

草莓花药脱毒培养技术研究

马洪爱,郭生虎,王敬东,高晓原

(宁夏农林科学院农业生物技术重点实验室,宁夏 银川 750002)

摘要:以草莓新品种“卡麦罗莎”的花药为供试材料,系统地筛选了花药脱毒苗培养过程中各阶段的最适培养基,使愈伤组织诱导率达81%,不定芽分化率达30.8%,丛生芽平均增殖系数达4.46,形成了一套较为完整的花药脱毒培养“原原种”苗的技术体系。

关键词:草莓; 花药; 组织培养; 脱毒苗

中图分类号:S668.4

文献标识码:A

文章编号:1002-204X(2007)06-0010-02

对于草莓病毒病,目前国内还没有药剂可以防治。因此,通过植物组织培养技术,培育无毒苗是防治草莓病毒病的根本对策。覃兰英^[2]等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。国外早在20世纪60年代就用茎尖培养获得无病毒苗,目前,欧美及日本等发达国家都建立了草莓及许多园艺植物的脱毒技术及苗木繁育体系。我国进行草莓茎尖培养脱毒起步于20世纪80年代末,由于操作和检测技术的原因,茎尖培养脱毒效率低,高庆玉^[3]等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。“卡麦罗莎”草莓是从美国引进的新品种,在宁夏栽培性状表现优异,目前由于连年栽种及草莓病毒病的影响,导致其品种老化、品质下降。为了提高其经济效益,课题组采用花药组培生产脱毒苗,并对组培的关键条件进行了相关研究。现将有关草莓花药脱毒培养技术报道如下。

1 材料和方法

1.1 试验材料

以宁夏永宁县温室栽培的草莓品种“卡麦罗莎”的花药为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 花药采集及消毒

3~4月份,采集刚露白的花蕾,选取花粉单核靠边期的花蕾放入4℃冰箱进行低温处理6h、12h、24h、48h,取出用自来水冲洗2~3次,在超净工作台上先用2%次氯酸钠浸泡8min,无菌水冲洗后用0.1%升汞浸泡12min,用无菌水冲洗3~4次,然后将花蕾放入装有无菌滤纸的培养皿中备用。

1.2.2 花药愈伤组织的诱导

在总结前人研究的基础上^[6-8],以MS培养基为基本培养基,蔗糖3%,琼脂pH值为5.7~5.8,将备用花蕾剥取花药接种在不同的培养基上(见表1),分别添加不同浓度的细胞分裂素(6-BA)、生长素NAA、IAA和激动素ZT,每瓶接种花药约40个,每种组合设置5个重复,在室温(25℃±1℃),光照(2000~2500lx)12h/d条件下培养,3周后开始调查出愈率,观察记录花药愈伤组织诱导情况并确定适当的培养基。

1.2.3 不同激素浓度对比对愈伤组织不定芽形成率的影响

当愈伤组织的直径达2~3mm时,及时将其转入分化培养基中培养(表2)。每瓶接种10块,每种培养基设置3个重复,约30d后陆续分化出淡绿色芽点,记录并统计不定芽诱导率,确定最适诱导培养基。

1.2.4 不定芽的增殖培养

将形成的不定芽切成小块后转入增殖培养基(表3)进行增殖培养。每瓶接种5块,每种培养基重复5次,4周后统计分化成苗数。

1.2.5 诱导生根及炼苗移栽

将高约3cm的绿苗直接转入生根培养基上进行培养,约2周后,苗基部长出白色的小根。当生根苗根长达1.0~1.5cm时,打开瓶口,在室温下炼苗3~5天后,取出小苗,洗去根部残留的培养基,栽植在已经灭菌处理过的基质中,保持合适的温度、湿度即可。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对比对花药愈伤组织诱导率的影响

根据(表1)中三种激素三水平正交试验结果可以看出,草莓花药愈伤组织形成率在不同激素浓度配比的MS培养基上有较明显的差异。由极差分析结果可以看出,6-BA浓度对愈伤诱导率影响最明显,是诱导愈伤组织形成的主要因子,且在6-BA三个水平:3.0 mg/L、2.0 mg/L、1.0 mg/L中其K值分别为188、202、161,表明并非浓度越高愈伤组织诱导率越高,而是有一个比较合理的范围,6-BA浓度以2.0 mg/L为比较适宜。各种激素影响作用大小依次其次为6-BA→KT→NAA,在以MS基本培养基进行花药愈伤组织诱导培养时,最适激素配比为6-BA 2.0mg/L+KT 0.1 mg/L+NAA 0.5mg/L,培养30天后愈伤组织诱导率可达到81%。

