

# 苹果矮化砧木组织培养及脱病毒技术

杨艳敏, 魏永祥, 刘成, 张舵, 王兴东, 刘友春

(辽宁省果树科学研究所, 辽宁 营口 115009)

**摘要:**以“马克9”、“辽砧2号”、“GM256”3个辽宁地区常用的苹果矮化砧木品种为试材,研究了苹果矮化砧木组织培养及试管苗热处理脱病毒技术,以建立无病毒苹果矮化砧木苗快繁体系。结果表明:对于品种“马克9”,最佳诱导、增殖和生根培养基分别为MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L、6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.1 mg/L和1/2MS+0.5 IBA mg/L+0.3 NAA mg/L,诱导率为85.7%;对于品种“辽砧2号”,最佳诱导和增殖培养基分别为MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L和6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导率为87.5%,最佳生根培养基同“马克9”;对于品种“GM256”,最佳诱导和增殖培养基分别为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L和6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导率为78.5%,最佳生根培养基同“马克9”;以“马克9”耐热性最强,其次是“GM256”和“辽砧2号”;热处理40 d脱除病毒效果最好,脱病毒率分别为53.33%、66.67%、71.43%;海藻素1 000倍液处理5 min时,3个砧木品种生根试管苗田间移栽的成活率最好,分别是93.33%、92.00%和87.50%。

**关键词:**苹果;矮化砧木;组织培养;快繁技术;脱病毒

**中图分类号:**S 661.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)04-0107-06

目前,在发达国家,如美国、英国、意大利、荷兰、法国等国,苹果矮化栽培是主要的栽培模式,其中80%以上的苹果园都是矮砧园,特别是新建园,几乎栽植的全是矮砧<sup>[1]</sup>。近年来我国的矮化苹果栽培面积也在不断增加,为了适应全球苹果栽培市场的变化和要求,各国竞相采用了矮化密植的集约化栽培制度<sup>[2]</sup>,苹果矮化密植栽培因具有早果、质优、丰产、便于管理、更新快、效益高等优点而成为当今世界苹果生产发展的总趋势<sup>[3]</sup>。苹果无病毒化栽培的基础是无毒苗木的生产,国外在20世纪80年代始就开始系统地研究各类果树的脱毒技术,20世纪90年代以来,又着重开展果树良种繁育体系建设,推行果树无病毒化栽培,现已基本实现了果树无病毒化栽培,取得了高产优质的显著效果。与此相比,我国果树无病毒栽培面积尚不足果树栽培总面积的3%,技术水平和生产规模与国外均存在较大差距<sup>[4]</sup>。果树无病毒化栽培和果树栽培方式的改变,已成为果树发展的趋势,矮化砧木的无毒化生产也是果树

苗木繁育和发展的方向。辽宁是抗寒苹果的主栽区,以无病毒矮化砧木替代普通砧木迫在眉睫,对于苹果产业发展具有重要意义。现选用辽宁地区常用的3种矮化苹果砧木“马克9”、“辽砧2号”、“GM256”进行无病毒组培快繁技术研究,以期为工厂化育苗提供可靠的技术和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试砧木为苹果矮化砧木品种“马克9”、“辽砧2号”、“GM256”。选择辽宁省果树科学研究所苹果试验园内生长健壮、无病虫害1年生休眠枝条为试材。试验于2013年3月至2014年5月在辽宁省果树科学研究所组织培养室进行。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体处理及诱导培养** 2013年3—5月采集上述砧木品种1年生休眠枝条备用。试验前将枝条剪成1.5 cm单芽的茎段,去掉枝条的表皮及芽上的绒毛,在流水下冲洗2 h,再置超净工作台上用无菌水荡洗1次,用75%酒精灭菌30 s,无菌水荡洗2次,再用0.1%升汞灭菌,设置3个灭菌时间处理(5、8、10 min),后无菌水荡洗3次,置于铺有3层滤纸的培养皿上,在解剖镜下剥取0.2~0.5 mm茎尖<sup>[5-6]</sup>,接种于I:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L;II:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA

**第一作者简介:**杨艳敏(1975-),女,本科,副研究员,现主要从事果树组织培养及生物育种等研究工作。E-mail: yymzcb@163.com.

**责任作者:**魏永祥(1962-),男,本科,研究员,现主要从事小浆果栽培与育种等研究工作。E-mail: lgwdzxw@163.com.

**收稿日期:**2015-09-28

1.0 mg/L;Ⅲ:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 培养基上,各处理均加糖 30 g/L,琼脂 4.6 g/L,每瓶接种 3 芽,10 瓶 1 个处理,3 次重复。30 d 后调查污染率及诱导率。光照强度 2 000~3 000 lx,温度(25±2)℃,光照 14 h,培养条件下同。

1.2.2 增殖培养基筛选 增殖培养基设 5 个处理,T1:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.3 mg/L;T2:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L;T3:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.8 mg/L;T4:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L;T5:MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L;以 MS+NAA 0.1 mg/L 为对照培养基(CK)。将诱导出的试管苗接种于上述增殖培养基上,糖与琼脂用量同诱导培养基<sup>[7]</sup>。每瓶 4 个单芽,5 瓶 1 个处理,重复 3 次。30 d 后调查分化率,株高及生长势。生长势划分 5 个等级,A:茎秆细弱,叶片微黄,生长矮小而弱;B:茎秆细弱,叶片微黄,生长势较弱;C:茎秆中等,叶片淡绿,生长一般;D:茎秆粗壮,叶片淡绿,生长良好;E:茎秆粗壮,叶片浓绿,生长健壮<sup>[8]</sup>。

1.2.3 试管苗的热处理 选取生长健壮的砧木试管苗接种于筛选好的增殖培养基上,试管苗高株达 1.5 cm 以上时,将其放入人工气候室内热处理,温度 38℃,相对湿度 75%,光照 14 h,黑暗 10 h<sup>[9]</sup>,设置 3 个热处理时间(28、34、40 d)。

1.2.4 试管苗脱病毒效果检测 经热处理后成活的试管苗重新剥取茎尖,接种于增殖培养基上,培养 20 d 以上,将试管苗枝叶研磨后取 0.2 g,用 RT-PCR 病毒检测法,检测苹果褪绿叶斑病毒(ACLSV)、苹果茎沟病毒(ASGV)、苹果茎痘病毒(ASPV)3 种常见潜隐性病毒<sup>[10-11]</sup>。

1.2.5 生根培养基 IBA 浓度的确定 以 1/2MS 为基本培养基(CK),添加不同浓度 IBA(0.3、0.5、0.8、1.0、

1.5 mg/L),各处理均加糖 15 g/L+琼脂 4.3 g/L,将生长健壮的试管苗剪取 1.0 cm 枝段接入上述 6 个培养基中,每瓶接种 3 株,10 瓶 1 个处理,3 次重复。40 d 后进行生长量及生根率调查。

1.2.6 生根培养基 IBA 与 NAA 最佳配比的确定 设置 3 个培养基处理,T1:最佳 IBA 培养基+NAA 0.1 mg/L;T2:最佳 IBA 培养基+NAA 0.2 mg/L;T3:最佳 IBA 培养基+NAA 0.3 mg/L。每瓶接种 3 株,10 瓶 1 个处理,3 次重复。40 d 调查生根数量及根长等。

1.2.7 不同海藻素溶液处理对移栽苗的成活率和生长状况的影响 将生长健壮的试管苗用清水洗净根部培养基,浸泡于 0、500、1 000、1 500 倍液的海藻素<sup>[12]</sup> 5 min,栽入基质为草炭:珍珠岩=2:1 的营养钵内,浇透水,放在双层遮阳网的拱棚内,20 d 调查栽植苗成活率与生长状况<sup>[13]</sup>。生长状况划分为 4 个等级,1:叶片微黄,茎秆细弱,生长矮小;2:叶片淡绿,茎秆一般,生长一般;3:叶片浓绿,杆粗壮,生长良好;4:叶片淡绿,老叶变褐,茎秆一般,生长势弱。

