

枣组培苗试管外微嫁接技术研究

张存智, 王 敏, 魏 鹏

(宁夏职业技术学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要:以高 5~7 cm 无根健壮的灵武长枣组培苗为接穗, 以酸枣实生苗为砧木, 采用枣树组培苗试管外微嫁接技术, 研究了嫁接口的不同保湿材料、组培苗练苗时间、砧木苗龄、不同浓度 BA 对嫁接成活率的影响。结果表明: 采用封口膜缠绕嫁接口操作容易, 保湿效果显著; 组培苗最适宜的练苗时间为 5~6 d; 2 片真叶苗龄的砧木嫁接成活率高; 最适宜的 BA 浓度是 15 mg/L; 获得最高嫁接成活率是 91.4%。

关键词:枣树; 组培苗; 微嫁接; 成活率

中图分类号:S 665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)11-0100-04

微嫁接是一种在试管内将砧木与接穗进行嫁接的技术, 它是组培快繁与嫁接技术的结合^[1], 嫁接分 2 种情况, 即试管内嫁接和试管外嫁接^[2]。微嫁接已被广泛应用于快速检测植物病毒^[3-4]、繁殖保存珍贵育种材料、脱除植物病毒^[5]等方面; 且已应用于柑桔、苹果、桃、葡萄和龙眼等多种果树的研究与生产中^[1]。枣树的试管内嫁接已有成功报道^[6-8], 但试管内枣树组培苗微嫁接技术在无菌条件下操作, 存在操作技术要求高, 培养条件严格, 技术环节繁琐等问题。枣树的试管外微嫁接技术国内外迄今尚鲜见研究报道, 该试验进行了灵武长枣无根组培苗在试管外嫁接的影响因素及较适合条件的研究, 以期今后试管外微嫁接技术在工厂化育苗的推广及应用、无病毒苗木的推广及缩短育种年限等方面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为灵武长枣。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料的嫁接与培养 接穗的培养: 2011 年利用春季萌发的幼嫩枣头为外植体, 消毒后剪成 2 芽茎段接种到诱导培养基 MS(改良)+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 上, 待侧主芽萌发后剪成 2 芽茎段转入培养基 MS(改良)+IBA 0.2 mg/L 进行继代培养。培养基中添加蔗糖 20~30 g/L 和琼脂 4.0 g/L, pH 6.0。继代培养期间每 30~40 d 转接 1 次, 获得大量无根组培苗作为接

穗。培养条件: 采用人工光照封闭式培养室, 温度(27±2)℃, 相对湿度 70%~80%, 光照强度 2 000~3 000 lx, 光照时间 16 h/d。将生产健壮, 培养 30 d 左右, 5~7 cm 高的组培苗进行 5~10 d 的开瓶强光练苗, 再剪成带 2 个芽茎段作为接穗, 接穗下部削成楔形。1 株组培苗可以获得 2~3 个接穗。砧木的培养: 2012 年 7 月下旬, 酸枣种子经过催芽处理, 待种子刚刚露芽, 播种于经过多菌灵消毒处理(基质的含水量在 40%~45%), 已装好基质(主要成分是蛭石、珍珠岩、草炭、有机肥、无机肥)的营养钵中。播种后保持基质的湿润, 5~7 d 后发芽, 作为砧木。嫁接方法: 采用劈接法。待酸枣真叶长出后, 切去生长点, 留 2 片子叶, 从 2 片子叶中间劈开, 将接穗插入其中, 用保湿材料对嫁接口进行保湿处理。嫁接后的管理: 嫁接后置于温室内的小拱棚内, 第 1 周室内湿度保持在 70%~80%, 温度保持在 25~30℃, 遮荫。从第 2、3 周逐渐增强光照直至接穗发芽并长出 2 片新叶才不需要遮光; 并逐渐降低湿度, 最终至大气湿度; 1 周后及时剪去酸枣发出的萌蘖; 30 d 后可获得嫁接苗。嫁接成活率的统计: 20~30 d 后调查计算成活率, 嫁接成活率=成活株数/嫁接总株数×100%。

1.2.2 嫁接口采用不同保湿材料处理对嫁接成活率的影响 将练苗 6 d 的组培苗分别嫁接到长至 2 片真叶苗龄的酸枣苗上, 嫁接口分别采用嫁接夹, 封口膜、塑料膜缠绕处理进行保湿, 20 d 后调查嫁接成活率。

1.2.3 不同组培苗练苗时间对嫁接成活率的影响 将练苗 5、6、7、8、9、10 d 的组培苗分别嫁接到长至 2 片真叶苗龄的酸枣苗上, 嫁接口用封口膜缠绕, 30 d 后调查嫁接成活率。

