

草莓脱毒种苗快繁节本关键技术研究

夏波 魏秀永 毛碧增 何伯伟 王健敏 李德葆

摘要 继代培养基中 BA 浓度 0.1 mg/L 和 0.6 mg/L 的交替使用、继代周期为 30 天能提高不定芽的增殖率;高效生根培养基为 1/4 MS+1.5%食用糖;食用糖、自来水替代蔗糖、蒸馏水,以及培养基回收等技术降低了生产成本 70%。

关键词 草莓 脱毒种苗 节本关键技术

Micropropagation of Virue-free Strawberry and Application

Xia Bo, Wei Xiuyong, Mao Bizeng, He Bowei, Wang Jianmin, Li Debao

Abstract The results indicated that the BA concentration alternated with 0.1 mg/L and 0.6 mg/L every month on the proliferation medium can improve proliferation frequency. The rooting medium was 1/4 MS+1.5% granulate sugar. Granulate and tap water replace sucrose and distilled water on medium, medium reused technique can reduce 70 percent cost.

Key words Strawberry, Virue-free plantlets, Economy critical technologies

近年来浙江省各地在进行种植业结构调整中,草莓种植面积迅速扩大,2004 年全省草莓面积达到 4.79 hm²,总产量 9.62 万 t,产值达 6 亿多元。但品种单一化和越来越严重的草莓病毒病,严重制约着产业的发展 and 农民增产增效。本研究以静冈 11 号草莓为试材,从降低脱毒种苗快繁生产过程中的快繁术、试管苗驯化的生产成本为重点,研究并建立了一整套脱毒草莓组织培养及种苗产业化生产的技术体系。经 3 年的生产应用,取得了明显的效益。

1 试验方法

①无菌苗的建立 取 6~9 月生长健壮的 2 cm 长草莓匍匐茎,流水冲洗 2 h,经常规消毒后,在高倍解剖镜下剥去叶片,分别切取 1 mm、2 mm 长的茎尖接种于诱导培养基 (MS+0.6 mg/L BA+100 mg/L Glutamine+3% sucrose+0.9% Agar,pH 值 5.8)。培养条件,25℃,40 μmol/s·m²,16 h 光照。

②激素浓度对不定芽增殖的影响 选取 0.5~1 cm 含 1~2 个叶片的芽,接种于 MS 为基本培养基,不同 BA 浓度的增殖培养基中,S1:MS+0.1 mg/L BA+

100 mg/L Glutamine,S2:MS+0.6 mg/L BA+100 mg/L Glutamine。第 20 天、30 天分别统计各培养基的增殖能力。培养条件,25℃,40 μmol/s·m²,16 h 光照。

③蔗糖浓度、基本培养基对生根的影响 从各自诱导培养基中选取 1~2 cm 含 1~2 个叶片的芽,分别接种于不同基本培养基、蔗糖浓度的生根培养基中,R1:1/2MS+1.5% sucrose,R2:1/2MS+0.5% sucrose,R3:1/4MS+1.5% sucrose。第 30 天统计不同诱导、生根培养基组合的生根能力。培养条件,25℃,60 μmol/s·m²,16 h 光照。

④自来水、食用糖替代对降低生产成本的作用 分别用自来水和食用糖替代增殖培养基中的蔗糖和蒸馏水,把 1~2 cm 长的芽接种于不同培养基中。第 30 天统计不同培养基的增殖能力。

⑤驯化方式和试管苗株高对移栽成活率的影响 打开瓶盖进行驯化和直接水培驯化 3 天后,移栽试管苗到基质上,第 30 天统计不同驯化方式的移栽存活率;选取不同株高的试管苗进行移栽试验,第 30 天统计不同株高试管苗的移栽存活率。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

不同 BA 浓度对诱导不定芽的诱导率差异不大。试验中发现草莓无菌苗的不定芽诱导相对比较容易,但培养时间对不定芽的增殖量有较大的决定作用。继代周期 30 天的草莓苗增殖系数高,长势旺盛,苗体健壮,而继代时间超过 40 天后,草莓苗容易徒长,苗体细弱、增殖系数降低、移栽成活率低。

基金项目:浙江省农科教结合重点项目,浙江省农业厅“三农五方”科研推广项目,编号:三农 01-07。

毛碧增(通讯作者),浙江大学生物技术研究所,浙江杭州,310029,电话:0571-86971678

夏波,魏秀永,李德葆,浙江大学生物技术研究所

何伯伟,王健敏,浙江省农业厅农作物管理局

收稿日期:2005-12-01

2.2 蔗糖浓度和基本培养基对根长和株高的影响

表1表明,不同增殖培养基所继代的苗在生根培养基中所表现的生根状况和株高情况基本相同。不同生根培养基对株高和根系有着不同的作用,培养基R1在根系数量、最佳根长(2~6 cm)和最佳株高(4~6 cm)等方面比R2培养基好,说明试管苗在生根阶段仍需要较高浓度的碳源提供能量,维持培养阶段的新陈代谢。培养基R3在最佳根长和最佳株高等方面比R1培养基好,说明在试管苗生根阶段,有效的降低无机盐、维生素浓度为试管苗的移栽即从异养阶段到自养阶段提供了一个缓冲,有助于提高试管苗的移栽成活率。进行工厂化生产时,可用R3培养基作生根培养基。