2.2 不同激素浓度对比对愈伤组织不定芽形成率的影响

比较6种培养基草莓愈伤组织不定芽分化率,说明草莓愈伤组织分化需要较低的生长素浓度和较高浓度的细胞分裂素(表2)。通过对6种不同激素浓度培养基中愈伤组织分化率分

收稿日期:2007-07-11

作者简介:马洪爱(1959—),女,宁夏银川人,助理研究员,主要从事林木育种研究工作。

析,5号培养基 MS+6-BA2.0mg/L+ NAA0.2mg/L 分化率极显著高于其它培养基。

2.3 不同激素浓度对增殖率的影响

由表3中6种培养基的增殖系数比较表明,较低浓度的生长素和一定浓度的细胞分裂素有利于草莓丛生芽的增殖,2号组合的培养基 MS+6-BA0.5mg/L+ NAA0.05mg/L 丛生芽增殖系数极显著高于其它培养基。

表1 草莓花药愈伤组织诱导率

培养基编号	6-BA(mg/L)	NAA(mg/L)	KT(mg/L)	愈伤诱导率 (%)	
1	3.0	0.5	0	57	
2	3.0	1.0	0.1	69	
3	3.0	1.5	0.3	62	
4	2.0	0.5	0.1	81	
5	2.0	1.0	0.3	64	
6	2.0	1.5	0	57	
7	1.0	0.5	0.3	61	
8	1.0	1.0	0	49	
9	1.0	1.5	0.1	51	
愈伤组织诱导率	K ₁	188	199	163	培养基最佳激素配比:6BA(2.0)→NAA(0.5)→KT(0.1)
	K ₂	202	182	201	
	K ₃	131	170	187	
	R	41	29	38	

表2 不同激素浓度对比对愈伤组织不定芽分化率的影响

培养基编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	分化率 (%)	显著水平	
				0.05	0.01
1	3.0	0.1	12.4	d	C
2	3.0	0.2	20.6	bc	B
3	3.0	0.3	17.3	c	BC
4	2.0	0.1	21	bc	B
5	2.0	0.2	30.8	a	A
6	2.0	0.3	23.5	b	AB

表3 不同激素浓度对增殖系数的影响

培养基编号	6-BA(mg/L)	NAA(mg/L)	增殖系数	显著水平	
				0.05	0.01
1	0.5	0.01	3.28	b	BC
2	0.5	0.05	4.46	a	A
3	0.5	0.1	3.44	b	B
4	1.0	0.01	2.35	d	D
5	1.0	0.05	3.17	bc	BC
6	1.0	0.1	2.86	c	C

表4 不同培养基对生根的影响

培养基	生根率	根系生长状态
1/2MS	89	根系黄白色,丛生状,细长
1/2MS+0.1 mg/L NAA	92	根系白色,丛生状,细长
1/2MS+0.1 mg/L IBA	96	根系白色,辐射状,较粗壮

2.4 不同培养基对生根的影响

从表4看出,草莓绿苗很容易生根,但加入不同的生长素对草莓根系质量影响较明显,1/2MS+0.1 mg/L IBA 培养基中草莓生根率最高,根系生长状态较好,适合移栽。

2.5 炼苗和移栽

生根苗根长达1.0~1.5cm后,将三角瓶打开,在温室通风处炼苗3天后,取出小苗,洗去根部残余的培养基,栽植在消毒处理过的营养钵中,保持适宜的温湿度,移栽成活率达90%以上。

3 小结

1)本次试验系统筛选出了草莓花药愈伤组织诱导培养基:MS+6-BA2.0 mg/L+KT0.1 mg/L+NAA0.5 mg/L;不定芽诱导培养基:MS+6-BA2.0mg/L+ NAA0.2mg/L;丛生芽增殖培养基:MS+6-BA0.5mg/L+ NAA0.05mg/L;生根培养基:1/2MS+0.1 mg/L I-BA。丛生芽平均增殖系数达4.46,为草莓脱毒苗的进一步扩大培养奠定了基础。

2)草莓花药组培脱毒技术因其易操作性、脱毒效率高可免去病毒检测,现已广泛应用于草莓“原原种”苗的繁殖,本次试验筛选的培养基对“卡麦罗莎”的花药组培脱毒苗最适宜。

参考文献:

- [1] 王国平,刘福昌,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] 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
- [3] 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
- [4] 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
- [5] 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
- [6] 覃兰英,邓世秀,李青,等.培育草莓脱毒苗方法的研究.园艺学报,1988,15(3):38~41
- [7] 韩雪梅.草莓试管苗分化培养基优化的研究.生物技术,1997,7(2):27~29
- [8] 曹善东.草莓脱毒苗组培快繁技术研究[J].山东林业科技,2002(5):19~21

责任编辑:褚庆芳