

Effect of Different Ratio of Exogenous Hormones to the Tip Meristem Generation and Propagation of Pine-Berry

Huihui Dai, Congbin Kang, Jianhao Wu, Hao Shi, Yue Li, Jieshan Cheng

Agricultural and Forestry Crop Genetically Improvement Center, Agricultural School, Ludong University, Yantai Shandong
Email: dhtwolyz@163.com

Received: Jul. 2nd, 2017; accepted: Jul. 17th, 2017; published: Jul. 20th, 2017

Abstract

This paper researches about the effect of different ratio of exogenous hormones to the tip meristem generation and propagation of Japanese pine-berry which was introduced from Japan. 6-BA concentration gradient, hormone ratio, generation and reproduction efficiency were investigated. The results showed that, high concentration of 6-BA can retard the tip stem generation, and has negative effect on propagation. The main effects are dwarf, cluster, and abnormality. On the MS media with 6-BA 0.5 mg/L and NAA 0.1 mg/L, tip stem generating ratio was low and accompanied with callus occurred severely. However, on the MS media with 6-BA 0.5 mg/L and IBA 0.1 mg/L, the generation ratio was 99% in this experiment. First regeneration MS media with 6-BA 1.5 mg/L and IBA 0.1 mg/L, from second regeneration, the 6-BA concentration was gradually decreased to 0.5 mg/L in the end, but the IBA concentration remained unchanged. Under this condition, the generating seedlings regenerated rapidly. The propagation coefficient was higher than 2.5. Propagating seedlings sub-cultured on the MS media with 6-BA 0.5 mg/L and NAA 0.1 mg/L, grew rapidly and healthily.

Keywords

Pine-Berry, Stem Tip Culture, Exogenous Hormones, Concentration Gradients of 6-BA

外源激素不同配比对“白草莓”茎尖萌发及增殖的影响研究

代会会, 康从彬, 吴建豪, 史昊, 李月, 程杰山

鲁东大学农学院农林作物遗传改良中心, 山东 烟台
Email: dhtwolyz@163.com

收稿日期：2017年7月2日；录用日期：2017年7月17日；发布日期：2017年7月20日

摘要

以日本白草莓为试材，研究6-BA浓度梯度及其它激素的配比不同对白草莓茎尖萌发和增殖的影响，结果表明，高浓度6-BA对茎尖萌发有抑制作用，对连续增殖也有不利影响，主要是矮化簇生和畸形；MS培养基加入6-BA 0.5 mg/L和NAA 0.1 mg/L，茎尖生长点萌发时愈伤化严重，且萌发率不高；MS培养基添加6-BA 0.5 mg/L和IBA 0.1 mg/L，“白草莓”茎尖萌发率为99%。第一代增殖MS培养基中添加6-BA 1.5 mg/L，IBA 0.1 mg/L，以后应逐渐降低6-BA浓度，直到降到0.5 mg/L，但IBA浓度保持0.1 mg/L不变，茎尖萌发苗增殖迅速，繁殖系数2.5以上。增殖的白草莓幼苗继代到6-BA 0.5 mg/L和NAA 0.1 mg/L的MS培养基上，长势迅速且健壮。

关键词

白草莓，茎尖培养，外源激素，6-BA浓度梯度

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)是蔷薇科草莓属多年生草本植物，据统计(2014年)我国草莓年栽培面积已达13万hm²，产量约200万t，已跃居世界草莓第一生产大国[1]。因为草莓果实酸甜可口，营养丰富，是经济价值较高的天然高档食品，深受消费者喜爱，市场需求量极大[2]。草莓主要是靠匍匐茎进行无性繁殖，经过几代繁殖之后，容易感染多种病毒，造成植株生长缓慢、叶片皱缩、果实小而畸形、品质变差，并且病情逐年加重[3]，对草莓生产造成严重影响。

目前草莓无病毒苗的培育方法，主要有热处理法、花药培养法和茎尖组织培养法等。其中茎尖培养不仅可以有效脱除病毒，而且可以快速繁殖、工厂化培育草莓苗，对草莓新品种的推广起重要作用[4]。

