

甜樱桃茎尖培养脱毒研究^{*}

付宏岐, 吴云锋, 王 睿, 郝兴安

(西北农林科技大学 植保学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以甜樱桃(*Prunus avium* L.)嫩梢芽为外植体进行了茎尖组培脱毒研究, 筛选出的增殖培养基为MS+ 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA₃ 0.5 mg/L + AgNO₃ 5.0~10.0 mg/L + 蔗糖30 g/L + 琼脂7 g/L, 丛生芽增殖数达到6个以上; 确定良好的生根培养基为1/2 MS+ BA 0.7 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 蔗糖20 g/L + 琼脂7 g/L, 生根率达75.1%, 移栽成活率可达80.5%以上; 利用生物学方法对甜樱桃试管苗进行了初步病毒鉴定, 结果表明, 0.5~0.8 mm 茎尖培养对苹果褪绿叶斑病毒(ACLSV)和李矮缩病毒(PDA)的脱毒率达39.4%和48.1%; 0.5 mm 以下茎尖培养对ACLSV和PDA的脱毒率达75.8%和78.6%, 证明甜樱桃试管苗0.5 mm 以下的小茎尖培养能有效脱除ACLSV和PDA病毒。

[关键词] 甜樱桃; 茎尖培养; 脱毒培养; 无毒苗

[中图分类号] S662.504⁺.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)06-0101-06

甜樱桃(*Prunus avium* L.)是蔷薇科(Rosaceae)李属樱桃亚属乔木, 原产欧洲, 在世界许多国家都有栽培。甜樱桃果实鲜艳, 味美甘甜, 营养丰富, 被誉为果中珍品, 因而具有极高的经济价值。目前, 各樱桃产区病毒病发生普遍, 严重影响着樱桃的产量和品质, 其中主要病毒有苹果褪绿叶斑病毒(ACLSV)、李矮缩病毒(PDA)和李坏死环斑病毒(PNRSV)。由于其寄主范围广, 危害严重, 国际上已将此3种病毒作为脱毒研究的主要对象。樱桃病毒病防治的主要措施是培育无毒苗, 因脱毒苗比普通苗长势强, 根系发达, 分布深, 抗逆性强, 进入结果期提早, 座果率高, 果实品质好, 故苗木的脱毒成为无毒苗培育的关键^[1]。

目前, 人们先后对樱桃4个种的众多品种及变种进行了茎尖离体培养^[2], 如意大利的Ancora等^[3]将樱桃砧木F12/1无性系的茎尖分生组织接种于MS培养基上, 成功地获得了脱毒植株; Isaac等^[4], Swir^[5]先后利用酸樱桃茎尖进行了大量离体繁殖; Wilkins等^[6]研究分析了9种生长调节剂对樱桃茎尖生长和扩繁的促进作用; Buzkan等^[7]对酸樱桃和甜樱桃砧木茎尖离体培养的季节进行了研究; Gella等^[8]利用茎尖分生组织离体培养以脱除病毒; 韩文璞^[9]、韩东生等^[10]开展了樱桃茎尖离体培养研究。

但迄今为止, 比较不同樱桃茎尖大小对脱毒效果影响的研究资料还少有报道, 为此, 本研究以红灯、意大利早红、早红宝石3个优良品种为材料, 进行了不同茎尖大小组培脱除ACLSV和PDV病毒的研究, 旨在获得樱桃优良无毒种苗和接穗, 进一步完善有关樱桃茎尖组培脱毒的研究资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试品种于2003-08购自陕西杨凌名优杂果基地, 以红灯、意大利早红、早红宝石的早春萌动芽或生长季节嫩枝顶芽和侧芽的生长点为外植体。

1.2 外植体的培养

早春, 从甜樱桃红灯、意大利早红、早红宝石品种带毒母株上随机切取刚萌动变绿尚未展叶的饱满芽或5~8月剪取抽生的嫩茎, 去叶后作为外植体, 用洗涤剂水浸3 min后, 流水冲洗60~90 min, 然后用质量分数5% NaClO漂洗5 min后转入超净工作台上, 倒入体积分数70%酒精浸泡30 s, 无菌水冲洗3次后, 用体积分数0.1%升汞(HgCl₂)灭菌, 依外植体大小, 一般灭菌5~8 min。灭菌后剥取生长点, 利用解剖针在解剖镜下剥除顶芽及侧芽外部叶原基, 切取1.5 mm以下茎尖分生组织(带1~2片

