

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201701005

引文格式: 金美芳, 曹智, 蔡俊杰, 等. 红花草莓的组织培养与快繁技术研究 [J]. 广西植物, 2017, 37(11):1395-1405  
JIN MF, CAO Z, CAI JJ, et al. Tissue culture and rapid propagation technique of red-flowered strawberry [J]. *Guihaia*, 2017, 37(11): 1395-1405

## 红花草莓的组织培养与快繁技术研究

金美芳<sup>1,2</sup>, 曹智<sup>1,2</sup>, 蔡俊杰<sup>1</sup>, 林茂兹<sup>1,2\*</sup>

(1. 福建师范大学 福清分校 海洋与生化工程学院, 福建 福清 350300; 2. 近海流域环境测控治理  
福建省高校重点实验室(福建师范大学 福清分校), 福建 福清 350300)

**摘要:** 以红花草莓叶片为外植体, 通过筛选诱导愈伤组织、不定芽及壮苗、生根的培养基, 建立一套实用且易推广的红花草莓组培快繁技术体系。结果表明: 在愈伤组织的诱导过程中 TDZ 的诱导效果优于 6-BA, TDZ 与 NAA 配合使用效果优于与 IBA 的组合。6-BA 浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时不定芽诱导率高达 86.6%。低浓度的 6-BA 和  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的琼脂更有利于壮苗培养, NAA 比 IBA 更有利诱导生根。综上所述, 最适红花草莓愈伤组织的诱导培养基为  $\text{MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ TDZ} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 蔗糖} + 7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 琼脂}$ ; 最适不定芽分化的培养基为  $\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 6-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 蔗糖} + 7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 琼脂}$ ; 最适壮苗培养基为  $\text{MS} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 6-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 蔗糖} + 8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 琼脂}$ ; 最适生根培养基为  $\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 蔗糖} + 8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 琼脂}$ 。试管苗移栽生长 20 d 后, 成活率高达 93%, 且后期草莓苗生长健壮。此体系的建立为优质红花草莓种苗大规模生产提供了科学依据和技术支持。

**关键词:** 红花草莓, 组织培养, 快繁技术

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)11-1395-11

## Tissue culture and rapid propagation technique of red-flowered strawberry

JIN Mei-Fang<sup>1,2</sup>, CAO Zhi<sup>1,2</sup>, CAI Jun-Jie<sup>1</sup>, LIN Mao-Zi<sup>1,2\*</sup>

(1. School of Ocean Science and Biochemistry Engineering, Fuqing Branch of Fujian Normal University, Fuqing 350300, Fujian, China; 2. Key Laboratory of Measurement and Control System for Coastal Basin Environment, Fujian Province University (Fuqing Branch of Fujian Normal University), Fuqing 350300, Fujian, China)

**Abstract:** We used leaves of red-flowered strawberry as materials, by selecting the best medium for the callus induction, adventitious bud induction and root growth to establish a rapid propagation technique system of red-flowered

收稿日期: 2017-04-07 修回日期: 2017-04-22

基金项目: 国家自然科学基金(31370589); 福建省教育厅 A 类项目基金(JA14340) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31370589); Educational Commission of Fujian Province(JA14340)]。

作者简介: 金美芳(1978-), 女, 甘肃兰州人, 硕士, 副教授, 主要从事植物组织培养及植物污染生理生态研究, (E-mail) 150176358@qq.com。

\* 通信作者: 林茂兹, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事环境生态学研究, (E-mail) dragonlmz@163.com。

strawberry. The results showed that TDZ was better than 6-BA in the induction of callus, and TDZ and NAA combination had better effects than TDZ and IBA. When the concentration of 6-BA was  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , the inductivity of adventitious bud reached 86.6%. The low 6-BA concentration and  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  agar were beneficial for seedling growth. NAA was better than IBA in the rooting inducing. So the optimum medium for callus inducing was: MS +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  agar; the optimum medium for adventitious bud inducing was MS +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  agar; the optimum medium for seedling growth was MS +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose +  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  agar; the optimum medium for rooting was MS +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sucrose +  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  agar. The tissue culture seedlings grew well and the living ratio reached 93% after planted for 20 d. The establishment of rapid propagation technique system of red-flowered strawberry provides scientific and technological support for large-scale production of high quality red-flowered strawberry seedlings.

**Key words:** red-flowered strawberry, tissue culture, rapid propagation

红花草莓是蔷薇科 (Rosaceae) 草莓属 (*Fragaria*) 多年生草本植物, 是利用开白花的草莓与开红花的委陵菜进行属间杂交得到的开粉色或红色花的草莓杂种, 是草莓家族的新类型 (闫玉华等, 2005)。红花草莓一季或四季开花、花色艳丽、叶色浓绿、花期长、且果实还可鲜食, 可用作园林绿化和盆栽观赏, 极具观赏性和商业价值, 目前红花草莓作为观赏植物在欧美各国得到广泛应用 (薛莉等, 2012)。近年来, 我国草莓生产发展迅速, 种植面积和产量已跃居世界首位 (顾地周等, 2010), 成为我国很多地方重点发展的高效特色农业之一, 红花草莓我国也引进其多个品种, 大力生产发挥其在园林花卉方面的应用。

种苗是草莓生产的一个重要前提。传统草莓繁殖方式主要靠匍匐茎分株提供种苗, 在长期营养繁殖和连作中, 植株往往积累多种病毒, 导致种苗退化, 产量和品质下降, 而且繁殖系数低、速度慢, 不利于优良品种推广, 不能满足大规模生产的需求, 已成为阻碍草莓生产的主要问题 (潘超等, 2005; 张玉君等, 2009; 韩柏明等, 2009; 钟灼仔等, 2010; 王振磊等, 2012)。草莓组培苗在植物学性状、果实性状、丰产性及抗病性等方面均优于自繁苗, 其产量可比自繁苗增产 30% 以上, 采用植物组培手段进行草莓种苗繁育具有显著的提纯复壮作用 (郭月玲等, 2010)。另外, 植物组织培养技术为观赏植物的品种改良和新品种选育提供了新途径 (王瑛华等 2015), 它可以不受时间和空间的限

制, 短时间内加大繁殖数量, 加快优良品种的繁殖周期, 满足大规模工厂化生产的需求, 也可以减少病毒、恢复种性、提高产量与质量等等 (朱海生等 2013)。还可以调动种植的积极性, 为农民增收, 增加农业经济收入, 加快我国农业技术产业的发展。

