

蔬菜的离体嫁接及其应用

陈红, 王永清, 余道平, 潘绍坤, 宗华

(四川农业大学林学院园艺学院, 雅安 625014)

中图分类号: S63; S604⁺.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2006)01-0052-02

近年来嫁接技术在蔬菜作物的繁殖和改良中发挥着重要作用, 且发展迅猛, 已进入器官、组织、细胞等不同水平的离体嫁接时代。由于离体嫁接具有环境条件较易控制、对嫁接组合的生长发育影响较小等优点, 因而正广泛应用于蔬菜作物的基础理论和育种实践研究等方面, 成为蔬菜生物技术的重要组成部分, 并显示出良好的前景。

1 器官嫁接

器官嫁接包括微型嫁接和离体茎段嫁接。微型嫁接(micrografting)是在试管内将砧木与接穗进行嫁接的技术, 它是组织培养与嫁接技术的结合。微嫁接技术自 Murashigede 等^[1]创立以来已被广泛应用于果树的脱毒^[2]、亲和性鉴定、育种材料的保存以及病毒检测^[3]等方面的研究, 而在蔬菜作物上应用较少。主要用于无病毒植株的生产和嫁接嵌合体植株的诱导^[4]。在辣椒的无病毒苗生产中, 对成年植株的顶端分生组织进行离体培养比较困难, 而通过茎尖嫁接容易获得成功。Katoh^[4]等通过离体茎尖嫁接技术获得了甜椒的无病毒植株, 其方法是在感病植株上, 取其具有 2 到 4 个叶原基的茎尖(0.4 mm~0.8 mm(毫米)), 嫁接到去顶的幼苗砧木上。通过这种方式, 可以脱去烟草花叶病毒或番茄枯枯病, 从而获得无病毒植株。由砧木和接穗接合部愈伤组织形成的芽可以产生嵌合体植株。Noguchi 等和 Hirata 等^[5]通过试管嫁接获得了红卷心菜和绿卷心菜、芸苔属蔬菜品种和红卷心菜以及萝卜和甘蓝的嫁接嵌合体。其方法是把 7 d(天)苗龄的 2 个蔬菜品种的幼苗在离体培养条件下进行靠接, 培养 2 周后, 将接合部位切下进行再培养。通过这种方式, 嫁接嵌合体的诱导率可达 20%。

离体茎段嫁接(explanted intemode grafting)是在无菌条件下将茎切断后放入培养基中, 使接穗和砧木分别与含不同成分的培养基接触, 再置光下培养。该方法由 Parkinson 和 Yeoman 于 1982 年首先提出。该方法与整体嫁接相比具有如下优点: 没有枝叶和根对嫁接发育过程的影响; 可以改变培养基的成分和培养条件以探讨它们在嫁接形成过程中的作用。因此, 离体茎段嫁接系统成为研究嫁接体发育以及亲和性机制的可控的实验系统。采用该系统, 可以减少整体嫁接中因组合的不同而引起的源库关系强度的差异而造成亲和与否现象的掩盖^[6]。离体茎段嫁接不仅可以用来研究愈合作用、砧木和接穗的相互影响、亲和性等基础理论问题, 还可以用来研究植物激素在嫁接体发育过程中的动态变化及其对嫁接体发育的影响。研究表明, 蔬菜离体茎段嫁接接合部的发育过

程与整体嫁接基本一致, 包括在接穗与砧木之间形成隔离层、愈伤组织产生及接穗和砧木的嵌合、维管分子的分化及连接接穗和砧木的维管组织桥的形成、形成层的分化及其分裂活动所致的次生维管组织的增加等几个步骤, 其发育过程受植物激素的调节^[7~10]。

培养基中适宜的激素种类和浓度配比直接影响着嫁接面处维管组织的分化, 因此植物激素在离体嫁接体发育过程中十分重要。卢善发等^[11]利用黄瓜试管苗进行离体茎段自体嫁接研究, 发现植物激素通过影响砧木和接穗间维管束桥形成的时间和数目来调控嫁接组合的发育。黄瓜与绿豆整体嫁接是不亲和的, 不能形成贯通砧木和接穗的维管束桥, 但当把离体茎段嫁接体放在含适当浓度激素的培养基中时, 接穗和砧木间可形成跨嫁接面的维管束桥, 这表明, 利用植物激素可以克服嫁接不亲和性的问题^[6]。对此现象进行深入研究, 可为揭示嫁接亲和性机制提供重要的理论依据。此外, 利用离体茎段自体嫁接系统, 卢善发还对黄瓜自体嫁接接合部中 IAA 的动态变化进行了研究^[12]。

