

“贝吉佳”草莓脱毒苗增殖的研究

郭朋伟, 高晔华, 高 日, 吴荣哲

(延边大学 农学院, 吉林 延吉 133002)

摘 要:以“贝吉佳”草莓脱毒苗为外植体,研究了培养基种类、激素种类及浓度、糖源种类及浓度、光照强度等对组培苗增殖的影响。结果表明:在 MS 培养基、BA 浓度为 2.0 mg/L、糖源为 30 g/L 的蔗糖、光照强度在 1 600 lx 条件下附加 0.1 mg/L NAA 的培养基最适合脱毒苗的增殖,增殖系数可达 12.0。

关键词:脱毒苗;增殖;培养基;激素;糖源

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)10-0110-04

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)属蔷薇科草莓属多年生草本植物,是当今世界七大水果之一,全球大约有 2 000 多个品种,在我国有大面积的栽培^[1]。草莓色泽鲜艳、果实香嫩多酸甜适口,富含多种微量元素、维生素和有机酸。它既可以鲜食也可以加工成果浆、果汁、果酒、罐头^[2]。草莓栽培简单,适应性广,产量高,经济效益

高^[3]。草莓传统的繁殖方法有匍匐茎繁殖、母株分株繁殖和种子繁殖,匍匐茎繁殖的繁殖系数小,产生的苗质量差;母株分株繁殖的繁殖系数低,伤口易感染病菌;种子繁殖易产生变异,不利于原品种性状的保存^[4]。这 3 种方法繁殖的苗多年种植后病毒感染积累,导致草莓的果实植株长势减弱、个体矮化、含糖量变低、畸形果多、产量降低^[5-7],而采用组培苗脱毒则可以克服以上缺点。草莓茎尖、匍匐茎尖、子房、花药等均可通过组织培养获得再生植株^[8]。草莓匍匐茎尖容易获得,脱毒后不发生变异,因此选其为外植体。“贝吉佳”草莓是由日本引进的品种,因其结果早、产量高、抗病性强、货架期长,

第一作者简介:郭朋伟(1988-),男,硕士研究生,研究方向为生物工程及栽培生理。

责任作者:吴荣哲(1966-),男,博士,副教授,现主要从事生物工程及栽培生理等研究工作。

收稿日期:2013-01-18

- [14] Kimble K A, Grogan K G. Resistance to Phytophthora root rot in peppers[J]. Plant Dis Rep, 1960, 44: 872-873.
[15] 王得元, 彭世清, 刘志昕, 等. 辣椒基因组 DNA 提取与 RAPD 分析[J]. 江西农业大学学报, 1998, 20(2): 180-183.
[16] 郭爽, 黄贞, 常绍东, 等. 利用分子标记鉴定辣椒抗病材料[J]. 中国农学通报, 2012, 28(13): 163-166.
[17] 李智军, 龙卫平, 郑锦荣, 等. 2 个辣椒疫病抗性资源的抗性遗传分析

- [J]. 华南农业大学学报, 2008, 29(2): 30-33.
[18] Thabuis A, Lefebvre V, Bernard G, et al. Phenotypic and molecular evaluation of a recurrent selection program for a polygenic resistance to *Phytophthora capsici* in pepper[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 342-351.
[19] Pflieger S, Palloix A, Caranta C, et al. Defense response genes co-localize with quantitative disease resistance loci in pepper[J]. Theor Appl Genet, 2001, 103: 920-929.

Molecular Marker Assisted Selection of Pepper Materials with Resistance to Phytophthora Blight

MA Shou-bin, SUN Yan, WANG Chen, LIU Qian-qian, LI Min, LIU Wei-xin
(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking pepper ‘12-16’, ‘Sandojin’, ‘12-1’, ‘12-19’ as materials, their resistance to phytophthora blight were rapidly identified by using 4 molecular markers related to resistance genes and field surveys. The results showed that phytophthora blight resistance specificity band could be amplified from hot pepper materials, namely ‘12-16’. The other 3 hot pepper materials, ‘Sandojin’, ‘12-1’, and ‘12-19’, with no specificity band found, were regarded as susceptible materials. Only one pair of primers of the 4 pairs of primers reported was stable repeated.