草莓主要的组织培养方式有茎尖培养、叶片培养、花粉花药培养和原生质体培养, 利用叶片进行组织培养时取材更为方便, 同时还能够较大的保存植株的遗传特性 (孙瑞芬等, 2002)。国内更多的研究在于草莓的茎尖繁殖 (牟彤等, 2010; 王振磊等, 2012; 翟婷婷等, 2015), 对于叶片繁殖的研究较少, 另外红花草莓引进后其大规模种苗生产技术还不完善。因此, 本文以极具观赏性的红花草莓叶片为材料, 对其进行组织培养与快繁技术研究, 建立一套简单且易推广的红花草莓组培快繁技术体系, 为红花草莓优质种苗大规模生产提供科学依据和技术支持, 也为红花草莓新品种选育奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

红花草莓 (购买于福清草莓种植园), 在实验室培养间培养 20 d, 以降低环境中携带的微生物数量。

### 1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒与制备 摘下新鲜嫩叶先用

自来水冲洗干净浮尘等杂物,再用 10% 洗洁精水浸泡 1 min 后流水冲洗 1 h。冲洗后放在超净工作台内用浓度为 75% 酒精浸泡 30 s,然后用浓度为 0.1% 的  $\text{HgCl}_2$  消毒叶片 8 min,再用无菌水冲洗叶片 4~5 次;将经消毒处理好的叶片置于无菌盘上,用接种刀切掉叶片边缘,最后切成约  $0.5\text{ cm} \times 0.5\text{ cm}$  的外植体(保留大叶脉)备用。

**1.2.2 愈伤组织的诱导** 以 MS 加入蔗糖  $30\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂  $7.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH5.8 为基础培养基,研究 6-BA、IBA、TDZ 和 NAA 四种激素对草莓叶片愈伤组织的诱导效果,设定浓度分别是 6-BA 1.0 和  $2.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,IBA 为 0.1、0.2、0.4 和  $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,TDZ 为 1.0 和  $1.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,NAA 为  $0.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,不同激素组合形成 10 组不同处理,分别标记为 A1~A10。每个处理接种 30 瓶,每瓶接 1 个外植体,置于组织培养间进行培养。培养温度为  $(24 \pm 1)^\circ\text{C}$ ,光照时间为  $12\text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ,光强为  $2\ 000\text{ lx}$ 。每天观察实验现象,30 d 后统计愈伤组织的诱导率及生长状况。

诱导率(%)=愈伤组织个数/接种的外植体个数 $\times 100\%$ 。

**1.2.3 不定芽的诱导** 将诱导出的愈伤组织接种于含有 MS 培养基,蔗糖  $30\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂  $7.0\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  pH 为 5.8 的基本培养基,研究加入不同浓度的 6-BA 对愈伤组织不定芽的诱导情况。6-BA 浓度设定为 0.1、0.3、0.5、和  $0.8\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  四个处理,分别标记为 B1~B4。每个处理接种 30 块愈伤组织,每瓶接 1~2 块。30 d 后统计不定芽诱导情况,不定芽诱导率(%)=长出不定芽个数/愈伤组织个数 $\times 100\%$ 。

**1.2.4 壮苗培养** 取诱导出的、长势较好且一致的不定芽,剔除褐化愈伤组织和幼嫩的小叶片,接种于含有琼脂和 6-BA 两个变量的 MS + 蔗糖  $30\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  +  $0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA, pH 5.8 培养基中,琼脂设定浓度为 7 和  $8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,6-BA 的浓度分别为 0.1、0.3、0.5 和  $0.8\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,两种组合形成 8 个处理,分别标记为 C1~C8,每个处理接种 30 株,每瓶接 1~2 株。25 d 后统计小苗的生长情况。

**1.2.5 生根培养** 将新生的 2~3 cm 长的小苗接种到以 MS、琼脂  $8\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为基础培养基,分别加入浓度为 0.1、0.3、0.5 和  $0.7\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IBA 和浓度为 0.1、0.3、0.5 和  $0.7\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 NAA,研究其对新生

苗生根诱导情况。两种激素各 4 个浓度共形成 8 个处理,分别标记为 D1~D8。每个处理接种 30 株,每瓶接 1~2 株。每天观察,25 d 后统计小苗的生根情况。

**1.2.6 组培苗的驯化与移栽** 当根长至 2~3 cm 时,将组培苗从培养室移出,置于与培养室温度接近的种苗培养室,拧松瓶盖,对组培苗进行温度和湿度炼苗,3~4 d 后打开瓶盖,喷 4% 多菌灵,之后每隔一天喷一次,约 1 周后将小苗小心地取出,清水洗干净小苗的根系,移栽到盛有已灭菌基质(营养土:珍珠岩:蛭石=7:3:1)的小塑料杯中,再用透明薄膜盖住杯口保湿 7 d,湿度保持在 70%~80%。每天揭开薄膜通风,保持温度在  $20\sim 25^\circ\text{C}$ ,光照时间: $12\text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ,光强: $2\ 000\text{ lx}$ ,20 d 后统计小苗成活率及生长状况。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素对叶片愈伤组织诱导的影响

外植体培养 25 d 后,叶片开始膨大,切口边缘向内卷曲,颜色变浅。30 d 后,明显可见愈伤组织形成并迅速膨大,叶片切口边缘以及叶片表面形成较多的愈伤组织,不同培养基的愈伤组织生长情况如图 1 所示。由图 1 和表 1 可知,在不同的处理中,A1~A4 四种培养基长出的愈伤组织多,无明显褐化现象,且愈伤组织质地较为疏松,其中 A1、A2 两种培养基在同一外植体上所诱导的愈伤组织比 A3、A4 两种培养基诱导的多,但是从诱导率来看,A2 处理的诱导率最高,达到 60%。相对于前 4 个处理,A5~A10 六种培养基的愈伤组织褐化严重,且愈伤组织诱导效果较差,A10 虽然诱导率也比较高,达到 50%,但是愈伤组织质地较差。继续选用 A1~A4 四种培养基进行愈伤组织的继代培养,20 d 后愈伤组织的生长情况如图 2 所示,愈伤组织生长都较好,A2 培养基所扩大的愈伤组织依然长得最好,无褐化现象,体积大,质地疏松湿润,颜色为淡黄色。这说明在红花草莓叶片愈伤组织的诱导过程中 TDZ 的诱导效果优于 6-BA,  $1.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ 的使用效果优于  $1.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , TDZ 与 NAA 配合使用效果优于与 IBA 的组合使用。

