

# 油桃三倍体种质的硬枝扦插技术研究

王尚德, 王晓川, 刘佳琴, 蒋海月, 武文娟, 兰彦平

(北京市农林科学院 农业综合发展研究所, 北京 100097)

**摘 要:**以油桃三倍体种质‘05-22-49’为试材,通过正交实验筛选影响扦插的关键因素;通过双因子完全组合设计,筛选生长调节剂种类、浓度和处理方式的最佳组合,以期建立油桃三倍体硬枝扦插技术体系。结果表明:对生根率和生根量影响最大的是扦插环境;对移栽成活率影响最大的是插穗的基部流水冲洗;综合考虑生根率、生根量和移栽成活率,最优的三倍体扦插生根方式为:基部剪口冲洗 24 h+IBA 1 000 mg/L+热激处理 6 d+日光温室培养,扦插成活率达 82%;低浓度的 IBA 浸泡处理效果不及高浓度速蘸处理有效;ABT 生根粉(1 号)处理插穗与 IBA 处理的生根率持平、生根量略低。

**关键词:**油桃;三倍体;硬枝扦插

**中图分类号:**S 662.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)23-0008-04

多倍体育种常具有生长迅速、抗逆性强、次生代谢旺盛等特点,因而是很多育种工作者的选育目标之一。桃(*Prunus persica* (L.) Batsch.)是典型的二倍体植物,自然界的桃、桃变种及近缘种均为二倍体。但在 2n 花粉参与的杂交后代、单倍体后代中,均有三倍体种质的获得<sup>[1]</sup>。已报道的桃三倍体种质均因育性低而未被利用。课题组在二倍体的自然授粉后代中发现了油桃(*Prunus persica* (L.) Batsch. var. *nectarina* Ait.)三倍体‘05-22-49’,其育性较低,不能用于果品生产,但其生长旺盛,抗寒性强,具备作为砧木应用的可能性。为了进一步研究其作为砧木应用时的抗涝、抗根结线虫、抗重茬等特性,研究其自根苗繁育技术已成为当务之急。

扦插是无性系砧木的最经济有效的繁殖方式,桃砧木的扦插繁殖已有较多报道<sup>[3-5]</sup>,研究人员已针对插穗的采集时期、生长素处理浓度、热激处理等关键技术进行了较为详尽的研究,并建立了部分桃砧木商业生产的硬枝扦插体系<sup>[6]</sup>。但这些方法一般因种质不同而有所差异,且无针对桃三倍体扦插研究的报道。

现以三倍体油桃种质‘05-22-49’为试材,研究分析了硬枝扦插流程和关键因子,以期建立油桃三倍体种质的硬枝扦插技术体系。

**第一作者简介:**王尚德(1976-),男,硕士,副研究员,现主要从事果树种质资源收集及评价和创新等研究工作。E-mail:shangdee@163.com.

**责任作者:**刘佳琴(1965-),女,副研究员,现主要从事果树育种及栽培技术等研究工作。E-mail:liujq65@126.com.

**基金项目:**北京市农林科学院青年科研基金资助项目(QNJJ201306)。

**收稿日期:**2013-09-09

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试扦插插穗采自北京市农林科学院农业综合发展研究所位于北京市顺义区高丽营镇的桃种质资源圃。‘05-22-49’为二倍体油桃选系‘94-1-9(=88-31-24 op)’的自然授粉后代,树龄 7 a。插穗选用处于休眠期(12 月 5 日)的 1 a 生长果枝,插穗长度 20 cm,直径 0.8~1 cm。扦插基质选用珍珠岩:草炭混合基质(3:1)。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 试验设计** 三倍体油桃扦插关键因子试验:采用 8 个处理(4 水平 1 因素+2 水平 4 因素)正交实验设计(表 2);考察因子分别为 IBA(Indole-3-butyric acid)浓度、插穗基部冲洗、热激处理时间、培养环境;IBA 浓度设 4 个水平,其它处理均为 2 水平;试验无重复,每个试验处理 100 个插穗;转钵时统计生根插穗数,统计每个插穗的不定根数量、生根率。生根率=生根插穗数/100;不定根量=∑每根插穗的不定根数/生根插穗数;第 2 次转钵时统计移栽成活率,移栽成活率=移栽后成活苗木数/100。生长素种类选择试验:选择 IBA 与 ABT 生根粉 1 号(中国林科院产),IBA 浓度为 1 000 mg/L,ABT 生根粉浓度分别为 500、1 000、1 500 mg/L;每处理 30 个插穗,3 次重复,统计生根率和生根量。药剂处理方式筛选试验:浸泡处理采用 IBA 10、50、100 mg/L 3 个浓度,时间分别为 8、16、24 h 进行双因子完全组合试验设计,以 IBA 浓度为 1 000 mg/L 蘸 10 s 为对照(表 1)。每个试验处理 30 个插穗,无重复,统计生根率和生根量。