1.2.4 不同砧木苗龄对嫁接成活率的影响 将练苗 6 d 的组培苗分别嫁接到长至 2、4、6 片真叶苗龄的酸枣苗

第一作者简介:张存智(1972-), 女, 宁夏人, 硕士, 副教授, 研究方向为果树生物技术。E-mail: zhangcunzhi72@126.com。

基金项目:国家级星火计划重大资助项目(2012GA880001)。

收稿日期:2014-03-05

上,嫁接口用封口膜缠绕,30 d后调查不同砧木苗龄对嫁接成活率的影响。

1.2.5 不同浓度 BA 对嫁接成活率的影响 将练苗 6 d 的组培苗的接穗楔形部位置于含有 BA 10、15、20 mg/L 溶液中浸蘸 3 s,分别嫁接到长至 2 片真叶苗龄的酸枣苗上。嫁接口用封口膜缠绕,30 d后调查嫁接成活率。

2 结果与分析

2.1 嫁接口采用不同保湿材料处理对嫁接成活率的影响

嫁接口的保湿对接口的愈合起关键作用,但组培芽组织幼嫩,个体微小,对嫁接口的保湿处理是个难题。该试验分别采用塑料膜、嫁接夹、封口膜对嫁接口湿度进行调控。由图 1 可知,由于嫁接材料比较小,用塑料膜缠绕嫁接口操作较困难,在操作过程中易使接穗和砧木错位,捆绑不宜,费时费事,嫁接成活率仅为 4%。嫁接夹操作要比塑料膜简捷,但保湿效果差,成活率为 13%。采用封口膜缠绕嫁接口操作容易,保湿效果显著,嫁接成活率提高到 84.4%。

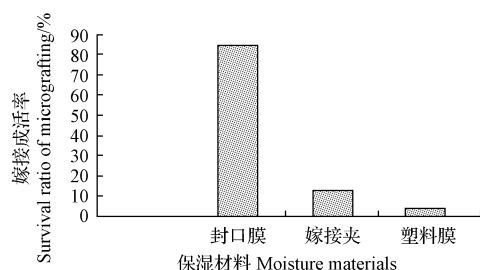


图1 嫁接口采用不同保湿材料处理对嫁接成活率的影响

Fig.1 Effect of different moisture materials on the survival ratio of micrografting

2.2 不同组培苗练苗时间对嫁接成活率的影响

组培苗生长在恒温、高湿、弱光、无菌的环境,将其移栽到自然条件下,需要经过适宜的练苗环节。由图 2 可以看出,不同的练苗时间对嫁接成活率影响不同。练苗 5~6 d,嫁接成活率在 80%~84.4%,随着练苗时间的延长,成活率逐渐下降。10 d 后下降到 56.7%。这和

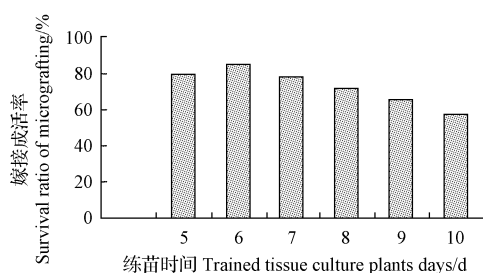


图2 不同练苗时间对嫁接成活率的影响

Fig.2 Effect of different trained tissue culture plants days on the survival ratio of micrografting

及华等^[9]的研究结果一致。强光练苗可以诱导茎叶保护组织的发生和恢复气孔调节功能,对水分胁迫和环境因子的抗性明显增强。但随练苗时间延长,组培苗茎秆木质化程度提高,嫁接成活率下降。所以最适宜的练苗时间为 5~6 d。

2.3 不同砧木苗龄对嫁接成活率的影响

砧木的木质化程度也直接影响嫁接成活率,该试验结果表明,砧木的苗龄越大,木质化程度越高,嫁接成活率越低,这和及华等^[9]的研究结果一致。从图 3 可以看出,2 片真叶的苗龄的砧木嫁接成活率是 84.4%,4 片真叶的砧木嫁接成活率是 73.9%,6 片真叶的砧木嫁接成活率是 60.0%。

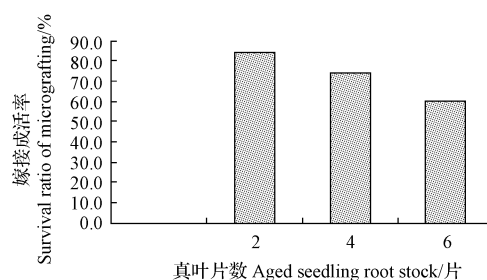


图3 不同砧木苗龄对嫁接成活率的影响

Fig.3 Effect of the aged seedling root stock on the survival ratio of micrografting

