

王玮玮,汪国莲,孙玉东,等. 不同浓度激素、活性炭对红颜草莓茎尖组培的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):46-48.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.014

不同浓度激素、活性炭对红颜草莓茎尖组培的影响

王玮玮,汪国莲,孙玉东,谢忠谊,仲秀娟,赵建锋

(江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所/江苏省淮安市设施蔬菜重点实验室,江苏淮安 223001)

摘要:研究不同浓度 6-BA、KT、GA₃、活性炭对红颜草莓茎尖组培的影响。结果表明:6-BA 主要影响红颜草莓茎尖增殖,KT、GA₃、活性炭影响其生长;适宜红颜草莓茎尖诱导的培养基配方为 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L GA₃+0.1 mg/L KT+0.2 mg/L IBA+1.0 g/L 活性炭,增殖培养基配方为 MS+1.0~1.5 mg/L 6-BA+0~0.1 mg/L GA₃+0.1 mg/L KT+0.2 mg/L IBA+1.0~1.5 g/L 活性炭,可根据瓶苗具体长势进行微调。

关键词:草莓;激素;活性炭;茎尖;组培

中图分类号: S668.404⁺.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0046-03

红颜草莓别称红脸颊、日本 99 号,是从日本引进的大果型草莓新品种^[1],也是 2012 年世界草莓大会推荐的主栽品种。红颜草莓生长势强,果个大,浓香,长圆锥形,糖度高,硬度大,耐贮运。近年来红颜草莓在江苏省淮安地区得到广泛推广,获得众多农户好评,逐渐发展成为当地主栽品种之一。但红颜草莓育苗不易,扩繁系数及移栽成活率普遍不高,茎尖萌发率低且脱毒效果差,污染及玻璃化问题严重,给生产造成

了较大损失。本研究分析了不同浓度 6-BA、KT、GA₃、活性炭对红颜草莓茎尖组培的影响,以期为进一步发展红颜草莓脱毒快繁技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取健壮、无病虫害的脱毒红颜草莓新生匍匐茎作为试验材料。

1.2 培养基

以 MS 为基本培养基,添加 7~8 g/L 琼脂、30 g/L 蔗糖,同时添加 6-BA 促进增殖,添加 IBA 促进生根,添加 GA₃、KT、活性炭促进生长。

1.3 试验设计

参考国内红颜草莓组培的相关资料^[2],设计 MS+

收稿日期:2014-08-26

基金项目:江苏省淮安市科技局项目(编号:HC201316-7)。

作者简介:王玮玮(1982—),男,江苏淮安人,助理研究员,主要从事园艺植物组织培养与蔬菜栽培技术研究。E-mail:88079385@qq.com。

通信作者:汪国莲,硕士,副研究员,主要从事园艺植物组培技术与食用菌栽培技术研究。E-mail:hynkskyc@163.com。

2.3 不同激素浓度对兔眼蓝莓不同品种萌发率的影响

由表 3 可知,不同品种在不同激素配比下,萌发率差异较大,顶峰在较低浓度下(1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L ZT)萌发率最高,达到 91%,而园蓝、灿烂在这一浓度配比下萌发率为 0。综合比较供试 5 个品种萌发率,发现 1.0 mg/L 6-BA 和 1.5 mg/L ZT 配比下不同品种兔眼蓝莓都有萌发且萌发率较高。因此,选择 WPM+1.0 mg/L 6-BA+1.5 mg/L ZT 培养基作为兔眼蓝莓启动培养的优化培养基。

表 3 不同激素浓度对兔眼蓝莓不同品种萌发率的影响

6-BA (mg/L)	ZT (mg/L)	萌发率(%)				
		顶峰	梯夫蓝	园蓝	灿烂	粉蓝
1.0	0.5	91	57	0	0	46
1.0	1.0	0	59	0	0	42
1.0	1.5	56	51	84	43	49
2.0	1.0	0	47	0	42	0
2.0	2.0	43	48	0	54	0
2.0	3.0	49	0	45	0	0
3.0	1.5	0	0	48	0	82
3.0	3.0	0	59	52	40	46
3.0	4.5	0	46	58	0	0

