

柳燕,刘刃,竺锡武. 2 种组培方式草莓的扩繁效果及光合特性[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):213-215.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.068

2 种组培方式草莓的扩繁效果及光合特性

柳燕^{1,2}, 刘刃¹, 竺锡武^{1,2}

(1. 浙江理工大学生命科学学院, 浙江杭州 310018; 2. 湖南人文科技学院农业与生物技术学院, 湖南娄底 417000)

摘要:比较分析固体培养基组织培养方式与生物反应器培养方式下草莓组培扩繁效果及其穴盘苗的光合特性。采用 LC Pro⁺ 型便携式光合系统测定 2 种组培方式获得的组培穴盘苗的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(E)、叶胞间 CO_2 浓度(C_i)。结果显示,在个体生物量和种苗增殖系数方面,红颊草莓快速扩繁采用生物反应器培养方式极显著优于固体培养基组培方式;在光合速率、气孔导度和呼吸效率方面,生物反应器培养方式的组培穴盘苗显著优于固体培养基培养方式的组培穴盘苗;在胞间 CO_2 浓度(C_i)方面,生物反应器培养方式的组培穴盘苗与固体培养基培养方式的组培穴盘苗差异不显著。

关键词:组培方式;草莓;组织培养;扩繁效果;光合特性

中图分类号:S668.404 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)10-0213-03

植物组织培养主要有利用固体培养基和液体培养基进行组织培养扩繁 2 种方式,其中利用固体培养基进行组织培养是传统的组培方式,在草莓组织培养已有较多的研究^[1-5];利用液体培养基进行组织培养主要指采用生物反应器盛装液体培养基通过瞬时浸没外植体方式培养获得植物组培苗(简称生物反应器培养或反应器培养),国外自 20 世纪 80 年代就已经开始发展^[6-12],而我国国内起步较晚^[13-15],生物反应器组培扩繁草莓苗方面的研究尚未见报道。固体培养基组织培养

方式与生物反应器组织培养方式的比较在一些种类植物的外植体扩繁倍数、组培苗生长形态、鲜质量等方面都进行过研究^[16-18],但这 2 种组培方式培养的组培苗在光合特性方面有无差别国内外很少报道;而光合特性对组培苗的存活、壮苗有重要影响,已开始引起重视^[19-20]。因此,本试验开展了 2 种草莓组培方式组培扩繁效果与穴盘苗光合特性的比较研究。

1 材料与方法

1.1 试验材料

红颊草莓植株由笔者所在的实验室保存。

1.2 组培方法

(1)固体培养基组织培养法。按刘刃等的方法^[5]进行。
(2)生物反应器组织培养法。按开合式间歇浸没植物生物反应器(浙江理工大学生物工程专业研究所,专利号为

收稿日期:2014-10-19

基金项目:国家自然科学基金(编号:31071729)。

作者简介:柳燕(1988—),女,浙江宁波人,硕士研究生,从事植物病毒与天然生物反应器研究。E-mail:ly571644@126.com。

通信作者:竺锡武,博士,研究员,硕士生导师,从事植物病毒等有害生物控制及生物反应器研究。E-mail:zhuxw9999@aliyun.com。

[5]谢计蒙. 设施葡萄促早栽培适宜品种的评价与筛选[D]. 北京:中国农业科学院果树研究所,2012.

[6]Okamoto I,Endo M. Effect of dense planting and root system control on attaining greater early production and fruit stability of tetraploid grapes[J]. Bull Hiroshima Fruit Tree Expt Sta,1987,12:1-9.

[7]王发禄,陈军. 青藏高原葡萄扦插育苗技术[J]. 农技服务,2012,29(2):195-195.

[8]王淑敏. 葡萄扦插育苗技术[J]. 现代农村科技,2009(7):28.

[9]渠春喜,张安德,冯宏元,等. 天祝高寒山区红提葡萄延后栽培技术[J]. 甘肃科技,2013,29(6):133-134.