2 组织嫁接

组织嫁接现主要是愈伤组织嫁接(callus grafting), 即不同种属的两种愈伤组织共培养, 方法是, 将外植体诱导形成的两愈伤组织团并列平放或叠放在同一个培养基上, 使两愈伤组织团相互接触, 然后进行观察和分析。该系统主要用于嫁接基础理论的研究, 探讨嫁接植株形成的组织学和细胞学、嫁接亲和性机制等理论问题。

该方法可以避免由于植株整体嫁接时切割造成的隔离层对接穗和砧木细胞真正关系的掩盖作用, 可以精确地研究共质体的形成, 细胞间的相互作用。1983 年 Moore 和 Walker 将不同属的愈伤组织叠放进行共培养, 并对属间嫁接亲和性进行了研究。

Marcotrigiano 和 Gouin 通过愈伤组织共培养得到了嵌合体植株, 但未进行深入研究。刘明志在番茄和胡萝卜愈伤组织离体嫁接研究中发现, 嵌合的两种异质细胞局部出现了质膜、核膜和线粒体膜消失和异质细胞壁解体的现象, 推测可能发生细胞重建, 并认为, 通过愈伤组织离体嫁接实现细胞重建能发展成为一种细胞工程新方法。

3 细胞嫁接

细胞嫁接(cell grafting)是将不同植物的悬浮细胞或原生质体混合培养, 然后诱导成苗。细胞嫁接与细胞融合不同。进行细胞嫁接时来自不同植物的细胞很少(甚至没有)发生细胞的交换, 细胞的生长保持各自的特性, 但细胞之间可形成次生胞间连丝, 进行一定物质和信息的交流, 以满足植株生长发

育的需要。这种方法可用于细胞间的相互作用、通讯、物质和信息交流以及嵌合体的培育方面等研究。

科属间或种间细胞嫁接可用于研究细胞间的相互作用(如亲和性、共质联系的建立和堵塞)、细胞间基因表达的相互影响和协调、细胞增殖和器官发生过程中细胞之间的通讯和信息交流以及应激反应和抗逆反应中的细胞间信息传递等。郭晓才等对离体培养下的绿色胡萝卜细胞系和白色普通烟草细胞系共培养时观察到两种细胞的镶嵌生长以及细胞之间隔离层的存在与消失,次生胞间连丝在隔离层消失的区域形成,从而将独立的两个共质体连成一个统一的共质体。

Binding等用原生质体共培养进行种间细胞嫁接,得到了嵌合体植株。Lindsay等通过细胞嫁接获得了番茄与茄属植物的嫁接嵌合体,在再生植株中,嵌合植株占2.1%。吴伯骥等用细胞嫁接研究不同细胞间细胞质和染色质的穿壁转移的人工模拟,即采用细胞工程的实验体系,模拟植物细胞间细胞质和染色质穿壁的细胞结构和生理状态,建立了一项人工促使不同植物细胞间细胞质和染色质穿壁转移的细胞工程技术,简称L.B.技术,成功地实现了烟草和菠菜细胞间细胞质和染色质的穿壁转移,并得到再生杂交植株,希望借此建立一个产生嵌合体甚至进行基因转移的技术。因此,对种属间或科间细胞嫁接进行研究,可望获得嵌合体植株及杂种植株。

离体嫁接技术的开发和利用,为蔬菜嫁接研究提供了良好的实验系统,可以精确地进行嫁接体发育机理、嫁接亲和性机制和细胞间的相互作用、通讯、物质和信息交流等方面的研究,可以早期预测嫁接的亲和性与不亲和性,也为蔬菜作物的改良提供了新手段,不仅能够培育出丰富多彩的嫁接嵌合体新品种,还有可能获得与基因工程类似的嫁接杂种植株。因此,离体嫁接在蔬菜基础理论研究以及育种实践中具有整体

嫁接不可替代的作用。

参考文献:

