

园艺植物病毒脱毒技术研究进展

陈泽雄

摘要: 园艺植物在长期营养繁殖过程中易感染各种病毒病害, 严重威胁了园艺植物的生长发育, 降低经济价值, 目前世界各国对病毒病害的研究和防治都极为重视。通过全面总结园艺植物病毒脱毒原理及常见方法, 为提高园艺植物的品质与产量提供参考。

关键词: 病毒; 脱毒; 研究进展

中图分类号: S 432.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0058-03

病毒病害影响着大多数园艺植物的生长发育, 特别是通过嫁接、扦插、根繁等常规无性繁殖的植物, 使得多种病毒不断扩散蔓延, 严重制约着农林生产, 造成了巨大的经济损失。

目前尚未找到一种防治病毒病害十分有效的化学药品, 因此培育无病毒植株已成为当前解决病毒病害问题的首选。国外的许多果树花卉等作物都已实现无毒化栽培, 并由此产生了巨大的经济效益。

1 脱毒机理

病毒对园艺植物危害日益严重, 世界各国对病毒病害的研究和防治都极为重视, 并取得了一些成功的经验。目前, 获得脱毒苗的基本方法有热处理、组织培养、茎尖微芽嫁接和化学处理。不同脱毒方法依据的原理也有所不同。

1.1 热处理脱毒机理

热处理脱毒, 是利用病毒和植物细胞对高温忍耐性不同, 选择适当的温度处理感病植株^[1], 控制病毒扩散和抑制病毒增殖, 使植物体内的病毒钝化和失活, 而植物细胞本身存活。细胞生长速度加快, 超过病毒的扩散速度, 得到一小部分不含病毒植物分生组织从而起到脱除病毒的作用^[2]。

1.2 组织培养脱毒机理

园艺植物某些营养器官或组织如茎尖、花粉、花药、珠心胚等有不带或少带病毒的特点^[3]。因为这些组织和器官内部不存在维管系统, 通过维管系统在体内移动的病毒不能到达; 茎尖分生组织内源生长素含量较高, 对病毒有钝化作用; 另一方面, 分生组织细胞分裂速度超过病毒的复制速度。

愈伤组织培养获得脱毒植株则可能是因为感染病毒的愈伤组织内还存在着部分无病毒的细胞^[4], 或者是因为感染病毒的愈伤组织中出现了新的无病毒细胞, 或是由于愈伤组织培养中细胞间的联系减少, 且缺乏输导组织, 无病毒细胞可避免病毒的侵染而生长成簇状。

原生质体培养脱毒可能与愈伤组织培养的情况相同, 是由于病毒不能有均等的机会侵染每一个细胞, 因此从感病的外植体中分离出健全部分原生质体进行培养, 再由原生质体作为原始材料可获得无毒植株。

1.3 茎尖微芽嫁接脱毒机理

茎尖微芽嫁接是利用植株的茎尖作为接穗与离体培养的实生砧木嫁接获得无病毒苗木的一种脱毒方法^[5], 其原理与茎尖分生组织培养获得脱毒苗木的原理相同, 目前在多种果树及蔬菜上成功应用。

1.4 化学药剂脱毒机理

不少化学药剂能够在不同程度上脱除园艺植物病毒病原, 主要是利用化学药剂来抑制病毒核酸与蛋白质的合成^[3]或是改变寄主的代谢方式^[1], 从而阻止病毒进入细胞后合成早期蛋白来改变寄主自身的代谢途径从而合成病毒核酸与蛋白质。

2 脱毒技术

2.1 热处理脱毒

张尊平^[6]等将热处理的方法进行改进: 将当年嫁接当年热处理改为当年嫁接第二年萌发时再热处理, 发现热处理过程中的死亡率平均减少 20%, 嫩梢嫁接成活率平均增加 14.1%, 脱毒率平均增加 12.8%。姜中武(2001)等在苹果苗的热处理脱毒中发现: 当年生枝粗度/苗木粗度比值与热处理过程中死亡率存在极显著的正相关, 在一定范围内, 比值越大越不易死亡, 大于 7/10 的成活率为 100%, 其机理可能是与养分和水分的输送有关。Xu-PinSan^[7]在 35℃下处理百合籽球 4 周, 可明显降低病毒含量。