^{*} [收稿日期] 2005-01-11

[基金项目] 陕西省科技计划项目“重要果树脱毒与无毒化种苗快繁及检测技术研究”(2002K03-G5-6)

[作者简介] 付宏岐(1972-), 男, 陕西岐山人, 在读硕士, 主要从事植物病毒学研究。

[通讯作者] 吴云锋(1960-), 男, 陕西乾县人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物病毒学研究。

叶原基),放入已灭菌的铺有无菌滤纸的培养皿内,用无菌滤纸吸干水,接种在配置好的MS培养基上进行培养。嫩茎先剪去创伤面,再剪成单芽茎段,接种在诱导增殖培养基上培养无菌苗,然后再取茎尖。

1.3 培养基配方及培养条件

以MS为基本培养基,调节pH值至5.8,培养温度25℃,光照强度2000~3000 lx,每天光照14 h,黑暗10 h。

初代培养基(1)为:MS+6-BA 0.2~1.6 mg/L + AgNO₃ 5.0~15.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L,设8个处理,3次重复;初代培养(2)为:MS+6-BA 0.5~1.0 mg/L + NAA 0.05~0.3 mg/L + AgNO₃ 5.0~15.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L,设12个处理,3次重复。

增殖培养基为:MS+6-BA 0.5~1.0 mg/L + NAA 0.05~0.3 mg/L + GA₃ 0.5 mg/L + AgNO₃ 5.0~15.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L,设12个处理,3次重复,培养40 d后,统计芽苗分化率。

生根培养基(1):1/2 MS+BA 0.2~1.4 mg/L + 蔗糖 20 g/L + 琼脂 7 g/L,设6个处理,3次重复;生根培养基(2):1/2 MS+BA 0.3~1.0 mg/L + NAA 0.1~1.0 mg/L + 蔗糖 20 g/L + 琼脂 7 g/L,设7个处理,3次重复,培养20 d后,统计芽苗生根率。

将外植体接种于初代培养基上诱导丛生芽,将丛生芽或带1~2个芽的茎端转入增殖培养基上增

殖,丛生芽在增殖培养基上生长2~3周后,取苗高20 cm以上的新梢转移到生根培养基上,先暗处理5 d后,再转入光下诱导生根。

1.4 组培苗的带毒检测

将试管苗移栽于温室,成活后检验脱毒率,采用指示植物法接种鉴定病毒。草本指示植物为黄瓜和昆诺藜,木本指示植物为桃GF305实生苗,温度20~22℃,重复5次。

2 结果与分析

2.1 6-BA对甜樱桃丛生芽增殖数及平均株高的影响

红灯、意大利早红、早红宝石茎尖培养5 d后开始膨大(图1-2),10 d后分化形成愈伤组织(图1-3),25 d左右出现绿色芽点,继而分化出芽(图1-4)。培养40 d后,统计芽苗丛生芽增殖数及平均株高(图1-5),结果列于表1。表1结果表明,当6-BA质量浓度为0.2~1.0 mg/L时,丛生芽增殖数及平均株高随6-BA质量浓度的增加而递增,当6-BA浓度为1.0 mg/L时达到最大值,但超过1.0 mg/L时,丛生芽增殖数及平均株高均有所下降。单因素试验结果表明,6-BA质量浓度一般以1.0 mg/L较好,培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L + AgNO₃ 5.0~10.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 7 g/L时,有利于甜樱桃的快速繁殖。

