

利用花药培养培育草莓 无病毒苗的研究

王玉民

(吉林省农科院大豆所,公主岭 136100)

摘要 本试验对利用花药培养培育草莓无病毒苗进行了较为细致的研究,从取材、接种、诱导、再生、增殖、生根到移栽做了一系列工作。试验结果表明:1. 草莓花药培养用外植体以花粉发育到单核期的花药为宜,不同品种草莓花粉发育到单核期时花蕾大小不尽相同。2. 花药愈伤组织的诱导以 MS 附加 BA2.3mg/L、NAA2.0mg/L 的培养基为好;再生植株以 $\frac{1}{2}$ A(去除生物素)附加 BA0.5mg/L、GA₃0.1mg/L、三十烷醇 2.0mg/L 的培养基为好;增殖培养基以 MS 附加 BA0.5mg/L 的培养基为好;生根培养基为不加任何激素的 MS 培养基。3. 在试管苗移栽过程中,温度和湿度的控制是成活的关键。

关键词 草莓;花药培养;无病毒苗

草莓是蔷薇科多年生草本植物,在园艺学上属于小浆果,是我国北方水果中成熟最早的。草莓既可鲜食,又可加工成各种果实加工品,风味独特,品质优良。但由于病毒浸染,致使单产较低和品质变劣。迄今为止,草莓栽培比较发达的国家,生产上均采用无病毒苗栽培。他们获得无病毒苗的途径主要是通过茎尖培养、热处理和花药培养。1974年大泽胜次用 white 培养基通过花药培养获得草莓二倍体植株,并通过小叶嫁接法进行病毒鉴定证实为无病毒苗,而且他认为草莓花药培养脱毒率为百分之百,不需病毒鉴定。高庆玉的研究也证实了这一点。本试验拟建立利用花药培养培育草莓无病毒苗的完整体系,为草莓无病毒苗在生产上的应用提供更可靠的依据。

1 材料和方法

1.1 花粉发育时期的观察

在5月末至6月初,从田间取回盛岗、戈雷拉、女峰和四季草莓等栽培品种的花蕾,分品种根据花蕾直径大小分别用卡诺固定液固定 1.5~2 小时,然后于载玻片上用镊子压碎花药,酸性品红染色 2~3 分钟,盖上盖玻片,镜检。

1.2 接种

根据取得的经验数据,取花粉发育到单核期的花蕾,自来水冲洗干净,然后在超净工作台上,无菌水冲洗一次,浸入 70% 酒精中 30 秒,再转入 0.1 升汞溶液中处理 2 分钟,无菌水冲洗 4 次,滤纸吸干,用镊子取出花药接种。

愈伤组织的诱导以 MS、LS 为基本培养基,附加不同浓度的 BA 和 NAA;愈伤组织的分化采用 white、LS 附加不同浓度的 BA、NAA 和 $\frac{1}{2}$ A(去除生物素)附加 GA₃、BA、三十烷

醇的培养基;试管苗的增殖采用附加不同浓度 BA、NAA 的 MS 培养基;生根采用不含任何激素的 MS 培养基。所有培养基都用琼脂固化,pH 调至 5.8。培养条件为自然散射光并补充光照 2500Lx8.5 小时,温度 25℃左右。

生根的试管苗去掉瓶塞锻炼 3 天后,移栽到盛有蛭石的育苗盘中,温度 15~25℃,相对湿度 70%~85%,长新根移到盛土的营养钵中。

2 结果与讨论

2.1 花粉发育时期与花蕾直径大小的关系

大泽(1974)认为草莓花药培养以单核期的花药为好,大小为 4~6mm。但在同样的条件下,草莓花蕾大小依品种而异,花粉发育时期与花蕾直径大小的相关关系也因品种而异(表 1)。所以在接种前一定要首先确定花粉发育时期与花蕾直径大小的相关关系。

表 1 不同品种草莓花粉发育时期与花蕾大小的关系

品 种	<3 (mm)	3 (mm)	4 (mm)	5 (mm)	6 (mm)
盛 岗	—	四分体	单核	单核	单核
女 峰	—	四分体	单核	单核	单核
戈 雷 拉	—	四分体	单核	单核	单核
四季草莓	四分体	单核	单核	单核	—

死状态;而另一部分花药仍保持鲜艳的黄色,并发现花药膨大。13 天后有愈伤组织产生,原来观察到变褐的花药从中间产生小愈伤组织。而原来仍保持黄色的花药整个膨大而产生愈伤组织。30 天后统计愈伤组织诱导率, I_1 高于 I_2 , 分别为 84.4% 和 61.9% (见表 2)。

2.2 愈伤组织的诱导

诱导愈伤组织的培养基采用 MS 附加 BA2.3mg/L、NAA2.0mg/L 及 LS 附加 BA 2.0mg/L、NAA0.5mg/L, 代号分别为 I_1 和 I_2 。接种后 3 天观察到一部分花药变褐似枯

表 2 同日接种的花药在不同培养基的诱导情况

培养基	花药数	愈伤数	四周变褐中 间产生愈伤	四周膨大 产生愈伤	诱导率 (%)
I_1	64	54	21	33	84.4
I_2	73	45	7	38	61.9

2.3 植株再生

将花药产生的愈伤组织转移到以下四种再生培养基中: R_1 为 $\frac{1}{2}$ A (去除生物素) 附加 GA₃0.1mg/L、BA0.5mg/L、三十烷醇 2.0mg/L; R_2 为 R_1 去除三十烷醇; R_3 为 LS 附加 BA2.0mg/L、NAA0.3mg/L; R_4 为 white 附加 BA2.3mg/L、NAA0.2mg/L。15 天后观察到 R_1 培养基上有愈伤组织产生不定芽并陆续分化小植株; R_3 培养基上也有植株产生; R_2 、 R_4 培养基未见茎叶分化。由此可见, R_1 培养基对诱导植株再生效果较好, 也说明三十烷醇对植株再生有一定的作用。

2.4 试管苗的增殖

试管苗增殖采用 MS 为基本培养基, 激素配比及增殖效果见表 3 (转苗后 20 天调查)。1 号培养基的增殖倍数最高, 达 6.1 倍; 5 号培养基增殖倍数也较高, 但出现很多玻璃化苗。由此可见, 在草莓增殖过程中 BA 量的增高可能会导致玻璃化苗的产生。另外, 由于草莓增殖快, 消耗养分大, 继代时间间隔不能太长, 15~20 天继代一次为宜。

表 3 草莓苗在不同培养基上的增殖情况

培养基	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	转入苗数	增殖后 苗数	增殖倍数
1	0.5	0	18	110	6.1
2	0.5	0.025	18	90	5.0
3	0.5	0.050	18	88	4.9
4	1.0	0.100	18	71	3.9
5	2.0	0.100	18	100	5.6

