

草莓花药组培脱毒苗技术研究

李强峰

(青海大学农牧学院,青海 西宁 810003)

摘要:通过对红太后草莓新品种进行花药培养,筛选出花药培养过程中各阶段适宜的培养基,并成功对试管苗进行炼苗、移栽,获得红太后草莓品种脱毒苗。

关键词:草莓;花药;组织培养;脱毒苗

中图分类号:S663;Q813.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-8996(2007)01-0065-03

Study on the detoxificoting seedling of the anther cultivation of strawberry

LI Qiang-feng

(Agriculture and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xining 810003, China)

Abstract: By detoxificoting culture anther of the Italy strawberry cultivars - Hongtaihou, the appropriate medium suitable for the growth of it in all periods were selected and meanwhile, the cuvette plantlet was successfully domesticated and transplanted.

Key words: strawberry; anther; tissue culture; detoxification.

草莓(*Fragaria chiloensis*)生产上容易感染由蚜虫等传播引起的病毒病,导致草莓品种的退化,表现为植株矮化,抗性降低,品质变劣,产量降低等退化现象,严重阻碍了草莓生产的健康发展。据不完全统计,侵染草莓的病毒有 60 余种,其中草莓斑驳病毒(strawberry mottle virus, SMOV),草莓轻型黄边病毒(strawberry mild yellow edge virus, SMYEV),草莓皱缩病毒(strawberry crinkle virus, SCRV)及草莓镶脉病毒(strawberry vein band virus, SVBV)是侵染我国草莓的 4 种主要病毒,总侵染率为 80.2%,其中单病毒的侵染率达 41.6%,两种以上病毒的复合侵染率达 38.6%^[1]。

培育草莓无病毒苗的主要方法有热处理法、茎尖培养法以及花药培养法等。众多研究者认为花药培养作为脱毒手段,可以省去病毒鉴定的程序^[2,3]。覃兰英等^[4]最早通过花药愈伤组织诱导再生植株的途径,培育出春香、宝交早生等品种的花药脱毒苗。高庆玉等^[5]通过幼叶和茎尖培养所获得的植株脱毒率为 20%,而花药培养所获得的植株脱毒率高达 100%,因此可以认为花药培养是获得无病毒植株的最好途径。高遐红等^[3]指出,单核靠边期为草莓花药培养的最佳时期,采取花蕾的大小因品种而异。许多研究表明,不同基因型的花药培养效果不一样,对培养基成分、培养条件等的要求亦各不相同^[6]。红太后草莓是从意大利引进的新品种,栽培性状表现优异^[7],为了提高草莓生产的经济效益,采用花药组培生产脱毒苗,并对其培养条件进行了相关研究。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试品种为意大利草莓品种红太后,取材地点在青海百绿园实业有限公司西宁市彭家寨草莓生产示范基地。

以 MS 培养基为基本培养基(碳源为葡萄糖 30 g/L),添加不同种类及浓度的激素, pH5.8。

收稿日期:2006-09-27

基金项目:青海省科技厅项目(2004-X-305)。

作者简介:李强峰(1973—),男,青海乐都人,讲师,硕士。主要从事果树保护地栽培教学及研究。

1.2 试验方法

1.2.1 花粉发育时期的观察

通过镜检观察花粉发育至单核中期或单核靠边期时(花蕾直径约 4~6 mm),立即取材进行花药培养。

1.2.2 花药愈伤组织的诱导

春季显蕾期上午 9:00~10:00 取供试草莓品种的小花蕾若干,先用自来水将花蕾冲洗干净,用纱布轻轻擦干,然后用 70% 的酒精浸 30 s,再在 1 g/L 升汞溶液中消毒 15 min,最后用无菌水冲洗 5 次,每次 4~5 min,用无菌试纸吸干花蕾表面水分后,在超净工作台上剥取花药,接种于诱导培养基上。诱导培养基以 MS 培养基为基本培养基,添加不同浓度(见表 1)的萘乙酸(NAA)、6-苄基氨基嘌呤(BA)和激动素(KT)。每瓶接种花药 50 个,接种后花药暗培养 7 d,再转入光照培养。光照培养温度 20~25 ℃,光照时间 16 h/d,光强 1 500~2 000 lx。接种后 30 d 统计出愈率。

1.2.3 花药愈伤组织不定芽分化及增殖培养

当愈伤组织的直径为 2~3 mm 时,及时转入分化培养基(见表 2),20 d 后分化出芽点,40 d 后形成明显的不定芽,将芽切成小块,转入到增殖培养基(见表 3),每种培养基上接小植株 30 个,25 d 后统计分化成苗数。

1.2.4 花药植株的生根培养

剪取高 1.5~2 cm 的继代培养苗,转入生根培养基(见表 3),观察生根情况,调查生根率。

1.2.5 炼苗及移栽成活率观察

将生根试管苗转入温室,开口锻炼 3 d,取出小苗,洗去根部残留培养基,移栽到用高压灭菌锅消毒的蛭石和腐殖土等量的基质中,加小拱棚保温保湿,并定期浇水,喷施 0.1% 的多菌灵溶液,从第 14 天开始逐渐炼苗,第 21 天全揭棚,调查成活率。

