

## 草莓茎尖培养快繁体系的研究

翟婷婷, 刘成连\*, 原永兵, 屈海泳, 沈俊岭, 刘 强

(青岛农业大学园艺学院, 青岛 266109)

**摘要:** 以‘红颜’和‘甜查理’的匍匐茎茎尖为试材, 诱导出丛生芽后进行增殖培养和生根培养, 研究不同激素浓度及组合对茎尖增殖和生根的影响。结果表明, 最适宜红颜增殖的培养基为 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 最适宜甜查理增殖的培养基为 MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA。最适宜红颜草莓生根的培养基是 1/2 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 最适宜甜查理草莓生根的培养基是 1/2 MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA。

**关键词:** 草莓; 茎尖培养; 快繁

中图分类号: S668.4

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2015)04-0545-04

### Rapid propagation system of meristem culture for strawberry

ZHAI Tingting, LIU Chenglian, YUAN Yongbing, QU Haiyong, SHEN Junling, LIU Qiang

(School of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109)

**Abstract:** In this paper, the effects of different hormones and the concentrations on the proliferation and rooting of strawberry were studied using the stolons tips of ‘Benihoppe’ and ‘Sweet Charlie’ as materials. The result showed that the medium composed of MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA was best for ‘Benihoppe’, and MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA was best for ‘Sweet Charlie’ proliferation. 1/2 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> IBA was the best for rooting of ‘Benihoppe’, and 1/2 MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA was best for that of ‘Sweet Charlie’.

**Key words:** strawberry; meristem culture; rapid propagation

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 hm<sup>2</sup>, 产量约 200 万 t, 已跃居世界草莓第一生产大国<sup>[1]</sup>。其果实酸甜可口, 营养丰富, 市场需求量极大。在生产中草莓育苗多采用分株繁殖和匍匐茎繁殖, 但这种方法致使草莓容易感染病毒, 导致品质劣化、产量降低等退化现象<sup>[2]</sup>。利用组织培养技术对草莓进行组织培养快繁成为解决这一问题的有效途径。目前, 关于草莓的组织培养研究较多<sup>[3-5]</sup>, 但根据现有资料来看, 在诸如培养基成分及植物激素条件等技术环节方面尚存在着较大的差异, 这可能是由于供试品种不同所致, 这给草莓组培快繁技术的实际应用带来不便。

‘红颜’(‘Benihoppe’), 为日本引进的优质早熟草莓品种, 生长势强, 果个大, 耐储运, 产量高, 口味佳。‘甜查理’(‘Sweet Charlie’), 为美国草莓

早熟品种, 抗逆性强, 产量高。这 2 个品种均有很大的市场竞争力, 但是售价较高。本研究以这 2 个品种为试材, 通过研究不同激素组合对其增殖与生根的影响, 建立其组培快繁体系, 为扩大其栽培面积、降低生产成本、加快推广速度提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为青岛果茶所露地栽培草莓品种‘甜查理’(‘Sweet Charlie’)和‘红颜’(‘Benihoppe’), 田间采集草莓匍匐茎尖进行试验。

### 1.2 方法

**1.2.1 外植体灭菌和接种** 根据朱建华等的微茎尖脱毒法<sup>[6]</sup>, 并略有改动。于晴天上午剪取健壮草莓母株上生长充实、尖端生长良好的匍匐茎顶端 3~4 cm 的顶芽, 用吐温清洗 1~2 次并用流水冲洗 1~3

收稿日期: 2015-04-23

基金项目: 山东省农业良种工程项目资助。

作者简介: 翟婷婷, 硕士。E-mail: zhaitt89@sina.com

\* 通信作者: 刘成连, 教授。E-mail: FMDB@qau.edu.cn

h, 超净台上用无菌滤纸吸干水, 75%酒精浸泡 30 s 后用灭菌水冲洗 3 遍, 再用 0.1% 的升汞浸泡 8 min, 期间注意上下翻动材料, 再次用无菌水冲洗 3~5 次后将材料在无菌滤纸上吸干。将消过毒的匍匐茎尖在 10~20 倍的双目解剖镜下用解剖针一层一层剥去幼叶直至露出生长点, 取尖端 0.2~0.3 mm 迅速接种于芽诱导培养基 (MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA) 上<sup>[7]</sup>。每瓶培养基接种 1 个外植体, 接种 40 d 后即可获得草莓丛生芽。培养条件: 光照强度 2000~4000 lx, 16 h 光照, 温度 (25±1) °C。