表 1 不同激素组合对红花草莓叶片愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of different hormone combinations on the callus inducing of red-flowered strawberry

处理 Treatment	激素组成及浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Composition and concentration of hormone				外植体 数量 Number of explant	愈伤组织 个数 Number of callus	诱导率 Inductivity (%)	愈伤组织生长状况 Growth condition of callus
	TDZ	6-BA	NAA	IBA				
A1	1.5		0.5		30	15	50.0	愈伤组织较多,质地较疏松,为淡红色,无褐化 Callus were relatively big and loose, light red, no browning
A2	1.0		0.5		30	18	60.0	愈伤组织多,质地较疏松,为淡黄色,无褐化 Callus were big and relatively loose, light yellow, no browning
A3	1.5			0.4	30	17	56.7	愈伤组织较多,质地较疏松,为黄绿色,无褐化 Callus were relatively big and loose, yellow and green, no browning
A4	1.0			0.4	30	13	43.3	愈伤组织较少,质地较紧密,为淡黄色,褐化程度低 Callus were relatively few and tight, light yellow, little browning
A5		1.0		0.1	30	9	30.0	愈伤组织少,质地紧密,为红白色,褐化程度较低 Callus were few and tight, red and white, little browning
A6		1.0		0.2	30	2	6.7	愈伤组织较少,质地紧密,为红褐色,褐化程度较高 Callus were few and tight, red brown, serious browning
A7		1.0		0.5	30	2	6.7	愈伤组织很少,质地紧密,为红褐色,褐化程度较高 Callus were little and tight, red brown, serious browning
A8		2.0		0.1	30	5	16.7	愈伤组织很少,质地紧密,为黄褐色,褐化程度较高 Callus were little and tight, yellow brown, serious browning
A9		2.0		0.2	30	10	33.3	愈伤组织很少,质地紧密,为黄褐色,褐化程度较高 Callus were little and tight, yellow brown, serious browning
A10		2.0		0.5	30	15	50.0	愈伤组织很少,质地紧密,为黄褐色,褐化程度较高 Callus were little and tight, yellow brown, serious browning

$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 的诱导效果要比  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的诱导效果好。因此,选择红花草莓叶片愈伤组织诱导的最佳培养基为  $\text{MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂。

## 2.2 不同激素对愈伤组织不定芽诱导的影响

在 不定芽诱导培养基中,愈伤组织光照培养 15 d 后,不定芽开始分化。随着培养时间的延长不定芽数量不断增加,30 d 后不定芽诱导情况如图 3 所

示,数据统计结果如表 2。随着培养基中 6-BA 浓度的升高,不定芽的诱导率增加,在 B3 处理中 6-BA 浓度为  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时不定芽诱导率高达 86.6%,比 B1、B2 的诱导率分别高出 43.6% 和 13.3%。但在 B4 处理中不定芽的诱导率反而下降,且与  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度的诱导效果呈显著差异,其诱导率与 B1 处理的相似。可见,在 不定芽的诱导中,不是激素的浓度越高越好,太低浓度的 6-BA 不能很好的启动



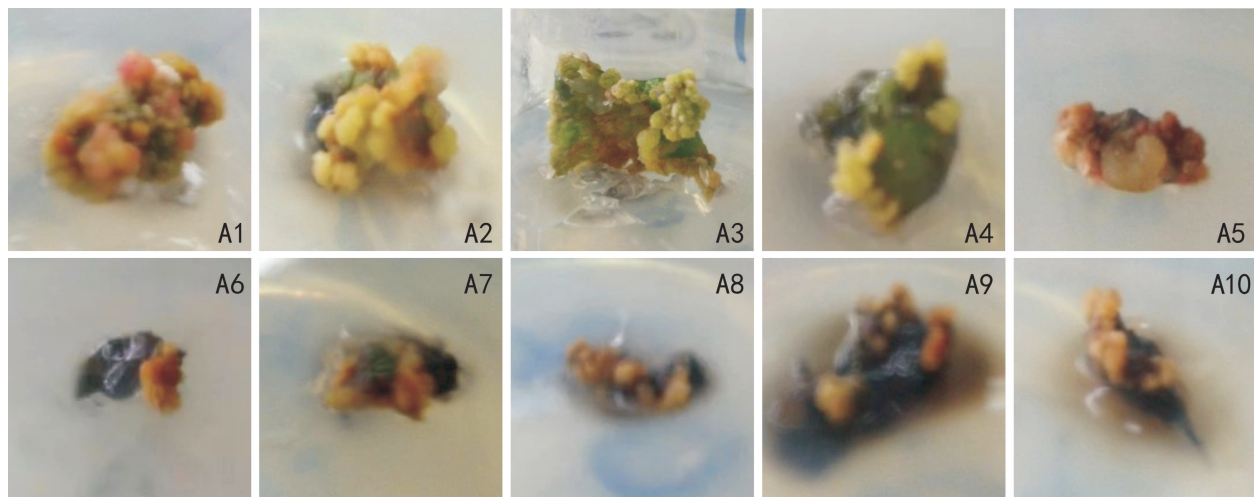


图 1 不同激素组合诱导对红花草莓叶片愈伤组织诱导的影响

Fig. 1 Effects of different hormone combinations on the callus inducing of red-flowered strawberry