2 结果与分析

2.1 不同激素及浓度对草莓花药愈伤组织的形成

6 种愈伤组织培养基的出愈率比较说明,草莓花药愈伤组织的形成需要一定浓度的生长素水平和一定浓度的外源细胞分裂素水平维持(表 1)。本试验 5 号培养基即 MS + NAA 2.0 mg/L + BA 1.0 mg/L + KT 0.1 mg/L + 3% 蔗糖出愈率极显著高于其他培养基。

表 1 草莓花药愈伤组织的形成

培养基 编 号	接种花药 (个)	NAA (mg/L)	BA (mg/L)	KT (mg/L)	出愈率 (%)	显著水平	
						0.05	0.01
5	400	2.0	1.0	0.1	77	a	A
4	400	2.0	2.0	0.1	63	b	B
6	400	2.0	0.5	0.1	55	c	C
2	400	2.0	1.0	0.0	51	c	C
1	400	2.0	2.0	0.0	43	d	D
3	400	2.0	0.5	0.0	36	d	D

2.2 草莓花药愈伤组织不定芽的分化

6 种愈伤组织分化培养基的分化率比较说明,草莓愈伤组织分化需要较低浓度的生长素水平和较高浓度的外源细胞分裂素水平维持(表 2)。本试验 10 号培养基即 MS + NAA 0.1 mg/L + BA 2.0 mg/L + 3% 蔗糖分化率极显著高于其他培养基。

表 2 草莓花药愈伤组织的分化

培养基 编号	NAA (mg/L)	BA (mg/L)	分化率 (%)	显著水平	
				0.05	0.01
10	0.1	2.0	5.3	a	A
12	0.5	2.0	3.6	b	B
11	0.2	2.0	2.8	c	C
9	0.5	1.0	2.4	d	CD
7	0.1	1.0	2.1	d	D
8	0.2	1.0	1.5	e	E

2.3 不定芽的增殖

6种增殖培养基的增殖系数比较说明,草莓芽增殖需要在较高浓度的外源细胞分裂素水平和一定浓度的生长素水平上维持(表3)。本试验13号培养基即MS+BA2.0 mg/L+NAA0.1 mg/L+3%蔗糖不定芽的增殖系数极显著高于其他培养基。

表 3 草莓不定芽的增殖

培养基 编号	NAA (mg/L)	BA (mg/L)	增殖系数	显著水平	
				0.05	0.01
13	0.1	2.0	6.84	a	A
14	0.2	2.0	4.03	b	B
15	0.5	2.0	3.80	b	B
16	0.1	1.0	3.72	b	B
17	0.2	1.0	3.54	b	B
18	0.5	1.0	3.37	b	B

2.4 不同培养基对生根的影响

将形成的不定芽转接到3种培养基上进行培养(表4),供试草莓品种不定芽生根率皆在85%以上,生根效果较好。

表 4 不同培养基对生根的影响

培养基	接种芽数(个)	生根率(%)
1/2MS+NAA(0.2mg/L)	100	93
1/2MS+NAA(0.1mg/L)	100	91
1/2MS	100	86

2.5 生根苗炼苗及移栽结果

经过炼苗的生根试管苗移栽后的成活率均在90%以上,1个月后即可在防蚜网室栽植。

3 结论

- (1)利用草莓花药培养,愈伤组织诱导产生小植株,是一种有效的脱毒方法。
- (2)5号培养基(MS+NAA2.0 mg/L+BA1.0 mg/L+KTO.1 mg/L+3%蔗糖)为愈伤组织适宜培养基。
- (3)10号培养基(MS+NAA0.1 mg/L+BA2.0 mg/L+3%蔗糖)为不定芽适宜培养基。
- (4)生根培养基生根率均在85%以上,实际操作中可选择最经济的培养基。

参考文献:

- [1] 王国平,刘福昌,薛光荣,等.草莓病毒病种类鉴定及无病毒种苗的技术研究[J].中国农业科学,1990,(4):43-49.
- [2] 周厚成,何水涛.草莓病毒病研究进展[J].果树学报,2003,(5):421-426.
- [3] 高遐红,李梅.提高草莓茎尖组织培养脱毒效果研究[J].中国果树,1994,(2):5-6.
- [4] 覃兰英,邓世秀,李青.草莓无病毒苗的培育[J].中国果树,1987,(2):53-54.
- [5] 高庆玉,李光裕,周恩.关于草莓脱毒技术的研究[J].东北农学院学报,1993,(3):231-236.
- [6] 王玉民.利用花药培养获得草莓无病毒苗的研究[J].吉林农业科学,1994,(3):91-93.
- [7] 李强峰,郁俊谊.3种草莓品种在青海西宁的引种表现[J].中国果树,2006,(6):31-32.