 mg/L 时, 生长表现最好, 分化率可达 81.82%, 芽苗生长正常, 平均株高 1.81 cm。NAA 浓度提高到

第一作者简介: 朴日子(1958—), 女, 大专, 高级实验师, 现从事植物组织培养及生物技术方面的研究工作。E-mail: riziipiao@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2009-09-20

0.05 mg/L 时, 2 项指标呈下降趋势。可见在 MS 培养基中添加 6-BA 0.5 mg/L 与添加 NAA 0.01 mg/L 的组合对草莓芽分化最有利。

2.2 6-BA 和 IBA 组合对草莓不定芽增殖的影响
将诱导的单芽转接到增殖培养基上, 培养 25 d 后调查, 其芽的增殖情况如图 2。

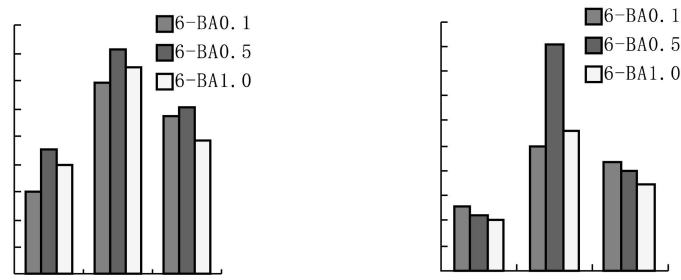


图 1 6-BA、NAA 不同组合对外植体芽分化的影响

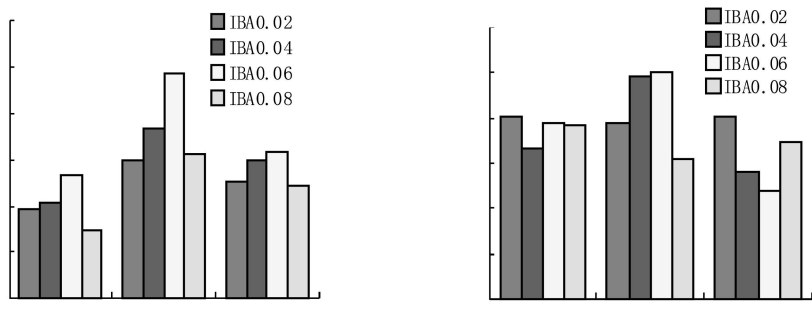


图 2 6-BA 和 IBA 组合对草莓不定芽增殖的影响

由图 2 可知, 在 4 种 IBA 浓度处理中, 以 0.06 mg/L 处理芽的增殖系数最高, 浓度增加或减少时增殖系数反而降低。增殖系数最高的是 6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.06 mg/L 组合处理, 增殖系数可达 9.72 倍, 芽苗平均株高 5.02 cm, 且芽叶均匀, 生长正常, 有效芽苗数占 85% 以上。其次是 6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.04 mg/L 组合处理, 增殖系数 7.33 倍。在 3 种 6-BA 浓度处理中, 以 0.6 mg/L 处理组合芽的增殖表现最好。因此, 在芽的快繁殖中, 可选用 MS+6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.06 mg/L 的组合作为最适增殖培养基。将增殖的丛生芽单个切下, 在相同的培养基上进行继代培养, 即可源源不断得到大量增殖苗。

2.3 不同培养基处理对草莓试管苗生根的影响

将试管苗以 1/2MS 为基本培养基^[5] 4 种不同激素处理的生根培养基上, 培养 8 d 左右芽苗逐渐形成微量的愈伤组织, 继而出现白色根突起物。接种 25 d 后的生根结果用 SPSS11.5 统计软件进行方差分析。从表 1 可知, 幼苗在 4 种培养基中均能生根, 但不同激素组合的培养基对生根率、根长及根条数上有差异。生根率指标

上, 3、4 处理与 1、2 处理差异显著。根长相比 3 处理与 1、2、4 处理差异显著。根条数上相比, 也是 3 处理与 1、2、4 处理有差异显著。分析结果, 3 处理最好, 该培养基培养 15 d 多数可形成 2.0 cm 左右的白色须根 25 d 后, 根长可达 5 cm 以上, 发根数在 6 条以上, 发根率达 100.00%。其次 4 号处理, 发根率达 92.59%。1、2 号处理培养基上形成须根慢一些。据试验, 以 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L 培养基诱导生根效果最好。另外, 在生根试验中, 发现培养基中添加 0.15% 的活性炭, 其生根效果更加显著, 主要表现在生根提早, 须根增加, 根粗壮。这与植物根系适应土壤中黑暗环境的生理反应是相一致的^[9]。

