

草莓组织培养研究综述

汤 玲, 贺 欢, 孔 芬, 韩富军, 王卫成

(甘肃省农业科学院林果花卉研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 从草莓不同组织器官组培快繁、外源激素在组培中的应用、不同草莓品种的组培快繁、草莓组培快繁培养基表面消毒时间等方面, 对近年来草莓组培快繁技术的研究进展进行了综述, 并着重对脱毒率、成活率及褐化问题进行了分析。

关键词: 草莓; 组织培养; 研究; 综述

中图分类号: S663.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)09-0068-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2017.09.021

Research Summary of Tissue Culture of Strawberry

TANG Ling, HE Huan, KONG Fen, HAN Fujun, WANG Weicheng

(Institute of Fruit and Floriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The research progress of the technology of tissue culture and rapid propagation of strawberries are reviewed in recent years from different organs of strawberry micropropagation, the application of exogenous hormones in tissue culture and different cultivars of strawberry, medium surface disinfection time of strawberry micropropagation etc. And focusing on the detoxification rate, survival rate and browning problem are analyzed.

Key words: Strawberry; Tissue culture; Research; Summary

草莓属于多年生草本水果, 由于其果肉富含维生素和微量元素, 营养价值很高, 深受人们的喜爱。近年来草莓种植发展很快, 成为设施水果和生态园自助采摘的主要水果种类之一。

但相对于其他水果种类, 草莓品种相对单一, 且由于多年种植导致病毒病侵染严重, 种性退化, 果实变小, 畸形果比例增多, 口感会逐渐变差, 严重影响果农的经济收益和种植积极性。目前国

收稿日期: 2017-03-14

作者简介: 汤 玲(1987—), 女, 重庆铜梁人, 研究实习员, 主要从事草莓育种研究工作。联系电话: (0)18394030809。E-mail: tangling1986@hotmail.com。

通信作者: 王卫成(1968—), 男, 甘肃白银人, 副研究员, 主要从事草莓育种研究工作。联系电话: (0)13919430750。E-mail: wang216630@sohu.com。

- [54] 张娟琴, 邢增涛, 白 冰, 等. 电子束辐照对双孢菇采后品质的影响[J]. 核农学报, 2011, 25(1): 88-92.
- [55] JIANG T J, JAHANGIR M M, JIANG Z H, *et al.* Influence of UV-C treatment on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activity and texture of postharvest shi-itate (*Lentinus edodes*) mushrooms during storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56: 209-215.
- [56] 李 波, 芦 菲, 余小颖, 等. 短波紫外线对鸡腿菇保鲜的影响[J]. 农业工程学报, 2009, 25(6): 306-309.
- [57] GUAN W Q, FAN X T, YAN R X. Effects of UV-C treatment on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7, microbial loads, and quality of button mushrooms [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 64: 119-125.
- [58] GAO M S, FENG L F, JIANG T J. Browning inhibition and quality preservation of button mushroom (*Agaricus bisporus*) by essential oils fumigation treatment [J]. Food Chemistry, 2014, 149: 107-113.
- [59] 吴安君. 双孢菇的贮藏保鲜及速冻工艺研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2011.

(本文责编: 陈 伟)