[10]王茂,陵军成,马秉锦. 日光温室葡萄的生理病害及防治[J]. 中国林业,2011,21(17):38.

[11]杨国宗. 设施葡萄栽培水肥管理技术[J]. 中国林业,2010,20(23):25-27.

[12]王海波,刘凤之,王宝亮,等. 葡萄延迟栽培的研究进展[C]//葡萄产业化与标准化生产——2007 年第十三届全国葡萄学术研讨会论文集. 北京:中国农业出版社,2007:244-246.

[13]王志鹏,孙培博,李顺凯. 葡萄设施栽培温度的科学调控[J].

北方园艺,2010(7):60-61.

[14]张国海. 瓜果栽培系列——葡萄栽培技术[M]. 郑州:中原农民出版社,2006:6-7.

[15]马文贵. 设施栽培红地球葡萄休眠调控及施肥研究[J]. 甘肃科技纵横,2006,35(6):53-54.

[16]谢计蒙,王海波,王孝娣,等. 设施促早栽培适宜葡萄品种的筛选与评价[J]. 中国果树,2012(4):36-40.

[17]张世孝. 葡萄标准化生产如何在产业化进程中发挥作用的探讨[J]. 河北林业科技,2004(5):23-25.

[18]石雪晖. 葡萄优质丰产周年管理技术[M]. 北京:中国农业出版社,2002.

[19]邵果园,秦国新,武宇坤,等. 温室葡萄结果枝叶片数对果实品质的影响[J]. 浙江林学院学报,2006,23(6):656-659.

[20]黄辉白. 我国北方葡萄气候区域的初步分析[J]. 北京农业大学学报,1980(2):43-51.

[21]闫爱玲,张国军,徐海英. 设施葡萄产期调节技术研究进展[J]. 北方园艺,2008(11):67-70.

2010202088879.1)^[13]操作进行。红颊草莓的生物反应器培养主要参数设定:装液量 1 000 mL;浸没频率 10 min/4 h;通气量 15 L/min;培养时间 50 d;培养液更换频率 25 d/次;接种密度 40 个/L。

1.3 光合特性的测定

将通过 2 种培养方式得到的红颊草莓组培苗经过穴盘(50 孔穴盘,52 cm×26 cm)炼苗 30 d 后,移至日光温室内对其功能叶片的光合速率进行测定。数据测量期间,2 组组培穴盘苗均移至日光温室,基质含水量维持在 60%。光合测定条件:外界气温在 18~25 ℃ 之间,分别取生物反应器培养和固体培养的红颊草莓各 5 株,要求草莓组培穴盘苗具有 8~10 根叶柄、生长旺盛、3 出复叶完全展开等特点。选定每株草莓第 3 张新生叶。

测量前将 50 孔组培穴盘苗移至室外,令其在自然光下适应 1 h,以促使叶片气孔打开,测量在隔日 10:00 开始进行。设定 LC Pro⁺ 型便携式光合系统(ADC,England)的测量条件为:光合有效辐射(PAR)800 μmol/(m²·s),CO₂ 供给浓度(350±2) μmol/mol,叶室温度(25±1) ℃,相对湿度(65±2)%。在此条件下对组培穴盘苗叶片的净光合速率(P_n)、气孔导度(G_s)、蒸腾速率(E)、胞间 CO₂ 浓度(C_i)进行测量。

1.4 数据统计分析

试验数据采用 Excel 2013、SPSS 19.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 2 种组培方式下草莓组培扩繁结果比较

在 2 种组培方式下培养的组培苗平均鲜质量(g)和外植体增殖系数见表 1,在生物反应器培养下的外植体增殖系数可达到 6.98,比对照组固体培养法的增殖系数(6.03)高 15.8%,且差异极显著;生物反应器培养获得的组培苗平均鲜质量为 4.14 g,是对照组固体培养(2.31 g)的 1.79 倍,且差异极显著,说明单位时间内相同数量的草莓外植体使用生物反应器培养可获得更多的种苗数量,提高扩繁效率。从生物量和种苗增殖系数可以发现,红颊草莓快速扩繁采用生物反应器培养方式极显著优于固体培养基组培方式。

