

贡水白柚病毒病感染鉴定与脱毒情况简报*

刘英 杨方云 李太盛 唐科志 周彦 刘科宏 周常勇**

(中国农业科学院柑桔研究所 重庆 400712)

贡水白柚(原名宣恩白柚)是湖北省宣恩县的地方良种,是当地的重要农产品之一。生产中存在树势弱、产量低和品质下降等现象,果农的经济效益不高。笔者在田间调查中发现,柚矮化病为害可能是造成树势衰弱的重要原因,因此,通过病害鉴定和脱毒获得无病毒母树应是防治病害的必要步骤。为此,笔者应用指示植物、血清学和分子生物学方法对贡水白柚优良单株感染病毒病情况进行了鉴定,并应用热处理+茎尖嫁接对优良单株进行脱毒试验。

1 材料与方法

试材为2003年9月和2004年7月分别从宣恩县采回的8个贡水白柚优良单株(G1、G2、G3、G4、G5、G6、G7、G8)和6个优良单株(G9、G10、G11、G12、G13、G14)接穗。采回的接穗用链霉素700单位的酒精水溶液处理,嫁接繁殖于2年生卡里佐枳橙砧木上并倒砧,栽种容器为直径16 cm、高20 cm的盆栽钵。每个单株繁殖5株,热处理脱毒期间根据需要对某些单株进行再繁殖。

1.1 病毒病鉴定方法

用腊斯克枳橙指示植物^[1]和RT-PCR方法鉴定柑桔碎叶病毒(CTLV)^[2],用DTBIA和RT-PCR方法鉴定柑桔衰退病毒(CTV)^[3],用RFLP方法分析是否感染柑桔衰退病强毒系^[3]。

1.2 病毒病脱毒方法

用热处理+茎尖嫁接方法对病毒病进行脱除^[1],采用了两种方式:

方式一:将萌发了两次以上新梢的5个单株的后代共16株苗放入温室进行热处理,热处理条件为白天(8:00~18:00)35~40℃,晚上(18:00至次日8:00)25~30℃,自然光照。热处理1个月后,用萌发的2~3 cm嫩芽进行茎尖嫁接,砧木为卡里

佐枳橙。待茎尖生长并老熟后再嫁接于卡里佐枳橙上,总历时2.5个月。

方式二:为争取时间,冬季将植株直接放入光照培养箱进行热处理,7个后代单株共16株苗分两次进行,热处理条件为16小时光照(1000 lx, 40℃)和8小时黑暗(30℃)交替处理,总历时5.5个月。茎尖嫁接和再嫁接同方式一。

1.3 脱毒效果鉴定

用DTBIA方法鉴定衰退病。

2 结果与分析

2.1 贡水白柚单株感染病毒病情况

鉴定结果看出,田间调查发现贡水白柚表现由衰退病毒引起的柚矮化病症状,指示植物鉴定明确未感染碎叶病,DTBIA方法检测和RFLP方法分析表明均感染了衰退病毒强毒株系(CTV-SP),由此证实贡水白柚树势衰弱是由衰退病毒强毒系造成的(见表1)。

表1 贡水白柚病毒病鉴定结果

单株	柑桔碎叶病	柑桔衰退病	柑桔衰退病强毒系
G1	-	+	+
G2	-	+	+
G3	-	+	+
G4	-	+	+
G5	-	+	+
G6	-	+	+
G7	-	+	+
G8	-	+	+

注:-表示不带病,+表示带病。

* 该项工作得到中国农业科学院基金项目专项(2003-2005)“贡水白柚提纯复壮关键技术研究”的支持。

** 通讯作者, zhouchou@swu.edu.cn

4 合理确定果实采收时间是核心

留树贮藏期间,果实都已完全成熟,表现出该品种固有的品质。因此,一定要根据市场需求确定果实采收时间。如,秭归罗伯生脐橙果实留树贮藏时间一般不宜超过1月15日,弗罗斯特、纳维林娜最迟为1月下旬至2月中旬,红肉脐橙可延长到2月

下旬至3月上旬。总之,留树贮藏果实均应在萌芽开花前采收为宜,既不影响第二年的产量,又可保证留树贮藏技术实现效益最大化。

收稿日期:2006-03-21

2.2 贡水白柚热处理+ 茎尖嫁接脱毒情况

试验结果看出, 热处理了 18 株苗, 共萌芽 50 个, 分别获得试管茎尖苗和再嫁接苗 10 株和 9 株 (见表 2)。在实际处理中发现, 处理初期萌芽较多, 处理时间过长 (2 个月以上), 基本上不再萌芽。

