

不同基因型优质草莓组织培养快繁研究

薛其勤, 李美芹, 吕金浮, 裴华丽, 王兴翠, 杨天慧

(潍坊科技学院 生物工程研发中心, 山东 寿光 262700)

摘要:以‘丰香’、‘章姬’、‘甜查理’、‘红颜’和‘卡姆罗莎’5个优质草莓品种的无菌丛生芽为试验材料,研究不同基因型、激素配比和活性炭对草莓组织培养快繁的影响。结果表明:不同基因型的草莓品种,其最佳增殖配方存在显著差异,5种基因型草莓的最佳增殖培养基分别为:MS+0.8 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA、MS+1.2 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA、MS+0.8 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA、MS+0.8 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA和MS+1.2 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA,增殖系数分别为16.7、12.5、11.8、13.2和9.4。不同基因型草莓幼苗的适宜生根培养基有一定差异,‘丰香’、‘甜查理’和‘红颜’的最佳生根培养基为1/2MS+1.0 mg/L NAA,‘章姬’和‘卡姆罗莎’的最佳生根培养基为1/2MS+1.0 mg/L IBA,添加0.5%的活性炭可提高草莓的生根效果。草炭土+珍珠岩(1:1)混合基质是理想的移栽基质,移栽成活率为95%。

关键词:草莓;基因型;激素;活性炭;组织培养

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)21-0110-04

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)属蔷薇科草莓属多年生草本植物,现已成为世界第二大浆果类水果,我国

的草莓栽培面积也呈逐年上升趋势^[1],草莓种植品种也不断更新。在传统生产过程中,草莓采用匍匐茎进行繁殖,但长期营养繁殖和连作,会导致植株体内各种病毒积累,造成植株矮化、果实变化、畸形果比例增加,严重影响草莓产量和品质^[2]。利用组织培养快速技术获得大量脱毒苗是解决这一问题的有效途径,目前对于草莓组织培养的研究较多,但大都只是针对某一个草莓品种建立组织培养快繁体系^[3-5],而目前草莓品种更新换代较快,不同基因型草莓品种,其组培快繁体系也会存在差异。因此,有必要对目前广泛栽培的优质草莓品种进

第一作者简介:薛其勤(1981-),男,山东莱芜人,硕士,讲师,现主要从事植物生物技术和宏观农业等研究工作。E-mail:xueqiqin@163.com.

责任作者:李美芹(1968-),女,山东寿光人,博士,副教授,现主要从事生物学等研究工作。E-mail:mqli901@126.com.

基金项目:山东省高等学校科技计划资助项目(J10LC78)。

收稿日期:2014-05-22

Primary Study on Floral Syndrome and Breeding System of *Limonium chrysocomum*

XU Xiao-yuan, ZHOU Ling-ling

(College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000)

Abstract: Taking wild *Limonium chrysocomum* as materials, Pollen/Ovule ratio (P/O), Outcrossing Index (OCI), emasculation and germination experiment were observed to address its flowering phenologies, breeding system and seed feature primarily. The results showed that the flower of this plant blooms from May to June and could last different time at different levels; the development of single flower could be divided into 4 stages and both of the pistil and stamen became mature at the second stage, existing the phenomenon of herkogamy; the overlap peak period of pollen viability and stigma receptivity was occurred at 15:00—17:00; the value of P/O, OCI and pollination experiments display that the breeding system of *L. chrysocomum* was facultative xenogamy, and self-compatible, however sometimes need pollinators; seed appendages inhibit the process of germinating, especially corolla, and it had a higher germinating rate after being stored. *L. chrysocomum* was born in barren land, which was drought and changeable. It had evolved a special mode to product a certain number offsprings to avoid the declining of individuals in populations.

Keywords: *Limonium chrysocomum*; floral syndrome; breeding system

行组织培养快繁研究, 以为优质草莓的工厂化种苗生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种为‘丰香’(‘Toyonoka’), ‘章姬’(‘Tochiotome’), ‘甜查理’(‘Sweet Charlie’), ‘红颜’(‘Benihoppe’)和‘卡姆罗莎’(‘Camarosa’)。

1.2 试验方法

1.2.1 初始材料培养及丛生芽增殖诱导 以5个优质草莓的茎尖培养获得无菌试管苗, 经病毒检测确认为脱毒苗后, 在MS+KT 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L的培养基上继代, 从苗龄25 d左右的试管苗上切取带有生长点的幼苗, 接种到添加不同浓度的6-BA和NAA的培养基上进行诱导培养, 具体配比详见表1, 30 d后统计增殖情况。

1.2.2 激素对草莓生根培养的影响 将高2 cm的不定芽分切下来, 转入分别附加NAA(浓度为0.5、1.0、1.5 mg/L)和IBA(浓度为0.5、1.0、1.5 mg/L)的1/2MS生根壮苗培养基中, 以1/2MS培养基为对照, 45 d后观察统计结果。

