



草莓新品种京藏香茎尖组培快繁技术研究

杨波¹,赵宝龙²,孙军利²,刘莲玲¹

(1.石河子大学农学院,新疆石河子 832000;2.特色果蔬栽培生理与种质资源利用兵团重点实验室,新疆石河子 832000)

摘要:为加快草莓无病毒苗的推广应用,以我国自育草莓品种京藏香为试材,进行茎尖诱导萌发、继代增殖和生根培养不同激素种类和浓度的筛选研究,并采用 RT-PCR 检测其带病毒情况,对其脱毒效果进行评价。结果表明:适宜京藏香茎尖诱导萌发培养基为 $MS+0.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IAA}$,继代增殖培养基为 $MS+1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$,生根培养基为 $1/2\text{ MS}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}$;经病毒检测组培苗的轻型黄边病毒(SMYEV)和斑驳病毒(SMoV)的脱毒率为 100%;镶脉病毒(SVBV)的脱毒率为 82%,说明脱毒效果良好。

关键词:草莓;京藏香;组培;茎尖

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.),蔷薇科草莓属植物,属多年生草本植物,在园艺上属小浆果,其果实酸甜适口,营养丰富,被人们誉为“水果皇后”。近年来,随着我国园艺产业结构的调整,我国草莓种植业快速发展,我国草莓的栽培面积和总产量均居世界首位^[1]。在目前我国栽培的草莓品种中以日本品种居多,其次为欧美品种。日本品种口感好,品质佳,但耐贮性差、抗病能力差;欧美品种虽然果个大、硬度好,耐贮运性及抗病性好,但口味偏酸。京藏香是北京市农林科学院林业果树研究所美国品种早明亮(Earlibrite)为母本,以日本品种红颜(Benihoppe)为父本杂交选育的草莓新品种,2013 年底通过品种审定^[2]。京藏香在生产上具有早熟、高产、硬度大、颜色鲜艳、口感好、品质佳、耐储运和抗病虫能力强等优点。果树栽培于 2014 年引入京藏香,在石河子、塔城等多地进行引种观察,京藏香适合新疆地区大面积栽培以及适宜日光温室促成栽培。

草莓规模化生产及生产效益的高低取决于草莓种苗的数量及质量。目前草莓生产中主要依靠匍匐茎进行无性繁殖,在长期无性繁殖过程中很容易感染病毒并在植株内积累,造成草莓品种的植株矮化,匍匐茎减少,结果能力减弱,果实品质

变差,产量下降等种性退化,从而严重降低草莓的果实品质和栽培效益,且不能满足规模化生产的需求^[3]。草莓植物组织培养具有繁殖系数高、短时间内获得优质苗的优点。特别是茎尖培养,既可以有效脱除病毒,还可以加速繁殖优良品种,是草莓新品种快速繁殖推广的有效途径^[4-6]。

目前,有关草莓茎尖组培快繁技术研究已有很多报道^[7,8-16],但京藏香草莓种苗的茎尖组培快繁技术体系尚未建立,这势必会影响其推广。本试验利用京藏香草莓茎尖进行组培快繁研究,建立了京藏香茎尖组培快繁技术体系,旨在为该品种的无病毒苗的推广和应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为石河子大学农学院试验站栽培的京藏香草莓。2017 年 4 月,选择生长势一致的京藏香草莓植株进行病毒检测,发现有草莓斑驳病毒(Strawberry mottle virus,SMoV)、草莓轻型黄边病毒(Strawberry mild yellow edge virus,SMYEV)和草莓镶脉病毒(Strawberry vein banding virus,SVBV),没有发现草莓皱缩病毒病(Strawberry crinkle virus,SCV)。选取含有草莓斑驳病毒(Strawberry mottle virus,SMoV)、草莓轻型黄边病毒(Strawberry mild yellow edge virus,SMYEV)和草莓镶脉病毒(Strawberry vein banding virus,SVBV)复合侵染的京藏香草莓植株作为试材。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒及防褐化处理

