果树无病毒研究进展*

彭向永[1], 马锋旺[1], 张开春[2]
(1 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨陵 712100; 2 北京林果研究所, 北京 100093)

[摘　要]　结合国内外研究, 介绍了当前果树生产上应用的 4 类主要的无病毒技术, 即物理疗法、化学疗法、微茎尖法和转基因技术的操作过程和特点, 指出脱毒药品开发和抗病毒转基因的研究, 将是今后无病毒技术研究的主要领域。

[关键词]　果树; 病毒; 无病毒技术
[中图分类号]　S66; S604+. 3　　[文献标识码]　A　　[文章编号]　1671-9387(2003)06-0193-05

自从 20 世纪 30 年代发现果树病毒以来, 全世界现已报道的果树病毒有几百种, 涉及苹果、柑桔、梨、葡萄、桃、杏、樱桃、枣、草莓、柿子、香蕉等几十种果树。果树被病毒侵染后的症状有: 花叶、褪绿、环斑、坏死、畸形和突起、变色、生长减缩等, 感病植株产量降低, 果实品质变劣, 树势变衰, 经济损失巨大。果树病毒病害已引起世界各国的极大重视。但由于果树作物种子变异大, 生产上一般采用嫁接、扦插等技术繁殖苗木, 而这些繁殖技术也正是果树病毒的主要传播途径。果树产业是农业经济的三大支柱产业之一, 也是我国加入WTO 后的优势产业, 为了实现果树栽培的规范化、无毒化, 提高果实产量和品质, 促进地区及国际间果品、苗木交流, 脱除病毒获得无病毒植株是非常必要的。值得指出的是, 无病毒苗只是相对而言, 许多果树含有多种已知和尚未检测的病毒, 通过无病毒技术得到的幼苗只是经鉴定证实脱去了已知的主要病毒或目的病毒而已, 严格来说应称为"无特定病毒苗","无病毒苗"只是一个习惯叫法。总的来说, 目前果树无病毒技术主要可分为物理方法、化学方法、微茎尖法和转基因技术 4 大类。本文对这 4 种方法的操作过程和特点进行综述, 以期为果树无病毒技术的进一步研究提供参考。

1　物理方法

用物理方法成功脱除果树病毒在国内外均有大量报道[1, 2], 即在植株不被伤害或受少许伤害的情况下, 通过物理因素(热空气、热水、低温、辐射)使病毒钝化或失去毒性。其方法主要有以下几种。

1. 1　温热疗法

1. 1. 1　热空气处理　该措施的原理是根据感染病毒和寄主植物对高温忍耐程度的差异, 在一定的温度下(37～40 ℃), 病毒被钝化失去增殖和再感染能力, 而寄主植物却能生长正常。经过一段时间(3～8 周)的处理, 枝条前端生长点附近不含有病毒颗粒, 切除这部分进行人工培养或嫁接到无病毒的砧木上, 即可得到无毒苗木, 这是世界上应用最早、最广泛, 也是最有效的一种方法。George[3]报道, 高温可以脱除核果类环斑病毒; Lenz F 等[4]认为, 高温对樱桃病毒有很好的脱除效果; 国内学者曹孜义等[5]报道, 高温处理脱除了葡萄扇叶病毒; 覃兰英等[6]通过高温得到了无毒的樱桃、桃等; 张尊平等[7]也利用高温处理得到了脱毒的苹果、梨无毒苗。热空气疗法根据被处理材料的不同又分为 2 种。

①植株热处理。将 1～2 年生小苗栽入花盆中缓苗 2～3 月, 通过休眠后移入热处理室中, 在 25 ℃下预处理使苗快速生长, 待抽出 3～4 片叶后开始逐渐升温, 当温度达到 37～40 ℃, 保持恒温或变温(一般 37 ℃以上 12 h; 30 ℃左右 12 h)、光照 4 000 lx 和 60% 以上的空气湿度, 经过 1 个月左右长出的新梢, 可用微体嫁接或组织培养进行繁殖而得到无毒苗。伍克俊等[8]将甜樱桃植株热处理后, 取 0. 5～1 mm 的茎尖嫁接到无病毒的砧木上, 检测有 50% 以上的无毒植株; 范丽华等[9]用 40 ℃的恒温处理葡萄植株 70 d, 取 2 cm 的茎尖接种于 GS 培养基上得到了 100% 无葡萄扇叶病和卷叶病的苗木; 董雅凤等[10]在 37 ℃条件下处理盆栽梨苗 30 d, 取 1 mm 茎尖在

