

马
锋
旺

果树茎尖离体微型嫁接

近十几年来,随着果树组织培养技术的发展,逐渐兴起了离体微型嫁接技术。所谓茎尖离体微型嫁接,是从田间或组织培养的新梢上切取大小为1mm之内的茎尖作接穗,在离体条件下嫁接在培养基中培养的实生幼砧上并培养成苗的技术。目前,在柑桔类、苹果、桃、杏、李、樱桃和葡萄等果树上都已成功。西班牙、美国等国已将此技术应用于生产,并被认为是迄今为止最有效的一种无病毒化苗木的生产方法。本文拟就这一领域的研究概况作一简要介绍。

一、茎尖离体微型嫁接的应用实践

1. 消除病毒:由于果树长期的无性繁

殖,使许多病毒病扩散,蔓延。病毒病导致果树生长势,产量和品质下降,而无病毒果树则具有生长健壮,早果,稳产高产以及品质优,耐贮藏等优点。为了生产无病毒植株,可以采用热处理法,茎尖分生组织培养法等,在柑桔上还可采用珠心胚培养法。但某些病毒难以通过热处理法去除,如柑桔裂皮病毒,顽固病毒,苹果凹茎病毒等,而一些木本果树,采用茎尖培养法时又较难以生根。柑桔采用珠心胚培养形成的无病毒植株会出现幼态的返祖现象。用茎尖离体微型嫁接可以克服上述方法缺点。这种方法已用于消除柑桔裂皮病毒,顽固病毒,衰退病毒,木质陷孔病毒,黄脉病毒,脉突病毒,碎叶病毒,鳞皮病毒以及dweet mottle病毒,苹果凹茎病毒,桃和樱桃的坏死环斑病毒,褪绿叶斑病毒,桃化病毒和桃的环斑病毒等用热处理不能或不易消除的病毒。茎尖离体微型嫁接技术开始是Murashige和Navarro等人于七十年代初为获得病毒柑桔植株而发展起来的,以后又逐渐用于其他树种从感染了病毒的植株上获得无病毒植株。这种技术能消除病毒的原理是基于种子一般无病毒,而微小的茎尖也是不带毒的。在西班牙,美国和以色列等国家的许多柑桔品种改良计划中都应用茎尖微型嫁接获得无病毒接穗,用于商业育苗。

2. 研究砧穗关系:嫁接亲和性和不亲和性问题是果树嫁接繁殖中最主要和最复杂的问题,尽早地识别不亲和性,克服嫁接不亲和,以及找出其原因具有很重要的理论和实践意义。通过茎尖离体微型嫁接技术可以研究嫁接亲和性和不亲和性问题。Jonard等(1983)的研究表明,尽管茎尖离体微型嫁接技术不能使我们得到新的能生存的嫁接体,但可以早期发现在果园中几年才表现出

来的不亲和性。李属嫁接的不亲和性最早的可在嫁接14天表现出来。生物化学分析表明,嫁接茎尖的成活率与其过氧化物酶的活性具相关性,相关系数达0.795。

砧木和接穗之间的相互影响已进行了大量的研究。但田间研究所需要材料多,受外界环境条件影响干扰大,需要时间长,并占用大量土地。而茎尖离体微型嫁接可以克服田间试验的缺点。Negueroles (1979)认为,苹果属和李属果树利用微型嫁接的方法可以研究砧木的控制机制,特别是关于营养和激素生理。李嘉瑞(1985)用金冠和斯巴丹两个苹果品种的茎顶在离体条件下分别嫁接在山定子, M_7 , M_9 和 M_{20} 的茎或根上,7周后称干重发现,不同生长型砧木对茎顶干物质的累积有明显的影响,乔化砧(山定子)上的接穗干物质累积最多,半矮化砧 M_7 次之,矮化砧 M_9 和 M_{20} 最少。其结果与田间试验结果一致。因此,作者认为,应用微型嫁接的方法可作为鉴定砧木生长型的新途径。