3 小结

本试验对南京地区主栽兔眼蓝莓组培外植体启动培养进行了研究,灿烂、梯夫蓝、顶峰是适宜鲜食品种,园蓝和粉蓝是适于加工的品种^[4]。优化了 WPM 基础培养基的适合硬度的琼脂含量和酸度,WPM 培养基的琼脂浓度在 12 mg/L,加压灭菌前调整 pH 值为 6.5,可获得适于蓝莓培养的培养基硬度和酸度。新发枝条的后端粗茎段的萌发率可以达到 95%,接种 50 d 后大多成小植株;筛选出适合外植体萌发的激素配比培养基 WPM+1.0 mg/L 6-BA+1.5 mg/L ZT,不同品种兔眼系列蓝莓灿烂、粉蓝、顶峰、梯夫蓝、园蓝萌发率较高。

参考文献:

[1]李亚东. 蓝莓优质丰产栽培技术[M]. 北京:中国三峡出版社,2007.
[2]黄国辉,姚平. 蓝莓组培苗瓶外生根的研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(4):227-228.
[3]王淑珍,来文国,周历萍,等. 南高丛蓝莓组培再生技术研究[J]. 现代农业科技,2011(21):119-120.
[4]聂飞,文光琴,方品武. 5 个兔眼蓝莓品种在黔中地区的表现及栽培评价[J]. 江苏农业科学,2012,40(8):126-128.

0.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L GA₃ + 0.1 mg/L KT + 0.2 mg/L IBA + 1.0 g/L 活性炭为诱导培养基,在解剖镜下切取不同大小的茎尖进行诱导试验,其大小分别为 <0.5、0.5~1.0、1.0、1.5、2.0 mm,分析茎尖大小对其诱导的影响。

以 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L GA₃ + 0.1 mg/L KT + 0.2 mg/L IBA 配方为基础,将活性炭浓度分别调为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 g/L,切取相同大小的茎尖进行诱导,分析不同浓度活性炭对其诱导的影响。

以 MS + 0.1 mg/L GA₃ + 0.1 mg/L KT + 0.2 mg/L IBA 配方为基础,添加相同浓度的活性炭,将 6-BA 浓度分别调为 0.5、0.8、1.0、1.5、2.0 mg/L,分析不同浓度 6-BA 对其增殖的影响。

以 MS + 0.2 mg/L IBA 配方为基础,添加相同浓度的 6-BA、活性炭,同时调节 GA₃、KT 浓度,使两者浓度保持一致,分别为 0、0.05、0.10、0.15、0.20 mg/L,分析不同浓度 GA₃、KT 对其增殖的影响。

以 MS + 0.2 mg/L IBA 配方为基础,添加相同浓度的 6-BA、GA₃、KT,将活性炭浓度分别调为 0、0.5、1.0、1.5、2.0 g/L,分析不同浓度活性炭对其增殖的影响。

1.4 试验方法

将 1 L 诱导培养基分装为 30 瓶,接种后置于恒温培养箱中培养,培养条件:温度 25 ℃、湿度 80%、光照度 1 800 ~ 2 000 lx、每天光照 10 h,每隔 5 d 观察并记录茎尖诱导情况。

表 1 茎尖大小对红颜草莓诱导的影响

茎尖大小 (mm)	接种数 (个)	褐变	生命力	成活率 (%)	污染率 (%)	成苗率 (%)	增殖系数	株高 (cm)
<0.5	100	严重	极弱	11	2	3	1.00	0.83
0.5~1.0	100	略重	较弱	27	3	11	1.27	1.22
1.0	100	一般	弱	32	6	20	1.35	1.56
1.5	100	轻微	强	47	10	32	1.09	1.91
2.0	100	轻微	强	68	12	40	1.05	2.13

2.1.2 活性炭浓度对红颜草莓诱导的影响 由表 2 可见,红颜草莓茎尖诱导时,随着活性炭浓度增大,有利于减轻红颜草莓褐变程度,提高生长点生命力,促进愈伤形成,对成苗率有较大影响。活性炭浓度为 0~0.5 g/L 时,减轻生长点褐变作

表 2 活性炭浓度对红颜草莓诱导的影响

活性炭浓度 (g/L)	接种数 (个)	褐变	生命力	成活率 (%)	污染率 (%)	成苗率 (%)	增殖系数	株高 (cm)
0	100	较重	较弱	22	6	15	1.13	1.41
0.5	100	略重	较弱	25	4	17	1.17	1.49
1.0	100	一般	弱	31	5	22	1.26	1.68
1.5	100	一般	弱	33	7	20	1.19	1.73
2.0	100	一般	弱	30	6	19	1.3	1.61