* [收稿日期]　2002-11-29
[作者简介]　彭向永(1977-), 男, 山东滕州人, 在读硕士, 主要从事果树无毒化及病毒检测研究。

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

MS+ 1.0 mg/L BA + 0.2 mg/L IBA 的培养基上培养, 有 85% 的植株脱除了 ASGV (苹果茎沟槽病毒)。

②试管苗热处理。由于植株热处理占地面积大, 耗能量多, 部分学者采用热处理试管苗的方法也取得了较好的脱毒效果。这种方法不受季节和气候的制约, 可利用较小的空间处理较多的材料, 但必须首先选择最优的分化培养基并建立材料的无菌培养体系。将试管苗置于光照培养箱中, 光强 2 000～3 000 lx, 每天光照 12～16 h, 经 3～8 周 35～38 ℃的持续或变温处理, 取 0.5 mm 的茎尖接种于初代分化培养基上, 繁殖一定的数量后可进行无毒鉴定。战淑敏等[11]报道, 苹果试管苗热处理后, 经 PAS-ELISA 检测得到 8 个脱除 ASGV 和 ACLSV (苹果褪绿叶斑病毒) 的品种。一次热处理可能无法脱除病毒, 有些学者采用循环热处理的方法效果更佳。Leonhardt W 等[12]报道, 葡萄试管苗经过 2 次循环热处理得到了无扇叶病毒、花叶病毒和卷叶病毒的植株。

1.1.2 热风处理 热风处理是一种行之有效的果树作物脱毒法, 已证明[11]将近 90 种以上的病毒病可以用热处理的方法治疗, 但并非所有的病毒都能够通过高温脱除。据研究[13], 热处理的效果与病毒的致死温度没有相关性, 但与病毒颗粒的形状有关, 线状和球状病毒在一定高温下易被钝化, 如 ASGV, ACLSV, PNRSV (李属坏死环斑病毒) 和 GFV (葡萄扇叶病毒) 等; 而对杆状病毒效果较差, 如 PDV (李矮缩病毒) 等。由于高温脱毒对植株的环境压力较大, 热处理过程中会造成部分植株死亡, 因此, 选择恰当的温度区间和处理时间是脱毒成功的关键, 同时要注意保持充足的光照强度和湿度, 尽可能的降低植株根部的温度, 并选择生长势健壮的植株。罗晓芳等[14]对苹果苗热处理的研究认为, 温度对存活率的影响比处理时间大, 因此进行热处理时应重点考虑温度因素。各树种的耐热性有基因型差异, 病毒被钝化的临界温度也不尽相同, 大量研究[13]认为, 温度在 35～42 ℃, 时间在 2～8 周均有可能脱除几种果树病毒, 因此, 设法减轻高温高湿环境对植株的压迫, 确定恰当的热处理温度和时间是今后热风脱毒研究的两个主要方向。

1.2 温汤浸渍

将植株的休眠器官或离体接穗, 浸在 50 ℃左右的温水中并持续一段时间后, 剥取休眠芽接种于培养基上, 可得到脱除部分病毒的脱毒苗。据伍克俊等[8]报道, 将带毒的甜樱桃休眠枝条在 52 ℃恒温浴锅中处理 20 min, 插入温室苗床, 65 d 后剪取新梢鉴定, 发现部分苗木脱除了李坏死环斑病毒。

温汤浸渍只能使一种或几种病毒钝化, 而且处理时间太长或温度过高容易对植株造成伤害, 温度过低或处理时间太短又不能钝化病毒, 确定恰当的处理时间和温度是温汤浸渍的关键。另外, 剥离茎尖的大小、材料的状态、取材时间的选择也很重要。

1.3 冷疗法

尽管温热疗法通常可将大部分病毒脱除, 但是也有少部分病毒可在持续低温下去除。所谓冷疗法就是用一定低温处理材料, 经过较长时间的低温处理, 使病毒钝化而失去增殖能力。冷疗法脱毒在观赏植物和蔬菜作物中应用较多, 有报道[15]指出, 菊花在 5 ℃处理 4～7 个月, 可脱除菊花矮化病毒和褪绿斑驳病毒。果树作物利用冷疗法脱除病毒的报道极少, 但有关于冷疗法脱除枣疯病植原体的报道[16]。