**1.2.2 茎尖增殖培养** 以 MS 为基本培养基, 加入蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>, 琼脂 7 g·L<sup>-1</sup>, 附加 6-BA 与 NAA 的不同浓度组合, 各种浓度组合详见图的说明, 调整 pH 为 5.8, 以 MS 培养基为对照, 共 12 个处理, 每个处理设 8 个重复。将培养基在 116 °C 下灭菌 30 min 后备用。

初代培养 40 d 后, 选取长势一致的健壮丛生芽, 切去老叶后接入上述增殖培养基, 每种处理设 8 次重复, 每重复 4 个外植体, 后置于温度为 (25±1) °C, 光照 16 h 的组培室中培养, 40 d 后调查生长情况。用直尺测量草莓组培苗的株高, 并统计其增殖系数。

增殖系数 = 增殖苗数/接种苗数 × 100%。

**1.2.3 生根培养** 在原有实验的基础上, 基本培养基以 1/2 MS 为主, 加入蔗糖 30 g·L<sup>-1</sup>, 琼脂 7 g·L<sup>-1</sup>, 附加不同浓度的 NAA 及 IBA, 各种浓度详见图的说明, 调整 pH 为 5.8, 同时比较基本培养基为 MS 与 1/2 MS 时的生根情况, 共 11 个处理, 每个处理

设 8 个重复。

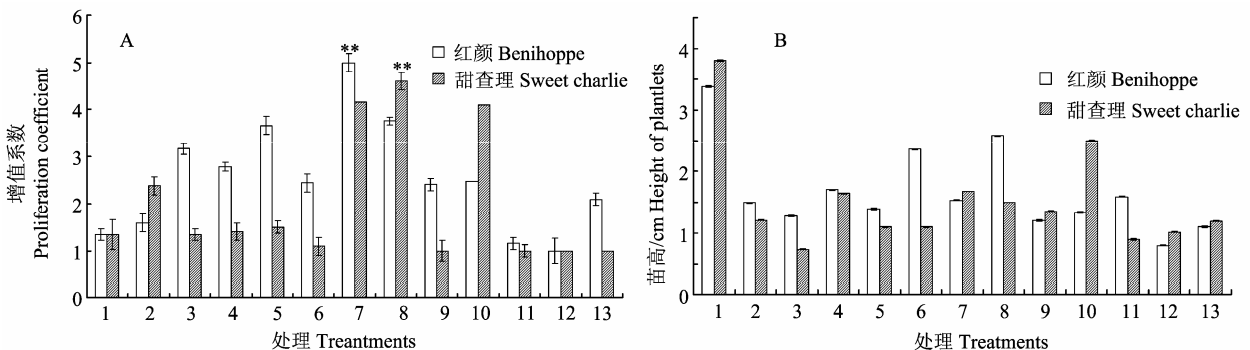
选择株高 2 cm 左右、长势一致且生长健壮的草莓组培苗, 将其接入上述生根培养基中, 每种处理设 8 次重复, 每重复 4 个外植体。45 d 后观察草莓苗生根情况。待苗长至高 3~4 cm、根 5~6 条时, 挑选长势良好的壮苗进行驯化移栽。先将生根草莓苗的组培瓶瓶盖打开, 在室内放置 1~2 d, 移栽前将组培苗根部附着的培养基洗净, 栽植于无菌基质中。基质采用草炭: 蛭石: 珍珠岩=2:1:1 的比例混合 (121 °C, 20 min 灭菌)。小苗栽植后立即浇透水, 置于培养箱中。培养箱设置温度 (25±2) °C, 湿度保持 80%~85%。待苗长至 20 cm 高时可移栽至大田。

生根率=生根草莓苗的数量/接种苗数 × 100 %

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素处理对草莓丛生芽增殖的影响

图 1A 显示不同处理对草莓丛生芽增殖影响显著。对于品种‘红颜’, 处理 MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 增殖系数最高, 达 5.0; 品种‘甜查理’, 处理 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 增殖系数最高, 达 4.59。图 1B 结果表明, 添加植物激素对草莓品种的苗高有抑制作用, 各个处理的苗高均显著低于对照。在各个处理中, 对于草莓品种‘红颜’, 处理 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 苗高最高, 达 2.58 cm; 对于品种‘甜查理’, 处理 MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA 苗高最高, 达 2.5 cm。