3. 其他应用:果树从其他地区引进优良品种接穗时,常常有引起病害的危险。而通过茎尖微型嫁接可以大大减少引种接穗带病的危险性。另外,茎尖微型嫁接还可以用于分离病毒。

二、茎尖离体微型嫁接的环节与措施

1. 砧木苗的准备:将砧木种子剥去种皮,经消毒后放于培养基上萌发。砧木苗龄对嫁接成活率有重要的影响。Navarro等(1975)的研究表明,柑桔砧木苗龄为2周时其嫁接成活率最高,少于或多于2周时嫁接成活率较低。在大龄苗上嫁接时茎尖干枯,变褐而后死亡,而在幼龄苗上嫁接时茎尖往往被砧木生成的愈伤组织覆埋。Deogratias等(1986)的研究认为,桃和甜樱桃砧木苗

龄以7—10天时嫁接最适,苗龄大于10天或小于7天时与柑桔上发生的情况一样,或由于大龄砧木水分不足,引起茎尖变褐死亡,或由于幼龄砧木愈伤组织过量形成而覆埋茎尖。

柑桔砧木苗萌发时的光照条件对嫁接成活也很重要。在黑暗中萌发和生长的,则嫁接成活率高,可达37.5%,而若在每天光照16小时,光强为1000Lux的光下萌发的,其嫁接成活率仅有2.7%(Navarro等,1975)。何农、陈邦富(1984)研究表明,柑桔砧木在前期黑暗培养,后期经一天的光照锻炼后,组织细胞相对老化充实,与接穗组织之间生理上的差异相对减少,有利于愈合,明显地提高了成活率。

2. 茎尖接穗的准备:接穗可以用田间或温室中生长的嫩梢茎尖,也可用离体培养的新梢茎尖。田间生长或温室生长的嫩梢一般用次氯酸钠作消毒剂进行表面消毒,然后在无菌条件下切取茎尖。如果用田间生长茎尖作接穗外植体来源时,一年中取样时间对嫁接成活影响很大。苹果在11月—3月间取样时,嫁接成活率为10%左右,5月份为70%,而从6—10月期间采样时,嫁接成活率每月下降10%(Huang和Millikan, 1986)。柑桔嫁接成活率最高的取样时间为6月份(Jonard等,1983)。用离体培养的新梢作接穗外植体时,其嫁接成活率与季节无关,并且嫁接成活率高。接穗茎尖越大,嫁接越易成活。如仅用柑桔茎尖分生组织作接穗时,嫁接成活率仅为1.8%,而带有2、4或6片叶原基时,则成活率逐渐升高,分别为14.6%, 34.6%和47.3%(Navarro等, 1975)。桃和甜樱桃茎尖小于0.4mm时不能成活,而在0.4—1.0mm时则嫁接成活率随茎尖增大而提高(Deogratias等, 1986)。苹果茎尖仅含分生组织时,仅有15%成活,而若包含2个叶原基时则有65%嫁接成活(Huang和Millikan, 1986)。但茎尖越大,

小青椒进棚

近几年来,小青椒倍受市场欢迎。但是小青椒传统的生产方式,其产量是比较低的,限制了农民的生产积极性。为了满足市场需要,鹤岗市农业技术推广站和菜园乡合兴村农民孙作海合作,在1988年创出了一条小青椒高投入,高产、高效益的新途径。

主要作法:

1. 选用良种早定植: 选用的小青椒品种是果季洛夫, 这个品种果皮厚、果实的整齐度好、产量高, 在市场上也非常受欢迎, 在推广站技术人员指导下, 孙作海抓住了育苗定植关键环节。88年2月10日开始温室育苗, 4月10日移苗到大棚内, 株行距 6×6 cm, 苗期加强管理, 苗龄60天, 实现苗齐苗壮。5月10日定植在移苗早甘兰定植后的大棚内, 加扣地膜, 6月1日撤膜, 扣棚时间共20天, 6月28日第一次采收, 从定植到采收是48天时间。

