

激素条件对不同品种草莓组培快繁效果的影响*

袁惠燕,谈建中,黄秀勤,郑必平,张国英

(苏州大学 城市科学学院园林园艺系,江苏 苏州 215123)

摘要:以“马歇尔”、“女峰”、“丰香”、“硕丰”、“春香”及“明旭”等 6 个草莓品种为材料,探讨了品种、激素条件与组培快繁效果的关系.结果表明:不同草莓品种的茎尖生长特点表现为 2 种类型,组织分化特征表现为 3 种类型;在草莓茎尖培养增殖阶段,以 MS+BA 1.0~2.0 mg·L⁻¹、且 BA/NAA 为 20:1~40:1 的激素条件为宜,在试管苗生根培养阶段,可采用 1/2 MS+NAA 0.05~0.1 mg·L⁻¹ 的激素条件;在此条件下,一般草莓品种都能获得良好的组培快繁效果.

关键词:草莓;茎尖培养;组培快繁;植物激素

中图分类号:S603.6

文献标识码:A

文章编号:1000-2073(2007)03-0075-05

0 引言

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)是蔷薇科草莓属多年生草本植物,果实酸甜可口,营养丰富,尤其是含有大量的维生素 C,是经济价值较高的天然高档食品,市场需求量极大,已成为世界小浆果类水果中最著名的品种,我国也已成为栽培草莓最多的国家之一^[1].在草莓种苗生产中,由于传统的分株繁殖法易造成病毒病害蔓延,严重影响草莓的产量和品质,因此,近年来有关草莓组培快繁技术的研究备受人们的重视,并且已有较多的研究报导^[2-4].但是,根据现有研究资料来看,在诸如培养基成分及植物激素条件等技术环节方面尚存在着较大差异,这种现象可能是由于供试品种不同的缘故,这对草莓组培快繁技术的实际应用也将带来不便.为此,本研究选择 6 个代表性草莓品种为试验材料,探讨了激素条件对草莓茎尖培养效果的影响,以便为建立草莓组培快繁的实用化技术提供实验依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试草莓品种“马歇尔”、“女峰”、“丰香”、“明旭”、“硕丰”及“春香”由南京农业大学蔬菜研究所提供,切取这些品种的幼嫩茎尖及 2 片幼叶作为外植体进行离体培养.

1.2 试验分区及培养基

基本培养基采用 MS 培养基的无机及有机成分,同时根据试验分区与要求,添加不同浓度及配比的植物激素.其中,在草莓茎尖增殖培养阶段,分设 NAA 0.05 mg·L⁻¹(P1)、BA 0.5/NAA 0.05(P2)、BA 1.0/NAA 0.05 mg·L⁻¹(P3)、BA 2.0/NAA 0.05 mg·L⁻¹(P4)、BA 4.0/NAA 0.05 mg·L⁻¹(P5)等 5 个试验区.在生根培养阶段,分设 MS+NAA 0.05 mg·L⁻¹(R1)、1/2MS+NAA 0.05 mg·L⁻¹(R2)、1/2MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹(R3)、1/2MS+IBA 0.5 mg·L⁻¹(R4)等 4 个试验区.

* 收稿日期:2006-01-26

作者简介:袁惠燕(1976-),女,江苏无锡人,讲师,主要研究方向:蔬菜栽培生理与生物技术.

1.3 试验方法

在无菌操作条件下,切取带有2片幼叶的顶芽茎段作为外植体,接种到增殖培养基上进行继代培养.待试管苗幼茎伸长到2~3 cm时,切取带顶芽的茎段转接到生根培养基中进行生根培养.培养条件为温度 $23\text{ }^{\circ}\text{C}\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,12 h 照明(光照强度约2 000 lux),12 h 黑暗.