**1.2.2 试验流程** 伤口处理:根据试验设计,插穗基部采用流水冲洗 24 h 或不冲洗。药剂处理:按照试验设计

对插穗基部进行相应药剂的浸泡或速蘸处理。速蘸处理药剂是指插穗基部在相应浓度的药剂水溶液中停留 10 s;浸泡处理是指插穗基部在相应浓度的药剂水溶液中分别浸泡相应时间(表 1、2、6)。热处理:插穗插入基质后,扦插容器采用水浴加热,温度保持在 $(19\pm 1)^{\circ}\text{C}$ ,插穗上部暴露于冷空气中。除试验处理标明的热处理时间外,其它处理均为热处理 6 d。生根培养:热处理结束后,根据试验处理不同的环境进行生根培养。将扦插容器置于日光温室或人工气候箱中培养。在培养期间日光温室最高温度为 $38^{\circ}\text{C}$ ,最低温度 $-2^{\circ}\text{C}$ ,日平均气温 $15^{\circ}\text{C}$ ,相对湿度 $40\%\sim 80\%$ 。人工气候箱恒温 $(15\pm 2)^{\circ}\text{C}$ ,湿度 $60\%\sim 70\%$ 。转钵:生根培养 9 周后,将生根的扦插苗移栽到 $9\text{ cm}\times 9\text{ cm}$ 的营养钵中,培养基质为草炭:壤土(3:1)。培养 4 周后,带土球移栽至含相同基质的 $15\text{ cm}\times 15\text{ cm}$ 花盆中。

表 1 三倍体油桃扦插药剂处理方式筛选试验

Table 1 Test design of method selection for triploidy nectarine hardwood cutting

试验编号 Experiment No.	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	CK
IBA 浓度 Concentration of IBA / $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	10	10	10	50	50	50	100	100	100	1 000
处理时间 Treatment time	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h	8 h	16 h	24 h	10 s
处理方式 Treatment mode	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	浸泡	速蘸

### 1.3 数据分析

数据均采用 DPS 软件进行统计分析,生根率换算

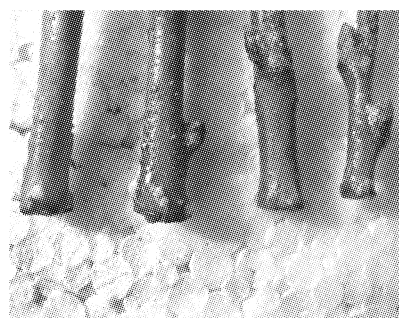


图 1 7 周时插穗基部出现愈伤组织  
Fig. 1 Callus appeared on cuttings base after 7 weeks

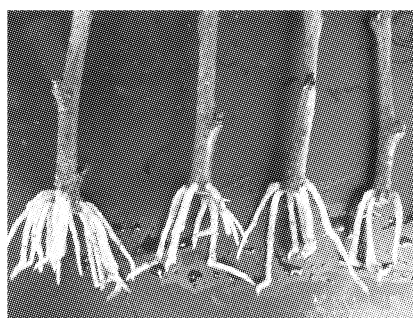


图 2 10 周时插穗基部大量生根  
Fig. 2 Lots of roots appeared on cuttings base after 10 weeks

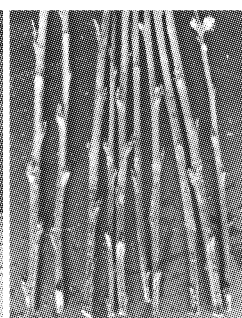


图 3 未生根的插穗  
Fig. 3 Cuttings with no root

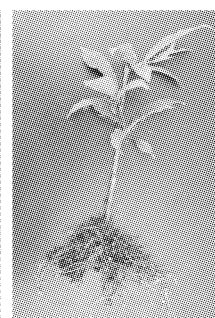


图 4 移栽后 1 个月的根系  
Fig. 4 Root after transplanting 1 month

移栽成活率最高的为 A5 处理,达 70%,极差分析表明,不同于对生根率和生根量的影响,在考察的 4 个因子中,基部冲洗对移栽成活率影响较大,基部未经冲洗的插穗,即使生根,移栽后亦无一成活,根及插穗基部组织解离。试验中,移栽成活率最高的处理组合为:基部流水冲洗 24 h+基部速蘸浓度为 $1\,500\text{ mg/L}$ 的 IBA 水溶液+热激处理 6 d+日光温室培养。

