

童子 1 号草莓茎尖分化最优培养基筛选研究

赵海红

(黑龙江省农业科学院 佳木斯分院,黑龙江 佳木斯 154007)

摘要:以童子 1 号草莓茎尖为外植体,以 6-苄基腺嘌呤、吲哚丁酸、 α -萘乙酸和蔗糖作为主要因素,通过正交设计的方法,对影响草莓茎尖分化的主要因素进行了研究。结果表明:童子 1 号草莓茎尖分化最适宜的培养基为 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+IAA 1.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 8 g·L⁻¹,在此条件下草莓茎尖成苗率可达到 76.67%。

关键词:草莓;茎尖;正交设计

中图分类号:S668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2010)06-0013-03

童子 1 号草莓,系荷兰品种,株型中等^[1],生长势强、休眠浅、花芽分化比较容易,开花结果期长,果实大而整齐,色泽艳丽,平均单果重 50 g,最大果重 154 g^[2],果实硬度大,极耐贮藏。果香浓郁味甜微酸,风味和口感极佳^[1]。目前仍然是较理想的鲜食加工兼用型品种,有广阔市场前景。

近年来,草莓的组培研究颇多,多数集中在花药、茎尖、匍匐茎和叶柄培养上^[3-8],但能真正解决病毒病难题的只有花药和茎尖培养,而花药培养受花期限制,给试验研究带来很多不便。因此,茎尖培养现在很受欢迎。该试验使用正交设计的方法研究以 MS 为基本培养基时激素和蔗糖对草莓茎尖培养的影响,以期筛选出最佳培养基配方,为生产实践提供参考依据。

收稿日期:2010-03-14
作者简介:赵海红(1981-),女,黑龙江省五常市人,硕士,研究实习生,主要从事园艺方面的研究。E-mail: haihong51job@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料

从温室中经过重点培养的草莓植株上剪取无病虫害的茎尖作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 培养基配制 取 4 个因素:6-苄基腺嘌呤(6-BA), α -萘乙酸(NAA),吲哚乙酸(IAA)和蔗糖,每个因素的浓度设 3 个位级,套用 L9(3⁴)正交表(见表 1),共有 9 个处理组合。

以通过正交设计位级组合得到的培养基配方作为第一种培养基,把从正交试验结果中直接选出成苗率最高的培养基配方作为第二种培养基,将从正交设计趋势图中估出的培养基配方作为第三种培养基。每个处理重复 3 次,每次重复接种 10 个茎尖。比较不同激素配比对草莓茎尖分生组织分化成苗率的差异,即对不同培养基诱导茎尖分化成苗率进行统计。

Research on Strong Seedlings Culture of Potato Tissue Culture Seedlings

SHI Xiao-yun, WANG Seng-hu

(Biology and Chemistry Department of Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001)

Abstract: The optimal mediums were studied for strong seedlings culture of potato tissue culture seedlings. The results were as follows: propagation mediums were MS+1.00 mg·L⁻¹ BA+0.20 mg·L⁻¹ NAA and MS+2.00 mg·L⁻¹ BA+0.20 mg·L⁻¹ NAA. Strong seedlings mediums were 1/3 MS+0.05 mg·L⁻¹ NAA and 1/2 MS+0.05 mg·L⁻¹ NAA+2.50 g·L⁻¹ PVA, to subculture twice. Rooting medium was 1/2 MS+0.20 mg·L⁻¹ NAA. The rate of survival was 98%.

Key words: potato; tissue culture seedling; strong seedlings

表 1 童子 1 号草莓茎尖培养正交设计试验

处理	6-BA /mg · L ⁻¹	IAA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	蔗糖 /g · L ⁻¹
1	0.1	0.5	0.05	20
2	0.1	1.0	0.10	30
3	0.1	1.5	0.20	40
4	0.5	0.5	0.10	40
5	0.5	1.0	0.20	20
6	0.5	1.5	0.05	30
7	1.0	0.5	0.20	30
8	1.0	1.0	0.05	40
9	1.0	1.5	0.10	20