培养方式	组培苗平均鲜质量(g)	增殖系数
固体培养基	2.31±0.07bB	6.03±0.29bB
生物反应器	4.14±0.30aA	6.98±0.60aA

2.2 2 种组培方式的组培穴盘苗净光合速率

从图 1 可以看出,在培养后 1、3、5、7 d,生物反应器培养的组培穴盘苗的净光合速率显著高于传统固体培养的组培穴盘苗;在培养后 7、9 d,虽然两者之间差异不显著,但生物反应器培养的组培穴盘苗的净光合速率仍高于传统固体培养的组培穴盘苗。总体来说,2 种组培方式得到的红颊草莓苗的光合速率在移栽初期差异显著,随着在日光温室中随着培养时间的延长,两者之间的差异有逐渐缩小的趋势。

2.3 2 种组培方式下组培穴盘苗的气孔导度

从图 2 可以看出,通过间歇浸没式生物反应器得到的草莓组培穴盘苗叶片在培养后 1 d 的气孔导度为

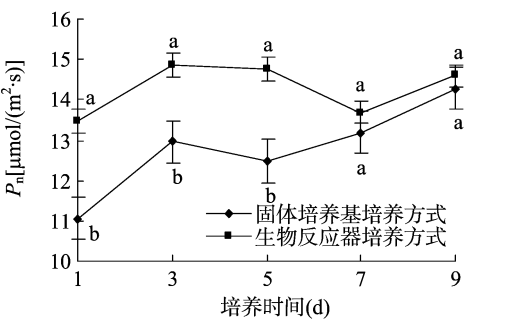


图1 不同组培方式的草莓组培穴盘苗的净光合速率

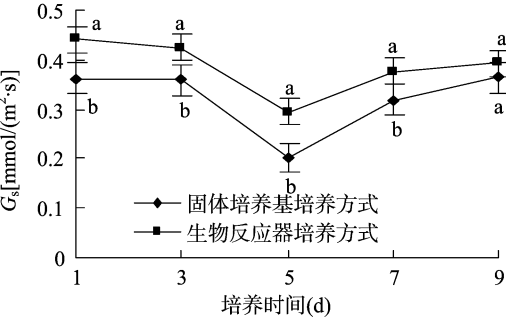


图2 不同组培方式的草莓组培穴盘苗的气孔导度

0.441 mmol/(m²·s),传统固体培养的苗的气孔导度为 0.362 mmol/(m²·s),两者之间差异显著。培养后 1、3、5、7 d,生物反应器组培穴盘苗与传统固体培养的组培穴盘苗的气孔导度差异显著;在培养后 7 d,生物反应器的组培穴盘苗在气孔导度上与传统固体组培穴盘苗之间差异不显著,但整个测量过程中生物反应器组培穴盘苗气孔导度均高于传统固体组培穴盘苗。

2.4 2 种组培方式下组培穴盘苗的蒸腾速率

从图 3 可以看出,在培养后 1、3、5、7 d,生物反应器组培穴盘苗的蒸腾速率均高于传统固体组培穴盘苗。2 种组培穴盘苗的蒸腾速率差值在培养后 5 d 达到最大,生物反应器组培穴盘苗为 5.771 mmol/(m²·s),传统固体培养的组培穴盘苗为 4.879 mmol/(m²·s);在培养后 1、3、5、7 d,生物反应器培养的组培穴盘苗与传统固体培养的组培穴盘苗的蒸腾速率差异显著;在培养后 7 d,生物反应器培养的组培穴盘苗蒸腾速率与传统固体培养的组培穴盘苗之间差异不显著。