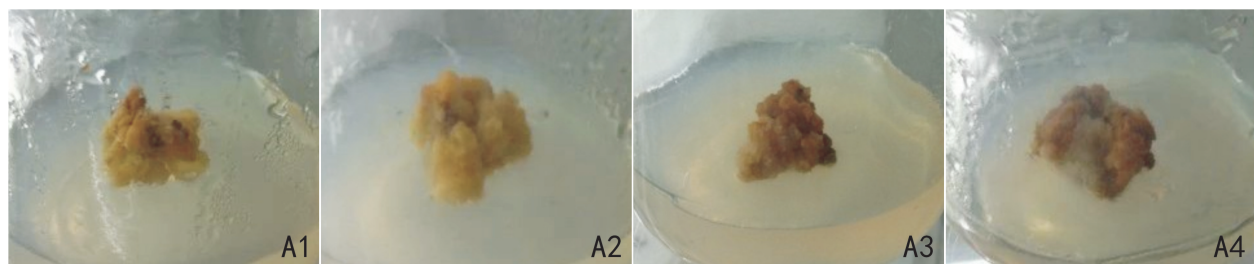


图 2 四种优良培养基继代诱导后的愈伤组织

Fig. 2 Subculture of callus by using four fine medium compositions

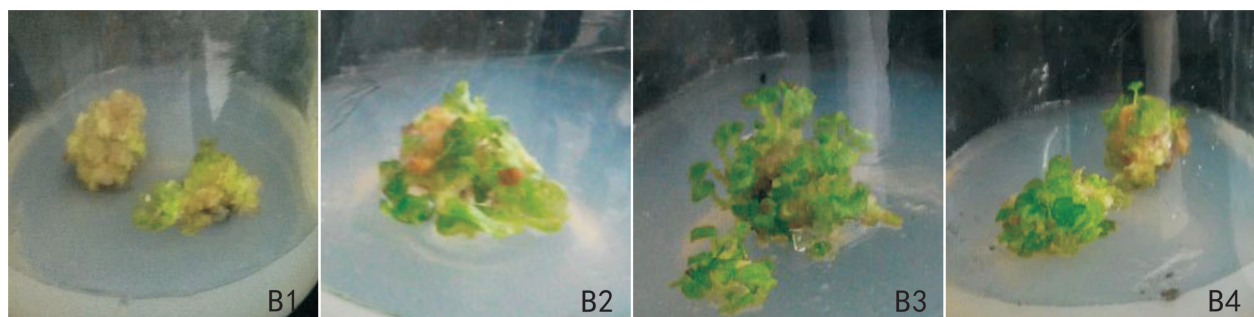


图 3 不同浓度的 6-BA 对不定芽的诱导

Fig. 3 Effects of different concentrations of 6-BA on the adventitious bud culture of red-flowered strawberry

芽的分化,但是 6-BA 的浓度过高主要诱导愈伤组织的形成,不利于芽的分化。因此,选择红花草莓

愈伤组织不定芽的诱导最佳培养基为 B3 处理,即  $MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 30 \text{ g} \cdot$

表 2 不同浓度的 6-BA 对愈伤组织不定芽的诱导

Table 2 Effects of different concentrations of 6-BA on the adventitious bud culture of red-flowered strawberry

处理 Treatment	激素浓度 Concentration of hormone ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		愈伤组织数 Number of callus	不定芽数 Number of adventitious bud	诱导率 Inductivity (%)	生长状况 Growth condition
	6-BA	NAA				
B1	0.1	0.1	30	12	40.0	愈伤组织增大,不定芽较少,长势较弱,颜色黄绿 Callus increased, the adventitious buds were few, weak and yellow green
B2	0.3	0.1	30	22	73.3	诱导出较多的不定芽,颜色较黄绿,小叶片舒展 Adventitious buds were more, and yellow green, leaf stretch
B3	0.5	0.1	30	26	86.6	不定芽多且茂盛,颜色翠绿,小叶片舒展 Adventitious buds were more and flourish, leaf green and stretch
B4	0.8	0.1	30	14	46.7	诱导出较多的不定芽,颜色较绿,小叶片舒展 Adventitious buds were more and green, leaf stretch

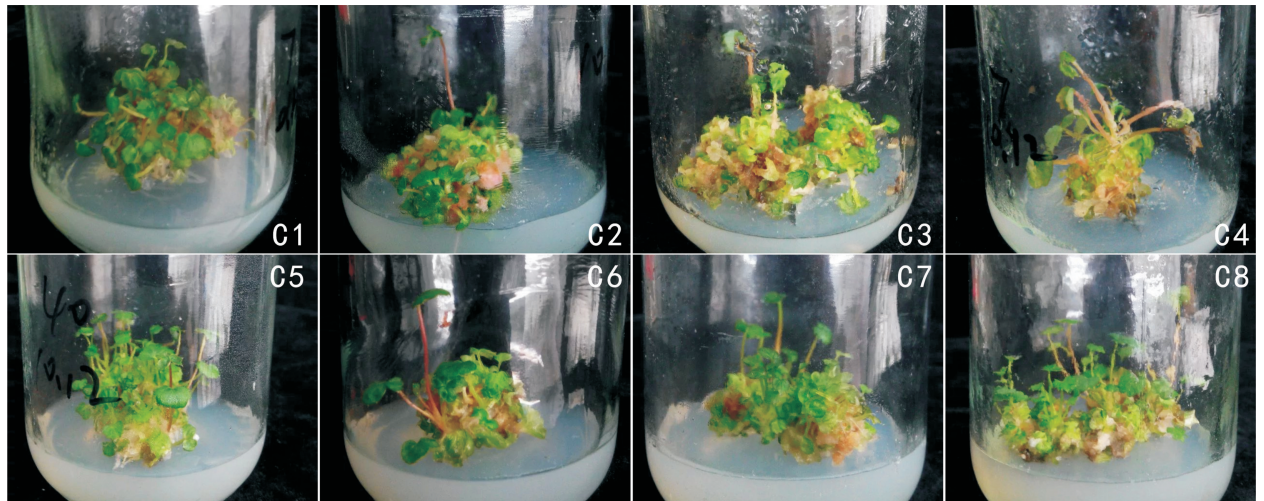


图 4 不同浓度的 6-BA 和琼脂对草莓的壮苗效果

Fig. 4 Effects of different concentrations of 6-BA and agar concentrations on seedling growth of red-flowered strawberry

$\text{L}^{-1}$ 蔗糖 +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂。

### 2.3 不同浓度 6-BA 和琼脂对草莓壮苗的影响

将已分化的小苗接种于不同的壮苗培养基中培养,随培养时间延长小苗数量不断增加,增大。25 d 后统计小苗的生长情况,由图 4 和表 3 可知,加入琼脂的量会影响小苗的生长,在琼脂浓度为  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  C1~C4 处理中的小苗生长速度相对琼脂浓度  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  C5~C8 处理的弱,叶片较薄,叶色浅绿,苗的

