

“丹莓1号”草莓脱毒组培快繁技术研究

王馨 盖庆岩 焦 骄* 付玉杰 刘 婧 王紫莹

(东北林业大学森林植物生态学教育部重点实验室 哈尔滨 150040)

摘 要 以适合东北地区生长的“丹莓1号”草莓优良品种为研究对象,系统开展脱毒组培快繁技术研究。以“丹莓1号”草莓的茎尖为外植体,考察了不同植物激素对于不定芽诱导、增殖及生根的影响,同时也考察了移栽基质对于组培苗驯化成活的影响,确定了 $MS + 1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2,4\text{-D}$ 为茎尖不定芽诱导的最佳培养基, $MS + 1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 为不定芽增殖的最佳培养基, $MS + 0.4\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$ 为不定芽生根的最佳培养基,苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:1 为草莓组培苗成活率最高的移栽基质。本研究为“丹莓1号”优良草莓品种脱毒苗的规模化繁育奠定了理论基础。

关键词 “丹莓1号”草莓 茎尖分化 快速增殖 脱毒苗

中图分类号 S668.4 文献标志码 A doi:10.7525/j.issn.1673-5102.2020.01.021

Rapid Propagation of Virus-free “Dan Mei 1” Strawberry
Using Tissue Culture Technology

WANG Xin GAI Qing-Yan JIAO Jiao* FU Yu-Jie LIU Jing WANG Zi-Ying

(Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Northeast Forestry University, Harbin 150040)

Abstract The superior “Dan Mei 1” strawberry variety that is suitable for growing in Northeast China were selected as the research object, and the tissue culture technology for detoxification and rapid propagation of strawberry was carried out systematically. The effects of different plant hormones on adventitious bud induction, proliferation and rootage were investigated using the stem tip of “Dan Mei 1” strawberry as explants. Also, the effects of transplanting medium on the domestication survival of strawberry plantlets were investigated. The results showed that MS with $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2,4\text{-D}$ was suitable for adventitious bud induction. The best medium for adventitious bud proliferation was MS with $1\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$. And, MS with $0.4\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{IBA}$ was the best medium for adventitious bud rootage. Perlite:vermiculite:nursery soil with the ratio of 1:2:1 was the best transplanting medium for the domestication of strawberry plantlets. Overall, this study provided a theoretical foundation for the large-scale propagation of the virus-free “Dan Mei 1” strawberry variety.

Key words “Dan Mei 1” strawberry stem tip differentiation rapid proliferation virus-free plantlets

草莓(*Fragaria × ananassa* Duch.)是蔷薇科(Rosaceae)草莓属(*Fragaria*)多年生草本植物,在世界上大部分国家和地区均有分布^[1]。草莓果实营养价值较高,富含维生素C、维生素A、胡萝卜

素、花青素等活性物质,具有保护视力、抗衰老、预防心脑血管疾病、提高免疫力、增强胃肠道蠕动等诸多保健功能,故有“水果皇后”之美誉^[2]。此外,据美国农业研究中心研究发现,在8种能够降低

基金项目:中央高校基本科研业务费专项资金项目(2572017DA04 2572018BU02)

第一作者简介:王馨(1994—),女,硕士,主要从事植物组培快繁技术研究。

* 通信作者 E-mail: jj_nefu@163.com

收稿日期:2019-03-06

Foundation item: Fundamental Research Funds for the Central Universities(2572017DA04 2572018BU02)

First author introduction: WANG Xin(1994—), female, master, studying on the plant tissue culture technology.

* Corresponding author E-mail: jj_nefu@163.com

Received date: 2019-03-06

癌死亡率的水果中,草莓居于首位^[3]。因此,草莓的种植栽培蕴藏着巨大的经济价值。

近些年来,我国草莓产业发展迅速,种植面积和产量已跃居世界首位^[4]。依据地理位置和自然条件,可将我国的草莓产地划分为3大主产区,即北方产区、中部产区和南方产区^[2]。近些年来,东北地区草莓种植产业发展也较为迅速,例如大连,丹东等地已有较大规模的草莓种植基地。目前,相关科研机构已培育出适宜东北气候生长的草莓品种,如“丹莓1号”“九九”“章姬”“丰香”“硕丰”“明晶”“星都1号”等品种草莓。其中“九九”草莓最为有名,在丹东地区广泛栽培种植,年产量已达20万吨,使丹东成为我国最大的草莓基地,被称为“草莓之乡”。

东北位于温带季风气候区,四季分明,秋冬季持续时间长且寒冷干燥,春夏季虽暖热多雨但持续时间较短。这种气候条件使得很多作物无法在东北地区更好的生长,即便能够生长也仅一年一熟,产量较低。草莓是一种喜光、喜水,对温度有一定要求的作物。受东北地区气候条件限制,草莓有效生长期短,难以利用传统匍匐茎繁殖的手段获得大规模种苗,且即便利用这种传统方式获得种苗,也因连作和长期营养繁殖而导致植株体内积累各种病毒,造成种苗优势退化,生长速度慢,抗逆、抗病虫害能力减弱,果实产量和品质严重下降,进而降低其经济价值,给农民增产增收造成极大影响^[4]。为了满足市场需要,进一步提高草莓的生产规模及品质,亟需寻求一种可有效解决东北地区优良草莓品种繁育困难的技术手段。