为生根比率,反正弦开方处理后进行方差分析,生根量开方后进行 LSD 法方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 三倍体油桃扦插关键因子分析

三倍体油桃扦插因各个处理的方法不同,表现有所差异。能够生根的处理,一般在扦插后 7 周时,外露插穗开始萌动,除去基质后,基部可见愈伤组织(图 1)。10 周时,地上部花芽开放,叶芽绽开,地下部形成明显的不定根,部分不定根长度达 $2.5\text{ cm}$ (图 2)。而未生根的处理插穗地上部则多叶芽先萌发,然后逐步萎蔫,最终干枯(图 3)。

由表 2 可知,生根率最高的处理组合为 A4、A5,生根率高达 80%,而 A2、A3、A6 处理插穗未生根。极差分析结果表明,对生根率影响最大的是培养环境,而基部冲洗影响最小,与空白列持平。生根率最高的处理组合为:基部冲洗 24 h,基部蘸浓度为 $1\,000\sim 1\,500\text{ mg/L}$ 的 IBA 水溶液,热激处理 6 d,于日光温室中培养。生根量最大的为 A4 处理,平均生根量 7.0 条,单株根最多 19 条。极差分析表明,各因素对生根量与生根率的影响基本一致,仅 IBA 浓度范围更大,为 $1\,000\sim 2\,000\text{ mg/L}$ 。

对已生根或已产生愈伤组织的插穗移栽到草炭土中后,因处理不同,移栽成活率差异极大。1 月后,成活植株产生新梢,形成了完整根系(图 4)。未成活者地上部花、叶芽干枯,萎蔫,插穗基部及不定根变褐死亡,韧皮部组织松散解离。

可见,对生根率和生根量影响最大的是培养环境,而对移栽成活率影响最大的是插穗的基部流水冲洗处理。综合生根率、生根量和移栽成活率 3 个指标,选择生根率最高、生根量最大、且能保持较高移栽成活率的最优的三倍体扦插生根试验组合为:基部剪口冲洗 24 h+IBA 浓度 $1\,000\text{ mg/L}$ +热激 6 d+日光温室培养。

按照最优的试验处理组合进行验证试验,100 枝插穗

表 2 三倍体油桃扦插正交实验结果分析

Table 2 Orthogonal test results of triploidy nectarine hardwood cutting								
处理号 Treatment No.	IBA 浓度 Concentration of IBA /mg · L <sup>-1</sup>	基部冲洗 Base washed	热激时间 Heat shock time /d	培养环境 Culturing ambient	空白 Null	生根率 Rhizogenesis rate/ %	生根量 Roots number /条	移栽成活率 Survival rate of transplanting/ %
A1	1(500)	1(是 yes)	1(3 d)	1(日光温室 Solar greenhouse)	1	20	3.2	15
A2	1(500)	2(否 No)	2(6 d)	2(控温温室 Greenhouse with tempt control)	2	0	0.0	0
A3	2(1 000)	1(是 yes)	1(3 d)	2(控温温室 Greenhouse with tempt control)	2	0	0.0	0
A4	2(1 000)	2(否 No)	2(6 d)	1(日光温室 Solar greenhouse)	1	80	7.0	0
A5	3(1 500)	1(是 yes)	2(6 d)	1(日光温室 Solar greenhouse)	2	80	6.4	70
A6	3(1 500)	2(否 No)	1(3 d)	2(控温温室 Greenhouse with tempt control)	1	0	0.0	0
A7	4(2 000)	1(是 yes)	2(6 d)	2(控温温室 Greenhouse with tempt control)	1	1	4.0	1
A8	4(2 000)	2(否 No)	1(3 d)	1(日光温室 Solar greenhouse)	2	10	2.1	0

表 3 正交实验生根率极差分析

Table 3 Orthogonal test range analysis of rhizogenesis rate								
因子 Factors	水平 1 Level 1	水平 2 Level 2	水平 3 Level 3	水平 4 Level 4	极小值 Min	极大值 Max	极差 R Range R	调整 R' Adjusted Range R'
IBA 浓度 Concentration of IBA	10.0	40.0	40.0	5.5	5.5	40	34.5	22.0
基部冲洗 Base washed	25.3	22.5			22.5	25.3	2.8	3.9
热激时间 Heat shock time	7.5	40.3			7.5	40.3	32.8	46.5
培养环境 Culturing ambient	47.5	0.3			0.3	47.5	47.2	67.1
空白 Null	25.3	22.5			22.5	25.3	2.8	3.9