### 1.3 项目测定

污染率(%)=污染数/接种数×100;诱导率(%)=诱导芽数/(接种数-污染芽数)×100。

### 1.4 数据分析

采用 DPS 软件对试验数据进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌时间和培养基对外植体诱导的影响

由表 1 可见,砧木品种“马克 9”、“辽砧 2 号”和“GM256”随灭菌时间的增加污染率下降,其中 8 min 与 10 min 灭菌污染率差异不显著,8 min 和 10 min 处理的灭菌效果明显好于 5 min。另外,培养基附加不同浓度

表 1

0.1% HgCl<sub>2</sub> 灭菌时间和培养基对外植体的影响

Table 1

Effect of 0.1% HgCl<sub>2</sub> disinfection time and media on explants

砧木 Stock cultivars	0.1% HgCl <sub>2</sub> 灭菌时间	NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L		NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L		NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L	
	Disinfection time of	污染率	诱导率	污染率	诱导率	污染率	诱导率
	0.1% HgCl <sub>2</sub> /min						
		Contamination rate/%	Induction rate/%	Contamination rate/%	Induction rate/%	Contamination rate/%	Induction rate/%
“马克 9” ‘Mark 9’	5	46.5	41.7b	43.3	68.9ab	55.6	76.0a
	8	26.7	54.5b	40.0	72.2ab	30.0	85.7a
	10	23.4	48.3b	33.2	62.4ab	27.7	69.5a
“辽砧 2 号” ‘Liaozhen No. 2’	5	56.7	48.2b	53.3	52.3ab	46.7	82.3a
	8	33.3	55.0b	33.6	63.1ab	27.8	87.5a
	10	27.6	41.7b	28.9	61.5ab	19.4	73.8a
“GM256” ‘GM256’	5	53.3	33.3b	36.7	67.9a	31.3	46.3b
	8	31.7	42.1b	33.3	78.5a	22.1	49.7b
	10	29.4	38.9b	23.5	72.7a	27.3	41.3b

注:同行不同小写字母表示 Duncan's 新复极差法检验在 0.05 水平上差异显著。下同。

Note: Different lowercase letters within a line show significant difference at 0.05 level by Duncan's multiple range test. The same below.

的 6-BA,对于砧木品种“马克 9”和“辽砧 2 号”,诱导率随 6-BA 浓度的增加而增加,其中以 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 时外植体诱导率最高,而对于“GM256”,6-BA 浓度增至 1.5 mg/L 时外植体诱导率明显下降,6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时外植体诱导率效果最好,最高达 78.5%。可见,灭菌时间和 6-BA 对外植体污染率和诱导率均有影响,6-BA 浓度对不同砧木品种的诱导效果也不尽一致。综上,对于 3 种砧木品种,0.1% HgCl<sub>2</sub> 处理 8 min 灭菌效果最佳,NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L 为“马克 9”和“辽砧 2 号”最佳诱导培养基,NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 为“GM256”最佳诱导培养基。

2.2 6-BA 浓度对砧木试管苗增殖的影响

由表 2 可见,在 NAA 浓度为 0.1 mg/L 时,供试砧木品种对 6-BA 不同浓度的反应趋势基本一致,即增殖

倍数和生长状态随 6-BA 浓度的升高呈上升和生长健壮趋势,当达到一定浓度时,增殖倍数和生长状态下降。“马克 9”和“GM256”2 个砧木品种附加的 6-BA 浓度为 0.8 mg/L 时,增殖倍数分别为 4.25 倍与 3.40 倍,差异达到显著水平( $P<0.05$ ),且试管苗茎秆粗壮,叶片浓绿,生长健壮,即达到最佳生长状态。随着浓度的增加,增殖倍数明显下降,试管苗生长一般或较弱。而“辽砧 2 号”则在 6-BA 浓度 0.5 mg/L 时即达到最佳增殖倍数和最佳生长状态,6-BA 浓度升高不利于试管苗增殖和生长。试验证明 6-BA 对苹果砧木试管苗的增殖和生长有明显的促进作用,不同砧木品种对 6-BA 的敏感程度存在差异,其中“辽砧 2 号”对高浓度的 6-BA 反应最敏感,“马克 9”和“GM256”次之。

