

草莓抗蚜虫及相关蚜传病毒病的研究进展

陈迪新, 张绍铃 (1. 河南科技大学林学院, 河南洛阳 471003; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095)

摘要 综述了蚜虫及相关蚜传病毒病对草莓生产的危害、主要防治措施, 重点论述了育种技术对草莓病毒病及蚜虫防治的研究进展。主要包括早期的传统育种技术以及近期结合传统杂交育种进行的抗蚜虫和相关病毒病的生物技术育种。最后, 对草莓抗蚜虫及相关蚜传病毒病研究中存在的主要问题进行了讨论, 并对其前景进行了展望。

关键词 草莓; 蚜虫; 病毒病; 育种

中图分类号 S668.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)31-13749-04

Research Progress on Strawberry Resistance to Aphids and the Related Aphid-spread Virus Disease

CHEN Di-xin et al (College of Forestry, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

Abstract The harm of aphids and the related aphid-spread virus disease on strawberry production and main prevention and control measures were summarized. The research progresses on the breeding technologies for controlling the virus disease and aphids of strawberry were emphatically expounded, which mainly included the early traditional breeding technology and the recent biotechnological breeding for controlling aphids and the virus disease with the traditional cross breeding. Finally, the main existing problems in the research of strawberry resistance to aphids and the related aphid-spread virus disease were discussed. And the foreground was predicted.

Key words Strawberry; Aphids; Virus disease; Breeding

草莓属于蔷薇科(Rosaceae)草莓属(Fragaria)多年生草本果树, 世界上绝大部分国家都有栽培, 在世界小浆果生产中居于首位。草莓浆果除了具有较高的营养价值之外, 还具有较高的药用价值。

草莓的病虫害较多, 危害草莓的害虫主要有蚜虫、红蜘蛛、地老虎等。危害草莓的病害更多, 而病毒病是危害草莓较为严重的一类病害, 目前已报道的可侵染草莓的病毒有20多种, 其中对生产造成严重损失的病毒病主要包括草莓皱缩病毒、草莓斑驳病毒、草莓镶脉病毒和草莓轻型黄边病毒4种, 以上4种病毒主要靠蚜虫传播, 4种病毒总侵染率达80%以上, 病毒的交互感染可使草莓产量损失达30%以上^[1-3]。蚜虫作为病毒的传播者, 其传毒所造成的危害损失远大于其本身危害所造成的损失。因而, 结合蚜虫防治进行草莓病毒病防治具有十分重要的意义。21世纪提倡发展无污染食品, 各国在激烈的国际竞争中, 对所进口的食品实施严格的标准。因此, 培育抗病虫害品种是防御草莓病虫害的根本措施, 具有重要的经济效益和社会效益。笔者综述了国内外对草莓蚜虫及相关蚜传病毒病防治和育种研究的进展。

1 草莓蚜虫及相关蚜传病毒病的防治

目前, 草莓病毒病的治理方法大多不太理想。栽培中使用的农药(溴化甲烷除外)大多对草莓病毒病防治效果不理想, 而溴化甲烷等农药是要定期停止使用或限制使用的农药, 并且很多农药的使用也不符合当前要求的无公害栽培或有机栽培的标准。因而, 栽培中通常采用栽培脱毒苗进行无土栽培、昆虫防治、切断病毒传播途径或选择抗性品种等方式来减轻病毒对草莓的危害^[4-9]。目前, 草莓无毒苗培育主要有3种方法: 热疗法、花药培养法和茎尖培养法, 其中茎尖培养法是目前获得草莓无毒苗最普遍、最有效的方法^[1,3,6]。目前, 虽然无毒苗培育技术已经比较成熟, 但容易再次感染, 需要定期更换种苗。

栽培中对危害草莓及传播病毒病的蚜虫防治最常用的控制方法主要有农业防治、物理防治、利用天敌、植物灭蚜及药剂防治等, 但效果都不太理想, 并且每年都要进行重复劳动; 另一种控制方法就是栽培抗蚜虫品种, 但是品种有限, 综合性状不太理想, 抗性也不是太强, 因此当务之急是培育抗蚜虫性强的优良品种。