内外普遍的改良措施是通过组织培养进行脱毒处理,恢复种性。我们就草莓组织培养方面的研究进展做一综述,以期给相关科研工作提供借鉴。

1 草莓不同器官的组培快繁

1.1 茎尖分生组织培养

茎尖分生组织是植物细胞生长、分裂最为旺盛的组织,在 1.0 mm 的范围内病毒不能到达,因此,利用这个部位来进行组织培养就可以有效地脱去病毒,获得健康无病毒种苗,因此茎尖培养脱毒已成为各种农作物如马铃薯、果树作物如苹果获得无毒苗的最重要途径之一。在草莓上,欧美最早就利用茎尖培养作为良种繁育的主要措施,日本目前也在全国生产上推广应用。沈阳农业大学的张志宏等^[1]以感染病毒的宝交早生品种为试验材料,对茎尖培养、热处理和抗病毒药剂处理 3 种的脱毒效果进行了比较,以多重 RT-PCR 检测的结果表明,0.2 mm 的茎尖培养脱毒率高,但茎尖成苗率只有 27%;而 0.5 mm 的茎尖培养成苗率可达 70%以上,且对两种病毒的脱除率为 70%~80%。蔡斌华等^[2]利用超低温技术对明宝扩繁 5 代的 2 mm 茎尖进行处理,草莓轻黄边病毒脱毒率达 95%,茎尖的成活率为 76%。刘健等^[3]通过不同温度水浴处理后进行茎尖培养,用嫁接法和电泳法结合检测,发现 40 ℃温水处理后再剥取茎尖培养,可获得 100%试管无毒苗。毛碧增等^[4]发明了一种多步分步草莓脱毒法,对 4 种主要病毒达到完全脱毒,且成活率高。覃英兰等^[5]研究表明,茎尖愈短脱毒效果愈好,但成活率较低。0.3 mm 以下茎尖的脱毒率高,但成活率较低;0.5 mm 以上的成活率可达 66.7%,但脱毒率仅为 20%。何欢乐等^[6]研究发现,采用 0.5 mm 茎尖进行 2 次脱毒培养,脱毒率可达 100%,但成活率仅为 26.67%。综合大量研究表明,采用茎尖脱毒,只要茎长控制在 0.2 mm 左右,脱毒率最高,如果结合热处理,会对茎尖的生长造成影响,导致存活率下降,因此要综合上述两个方面考虑。

1.2 叶片培养

利用叶片进行组织培养时取材更为方便,同时还能较大的保存植株的遗传特性^[7]。但草莓叶片的发育程度以及叶片所在植株的生长势等因素对草莓组培诱导不定芽及再生能力都有影响^[8]。一般选用多次继代培养的组培苗叶片作为诱导草莓组培苗不定芽再生的主要材料,这种材料含有

较高的激素水平,且处于细胞分裂旺盛状态,因而有利于不定芽的再生^[9]。郑桂珍等^[10]研究发现,叶片愈伤组织的诱导以在 MS 培养基中加入 2~3 mg/L TDZ 为好,生根在 1/2MS 培养基中加入 0.3mg/L IBA 较理想,移栽成活率可达 90%。叶片培养过程中易出现褐变现象。

1.3 花药和花粉培养

草莓花药培养是获得无毒苗的途径之一,最早日本学者首先报道了利用花药经愈伤组织分化出不定芽形成脱毒草莓植株^[11]。我国王常芸等^[12]研究了草莓花药培养,认为花药外植体接种操作简单,易消毒,繁殖容易,具有广泛实用性。覃英兰等^[5]通过花药愈伤组织获得再生多倍体植株,愈伤组织出愈率达 16%~29%,出苗率在 50%以上。薛光荣等^[13]以 8 个草莓品种为试材,通过花药培养都获得了再生植株,其中 5 个品种经鉴定,脱毒率达 100%。此外,孙崇波、晁慧娟等^[14-15]都利用花药培养取得了较好的结果。张慧琴等^[16]研究发现,花药培养中花粉在接种时的发育时期十分重要,同时生长调节物质的配比及含量对愈伤组织的形成影响也很大。

2 外源激素在组培中的应用

李会珍等^[17]研究了不同植物生长调节剂对“红颊”草莓组培快繁的影响,试验采用 6-BA、KT、NAA、IBA、GA 等 6 种激素,设置不同的浓度配比处理。结果表明,增殖系数最高的是 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.02 mg/L 和 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L,增殖系数都在 5.8 以上;而 KT 对组培苗的增长作用明显。饶学梅^[18]研究了 IBA 浓度对草莓组培的影响,试验以 MS+6-BA 0.5 mg/L 为基础,以不同浓度 IBA 对丛芽增殖效果、对玻璃化苗和畸形苗的影响几个方面进行了统计分析。结果表明,加入 0.02 mg/L IBA 可以降低玻璃化和畸形苗发生率,可以获得较高的繁殖系数和较好的增殖效果,有利于草莓丛芽快繁。吴伟民等^[19]研究了 CPPU 对草莓花药愈伤组织诱导和分化的影响。结果表明,CPPU 在各种试验浓度下,都可以产生愈伤组织,但以浓度为 1 mg/L 时愈伤组织诱导率最高,可达 83.6%;直接形成不定芽的效果与 BA 和 KT 的一致。金真等^[20]研究了培养基和外源激素对“章姬”草莓茎尖培养的影响,结果表明在改良 White 培养基 + 蔗糖 40 g/L, pH 5.8 时,茎尖成活率可达 80%以上;适宜的增殖培养基为

MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L, 增殖系数为 3.8; 生根培养基为 1/2MS+蔗糖 30 g/L。采用上述各适宜培养基就可以达到优质高效繁殖草莓“章姬”的目的。周恒等^[21]研究了烯效唑对丰香草莓试管苗生长、生根及保存的影响, 结果表明, 不同阶段适宜的有效浓度不一样。在生根阶段, 采用 0.03 mg/L 的浓度就可以促进根量增加使根系粗壮; 在继代培养中采用 0.05 mg/L 的浓度可使继代苗由纤细变为矮壮, 叶片肥厚浓绿。但在种质保存中为了控制生长量, 则添加 0.1 mg/L 的烯效唑可在常温下保存达 4 个月。张勇等^[22]研究了低温锻炼对草莓组培苗抗寒性及抗氧化酶活性的影响。结果表明经 4 ℃ 的一定时间处理后, SOD 酶活性迅速上升, CAT、POD 和 ARX 酶活性及可溶性蛋白、脯氨酸和可溶性糖都有不同程度的提高, 且脱锻炼后仍然高于未锻炼植株, 说明低温锻炼提高了草莓组培苗的防御酶活性。汤访评^[23]研究了水杨酸在草莓组培中防止玻璃化的问题, 因为在组培过程中玻璃化苗的发生给快繁工作造成很大损失和浪费。他们在诱导培养基 MS+BA1+NAA0.1 中加入 SA10 进行试验, 结果表明, 添加水杨酸的培养基玻璃化苗发生比例显著低于对照, 经 2, 3 代培养后稳定在 5% 左右, 而且各种酶活性增加, 表明水杨酸不仅可以降低玻璃化苗的比例, 而且可以激活防御酶, 提高幼苗抗逆能力。

3 不同草莓品种的组培快繁

肖君泽等^[24]以日本引进的草莓品种章姬为试验材料, 对组培苗的移栽驯化条件进行了试验。研究表明, 采用草碳、蛭石、珍珠岩按质量比 2 : 2 : 1 比例混合配制栽培基质, 并使用 50% 多菌灵可湿性粉剂 400 倍液消毒处理, 配合移栽后 14 d 用塑料小拱棚保持相对湿度 80% ~ 90% 的条件, 章姬草莓组培苗的移栽驯化效果好, 移栽成活率可达 100%。和秀云等^[25]以草莓品种 Totem 的茎尖为试材, 研究了不同激素组合对草莓增殖的影响, 结果表明以 6-BA 为 1.0 mg/L、IBA 为 0.5 mg/L 时, 其增殖系数最高; 吴正凯等^[26]以“法兰地”草莓为试材, 试验了不同激素对该品种幼芽分化和草莓苗增殖的影响, 结果 KT 的诱芽率高, 诱芽速度快, 而 6-BA 促进增殖的效果比 KT 好, 以 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA 的组合生长势

较好。王晓云等^[27]则以草莓品种太空 2008 为试材进行组培试验, 结果表明, 最佳启动培养基为 MS + BA1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, 增殖培养基为 MS + BA1.0 mg/L + IBA 0.3 mg/L; 生根培养基为 1/2MS + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L, 生根率达到 97.5%。陈晓流等^[28]用草莓新品系妙紫进行组培快繁研究, 提出的快繁技术体系是茎尖培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 增殖培养基是 MS+BA 0.5 mg/L + 0.05 mg/L NAA 为好, 如果激素水平高, 虽然繁殖系数高, 但芽丛长势弱; 生根培养基为 1/2MS+0.5 mg/L NAA, 新稍平均生根数达 4.5 条。