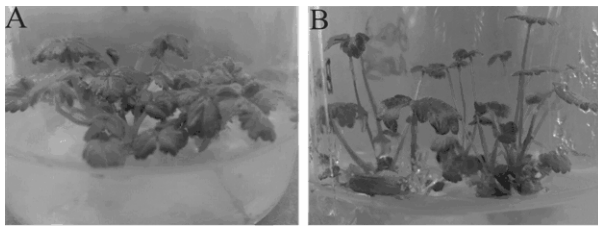
1. MS; 2. MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA; 3. MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA; 4. MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA; 5. MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA; 6. MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 7. MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 8. MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 9. MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 10. MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 11. MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 12. MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 13. MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.5 mg·L<sup>-1</sup>

图 1 不同激素浓度对草莓组培苗增殖的影响

Figure 1 The effects of different hormone concentrations on the proliferation of stem tips of strawberry

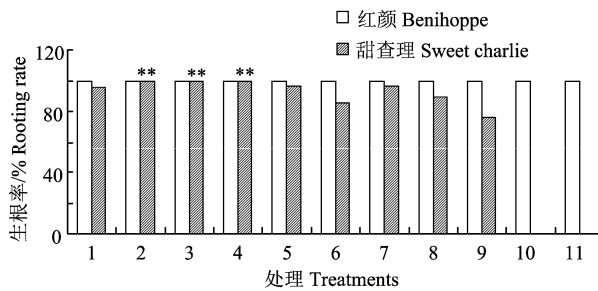
综合增殖系数与苗高 2 种因素, 可以认为, 最适宜‘红颜’增殖的培养基为 MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA +0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 在此培养基上‘红颜’的增殖系

数达到 3.75, 苗高达到 2.58 cm, 并且苗健壮, 长势好 (见图 2A); 最适宜‘甜查理’增殖的培养基为 MS+ 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 在此培养基



A: 红颜 Benihoppe; B: 甜查理 Sweet charlie  
图 2 草莓丛生芽增殖

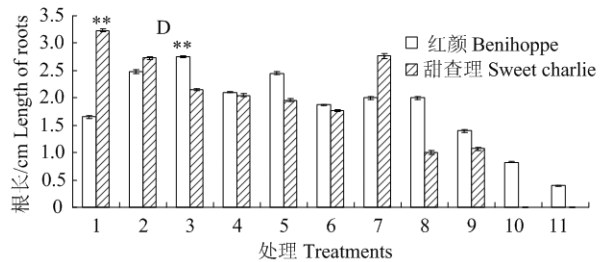
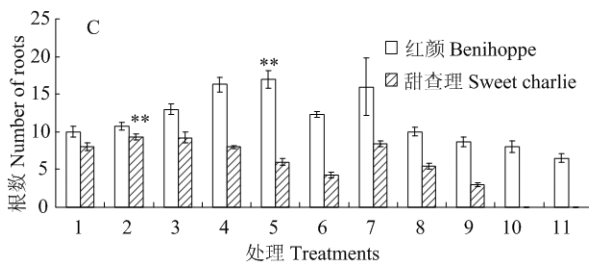
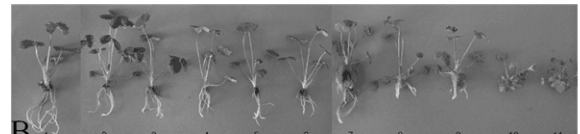
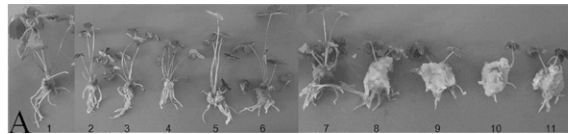
Figure 2 Proliferation of strawberry stem tips



1. MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 2. 1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 3. 1/2MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 4. 1/2MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 5. 1/2MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 6. 1/2MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA; 7. 1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 8. 1/2MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 9. 1/2MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 10. 1/2MS+0.8 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 11. 1/2MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA

图 3 不同激素种类及浓度对草莓生根率的影响

Figure 3 The effects of different hormones and the concentrations on the rooting rate of strawberry



A: 各个处理中‘红颜’的生根情况; B: 各个处理中‘甜查理’的生根情况; C: 根数; D: 根长

A: Rooting of ‘Benihoppe’; B: Rooting of ‘Sweet Charlie’; C: Rooting number; D: Root length. 1, MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 2, 1/2 MS+IBA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 3, 1/2 MS+IBA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>; 4, 1/2 MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 5, 1/2 MS+IBA 0.8 mg·L<sup>-1</sup>; 6, 1/2 MS+IBA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>; 7, 1/2 MS+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; 8, 1/2 MS+NAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>; 9, 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; 10, 1/2 MS+NAA 0.8 mg·L<sup>-1</sup>; 11, 1/2 MS+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>