近些年来,植物组培快繁技术在优良作物品种和濒危植物规模化繁育方面应用广泛,该技术基于植物细胞具有全能性的这一特点,通过无菌组培技术,在短时间内获得大量的遗传性质均一的完整植株。该技术具有不受季节限制、培养周期短、易于规模化生产等优点,尤其在解决植物脱毒方面具有显著的优势。目前使用植物茎尖组织脱毒培养技术获取无病毒苗的方法已在很多作物繁育方面得到了广泛应用,如马铃薯^[5]、甘薯^[6]、香石竹^[7]、菊花^[8]等,在全国不少地区已经建立了植物脱病毒苗生产中心及基地。

植物茎尖组织脱毒培养技术不仅可以快速繁殖出大量优质的草莓种苗,更有利于优良品种的提纯和更新,减少病毒感染进而提高草莓的产量和品质,是促进草莓产业良性健康发展的有效

途径^[9]。

“丹莓1号”草莓适应东北地区的气候条件,耐寒、抗逆、抗病虫害能力强,且目前还未有关于该品种草莓的脱毒组培快繁技术研究。本文选择以“丹莓1号”草莓的茎尖作为外植体进行组织培养,探究其最佳的芽诱导、增殖、生根培养所需的激素种类和浓度,确定最佳移栽基质,以期“丹莓1号”草莓品种脱毒苗的产业化生产提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料来源

供试草莓品种为“丹莓1号”,由辽宁草莓科学技术研究院提供。该品种生长特性、果实品质、平均亩产、种植管理等资料,详见 <http://www.lndgcm.com/mshtml/2015-4/343.html>。

1.2 材料的消毒处理

剪取长约2 cm的草莓匍匐茎尖,用自来水持续冲洗6 h,之后在超净工作台用75%酒精消毒30 s,无菌水冲洗3次,再用0.1%氯化汞灭菌15 min,无菌水冲洗3次,剥去茎尖外面的幼叶,取出生长点,待接种。

1.3 培养基的配制

以MS培养基为基本培养基,添加不同种类和不同浓度的植物生长激素(NAA、2,4-D、6-BA和IBA)配制培养基。具体如下:诱导培养基添加固定浓度 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA和不同浓度的NAA($0.05\sim 0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)或2,4-D($0.05\sim 0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)组合;增殖培养基添加固定浓度 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA和不同浓度的NAA($0.1\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)或2,4-D($0.1\sim 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)组合;和生根培养基添加不同浓度的IBA($0.1\sim 0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),每种培养基中均加入蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,调节培养基pH 5.80 ± 0.05 , 121°C 高温灭菌20 min。

1.4 茎尖诱导培养

切取0.2 mm消毒后的茎尖生长点,接种到添加固定浓度6-BA($1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和不同浓度生长素($0.05\sim 0.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NAA或 $0.05\sim 0.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的2,4-D)的MS培养基上,置于温度 $25\pm 2^\circ\text{C}$ 、光照强度 $2\,000\text{ lux}$ 、光周期 $16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 的环境下进行培养。每个芽诱导培养基接种茎尖数1个,重复6个样品。

1.5 增殖继代培养

将茎尖诱导出的丛生不定芽分割成3~4株小

的芽丛,转接到添加固定浓度6-BA($1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和不同浓度生长素($0.1\sim0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的NAA或 $0.1\sim0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的2,4-D)的MS培养基上进行增殖培养,培养温度、光照强度和光周期等其他培养条件如1.4中所述,每隔25~30 d继代1次。

1.6 生根培养

挑选高度2~3 cm,长势较好的无根苗,将其转接到添加不同浓度IBA($0.1\sim0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的MS培养基上进行生根培养,培养温度、光照强度和光周期等其他培养条件如1.4中所述。

1.7 驯化及移栽处理

将根系发达、生长茂盛的生根苗从培养瓶中取出,去除根部多余的培养基,将其栽入装有提前灭菌的移栽基质[由苗圃土、蛭石、珍珠岩三者混合制备而成,本研究分别考察了上述材料以3种不同比例(1:2:2、1:2:1和0:2:1)混合而成的基质]的32孔育苗盆中,覆盖保鲜膜以防水分散失,5 d后去掉保鲜膜,室内驯化10 d后将其移栽入白色方盆中适应环境,最后移栽至室外大田中。

1.8 数据统计

诱导率 = 诱导出不定芽的外植体数/接种的总外植体数 $\times 100\%$ (1)

增殖系数 = 增殖的不定芽数量/接种的不定芽数量 (2)

生根率 = 生根试管苗数/接种试管苗数 $\times 100\%$ (3)

移栽成活率 = 移栽成活的植株数/移栽植株的总数 $\times 100\%$ (4)