2.4 不同浓度 BA 对嫁接成活率的影响

生长激素具有促进形成层活动的作用,使形成层分化为木质部或韧皮部的速度加快,产生新的输导组织,完成嫁接愈合及成活过程。为了促进接口愈合,提高嫁接成活率,嫁接时将接穗的楔形部位在含有 BA 10、15、20 mg/L 溶液中浸蘸 3 s。从图 4 可以看出,在接穗楔形部位浸蘸 BA 能够提高嫁接成活率,效果十分明显,嫁接成活率都在 80% 以上,其中以 BA 浓度 15 mg/L 最高,为 91.4%。

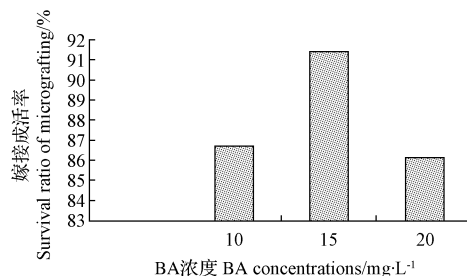


图4 不同 BA 激素浓度对嫁接成活率的影响

Fig.4 Effect of different concentrations of BA on the survival ratio of micrografting

3 讨论与结论

嫁接口的保湿是组培苗试管外嫁接成活率的关键因素之一,由于接穗和砧木材料都比较小,嫁接口保湿

操作不便,寻找一种合适的保湿材料既具有很好的保湿效果,而且操作容易。该试验嫁接接口采用封口膜缠绕,显著的提高了成活率;并且在以后的试验中发现,封口膜随着嫁接苗的长粗,会自动脱落,减少了去除绑接材料的环节,降低了生产成本。



图5 嫁接30 d后嫁接苗的长势

Fig. 5 The growth after grafting 30 days



图6 嫁接40 d后嫁接苗的长势

Fig. 6 The growth after grafting 40 days

组培苗试管外嫁接成活率的关键因素之二是嫁接后湿度、温度、光照的控制,特别是湿度控制。湿度过高,嫁接苗容易发霉长毛,湿度过低,接穗容易失水萎蔫。湿度应前高后低,第1周室内湿度保持在70%~80%,以后因逐渐降低湿度,使嫁接苗逐渐适应环境湿度。温度应控制在25~30℃;嫁接苗前期遮荫,有利于愈伤组织愈合^[10]。

接穗和砧木的木质化程度也是嫁接成活率的关键因素之一。木质化程度越低,理论上越有利于嫁接伤口愈合,但组培苗木质化程度过低,练苗时间过短,嫁接时易萎蔫致死;接穗和砧木木质化程度高,愈合差,因而也不利于成活。这与成密红等^[11]、王国平等^[12]的研究结果一致。

采用组培苗试管外嫁接技术,减少组培苗生根及练苗移栽环节,直接获得嫁接营养袋苗^[13],营养袋苗培养50 d左右可长出8~10个叶片,高度达15~20 cm(图5、6),可直接在大田定植,成活率在90%以上。这种嫁接营养袋苗可周年生产,不受季节的限制;并且1株5~7 cm高的组培苗可获得2~3个接穗,可降低生产成本。所以枣树组培苗试管外微嫁接技术,将为枣树苗木脱毒、抗性育种、三倍体育种、果树检疫和苗木快速繁育开创出新的前景。

参考文献

- [1] 张金林,王锁民,许瑞,等. 植物微嫁接技术的研究及应用[J]. 植物生理学通讯,2005,41(2):247-252.
- [2] 赵恺,刘伟. 果树组织培养微嫁接技术研究进展[J]. 现代农业科技,2011(20):105-106.
- [3] Jonard R, Hugard J, Macheix J J, et al. In vitro micrografting and its applications to fruit science[J]. Sci Hortic, 1983, 20: 147-159.
- [4] Estrada-Luna A A, Lóez-Peralta C, Cadenas-Soriano E. In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus(*Opuntia* spp.) [J]. Sci Hortic, 2002, 92(3): 317-327.
- [5] 郭春慧,马凤桐. 经济林木试管茎尖嫁接的研究现状及展望[J]. 西北农业大学学报, 1997, 25(3): 36-40.
- [6] 秦子禹. 枣试管微嫁接技术研究[D]. 保定:河北农业大学, 2006.
- [7] 王娜,秦子禹,刘孟军,等. 三个枣品种的微嫁接快繁体系[J]. 河北科技师范学院学报, 2009, 23(2): 4-7.
- [8] 秦子禹,刘孟军,王娜. 培养环境对枣组培微嫁接的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(20): 8480-8481.
- [9] 及华,张海新,葛会波. 梨矮砧组培苗微嫁接技术研究[J]. 河北农业科学, 2005(9): 37-40.
- [10] 王明忠,郭兆年. 苹果组培芽露地嫁接技术研究[J]. 华北农学报, 1991, 6(4): 54-59.
- [11] 成密红,郭军战,苏美琼,等. 樱桃组培苗微型嫁接技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007(12): 63-66.
- [12] 王国平,李晓梅. 核桃无根试管苗微枝嫁接技术[J]. 山西果树, 2006(1): 28-29.
- [13] Mneney E E, Mantell S H. In vitro micrografting of cashew[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2001, 66: 49-58.

