

# “童子1号”草莓组培快繁技术研究

任平国<sup>1</sup>, 徐启红<sup>1</sup>, 侯凯<sup>2</sup>, 张胜<sup>1</sup>, 党卫红<sup>1</sup>

(1. 漯河职业技术学院, 河南漯河 462000; 2. 漯河天翼生物工程有限公司, 河南漯河 462000)

**摘要** [目的] 探讨低成本下草莓试管苗的快繁技术。[方法] 以“童子1号”草莓匍匐茎的顶芽为试材, 以附加不同浓度 BA、NAA 的 MS 培养基诱导和增殖草莓小苗, 记录组培苗的诱导与增殖情况。带顶芽的茎段基部蘸不同浓度的 IBA、NAA、IAA, 观察生根情况。[结果] 草莓低成本下最适诱导分化培养基为 MS + BA 0.5 mg/L。BA 明显促进芽的增殖, KT 会影响芽的增殖率。最优的增殖培养基为 MS + BA 0.5 mg/L。3 种不同浓度激素处理组培苗的生根差别不大。组培苗瓶外生根蘸取的最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L。试管生根苗直接移栽的成活率高达 99%。[结论] 所有培养基均以 3% 食用白砂糖代替蔗糖, 以自来水代替蒸馏水, 大大降低了培养成本, 每株成本下降。

**关键词** “童子1号”; 草莓; 组培; MS 培养基

**中图分类号** S668.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)15-06206-02

## Research on Regeneration Technique of Strawberry “Tongzi 1”

REN Ping-guo et al (Luohe Vocational Technology College, Luohe, Henan 462000)

**Abstract** [Objective] The study was to explore the rapid propagation technique of strawberry seedlings in vitro with low cost. [Method] With the top buds on the stolon of tongzil as material, the seedling of strawberry was induced and multiplied in MS medium mixed BA、NAA with different concentration and the effect of its induction and multiplication was investigated. The rooting effect of the base of the stem with top bud shocking in different concentration of IBA, NAA and IAA was studied. [Result] The optimum medium for differentiation was MS + BA 0.5 mg/L in low cost condition. BA could improved the propagation of shoot, while KT could decrease its propagation. The optimum medium for propagation was MS + BA 0.5 mg/L. The effect of rooting during 3 plant growth regulator with different concentration had a slight difference. The optimum concentration of soaking root was IBA 800 mg/L out of bottle. The directly transplant living rate of seedling researched 99%. [Conclusion] The cost could be decreased markedly with 3% edible sugar instead of sucrose and tap water instead of distilled water, and the cost of media per plant could be decreased to 75%.

**Key words** “Tongzi 1”; Strawberry; Tissue culture; MS medium

草莓 (*Fragaria ananassa* Duch) 是蔷薇科草莓属宿根性多年生草本植物, 其栽培面积和产量在世界浆果类水果生产中仅次于葡萄<sup>[1]</sup>。草莓具有适应性广、栽培容易、结果早、产量高、收益好等优点, 是一种经济价值较高的天然高档食品<sup>[2]</sup>, 除供鲜食外, 还可加工成罐头、酱、酒、饮料等制品, 并有较高的医疗保健作用<sup>[3]</sup>。但由于长期的匍匐茎无性繁殖, 易受病毒侵染而使品种退化<sup>[4]</sup>, 产量、质量也下降明显。利用草莓茎尖培养快繁技术可部分或全部脱除病毒, 保持草莓品种的优良性状, 提高产量<sup>[5]</sup>。

“童子1号”草莓是漯河天翼生物工程有限公司于 1998 年从国外引进的草莓品种中选育而成的新品种, 也是目前理想的鲜食和加工兼用品种。该品种果肉红色, 细密坚实, 硬度大, 可切块或切片食用, 保质期长, 极耐贮运。果实香浓, 味甜微酸, 风味和口感特好。其抗逆性和适应性强, 在高温和低温下畸形果少。抗灰霉病、白粉病, 是目前日光温室内的最优的特大型鲜食草莓品种。为使草莓工厂化育苗、规模化生产得到技术支持, 使“童子1号”草莓得到进一步推广, 笔者自 2006 年起开展了草莓试管苗低成本快繁技术的研究。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** “童子1号”草莓, 由漯河天翼生物工程有限公司提供。