试验所得数据采用Microsoft Office Excel 2010程序处理,并用其制表;运用SPSS 19.0软件进行数据统计分析。实验结果差异性显著分析是通过单变量方差分析(ANOVA)结合邓肯检验在 $P < 0.05$ 的显著水平上实现的。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 NAA 和 2,4-D 对草莓茎尖不定芽诱导的影响

草莓茎尖在添加固定浓度6-BA($1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的MS培养基中,其诱导率随着NAA的浓度从 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 逐渐从69%升高到82%,然后随着NAA的浓度从 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其诱导率从82%降低至60%(图1a)。草莓茎尖诱导率随着2,4-D的浓度从 $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 逐渐从81%

升高到92%,然后随着2,4-D的浓度从 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,其诱导率从92%降低至62%(图1b)。根据不定芽的最高诱导率,在含有 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA的MS培养基中添加2,4-D对不定芽的诱导效果要明显优于NAA。因此,本研究选取MS+ $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D作为“丹莓1号”草莓诱导茎尖分化不定芽的最佳培养基。我们将草莓茎尖外植体接种在该培养基上(图4:A)培养40 d,可成功诱导茎尖分化出不定芽(图4:B)。

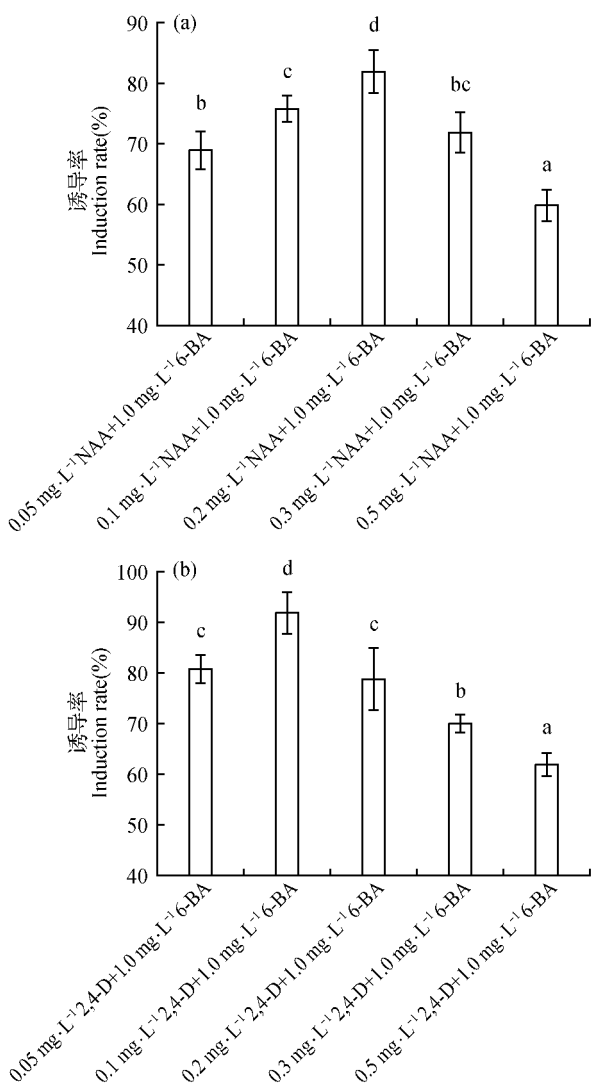


图1 不同浓度NAA(a)和2,4-D(b)对“丹莓1号”草莓茎尖不定芽诱导的影响(培养30 d) 实验结果标注不同的小写字母表示差异性显著分析($P < 0.05$),下同。
Fig.1 Effects of different concentrations of NAA (a) and 2,4-D (b) on the adventitious bud induction of “Dan Mei 1” strawberry stem tips (culture for 30 d)
Mean \pm SD values not sharing the same lowercase letters are significantly different($P < 0.05$), the same as below.

2.2 不同浓度 NAA 和 2 4-D 对于草莓不定芽增殖的影响

将不同浓度的 NAA 或 2 4-D 与 1.0 mg · L⁻¹ 的 6-BA 结合进行草莓不定芽的增殖,增殖效果最佳的是在培养基中添加 0.3 mg · L⁻¹ 的 NAA,其增值系数可达 22(图 2)。因此,本研究选取 MS + 1 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.3 mg · L⁻¹ NAA 为最佳的“丹莓 1 号”草莓不定芽增殖培养基。将草莓茎尖诱导出的不定芽转移到该培养基上培养 20 d(图 4 : C)和 30 d(图 4 : D),发现不定芽增殖效果良好,出现了明显的丛生芽。

