

建立柑桔无病采穗母本园和培育无病苗的试验报告*

林先沾 柯 冲

(福建省农业科学院果树所)

提 要

种植无病苗是综合防治措施中的一个关键环节,可以使新区不发生黄龙病及其他病毒病,使老病区新果园减少或消灭发病中心,减轻为害。

1978年以来,在我省闽侯县南屿乡村下村隔离山地,从事建立柑桔无病中心采穗母本园及培育无病苗的研究。在19个柑桔优质、丰产及外表健康的单株中,通过湿热空气、抗生素及茎尖微芽嫁接的脱除病原处理和生物测定、电镜检查及血清测定的鉴定后,选出11个无病单株,繁育了无病母本树共3897株,定植于无病中心采穗母本园中。1984年,与省农业厅及市、县农业局合作,分别在长泰县、永春县和三明市建立三个市、县级无病采穗母本园,种植各种柑桔无病母本树分别为1880株、1825株及3200株。迄今,上述各级采穗母本园里的柑桔单株母本树10802株,有的已定植5~6年,已开始采穗、采果,均生长良好,无发现黄龙病及其他异常表现。从无病母本树采穗繁育的苗木同样是无病的。四年内,在各地推广种植无病苗约两万多株,均无发现黄龙病。

黄龙病是柑桔生产上最危险的一种传染病。长期以来,在福建、广东、广西和台湾四省(区)的柑桔产区猖獗为害^{[1]、[2]、[9]、[18]}。近几年来,本病有扩大蔓延的趋势,在四川、贵州、云南、湖南、江西和浙江等省的局部柑桔产地相继发生,严重威胁着我国柑桔业的发展。

多年来,我国对柑桔黄龙病的研究取得很大成绩。阐明了本病不是病毒病,而是一种原核微生物引起的病害^{[8]、[11]},可由苗木、接穗和木虱传播^{[6]、[7]、[10]、[15]}。在实验室条件下,还可用兔丝子为桥梁,将黄龙病病原从柑桔传到草本植物长春花上^[16]。还证明挖除病株的防病作用和喷药防除传病昆虫的抑制蔓延作用,及用湿热空气(49℃,50分钟)和四环素(1000ppm,2小时)处理接穗的抑制发病作用等等^{[3]、[5]、[12]、[13]、[14]}。根据本病的病原性质,传染途径和防治试验的结果,我们认为防治黄龙病采用实施检疫、种植无病苗、挖除病株和防除传病昆虫等综合措施是有效的,也是可行的。由于种植无病苗可以保护新区不发生黄龙病,可以降低或消灭旧病区新果园的发病中心,减轻为害,达到逐步改造旧病区的

* 本文在北京召开的全国植物病理学术讨论会上宣读(1985)。

1986年9月2日收到。

目的。所以种植无病优质苗木确是综合防治中最关键的一个环节。多年来,我省积极开展建立无病苗圃和培育无病苗的研究,但因育苗思想不统一,只注意苗木园艺性状的选择,忽视对苗木无病性质的要求,尤其是缺乏可靠的脱毒处理和鉴定的办法等原因,以致初步建立的无病苗圃都因不同程度地发生黄龙病而相继失败了。近几年来,我国广大农村为了实现“四个现代化”,对农业产业结构进行改革与调整,掀起大力发展水果生产的高潮。为了适应这一新形势,提供大量优质无病苗木实为当务之急。为此,从1978年开始,我们开展建立柑桔无病采穗母本园,培育无病母本树和无病苗的探索研究。

