

新疆天山野生草莓与绿色草莓 (*Fragaria viridis* Duch.) 同一性的鉴定

雷家军¹ 邓明琴¹ 吴禄平¹ 望月龙也² 野口裕司² 曾根一纯²

(¹ 沈阳农业大学园艺系, 沈阳 110161; ² 日本农林水产省野菜茶业试验场久留米支场, 福₈₃₉₋₈₅₀₃)

摘要: 通过植物学性状观察和 RAPD 技术鉴定证明新疆天山野生草莓为绿色草莓 (*Fragaria viridis* Duch.), 表明中国自然分布的草莓野生种达到 9 个。绿色草莓在分类学上的典型特征为匍匐茎上从第二节开始每节均形成幼苗; 花序直立、高于叶面, 花瓣显露时呈黄绿色, 雄蕊花丝细长, 高于雌蕊; 果实圆形或扁圆形, 淡绿色, 阳面略红, 果硬, 成熟时萼片紧贴, 脱萼难。

关键词: 草莓; 绿色草莓; 分类; RAPD

中图分类号: S 668.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 02-0119-04

中国是世界上野生草莓资源最丰富的国家, 长白山、天山和秦岭山脉, 青藏和云贵高原都是天然的野生草莓基因库, 存在较多的种、变种和类型^[1-3]。据记载, 草莓属 (*Fragaria*) 约 17 个常见种中中国分布有 9 个, 其中 8 个为自然野生种, 1 个为国外引入的八倍体栽培种凤梨草莓 (*F. ×ananassa* Duch.)。8 个自然野生种包括 6 个二倍体种: 森林草莓 (*F. vesca* L.)、黄毛草莓 (*F. nigerrensensis* Schlecht.)、五叶草莓 (*F. pentaphylla* Lozinsk)、纤细草莓 (*F. gracilis* A. Los.)、西藏草莓 (*F. nubicola* Lindl.)、锡金草莓 (*F. daltoniana* J. Gay.), 两个四倍体种: 东方草莓 (*F. orientalis* Lozinsk)、西南草莓 [*F. moupinensis* (French.) Card.]^[4,5]。中国植物志和果树分类学等论著均无我国有绿色草莓 (*F. viridis* Duch.) 分布的记载, 仅在个别刊物中简单提及^[6]。沈阳农业大学从 80 年代开始收集野生草莓资源, 目前已从国内外收集保存 14 个种共 68 份野生草莓资源。1988 年从新疆天山收集到的新疆 1 号野生草莓最初被认为是森林草莓的一个类型, 但多年观察后发现二者许多性状明显不同。近年从欧洲引入绿色草莓后, 初步判定其为绿色草莓。随着 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) 技术的广泛应用^[7-9], 作者对上述材料进行了植物学性状观察和 RAPD 分析鉴定, 以期明确其在分类学上的地位。

1 材料与方法

10 份试材包括草莓属除锡金草莓之外的所有 9 个二倍体野生种, 即森林草莓、黄毛草莓、绿色草莓、五叶草莓、纤细草莓、西藏草莓、日本草莓 (*F. nipponica* Makino.)、₈₃₉₋₈₅₀₃ 夷草莓 (*F. yezoensis* Hara.)、饭沼草莓 (*F. iimurae* Makino.), 以及待鉴定的新疆 1 号野生草莓。新疆 1 号野生草莓自 1988 年收集引入后一直保存于沈阳农业大学草莓园中。