2017 年 5

收稿日期:2018-02-01

基金项目:兵团技术转移专项资助项目(2014BD032);兵团科技特派员创新创业计划资助项目(2015CA011)。

第一作者简介:杨波(1992-),男,在读硕士,从事园艺果树学研究。E-mail:895928865@qq.com。

通讯作者:赵宝龙(1975-),男,硕士,副教授,从事园艺植物栽培与育种研究。E-mail:zblgrape@126.com。

月,从检测带毒的植株上剪取 4 cm 的匍匐茎茎尖带回实验室,用洗洁精清洗后再用自来水冲洗 1~2 h,在无菌室用 75% 酒精浸泡 30 s,立即用 30 ℃ 无菌水冲洗 3 次,用 0.1% 氯化汞浸泡 5 min,取出后用 30 ℃ 无菌水冲洗 3 次,再用 300 mg·L⁻¹ VC 浸泡 12 min^[17],取出后用无菌水冲洗 3 次,用吸水纸吸取茎尖表面水分后备用接种。

1.2.2 初代培养 把处理好的京藏香草莓茎尖在解剖镜下逐层剥去外层幼叶,直至露出类似子弹头半圆球形顶端分生组织,切取 0.4 mm 大小茎尖接种于装有诱导培养基的三角瓶(100 mL)内进行茎尖诱导萌发培养。基础培养基选用 MS 培养基,每升 MS 培养基中加入 30 g 蔗糖和 7 g 琼脂。根据添加的激素成分不同和浓度不同,设置了以下 6 个处理:(A1)MS+0.4 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(A2)MS+0.6 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(A3)MS+0.8 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(A4)MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(A5)MS+0.6 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IAA,(A6)MS+0.6 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IBA。

每种培养基接种 100 个茎尖,每瓶接种 1 个茎尖,3 次重复,(25±2)℃,暗培养 5 d;在(25±2)℃,1 500 lx 每天光照 12 h。接种 45 d 统计萌芽率、褐化率。

萌芽率(%)=萌芽瓶数/接种总瓶数×100;

褐化率(%)=褐化瓶数/接种总瓶数×100。

1.2.3 继代培养 把初代培养长势良好的丛生芽切块接种到继代增殖培养基上,每升 MS 培养基中加入 30 g 蔗糖和 7 g 琼脂。根据添加的 6-BA 浓度不同设 4 个处理:(B1)MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(B2)MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(B3)MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA,(B4)MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA。每个处理接种 30 瓶,重复 3 次,(25±2)℃下,2 000 lx 每天光照 12 h。每 7 d 记录 1 次增殖苗数,接种 30 d 后统计其增值系数、玻璃化率。

增值系数 = \sum 每瓶 [增殖后苗数(株)/增殖前苗数(株)]/重复总瓶数;

玻璃化率(%) = 玻璃化瓶数/接种总瓶

数×100。

1.2.4 生根培养 选取生长良好、玻璃化较小的丛生苗作为生根培养的材料,接种在生根培养基上,每升 1/2MS 培养基中加入 30 g 蔗糖和 7 g 琼脂,根据添加的激素成分不同设 4 个处理:(C1)1/2MS,(C2)1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA,(C3)1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ IAA,(C4)1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ IBA 每瓶接种 1 株,每个处理接种 25 瓶,重复 3 次,25 ℃ 暗培养 5 d 后在 2 000 lx 每天光照 12 h。接种 30 d 后统计生根率、平均根长和平均每株生根条数。

生根率(%) = 生根幼苗株数/接种总瓶数×100;

平均根长 = \sum 每瓶 (每条主根的长度/主根数)/重复总瓶数;