一、建立无病中心采穗母本园

1980年,在闽侯南屿乡村下村的湾头山无病母本园的基础上^[17],选择水头际、水竹尾山地约400亩,周围2~3公里内无柑桔生长的隔离山地,开园建立无病中心采穗母本园。园的四周种防风林(木麻黄、杉树、竹及美国松等),园内每隔5个梯台种一行防风林。收集的柑桔品种是以我省主栽品种包括雪柑、福桔、芦柑为主,其次是新会橙、蕉柑、温州密柑和本地早等。从各地选各品种的优良单株(丰产、优质、外表健康)(少数为单株的嫁接苗)上采接穗培育无病嫁接苗。无病嫁接苗的接穗用肥皂水洗刷和链霉素(700单位)处理后,再分别经过湿热空气(47~49℃, 50分钟),四环素(1000ppm, 2小时)脱毒或采用茎尖微芽嫁接脱毒处理。砧木以福桔为主,茎尖微芽嫁接的砧木则采用枳壳或枳橙。砧木种子均经55~56℃, 50分钟的热水处理后播种培育的。供茎尖微芽嫁接用的砧木种子,处理后则保存在冰箱中备用。

鉴定无病嫁接苗是以无黄龙病为主。其次,无衰退病和裂皮病,并争取无溃疡病。除溃疡病靠现场肉眼检查外,其他病害的检查标准有四项:(一)检查采穗的母树单株三年内无发现黄龙病、衰退病及裂皮病的典型病状。母树从采穗当年算起,每年在秋、冬季田间黄龙病病状最明显时期进行检查,连续三年,均无发现病状并表现良好的园艺性状者。(二)嫁接苗电子显微镜检查,无发现原核微生物和线状病毒质粒者。采用常规方法,取嫁接苗的叶脉制成超薄切片样本,在电镜下检查。(三)嫁接苗生物学测定表现阴性反应。以种子经55~56℃, 50分钟的热水处理后繁育的芦柑实生苗(对黄龙病)、尤力克柠檬实生苗、墨西哥莱檬实生苗或嫁接苗(砧木为福桔)(对衰退病)以及香椽 Arizona 861-S-1选系嫁接苗(枳壳砧木)或扦插苗(对裂皮病)为鉴别植物,分别用腹贴接法,每株嫁接二个被测定嫁接苗的芽或梢(长10厘米,带芽,对黄龙病),每个单芽样本嫁接3~5株鉴别植物。生物测定观察期为三年,在芦柑苗上无黄龙病病状表现,在尤力克柠檬和墨西哥莱檬苗上无衰退病病状,而在香椽 Arizona 861-S-1苗上无裂皮病病状者。(四)抗衰退病的血清测定无阳性反应者。方法是在嫁接苗上取春梢茎皮,经干燥后,应用美国农业部园艺实验室制备的柑桔衰退病抗血清进行酶联法测定^[19]。完全符合上述四个条件要求的嫁接苗,定为无病基础苗。无病基础苗除保存二株在防虫网室外,其余繁育后在隔离的中心采穗母本园或采穗母本园内定植,称为无病母本树,专为注册苗圃培育无病苗提供可靠的无病接穗。注册的无病苗圃采用无病接穗嫁接在种子经热水处理的砧木上,大量繁育无病嫁接苗,供生产单位及专