1.4 调查内容及方法

1.4.1 生长发育调查

经过不同时间培养后,首先观察草莓试管苗的形态特征及生长发育状况,然后从培养瓶中取出试管苗,调查其根、茎、叶及愈伤组织的生长量、不定根发生数量及生长情况等,每处理区调查6~10株,取其平均值作为茎尖生长发育和快繁效果的评价指标.

1.4.2 叶绿素含量测定

为定量分析试管苗叶片生长状况,参照文献[5]的方法提取和测定试管苗叶片的叶绿素含量,即在弱光条件下用80%丙酮溶液提取光合色素,用分光光度计722型(重庆川仪九厂)、在波长663 nm和645 nm下测定提取液的光吸收值,根据以下公式计算光合色素的浓度和含量,并将叶绿素a(Chla)和叶绿素b(Chlb)的含量及其比值作为评价培养效果的生理指标.

$$\text{叶绿素浓度}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}): c(\text{Chla}) = 12.72 \times \text{OD}_{663} - 2.69 \times \text{OD}_{645}$$

$$c(\text{Chlb}) = 22.88 \times \text{OD}_{645} - 4.86 \times \text{OD}_{663}$$

$$\text{叶绿素含量}(\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}) = \text{叶绿素浓度}(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}) \times \text{提取液体积}(\text{mL}) \times \text{稀释倍数} / \text{样品鲜重}(\text{g})$$

2 结果与分析

2.1 细胞分裂素浓度对草莓茎尖培养效果的影响

本试验首先调查了不同细胞分裂素(BA)浓度对草莓茎尖生长的影响.结果表明,在试验设定的BA浓度范围内($0.5\sim 4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),草莓培养茎尖的植株总生长量、愈伤组织形成量均随BA浓度的增加而减少,其中在P1培养基上形成的愈伤组织最多,占试管苗总鲜重的比例可达70%左右.茎尖的开叶数及生长状况则以P3和P4培养基最优,BA浓度过高、过低都不利于试管苗叶片的生长(图1、表1).

其次,从草莓培养茎尖的组织分化来看,在仅含生长素NAA的P1培养基上,愈伤组织的分化及生长量最多;当BA浓度增加到 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BA/NAA为20:1时,不定根的分化被完全抑制;当BA浓度达到 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BAA/NAA为10:1时,愈伤组织的分化也受到明显抑制,对试管苗总生长量的比例由71.43%下降至17.90%;当BA浓度达到 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、BAA/NAA为40:1时,愈伤组织的分化被完全抑制(表1).因此,在以草莓

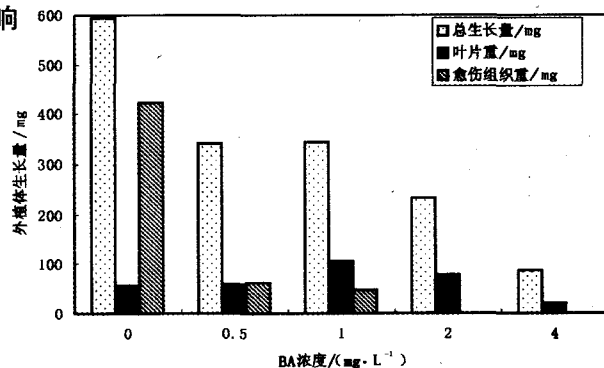


图1 BA浓度与草莓茎尖培养生长量的关系

表1 BA浓度对草莓茎尖生长与分化的关系

分区	总生长量	愈伤组织	开叶数	不定根数	最长不定
	/mg	重比例/%	/片	/根	根长/mm
P1	593	71.4	8	13	15
P2	343	17.9	13	2	5
P3	344	14.2	15	0	0
P4	232	0	8	0	0
P5	87	0	6	0	0

说明:(1)供试品种为马歇尔;

(2)总生长量指幼茎、叶片、愈伤组织及不定根的总鲜重,表中数据为每个外植体的平均值.