2 化学方法

某些核酸代谢的拮抗物和抗生素类物质能抑制核苷酸或核酸的生物合成, 因此被用来抑制植物病毒。对受侵染的植株使用无机物、有机物或抗生素类物质来抑制或干扰病毒的复制, 生产出无病毒植株的技术称为植物病毒脱除的化学疗法。如: 硫酸锌可治疗桃-X 病, 硫尿嘧啶可治愈番茄的烟草花叶病, 放线双酮类似物可有效防止温室番茄的 TMT 浸染。化学疗法是近年来国内外发展较快的一种脱毒方法, 现已生产出许多应用于实际的化学药品, 主要是嘌呤和嘧啶类似物, 如 5-二氢氮尿嘧啶 (5-dihydroazauracil, DHT)、二乙酰基-二氢-5-氮尿嘧啶 (diacetyl-dihydro-5-azauracil, DA-DHT) 等, 其消除病毒的生化机理虽然不清楚, 但已知病毒唑的三磷酸具有活性, 可抑制病毒 RNA 形成帽子结构, 而 DHT 在早期可破坏依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶的合成, 在后期可破坏病毒外壳蛋白的合成, 从而抑制病毒的繁殖。

化学疗法的操作很简单, 即将药品直接加入无菌培养基中, 与试管苗共培养或喷施于果树的幼嫩部位上, 连续施用几次, 3～5 个月后, 经检测可得到一定数量的脱毒苗。

谢嘉华等[17]报道, 三氮唑核酸苷对黄瓜花叶病毒、马铃薯 X 病毒、烟草花叶病毒的增殖均有抑制作用。Deogratias 等[18]用病毒唑脱除了甜樱桃的 ACLSV, PNRSV 和 PDV。罗晓芳等[14]将三氮唑核

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

苷、土霉素、盐酸吗啉双胍结合使用, 对脱除梨 A-CLSV 有一定效果。目前, 虽然药物脱毒的效果还不是很好, 化学方法也只能有目的的脱掉某种或某几种病毒, 但是由于化学疗法方便快捷, 操作简单, 所以对抗病毒药品的研究和开发具有广阔的前景。

3　微茎尖法

3.1　微茎尖培养法

研究表明[19], 病毒粒子在植株体内的分布是不均匀的, 并呈现一定的浓度梯度变化。病毒粒子在植物体内转运包括在薄壁组织中的转运和在输导组织(韧皮部或木质部)中的转运两个方面, 在薄壁组织中的转运通过胞间连丝进行扩散。据估计[20], 25℃时, TMV (烟草花叶病毒) 在烟草叶中的扩散速度为 14 μm/h。病毒在薄壁组织中的移动距离最多 2 mm/d。由于茎尖生长旺盛, 病毒粒子的扩散低于茎尖的生长速度, 或生长点细胞间还没有产生胞间连丝, 病毒粒子不能够扩散至新分裂的细胞, 如果剥离这部分细胞进行人工培养, 即可得到无病毒的苗木。自从 Morel 等首次通过茎尖培养获得脱毒的大丽花以来, 这种方法在很多果树作物脱毒培养上都获得了成功。曹为玉等[21]报道, 将 0.2～0.3 mm 的葡萄茎尖接种于 MS 为主体的培养基上, 可得到无卷叶病毒和扇叶病毒的葡萄苗, 脱毒率达到 85%; 刘庆忠等[22]利用 0.3～0.4 mm 的草莓茎尖分生组织, 在附加 1.32 mol/L 6-BA 的 MS 培养基上, 获得了 6 个无病毒品种; 覃兰英等[6]分别以桃、樱桃、杏为试材, 切取 0.3 mm 以下的茎尖分生组织, 接种到 F_{14} 继代培养基上, 均获得了不同比例的脱毒苗。另外, 许多科学家通过小茎尖组织培养, 还获得了梨、苹果、龙眼、罗汉果等多种果树的脱毒苗[23, 24]。

经小茎尖培养脱毒率不高或脱毒不彻底, 可采用二次小茎尖培养脱毒法。高遐红[25]在草莓茎尖组培时进行二次脱毒, 可完全脱除草莓的斑驳病毒、轻型黄边病毒、银脉病毒和皱叶病毒。曹孜义等[26]认为, 葡萄经过多次小茎尖继代, 可得到一定比例的脱除葡萄扇叶病毒的健康植株。