表 2 6-BA 浓度对苹果砧木增殖的影响

Table 2 Effect of 6-BA concentration on proliferation of apple stock

6-BA 浓度		“马克 9”“Mark 9”		“辽砧 2 号”“Liaozhen No. 2”		“GM256”“GM256”	
Concentration of 6-BA	增殖倍数	生长状况	增殖倍数	生长状况	增殖倍数	生长状况	增殖倍数
/(mg·L <sup>-1</sup> )	Proliferation rate	Growth status	Proliferation rate	Growth status	Proliferation rate	Growth status	Proliferation rate
0.0(CK)	1.20d	茎秆中等,叶片淡绿,生长势弱	1.87d	茎秆中等,叶片淡绿,生长势弱	1.33c	茎秆中等,叶片淡绿,生长势弱	1.33c
0.3	2.60c	茎秆中等,叶片淡绿,生长一般	3.25b	茎秆中等,叶片淡绿,生长一般	2.10ab	茎秆中等,叶片淡绿,生长一般	2.10ab
0.5	3.35b	同上	4.90a	茎秆粗壮,叶片浓绿,生长健壮	2.95b	同上	2.95b
0.8	4.25a	茎秆粗壮,叶片浓绿,生长健壮	3.80b	茎秆粗壮,叶片淡绿,生长良好	3.40a	茎秆粗壮,叶片淡绿,生长良好	3.40a
1.0	3.60b	茎秆中等,叶片淡绿,生长一般	2.55c	茎秆中等,叶片淡绿,生长一般	2.15ab	茎秆细弱,叶片微黄,生长势较弱	2.15ab
1.5	2.05c	茎秆细弱,叶片微黄,生长势较弱	1.40d	茎秆细弱,叶片微黄,生长势较弱	1.75c	茎秆细弱,叶片微黄,生长矮小而弱	1.75c

2.3 热处理对砧木品种试管苗存活及茎尖接种成活的影响

由表 3 可知,38℃热处理各砧木品种存活率均随热处理时间延长而呈现下降趋势,热处理 28 d 时,“马克 9”、“辽砧 2 号”和“GM256”的试管苗存活率分别是 76.00%、72.50%和 62.86%,而处理 40 d 时成活率分别

为 52.17%、26.09%和 25.71%。结果表明,3 个砧木品种中“马克 9”耐热性最好,“辽砧 2 号”次之,“GM256”对高温敏感。处理 28 d 和 40 d,“马克 9”、“辽砧 2 号”和“GM256”茎尖成活率分别下降 18.45%、26.67%、18.57 个百分点,说明各热处理时间对茎尖成活率的影响在品种之间没有明显差异。

表 3 热处理对砧木试管苗的存活率及茎尖成活率的影响

Table 3 Effect of heat treatment on survival rate of tube seeding and stem tip for root stock

砧木	处理时间	处理苗数	存活状况 Survival status of plantlets		接种茎尖	茎尖成活状况 Survival status of plantlets	
			存活数	存活率		成活数	成活率
Stock	Treatment time	Number of	Survival number	Survival rate/%	Number of stem	Survival number	Survival rate/%
cultivar	/d	Plantlets			tip		
“马克 9”	28	50	38	76.00	42	41	97.62
	34	45	31	68.89	34	29	85.29
	40	46	24	52.17	24	19	79.17
“辽砧 2 号”	28	40	29	72.50	52	52	100.00
	34	45	23	51.11	33	31	93.93
	40	46	12	26.09	15	11	73.33
“GM256”	28	35	22	62.86	23	21	91.30
	34	35	15	42.86	15	12	80.00
	40	35	9	25.71	11	8	72.73

