

设施草莓组培快繁研究现状分析

吴鹏飞¹, 王丽娟^{1,2}, 切岩祥和³, 马 钊¹, 吕思宇²

(1. 天津农学院 园艺园林学院, 天津 300384; 2. 沈阳农业大学 农业工程博士后流动站, 辽宁 沈阳 110866; 3. 静冈大学 农学部, 日本 静冈 4228529)

摘 要:草莓作为多年生小浆果,具有较高的食用价值和经济价值,在巨大的市场需求和设施栽培方式的刺激下,草莓的栽培面积不断扩大,通过草莓组织培养不仅可以为生产上提供大量的脱毒草莓植株,而且对草莓新品种的繁育和草莓种质资源的保存具有重要意义。现从国内外草莓组织培养研究现状、草莓组织培养的主要方式等进行了论述,对草莓组织培养过程中出现的问题及解决方法提出了意见,减少组织培养过程中造成的不必要损失,提高设施草莓种植的经济价值和社会价值。

关键词:设施草莓;组培快繁;研究进展

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)01-0195-05

草莓(*Fragaria ananassa* Duchesne.)属蔷薇科草莓属多年生草本植物,原产美洲,后被世界各地广泛引种,草莓果实内含有丰富的氨基酸、胡萝卜素、维生素,尤其

维生素 C 含量高出苹果和葡萄数倍,同时还含有丰富的铁、钙、磷、锌等矿物质。据统计,草莓果实内锌含量大约是香蕉的 4 倍,柑橘的 6 倍,比苹果高约 40 倍^[1]。另据医学记载,常食用草莓有利于肠胃消化而且对促进大脑智力发育有重要作用。2003 年底,根据中国园艺学会草莓分会统计,我国草莓种植面积和总产量超过美国和日本,跃居世界第 1 位^[2],另据农业部统计,2006 年全国草莓栽培面积 7.93 万 hm²,产量占国内果树种植总面积的 0.79%,占国内水果总产量的 1.95%^[3]。栽培面积的不断扩大大对草莓繁殖方式也有了更高的要求,传统的栽培方式主要靠匍匐茎进行无性繁殖,这种生产方式下草

第一作者简介:吴鹏飞(1992-),男,硕士研究生,研究方向为设施草莓组培快繁技术。E-mail:13022251550@163.com

责任作者:王丽娟(1971-),女,博士,副教授,硕士生导师,研究方向为设施园艺。

基金项目:天津市中青年骨干教师资助项目(J010070207);天津市“千人计划”资助项目(津 2012-77);大学生创新创业训练计划资助项目(201410061009)。

收稿日期:2015-09-24

[20] 张阿凤,潘根兴,李恋卿.生物黑炭及其增汇减排与改良土壤意义[J].农业环境科学学报,2009,28(12):2459-2463.

[21] 陈温福,张伟明,孟军,等.生物炭应用技术研究[J].中国工程科学,2011,13(2):83-89.

Application of Carbon-based Fertilizers in Low-carbon Farming

XU Yunding¹, HOU Ping¹, HUANG Yong², ZHANG Jinmeng³

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration, Zhejiang Agricultural and Forestry University, Hangzhou, Zhejiang 311300; 2. Shanghai Chongming Low Carbon Agriculture Technology Co. Ltd., Shanghai 202163; 3. Shanghai Tony Agriculture Development Co. Ltd., Shanghai 201311)

Abstract: Biochar and organic fertilizer made into charcoal-based fertilizer, it could stabilize soil environment, improve soil physical and chemical environment. This paper summarized the application of carbon-based fertilizer was becoming popular in this century, this paper pointed out it could be used for pollution-free, green, organic farming, reducing environmental pollution and increasing soil carbon sequestration, reducing agricultural emissions. It also discussed the agricultural production to organic agriculture and in line with the development direction of low-carbon agriculture, provided the basis for the future to replace traditional fertilizers.