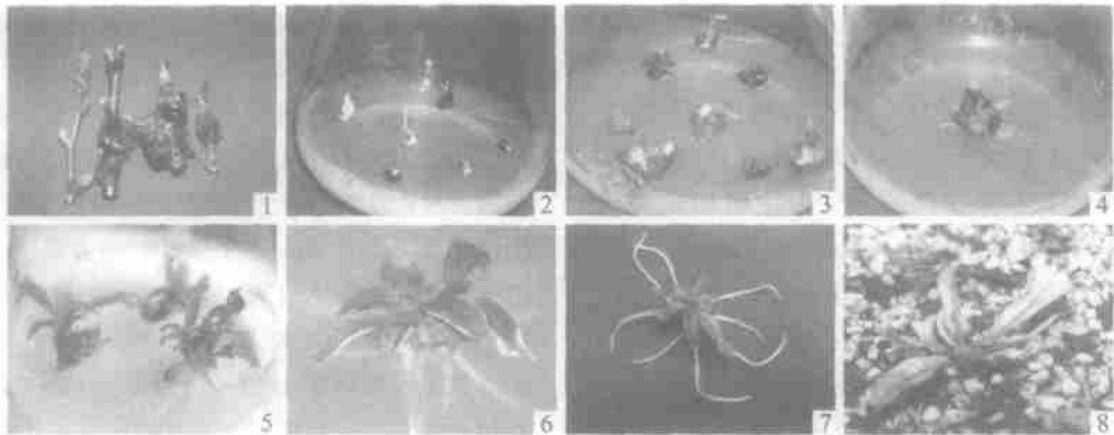


图1 甜樱桃病株和茎尖组培观察

1. 病株; 2. 膨大生长的茎尖; 3, 4. 愈伤组织和芽的诱导生长; 5. 芽的分化和生长; 6. 试管苗诱导生根; 7. 试管苗根; 8. 盆栽脱毒试管苗

Fig. 1 Diseased plant and *in vitro* shoot tip tissue culture of sweet cherry

1. Diseased plant; 2. Showing expanding and growth of shoot-tips; 3, 4. Differentiation and growth of callus and buds;

5. Growth of the shoots; 6. Inducing roots on medium; 7. Rootage of test-tube plantlet; 8. Depolluted test-tube plantlet in pots

表 1 6-BA 对甜樱桃丛生芽增殖数及株高的影响

Table 1 Effect of 6-BA on the growth and differentiation of sweet cherry *in vitro*

6-BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	丛生芽增殖数 Bud number	平均株高/cm Seedling height	6-BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	丛生芽增殖数 Bud number	平均株高/cm Seedling height
0.2	1.20	1.6	1.0	5.10	3.6
0.4	1.35	1.8	1.2	5.00	3.0
0.6	2.38	2.1	1.4	3.13	2.7
0.8	4.63	2.4	1.0	5.10	3.6

2.2 6-BA 及 NAA 对甜樱桃丛生芽增殖数及生长量的影响

0.2 mg/L 效果最好, 其茎芽增殖数为 6.37; 6-BA 质量浓度为 1.0 mg/L 时, NAA 质量浓度高于或低于 0.2 mg/L 的效果都不好。

表 2 结果表明, 以 6-BA 1.0 mg/L + NAA 表 2 6-BA 和 NAA 对甜樱桃丛生芽增殖数及生长量的影响

Table 2 Effect of 6-BA and NAA on the growth and differentiation of sweet cherry *in vitro*

6-BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	NAA/ (mg · L ⁻¹)	茎芽增殖数 Number of shoots	生长量/cm Length of growth	6-BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Concentration	NAA/ (mg · L ⁻¹)	茎芽增殖数 Number of shoots	生长量/cm Length of growth
0.5	0.05	2.52	0.38	0.8	0.2	4.28	0.55
0.5	0.1	2.21	0.36	0.8	0.3	3.05	0.49
0.5	0.2	3.61	0.49	1.0	0.05	3.98	0.62
0.5	0.3	2.15	0.38	1.0	0.1	4.23	0.64
0.8	0.05	3.15	0.49	1.0	0.2	6.37	0.67
0.8	0.1	3.24	0.51	1.0	0.3	3.20	0.51

从试验结果(表 2)看, 樱桃试管苗增殖以细胞分裂素和生长素配合使用效果优于单一使用细胞分裂素。因此, 对樱桃试管苗而言, 适当比例的细胞分裂素和生长素组合有利于茎芽增殖。

