

草莓病毒病及无病毒苗木的生产

张青¹, 贾宗凯², 孙万河¹, 孙岩¹, 谭永君¹

(1. 辽宁省果树科学研究所无毒苗中心, 熊岳 115214; 2. 河北省林业厅林业种子站)

摘要: 世界上已知的可在草莓上发生的病毒病有 20 多种, 在我国生产上常见的有 4 种, 由于病毒的侵染致使草莓生产区病毒病危害日趋严重, 导致草莓果实小, 品质差、产量低, 严重阻碍了草莓的发展。近几年来, 我们采用热处理, 结合小茎尖培养的无病毒草莓苗, 通过在辽宁、吉林、黑龙江等 7 省 12 市的试栽, 表现为产量高、果个大、品质好, 克服了普通草莓苗的缺点。

关键词: 草莓; 病毒病; 无毒苗; 生产

中图分类号: S668. 436. 68 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2000)02-0044-02



第一作者简介 张青, 女, 1995 年毕业于沈阳农业大学, 分配至辽宁省果树科学研究所工作, 现任无病毒苗木中心主任, 主持研究辽宁省科委、营口市科委科研项目各一项。

1 草莓的病毒病害

世界上已知的可在草莓上发生的病毒病有 20 余种, 它们是: 草莓皱缩病毒 (SCrV)、草莓潜隐病毒 C (SLOV)、草莓轻型黄边病毒 (SMYEV)、草莓斑驳病毒 (SMOV)、草莓拟轻型黄边病毒 (SPMYEV)、草莓镶脉病毒 (SVBV)、翠绿黄化病、南芥等长叶病毒 (ArMV)、草莓绿瓣病 (MLOs)、草莓致死性衰弱病 (SLDV)、草莓类菌原体黄化病、草莓类立克次体黄化病、草莓环斑病毒、草莓潜隐环斑病毒、番茄黑环病毒 (ToBRV)、番茄环斑病毒、烟草坏死病毒 (ToNV)、草莓褪绿斑点病毒 (SCFV)、草莓卷叶病 (SLRV)、草莓丛枝病 (MLOs)、草莓畸变病、草莓蕨叶病、草莓黄叶病、草莓苍叶病、草莓坏死休克病 (其中的主要种类在世界各地广为分布, 而大多数只在局部地区有发生。在我国已造成损失的主要有草莓斑驳病毒、草莓镶脉病毒、草莓轻型黄边病毒、草莓皱缩病毒等 4 种)。

1.1 草莓轻型黄边病 (Strawberry mild yellowedge Virus)

①分布: 该病在世界范围内广为分布, 主要发生于北美、欧洲、新西兰、日本。②症状: 轻型黄边病单独侵染栽

培品种时, 无明显症状。仅使病株轻微矮化, 与其它病毒复合侵染时, 引起黄化和叶缘失绿。③指示植物症状: 该病毒在林丛草莓 UC6 上无症状, 在 EMC、UC5 上, 弱毒株系侵染时, 幼叶产生褪绿黄斑, 叶片边缘失绿或卷曲呈杯状, 植株长势衰退或矮化。强毒株系侵染, 幼叶反卷、产生褪绿黄斑。成熟叶片产生坏死条斑或叶脉坏死、扭曲、致整个叶片枯死。叶柄缩短, 植株矮化, 严重时全株枯死。④侵染途径: 通过蚜虫、嫁接传染。传毒蚜虫主要有草莓钉毛蚜、托马斯毛管蚜、长毛管蚜、小毛管蚜和蔷薇长管蚜。在我省桃蚜, 为该病毒主要传播媒介。⑤病原: 草莓轻型黄边病为球状病毒粒体, 直径为 23 nm。

1.2 草莓镶脉病 (Strawberry vein Banding Virus)

①分布: 此病早期主要分布在美国、加拿大, 以后随草莓的引种传播到澳大利亚、巴西、日本和欧洲各国。②症状: 草莓镶脉病毒单独侵染栽培种草莓时, 无明显症状。但对草莓的生长和结果有影响。降低繁殖系数 21%, 减产 13%~27%。与斑驳病毒复合侵染后, 病株叶片皱缩、扭曲、植株极度矮化。③指示植物症状: 在 UC6 和 UC12 上, 表现为小叶向背面反卷, 植株矮化。镶脉病毒与皱缩病毒复合侵染时, 卷叶症状加重。发病初期, 病叶沿主脉及次脉产生褪绿条斑, 之后形成黄色纹或条斑。发生在成熟叶片上, 网脉变黑或坏死, 脉间组织褪绿或坏死。后期部分或全部枯死。④传播途径: 草莓镶脉病毒主要由蚜虫传播, 嫁接和菟丝子也能传染。但不能汁液传染, 主要传染的蚜虫有草莓钉毛蚜、托马斯毛管蚜。⑤病原: 草莓镶脉病毒是长椰等叶病毒之一, 病毒粒体球形, 直径 40~50 nm。

