

茄子游离小孢子培养研究进展

王利英¹, 乔军¹, 石瑶¹, 李素文¹, 苗博瑛²

(1. 天津科润蔬菜研究所, 天津 300384; 2. 天津市林业果树研究所, 天津 300381)

摘要:单倍体育种是进行种质资源创新并快速固定优良性状的有效方法,而游离小孢子培养技术是获得单倍体的最佳途径。现从取材、预培养、游离、分化和再生5个方面综述了茄子游离小孢子培养胚胎发生及植株再生的影响因素,并针对茄子游离小孢子培养中存在的一些问题提出了今后的研究方向。

关键词:茄子;小孢子;游离;分化;再生

中图分类号:S 641.103.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)13-0190-05

单倍体育种是进行种质资源创新并快速固定优良性状的最佳途径,具有育种周期短、选择效率高、克服远缘杂交不亲和等优点。单倍体通过染色体加倍可以获得绝对纯合的双单倍体,是用作分子标记辅助选择和遗传图谱绘制研究的良好材料。特别是小孢子单倍体诱导技术,近年来已成为育种工作者研究的热点。现从取材、预培养、游离、分化和再生5个方面综述了茄子在游离小孢子培养过程中取材的季节,环境,预培养的温度控制、营养素和激素的调节,游离培养基的配制及不同游离方法的摸索,分化和再生培养的培养基配制及光温调节方案,并针对茄子游离小孢子培养中存在的一些问题提出了今后的研究方向。

1 取材

大量的研究表明茄子小孢子培养成功的前提条件是供试材料基因型是否合适,该结论也同样适用于十字花科芸薹属蔬菜等其它作物类型^[1-3]。Raina等^[4]最早通过花药培养技术得到了茄子单倍体植株,并发现基因型对产生单倍体的途径,胚状体或是愈伤组织,发生频率、形成时间以及植株再生能力等几个方面有重要影响。

除了材料的基因型起决定作用之外,供试材料的生长环境、生长状态等对小孢子培养试验的成败也起着重要的影响作用。张子君等^[5]认为,日温 25℃、夜温 13℃,

温差 10℃左右生长的供体植株,通过小孢子培养实现再生株的诱导频率最高,连续高温生长下的供体植株其诱导频率反而下降。尤其较差胚胎发生能力基因型供体植株的生长环境适宜程度明显影响胚产量。因此国外小孢子培养研究工作者将供体植株放在人工气候室里种植,严格控制光温条件。发现生长在人工气候室内的供试植株与温室植株比较,产生的小孢子细胞生理活性高、发育同步性强,而且产胚率还高^[6]。

Kristiansen等^[7]的研究显示,开花4周前采集的花蕾进行小孢子培养易于诱导出胚状体且质量最好,诱导率最高。因此供试植株的年轻度和健壮程度与胚状体产生有密切关系。Maheshwari等^[8]通过试验得出同样的结论,即健壮且生长旺盛植株的花药具有最大的孤雄生殖能力。从季节上,冬、春季更适于花药的培养可能是由于温度与光周期共同作用的原因。袁亦楠等^[9]指出低夜温可能改变了供体小孢子的发育方向,使小孢子偏离配子体发育方向并促使其脱分化形成胚状体。因此小孢子培养成功的先决条件是让合适基因型供体植株在温度适宜的环境下健康生长。宋彦平等^[10]通过研究发现,盛花期采摘的适宜茄子花蕾胚诱导率最高,始花期和末花期则低。

采集花药中小孢子所处的发育时期是影响游离小孢子成功与否的另一个关键因素,一般诱导小孢子形成愈伤组织或胚状体的最佳时期是单核期,但是佟曦然等^[11]发现单核期至双核早期的游离茄子小孢子均可发生脱分化。Sibi等^[12]指出,可通过形态学标志例如萼片与花瓣高度的比例关系确定小孢子发育处于单核期,但准确地鉴定发育时期仍需要通过显微镜检查。宋彦平等^[10]通过观察计数显微镜下视野中各个发育时期的小孢子比例,确定小孢子所处发育阶段与花蕾形态指标的

第一作者简介:王利英(1971-),男,硕士,副研究员,现主要从事茄果类育种等研究工作。E-mail:sxdtqj886@126.com.