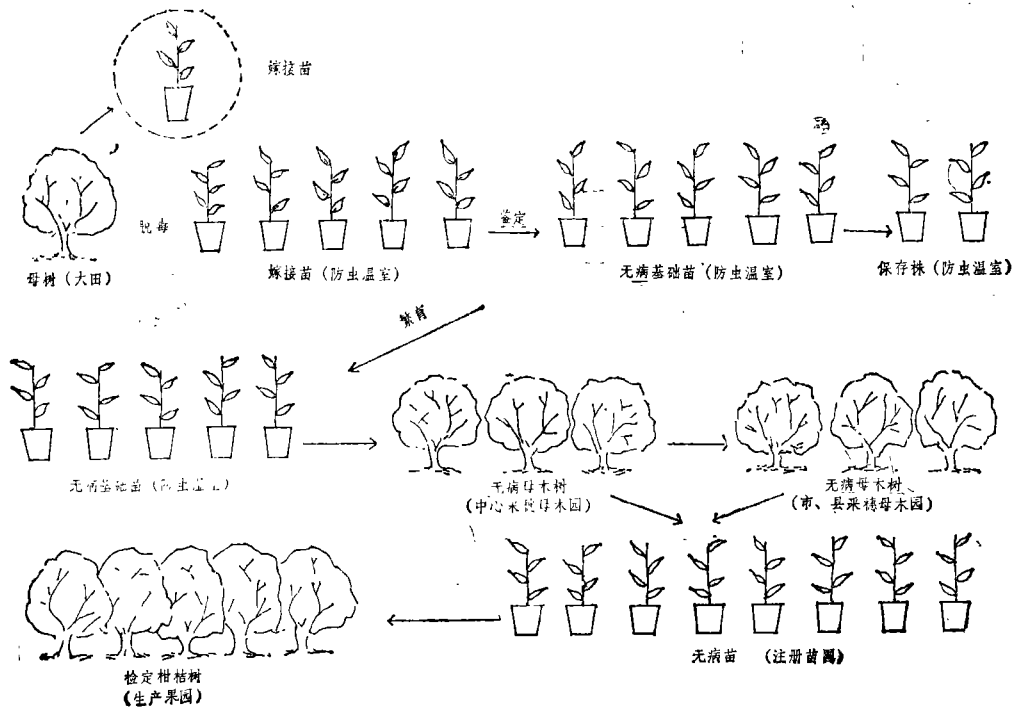


图 1 培育无病采穗母本园和无病苗的示意图

业户 (见图 1)。

从1979年以来,我们从各地选择了19个柑桔优质、丰产和外表健康的单株,包括村下雪柑、太平塍雪柑4号、太平塍甜橙4号、少核雪柑、大果型新会橙、火石暗柳、太平塍福桔、北碚福桔1号、北碚福桔2号、北碚福桔3号、百年桔、天马芦柑、火石芦柑2号、火石芦柑3号、火石桶柑、南靖无核芦柑、回密28号、温密3号以及本地早等。各单株的接穗先用肥皂水洗刷及链霉素处理后,分别用四环素湿热空气(或茎尖微芽嫁接法)进行脱毒处理后,嫁接在种子经热水处理长大的砧木上。各单株嫁接苗经过上述四个标准鉴定后,选出11个单株包括村下雪柑、太平塍雪柑1号、新会橙(大果型)、火石暗柳、少核雪柑、太平塍福桔、北碚福桔2号、百年桔、天马芦柑、南靖无核芦柑、蕉柑的无病基础苗。在1981年,在上列无病基础苗中,经繁育后定植到无病中心采穗母本园的有村下雪柑(1100株)、太平塍雪柑1号(392株)、新会橙(大果型)(941株)、火石暗柳(43株)、太平塍福桔(299株)、北碚福桔2号(130株)、百年桔(247株)、天马芦柑(330株)、蕉柑(415株)等9个单株。共计3897株,这些无病母本树生长良好,未发现可疑的病状(见表1)。