平均每株生根条数 = 总主根条数/接种总株数。

1.2.5 草莓主要病毒的检测 2017 年 11 月随机选取长势良好的(叶片嫩绿、三叶一心、株高在 8 cm 以上)组培苗 50 株,对其是否含有草莓斑驳病(Strawberry mottle virus,SMoV)、草莓轻型黄边病毒(Strawberry mild yellow edge virus,SMYEV)和草莓镶脉病毒(Strawberry vein banding virus,SVBV)进行检测。应用艾德莱公司 RN09-EASYspin 植物 RNA 快速提取试剂盒(RN0902)试剂盒提取草莓总 RNA。所提 RNA 通过 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测总 RNA 的完整性。采用艾德莱公司 PC18-TRUEscript 1st Strand cDNA Synthesis Kit(第一链反转录试剂盒)合成 cDNA,步骤参考说明书;反转录得到的 cDNA 作为模板,用含 Taq 酶的艾德莱 2 Taq PCR Master Mix 进行 PCR,引物、体系和反应程序参照已发表的文献^[18-20]。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对京藏香草莓茎尖诱导的效果

由表 1 可知,不同激素对比对京藏香草莓茎尖的诱导在成活率和褐化率上存在差异。从不同激素对比对不定芽诱导成活率来分析,处理 A1、A5 和 A6 效果优于处理 A2,显著优于处理 A3 和 A4;从不同激素对比对褐化率的影响来分析,处理 A3 褐化率最低,处理 A1 最高,其它处理均处

于两者之间。处理 A3 褐化率显著低于处理 A1, 但处理 A3 与 A2、A6、A4、A5 差异不显著; 处理 A1 褐化率最高且处理 A1 与 A2、A6、A4、A5 差异不显著, 处理 A1 略有愈伤组织, 丛芽略偏黄。

表 1 不同激素处理对初代培养茎尖的诱导

Table 1 Induction of stem tip of primary culture by different hormone treatments

处理 Treatments	培养基 Medium	成活率/% Survival rate	褐化率/% Browning rate	生长表现 Growth performance
A1	MS+0.4 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	68 a	16 a	略有愈伤组织, 丛芽略偏黄
A2	MS+0.6 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	65 ab	12 ab	芽长势良好
A3	MS+0.8 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	61 b	10 b	芽长势良好
A4	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	56 c	14 ab	生芽后略有玻璃化
A5	MS+0.6 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ IAA	68 a	14 ab	芽长势良好
A6	MS+0.6 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ IBA	67 a	13 ab	芽长势良好

同列不同小写字母代表 0.05 水平差异显著, 下同。
Different lowercase in the same line indicate significant difference at 0.05 level, the same below.

2.2 不同浓度 6-BA 处理对继代培养不定芽增殖系数及生长的影响

由表 2 可知, 在京藏香草莓茎尖继代培养过程中, 在 NAA 为 0.1 mg·L⁻¹ 的情况下, 6-BA 的浓度的变化对不定芽的增殖系数和玻璃化率影响比较显著。随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽的增殖系数增大, 处理 B4 显著高于其它 3 个处理, 处理 B3 显著高于处理 B1、B2; 处理 B1 和处理 B2 之间差异不显著。随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽发生玻璃化率增大。处理 B4 显著高于其它 3 个处理, 处理 B3 的玻璃化率高于处理 B2, 但没有达到显著水平; 处理 B3 的玻璃化率显著高于处理 B1; 从不定芽生长情况看, 处理 B3 的生长势良好, 而处理 B1、处理 B2 存在着生长势偏弱, 处理 B4 存在着叶片脆、畸形叶的现象。综合不定芽的增殖系数、玻璃化率及生长表现, 在京藏香草莓茎

尖培养中, 处理 A5 (MS+0.6 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IAA) 成活率高、褐化率较低且丛芽长势好, 是 6 个处理中最适合作为京藏香茎尖诱导培养的培养基。

尖培养中, 处理 B3 (MS+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA) 培养基的培养效果最好, 适合作为京藏香继代培养的培养基。