责任作者:李素文(1965-),女,本科,研究员,现主要从事科研管理工作。E-mail:tjvri@126.com.

基金项目:天津市农业科学院院长基金资助项目(12007);天津市农业科技成果转化与推广资助项目(201304020)。

收稿日期:2015-01-26

关系。得出结论当花蕾瓣长与萼裂之比在 1.00~1.26 之间,花药颜色为黄绿或绿时,试验结果 78.0% 小孢子处于单核期,适于下一步培养。当花蕾瓣长与萼裂之比大于 1.26,花药颜色绿黄或黄时,81.5% 为成熟花粉,不适于小孢子培养。小孢子处于单核靠边期之前,对培养条件的诱导迟钝,不能很好启动胚胎发生途径;但是当小孢子发育到近成熟花粉时期时,由于雄配子体分化过度,诱导同样不能启动胚胎发生途径^[6]。

2 预培养

采集到单核靠边期的适宜基因型健壮花蕾,下一步就是预培养,包括高温处理、低温处理、高低温交替处理、饥饿处理以及化学处理等措施,旨在进一步提高胚状体或愈伤组织诱导频率。

连勇等^[13]通过将茄子花药接种至 MS 培养基中 36℃ 热激处理 6 d 后再进行小孢子游离纯化培养,发现可以显著促进小孢子脱分化。董艳荣等^[14]分析认为,热激处理促使花药的极性分布从形态上发生改变,改变了小孢子的分裂方式以及发育途径,导致小孢子配子体发育方向发生偏离。试验发现,经过 6 d 热激处理的小孢子群体膨大率最高且活力最高。为促进诱导小孢子离体形态发生,可以纯化游离膨大的小孢子,除去不膨大和衰败的小孢子。

Miyoshi^[15]通过试验发现,分离纯化后的茄子小孢子在不加蔗糖的培养基中 35℃ 预培养 3 d 才具有脱分化成愈伤组织的能力。试验证实先将高温预处理的小孢子在无菌水中游离培养 7 d 后再转到 KM 培养基中后续培养,可以诱导产生较多愈伤组织。Rotino 等^[16]同时采用蔗糖饥饿和高温进行前期处理,后期在添加蔗糖的 NLN 培养基继续培养得到大量愈伤组织。认为可能是饥饿处理阻碍了小孢子原有配子体发育途径及相关 DNA 的合成,最终促使雄核发育。相关研究表明变温处理有利于提高胚状体的诱导频率。一般认为,在黑暗条件下 33~36℃ 下培养若干天后转入 25℃ 下培养,会明显提高愈伤组织诱导效率。但如果长时间暗培养会影响愈伤组织的品质,因此需要适当补充光照,或者弱光下培养。

4℃ 预处理和无碳源培养可以保持小孢子一定的存活率,并有可能提高花粉生命力。Duncan 等^[17]认为,低温预处理除了可以延缓花粉退化,还能够诱导更多花粉启动新的细胞周期。Burgin 等^[18]通过低温处理烟草花蕾,发现小孢子分裂指数明显上升。低温和高温交替处理促进了小孢子脱分化的启动,愈伤组织诱导频率得以提高。短期的高温培养不仅可以提高出胚率,而且有利于愈伤组织的绿苗分化。通过药壁组织与小孢子共培养,愈伤组织诱导率可以快速提高,至第 8 天时,愈伤组

织诱导率达到最高。

3 游离

预培养结束后及时进行小孢子游离,包括游离方法的选择,培养基的配制、培养的温度和光照条件等,选择最合适的游离方案可以确保试验的成功。pH 值差异阶段培养有助于小孢子胚胎的诱导,Barinova 等^[19]开展烟草游离小孢子培养研究,发现在 pH 8.0~8.5 的 AT3 培养基中 25℃ 预培养 4~6 d,能明显促进启动孢子体发育途径,小孢子对称分裂显著增加,最后将小孢子转接至 pH 6.5 的 AT3 培养基中培养,就容易形成胚胎。