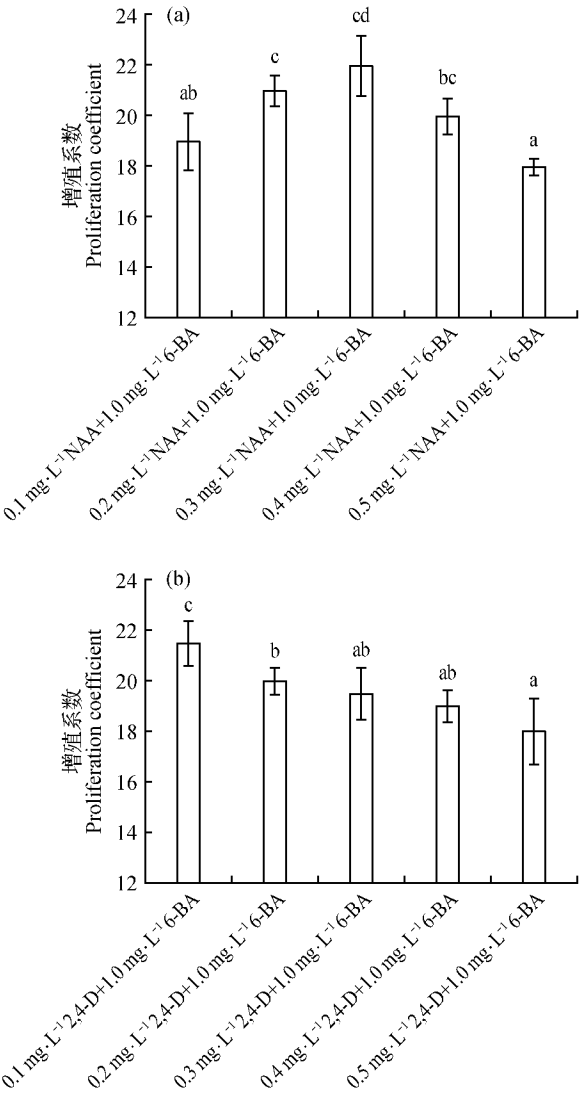


图 2 不同浓度 NAA (a)和 2 4-D (b)对“丹莓 1 号”草莓不定芽增殖的影响(培养 30 d)
Fig.2 Effects of different concentrations of NAA(a) and 2 4-D(b) on the proliferation of “ Dan Mei 1 ” strawberry adventitious buds(culture for 30 d)

2.3 不同 IBA 浓度对于组培苗生根的影响

随着 IBA 浓度升高,草莓不定芽生根率呈总体上升的趋势,最适浓度为 0.4 mg · L⁻¹,最高生根率可达 90%,当 NAA 浓度进一步增加至 0.5 mg · L⁻¹,草莓不定芽生根率出现了下降趋势(图 3)。因此,MS + 0.4 mg · L⁻¹ IBA 是诱导“丹莓 1 号”草莓组培苗生根的最佳培养基。我们将培养了 30 d 后的草莓丛生芽剥离成单一无根苗,并将其转移到最佳生根培养基中(图 4 : E),培养 30 d 后可得生长状态良好的生根组培苗(图 4 : F)。

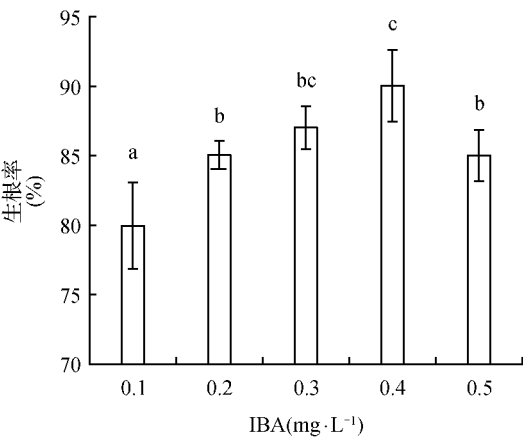


图 3 不同 IBA 浓度对于“丹莓 1 号”草莓不定芽生根的影响
Fig.3 Effects of different concentrations of IBA on rootage of “ Dan Mei 1 ” strawberry adventitious buds

2.4 不同移栽基质对于生根苗移栽成活率的影响

我们将长势较好的“丹莓 1 号”草莓组培苗从培养基中取出,将其转移到含有不同比例混合的移栽基质中,考察其成活率情况。实验结果如表 1 所示,在苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:2,移栽成活率是 84%,在苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:1,移栽成活率是 91%,在苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 0:2:1,移栽成活率是 78%。因此,我们选定移栽成活率最高的基质(苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:1)为最佳的草莓组培苗移栽基质。同时,在实验过程中发现,生长于消毒处理过的移栽基质中的草莓,其生长状态要优于生长于未经消毒处理的移栽基质中的草莓,成活率也显著增高(图 4 : G)。待适应土壤环境后,我们将植株从穴盘中转至室外大田中进行栽培,我们发现经茎尖脱毒后的草莓长势良好,抗病虫害、抗逆能力显著增强(图 4 : H ~ I)。