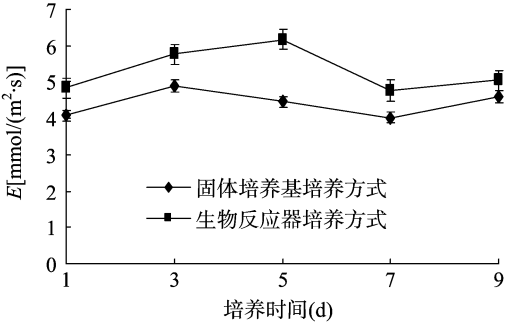


图3 不同组培方式的草莓组培穴盘苗的蒸腾速率

2.5 2 种组培方式下组培穴盘苗的胞间 CO₂ 浓度

从图 4 可以看出,生物反应器培养的组培穴盘苗的胞间 CO₂ 浓度均低于传统固体培养的组培穴盘苗,在培养后 9 d

时的差值最大,生物反应器组培穴盘苗的 C_i 值为 $313.9 \mu\text{mol/mol}$,传统固体组培穴盘苗的 C_i 值为 $323.3 \mu\text{mol/mol}$ 。在培养后 1、3、5、7、9 d,2 种不同培养方式得到的组培穴盘苗差异均不显著。

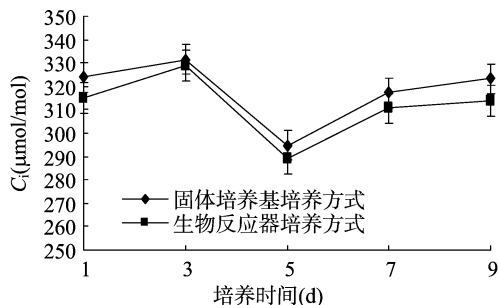


图4 不同组培方式的草莓组培穴盘苗的胞间 CO_2 浓度

3 结论与讨论

本研究比较分析了生物反应器培养方式与传统固体培养方式下红颊草莓组培扩繁效果及其穴盘苗的光合特性。结果发现,红颊草莓组培扩繁采用生物反应器培养方式优于固体培养基培养方式。生物反应器组培扩繁效果优于固体培养基组培扩繁效果,在其他一些植物种类的组培研究中已有一些报道^[13-15,17]。本研究结果证明,利用生物反应器组培扩繁草莓也是可行的,并具有显著优势。

笔者发现,在组培苗的光合性能方面,生物反应器培养的草莓组培穴盘苗优于传统的固体培养的组培穴盘苗。生物反应器培养的组培穴盘苗的净光合速率、气孔导度和呼吸效率显著优于固体培养基培养的组培穴盘苗。结果表明,组织培养方法影响了苗的光合特性。本研究结果与 Zhao 等的结果^[14,19]是相似的,即在强力通风条件下的苗比对照苗有更大的净光合速率。Zhao 等发现,强力通风能增强叶绿素含量^[14]。笔者认为,强力通风可能是生物反应器培养方法培养的苗有更大的光合速率的原因。生物反应器培养的组培穴盘苗的气孔导度显著大于固体培养基的组培穴盘苗的气孔导度,这个结果与 Zhao 等的结果^[14,21]是一致的。Majada 等发现,叶中气孔的功能在通风条件下被改进^[21];Zhao 等发现,强力通风能增强气孔密度^[14]。生物反应器培养的组培穴盘苗呼吸效率显著大于固体培养基培养的组培穴盘苗,这个结果还没有被报道,有待进一步验证。生物反应器培养的组培穴盘苗的胞间 CO_2 浓度均低于传统固体组培穴盘苗,但差异不显著,可能是因为生物反应器中组培苗相对较多,密度明显大于固体培养法组培瓶中组培苗密度。随着组培穴盘苗在自然环境下生长时间延长,2 种培养方式得到的组培穴盘苗在净光合速率、气孔导度、蒸腾速率 3 个方面呈现出差异缩小的趋势,这可能与组培穴盘苗逐步适应自然环境条件有关。生物反应器培养的草莓穴盘苗在初期具有更好的净光合特性,能够更加快速地适应外部环境,从而增加穴盘苗幼苗期的存活率,更高的净光合速率也意味着更高的壮苗率,因此在商业化生产上具有较明显的优势。