小茎尖培养的过程是: 取 1 年生休眠芽或快速生长的嫩芽, 用洗涤剂洗去表面灰尘, 去除芽外鳞片, 流水冲洗 2 h 以上, 移入超净工作台上操作; 体积分数 75% 酒精处理 30～60 s, 转入灭过菌的广口瓶中, 无菌水冲洗 2 次, 体积分数 0.1% 的升汞浸泡 10～20 min, 无菌水冲洗 5～6 次, 在 10～30 倍的解剖镜下, 用解剖针一层层剥除外层鳞叶, 露出生长点, 然后用解剖刀迅速切下约带 2 个叶原基(0.2～0.5 mm)的生长点, 生长点朝上迅速放入培养基中, 25 ℃暗培养 3 d, 转到 2 000～3 000 lx 光下培养, 2 个月后便可开始增殖扩繁。

小茎尖脱毒培养的关键是在脱除病毒的前提下保证小茎尖的成活率。一般来说, 茎尖的大小与成活率成正比, 与脱毒率成反比。如何既保证小茎尖成活又能够脱除病毒是果树脱毒研究的主要内容。适宜小茎尖生长的培养基是由脱毒材料的基因型决定的, 所以小茎尖培养首先要选择适宜的初代培养基。覃兰英等[6]认为, 桃、杏、樱桃等核果类在 F_{14} 培养基上的成活率优于 MS 和 LG 培养基; 曹为玉[21]报道, 以 MS 为主体的 TMA-2 广谱茎尖培养基较适合葡萄生长。由于果树的酚类物质含量较高, 茎尖被切除后接于分生培养基上极易因氧化褐变而死亡, 从而影响小茎尖培养的成活率。有报道[27, 28]认为, V_C、活性炭等物质可有效抑制核桃、樱桃、苹果等组织培养过程中的褐化现象。植株在不同生长阶段的各种生理生化指标也是不同的, 选择恰当的接种时间对成活也非常重要, 另外, 附加激素的浓度、培养环境等对小茎尖脱毒培养的成功也有影响。

3.2　微茎尖嫁接法

因为许多木本植物不易人工培养成活, 在小茎尖培养的基础上, 许多学者研究了微体嫁接脱毒法, 由于茎尖与砧木的亲和性较强, 这样既保证了脱毒, 又提高了小茎尖的成活率, 已有多种果树利用微体嫁接技术得到了脱毒苗[29]。

首先, 准备脱毒砧木的无菌培养苗。一般认为, 大多数植物的种子是不带毒的, 采集砧木种子, 表面消毒后播于事先准备好的培养基中培养成苗。2 周后, 在无菌条件下切下顶部, 留下长 1～1.5 cm 的上胚轴部分, 取优良品种茎尖 1 mm, 倒丁字水平嫁接在砧木上培养即可。Navarro L 等[30]、Juarez J 等[31]利用微体嫁接技术得到了脱毒桃; Degratias 等[32]也脱除了樱桃和桃褪绿叶斑病毒; 马凤桐等[33]用微体嫁接技术得到了柑桔属脱毒苗。据报道[34～36], 接穗的大小、病毒种类、砧木品种对微体嫁接的脱毒率和成活率有一定影响, 接穗越大脱毒率越低, 而接穗太小成活率又不高; 桃褪绿叶斑病毒易用微体嫁接法脱除, 而坏死环斑病毒、矮缩病毒则不易脱掉; 有些果树种子能够传播病毒, 则不适宜作为微体嫁接的砧木使用。

4　抗病毒转基因技术

抗病毒转基因技术是近几年在基因工程的基础

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

上发展起来的一种新的植物脱毒方法[37,38]。依据转化基因的不同,可分为基于病毒卫星 RNA 的转基因、基于病毒外壳蛋白基因的转基因、基于病毒反义 RNA 的转基因、基于病毒中和抗体基因的转基因、基于病毒复制酶基因的转基因等。应用最广泛的是基于病毒外壳蛋白基因的转基因技术,它是通过基因工程的手段,将病毒外壳蛋白基因导入植物体内,诱发植物对病毒的免疫性,培育出对病毒具有一定免疫力的工程果树品种。抗病毒转基因是防治果树病毒的一条新的有效途径,Fitch 等[39]将嵌合有番木瓜环斑病毒外壳蛋白的基因,插入载体 GA 482 中转化番木瓜,得到转化植株后检测发现,有一部分对环斑病毒完全免疫;Laimer da Camara Machado 等[40]分离出李茎痘病毒外壳蛋白基因,并通过农杆菌转入杏品种 Ke Cemeter 中,Scorza 等[41,42]利用农杆菌将其转入欧洲李和杏中,得到的转化植株均提高了对茎痘病的抗性。