Key words: hot pepper; phytophthora blight; molecular markers; breeding

受到了广大消费者青睐。该试验对“贝吉佳”草莓组培快繁的环境进行了研究,以建立稳定的再生体系,为实现脱毒苗的规模化生产和快速培育优良种苗提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试“贝吉佳”草莓采集于吉林省图们市凉水镇。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的处理 将草莓的新生匍匐茎用流水冲洗 30 min,用 75%酒精浸泡 40 s,无菌水冲洗 3 次,再用 0.1%的升汞消毒 6 min,无菌水冲洗 5 次。在无菌条件下,实体显微镜下剥取茎尖 0.2~0.4 mm 接种于培养基 MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂(pH 5.8)的培养基上获得脱毒苗。

1.2.2 培养基种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响 将草莓脱毒苗分别接种在含有 BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+30 g/L 蔗糖+7 g/L 的琼脂的 MS、WPM、White、B₅ 培养基中,pH 调节为 5.8。每个柱形瓶(110 mL)中加入培养基 35 mL,高压灭菌后冷凝,无菌条件下将丛生脱毒苗从基部切开,每瓶接入相同大小的芽 3 个。培养温度为(25±2)℃,相对湿度 70%,光照强度 1 600 lx,光照时间 16 h/d。每处理重复 5 次,30 d 后调查脱毒苗增殖及生长情况。增殖系数=增殖的芽数/每瓶接入的芽数。

1.2.3 BA 和 TDZ 浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响 培养基为 MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7.0 g/L,BA 浓度设置为 1.0、2.0、3.0、4.0 mg/L,TDZ 浓度设置为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L,另外设置 1 个对照组,不加激素。其它培养条件与方法同试验 1.2.2 (下同)。

1.2.4 糖源种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响 培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+琼脂 7.0 g/L,分别加入蔗糖、葡萄糖、麦芽糖、果糖,浓度均 30 g/L。

1.2.5 蔗糖浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响 培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+琼脂 7.0 g/L,分别加入 10、20、30、40、50 g/L 浓度的蔗糖。

1.2.6 光照强度对“贝吉佳”草莓增殖的影响 将同等大小芽接种在 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂的培养基。接种后组培苗分别放置在光照强度为 0、800、1 600、2 400、3 200 lx 条件下培养。

2 结果与分析

2.1 培养基种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响

由表 1 可知,不同培养基对脱毒苗增殖影响较大,当接种在 MS 培养基上时鲜重、干重分别为 2.9 g、228.0 mg,增殖系数为 12.0,均显著高于其它处理。MS 培养基的组培苗,叶色嫩绿,植株生长旺盛且粗壮,增殖较多(图 1)。B₅ 和 WPM 培养基中幼苗生长细小,颜色浅绿色,叶片小且卷曲,增殖较少。White 培养基幼苗的茎从基部变红,叶片较大且为黄绿色,叶片畸形、脆并且有少量玻璃化现象,增殖最少。

表 1 培养基种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Table 1 Effects of different medias on the proliferation of strawberry 'Bechika'

培养基	鲜重	干重	株高	增殖系数
Media	Fresh weight/g	Dry weight/mg	Shoot length/cm	Proliferation coefficient
MS	2.9 a	228.0 a	3.0 a	12.0 a
B ₅	2.1 a	112.7 bc	3.1 a	5.7 b
WPM	1.8 ab	140.0 b	2.4 ab	4.0 bc
White	0.7 c	85.7 c	1.8 b	2.0 c

注:同列数字后不同字母表示 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Data within columns mean significant difference at 0.05. The same below.