4 草莓组培快繁的培养基表面消毒时间的把握

组织培养中掌握好消毒时间是防止外植体污染和提高组培苗成活率的重要环节。从目前研究的文献来看, 各个研究团队对草莓组培材料的消毒处理方法有一些细微的差异, 其中研究较多的是升汞消毒的时间长短对组培的影响, 而不同品种对升汞的敏感程度也有差异, 因此, 不同学者由于采用不同品种得到的结论也不一样^[29]。吴正凯等人^[26]试验表明, 升汞灭菌处理时间长短, 对草莓匍匐茎茎尖成活的影响十分明显, 认为以 0.1% 升汞处理 3 min 为最好, 处理时间过长(5 ~ 8 min)使外植体褐变, 甚至死亡; 时间过短(1 ~ 2 min)则达不到灭菌效果, 容易污染。大多数作者报道 7 ~ 8 min 为宜^[30-35]。和秀云等^[25]对草莓品种托特目的表面消毒处理试验设了 6、8、10、12、14 min 5 个处理, 结果表明, 随着处理时间的延长, 污染率降低, 但褐化率增加, 因此提出托特母草莓茎尖最合适的消毒时间为 12 min, 存活率达 87.5%。

5 结束语

随着设施草莓栽培面积的扩大, 引进种植的草莓新品种也越来越多, 新品种扩大繁殖主要措施就是组培快繁技术, 越来越多的新品种快繁技术体系都已经研究建立, 组培快繁成为脱去草莓病毒病的主要措施。随着草莓快繁技术体系的建立, 草莓的品种改良、繁育技术、栽培管理技术及草莓产量和品质都有了很大提高。但组培快繁技术成本较高, 组培过程中的玻璃化、易褐化等问题依然存在, 需要进一步不断探索简易、低成本的繁殖方式。

参考文献:

- [1] 张志宏, 肖敏, 杨洪一, 等. 草莓病毒脱除方法的比较与评价[J]. 果树学报, 2006, 23(5): 720-723.
- [2] 蔡斌华, 张计育, 渠慎春, 等. 通过玻璃化超低温处理脱除草莓轻型黄边病毒(SMYEV)的研究[J]. 果树学报, 2008, 25(6): 872-876.
- [3] 刘健, 刘向蕾, 胡繁荣, 等. 草莓热处理结合茎尖培养脱毒效果研究[J]. 浙江农业科学, 2009(6): 1088-1089.
- [4] 毛碧增, 李德宝. 草莓脱毒法[P]. 中国, ZL200510062199.1, 2006-07-12.
- [5] 覃兰英, 邓世秀, 李青. 草莓无毒苗的培育[J]. 中国果树, 1987(2): 53-54.
- [6] 何欢乐, 阳静, 蔡润, 等. 草莓茎尖培养脱毒效果研究[J]. 北方园艺, 2005(5): 79-81.
- [7] 孙瑞芬. 草莓组培快繁及叶片诱导植株再生研究[J]. 华北农学报, 2007, 17(4): 49-53.
- [8] DENG X, HU W Y. Establishment of regeneration and genetic transformation system of strawberry leaf[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2000(2): 174-178.
- [9] 吴学梅, 汤浩茹. 草莓叶片培养研究进展[J]. 果树学报, 2004, 21(6): 598-602.
- [10] 郑桂珍, 来文国, 王淑珍. 草莓叶片离体培养技术[J]. 杭州农业与科技, 2010(4): 33-35.
- [11] 加古舜治. 园艺植物の器官と织の培养[M]. 日本东京: 诚文堂新光社, 1978: 149; 163-164.
- [12] 王常芸, 李晓亮, 王建玲, 等. 草莓脱毒技术与开发应用[J]. 山东农业科学, 2007(4): 118-122.
- [13] 薛光荣, 杨振英, 朱秋英, 等. 草莓花药培养获得无病毒植株的技术研究[J]. 植物学通报, 1990, 7(1): 22-26.
- [14] 孙崇波, 蒋桂花, 施季森, 等. 不同外植体对草莓病毒脱除效果及病毒的多重 RT-PCR 检测[J]. 核农学报, 2008, 22(4): 447-450.
- [15] 晁慧娟, 刘敏, 姬谦龙, 等. ‘甜查理’草莓花药培养脱毒技术[J]. 北京农学院学报, 2010, 25(2): 18-21.
- [16] 张慧琴, 谢鸣, 陈昆松, 等. ^{60}Co γ 辐照对草莓花药愈伤组织的诱导和分化的影响[J]. 核农学报, 2007, 21(3): 229-231.
- [17] 李会珍, 徐东进, 陈登金, 等. 不同植物生长调节剂对脱毒红颊草莓组培快繁的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(2): 43-45.
- [18] 饶学梅. IBA 浓度对草莓组培增殖的影响[J]. 安徽农学通报, 2012, 18(5): 35-36.
- [19] 吴伟民, 陈晓强, 陈秀兰, 等. CPPU 对草莓花药愈伤组织诱导和分化的影响[J]. 中国南方果树, 1999, 28(2): 36-37.
- [20] 金真, 王康丽, 梁佳惠, 等. 培养基和外源激素对“章姬”草莓茎尖培养的影响研究[J]. 农学学报, 2015, 5(8): 73-77.
- [21] 周恒, 罗静. 烯效唑在草莓组织培养中的应用研究[J]. 中国南方果树 2010, 39(5): 69-70.
- [22] 张勇, 汤浩茹, 罗娅, 等. 低温锻炼对草莓组培苗抗寒性及抗氧化酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 325-329.
- [23] 汤访评. 水杨酸在草莓组织培养中防止玻璃化作用的研究[G]//中国植物生理学会. 长三角现代植物生物学与农业专题论坛论文集. 上海: 出版社不详, 2005: 86-89.
- [24] 肖君泽, 黄益鸿, 阎珂. 章姬草莓组织培养苗移栽驯化影响因素的探讨[J]. 江西农业学报, 2012, 24(11): 11-13.
- [25] 和秀云, 毕海林, 薛润光, 等. 草莓“托特母”的组培快繁技术研究[J]. 西南农业学报, 2013, 26(2): 701-704.
- [26] 吴正凯, 郑晓峰, 黄刚. 法兰地草莓组织培养快繁技术研究[J]. 内蒙古农业科技, 2009(1): 32-33.
- [27] 王晓云, 张晓中, 赵海红, 等. 草莓茎尖组培快繁技术[J]. 农业科技通讯, 2014(12): 124-125.
- [28] 陈晓流, 崔美, 陈学森, 等. 草莓新品种妙紫的组培快繁技术研究[J]. 山东农业科学, 2012, 44(5): 17-19.
- [29] 吴鹏飞, 王丽娟, 切岩祥和, 等. 设施草莓组培快繁研究现状分析[J]. 北方园艺, 2016(1): 195-199.
- [30] 袁倩, 沈少华, 刘中来, 等. 草莓组织培养技术研究[J]. 现代农业科技, 2015(11): 90-91.
- [31] 庞传明, 李忠. 草莓组培快繁技术[J]. 山西果树, 2015(2): 54-55.
- [32] 廖映粉, 冯鸿, 胡薇. 青霉素和 NAA 与 6-BA 配合在离体草莓器官建成中的作用[J]. 激光生物学, 1995, 4(3): 709-713.
- [33] 陆广欣, 冯利, 毛碧增. 生物技术在草莓健康种苗培育及种质改良方面的研究进展[J]. 热带作物学报, 2011, 32(8): 1584-1589.
- [34] 朱丽君, 张馨玉, 袁云香, 等. 草莓组织培养的研究概述[J]. 辽宁农业科学, 2014, 6: 56-58.
- [35] 王燕, 陈丙义, 章镇, 等. 黄毛草莓组织培养与快繁技术研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(1): 252-256.