朱朝辉等^[20]通过试验证实激素、碳源与外部环境变化阶段培养有助于小孢子愈伤组织的诱导,先在添加 90 g/L 甘露醇、0.5 mg/L 2,4-D、0.2 mg/L NAA、0.2 mg/L 6-BA 的 1.5 NLN 培养基 35℃ 黑暗培养 4~6 d,随后等体积添加 60 g/L 的蔗糖培养基放于 25℃ 黑暗培养 3 d,再将 1 皿均分成 2 皿,每皿等体积添加 30 g/L 的蔗糖培养基,放置于 25℃ 黑暗培养 5~10 d 后可观察到愈伤组织。Rotino 等^[16]先在添加 0.01 mg/L 2,4-D 和 0.01 mg/L KT 的 C 培养基中培养小孢子,最后通过转入附加 0.1 mg/L KT 的 R 培养基中成功诱导出了愈伤组织。连勇等^[13]在添加 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 mg/L ZT 和 1.0 mg/L NAA 的 KM 培养基游离小孢子培养也获得了愈伤组织,但诱导率低于阶段培养。

Miyoshi^[15]研究发现在茄子小孢子诱导培养基中添加 0.5 mg/L 的 NAA 和 6-BA 培养效果较好。王凤华等^[21]以“三月茄”为试验材料,摸索到附加 0.2 mg/L 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基适宜茄子愈伤组织的诱导;佟曦然等^[11]游离小孢子培养用 MS 液体培养基为基本培养基,添加激素 2,4-D 0.1 mg/L 和 KT 1 mg/L,蔗糖或麦芽糖的浓度为 3%。宋彦平等^[10]以 KM 培养基为基础,研究愈伤组织诱导过程中激素的影响。试验结果表明,最适宜的激素浓度组合为 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 mg/L ZT 和 1.0 mg/L NAA,每个花药诱导率最高达到 2.45 个愈伤组织。范适^[22]研究诱导小孢子形成愈伤组织的各种培养基类型,发现附加了 0.2 mg/L 2,4-D、0.5 mg/L ZT、1.0 mg/L NAA 和 7.5% 葡萄糖的 KM 培养基诱导频率最高,也最适合茄子小孢子游离培养。

小孢子游离方法种类较多,大致可以分为 3 类。朱朝辉等^[20]是在 2 mL 附加 91 g/L 甘露醇的 B5 培养基中用研杆挤压花药游离小孢子,经 50 目无纺布过滤于 10 mL 试管,离心收集小孢子,重复 2 次。另一种游离培养方法是将悬浮液经 400 目尼龙网膜过滤到 10 mL 离心管后用 KM 液体培养基洗下尼龙网膜上的小孢子^[23]。第 3 种是自然散落法,花药在液体培养基经过一段时间的培养,药室自然开裂,小孢子从花药里散落出

来,把花药取出,制成小孢子悬浮液进行培养^[11]。自然散落不同于前2种机械分离^[24],小孢子是经胚状体的途径而非愈伤组织直接发育成植株。

佟曦然等^[11]将小孢子悬浮液接种在培养皿中放置于26℃散射光下进行静止或震荡培养。在液体培养基中培养4~7 d时,多数小孢子不断死亡,而少数存活小孢子的花粉壁开始变薄,中央液泡逐渐消失,原生质分布均匀,朝着胚状体途径发育。张玉苗^[23]认为在小孢子游离培养产生胚状体后,接出时间至关重要。若胚状体长时间停留在激素培养基中,会阻碍胚状体进一步生长发育,甚至会再愈伤化。李华等^[25]通过纯化有活力的小孢子,并重新调整细胞密度获得较好愈伤组织。

应用于小孢子培养的碳源主要包括蔗糖、葡萄糖和麦芽糖,其中蔗糖和葡萄糖的诱导效果最好,2%~4%蔗糖浓度即可诱导茄科植物小孢子分化^[14]。马欣等^[26]对茄子小孢子培养的试验证实葡萄糖诱导效果更佳。王烨等^[27]发现3%的麦芽糖处理辣椒小孢子培养效果最好。周广栋等^[28]采用3%的蔗糖处理诱导不同品种的番茄小孢子并获得成功。连勇等^[13]则通过添加6.5%的葡萄糖到KM培养基中获得了一定数量的愈伤组织。