表 4 正交实验生根量极差分析

Table 4 Orthogonal test range analysis of roots number								
因子 Factors	水平 1 Level 1	水平 2 Level 2	水平 3 Level 3	水平 4 Level 4	极小值 Min	极大值 Max	极差 R Range R	调整 R' Adjusted Range R'
IBA 浓度 Concentration of IBA	1.6	3.5	3.2	3.1	1.6	3.5	1.9	1.2
基部冲洗 Base washed	3.4	2.3			2.3	3.4	1.1	1.6
热激时间 Heat shock time	1.3	4.4			1.3	4.4	3.0	4.3
培养环境 Culturing ambient	4.7	1.0			1.0	4.7	3.7	5.2
空白 Null	3.6	2.1			2.1	3.6	1.4	2.0

表 5 正交实验移栽成活率极差分析

Table 5 Orthogonal test range analysis of transplanting survival rate								
因子 Factors	水平 1 Level 1	水平 2 Level 2	水平 3 Level 3	水平 4 Level 4	极小值 Min	极大值 Max	极差 R Range R	调整 R' Adjusted Range R'
IBA 浓度 Concentration of IBA	6.0	0.0	34.0	0.5	0.0	34.0	34.0	21.6
基部冲洗 Base washed	20.2	0.0			0.0	20.3	20.3	28.8
热激时间 Heat shock time	3.0	17.3			3.0	17.3	14.3	20.2
培养环境 Culturing ambient	20.0	0.3			0.3	20.0	19.8	28.1
空白 Null	3.3	17.0			3.3	17.0	13.8	19.5

中,有 85 枝生根,另有 5 枝基部产生愈伤组织,对此 90 枝插穗进行移栽,共有 82 株成活,扦插成活率达 82%。

2.2 生长素种类选择试验

由表 6 可知,不同种类生长素对油桃根的影响不同,不同浓度 ABT 生根粉处理使‘05-22-49’的生根率变化明显,浓度为 1 000 mg/L 的 ABT 生根粉效果最好,平均生根率 82.23%,与浓度为 1 000 mg/L IBA 处理的

表 6 不同浓度 ABT 生根粉对三倍体油桃扦插的影响

Table 6 Effect of ABT concentration on triploidy nectarine cutting								
编号 No.	药剂种类 Auxin type	浓度 Concentration/mg · L <sup>-1</sup>	生根率 Rhizogenesis rate/ %			生根量 Roots number/条		
B1	ABT	500	13.3	30.0	6.7	4.3	2.1	5.2
B2	ABT	1 000	86.7	76.7	83.3	6.3	5.4	4.0
B3	ABT	2 000	40.0	46.7	33.3	6.3	5.2	5.1
CK	IBA	1 000		80.0			7.0	

表 7 ABT 浓度对生根率影响方差分析结果

Table 7 Variance analysis of ABT concentration for rhizogenesis rate

处理 Treatment	均值 Mean	5%显著水平 5% significant level	1%极显著水平 1% significant level
B2	82.4	a	A
B3	39.9	b	B
B1	15.5	c	B

表 8 ABT 浓度对生根数影响方差分析结果

Table 8 Variance analysis of ABT concentration for rootsnumber

处理 Treatment	均值 Mean	5%显著水平 5% significant level	1%极显著水平 1% significant level
B3	5.5	a	A
B2	5.2	a	A
B1	3.7	a	A



80.0%的生根率持平,方差分析结果表明,1 000 mg/L 与 500,2 000 mg/L ABT 处理的生根率差异显著。从生根量来看,ABT 生根粉处理的生根量略低于 IBA 处理,浓度间差异不显著。

### 2.3 药剂处理方式筛选试验

不同的药剂处理方式不仅对生根过程有影响,而且影响操作便捷性。在该试验中,低浓度长时间浸泡无论是生根率还是操作便捷方面都不及速蘸处理。由表 1 的浸泡时间和浓度的双因素完全组合试验组合可见,仅 C9 处理(即 100 mg/L 浓度的 IBA 溶液中浸泡 24 h)有 20%的插穗生根,其它处理均无生根。这说明在该研究中所设定的试验范围内,低浓度的生长素浸泡处理不及高浓度速蘸处理有效。

