分类号：S668.4
U D C：634.7
密　级：公开

学校代码：10712
研究生学号：2015050412

西北农林科技大学

2017 届专业学位硕士研究生学位（毕业）论文

不同繁殖类型草莓苗生长发育与品质比较研究

类　　型　农业推广硕士
领域、方向　园 艺
研 究 生　崔孟媛
指导教师　冯嘉玥 副教授
完成时间　2017年5月

中国　陕西　杨凌

研究生学位论文的独创性声明

本人声明：所呈交的专业学位硕士论文是我个人在导师指导下独立进行的研究工作及取得的研究结果；论文中的研究数据及结果的获得完全符合学校《关于规范西北农林科技大学研究生学术道德的暂行规定》,如果违反此规定，一切后果与法律责任均由本人承担。

尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究结果，也不包含其他人和自己本人已获得西北农林科技大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同事对本研究所做的任何贡献均已在论文的致谢中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：崔孟媛　　时间：2017 年 5 月 31 日

导师指导研究生学位论文的承诺

本人承诺：我的专业学位硕士研究生崔孟媛所呈交的硕士学位论文是在我指导下独立开展研究工作及取得的研究结果，属于我现岗职务工作的结果，并严格按照学校《关于规范西北农林科技大学研究生学术道德的暂行规定》而获得的研究结果。如果违反学校《关于规范西北农林科技大学研究生学术道德的暂行规定》，我愿接受按学校有关规定的处罚处理并承担相应导师连带责任。

导师签名：　　时间：2017 年 5 月 31 日

关于研究生学位论文使用授权的说明

本学位论文的知识产权归属西北农林科技大学。本人同意西北农林科技大学保存或向国家有关部门或机构送交论文的纸质版和电子版，允许论文被查阅和借阅；同意西北农林科技大学将本学位论文的全部或部分内容授权汇编录入《中国优秀硕士学位论文全文数据库》和《中国学位论文全文数据库》进行出版，并享受相关权益。

本人保证，在毕业离开（或者工作调离）西北农林科技大学后，发表或者使用本学位论文及其相关的工作成果时，将以西北农林科技大学为第一署名单位，否则，愿意按《中华人民共和国著作权法》等有关规定接受处理并承担法律责任。

任何收存和保管本论文各种版本的其他单位和个人(包括研究生本人)未经本论文作者的导师同意，不得有对本论文进行复制、修改、发行、出租、改编等侵犯著作权的行为，否则，按违背《中华人民共和国著作权法》等有关规定处理并追究法律责任。

（保密的学位论文在保密期限内，不得以任何方式发表、借阅、复印、缩印或扫描复制手段保存、汇编论文）

研究生签名：常孟媛　　时间：2017 年 5 月 31 日

导 师 签名：[illegible]　　时间：2017 年 5 月 31 日

Classification code: S668.4 University code: 10712

UDC: 634.7 Postgraduate number: 2015050412

Confidentiality level: Public

Thesis for Master's Degree
Northwest A&F University in 2017

Comparative Study Of The Growth And Quality Of Different Breeding Strawberry (*Fragaria vesca*) Plants

Research field: Horticulture

Name of Postgraduate: Cui Meng-yuan

Adviser: Asso. Prof. Feng Jiayue Ph.D.

Date of submission: May, 2017

Yangling Shaanxi China

不同繁殖类型草莓苗生长发育与品质比较研究

摘 要

草莓作为世界范围内的一种重要经济水果，在设施栽培中占据重要地位。但在实际生产中，常规露地繁殖的草莓苗、脱毒繁殖的草莓苗、普通组培繁殖的草莓苗使用情况混乱，严重影响草莓的生产。因此，选择最优类型的草莓苗已成为生产上亟需解决的问题。本文采用“意大利 17 号”草莓为试验材料，研究其常规苗、脱毒苗、组培苗三种类型的草莓苗在开花期、青果期、白果期、红果期的品质及相关生理特性，为生产上筛选最优繁殖类型的草莓苗提供理论依据。所得主要结果如下：

1. 在外观指标方面，脱毒苗的生长状态普遍优于常规苗和多次继代的组培苗，脱毒苗的株高是常规苗的 1.23 倍，组培苗的 1.58 倍，单株坐果率接近 100%；而多次继代的组培苗生长势和产量均处于较低水平，单株坐果率与常规苗相近，约为 70%。表明脱毒苗可以有效增强草莓的生长发育，而多次继代会抑制草莓的生长发育。

2. 在果实品质方面，脱毒苗果实具有更好的果实品质，含有较高的可溶性固形物含量和维生素 C 含量；多次继代的组培苗果实的品质介于脱毒苗和常规苗中间，果实中可溶性固形物含量是脱毒苗果实的 91%，维生素 C 含量是脱毒苗果实的 70%；常规苗果实中可溶性固形物含量是脱毒苗果实的 85%，维生素 C 含量仅是脱毒苗果实的 35%。

3. 在抗氧化酶类方面，脱毒苗果实含有更高的过氧化物酶（POD），过氧化氢酶（CAT），超氧化物歧化酶（SOD）的活性；POD 酶活性是组培苗的 1.5 倍；CAT 活性是常规苗的 4 倍，组培苗草莓果实的 2 倍；SOD 活性是常规苗的 1.75 倍，组培苗草莓果实的 3 倍。

4. 脱毒苗是最优繁殖类型的草莓苗，它具有高生长势，高产量，果实口感佳，营养丰富且抗氧化酶活性高的优点。

5. 多次继代的组培苗花朵和果实具有高畸形率。

关键词：草莓；常规苗；组培苗；脱毒苗；性状对比

COMPARATIVE STUDY OF THE GROWTH AND QUALITY OF DIFFERENT BREEDING STRAWBERRY (FRAGARIA VESCA) PLANTS

ABSTRACT

Strawberry as an important worldwide economic fruit, occupy the important one seat in the facility cultivation. But in actual production, the conventional strawberry seedlings, strawberry virus-free plantlets, and tissue-cultured strawberry seedlings use chaos. And select the optimal type of strawberry seedlings has become the attention hot spot. The research used 'Italian 17' as experimental materials, choosed the conventional strawberry seedlings, strawberry virus-free plantlets, and tissue-cultured strawberry seedlings, to study three types of strawberry seedlings at flowering period, green fruit period, white fruit period, red fruits period of quality and related physiological characteristics, for screening the best strawberry cultivation seedling. Lay the foundation for the study of the regeneration plant of pumpkin unfertilized ovules. Experimental results were as follows:

1. In appearance indicators, the growth of the strawberry virus-free plantlets is generally superior to conventional seedling and tissue-cultured strawberry seedlings, virus-free plant height is 1.23 times that of conventional seedling and 1.58 times that of tissue-cultured strawberry seedlings, virus-free plants' plant fruit rate close to 100%; and tissue-cultured strawberry seedlings' growth potential and production are relatively weak on level, and the seedlings were about 70% of the normal seedlings. Virus-free plantlets that can effectively enhance the growth and development of strawberry, and after many times with the process of tissue culture would inhibit the growth of strawberry.

2. In interior quality, the strawberry virus-free plantlets has better fruit quality, contains high content of soluble solids, vitamin C content. The tissue-cultured strawberry seedlings' fruit quality between virus-free plantlets' and conventional seedling fruit. The tissue-cultured strawberry seedlings' fruit soluble solids content is 91% of virus-free fruit, vitamin C content is 70% of the virus-free fruit. The content of soluble solids in conventional seedlings is 85% of the fruit of virus-free plantlets, and the vitamin C content is only 35% of the fruit of virus-free plantlets.

3. In antioxidant enzymes, virus-free fruit contain higher POD, CAT, SOD activities. The POD activity of virus-free plantlets is 1.5 times that of the tissue-cultured strawberry

seedlings. The CAT activity is four times as common as the conventional seedling, and twice the fruit of the tissue-cultured strawberry seedlings. The SOD activity is 1.75 times the conventional seedling, and three times the fruit of the tissue-cultured strawberry seedlings.

4. Virus-free plantlets is the best breeding type of strawberry seedling, which has high growth potential, high yield, good taste, rich nutrition and high antioxidant activity.

5. Tissue-cultured strawberry seedlings' flower and fruit have high rate of deformity.

KEY WORDS: strawberry; conventional seedling; in vitro; virus-free; character comparison

目 录

第一章　文献综述 1
1.1 引言 1
1.2 草莓育苗类型 2
1.2.1 草莓常规苗 2
1.2.2 草莓组培苗 3
1.2.3 草莓脱毒苗 3
1.3 草莓常规苗、脱毒苗、组培苗研究进展 4
1.4 草莓果实发育研究现状 5
1.4.1 草莓果实维生素 C 含量研究现状 5
1.4.2 草莓果实酶活性研究现状 5
1.4.3 草莓果实畸形的研究进展 6
1.5 植物组培苗变异的研究进展 7
1.5.1 植物组培苗变异的表现症状 7
1.5.2 植物组培苗变异的原因 7
1.6 研究的目的、意义和内容 7
第二章　材料与方法 8
2.1 试验材料 8
2.2 主要仪器设备 8
2.3 主要试剂 9
2.4 技术路线 9
2.5 试验方法 9
2.5.1 形态指标的测定 9
2.5.2 产量指标的测定 10
2.5.3 品质指标的测定 10
2.5.4 抗氧化酶活性的测定 10
2.5.5 显微镜观察 11
2.6 数据统计与分析方法 11
第三章　结果与分析 12
3.1 常规苗、脱毒苗、组培苗的形态指标 12
3.1.1 常规苗、脱毒苗、组培苗生长势 12
3.1.2 常规苗、脱毒苗、组培苗红果期产量性状 13

3.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的果实品质 15
3.2.1 实生苗、脱毒苗、组培苗的可溶性固形物含量 15
3.2.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的总酸含量 15
3.2.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的 Vc 含量对比 16
3.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的酶活性对比 17
3.3.1 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化物酶（POD）活性对比 17
3.3.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化氢酶（CAT）活性对比 17
3.3.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的超氧化物歧化酶（SOD）活性对比 18
3.4 畸形组培苗观察 19
第四章　讨论 21
4.1 植物学性状比较 21
4.2 果实经济性状比较 21
4.3 酶活性的测定结果的比较 22
第五章　结论 23
参考文献 24
致 谢 27
作者简介 28

第一章　文献综述

1.1 引言

草莓是全球范围内一种重要的经济水果，享有“早春第一果”、“水果皇后”的美誉，在设施栽培中占据重要一席。草莓的果实颜色艳丽、口味酸甜、柔软多汁、营养丰富。近些年来，我国成功引种和栽培了大果型草莓，并将其迅速发展，尤其是九十年代初期，规模化崛起，现在已广泛种植于我国各地，北自黑龙江、内蒙古，南至广东、海南，东自上海及江浙，西至新疆均有栽培（郝保春 2000；秦旭 2006）。近年来，我国已经成为了世界上草莓栽培面积最大与草莓年产量最高的国家（张志宏 2009）。

但是草莓是一种非常容易受病害侵染的植物。目前已经报道的可侵染草莓的病毒超过 20 种。经病毒侵染后的草莓，往往会表现出叶片失绿、植株矮化、畸形、减产等现象，严重时会引起毁灭性的灾害。草莓植株中的病毒会逐年不断积聚，使草莓的品种不断退化，匍匐茎减少（王国平等 1991），植株逐渐衰退，产量下降，果实形状小（高山林等 1998），严重地影响草莓的经济收益。这已经成为了一个影响我国草莓生产发展的重要问题（高山林 1998，2001）。

为了解决草莓病毒病这一问题，生产上利用组织培养技术快速繁殖以获得大量的草莓脱毒苗，许多研究已经证明，脱毒苗的生长性状显著优于草莓实生苗或常规繁殖方式的草莓苗，极大的降低了草莓植株感染病毒病的机率，从而提高了草莓果实的产量与品质，为果农创造了更高的经济收入。因此，推广实行草莓脱毒苗的定植与栽培是一个提高我国草莓质量和产量的关键措施。