在小孢子培养基中,激素是必不可少的重要成分,且经常使用的有生长素,如2,4-D、IAA、NAA等和细胞分裂素,如KT、ZT、6-BA,生长素主要用来诱导细胞分裂以及根分化,而细胞分裂素在促使细胞分裂、胚状体形成和愈伤组织生根生芽方面应用较广。在不定芽的分化过程中,范适^[22]发现ZT是一个十分关键的因素,较高浓度的ZT(2.0~4.0 mg/L)对不定芽的诱导有利。绿色且结构紧致的愈伤组织分化潜力较高,而黄白色和疏松的愈伤组织分化潜力极低。除了激素,维生素B₁与细胞分裂、愈伤组织活力有着密切联系,因为维生素B₁是所有细胞和组织必需的基本维生素。如果维生素B₁含量过低,胚或愈伤组织就容易褐变死亡。

有报道证实活性炭能够提高小孢子胚的诱导率^[29],因为可以吸附培养基、空气和试验材料所释放的抑制物质^[30],而且活性炭能吸附和清除小孢子脱分化时产生的有毒物质^[31]。花药组织在胚状体形成过程中也起着重要作用。在茄子小孢子培养试验中经常使用的策略是将小孢子与花药壁共生培养一段时间。范适^[22]将花药壁残渣放进液体培养基中与游离后代茄子小孢子共生培养7 d后取出,2个月后形成大量愈伤组织。马欣等^[26]同样将游离小孢子与花药壁组织共生培养7 d,也获得了较好的试验效果。试验证实小孢子与药壁组织共培养7 d,可以明显提高愈伤组织的诱导频率。

4 分化

佟曦然等^[11]报道液体培养基中愈伤组织转到固体

培养基上的标准是愈伤组织直径3 mm以上。20 d后当愈伤组织生长到一定大小时,分割成5 mm大小,再将愈伤组织转入分化培养基继续诱导植株再生。15~20 d继代培养一次,直到出现绿色芽点和生长出小叶。王凤华等^[21]通过试验摸索出适宜茄子继代保存的培养基为添加0.2 mg/L 6-BA、0.2 mg/L NAA和0.1 mg/L KT的MS培养基。

但是许多愈伤组织分化出芽存在障碍,成苗率低。Miyoshi等^[15]采用添加了4 mg/L ZT和0.2 mg/L IAA的MS培养基作为芽分化培养基,出芽后转入添加10 mg/L NAA的MS培养基诱导生根获得成功。Ku等^[24]经过试验摸索出适宜诱导芽分化的培养基为添加了0.005 mg/L NAA、1 mg/L 6-BA、1%蔗糖、0.2%活性炭和0.8%的琼脂培养基。有报道低浓度的IAA对不定芽的分化具促进作用,0.1 mg/L与0.2 mg/L的IAA诱导效果好于0.5 mg/L。对茄子小孢子培养而言,附加2.0 mg/L ZT和0.1 mg/L IAA的MS培养基是不定芽分化的最佳培养基配方^[22]。

范适^[22]将一定大小的愈伤组织从液体培养基转接到固液双层分化培养基上发现,小孢子诱导出的愈伤组织成活率从未转接对照的25%提高到70%。由于液固双层培养的愈伤组织生活条件仍然在液体中,没有发生改变所以不会影响其正常生长。1个月后随着蒸发及固体培养基的吸收,液层变薄直到最后消失,愈伤组织已经慢慢适应了固体分化培养基,可以继续正常生长分化。由于固液双层培养克服了常规接种造成的环境差异过大而大量死亡的弊端,因此获得了较高的成活率。

5 再生

由于茄子对培养基有较广的适应性,而且供试材料基因型存在差异,所以选择最佳的基因型材料是茄子离体再生体系构建的关键因素之一。经过花药培养和小孢子游离培养筛选出易诱导愈伤组织和胚状体的基因型材料,对这些易诱导材料进行再生培养研究,才能得到相对准确的再生培养基组成。单倍体再生途径分为器官发生途径和胚状体发生途径,不同形成途径再生体系完全不同,胚状体再生培养较愈伤组织再生容易。