在获得的 9 株茎尖再嫁接苗中, 对 36 株已经成苗的茎尖嫁接苗进行了 DTBIA 方法鉴定, 检测表明, 这 6 株贡水白柚已脱掉柑桔衰退病毒。

表 2 贡水白柚热处理+ 茎尖嫁接脱毒情况

单株	热处理株数/株	萌芽数/个	试管茎尖苗数/株	再嫁接苗数/株	柑桔衰退病
G1	4	11	2	2	-
G6	2	1	1	1	-
G7	2	7	1	1	-
G9	2	15	2	2	-
G10	4	1	1	0	-
G13	2	3	1	1	-
G14	2	6	2	2	-
总计	18	50	10	9	

注: - 表示不带病。

3 结论与讨论

通过病毒病鉴定证明, 贡水白柚树势衰弱, 产量低的问题主要是由于携带了衰退病强毒系造成的。这与周常勇等鉴定的达川凤凰柚、三台台北柚等袖矮化病的病因一致^[4]。

通过热处理+ 茎尖嫁接方式获得了无病毒的贡水白柚苗。热处理中, 贡水白柚存在前期萌芽较后期多的现象, 处理时间过长时, 植株会出现叶片黄化、不再萌芽的情况。因此, 在袖类的热处理过程中, 应该考虑热处理温度范围对植株生长情况的影

响, 以保证植株在热处理后, 茎尖嫁接的芽仍有较高的萌发抽生能力。

传统的热处理方式是将植株直接放在玻璃温室里, 采用空调或热风机进行加热。优点是一次性可以处理大量植株, 但是存在较多弊病, 夏季温度过高, 容易造成袖类等不耐热品种死苗等后果; 冬季温度达不到热处理要求且耗电量特别大。贡水白柚在热处理的过程中, 有的单株就因为植株生长情况不良或在热处理过程中发生流胶、黄化、落叶和枯死等现象而被迫终止热处理, 进行继续热处理的单株萌芽率也较低。以往对其他袖类进行热处理过程中, 也出现过类似问题。因此, 参照过去对其他袖类热处理的经验, 在热处理时如果能够使用 2~ 3 年生或树龄更长的生长良好的植株, 并提前 1 个月移栽于大盆钵中以备热处理, 可促进植株树势健壮并增强耐热性。

茎尖嫁接中发现, 袖类较其他品种的生长点和叶原基稍大, 在切取茎尖时, 应比甜橙等品种的茎尖稍大, 对病毒脱除率影响不大, 并且可以提高茎尖嫁接试管苗的成活率。

参 考 文 献

- [1] NY/T 974—2006. 柑桔苗木脱毒技术规范
- [2] 唐科志, 周常勇, 王雪峰, 等. 利用 RT-PCR 检测柑桔碎叶病毒的研究. 中国植物病理学会 2005 年学术年会论文摘要集: 63
- [3] 唐科志, 周常勇, 周彦, 等. DTBIA 和 RFLP 技术在柑桔衰退病弱毒系筛选中的应用. 云南农业大学学报(自然科学版), 2003, 18(增刊): 102~ 103
- [4] 周常勇, 赵学源, 蒋元晖, 等. 袖矮化病调查和病原鉴定. 中国南方果树, 1998, 27(3): 27~ 28

收稿日期: 2006-06-06

欢迎订阅 2007 年《果树学报》

《果树学报》是中国农业科学院郑州果树研究所主办的国家级学术期刊, 中文园艺学核心期刊, 中国科技核心期刊, 已被美国化学文摘、俄罗斯文摘杂志、英国 CABI 等 20 余种国内外重要检索系统与数据库收录。据《中国科技期刊引证报告》(2004 年版)统计结果, 《果树学报》的影响因子达 0.704, 已成为国内外有影响的学术期刊之一。《果树学报》着重选发密切结合我国果树科研、教学、生产实际, 反映学科学术水平和发展动向的优秀稿件, 及时报道重大科研成果、阶段性成果和科研进展情况。栏目

设置有研究论文、专论与综述、研究报告、技术与方法、新品种选育快报及信息快递等; 内容包括生物技术、品种与种质资源、生理与栽培、土壤与肥料、植物保护、贮藏加工等。读者对象为果树学科的科研人员、高等农业院校师生及基层果树管理技术人员。

本刊为双月刊, 2007 年每期 128 页码, 定价 15 元, 全年 6 期共 90 元。邮发代号: 36-93, 国际代号 BM/1107。欢迎投稿, 欢迎订阅。

编辑部地址: 中国农业科学院郑州果树研究所
邮编: 450009

电话: (0371) 65330927/ 28

传真: (0371) 65330982

E-mail: chinagsxb@163.com