1.2.2 外植体材料的处理 剪取茎尖长度为 3 cm 左右,先用流水冲洗 1 h,除去尘土,然后用洗涤剂水溶液洗去材料表面的油质,再用水将洗涤剂冲洗干净,用 70%酒精浸泡 10 s 后,用 3%次氯酸钠溶液浸泡消毒 20 min,用无菌水冲洗 3 次,在超净工作台上,应在解剖镜下剥去茎尖外面的幼叶,切取茎尖,茎尖切取的长度为 0.2 mm 左右,接种到培养基上。待茎尖分生组织膨大发绿后转到与原配方相同的培养基中继续培养,每 20 d 继代 1 次,观察茎尖的生长表现,70 d 时统计成苗率。

1.2.3 培养条件 培养温度为 22~25℃,湿度为 70%~80%,光照强度 3 000 lx,光照时间 18 h。

2 结果与分析

2.1 正交试验结果

根据正交设计法^[9],某因子不同水平的极差

表 2 童子 1 号草莓茎尖培养正交设计试验结果比较

处理	6-BA/mg · L ⁻¹	IAA/mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	蔗糖 /g · L ⁻¹	接种数/个	成苗数/个	成苗率/%
1	0.1	0.5	0.05	20	30	13	43.33
2	0.1	1.0	0.10	30	25	14	56.00
3	0.1	1.5	0.20	40	29	11	37.93
4	0.5	0.5	0.10	40	20	7	35.00
5	0.5	1.0	0.20	20	25	13	52.00
6	0.5	1.5	0.05	30	27	16	59.26
7	1.0	0.5	0.20	30	30	11	36.67
8	1.0	1.0	0.05	40	28	14	50.00
9	1.0	1.5	0.10	20	22	10	45.45
I	137.26	115.00	152.59	140.78			T= 415.64
II	146.26	158.00	136.45	151.93			ū=46.18
III	123.12	142.64	126.6	122.93			
R	14.14	43.00	25.99	29.00			

R 越大,表示该因子对试验指标的影响越大,为主要因子;反之,则为次要因子。根据各位级的成苗率之和确定该因素的最好水平。从正交试验的结果(见表 2)可以看出,IAA 浓度变化对马铃薯茎尖的生长影响最大,为主要因子;其次是蔗糖含量,NAA 和 6-BA 浓度。IAA 各水平的成苗率之和分别是 115.00、158.00、142.64,所以第二个水平 1.0 mg · L⁻¹为最好。同样的方法可以得出蔗糖、NAA 和 6-BA 的最好水平为:30 g · L⁻¹、0.05 mg · L⁻¹和 0.5 mg · L⁻¹。这样就得到最好水平培养基配方,作为培养基(1)MS+6-BA 0.5 mg · L⁻¹+ IAA 1.0 mg · L⁻¹+ NAA 0.05 mg · L⁻¹+蔗糖 30 g · L⁻¹+琼脂 8 g · L⁻¹。从表 2 中直接看出来的成苗率最高的培养基配方是 MS+6-BA 0.5 mg · L⁻¹+IAA 1.5 mg · L⁻¹+NAA 0.05 mg · L⁻¹+蔗糖 30 g · L⁻¹+琼脂 8 g · L⁻¹,作为培养基(2)。

2.2 正交趋势图分析

通过趋势图(见图 1)可以看出,6-BA、IAA 与蔗糖在一定的范围内的浓度越高越有利于茎尖的成活,但当浓度高于一定值时茎尖成活率便下降,所以 6-BA 的最适浓度为 0.5 mg · L⁻¹;IAA 的最适浓度为 1.0 mg · L⁻¹;蔗糖的最适浓度为 30 g · L⁻¹;随着 NAA 浓度的下降,茎尖成活率明显增加,所以推断培养基中不添加 NAA 成苗率会更高。由此估计出成苗率最高的配方为 MS+6-BA 0.5 mg · L⁻¹+IAA 1.0 mg · L⁻¹+蔗糖 30 g · L⁻¹+琼脂 8 g · L⁻¹,作为培养基(3)。

注:Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ分别表示该因素第 1、第 2 和第 3 位级所在行的成苗率之和。R 表示极差,即同一因素中不同位级之间的差异。