2.4 热处理对砧木品种试管苗脱病毒的影响

由表 4 可知,热处理对砧木品种试管苗脱病毒影响较大,3 个品种都呈现出随着热处理时间延长,脱除植株体内 ACLSV、ASGV、ASPV 病毒率均呈增加趋势,热处理 28 d,“马克 9”、“辽砧 2 号”、“GM256”

砧木品种试管苗脱毒率分别为 25.00%、22.22%和 37.50%,当热处理时间增加到 40 d 时,脱病毒率明显增加,分别为 53.33%、66.67%和 71.43%;砧木品种之间差异不显著,以热处理 40 d 脱除病毒效果最佳。

表 4

热处理对砧木品种试管苗脱病毒的影响

Table 4 Effect of heat treatment on virus-free rate of tube seeding for root stock

砧木 Stock cultivar	处理天数 Treatment time/d	检测数 Number of tested	RT-PCR 检测 RT-PCR test	
			无病毒数 Number of virus-free	ACLSV、ASGV、ASPV 脱毒率 Virus-free rate/%
“马克 9” ‘Mark 9’	28	8	2	25.00
	34	12	5	41.67
	40	15	8	53.33
“辽砧 2 号” ‘Liaozhen No. 2’	28	9	2	22.22
	34	15	7	46.67
	40	15	10	66.67
“GM256” ‘GM256’	28	8	3	37.50
	34	10	5	50.00
	40	7	5	71.43

## 2.5 IBA 浓度对砧木试管苗生根的影响

由表 5 可知,3 个苹果砧木品种试管苗接种在不加 IBA 的培养基中,经 40 d 培养后,植株均没再生根,而添加了不同浓度 IBA,均有不同程度生根现象。其中,“马克 9”试管苗在 IBA 浓度 0.8 mg/L 时生根效果最好,生根率为 53.33%,苹果砧木“辽砧 2 号”和“GM256”试管苗在 IBA 浓度 0.5 mg/L 时生根效果最好,生根率分别为 56.57%和 50.00%。

表 5

IBA 对砧木试管苗生根的影响

Table 5 Effect of IBA on rooting of tube seeding for root stock

IBA 浓度 Concentration of IBA /(mg · L <sup>-1</sup> )	“马克 9”‘Mark 9’			“辽砧 2 号”‘Liaozhen No. 2’			“GM256”‘GM256’		
	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root /cm	生根率 Rooting rate /%	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root /cm	生根率 Rooting rate /%	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root /cm	生根率 Rooting rate /%
0(CK)	0	0.0	0.00f	0	0.0	0.00e	0	0.0	0.00f
0.3	3	0.2~0.5	10.00e	5	0.2~1.0	16.67c	4	0.2~0.8	13.33d
0.5	10	0.2~1.0	33.33b	17	0.3~1.8	56.57a	15	0.3~1.4	50.00a
0.8	16	0.3~1.6	53.33a	15	0.3~1.2	50.00a	13	0.2~1.2	43.33b
1.0	8	0.4~1.8	26.67c	11	0.3~0.8	36.67b	8	0.2~0.5	26.67c
1.5	5	0.2~0.8	16.67d	2	0.2~0.8	6.67d	1	0.4	3.33e

表 6

0.5 mg/L IBA 与 NAA 对比对试管苗生根的影响

Table 6 Effect of NAA combination with 0.5 mg/L IBA on rooting of tube seeding for root stock

NAA 浓度 Concentration of NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	“马克 9”‘Mark 9’			“辽砧 2 号”‘Liaozhen No. 2’			“GM256”‘GM256’		
	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root/cm	生根率 Rooting rate/%	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root/cm	生根率 Rooting rate/%	生根株数 Number of rooted	根长 Length of root/cm	生根率 Rooting rate/%
0.1	13	0.2~1.3	43.33c	14	0.2~1.3	46.67c	7	0.2~0.7	23.33c
0.2	15	0.3~1.5	50.00b	16	0.3~1.7	53.33b	10	0.2~1.0	33.33b
0.3	19	0.2~1.8	63.33a	22	0.5~1.5	73.33a	17	0.3~1.4	56.67a

