维普资讯 http://www.cqvip.com

·应用技术·

贵州主栽草莓品种的离体快繁技术

乔 光，宋常美，文晓鹏，王国鼎，胡 鹏
(贵州大学，贵州省农业生物工程重点实验室， 贵阳 550025)

High Efficient in Vitro Propagation of Four Strawberry Cultivars

QIAO Guang, SONG Chang-mei, WEN Xiao-peng, WANG Guo-ding, HU Peng

摘要：对4个贵州主栽草莓品种离体快繁体系进行了研究。结果表明，在MS附加0.5 mg/L BA与0.2 mg/L IBA的培养基中4个品种的茎尖外植体萌发率均在80%以上；增殖培养以MS培养基附加0.5～1.0 mg/L BA和0～0.1 mg/L NAA效果最佳，千禧获得的增殖系数大于其它3个品种；在1/2 MS中，组培苗的生根率在95%以上，千禧和章姬平均生根数大于红颊和丰香，平均根长差异不大；生根苗经驯化移栽后成活率均在92%以上。

关键词： 草莓；离体快繁；生长调节物质
中图分类号： S668.4 **文献标志码**： A
文章编号： 1001-4705(2007)05-0102-03

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)是经济价值较高的小浆果。近几年来，随着农业多种经营的发展，人民生活水平的提高，旅游和外贸出口的需要，对草莓的需求量日增。贵州省草莓发展速度较快，栽培面积已达1 300 hm^2[1]，但与国内其他省份相比仍有较大差距。目前省内生产中所用的秧苗主要是来自匍匐茎无性繁殖，基本不使用组培苗[2]。由于长期的无性繁殖，使得多种病毒积累，产量和品质下降，品种严重退化[3]。利用组织培养技术可以在短期内快速大量的繁殖良种苗，促进优良品种的推广，也可有效地控制病毒病蔓

收稿日期：2007-01-26
基金项目：国家自然科学基金(30660115)和贵州省优秀人才省长基金(2005185)资助项目。
作者简介：乔光(1981－)，男，山西晋中市人；在读硕士，主要从事果树生物技术研究。**通讯作者**：文晓鹏，E-mail：xpwen0121@yahoo.com.cn

(接上页)

40～45 d秧龄为宜，旱育秧5叶前移栽最佳。栽足基本苗，增加有效穗是夺高产的基础。一般栽中小苗或大肥田，栽1.25万窝/667 m^2左右；栽多蘖壮秧或肥力中下的稻田，栽1.5万窝/667 m^2左右，每窝栽2谷粒苗，基本苗10万～12万/667 m^2。一般采用26.7 cm×19.98 cm、26.7 cm×16.7 cm或宽窄行栽插，有利于通风透光，提高光合效率。

2.3 配方施肥，重底早追后补

施肥以农家肥为主，氮∶磷∶钾为1∶1∶1，重底、早追、后补。一般两季田施纯氮10～12 kg/667 m^2；冬水田、冬闲田和大肥田施纯氮8～10 kg/667 m^2。施肥方式上，底肥占75%，追肥占20%，平衡肥5%。施磷肥30～35 kg/667 m^2，农家肥2 000 kg/667 m^2，结合耕田作底肥施用。晒田复水后施钾肥15 kg/667 m^2。有条件的可施用水稻专用复合肥。做到配方施肥，以提高产量和米质。一般在栽后7天，及时追肥，促早生快发。到晒田复水后，缺肥的田块，应及时补施平衡肥。

2.4 适时除草晒田，增强抗逆能力

本田追肥后，化学除草和人工除草相结合及时清除杂草；返青后保持浅水或间歇灌溉，促早生快发；当秧苗达到20万/667 m^2时，应及时排水晒田；水源条件好、田间长势旺的田块，应适时早晒、重晒，晒到田边裂缝，小分蘖干枯后，再灌溉复水，可控制无效分蘖，提高抗病虫害和抗倒伏的能力；长势差的田块应适当推迟晒田时间，降低晒田强度。