收稿日期: 2000-08-21; 修回日期: 2000-11-08

植物学性状观察于 1993 ~ 1999 年在沈阳农业大学进行^[3~5]。株高为初果期测定 5 株的平均值。可溶性固形物含量用手持测糖仪测定。根尖染色体数目采用常规压片、改良卡宝品红染色法检测；RAPD 分析于 1998 ~ 1999 年在日本合作单位进行。DNA 提取参照 Greenwood 的方法^[10]。DNA 扩增反应液终体积为 20 μ L，其中含有 2 μ L 10 倍缓冲液（Pharmacia），20 ng DNA，0.2 mmol/L dNTP，1 个单位 Taq DNA 聚合酶（Pharmacia），0.2 μ mol/L 引物。引物为 Operon 公司产的 J、K、N 组试剂盒。DNA 扩增使用日本 Astec 公司产的 PC-800 型程序温度控制系统，反应程序为 94 1 min 94 1 min，38 2 min，72 2 min，循环 45 次 72 5 min。扩增片段用 1.5 % 琼脂凝胶电泳，0.1 μ L/mL 溴乙锭染色 15 min，Polaroid 337 相纸自动感光照相。100 bp DNA 梯度（Promega，100 ~ 1 500 bp）用作分子量标准。根据 RAPD 带的有（1）无（0），用美国 StatSoft 公司统计软件 Statistic 得到亲缘关系聚类图。

2 结果与分析

2.1 植物学性状

新疆 1 号野生草莓（图 1）生长于天山野生苹果林下和山坡灌木林的开阔草丛中。植株较纤细，株高约 15 cm，新茎较多。叶长椭圆形，叶面平，叶柄密被直立绒毛。匍匐茎抽生能力强，除第一节外，以后各节均可形成幼苗，匍匐茎上绒毛直立或向前紧贴。聚伞花序，花序明显高于叶片 1/3 ~ 1/2。花序数较多，每花序 4 ~ 10 朵花，花序梗第一分歧以下绒毛直立，以上部位则向上紧贴或脱落。花两性，较小，花瓣 5 枚，近圆形，叠生，花丝细长，高于雌蕊。主萼片三角形，副萼片披针形，萼片大且长。果实淡绿色，阳面略红，圆形或扁圆形，果硬。果肉淡绿至绿白色，具清香味，与森林草莓的浓香味不同。可溶性固形物含量 11.3 %。种子大，黄绿色，凸于或平于果面。果实成熟时萼片紧贴于果实，脱萼难。抗寒性、抗涝性较强。沈阳地区 5 月 10 日初花，5 月 14 日盛花，6 月 10 日果实成熟。具四季结果性，但第二次开花时间在秋季，比四季结果型森林草莓第二次开花时间晚 2 ~ 3 个月，沈阳地区常在 10 月上旬第二次开花。经染色体检测为二倍体（2n = 2x = 14）。通过与除锡金草莓之外的



图 1 新疆 1 号野生草莓

Fig. 1 Plants of the wild strawberry clone Xinjiang No. 1

表 1 绿色草莓与森林草莓的区别性状比较

Table 1 The differential traits between *F. viridis* and *F. vesca*

性 状 Traits	绿 色 草 莓 (<i>F. viridis</i>)	森 林 草 莓 (<i>F. vesca</i>)
匍匐茎 Runner	除第一节外每节均着生幼苗 Plantlets were formed on the second and subsequent nodes	偶数节着生幼苗或无匍匐茎 Plantlets were formed only on even nodes or no runner
雄 蕊 Stamen	花丝长，高于雌蕊 Long, above pistils	花丝短，矮于雌蕊 Short, below pistils
果 实 Fruit	淡绿色，阳面红色，硬 Greenish white to red (in the sun), firm	红色或白色，软 Red or white, soft
萼 片 Calyx	萼片紧贴于果实，脱萼难 Clasping, hard to separate	萼片平展或微翻卷，易脱萼 Spreading or somewhat reflexed, easy to separate

草莓属所有 9 个二倍体野生种比较观察^[11~13]，其性状明显与绿色草莓（*F. viridis* Duch.）相符。绿色草莓植株形态与森林草莓相近，但仍较易将两者区分开（表 1）。

2.2 RAPD 鉴定结果

用 10 个引物扩增得到 190 条 RAPD 带，其中 185 条为多态性带，每个引物可得到 13~26 条带（图 2，表 2）。从图 2 可以看出新疆 1 号与绿色草莓的 RAPD 带非常相近，而与其它二倍体相差较远。草莓属 9 个种共 10 份试材的 RAPD 分析得到的聚类图也表明新疆 1 号与绿色草莓的结合距离最近（图 3），这与植物学性状观察结果一致。从图 3 中还可以看出日本草莓和覆盆子草莓亲缘关系很近，这与日本一些学者认为它们属同一个种的观点一致。五叶草莓、纤细草莓、西藏草莓这 3 个野生种的亲缘关系较近，而黄毛草莓和饭沼草莓与其它二倍体野生种亲缘关系最远。