表 7

不同海藻素溶液浓度处理对移栽苗的成活率和生长状况的影响

Table 7 Effect of different concentration of cytex on the transplant survival rate and growth status

海藻素稀释倍数 Dilution times	“马克 9”‘Mark 9’			“辽砧 2 号”‘Liaozhen No. 2’			“GM256”‘GM256’		
	移栽数 Number of transplant	成活率 Survival rate/%	生长状况 Growth status	移栽数 Number of transplant	成活率 Survival rate/%	生长状况 Growth status	移栽个数 Number of transplant	成活率 Survival rate/%	生长状况 Growth status
CK	15	46.67d	2	25	55.00d	2	8	37.50d	1
500	15	66.67b	3	25	68.00c	3	8	50.00c	2
1 000	15	93.33a	3	25	92.00a	3	8	87.50a	3
1 500	15	53.33c	1	25	76.00b	1	8	62.50b	4



移栽成活率,3个品种均呈升高趋势,品种之间差异不显著,但各处理之间差异显著,尤其以海藻素1000倍液处理时,效果最好,3个砧木品种生根试管苗田间移栽的成活率分别是93.33%、92.00%、87.50%。且叶片浓绿,杆粗壮,生长良好,明显好于对照和其它处理。

### 3 结论与讨论

苹果矮化密植已成为现代苹果产业发展的趋势<sup>[14]</sup>,选择适宜的矮化砧木是实现矮化密植的关键。苹果组培技术的逐步成熟为苹果矮化砧木的快速繁殖提供了技术保障。目前,已建立多个常用苹果矮化砧木品种的组培快繁体系,如71-3-150、M9、M26、八棱海棠和平邑甜茶等,尤其以砧木品种M9和M26的快繁体系较完善<sup>[8,15-17]</sup>,根据现有报道,MS培养基中添加的6-BA和IBA是基本培养基,但各品种的最佳继代、增殖和生根培养基均存在差异,所以筛选各砧木品种的最佳快繁体系对于实现砧木的工厂化育苗具有重要意义。砧木品种“马克9”、“辽砧2号”、“GM256”是辽宁地区常用的苹果矮化砧木,目前尚鲜见其组培快繁技术的报道。该试验研究结果显示,以MS为基本培养基,加糖30 g/L,琼脂4.6 g/L,附加6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L为“马克9”和“辽砧2号”的最佳诱导培养基,诱导率达87.5%;附加6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L为“GM256”的最佳诱导培养基,诱导率达78.5%;附加6-BA 0.8 mg/L,“马克9”和“GM256”增殖倍数高达4.25倍与3.40倍,且试管苗茎杆粗壮,叶片浓绿,生长健壮;附加6-BA 0.5 mg/L时,辽砧2号增殖倍数高达4.9倍,且试管苗茎杆粗壮,叶片浓绿,生长健壮;以1/2MS基本培养基,生长素与NAA配合使用砧木品种试管苗生根率明显提高,在IBA 0.5 mg/L附加NAA 0.3 mg/L的生根培养基中,“马克9”、“辽砧2号”、“GM256”生根率分别为63.33%、73.33%和56.67%。

苹果褪绿叶斑病毒(ACLSV)、苹果茎沟病毒(ASGV)、苹果茎痘病毒(ASPV)是常见的苹果潜隐病毒,导致果树树势下降、果品品质变劣,不利于苹果产业的可持续发展。热处理是脱除苹果潜隐病毒的常用手段,研究发现不同的热处理方式对脱病毒效果不同,恒温热处理明显好于变温热处理,原因是连续高温对钝化病毒具有显著效果<sup>[11,18]</sup>,热处理条件下各病毒的脱除难易程度不同,不同试材在同一处理条件下脱毒率也有高低,脱毒率表现与处理时间呈正相关,但温度过高、处理时间延长会影响试管苗存活率,所以需为砧木品种筛选最佳热处理温度和时间。该研究发现供试砧木品种存活率随热处理时间的延长而呈现下降趋势,其中“马克