图 4 不同激素种类及浓度对草莓生根的影响

Figure 4 The effects of different hormones and the concentrations on the rooting of strawberry

### 3 讨论

增殖培养基的作用是将由外植体诱导出来的愈伤组织或芽进行扩增, 郭朋伟等<sup>[8]</sup>和利爽等<sup>[9]</sup>认为

上‘甜查理’的增殖系数达到 4.09, 苗高为 2.5 cm (见图 2B), 由此可以看出不同品种的草莓增殖其所需激素浓度不同。

#### 2.2 不同激素种类及浓度对草莓生根的影响

图 3 结果表明, 各个处理组合对‘红颜’草莓的生根率没有差异, 在各个处理中生根率均达到 100%; 对于‘甜查理’, 在处理 1/2 MS+IBA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 1/2 MS+IBA 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 和 1/2 MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 中生根率均达 100%。

各个处理对草莓生根的影响差异显著。对于品种‘红颜’, 处理 1/2 MS+IBA 0.8 mg·L<sup>-1</sup> 根数最优, 达 16.94 根(图 4-A, C); 对于品种‘甜查理’, 处理 1/2 MS+IBA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 根数最优, 达到 9.34 根(图 4-B, C)。各个处理对草莓根长的影响差异显著。对于品种‘红颜’, 在处理 1/2 MS+IBA 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 根长最优, 为 2.75 cm (图 4-A, D); 对于品种‘甜查理’, 处理 MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 时根长最优, 为 3.23 cm (图 4-B, D)。

综合生根率、根数及根长 3 个因素, 可以认为, 最适宜‘红颜’草莓生根的培养基是 1/2 MS+IBA 0.8 mg·L<sup>-1</sup>, 生根率达到 100%, 根数达到 17 根, 根长为 2.45 cm; 最适宜‘甜查理’草莓生根的培养基是 1/2 MS+IBA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 生根率达 100%, 根数达 9.34 根, 根长为 2.73 cm。

MS 为草莓增殖的最佳基本培养基, 本试验中组培苗增殖采用的基本培养基均为 MS 培养基。在组织培养中 6-BA 的生理作用主要是引起细胞分裂, 诱导芽的形成和促进芽的生长<sup>[10-11]</sup>。本试验结果表明,

在添加细胞分裂素 6-BA 的处理中, 2 种草莓丛生芽的增殖系数均有显著提高。对于红颜, 其增殖系数随 6-BA 浓度的增加而增加,  $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NAA 与 6-BA 配合增殖系数显著提高, 但在添加  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NAA 的处理中, 其增殖系数均有不同程度的下降, 说明较高浓度的 NAA 反而不利于红颜丛生芽的增殖, 这与董敬超的研究结果一致<sup>[7]</sup>。

在本研究中, 适宜红颜草莓的增殖培养基为  $\text{MS}+0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ 6-BA} +0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}$ , 增殖系数达到 3.75, 而李金华等的研究中“红颜”的增殖系数仅达 3.2<sup>[12]</sup>。对于草莓品种甜查理, 高浓度的 6-BA 不利于其丛生芽的增殖, 陈振光<sup>[13]</sup>认为 BA 的浓度过高, 形成的芽丛生停滞并成莲座状, 这可能与品种不同有关。在本研究中, 最适宜甜查理增殖的培养基为  $\text{MS}+0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ 6-BA}+0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}$ , 增殖系数为 4.09, 苗高为 2.5 cm。在晁慧娟<sup>[14]</sup>、薛其勤等<sup>[15]</sup>对品种甜查理快繁的研究中均只讨论了各种激素对增殖系数的影响, 笔者认为增殖系数与苗高对于苗的增殖同等重要, 激素浓度过高反而会使形成的丛生芽过于细密且质量下降<sup>[12]</sup>。本研究发现在添加 6-BA 的各个处理中, 红颜及甜查理丛生芽苗高均明显低于对照, 李会珍的研究结果表明较高浓度的 6-BA 会抑制苗株高的增长<sup>[10]</sup>。