为了取得较好的脱毒效果，在保证成活的前提下尽量切取茎尖生长点，但生长点太小也增加培养的难度，所以微茎尖的启动培养是茎尖脱毒培养的关键环节，文献上也多有报道，但方法不一，培养基的外源激素的种类及浓度差异较大[5][6][7][8]。此外，微环境的控制对茎尖的培育也有很大的影响，Kozai等[9]研究表明，改变组培微环境使其更接近自然条件，有利于移栽的试管苗加速驯化。“白草莓”其中一个品系的桃熏草莓是日本农业与食品产业综合研究机构利用久留米1H1与父本杂交而成，其果实主要的特征为果肉为奶白色，表面均匀分布着小红点，与一般的草莓颜色恰好相反。因此，本试验拟以从日本引进的草莓新品种菠萝莓为试材进行试验，通过调查不同外源激素对比对茎尖培养的影响，探讨适宜的培养基激素配比及浓度，为其脱毒培养和高效扩繁提供参考。

2. 材料与方

2.1. 材料

选取来自辽宁省大连市伸泽生物科技有限公司引进的日本“白草莓”(Pine-berry)新萌发的健康匍匐

茎为试材。

2.2. 外植体的剥取及消毒

选取优质健壮的“白草莓”匍匐茎嫩梢长 3~5 cm, 在流水下洗净, 然后冲洗 1 h 后, 移至超净工作台, 用 75% 的酒精浸泡摇匀 30 s 后, 用无菌水冲洗 3 遍, 再用 6% 的次氯酸钠浸泡 5 min, 无菌水冲洗 3 遍, 然后在双目解剖镜下剥取带有 1 个叶原基的生长点(长约 0.2 mm~0.3 mm), 迅速切下接种到事先配置好的诱导培养基上。

2.3. 植株的诱导

以 6-BA 浓度为梯度, 设置不同的诱导培养基在 26℃ 下进行茎尖萌发诱导培养, 诱导培养 2 周后, 观察统计茎尖萌发情况。

2.4. 增殖培养

增殖培养时, 选取萌发良好组培苗, 继代到含有不同生长调节物质 6-BA、IBA、NAA, 及不同配比的培养基上进行继代培养, 观察统计组培苗生长情况。

3. 结果与分析

3.1. 低浓度的 6-BA 对茎尖萌发诱导有促进作用

在含有 0.5 mg/L 6-BA 的 MS 培养基上, 剥离接种 21 个草莓茎尖, 且全部萌发, 生长良好(图 1(a))。添加 1.5 mg/L 6-BA 的培养基, 茎尖萌发速度较缓慢且死亡率高, 添加 1.0 mg/L 6-BA 的培养基, 茎尖萌发速度较慢且长势一般, 而添加 6-BA 0.5 mg/L 的培养基, 茎尖萌发速度较快且长势良好, 萌发率高达 100% (表 1)。

3.2. 不同激素比对‘白草莓’小苗增殖的影响

继代培养的不同激素比对草莓芽苗增殖的影响同样有明显差异。本实验共分四组继代 64 株无菌苗。设置两种不同激素配比, 每个配比激素用量按梯度设计几组对照试验(表 2), 以寻找出最适激素浓度, 为了能直观地表示草莓芽苗快繁的能力, 用其繁殖系数来展示结果, 植物组培增殖系数 = 瓶苗在一个周期内形成的有效苗数/接种苗数, 结果如图 2、图 3, 最佳组合为 MS 中加入 IBA0.05 mg/L, 6-BA 0.5 mg/L, 植株生长速度快, 长势健壮(图 1(b)和图 1(c))。继代后的白草莓幼苗分支多, 生长健壮(图 1(d)和图 1(e))。

4. 小结与讨论

茎尖分化培养中, 众多研究表明, 6-BA 对植物最明显作用是诱导细胞分裂并调节分化, 单独使用细胞分裂素, 只有芽的分化, 不利于茎的伸长。在一定浓度范围内, 单独使用生长素, 只对苗的增高有作用, 不利于芽的分化和增殖[10]。生长素和细胞分裂素只有达到合适的配比才能使草莓发育良好: 郝文胜

Table 1. Effect of different 6-BA concentration to the tip-stem generation

表 1. 6-BA 不同浓度对茎尖萌发的影响

基础元素	6-BA 浓度梯度(mg/L)	萌发率(%)	现象
MS	1.5	0	茎尖发黑死亡
MS	1.0	35	萌发速度缓慢
MS	0.5	100	萌发快速, 且芽苗健壮