快繁为目的茎尖培养中,添加 BA 浓度 $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、同时 BA/NAA 为 20:1 时,就可以避免因愈伤组织大量形成而对茎叶生长造成的不良影响。

另外,不同激素条件导致试管苗叶色产生较大差异,BA 浓度对试管苗叶绿素含量具有显著影响.图 2 结果显示,叶绿素 a、b 含量(Chla + Chlb)随培养基中 BA 浓度的增加而增加,如 P5 试验区的 Chla + Chlb 含量分别比 P1 和 P2 试验区增加了 1~2 倍.叶绿素 a/叶绿素 b 的比值(Chla/Chlb)也表现相似的倾向,在 BA 浓度为 $2.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (BA/NAA 为 40:1)时,Chla/Chlb 比值达到最高(2.65),而 P1 试验区的 Chla/Chlb 比值仅为 1.54.外观上,茎叶生长旺盛的培养茎尖,其叶绿素 a、b 含量及其比值都比较高,与“阳生叶”的生理特征相类似^[6],反之,叶绿素 a、b 的含量及比值则比较低,表现“阴生叶”的生理特征.总体上看,草莓试管苗在 P3 和 P4 培养基上长势较好,表现为丛生芽较多,节间距适中,叶色浓绿,叶片生长良好。

2.2 草莓品种及激素配比对茎尖培养效果的影响

根据以上试验结果,设置了几种不同激素配比的培养基,对 6 个草莓品种的茎尖培养效果进行了系统分析,结果如表 2 所示,“春香”、“硕丰”和“马歇尔”等三个品种的幼苗总鲜重、叶重比例、开叶数及繁殖系数等受激素条件的影响比较小,BA/NAA 在 10:1~40:1 之间未见显著差异,表现为“稳定型”生长特点.与此不同的是,“明旭”、“女峰”和“丰香”等属于“敏感型”品种,激素条件对其茎尖生长量具有显著影响,其中“明旭”与“丰香”的幼苗总鲜重、开叶数及繁殖系数随 BA/NAA 比值的升高而增加,而“女峰”的最适 BA/NAA 为 20:1.其次,“春香”和“硕丰”的繁殖系数较低(平均为 3.8),平均开叶数为 13.5 片;“丰香”的繁殖系数最高(平均达 12.3),开叶数也最多(平均达 38.3 叶),但单叶重较小;其他品种则介于两者之间.另外,“女峰”在 P2 和 P4 培养基上腋芽萌发少,繁殖系数最低,但试管苗生长比较正常,在 P2 和 P3 培养基上还观察到了匍匐茎的形成。

结果还表明,在草莓茎尖增殖培养过程中,抑制愈伤组织及不定根分化所需的 BA 浓度有所不同,这与前人报道的结果相似^[7],但这种抑制作用因草莓品种不同而表现很大差异,6 个供试品种大致可分为三种类型,即“明旭”和“硕丰”在三种激素配比(BA/NAA 为 10:1~40:1)条件下都没有观察到根的分化;相反,“春香”在三种激素条件下都形成了不定根;“丰香”、“女峰”和“马歇尔”则在一定条件(BA/NAA 为 10:1 或 20:1)下可形成不定根。

综合以上结果,可以认为不同草莓品种茎尖培养的最适激素条件分别是:P4 培养基(“春香”、“明旭”、“丰香”)、P3 培养基(“马歇尔”、“女峰”)和 P2 培养基(“硕丰”).其中像“明旭”、“女峰”和“丰香”等受激素条件影响较“敏感”的品种,必须采用最适宜的激素浓度及配比才能获得良好的茎尖培养效果.同时,从茎尖培养过程中根的分化状况来看,选择不定根适度分化的激素条件,有利于试管苗的茎叶生长,这与刘钟河等^[8]在月季快繁研究中发现的结果相似。