1.2.3 活性炭对草莓生根的影响 将2 cm左右的草莓幼苗分别接种到附加0、0.1%、0.3%、0.5%、0.7%活性炭和1.0 mg/L NAA的1/2MS培养基上。45 d后观察添加活性炭对草莓生根的影响。

1.2.4 幼苗移栽 将高4 cm以上、根系发达、长出3~

5片叶的健壮幼苗练苗移栽, 开始时每天打开瓶盖2次, 持续3 d后, 完全打开瓶盖, 置于通风明亮的常温房间里, 每天早、中、晚各喷水1次, 经过2~3 d后, 将根系附着的培养基洗净, 移植在栽培基质上, 注意保持空气湿度, 遮阴防晒, 30 d后统计成活率。

2 结果与分析

2.1 不同基因型和激素对比对草莓丛生芽增殖的影响

由表1和图1可知, 不同激素浓度和对比对草莓的丛生芽增殖具有显著影响, ‘丰香’在MS+0.8 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA培养基上, 其增殖系数达到16.7, 而在其它培养基上的最低增殖系数仅为6.4。不同的6-BA和NAA对比对其它4个优质草莓的增殖也具有显著影响: ‘章姬’的最佳增殖培养基为: MS+1.2 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA, 增殖系数达12.5; ‘甜查理’的最佳增殖培养基为: MS+0.8 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA, 增殖系数为11.8; ‘红颜’最佳增殖培养基与‘丰香’相同, 增殖系数为13.2; 而‘卡姆罗莎’的最佳增殖培养基为MS+1.2 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA, 增殖系数为9.4。通过不同基因型草莓之间比较发现: 在相同培养基上, 不同基因型的草莓其增殖系数存在较大差异, 如在MS+0.8 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA培养基上, 5个品种草莓的增殖系数分别为16.7、8.8、10.2、13.2和7.9, 说明不同基因型对草莓的增殖培养具有显著影响。

表1 不同基因型和激素对比对草莓丛生芽增殖的影响

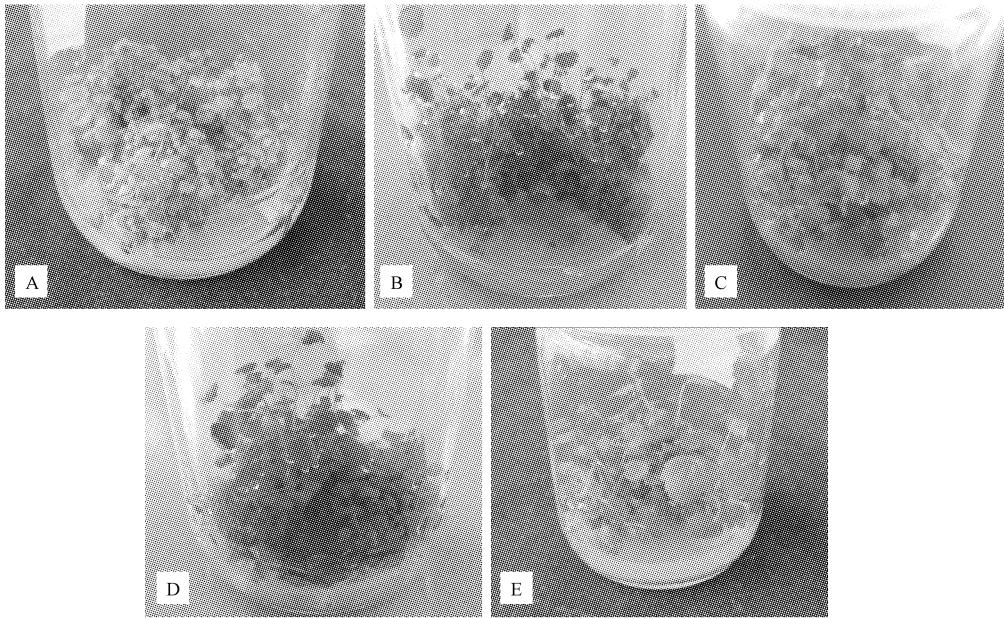
Table 1 Effect of different genotype strawberry and hormone combination on bud multiplication