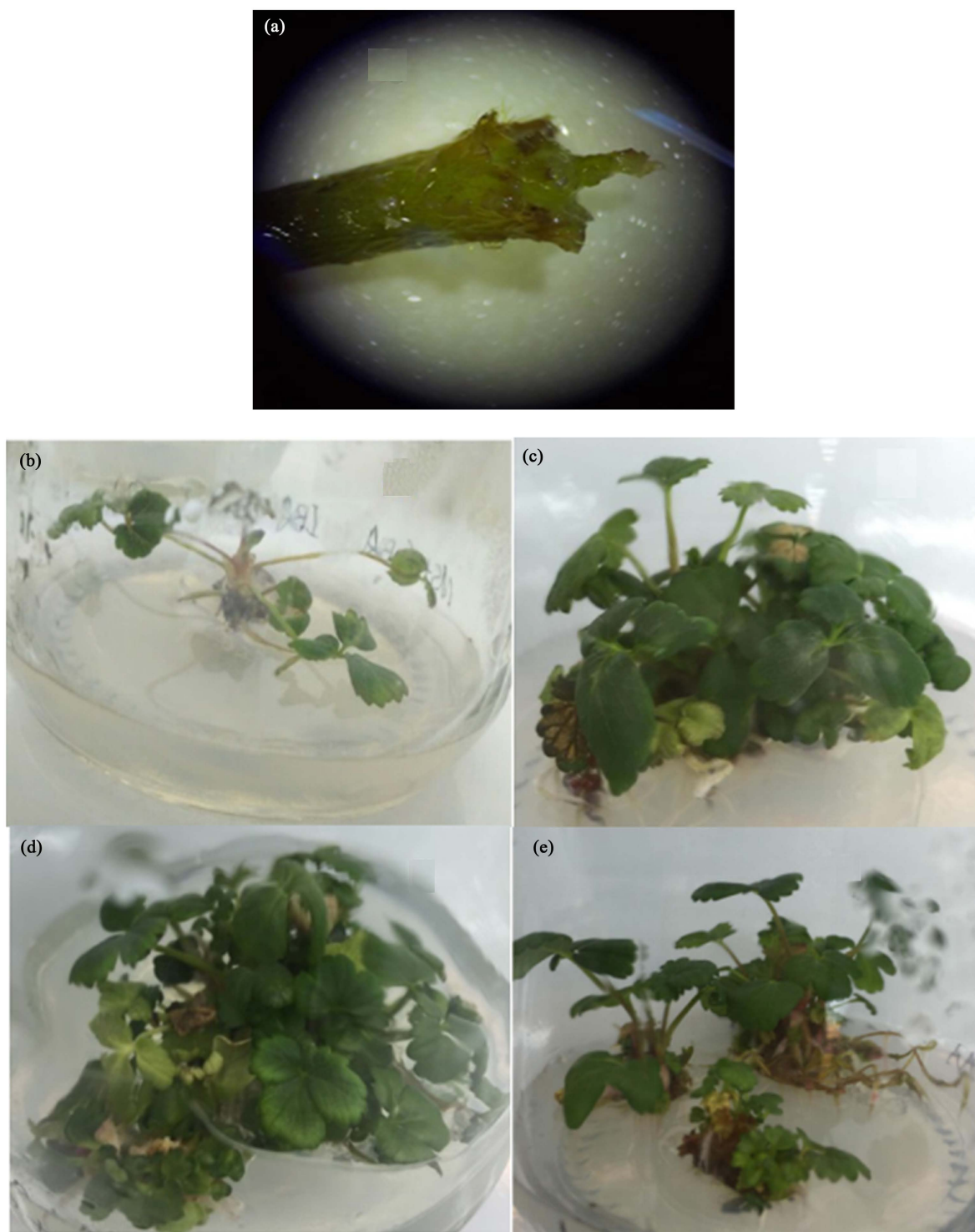


Figure 1. (a) peeling off the stem tip under the anatomical microscope; (b) growing in the early stages of a culture medium containing 0.5 mg/16-ba and 0.05 mg/L IBA; (c) in the medium that contains 0.5 mg/16-ba and 0.05 mg/L IBA, the plant is overgrown and robust; (d) the batch white strawberries that have been proliferated on the culture medium containing 0.5 mg/16-ba and 0.05 mg/L IBA; (e) the proliferation of white strawberry seedlings

图 1. (a) 解剖镜下剥取得茎尖; (b) 在含有 0.5 mg/16-BA 和 0.05 mg/L IBA 的培养基上扩繁初期小植株生长迅速; (c) 在含有 0.5 mg/16-BA 和 0.05 mg/L IBA 的培养基上扩繁后期植株丛生且健壮; (d) 在含有 0.5 mg/16-BA 和 0.05 mg/L IBA 的培养基上继代增殖后的批量白草莓; (e) 增殖后的白草莓幼苗