基于病毒外壳蛋白基因的抗病毒转基因,是将病毒的外壳蛋白(coat protein,CP)基因进行克隆、体外重组及构建表达载体,然后将重组的 CP 基因通过工程菌转化到植物细胞内,使 CP 基因在植物体内得以表达,通过果树高效再生体系诱导成苗,经抗生素筛选、转化植株初步检测、遗传分析、田间性状鉴定等步骤获得抗该病毒或相关病毒浸染的工程植株。

果树作物抗病毒转基因虽然取得了一些成功,但与大田作物相比仍有以下问题需要解决:①缺乏稳定高效的再生体系;②转化效率低,在组织培养过程中容易在组织伤口处褐化、坏死或木质化形成保护层,阻止了农杆菌与活跃细胞的接触,使外源 DNA 难以整合到寄主中;③基因沉默,即转基因木本作物极易出现外源基因不表达或表达量极低的现象。随着分子生物学及基因工程理论的发展,抗病毒转基因将是果树作物脱毒技术研究的新热点,并将在抗病毒研究中发挥重要作用。

大量试验认为[5]:单一的脱毒方法虽然能够脱除几种主要病毒或在一定程度上降低病毒浓度,但脱毒率均比较低。通常生产上将几种脱毒技术结合使用,如:热处理加小茎尖培养、热处理加微体嫁接、化学处理加小茎尖培养等均取得了很好的效果。董亚凤等[10]报道,梨采用热处理材料加茎尖培养及试管苗热处理结合茎尖培养的方法,分别较单纯茎尖培养脱毒率高 57% 和 62.4%。伍克俊等[8]在甜樱桃脱毒时,利用热处理结合小茎尖分生组织培养比单独使用小茎尖培养脱毒率高,脱毒率达 80%。曹为玉等[21]对葡萄采用变温(白天 38 ℃、夜晚 35 ℃,各 12 h)热处理 60 d,切取 0.2～0.5 mm 的小茎尖培养后认为,两者结合比单纯用茎尖或热处理方法可获得更好的脱毒效果,脱毒率达到 75% 以上。罗晓芳等[14]热处理((37+1.5) ℃)苹果试管苗加小茎尖(< 2 mm)处理 28 d,可有效脱除苹果褪绿叶斑病毒和茎沟病毒,比单用热处理脱毒效果好得多。Stein 等[43]用试管苗结合小茎尖培养脱除了桃的李属坏死环斑病毒。Degratias 等[18,32]用化学药品并结合热疗和组织培养 3 种方法,脱除了甜樱桃李属坏死环斑病毒、李矮缩病毒和苹果褪绿叶斑病毒。

5 小 结

病毒严重影响果树的生长和结果,并且造成巨大的经济损失,所以无毒化栽培显得尤为重要,而无病毒技术的研究则是实现果树栽培无毒化、规范化的前提。脱毒效果受多种因素的影响,如材料的基因型、生长状态、病毒种类、处理条件、操作技术等,所以在选择脱毒方法时,可以用单一的脱毒方法,也可以将几种方法结合使用。传统的脱毒方法如热处理、小茎尖培养等虽然操作繁琐,但是脱毒效果非常好,今后可以对改进影响成活率和脱毒率的因子加以研究,如环境条件、基本培养基、处理温度、茎尖大小等。化学疗法目前的脱毒效果还不是很好,但由于化学疗法方便快捷、操作简单,所以脱毒药品的研究和开发将是今后研究的一个主要方向。另外,抗病毒转基因技术是从作物自身出发,通过基因工程手段转入外源抗病毒基因,并在作物体内表达达到直接抗病毒的目的,将是今后果树无病毒技术研究的另一热点。

[参考文献]

[1] 谷建田. 园艺作物组培脱毒技术及应用前景[J]. 北京农学院学报, 1993, 8(2): 147-152.