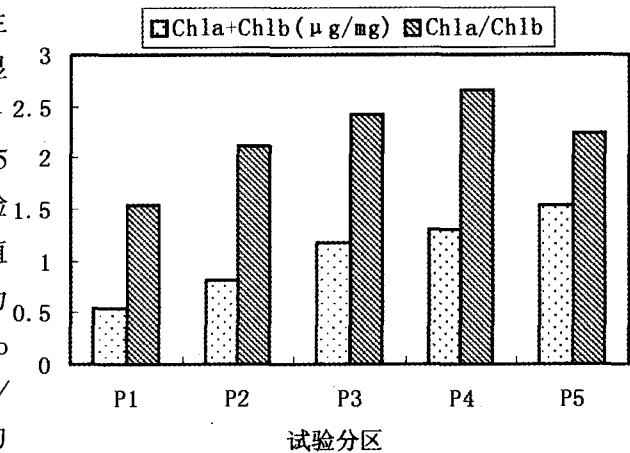


图2 BA 浓度与试管苗叶绿素含量的关系

表2 激素配比与不同草莓品种试管苗生长的关系

品种	分区	总鲜重/mg	叶重比例/%	开叶数/(片/株)	单叶重/mg	繁殖系数	不定根数
“春香”	P2	603	23.7	13	11	3	13
	P3	406	25.9	16	7	4	1
	P4	513	24.6	16	8	5	2
“明旭”	P2	211	31.8	8	8	3	0
	P3	535	23.4	23	5	7	0
	P4	998	22.8	37	6	9	0
“硕丰”	P2	393	38.9	12	13	3	0
	P3	265	34.7	14	7	4	0
	P4	372	34.4	10	13	4	0
“马歇尔”	P2	550	47.5	20	13	3	1
	P3	401	36.2	16	9	7	1
	P4	367	49.3	15	12	4	0
“丰香”	P2	761	23.9	29	6	11	1
	P3	764	19.8	48	3	16	1
	P4	1 033	24.0	38	7	10	0
“女峰”	P2	811	21.5	9	19	2	1
	P3	1 206	21.2	16	16	12	1
	P4	531	31.5	9	19	1	0

注:总鲜重、侧芽发生数、开叶数、不定根数为每个外植体的平均值。

2.3 生长素种类与浓度对生根培养效果的影响

对于诱导生根的最适条件已有若干的研究报导,如柏新富等认为在草莓试管苗的生根培养基中,用1/2 MS和1/4 MS的生根率明显高于MS,而在促进生根的生长调节剂中,以NAA对草莓试管苗诱导效果最好^[9]。刘庆忠等则认为用1/2 MS+0.5IBA mg·L⁻¹培养基的效果较好^[10]。另外,一般都认为活性炭有利于生根^[11]。本试验结果表明,采用1/2 MS培养基(R1),发根数略有增加,但其幼苗鲜重、发根率及根长等与R2区之间未见差异。从不同生长素种类的影响来看,添加NAA的试验区(R2和R3)发根数较多而新根伸长较慢,IBA试验区(R4)的特点是新根发生较少而伸长较快,两个供试品种表现相同的倾向。从NAA浓度的影响来看,浓度较高的R3区比R2区表现新根多而伸长较慢的倾向(表3)。而从实际效果来看,供试的3种培养基(R1~R3)无需添加活性炭,也能获得良好的生根效果,与前人报导的结果(R4)一样,都能够满足草莓试管苗生根移栽的要求。

表3 培养基组成及激素条件与发根效果的关系

品种	分区	幼苗鲜重/mg	发根率/%	发根数	根长/mm
“春香”	R1	473	100	11	21
	R2	504	100	16	24
	R3	763	100	19	19
	R4	405	100	11	38
“丰香”	R1	538	100	13	20
	R2	324	100	17	18
	R3	583	100	17	15
	R4	567	100	14	38