连勇等^[13]将游离培养后产生的愈伤组织颗粒转接到添加2 mg/L ZT和0.1 mg/L IAA的MS培养基上,一段时间后即产生不定芽,然后将不定芽转接至附加IAA 0.1 mg/L的MS生根培养基上继续培养,最后形成小孢子再生植株。范适^[22]研究IAA浓度对不定芽生根的影响发现,0~0.5 mg/L IAA都能诱导不定根产生,但是0.1 mg/L IAA与无激素生根培养基效果最好,再生的根粗壮,须根也较丰富。

当小孢子经诱导后形成胚状体,且为子叶型胚时,

李春玲等^[32]直接将子叶型胚转接到添加 1%~3% 蔗糖的 1/2MS 培养基中 12~16 h 光照培养,就可得到正常再生植株。

6 小孢子培养中存在的问题和展望

小孢子培养技术在白菜、菜花、萝卜等蔬菜作物育种中广泛应用,明显缩短了育种年限。与十字花科蔬菜比较,茄果类蔬菜小孢子培养难度大,大多试验停留在愈伤组织或类胚状体阶段,成功应用的报道较少。主要原因是小孢子游离后胚诱导困难,诱导频率低,诱导出的胚状体发育能力较差,再生植株诱导频率更低。茄子小孢子培养依然存在基因型障碍,一部分关键育种资源因基因型不易诱导而出现小孢子培养诱导率低,发育迟缓甚至停滞,严重制约着该技术的应用推广。第二是小孢子游离后大量死亡,直接影响出胚率,导致茄子出胚率一般保持在 10% 以下。第三是茄子愈伤组织和胚状体分化出芽困难,影响植株再生。总之,关于茄子胚状体诱导,愈伤组织分化及胚状体植株再生有待于进一步研究,从根本上提高小孢子培养胚状体诱导率,获得单倍体株系。