培养基 Medium	激素浓度 Hormone concentration/(mg · L ⁻¹)		增殖系数 Propagation coefficient				
	6-BA	NAA	‘丰香’ ‘Toyonoka’	‘章姬’ ‘Tochiotome’	‘甜查理’ ‘Sweet Charlie’	‘红颜’ ‘Benihoppe’	‘卡姆罗莎’ ‘Camarosa’
P ₁	0.4	0.2	8.7	4.8	7.7	8.7	4.7
P ₂	0.4	0.5	10.2	5.2	8.2	9.2	5.6
P ₃	0.4	0.8	11.7	7.2	9.6	8.5	4.8
P ₄	0.4	1.1	10.8	6.7	8.7	7.5	4.6
P ₅	0.8	0.2	12.5	7.4	9.4	10.5	6.8
P ₆	0.8	0.5	16.7	8.8	10.2	13.2	7.9
P ₇	0.8	0.8	14.3	9.7	11.8	11.3	7.6
P ₈	0.8	1.1	13.1	8.5	9.7	9.5	6.6
P ₉	1.2	0.2	9.8	9.6	6.8	8.4	8.6
P ₁₀	1.2	0.5	10.7	10.8	7.6	9.6	9.4
P ₁₁	1.2	0.8	9.2	12.5	9.8	7.5	8.7
P ₁₂	1.2	1.1	8.6	9.2	8.0	7.2	7.2
P ₁₃	1.6	0.2	7.6	7.9	5.0	6.5	6.5
P ₁₄	1.6	0.5	8.8	9.4	6.5	7.9	7.6
P ₁₅	1.6	0.8	8.3	10.4	7.7	6.0	6.2
P ₁₆	1.6	1.0	6.4	7.9	6.1	5.5	4.8

2.2 激素对草莓生根培养的影响

由表2可知, 45 d后5个基因型草莓的幼苗在不添加任何激素的1/2MS培养基上, 生根效果较差, 其中,

‘章姬’和‘甜查理’没有产生任何根系。添加IBA或NAA激素后, 5个基因型草莓的生根数显著提高, ‘丰香’、‘甜查理’和‘红颜’的最佳生根培养基为: 1/2MS+



注:A.‘丰香’;B.‘章姬’;C.‘甜查理’;D.‘红颜’;E.‘卡姆罗莎’。
Note:A.‘Toyonoka’;B.‘Tochtotome’;C.‘Sweet Charlie’;D.‘Benihoppe’;E.‘Camarosa’.

图1 不同基因型草莓丛生芽增殖

Fig.1 Different genotype strawberry on bud multiplication

1.0 mg/L NAA,平均生根数分别达到 6.5、5.8 和 6.8,‘章姬’和‘卡姆罗莎’的最佳生根培养基为:1/2MS+1.0 mg/L IBA,平均生根数分别为 5.4 和 6.0。

2.3 活性炭对草莓生根的影响

由表 3 可知,添加活性炭对草莓的生根具有较明显

影响,随着活性炭浓度的提高,5 个不同基因型草莓的生根数相应增加,在活性炭浓度为 0.5%时,草莓的生根效果最好,当浓度达 0.7%时,生根数开始降低。同时发现,添加活性炭后,草莓的根系更加粗壮,并可有效减轻草莓的玻璃化现象,使草莓叶色浓绿,植株生长健壮。

表 2 激素对草莓幼苗生根的影响

Table 2 Effect of different media on rooting of strawberry

培养基 Medium	激素浓度 Hormone concentration/(mg · L ⁻¹)		平均生根数 Number of roots				
	IBA	NAA	‘丰香’ ‘Toyonoka’	‘章姬’ ‘Tochtotome’	‘甜查理’ ‘Sweet Charlie’	‘红颜’ ‘Benihoppe’	‘卡姆罗莎’ ‘Camarosa’
CK	0	0	2.2	0	0	1.3	0.8
G1	0	0.5	4.9	4.6	4.9	5.2	4.2
G2	0	1.0	6.5	4.5	5.8	6.8	4.8
G3	0	1.5	5.2	4.2	5.2	6.0	3.5
G4	0.5	0	4.6	4.7	3.8	3.9	5.3
G5	1.0	0	5.1	5.4	4.2	5.5	6.0
G6	1.5	0	4.4	4.5	3.5	4.2	4.6

表 3 活性炭对草莓生根的影响

Table 3 Effect of activated carbon on rooting of strawberry

培养基 Medium	活性炭浓度 AC concentration /%	平均生根数 Number of roots				
		‘丰香’ ‘Toyonoka’	‘章姬’ ‘Tochtotome’	‘甜查理’ ‘Sweet Charlie’	‘红颜’ ‘Benihoppe’	‘卡姆罗莎’ ‘Camarosa’
H1	0	6.5	4.5	5.8	6.8	4.8
H2	0.1	6.8	4.9	6.2	7.5	5.2
H3	0.3	7.0	5.5	6.5	8.2	6.4
H4	0.5	8.7	7.2	7.8	9.4	6.9
H5	0.7	6.8	4.9	6.0	8.1	5.5

2.4 草莓试管苗的驯化移栽

草莓试管苗移栽前必须进行较严格的练苗驯化,按照 1.2.4 所述方法进行练苗后,移栽到草炭土:珍珠岩=1:1 的苗床上,移栽前应对苗床进行消毒。移栽后注意保湿遮阴,并每周喷施叶面肥。通过以上措施,草莓试管苗的移栽成活率可达 95%以上。