### 3 讨论与结论

硬枝扦插是一项廉价、高效的桃砧木繁殖技术。对提供根系的砧木而言,无性繁殖不能采用嫁接,只能通过扦插、压条、组织培养等手段来实现。压条受插穗生根能力限制,只应用于部分树种,在桃及桃的近缘种上尚鲜见报道,组织培养是桃砧木目前繁育采用较多的技术之一,但相对成本较高,技术难度较大。扦插相对组织培养来说,成本低,技术难度低。与嫩枝扦插要求全光喷雾不同,硬枝扦插对硬件条件的要求较低,仅需简易的基部加温设施和日光温室即可实现苗木的批量繁育,而且,硬枝扦插可用冬季修剪剪除的果枝作为插穗,在原料上可降低生产成本,可见,硬枝扦插是桃砧木廉价繁殖的重要方法。

评价三倍体桃硬枝扦插成功与否的关键,在于生根率、生根数和移栽成活率这 3 个指标。生根数和生根率主要与培养环境、生长素浓度有关。IBA 浓度对生根率、生

根数及移栽成活率的影响不一致,1 000,1 500 mg/L 处理的生根率一致且最高,生根数 1 000 mg/L 的最高,这与在桃‘P. S. A5’和‘P. S. B2’上的试验结果一致,而低于桃砧木‘Tetra’和‘Penta’的 2 000 mg/L<sup>[7]</sup>。而培养环境对生根率的影响,前人报道较少。该研究中变温的日光温室比恒温条件好,为三倍体桃规模化低成本扦插繁殖提供了可能。

移栽成活率是桃硬枝扦插成功与否的关键,现有的研究认为,流水冲洗可以降低插穗基部氧化物的产生,进而提升移栽成活率<sup>[8]</sup>,在该研究中,流水的冲洗对移栽成活率影响最大,对这一理论进行了进一步的证实。

### 参考文献

- [1] Pratasenja G D. Production of polyploidy plants, Haploids and triploids in *Prunus persica* [J]. Comprend Acad Sci (Doklady) URSS, 1939, 22: 348-351.
- [2] Monet. Classical genetics and breeding[M]. Wallingford, UK: The peach botany production and uses, CABI Publishing, 2008.
- [3] Blazich F A. Mineral nutrition and adventitious rooting. In: Adventitious Root Formation in Cuttings [M]. Oregon: Dioscorides Press, Portland, 1988, 61-69.
- [4] Loreti F, Morini S, Grilli A. Rooting response of BS B2 and GF 677 rootstocks cutting[J]. Acta Horticulturae, 1985, 173: 261-269.
- [5] Scalabrelli G, Couvillon G A. The interaction between IBA treatment and other factors in rooting and establishment of peach hardwood cuttings [J]. Acta Horticulturae, 1986, 179: 855-862.
- [6] Layne D R, Bassi D. The peach: Botany, production and use [M]. London: CABI, 2008: 224-226.
- [7] Nicotra A, Moser L. Two new plum rootstocks for peach and nectarines; *penta* and *tetra* [J]. Acta Horticulturae, 1996, 451: 269-271.
- [8] Fiorino P, Mattii G B. The role of prunasin in ‘collapse’ of rooted peach cutting[J]. Advances in Horticultural Science, 1992(1): 11-14.

## Study on Nectarine Triploidy Germplasm Propagation by Hardwood Cutting

WANG Shang-de, WANG Xiao-chuan, LIU Jia-shen, JIANG Hai-yue, WU Wen-juan, LAN Yan-ping

(Institute of Agricultural Integrated Development, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097)

**Abstract:** Taking nectarine triploidy germplasm ‘05-22-49’ as material, key factors were selected by orthogonal test, types and content of auxins were decided by double factor test, in order to establish the propagation method of triploidy nectarine from hardwood cuttings. The results showed that culture condition was the most important factor for rhizogenesis, and water rushing was more important for survival rate of transplanting. Optimized integrative protocol for triploidy nectarine propagation from hardwood cutting was as follows: cutting basal tissues be washed for 24 h in running water, then be treated as follows: dipped in 1 000 mg/L IBA solution, inserted into mix medium (perlite : peat = 3 : 1), maintain a temperature of 19℃ around the basal portion of the cuttings and upper part remains exposed to the cooler ambient temperature for 6 days, cultured in solar greenhouse without heating facilities. By the protocol, cuttings survival rate could up to 82%. Immersing cutting basal tissues in low content IBA solution was not better than dipping. ABT(1) rooting powder was an alternative type auxin of IBA for their similar rooting rate.

**Key words:** nectarine; triploid; hardwood cutting