参考文献

- [1] Sharma P, Rajam M V. Genotype, explant and position effects on organogenesis and somatic embryogenesis in eggplant[J]. Journal of Experimental Botany, 1995, 46: 135-141.
- [2] 余凤群, 刘后利. 供体材料和培养基类型对甘蓝型油菜小孢子胚状体产量的影响[J]. 华中农业大学学报, 1995, 14(4): 327-331.
- [3] 牛永超, 李加纳, 殷家明. 基因型和处理温度对芥菜型油菜小孢子培养的影响[J]. 西南大学学报, 2010, 32(8): 23-28.
- [4] Raina S K, Iyer R D. Differentiation of diploid plants from pollen callus in anther cultures of *Solanum melongena* L[J]. Pflanzenzüchtg, 1973, 70: 275-280.
- [5] 张子君, 徐矿红, 田云, 等. 辣椒花药培养诱导胚状体成苗[J]. 辽宁农业科学, 2000(4): 43-45.
- [6] 官春云. 油菜小孢子培养和双单倍体育种研究[J]. 作物学报, 1995, 21(6): 665-670.
- [7] Kristiansen K, Andersen S B. Effects of donor plant temperature, photoperiod, and age on anther culture response of *Capsicum annuum* L[J]. Euphytica, 1993, 67(1): 105-109.
- [8] Maheshwari S C, Tyagi K, Malhotra, et al. Induction of haploidy from pollen grains in Angiosperms the current status[J]. Theor Appl Genet, 1980, 58: 193-206.
- [9] 袁亦楠, 朱德蔚, 连勇, 等. 番茄游离小孢子培养形成胚状体的初步研究[J]. 农业生物技术学报, 1999, 7(1): 85-88.
- [10] 宋彦平, 申书兴, 王彦华, 等. 茄子游离小孢子培养获得愈伤组织的研究[J]. 河北农业大学学报, 2007(3): 32-35.
- [11] 佟曦然, 顾淑荣, 朱至清, 等. 茄子游离小孢子培养中小孢子发育的细胞学观察[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(5): 861-866.
- [12] Sibi M R, de Vaulx D, Chambonnet D. Obtention de plantes haploïdes par androgenesis *in vitro* chez le piment (*Capsicum annuum* L.) Ann. Amelior[J]. Plants, 1979, 29: 583-606.
- [13] 连勇, 刘富中, 陈钰辉, 等. 茄子体细胞杂种游离小孢子培养获得再生植株[J]. 园艺学报, 2004, 31(2): 233-235.
- [14] 董艳荣, 龚义勤. 茄果类蔬菜花药和花粉培养研究进展[J]. 长江蔬菜, 2001(5): 30-32.
- [15] Miyoshi K. Callus induction and plantlet formation through culture of isolated microspores of eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Plant Cell Rep, 1996(15): 391-395.
- [16] Rotino G L, Falavigna A, Restaino F. Production of anther-derived plantlets of eggplant[J]. Capsicum Newsl, 1987(6): 89-90.
- [17] Duncan E J, Heberl E. Effect of temperature shock on nuclear phenomena in microspores of *Nicotiana tabacum* and consequently on plantlet production [J]. Protoplasma, 1976, 90(3): 173-177.
- [18] Burgin J P, Nitosh J P. Obtention de *Nicotiana haploïdes* à partir de détermines cultivars[J]. Ann Physiol Veg, 1967(9): 377-382.
- [19] Barinova I, Clement C, Martiny L, et al. Regulation of developmental pathways in cultured microspores of tobacco and snapdragon by medium pH [J]. Planta, 2004, 219: 141-146.
- [20] 朱朝辉, 钟开勤, 黄建都, 等. 茄子游离小孢子培养初探[J]. 热带作物学报, 2011, 32(10): 1883-1887.
- [21] 王凤华, 李光远, 陈双臣, 等. 茄子愈伤组织诱导及悬浮细胞培养[J]. Agricultural Science and Technology, 2013, 14(9): 1220-1223, 1243.
- [22] 范适. 茄子小孢子培养研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2003.
- [23] 张玉苗. 不同茄子材料小孢子脱分化及影响因子研究[D]. 北京: 中国农业科学院研究生院, 2011.
- [24] Ku S J. Plantlets from isolated pollen cultures of eggplant (*Solanum melongena* L.) [J]. Acta Botanica Sinica, 1979, 21(1): 30-35.
- [25] 李华, 孙振英, 连勇, 等. 茄子小孢子热激效应和发育潜能的细胞学分析[J]. 种子, 2008, 27(10): 1-5.
- [26] 马欣, 申书兴, 连勇, 等. 茄子花药和游离小孢子培养技术研究进展[J]. 长江蔬菜, 2006(7): 39-41.
- [27] 王烨, 张宝玺, 连勇, 等. 不同预处理对辣椒小孢子存活率的影响[J]. 中国蔬菜, 2004(4): 4-6.
- [28] 周广栋, 王秀峰, 谢冰, 等. 番茄花药离体培养中低温预处理对小孢子发育的影响[J]. 中国农学通报, 2005, 21(2): 192-195.
- [29] Johansson L, Eriksson T. Effects of carbon dioxide in anther culture[J]. Physiol Plant, 1983, 59: 397-403.
- [30] Kohlenbach H W, Wernicke W. Investigations on the inhibitory effect of agar and the function of active carbon in anther culture[J]. F K Z Pflanzenphysiol, 1978, 86: 463-472.
- [31] Carlos J, Dias D S. Effects of activated charcoal on *Brassica oleracea* microspore culture embryogenesis[J]. Euphytica, 1999, 108: 65-69.
- [32] 李春玲, 邓晓梅, 朱至清, 等. 甜(辣)椒未成熟小孢子直接诱导萌发成植株的方法[P]. 2011, 发明专利.

Research Progress of Isolated Microspore Culture of Eggplant

WANG Liying¹, QIAO Jun¹, SHI Yao¹, LI Suwen¹, MIAO Boying²

(1. Tianjin Kernel Vegetable Research Institute, Tianjin 300384; 2. Tianjin Research Institute of Forestry and Pomology, Tianjin 300381)

DOI:10.11937/bfyy.201513054

苹果树腐烂病的防治研究进展

李 阳^{1,2,3}, 宋 素 琴¹, 王 静², 楚 敏¹

(1. 新疆农业科学院 微生物应用研究所, 新疆特殊环境微生物实验室, 新疆 乌鲁木齐 830091; 2. 新疆农业大学 食品科学与药学院, 新疆 乌鲁木齐 830091; 3. 新疆轻工职业技术学院, 新疆 乌鲁木齐 830021)