颜昌敬认为草莓组培苗较易生根<sup>[16]</sup>, 本研究结果表明, 红颜及甜查理这 2 个草莓品种组培苗生根均较易, 且红颜比甜查理更易生根, 但不同激素的种类及浓度对于其生根的影响差异显著。基本培养基为  $1/2 \text{ MS}$  的处理要优于以  $\text{MS}$  为基本培养基的处理, 这与柏新富的研究结果一致<sup>[17]</sup>。对于红颜与甜查理 2 个品种的生根, IBA 要更优于 NAA, 且随着 NAA 浓度的增加根长根数显著降低, 说明 NAA 不利于草莓组培苗生根, 这与兰伟研究结果一致<sup>[18]</sup>。一般认为, 在培养基中添加活性炭更有利于植株生根<sup>[19]</sup>, 但在本试验中没有添加活性炭也获得了很好的生根效果, 袁惠燕的研究也认为无需添加活性炭就可获得理想的生根效果<sup>[20]</sup>。在本研究中, 最适宜红颜草莓生根的培养基是  $1/2 \text{ MS}+\text{IBA } 0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 生根率达 100%, 根数达 17 根, 根长为 2.45 cm, 而陈怀勤<sup>[21]</sup>等人在品种红颜生根的研究中, 生根率仅为 90%~95%, 根数仅为 5~10 条; 最适宜甜查理草莓生根的培养基是  $1/2 \text{ MS}+\text{IBA } 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 生根率为 100%, 根数达 9.34 根, 根长为 2.73 cm, 而在薛其勤<sup>[15]</sup>等人在品种甜查理生根的研究中, 根数仅为 5.8 根。

综合以上研究和分析可以得出, 最适宜红颜增殖的培养基为  $\text{MS}+0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ 6-BA}+0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}$ ; 最适宜甜查理增殖的培养基为  $\text{MS}+0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ 6-BA}+0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}$ 。最适宜红颜草莓生根的培养基是  $1/2 \text{ MS}+ 0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}$ ; 最适宜甜查理草莓生根的培养基是  $1/2 \text{ MS}+ 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}$ 。

## 参考文献:

- [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] 李美林, 张勇, 朱丽君, 等. 草莓的组织培养研究进展[J]. 吉林农业, 2013(8): 14-15.
- [3] 孟静静, 徐平丽, 郭峰, 等. “丰香”草莓高效脱毒及快速繁殖技术的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(35): 17346-17347.
- [4] 郑晓峰. 草莓组培育苗外植体的选择及茎尖组培快繁技术[J]. 中国南方果树, 2008, 37(6): 58-60.
- [5] 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]. 延边大学农学报, 2009, 31(3): 184-187.
- [6] 朱建华, 彭世勇. 植物组织培养实用技术[M]. 北京: 中国计量出版社, 2002.
- [7] 董敬超. “红颜”草莓茎尖组织培养快繁技术研究[J]. 北方园艺, 2013(24): 106-108.
- [8] 郭朋伟, 高晔华, 高日, 等. “贝吉佳”草莓脱毒苗增殖的研究[J]. 北方园艺, 2012(10): 110-113.
- [9] 利爽, 吴荣哲. “赤颜”草莓脱毒苗增殖的研究[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(7): 25-27; 46.
- [10] 贵秋, 唐燕梅. 草莓的组织培养和快速繁殖[J]. 广西热带农业, 2004(6): 8.
- [11] 李会珍, 徐东进, 陈登金, 等. 不同植物生长调节剂对脱毒红颜草莓组培快繁的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(2): 43-45.
- [12] 李金华, 曾万勇, 黄强, 等. 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, 2014, 33(1): 30-33.
- [13] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
- [14] 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.
- [15] 薛其勤, 李美芹, 吕金浮, 等. 不同基因型优质草莓组织培养快繁研究[J]. 北方园艺, 2014(21): 110-113.
- [16] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [17] 柏新富, 蒋小满, 赵建军, 等. 草莓试管苗生根技术的改进研究[J]. 烟台师范学院学报, 2001, 17(1): 34-36.
- [18] 兰伟, 万凌云, 马宗新, 等. 三个草莓品种的组织培养[J]. 黑龙江农业科学, 2012(8): 21-24.
- [19] 潘瑞焜. 植物组织培养[M]. 2版. 广州: 广东教育出版社, 2001.
- [20] 袁惠燕, 谈建中, 黄秀勤, 等. 激素条件对不同品种草莓组培快繁效果的影响[J]. 苏州大学学报: 自然科学版, 2007, 3(23): 75-79.
- [21] 陈怀勤, 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(3): 9-10; 11.