试验中发现, NAA 质量浓度高于 0.2 mg/L 时, 茎基部愈伤组织形成较多, 有效芽苗很少, 叶片狭小, 茎细弱。随继代次数的增加, 6-BA 在同一用量下, 丛生芽增殖数增加, 但其质量随之下降, 这时应适当降低 6-BA 用量, 以有利于生根。这可能是因

为随继代次数增加, 继代材料进一步恢复幼年状态所致。

2.3 赤霉素对芽萌动的影响

外植体的来源不同, 接种后芽萌动时间和成活率也不同, 培养基中添加赤霉素后, 无论是春芽还是夏芽, 都有促使芽尽早萌动和提高成活率的作用, 尤其对早春刚萌动芽的成活和增殖影响较大。从表 3 可以看出, 培养基中增加赤霉素后, 可促使芽早萌动 3~5 d, 成活率提高 12.2%。

表 3 赤霉素对甜樱桃芽萌动的影响

Table 3 Effect of GA₃ on the sprouting of sweet cherry *in vitro*

培养基 Culture medium	萌动时间/d The time of initiated buds		成活率/% The surviving rates	
	春芽 Spring buds	夏芽 Summer buds	春芽 Spring buds	夏芽 Summer buds
MS+ 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L	10 ± 2	7 ± 3	75.3	75.8
MS+ 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA ₃ 0.5 mg/L	6 ± 3	4 ± 2	90.1	85.3

2.4 硝酸银在芽分化和愈伤组织培养中的作用

表 4 结果表明, 5.0~10.0 mg/L 的 AgNO₃ 具有良好的抑制愈伤组织中多酚类化合物氧化褐变的作用, 有利于愈伤组织生长和芽的增殖, 可以提高芽的再生频率。试验观察发现, 添加 AgNO₃ 培养基对防止试管苗玻璃化也有明显作用。

2.5 BA 和 NAA 对甜樱桃生根的影响

表 5 结果表明, 用 BA 诱导生根时, 其最佳质量浓度为 1.0 mg/L。BA 质量浓度 0.2~1.0 mg/L 时, 随质量浓度增加, 生根率及平均株高均呈增加趋势, 且于 BA 质量浓度为 1.0 mg/L 时达到最大, 生根率及平均根长分别为 51.6% 及 3.4 cm, 当 BA 质量浓度超过 1.0 mg/L 时, 生根率及平均根长有所下降, BA 质量浓度为 1.4 mg/L 时, 生根率仅为 20.3%, 仅比 BA 0.2 mg/L 的生根率增加 3.2%。

表 5 结果表明, 用 BA 诱导生根时, 其最佳质

表 4 抗氧化剂硝酸银在甜樱桃芽增殖培养中的作用

Table 4 Effects of oxidation-resistant active compounds AgNO₃ on inhibiting the browning of sweet cherry *in vitro*

AgNO ₃ / (mg · L ⁻¹)	芽的愈伤褐变情况 Degree of bud, callus browning	接入芽数 Number of inoculated buds	芽增殖系数 Quotient of plantlet formed	再生频率/% Shoot regeneration frequency	玻璃化苗数 Number of vitrification
5 0	暗黄色, 轻度褐变 Dark yellow, some browning	35	5	87. 3	0
10 0	暗黄色, 轻度褐变 Dark yellow, some browning	32	6	95. 8	0
15 0	黄褐色, 褐变 Yellow brown, browning	38	3	78. 2	0
0	褐色, 严重褐变 Brown, serious browning	33	2	54. 2	12

表 5 不同质量浓度的 BA 对甜樱桃生根的影响

Table 5 Effect of BA on the rooting rate of sweet cherry *in vitro*

BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) BA concentration	生根率/% Rooting rate	平均根长/cm Average of root length	BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹) BA concentration	生根率/% Rooting rate	平均根长/cm Average of root length
0. 2	17. 1	0. 7	0. 8	48. 2	2. 8
0. 4	24. 8	1. 1	1. 0	51. 6	3. 4
0. 6	35. 4	2. 4	1. 4	20. 3	1. 7