总之, 培育无病毒母本苗、栽培无病毒苗木, 是防治草莓病毒病的根本对策。结合抗病育种进行抗蚜虫育种, 对病毒病的防治以及对蚜虫防治都具有重要意义。

2 育种技术在草莓蚜虫及相关蚜传病毒病防治中的应用

鉴于国内外对草莓抗病虫害品种的迫切需求, 加之无公害生产及生态环境保护要求的不断升级, 而由于脱毒苗的使用周期较短、脱毒不彻底、抗病品种易产生变种等原因^[9], 因此在进行抗病品种选育的同时, 利用不同方法进行草莓抗蚜品种的选育, 从而从源头上控制草莓病虫害已成为大势所趋。随着科技的发展和资源的发掘, 利用常规育种结合基因工程手段, 培育草莓抗病虫害品种, 则是解决蚜虫及相关病毒病的积极措施。

2.1 传统育种技术在草莓蚜虫及相关蚜传病毒病防治中的应用

多年来, 人们以有性杂交作为草莓品种改良和扩大遗传背景的主要手段, 其中包括利用野生种与栽培种杂交。常规杂交育种工作不足之处是种质资源即育种亲本不足, 有时因为亲缘关系太远而不能实现有性杂交, 需要的性状不能引入到草莓基因库。草莓栽培种凤梨草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)为八倍体($2n=8x=56$), 草莓属野生种包括二倍体、四倍体、五倍体、六倍体等不同染色体倍性的材料^[10], 尽管在染色体倍性接近的野生种与凤梨草莓间杂交较易获得杂交后代, 但通过直接杂交方法将二倍体种质结合至凤梨草莓中仍存在一定难度^[11], 目前, 多采用二倍体染色体加倍再与凤梨草莓作有性杂交或以四倍体、六倍体作为桥梁亲本, 再与八倍体凤梨草莓杂交作为克服杂交不亲和的主要方法, 目前, 已得到了具有潜在利用价值携带外缘种质的种间杂交后代材料^[12-14]。也有利用原生质体融合技术进行种间杂交的, 但目前成功的报道不多^[15]。Shanks等以栽培品种Linn和

基金项目 河南科技大学博士科研启动基金项目(09001100)。

作者简介 陈迪新(1975-), 男, 河南商城人, 博士, 讲师, 从事园艺植物生物技术及生理研究工作。

收稿日期 2008-09-03

Del Norte 为亲本,通过杂交获得了对草莓钉毛蚜存在高度抗性杂交后代^[16]。Shanks 等还发现智利草莓无性系 Pel Norte 和 Yaquina 对蚜虫的抗性是可遗传的^[17],据此可设想将抗蚜虫基因分离并克隆出来,再转入栽培品种中以获得抗蚜性状。但目前草莓中还没有发现有关抗蚜虫基因的分离和克隆的报道。其他传统的辅助有性杂交育种技术有茎尖培养结合辐射诱变育种以急离体胚培养和无融合生殖技术等,但在培育抗病虫害品种中应用不是很多或效果不是很好^[18]。

国内外的研究表明,有性杂交结合回交自野生草莓向凤梨草莓导入有益基因是可行的,Kantor 以凤梨草莓与麝香草莓(*F. moschata* Duch, $2n = 6x = 42$) 杂交获得了具有麝香草莓风味的种间杂种 *F. anaschata*^[19]; Trjtkovski 利用 $8x$ 的栽培种凤梨草莓与森林草莓加倍后的 $4x$ 植株杂交所得的材料与 $8x$ 栽培种回交进行性状改良,获得了具有野生草莓风味、抗叶部病害、可育性状接近凤梨草莓的品系^[20]。相对说来,我国对野生资源的利用研究较少,雷家军等对我国原产的东北草莓、绿色草莓及五倍体草莓间进行杂交,获得了 $4x$ 、 $5x$ 、 $6x$ 、 $7x$ 、 $8x$ 及 $9x$ 丰富的倍性试材。以中国原产二倍体黄毛草莓与八倍体栽培种凤梨草莓栽培品种春霄和硕香杂交,通过胚拯救获得了种间杂种,经体细胞鉴定种间杂交后代为五倍体,育性差,但田间抗病性与野生亲本表现一致,可利用其进行染色体加倍再与栽培品种不断回交从而将抗病基因导入凤梨草莓中,获得生产上可利用的草莓栽培种^[21]。近几年,我国除在国外引进大量的草莓栽培种外,国内也培育了一些栽培种,且我国存在大量的野生草莓,这些野生草莓对不良环境具有较好的生态适应性,若能从这些草莓品种或其杂交后代中筛选一批品质优良、抗逆性强,尤其是抗蚜虫及相关病毒病的品种或是将其相关基因转移至凤梨草莓,无疑对我国草莓品种改良具有重要意义。

2.2 基因工程在草莓抗蚜虫及蚜传病毒病育种中的应用 1990年,James 等获得的第一棵草莓转基因植株标志着草莓基因工程的开始^[22]。之后,草莓的遗传转化研究进入实用性阶段,多种有经济价值的外源目的基因被转入草莓。迄今为止,已经可以利用叶片为外植体诱导愈伤组织并分化出完整植株,也建立了叶盘直接再生芽的高频稳定再生体系;以托叶为外植体,诱导出愈伤组织并获得高频率的再生植株,以匍匐茎为外植体诱导愈伤组织并获得再生植株,以原生质体培养获得再生植株等,迄今,人们已将多种有价值的外源目的基因导入到草莓植株中^[23-28]。上述离体培养的成功及研究的发现为草莓的转化研究奠定了基础。Oosumi 等以生长6~7周后的十分容易转化的野生二倍体森林草莓(*Fragaria vesca* L. $2n = 2x = 14$) 的未展开的三小叶为材料,利用农杆菌的环形DNA分子(T-DNA)将外源DNA转移到野生森林草莓基因组中,获得了100%的转化率^[29]。用于转化的森林草莓具有基因组小、生长周期短、容易再生、可以用无性和有性方式繁殖等优点,是草莓育种和研究遗传规律的理想材料,可满足草莓基因功能的大规模研究,为导入有经济价值的目的基因奠定了坚实的基础。随着农杆菌介导的草莓叶盘转化法的日臻完善,国内外的研究者开始把研究重点集

中到本国或地区的某一主栽品种,在建立高效、稳定再生体系的基础上,将抗虫、抗病毒、抗逆、抗除草剂和改良果实品质等目的基因导入草莓,以期改良现有草莓品种性状。

2.2.1 基因工程在草莓抗蚜虫育种中的应用。利用转基因技术把抗蚜虫基因导入草莓,培育抗蚜新品种,是综合防治草莓蚜虫的理想手段。抗虫基因在草莓上的转化研究主要集中在蛋白酶抑制剂(PI)上。1992年James等首先开展了草莓抗虫转基因研究,他们将几种鳞翅目和鞘翅目害虫抗性有关的CpTi基因转入草莓品种“Raodla”中,获得了转基因植株^[30]。Graham等将一种抗虫基因——豇豆胰蛋白酶抑制剂(CpTi)基因导入草莓,在温室中对其进行生物学检测,表明转化植株在第3年仍能有效地减少大田中藤象甲及其虫蛹造成的损失。田间试验进一步证实了温室的试验结果,转基因植株藤象甲虫蛹明显减少,而对步行虫和其他非目标节肢动物无显著影响^[23,25,31]。James等将豇豆胰蛋白酶抑制剂基因(CpTi)转入草莓并获得完整转基因植株^[32]。这预示着草莓抗虫基因工程已步入一个良好的开端。

雪花莲凝集素外源凝集素基因(*Galanthus nivalis aggregation, GNA*)是英国剑桥农业遗传公司和Durham大学的科学家发现的对蚜虫具有显著抗性且对人畜无害的植物源基因。用基因工程手段将GNA基因导入植物基因组以达到抗虫效果的研究,是目前国内外研究的热点。已有文献报道转GNA基因对烟草、棉花、水稻及番茄等均具有一定的抗虫性^[33-36]。宁夏农科院课题组将雪花莲凝集素基因导入枸杞细胞,获得了抗蚜虫的转基因枸杞株系。抗虫试验表明,转基因枸杞对抑制蚜虫效果显著。因此,推测可以把GNA基因导入草莓,可获得抗虫品种。另外,在草莓的种质资源中有抗蚜虫的基因资源^[17-18],因此,一方面可通过常规育种途径将抗蚜虫基因引入栽培品种,另一方面,将抗蚜虫基因分离并克隆出来,再转入优良栽培品种中以获得抗蚜性状。

抗性品种的长期栽培会导致其抗性水平下降,预测靶标害虫会在一定时期内对转基因植物产生抗性。将2种或2种以上不同的抗蚜基因转入草莓可获得同时表达多种抗蚜基因的植株,这样有望增加抗蚜谱和延缓蚜虫抗性的产生。这类研究在棉花、水稻等作物上已有很多成功的先例^[37-38]。王志斌等将人工合成的GNA成熟蛋白基因和GMry1A基因与35S启动子构建成双价基因表达载体,并由此获得了抗棉铃虫及蚜虫效果较好的转基因烟草^[24]。目前草莓抗病害已有转多价基因成功的报道,如草莓转基因品种Pavana是转有3个抗草莓疫霉菌病害的草莓新品种,其抗性基因分别为Rpf1、Rpf3和Rpf6,其植株对草莓疫霉菌病害抗性效果十分明显,并且也增强对其他病害的抵抗力^[39]。

2.2.2 基因工程在草莓抗病毒病育种中的应用。利用基因工程技术,培育抗病毒新品种,是解决草莓病毒危害的有效措施,目前,一些国家相继开展抗病品种的选育工作,如意大利、波兰、日本、墨西哥、西班牙等。抗病毒基因有外壳蛋白(CP)基因、复制酶基因、反义RNA、卫星RNA、移动蛋白基因等^[40],其中比较成熟的途径是利用病毒CP基因^[41]。

近几年来通过基因工程技术控制或减轻病毒病为害程度已在作物上取得进展,如烟草、马铃薯等作物^[42-43]。利用

外壳蛋白基因原理研究成功的基因工程有利用TMV、CMV、PVX、PVY、AIMV、SMV的CP基因获得抗病毒的番茄、烟草、辣椒、马铃薯、苜蓿等,并且大部分转基因植株已进入生产应用阶段。在草莓上,隋春等已利用PCR技术克隆了SVBV CP基因片段,获得携带SVBV CP基因片段的载体,可用于草莓的基因转化^[44]。1995年,Finstad和Martin将草莓轻型黄边伴随病毒的外壳蛋白基因(*SMYELV CP*)通过农杆菌转化2个草莓栽培品种“Totem”和“Hbod”,并获得转基因植株,PCR和Southern检测已证实外源基因稳定整合到草莓基因组中,ELISA分析表明整合的外源基因在转基因植株体内已表达^[24]。如果外壳蛋白基因的导入效果好,可设想将上述4种病毒的外壳蛋白基因均克隆出来并导入栽培品种,使其获得对病毒的抗性,将给草莓抗病育种和栽培带来广阔的发展前景。实际上只要对草莓病毒的基因进行测序,确定CP基因的位置,便可以克隆出相关的CP基因。需要注意的是病毒的变异性大,不同地域的病毒基因序列是有差异的,要获得较好的抗性最好是利用当地资源的病毒CP基因。

在研究中发现马铃薯Y病毒(PVY)复制酶基因(Nb)的转化植株可以抵抗PVY病毒粒子的攻击,它较CP基因的抗病毒能力强50~100倍^[45]。徐惠君等将黄花叶病毒复制酶基因导入小麦也获得了较高的抗病性能^[46]。一系列试验结果证明病毒复制酶基因的转化植株具有高效的抗病毒性能。遗憾的是,不是所有的病毒都带有复制酶基因,草莓的4种专一性病毒是否具有相应的复制酶基因要等待它们的序列测定结果及基因功能分析后才能确定。如草莓病毒病也具有该基因,就可以开展类似的研究。

不同品种对病害的抗病性有明显差异,培育和利用抗病品种在很多病害的综合防治中处于重要地位,特别是对于类似病毒病等难以防治的病害,抗病品种的作用尤为突出。因而选用抗病性强的品种,进行有性杂交或利用基因工程等手段培育草莓抗病毒品种,则是解决病毒病危害的积极措施。目前,意大利已选出了多个抗土传病害的新品系,在用溴化甲烷熏蒸和未熏蒸的土壤上均表现良好^[47]。

目前,草莓镶脉病毒完整的DNA序列已完成测定^[48],一草莓轻型黄边病毒分离株的完整核苷酸序列和一大小为878 nt区域的外壳蛋白序列以及SMYEV的23个侧翼区均已获得测定和分析^[7]。Klerks等对草莓皱缩病毒从分子水平上进行了试探性的分类研究^[49]。目前已完成全长测序的浸染草莓的病毒还有甜菜伪黄化病毒^[50]。这些成果都将进一步推动利用生物技术进行草莓抗病毒育种的研究。

3 问题与展望

虽然草莓抗蚜虫和相关蚜传病毒病研究取得了一定的进展,但仍存在着一些问题,主要表现在:过分强调转基因技术,其他一些优良技术未能得到充分利用,如原生质体融合技术、辐射诱变等技术已经很成熟,但应用较少。有重要应用价值的目的基因较少。由于草莓的多倍性,遗传背景复杂,重要性状常受多基因控制,不易分离到有价值的目的基因。目前草莓转基因研究涉及的目的基因不多,所应用的外源基因很少来自草莓基因组本身。今后除应加强转基因本身的研究外,还应加快草莓新基因鉴定和分离克隆方面的

研究,给转基因提供有应用价值的目的基因。目的基因的表达强度不够。目前,草莓转基因所用的启动子主要是花椰菜病毒(CaMV)35S的组成型启动子,它驱动外源基因在草莓体内各部位平均表达,难以达到理想的效果。当前,虽然获得了一些抗病虫害的转基因草莓植株,并进行了田间试验,但由于目的基因的表达强度不够,还未达到在生产上推广和应用的要求。病虫害目标对转基因植物的抗性适应。以后在抗病虫害育种中应尽可能多用二价体或多价体,进一步完善草莓的遗传转化方法,实现多基因转化的草莓转基因。因此,草莓基因工程今后研究的重点除了根据草莓自身的特点寻找更适于其遗传转化的方法外,还应加强对各种遗传转化方法的改良以扩大可转化的基因片段大小。种质资源发掘的力度不够。草莓属有大量的野生品种,未能很好地收集和作为育种材料加以充分利用,如通过染色体加倍结合有性杂交等途径,将野生草莓中的遗传物质融合到栽培品种中而获得杂种新类型。尽管目前与抗病虫有关的可转导的基因种类较多,但广谱性抗病虫的有效基因较少。为此,应特别注意开发丰富的野生草莓及其他野生植物种质中所蕴藏的优良基因资源。野生草莓具有广泛的适应性和多种优良特性,有些品种在风味品质、抗病虫害等不良环境方面表现优良,克隆这些优良的基因并导入栽培草莓具有较强的使用价值。

草莓多采用无性繁殖,一旦获得转基因品种,即可通过组织培养或匍匐茎来大量繁殖,在短期内得到大量的植株,从而迅速得到推广和应用。由于不需通过有性繁殖,后代性状保持一致,其遗传稳定性较好。再加上草莓生物技术研究已有一定基础,如一些主栽品种已建立起了较为完善的再生体系,有些品种已获得导入有价值的目的基因的转化植株,因此转基因技术在改良草莓某些特殊性状和选育新品种方面具有广阔的应用前景。总之,随着研究手段的不断更新和改进以及细胞生物学、分子生物学等理论与技术的发展,一定能有效解决上述问题。

参考文献

- [1] 周厚成,何水涛.草莓病毒病研究进展[J].果树学报,2003,20(5):421-426.
- [2] 王国平,刘福昌,薛光荣.草莓病毒病种类鉴定及无病毒种苗的技术研究[J].中国农业科学,1990(4):43-49.
- [3] 胡淑明,张学英,李青云,等.草莓脱毒技术研究进展[J].河北果树,2007(4):1-5.
- [4] 王国平,刘福昌.带病毒和无病毒草莓生长和结果的比较[J].北方果树,1990(3):9-12.
- [5] 高山林.草莓改良热处理分生组织脱病毒技术及脱病毒苗的应用[J].江苏农业科学,1999(3):63-64.
- [6] 张志宏,肖敏,杨洪一,等.草莓病毒脱除方法的比较与评价[J].果树学报,2006,23(5):720-723.
- [7] THOMPSON J R, JELKMANN W. Strain diversity and conserved genome elements in strawberry mild yellowedge virus[J]. Archives of Virology, 2004, 149(10):1897-1909.
- [8] 张志宏,杨洪一,代红艳,等.应用多重RT-PCR检测草莓斑驳病毒和草莓轻型黄边病毒[J].园艺学报,2006,33(3):507-510.
- [9] 杨旭光,罗大全,车海彦.蚜传植物病毒传播复合体形成机理[J].热带农业科学,2005,25(3):76-79.
- [10] 俞德浚.落叶果树分类学[M].上海:上海科学技术出版社,1984:174-179.
- [11] 马鸿翔,陈佩度.黄毛草莓与凤梨草莓种间杂种的获得及其细胞遗传学分析[J].中国农业科学,2004,37(12):1966-1970.
- [12] SANGIACOMO MJ, SULLIVAN J A. Introgression of wild species into the cultivated strawberry using synthetic octoploids[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1994, 88:349-354.
- [13] BUER A. Progress in breeding decaploid *Fragaria × vesca* [J]. Acta Hort-

- culturæ, 1993, 348: 60 - 63.
- [14] YUI N, MOCHIZUKI T, SONE K. Interspecific hybrids originated from crossing Asian wild strawberries (*Fragaria nilgerrensis* and *F. iinumae*) to *F. ananassa* (Abstr.) [J]. *Hortscience*, 1997, 32(3): 439.
- [15] INFANTE R, ROSOLI P. *Fragaria vesca* L. 'Alpine' protoplast culture and regeneration [J]. *Acta Hort*, 1993, 348: 432 - 434.
- [16] SHANKS JR C H. Entomology of the strawberry [C] // HARRIS MK, ROGERS C E. The entomology of indigenous and naturalized systems in agriculture (Westview studies in insect biology). Boulder: Westview Press, Boulder Colorado, 1986: 91 - 98.
- [17] SHANKS JR C H, BARRITT B H. *Fragaria chiloensis* does not resist to the strawberry Aphid [J]. *Hortscience*, 1974, 9: 202 - 203.
- [18] 高清华, 叶正文, 张学英, 等. 草莓生物技术育种研究进展 [J]. 分子植物育种, 2006(5): 123 - 129.
- [19] KANTOR T S. Results of breeding and genetical work on the production of economically useful varieties from incongruent crosses of *Fragaria ananassa* Duch × *F. moschata* [J]. *Duch Genetika*, 1983, 19: 2050 - 2059.
- [20] TRAJKOVSKI K. Progress report on *Fragaria* species hybridization at Balsgard, Sweden [J]. *Acta Horticulturae*, 1993, 348: 131 - 136.
- [21] 雷家军, 代汉萍, 邓明琴, 等. 草莓种间杂交的研究 [J]. 园艺学报, 2002, 29(6): 519 - 523.
- [22] JAMES DJ, PASSEY AJ, BARBARA DJ. Agrobacterium mediated transformation of the cultivated strawberry (*Fragaria ananassa* Duch) using disarmed binary vectors [J]. *Plant Sci*, 1990, 69: 79 - 94.
- [23] GRAHAM J, MCNOLL R J, GREG K. Towards genetic based insect resistance in strawberry using the *Covpea* trypsin inhibitor gene [J]. *Ann Appl Biol*, 1995, 127(1): 163 - 173.
- [24] FINSTAD K, MARIIN R R. Transformation of strawberry for virus resistance [J]. *Acta Hort*, 1995, 385: 86 - 90.
- [25] GRAHAM J, GORDON S C, MCNOLL R J. The effect of the GpII gene in strawberry against attack by vire veevil (*Oi orhynchus sulcatus* F. Coletera: Curculionidae) [J]. *Ann Appl Biol*, 1997, 131(1): 133 - 139.
- [26] 金万梅, 尹淑萍, 鲁韧强, 等. GO 基因对草莓遗传转化及抗病性鉴定 [J]. 分子植物育种, 2005, 3(6): 797 - 800.
- [27] SCHESILBRATOV K A, DOLGOV S V. Transgenic strawberry plants expressing a thaumatin gene demonstrate enhanced resistance to *Bitytis cinerea* [J]. *Scientia Horti*, 2005, 106: 177 - 189.
- [28] 王俊丽, 葛会波, 彭士琪, 等. 草莓外源 LEA3 基因的导入 [J]. 园艺学报, 2003, 30(3): 322 - 324.
- [29] OOSUMI T, GRUSZEWSKI H A, BLISCHAK L A, et al. High efficiency transformation of the diploid strawberry (*Fragaria vesca*) for functional genomics [J]. *Harta*, 2006, 223(6): 1219 - 1230.
- [30] JAMES DJ, PASSEY AJ, ESTERBROOK MA, et al. Progress in the introduction of transgenes for pest resistance in apples and strawberry [J]. *Phytoparasitica*, 1992, 20(S1): 83 - 87.
- [31] GRAHAM J, GORDON S C, SMITH K, et al. The effect of the *Covpea* trypsin inhibitor in strawberry on damage by vire veevil under field conditions [J]. *J Hort Sci Btech*, 2002, 77(1): 33 - 40.
- [32] JAMES DJ, PASSEY AJ, WEBSTER A D. Transgenic apples and strawberries: Advances in transformation, introduction of genes for insect resistance and field studies of tissue culture plants [J]. *Acta Horticulturae*, 1993, 336: 179 - 184.
- [33] BOULTER D, EDWARDS G A, GATEHOUSE A M R, et al. Additive protective effects of different plant-derived insect resistance genes in transgenic tobacco plants [J]. *Genet Hort*, 1990, 9: 351 - 354.
- [34] 王志斌, 郭三堆. 表达 *cryIA/gna* 双价抗虫基因烟草兼抗棉铃虫和蚜虫 [J]. 科学通报, 1999, 44(19): 2068 - 2074.
- [35] 袁正强, 赵存友, 周岩, 等. 雪花莲凝集素基因 (*gna*) 的改造及其抗蚜性 [J]. 植物学报, 2001, 43(6): 592 - 597.
- [36] 张启军, 尹福强, 王世全, 等. 根癌农杆菌介导 *gna* 基因对水稻的转化 [J]. 中国农学通报, 2002, 22(6): 40 - 45.
- [37] 芮昌辉, 范贤林, 郭三堆, 等. 双价基因 (Bt + GpII) 抗虫棉对棉铃虫的杀虫活性及抑制生长作用 [J]. 棉花学报, 2001, 13(6): 337 - 341.
- [38] 姚春馨, 许明辉, 李进斌, 等. 转几丁质酶-葡聚糖酶双价基因水稻稻米毒理试验 [J]. 中国粮油学报, 2007, 22(4): 18 - 23.
- [39] MELLENBROEK E J, LINDELOOF C P J, KANNE H J. 'Pavana' a new strawberry cultivar from plant research international [J]. *Acta Horticulturae*, 2002, 567: 183 - 186.
- [40] 李红叶, 陈力耕, 周雪平. 柑桔病毒与类似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.
- [41] 张志宏, 景士西, 王关林. 果树基因工程研究进展 [J]. 果树科学, 1995, 12(3): 188 - 193.
- [42] 牛颜冰, 青玲, 周雪平. RNA 沉默机制及其抗病毒应用 [J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(2): 76.
- [43] 王岫芳. 马铃薯抗晚疫病和病毒病转基因研究现状与展望 [J]. 中国马铃薯, 2006, 20(2): 111 - 114.
- [44] 隋春, 吴禄平. 利用 PCR 技术检测草莓镶脉病毒 [J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 82 - 84.
- [45] 项瑜, 杨兰英. 改造的马铃薯 Y 病毒复制酶基因介导高度抗病性 [J]. 生物工程学报, 1996, 12(3): 258 - 265.
- [46] 徐惠君, 陈剑平. 基因枪介导法向小麦导入黄花叶病毒复制酶基因的研究 [J]. 作物学报, 2001(6): 688 - 693.
- [47] 张运涛, 王桂霞, 董静. 意大利草莓育种概况 [J]. 中国果树, 2003, 5(9): 58 - 59.
- [48] PETRIK K, BENE V, MR ZI. Strawberry vein banding virus-definitive member of the genus *Caulimovirus* [J]. *Virus Genes*, 1998, 16(3): 303 - 305.
- [49] KLERKS M M, LINDNER J L, VASKOV D, et al. Detection and tentative grouping of strawberry mottle virus isolates [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2004, 110(1): 45 - 52.
- [50] TZANEIAKIS I E, MARIIN R R. Complete nucleotide sequence of a strawberry isolate of Beet Pseudoyellow virus [J]. *Virus Genes*, 2004, 28(3): 239 - 246.

(上接第13724页)

长年限增加而减少, 19 龄果树的果园土壤进入衰败期, 有机质耕层含量有所增加。

(2) 渭北果园土壤从幼树到盛果期树, 有效氮素有累积现象, 有效氮素递增最为明显的部位在 20 ~ 40 cm 土层。在果树衰老阶段, 果园深层土壤氮素耗竭明显。15 龄果树的果园 40 ~ 100 cm 处氮素消耗显著, 19 龄后土壤有效氮素有恢复。果园土壤速效磷随园龄增长递增非常明显, 其递增部位主要发生在 40 cm 以上土层。8 龄果树的果园土壤耕层速效磷仅为 2.9 ng/kg, 19 龄果园土壤高达 9.8 ng/kg。尽管如此, 渭北果园土壤氮素和磷素的供给水平仍然在中下等水平, 从有效氮和速效磷递增的土层部位反映出渭北果树养分管理存在的主要问题是施肥深度欠佳, 在旱塬地区土壤墒情欠缺的情况下, 必须适度深施肥料, 才能充分发挥肥效。

(3) 不同树龄果园即使在富钙的石灰性土壤上同样也存在着交换性钙明显减少的趋势, 尤其是在 60 cm 以下土壤中表现得更为明显。土壤水溶性钙递增与使用无机化肥有很大关系。果园土壤交换性钙的递减, 水溶性钙的增加使得土壤缓冲能力下降, 土壤有酸化趋势, 是果园土壤质量退

化、影响果树可持续生产的又一个标志。

参考文献

- [1] 杨文杰, 吴发启, 方丽. 陕西省渭北黄土高原苹果发展战略研究 [J]. 西北农业学报, 2004, 13(3): 158 - 161.
- [2] 李辉桃, 周建斌, 郑险峰, 等. 旱地红富士果园土壤营养诊断和施肥 [J]. 干旱地区农业研究, 1996, 14(2): 45 - 50.
- [3] 张英利, 马爱生, 杨岩荣, 等. 陕西苹果产区土壤养分状况研究初报 [J]. 土壤肥料, 2003(5): 41 - 42.
- [4] 肖玲, 薛澄泽, 程志兴, 等. 礼泉北部苹果基地生态环境调查研究 [J]. 陕西农业科学, 1992(1): 17 - 18.
- [5] 赵建戟, 蒙海龙, 薛小安, 等. 苹果园养分状况分析及配方施肥试验 [J]. 山西果树, 2003(3): 4 - 6.
- [6] 王圣瑞, 马文奇, 徐文华, 等. 陕西省苹果施肥状况与评价 [J]. 干旱地区农业研究, 2004, 22(3): 146 - 150.
- [7] 许虎林. 苹果与钙 [J]. 西北园艺, 2001(2): 19.
- [8] 于绍夫, 曲复宁. 苹果的氮、钙营养与苦痘病相关性的研究 [J]. 烟台果树, 1987(1): 11 - 27.
- [9] 田惠桥, 远彤. 钙在被子植物受精过程中的作用 [J]. 植物生理学报, 2000, 26(5): 369 - 380.
- [10] 李会民, 程雪绒. 咸阳苹果园养分状况调查及对策 [J]. 北方果树, 2002(6): 20 - 22.
- [11] 游有文, 黄鸿翔, 王伯仁. 湘南地区几种主要土壤钾钙镁施用效果研究 [J]. 湖南农业科学, 1999(1): 39 - 41.
- [12] 孟赐福, 傅庆林, 水建国, 等. 浙江中部红壤施用石灰对土壤交换性钙、镁及土壤酸度的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 1999, 5(2): 129 - 136.
- [13] 南京农业大学. 土壤农化分析 [M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 1994: 10.