

草莓茎尖培养快繁技术研究

徐启红¹, 任平国¹, 张 胜¹, 侯 凯²

(1. 漯河职业技术学院, 河南 漯河 462000; 2. 漯河天翼生物工程有限公司, 河南 漯河 462000)

摘 要:以童子一号草莓为试材,对草莓葡萄茎尖进行组织培养,筛选出低成本下草莓诱导分化培养基、继代增殖培养基分别为:MS+BA 0.5 mg/L、MS+BA 0.5 mg/L,瓶外生根最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L,在温度 20~30℃、光强为 4 000~10 000 lx、湿度为 85%~95%时,组培苗生根性良好。此方法繁殖的无毒苗,移栽成活率可达 99%,每株成本也下降了 75%。

关键词:草莓;茎尖培养;快繁技术

中图分类号:S 668.404⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)01-0183-03

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)是蔷薇科草莓属宿根性多年生草本植物,为世界性水果,其栽培面积和产量在世界浆果类水果生产中仅次于葡萄^[1]。草莓具有适应性广、栽培容易、结果早、产量高、收益好等优点,是一种经济价值较高的天然高档食品^[2],除供鲜食外,还可加工成罐头、酱、酒、饮料等制品,并有较高的医疗保

健作用^[3]。因此,全国各地都在积极引种。但由于长期的葡萄茎无性繁殖,易受病毒侵染而使品种退化^[4],产量、质量也下降明显。针对这一情况,漯河职业技术学院和漯河天翼生物工程有限公司积极合作,自 2006 年起开展了草莓试管苗低成本快繁技术的研究,并经申请被批准为 2007 年度河南省教育厅自然科学研究科技攻关项目。该研究是项目子课题之一。

第一作者简介:徐启红(1973-),女,河南沈丘人,讲师,在读硕士,主要从事生理、生化方面的研究。

基金项目:河南省教育厅自然科学研究科技攻关资助项目(2007180035)。

收稿日期:2007-09-24

1 材料与方法

1.1 材料

漯河天翼生物工程有限公司提供的童子一号草莓。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理 自田间选取健壮的童子一号草莓

[8] 张建勇,刘涛,袁佐清.石斛属植物组织培养及遗传转化研究进展

[J].安徽农业科学,2007(3):656-670.

[9] 毛碧增,李凤玉,王春,等.春石斛组织培养技术研究[J].浙江大学学报(理学版),2003(5):580-583.

[10] 周华伟,李世君.组织培养中若干因素对石斛兰试管苗生长的影响

[J].浙江农业大学学报,1995,21(6):622-624.

[11] 潘超美,贺红,林群英,等.真菌诱导子对铁皮石斛组培物生长的影响[J].中医药学报,2004,22(1):54-55.

[12] 郭顺星,曹文岑,高微微.铁皮石斛及金钗石斛菌根真菌的分离及其生物活性测定[J].中国中药杂志,2000,25(6):338-341.

Study on Stem Section Reproduction of *Dendrobe nobile* in Vitro

LIU Hui-qing, ZHANG Ai-xiang, CHANG Mei-hua, LIU Qing, GONG Xue-cheng
(Agricultural Department, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131, China)

Abstract: The *Dendrobe nobile* in vitro was used as the research material and carried on studies to the stem section reproduction systematically. The stem section reproduction can greatly enhance the inductivity of the lateral bud. Higher consistency of inorganic salt restrains buds' growth in the induction of the lateral bud of *Dendrobe nobile*. 6-BA changes within 0.2~0.8 mg/L consistency range, with the fact that the consistency rises, the inductivity of the lateral bud appears downtrend. NAA consistency range inner in 0.5~1 mg/L, the inductivity of the lateral bud assumes an uptrend. The results indicated that the most suitable culture medium used to induce the lateral bud was KC+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L or 1/2 MS+KT 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. Organic additions such as fruit juice of banana were advantageous to lateral buds growth.

Key words: *Dendrobium Nobile*; Stem section reproduction; The induction of the lateral bud

母株上生长充实而小叶尚为展开的匍匐茎顶端 2~3 cm 长的顶芽,用自来水冲洗 2~3 h 后,在超净台上进行灭菌处理。先用小镊子摘除匍匐茎的外部大叶,用 70% 的酒精消毒 30 s,再置于 0.1% 的升汞中消毒 6~8 min,然后用无菌水冲洗 6~8 遍。

1.2.2 诱导分化培养 在双筒解剖镜下由外向内逐层剥去幼叶,直至闪亮半圆球的顶端分生组织充分暴露出来,切取 0.5 mm 左右大小茎尖接种于附加不同浓度 BA、NAA 的 MS 诱导培养基上(所有培养基均以食用白砂糖代替蔗糖,加入量为 3%,琼脂 0.7%,以自来水代替蒸馏水,pH 值在高压灭菌前调至 6.0,每瓶接种 3 个材料,接种后移至培养室内培养。培养条件为光照 1 500~2 500 lx,14 h/d,温度(22±4)℃(下同)。