从表 6 可以看出, 生根培养基中激素的种类和用量对生根的影响较大, 以 MS+ BA 0. 7 mg/L + NAA 0. 2 mg/L 为生根培养基时生根率最高, 可达 75. 1%。试验中发现, 转入生根培养基 10 d 左右, 幼

苗基部出现多个瘤状小突起, 进而长出幼根, 20 d 后根可长到 3 cm 左右(图 1-6), 根系生长健壮且柔软不易折断, 根系洁白正常。

表 6 不同质量浓度 NAA 和 BA 组合对甜樱桃幼苗生根的影响

Table 6 Effect of BA and NAA concentrations on the rooting rate of sweet cherry *in vitro*

激素浓度/(mg · L ⁻¹) Hormones concentration	诱导生根率/% Rooting rate	激素浓度/(mg · L ⁻¹) Hormones concentration	诱导生根率/% Rooting rate
BA 0. 3+ NAA 0. 1	19. 3	BA 0. 5+ NAA 0. 2	9. 7
BA 0. 5+ NAA 0. 1	27. 4	BA 0. 7+ NAA 0. 5	70. 6
BA 0. 7+ NAA 0. 2	75. 1	BA 1. 0+ NAA 1. 0	28. 5
BA 1. 0+ NAA 0. 2	67. 2		

2. 6 试管苗的脱毒检测

在温室内逐步打开已生根植株的三角瓶盖, 炼苗 5~ 6 d, 移出试管苗, 洗净根际的培养基(图 1-7), 移栽到通气透水好的培养土中培养, 保持温度 20~ 25 ℃, 湿度 80%~ 90%, 经 2~ 3 周后, 移至散射的自然光下炼苗 1~ 2 周。再移到大田中进行正常管理(图 1-8), 成活率可达 80. 5% 以上。

摘取组培苗叶片, 研磨后接种于黄瓜和昆诺藜等鉴别寄主, 2 周后开始发病, 病毒症状为系统花叶, 有些开始时出现叶脉褪绿, 逐渐发展成为系统花叶症状。在昆诺藜上接种 2~ 3 周后, ACL SV 症状表现为畸形叶死亡, PDV 表现为褪绿斑; 在黄瓜上接种 1~ 2 周后, ACL SV 症状表现为个别植株短缩花斑, PDV 表现为黄绿色褪绿斑或花叶; 在桃 GF305 实生苗上芽接 3 个月后, ACL SV 症状表现为叶片暗绿色凹陷斑, PDV 表现为褪绿斑驳畸形

叶, 节间短。

甜樱桃茎尖分生组织培养脱去 ACL SV、PDV 病毒的检测结果列于表 7。

表 7 外植体大小对甜樱桃病毒脱除效果的影响

Table 8 Effect of shoot tip culture of sweet cherry *in vitro* on virus elimination

处理 Treatment	病毒名称 Virus name	脱除率/% Virus-free rate
0. 5 mm 以下茎尖培养 Shoot tip tissue culture less than 0. 5 mm	苹果褪绿叶斑病毒 ACL SV	75. 8
	李矮缩病毒 PDV	78. 6
0. 5~ 0. 8 mm 茎尖培养 Shoot tip tissue culture	苹果褪绿叶斑病毒 ACL SV	39. 4
	李矮缩病毒 PDV	48. 1
0. 8~ 1. 5 mm 茎尖培养 Shoot tip tissue culture	苹果褪绿叶斑病毒 ACL SV	8. 2
	李矮缩病毒 PDV	12. 5

由表 7 可见, 0. 5 mm 以下小茎尖的脱毒率为

77.2%以上, 0.5~0.8 mm 茎尖的脱毒率仅为43.8%, 0.8~1.5 mm 脱毒率更低。茎尖愈小脱毒率愈高的原因是因为小茎尖分生组织尚未形成微管束, 病毒无法感染。0.5 mm 以下小茎尖分生组织培养脱除病毒较为彻底, 3种指示植物鉴定结果趋于一致, 证明其结果基本可靠。