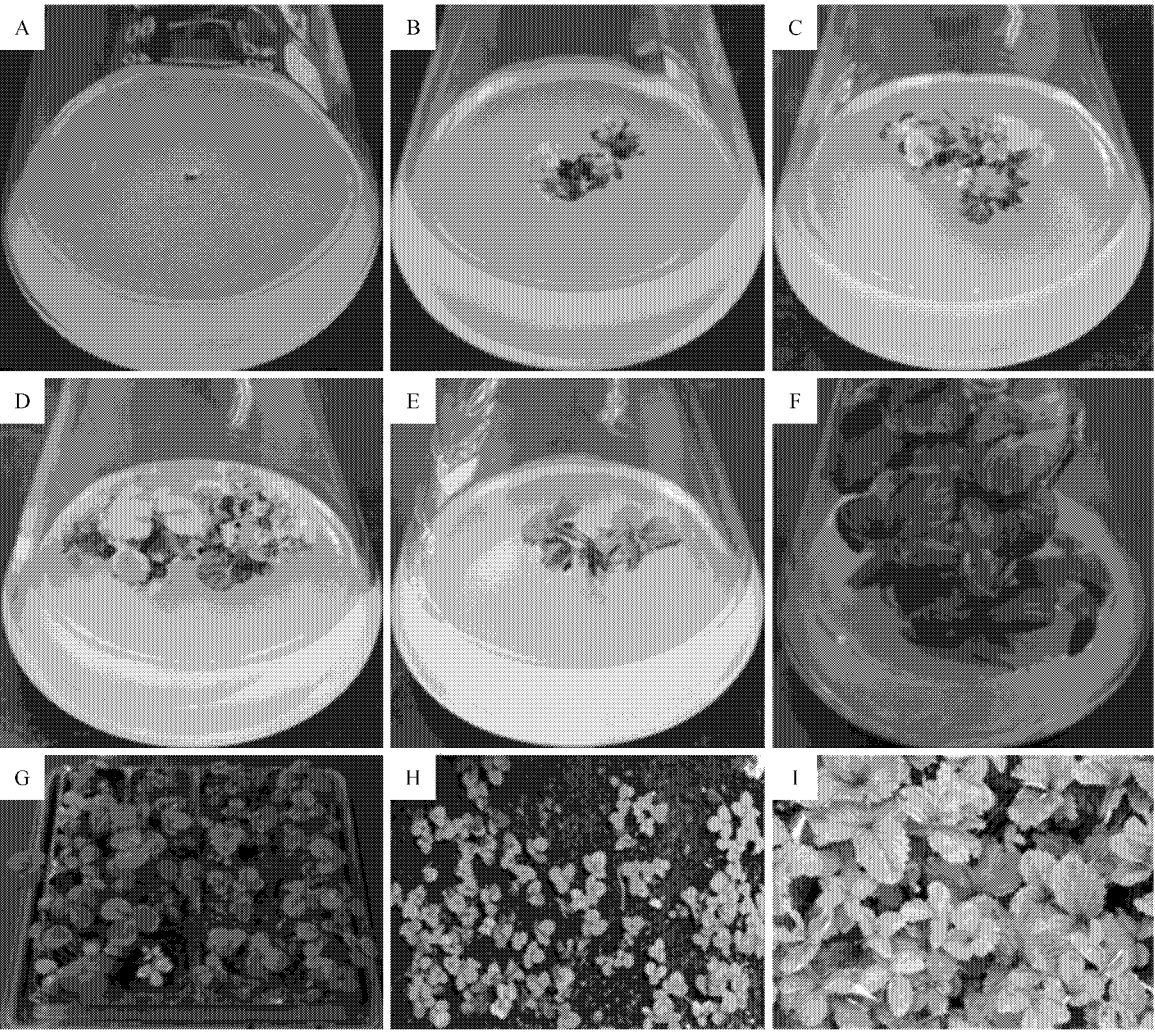


图4 “丹莓1号”草莓脱毒组培快繁过程 A. 接种在诱导培养基上的茎尖 B. 茎尖经诱导分化成的不定芽(培养40 d) C. 转接到增殖培养基上培养20 d的不定芽 D. 转接到增殖培养基上的培养30 d的不定芽 E. 接种到生根培养基上的单一不定芽 F. 生根组培苗 G. 室内炼苗 H~I. 移栽至室外大田的“丹莓1号”脱毒草莓苗

Fig.4 Rapid propagation of “Dan Mei 1” virus-free strawberry using tissue culture technology A. The inoculation of shoot tip on induction medium ;B. The differentiation of shoot tip into adventitious buds(culture for 40 d) ;C. The culture of adventitious buds on proliferation medium for 20 d ;D. The culture of adventitious buds on proliferation medium for 30 d ;E. The inoculation of a single adventitious bud on rootage medium ;F. The rooted plantlet ;G. The indoor acclimatization of plantlet ;H – I. The field culture of “Dan Mei 1” virus-free strawberry

表1 不同移栽基质对“丹莓1号”草莓组培苗移栽成活率的影响

Table 1 Effects of different transplanting substrates on the survival rate of “Dan Mei 1” strawberry plantlets

处理 Treatment	基质配比 Substrate ratio			移栽成活率 survival rate
	苗圃土 Nursery soil	蛭石 Vermiculite	珍珠岩 Perlite	
A	1	2	2	84% ± 3%
B	1	2	1	91% ± 2%
C	0	2	1	78% ± 5%