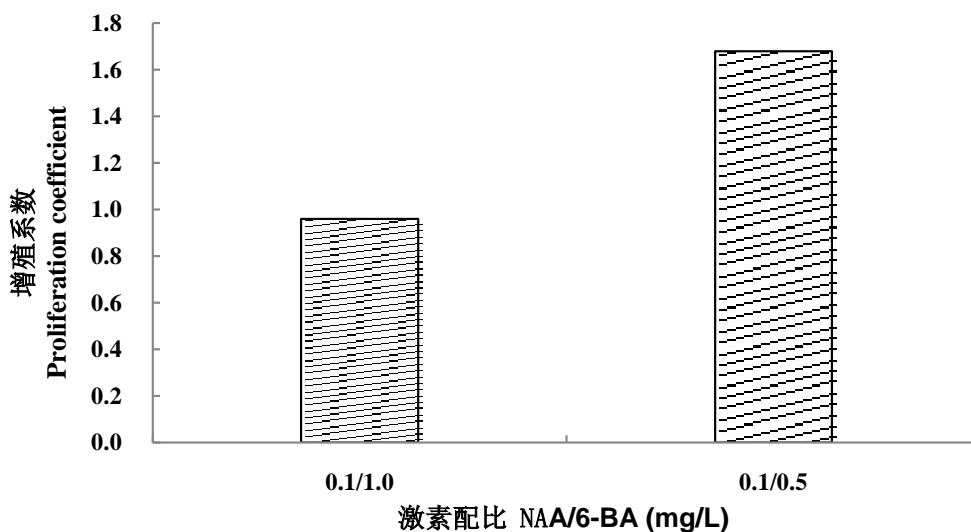


Figure 2. Effect of NAA ratio to pine-berry seedling multiplication
图 2. NAA 激素配比对草莓芽苗增殖的影响

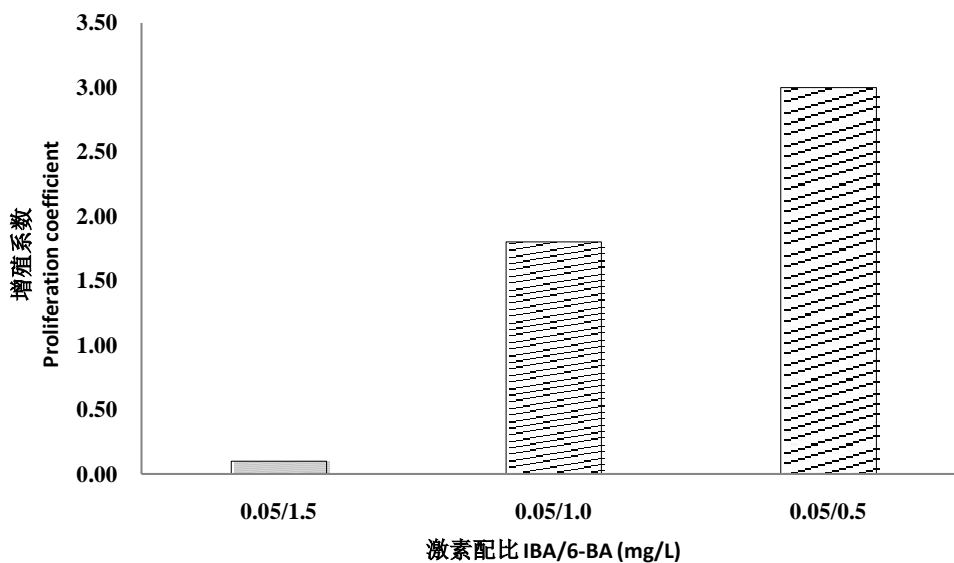


Figure 3. Effect of IBA/6-BA ratio to pine-berry seedling multiplication
图 3. IBA/6-BA 激素配比对草莓芽苗增殖的影响

Table 2. Effect of different exogenous hormones ratio to pine-berry seedling reproduction efficiency
表 2. 不同激素配比对草莓芽苗快繁的影响

培养基	激素配比浓度(mg/L)			接种数	成活率	生长状况
	IBA	NAA	6-BA			
MS	0.05	-	1.5	16	0%	全部死亡
MS	0.05	-	1.0	16	60%	生长速度快
MS	0.05	-	0.5	16	100%	生长快、苗壮
MS	-	0.1	1.0	16	32%	长势缓慢
MS	-	0.1	0.5	16	56%	长势一般