- [1] 马云霞. 微嫁接及其在果树生产中的应用[J]. 河北果树, 1998, (1): 3~4.
- [2] Galipienso L, NavarTo L, Ballester-Omos, et al. Host range and symptomatology of a graft-transmissible pathogen causing bud union crease of citrus on trifoliate rootstocks[J]. Plant Pathology, 2000, 49(2): 308~315.
- [3] 王中英, 王艺, 童德中. 果树的微型嫁接[J]. 世界农业, 1998, (7): 29~32.
- [4] Katoh, N, Yui, M, Sato, S, Shirai, T, Yuasa, H, Hagimori, M. Production of virus-free plants from virus-infected sweet pepper by in vitro grafting[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 100(1~4): 1~6.
- [5] Hirata Y, Motegi T, Xiao Q B, et al. Artificially-synthesized intergeneric chimera between Brassica oleracea and Raphanus sativus by in vitro grafting. Plant Biotechnology, 2000, 17(3): 195~201.
- [6] 卢善发. 植物离体茎段嫁接[J]. 云南植物研究, 2001, 23(1): 91~96.
- [7] 卢善发, 宋艳茹. 激素水平与试管苗离体茎段嫁接体维管束桥分化的关系[J]. 科学通报, 1999, 44: 1422~1425.
- [8] 刘美琴, 王幼群, 杨世杰. 植物激素对蚕豆离体茎段自体嫁接的影响[J]. 园艺学报, 1996, 23: 264~268.
- [9] 卢善发, 唐定台, 宋经元, 等. 利用植物激素调控嫁接形成的初步研究[J]. 植物学报, 1996, 38(4): 307~311.
- [10] 王幼群, 杜中, 韩静. 南瓜属植物离体茎段嫁接微管组织的发育过程[J]. 西北植物学报, 2000, 20(1): 54~58.
- [11] 卢善发, 宋艳茹. 嫁接接合部微管组织分化的激素调节[J]. 云南植物研究, 1999, 21(4): 483~490.
- [12] Lu S F. Immunohistochemical localization of IAA in graft union of explanted internode grafting[J]. Chinese Science Bulletin, 2000, 45(19): 1767~1772.

春种大白菜防止早期抽薹的措施

张凤琴

(黑龙江省黑河市爱辉区农业技术推广中心, 164300)

大白菜种植具有“一季栽培、半年供应”之美称, 而春种大白菜在蔬菜淡季上市调配菜类供应深受人们喜爱。大白菜的生长习性是: 前期需要较高的温度, 后期需要温和凉爽的气候。而春种大白菜则与其习性恰恰相反, 因此, 春种大白菜、甘蓝、叶用芥菜、萝卜、榨菜等十字花科蔬菜普遍存在早期抽薹的现象。

大白菜在低温条件下通过春化阶段, 然后在长日照条件下抽薹开花, 如果春季气温低, 播种时间不当, 春白菜在苗期就能通过春化阶段, 随着日照的延长气温的升高, 菜苗会直接进入生殖生长阶段而抽薹开花, 这种现象即为早期抽薹。因此, 解决春大白菜早期抽薹的问题是种植成功的关键, 解决途径主要应采取以下措施。

1 选择适宜当地的品种 特别是选择冬性强, 不易抽薹开花

的早熟品种。如选择春秋 52、春秋 54、阳春结球等品种。

2 适时播种 播种过早, 白菜易通过春化导致抽薹开花, 也易使菜苗受冻害; 播种过晚, 结球时遇高温不能形成紧实的叶球, 高温雨季易发生软腐病。因此, 播期要选择为外界气温稳定在 13℃以上, 结球期安排在 25℃之前为宜。

3 保温育苗 春大白菜大都采用育苗栽培, 一般采用大棚加小棚或日光温室育苗, 黑龙江地区一般在 4 月 10 日左右苗床播种, 每 667 m²(平方米)播种量为 40 g~50 g(克), 可干籽直播于育苗盘或畦内, 白天温度保证在 20℃~25℃, 夜间不低于 13℃, 拉十字时移苗于营养钵中, 苗龄 25 d(天)左右, 菜苗 7~8 片叶时定植。

4 地膜覆盖定植 当白天气温高于 13℃, 夜间却低于 10℃, 大白菜还会进行春化, 引起抽薹, 如定植后地膜覆盖, 温度可提高 2℃~5℃, 能减少抽薹, 同时减少杂草危害。

5 加强田间管理 定植后立即浇水, 水量宜小, 2 d~3 d(天)轻浇一次, 随即仔细中耕提高地温。进入莲座期每 667 m²(平方米)追尿素 10 kg(公斤)左右, 结球初喷洒硫酸链霉素或 72% 农用硫酸链霉素可溶性粉剂 3 000~4 000 倍液, 或新植霉素 4 000 倍液, 隔 10 d(天)1 次, 连续防治 2~3 次, 还可兼治黑腐病、细菌性角斑病、黑斑病等。但对铜剂敏感的品种须慎用。