表 1 不同培养基处理对草莓试管苗生根的影响

处理	激素/ mg · L ⁻¹		接种数 / 个	生根率 / %	根长 / cm	根条数 / 个
	IBA	NAA				
1	0.5		27	85.19b	3.01b	2.98d
2	1.0		27	85.19b	2.32c	3.82c
3	0.5	0.02	27	100.00a	5.23a	6.01a
4	1.0	0.02	27	92.59a	2.88b	4.08b

注: 显著水平 $P \leq 0.05$ 。

2.4 不同练苗基质对草莓试管苗移栽成活率的影响

生根幼苗待根长 2 cm 左右时, 取出试管苗, 洗去根上琼脂, 移至不同练苗基质上, 并在练苗后调查移栽成活率情况, 由表 2 可知, 试管苗在不同练苗基质中, 成活率均在 90% 以上。其中 1 号处理成活率最好, 可达 96.00%, 其次是 3 号处理, 成活率可达 92.00%。但移栽大田成活率却不一样。1 号处理移栽成活率最差, 为 85.42%。因为, 河沙基质上幼苗根系不带土移栽, 需要缓苗时间。所以移栽后死亡苗多, 3 号基质上的幼苗虽然练苗成活率低一些, 但移栽 15 d 后能获得 97.83% 的成活率, 幼苗长势还好。这说明, 根系带腐殖土移栽后有利于缓苗生长^[7], 益于移栽成活。最差的是 2 号基质。以上综合考虑结果, 草莓组培苗练苗基质以腐殖土 : 河沙为 3 : 1 最好。

表 2 不同练苗基质对试管苗移栽成活率的影响

处理	练苗基质	练苗数 /个	练苗成活率 /%	大田移栽成活率 /%
1	河沙	50	96.00	85.42
2	珍珠岩 : 锯末子 4 : 1	50	90.00	88.89
3	腐殖土 : 河沙 3 : 1	50	92.00	97.83

3 结论

达赛莱克特草莓可四季栽培。用组织培养方法来快速繁殖种苗时, 选取匍匐茎茎尖作外植体。用 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L 培养基作诱导芽分

化最多, 可达 81.82%。

不同激素组合对草莓快繁增殖的影响也很大。用 MS+6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.06 mg/L 组合的培养基上, 繁殖系数最高, 可达 9.72 倍, 有效芽苗最多。且试管苗生长健壮。用 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L+AC 0.15% 培养基作诱导生根, 生根率高达 100.00%。试管苗移栽宜选用腐殖土 : 河沙=3 : 1 作练苗基质好, 练苗成活率可达 96.00%, 移栽大田成活率也高达 97.78%, 且缓苗期短, 生长健壮。只要精心管理, 移栽后 4 个月即可开花结果。

参考文献

- [1] 朱文勇. 无毒草莓组织培养工厂化快速育苗技术研究[J]. 山西果树 1995(1): 21-22.
- [2] 桂明珠, 胡宝忠. 小浆果栽培生物学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 28-29.
- [3] 李慧. 草莓优新品种的组织培养[J]. 中国果菜, 2003(6): 23-24.
- [4] 郭亚华, 于志明, 邓立平, 等. 草莓组织培养研究初报[J]. 生物技术, 1991(3): 30-32.
- [5] 李青, 邓世秀, 张瑞清, 等. 降低草莓生根培养基大量元素及浓度的试验[J]. 北京农业科学, 1992(3): 18-21.
- [6] 吴殿星, 胡繁. 植物组织培养[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2004(8): 32-33.
- [7] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998(10): 66-69.

Study on Tissue Culture and Propagation System of Dasailaikete Strawberry

PIAO Ri-zi, CAO Hou-nan, ZONG Cheng-wen

(College of Agriculture, Yanbian University, Longjing, Jilin 133400)

Abstract: Adopted Dasailaikete Strawberry's stolon stem apex as the incept materials, *in vitro* cultivate and differentiate regeneration plants. Through further testing, filtrated appropriate medium for bud differentiation, proliferation and rooting medium, system established higher frequency of a new strawberry variety on tissue culture. The results showed: the best medium for explants survival rate was 1/2MS. Used MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L medium to induce adventitious buds, In MS+6-BA 0.6 mg/L+IBA 0.06 mg/L medium propagation coefficient higher up to 9.73 times and had the most effective plants. Rooting with 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.02 mg/L+AC 0.15% medium, the rate was as high as 100.00%. Best practice was humus soil matrix Miller : sand 3 : 1, the survival rate got more than 90%, transplant field after two weeks, the survival rate was 98% and growing better.

Key words: straw berry; *in vitro* cultivate; medium; propagation system; hormone