二、建立地(市)、县级无病采穗母本园

1984年,省农业厅和省农科院联合成立柑桔无检疫性病(虫)良种苗木开发研究小组,

表 1 十一个单株无病基础苗的鉴定结果及其在中心采穗母本园里的表现*

单株名称	脱毒方法	嫁接苗代表株四项标准鉴定				在中心采穗母本园里的表现			
		母树 病状观察	电镜 病原检查	鉴别 植物测定	衰退病 血清鉴定	株数	检查日期	黄龙病	溃疡病
村下雪柑	四环素	—	—	—	—	700		无	无
	湿热空气	—	—	—	—	400	1985年8月3日	无	无
	茎尖嫁接	—	—	—	—	0	0	0	0
太平塍雪柑 1 号	四环素	—	—	—	—	392	1985年8月3日	无	无
火石暗柳	湿热空气	—	—	—	—	43	1985年8月3日	无	无
	四环素	—	—	—	—	43	1985年8月3日	无	无
新会橙(大果型)	湿热空气	0	—	—	—	941	1985年8月3日	无	无
少核雪柑	茎尖嫁接	—	—	—	**	0	0	0	0
太平塍福桔	四环素	—	—	—	—	299	1985年7月16日	无	无
北碚福桔 2 号	四环素	—	—	—	—	130	1985年7月16日	无	无
百年桔	四环素	—	—	—	—	247	1985年7月16日	无	无
天马芦柑	四环素	—	—	—	—	330	1985年7月16日	无	无
	茎尖嫁接	—	—	—	**	0	0	0	0
南靖无核芦柑	茎尖嫁接	—	**	**	**	0	0	0	0
蕉柑	湿热空气	0	—	—	—	415	1985年7月16日	无	无

* 鉴定不合格的 8 个单株未列入；** 表示正在鉴定中；— 表示无病状、病原或阴性反应；0 表示未进行。

采取与所在市县合办的办法积极进行培育无检疫性病(虫)良种苗木的开发研究。在漳州市的长泰县及三明市的小蕉和泉州市的永春县建立三个市县级无病采穗母本园。它们所需的无病基础苗全部由村下无病中心采穗母本园供应,严格执行建园的隔离、防疫等生态条件和管理技术的要求,建成后负责供应所在市县注册苗圃的无病良种接穗,或直接向生产单位与专业户供应无病苗木。

在1984年及1985年冬,长泰县母本园,已种植芦柑740株,蕉柑1400株,村下雪柑270株,大果型新会橙330株,福桔140株。永春县母本园已种植村下雪柑1000株,芦柑575株和蕉柑100株,大果型新会橙150株。三明市小蕉母本园已种植村下雪柑3000株,福桔100株,大果型新会橙100株。迄今,上列各种柑桔母本树均生长良好,未发现黄龙病及溃疡病。

三、建立无病苗圃和培育无病苗

1980年,在闽侯县南屿乡村下村水头际及水竹尾山脚处的火灰楼奎建立无病苗圃,面积约10亩,无病苗第一批砧木是枳壳(种子采集于闽侯县廷坪乡廷坪村),后发现村下雪柑、新会橙以及蕉柑等嫁接在枳壳砧木上的苗木有少数表现叶脉黄化、矮化象是不亲和引起的症状,而且枳壳砧容易感染裂皮病,所以后来各批改用福桔做砧木。砧木种子均用热水处理后播种,在苗圃里生长一年后进行嫁接。接穗全部由中心采穗母本园供应。嫁接按常规管理一年至一年半出圃。第一批1981~1982年出圃苗木5000株,其中村下雪柑4610株,大果型新会橙290株,太平塍雪柑1号100株。第二批1983~1984年出圃苗木6570株,其中村下雪柑

6120株, 太平塍雪柑1号100株, 大果型新会橙200株, 百年桔150株。

第三批1985~1986年出圃苗木3815株, 其中村下雪柑2405株, 暗柳橙160株, 福桔1200株, 芦柑50株。这些苗木分配给农场、村及专业户种植, 迄今均未发现黄龙病及衰退病现象。但有二个村(村下村和双龙村)由于隔离条件不好, 把无病苗和外来的其他柑桔苗混种在同一果园里, 因此第一批种植的村下雪柑也发生溃疡病(表2)。