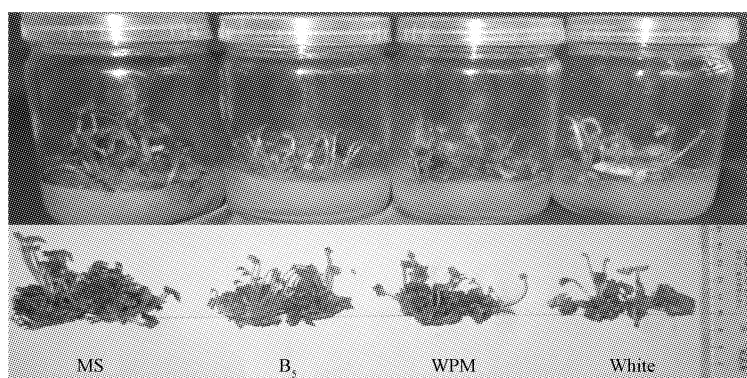


图 1 培养基种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Fig. 1 Effect of different medias on the proliferation of strawberry 'Bechika'

2.2 BA 和 TDZ 浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

由表 2 可知,随着 BA、TDZ 浓度的增加,脱毒苗的

增殖呈先升后降的趋势。当 BA、TDZ 浓度分别为 2.0、1.0 mg/L 时,增殖系数分别达到最大值 8.8、6.0。植株

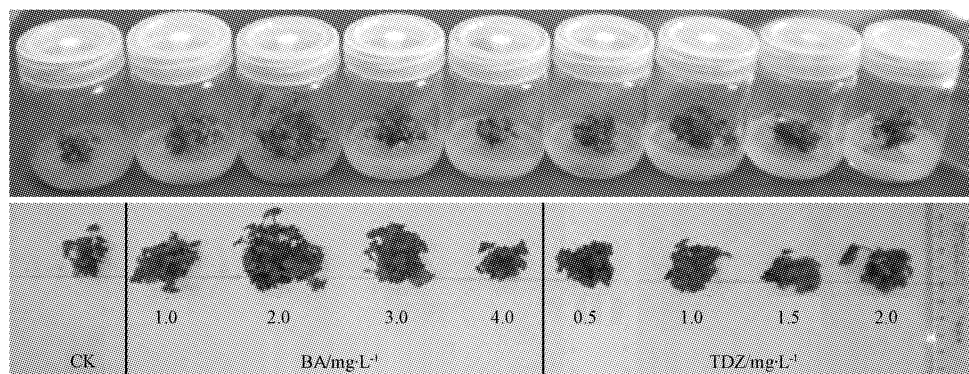


图2 BA和TDZ浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Fig. 2 Effects of BA and TDZ concentrations on proliferation of strawberry 'Bechika'

长势也随2种激素浓度的增加呈先增后降趋势(表2),但BA的长势好于TDZ。当BA浓度为2.0 mg/L时,鲜重、干重均达最高,植株整体长势相比最好(图2)。当TDZ浓度高于1.5 mg/L开始从基部出现少量愈伤组织。

表2 BA和TDZ浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Table 2 Effects of BA and TDZ concentrations on proliferation of strawberry 'Bechika'

激素 Hormones	浓度 Concentrations /mg · L ⁻¹	鲜重 Fresh weight /g	干重 Dry weight /mg	株高 Shoot length /cm	增殖系数 Proliferation coefficient
CK	0.0	0.4 e	45.5 e	1.9 c	2.0 d
BA	1.0	1.5 c	156.5 bc	2.1 c	4.3 c
BA	2.0	3.5 a	287.5 a	2.9 a	8.8 a
BA	3.0	2.4 b	274.0 a	2.4 b	7.0 b
BA	4.0	1.0 cd	113.7 cd	0.6 d	2.8 cd
TDZ	0.5	0.7 de	75.5 de	0.5 d	3.3 cd
TDZ	1.0	1.1 cd	119.3 cd	2.1 c	6.0 b
TDZ	1.5	2.3 b	184.8 b	0.6 d	3.0 cd
TDZ	2.0	2.1 b	197.2 d	0.5 d	2.5 d