玻璃化程度较高。在 C1, C5 处理中,6-BA 浓度较低,幼苗长势更好,叶色浓绿,叶片较大。可能是经诱导产生的组培苗本身激素含量较高,在壮苗培养中低浓度的 6-BA 就可以很好地促进生长,高浓度反而容易促使苗愈伤组织的生长和玻璃化苗的产生。另外激素浓度使用高,生产成本也相应的增加。因此,选择最适宜壮苗培养基为 C5 培养基,即  $\text{MS} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot$

表 3 不同浓度 6-BA 和琼脂对草莓壮苗的影响

Table 3 Effects of different concentrations of 6-BA and agar on the seeding growth of red-flowered strawberry

处理 Treatment	激素组成及浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) Composition and concentration of hormone		琼脂含量 Content of agar ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )	玻璃化程度 Vitrification phenomenon	长势速度 Growth rate of seedling	粗壮程度 Flourishing level of seedling
	6-BA	NAA				
C1	0.1	0.1	7	++	* *	#
C2	0.3	0.1	7	++	*	#
C3	0.5	0.1	7	+++	* *	#
C4	0.8	0.1	7	++	* *	#
C5	0.1	0.1	8	+	* * *	##
C6	0.3	0.1	8	++	* * *	##
C7	0.5	0.1	8	++	* *	#
C8	0.8	0.1	8	++	* * *	##

注: + 苗玻璃化现象弱; ++ 苗玻璃化现象较明显; +++ 苗玻璃化现象很明显; \* 苗生长慢; \*\* 苗生长较快; \*\*\* 苗生长茂盛; # 苗长的一般; ## 苗长的比较粗壮。

Note: + Poor vitrification phenomenon of seedling; ++ Obvious vitrification phenomenon of seedling; +++ Very obvious vitrification phenomenon of seedling; \* Slow growth of seedling; \*\* Faster growth of seedling; \*\*\* Flourish of seedling; # Normal state of seedling; ## More burly of seedling.

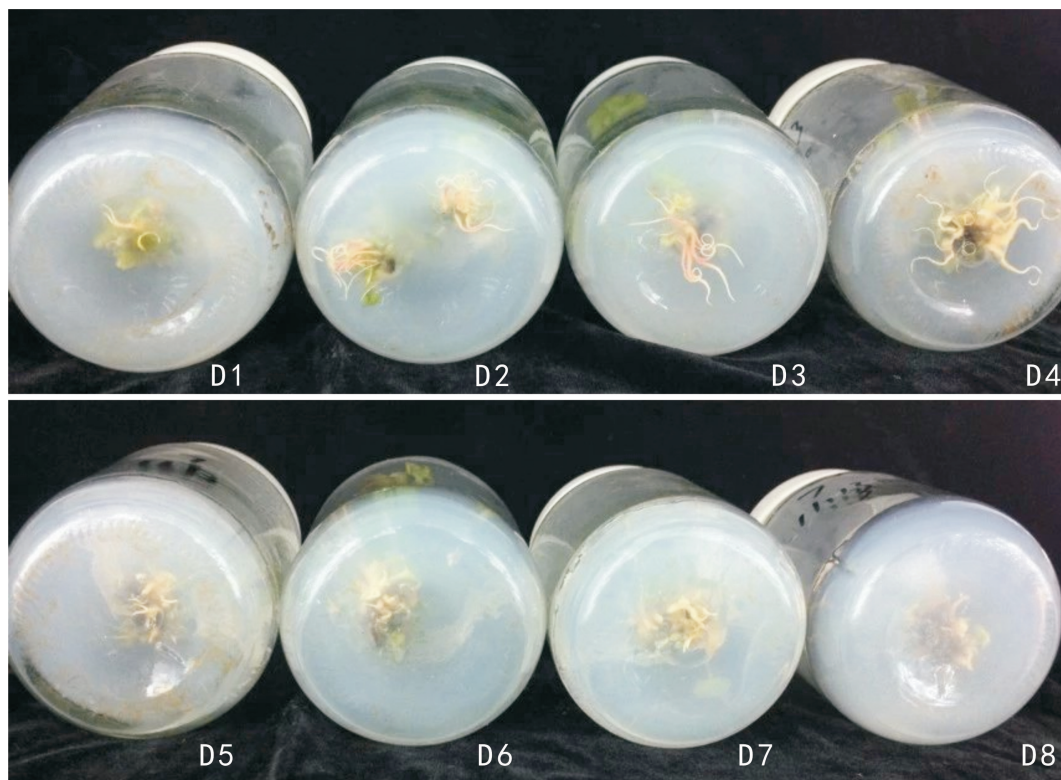


图 5 不同浓度的 NAA 和 IBA 对草莓试管苗生根的影响

Fig. 5 Effects of different concentrations of NAA and IBA on the rooting of red-flowered strawberry



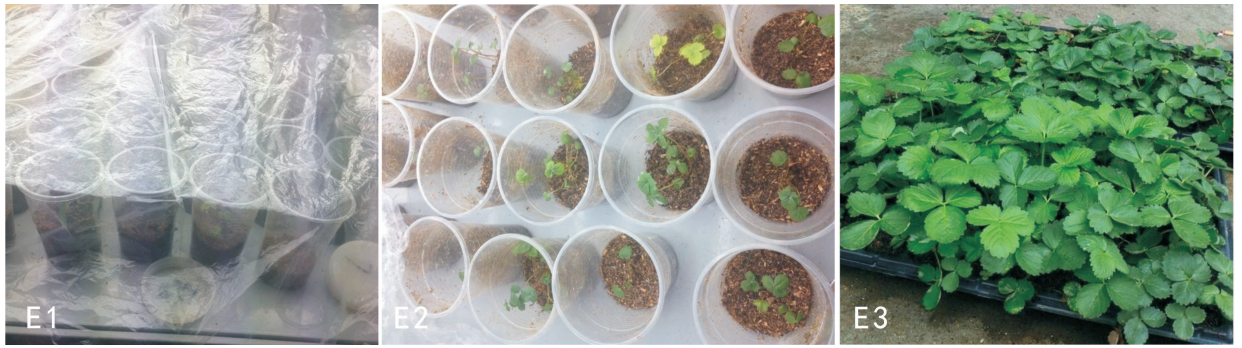


图 6 组培苗的移栽生长情况 E1. 刚移栽的小苗; E2. 成活的苗; E3. 生长后两个月的苗。

Fig. 6 Growth phenomenon of tissue cultured seedlings of red-flowered strawberry E1. Just transplanting seedlings; E2. Survival seedlings; E3. Seedlings after growing for two months.