1.3 草莓皱缩病毒 (Strawberry Crinkle Virus)

①分布: 该病在世界各地广为分布, 主要发生于北

稿件修回日期: 1999-12-10

美洲、欧洲、南非、澳大利亚和日本。②症状:草莓皱缩病的症状因病毒株系及寄主类型不同而表现各异。有些品种即使感染弱毒系也能明显地表现症状。在感病品种上表现的典型性状为叶片畸形,叶面产生褪绿斑,叶脉褪绿或透明。幼叶生长不对称、扭曲及皱缩、小叶黄化、叶柄缩短、叶片变小、植株矮化。③指示植物症状:在林丛草莓 UC5 和深红草莓 UC12 上,叶片产生褪绿斑,叶片大小不等,扭曲变形,叶柄上产生褐色或黑色坏死斑。花瓣上产生暗色条纹及坏死条斑。④传播途径:草莓皱缩病主要由蚜虫传播,也可以通过嫁接传播,但不能通过汁液传染,主要传毒蚜虫的草莓钉毛蚜。⑤病原:草莓皱缩病毒尚未分离纯化,其理化及血清学特性不详。

1.4 草莓斑驳病毒(Strawberry mottle Virus)

①分布:该病毒分布极广,世界上凡是有草莓栽培的地方,几乎都有分布。②症状:草莓斑驳病毒单独侵染时,在栽培品种上不表现任何症状。③指示植物症状:弱毒系侵染 UC1 时,病株叶片出现黄白色不整齐褪绿斑驳,强毒株系侵染时,病株矮化,叶片变小、扭曲,呈丛簇状,叶脉透明,脉序混乱。在林丛草莓 EMC 上发病较重,叶片卷曲,幼叶生长不对称,褪绿。强毒株系可致数片小叶死亡,但后期仅叶柄变红,慢性症状包括弱毒系导致植株生长衰弱,严重矮化,叶片变小。④传染途径:草莓斑驳病主要靠蚜虫传播,其次也通过嫁接、菟丝子和汁液传播。世界各地报道的传毒蚜虫共有 12 种,其中主要有草莓钉毛蚜、托马斯毛管蚜和小毛管蚜。⑤病原:在感染草莓斑驳病毒的林丛草莓叶片中,超薄切片电镜观察到球状病毒体,直径为 25~30mm,但该病毒至今尚未能分离提纯,其理化特性不明。

2 病毒病对草莓生育状况的影响

经过科研工作者多年的调查研究,明确了病毒病对草莓生长和发育的影响。同时,在草莓生产的老区,随着栽培年限的延长,病毒病的危害越来越重,造成严重的减产和减收,甚至绝收。所以广大果农也对草莓的病毒病有了一定的认识。

2.1 对草莓生长的影响

病毒病的危害首先是抑制草莓的生长势。感染了病毒的成苗比无病毒的同品种成苗株高低 12.6%~62%。王国平等对春香、宝交、红岗和索菲娅 4 个品种研究结果:感毒苗比健苗矮 17.8%~46.2%,叶面积小 2.6%~67.2%,叶柄短 14.5%~41.9%。辽宁省果树所连续两年对费杰尼亚、玛利亚、丰香、宝交早生等四个品种染毒苗和无病毒苗进行了调查,各品种无毒苗相应对照株高分别高 19.2%、32.4%、37.5%、62.2%。叶面积相应比对照大:11.1%、37.2%、32.1%、37.5%。叶柄相应对照分别长 14.2%、30.3%、34.3%、54.1%。经过调查发现,无病毒草莓苗生长势旺,叶色浓绿,叶面光滑对称,分蘖量大,根系发达强健,整个生长势明显优于染毒苗。

2.2 对产量和品质的影响

据日本静岗农业实验站报道,宝交早生、春香、芳玉等 5 个品种由于病毒病造成的减产幅度达 17%~44%。中国果树所王国平等对春香、宝交等 4 个品种的调查表明,健株比病株增产 7.8%~45.1%,可溶性固形物含量多 3.8%。几种病毒影响情况见下表:

	减产幅度	可溶性固形物 含量降低幅度	单果重降低 幅度
草莓轻型黄边病 SMYEV	—	1.2%	—
草莓镶脉病 SVBV	12.1%	2.8%	20.1%
草莓皱缩病 SCrV	35%~40%	4.2%	23%~28%
草莓斑驳病 SMoV	21%~27%	3.8%	20%~24%

经过辽宁省果树所 2 年来对目前辽宁省的主栽品种费杰尼亚、马利亚、丰香、宝交早生等四个品种的调查表明,其感毒率分别为 27.4%、68%、33%、72.5%。而且两种以上病毒同时感染的比率也很高,由此造成的减产全省达 20 万 t,直接经济损失 8 亿元。

感染病毒的植株,果实畸形率高,平均单果重小,含糖量低,风味差,果实表面光泽度低,易感病。贮藏和运输性都有不同程度降低。

2.3 对繁殖率及栽植成活率的影响

1998 年在东港市马家岗乡调查本地的弗杰尼亚、玛利亚、丰香、宝交早生的繁殖系数及辽宁省果树所培育的无病毒苗的繁殖情况见下表。从表中可以看出,同一块繁殖地,品种相同,而由于采用染毒和无毒的不同种苗,无病毒苗产生的子苗无论从质量上还是数量上都远远优于染毒苗。

	繁殖系数	株繁合格苗数 (株)	株繁优质苗数 (株)
弗杰尼亚(染)	70	42	28
弗杰尼亚(无)	180	114	66
玛利亚(染)	37	20	18
玛利亚(无)	64	48	39
丰香(染)	52	40	27
丰香(无)	96	71	45
宝交早生(染)	46	39	27
宝交早生(无)	85	62	47

1998 年 9 月 5 日,定植于阜新市政府农场的无毒一代扩繁苗成活率为 98%,而 1997 年 9 月 1 日定植于同一个棚的染毒苗成活率仅为 62%。定植于鸡西市城子河区长青乡的无毒一代扩繁苗成活率为 95%,而同期由外地引入的普通苗成活率仅为 70%。

3 无病毒苗的产业化生产

由于无病毒苗的生产上表现的优势极为显著,所以在世界各国引起了普遍重视。1974 年,比利时的 Belge Boxus 第一个建立起了实验室草莓试管体系,随后法国、美国、英国、荷兰、以色列和日本先后发展了离体繁殖原

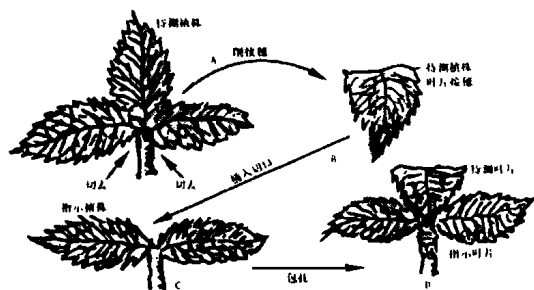
种苗的工作,并逐渐形成了产业化。我国70年代末期开展了草莓脱病毒的研究工作,并已初步形成产业化生产机制。但真正应用到生产实践中直接服务于生产的脱毒原种却微乎其微,建立起面向生产的草莓脱毒苗生产体系主要需以下三个方面要素。

3.1 成功的病毒检测

能够准确的完成病毒检测是生产脱毒原种苗的关键技术,只有确定了种苗确实是无病毒苗,才能在生产上表现突出的优势。目前主要的草莓病毒病鉴定技术为:指示植物鉴定,电子显微镜鉴定,血清酶联免疫测定法。

3.1.1 指示植物鉴定法 用于检测草莓病毒病的指示植物是 EMC 系, VC 系, UC 系等。EMC 系是英国东茂林试验站从欧洲草莓选出的敏感型指示植物,对斑驳病毒感染性强,对皱缩病毒轻型黄边病毒也出现病状。UC 系是由 Frazier 选育出的指示植物,有一系列型号,常用的是 UC3、UC4、UC5 其生长势都比 EMC 旺盛,嫁接容易。嫁接后要保湿一周,待嫁接叶片成活后进行持续观察,将其症状与指示植物表现病毒侵染症状对照,即可确定病害类型。