摘 要:苹果作为我国水果产业的主力军,在水果产业中发挥着举足轻重的作用,其产业发展不仅提高了农民经济收入、丰富了市场供给,而且加大开拓了国际市场力度。但近年来,苹果树腐烂病病势逐年严重,已成为制约苹果产业快速发展的重要因素之一。由于该病的复杂性,传统的方法在田间已不能彻底根治,因此,探索苹果树腐烂病高效防治技术成为生产上的亟待研究解决的重要课题。鉴于此,重点介绍了苹果树腐烂病的化学防治和生物防治研究现状。

关键词:苹果树腐烂病;病害;化学防治;生物防治

中图分类号:S 436.611.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)13-0194-04

苹果树在我国约有 2 000 余年种植历史,栽培面积和产量占世界总量的 45%左右;2012 年我国栽种面积为 257 万 hm²,产量为 3 960 万 t,比 2011 年产量提高了 350 万 t。其产区主要分布在西北黄土高原、黄河故道和秦岭北麓、西南冷凉高地和渤海湾、新疆阿克苏和伊犁等地。随着苹果产业在国内外的快速发展,近年来也面临着各种因素的制约。例如现有的栽培技术跟不上产业的发展、产后缺乏足够的处理措施、管理水平不高、病虫害灾害、老园陆续进入更新期等。其中苹果树腐烂病发病情况逐年严重,爆发时可能使整个果园受损,严重影响了苹果的质量和产量,也直接关系到果农的经济收入和该产业的发展。苹果树腐烂病病原菌是一种寄生性比较弱的真菌,但是该真菌生长顽固、反复,对果园有强烈的毁灭性,该病害已成为我国苹果产业的重要病害之一。各产区在采取相关防治方法的同时也在探索高效、

环保、高产的技能,鉴于苹果树腐烂病的危害性及防治的难度,重点研究了其物理防治、化学防治和生物防治的综合现状,以期为该病害的防治提供参考^[1]。

1 苹果树腐烂病的研究概况

1.1 苹果树腐烂病的症状、危害

苹果树腐烂病(*Valsa mali* Miyabe et Yamada)俗称烂皮病、臭皮病、串湿病等,是由苹果腐皮壳被病原菌感染引发的一种病害,该病症状常见的有枝枯型和溃疡型。在新疆阿克苏地区以干腐型为主。

日本于 1903 年第一次发现该病并进行报道。1928 年华盛顿爆发该病,面积达 90%,造成巨大的经济损失。1972 年北海道苹果树腐烂病大面积爆发,达 94.3%,大量果园被毁。而在我国,该病发病区域广泛,遍布了全国各产区,北部各产地尤其严重^[2]。1916 年在我国辽宁省南部区域发现苹果树腐烂病,1948—1949 年及 1960 年曾两度在辽南地区大肆横行,使大批果树死亡^[3]。1975 年后该病在河南省的发病程度逐年加重,发病率明显上升,发病面积逐渐扩大^[4]。1998 年青海省民和县苹果树腐烂病的发病面积达到了 375 hm²,一般果园的发病率达 12%,严重的达到了 45%,死亡率达到了 3.0%~5.0%^[5]。众所周知,陕西省是我国苹果产业的优生态

第一作者简介:李阳(1985-),女,硕士,讲师,研究方向为植物生理学。E-mail:1501740810@qq.com.

责任作者:宋素琴(1976-),女,硕士,副研究员,研究方向为微生物天然活性产物和植物病理学。E-mail:suqin_song@163.com.

基金项目:新疆科技援疆资助项目(201491150)。

收稿日期:2015-01-28

Abstract: Haploid breeding was an effective method for germplasm innovation and good traits fixation. Haploid was obtained mainly by the method of isolated microspore culture. This paper reviewed the factors affecting the microspore embryogenesis and plant regeneration of eggplant, such as materials, pretreatment, microspores isolation, differentiation and plant regeneration and discussed the future research direction according to the existing problems in the isolated microspore culture of eggplant.

Keywords: eggplant; microspore; isolated; differentiation; regeneration