表2 无病苗种在各地果园的表现

品种名称	批号*	数量 (株)	地 点	隔 离 条 件	检 查 日 期	病 虫 害 发 生 情 况	
						黄龙病	溃疡病
村 下 雪 柑	第一 批	3800	村 下 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	有
		500	双 龙 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	有
		200	双 溪 村	好	1984年2月	无	无
		110	南通专业户	好	1984年2月	无	无
	第二 批	3500	村 下 村	与其他苗木混种	1985年8月10日	无	无
		400	双 龙 村	与其他苗木混种	1985年8月10日	无	无
		620	长乐专业户	好	1984年2月	无	无
		1600	仙游专业户	好	1984年3月	无	无
	第三 批	1905	宁德东湖扩华侨农场	好	1986年5月27日	无	无
		500	建瓯城关镇联合体	好	1986年3月21日	无	无
太 平 塍 雪 柑 1 号	第一批	100	村 下 村	与其他苗木混种	1985年8月10日	无	无
	第二批	100	村 下 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	无
大 果 型 新 会 橙	第一批	100	村 下 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	无
		100	双 溪 村	好	1984年3月	无	无
	第二批	200	村 下 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	无
百 年 桔	第二批	150	村 下 村	与其他苗木混种	1985年3月10日	无	无
暗 柳 橙	第三批	160	宁德东湖扩华侨农场	好	1986年5月27日	无	无
福 桔	第三批	1200	宁德东湖扩华侨农场	好	1986年5月27日	无	无
芦 柑	第三批	50	建瓯城关镇联合体	好	1986年3月21日	无	无

* 第一批1981年冬或1982年春出圃; 第二批1983年冬或1984年春出圃; 第三批1985年冬或1986年春出圃。

四、讨 论

本试验结果, 从19个不同品种或品系的柑桔单株中, 得到9个单株的无病基础苗。初步证明以外观健康、优质、丰产的母树上采下的接穗, 用湿热空气(47~49℃, 50分钟)、四环素(1000ppm, 2小时)、湿热空气和四环素或茎尖微芽嫁接方法脱毒后, 嫁接在其种子经热水处理(55~56℃, 50分钟)的砧木上育成的嫁接苗中, 可能获得部分无黄龙病、无裂皮病、无衰退病的苗木。由于我省普遍发生裂皮病, 因此后来主要采用茎尖微芽嫁接的脱毒

方法, 培育嫁接苗。经脱毒处理育成的嫁接苗, 必须通过母树三年观察, 电镜病原检查, 鉴别植物测定或衰退病血清测定的鉴定。才能证明是可靠无病的, 方可作为无病基础苗, 用于建立无病采穗母本园。然后, 用无病母本树的接穗供应注册苗圃培育无病苗则同样是可靠的无病苗。但是, 从1981年定植的无病母本树和无病苗发生病害情况来看, 凡是隔离条件好, 严格执行防疫规定的, 不论村下采穗母本园定植3897株, 或是双溪村定植300株, 南通专业户定植110株等, 5年来不仅没有发生黄龙病及其他衰退现象, 也没有发现溃疡病。而隔离条件不好, 不注意防疫工作, 将无病苗与外来的其他柑桔苗混种的村下村、双龙村等, 虽然尚未发现黄龙病, 但都不同程度发生溃疡病。为了保证采穗母本树和无病苗不受外来病害的侵染, 长期保持无病状态, 必须严格维护无病采穗母本园和注册苗圃的隔离条件不受破坏, 禁止群众及村在附近建立生产果园, 并要严格执行防疫规定。我们完全同意建立无病母本园或苗圃的成败, 完全取决于环境隔离条件的好坏, 繁殖材料脱毒是否彻底与防疫工作是否严格的论点(4)。所以, 建立无病母本园与无病苗圃, 不是使用无病基础苗和无病苗就万事大吉, 可以高枕无忧了, 而是要做长期的、细致的保护隔离条件和严格执行防疫规定。因为无病基础苗和无病苗只是不带病, 在某种质遗传性中尚未发现有抗病基因存在。所以, 仍然会被外来的病原所侵染。但我们不同意有人认为既然无病基础苗和无病苗不抗病, 还会被传染发病, 就不重视和严格执行这项任务的论点。这种论点不是从实际出发, 实事求是的, 而是有害的, 忽视和放松对工作的认真, 严格要求。