3 结论与讨论

该研究采用的 6-BA 和 NAA 激素组合对草莓的丛生芽诱导具有较好的作用,但不同基因型的草莓品种,其最佳的诱导激素配比有差异,‘丰香’品种在 MS+0.8 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA 培养基上,其增殖系数最高,达到 16.7,‘章姬’的最佳增殖培养基为:MS+1.2 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA,增殖系数达 12.5;‘甜查理’的最佳增殖培养基为:MS+0.8 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA,增殖系数为 11.8;‘红颜’最佳增殖培养基与‘丰香’相同,增殖系数为 13.2;而‘卡姆罗莎’的最佳增殖培养基为:MS+1.2 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA,增殖系数为 9.4。试验结果表明,不同基因型的草莓品种组培快繁体系具有差异性,在草莓工厂化种苗生产过程中,应根据品种特点建立相应的快繁体系。

有些品种草莓生根较容易,该试验中的‘丰香’品种在丛生芽诱导时也会有少量根系产生,但要想增加生根数量,使根系长的粗壮,提高移栽成活率,需要添加激素

诱导。该试验结果发现,‘丰香’、‘甜查理’和‘红颜’的最佳生根培养基为:1/2MS+1.0 mg/L NAA,‘章姬’和‘卡姆罗莎’的最佳生根培养基为:1/2MS+1.0 mg/L IBA,同时添加 0.5%的活性炭可提高草莓的生根效果。在组织培养中,生根过程中添加活性炭,可使根系处于接近自然生长条件的黑暗环境,同时,活性炭可吸附植物细胞分泌的以及培养基中有毒副作用的物质^[6],可有效提高草莓的生根质量。但活性炭过量,可能会大量吸附培养基中的生长素,降低激素对生根的诱导效果,试验中,当活性炭浓度达到 0.7%时,草莓的生根效果开始降低,有关活性炭对草莓生根代谢影响的机理有待进一步研究。

参考文献

- [1] 雷家军. 我国草莓生产现状与展望[J]. 中国果树, 2001(1): 49-51.
- [2] 郭月玲, 解振强, 王永平. 我国草莓组织培养生产研究现状及前景[J]. 浙江农业科学, 2010(6): 1211-1215.
- [3] 吴雪梅, 汤浩茹, 文国琴, 等. 不同培养条件对‘丰香’草莓离体叶片再生的影响[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 657-659.
- [4] 朱艳艳, 韩志程, 陈天华, 等. 卡姆罗莎草莓离体培养快繁技术[J]. 北方园艺, 2009(5): 99-100.
- [5] 和秀云, 毕海林, 薛润光, 等. 草莓‘托特母’的组培快繁技术研究[J]. 西南农业学报, 2013, 26(2): 701-704.
- [6] 刘根林, 梁珍海, 朱军. 活性炭在植物组织培养中的作用概述[J]. 江苏林业科技, 2001(10): 46-48.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Technique of Different Genotype Strawberry

XUE Qi-qin, LI Mei-qin, LYU Jin-fu, PEI Hua-li, WANG Xing-cui, YANG Tian-hui

(Biological Engineering Research and Development Center, Weifang University of Science and Technology, Shouguang, Shandong 262700)

Abstract: Taking buds of strawberry ‘Toyonoka’, ‘Tochiotome’, ‘Sweet Charlie’, ‘Benihoppe’ and ‘Camarosa’ as materials, the effects of different genotype strawberry, different hormone combination and active carbon on rapid propagation technique of strawberry were investigated. The results showed that the optimum medium for bud multiplication of five genotype strawberry was MS medium supplemented with 0.8 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA, MS medium supplemented with 1.2 mg/L 6-BA and 0.8 mg/L NAA, MS medium supplemented with 0.8 mg/L 6-BA and 0.8 mg/L NAA, MS medium supplemented with 0.8 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA, MS medium supplemented with 1.2 mg/L 6-BA and 0.5 mg/L NAA. And the propagation coefficient was 16.7, 12.5, 11.8, 13.2 and 9.4 respectively. The most suitable rooting medium of ‘Toyonoka’, ‘Sweet Charlie’ and ‘Benihoppe’ was 1/2MS medium supplemented with 1.0 mg/L NAA. The most suitable rooting medium of ‘Tochiotome’ and ‘Camarosa’ was 1/2MS medium supplemented with 1.0 mg/L IBA. 0.5% of activated carbon in the medium could increase the rooting of strawberry. Turfy soil and perlite(1:1) was useful for transplantation, and the survival rate was 95%.

Keywords: strawberry; genotype; hormone combination; activated carbon; tissue culture