2.3 糖源种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响

由表3可知,蔗糖处理的鲜重、干重达到最高,分别为3.6 g、343.3 mg,增殖系数为11.3,明显高于其它处理。葡萄糖作为糖源植株高且粗壮,但是增殖系数少,根部产生愈伤组织。用麦芽糖作为糖源培养基硬度大,植株生长慢、增殖慢。用果糖为糖源植株细小,增殖效果不如蔗糖,因此蔗糖为最理想糖源。

表3 糖源种类对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Table 3 Effects of different sugar sources on proliferation of strawberry 'Bechika'

糖源 Sugar source	鲜重 Fresh weight /g	干重 Dry weight /mg	株高 Shoot length /cm	增殖系数 Proliferation coefficient
蔗糖(Sugar)	3.6 a	343.3 a	2.4 b	11.3 a
葡萄糖(Glucose)	4.3 a	172.0 b	3.7 a	5.3 c
麦芽糖(Maltose)	0.4 c	89.3 c	1.6 c	1.3 d
果糖(Fructose)	1.7 b	42.0 d	1.9 c	9.3 b

2.4 蔗糖浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

由表4可知,植株长势随蔗糖浓度的增加呈先增后降趋势,当蔗糖浓度为30 g/L时鲜重、干重、株高、增殖系数均达到最高。当蔗糖浓度高于30 g/L时,随着浓度的增加植株茎基部变红,当浓度为50 g/L时部分叶片变红。

表4 蔗糖浓度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Table 4 Effects of different sugar concentrations on proliferation of strawberry 'Bechika'

浓度 Concentrations /g · L ⁻¹	鲜重 Fresh weight /g	干重 Dry weight /mg	株高 Shoot length /cm	增殖系数 Proliferation coefficient
10	1.9 c	126.7 c	1.3 c	5.3 c
20	2.1 bc	146.3 c	2.0 b	8.3 b
30	3.2 a	254.0 a	2.9 a	11.0 a
40	2.5 b	222.7 ab	1.8 b	6.0 c
50	1.2 d	204.7 b	1.2 c	2.7 d

2.5 光照强度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

由表5可知,不同光照强度对脱毒苗增殖的影响不同,随着光照强度增加,增殖呈先增后降的趋势。暗培养条件下,植株基本不生长,茎叶均变白(图3)。随着光照强度的增加茎叶的颜色逐渐变深,增殖系数逐渐上升,植株越来越健壮,当光照强度达到1 600 lx时,增殖系数达到最高12.0。当光照强度达到2 400 lx时茎基部变红,叶片变大,增殖系数逐渐降低。因此,光照强度在1 600 lx左右有利于增殖。

表5 光照强度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Table 5 Effects of different illumination intensities on proliferation of strawberry 'Bechika'

光照强度 Illumination intensities/lx	鲜重 Fresh weight /g	干重 Dry weight /mg	株高 Shoot length /cm	增殖系数 Proliferation coefficient
0	0.7 c	62.7 c	1.8 c	2.7 c
800	1.0 bc	64.3 c	2.6 b	6.0 b
1 600	2.9 a	194.7 ab	3.0 ab	12.0 a
2 400	3.2 a	185.3 b	3.5 a	7.0 b
3 200	4.1 a	289.3 a	3.0 ab	5.0 b

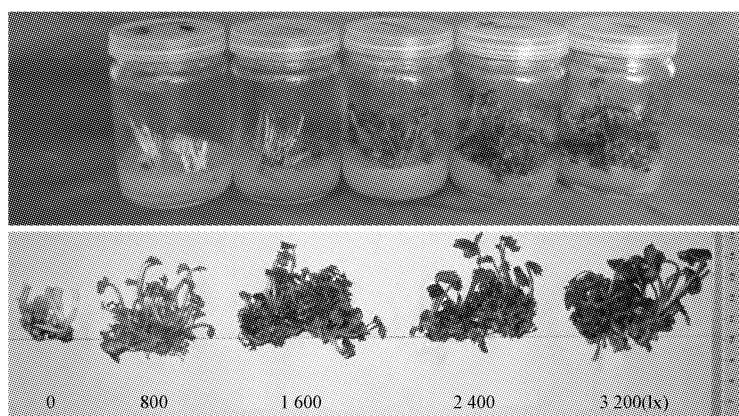


图3 光照强度对“贝吉佳”草莓增殖的影响

Fig. 3 Effects of different illumination intensities on proliferation of strawberry 'Bechika'