Keywords: charcoal-based fertilizer; low-carbon agriculture; biological carbonaceous; soil carbon sequestration

莓的单位种植产量低且更容易感染病毒,草莓组培苗与通过匍匐茎繁殖得到的实生苗相比,组织培养获得的草莓脱毒苗长势更稳定、植株抗性强、病害发生率少^[4]。在我国北方地区,通过草莓组织培养还可以有效打破草莓的被迫休眠,为草莓的生长提供适宜环境,满足草莓生产的市场需求。

1 草莓组培快繁研究现状分析

1.1 国内外草莓组织培养研究现状

随着我国近几年设施园艺的快速发展,草莓种植方式也在不断改进,为草莓的大面积栽培提供了有利的栽培场所。例如高架栽培、无土栽培等种植方式对降低草莓病害和缓解盐碱胁迫提供了有利的栽培环境,生产上用于栽培的草莓植株也逐渐摆脱了传统的繁育方式,取而代之的是经过组织培养得到的脱毒苗,这种用于生产的脱毒苗可以为市场提供大量优质的草莓。草莓的相关研究一直受到国内外科研工作者的重视,无论是通过生物技术培育新品种还是在病虫害综合防治上都取得了很大的突破^[5]。据相关的研究报道,发达国家在草莓种植生产上有着丰富的经验,例如美国和日本等^[6],其草莓脱毒苗的应用早在 20 世纪中期已经达到普及程度,栽培种植上多为无土栽培,这在生产上相对减轻了土壤对草莓生产过程中造成的病虫害危害,另外发达国家在草莓品种繁育方面也处在世界前沿,为生产上提供大量的优质草莓品种。近几年,随着草莓组织培养技术的日趋完善,通过学习国外前沿种植经验、引进国外先进技术,草莓组培苗的工厂化生产也在我国迅速发展,并取得了显著的经济效益和社会效益^[7]。另外,通过对草莓组织培养的研究,对了解草莓的品种种性有重要作用,同时还能够有效地保存草莓种质资源^[8]。现代都市农业在我国的迅速发展给设施草莓的推广提供了更为有利的条件,尤其是随着国内草莓采摘园的出现,在草莓的种植生产上需要生长活力旺盛、病虫害危害少的草莓植株,这就需要我国在草莓组织培养技术方面不断引进新技术,不断创新。我国各大农科类院校和相关科研单位在草莓生产实践和学术研究方面都取得了突出的成绩,为草莓的栽培种植提供强有力的理论和技术支持,例如沈阳农业大学果树专业从 20 世纪 80 年代初就开始进行草莓苗工厂化生产的研究,现已建立起草莓组培苗快速繁育基地,每年可为生产上提供大量优质的草莓脱毒苗。

1.2 培养基和外源激素的选择

在各类植物组织培养中,如何提高植物增殖系数是组培快繁的关键^[9]。首先培养基的选择是各类植物进行组织培养的重要前提,是所选外植体进行组织培养的

重要营养来源,只有配制出适宜的培养基,才能使组织培养获得成功,草莓的组织培养也是如此。通常植物组织培养所用培养基包括以下成分,即有机成分、植物生长调节物质、矿质营养、碳源、琼脂以及其它附加物等。常见的培养基如 MS、B5、SH 等,其配制都要满足植物生长的大量元素、微量元素。在草莓组织快繁中常用的培养基多为通用的 MS、1/2MS 培养基,该培养基既有草莓生长所需要的大量元素氮、磷、钾等,同时还包括微量元素锌、铜、铁等,以及对外植体的生长发育起促进和调节作用的有机物质以及植物激素等^[10]。草莓组织培养过程中因其所选的外植体不同,相应的培养基和植物生长调节剂的配比也有一定的差别。

在组织培养过程中除选取适宜的培养基外,培养基中不同外源激素浓度的配比如 6-BA、IBA 和 NAA 等对草莓组培苗的生长也起到重要作用。草莓组培苗所选择的外植体一旦确定,对其外植体形成愈伤和生根成苗的最关键因素为植物激素^[11],它在草莓组织培养过程中起到不可或缺的作用。在草莓组织培养研究过程中发现^[12],细胞分裂素 6-BA 能显著提高增殖系数,在诱导培养基上添加 0.5 mg/L 6-BA 能够显著提高草莓的增殖系数,但是随着 6-BA 浓度的逐渐增加,草莓组培苗生长受到影响,苗纤细、黄弱,当其浓度过低时,形成的芽数目减少,但其生长势良好。IBA 和 NAA 属于生长素类物质,主要促进植物生根,在草莓的继代培养过程中,添加 0.3 mg/L IBA 或 0.1 mg/L NAA 能够显著提高草莓组培苗的生根率,但浓度过高会影响植株的正常生长,甚至死亡^[13]。在草莓组织培养相关文献中,绝大多数草莓组培试验都有激素调节组培苗方面的研究,且不同品种对激素种类及浓度要求也不相同^[14]。除上述植物激素外,生产上还有 KT、噻苯隆等试剂用于草莓组织培养,但无论哪种植物激素,试验中都要根据其所选择的外植体和营养器官的不同而异。