等[11]通过实验认为 0.2 mg/L 6 的实验表明 6-BA 对茎尖发育有抑制作用。刘卫平等[12]实验的结果表明 6-BA 的浓度越高,分化芽越多,但随浓度的升高,形成玻璃化苗的可能性增大。本实验结果表明,高浓度 6-BA 对茎尖诱导有抑制作用,其浓度梯度的变化使得茎尖萌发状况不同,在低浓度 6-BA 培养基上诱导的茎尖,萌芽快速,苗壮且丛生。其中最合适诱导草莓茎尖萌发的培养基为含有 0.5 mg/L 6-BA 的 MS 培养基,即保证了白草莓茎的伸长同时能加速其分化。

在草莓增殖实验中,李晓亮等[13]研究表明,当 6-BA > 1.0 mg/L、NAA > 0.01 mg/L 或 NAA > 0.05 mg/L、IBA > 0.1 mg/L 时,会直接影响“鬼怒甘”草莓的形态发育(分化、增殖),表现诸如植物分化为愈伤组织、植物玻璃化等问题,更适合工厂化育苗,最适草莓增殖继代的培养基为 MS + 6-BA 0.5~1.0 mg/L + NAA 0.01~0.05 mg/L + 白砂糖 20~30 g/L。本实验结果表明,最适增殖的培养基为 MS + 0.05 mg/L IBA + 0.5 mg/L 6-BA,增殖系数,苗高 3 cm,丛生且根系发达。经以上两培养基对比可得,草莓增殖最适的 6-BA 浓度皆为 0.5 mg/L,而细胞分裂素不同,可能由于不同品种的缘故,白草莓更适合在含有 IBA 的激素条件下良好的生长,在含有 NAA 培养基内,已由本实验的到验证,生长缓慢,且会出现愈伤组织的现象,影响白草莓生长速度,因此本实验中最适合白草莓生长的培养基为 MS + 0.05 mg/L IBA + 0.5 mg/L 6-BA。

本实验建立了一个适合“白草莓”茎尖萌发及组培苗增殖的快繁体系。应用茎尖培养,实现了白草莓脱毒的目的,增强该草莓品种的品质,加速生长速率,提高了增殖系数,为该品种实现了工厂化育苗加快繁育推广,提供了技术支持。

参考文献 (References)

- [1] 黄小飞. 浅谈丹东地区草莓生产现状及未来发展方向[J]. 农民致富之友, 2014(16): 20.
- [2] 雷家军. 我国草莓生产现状与展望[J]. 中国果树, 2001(1): 49-51.
- [3] 周厚成, 何水涛. 草莓病毒病研究进展[J]. 果树学报, 2003, 20(5): 421-426.
- [4] 何欢乐, 阳静, 蔡润, 潘俊松. 草莓茎尖培养脱毒效果研究[J]. 北方园艺, 2005(5): 79-81.
- [5] 高遐虹, 李梅. 提高草莓茎尖组织培养脱毒效率的研究[J]. 中国果树, 1994(2): 5-6.
- [6] 于丽杰, 崔继哲. 草莓脱病毒苗的诱导及其光合特性研究[J]. 植物研究, 1995, 15(2): 263-268.
- [7] 晁慧娟, 刘敏, 姬谦龙, 等. “甜查理”草莓茎尖培养与快速繁殖研究[J]. 北京农学院学报, 2008, 23(2): 24-27.
- [8] 朴日子, 曹后男, 宗成文. 影响“达赛莱克特”草莓茎尖培养因素的研究[J]. 延边大学农学学报, 2009, 31(3): 184-187.
- [9] Kozai, T., Kubota, C. and Jeong, B.R. (1997) Environmental Control for the Large Scale Production of Plants through *in Vitro* Techniques. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **51**, 49-56. <https://doi.org/10.1023/A:1005809518371>
- [10] 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.
- [11] 郝文胜, 赵永秀, 赵清辉, 张朝霞. 我国马铃薯茎尖培养脱毒和脱毒试管苗微繁研究进展[J]. 内蒙古农业科技, 2005(增刊): 27-33.
- [12] 刘卫平, 李玉华, 孙秀梅, 王福兴. 马铃薯离体茎尖生长点对几种培养因子的生长反应[J]. 中国马铃薯, 2001(2): 81-82.
- [13] 李晓亮, 张军云, 张钟, 等. 草莓茎尖组织培养和快繁体系的建立[J]. 作物杂志, 2016(4): 68-74.

期刊投稿者将享受如下服务：

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：br@hanspub.org