[2] 李世润, 黄 粤. 园艺植物脱毒研究进展[J]. 农牧情报研究, 1992, (2): 36-40.

[3] George. Heat inactivation of stone fruit ringspot virus[J]. Phytopathology, 1990, 50(3): 380-382.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[4] Lenz F, Gisela Baumann, Pajchima Kornkamhaeng. High temperature treatment of *Prunus avium* L. 'F12/1' for virus elimination[J]. Phytopathy, 1983, 106(3): 373- 375.
[5] 曹孜义, 刘国民, 王　蒂, 等. 实用组织培养教程(修订本)[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1999.
[6] 覃兰英, 李　青, 黄　宇, 等. 核果类病毒识别及脱毒技术[J]. 北京农业科学, 1997, 15(5): 23- 28.
[7] 张尊平, 张少瑜, 洪　霓, 等. 热处理脱除梨病毒病技术[J]. 北方果树, 2001, (5): 8- 9.
[8] 伍克俊, 苟永平. 大樱桃脱毒效果初步研究[J]. 甘肃农业科技, 1996, (10): 15- 16.
[9] 范丽华, 郑铭西, 叶旭东. 热处理脱毒获得无毒葡萄苗[J]. 福建农业科技, 1995, (3): 41.
[10] 董亚凤, 于济民. 梨树苹果茎沟病毒的脱毒技术研究[J]. 中国果树, 1998, (4): 8- 10.
[11] 战淑敏, 李保华. 热处理苹果试管苗脱毒研究[J]. 莱阳农学院学报, 1997, 14(3): 184- 187.
[12] Leonhardt W, Warosch C H, Auer A, et al. Monitoring of virus dieases in Austrian grapevine varieties and virus elimination using *in vitro* thermotherapy[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1998, 52(1): 71- 74.
[13] 方中达. 植病研究方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
[14] 罗晓芳, 田砚亭, 杨传贵. 两种苹果潜隐性病毒脱毒技术研究[J]. 北京林业大学学报, 1996, 10(1): 23- 28.
[15] 蔡祝南, 杨莉莉. 切花菊病毒脱毒及脱毒苗的检测[J]. 植物病理学报, 1992, 22(1): 34.
[16] 周俊义, 刘孟军, 侯保林. 枣疯病研究进展[J]. 果树科学, 1998, 15(4): 354- 359.
[17] 谢嘉华, 袁建军. 花卉脱毒培养与优质种苗生产[J]. 生物学杂志, 2001, 18(5): 37- 38.
[18] Deogratias J M, Dosba F, Lutz A. Eradication of prune dwarf virus *Prunus necrotic* ringspot virus and apple chlorotic leaf spot virus in sweet cherries by a combination of chemotherapy, thermotherapy and *in vitro* culture[J]. Canadian Journal of Plant Pathology, 1989, 11: 337- 342.
[19] 马丰山, Carol A P. 胞间连丝: 共质体运输的动态通道[J]. 植物学报, 2001, 43(5), 441- 460.
[20] 王金生. 分子植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
[21] 曹为玉, 郑燕棠, 张福庆. 葡萄茎尖脱毒培养和快速繁殖[J]. 华北农学报, 1993, 8 (2): 69- 72.
[22] 刘庆忠, 赵红军, 姜君军, 等. 无病毒草莓良种繁育技术体系的建立[J]. 落叶果树, 2000, (4): 1- 4.
[23] 陈菁瑛, 陈景耀. 龙眼茎尖离体培养及其脱毒效果[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(2): 126- 127.
[24] 杭　玲, 陈丽娟, 陈少珍. 罗汉果茎尖脱毒快繁技术[J]. 西南农业学报, 1999, 12(3): 125- 127.
[25] 高遐红. 提高草莓茎尖组织培养脱毒效率研究[J]. 中国果树, 1994, (2): 5- 6; 14.
[26] 曹孜义, 李知行, 李　唯, 等. 葡萄脱毒及无毒苗试管快繁技术[J]. 农业科技通讯, 1991, (12): 11- 12.
[27] 阎贤伟. 甜樱桃茎尖培养和快速繁殖研究[J]. 园艺学报, 1990, 17(4): 275- 279.
[28] 刘用生, 李友勇. 植物组织培养中活性炭的应用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 214- 21.
[29] 王纪方, 贾春兰. 园艺植物组培苗工厂化生产　(四)茎尖脱毒[J]. 农村实用工程技术, 1996, (2): 11- 12.
[30] Navarro L, Liacer G, Cambra M, et al. Shoot-tip grafting *in vitro* for elimination of viruses in peach plants[J]. Acta Horticulturae, 1982, 130(3): 185- 192.
[31] Juarez J, Arregui J M, Camarasa E. Recovery of virus-free peach tree from elected clone by shoot-tip grafting *in vitro*[J]. Acta Horticulturae, 1988, 235(1): 77- 83.
[32] Degratias J M, Lutz A, Dosba F. *In vitro* micrografting of shoot tips from juvenile and adult *Prunus avium* and *Prunus persica* (L.) Batsh to produce virus-free plants[J]. Acta Horticulturae, 1986, 193(2): 139- 145.
[33] 马凤桐, Murashige T. 柑桔属茎尖嫁接脱毒的研究[J]. 植物学报, 1989, 31(7): 565- 568.
[34] 李隆华, 黄治远, 漆巨贤. 柑桔茎尖嫁接脱毒苗培育技术初探[J]. 四川果树, 1996, 24(2): 10- 11.
[35] 赵世经, 罗　楠, 龙德平. 柑桔茎尖嫁接新法的研究[J]. 西南农业大学学报, 1991, 13(4): 413- 415.
[36] 张秋胜, 舒广平, 宋顺华. 柑桔茎尖嫁接技术的改进[J]. 中国柑桔, 1991, 20(2): 11- 13.
[37] 郭兴启. 植物抗病毒基因工程育种策略及其进展[J]. 生命科学研究, 2000, (2): 112- 117.
[38] 李红叶, 陈力耕, 周雪平. 柑橘病毒与类病毒分子生物学和抗病毒基因工程研究进展[J]. 果树科学, 2000, 17 (2): 131- 137.
[39] Fitch M M, Manshardt R, GonSalves, et al. Stable transformation of papaya via microprojectile bombardment[J]. Plant Cell Report, 1990, 9: 189- 194.
[40] Laimer da Camara Machado, Da camara Machado A, Henzer V, et al. Regeneration of transgenetic plant of *Prunus armeniaca* containing the coat protein gene of plum pox virus[J]. Plant Cell Report, 1992, 11: 25- 29.
[41] Scorza R, Ravelonandro M, Callahan A, et al. Transgenetic plums express the plum pox virus coat protein gene[J]. Plant Cell Report, 1994, 14: 18- 22.
[42] Scorza R, Levy L, Damsteegt V, et al. Transformation of plum with the papaya ringspot virus coat protein gene and reaction of transgenetic plant to plum pox virus[J]. Amer Soc Hort Sci, 1995, 120(4): 943- 950.
[43] Stein A, Spiegel S, Faingersh G, et al. Responses of micropropagated peach cultivars to thermotherapy for elimination of *Prunus necrotic* ringspot virus[J]. Ann Appl Bilo, 1991, 119(2): 265- 271.