## 1.2 方法

**1.2.1 材料的消毒与处理。** 取健壮的“童子1号”草莓匍匐茎顶端约 2~3 cm 长的顶芽, 用自来水冲洗 2~3 h 后, 用小镊子摘除匍匐茎的外部大叶, 再用 70% 的酒精消毒 30 s, 然

后置于 0.1% 的升汞中消毒 6~8 min, 再用无菌水冲洗 6~8 遍。

**1.2.2 诱导分化与增殖。** 切取 0.5 mm 左右大小茎尖接种于附加不同浓度 BA、NAA 的 MS 诱导培养基上, 所用培养基以 3% 食用白砂糖代替蔗糖, 加琼脂 0.7%, 以自来水代替蒸馏水, pH 值在高压灭菌前调至 6.0, 每瓶接种 3 个材料, 接种后移至培养室内培养。培养条件为光照 1 500~2 500 lx, 14 h/d, 温度 (25±1) °C。

把诱导分化出的草莓小苗转接入继代增殖培养基, 培养基成分同诱导分化培养基。接时把芽团分细小些, 约 5 株/瓶, 约 30 d 继代 1 次, 记录组培苗的增殖情况。

**1.2.3 生根与炼苗移栽。** 组培苗生根移栽, 一般要在培养基内添加生根激素, 20~40 d 后, 将生根瓶苗移至室外炼苗, 洗净琼脂, 再移植在基质土中, 其过程较麻烦, 成活率不太高。所采用的滤纸桥瓶外生根, 基本能解决上述问题<sup>[6]</sup>。

试验选用 3 种生长调节剂: IBA、NAA、IAA, 每种激素浓度分别为 200、500、800 和 1 000 mg/L。选择继代培养健壮的草莓苗, 剪取 1.5~2.0 cm 长的带顶芽的茎段, 将其基部蘸有一定浓度的生长素, 轻轻插入滤纸桥中, 放入棚内含有一定营养液的容器内, 启动调控措施。观察茎段的生根情况, 挑选生根较好的组培苗进行移栽。

## 2 结果与分析

**2.1 生长调节剂对草莓茎尖诱导分化的影响** 由表 1 可知, 草莓茎尖的成活与生长都需要 BA 的参与, 而对 NAA 并无要求; BA 的最适浓度为 0.2~0.5 mg/L, 而以 0.5 mg/L 的成活率较高。但 BA 浓度过高也会影响茎尖的成活与生长, 当 BA 浓度达到或超过 1.0 mg/L 时, 成活率明显下降。因此, 诱导“童子1号”草莓茎尖成活与生长的最适培养基为 MS + BA 0.5 mg/L。

**基金项目** 河南省教育厅自然科学研究科技攻关项目(2007180035)。  
**作者简介** 任平国(1973-), 男, 河南息县人, 讲师, 从事生理、生化方面的研究与教学工作。

**收稿日期** 2008-03-21

表 1 不同浓度的 BA、NAA 对草莓茎尖诱导分化的影响

Table 1 Effects of different concentrations of BA and NAA on induction and differentiation of strawberry shoot tip

| 处理浓度//mg/L<br>Treatment concentration |      | 萌发芽数//个<br>Germinating bud number | 萌发率 %<br>Germination rate | 平均苗高<br>cm<br>Average seedling height |
|---------------------------------------|------|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| BA                                    | NAA  |                                   |                           |                                       |
| 0.2                                   | 0    | 31                                | 62                        | 1.41                                  |
| 0.2                                   | 0.02 | 21                                | 42                        | 1.13                                  |
| 0.2                                   | 0.05 | 23                                | 46                        | 0.91                                  |
| 0.5                                   | 0    | 34                                | 68                        | 1.59                                  |
| 0.5                                   | 0.02 | 26                                | 52                        | 1.29                                  |
| 0.5                                   | 0.05 | 27                                | 54                        | 1.16                                  |
| 1.0                                   | 0    | 17                                | 34                        | 0.77                                  |
| 1.0                                   | 0.02 | 15                                | 30                        | 1.01                                  |
| 1.0                                   | 0.05 | 14                                | 28                        | 0.95                                  |