但在实际生产中，脱毒草莓苗的使用并不是一劳永逸的。脱毒草莓苗的增产效果同栽培年限有关。连续观察多代草莓苗，其中繁殖第 2 代的脱毒苗的生长势为最强，其植株高度一直比第 1 代脱毒苗和同品种常规苗高。但当脱毒苗开始栽培在大田后，经由蚜虫、兔丝子等途径草莓病毒病会继续侵染原本不含病毒的草莓植株苗，积累到一定程度后，使草莓的产量明显降低，且降低量呈逐年增加。所以每三年应该更换一次种植的脱毒草莓苗，在病毒病发生严重的地方（如重病区、老草莓园），最好可以做到每年更换脱毒草莓苗的工作（米建梅 2007）。实际生产中，脱毒草莓苗可以利用组培技术建立无菌系，形成的组培苗可进行长时间继代保存，但是当多次继代的草莓组培苗移栽到大田后出现了不开花、畸形花、开花不结果、畸形果等情况。这些异常状况也极大地影响着草莓的产量与质量（叶正文 2005）。

田间综合观察发现，脱毒苗、组培苗分别比常规苗植株长势好，成活率高，缓苗期短，病害发生少（张馨宇等 2006），花芽分化早，开花数增多，结果时间提前，果实产量增高（米建梅 2007）。但草莓组培苗中易出现大量变异花与畸形果。

1.2 草莓育苗类型

目前，草莓苗根据不同的育苗方法，可以将其分为常规苗、脱毒苗、组培苗。

1.2.1 草莓常规苗

草莓常规的育苗方式主要有两种, 一种是匍匐茎繁殖法, 另一种是母株分株繁殖法。

1.2.1.1 匍匐茎繁殖

生产中最普遍的草莓生产用苗方法即为匍匐茎繁殖法。在果实成熟时期发生最早的匍匐茎，但多数还是发生在采果后。匍匐茎可谓是草莓主要的繁殖器官之一，发生匍匐茎的植株称为母株，它是匍匐茎营养生长的首要供给源，匍匐茎由母株的腋芽发生，早期发生的匍匐茎生长情况与母株的健壮充实状况直接相关（王国平 1988)。匍匐茎在日照 12-16 h 内，气温超过 14℃的气候条件下适宜萌发。匍匐茎的发生量也受母株经受低温时间的影响。

通常每条匍匐茎能产生 3-5 株营养苗，但是其中只有靠近母株的 1-2 株营养苗发育状况健全。匍匐茎和花序是同源, 它们由于不同的栽培环境条件而相互转化。除此之外, 品种、定植时期、栽培水平和环境条件等因素都会影响匍匐苗的发生量。一般而言，匍匐茎的发生与花芽分化的条件在日照 12 h, 以地温 20℃条件为界, 高温情况发生匍匐茎, 低温情况则引起花芽分化。但是，能否满足草莓自然休眠期时对于低温的需求（一般以 5℃所需时间为标准)，将直接地影响着草莓匍匐茎的发生数量（陈海霞 2003；刘健 2008)。

利用草莓匍匐茎繁苗的方法，可以增大技术产苗量，提高繁殖系数；且操作简单，方便管理；可以很大程度地保持该草莓品种的特性，减少草莓发生变异的几率，植株生长一致，利于发展草莓的大规模商品性生产；同时草莓匍匐茎苗上的伤口较小，不易受到土壤病害和病虫害的感染。但是，该方法需要建立专门的育苗圃（孟志卿 2008)。

1.2.1.2 母株分株繁殖

母株分株繁殖又称做分墩繁殖或根茎分株繁殖。它是将已经生长新根的新茎分枝与母株分离，成为新植株来作为栽植用苗的方法。这种繁苗的方法适用于一些不易发生匍匐茎的草莓品种，或者需要更换新地的草莓园（王国平 1988)。在果实采收后采用此方法繁殖，同时加强对母本植株苗的管理，及时做到浇水、中耕、除草、施肥、植株整理等管理，促使母株的新茎腋芽生长出新分枝，当母株抽出一些的新叶，下部分有一些的草莓新根出现时，需将母株整墩翻出，将下部衰老或含有黑色杂质的不定根与根状茎除去，逐个分离出所选用的带根的新茎分枝苗，然后将分离出的当年新苗直接栽植于新园中（陈海霞 2003)。

母株分株繁苗法的优点是新茎苗通常含有 5～7 片叶，下部的不定根生长旺盛，种植后缓苗期短，易形成越冬壮苗；可以与生产园相结合，免去设立单独的母本园的要求，

无需特定选苗，也不需要摘除过剩的匍匐茎和摆压匍匐茎等工作，节省了部分的劳力与成本。但是该方法出苗率一般较低；并且新生茎部在分离时会产生的较大伤口，较易感染病虫害（刘健 2008；孟志卿 2008）。

1.2.2 草莓组培苗

草莓组培苗是由组培繁苗又称离体繁苗培育出的。该方法是在无菌条件下，将草莓的某一器官或部分组织接到再生培养基中，使其分化成一个新的完整的草莓植株苗，再经过增殖生根、驯化培养等步骤再移入大田。近年来，组培繁苗法在国际上发展快速，目前在我国亦迅速发展（刘健 2008）。

组培繁苗的优点是繁殖系数较大，易在较短时间内得到大量优质草莓苗；组培繁苗法无需占用土地，不受外界环境条件的影响，可全年进行工厂化规模繁殖。但是，组培繁苗的前期需较大的资金投入、建设或购买配套设施与仪器，并且需要一定基础的技术支持（孟志卿 2008）。

1.2.3 草莓脱毒苗

草莓在生产中非常容易受到病害侵害，根据研究发现，可以侵染草莓植株的病毒已近三十种，草莓病毒影响草莓的生长发育。草莓皱缩病毒病、草莓轻型黄边病毒病、草莓斑驳病毒病、草莓镶脉病毒病，是目前我国的草莓生产区最主要有的四种草莓病毒病（王国平 1988；刘健 2008；孟志卿 2008）。病毒一旦侵染草莓植株，就会迅速地在草莓植株体内进行传播和繁殖。这些入侵的病毒不仅会消耗草莓苗的大量能量，影响草莓体内细胞的正常生长发育；又会侵占草莓体细胞中大量的遗传物质，从而导致草莓体内的细胞无法正常代谢和遗传（王常芸等 2007）。除此之外，入侵的病毒在代谢过程中会产生许多种有毒的物质，有毒物质的积累会进一步造成草莓植株活细胞不正常的衰老和死亡（陈海霞 2003）。许多病毒侵染草莓不能产生具体的表现症状，但是某些草莓病毒会造成叶沿和叶脉失绿、或者形成一些褪绿叶斑（孟志卿 2008），此外，部分特定的氧化酶能够被病毒的某些代谢产物所激活，这些氧化酶会破坏叶绿体的形成，从而使植株异常（刘健 2008）。总体而言，病毒对草莓植株的正常代谢影响显著，草莓植株被病毒侵染后就无法正常生长（高庆玉等 1993），病毒侵染后草莓果实的产量和品质也显著下降（王国平 1988）。而病毒一旦侵染草莓苗，便会代代相传，逐年积累，就会使草莓苗在长势、品质以及产量方面的持续下降。然而，目前国内外现在的研究都还未找到一种可以根治草莓病毒病的化学药物，种植草莓脱毒苗是现阶段唯一有效的途径。目前，草莓脱毒苗的生产方法主要有：茎尖培养脱毒、花药培养脱毒、热处理脱毒。

1.2.3.1 茎尖培养脱毒

病毒感染某一部分的草莓植株后，会迅速地扩散至整个草莓植株。陈爱萍等人(1998)病毒并不是均匀的分布在草莓的器官和组织中，其中不受感染或者很少受病毒感染的部分是草莓的茎尖和根尖分生组织。精简培养脱毒技术就是利用这种原理，在超净工作台

的显微镜下，切下草莓的茎尖（一般认为 0. 2 mm 以内不受感染），然后将其接种在再生培养基上，在适宜的培养箱中继续培养，待其长成完整的草莓植株，就可将组培苗定植移栽，加强栽后的温、湿度管理（刘健 2008）。这种茎尖培养脱毒的方法在目前的生产中应用最为广泛，为了提高脱毒的效率，茎尖脱毒还可以结合短时间的高温处理，以达到更佳的脱毒效果（陈爱萍等 1998）。

1.2.3.2 花药培养脱毒

大泽胜次等在二十世纪七十年代研究发现了利用花药培养的草莓植株苗脱除病毒，此后，草莓花药培养脱毒技术就开始广泛运用于生产中。后来，我国的研究学者马洪爱、孟志卿等人相继通过花药培养脱毒手段获得了草莓的无毒苗。花药培养脱毒技术是利用了草莓现蕾后花粉中正处于单核靠边期的花蕾，将其进行一定的消毒处理，然后在超净工作台中将花药放于再生培养基上，诱导出草莓愈伤组织，再分化形成不定芽，由生成的不定芽分化出新的草莓植株，即为无毒草莓苗（谷建田 1993；曹善东 2006；孟志卿 2008）。

1.2.3.3 热处理脱毒

热处理脱毒技术是最早应用于繁殖无毒苗的方法。这种方法是利用高温能使病毒钝化的原理进行的。经过高温处理长出的新芽，可以认为是不含病毒的，然后将其嫁接在消过毒的土壤中（廖俊杰等 1991），或者置于培养基中培养，就可以获得无病毒的原种草莓植株。生产中为了获得更好的脱毒效果，一般选用恒温或变温的热空气进行处理（王发林 2001）。同时，这种处理也可以减少高温杀死草莓植株苗（许淑琼 2002；魏永祥 2007）。

1.3 草莓常规苗、脱毒苗、组培苗研究进展

据李建青等人（2007）的研究报告，脱毒后的草莓苗在株高、株幅方面有显著增长，叶片增大，复叶数增加，植株光合能力增强，产量提高。脱毒苗所结果实，果实形状美观，甜度增加（周厚成 2008；），风味更佳，显著提高了果实的商品竞争力（马鸿翔 2001）。田间综合观察也发现，脱毒苗比常规苗植株长势好，缓苗期短，病害发生少，花芽分化早，单个花序开花数多，结果早，产量高，果实均匀（王峰 2016）。

草莓脱毒苗植株体内的过氧化氢酶和过氧化物酶的酶活性相较于实生苗的酶活性也有较大提高（王发林 2001）。但是营养生长过于旺盛的第一代草莓脱毒苗，影响了其生殖生长所需的营养，所以第一代草莓脱毒苗并不具有更高的产量（何伯伟 2005）。这种情况虽然在第二代草莓脱毒苗中有所改善，但产量还是处于较低水平。直到第三代草莓脱毒苗的单果的质量与亩产量才均表现出高于常规苗的稳定性状（郭月玲 2010；）。

艾勇等（2000）将草莓组培苗与常规苗相比较，认为组培苗的苗期短，发芽快，多粗壮根，长势明显增强于常规苗，并且草莓组培苗的生长呈现一致性。这种优势随着生

育期发展，更加明显。同时，草莓组培苗在花芽分化方面具有优势、生育期较常规苗提前，可以实现草莓早结果，早上市的目标。草莓组培苗的产量显著高于草莓常规生产苗 1.2 倍以上。但是草莓组培苗也需要更多田间管理的工作，尤其是对疏花、疏果的工作要求更为严格。由于田间的病毒会通过各种方法再次入侵草莓的组培苗，所以为了不影响草莓的产量，在组培苗种植 3～5 代后，要及时地更换新苗（张利英等 2009）。

钟灼仔等人（2010）同时比较了在我国东北地区广泛种植的五种草莓品种：鬼怒甘、法兰地、丰香、公四莓、麦特来的多项指标，这五个品种的草莓组培苗均表现出了较常规苗更好的性状指标。由此种植草莓的组培苗是现如今恢复草莓的品种特性，保持品种优良性状的最有效途径。试验证明，五个不同品种的草莓组培苗由于特性不同，为了实现高产的栽培目标，它们之间需要定期更换种苗的年限长短也并不相同。