3 讨论

在植物离体组织培养过程中,脱分化和再分化是两个至关重要的过程。脱分化是指将已分化细胞经过诱导后转变成未分化细胞的过程,而再分化是将已经脱分化的细胞再经过一定条件的诱导后,经过愈伤组织或胚状体再分化出芽和根,最后形成完整植株的过程。组培快繁其实就是研究植物离体组织的脱分化和再分化过程。众所周知,影响植物脱分化和再分化最重要的因素就是

植物激素,它分为生长素和细胞分裂素。对于诱导外植体成芽,促进不定芽增殖,诱发不定芽生根,这些阶段所需生长素和细胞分裂素的种类、浓度和配比是不同的^[10],在本实验中,我们选用在 MS 基本培养基中添加不同类型、不同浓度和不同配比的生长素和细胞分裂素进行草莓茎尖诱导不定芽、不定芽增殖及其生根的研究。根据以往的研究报道发现,1.0 mg · L⁻¹ 的细胞分裂素 6-BA 对于植物不定芽的诱导及增殖具有较好的影响。我们前期的预实验,也证明该浓度的 6-BA 有利于“丹莓 1 号”草莓茎尖不定芽的诱导和增殖。基于此,本实验选择了使用 1.0 mg · L⁻¹ 的 6-BA 结合不同浓度的 NAA 和 2,4-D 探究不同植物生长素对于“丹莓 1 号”草莓茎尖不定芽的诱导及增殖的影响。

本研究发现相比较 NAA,2,4-D 对“丹莓 1 号”草莓茎尖不定芽分化诱导效果最佳。刘霞发现,与 NAA 相比,2,4-D 对苍葱(*Allium victorialis* L.)不定芽的分化诱导率显著增高^[11]。王忠武等研究发现,2,4-D 对于八仙花(*Hydrangea macrophylla*)诱导不定芽的效果较 NAA 要好^[12]。此外,在本实验中,随着培养基中添加 2,4-D 的浓度从 0.05 mg · L⁻¹ 增加到 0.1 mg · L⁻¹ 时,茎尖不定芽的诱导率亦随之增加至最高(90%),但是随着 2,4-D 浓度的继续增加,诱导率则逐渐下降,这表明低浓度的 2,4-D 有利于不定芽的诱导再生,而高浓度的 2,4-D 则抑制不定芽的发生,体现了植物生长素的两重性作用特点。袁维风等对“达斯莱克特”草莓进行离体再生研究发现,在含有固定 6-BA 浓度的培养基中,随着所添加 2,4-D 的浓度从 0.1 mg · L⁻¹ 持续增加至 1.0 mg · L⁻¹ 时,草莓不定芽的再生频率呈现逐渐降低趋势^[13],这和本实验研究结果较为一致。梁丽琨等在研究不同激素对花生离体分化的影响实验中发现,0.1 mg · L⁻¹ 2,4-D 对于愈伤组织不定芽的诱导效果最佳,但随着 2,4-D 浓度的继续升高时,诱导率则随之下降^[14]。这也和本实验研究结果较为一致。

茎尖分化成不定芽后,需要对不定芽进行增殖培养以进一步扩大不定芽数量和规模。在组织培养过程中,不定芽的增殖系数对组织培养快繁起着制约作用^[15]。本研究发现相比较 2,4-D,NAA 对“丹莓 1 号”草莓茎尖不定芽增殖效果最佳。此外,随着 NAA 浓度的上升,不定芽增殖系数呈现先上升后下降的趋势,这一现象与前人研

究结果较为一致。翟婷婷等研究发现,随着 NAA 浓度的升高,“红颜”草莓不定芽的增殖系数也呈现先升高后降低的趋势,这说明适宜浓度的 NAA 对于草莓不定芽的增殖有较好的效果,而高浓度的 NAA 则不利于草莓不定芽的增殖^[16]。陈林晶等在对丽格海棠(*Begonia × elatior*)组织培养技术的研究发现,在 6-BA 浓度不变条件下,不定芽增殖率的大小随着 NAA 浓度的升高也呈现先升高后降低的趋势^[17]。陈菊等在对 6-BA 与 NAA 浓度配比对何首乌不定芽增殖的实验研究中发现,在相同浓度 6-BA 条件下,不同浓度 NAA 对不定芽的增殖的促进作用依次为 0.5 mg · L⁻¹ > 0.2 mg · L⁻¹ > 1.0 mg · L⁻¹,NAA 0.5 mg · L⁻¹ 为不定芽增殖最佳浓度,较低浓度 NAA 不利于不定芽的增殖不假,但较高浓度 NAA 对不定芽增殖也起到了抑制作用^[18]。