9”耐热性最好,其次是“辽砧2号”和“GM256”。试管苗接种茎尖成活率与热处理时间没有明显的相关性。随着热处理时间延长,脱除植株体内ACLSV、ASGV、ASPV病毒率均呈增加趋势,以热处理40 d脱除病毒效果最佳,脱病毒率分别为53.33%、66.67%、71.43%,供试砧木品种之间差异不显著。

为了提高组培苗移栽成活率,赵亮明等<sup>[8]</sup>在移栽基质中添加了0.5 mg/mL的FeSO<sub>4</sub>,效果明显。海藻素属植物生长调节物质,能促进根、茎生长,是纯天然海藻提取物,无公害无污染,用于生产不污染环境。该研究发现,海藻素1000倍液处理5 min时,3个砧木品种生根试管苗田间移栽的成活率分别是93.33%、92.00%、87.50%。且叶片深绿,杆粗壮,生长良好,明显好于对照和其它处理。

### 参考文献

- [1] 李丙智,张林森,韩明玉,等.世界苹果矮化砧木应用现状[J].果农之友,2007(7):4-6.
- [2] 张玉红.苹果树矮化密植栽培的优点及技术要点[J].现代化农业,2012(2):26-27.
- [3] 刘莹.苹果矮化砧木P59和SH40离体叶片再生的研究[D].保定:河北农业大学,2006.
- [4] 张庆田.几种苹果砧木组织培养技术的研究[D].泰安:山东农业大学,2007.
- [5] 董淑艳,孙静,潘忠强,等.苹果茎尖脱毒技术研究[J].河北农业科学,2001,5(2):30-35.
- [6] 朱文勇,赵玉军,郭黄平,等.苹果优良矮砧S18、S20微茎尖脱毒组织培养技术研究[J].果树学报,1995,12(4):215-218.
- [7] 杨艳敏,陶承光,魏永祥,等.蓝莓组织培养工厂化育苗技术研究[J].北方园艺,2012(7):129-131.
- [8] 赵亮明,王飞,韩明玉,等.苹果砧木组织培养与快繁技术研究[J].西北农业学报,2011(7):118-122.
- [9] 战淑敏,王文慧,李保华,等.热处理苹果试管苗脱毒研究初报[J].莱阳农学院学报,1997,14(3):184-187.
- [10] 程玉琴,韩振海,徐雪峰,等.苹果病毒及其脱毒检测技术研究进展[J].中国农学通报,2003,19(1):72-76,96.
- [11] 王壮伟.苹果潜隐性病毒的检测与脱除技术研究[D].南京:南京农业大学,2006:1-2.
- [12] 程淑云.蓝莓组培苗瓶外生根技术的研究[J].农业科技通讯,2009(4):48-50.
- [13] 邓朝军,陈志峰.园艺植物组织培养苗的移栽技术[J].福建果树,2006(2):137.
- [14] 韩振海.苹果矮化密植栽培-理论与实践[M].北京:科学出版社,2011.
- [15] 王森森,马晓月,张学英,等.苹果矮化砧木新品系“矮砧6号”茎尖组培快繁研究[J].北方园艺,2014(22):102-104.
- [16] 余亮.苹果砧木M9和M26快繁体系的建立及移栽生理研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.
- [17] 杨蕊.几种苹果矮化砧自根砧苗繁殖技术的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.
- [18] 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.