1.4 草莓果实发育研究现状

1.4.1 草莓果实维生素 C 含量研究现状

维生素 C 是人体所必需的一种营养物质，或者称为抗坏血酸。维生素 C 的作用是参与机体物质代谢, 可以增加机体的抵抗力, 同时对人体对铁的吸收具有促进的作用（樊邦棠 1991），防止某些致癌物质的生成，并且还具有润滑肌肤（冯辉霞 2003）、防止衰老等其他作用（程侶柏 2014）。人体所需的维生素自身极少能够合成，大多数的维生素都只能通过从食物中获取，而草莓的果实香嫩多汁，除了富含糖、蛋白质、钙、铁、磷、镁等较高矿物质外，还含有丰富的维生素 C （王艳颖等 2006），具良好的营养价值。同时维生素 C 含量的多少，也是决定草莓品质的一个重要的因素。

目前，肖德卿（2015）、鲁晓燕（2005）、姚福荣等（2007）人均已对草莓果实中维生素 C 的含量做了相关研究，不同品种的草莓所富含的维生素 C 含量是不相同的；并且，随着草莓果实的不断成熟，草莓果实中的维生素 C 的含量呈不断增长，当草莓生长达到全红期或红熟期时，其果实维生素 C 的含量增长率达到最高。

1.4.2 草莓果实酶活性研究现状

原牡丹等人（2009）研究了草莓果实中生长素氧化酶(IAO)和过氧化物酶(POD)。研究发现，草莓花托中对生长素的氧化分解起主要作用的是生长素氧化酶，而过氧化物酶不仅参与生长素的分解、维持生长素的动态平衡协同工作外，过氧化物酶还对草莓果实的生长发育具有促进作用（原牡丹等 2009）。

郭明丽认为不同酶的酶活力，在草莓的衰老过程中，随着衰老时间的变化是不相同的。活力较大的是纤维素酶和多聚半乳糖醛酸酶，其中纤维素酶的酶活性是随着衰老时间逐渐增大。草莓淀粉酶在衰老前期的整体活力较小，呈现波动性变化；草莓淀粉酶的活力衰老后期明显提高。然而多酚氧化酶在整个衰老期呈现出波动性变化。无论在衰老的前期还是后期，过氧化物酶的活力均呈现上升的趋势，其活力在衰老后期更大。多酚

氧化酶的活力在几种酶中最小，在衰老的后期有小范围内的上升趋势。草莓的衰老过程与植物细胞内许多种内源酶的活力有关，由此合理地控制草莓相关酶的活性可以延长草莓的货架期（郭明丽 2015）。

张桂霞等人研究了丰香草莓果实中的纤维素酶、淀粉酶、过氧化物酶(POD)的含量，认为随着丰香草莓果实的不断成熟，丰香草莓果肉的硬度逐渐下降，果实所含淀粉酶的活性呈现倒“V”形, 先上升后下降 ;纤维素酶的活性和过氧化物酶的活性趋势一致, 成“V”形，先下降后上升（张桂霞等 2010）。

1.4.3 草莓果实畸形的研究进展

彭殿林和彭沈凌（2011），杨莉等（2007）等人研究认为草莓畸形果产生的原因主要是：

（1）气候

影响草莓畸形果发生的因素有很多，但温度和湿度是最要的因素。当温度过低或者湿度过大时候，就会使草莓的花药不能正常的开裂，使花粉不能够正常地传播，继而使雌蕊的柱头不能够正常的授精授粉。此外，光照的强度也会影响花粉的发育。通常情况下，低温和阴天会使光照不足，这就会加剧花粉的不良发育；花粉异常发育会影响草莓的授粉受精和果实的发育，导致形成草莓畸形果。

（2）病害与虫害

许多的病害都会影响草莓生殖生长和营养生长的状况，主要是影响光合作用和养分代谢。而虫害（如白粉虱和螨害等）对草莓苗造成的一些机械损伤，同样会增加草莓畸形果的形成率。当草莓发生病虫害后，如果不能正当的进行用药防治，不仅不能够有效的进行病虫害治理，反而还会产生一些影响草莓生长的毒副作用，这些毒副作用会损害草莓苗的花粉发育，降低花粉的发芽率，从而加剧了草莓畸形果发生的数量。

（3）品种特性

不同的草莓品种的花粉发芽率也不相同，造成畸形果的比率也不相同。一般而言，品种的花粉发芽率较高，可以正常的授粉授精，其畸形果的形成率就较低。当品种具有过高级数的花序时，就会造成着果时间不统一，使养分分布不均匀，增加了畸形果的产生率。除此之外，抗病性能较差的草莓品种一旦花期感染病虫害后，果实的畸果率也会大大增加。

（4）栽培管理

在草莓栽培管理工作中，如种植的密度、通风透光的情况、有机肥的施用量、畦面的平整度都会影响草莓畸形果的发生。草莓生长的大量元素和微量元素的含量也会影响草莓果实的发育情况，如缺少磷、钾元素就会使草莓果实发育异常；缺少钙、硼等微量元素则草莓花器无法正常发育。当草莓发育时期营养过剩，就会过多地分化处花芽，导致弱势花的数量增加，这些弱势花由于不含有满足自身生长的营养，在后期就会长成畸

形果。

1.5 植物组培苗变异的研究进展

1.5.1 植物组培苗变异的表现症状

香蕉组培苗变异的症状为植株变高或者变矮，大多数变异的香蕉组培苗植株的经济性状处于较低水平（海保 1995）。其叶片小而细长，叶面呈现不规则性凹凸，叶片会扭曲、部分缺绿呈花叶状，叶柄变长，果实较正常果实小，甚至无法结果（靖杰 1996）。

苹果组培苗的变异主要是呈现出一种矮化变异，这种变异开始于生根培养。其植株变异的一种症状是叶柄和叶片变短。当喷施赤霉素时，变异的组培苗具有与正常的植株相近的增高反应。这种变异的苹果组培苗的染色体数目较正常植株的染色体数目多。苹果组培苗的另一种症状是嵌纹叶。这种变异症状发生于假植后，其染色体数目较正常植株的染色体数目少（刘建新 2003）。

1.5.2 植物组培苗变异的原因

低温有可能会诱导植物染色体数目发生变化，也有可能使植物发生基因突变，使植物组培苗的相关性状产生畸形或者变异。

研究表明，组织培养中建立外植体的基因型、来源、培养时所添加的生长调节剂的种类和含量、继代次数以及组织培养的时间都有可能会导致染色体数目或性状畸变的出现（王国平和刘福昌 1990）。然而培养时间是引起体细胞无性系变异的最主要因素，它所产生的有利变异是极少数的，有利变异可用于育种研究，绝大多数都是不利变异（邓成军等 2003），对生产带来极大的负面影响。研究表明在离体培养过程中加入的某些植物生长调节剂可能是引起草莓的组培苗茎数、花序数增多等现象的原因（赵密珍 2006）。

1.6 研究的目的、意义和内容

研究草莓实生苗、脱毒苗、组培苗在形态、生理水平上的差异对草莓苗的栽培生产具有重要的意义。本研究将为草莓栽培苗木的选择提供重要的参考依据，同时也为探索草莓组培苗畸形花与果的产生奠定了一定基础。

本试验旨在研究栽培草莓苗“意大利-17”的不同苗木对草莓果实的形态与生理特性、营养物质分配以及品质产量等的影响，同时探索在组培操作中的多次继代对草莓苗的开花结果的影响，选择出适合设施草莓高产高效的最优草莓苗。

第二章　材料与方法

2.1 试验材料

选用草莓品种“意大利 17 号”，通过匍匐茎繁殖方法生产的意大利-17 草莓苗，定植于陕西省咸阳市杨凌区西北农林科技大学五泉综合试验站基地草莓资源圃内，以下简称为常规苗；本课题组将小于 0.2 mm 的意大利-17 常规苗的茎尖进行脱毒后，经检测不含病毒的草莓脱毒苗，同样定植于该草莓资源圃内，以下简称为脱毒苗；本课题组将意大利-17 茎尖再生的无菌系草莓苗，并且经过 10 次以上继代的草莓组培苗，定植于该草莓资源圃内，以下简称为组培苗。

于 2016 年 3-6 月进行试验，并对意大利-17 的常规苗、脱毒苗、组培苗的果实分别进行采收。挑选果实大小均一，无损伤的意大利 17 号常规苗、脱毒苗、组培苗的草莓果实作为试验材料。

表 2-1 草莓果实不同发育时期

Table 2-1 Three maturing stages of strawberries

成熟期	主要外观特征
绿果期	盛花后 15d,果实绿色,坚实,不宜食用
白果期	盛花后 30d，果实膨大，外观开始由绿向白
红果期	盛花后 45d，果实呈现出鲜红色，适于采摘食用

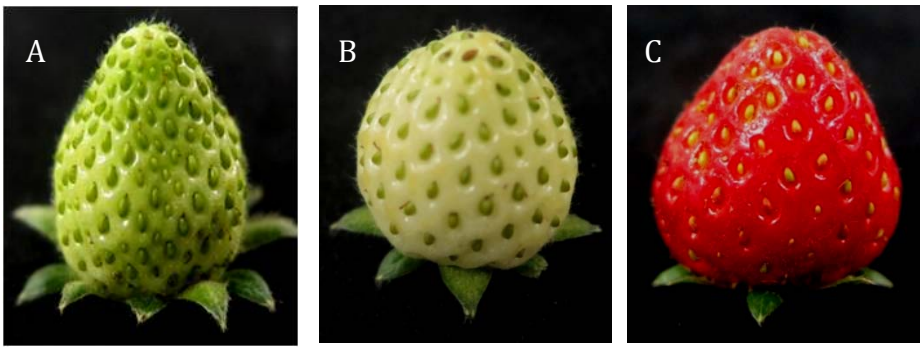

图 2-1 不同发育时期的草莓果实

A：绿果期；B：白果期；C：红果期

Fig 2-1 Three maturing stages of strawberries

A Green fruit period; B White fruit period; C Red fruit period.

2.2 主要仪器设备

直尺，高压灭菌锅，电子天平，离心机、电热恒温水浴锅，紫外分光光度计，数显式糖度计，酸度计（苹果）等。

2.3 主要试剂

纯级	试剂	生产厂家
分析纯	EDTA	广东光华化学厂有限公司
分析纯	愈创木酚	中国佘山化工厂
分析纯	Triton X-100	Solarbio
分析纯	过氧化氢	天津市天力化学试剂有限公司

2.4 技术路线

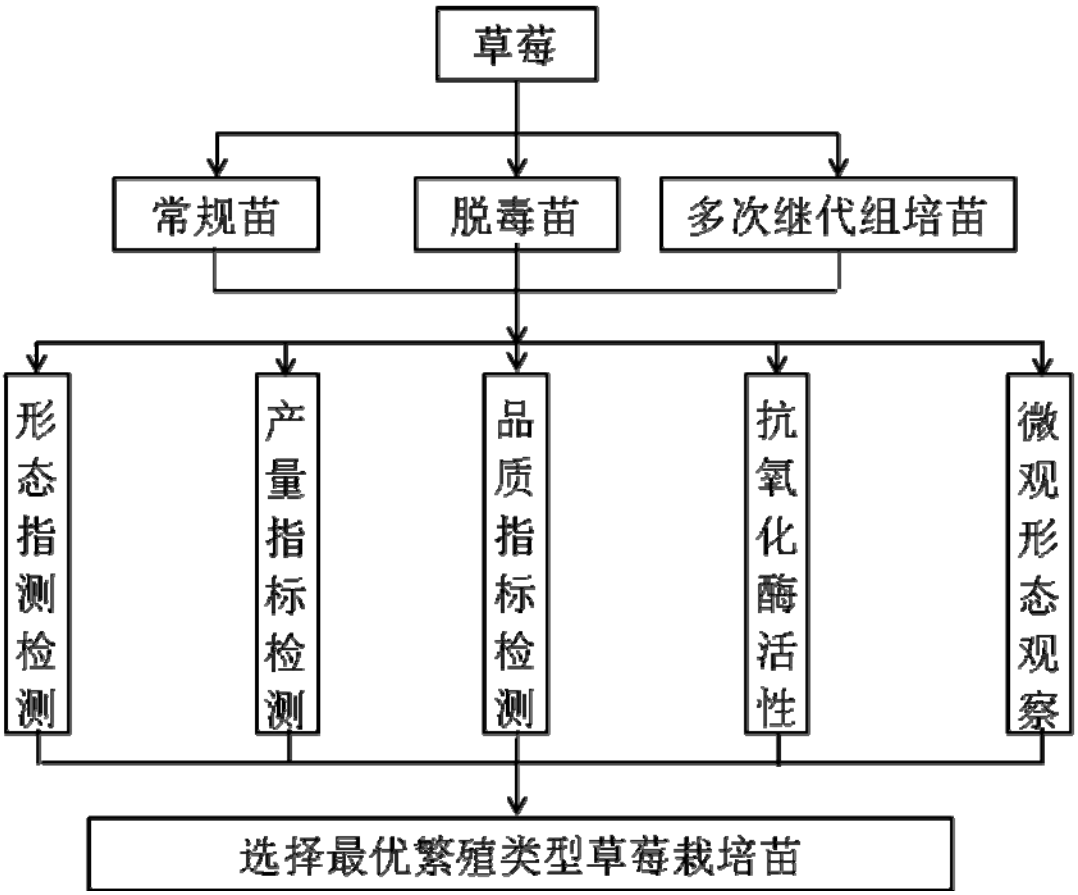

图 2-2 本研究采用的技术路线

2.5 试验方法

2.5.1 形态指标的测定

缓苗结束后，进入开花坐果期，当草莓苗刚一进入开花期、青果期、白果期、红果期测定形态指标。常规苗、脱毒苗、组培苗各选取 30 株植株进行测量。形态指标的测定尽量安排在上午同一时间段，包括株高、叶柄长、叶片数、叶长、叶宽。用直尺测定从资源圃的土壤上表面至生长点的高度即为株高。用测定叶片的长与宽计算出叶面积。