1.3 草莓主要组织培养方式

1.3.1 叶片培养 叶片的生长过程是由分生组织产生的细胞,经过反复分裂、伸长,最后成熟为叶片,这一生物学特性对利用叶片进行组织培养提供了可能。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^[15]。草莓叶片的生理特性对草莓组培诱导不定芽的发生有较大影响,叶片的发育程度以及叶片所在植株的生长势等因素在很大程度上影响着叶片的生理生化特性^[16],进而影响草莓组培苗的再生能力。一般草莓通过叶片进行培养时,所选材料是以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,这样的叶片由于经过多次继代,含有较

高的激素水平,且处于细胞分裂旺盛状态,从而有利于不定芽的再生^[17]。郑桂珍等^[18]研究发现,叶片愈伤组织诱导的最适培养基以 MS+2~3 mg/L TDZ 较理想,生根培养基以 1/2MS+0.3 mg/L IBA 为宜,且移栽成活率可达 90%。在草莓叶柄或叶片组织培养过程中偶尔出现褐变现象,可能是所选外植体的生长势较弱造成的,外植体死亡数目过多时可能会出现大面积褐变现象,因此在选取外植体过程中应避免生长势不好的植株。

1.3.2 茎尖培养 茎尖属于顶端分生组织,因其细胞具有较强的分生能力,所以选取茎尖作为外植体进行组织培养是目前较为普遍的方法。利用草莓茎尖进行脱毒组织培养时在解剖镜下切取茎尖生长点,接种于最佳诱导培养基上进行生根诱导。最早报道茎尖培养并成功培育出草莓植株,是一种在培养室进行组织培养的方法。何欢乐等^[19]研究发现采用 0.5 mm 的茎尖进行二次脱毒培养,脱毒率高达 100%,但成活率仅为 26.67%。茎尖培养脱毒效果与茎尖大小密切相关,王常芸等^[20]利用不超过 0.2 mm 的茎尖脱毒率达到 100%,0.3~0.4 mm 的茎尖脱毒率达到 84.5%以上,1 mm 以上的茎尖脱毒率极低,所以草莓茎尖培养时一般取 0.2~0.4 mm 为宜,在这个范围内脱毒率较高且操作较为容易^[21]。从植物生理学上究其原因主要是由于植物感染病毒时,病毒在植株体内分布并不均匀,所感染的病毒会因植株的不同部位和植株部位的不同生长周期有所差异,越靠近植株茎顶端的区域,病毒的感染深度越低。感染病毒的植株分生区域内无维管束,病毒只能通过胞间连丝传递,这种传递速度小于细胞分裂和细胞生长的速度,所以生长点带病毒数量较少。而生长点(约 0.1~1.0 mm 区域)几乎不含或含病毒较少^[22],由于草莓茎尖培养脱毒效果好,形成的草莓植株生长相对稳定,所以该方法是目前生产上培育无毒苗最广泛和最重要的一个途径。

1.3.3 花药和花粉培养 在植物组织培养过程中,花药培养属器官培养,花粉培养属细胞培养,但花药培养和花粉培养的目的相同,都是要诱导花粉细胞发育成单倍体细胞,最后发育成单倍体植株。花药培养的这特性对今后的育种和进行遗传规律研究提供了较好的材料,试验表明用秋水仙素加倍后可得到纯合体植株,同时单倍体有利于突变的检测和抗性细胞系的筛选,进而缩短育种年限^[23]。草莓花药培养是获得无毒苗的途径之一,20 世纪 70 年代,日本学者首次报道了草莓花药经愈伤组织分化出不定芽形成脱毒草莓植株,随后国内也有相关报道^[24]。在草莓花药培养中,花药外植体接种操作起来较简单,易消毒、繁殖容易,具有广泛的适用性^[20]。通

过花粉和花药进行草莓组织培养时,外植体植株的生长条件、生长时间、花粉发育程度等都会影响其组培苗的正常生长,张慧琴等^[25]认为花药培养时,花粉在接种时所处的发育时期尤为重要。另外,草莓花药离体培养过程中,生长调节物质的配比及含量对愈伤组织的形成具有重要的作用,但在草莓花药组织培养过程中并非所有再生植株都是通过愈伤组织诱导而来,可经一次培养直接形成不定芽而分化成植株。草莓通过花药或花粉培养诱导单倍体的技术在草莓种植资源学上有一定的应用价值,为今后的育种工作和保存种植资源提供了可能。