用湿热空气处理接穗, 虽然能脱黄龙病病原, 但因嫁接成活率很低, 在生产上难以推广。四环素处理接穗, 虽能脱黄龙病病原, 但在大量实践中, 往往不能百分百收效。所以四环素处理接穗培育嫁接苗不及从无病母本树上采穗育苗可靠。不论湿热空气或四环素处理接穗都不能脱衰退病毒或裂皮病类病毒。所以, 从脱毒的范围及效果看, 今后应推广茎尖微芽嫁接的脱毒办法。

无病基础苗、无病苗的鉴定方法也是十分重要的, 从试验采用的母树病状观察, 电镜病原检查, 鉴别植物测定和血清测定的四项鉴定方法分析, 以鉴别植物检测和血清测定的准确性最高, 尤其血清测定又快又准, 但目前不是所有柑桔病毒病的病毒都能被提纯、制成抗血清。所以进一步研究各种病毒、类病毒及原核微生物引起病害的早期诊断办法, 是十分迫切的任务。

苗木的好坏是影响一个果园的成功与未来柑桔业发展的关键。目前柑桔商品苗木生产问题十分突出。苗木质量无保证。成活率低。品种混杂不纯, 带危险性病害率高。所以对苗木商品生产要立“法”, 保证苗木按规定的操作技术繁育和保证质量, 禁止繁育和出售假、劣、病的苗木。为此, 建议各省根据柑桔区域计划的要求, 可以建立一个省级无病中心采穗母本园, 几个市、地级无病采穗母本园和若干个注册苗圃。省级无病中心采穗母本园技术力量要强, 能胜任脱毒、鉴定等技术工作, 以及负责向市、地级无病采穗母本园提供建园的无病基础苗(省农科院、或省农学院与农业厅联合组建), 市地级无病采穗母本园向注册苗圃提供接穗和技术指导(由市地农科所与农业局联合组建)。注册苗圃必须经过省农业主管部门审查批准, 接穗由无病母本园供应, 在技术部门监督下进行育苗, 才能保证苗木的纯度、质量和无病。

参 考 文 献

- [1] 林孔湘, 1956, 柑桔黄梢(黄龙)病研究Ⅱ关于病原的探讨。植物病理学报 2(1): 13~42。
- [2] 林孔湘, 1957, 对柑桔(黄梢)黄龙病为什么要采取检疫措施。华南农业科学 1: 46~47。
- [3] 林孔湘, 駱学海, 1965, 柑桔黄梢(黄龙)病热治疗的初步研究。植保学报 4: 169~175。
- [4] 林孔湘等, 1982, 柑桔无病虫栽培试验初报。植物保护学报 9(1): 1~8。
- [5] 广西柑桔黄龙病研究小组, 1976, 柑桔黄龙病的病原和利用四环素、土霉素的防治试验。柑桔科技通讯 3: 28~31。
- [6] 广西柑桔黄龙病研究小组, 1977, 柑桔木虱和柑桔黄龙病。柑桔科技通讯 3~4: 23~34。
- [7] 广东农林学院植保系植病教研组, 1977, 柑桔木虱传递柑桔黄龙病试验初报。广东农业 6: 50~51, 53。
- [8] 柯冲等, 1979, 柑桔黄龙病与类立克次体及线状病毒的研究初报。科学通报 10: 463~466。
- [9] 柯冲等, 1979, 柑桔黄龙病的病原研究与防治建议。中国柑桔 3: 29~34。
- [10] 柯冲等, 1980, 木虱传递柑桔黄龙病类立克次体研究。福建农业科技 4: 10~11。
- [11] 陈作义等, 1980, 柑桔黄龙病病原体及其对抗生素反应的研究。生物化学物理学报 12(2): 143。
- [12] 陈乃荣等, 1981, 盐酸四环素等药物对柑桔黄龙病治疗效应。植物保护学报 18(3): 163~69。
- [13] 赵学源等, 1981, 柑桔黄龙病对青霉素和四环素的反应。中国柑桔 4: 17。
- [14] 龙钦贤等, 1981, 加压注射四环素抗生素治疗柑桔黄龙病的效果。中国柑桔 1: 29~30。
- [15] 戴月明等, 1982, 柑桔黄龙病传递昆虫木虱的研究。中国柑桔 3: 1~2。
- [16] 柯穗等, 1985, 将柑桔黄龙病病原从柑桔转移到长春花上。农业科技情报 2: 1~2 (1985, 1.30)。
- [17] 林先沾、柯冲, 1985, 建立无病母本园及培育无病苗的试验初报。福建农业科技 2: 2~6。
- [18] Su H. J. and S. C. Lea, 1972. Study on the pathogen complex causing Likubin of citrus in Taiwan. 1 Nature of mycoplasma-like organism associated with the disease. Proc. Natl. Soc. Coun. 5: 109~126。
- [19] Ke, C., S.M. Garnsey and J.M. Tsai, 1984. A Survey of citrus tristeza virus in China by enzyme-linked immunosorbent assay. Proc. of Ninth Conference of IOCV, 70~75。