2.5.2 产量指标的测定

于果实成熟期在资源圃测定。每次对每个小区内所定单株分别测其单株产量，单株果数等，直至小区果实采摘完全结束，计算单果重，单株产量，前期产量和小区产量。本试验中产量的统计主要包括单果重量、单株果数。单果重是指每个小区采收时随机选取 5 个果实进行称重后记录的每个果实的重量。单株果数指在整个采收过程中指定植株采收的总的果实数量。

2.5.3 品质指标的测定

试验过程中，草莓果实刚一进入青果期、白果期、红果期，就测量常规苗、脱毒苗、组培苗果实的可溶性固形物含量、总酸含量、维生素 C 含量。

2.5.3.1 可溶性固形物（TSS）测定

在资源圃内三种类型草莓苗随机选择 5～10 个果实，取得草莓汁液，混匀之后用胶头滴管取几滴滴到数显式糖度计上，可得到草莓果实中可溶性固形物含量，每个处理测量三次求平均值。

2.5.3.2 酸度（TA）测定

在资源圃内三种类型草莓苗随机选择 5～10 个果实，取得草莓汁液，混匀之后用移液枪取 30 微升加入到 10 ml 小玻璃管中，摇匀后，用胶头滴管取得放到酸度测量计上，可得到草莓果实中含酸量，每个处理测量三次求平均值。

2.5.3.3 植物组织中维生素 C 含量测定

在资源圃内三种类型草莓苗随机选择 3 个果实。然后用电子天平准确称取 0.5 克的果实，放在研钵中，加 2% 盐酸 5-10 毫升，研磨成浆状。滤纸过滤，将滤液滤入 50 毫升容量瓶中。滤饼可用少量 2% 盐酸洗 2-3 次。用 2%盐酸溶液稀释到刻度线，然后将其混匀。用移液枪吸取标准维生素 C 溶液 1.0 ml（即含 0.1 mg 维生素 C 标准品）置于 100 ml 锥形瓶中，加入 9 ml 浓度为 1%的草酸溶液，再用微量滴定管以 0.1% 2，6-二氯酚靛酚钠溶液逐滴滴定至淡红色，并保持不褪色 15 秒，即可。用所用染料的体积可以计算出每一毫升染料相当于多少毫克的维生素 C(空白对照选用取 10 ml 的 1%草酸，方法同上)。 准确吸取两份 10 毫升滤液，分别放入两个锥形瓶（100 ml）内，滴定方法同前。另取两份 10 ml 1%草酸作空白对照滴定。

维生素 C 含量（mg/100g 样品）= ((VA-VB)×C×T×100) / (D×W)

式中，VA ：滴定样品提取液所用染料的平均毫升数；VB：滴定空白对照所用染料的平均毫升数；C：样品提取液总的毫升数；D：滴定时所取样品提取液的毫升数；W：待测样品的重量克数；T：为 1 ml 染料能氧化抗坏血酸的毫克数。

2.5.4 抗氧化酶活性的测定

2.5.4.1 抗氧化酶的提取

称取 0.5 g 草莓果实鲜样，加入 4 ml 0.05 mol/L，PH7.8 的磷酸缓冲液，冰浴研磨，

倒入离心管中，然后再使用低温冷冻离心机对混合溶液进行离心，分离出上清液低温保存。在测量酶活的时候使用上清液进行测量。

2.5.4.2 过氧化氢酶（CAT）活性的测定

参考臧学文（2016）试验方法中过氧化氢酶测定方法。

2.5.4.3 过氧化物酶（POD）活性的测定

参考臧学文（2016）试验方法中过氧化物酶测定步骤。

2.5.4.4 超氧化物歧化酶（SOD）活性的测定

参考鄢岩（2016）试验方法中超氧化物歧化酶测定方法。

2.5.5 显微镜观察

观察采摘大田中意大利-17 组培苗产生的畸形花与畸形果，4 度冰箱短时间内保存，体式显微镜下观察花的外观形态，用刀剖开后观察其内部结构，如雌蕊、雄蕊、花粉、柱头等。体视显微镜下观察畸形果的形态。样本量为 30 株。

2.6 数据统计与分析方法

数据采用 Sigmaplot、SPSS 数据分析软件进行统计分析。

第三章　结果与分析

3.1 常规苗、脱毒苗、组培苗的形态指标

3.1.1 常规苗、脱毒苗、组培苗生长势

常规苗从开花期、绿果期、白果期、红果期四个时期，植株逐渐生长，叶长增长 1.83 cm，叶宽增长 1.03 cm，叶面积增加 11.7 cm^2，叶柄长增加 4.86 cm，株高增长 2.96 cm。脱毒苗从开花期到红果期的四个时期，叶长增长 3 cm，叶宽增长 2.77 cm，叶面积增加 34.16 cm^2，叶柄长增加 6.43 cm，株高增长 6.84 cm。组培苗在四个时期内，叶长增长 3.68 cm，叶宽增长 4.85 cm，叶面积增加 38.75 cm^2，叶柄长增加 5.41 cm，株高增长 5 cm。组培苗的叶长、叶宽、叶面积的增幅最大，脱毒苗的叶柄长和株高的增幅最大（表 3-1）。

当三种不同繁殖类型的草莓苗均处于开花期时，常规苗在叶长、叶宽、叶面积方面，均显著高于脱毒苗及组培苗，常规苗的叶长比脱毒苗长 1.36 cm，比多次继代的组培苗长 0.69 cm；常规苗的叶宽比脱毒苗宽 1.5 cm，比组培苗的叶宽宽 2.07 cm；常规苗的叶面积比脱毒苗大 26.92 cm^2，比组培苗大 24.31 cm^2。在叶柄长方面，脱毒苗显著高于组培苗，脱毒苗的叶柄长比常规苗长 2.45 cm，比组培苗长 6.41 cm。在株高方面，常规苗和脱毒苗显著高于组培苗，脱毒苗的株高比常规苗高 2.56 cm，比组培苗的株高高 8.91 cm。

青果期时，在叶长方面，组培苗显著高于脱毒苗，组培苗的叶长比脱毒苗长 0.83 cm；在叶面积方面，组培苗指标显著高于脱毒苗和常规苗，组培苗的叶面积比常规苗大 25.03 cm，比脱毒苗大 23.83 cm；在叶柄长方面，脱毒苗显著高于常规苗和组培苗，脱毒苗的叶柄比常规苗长 7.44 cm，比组培苗长 9.5 cm；在株高方面，常规苗和脱毒苗显著高于组培苗，常规苗的株高比组培苗高 4.57 cm，脱毒苗的株高比组培苗高 9.5 cm；其他指标中，常规苗与脱毒苗、组培苗差异不明显。

白果期时，在叶柄长方面，组培苗显著低于常规苗和脱毒苗，组培苗的叶柄长比常规苗低 3.72 cm，比脱毒苗低 8.26 cm；在株高方面，组培苗也显著低于脱毒苗，组培苗的株高比脱毒苗低 9.67 cm。在叶长、叶宽、叶面积方面，常规苗与脱毒苗、多次几代的组培苗差异不明显。

红果期时，在叶长方面，组培苗显著高于脱毒苗，组培苗的叶长比脱毒苗长 1.35 cm；在叶柄长方面，脱毒苗显著高于常规苗和组培苗，脱毒苗的叶柄比常规苗长 3.93 cm，比组培苗长 7.34 cm；在株高方面，脱毒苗显著高于常规苗和组培苗，脱毒苗的株高比常规苗长 6.44 cm，比组培苗长 10.75 cm。其他指标中常规苗与脱毒苗、组培苗差异不明显。

整体而言，脱毒苗在叶柄长和株高方面具有较好长势，多次继代的组培苗在叶柄长

和株高方面长势较弱，在叶长、叶宽、叶面积方面，三种草莓苗差异不显著。

表 3-1 常规苗、脱毒苗、组培苗的生长势

Table 3-1 Growth of different types of strawberries

种类 Type	时期 Period	叶长/(cm) Leaf length	叶宽/(cm) Leaf width	叶面/(cm^2) Leaf area	叶柄长/(cm) Petiol length	株高/(cm) Plant height
常规苗	开花期	5.69±0.66 a	10.30±0.43 a	55.28±6.84 a	13.38±1.64 ab	20.02±0.86 a
	青果期	6.37±0.40 ab	10.43±0.46 a	48.71±5.08 b	13.39±1.74 b	21.57±1.68 a
	白果期	6.7±0.71 a	10.83±1.14 a	60.41±7.70 a	16.79±1.85 a	21.57±3.31 ab
	红果期	7.52±3.75 ab	11.06±0.98 a	56.06±7.84 a	18.24±1.95 b	22.98±1.74 b
脱毒苗	开花期	4.33±0.70 b	8.80±0.48 b	28.36±5.04 b	15.83±1.49 a	22.58±1.99 a
	青果期	6.25±0.53 b	10.82±0.65 a	49.91±6.37 b	20.83±2.68 a	26.50±1.17 a
	白果期	6.50±0.58 a	10.90±1.08 a	52.69±7.36 a	21.33±1.54 a	27.67±0.62 a
	红果期	7.33±0.49 b	11.57±0.72 a	62.52±6.92 a	22.17±0.76 a	29.42±1.07 a
组培苗	开花期	5.00±0.37 b	8.23±0.92 ab	30.97±5.40 b	9.42±1.61 b	13.67±1.48 b
	青果期	7.08±0.61 a	11.33±1.05 a	73.74±9.86 a	11.33±1.61 b	17.00±1.44 b
	白果期	7.67±0.65 a	11.35±0.71 a	60.53±10.32 a	13.07±1.17 b	18.00±0.88 b
	红果期	8.68±1.41 a	13.08±1.20 a	69.72±13.21 a	14.83±1.22 b	18.67±1.63 c

注:各小写字母表示差异达 0.05 显著水平，下表同。

Note:The different nomal letters under the same parameters in the same period mean significant differences at P<0.05.The same with the following tables.