1.3.4 原生质体培养 原生质体是指人为去掉细胞壁的裸露细胞。获取原生质体的关键在于选择生长旺盛、生命力强的植物组织和细胞,这些因素往往影响原生质体的分裂、愈伤组织的形成和植株的再生。高等植物的原生质体是遗传转化研究十分理想的受体,可以改良作物的产量、品质、抗逆性等,但在原生质体培养再生植株过程中,往往会产生无性系变异^[26]。原生质体分离方法较多,现在使用最广泛的是酶解法,利用酶解法进行原生质体培养可以有效地用来分离和纯化突变体^[27],所用材料多为叶肉细胞、愈伤组织等。基因型对原生质体分离好坏与否具有较大的影响,通常情况下,草莓通过原生质体培养时通过其叶片可以很容易得到大量遗传上一致的原生质体^[28]。另外,有学者研究发现通过原生质体融合可以克服远缘杂交难以克服的障碍等,草莓遗传上的高度杂合性、染色体多倍性和丰富的野生资源,使得原生质体操作成为草莓育种的一种重要手段^[29]。利用现代生物技术进行原生质体育种可以有效地改良草莓基因型,为今后草莓育种工作提供了一条新途径。

2 草莓组织培养存在的问题及处理方法

2.1 外植体污染及其防治

通过对草莓组织培养过程中污染物种类的研究发现,草莓外植体污染的主要形式分为真菌性污染和细菌性污染。其中真菌污染物如曲霉真菌、青霉真菌等,大多存在于空气环境中,传播速度快,分生孢子能力强^[30],能够随空气传播,但真菌污染则相对易于被发现,控制较困难。细菌性污染是由于外界环境和外植体本身各种细菌及内生菌引发的,该污染隐蔽性强,一般潜伏期很长,不易被发觉^[31],细菌性污染的原因还包括外植体消毒不彻底,在无菌操作和接种过程中所用培养基、接种工具、培养基高压灭菌时间不够、接种室消毒不彻底或操作不规范等,从而导致组织培养过程中出现的污染^[32]。

控制减少草莓组织培养中外植体受污染的概率要做到以下步骤。1)外植体的消毒要彻底,对所选草莓植

株的器官和组织进行消毒时,所选消毒材料例如不同浓度的酒精、次氯酸钠、氯化汞溶液等,既要尽可能的杀死所选外植体表面的细菌和微生物的同时还要减少对其细胞组织的伤害^[33],另外草莓根据所选不同外植体器官和组织,灭菌时间和灭菌方式也不尽相同^[34],常见灭菌试剂使用浓度和灭菌时间归纳如表 1。2)接种器皿和器械要严格灭菌,在对接种所用的器皿和器材进行高压灭菌时,灭菌时间不低于 15 min,灭菌完成时不能直接打开暴露在空气中,要在接种时置于超净工作台上打开,并用酒精棉球进行消毒。3)组织培养操作室和操作台灭菌,操作室和超净工作台主要用紫外灯进行灭菌,时间不少于 20 min。4)接种人员在接种时一定要按照无菌程序进行操作。

表 1 不同灭菌剂的使用浓度、时间以及清洗难易程度

灭菌剂名称	使用浓度/%	灭菌时间/min	清洗难易
酒精	70~75	0.2~0.5	易
漂白粉	饱和溶液	10~20	易
氯化汞	0.1~0.5	15~20	较难
次氯酸钠	1~2	10~20	较易
次氯酸钙	5~10	10~15	较易

除了以上减少植株污染的发生概率外,有学者研究还发现,在组织培养过程中污染物的发生概率会随季节性的变化而有所差异^[35]。因此,在草莓组织培养过程中应根据其污染物发生概率制定不同的消毒时间和消毒流程,预防和降低污染物发生和传播的概率。

2.2 组培苗玻璃化现象及其防治

草莓组培苗玻璃化现象在组织培养中较为常见,培养基中蔗糖和琼脂的不同浓度配比以及培养基中水分含量过高都会导致玻璃化苗的出现。另外,在组织培养过程中随 6-BA 浓度的增加也会增加组培苗玻璃化现象发生的概率^[36]。草莓玻璃化苗通常会表现为试管苗叶、嫩梢呈水晶透明或半透明,草莓组培苗矮小失绿,叶片皱缩、脆弱易碎、叶表缺少角质层蜡质、缺失功能性气孔等,这些表现性状都会导致草莓组培苗失去活性,影响其正常生长。