$L^{-1}$ 蔗糖 +  $8 g \cdot L^{-1}$ 琼脂。

#### 2.4 不同激素对草莓生根的影响

在生根培养基中,草莓苗培养 18 d 后分化出根,随培养时间延长根的数量不断增加。25 d 后统计草莓苗的生根情况,由图 5 和表 4 可知,D1~D4 中加入 NAA 诱导的组培苗根的长势和根系发达程度比 D5~D8 中加入 IBA 的诱导效果好。在 NAA 浓度为  $0.1 \sim 0.7 mg \cdot L^{-1}$  的浓度范围内,随着 NAA 的浓度升高根系诱导效果增强,但 D3 的诱导效果与 D4 的差异不明显。而加入 IBA 的培养基中,根系诱导较差,根很短,且数量少,不同浓度的 IBA 中其诱导差异也不明显。说明在红花草莓生根诱导中 NAA 的诱导效果远远优于 IBA 的诱导效果。另外,综合激素使用成本考虑,选择最适宜草莓生根的培养基为 D3:MS +  $0.5 mg \cdot L^{-1}$  NAA +  $30 g \cdot L^{-1}$ 蔗糖 +  $8 g \cdot L^{-1}$ 琼脂。

#### 2.5 草莓植株移栽

草莓组培苗共移栽 43 株(图 6:E1),培养 20 d 后,有 3 株草莓苗叶片发黄,接近枯萎,其余 40 株叶片鲜绿高壮(图 6:E2),成活率高达 93%。生长后期草莓苗硕壮,色绿,健康(图 6:E3)。

### 3 讨论与结论

外植体基因型、表型、叶龄,取材部位以及激素的组成、配比等是影响草莓再生的主要因子,因

表 4 不同浓度的 NAA 和 IBA 对草莓试管苗生根的影响  
Table 4 Effects of different NAA and IBA concentrations on the rooting of red-flowered strawberry

处理 Treatment	激素组成及浓度 Composition and concentration of hormone ( $mg \cdot L^{-1}$ )		根生长 速度 Growth rate of root	根系发达 程度 Flourishing level of root system
	NAA	IBA		
D1	0.1		+	*
D2	0.3		++	* * *
D3	0.5		+++	* * *
D4	0.7		+++	* * *
D5		0.1	+	*
D6		0.3	+	*
D7		0.5	+	*
D8		0.7	+	*

注: + 根生长缓慢; ++ 根生长较快; +++ 根生长很快; \* 根系较少; \* \* \* 根系繁茂。

Note: + Poor growth of root; ++ Faster growth of root; +++ Fastest growth of root; \* Poor of root system; \* \* \* Flourish of root system.

此在组培实践中,应根据外植体的基因型,性状等选择适宜的外源调节物质浓度及种类的配比。用于草莓组培的材料主要有茎尖、叶片、花药花粉和原生质体。一般以草莓匍匐茎茎尖为材料的研究较多,本实验以草莓叶片做为外植体,与之相比较



取材更为方便,数量也比较多,可以随时采集。

愈伤组织及不定芽诱导在组培快繁中至关重要。本研究结果表明,在红花草莓叶片愈伤组织的诱导过程中 TDZ 的诱导效果优于 6-BA,  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ 的使用效果优于  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , TDZ 与 NAA 配合使用效果优于与 IBA 的组合使用。  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 的诱导效果要比  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的诱导效果好,故选择愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS +  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  TDZ +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂,不定芽的诱导培养基为 MS +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂。关于基本培养基的选择,郭朋伟等(2013)也认为 MS 是最佳增殖培养基。马崇坚等(2008)以丰香草莓叶片为外植体,得出 MS + 6-BA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  培养基最快产生愈伤组织,且愈伤组织体积较大,不定芽的数量最多。朱海生等(2013)研究结果表明,‘福莓一号’叶片最佳芽诱导培养基为 MS +  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D,诱导率可达 85.7%,‘红实美’叶片最佳芽诱导培养基为 MS +  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 诱导率可达 81.9%。杨仕品等(2013)研究得出草莓红颊和章姬叶片在 MS + B5 + TDZ  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  培养基上不定芽的再生情况均较好。王翡等(2010)和朱丽君等(2014)研究表明不同品种草莓叶片对植物生长调节剂的种类和浓度的要求皆不同,TDZ 效果明显优于 6-BA。李晓亮等(2016)以芽为外植体,得出适合初代培养的培养基为 MS + 6-BA  $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 白砂糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,增殖继代培养基为 MS + 6-BA  $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.01 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 白砂糖  $20 \sim 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。本研究与之相比较,在激素的种类,浓度选择上有着相似的地方,在愈伤组织的诱导中选择了新型激素 TDZ,具有很强的细胞分裂素活性,能够更好地促使愈伤组织产生;在芽诱导中 6-BA 的使用浓度较上述文献低,这个可能是因为选用的经 TDZ 诱导过的愈伤组织本身含有的激素浓度高,更有利于诱导芽的产生。另外,愈伤组织与芽外植体不同,激素的使用浓度也会存在一定的差异,但在芽的诱导中 6-BA 都是比较理想的激素。

组培苗生长的健壮程度对其移栽成活率有很大的影响,玻璃化苗是组培苗中常出现的现象,严重制约着组培苗的移栽成功。本研究在壮苗和生根培养基中将琼脂的用量从  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,相比较加有  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂的培养基有效缓解了试管苗的玻璃化现象,且苗生长比较健壮;在激素的选择上,结果显示最佳壮苗激素浓度是  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA,低浓度的 6-BA 就可以很好的促进生长,高浓度反而容易促使苗愈伤组织的生长,或是苗的丛生芽过密和玻璃化苗的产生,这与李金华等(2014)和付崇毅等(2016)的研究结果相一致。根系的发达程度也是影响苗移栽成功的关键因素,本研究结果显示最佳的生根培养基是 MS +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖 +  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  琼脂,NAA 的诱导效果明显优于 IBA。吕树立等(2010)研究得到草莓生根培养基  $1/2\text{MS} + 6\text{-BA } 0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;庞传明和李忠(2015)研究得出草莓的生根培养基为  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA;翟婷婷等(2015)得到最适宜章姬生根的培养基是  $1/2\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA,最适宜丰香生根的培养基是 MS +  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA。本研究与之相比较,激素的选择上 NAA 的效果比 IBA 的效果好,在浓度的使用上相类似,主要区别在于大部分在生根诱导中使用了  $1/2\text{MS}$  培养基。可见,在植物组织培养生根阶段,减少培养基中营养成分和糖含量可刺激生根,原因可能是在培养基中营养元素浓度较高,试管苗产生依赖不易生根(陈继富,2013)。而本研究中使用的是 MS 基础浓度,琼脂浓度提高到了  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,增加培养基硬度,减少了试管苗对培养基中营养物质吸收,在一定程度上与上述几位研究者降低基础培养基浓度有着相似的作用,还可以减少试管苗对水分的吸收,有效减缓了试管苗常见的玻璃化现象。通过实验获得的试管苗移栽生长 20 d 后,成活率高达 93%,且后期草莓苗生长健壮。但是与  $1/2 \text{MS}$  相比较提高了规模化生产的成本,这也是本实验的不足之处,后期根据具体情况适当调整。