3.1.2 常规苗、脱毒苗、组培苗开花结果习性

在单株花朵数方面，常规苗、组培苗、脱毒苗没有显著差异。常规苗的单株花朵数平均比脱毒苗的单株花朵数多 8.5 朵，比组培苗的单株花朵数多 7.5 朵。脱毒苗的单株花朵数最少（图 3-1）。

在单株结果数方面，常规苗的单株结果数平均比脱毒苗的单株结果数多 2.5 个，比组培苗的单株结果数多 5.5 个。组培苗的单株结果数最少。

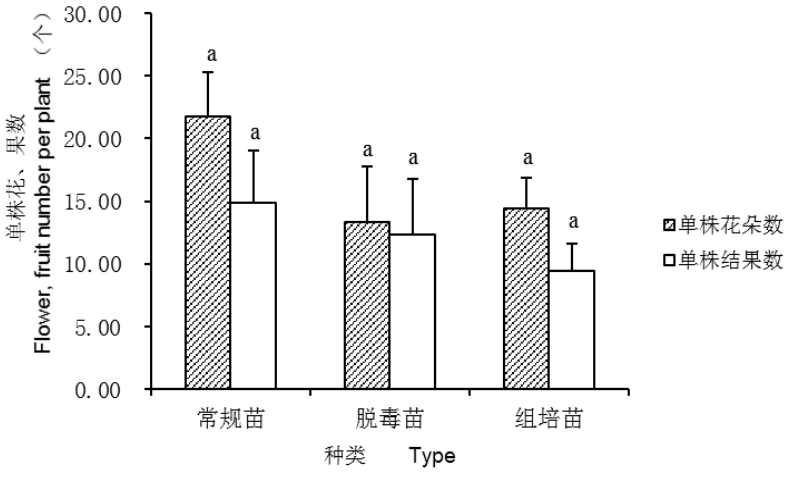

图 3-1 常规苗、脱毒苗、组培苗的单株花果数

Fig 3-1 Flower and fruit number per plant of different types of strawberries

脱毒草莓苗的单株结果率显著高于常规苗和组培苗的单株结果率，且脱毒苗的单株结果率接近 100%，而常规苗的单株结果率与组培苗的单株结果率相近，约为 70%左右（图 3-2）。

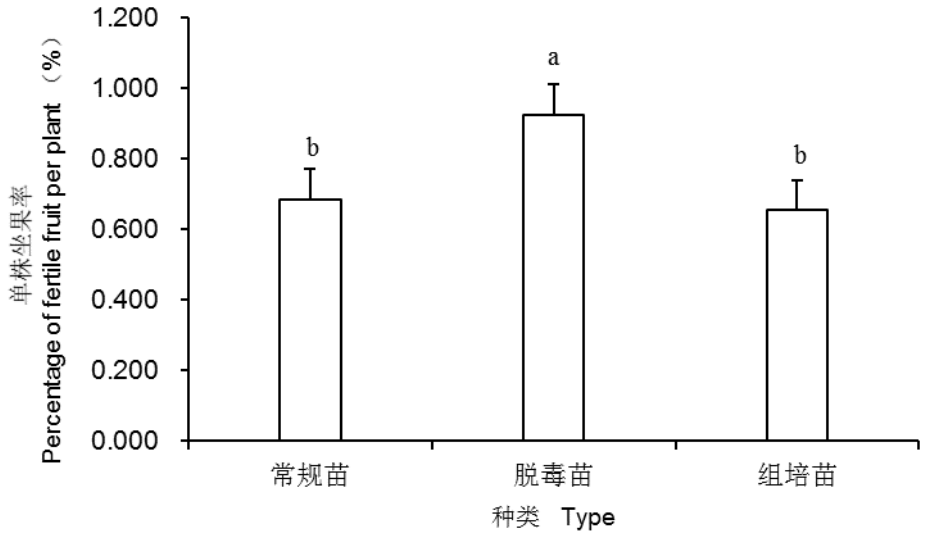

图 3-2 常规苗、脱毒苗、组培苗单株结果率

Fig 3-2 Percentage of fertile fruit per plant of different types of strawberries

在平均单果重面，常规苗、组培苗、脱毒苗没有显著差异。脱毒苗的平均单果重比常规苗重 2.88 g，比组培苗重 5 g；脱毒苗的最大单果质量比常规苗重 2.65 g，比组培苗重 5.68 g。组培苗的平均单果重和最大单果质量最小（图 3-3）。

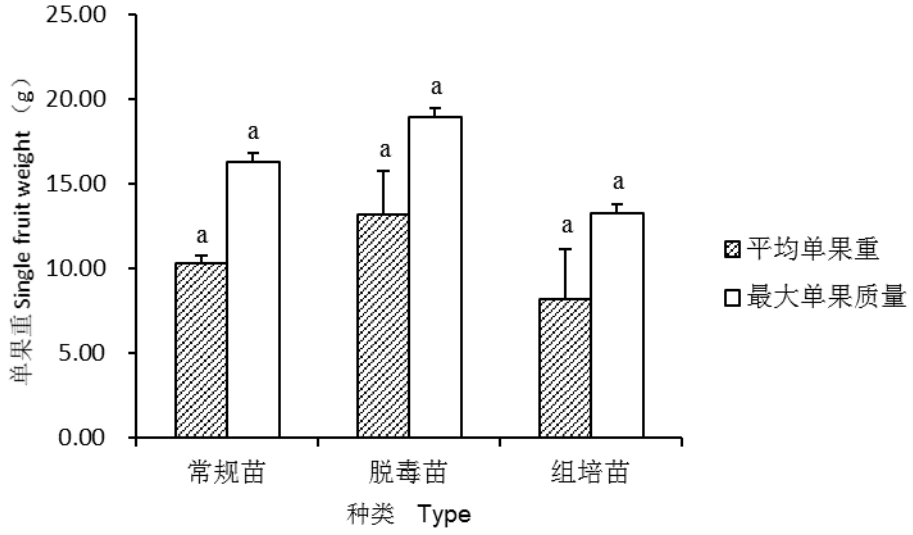

图 3-3 常规苗、脱毒苗、组培苗产量

Fig 3-3 Yield of different types of strawberries

3.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的果实品质

3.2.1 实生苗、脱毒苗、组培苗的可溶性固形物含量

在果实可溶性固形物含量方面，常规苗、组培苗、脱毒苗分别由青果期时的 4.73%、5.83%、5.12%，随着果实不断成熟，可溶性固形物含量均呈现出上升趋势，到红果期时分别积累为 6.13%、7.53%、6.83%，涨幅分别为 1.40%、1.70%、1.71%。其中，青果期时，脱毒苗显著高于常规苗与组培苗，脱毒苗果实的可溶性固形物含量比常规苗高 1.10%，比组培苗高 0.71%；白果期和红果期时，常规苗、组培苗、脱毒苗均没有显著性差异。同一时期，脱毒苗果实的可溶性固形物含量始终高于组培苗和常规苗（图 3-4 ）。

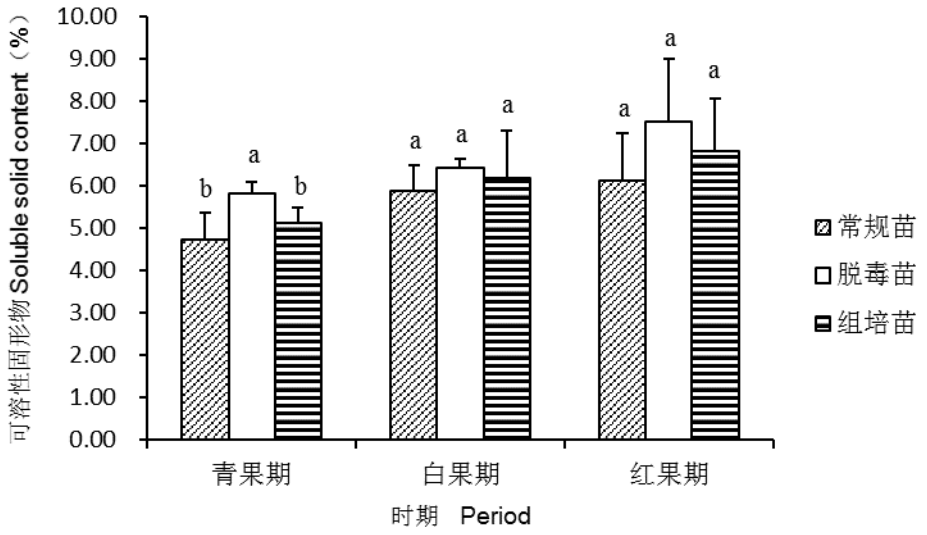

图 3-4 常规苗、脱毒苗、组培苗可溶性固形物含量

Fig 3-4 The soluble solid content of different types of strawberries

3.2.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的总酸含量

草莓测定的酸几乎都为有机酸，有机酸的成分与含量也是构成果实品质的一个重要因素，不同果实中含有机酸的成分不同，多数果实仅含有一、两种主要组分。草莓含有的有机酸主要为柠檬酸，草莓总酸含量呈现较大的波动性，不同草莓品种的有机酸含量与变化趋势各不相同（刘士华等 2011； 荣宁宁 2015）。

青果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的总酸含量分别为 0.79%、0.20%、0.58%，常规苗、组培苗均显著高于脱毒苗；白果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的总酸含量分别为 0.75%、0.33%、0.12%，其中，常规苗的总酸含量显著高于组培苗和脱毒苗的总酸含量；红果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的总酸含量分别为 0.62%、0.87%、0.19%，脱毒苗、组培苗、常规苗的总酸含量具有显著性差异（图 3-5）。有机酸含量的下降可能被转化为碳水化合物，或者是有机酸被氧化。草莓在白果期处于转色的关键时期，较低的酸含量表明脱毒苗和组培苗的果实能够更好的转色。常规苗果实的有机酸含

量在三个不同时期的变化幅度为 0.18%，数值较小，一直处于较高水平。脱毒苗、组培苗果实的有机酸含量的变化幅度分别为 0.67%、0.39%。整体而言，组培苗果实的有机酸含量较低，常规苗果实的有机酸含量普遍偏高。

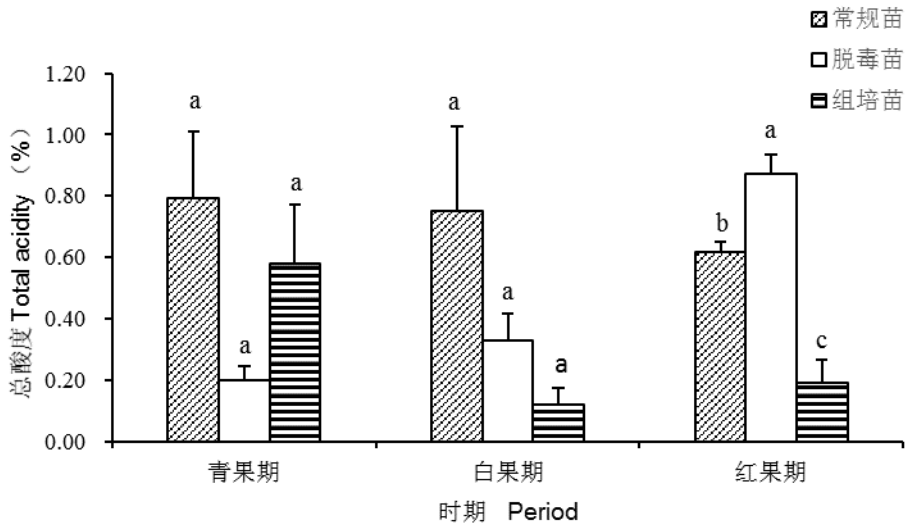

图 3-5 常规苗、脱毒苗、组培苗的总酸度

Fig 3-5 The total acidity of different types of strawberries

3.2.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的 Vc 含量对比

青果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的 Vc 含量分别为 1.57 mg/100g、9.44 mg/100g、5.53 mg/100g，其中，组培苗和脱毒苗果实的 Vc 含量均显著高于常规苗；白果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的 Vc 含量分别为 5.33 mg/100g、12.75 mg/100g、9.16 mg/100g，脱毒苗显著高于组培苗和常规苗，并且组培苗显著高于常规苗；红果期时，常规苗、脱毒苗、组培苗果实的 Vc 含量分别为 33.36 mg/100g、71.88 mg/100g、55.59 mg/100g（图 3-6），脱毒苗和组培苗均显著高于常规苗。随着果实的不断成熟，草莓常规苗、草莓脱毒苗、草莓组培苗果实中的维生素 C 含量均呈现上升趋势。综合而言，脱毒苗和组培苗的可食用红果的维生素 C 含量要优于常规苗的可食用红果。