3.1.2 电子显微镜鉴定 用电子显微镜鉴定比小叶嫁接的指示植物鉴定法直观,且速度快。主要方法是用负染法和超薄切片法处理被测叶,然后分别在 15000、20000、30000 倍下观察,即可清楚看到细胞核及细胞质中是否有病毒粒子。但电子显微镜检测也存在一定问题:一方面球形、长形的病毒粒子很容易与细胞中的细胞器混淆。另一方面,如病毒粒子浓度低,则不易被观察到。



野生草莓小叶嫁接法示意图

3.1.3 血清酶联免疫测定法 这是近年来发展应用于鉴定植物病毒的新方法,它灵敏度高,方法简便。但目前草莓的病毒分离提纯还有一定困难,尚处于研究阶段。

3.2 建立脱毒试管苗体系

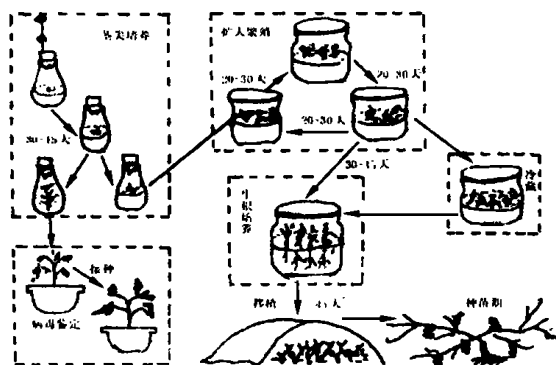
目前国内外普遍采用的草莓脱毒技术方法主要有:热处理脱病毒、小茎尖分生组织培养脱病毒、花药培养脱病毒、热处理结合小茎尖培养脱病毒、叶片和叶柄的培养脱病毒。目前我们主要采用的是热处理结合小茎尖培养脱毒。

首先将试材在 38℃ 恒温处理 40d,将经过热处理的材料剥去外层大叶,在自来水下冲洗 2~8h,然后在超净

工作台上对材料进行表面消毒。用 70% 的酒精漂洗一下,再用 0.1% 的升汞浸泡 6~10min,用无菌水浸泡并冲洗 3 次,然后置于双筒解剖镜下,一层层剥去幼叶和鳞片,然后露出生长点,取 0.2~0.3mm 的生长点接种到草莓茎尖分化培养基上 (MS+BA 0.5~1.0mg/L+GA₃ 0.2~0.5mg/L, pH 5.8),将接种好的培养基置于 25℃ 光照强度为 1500lx 的培养室中培养。35~40d 即可分化出丛生的草莓芽丛。对丛生的草莓芽丛进行继代培养即可获得草莓试管苗体系,继代培养基为 MS+BA 0.5~1.0mg/L+GA₃ 0.1~0.5mg/L。

3.3 试管苗诱导生根及大规模移栽技术

经过继代,形成规模之后即可转入生根培养基中,诱导生根。生根培养基为 MS+IBA 0.1~0.3mg/L 转入生根培养基中的试管苗经过 10~15d 即可诱发 6~10 条粗壮的新根。生根的试管苗移至温室,在自然光条件下炼苗 2~4d,然后解开瓶口,让试管苗直接与空气接触,适应外界环境。1d 之后即可洗净根部培养基,栽植于沙壤土中,温度以 15~20℃ 为宜,湿度为 80%~100%。移栽后要加盖塑料膜覆盖 2 周。根据土壤情况进行浇灌,不可过干或过湿,以免失水死亡或湿度太大腐烂。试管苗一般驯化在 2~3 个月后即可移至大田栽培。这就是无病毒原种苗的母株,可做进一步繁殖用。



草莓苗商业性生产程序示意图

由于草莓休眠期短,极适合于温室栽培,采收时间一般在每年的 10 月到次年 5 月份,这期间正值鲜果生产淡季,所以种植草莓的效益可达 2~5 万元/667m²。目前全国草莓栽培面积已达 4.7 万 hm²。但由于病毒病的危害,致使果农在栽培过程中效益下滑,甚至绝收。由于病毒病侵染,全国草莓年减产 35 万 t,直接经济损失 30 亿。草莓生产必需达到无毒化,只有这样才能使草莓这一产业得到健康的发展。达到这一目标必须使政府的投入和科研部门技术成果相结合,实现草莓苗生产的产业化,以满足生产需要。

参考文献

- 1 邓明琴等. 草莓科研文选 [M].
- 2 王国平等. 苹果葡萄草莓病毒病与无病毒栽培.
- 3 曹汝义等著. 实用植物组织培养技术教程 [M].