2.3 不同激素处理对丛生苗生根的影响

如表 3 可知, 不同激素处理对京藏香草莓生根培养在生根率、平均根长和平均每株生根条数上存在差异。添加外源激素的生根率优于不加外源激素的培养基, 处理 C2 生根率最高, 平均每株生根条数也最多, 但平均根长不及 C3, 且根褐化老化; 处理 C3 平均根长最长, 但生根率和平均每株生根条数均低于 C4, 且根细长; 处理 C4 生根率略低于 C2, 但差异不显著, 处理 C4 平均根长略长于 C2, 处理 C2 根褐化老化; 处理 C4 与 C3 在生根率和平均每株生根条数上差异不显著, 但 C4 长势良好、根粗。所以最适合作为京藏香生根培养的培养基为: 1/2MS+0.1 mg·L⁻¹ IBA。

表 2 不同浓度 6-BA 处理对继不定芽增殖的影响

Table 2 Effects of different concentrations of 6-BA on the proliferation of the successive bud

处理 Treatments	培养基 Medium	增殖系数 Growth coefficient	玻璃化率/% Rate of vitrification	生长表现 Growth performance
B1	MS+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	6.94 c	1 c	长势偏弱
B2	MS+1.0 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	7.06 c	3 bc	长势略偏弱
B3	MS+1.5 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	7.25 b	6 b	长势良好, 叶嫩绿
B4	MS+2.0 mg·L ⁻¹ 6-BA +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	7.70 a	10 a	叶脆、略有畸形叶

2.4 脱毒效果

应用艾德莱公司 RN0902 总 RNA 提取试剂盒提取草莓总 RNA 如图 1 所示。根据已发表的文献上引物和反应程序,扩增的草莓轻型黄边病毒(271 bp)、草莓斑驳病毒(394 bp)和草莓镶脉病毒(574 bp),扩增条带如图 2 所示。对目的片段进行回收测序,测序结果在 GenBack 中进行相似性比对,序列结果显示与 NCBI 上已上传的 SMoV、SMYEV 和 SVBV 序列相似性分别为

93%、94%和 95%,说明 PCR 扩增目标片段为相应的病毒基因片段。选取的 50 株草莓组培苗经病毒检测,轻型黄边病毒(SMYEV)和斑驳病毒(SMoV)全部脱除;镶脉病毒(SVBV)仅有 9 株草莓组培苗未脱除。京藏香茎尖组培苗的轻型黄边病毒(SMYEV)和斑驳病毒(SMoV)的脱毒率为 100%;镶脉病毒(SVBV)的脱毒率为 82%,说明脱毒效果良好(表 4)。镶脉病是一种 DNA 病毒病,也表明草莓 DNA 病毒比较稳定不宜脱除。

表 3 不同激素处理对丛生苗生根的影响

Table 3 Effects of different hormone treatments on the rooting of tufted seedlings

处理 Treatments	培养基 Medium	生根率/% Rooting rate	平均根长/cm Root length	平均每株生根数/条 Average number of roots per plant	生长表现 Growth performance
C1	1/2 MS	54.68 c	2.13 c	4.33 c	苗小、根短
C2	1/2 MS +0.1 mg·L ⁻¹ NAA	96.00 a	4.27 b	12.67 a	根褐化老化
C3	1/2 MS +0.1 mg·L ⁻¹ IAA	81.32 b	5.03 a	9.33 b	根细长
C4	1/2 MS +0.1 mg·L ⁻¹ IBA	89.32 ab	4.53 b	10.33 ab	长势良好、根粗