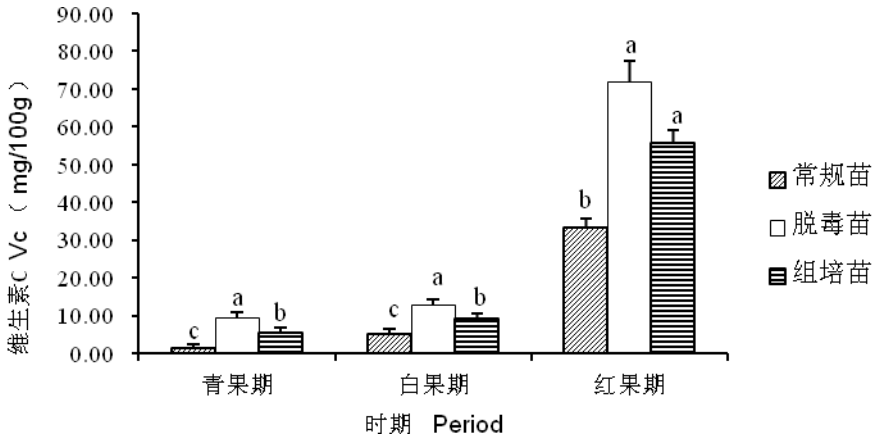

图 3-6 常规苗、脱毒苗、组培苗的维生素 C 含量

Fig 3-6 The vitamin C content of different types of strawberries

3.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的酶活性对比

3.3.1 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化物酶（POD）活性对比

过氧化物酶（POD）在植物体中普遍存在，且酶活性较高，过氧化物酶通过催化清除植物细胞内产生的具有毒害作用的过氧化物，保护植物细胞。

在果实的不同时期，不同草莓苗的 POD 酶活性变化趋势不同。青果期时，常规苗 POD 酶活性为 0.19 $min^{-1}·g^{-1}·FW$，显著高于脱毒苗和组培苗；白果期时，脱毒苗的 POD 酶活性上升至 0.3608$·min^{-1}·g^{-1}·FW$，并显著高于常规苗和组培苗果实中的 POD 酶活性；红果期时，常规苗和脱毒苗的 POD 酶活性显著高于组培苗。常规苗在青果期、白果期、红果期的均值变化不大，上下变动幅度为 5%，在红果期出现峰值；脱毒苗的 POD 活性在青果期、白果期、红果期呈现出先上升后下降的趋势，在草莓果实生长的关键时期即白果期达到峰值；组培苗的 POD 活性趋势与脱毒苗相似（图 3-7）。综合而言，脱毒苗的过氧化物酶活性处在较高水平，而多次继代的组培苗草莓的过氧化物酶活性较低。

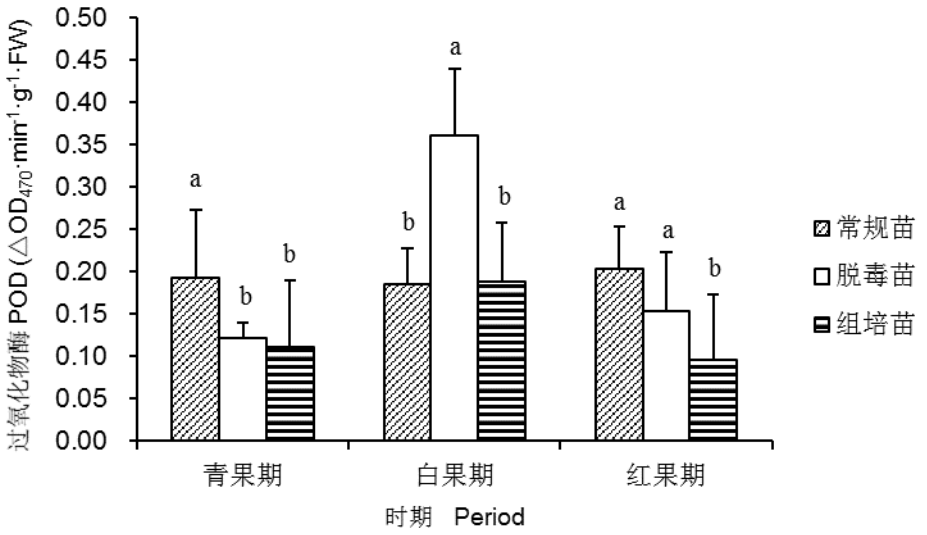

图 3-7 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化物酶（POD）活性

Fig 3-7 The POD activity of different types of strawberries

3.3.2 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化氢酶（CAT）活性对比

过氧化氢酶（CAT）的作用可以就是可以将植物在受到外界环境的胁迫或是病害时产生过氧化氢进行分解，形成水和氧气，以此消除过氧化氢的危害（Prasad，1997），是生物防御体系的关键酶之一。

在 CAT 酶活性方面，青果期时，脱毒苗果实的 CAT 酶活性为 4.127$·min^{-1}·g^{-1}·FW$，显著高于常规苗和组培苗，组培苗果实的 CAT 酶活性又显著高于常规苗；白果期时，脱毒苗的酶活性为 18.743$·min^{-1}·g^{-1}·FW$，显著高于常规苗和组培苗；红果期时，常规苗、

脱毒苗果实的 CAT 酶活性显著高于多次继代的组培苗果实的 CAT 酶活性 13.915·min^{-1}·g^{-1}·FW。三种繁殖类型的草莓苗的 CAT 酶活性峰值均出现在红果期，常规苗、脱毒苗、组培苗果实中的过氧化氢酶活性增幅分别为 19.780、23.348、10.674·min^{-1}·g^{-1}·FW。综合而言，脱毒苗草莓果实的过氧化氢酶活性水平较常规苗和组培苗的过氧化氢酶活性水平高（图 3-8）。组培苗的过氧化氢酶活性普遍偏低，而常规苗草莓果实在青果期时过氧化氢酶活性接近于零，不利于草莓果实发育生长。

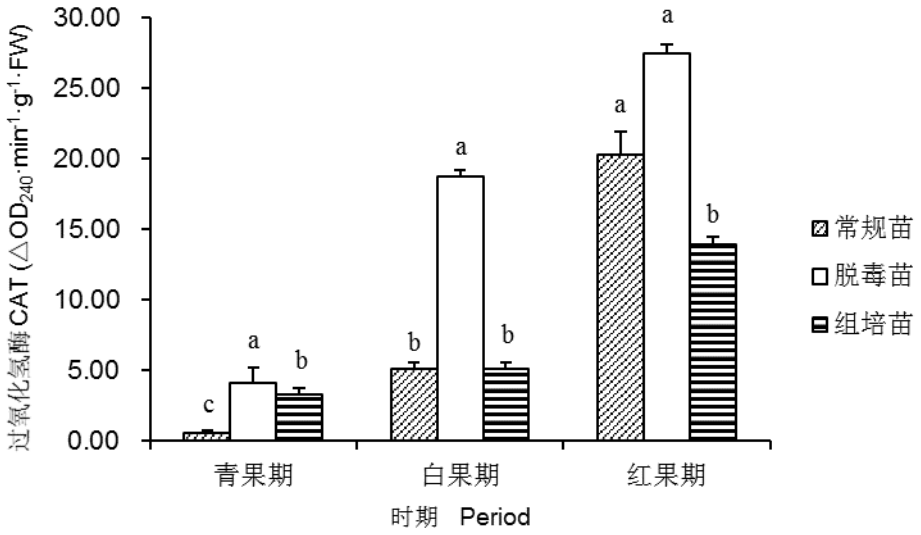

图 3-8 常规苗、脱毒苗、组培苗的过氧化氢酶（CAT）活性

Fig 3-8 The CAT activity of different types of strawberries

3.3.3 常规苗、脱毒苗、组培苗的超氧化物歧化酶（SOD）活性对比

超氧化物歧化酶(SOD) 是一种能够清除细胞内氧自由基, 以保护细胞免受氧自由基的毒害。

青果期时，脱毒苗果实的 SOD 酶活性显著高于常规苗和组培苗，且常规苗果实的 SOD 酶活性显著高于组培苗，常规苗果实酶活性约为脱毒苗果实的 46%，组培苗果实酶活性约为脱毒苗果实的 16% ;白果期时, 脱毒苗果实的 SOD 酶活性为 509.44 U·g/FW, 显著高于常规苗和组培苗；红果期时，脱毒苗果实的 SOD 酶活性显著高于常规苗，约为常规苗果实的 1.29 倍。常规苗、组培苗和脱毒苗的 SOD 酶活性的峰值均出现在白果期，常规苗和组培苗 SOD 酶活性的均值在后期几乎一致（图 3-9）。综合而言，脱毒苗的超氧化物歧化酶活性高于常规苗和组培苗。

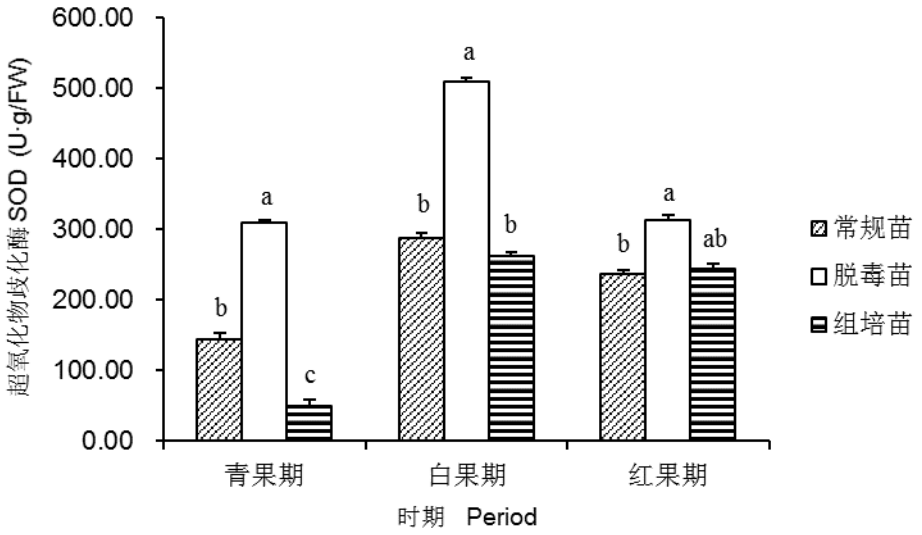

图 3-9 常规苗、脱毒苗、组培苗的超氧化物歧化酶（SOD）活性

Fig 3-9 The SOD activity of different types of strawberries

3.4 畸形组培苗观察

试验中观察到多次继代的组培苗出现畸形花。收集草莓资源圃内的意大利 17 号组培苗的畸形花（图 3-10），在体式显微镜下可以清楚看到草莓畸形花的雄蕊状态异常，如有些畸形花无雌蕊，有些畸形花是雄蕊发育不完全。这些草莓畸形花无法完成授粉受精的过程，最终导致没有果实。

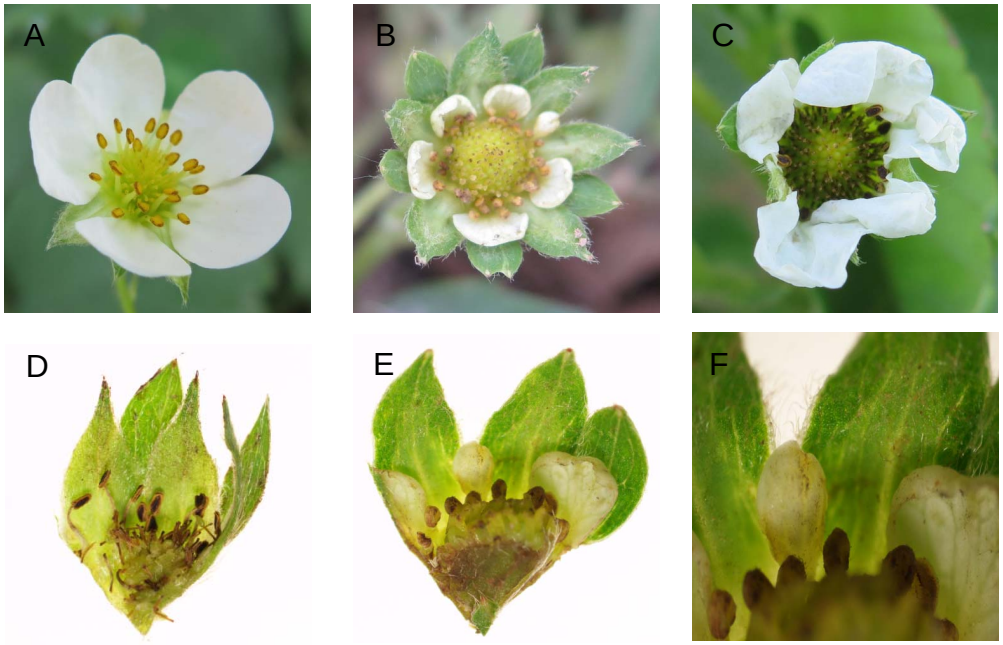

图 3-10 草莓正常花和畸形花

A：正常形态草莓花；B、C：田间畸形花；D、E、F：畸形花显微镜放大图

Fig 3-10 Deformity flowers of strawberries

A: Normal strawberry flowers; B,C: Deformity flowers; D、E、F：Microscopically enlarged drawing.