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

Progress of techniques for virus-free fruit trees

PENG Xiang-yong[1], **MA Feng-wang**[1], **ZHANG Kai-chun**[2]

(1 *College of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi* 712100, *China*;
2 *Beijing Pomology and Foresty Reserch Institute, Beijing* 100093, *China*)

Abstract: According to the achievements in the field, this paper reviewed the current four methods of virus-free in fruit trees: physical therapy, chemotherapy, shoot-tip culture and transgenic technique, and introduced the manipulative process and their characteristics. In addition, it was figured out that antivirus drugs developing and techniques of transgene would be the main research fields of virus-free in the future.

Key words: fruit trees; virus; techniques of virus-free

(上接第 186 页)

The micro-economic connotation of stochastic processes

YANG Zhi-yuan[1], **HE Rong-tian**[1], **DING Ying**[2]

(1 *Post Doctoral R & D Base, Guangfa Securities Co., LTD. Guangzhou, Guangdong* 510075;
2 *Changsheng Fund Management Co., LDT. Beijing* 100056, *China*)

Abstract: This paper studies the economic connotation of stochastic processes used in financial research. If the investor's expected return is independent to securities, price is generated by Poisson process, then the securitie's price is discontinuous. The explanation for continuous time case can be used to the discrete time case too.

Key words: the securities's price; continuous time stochastic process; discrete time stochastic process; economic connotation

© 1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net