1.2.3 增殖培养 把诱导分化出的草莓小苗转接入继代增殖培养基,接时把芽团分细小些,约 5 株/瓶,在增殖培养过程中需 30 d 左右继代 1 次,并记录组培苗的增殖情况。

1.2.4 瓶外生根与移栽 组培苗生根移栽,一般情况要经过在培养基内添加生根激素,20~40 d 后,将生根瓶苗通过室外练苗,洗净琼脂,再移植在基质土中,其过程较麻烦,成活率有的不高。所采用的滤纸瓶外生根,基本能解决上述问题^[5]。

试验选用 3 种生长调节剂:IBA、NAA、IAA,每种激素浓度分别为 200、500、800、1 000 mg/L。选择继代培养健壮的草莓苗,剪取 1.5~2.0 cm 长的带顶芽的茎段,将其基部蘸有一定浓度的生长素,轻轻插入滤纸桥中,放入棚内含有营养液的长方形容器内,启动调控措施。观察茎段的生根情况,挑选生根较好的组培苗进行移栽。

2 结果与分析

2.1 生长调节剂对茎尖成活率的影响

表 2 不同浓度的 BA、KT 对童子一号草莓丛生芽增殖的影响

培养基类型	接种数/个	培养时间/d	增殖芽数/个	增殖系数	平均苗高/cm
MS+BA 0.2 mg/L	30	30	72	2.40	0.85
MS+BA 0.2 mg/L+KT 0.1 mg/L	30	30	66	2.20	0.97
MS+BA 0.5 mg/L	30	30	214	7.13	1.05
MS+BA 0.2 mg/L+KT 0.1 mg/L	30	30	88	2.93	1.26

2.3 生长调节剂对草莓瓶外生根的影响

草莓瓶外生根中选用了不同浓度的 IBA、NAA、IAA 3 种生长调节剂进行试验,结果如表 3 所示。由表 3 可以看出:童子一号草莓组培苗对 3 种激素在不同的浓度下相差不大,只是在生根数和生根率上,IBA 较其他两种激素略强一些。在 IBA 为 800 mg/L 时,不仅有较高的生根率和生根数,而且获得较壮的生根苗。

组培苗在瓶外生根后,根长 1.5 cm 可移栽到大田。由于该技术在有菌条件下操作,减少了无菌条件下瓶内

剥取 0.5 mm 大小的茎尖,接种到附加不同浓度 BA、NAA 的 MS 诱导培养基上(见表 1)。结果表明:草莓茎尖的成活与生长都需要 BA 的参与,而对 NAA 并无要求;BA 的最适浓度在 0.2~0.5 mg/L,而 0.5 mg/L 的成活率高。同时,从表 1 还可以看出,BA 浓度过高也会影响茎尖的成活与生长,当 BA 达到或超过 1.0 mg/L 时,成活率明显下降。因此,诱导童子一号草莓茎尖成活与生长的最适培养基为 MS+BA 0.5 mg/L。

2.2 生长调节剂对草莓丛生芽增殖的影响

将诱导出的童子一号草莓健壮苗转接到继代培养基上,培养 30 d 后,调查芽的增殖情况,结果见表 2。结果表明,芽的增殖与茎尖诱导一样,也是受 BA 的促进影响,添加 KT 反而会影响芽的增殖率。在 BA 0.5 mg/L 时,芽的增殖系数为 7.13,添加 KT 0.1 mg/L 时,芽的增殖率下降到了 2.93;当 BA 为 0.2 mg/L 时,芽的增殖系数为 2.40,添加 KT 0.1 mg/L 时,芽的增殖率下降到了 2.20。但添加 KT 或高浓度 BA 有助于苗的长高,出于增殖的目的,最优的增殖培养基为 MS+BA 0.5 mg/L。

表 1 不同浓度的 BA、NAA 对童子一号草莓茎尖成活率的影响

BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	接种芽数	萌发芽数	萌发率 /%	平均苗高 /cm
0.2	0.00	51	32	62.75	1.40
0.2	0.02	48	21	43.75	1.12
0.2	0.05	42	19	45.24	0.90
0.5	0.00	48	33	68.75	1.60
0.5	0.02	51	27	52.94	1.30
0.5	0.05	39	21	53.85	1.15
1.0	0.00	45	15	33.3	0.75
1.0	0.02	36	11	30.56	1.00
1.0	0.05	42	12	28.57	0.95