3 讨论

草莓匍匐茎茎尖脱毒组织培养能够解决种苗退化,提高草莓品质和产量,加快草莓发展^[8]。不同品种的草莓组培的微环境及条件有差异,该试验综合前人其它品种研究结果,结合当前草莓生产的实际状况,对“贝吉佳”草莓的增殖条件进行了研究。不同的培养基对组培苗的增殖有着不同的效果, B₅ 硝酸盐和盐酸硫胺素含量高,适合豆科生长, White 无机盐含量低较适合生根培养, WPM 盐分含量比 MS 低, 铵态氮为主、渗透势高, 较适合木本植物生长, MS 培养基最适合“贝吉佳”草莓苗增殖。激素在组织离体培养中已被广泛应用,它是影响组培苗生长的关键因素^[9]。该试验中适宜浓度的 BA、TDZ 有利于增殖,但 BA 比 TDZ 的增殖效果好。糖源是组织培养中不可缺少的营养成分,较高和较低的糖浓度都不利于增殖,该试验中 30 g/L 的蔗糖浓度对“贝吉佳”草莓增殖效果最好。适宜的光照会促进叶绿体的形成,促进光合作用,有利于细胞壁、细胞器的形态建成,促进植株增殖,光照不足不能满足植株生长的需要,光照过高则会对植株生长产生抑制^[10]。该研究表明 1 600 lx 的光照强度最适合“贝吉

佳”草莓增殖。综上所述,适宜“贝吉佳”草莓的培养基 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂,光照强度为 1 600 lx。

参考文献

- [1] 李卫东,周春江,葛会波. 草莓现代生物技术育种研究进展[J]. 河北农业大学学报,2000(23):32-35.
- [2] 梁贵求,唐燕梅. 草莓的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业,2004(6):8-9.
- [3] 陈爱萍,叶祖云,缪雄平. 草莓茎尖组织培养研究[J]. 宁德师专学报,1998(10):58-59.
- [4] 李平. 草莓三种繁殖方法[J]. 西北园艺,2012(7):32-33.
- [5] 朱文勇,赵玉军,郭黄萍,等. 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.
- [6] 席家军,聂凯华. 草莓愈伤组织诱导的几个影响因素研究[J]. 甘肃农业科技,2008(12):5-7.
- [7] 王玉英,高新. 组织培养快速繁殖的理论与应用[J]. 植物杂志,1995(6):35-37.
- [8] 杭玲,潘颖南,黄卓忠. 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.
- [9] 牟彤,吴瑕,胡鑫宇. 不同激素条件对草莓组培苗快繁的影响[J]. 安徽农学通报,2010,16(5):78-79.
- [10] 谷艾素,张欢,崔瑾. 光调控在植物组织培养中的应用研究进展[J]. 西北植物学报,2011,31(11):201-206.

Study on Proliferation of Virus-free Strawberry 'Bechika'

GUO Peng-wei, GAO Ye-hua, GAO Ri, WU Rong-zhe
(College of Agricultural, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002)

Abstract: Taking virus-free seeding of strawberry 'Bechika' as explants, the effects of culture media, hormone types and concentrations, sugar types and concentrations, illumination intensities on tissue culture proliferation were studied. The results showed that the MS basic culture medium, with BA 2.0 mg/L, sugar 30 g/L as carbon source, the illumination intensity at 1 600 lx, additional with NAA 0.1 mg/L were most suitable for the proliferation of virus-free seeding, and the proliferation index could be up to 12.0.

Key words: virus-free seeding; proliferation; culture medium; hormone; sugar source