注:表中数据为单株试管苗的平均值。

3 小结与讨论

本试验探讨了不同草莓品种、激素条件对组培快繁效果的影响,结果表明,(1)在BA浓度0.5~4.0 mg·L⁻¹范围内,草莓茎尖的总生长量、愈伤组织形成量随BA浓度增加而减少,而茎叶生长量表现不同的倾向;(2)供试草莓品种可以分为两种类型:即以“春香”、“硕丰”和“马歇尔”为代表的“稳定型”品种,其培养茎尖的生长状况受激素条件的影响较小,试管苗长势旺盛而整齐;而“明旭”、“女峰”和“丰香”等属于“敏感型”品种,激素条件对其茎尖生长量具有显著影响。因此,对于“稳定型”草莓品种,茎尖培养易得到良好效果,对于“敏感型”草莓品种,只有选择最适激素条件才能获得满意的培养效果,这对草莓组培快繁技术具有实际指导意义;(3)

生长素 NAA 和 IBA 对诱导草莓生根都具有良好效果,但两者诱导根系分化的特征有所不同,即 NAA 诱导生根数较多,IBA 促进新根伸长作用明显。

综合上述结果与分析,可以认为在草莓茎尖增殖培养阶段,采用 MS+BA 1.0~2.0 mg·L⁻¹、BA/NAA 为 20:1~40:1 的激素条件及相应培养条件,多数品种的培养茎尖能够保持良好生长状况,可获得比较高的繁殖系数。在试管苗生根培养阶段,采用 1/2 MS+NAA 0.05~0.1 mg·L⁻¹(或 IBA 0.1~0.5 mg·L⁻¹)的激素条件,即使不添加活性炭,也可获得理想的生根效果。

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] 艾勇,赵佐敏,唐虹.草莓组织培养及产业化应用初步研究[J].种子,2002(5):56-58.
- [3] 郑亚杰,高玉江.公四莓一号草莓组织培养快繁技术研究[J].北方果树,2004(6):7-8.
- [4] 何欢乐,阳静,蔡润,潘俊松.草莓茎尖培养快繁体系研究[J].上海交通大学学报(农业科学版),2003,21(增刊):61-65.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所、上海植物生理学会主编.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999.95-96.
- [6] 潘瑞炽.植物生理学第四版[M].北京:高等教育出版社,2001.93.
- [7] 刘传飞,李玲,施和平,等.生长素和细胞分裂素物质对野葛外植体器官发生的影响[J].华南师范大学学报,1999(2):100-104.
- [8] 刘钟河,高继思,王德兴.植物生长调节剂对月季快繁影响的研究[J].河北农业科学,1996(1):24-26.
- [9] 柏新富,蒋小满,赵建军,等.草莓试管苗生根技术的改进研究[J].烟台师范学院学报,2001,17(1):34-36.
- [10] 刘庆忠,王茂兴.无病毒草莓良种繁育技术体系的建立[J].落叶果树.2000(4):1-3.
- [11] 潘瑞炽.植物组织培养第二版[M].广州:广东教育出版社,2001.25.

Effect of different varieties and phytohormone conditions on tissue culture and rapid propagation of strawberry

Yuan Huiyan, Tan Jianzhong, Huang Xiuqin, Zheng Biping, Zhang Guoying

(Department of Horticulture, School of Urbanology, Suzhou University, Suzhou 215123, China)

Abstract: The effect of different varieties and phytohormone conditions on tissue culture and rapid propagation of strawberry were investigated, taking 'Nyohou', 'Toyonoka', 'Shuofeng', 'Harunoka', 'Marshall', and 'Mingxue' as experimental materials. The results showed that the different varieties could be divided into two types on the characteristic of stem-tip growth, while they were in three types according to their differentiation; the optimum media were MS supplemented with BA 1.0-2.0 mg·L⁻¹ and BA/NAA=20:1-40:1 for stem-tip growth, and 1/2 MS supplemented with NAA 0.05-0.1 mg·L⁻¹ for root differentiation; on above conditions, most strawberry varieties could get good effect on the tissue culture and rapid propagation.

Key words: strawberry; stem-tip culture; tissue culture and rapid propagation; phytohormone

(责任编辑:耳东)