试验中观察到多次继代的组培苗出现畸形果。草莓资源圃内的意大利 17 号组培苗所结的畸形果如图 3-11 所示。在体式显微镜下可以观察到畸形果的生长形态异常，成不规则形，并且草莓果实表面覆有异物，此时的草莓果实已经不具有可食用性和商品性，大量的畸形果会严重影响草莓的产量和价值。

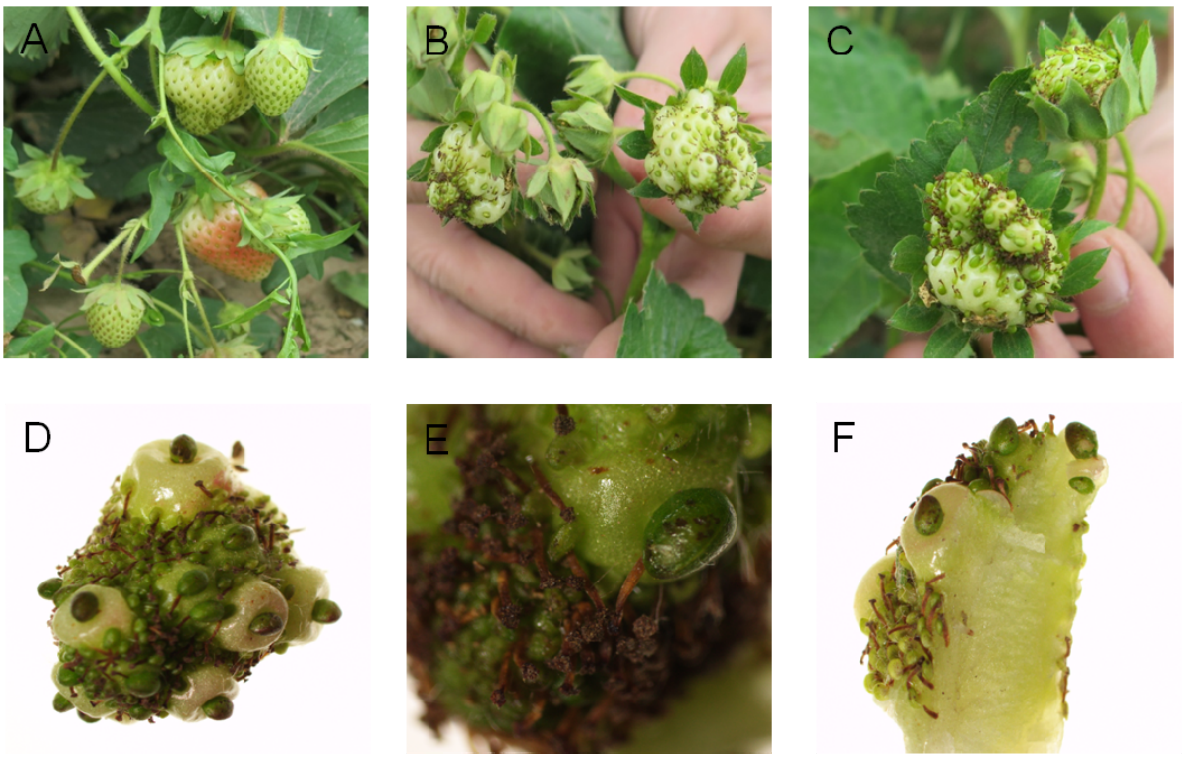

图 3-11 草莓正常果和畸形果

A：正常形态草莓果；B、C：田间畸形果；D、E、F：畸形果显微镜放大图

Fig 3-11 Deformity fruits of strawberries

A: Normal strawberry fruits; B,C: Deformity fruits; D、E、F：Microscopically enlarged drawing.

对意大利 17 号草莓的常规苗、脱毒苗、组培苗的花朵及果实的畸形率进行统计。表 3-2 中，常规苗中无畸形花且果实的畸形率为也非常低，仅为 1%；脱毒苗花的畸形率为 11%、果的畸形率为 6%；而多次继代的组培苗在畸形花与畸形果的比率上均显著高于常规苗和脱毒苗的畸形率，分别为 36%、24%，高畸形率已经极大影响了草莓组培苗的商品价值。

表 3-2 常规苗、脱毒苗、组培苗的畸形花和畸形果统计

Table 3-2 Deformity flowers and deformity fruits of different types of strawberries

种类	畸形花 Deformity flowers		畸形果 Deformity fruits	
Type	畸形花（朵）	畸形花(%)	畸形果（个）	畸形果(%)
常规苗	0 c	0 c	1 c	1 c
脱毒苗	11 b	11 b	5 b	6 b
组培苗	43 a	36 a	21 a	24 a

第四章　讨论

4.1 植物学性状比较

研究表明，章姬的脱毒苗在茎粗、株高、叶片长、叶柄长方面均显著高于常规苗；丰香的脱毒苗在株高、叶面积、叶柄长方面高于常规繁育苗；鬼怒甘、丰香、公四莓、法兰地、麦特来 5 个品种的脱毒草莓苗在相同的栽培条件下，其株高、根长、根数、叶柄长、叶面积、株冠、苗重、花序的数量均比常规苗增加(艾勇等 2000；李建青等 2007；裘建荣等 2009；王峰 2016；钟灼仔等 2010)。

本试验结果也表明意大利-17 的脱毒苗在植物学性状方面，尤其是叶柄长和株高这两个指标方面显著优于常规苗和多次继代的组培苗，脱毒苗的叶柄长为常规苗的 1.18-1.56 倍，为组培苗的 1.50-1.84 倍；脱毒苗的株高约为常规苗株高的 1.22 倍，约为组培苗株高的 1.55 倍（表 3-1）。此外，多次继代的组培苗长势在三种繁殖类型的草莓苗中最弱。脱毒后的草莓苗能够更好的生长, 但是多次继代的过程会减弱草莓苗的生长。多次继代的草莓组培苗花的高畸形率（表 3-2）很有可能是是造成组培苗的单株坐果率较低的原因之一（图 3-2）。

4.2 果实经济性状比较

评价草莓果实的经济性状，主要是从产量、风味、营养含量，尤其是 Vc 的含量进行。许多的试验已经证明脱毒草莓的果实经济性状优于常规苗。艾勇和赵佐敏（2000）比较研究了丰香草莓，其脱毒苗单果重比普通苗大，脱毒苗亩产比普通苗增产 13.7%。钟灼仔等人（2010)对鬼怒甘、丰香、麦特来、公四莓、法兰地等 5 个优良品种进行研究，5 个品种脱毒苗的平均单果重和最大单果重均大于常规苗，且果实的可溶性固形物含量、总糖含量、总酸含量、维生素 C 的含量均高于常规苗，多品种的验证了草莓脱毒苗的果实口感丰富，果形美观，果品商品竞争力更强。王峰（2016）对于章姬草莓的研究表明，章姬草莓的脱毒苗所结果实的平均单果重、最大单果重及可溶性固形物含量极显著高于常规繁育苗，脱毒草莓苗所结果实的感官评价及口感都要好于普通苗。

本试验的结果与前人基本一致, 意大利-17 的脱毒苗草莓果实无论是在平均单果重、最大单果重、可溶性固形物含量、维生素 C 含量均优于常规苗和组培苗（图 3-3、4、5、6)。多次继代的组培苗果实的经济性状均低于脱毒苗，但高与常规苗。因此多次继代的过程对草莓果实的风味影响不大。

但是通过观察, 多次继代的组培苗的花与果实均出现了显著高于常规苗和脱毒苗的畸形率，其中花的畸形率已超过脱毒苗花的畸形率的 3 倍，果的畸形率为脱毒苗果的畸形率的 4 倍，严重影响了草莓果实的产量和商品竞争力，并且在生产中因为需要人工除去畸形花会耗费更多的劳动力（图 3-10、11)。在实际生产中，已经多地报道了有关草

莓苗高畸形率的状况，可能与草莓脱毒苗、组培苗继代的次数有关系。

4.3 酶活性的测定结果的比较

研究表明，宝交早生、群星、早红光三个品种的脱毒继代草莓苗的过氧化氢酶和过氧化物酶的活性均高于常规苗，因此脱毒草莓能够更好地清除自由基、保护细胞脂膜的完整性。草莓脱毒苗果实体内的酶活性高于常规苗，有助于改善和恢复草莓植株的正常代谢活动、恢复草莓品种特性、提高草莓果实的产量和品质(王发林 2001)。

意大利-17 的脱毒草莓苗的果实在过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶的活性上也均高于常规苗和组培苗，这与前人的结果相一致。多次继代的草莓组培苗的果实中过氧化物酶、过氧化氢酶、超氧化物歧化酶的酶活性相较于脱毒苗均有下降趋势, POD 的活性平均约为脱毒苗果实的 68%，CAT 活性约为脱毒苗果实的 52%，SOD 活性仅为脱毒苗果实的 48%（图 3-7、8、9）。多次继代后的草莓苗抗氧化酶活性的降低，也有可能是引起草莓组培苗高畸形率的直接原因。

第五章　结论

1. 脱毒苗是最优繁殖类型的草莓苗，它具有高生长势，高产量，果实口感佳，营养丰富且抗氧化酶活性高的优点。

2. 多次继代的组培苗生长势甚至低于常规草莓苗，果实产量减少，果实口感及营养成分较低于脱毒苗的果实，抗氧化酶活性降低。

3. 多次继代组培苗的花朵和果实具有高畸形率。

参考文献

艾勇，赵佐敏，胡春芳，吕少平，杨友福，黄小瑜. 草莓组培苗与生产苗对比试验初报[J]. 耕作与栽培，2000(6): 52-3.

曹善东. 草莓脱毒试管苗炼苗及移栽技术研究[J]. 安徽农业科学，2006;34(1):17-8.

陈爱萍，叶祖云，缪雄平. 草莓茎尖组织培养研究[J]. 宁德师范学院学报(自然科学版), 1998(1):63-5.

陈海霞. 2003. 草莓轻型黄边病毒脱毒技术研究. [硕士学位论文]. 湖南农业大学.

陈凯，胡国谦，周武忠. 果树单叶面积测量方法及其比较[J]. 果树科学,1987,4(2): 39-41.

程侣柏. 精细化工产品的合成及应用: 大连理工大学出版社; 2014.

邓成军，于卓，张少华. 章姬草莓的脱毒及组培快繁技术研究[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版). 2003;24(2):79-82.

樊邦棠. 环境化学：浙江大学出版社; 1991.

冯辉霞. 无机及分析化学试验: 甘肃教育出版社; 2003.

高庆玉，李光裕， 周恩. 关于草莓脱毒技术研究[J]. 东北农业大学学报. 1993(3):231-6.

高山林. 草莓脱毒苗增产效益高[J]. 中国野生植物资源. 1998(3):22.

高山林. 大果型四季草莓冬花的品种特征及栽培. 北京农业,2001,(1);16-17.

高山林. 脱毒草莓田间品种比较试验[J]. 厦门大学学报(自然版). 2001(s2):14.

高山林，石振国，刘永发，许乃旭. 脱毒草莓高产栽培技术[J]. 农业科技通讯. 1998(5):17.

谷建田. 园艺作物组培脱毒技术及应用前景[J]. 北京农学院学报. 1993(2):147-52.

郭明丽. 2015 草莓衰老过程中几种酶的变化及菌落表征.[硕士学位论文]. 大连工业大学.

海保，朱西儒，张云开，刘卫. 香蕉试管苗变异因素的初步研究. 广西植物, 1996,16(2):175-178.

韩柏明，李贺，高秀岩，等. 草莓微繁殖苗光合特性研究[J]. 果树学报,2009,26(4):559 -563.