注:接种芽数均为 50 个。Note: Number of inoculated bud is 50.

2.2 生长调节剂对草莓丛生芽增殖的影响 将诱导出的“童子 1 号”草莓健壮苗转接到继代培养基上,培养 30 d 后,调查芽的增殖情况。

由表 2 可知,芽的增殖与茎尖诱导一样,受 BA 的促进影响比较明显,添加 KT 反而会影响芽的增殖率。当 BA 浓度为 0.5 mg/L 时,芽的增殖系数为 7.13,添加 KT 0.1 mg/L 时,芽的增殖率下降到了 2.93;当 BA 浓度为 0.2 mg/L 时,芽的增殖系数为 2.40,添加 KT 0.1 mg/L 时,芽的增殖率下降到了 2.20。但添加 KT 或高浓度 BA 有助于苗的长高,出于增殖的目的,最优的增殖培养基为 MS + BA 0.5 mg/L。

表 2 不同浓度的 BA、KT 对草莓丛生芽增殖的影响

Table 2 Effects of different concentrations of BA and KT on adventitious buds proliferation of strawberry

| 培养基//mg/L<br>Culture medium | 增殖芽数//个<br>Proliferation bud number | 增殖系数<br>Proliferation coefficient | 平均苗高//cm<br>Average seedling height |
|-----------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|
| MS + BA 0.2                 | 72                                  | 2.40                              | 0.85                                |
| MS + BA 0.2 + KT 0.1        | 66                                  | 2.20                              | 0.97                                |
| MS + BA 0.5                 | 214                                 | 7.13                              | 1.05                                |
| MS + BA 0.2 + KT 0.1        | 88                                  | 2.93                              | 1.26                                |

注:接种数均为 30 个,培养时间均为 30 d。

Note: Number of inoculated bud is 30. Culture time is 30 d.

2.3 生长调节剂对草莓培养苗生根的影响 由图 1 可知,“童子 1 号”草莓组培苗对不同浓度下的 3 种激素的反应相差不多,只是在生根率上,IBA 较其他两种激素略强一些。当 IBA 浓度为 800 mg/L 时生根率相对较高。移栽的头 3 d,中午前后盖遮阳网以防止光强过大,3 d 后撤去遮阳网,当棚内

温度超过 33 ℃ 时再加盖遮阳网。移栽 20 d 后观察成活情况。试验表明,由于试管生根苗已具备发育良好的根,移栽的成活率高达 99%,高于瓶内生根的组培苗。

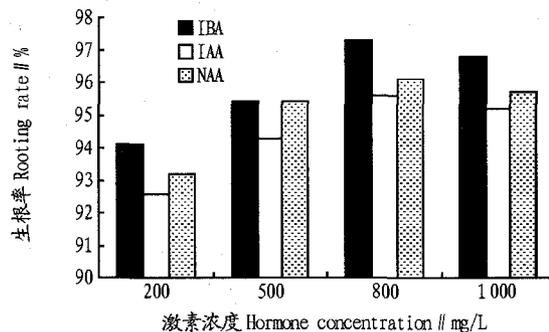


图 1 不同浓度的 IBA、NAA、IAA 对草莓生根的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of IBA, NAA and IAA on strawberry rooting