2.2 增殖试验

红颜草莓茎尖诱导成苗后,将幼苗转至增殖培养基中,置于培养室中培养。3~5 d 后幼苗适应了新的培养环境,经过 8~10 d 的营养储备,开始表现出明显的生长,形成愈伤,生出新叶、新芽、新根;15 d 后进入快速增殖期;40~50 d 后,瓶苗增殖放缓、长势衰退,须转至新的培养基中培养。

2.2.1 6-BA 浓度对红颜草莓增殖的影响 由表 3 可见,6-BA 浓度主要是对红颜草莓增殖产生影响,并延长其增殖

将 1 L 增殖培养基分装为 25 瓶,接种后置于培养室中进行光培养,培养条件:温度 25~27 ℃、湿度 80%、光照度 2 000~3 000 lx、每天光照 16 h,每隔 5 d 观察并记录增殖情况。

本试验具有连续性、相关性,根据上一组试验结果,合理调节浓度,进行下一组试验。

2 结果与分析

2.1 茎尖诱导试验

红颜草莓茎尖接入诱导培养基后,置于恒温培养箱中培养。第 2 天有明显褐变发生,3~5 d 后生长点适应了培养环境,表现出生命迹象,同时形成愈伤组织;7~10 d 后开始萌动,生出嫩叶,此时可转至培养室中培养;20 d 后长成幼株,伴有新芽生出;40 d 后形成完整植株,株高 2 cm 左右,可转至增殖培养基中。

2.1.1 茎尖大小对红颜草莓诱导的影响 由表 1 可见,红颜草莓茎尖诱导时,茎尖大小对诱导的影响占主导地位,激素及活性炭的作用相对较小。茎尖小于 0.5 mm 时,成苗率较低且瓶苗长势弱,组培难度极大,难以满足规模化生产的需求;茎尖为 1.0 mm 时,褐变程度一般,具备萌发的生命力,能够形成适宜的愈伤并增殖;茎尖为 1.5~2.0 mm 时,茎尖生命力强,但增殖能力降低、污染率上升,对扩繁不利。

用不明显;活性炭浓度为 1.0 g/L 时,生长点褐变程度一般,相对容易成活,幼苗长势健壮,增殖系数较大;活性炭浓度为 1.5~2.0 g/L 时,对减轻生长点褐变和促进生长点生命力作用没有显著提升。

周期。当 6-BA 浓度在 1.0 mg/L 以下时,瓶苗单株长势较壮、增殖缓慢;当 6-BA 浓度为 1.0~1.5 mg/L 时,愈伤形成相对整齐、大小合适,瓶苗健壮、无玻璃化,增殖系数较高;当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时,愈伤组织偏大,叶片较小、叶柄细长,瓶苗有玻璃化倾向。

2.2.2 GA₃、KT 浓度对红颜草莓增殖的影响 由表 4 可见,GA₃、KT 对红颜草莓的生长及增殖有一定促进作用。当 GA₃、KT 浓度为 0~0.05 mg/L 时,其对红颜草莓生长及增殖

表 3 6-BA 浓度对红颜草莓增殖的影响

6-BA 浓度(mg/L)	接种数(个)	适应期(d)	储备期(d)	增殖期(d)	愈伤	增殖系数	株高(cm)
0.5	50	4	7	35	较小	2.26	5.23
0.8	50	4	9	36	较小	2.52	4.89
1.0	50	5	8	40	合适	2.66	4.68
1.5	50	5	9	42	偏大	2.82	4.76
2.0	50	4	8	45	偏大	2.94	5.12

表 4 GA₃、KT 浓度对红颜草莓增殖的影响

KT 浓度(mg/L)	GA ₃ 浓度(mg/L)	接种数(个)	适应期(d)	储备期(d)	增殖期(d)	愈伤	增殖系数	株高(cm)
0	0	50	6	9	33	较小	2.34	4.41
0.05	0.05	50	5	8	35	合适	2.48	4.56
0.10	0.10	50	4	8	42	合适	2.72	4.83
0.15	0.15	50	3	8	45	合适	2.68	5.46
0.20	0.20	50	4	7	50	偏大	2.84	5.83

2.2.3 活性炭浓度对红颜草莓增殖的影响 由表 5 可见,在红颜草莓增殖过程中,活性炭具有促进生长、提升瓶苗品质的作用^[3]。当活性炭浓度为 0~0.5 g/L 时,其对红颜草莓增殖的作用不明显;当活性炭浓度为 1.0~1.5 g/L 时,瓶苗的适应期、储备期明显缩短,有利于形成壮苗,增殖期延长,增殖系数有所增加;当活性炭浓度为 2.0 g/L 时,活性炭产生一定的吸附作用,对红颜草莓增殖产生抑制。