3 讨论

一般樱桃组织培养多以MS为基本培养基, 且不同外植体、不同激素和对比对樱桃芽分化有不同的效果。由于茎尖对激素反应更敏感, 且其本身又有较高的内源激素水平, 因此, 在不同的研究结果^[11~21]中, 适合其分化生长的外源激素质量浓度差异较大。本研究结果表明, 在樱桃茎尖培养中, 外植体灭菌采用体积分数70%酒精浸泡30 s, 用无菌水冲洗3次后, 再用体积分数0.1%升汞(HgCl₂)灭菌5~8 min 效果最好。初代培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + AgNO₃ 5.0~10.0 mg/L + 蔗糖30 g/L + 琼脂7 g/L, 增殖培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA₃ 0.5 mg/L + AgNO₃ 5.0~10.0 mg/L + 蔗糖30 g/L + 琼脂7

g/L, 丛生芽增殖数最高; 确定良好的生根培养基为1/2 MS+ BA 0.7 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 蔗糖20 g/L + 琼脂7 g/L。

樱桃茎尖脱毒培养在生产上的应用和推广前景十分广阔, 本文采用甜樱桃品种红灯、意大利早红、早红宝石0.5~1.5 mm 的茎尖, 多次继代切取茎尖培养获得了脱毒植株, 其中0.5~0.8 mm 茎尖培养对苹果褪绿叶斑病毒(ACLSV)和李矮缩病毒(PDA)的脱毒率达39.4%和48.1%; 0.5 mm 以下茎尖培养对ACLSV和PDA的脱毒率达75.8%和78.6%。可以肯定的是, 该结果必将为樱桃转基因再生系统的构建及樱桃种质资源的保存和利用, 提供一定的应用价值和学术价值。但樱桃试管苗生根较难, 生根率最高者仅达75.1%, 且试验中发现不同品种之间差异较大, 其原因主要与培养条件和取样时间有关, 也可能与樱桃成熟植株本身的发育阶段有关, 而基因型可能是差异产生的主要原因。

在樱桃试管苗的培养中, AgNO₃有利于外植体芽的增殖培养。本试验发现, AgNO₃对防止幼苗玻璃化和生长点坏死具有非常重要的作用, 同时也可降低试管苗增殖的无效苗。

[参考文献]

- [1] 伍克俊, 苟永平, 贾福明. 大樱桃脱毒效果初步研究[J]. 甘肃农业科技, 1996, (10): 15-16
- [2] 夏国海, 叶霞, 赵冰梅, 等. 樱桃组织培养研究进展[J]. 中国果树, 2003, (3): 46-50
- [3] Ancora G, Benvenuto E, Roselli G, et al. Micropropagation of cherry rootstock F12/1 clones originated from irradiation: the isolation of solid mutants[J]. Rivista Della Oritoflorofrutticoltura Italiana, 1982, 66(3): 231-238
- [4] Isac M, Mladin G. Micropropagation *in vitro*- a modern technique for rapid production of fruit tree planting material[J]. Horticulture, 1982, 31(7): 19-23
- [5] Swir I. A micropropagation system for sour cherry[J]. Sci Hort, 1983, 19: 85-90
- [6] Wilkins C P, Dodds J H. Effect of various growth regulators on growth *in vitro* of cherry shoot tips[J]. Plant Growth Regulation, 1982, 1(3): 209-216
- [7] Buzkan N, Cetiner S, Yalcinmendi Y, et al. Clonal propagation of disease free rootstock for sour and sweet cherry by meristem culture[J]. Acta Hort, 1997, 441: 329-332
- [8] Gella R, Errea P. Application of *in vitro* introtherapy for ilarvias elimination in three *Prunus* species[J]. Journal of Phytopathology, 1998, 146(8/9): 445-449
- [9] 韩文璞, 袁明莲. 中华矮樱桃的组织培养与快速繁殖技术[J]. 中国农学通报, 2000, 16(6): 58-59
- [10] 韩东生, 吴绛云, 郭淑元, 等. 樱桃砧木的茎尖培养和快速繁殖[J]. 北方园艺, 1993, (3): 7-8
- [11] 韩文璞, 袁明莲. 活性炭在甜樱桃组织培养中的应用[J]. 落叶果树, 2001, (3): 7-8
- [12] 代汉萍, 李宝江. 植物激素和生长调节剂在果树组织培养中的应用[J]. 北方园艺, 2002, (6): 68-70
- [13] 杜振宇, 马海林, 王清华, 等. 不同基质对大樱桃试管苗生长的影响[J]. 山东林业科技, 2003, (2): 3-5
- [14] 侯修胜. 欧洲大樱桃试管快繁技术研究[J]. 辽宁林业科技, 2002, (6): 4-6
- [15] 王玉秋, 侯修胜, 钱茜, 等. 优质大樱桃组培快繁技术的初步研究[J]. 山东林业科技, 2000, (6): 31-33
- [16] 赵昌杰, 马锋旺, 徐凌飞. 硝酸银对中国李原生质体分离和培养的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(6): 100-102
- [17] 王关林, 夏秀英, 钟文田, 等. 樱桃砧木叶片再生系统建立和抗菌肽基因转化[J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 209-211

- [18] 代红艳, 张志红, 吴禄平, 等. 甜樱桃茎尖培养及 PNRSV 的 RT-PCR 检测[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 87- 89
- [19] M rarthe Brison. Cryopreservation of *in vitro* grown shoot tips of two interspecific *Prunus* rootstocks[J]. Plant Science, 1995, 105: 235-242
- [20] 安建平, 王廷璞, 焦成瑾, 等. 莱阳矮樱桃组培快繁中的激素配比研究[J]. 天水师范学院学报, 2002, 22(5): 30- 33
- [21] 吴 霞, 上官小霞, 李燕娥. 樱桃组织培养和快速繁殖技术体系的研究[J]. 山西农业科学, 2002, 30(2): 49- 51

In vitro shoot tip tissue virus-free culture of sweet cherry

FU Hong-qi, Wu Yun-feng, Wang Rui, Hao Xin-an

(College of Plant protect, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Buds or tender stem of sweet cherry as the explant, the micropropagation was studied. The culture medium of MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + AgNO₃ 5.0-10.0 mg/L + sucrose 30 g/L + agar 7 g/L was screened out and used, its buds were up to more than 6. Meanwhile, the inducing rate on culture medium of 1/2 MS + BA 0.7 mg/L + NAA 0.2 mg/L + sucrose 20 g/L + agar 7 g/L was responsible for root growth up to 75.1% and the survival rate by transplanting up to more than 80.5% were accounted for the optimum one. Using biological technique, apple chlorotic leaf spot virus (ACLSV) and Prunus dwarf virus (PDV) were primary detected in some of sweet cherry plantlets *in vitro*, and the results showed the virus-free rate of ACLSV and PDV were 39.4% and 48.1% respectively on 0.5-0.8 mm shoot tip; the virus-free rate of ACLSV and PDV were 75.8% and 78.6% on less than 0.5 mm shoot tip, which proved that ACLSV and PDV could be eliminated effectively from sweet cherry plantlets *in vitro* by culture of shoot tip less than 0.5 mm.

Key words: sweet cherry; shoot tip culture; virus-free culture; virus-free plants

(上接第 100 页)

Abstract ID: 1671-9387(2005)06-0096-EA

Serial passage of AdMN PV-1A in a transfected P³⁵ gene cell line

LI Shou-xin^{1,2}, LI Chang-you², ZHENG Gui-ling², WU Wen-jun¹, LI Guo-xun²

(1 Institute of Pesticide, Northwest A & F University, Shaanxi, Yangling 712100, China;

2 Laboratory of Pest Biological Control, Laiyang Agricultural College, Qingdao, Shandong 266109, China)

Abstract: A new transfected P³⁵ gene cell line, Tn5B-35, was derived by *Trichoplusia ni* Tn5B1-4 cell line. *Autographa californica* nuclear polyhedrosis virus (AdMN PV) was passaged in Tn5B-35 cells for 25 passages continuously and there was no significant change in morphology of the susceptibility, the changing trends of the occlusion bodies (OBs) yield, virus titer, and the larval corrected mortality after serial passage of the virus were stable, and there was no passage effect.

Key words: nuclear polyhedrosis virus; insect cell lines; *Trichoplusia ni*; passage effect