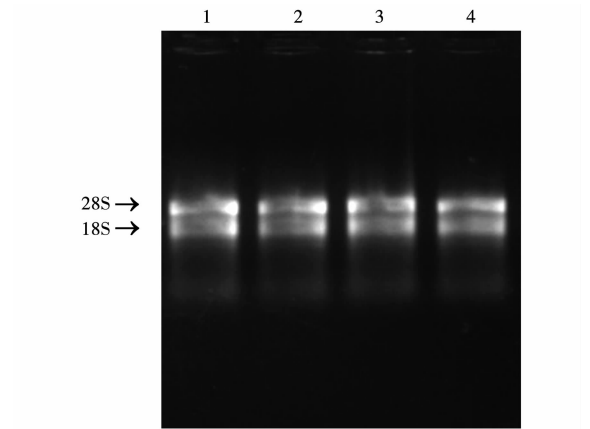


图 1 草莓组培苗叶片总 RNA

Fig. 1 Total RNA of strawberry tissue culture

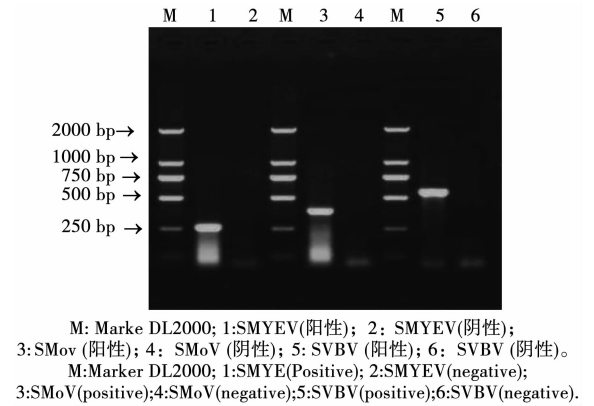


图 2 PCR 检测草莓斑驳病、草莓轻型黄变病和草莓镶脉病的阴、阳性对照

Fig. 2 The negative and positive contrast of SMYEV, SMoV and SVBV

表 4 草莓品种京藏香组培脱毒效果

Table 4 Effects of virus-free strawberry variety Jingzangxiang by tissue culture

处理 Treatments	检测组培苗 株数/株 Number of seedlings detected	病毒脱除株 数/株 Number of virus removal plant	病毒脱 除率/% Virus removal rate
轻型黄边病毒 SMYEV	50	50	100
斑驳病毒 SMoV	50	50	100
镶脉病毒 SVBV	50	41	82

3 讨论与结论

MS 培养基中附加 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA 和 0.1 mg·L⁻¹ NAA 作为草莓茎尖初代培养的培养基,夏瑾等^[4]以江苏省农业科学院园艺研究所 2010 年选育的宁玉为试验材料,最高萌芽率为 96%;罗静静^[21]以山东农业大学 2005 年选出的妙香 7 号为试验材料,最高萌芽率为 67%,同样的培养基配方,不同的品种萌芽率不同,说明品种不同最适合的初代培养基激素配比也不同。本试验以京藏香匍匐茎茎尖为试材,MS 培养基中附

加 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 萌芽效果最好, 萌芽率为 68%。翟婷婷^[22] 以丰香和章姬为试验材料, 相同培养条件下, 适合丰香的继代培养基为: $\text{MS} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, 适合章姬的继代培养基为 $\text{MS} + 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, 品种不一样, 适合的继代培养基中添加的外源激素浓度也不一样; 6-BA 浓度越高增殖系数越高, 但 6-BA 浓度越高玻璃化现象严重, 这与付崇毅等^[17]、胡颖^[23] 关于草莓继代培养研究一致。本试验以经过初代培养的京藏香丛生芽为试验材料, 最适合继代增殖培养的培养基为 $\text{MS} + 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。在草莓生根培养过程中大多研究以 $1/2 \text{ MS}$ 培养基为基础培养基, 翟婷婷等^[22] 以丰香和章姬为试验材料, $1/2 \text{ MS}$ 培养基中附加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 生根效果最优; 夏瑾等^[4] 以宁玉为试验材料, $1/2 \text{ MS}$ 培养基中附加 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 生根效果最优, 说明品种不同最适合的生根培养基激素配比也不同。本试验以经过继代培养的京藏香丛生苗为试验材料, 最适合其继代增殖培养的培养基为 $1/2 \text{ MS}$ 培养基中附加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA。

京藏香是我国自育品种, 在历次草莓文化节草莓评比中获得金奖, 在新疆设施、露地种植都表现良好。本试验以京藏香草莓茎尖作为组培快繁材料, 旨在建立一套京藏香草莓脱毒快繁体系。结果表明最适合京藏香初代培养的培养基为 MS 培养基中附加 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA, 其萌芽率为 68%; 最适合京藏香继代培养的培养基为 MS 培养基中附加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA; 最适合京藏香生根培养的培养基为 $1/2 \text{ MS}$ 培养基中附加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA。经过最适京藏香初代、继代和生根培养获得的草莓组培苗, 通过病毒病检测试验表明, 该茎尖组培体系脱毒效果良好。