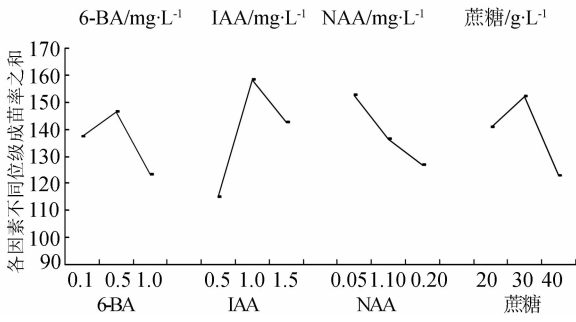


图 1 不同因素水平与成苗率的关系

2.3 正交试验的验证

通过正交设计,可以得到 3 种培养基配方,利用这 3 种培养基,使用草莓茎尖进行验证试验(见图 2)。

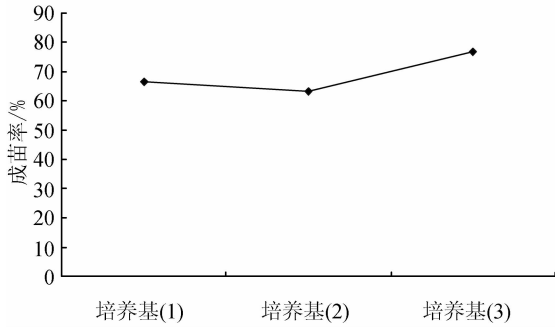


图 2 验证试验结果

由图 2 可以看出,在 3 种培养基上各个品种都有一定的成苗率,其中在培养基(3)上童子 1 号草莓茎尖的成苗率最高,为 76.67%,所以培养基(3)为筛选的最佳培养基。

3 结论与讨论

以 MS 为基本培养基,研究了不同激素对童子 1 号草莓茎尖分生组织培养的影响,通过正交试验筛选出了最适宜的培养基配方 MS+6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + IAA 1.0 mg · L⁻¹ + 蔗糖

30 g · L⁻¹ + 琼脂 8 g · L⁻¹,其最高成苗率可以达到 76.67%。

培养基中的激素种类和浓度是影响茎尖分生组织成苗和形成愈伤组织的主要因素,适宜浓度的激素配比是诱导茎尖分化成苗的关键。正交设计的统计方法可以把多个因素搭配在一起,同时考虑单个因素和多个因素的交互作用,最终筛选出符合试验目的的激素配比方案。

在离体培养条件下,不同植物由于其各自的遗传特性、生物学特性都不一样,因此植物组织生长的营养要求会随植物种类而变化,甚至同一植物不同部位的组织以及同一部位组织的不同生长阶段对营养的要求也不同,只有满足了它们各自的要求,才能正常生长,因而选择适宜的培养基对植物组织培养尤为重要。

参考文献:

- [1] 张长俊,梁安会,孙文耕. 童子 1 号草莓日光温室栽培[J]. 林业实用技术,2005(3):32-33.
- [2] 张喜焕. 设施条件下童子 1 号草莓果实发育过程中营养物质变化动态研究[J]. 安徽农学通报,2007,13(14):118.
- [3] 李金凤,糜林,张计育,等. 草莓茎尖离体快繁体系研究[J]. 江西农业学报,2009,21(6):46-47.
- [4] 郑晓峰. 草莓组培育苗外植体的选择及茎尖组培快繁技术[J]. 中国南方果树,2008,37(6):58-60.
- [5] 陈刚,薄秀娟,建德锋. 草莓的组培生产技术[J]. 吉林蔬菜,2009(4):15.
- [6] 张玉君,彭兴龙,张哲民,等. 草莓组织培养与脱毒技术[J]. 河南林业科技,2009,29(1):73-75.
- [7] 张希太,宋九英,谢淑芹,等. 草莓叶柄托叶外植体快速繁殖的研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2009,29(1):23-26.
- [8] 张敏,孙红绪,王群艺. 法兰地草莓花药培养技术研究[J]. 北方园艺,2009(4):83-84.
- [9] 中国现场统计研究会农业优化组. 农业正交设计法[M]. 北京:冶金工业出版社,1994.

Screening of Optimum Medium on Tip Culture of Strawberry Tongzi No. 1

ZHAO Hai-hong

(Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract: Using stem tip as explants, 6-BA, IAA, NAA and cane sugar as major factors, by orthogonal way combination formula, the main influential factors of stem tip differentiation of strawberry were researched. The results showed that the optimal medium of tip culture was MS+6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + IAA 1.0 mg · L⁻¹ + cane sugar 30 g · L⁻¹ + agar 8 g · L⁻¹. Under these conditions, the seedling ratio could reach 76.67%.

Key words: strawberry; stem tip; orthogonal design