2.2 组织培养脱毒

2.2.1 茎尖分生组织培养法 Morel 和 Martin 首次通过茎尖分生组织培养获得了无毒的大丽花, 同年 Morel 等从感染病毒的天竹牡丹中分离茎尖分生组织, 并获得无毒植株。此后, Morel 等对马铃薯、下森等对菊、石竹、剑兰、撞羽矮牵牛等进行了茎尖分生组织培养均取得成功。洪霓^[8]等利用茎尖培养对梨进行脱毒, 其脱毒率为 28.6%。李进等(2000)也通过茎尖培养获得了宜兴百合脱毒组培苗。高遐红等(1994)认为草莓茎尖组培脱毒时, 一次脱毒不彻底, 二次脱毒则可完全脱除目前草莓的斑驳病毒、轻型黄边病毒、银脉病毒和皱缩病毒等 4

作者简介: 陈泽雄(1979-), 男, 湖北黄冈人, 讲师, 硕士研究生, 现工作于重庆文理学院生命科学系, 从事植物组织培养与细胞工程教学与科研工作, E-mail: chenhezong1979@163.com。

收稿日期: 2007-01-10

种主要病毒。董淑英^[9]等把苹果的脱毒苗进行二次取尖以高脱毒率,结果小茎尖脱毒率提高了11%,大茎尖提高了20%~30%。Ayabe和Sumi^[10]利用大蒜茎片生长点培养获得了无病毒的大蒜植株。

2.2.2 愈伤组织培养法 一些试验表明,感染病毒的植株通过愈伤组织的培养获得无毒新植株。将感染TMV的烟草愈伤组织机械分离后,仅有40%的单个细胞含有病毒;从马铃薯茎尖愈伤组织再生的植株无PVY的频率为46%,高于直接从茎尖培养产生的植株。洋葱、大蒜、草莓、唐菖蒲等植物的愈伤组织分化也能产生无毒植株^[3]。张永祥^[11]在马铃薯叶盘愈伤组织培养再生后代中苗期获得抗青枯病的植株。许莉萍等^[12]首次利用甘蔗愈伤组织成功脱除花叶病毒,脱毒率达100%。

2.2.3 原生质体培养法 Fulton在1951年研究烟草花叶病毒时发现,花叶的深绿色部分的细胞中无病毒感染。1971年Nagata等对烟草叶肉的细胞分离及分离后植株的再生技术改进,促进了利用原生质体培养无毒苗木技术的发展。1975年Shepard从感染PVX的烟草叶片原生质体中可获得无病毒苗,所得到的4140棵再生植株中有7.5%为无病毒苗。Thomson等^[13]也利用原生质体培养再生得到无PVX和PVY的植株,目前国内利用原生质体培养获得无病毒苗木的报道极少。

2.2.4 花药培养 由花药培养获得脱毒苗是大泽胜次(1982)在进行单倍体育种时获得的启迪。经鉴定证明花培植株的脱毒率达100%。高庆玉等(1993)用草莓花药组培,其脱毒率达100%,用幼叶和茎尖产生的愈伤组织其再生植株脱毒率只有20%。Nimi-Y^[14]通过花药培养获得了无病毒百合植株。乔奇等^[15]利用草莓花药获得了两个品种的无病毒苗木,其产量比对照分别提高了30.3%和34.3%。

2.2.5 珠心胚培养脱毒 柑桔类可以通过珠心胚的离体培养获得无病毒苗。自Rangan等人首次培养成功以来,已有不少品种和品系获得了成功。高峰^[16]等对“华盛顿脐橙”的未受精胚珠进行离体培养,通过对再生植株用指示植物鉴定证明已从感病的母株中获得了脱去裂皮病和衰退病的无病毒珠心苗。葡萄也有用珠心胚培养获得无病毒苗的例子。

2.3 茎尖微芽嫁接

1972年Marashige等提出微体嫁接技术,解决了某些木本植物茎尖培养发根困难、生长缓慢的问题,并且可使复合侵染的病毒分离。至今柑橘、桃、李及多种蔬菜上使用该技术获得了脱毒苗木^[17]。Nararro(1981)首次采用此法成功培育出无病毒的柑橘母本树。我国利用微芽嫁接来脱除病毒和繁殖无病毒苗木的工作在20世纪80、90年代大量开展。先后有马凤桐(1989)、宋瑞琳等(1990)、姜玲等(1992)等对嫁接技术进行了研究和改进,获得了无病毒的各种柑橘品种苗木。姜玲等(1995)对