参考文献:

- [1] 农业部. 2015 年全国各地蔬菜、西瓜、甜瓜、草莓、马铃薯播种面积和产量[J]. 中国蔬菜, 2017(1): 18.
- [2] 张运涛, 王桂霞, 常琳琳, 等. 草莓新品种‘京藏香’的选育[C]//张运涛, 雷家军. 草莓研究进展(IV). 北京: 中国农

业出版社, 2015.

- [3] 高山林. 草莓改良热处理分生组织脱病毒技术及脱病毒苗的应用[J]. 江苏农业科学, 1999(3): 63-64.
- [4] 夏瑾, 赵密珍, 孟宪凤, 宁玉. 草莓茎尖组培快繁技术研究[J]. 江西农业学报, 2014(3): 16-17.
- [5] 陈晓流, 崔美, 陈学森, 等. 草莓新品系妙紫的组培快繁技术研究[J]. 山东农业科学, 2012, 44(5): 17-19.
- [6] 董敬超. “红颜”草莓茎尖组织培养快繁技术研究[J]. 北方园艺, 2013(24): 106-108.
- [8] 晁慧娟, 刘敏, 姬谦龙, 等. ‘红颜’草莓茎尖培养与快速繁殖[J]. 北京农学院学报, 2009, 24(4): 14-16.
- [9] 甘文娟. ‘红颜’和‘石莓 7 号’草莓茎尖培养快速繁殖[D]. 保定: 河北农业大学, 2015.
- [10] 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.
- [11] 潘超, 黄文江, 张小平, 等. 草莓的组织培养与快速繁殖研究[J]. 生物学杂志, 2005, 22(2): 27-29.
- [12] 祁玮. 草莓茎尖的组织培养技术[J]. 沈阳农业大学学报, 1995(2): 142-145.
- [13] 何欢乐, 阳静, 蔡润, 等. 草莓茎尖培养快繁体系研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2003, 21(S1): 61-65.
- [14] 于非. 草莓茎尖组织培养快繁体系的建立[J]. 中国园艺文摘, 2017, 33(5): 13-14.
- [15] 穆廷云. 红颜草莓茎尖培养快繁技术研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2014.
- [16] 孙永平, 高年春, 张琼, 等. 红颜草莓组培快繁技术研究[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(5): 63-64.
- [17] 付崇毅, 姜伟, 王建国, 等. 草莓茎尖组织培养防褐化及玻璃化研究[J]. 北方农业学报, 2016, 44(3): 46-51.
- [18] Thompson J R, Wetzel S, Klerks M M, et al. Multiplex RT-PCR detection of four aphid-borne strawberry viruses in *Fragaria* spp. in combination with a plant mRNA specific internal control[J]. Journal of Virological Methods, 2003, 111(2): 85.
- [19] 朱海生, 花秀凤, 陈敏氢, 等. 四种草莓病毒 SMoV、SVBV、SCV、SMYEV 多重 RT-PCR 检测[J]. 核农学报, 2013, 27(11): 1630-1635.
- [20] 周厚成, 李思源, 何水涛, 等. 草莓镶脉病毒的 PCR 检测及特异片段的序列分析[J]. 果树学报, 2005, 22(3): 286-288.
- [21] 罗静静, 张亚飞, 彭福田. ‘妙香 7 号’草莓茎尖培养及其效果评价[J]. 中国果树, 2016(5): 57-60.
- [22] 翟婷婷, 屈海泳, 刘成连, 等. 草莓快速繁殖体系的建立[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(19): 4859-4861.
- [23] 胡颖. 草莓玻璃化苗的分析[J]. 吉林农业, 2016(15): 91.