2.5 加强病虫害防治，搞好后期田间管理

以防为主，除做到种子消毒，带药移栽外，还应根据当地病虫害预测预报抓好螟虫、粘虫、稻苞虫和纹枯病等病虫害的防治。晒田复水后，坚持浅水或间隙灌溉，防止干旱影响幼穗分化，造成减产。若出现高温伏旱应灌深水降温，提高结实率。到蜡熟期适时排水，沙田应适当推迟，大泥田应早排水并理好排水沟，防止后期倒伏。该组合后期转色好，具再生力，不早衰，应在籽粒9～10成黄时及时收割，确保增产增收。

参考文献：

[1]周明镜. 优质高产香型杂交稻新组合宜香707[J]. 杂交水稻，2006，21(2)：90－91.
[2]周明镜. 优质高产香型杂交宜香707的特征特性与生产技术[J]. 杂交水稻，2005，20(6)：15.

维普资讯 http://www.cqvip.com

延。本研究选用新近引进的适合贵州省栽培的4个草莓品种为试验材料,对其离体快繁技术进行了研究,以期对已有的离体快繁体系进行优化,以推动我省草莓的大规模生产。

1 材料与方法

1.1 材 料

供试材料采自贵阳市花溪区,品种分别为红颊(*F. ananassa* Duch 'Hong-jia')、千禧(*F. ananassa* Duch 'Qian-xi')、章姬(*F. ananassa* Duch 'zoji')和丰香(*F. ananassa* Duch 'Toyonoka')。

1.2 方 法

于4月份剪取性状稳定、生长健壮无病虫害的成年植株的匍匐茎茎尖,在流水下冲洗干净,转至超净工作台上用75%的酒精表面灭菌10 s,再用0.1%的升汞溶液灭菌6~8 min,然后用无菌水冲洗4~5次,最后用无菌滤纸吸干表面水分,切掉被药液浸过的部分,将外植体切成2 cm左右大小,接种在MS+0.5 mg/L BA+0.2 mg/L IBA培养基中诱导萌发,然后转入增殖培养基中继代增殖。增殖培养基共设置12个处理(表1)。将生长良好的增殖苗转入生根培养基中诱导生根,生根培养基设置4个处理:Ⅰ MS,Ⅱ 1/2 MS,Ⅲ 1/2 MS + 0.1 mg/L NAA,Ⅳ 1/2 MS + 0.1 mg/L IBA。以上每处理均接种6株,重复5次。将生长势基本一致的生根苗移栽于过渡基质(腐质土:蛭石=5:1)中炼苗10~15 d,随后定植于大田。

生根培养基附加20 g/L蔗糖,其余供试培养基附加30 g/L蔗糖。所有培养基均附加7 g/L琼脂,pH 6.0,并经高压灭菌。培养条件为温度(25±2)℃,光照强度33 μmol/(m² · s),光周期12 h/d。

所有处理均在30 d后进行数据统计,污染率以污染株数与接种外植体株数的比值表示,萌芽率以萌芽株数与接种外植体株数的比值表示,增殖系数以萌发的腋芽数与原接种外植体数的比值表示,数据分析采用DPS数据分析软件进行。

2 结果与分析

2.1 无菌系试管苗的建立

获得无菌材料是建立无菌系的前提,消除外植体上的杂菌是离体培养的重要环节。草莓匍匐茎茎尖用0.1%升汞溶液灭菌效果良好,4个品种的污染率无显著差异,章姬最高达8.3%,千禧和丰香均为6.7%,红颊最低为5.0%。外植体在接种后10~15 d便陆续萌发(图1 A),4个品种的萌发率无显著差异,其中红颊最高达91.7%,其次为千禧85.0%,章姬83.0%,丰香最低为81.7%。

图1 草莓组培苗的培育程序

注:A.外植体的萌发;B.试管苗的增殖;C.试管苗的生根;D.试管苗的移栽。

表1 激素对试管苗增殖的影响

处理号	生长调节物质PGRs		增殖系数			
	BA	NAA	红颊	千禧	章姬	丰香
1	0.1	0	1.4±0.1 c	1.7±0.3 d	1.3±0.2 c	1.7±0.1 c
2	0.1	0.1	1.4±0.2 c	1.3±0.2 de	1.3±0.2 c	1.3±0.1 d
3	0.1	0.5	1.0±0.0 d	1.1±0.1 de	1.0±0.0 d	1.0±0.0 d
4	0.5	0	2.5±0.8 b	3.0±0.4 bc	2.7±0.1 b	2.8±0.3 ab
5	0.5	0.1	2.9±0.4 a	3.3±0.6 ab	2.7±0.2 b	2.7±0.4 ab
6	0.5	0.5	1.0±0.0 d	1.2±0.1 de	1.0±0.0 d	1.0±0.0 d
7	1.0	0	2.7±0.1 a	3.3±0.4 ab	2.8±0.3 ab	2.9±0.2 a
8	1.0	0.1	2.8±0.1 a	3.6±0.6 a	2.7±0.1 ab	2.7±0.1 ab
9	1.0	0.5	1.0±0.0 d	1.0±0.0 e	1.0±0.0 d	1.0±0.0 d
10	2.0	0	2.7±0.1 a	2.4±0.3 c	2.8±0.3 a	2.5±0.2 b
11	2.0	0.1	2.6±0.2 a	2.5±0.1 c	2.6±0.2 b	2.6±0.2 ab
12	2.0	0.5	1.0±0.0 d	1.0±0.0 e	1.0±0.0 d	1.0±0.0 d

注:同列内相同字母表示经邓肯氏多重极差检验在0.05水平上差异不显著。

2.2 试管苗的增殖

生长调节物质对试管苗的增殖有重要影响。由表1可见,草莓茎尖在不同培养基中增殖效果存在显著差异,试管苗在处理1和处理2(见表1,下同)中生长良好但有根产生,一定程度上抑制了植株的增殖;在处理4、5、7和处理8中,试管苗生长健壮,增殖系数较大,增殖苗质量较高(图1 B),其中红颊在处理5中增殖系数最高达2.9±0.4,千禧在处理8中的增殖系数最高达3.6±0.6,章姬和丰香在处理7中的增殖系数最高分别为2.8±0.3和2.9±0.2;在处理10和处理11中试管苗虽然有较高的增殖系数,但增殖苗多为小芽丛,生长势较弱,不利于后续培养;在处理3、6、9和

维普资讯 http://www.cqvip.com

处理12中由于生长素浓度过高试管苗生长明显受到抑制,植株基部产生大量白色疏松愈伤组织,几乎无增殖。因此,适合草莓试管苗增殖的生长调节物质使用范围是0.5~1.0 mg/L BA和0~0.1 mg/L NAA,4个品种表现基本一致,千禧增殖效果略优于其它3个品种。

2.3 试管苗的生根

草莓试管苗较易生根,在生根培养基中培养7 d左右陆续有乳白色根产生,14 d左右根大量发生,长度可达2~3 cm(图1 C)。在供试的4个处理中,4个品种的试管苗生根率均在95%以上,在处理2、4中,试管苗平均生根数与平均根长略大于处理1、3,千禧和章姬平均生根数大于红颊和丰香,4个品种的平均根长相差不大(图2)。可见,1/2 MS和1/2 MS+0.1 mg/L IBA较适合试管苗生根,考虑到对生产成本的控制,因此选用1/2 MS作为最佳生根培养基。

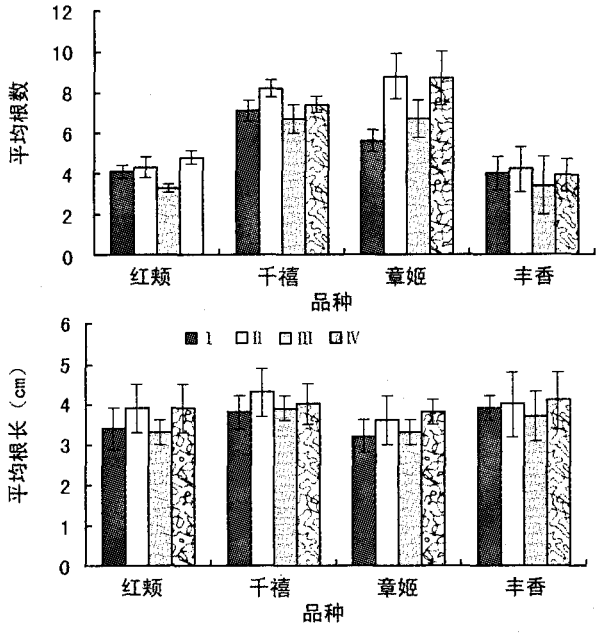

图2 不同处理对试管苗生根的影响

注:1,2,3,4号培养基的含义见"材料和方法"。

2.4 试管苗的移栽

选取生长势基本一致的试管生根苗,洗掉附着在根上的培养基,然后移栽到已灭菌的基质中,置于能充分保湿的温室中培养。生根苗移栽10 d后即恢复生长,开始抽生新叶,15 d后植株呈现较强的生长势(图1 D),随之将植株带土移入大田中试种,4个品种成活率均在92%以上。进行常规的土、肥、水的管理,当年即可开花结果。

3 讨 论

本试验通过对无菌材料的获得,最佳增殖和生根培养基的筛选,高成活率移栽技术等问题的研究,优化了贵州主栽草莓品种的高频离体快繁体系。相关研究表明,满足工厂化育苗要求的草莓试管苗最低标准是苗高4 cm,叶数为4,根长0.9 cm,初生根5条[4]。利用本研究优化的快繁体系所生产的秧苗基本符合这一标准,且在大田试栽中表现良好。

草莓匍匐茎茎尖具有年幼的组织,生长速度快,所带杂菌少,以其作为外植体利于无菌系的建立。无菌系建立后,增殖系数的大小直接影响快繁体系的优劣,可见增殖阶段是建立高效离体快繁体系的关键。植物离体快繁中影响增殖的因子很多[3],其中培养基中附加的生长调节物质种类及浓度的影响最大,它对不定芽的发生频率,腋芽的萌发情况及生长势起决定作用。本研究中,草莓试管苗在附加0.5~1.0 mg/L BA和0~0.1 mg/L NAA的培养基中获得了较好的增殖效果,与前人的报道基本一致[5-7]。

植物组织在培养过程中,常常会发生体细胞无性系变异[8]。草莓组培苗的遗传稳定性对于保持原有品种的优良性状非常重要[9]。草莓快繁的器官形成方式属于丛生芽发生型[3],不经过愈伤组织,能使无性系后代保持原品种的特性,但并不意味着绝对不会发生遗传变异。对这些品种组培苗遗传稳定性的检测及如何保持遗传稳定性是今后工作的重点。

参考文献:

[1]中国农业统计资料.2004年全国各地西瓜、甜瓜、草莓、大棚瓜菜播种面积和产量[J].中国蔬菜,2006,(2):42.

[2]钟需霖,王天文,乔荣.贵州草莓生产及发展对策[J].贵州农业科学,2002,30(6):64-65.

[3]王蒂.植物组织培养[M].北京:中国农业出版社,2004,211-212.

[4]顾虹.草莓组培苗标准化研究[J].安徽农学通报,2003,9(5):53.

[5]许淑琼.草莓脱毒苗组培快繁技术研究[J].中国南方果树,2002,31(2):42-41.

[6]李慧.草莓优新品种的组织培养[J].中国蔬菜,2003,(6):23-24.

[7]邓成军,于卓,张少华.章姬草莓的脱毒及组培快繁技术[J].内蒙古农业大学学报,2003,24(2):79-82.

[8]单春华,邢如义.组织培养条件下草莓染色体数变异[J].农机化研究,2002,(1):106-107.

[9]HAO Y J,DENG X X. Cytological and molecular evaluation of strawberry plants recovered from in vitro conservation by slow-growth[J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology,2005,80(5):588-592.