不定芽成功增殖后,我们需要对不定芽进行生根培养,只有生根的不定芽才是完整的植株,才能进行后续的炼苗和移栽。相关研究发现 IBA 对草莓组培苗生根具有显著的促进作用^[19]。本研究发现 0.4 mg · L⁻¹ IBA 对“丹莓 1”草莓组培苗诱导生根效果最好。相关研究表明,IBA 浓度在 0.01 ~ 1.0 mg · L⁻¹ 范围时,有利于植物组培苗生根,高于或低于该区间浓度,均不利于植物体生根^[20]。此外,林萍等研究发现,0.4 mg · L⁻¹ IBA 有利于“章姬”草莓组培苗生根^[21],这和本实验研究结果一致。

组培苗的移栽驯化,对于其后期产业化实际应用至关重要。本项研究发现生长于苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:1 混合的移栽基质中的草莓成活率最高,且其在茎、根、叶片量以及株高等方面,展示出的生长效果都是最好的。这与晁慧娟等对“甜查理”草莓移栽驯化的研究^[22]结果类似。

4 结论

脱毒组培快繁技术是保证优良草莓品种种苗优势,维持其抗逆、抗病虫害能力,减少草莓病虫害发生,提高草莓产量与质量的一种合理有效的方法,而且该技术周期短,成本低,便于自动化和工厂化生产应用。不同品种草莓组培快繁过程中所需植物激素类型与浓度是不一样的,这可能与草莓的基因型、所选外植体类型、植物体生长状态等都有关系。东北地区气候条件特殊,对于草莓这种不耐寒的植物来说,有效生长周期太短,传统

营养繁殖方式难以获得规模化种苗,即便能够获得种苗,也因病毒积累而造成草莓种苗优势退化、果实产量和品质下降等。因此,本研究选择用适宜在东北地区栽培的优良品种“丹莓 1 号”草莓的茎尖作为外植体,确定了其组培快繁过程中涉及到的各种培养基,包括最佳不定芽诱导培养基 $MS + 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 6-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 2 4-D}$; 最佳不定芽增殖培养基 $MS + 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ 6-BA} + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NAA}$; 最佳不定芽生根培养基 $MS + 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{ IBA}$ 以及组培苗移栽驯化最佳基质苗圃土:蛭石:珍珠岩 = 1:2:1。本项研究所建立的“丹莓 1 号”草莓茎尖脱毒组培快繁技术可为东北地区该优良品种草莓的规模化繁育提供技术支撑。

参 考 文 献

- [1] 邵婉璐,李月灵,高松,等.光照强度对成熟红颜草莓果实着色和花青素生物合成的影响及可能的分子机制[J].植物研究 2018,38(5):661-668.
Shao W L, Li Y L, Gao S, et al. Effects of light intensity on the fruit coloration and anthocyanin biosynthesis in *Fragaria × ananassa* Duch. "Benihoppe" and the possible molecular mechanism[J]. Bulletin of Botanical Research 2018, 38(5): 661-668.
- [2] Bullock J M, Moy I L, Coulson S J, et al. Habitat-specific dispersal: environmental effects on the mechanisms and patterns of seed movement in a grassland herb *Rhinanthus minor*[J]. Ecography 2003, 26(5): 692-704.
- [3] 黄文江,潘超,阚显照,等.“红丰”草莓无菌系及叶盘再生系统的建立[J].西南农业学报,2010,23(5): 1640-1643.
Huang W J, Pan C, Kan X Z, et al. Tissue culture and establishment of regeneration system from leaves of *fragaria ananassa* duehesen[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences 2010, 23(5): 1640-1643.
- [4] 张连忠,李文金,蔚承祥,等.四季草莓“赛娃”的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学报 2002,38(1):39.
Zhang L Z, Li W J, Wei C X, et al. Tissue culture and rapid propagation of *Fragaria vesca* cv. Selva[J]. Plant Physiology Journal 2002, 38(1): 39.
- [5] 卢艳丽,周洪友,张笑宇.马铃薯茎尖脱毒方法优化及病毒检测[J].作物杂志 2017(1):161-167.
Lu Y L, Zhou H Y, Zhang X Y. Optimization of virus-free of shoot tip and virus detection of test-tube plantlet of potato[J]. Crops 2017(1): 161-167.
- [6] 王鹏,纪瑞瑞,孔祥远,等.高效甘薯脱毒苗生产及驯化移栽[J].植物生理学报 2015,51(4):455-458.
Wang P, Ji R R, Kong X Y, et al. Production acclimatiza-
- tion and transplantation of virus-free plantlets of sweet potato[J]. Plant Physiology Journal 2015, 51(4): 455-458.
- [7] 侯少霞,赵永秀,李佳雯,等.生长调节剂对香石竹离体快繁的影响[J].分子植物育种 2018,16(3):938-942.
Hou S X, Zhao Y X, Li J W, et al. Effects of different growth regulators on the rapid propagation *in vitro* of *Di-anthus caryophyllus*[J]. Molecular Plant Breeding 2018, 16(3): 938-942.
- [8] 赵霜.菊花病毒脱除与检测技术研究[D].北京:北京林业大学 2013.
Zhao S. Study on virus-elimination and virus-detection technique of chrysanthemum[D]. Beijing: Beijing Forestry University 2013.
- [9] 韩柏明,李贺,高秀岩,等.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,2009,40(4):400-403.
Han B M, Li H, Gao X Y, et al. Effects of tissue culture and virus elimination on the phenotype of *Fragaria × ananassa* cv. toyonoka[J]. Journal of Shenyang Agricultural University 2009, 40(4): 400-403.
- [10] 李秀华,杜贞,武银玉,等.大花萱草组培快繁体系的研究[J].植物研究 2009,29(6):757-762.
Li X H, Du Z, Wu Y Y, et al. Research on tissue culture regeneration of *Heimerocallis middendorfi*[J]. Bulletin of Botanical Research 2009, 29(6): 757-762.
- [11] 刘霞,唐铭,许永华,等.苍葱不定芽分化的再生体系[J].吉林农业大学学报 2015,37(4):434-439.
Liu X, Tang M, Xu Y H, et al. Research on differentiation and regeneration system of adventitious buds of *Allium victorialis* L.[J]. Journal of Jilin Agricultural University 2015, 37(4): 434-439.
- [12] 王忠武,建德锋.八仙花茎尖离体培养技术研究[J].北方园艺 2012(9):129-130.
Wang Z W, Jian D F. Study on the shoot-tip culture of *Hydrangea macrophylla in vitro*[J]. Northern Horticulture 2012(9): 129-130.
- [13] 袁维凤,徐德聪,钱玉梅,等.草莓“达斯莱克特”的离体再生[J].基因组学与应用生物学 2009,28(4):770-774.
Yuan W F, Xu D C, Qian Y M, et al. Regeneration of strawberry "Dasrlect" *in vitro*[J]. Genomics and Applied Biology 2009, 28(4): 770-774.
- [14] 梁丽琨,林荣双,由翠荣,等.不同激素对花生离体分化的影响[J].植物研究 2004,24(2):187-191.
Liang L K, Lin R S, You C R, et al. Effects of different plant hormones *In-vitro* differentiation of peanut[J].