嘉定白蒜的病毒检测

李 贤¹, 张爱冬¹, 朱宗文¹, 吴雪霞¹, 查丁石¹, 高 畅²

(1. 上海市农业科学院 园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403; 2. 上海蔬菜研究所, 上海 201899)

摘要:为明确嘉定白蒜在种植区的病毒情况,从嘉定白蒜两个种植基地采样,分别提取总 RNA,然后反转录。采用 RT-PCR 方法检测洋葱黄矮病毒(OYDV)和大蒜普通潜隐病毒(GCLV)。结果表明:根据 GCLV 中间保守序列设计 3 对特异性引物,在两处样品中均分别扩增到 300、710 和 450 bp 片断。将其中 450 bp 片断克隆后测序。测序结果与 GenBank 上的 GCLV 基因序列比对,发现其同源性达到 95%。由此确认嘉定白蒜中含有 GCLV。根据 OYDV 中间保守序列设计 5 对引物,在两处样品中均未扩增到可检测的片断,表明嘉定白蒜中不含 OYDV。

关键词:嘉定白蒜; RT-PCR; 大蒜普通潜隐病毒; 洋葱黄矮病毒

嘉定白蒜是指最早在上海市嘉定区生产的大蒜(*Allium sativum* L.),具有色泽白、蒜头肥大、肉质脆嫩、辛辣味浓郁、耐久储藏等独有的特点,是上海蔬菜地方特色品种之一,也是我国大蒜出口历史长、出口量大的重要品种,享誉日本等东南亚国家,也曾经为当地农民的增产创收发挥重要

作用。但是,近 20 年来,嘉定大蒜的种植和出口每况愈下。究其原因,由于无性繁殖,病毒感染和逐代积累,造成种性退化,蒜头质量下降,符合出口标准的蒜头比例低。解决种性退化最有效的手段是脱毒。通过茎尖培养等脱毒技术获得脱毒苗,由此获得脱毒原种和生产种。上海市农委为此设立旨在恢复嘉定白蒜种性的脱毒、快繁产业化示范的项目。迄今发现,我国大蒜病毒病至少有 4 种,包括韭葱黄条病毒(LYSV)、洋葱黄矮病毒(OYDV)、大蒜潜隐病毒(GLV)和大蒜普通潜隐病毒(GCLV),华北、东北和西北大蒜都有相关病毒检测报道^[1-4]。但针对嘉定白蒜的病毒检测工作尚未见正式报道。

收稿日期:2018-02-08

基金项目:上海市种业发展资助项目(沪农科种字 2016 第 1-11 号)。

第一作者简介:李贤(1962-),男,博士,副研究员,从事蔬菜生物技术研究。E-mail:Xianlisiwei@163.com。

通讯作者:查丁石(1966-),男,博士,研究员,从事蔬菜育种及生物技术研究。E-mail:dingshizha@aliyun.com。

Study on Stem-tip Tissue Culture and Rapid Propagation Techniques of New Strawberry Cultivar Jingzangxiang

YANG Bo¹, ZHAO Bao-long², SUN Jun-li², LIU Lian-ling¹

(1. College of Agronomy, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 2. The Corps Key Laboratory of the Cultivation Physiology and Germplasm Resources Utilization of Characteristic Fruits and Vegetables, Shihezi 832000, China)

Abstract: In order to accelerate the application of strawberry virus-free seedling, this experiment chose Chinese self-bred strawberry variety Jingzangxiang as material, we analyzed the selection of different types and concentrations of different hormones in stem tip induced germination, secondary appreciation and rooting culture, and detected the virus condition by RT-PCR and evaluated its detoxification effect. The results showed that the suitable medium for Jingzangxiang shoot tip induction was MS+0.6 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IAA, the subculture medium was MS+1.2 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA, and the rooting medium was 1/2 MS+0.1 mg·L⁻¹ IBA. The detoxification rate of the SMYEV and the SMoV was all 100%, and the detoxification rate of the SVBV was 82%, indicated that the detoxification effect was good.

Keywords: strawberry; Jingzangxiang; tissue culture; stem tip