表 2 PCR 反应引物、序列及扩增带数
Table 2 List of primers, their sequence and the nubmer of RAPD bands

引 物 Primers	序 列 Sequence	扩增带数 No. of bands	多态性带数 No. of Polymorphic bands
OPJ-09	TGA GCC TCA C	18	17
OPJ-10	AAG CCC GAG G	13	13
OPJ-12	GTC CCG TGG T	19	18
OPJ-14	CAC CCG GAT G	26	26
OPK-06	CAC CTT TCC C	13	13
OPK-15	CTC CTG CCA A	13	11
OPN-02	ACC AGG GGC A	22	21
OPN-07	CAG CCC AGA G	21	21
OPN-15	CAG CGA CTG T	23	23
OPN-20	GGT GCT CCG T	22	22
合计 Total		190	185

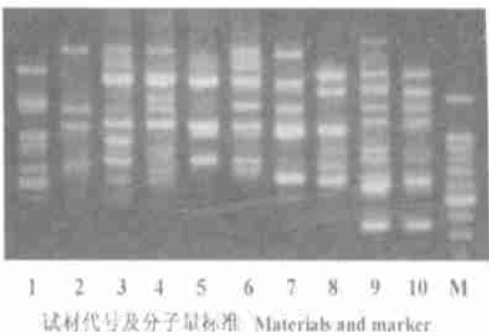


图 2 草莓属 9 个二倍体种及新疆 1 号的 RAPD 扩增带（引物为 OPN15）

1 黄毛草莓，2 五叶草莓，3 西藏草莓，4 纤细草莓，
5 日本草莓，6 覆盆子草莓，7 饭沼草莓，8 森林草莓，
9 绿色草莓，10 新疆 1 号
M 为 100 bp DNA 梯度分子量标准。

Fig. 2 RAPD bands of Xinjiang No. 1 and nine species in *Fragaria* generated by primer OPN15

1 *F. nilgerrensis*, 2 *F. pentaphylla*, 3 *F. nubicola*,
4 *F. gracilis*, 5 *F. nipponica*, 6 *F. yezoensis*,
7 *F. iimurae*, 8 *F. vesca*, 9 *F. viridis*,
10 Xinjiang No. 1 M-marker, 100 bp DNA ladder.

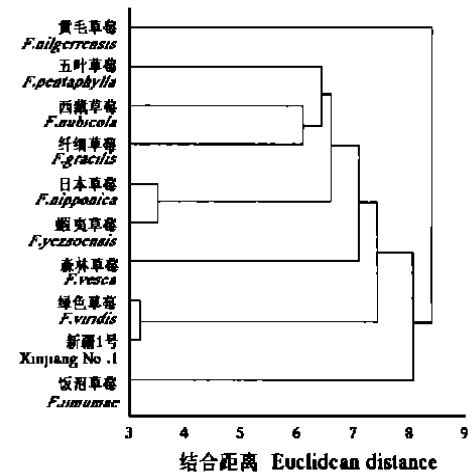


图 3 草莓属 9 个二倍体种及新疆 1 号的 RAPD 分析聚类图

Fig. 3 The cluster showing the genetic relationship of Xinjiang No. 1 and nine species in *Fragaria*

3 讨论

绿色草莓广泛分布于欧洲，在亚洲东部（高加索）和中部（西伯利亚）也有分布。在

现代大果栽培种凤梨草莓诞生之前, 绿色草莓已在欧洲栽培了至少 150 多年。从地理位置看中国新疆天山山脉分布有绿色草莓是可能的, 而且是其分布的东界。作者通过植物学性状观察和 RAPD 分析鉴定肯定了中国新疆分布有绿色草莓。

