

草莓花药培养中诱导不定芽情况研究

刘建军¹, 周金梅²

(1. 吉林省九台市西营城街道办事处农业技术推广站, 吉林 九台 130524; 2. 吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

摘要:采用花药培养方法快速繁殖草莓苗。在诱导不定芽阶段中以 MS 为基本培养基, 添加不同的激素配比进行对比。结果表明: 生长素 NAA 对形成愈伤组织有主导作用, 添加量以 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较为合适, KT 对促进芽分化起到主导作用, 以 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为好。

关键词:培养基; 激素配比; 花药; 草莓

中图分类号: S668.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2011)11-0013-02

草莓(*Fragaria × ananassa*), 又名凤梨草莓、红莓、洋莓, 蔷薇科草莓属, 原产于南美洲, 我国是在 20 世纪初才引进的。草莓品种繁多, 有 2 000 多个品种, 果实鲜红美艳, 柔软多汁, 甘酸宜人, 芳香馥郁。草莓营养丰富, 富含多种有效成分, 是人体必需的纤维素、铁、钾、维生素 C 和黄酮类等成分的重要来源, 草莓还有较高的药用和医疗价值, 一直以来是大家非常喜爱的一种水果^[1]。随着大棚技术的发展, 反季节栽培也非常普遍, 但草莓传统的分株繁殖方法繁殖系数较低, 随着离体培养技术的发展, 采用花药离体培养技术, 不仅能保持品种的优良性状, 获得无病毒植株, 而且大大提高繁殖系数, 现主要针对草莓花药培养中诱导不定芽情况进行研究^[2]。

1 材料与方 法

1.1 材 料

2010 年 5~8 月, 采用花粉发育至单核靠边期的花药进行试验。检查花粉发育时期的方法是, 从田间采集花蕾数个, 从每花蕾取花药 1~2 枚置载玻片上, 加醋酸洋红 1~2 滴, 用玻棒头或镊子的一头压碎花药, 剔除碎片, 加盖玻片镜检。观察几个视野, 若多数花粉细胞只有一个核, 并被挤向一侧, 即为单核靠边期, 表明此花药适于用作外植体。记录其花蕾的大小、色泽和花瓣松动程度等, 作为田间取样的标准。花粉单核靠边期的草莓花蕾形态是: 未开放, 花萼略长于花冠或花冠刚露白, 花冠白色或淡绿且不松动, 花药微黄而充实^[3-4]。

1.2 方 法

1.2.1 基本培养基及添加成分 基本培养基均采用 MS, 细胞分裂素采用 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 6-BA, 附加 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 LH, 琼脂用量为 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖

用量为 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 调整为 5.8, 主要在生长素的用量上加以变化。

愈伤组织诱导培养基为 5 个配比, 分别记作: J1: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; J2: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; J3: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; J4: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; J5: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

芽诱导培养基为 4 个配比, 分别为 Y1: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Y2: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Y3: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; Y4: MS+6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +LH $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2.2 材料处理 (1)接种: 从田间采集的花蕾, 用湿润纱布包好放塑料袋中, 扎好袋口, 置于 4°C 左右冷藏箱中放置 24~48 h。接种前将花蕾置于高压灭菌的广口瓶中, 用 70%乙醇浸泡 30 s, 再用 0.1%HgCl₂ 浸泡消毒 7~8 min, 倾出 HgCl₂, 用无菌水洗涤 4~5 次。接种时在超净工作台上用长柄镊子刺破花蕾外壳, 取出花药放入消过毒垫有滤纸的培养皿中, 用接种环粘取花药转入愈伤组织诱导培养基上, 均匀摆放在培养基表面^[5]。(2)芽诱导: 花药接种 15~20 d 后开始发生愈伤组织。待愈伤组织长至 4 mm 大小, 在超净工作台内即可转入 4 种芽诱导培养基上, 陆续会分化出不定芽。

1.2.3 培养条件 培养室温度 28°C 左右, 光强 $2\ 000 \text{ lx}$, 每日光照 14 h。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导分析

花药在愈伤组织诱导培养基上从第 15 天开始发生愈伤组织, 统计愈伤组织出现时间及愈伤组织诱导率(见表 1)。

收稿日期: 2011-07-28

第一作者简介: 刘建军(1976-), 男, 吉林省九台市人, 学士, 农艺师, 从事植物栽培与管理研究。E-mail: 82642444@qq.com。

表1 5种培养基上愈伤组织诱导情况

诱导培养基	愈伤组织出现时间/d	愈伤组织诱导率/%
J1	17	88
J2	16	92
J3	16	86
J4	15	82
J5	15	75

从表1可知,5种培养基都可以诱导出愈伤组织,随着NAA浓度的降低出现愈伤组织的时间也愈晚,另愈伤组织诱导率也逐渐减少,说明高浓度的NAA不适合诱导愈伤组织,但比较低浓度的J1和J2,J1出现的时间较J2晚,但诱导率低于J2,可见NAA浓度在 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 较为合适。

2.2 芽诱导情况

挑选诱导良好的愈伤组织,切块后转入4种芽诱导培养基上,观察芽诱导情况,统计不同培养基上芽诱导情况以及诱导出芽的生长状况。

2.2.1 不同培养基芽分化系数 在不同芽诱导培养基上都有不定芽分化,但不同的配方中芽诱导情况不同,分化率见图1(分化率=诱导分化出不定芽瓶数/转瓶总瓶数,转瓶总瓶数计算不包括转瓶后污染瓶数)。

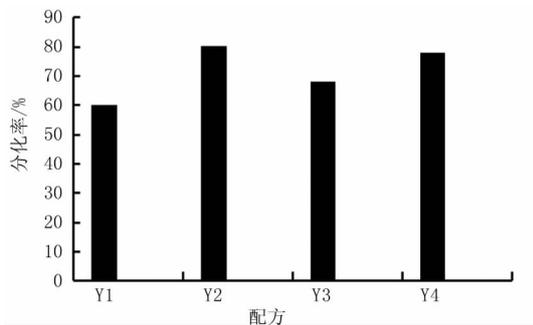


图1 不同培养基的芽分化率

从图1可知,培养基Y2芽分化率达80%,其次为Y4,达到78%,Y1、Y3相对较低,可见KT细胞分裂素的用量对于不定芽的分化有调节作用,比较而言用量在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 分化率较高。

2.2.2 已分化培养基上芽分化情况 由图1可知在4种培养基上都有不定芽的分化,但形成不定芽数量有一定差距,此外分化速度也不尽相同。

表2 不同培养基芽分化情况

培养基	转瓶瓶数	成活瓶数	分化不定芽瓶数	最早形成芽的时间/d	平均芽数/个·瓶 ⁻¹
Y1	80	80	48	12	3.0
Y2	80	80	64	12	5.8
Y3	80	76	52	15	3.4
Y4	80	72	56	17	4.2

由表2可知,Y1、Y2形成不定芽的时间比较早,Y3、Y4比较晚,说明KT的用量增加影响到芽形成的时间。从分化出的平均芽数来看,Y2平均芽数最多,为5.8个,其次Y4为4.2个,说明Y2、Y4分化不定芽效果较好,和图1的分化率相吻合,但比较Y2、Y4,相对Y2配方为好。

3 结论

从草莓花药离体培养诱导不定芽的环节来看,生长素NAA对愈伤组织诱导有主导作用,添加量以 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 较为合适,KT对不定芽诱导起主导作用,添加量以 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为好。可得出草莓花药培养的培养方案:选用草莓单核靠边期的花药转入J2:MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +LH100 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上,诱导出愈伤组织,然后将愈伤组织切块转入Y2:MS+6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +LH100 $\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基上,分化出多数量的不定芽,然后利用这些不定芽进一步扩繁、生根,进而形成草莓再生植株。

参考文献:

- [1] 王玮玮,李桂祥,仲秀娟,等.草莓组培脱毒技术及其在生产上的应用[J].现代农业科技,2008(10):35.
- [2] 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(1):74-75.
- [3] 陈刚,薄秀娟,建德锋.草莓的组培快繁技术[J].吉林蔬菜,2009(6):45-46.
- [4] 查中萍.草莓花药培养作为脱毒途径的可行性研究[D].武汉:华中农业大学,2003.
- [5] 廖俊杰,李艳,李英慧.工厂化生产草莓组培苗降低成本的几项措施[J].北京农业,2006(01):46.

Study on the Inducing Adventitious Buds in Anther Culture of *Fragaria* × *ananassa* *in vitro*

LIU Jian-jun¹, ZHOU Jin-mei²

(1. Jiutai City Xiying Street Office Agricultural Technology Extension Station in Jilin Province, Jiutai, Jilin 130524; 2. Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jilin 132101)

Abstract: The method of anther culture *in vitro* was used to reproduce *Fragaria* × *ananassa* seedlings rapidly. In the stage of inducing adventitious buds, taken MS as basic medium, adding different hormone combination were compared. The results showed that NAA had leading role in callus becoming, and $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA added amount was more appropriate; KT had leading role in promoting bud differentiation, $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA added amount was more appropriate.

Key words: medium; hormone combination; anther; *Fragaria* × *ananassa*