传统的倒“T”形法进行了改进,成活率达到了60%~80%,而对照只有38.5%~58.1%。

2.4 热处理结合茎尖培养

热处理和茎尖培养相结合,两种方法互补可以提高脱毒率,而且省去了热处理后嫩梢嫁接环节,茎尖大小可切到1cm,易分化出苗,在理论上可减少变异后代的发生率。李文安(1998)指出康乃馨茎尖经38℃热处理2个月,可使其病毒全部失活。马铃薯在35℃下处理几个月能获得无PVX的茎尖,而在相同条件下处理马铃薯块茎20d即可除去卷叶病毒,而马铃薯植株经热处理再切取茎尖培养,可除去PVS和PVX两种病毒。

2.5 化学药剂脱毒

国内外对抑制植物病毒的活性物质的研究近几十年来发展较快。目前国际上常用的是两种植物生长调节物质:2,4-二氧六氢三氮杂苯(DHT)和类似嘌呤碱基代谢物质病毒唑(ribavirin, virazoles)^[18]。Deogruties^[19]等报道培养基中添加病毒唑,甜樱桃可脱除ACLSV、PNRSV、PDV。Lozoya-Saldana报道在烟草和马铃薯茎尖或叶片的培养基中加virazole,在继代培养中都添加virazole培养,获得的植株几乎都是无病毒苗。Chavdarov(1995)报道一些生长激素如NAA、BAP能降低百合病毒浓度。

3 展望

脱毒苗因去除了内在起干扰作用的病原体,恢复了种性和生产潜力,在生产等许多方面都得到了实际应用,并产生可观的经济效益。

从目前发展趋势来看,植物病毒的防治仍应以培育无病毒木、原种为主,而植物组织培养脱毒技术的不断改进和提高以适应大规模的生产已势在必行。植物脱毒技术的推广和利用,迫切需要与相应的全国性管理体系进行配套。对无毒种质的保存技术也有待于进一步改进和提高。

参考文献:

- [1] 张玉清,罗晓芳,田观亭.葡萄微茎尖培养和葡萄扇叶病毒的ELISA和探针检测[J].北京林业大学学报,1998,20(4):54-58.
- [2] 朱至清.植物细胞工程[M].北京:化学工业出版社,2003.5.
- [3] 李文安.农业生物工程[M].北京:化学工业出版社,1998.4.
- [4] 何亚文,李耿光,张兰英.生物技术在马铃薯抗病育种中的应用进展[J].热带亚热带植物学报,1995,4(1):77-82.
- [5] 覃兰英,李青,邓世秀,等.核果类病毒识别鉴定及脱毒技术[J].北京农业科学,1997(10):23-28.
- [6] 张尊平,洪霓,姜修凤,等.苹果热处理脱毒技术的改进[J].北方果树,1996(4):12-13.
- [7] 王继华,唐开学,张仲凯,等.百合脱毒及脱毒检测进展[J].北方园艺,2004(6):73-75.
- [8] 洪霓,王国平,张尊平,等.梨病毒脱除技术研究[J].中国果树,1995(4):5-7,24.
- [9] 董淑英,李梅,于秋华,等.二次取尖提高苹果脱毒率研究[J].河北农业科学,2001,5(3):43-46.
- [10] Ayabe M, Sumi S. A novel and efficient tissue culture method—“stem—disc dome culture”—for producing virus-free garlic (*Allium sativum* L.) [J]. Plant Cell Reports 2001, 20: 503-507.

新疆野生龙蒿分布及其综合利用

赵 俊¹, 辛建华¹, 许国芳¹, 王云荣²

(1. 新疆石河子大学农学院园艺系, 832000; 2. 新疆农九师科技局 塔城 834700)