A PRELIMINARY STUDY ON THE ESTABLISHMENT OF DISEASE-FREE MOTHER TREES AND NURSERY TREES OF CITRUS IN FUJIAN PROVINCE

Lin Xanzhan and Ke Chung
(*Fujian Academy of Agricultural Sciences*)

ABSTRACT

The integrated disease management of practicing severe quarantine, cultivating disease-free nursery tree, eradicating diseased plants and killing vectors is the effective measure to control citrus yellow shoot disease and other virus diseases. Planting disease-free nursery tree is the key of control measures, because it can prevent the citrus tree in new areas from yellow shoot disease and reduce or eradicate infection centre in the new citrus orchards of the old diseased areas.

From spring of 1978, we began the research work on establishing disease-free mother trees and nursery trees in a well isolated place in Min-Hou county of Fujian province. Parent source trees were selected from various citrus areas in Fujian. Most parent source trees were chosen for true-to-type, good fruit production and very healthy in appearance. The budsticks taken from each parent source tree were treated by hot-moist air, antibiotic and tip-stem micrograft for an attempt to eradicate yellow shoot pathogen and other virus carried. The treated bud was grafted on the rootstock grown from seed which was disinfected by hot water treatment for propagating mother tree candidates. The mother tree candidates were indexed by three ways of electron microscope examination, biological test and serological test for detection of virus and virus-like pathogen, such as yellow shoot procaryote, tristeza virus and exocortis virosis which have been known in China. Buds were taken from these disease-free mother trees in the following year for propagating disease-free nursery trees by grafting them on rootstocks growing from hot water treated seeds (see Fig. 1). By the spring of 1983, 11 of 19 parent source trees, namely sweet orange CV. Snow, sweet orange CV. Tai 1, sweet orange CV. Shenghui, sweet orange CV. Liu, sweet orange CV. Shu Hou,

mandarin CV. Bei-keng 2, mandarin CV. Bei-Lan, mandarin CV. Tai 1, Ponkan CV. Tin-Ma, ponkan CV. Nan-Jen and Tankan, were chosen and used as disease-free mother trees, and planted in the mother tree foundation in Min-Hou county. When the inspections were made out on the occurrence of diseases after 2-3 years, none of 3897 mother trees showed yellow shoot disease and other abnormalities. In 1984, cooperated with Fujian Agricultural Bureau, we set up other three disease-free mother tree foundations in Chang-Tai county, Yong-Chun county and San-Min county. During this period, 20,000 nursery trees were propagated and sold to various villages and national citrus farms. Those orchards planted with such nursery trees are free from yellow shoot disease, but some of them planted with other nursery trees together were soon infected by Canker disease. The results show that it is possibility to establish mother tree foundation free of yellow shoot disease and other virus diseases above mentioned for propagating disease-free nursery trees in the well isolated localities by methods.