2.3 降低试管苗成本的研究

表2表明,在草莓的增殖阶段,蔗糖、食用糖和蒸馏水、自来水增殖倍数无明显差异,效果基本相同,而成本降低了40%,这与袁涓文报道的相似^[5]。

2.4 试管苗株高和驯化方式对移栽成活率的影响

不同的驯化方式和试管苗的移栽成活率有着密切关系。在室温条件下打开试管盖子放置3天,然后流水洗去根系的琼脂,移栽于拌了草木灰的沙壤基质,浇透水,上盖遮阳网,以防水分过度蒸发,移栽存活率(88%)比试管苗直接水培3天再移入基质成活率(54%)高。这可能是3天的水培时间一方面未能诱导出新根,另外可能根系直接浸泡在水中,水体没流动,造成水中空气不足,氧气不够,使植株发育不良,从而影响了成活率。

试管苗的株高和根系也直接影响着移栽成活率,在移栽时应控制试管苗的株高和根系,过长或过短的

表1 蔗糖浓度和基本培养基对根系和株高的影响

| 增殖 | 培养基 | | 平均根数 条 | 2~6 cm 根长 比率/% | 4~6 cm 株高 比率/% |
|----|-----|--|-----------|-------------------|-------------------|
| | 生根 | | | | |
| S1 | R1 | | 3.5 | 81.3 | 85.2 |
| S1 | R2 | | 2.2 | 69.8 | 79.0 |
| S1 | R3 | | 6.1 | 93.0 | 87.2 |
| S2 | R1 | | 3.5 | 77.7 | 81.4 |
| S2 | R2 | | 2.4 | 65.1 | 77.1 |
| S2 | R3 | | 5.4 | 86.8 | 88.6 |

表2 自来水和食用糖对不定芽增殖的影响

| 培养基 | 增殖系数(不定芽量/接种量) |
|--------------------------|-----------------|
| MS+0.1 mg/L BA+3%蔗糖+蒸馏水 | 17.84(1 249/70) |
| MS+0.1 mg/L BA+3%蔗糖+自来水 | 20.10(462/23) |
| MS+0.1 mg/L BA+3%食用糖+蒸馏水 | 16.10(161/10) |
| MS+0.1 mg/L BA+3%食用糖+自来水 | 17.20(172/10) |

根系和株高都不利于试管苗的移栽。在组培苗生根阶段,试管苗株高在4~6 cm,具有3~5条2~6 cm长的根,移栽存活率达93%,以后的大规模移栽中也证实了这一结论。移栽成活的苗应该严格管理,外罩防虫网,经检测脱去了病毒的苗方可进行下一代活力测试,作为种苗繁育各级生产苗即商品苗。

2.5 脱毒种苗应用及表现

2002~2004年,在浙江省草莓育苗中心(建德市)建立草莓脱毒原种圃6 667 hm²,繁育原种苗10.2万株;建立一代繁育苗圃4.33 hm²,共繁育一代苗148万株;建立生产苗繁育基地96 hm²,共繁育二代生产苗16 600万株;在建德市杨村桥梓溪畈和下涯镇下涯畈建立丰香脱毒苗示范园区107.33 hm²,3年累计推广应用脱毒种苗面积1 412.33 hm²,实施区平均单产1 750 kg/667 m²,比对照增产310 kg/667 m²,增产21.8%,投入产出比达到1:5.26。生产应用表现为:种苗繁殖系数高,长势强;花芽分化早,前期产量高;抗病性提高,田间生长旺,增产增收明显。

3 小结

草莓产业化生产中试管苗继代培养应以30天为一个周期,防止出现草莓苗徒长、细弱,增殖系数降低、移栽成活率低等问题。继代培养基中BA的浓度对繁殖系数无较大影响,在工厂化生产中,继代培养基中BA浓度交替使用(0.1 mg/L和0.6 mg/L),可提高试管苗的繁殖系数和质量。

在草莓的增殖阶段,蔗糖、食用糖和蒸馏水、自来水增殖倍数效果基本相同,成本可降低40%;驯化方法以在室温条件下打开试管盖放置3天,然后用流水洗去根系的琼脂,移栽于拌了草木灰的沙壤基质,浇透水,上盖遮阳网,移栽成活率高。在组培苗生根阶段,试管苗株高在4~6 cm,每株3~5条根,根长3~6 cm,移栽存活率可达93%以上。

参考文献

- [1] 何伯伟,毛碧增,童英富,等.草莓脱毒种苗的应用效果及发展对策[J].浙江农业科学,2005,275(2):94~96
- [2] 何伯伟.我省应加快草莓、马铃薯等作物脱毒种苗产业化工程建设[J].浙江现代农业,1999(6):20~23
- [3] 高庆玉,李光裕,周恩.关于草莓脱毒技术研究[J].东北农学院学报,24(3):231~236
- [4] 王国平,刘福昌.我国草莓主栽区病毒种类的鉴定[J].植物病理学报,1991,21(1):9~14
- [5] 袁涓文.降低草莓试管苗成本的初步研究[J].贵州农业科学,1996(1):33~35