摘 要:通过对新疆龙蒿生物学、生态学特性以及在新疆区域分布的阐述,并结合龙蒿目前综合开发和利用的现状分析,提出了新疆龙蒿综合开发和利用的前景。

关键词:新疆龙蒿; 开发; 利用

中图分类号: S 6479(245) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0060-04

龙蒿(*Artemisia dracuncululus* L.)属菊科龙蒿属,又名狭叶青蒿、蛇蒿、椒蒿,为多年生半灌木状草本。新疆龙蒿分布范围广,具有耐干旱、耐盐碱、耐寒和耐瘠薄等特征。是一种口味独特、营养价值较高的野生蔬菜兼药用植物、香料植物。根有辣味,在新疆民间取根研末,代替辣椒作调味品;其茎、叶、花、果实等具有很高的药用价值和饲用价值。在民间全草入药用于治疗腹胀满、消化不良等症。近年来,龙蒿其特有的香辛味,富含碘、矿物质、维生素 A 和 C 以及维生素 B₆,受到广大消费者的

爱好,以及龙蒿精油的高经济价值,可广泛用于食品、化妆品和医疗等领域。

1 新疆龙蒿的分布特征

1.1 新疆龙蒿的生物学特性

龙蒿为多年生半灌木状草本。根粗大或略细,木质,直立或斜向上长,直径 0.5~2cm,地上部分当年死亡,第二年由根茎上的休眠芽和不定芽长出新的植株。根浅褐色,上部粗,通常比茎粗 2~3 倍,但随深度增加逐渐变细。常有短的地下茎。茎通常多数,成丛,褐色或绿色,有纵棱,下部木质,分枝多,开展,斜向上。茎、枝初始微有短柔毛,后渐脱落。叶无柄,初始两面微有短柔毛,后两面无毛或近无毛,下部叶花期凋谢;中部叶线状披针形或线形,长 1.5~5cm,宽 3~5mm,先端渐尖,基部渐狭,全缘;上部叶与苞叶略短小,线形或线状披针形,长 0.5~3cm,宽 1~2mm。头状花序多数,近球形,直径 2~

第一作者简介:赵俊(1983-),男,在读硕士,主要从事蔬菜育种研究工作, E-mail: sczhaojun995@163.com.

通讯作者:辛建华(1968-),男,副教授,主要从事蔬菜遗传育种的教学和研究工作, E-mail: xjhfb1@vip.sina.com.

收稿日期: 2007-01-10

[1] 张永祥,华静月,何礼远,等.马铃薯叶盘愈伤组织再生苗抗青枯病变异株的筛选[J].马铃薯杂志,1993,7(1):22-26.

[12] 许莉萍,陈如凯,李跃平.利用愈伤组织培养和茎尖培养去除甘蔗花叶病毒[J].福建农业大学学报,1994,23(3):253-256.

[13] Thomson A J et al. The evaluation of potato somaclones. In: Semal J ed. Somaclonal Variations and Crop Improvement, 1986, 236-243 Martnus Nijhoff Publishers, Dordrecht.

[14] Niimi-Y, Han-Dong Sheng, Fujisaki-M et al. Production of virus-free plantlets by anther culture of Lilium X Enchantment[J]. Scientia-Horticulturae, 2001, 90: 325-334.

[15] 乔奇,张振臣.草莓花药培养脱毒技术研究[J].中国农学通报,2003,

19(2): 26-27.

[16] 高峰,陈杰忠,陈善春,等.柑橘未受精胚珠离体培养获得无病毒珠心苗[J].植物学报,1990,32(7):505-509.

[17] Navarro, et al. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus. [J] Amer soc Hortsci, 1975, 100(5): 471-479.

[18] Hansen A J, Linda G. Potential of ribavirin for tree fruit virus inhibition[J]. Acta Horticulturae, 1992, 130: 1983-192.

[19] Deogruties J. M., Dosba F, Lutz A. Eradication of prune dwarf virus, Prunus necrotic ring spot virus and apple chlorotic leaf spot virus in sweet cherries by a combination of chemotherapy, thermotherapy, and in vitro culture[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1999, 11: 337-342.

Advanced Research in Virus-free Techniques in Horticultural Plants

CHEN Ze-xiong

(Department of Life Science, Chongqing University of Arts and Sciences, Chongqing 402168)

Abstract: Horticultural plants are prone to infected by various virus during long term vegetative reproduction, which have blocked the growth and development of horticultural plants, and reduced their economy value, hence great importance have been attached to the prevention and treatment of virus disease in the world. This paper summarized the principle and techniques of virus-free in horticultural plants, which will provide theory basis for the improvement of yield and quality of horticultural plants.

Key words: Virus; Virus-free; advanced research

(重庆文理学院生命科学系, 永川 402168)