DOI:10.11937/bfyy.201604029

## 不同甜瓜材料白粉病抗性鉴定

王惠林<sup>1</sup>, 贾宋楠<sup>1</sup>, 郑健<sup>2</sup>

(1. 新疆农业大学 林学与园艺学院, 新疆 乌鲁木齐 830052; 2. 国家瓜类工程研究技术中心, 新疆 昌吉 831100)

**摘要:**以不同甜瓜材料为试材,采用田间自然发病和室内苗期人工接种2种方法,研究了88份甜瓜材料的抗病性,并对昌吉地区甜瓜白粉病生理小种进行鉴定,以比较不同甜瓜材料白粉病的抗病性差异,筛选优质的抗白粉病甜瓜资源。结果表明:昌吉地区甜瓜白粉病病原菌是单囊壳(*Podosphaera xanthii*)小种1,筛选出Km40、Vm12-21、Vm12-22、Vm12-23等14份抗病甜瓜材料。

**关键词:**甜瓜;白粉病;抗性鉴定;生理小种

**中图分类号:**S 652 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)04-0112-06

白粉病广泛发生于黄瓜、西瓜和甜瓜等葫芦科瓜类作物中,在法国、苏丹、美国、以色列、日本等国都有报道<sup>[1]</sup>。我国的瓜类白粉病病原菌主要属于白粉菌属二孢白粉菌(*Glonimomyces cichoracearum* D C ex Mecat)和单囊壳属单囊壳菌(*Podosphaera xanthii* (Schlecht. Ex Fr.) Poll.)<sup>[2]</sup>。发病初期,在感病植株的子叶、叶柄、叶

片和茎蔓上会有一层白色的粉状物,影响植株的光合效能和蒸腾效率,发病较严重的植株则黄萎、干枯死亡,使甜瓜的产量和品质严重下降<sup>[3]</sup>。以往的研究主要针对新疆4个有代表性的甜瓜产区甜瓜白粉病病原物分生孢子形态、萌发方式及鉴别寄主的反应等方面,以及对新疆甜瓜白粉病病原菌的种、专化型和生理小种进行鉴定,建立科学合理的抗病性鉴定方法。但由于甜瓜抗白粉病品种很少,成为抗病育种的瓶颈,因此,抗病材料的鉴定和发掘成为育种工作展开的基础和前提。现将苗期人工接种与田间自然发病相结合,比较了2种发病环境下88份甜瓜材料苗期发病情况,对甜瓜材料进行白

**第一作者简介:**王惠林(1971-),男,硕士,副教授,现主要从事西甜瓜抗病遗传育种等研究工作。E-mail:wanghuilin@126.com.

**基金项目:**国家科技支撑资助项目(2014BAD01B0805)。

**收稿日期:**2015-09-30

## Tissue Culture and Virus Elimination Technique for Apple Dwarf Rootstock

YANG Yanmin, WEI Yongxiang, LIU Cheng, ZHANG Duo, WANG Xingdong, LIU Youchun

(Liaoning Institute of Pomology, Yingkou, Liaoning 115009)

**Abstract:** Taking 'Mark 9', 'Liaozhen No. 2' and 'GM256' apple dwarf rootstock varieties which were commonly used in Liaoning as materials, the technique of tissue culture and heat treatment were studied to establish a rapid propagation system for virus-free apple dwarf rootstock. The results showed that for 'Mark 9', MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.1 mg/L and 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L were the best media for inducing, proliferating and rooting, respectively, induction rate was 85.7%; for 'Liaozhen No. 2', MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L and 6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L were the best media for inducing and proliferating, respectively, induction rate was 87.5%, the rooting medium same as 'Mark 9'; for 'GM256', MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L and 6-BA 0.8 mg/L+NAA 0.1 mg/L were the best media for inducing and proliferating, respectively, induction rate was 78.5%, the rooting medium same as 'Mark 9'. The heat resistance of 'Mark 9' was the strongest, followed by the 'GM256' and 'Liaozhen No. 2'. The effect of virus elimination was the best with heat treatment for 40 days, the virus-free rate were 53.33%, 66.67% and 71.43% for 'Mark 9', 'Liaozhen No. 2' and 'GM256', respectively. Treated for 5 minutes by 1 000×cytex, the survival rate of transplant were the highest, of which 93.33%, 92.00%, 87.50% for three varieties tested, respectively.

**Keywords:** apple; dwarf rootstock; tissue culture; rapid propagation; virus elimination