参考文献:

[1] 覃兰英,徐光霞,邓世秀. 草莓茎尖离体培养大量繁殖研究初报

[J]. 中国果树,1981(3):38-40.

- [2] 郭亚华,于志明,邓立平,等. 草莓组织培养研究初报[J]. 生物技术,1991,1(3):30-32.
- [3] 罗君琴,李丽,林俊,等. “红颊”草莓茎尖快繁技术研究[J]. 现代园艺,2008(11):4-5.
- [4] 孙永平,高年春,张琼,等. 红颊草莓组培快繁技术研究[J]. 江苏农业科学,2011,39(5):63-64.
- [5] 刘刃,吕乐,竺锡武. 红颊草莓组培标准化及穴盘壮苗研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(7):34-37.
- [6] Tisserat B, Vandercook C E. Development of an automated plant culture system[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1985,5(2):107-117.
- [7] Simonton W, Robacker C, Krueger S. A programmable micropropagation apparatus using cycled liquid medium[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1991,27(2):211-218.
- [8] Lorenzo J C, González B L, Escalona M, et al. Sugarcane shoot formation in an improved temporary immersion system[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1998,54(3):197-200.
- [9] Alister B, Finnie J, Watt M P, et al. Use of the temporary immersion bioreactor system (RITA®) for production of commercial Eucalyptus clones in Mondi Forests (SA)[J]. Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation,2005,4:425-442.
- [10] Berthouly M, Etienne H. Temporary immersion system; a new concept for use liquid medium in mass propagation[J]. Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation,2005,2:165-195.
- [11] Hempfling T, Preil W. Application of a temporary immersion system in mass propagation of *Phalaenopsis*[J]. Liquid Culture Systems for in vitro Plant Propagation,2005,2:231-242.
- [12] Roels S, Escalona M, Cejas I, et al. Optimization of plantain (*Musa AAB*) micropropagation by temporary immersion system[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,2005,82(1):57-66.
- [13] 陈集双,张本厚,贾明良,等. 间歇浸没的开台式植物生物反应器:中国,2010202088879.1[P]. 2011-04-27.
- [14] Zhao Y, Sun W, Wang Y, et al. Improved mass multiplication of *Rhodiola crenulata* shoots using temporary immersion bioreactor with forced ventilation[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology,2012,166(6):1480-1490.
- [15] 赵望峰,王力华. 间歇浸没式生物反应器在大规模组织培养中的应用研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(2):317-320,323.
- [16] Maene L, Debergh P. Liquid medium additions to established tissue cultures to improve elongation and rooting *in vivo*[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture,1985,5(1):23-33.
- [17] 贾明良. 三叶半夏 [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.] 组培标准化研究及生物反应器扩繁[D]. 杭州:浙江理工大学,2010.
- [18] 毕瑞明. 不同培养方法对甘薯无菌苗生长的影响[J]. 生物技术,2002,12(2):26-28.
- [19] 月德, Desjardins Y, Gosselin A. 草莓组培苗的光合能力与强制通气对其生长的影响[J]. 园艺学报,1993,20(2):123-126.
- [20] 王必尊,唐粉玲,何应对,等. 不同基质对香蕉组培苗生长及光合特性的影响[J]. 热带作物学报,2013,34(3):398-402.
- [21] Majada J P, Centeno M L, Feito I, et al. Stomatal and cuticular traits on carnation tissue culture under different ventilation conditions[J]. Plant Growth Regulation,1998,25(2):113-121.