郝保春. 草莓生产技术大全[M]. 北京：中国农业出版社, 2000:67-108.

何伯伟, 毛碧增, 童英富, 等. 草莓脱毒种苗的应用效果及发展对策[J]. 浙江农业科学, 2005(2):94-96.

靖杰. 香蕉组织培养中变异的发生与控制途径. 果树科学, 1995, 12(2):120～122.

廖俊杰， 洪建源， 邓明琴. 草莓热处理脱病毒的研究[J]. 北方果树. 1991(4):5-9.

李建青，王波，范正新. 草莓脱毒苗与普通苗比较试验简报[J]. 上海农业科技. 2007(2):74.

刘慧颖，娄春荣，董环. 葡萄叶面积非离体测定新方法[J]. 北方果树,2007,9:7-8.

刘健. 2008. 草莓热处理结合茎尖脱毒繁育体系的建立.[硕士位论文]. 浙江大学.

刘建新. 苹果脱毒苗与常规苗脂肪酸组成与抗氧化酶活性的比较研究. 生物学杂志, 2003,20(5)28-29.

刘士华，吕国胜. 草莓果实成熟过程中糖、酸含量的动态变化[J]. 安徽林业科技. 2011;37(5):24-7.

鲁晓燕，罗强勇，冯建荣，刘娜提. 不同草莓品种果实中维生素 C 含量变化的研究[J]. 北方园艺. 2005(1):56-7.

孟志卿. 草莓花药组织培养脱毒快繁技术研究[J]. 安徽农业科学. 2008;36(2):440-1.

米建梅，张志宏，李贺，等. 草莓微繁殖苗移栽后开花结果的研究[J]. 果树学报, 2007,24(4):472-476.

马鸿翔，段辛楣. 南方草莓高效益栽培[M]. 北京：中国农业出版社. 2001:84-92.

彭殿林，彭沈凌. 草莓生物学特性及关键栽培技术要点[J]. 吉林蔬菜. 2011(5):21-2.

秦旭，刘冠义，东明学等. 草莓[M]. 北京：中国农业大学出版社. 2006:52-57.

荣宁宁. 2015. 不同栽培措施对不同品种草莓色泽及内在品质的影响研究.[硕士位论文]. 浙江师范大

学.
沈瑞骞. 草莓主要植株性状指标及其相互关系的研究[J]. 北京农学院学报, 1991,2:31-36.
王常芸, 李晓亮, 王建玲, 迟爱花, 王冬梅. 草莓脱毒技术与开发应用[J]. 山东农业科学. 2007(4):118-9.
王发林. 草莓脱毒苗与常规苗酶活性的测定结果比较[J]. 甘肃农业科技. 2001(4):28-9.
王峰. 草莓脱毒苗与常规苗田间性状比较试验[J]. 山西果树. 2016(2):10-1.
王国平. 我国草莓病毒种类鉴定研究初报[J]. 中国果树. 1988(2)
王国平，刘福昌. 草莓病毒种类鉴定及培育无病毒种苗的技术研究[J]. 中国农业科学. 1990; 23(4):43-9.
王国平，刘福昌等. 我国草莓主栽区病毒种类的鉴定[J]. 植物病理学报. 1991(1):9-14.
王艳颖，姜国斌，胡文忠，范圣第，姜波. 高效液相色谱法测定草莓中维生素 C 含量[J]. 大连大学学报. 2006; 27(2):21-2.
魏永祥. 草莓无病毒栽培技术: 金盾出版社; 2007.
肖德卿, 梁淑霞, 况芹芹, 张红, 黄振喜, 耿建芬. 8 个品种草莓盆栽果实维生素 C 含量的测定[J]. 安徽农业科学. 2015(8):246-7.
辛贺明，张喜焕. 草莓优良品种及无公害栽培技术[M]. 北京：中国农业出版社. 2004:57- 60.
许淑琼. 草莓脱毒苗组培快繁技术研究[J]. 中国南方果树. 2002; 31(2):42-3.
薛义霞，栗东霞，李亚灵. 番茄叶面积测量方法的研究[J]. 西北农林科技大学报：自然科学版, 2006,8:116-120.
杨莉，杨雷，李莉，郝保春. 草莓畸形果发生的原因及防治对策[J]. 河北果树. 2007 (s1):148-9.
姚福荣，任燕. 草莓不同采收时期维生素 C 含量的测定[J]. 毕节学院学报. 2007; 25(4):84-8.
叶正文. 中外草莓产业发展趋势[J]. 中国果业信息. 2005; 21(4):5-7.
原牡丹，苏艳，侯智霞，翟明普. 草莓果实发育过程中 IAA 及其代谢相关酶的变化特性[J]. 北京林业大学学报. 2009; 31(6):169-75.
张桂霞，王英超，付春. 草莓果实成熟过程中几种酶活性的变化[J]. 安徽农业科学. 2010; 38(17):9180-1.
张利英，李贺年，张鑫，王彭宇，张会武. 草莓组培苗和自繁苗田间性状比较试验研究[J]. 安徽农业科学. 2009; 37(25):11957-8.
张馨宇，张志宏，高秀岩，李贺，杜国栋. 草莓微繁殖苗及其后代性状表观遗传变异研究[J]. 果树学报. 2006; 23(4):542-6.
张志宏，杜国栋，张馨宇. 图说草莓棚室高效栽培关键技术[M]. 北京：金盾出版社. 2009:32-44.
赵密珍. 日本四季草莓育种与夏秋草莓生产概况[J]. 中国果树. 2006(2):61-2.
周厚成，文颖强. 草莓标准化生产技术[M]. 北京：金盾出版社. 2008:55-60.
钟灼仔，陈文胜，高绍良，雷忠涌，陆志平. 5 个草莓品种组培苗与常规苗栽培性状对比[J]. 农业科技通讯. 2010(6):84-8.
Ashwin V.Paranjpei and Daniel J.Cantliffe. 2004. Developing a System to Produce Organic Plug Transplants for Organic Strawberry Production. Proc. Fla. State Hort.Soc.117:276-282
Douglas V. Shaw and Kirk D. Larson. Relative Performance of Strawberry Genotypes over Four Cycles of Cultivation on Fumigated and Nonfumigated Soils [J]. Journal of the American society for horticultural science. 2001,126 (1)78-82.
Feng JY, Zou ZR, Chen XB (2005) Effect of Soil Moisture on Growth and Physiological Characteristics of Greenhouse Spring Cucumber During Seedling Period. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica

25(6): 1242— 1245

Hu Y, Gao YR, Wei W, Zhang K, Feng JY (2016) Strawberry MOTHER OF FT AND TFL1 regulates seed germination and post-germination growth through integrating GA and ABA signaling in Arabidopsis. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 126 (2):343-352

Hu Y, Han YT, Wei W, Li YJ, Zhang K, Gao YR, Zhao FL, Feng JY (2015) Identification, isolation, and expression analysis of heat shock transcription factors in the diploid woodland strawberry *Fragaria vesca*. *Frontiers in Plant Science* 6 (10):3313-3318

NANCY K B. Effects of transplant type, plant growth-promoting rhizobacteria, and soil treatment on growth and yield of strawberry in Florida[J]. Plant and Soi1, 2003, 256: 273-280.

JOHN S B. Effect of fall chilling, forcing temperature and day length on the growth and flowering of Catskill strawberry plants [J]. Pro Amer Soc Hort Sci, 1964, 87:245-252.

T.R. Abu-Zahra, K. Al-Ismail, F. Shatat, 2007, Effect of Organic and Conventional Systems on Fruit Quality of Strawberry (*Fragaria x Ahahassa* Duch) Grown Under Plastic House Conditions in The Jordan Valley, ISHS Acta Horticulturae 741:124-132

Wei W, Hu Y, Cui MY, Han YT, Gao K, Feng JY (2016a) Identification and Transcript Analysis of the TCP Transcription Factors in the Diploid Woodland Strawberry *Fragaria vesca*. *Frontiers in Plant Science* 7:1937

Wei W, Yang H, Han YT, Kai Z, Zhao FL, Feng JY (2016b) The WRKY transcription factors in the diploid woodland strawberry *Fragaria vesca* : Identification and expression analysis under biotic and abiotic stresses. Plant Physiology & Biochemistry 105:129

致 谢

眨眼之间，两年的研究生生活就即将结束，在此，我要由衷地感谢我的导师冯嘉玥副教授，感谢这两年来恩师对我整个科学研究工作的指导与帮助，让我不仅能够深入生产实践的环节，也给了我一个能够在试验室钻研自己感兴趣的科研试验的机会。恩师对待我们每一位学生都一视同仁，悉心教导，让我学习到了很多知识。除此之外，冯老师也时常关心我的日常生活，对我的照顾无微不至。可谓之我的良师益友。这两年的研究生生活，让我历练了很多，也成长了很多。离开学校后，无论我去向何处，身处何方，恩师对我的帮助与“ 认真做事，诚实做人，快乐生活 ”的要求我都将铭记于心。在此再次向冯老师表示衷心的感谢！同时，也感谢文颖强教授对我的谆谆教诲！

本学术论文的顺利完成也要感谢邹志荣老师、李建明老师、胡晓辉老师、杨振超老师等各位老师在论文开题和中期考核中所提出的宝贵意见，衷心感谢你们！

感谢在我两年的研究生时光中一直给予我大力帮助的高玉荣师姐、李亚娟师姐、赵凤莉师姐、程远师姐，未魏师兄，臧学文师兄，同门万东艳、高宽、胡洋、王寒阳、师弟谢尹歌、郭晔、师妹刘杰、侯凤娟、姜颖，是你们的帮助让我更加懂得付出与合作，也让我收获了一份弥足珍贵的试验室情谊。感谢我们 408 寝室的室友，虽身处异乡，但给了我家的温暖。感谢我们 2015 级园艺班的所有同学。感谢我在西北农林科技大学所相识相遇的每一位朋友和不知名的陌生人们。感谢你们，惟愿“ 明月寄我思忆到，每盼音讯记同笑 ”！

二十四载春秋，十八年求学路，我最感谢也最愧疚的便是我的父母、妹妹、家人。由衷的感谢我的父母这么多年来对我的无私付出与奉献，感谢他们为我提供了无忧无虑的生活港湾，和独立坚强进取的精神食粮！感谢我的家人、挚友李思艺和亲爱的朋友们这一路对我的信任、支持、包容和陪伴！

在西北农林科技大学生活的这两年，是我将一生铭记的美丽回忆！以后当人问起，这对于我而言是一个怎样的存在？我想我会说这是一段我努力拼搏、追逐科研、无悔青春的“ 光辉岁月 ”！在这里我曾无限地接触过前沿的科学殿堂，也无尽地踏足于芳香的农田土壤。

愿我，见素抱朴，不忘初心！

最后向参加本次论文评议、审阅、答辩的各位老师表示感谢。

崔孟媛

2017 年 5 月于西北农林科技大学

作者简介

崔孟媛，女，汉族，1993 年 4 月生，河南省郑州市。

2011 年 9 月—2015 年 7 月，在海南大学园艺园林学院园艺（花卉与景观设计方向）专业学习，获农学学士学位。

2015 年 9 月—2017 年 6 月，在西北农林科技大学园艺学院园艺专业学习，攻读农业推广硕士学位，导师是冯嘉玥副教授。

发表相关论文：

1. Wei Wei, Yang Hu, **Meng-Yuan Cui**, Yong-Tao Han, Kuan Gao, Jia-Yue Feng. Identification and Transcript Analysis of the TCP Transcription Factors in the Diploid Woodland Strawberry *Fragaria vesca*. Frontiers in Plant Science, 2016 (7) .

2. Wei Wei, Zhuang-zhuang Chai, Yin-ge Xie, Kuan Gao, **Meng-yuan Cui**, Ying Jiang, and Jia-yue Feng*. (2017) Bioinformatics identification and transcript profiles analysis of mitogen-activated protein kinase gene family in the diploid woodland strawberry *Fragaria vesca*. (PLOS ONE, In press).

3. **Meng-Yuan Cui**, Wei Wei, Kuan Gao, Yin-Ge Xie, Ye Guo, Jia-Yue Feng. A rapid and efficient *Agrobacterium*-mediated transient gene expression system for strawberry leaves and the study of disease resistance proteins. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, (Major revision).