### 3 讨论与结论

试验结果表明,“童子 1 号”草莓诱导分化培养基配方为:MS + BA 0.5 mg/L;继代增殖培养基 MS + BA 0.5 mg/L;组培苗瓶外生根蘸取的最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L。试验中所有培养基均以食用白砂糖代替蔗糖,加入量为 3%,琼脂 0.7%,以自来水代替蒸馏水,降低了培养成本。不同学者对草莓茎尖培养基本培养基试验结果的报道有差异,如陈振光认为草莓茎尖培养激素用量宜低,BA 浓度过高,形成的芽丛生会停滞,成莲座状<sup>[7]</sup>,这可能与品种有关。在“童子 1 号”草莓茎尖诱导过程中,BA 浓度在 0.5 mg/L,不加 NAA 反而效果好。这与董淑英、何欢乐等的研究报道一致<sup>[8-9]</sup>。

### 参考文献

- [1] 张跃进,朱振林.大棚草莓配套栽培技术[M].上海:上海科学普及出版社,2000.
- [2] 曹攸义,刘国民.实用植物组织培养技术教程(修订本)[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002.
- [3] 赵密珍,苏家乐.草莓[M].北京:科学技术文献出版社,2005.
- [4] 高山林.草莓分生组织培养脱毒技术及其应用[J].北方园艺,2000,133(4):34-35.
- [5] 张志宏.你知道什么是草莓组培脱毒原种苗吗[J].新农业,2000(4):20.
- [6] 孙仲序,王玉军.植物组织快繁滤纸桥新技术[J].山东农业大学学报:自然科学版,2002(33):257-263.
- [7] 陈振光.园艺植物离体培养学[M].北京:中国农业出版社,1996.
- [8] 董淑英,李世润.草莓离体培养产生匍匐茎研究[J].北方园艺,1999,126(3):28-29.
- [9] 何欢乐,阳静.草莓茎尖培养快繁体系研究[J].上海交通大学学报,2003(12):61-65.

(上接第 6188 页)

- [11] PRESCOTT D M, MYERSON D, WALLACE J. Enucleation of mammalian cells with cytochalasin B[J]. Exp Cell Res, 1972, 71(2):480-485.
- [12] LATIANZI G, MUNTONI F, SABATELLI P, et al. Unusual laminin alpha 2 processing in myoblasts from a patient with a novel variant of congenital muscular dystrophy[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 277(3):639-642.
- [13] AGUILAR P S, ENGEL A, WALTER P. The plasma membrane proteins pml1 and fig1 ascertain fidelity of membrane fusion during yeast mating[J]. Mol Biol Cell, 2007, 18(2):547-556.
- [14] TAM W L, ANG Y S, LIM B. The molecular basis of ageing in stem cells[J]. Mech Ageing Dev, 2007, 128(1):137-148.
- [15] LAGUTINA I, LAZZARI G, DUCHI R, et al. Comparative aspects of somatic cell nuclear transfer with conventional and zona-free method in cattle, horse,

pig and sheep[J]. Theriogenology, 2007, 67(1):90-98.

- [16] YAMAGISHI H, LANDGREN M, FORSBERG J, et al. Production of asymmetric hybrids between Arabidopsis thaliana and Brassica napus utilizing an efficient protoplast culture system[J]. Epub, 2002, 104(6/7):959-964.
- [17] BASTIA T, CAROTENUTO N, BASILE B, et al. Induction of novel organelle DNA variation and transfer of resistance to frost and Verticillium wilt in Solanum tuberosum through somatic hybridization with IEBN S. commersonii[J]. Euphytica, 2000, 116:1-10.
- [18] GIL F, REYTOR E, PEREZ-FILGUEIRA D M, et al. Multimerization of peptide antigens for production of stable immunogens in transgenic plants[J]. J Biotechnol, 2007, 128(3):512-518.
- [19] SIMPSON G R, HAN Z, LIU B, et al. Combination of a fusogenic glycoprotein, prodrug activation, and oncolytic herpes simplex virus for enhanced local tumor control[J]. Cancer Res, 2006, 66(9):4835-4842.