通过该研究,诱导筛选并建立了一套以红花草莓叶片为外植体的快繁技术体系,研究结果表明:最适宜的红花草莓愈伤组织的诱导培养基为

MS + 1.0 mg · L<sup>-1</sup> TDZ + 0.5 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖 + 7 g · L<sup>-1</sup>琼脂;最适不定芽分化的培养基为 MS + 0.5 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg · L<sup>-1</sup>NAA + 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖 + 7 g · L<sup>-1</sup>琼脂;最适壮苗的培养基为 MS + 0.1 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg · L<sup>-1</sup>NAA + 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖 + 8 g · L<sup>-1</sup>琼脂;最适生根的培养基为 MS + 0.5 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖 + 8 g · L<sup>-1</sup>琼脂。试管苗移栽生长 20 d 后,成活率高达 93%,且后期草莓苗生长健壮。此体系的建立为优质红花草莓种苗大规模生产提供科学依据和技术支持。

## 参考文献:

CHEN JF, 2013. Tissue culture and rapid propagation of seedless *Siraitia grosvenorii* [J]. *Plant Physiol J*, 49(9): 968-972. [陈继富, 2013. 无籽罗汉果的组织培养和快速繁殖 [J]. *植物生理学报*, 49(9): 968-972.]

FU CY, YANG W, WANG JG, et al, 2016. Study on preventing browning and vitrification for strawberry in stem-tip culture [J]. *Inn Mongol Agric Sci Technol*, 44(1):46-51. [付崇毅, 姜伟, 王建国, 等, 2016. 草莓茎尖组织培养防褐化及玻璃化研究 [J]. *北方农业学报*, 44(1):46-51.]

GUO PW, GAO YH, GAO R, et al, 2013. Study on proliferation of virus-free strawberry seeding [J]. *Northern Hortic*, (10):110-113. [郭朋伟, 高晔华, 高日, 等, 2013. “贝吉佳”草莓脱毒苗增殖的研究 [J]. *北方园艺*, (10):110-113.]

GUO YL, XIE ZQ, WANG YP, 2010. Current situation and prospect of strawberry tissue culture in China [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 1(6):1211-1215. [郭月玲, 解振强, 王永平, 2010. 我国草莓组织培养生产研究现状及前景 [J]. *浙江农业科学*, 1(6):1211-1215.]

GU DZ, ZHU JY, FENG Y, et al, 2010. Technology for stolon seedling *in vitro* of strawberry and virus eradication by combining the high temperature treatment with shoot tip culture [J]. *NW A & F Univ (Nat Sci Ed)*, 11(38):89-94. [顾地周, 朱俊义, 冯颖, 等, 2010. 草莓试管内诱导匍匐茎和高温处理结合茎尖培养脱毒技术研究 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 11(38):89-94.]

HAN BM, LIN H, GAO XY, et al, 2009. Effects of tissue culture and virus elimination on the phenotype of *Fragaria × ananassa* cv. toyonoka [J]. *J Shenyang Agric Univ*, 40(4):400-403. [韩柏明, 李贺, 高秀岩, 等, 2009. 组培条件下脱毒与带毒丰香草莓植株表型的比较 [J]. *沈阳农业大学学报*, 40(4):400-403.]

LI JH, ZENG WY, HUANG Q, et al, 2014. Research on the impact factors of rapid ropagation instrawber cultivar of Hongyan

[J]. *J Wuhan Polytech Univ*, 33(1):30-33 [李金华, 曾万勇, 黄强, 等, 2014. 影响草莓品种“红颜”快速繁殖系数因素研究 [J]. *武汉轻工大学学报*, 33(1):30-33.]

LI XL, ZHANG YY, ZHANG Z, et al, 2016. Tissue culture and rapid propagation of strawberry [J]. *Crops J*, (4):68-74. [李晓亮, 张军云, 张钟, 等, 2016. 草莓茎尖组织培养和快繁体系的建立 [J]. *作物杂志*, (4):68-74.]

LÜ SL, SUN XY, ZHOU YL, et al, 2010. Technique of tissue culture and rapid propagation for strawberry [J]. *Shandong Agric Sci*, 3:109-110 [吕树立, 孙喜云, 周玉玲, 等, 2010. 草莓组织培养与快速繁殖技术 [J]. *山东农业科学*, 3:109-110.]

MA CJ, LÜ SJ, LIAO PY, 2008. Plant regeneration of strawberry leaves of “feng xiang” [J]. *Anhui Agric Sci*, 36(23):9888-9889. [马崇坚, 吕斯君, 廖佩颖, 2008. 丰香草莓叶片的植株再生研究 [J]. *安徽农业科学*, 36(23):9888-9889.]

MOU T, WU X, HU XY, 2010. Effect on different hormone conditions of rapid reproduction technique by tissue culture of strawberry [J]. *Anhui Agric Sci Bull*, 16(5):78, 167. [牟彤, 吴瑕, 胡鑫宇, 2010. 不同激素条件对草莓组培苗快繁的影响 [J]. *安徽农学通报*, 16(5):78, 167.]

PAN C, HUANG WJ, ZHANG XP, et al, 2005. Reacher of tissue culture and rapid propagation for strawberry [J]. *J Biol*, 22(2):27-29. [潘超, 黄文江, 张小平, 等, 2005. 草莓的组织培养与快速繁殖研究 [J]. *生物学杂志*, 22(2):27-29.]