绿色草莓的很多性状可以与相近种区别, 如匍匐茎上幼苗着生节位的方式为特殊类型, 即匍匐茎上从第二节开始每节均形成幼苗。目前已知草莓属中为此类匍匐茎的只有另外 5 个种: 西藏草莓、纤细草莓、五叶草莓、日本草莓和弗夷草莓^[14], 而森林草莓、黄毛草莓、饭沼草莓、锡金草莓、西南草莓、东方草莓、弗州草莓、智利草莓、卵形草莓及栽培种凤梨草莓等均为只有偶数节形成幼苗, 奇数节着生鳞状叶或抽生二次分枝, 不能形成幼苗; 绿色草莓的果实淡绿色, 即将开花时显露的花瓣也呈淡绿色, 这是绿色草莓所特有的性状; 此外, 其花序高于叶面, 花丝细长, 高于雌蕊, 果实圆形或扁圆形, 果很硬, 萼片大而紧贴, 脱萼难也是其重要的分类性状。

参考文献:

- 1 林凤起. 长白山小浆果资源. 作物品种资源, 1986, (1): 15~17
- 2 晁无疾, 钟 新. 秦巴山区野生草莓资源及其研究利用. 作物品种资源, 1998, (4): 15~18
- 3 雷家军, 杨 高, 代汉平, 等. 我国草莓野生种质资源. 果树科学, 1997, 14 (3): 198~200
- 4 中国科学院植物志编辑委员会. 中国植物志 (第 37 卷). 北京: 科学出版社, 1985. 350~357
- 5 俞德浚. 中国果树分类学. 北京: 农业出版社, 1979. 220~226
- 6 中国科学院新疆综合考察队, 中国科学院植物研究所. 新疆植被及其利用. 北京: 科学出版社, 1978. 133~134
- 7 Hu J G, Quiros C F. Identification of broccoli and cauliflower cultivars with RAPD markers. Res. Reports, 1991, 505~511
- 8 Koller B, Lehmann A, McDermott J M, et al. Identification of apple cultivars using RAPD markers. Theor. Appl. Genet., 1993, 85: 901~904
- 9 Graham J, McNicol R J, Gerig K, et al. Identification of red raspberry cultivars and assessment of their relatedness using fingerprints produced by random primers. J. Hort. Sci., 1994, 69 (1): 123~130
- 10 Greenwood M S, Hopper C A, Hutchison K W. Maturation in larch. Plant Physiol., 1989, 90: 406~412
- 11 Darrow, G. M. The strawberry-history, breeding and physiology. New York: Holt, Rinehart and Winston, 1966. 108~129
- 12 Hancock J F. Ecological genetics of natural strawberry species. HortScience, 1990, 25 (8): 869~871
- 13 Staut G. Taxonomic studies in the genus *Fragaria*. Can. J. Bot., 1962, 40: 869~886
- 14 Iwatsubo Y, Naruhashi N. Karyotypes of three species of *Fragaria*. (*Rosaceae*). Cytologia, 1989, 54: 493~497

Fragaria viridis Duch. Distributed in China was Certified by Classificatory Observation and RAPD Analysis

Lei Jiajun¹, Deng Mingqin¹, Wu Luping¹, T. Mochizuki², Y. Noguchi², and K. Sone²

(¹ Department of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110161; ² Kurume Branch, National Research Institute of Vegetables, Ornamental Plants and Tea, Fukuoka, 839, Japan)

Abstract: *Fragaria viridis* Duch., the green strawberry, was found in Tianshan Mountains, Xinjiang, Northwest of China, and was certified by observation of classificatory traits and RAPD analysis. The species of the strawberry genus *Fragaria* distributed in China would be up to 9 as for its addition. Compared to other species, the differential traits of *F. viridis* were: the runner belongs to one special type, that is, it bears a scaly leaf on only the first node of the runner (the node nearest to the mother stock) and the second and subsequent nodes have a normal leaf and adventitious roots; inflorescence is erect and higher than leaf level; the petals usually somewhat yellowish-greenish when opening, stamens are longer than in *F. vesca*; fruit is round or oblate, green, greenish-white to red (in the sun) when ripe and firm; calyx is clasping and hard to separate.

Key words: Strawberry; Green Strawberry (*Fragaria viridis* Duch.); Classification; RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA)