文章编号:1002-2724(2007)05-0102-04

植物组培脱毒技术及其在花卉上的应用

毕伟¹,董慧慧²,李顺凯³

(1.即墨市园林环卫管理处 266200;2.福建农林大学;3.青岛市农业局)

摘要:综述了植物组培脱毒技术的形成、研究进展、意义及其应用植物组培脱毒技术的培养条件,并重点阐述了植物组培脱毒方法及其在花卉上的应用以及病毒检测的重要性,最后浅析了植物组培脱毒技术存在的问题及展望。

关键词:植物组培脱毒;花卉;应用;病毒检测

中图分类号:S722.3¹⁷

文献标识码:A

1 植物组培脱毒技术概述

1.1 植物组培脱毒技术的形成

危害植物的病毒、植物菌原体、类细菌有几百种^[1],果树、花卉、蔬菜等植物病毒也不下500多种^[2],绝大多数植物种类是靠无性繁殖的,由于病毒通过无性繁殖传递,在母体内逐代积累,种性退化严重,表现为植物生长受到抑制,形态畸变,产量下降,品质变劣,严重时只好拔除病株,因而造成很大经济损失,而目前生产上对病毒病的防治尚无特效药物。

自从20世纪50年代发现通过植物组织培养的方法,可以脱除严重患病毒病植物的病毒,恢复种性,提高产量、质量,组织培养脱毒技术便在生产实践中得到广泛应用,且有不少国家已将其纳入常规良种繁育体系,有的还专门建立了大规模的无病毒苗生产基地。

1.2 植物组培脱毒技术研究进展

White于1943年首先发现,在感染烟草花叶病毒的烟草植株生长点附近病毒的浓度很低,甚至没有病毒,并且病毒的含量随植株部位和年龄而异。Morel等在这个启示下,于1952年利用感染烟草花叶病毒的大丽菊茎尖分生组织培养,得到了无毒植株^[3]。自1952年以来,通过茎尖分生组织培养或热处理与分生组织培养结合的方法获得成功的实例有100余种,其中最成功的实例之一是马铃薯的脱毒培养^[4]。

随着植物细胞培养技术的发展,20世纪50年代末通过愈伤组织培养脱毒获得成功。70年代初植物原生质体培养成完整的植株,为利用原生质体培育无毒植株提供了可能性。1975年Shepard^[5]通过对感染病毒的烟草原生质体的培养得到了无毒植株。1972年Navarro等将果树嫁接方法与茎尖分生组织培养法两者有机结合,创立了一种新的植物组织培养脱毒技术,即茎尖显微嫁接法。这一技术的创立,为果树的无病毒化开辟了一条新的途径。近几年来,应用上述技术在一些很难脱毒的植物上,如菊花、唐菖蒲、矮牵牛、球根鸢尾、风信子、水仙、文心兰、香石竹等都获得了不同程度的成功^[6]。

1.3 研究植物组培脱毒技术的意义

通过植物组培脱毒技术来生产脱毒苗可以实现防治目的,可以消除危害植物的病毒、植物菌原体、类细菌对植株的危害,使植株原来的一些优良性状重新表现出来,同时由于

消除了病毒的影响,植物的生长性能大大增强,能有效提高植物生长指标和经济指标。研究表明,脱毒试管苗比常规苗有更好的生长性能,较高的商品价值和生产利用价值。花卉苗木脱毒后花色鲜艳,品质优良,提高了其观赏价值和商品性;经济林和用材林苗木脱毒后,能保持其优良性状,生长迅速,增加结果量,提高果实品质和木材利用率;农作物脱毒后表现出生长良好,单位产量和质量提高,市场竞争力增强,达到增产增收的目的,而且如果脱毒苗移栽后管理得当,防治措施做得好,再次感染病毒病的机率比较小,因此植物组培脱毒技术显得非常重要。

1.4 培养条件

运用于脱毒的组培条件及培养基种类很多。主要生态因子:光照强度一般在1000~2000 lx,日照时8~12小时;温度(24±1)℃;湿度70%±5%;pH值5.8±0.1;培养基有MS、White、B5、N6等为主体的添加培养基,较为广泛应用的是MS培养基添加2,4-D,6-BA,NAA等。其中愈伤组织诱导培养基以MS添加6-BA 0.5~2 mg/L,2,4-D 0.5~2 mg/L,NAA 0.2~0.5 mg/L为宜;分化培养基以MS添加6-BA 0.5~3 mg/L,2,4-D 1~2 mg/L,NAA 0.2~0.5 mg/L为宜;生根培养基以1/2MS添加NAA 0.2~0.5 mg/L为宜。此外,4~5 mg/L PP₃₃₃有利于芽的分化,0.3 mg/L ABT在生根过程中也较多运用。常见的激素组合是MS+6-BA+NAA或MS+6-BA+2,4-D。此外,也有许多单独添加植物激素的情况,但所用浓度略微偏高^[7~17]。作为生长激素主要有IAA、IBA、NAA、2,4-D,细胞分裂素主要有6-BA、BAP、KT、ZT、GA,一般来说,较高浓度的细胞分裂素促进芽的形成而抑制根的形成,而高浓度的生长素则利于根的形成而抑制芽的形成^[18]。

2 植物组培脱毒方法及其在花卉上的应用

2.1 茎尖培养脱毒

茎尖培养是切取茎的先端部分或茎尖分生组织部分进行的无菌培养。最先开始采用的是Robbins,于1922年切取无菌发芽植物的芽先端长约1 cm部分,接种到琼脂培养基上培养。后来,White对番茄根尖培养也进行了研究。

在百合上,利用茎尖培养获取无病毒植株或获得脱毒种球^[19,20],能有效消除百合潜在病毒(LSV)、黄瓜花叶病毒

(CMV)等病毒病危害,促进生长。香石竹一旦感染病毒病就不能治愈,目前解决此问题的较为行之有效的方法是通过香石竹的茎尖脱毒培养^[21]。

茎尖培养根据培养目的和取材大小可分为茎尖分生组织培养和普通茎尖培养。严格地讲,茎尖分生组织仅限于顶端圆锥区,其长度不超过0.1 mm,最小的仅有十至几十 μm 。用这种茎尖分生组织培养,可获得无毒植株。但是,这么小的茎尖实际上很难取得,且培养成苗的时间也很长。因此,在实际培养中,常常采用带有叶原基的生长锥来培养。这种稍大的茎尖容易培养,并且也可能得到无毒的植株^[22~26],茎尖越大成活率越高,后期生长也越旺盛,而操作技术越简单。如菊花0.6 mm以下的茎尖脱毒效果可达100%,但成活率仅为37%^[27]。

2.2 热处理结合茎尖培养脱毒

为提高脱毒效果,有时将热处理与茎尖培养结合起来,即先把植株放在一定温度的环境下生长一段时间,再取其茎尖进行培养。首先应用热处理与茎尖培养相结合方法是Thomson,于1956年将感染X、Y病毒的马铃薯放在暗处发芽,当芽长到1~2 cm时用35℃处理7~28 d后,取5 mm的茎尖培养而获得了无毒植株。宋瑞林、韦晓霞等利用此方法脱除了切花菊的番茄不育病毒^[28]。

近年来的研究证明,用热处理和茎尖培养相结合的方法培育无病毒母本苗效果较好,特别是对于一些难于用茎尖培养或热处理脱毒的果树病毒,此种方法尤为重要。采用这种方法,即使用大的外植体,也能增加无病毒株数^[29~31]。用热处理过的嫩梢进行茎尖培养或将试管苗进行热处理,之后再茎尖培养,可提高脱毒率。在MS培养基上,附加5 mg/L病毒唑培养唐菖蒲,再经38℃~40℃热处理,切取微茎尖两次,去除了危害唐菖蒲的3种主要病毒TMV、CMV和TvY^[32]。百合珠芽经(50±1)℃热水处理40 min,培养30 d后,切取0.8~1.0 mm茎尖培养的脱毒效果最好,脱毒率达100%^[33]。采用试管芽(37±1)℃热水处理30 d+0.2~0.3 mm微茎尖培养处理方法,可以有效脱除水仙病毒^[34]。

2.3 愈伤组织培养脱毒

通过植物器官或组织的培养来诱导产生愈伤组织,然后从愈伤组织再分化出芽长成植株而获得无毒苗的方法。许宏冠、舒秀珍等以感染单一病毒(TAV)的菊花茎尖作为外植体进行组织培养,经愈伤组织分化而得到脱除TAV病毒的植株。利用这种方法先后在马铃薯、天竺葵、大蒜、草莓等多种植物上获得成功^[35~41]。

2.4 原生质体培养脱毒

Shepard(1975)报道,从感染PVX的烟草叶片的原生质体中可获得无毒苗,他得到4140棵再生植株中有7.5%为无毒苗。病毒丧失的原因可能与愈伤组织培养的情况相同,是由于病毒不能有均等的机会侵染每一个细胞,因此从病叶或茎的健全部分分离得到原生质体,再由原生质体作为原始材料可获得无病毒的植株。Shepard的研究还发现,被PVX与PVY双重感染的植物叶片分离得到的原生质体培育出的植株,有95%是无毒的,但对这种现象未能做出解释^[6]。

2.5 繁殖组织培养脱毒

目前有人通过培养花的组织成功地获得了无毒的植

株。这一培养方法对柑桔品种尤为有效,因为侵染柑桔的大多数病毒均不能种传。将柑桔类的珠心组织分化成不定胚,最初获得成功的是Rangan等(1958)。1969年Rangan等对单胚性柑桔类进行了研究,并由珠心经培养获得了胚分化的成功,其成功率是所用珠心的10%~20%,每一个珠心分化了15~20个胚。

Bitter等(1972)以及Navarro等(1977)正是利用柑桔病毒不能进入珠心和胚珠组织这一特性,从单胚性柑桔类的无病毒化为目标,成功地培育出了健康无毒的柑桔^[6]。

1974年日本大泽胜次等,首先发现草莓花药培养出的植株可以脱除病毒,并得到了植物病理学家和植物生理学家的证实^[42]。此外,还有采用花药培养(Niimi-2001)、花芽组培(Zhola-1992)获得无毒百合植株的报道^[43]。大丽花花培方法可以使脱毒苗的成功率提高20%左右,茎尖脱毒只有3%~5%^[44]。

2.6 茎尖微体嫁接脱毒

在茎尖培养的基础上,Murashige等提出了微体嫁接技术,即将茎尖分生组织嫁接在试管中经脱毒培养的砧木上而得到完整植株^[45~47]。微体嫁接解决了某些木本植物利用茎尖培养发根困难、生长缓慢的问题,并可使复合侵染的病毒分离。1983年Navarro等在试管培养10~14 d的梨新梢上,利用长为0.5~1.0 mm带3~4个叶原基的茎尖进行试管微体嫁接,最后获得无毒苗。利用这种方法以后相继在桃、柑桔、苹果^[48~54]等上也获得了无毒苗。此外培养大丽花茎尖培养出来的新茎不生根,把脱毒的茎嫁接到健康的砧木上能得到完整的无毒植株(Morel和Martin(1952))。

3 病毒检测

通过上述脱毒方法获得的组培苗,还不能肯定是否完全脱除了病原物,必须经过检测证明是脱除了这类病原物的无毒苗,才能在生产中推广应用。近十几年来,人们一直在探索比较简便、快速、准确的检测技术,以满足科研、教学和生产的实际需要。最初人们是通过症状表现来判断的,以后采用组织化学染色技术、荧光染色技术、免疫学技术即免疫荧光、免疫电镜、ELISA^[55~59]及PCR方法。这些技术在不同的时期起到了有效检测作用。

利用文心兰的茎尖生长锥诱导出原球茎后,通过症状观察、生物接种、电镜观察和血清学检测方法进行了CMV、TMV、CyMV、ORSV等4种常见兰花病毒病的检测,成功地建立了3个品种的文心兰脱病毒无性系^[60]。

4 问题及展望

组织培养脱毒技术已得到愈来愈多的国家和地区的重视,正以突飞猛进的速度向前发展,并逐步走向工厂化和商品化。

从目前发展趋势来看,植物病毒的防治仍应以培育无毒苗木、原种为主,而植物组织培养脱毒技术的不断改进和提高以适应大规模的生产已势在必行。对抗病毒物质研究的逐步深入,会大大增加组培脱毒技术的可靠性和可行性。对培养基和实验用具的进一步简化,可降低组织脱毒苗的生产成本,有助于大面积推广。

植物组织培养脱毒技术的推广和利用,目前迫切需要与相应的全国性管理体系进行配套。对无毒种质的保存技术

也有待于进一步改进和提高。近年来,许多国家开展了相互引进或出口高质量无毒组培苗木的国际间交流业务,因此应加强对病毒检测和鉴定技术的研究,以防止病毒通过国际间的交流蔓延和传播。随着生物技术和提高,植物组织培养技术的更新和完善,植物组织培养脱毒技术也定会出現新的进展和突破。

参考文献:

- [1]杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:农业出版社,1987:68
- [2]葛胜娟.植物组织培养中的快繁与脱毒技术及其应用[J].中国农学通报,2005,21(5):104~107
- [3]Morel, G. M. Martin, C. 1952, C. R. Hebd S' eances Acad. Agric. 235: 1324~1325
- [4]Hussey, G. ; Stft. cey, N. J. 1881 Anll. Biol. 48:797~799
- [5]Shepard. J. F. 1975, Viro1, 66:492~501
- [6]庞基良,等.激素、光照对仙客来叶片愈伤组织诱导、分化及试管苗生长的影响[J].园艺学报,1994,21(4):103~104
- [7]关萍等.番红花球茎组织培养[J].贵州农学院学报,1995,14(4):47~49
- [8]谭锋等.植物激素对玫瑰花组织细胞培养影响初报[J].北京农学院学报,1995,10(2):79~83
- [9]宋荣浩,等.满天星组织培养快速繁殖[J].上海农业学报,1996,12(3):71~73
- [10]李倩中,等.NAA,BA对彩色马蹄莲品种“风韵”组织培养的影响[J].江苏林业科技,1998,25卷增刊:167~169
- [11]袁学军,等.水仙脱毒快繁[J].植物杂志,1999(2):281
- [12]彭立新,等.蝴蝶兰组织培养快速繁殖[J].天津林业科技,1999,5(2):27~29
- [13]姜和林,等.不同培养基对芦荟再生植株形成的研究[J].辽宁大学学报,1999,26(3):288~290
- [14]张苏锋,等.玛丽安万年青的茎尖培养与快速繁殖[J].信阳师范学院学报,2000,13(1):95~98
- [15]杨彩梅,等.PP333对唐菖蒲试管苗的调控效应[J].沈阳农业大学学报,1997,28(1):25~29
- [16]杜永芹,等.ABT新型剂在百合组织培养中的应用[J].上海农业学报,1996,12(3):68~70
- [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]Walkey D G A. Production of virus-free plant. In: Tseng C K ed. Applied plant virology [J]. New York: Science Press, 1991,270~290
- [19]Kawarabayashi W, Asahira T. In vitro Multiplication of virus-free bublbs of Lilies[J]. Japan Soc Hort Sci, 1989, 58: 195~209.
- [20]吴延军等.香石竹茎尖脱毒技术[J].西南园艺,2003,31(1):20
- [21]崔月花,张彪,高红明等.唐菖蒲茎尖培养脱病毒的研究[J].江苏农业研究,2000,21(4):88~89.
- [22]兰平,李文凤,朱水芳,等.热处理结合茎尖培养去除甘薯丛枝病植原体[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2001,3:1~4.
- [23]赵军良.植物茎尖培养与无毒种苗生产[J].北方园艺,1995,6:10~11.
- [24]薛光荣,杨振英,洪竟等.茎尖培养等处理脱除梨病毒的技术研究[J].中国果树,1996(3):9~11.
- [25]徐启江,陈典,张云修.分蘖洋葱茎尖培养脱毒苗技术研究[J].西北农林科技大学学报,2002,30(2):102~106.
- [26]刘青林等.花卉组织培养[M].北京:中国农业出版社,2002,11
- [27]刘丽辉.黄山贡菊的脱毒快繁与栽培技术[J]. Special Wild Economic Animal and Plant Research. 2002,1
- [28]刘鹏,刘金等.菊花的组织培养、脱毒与快繁技术研究[J].内蒙古民族大学学报(自然科学版)Vol. 20 No. 4 Aug. 2005
- [29]宋瑞林,韦晓霞等.切花菊的番茄不孕病毒脱除技术研究[J].福建农业学报,1999,14(1):23~27.
- [30]张玉清,罗晓芳等.葡萄微茎尖培养和葡萄扇叶病毒的ELISA和探针检测[J].北京林业大学学报,1998,20(4):54~58.
- [31]Gella R, Errea P Application of in vitro therapy for ilarvirus elimination in three Prunus species[J]. Journal of Phytopathology, 1998,146(8-9):445~449.
- [32]Fletcher P J, Hetcher J D, Lewthwaite S L, et al. In vitro elimination of onion yellow dwarf and shallot latent viruses[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 1998,26(1):23~26.
- [33]李昌禹,郭太君等.唐菖蒲组培脱毒技术研究[J].园艺学报,2003,30(3):358~360
- [34]席梦利,王节萍等.宜兴百合脱毒技术[J].江苏农业学报,2001,17(1):49~51
- [35]赵祝成,陈燕贤.中国水仙脱毒种苗培育研究取得重大突破[J].中国花卉园艺,2003,13
- [36]王文和,邓馨,胡文玉,等.草莓叶片愈伤组织形成及再生芽分化的组织学研究[J].沈阳农业大学学报199930(4):30~33.
- [37]邓晓梅,周秀涛.铃兰愈伤组织诱导及芽的分化[J].上海农业学报1998,14(1):55~57.
- [38]何业华,伍成厚,胡中沂,等.枣树愈伤组织培养时不定芽的分化[J].中南林学院学报,1998,18(3):45~50.
- [39]朱西儒,张云开.番木瓜叶片愈伤组织形成、分化及再生植株移栽[J].广西植物,2001,21(1):59~62.
- [40]陈正华,顾淑荣,朱至清,等.白皮松和油松雌配子体愈伤组织的诱导和分化[J].植物学报,1995,37(3):217~221
- [41]朱道子.软枣猕猴桃叶片愈伤组织再分化植株[J].植物生理通讯,1992,2:127~128.
- [42]柳建军,于洪欣,冯兆礼.小麦成熟胚愈伤组织诱导及分化的研究[J].山东农业大学学报,1996,27(4):451~456.
- [43]刘庆昌,吴国良.植物细胞组织培养[M].北京:中国农业出版社,2003,1:103
- [44]王继华,唐开学等.百合病毒及脱毒检测进展[J].北方

3 实际应用

3.1 植物的配置

3.1.1 乔灌木和地被植物的合理结合 将植物配置成高中低层次,既丰富植物品种,又能使三维绿色生物量达到最大化,释放出更多的氧气;尽量选用叶面积大、叶片宽厚、光合效率高的植物,提高群落的光合效率,创造适宜的小气候环境,减少建筑物的夏季降温和冬季保温的能耗,增强居民与自然环境的联结感。同时居住区绿化应减少草坪、花坛面积,合理选择耐荫地被植物,以丰富林下空间,从而创造有利于生态质量的环境。在自然条件许可的情况下,常绿树应多于落叶树,以保持较高的绿视率。如在乔灌木下种海桐、大叶黄杨等一些耐荫的植物进行空间过渡,使硬环境和软环境较好地结合起来。

3.1.2 增加乔木的种植量 为提高绿化覆盖率,应增加乔木的种植量。配置乔木时,应遵循适地适种的原则,以乡土树种为主,如柳树类、杨树类、杉木类和泡桐等。种植树种应考虑植物景观的稳定性、长远性。树种选择在统一的基础上,力求变化,可以采用速生树与生长缓慢的树种相结合,落叶树和常绿树相搭配,针叶树种和阔叶树种混交的方法,如将杨树、银杏、冬青、女贞和香樟等合理搭配,从而创造优美的林冠线和林缘线;配置高大乔木时,要有足够的间距,为求得相对稳定的植物生态群落,也是可持续发展的需要。

3.1.3 植物配置应有季相变化 植物的配置要做到四季有景,三季有花。并充分利用彩叶树种搭配来提高景观效果。如红叶李、红枫、红叶小檗、金叶女贞、银杏等;充分利用管理粗放、观赏长期的花卉,如大花马齿苋、鸭跖草、月季、美人蕉等。

3.2 因地制宜结合地形创造丰富的景观

居住区绿化应遵循因地制宜的原则,在原有的地形地貌的基础上,最大程度地利用环境资源,做到与自然景观相融合。起伏的地形使植物在层次上有变化、有景深,有阴面和阳面,有抑扬顿挫之感达到观赏效果之目的。同时既能增加

绿地面积,抬高地形又能降低地下水位高的弱点,有利于高大怕湿性景观植物,如雪松等;向下延伸的地形,也可增加绿地面积,丰富景观层次,还有利于排水。

3.3 利用水景提高景观动感

水是环境景观中不可缺少的要素,现在大部分小区都会以水作为主景,像新沛小区的中心花园就是以水作为主线进行景观展开。然而水景的设计应考虑水质的问题,如果不解决好水质问题,水会受到严重污染,水景本身的利用率就会大打折扣,失去水景的意义。所以水应是流动的水,循环的水,动态的水在景观效果和亲和力上会更具魅力。

4 结语

居住区绿地的景观生态规划设计,必须与居住区总规划同时进行,以可持续发展为目标,以景观生态学为基础,以人与自然和谐为核心,以现代技术为手段,贯彻绿地作为景观生态基质的思想,以人为本,从地形地貌、植物配置生态化和多样性、特色植物应用、水体合理应用、硬质景观建设等方面综合考虑,以促成健康、高效、文明、舒适、可持续发展的居住区绿色景观生态系统,进而和大地自然景观生态系统相融合。现在的居住区景观设计,摆脱了绿化+场地+小品的绿化模式的局限,从而使居住区环境空间从分级绿地组织和环境要素配置走向营造宽松舒适的休闲生活环境;从强调绿化覆盖率走向注重居住区环境的整体生态效益;展望居住区未来发展,居住区环境将会越来越强调生态设计思想。让居住区存在于可持续发展的绿带生态系统中,让人们生活于近自然的环境中。

参考文献:

- [1]刘华钢,肖大威.从小区绿化到景观生态.中国园林,2002,5
- [2]徐敏,姜卫兵.景观生态居住区环境绿化建设.蓝天园林,2003,7
- [3]刘华钢,肖大威.从小区绿化到景观生态.中国园林,2002,5
- [4]刘建雄,舒广平.柑桔茎尖嫁接脱除裂皮病技术研究[J].湖南农业科学,1988,3:30~32.
- [5]Navarro L, Roistaeher N C, Murshige T. Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus[J]. Amer. Soc. Hort. Sci., 1975. 100(5): 471~479.
- [6]Navarro L. Citrus shoot-tip grafting in vitro (STG) and its applications: a review Proc[J]. Int. Soc. Citriculture, 1981; 1: 452~456
- [7]阮小凤,杨勇,马书尚等.甜樱桃病毒病的ELISA检测研究[J].山东农业大学学报,1998,(3):277~282.
- [8]谷洪昌,严敦余,刘焕庭.葡萄扇叶病毒的ELISA检测技术[J].山东农业大学学报,1994,25(1):82~85.
- [9]李青,覃兰英,李明福等.酶联免疫法检测核果类果树病毒[J].北京农业科学,1996,(4):33~35.
- [10]朱根发,王怀宇等.文心兰脱毒快繁技术研究[J].广东农业科学,1997(4).

(接第104页)

园艺,2004(6):73~75

[45]廖晴,刘大庆.大丽花脱毒方法的探讨[J].新疆师范大学学报(自然科学版),1996,15(3)

[46]刘华清.果树无病毒化栽培及脱毒技术应用[J].福建果树,1997(3):30~31.

[47]覃兰英,李青,邓世秀等.核果类病毒识别鉴定及脱毒技术[J].北京农业科学,1997(10):23~28.

[48]江虎军,潘季淑,孟新法.桃茎尖培养技术的研究[J].北京农业大学学报,1993,19(1):49~52.

[49]Huang, Shu-Ching. In vitro micrografting of Apple Shoot tips[J]. Hortscience, 1980,15(6):741~743.

[50]宋瑞琳,吴如健,陈著瑛等.脱除柑桔碎叶病病毒的初步研究[J].福建农业学报,1994,9(1):57~59.

[51]宋瑞琳,吴如健,柯冲.茎尖嫁接脱除柑桔主要病原的研究[J].植物病理学报,1999,29(3):275~279.

[52]蒋元晖,赵学源,苏维芳等.通过茎尖嫁接脱除柑桔黄龙