PANG CM, LI Z, 2015. rapid reproduction technique of strawberry [J]. *Shanxi Fruits*, (2):54-55. [庞传明, 李忠, 2015. 草莓组培快繁技术 [J]. *山西果树*, (2):54-55.]

SUN RF, LI TR, LI K, et al, 2002. Study on tissue culture and regeneration plantlet from strawberry leaf [J]. *Acta Agric Boreal Sin*, 17(4):49-53. [孙瑞芬, 李天然, 李埜, 等, 2002. 草莓组培快繁及叶片诱导植株再生研究 [J]. *华北农学报*, 17(4):49-53.]

WANG F, GAO ZH, ZHANG Z, et al, 2010. Establishment of regeneration system of strawberry [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 30(5):1045-1049. [王翡, 高志红, 章镇, 等, 2010. 草莓高效离体叶片再生体系的建立 [J]. *西北植物学报*, 30(5):1045-1049.]

WANG YH, SHI QY, CHEN XW, et al, 2015. Tissue culture and plant regeneration from *Torenia biniflora* [J]. *Guihaia*, 35(2):250-254. [王瑛华, 石秋英, 陈雄伟, 等, 2015. 二花蝴蝶草的组织培养及植株再生 [J]. *广西植物*, 35(2):250-254.]

WANG ZL, YAN FF, WANG J, et al, 2012. Reacher on rapid reproduction technique of strawberry [J]. *Northern Hortic* (11):130-132. [王振磊, 闫芬芬, 王静, 等, 2012. 草莓组培快繁技术研究 [J]. *北方园艺*(11):130-132.]

XUE L, LEI JJ, LIU Y, 2012. Review on pink-flowered strawberry breeding [J]. *J Northeast Agric Univ*, 43(10):172-176. [薛莉, 雷家军, 刘源, 2012. 红花草莓育种研究进展 [J]. *东北农业大学学报*, 43(10):172-176.]

YAN YH, DAI HP, LEI JJ, 2005. Study on red-flowered straw-

- berry (*Fragaria* × *Potentilla*) and its breeding [J]. J Shenyang Agric Univ, 36(5):612-614. [闫玉华, 代汉萍, 雷家军, 2005. 红花草莓及其杂交育种研究 [J]. 沈阳农业大学学报, 36(5):612-614.]
- YANG SP, ZHONG PL, QIAO R, 2013. Effects of different culture factors on regeneration of detached leaves of strawberry [J]. Guizhou Agric Sci, 41(9):30-32. [杨仕品, 钟霖霖, 乔荣, 2013. 不同培养因子对草莓离体叶片再生的影响 [J]. 贵州农业科学, 41(9):30-32.]
- ZHAI TT, LIU CL, YUAN YB, et al, 2015. Rapid propagation system of meristem culture for strawberry [J]. J Anhui Agric Univ, 42(4): 545-548. [翟婷婷, 刘成连, 原永兵, 等, 2015. 草莓茎尖培养快繁体系的研究 [J]. 安徽农业大学学报, 42(4): 545-548..]
- ZHANG YZ, PENG XL, ZHANG ZM, et al, 2009. Tissue culture and virus-free technology of strawberry [J]. J Henan For Sci Technol, 29(1) 73-75. [张玉君, 彭兴龙, 张哲明, 等, 2009. 草莓组织培养与脱毒技术 [J]. 河南林业科技, 29(1) 73-75.]
- ZHONG ZZ, CHEN WS, GAO SL, et al, 2010. Compare on plant characteristic of tissue culture seedlings and the normal seedlings of five strawberry breeds [J]. Bull Agric Sci Technol(6): 84-88. [钟灼仔, 陈文胜, 高绍良, 等, 2010. 5 个草莓品种组培苗与常规苗栽培性状对比 [J]. 农业科技通讯(6):84-88.]
- ZHU HS, HUA XF, LIN H, et al, 2013. Establishment of regeneration and propagation system of strawberry. [J]. Fujian J Agric Sci, 28(3): 227-231. [朱海生, 花秀凤, 林琿, 等, 2013. 草莓离体再生和种苗繁育体系的建立 [J]. 福建农业学报, 28(3):227-231.]
- ZHU LJ, ZHANG XY, YUAN YX, et al, 2014. The research progress of strawberry tissue culture [J]. Liaoning Agric Sci (6):56-58. [朱丽君, 张馨玉, 袁云香, 等, 2014. 草莓组织培养的研究概述 [J]. 辽宁农业科学(6):56-58.]

## 《广西植物》加入中国知网《中国学术期刊(网络版)》 (CAJ-N) 录用定稿网络首发

为了以规范的网络期刊出版方式更快更好地确立作者的科研成果首发权,全面提高学术论文的传播效率和利用价值,我刊现已加入中国知网学术论文录用定稿网络首发平台,通过《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)正式出版我刊网络版。从2017年10月15日起,凡经我刊审定录用的稿件(录用定稿),作者签署论文版权转让协议(在本刊投稿网站提交)后,均将首先在网络版上首发,后视编排情况发布排版定稿和整期汇编定稿,最后由我刊印刷版出版。

来稿要求详见我刊的《投稿指南》。录用定稿网络首发之后,在后续的排版定稿、整期汇编定稿网络版和印刷版中,不得修改论文题目、作者署名、作者单位以及其学术内容,只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

CAJ-N 是国家新闻出版广电总局批准创办、国家教育部主管、清华控股有限公司主办、《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司出版的由我国各类学术期刊组成的连续型网络出版物,国际标准连续出版物号:ISSN 2096-4188,国内统一连续出版物号:CN 11-6037/Z,出版网站为中国知网(www.cnki.net,含移动网络)。按照国家有关网络连续型出版物管理规定,网络首发论文视为正式出版论文,我刊编辑部与电子杂志社共同为论文作者颁发论文网络首发证书。论文作者可以从“中国知网”下载或打印论文和证书,作为正式发表的论文提交人事、科研管理等有关部门。

我刊印刷版出版后,将一次性支付网络版(包括各版本)、光盘版和印刷版稿酬。同时,电子杂志社将以篇为单位,向论文作者提供多项免费服务,具体情况详见2017年10月16日出版的《中国新闻出版广电报》专版与中国知网首页的期刊作者服务栏目。