生根培养基和灯光培养成本,降低成本 75% 以上^[6]。移栽的前 3 d,中午前后盖遮阳网以防止光强过大,3 d 后撤去遮阳网,当棚内温度超过 33℃ 时再加盖遮阳网。移栽 20 d 后观察成活情况。试验表明,由于试管生根苗已具备了发育良好的根,直接移栽缓苗后可以吸收基质中的养分,叶片接收的光强大。移栽的成活率高达 99%,高于瓶内生根的组培苗。

3 讨论与结论

童子一号草莓诱导分化培养基配方为:MS+

BA 0.5 mg/L、继代增殖培养基 MS+BA 0.5 mg/L、组培苗瓶外生根蘸取的最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L。试验中所有培养基均以食用白砂糖代替蔗糖,加入量为 3%,琼脂 0.7%,以自来水代替蒸馏水,大大降低了培养成本。不同学者对草莓茎尖培养基本培养基试验结果的报道有差异,如陈振光认为草莓茎尖培养激素用量宜低,BA 浓度过高,形成的芽丛生长会停滞,成莲座状^[7],这可能与品种有关。在童子一号草莓茎尖诱导过程中,BA 浓度在 0.5 mg/L,不加 NAA 反而效果好。这与董淑英、何欢乐等的研究报道一致^[8,9]。

表 3 不同浓度的 IBA、NAA、IAA 对童子一号草莓生根的影响

	浓度 /mg·L ⁻¹	始生根 天数/d	根数	根长 /cm	根粗 /mm	生根率 /%
IBA	200	8	6	3.26	0.4	94.1
	500	6	8	3.31	0.4	95.4
	800	4	11	3.29	0.5	97.3
	1 000	5	9	3.21	0.5	96.8
IAA	200	9	3	2.81	0.4	92.6
	500	6	5	2.74	0.4	94.3
	800	6	7	2.63	0.5	95.6
	1 000	7	6	2.58	0.5	95.2
NAA	200	11	4	3.29	0.4	93.2
	500	8	4	3.28	0.5	95.4
	800	7	6	3.25	0.5	96.1
	1 000	7	5	3.23	0.5	95.7

在组培苗瓶外生根时,由于剪取的茎段比较幼嫩,适应性差。在环境条件变化极大时,极易受到损伤,若损伤过度,不能正常生根。一般在温度 20~30℃、光强为 4 000~10 000 lx、湿度为 85%~95%时,组培苗生根性状良好^[5]。因此在进行滤纸生根时,要调节好温度,湿度,光强。

参考文献

- [1] 张跃进,朱振林. 大棚草莓配套栽培技术[M]. 上海:上海科学普及出版社,2000.
- [2] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程(修订本)[M]. 甘肃:甘肃科学技术出版社,2002.
- [3] 赵密珍. 草莓[M]. 北京:科学技术文献出版社,2005.
- [4] 高山林. 草莓分生组织培养脱毒技术及其应用[J]. 北方园艺,2000,133(4):34-35.
- [5] 孙仲序,王玉军. 植物组织快繁滤纸桥新技术[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2002,33:257-263.
- [6] 花秀凤,陈铎. 草莓茎尖组培脱毒实用技术探讨[J]. 福建农业科技,2005(6):17-18.
- [7] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [8] 董淑英,李世润. 草莓离体培养产生匍匐茎研究[J]. 北方园艺,1999,126(3):28-29.
- [9] 何欢乐,阳静. 草莓茎尖培养快繁体系研究[J]. 上海交通大学学报,2003(12):61-65.

Rapid Propagation Technique Research of Meristem Culture for Strawberry

XU Qi-hong¹, REN Ping-guo¹, ZHANG Sheng¹, HOU Kai²

(1. Luohe Vocational Technology College, Luohe, Henan 462000, China;

2. Luohe Tianyi Bioengineering Co., Ltd, Luohe, Henan 462000, China)

Abstract: Taking the strawberry variety 'Tongzi 1' as the material, cultivating meristem of the strawberry's stolon, the strawberry induction differentiation culture medium and the generation of multiplication culture medium can be screened under the low cost as follows: MS+BA 0.5 mg/L and MS+BA 0.5 mg/L. The best conditioner density to grow to take root outside the bottle was IBA 800 mg/L, when the temperature was 20~30℃, the luminous intensity was 4 000~10 000 lx, the humidity was 85%~95%, the condition of the cultivating seedling to take root would be good. This non-toxic seedling reproduced by this method could be transplanted and the survival rate would reach 99%, the individual plant's cost will fall 75%.

Key words: Strawberry; Meristem culture; Rapid propagation technique

欢迎订阅《北方园艺》期刊

邮发代号 14-150 单月刊 每册定价 6.00 元 全年 72.00 元