2. 合理密植创高产: 垅距70cm, 株距30cm, 一米垅双行、每垅3株。 60m^2 的面积900垅, 共定植小青椒2700株, 收获小青椒450公斤, 折合 1m^2 7.5公斤的产量, 核亩产4995公斤。

3. 科学投入效益高: 孙作海在田间管理上肯下功夫, 敢于投资, 接受新技术科学种田, 60 平方米的面积施用隔年大粪 2m^3 , 加上采用优良品种, 育壮苗, 大棚内扣地膜等技术, 比普通的常规栽培方法提前15—20天上市。从7月初至8月上旬2元钱左右的价格持续一个多月的时间, 到9月末罢园, 总收入900元, 去掉成本费 60m^2 纯收入696元。

生产实践证明, 实行科学栽培和科学管理, 小青椒在保护地生产中的发展前景是非常广阔的。

(鹤岗市农委 李惠清 王帮利)

率, 移栽后最好在 10000Lux 的强光下继续培养2周, 以使植株健壮。嫁接苗可先移至含等量泥炭、蛭石和腐殖土的容器中, 待成活后再移至土壤中。经过精细的管理, 柑桔可得到95%的移栽成活率, 桃可达60—70%, 柑桔植株经11个月后即可开花结果, 说明茎尖嫁接的植株不会出现“返老还童”现象。

(西北农业大学园艺系收稿时间为1988年10月2日参考文献略)

越不容易消除病毒。因而, 接穗大小的选择应以既能得到满意的成活率, 又能获得无病毒植株为准。柑桔一般用带3个叶原基约 $0.14-0.18\text{mm}$ 长的茎尖(Navarro等, 1975), 苹果可用带有2个叶原基长约 $0.1-0.2\text{mm}$ 的茎尖(Huang和Millika, 1986), 而桃的茎尖可以大到 $0.5-1.0\text{mm}$ (Navarr等, 1982)。对用于嫁接的柑桔茎尖进行预处理可以确定其是否能够发育。预处理的方法是: 将滤纸浸沾 Miller 或 MS 培养基的矿质盐并附加生长素和细胞分裂素的溶液, 放入试管内, 然后将分离的茎尖放在滤纸上培养。由于这种处理改变了分离茎尖的生理状态, 可以促使叶枝的快速形成(Jonard等, 1983)。用2,4-D, 激动素或玉米素直接预处理柑桔茎尖也可使嫁接成活率显著提高。

3. 嫁接: 在离体条件下萌发的砧木苗生长一定时间后进行截顶, 去掉子叶、腋芽和子叶以下过长的根段。嫁接方法主要用倒“T”字形嫁接, 即在砧木茎段顶端切成倒“T”字形缺口, 剥去皮层, 将茎尖放在切口上。切口长约 1mm , 宽 $1-2\text{mm}$, 深达形成层。倒“T”字形嫁接便于操作, 成活率高, 接芽开始生长快, 成苗也快, 并且不易从砧木上萌蘖。茎尖微型嫁接技术较难操作, 嫁接速度应越快越好, 以免组织干燥, 并要求切口平滑, 没有损伤。

4. 嫁接苗的培养: 嫁接后将嫁接苗在培养基(一般为MS培养基)中进行培养。培养基中蔗糖的浓度对嫁接苗的成活有显著影响, 一般柑桔以7.5%最好。维生素和烟酸对嫁接成活均有一定的作用。连续黑暗下培养不利于嫁接成活, 一般培养在 $25-27^\circ\text{C}$, 光强 1000Lux , 每天光照16小时的条件下。

经过培养后, 嫁接成活率柑桔最高可达50%, 苹果和桃可达70%。

5. 移栽入土: 嫁接苗培养一个月左右以后, 即可进行移栽。为了提高移栽成活