- Bulletin of Botanical Research ,2004 ,24(2) :187 - 191.
- [15] 崔秋华 ,孙永玉 ,李昆 ,等. 不同因子对齿瓣石斛增殖系数和平均苗高的影响[J]. 中南林业科技大学学报 2012 ,32(4) 200 - 203.
- Cui Q H ,Sun Y Y ,Li K ,et al. Effects of different factors on proliferation coefficient of *Dendrobium devonianum* and average seedling height[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology 2012 ,32(4) 200 - 203.
- [16] 李志强 ,王晶 ,丁国亮 ,等. 草莓热处理结合茎尖脱毒技术研究[J]. 北方园艺 2012(5) :125 - 127.
- Li Z Q ,Wang J ,Ding G L ,et al. Study on heat treatment and shoot tip virus elimination technique of strawberry [J]. Northern Horticulture 2012(5) :125 - 127.
- [17] 陈林晶 ,张熹涛 ,曹玉凤 ,等. 丽格海棠组织培养技术的研究[J]. 北方园艺 2012(22) :122 - 124.
- Chen L J ,Zhang X T ,Cao Y F ,et al. Study on tissue culture technology of *Rieger begonia*[J]. Northern Horticulture 2012(22) :122 - 124.
- [18] 陈菊 ,陈国慧. 6-BA 与 NAA 浓度对比对何首乌不定芽增殖的影响[J]. 中国农学通报 2006 ,22(11) :173 - 173.
- Chen J ,Chen G H. Study of the concentration of 6-BA and NAA in the Rapid Propagation of *Polygonum multiflorum* Thunb[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin 2006 ,22(11) :173 - 173.
- [19] 刘玉艳 ,于凤鸣 ,于娟. IBA 对含笑扦插生根影响初探[J]. 河北农业大学学报 2003 ,26(2) 25 - 29.
- Liu Y Y ,Yu F M ,Yu J. Primary study on the effects of IBA to the rooting of *Michelia figo*[J]. Journal of Agricultural University of Hebei 2003 ,26(2) 25 - 29.
- [20] 林萍 ,普晓兰. 球花石楠离体培养及快速繁殖研究[J]. 植物研究 2003 ,23(3) 280 - 284.
- Lin P ,Pu X L. Rapid propagation of *Photinia glomerata in vitro*[J]. Bulletin of Botanical Research ,2003 ,23(3) 280 - 284.
- [21] 石雪晖 ,陈海霞 ,蒋辉 ,等. 生长调节剂对草莓试管苗生根及移栽的影响[J]. 湖南农业大学学报 :自然科学版 2003 ,29(6) 509 - 512.
- Shi X H ,Chen H X ,Jiang H ,et al. On effects of plant growth regulators on rooting and transplanting of strawberry vitreous[J]. Journal of Hunan Agricultural University :National Sciences 2003 ,29(6) 509 - 512.
- [22] 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.
- Chao H J ,Liu M ,Ji Q L ,et al. Stem tip culture and rapid propagation of strawberry “Sweet charlie”[J]. Journal of Beijing University of Agriculture 2008 ,23(2) 24 - 27.