减少草莓组培苗玻璃化现象可以从以下几种措施入手。1)提高培养基中琼脂和蔗糖的浓度,降低培养基中的衬质势和渗透势,进而降低组培瓶中的相对湿度,提高培养基凝固度^[37]。2)适当降低培养基中细胞分裂素和赤霉素的浓度^[38],有学者研究发现在继代培养过程中累积增加高浓度的细胞分裂素会增加试管苗玻璃化现象发生的概率^[39]。3)适当增加自然光照,蔡祖国等^[40]试验发现,将玻璃化试管苗置于自然光照下,组培苗茎、叶变红,玻璃化逐渐消失,可能是在自然光下的紫外线促进试管苗成熟,加快其木质化。除了增加自然光

照外还要改善培养容器的通风换气条件,完全密闭的培养容器也可能导致玻璃化现象的发生,在组织培养过程中应选用透气性好的封口材料,改善培养基环境,降低玻璃化苗的现象。4)对已出现的玻璃化现象,有试验表明在继代培养基中添加 1 g/L 活性炭、2 g/L 聚乙烯醇和 166 mg/L 钙离子,可显著恢复草莓玻璃化组培苗。另外在 MS 培养基添加 0.5 g/L 活性炭和 166 mg/L 钙离子,也可以显著改善草莓苗玻璃化现象^[41]。草莓组培苗玻璃化现象会因不同品种和不同组培环境有所差异,如何更好地恢复草莓组培苗玻璃化现象还有待进一步研究。

3 结论

我国有丰富的草莓种质资源和栽培历史,在经济全球化大背景下,要不断加强草莓相关研究领域的国际交流,引进国外草莓新品种,结合本土环境,利用相关组织培养技术进行繁殖,进而加快我国草莓业的发展。近几年,我国设施草莓发展迅速,在育种方面和栽培方式上都取得了突出进展,利用组织培养摆脱传统育苗方式的弊端,对提高我国草莓质量和单位产量有着积极的作用,在组织培养过程中必须高度重视细节,防患于未然。对草莓组织培养过程中已经出现的问题,要利用现代生物技术手段,减少组织培养过程中被污染的概率,降低对生产上造成的不必要损失。

参考文献

- [1] 朱文勇. 无毒草莓组织培养工厂化快速育苗技术研究[J]. 山西果树, 1995(1): 21-22.
- [2] 郭月玲, 解振强, 王永平. 我国草莓组织培养生产研究现状及前景[J]. 浙江农业科学, 2010(6): 1211-1215.
- [3] 王忠和. 草莓市场分析及其对策[J]. 北方园艺, 2007(7): 110-111.
- [4] 王振磊, 闫芬芬, 王静, 等. 草莓组培快繁技术研究[J]. 北方园艺, 2012(11): 130-132.
- [5] 程林梅. 草莓生物技术研究进展[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 39-43.
- [6] HOKANSON S C, FIN C E. Strawberry cultivar use in North American[J]. Hort Technology, 2000, 10(1): 94-106.
- [7] 吕菲菲, 苑兆和, 冯立娟, 等. 国内外草莓研究态势分析[J]. 山东农业科学, 2013(9): 122-126.
- [8] 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2003: 44-45.
- [9] 曹善东, 李桂新. MS 培养基中不同浓度有机物对草莓脱毒苗繁殖系数的影响[J]. 山东农业大学学报, 2004, 35(1): 32-35.
- [10] 沈磊, 童尧明. 草莓尖分生组织一步成苗试验[J]. 现代农业科技, 2008(19): 36-38.
- [11] 张红梅, 王俊丽. 草莓叶片再生不定芽的研究[J]. 生物技术, 2003(4): 35-36.
- [12] FAEDI W, MOURGUES F, ROSATI C. Strawberry breeding and varieties: situation and perspectives[J]. Acta Hort, 2002, 567: 51-59.
- [13] 崔广荣, 刘云兵, 郭蕾娜. 草莓增殖和生根壮苗培养基的筛选[J]. 中国农学通报, 2003(19): 61-63.