表 5 活性炭浓度对红颜草莓增殖的影响

活性炭浓度(g/L)	接种数(个)	适应期(d)	储备期(d)	增殖期(d)	愈伤	增殖系数	株高(cm)
0	50	7	10	35	合适	2.32	4.59
0.5	50	6	9	38	合适	2.44	4.73
1.0	50	4	8	43	合适	2.66	5.12
1.5	50	4	7	45	合适	2.58	5.32
2.0	50	3	7	42	合适	2.38	5.08

3 结论与讨论

理论上说,当红颜草莓茎尖为 0.2~0.3 mm 时,生产出的红颜草莓组培苗具有较好的脱毒效果,但实际生产中却较难实现,难以规模化生产。其原因主要有:(1)生长点幼嫩、细微,在解剖镜下切取时间较长导致活性丧失,具有较高的死亡率;同时难以准确切取,无法保证每个茎尖都达到脱毒水平;(2)操作过程中,乙醇灯高温、送风等环境因素,以及刀片、镊子造成的损伤和污染等情况,直接导致其死亡率大幅增加;(3)培养环境、培养基配方也是决定最终成苗率的关键。本研究表明,初切 1 mm 左右的茎尖较为实际、合理,能够在短时间内建立红颜草莓的组培快繁体系,规模化生产红颜组培苗。在提升种苗品质方面,可以通过以下方法达到脱毒效果:(1)引进红颜脱毒瓶苗进行扩繁;(2)引进脱毒种苗进行隔离栽培,培养匍匐茎并建立组培体系;(3)采用高温处理结

的促进作用不明显;当 GA₃、KT 浓度为 0.10 mg/L 时,瓶苗长势较为健壮、旺盛,生长期较长,红颜草莓增殖系数、株高有明显提升,参考相关资料选择 KT 浓度为 0.1 mg/L,GA₃ 浓度为 0~0.1 mg/L 较适宜;当 GA₃、KT 浓度为 0.15 mg/L 及以上时,瓶苗长势较快,但叶片瘦弱、叶柄较长,有徒长倾向,部分瓶苗在缺乏营养时出现开花现象,可能是 GA₃ 浓度过高所致。

合茎尖诱导的方式,直接脱去大部分病毒^[4]。
红颜草莓茎尖组培过程中,激素、活性炭对其影响较大,适宜的激素、活性炭浓度是高效生产组培苗的关键。本研究表明:红颜草莓茎尖诱导期间,培养基配方 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L GA₃+0.1 mg/L KT+0.2 mg/L IBA+1 g/L 活性炭,能够有效减轻褐变,显著提升生长点的生命力,促进萌发,使幼苗健壮;增殖扩繁期间,配方 MS+1.0~1.5 mg/L 6-BA+0~0.1 mg/L GA₃+0.1 mg/L KT+0.2 mg/L IBA+1.0~1.5 g/L 活性炭,能够有效缩短瓶苗的适应期、储备期,促进瓶苗生长增殖,瓶苗品质较高,增殖后期能生出完整的根系,边继代边生根,省时省工^[5]。
实际生产中,对每批种苗应根据生长情况,在合理范围内微调激素与活性炭的用量。红颜草莓诱导时难以形成丛生芽,初代增殖低,但继代 1~2 次后增殖系数会显著增加,达到 3~5 倍以上。理论上,以 1 000 株作为基数,增殖系数 3 倍,成活率 90%,1 年 6~8 个增殖周期,可生产红颜组培苗 50 万株左右,可解决生产红颜草莓脱毒种苗扩繁上的难题,能够创造较大的经济效益和社会效益。

参考文献:

[1]陈怀勳,高 丽,路 河,等. 红颜草莓茎尖组培脱毒苗技术研究[J]. 北京农业,2011(1):3-4.
[2]司长征,蔡联军,李国强. 红颜草莓组培脱毒壮苗快繁技术与应用[J]. 中国果菜,2013(4):6-9.
[3]郭 靖,顾 虹,窦祖霞. 草莓组培苗生根培养技术研究[J]. 现代农业科技,2012(20):88.
[4]李志强,王 晶,丁国亮,等. 草莓热处理结合茎尖脱毒技术研究[J]. 北方园艺,2012(5):125-127.
[5]黄日静. 红颜草莓脱毒苗繁育技术规程[J]. 北方果树,2013(1):20-21.