- [14] 王密恰,张云英,葛会波,等. 草莓叶片再生不定芽研究进展[J]. 河南农业大学学报,2002(5):131-133.
- [15] 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.
- [16] DENG X, HU W Y. Establishment of regeneration and genetic transformation system of strawberry leaf[J]. Chinese Bulletin of Botany,2000(2):174-178.
- [17] 吴雪梅,汤浩茹. 草莓叶片培养研究进展[J]. 果树学报,2004,21(6):598-602.
- [18] 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.
- [19] 何欢乐,安静,蔡润,等. 草莓茎尖培养脱毒效果研究[J]. 北方园艺,2005(5):79-81.
- [20] 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.
- [21] 徐启红,任平国,张胜,等. 草莓茎尖培养快繁技术研究[J]. 北方园艺,2008(1):183-185.
- [22] 王忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2000:424-428.
- [23] 顾玉成,向发云,曾祥国,等. 草莓花药培养植株再生率影响因素分析[J]. 安徽农业科学,2009,37(3):1035-1036,1040.
- [24] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002.
- [25] 张慧琴,谢鸣,孙崇波,等. 草莓花药培养研究进展[J]. 浙江农业科学,2006(2):218-221.
- [26] 李合生. 植物生理生化实验原理技术[M]. 北京:高等教育出版社,2001.
- [27] TODSAPOM T, PRASARTPOM S. Genetic relationship in strawberry cultivars and their progenies analyzed by isozyme and RAPD[J]. Sci Asia,2003(29):1-5.
- [28] SAMIR C D, JAIME A T S. Strawberry culture *in vitro*: Application in genetic transformation and biotechnology[J]. Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology,2007(1):1-2.
- [29] 李卫东,周春江,葛会波. 草莓现代生物技术育种研究进展[J]. 河北农业大学学报,2000(23):32-35.
- [30] 廖俊杰,李艳,李英慧. 草莓组培苗工厂化生产中控制污染的措施[J]. 中国南方果树,2006,35(4):55-56.
- [31] MARTIN R R, TZANETAKIS I E. Characterization and recent advances in detection of strawberry viruses [J]. Plant Dis,2006,90:384-396.
- [32] 祁建国. 植物组织培养中常见问题与对策[J]. 现代园艺,2012(16):197.
- [33] 柴向华,李军,张秀珊,等. 植物组织培养中污染的控制[J]. 热带农业科学,2003(6):40-44.
- [34] 孙满芝,尹成涛. 植物组培过程中玻璃化程度的发生与解决措施[J]. 山东林业科技,2001(6):19-20.
- [35] 方丽,王连平,茹水江,等. 植物组培过程中污染微生物种类及其季节性的变化[J]. 浙江农业学报,2013,25(2):284-287.
- [36] 张敏,张曙光,孙红绪. 对影响草莓组培苗玻璃化若干因素的探讨[J]. 湖北农业科学,2002(11):82-83.
- [37] 周俊辉,李宏彬,杨耀强,等. 植物组织培养中污染的鉴定与防止初步研究[J]. 微生物学杂志,2002,22(2):53-55.
- [38] JOM H, HAM I K. Effects of sealing materials and photosynthetic photon flux of culture vessel on growth and vitrification in camation plantlets *in vitro*[J]. Journal of the Korean Society for Horticulture Science,2002(4):43-47.
- [39] 陈兵先,黄宝灵,吕成群,等. 植物组织培养试管苗玻璃化现象研究进展[J]. 林业科技开发,2011(1):1-5.
- [40] 蔡祖国,徐小彪,周会萍. 植物组织培养中的玻璃化现象及其预防[J]. 生物技术通讯,2005(6):353-355.
- [41] 周书利,汤浩茹,陈清,等. 不同因素对草莓玻璃化试管苗恢复的影响[J]. 生物技术通报,2013(9):89-93.

Analysis of Research Status of Tissue Culture for Protected Strawberry

WU Pengfei¹, WANG Lijuan^{1,2}, KIRRIWA Yoshikazu³, MA Zhao¹, LYU Siyu²

(1. Department of Horticulture, Tianjin Agricultural College, Tianjin 300384; 2. Post Doctoral Mobile Station of Agricultural Engineering, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 3. Faculty of Agriculture, Shizuoka University, Shizuoka 4228529, Japan)

Abstract: Strawberry is a kind of perennial small berries, with a high edible value and economic value. Under the stimulation of the huge market demand and protected cultivation, the area of strawberry continues to expand, tissue culture can not only provide a lot of detoxification of strawberry plants, but also have a great significance for breeding of new varieties of strawberries and conservation of strawberries' germplasm resource. This article from status research of strawberries' tissue culture at domestic and abroad, the main form of tissue culture of strawberry, etc. discussed the problems and solutions in order to reducing unnecessary losses caused by the tissue culture process, improving protected cultivation of strawberries' growing economic value and social value.

Keywords: protected cultivation of strawberry; tissue culture; progress of the research