Study on the Outside Tube Micrografting Techniques for the Tissue Cultured *Ziziphus jujube* Buds

ZHANG Cun-zhi, WANG Min, WEI Peng

(Ningxia Polytechnic College, Yinchuan, Ningxia 750021)

五种杀菌剂对库尔勒香梨腐烂病的防效

郭 靖, 张王斌, 张 琦, 唐俊煜, 李亚鹏, 郭众仲

(塔里木大学 植物科学学院, 新疆 阿拉尔 843300)

摘 要:以库尔勒香梨腐烂病菌田间发病枝条为试材,采用生长速率法和刮除病斑后涂抹药剂的方法,研究了5种不同杀菌剂对库尔勒香梨腐烂病菌的影响。结果表明:室内毒力测定中阿米妙收、银典和世高的防效较好,其 EC_{50} 值分别为0.0193、0.0312、0.0563 $\mu\text{g/mL}$;凯润和好力克防效次之;田间防治时阿米妙收50倍、凯润50倍防效最好,病斑愈合宽度和治愈率分别为17.1 mm、93.6%和16.8 mm、90.0%;好力克20倍防治效果次之,病斑愈合宽度和治愈率分别为9.3 mm、82.4%;银典防效相对较差。

关键词:杀菌剂;库尔勒香梨;腐烂病;毒力测定

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)11-0103-03

库尔勒香梨(*Pyrus sinkiangensis* Y)是新疆特色林果产业的重要组成部分,也是新疆唯一获准进入欧洲、北美等高端市场的水果。其栽培区主要集中在新疆巴州和阿克苏地区。但近年来,香梨腐烂病的大发生严重威胁着香梨产业的发展,新疆阿拉尔垦区90%以上的香梨树死亡都是由该病引起,巴州全区香梨平均发病率50%,在阿克苏地区红旗坡农场梨园腐烂病病株率均达60%以上^[1]。该病害是一种弱寄生性真菌病害,化学药剂防治是最直接有效的防治方法。目前,果农防治香梨腐烂病的药剂主要有福美砷、石硫合剂、9281、843 康复剂、戊唑醇等,但使用时间较长,防治效果一般。因此,筛选新型杀菌剂,对防治库尔勒香梨腐烂病具有重要意义。

香梨腐烂病属真菌病害,病原有性态为子囊菌亚

门,梨黑腐皮壳(*Valsambiens* (Pers.) Fr.),无性态系半知菌亚门,壳囊孢属(*Cytospora carphosperma* Sacc.)^[2-3]。王兰^[4]报道菌丝在20~30℃的条件下生长较快,低于10℃或高于35℃均不利于其生长,菌丝生长适宜的pH值为4~5;吴刚等^[5]向树体注射恩泽霉(2%丙烷咪)治疗效果较好,9281水剂表现良好;李学春等^[6]研究表明9281增产强壮素防治效果较好;张长胜等^[7]使用杀菌剂混泥塑料包裹防治愈合块利于伤口愈合。

前人有关库尔勒香梨腐烂病的病原特性研究较多,药剂防治报道过于陈旧。该研究根据近年来市面上现有药剂对果树腐烂病的防治情况,结合较新农药的有效成分选用5种新型杀菌剂,通过室内毒力测定和田间防治试验结合的方法,筛选对库尔勒香梨腐烂病菌具有较好防效的药剂,以期通过化学方法防治该病害提供较新参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

库尔勒香梨腐烂病菌种由南疆农业有害生物综合治理重点实验室提供,采集于兵团第一师阿拉尔农场香梨园。

试验选择的5种药剂,分别为阿米妙收(瑞士先正

第一作者简介:郭靖(1989-),男,陕西洛南人,硕士研究生,研究方向为果树病理。E-mail:guojing880828@163.com.

责任作者:张王斌(1974-),男,陕西澄城人,硕士,副教授,研究方向为林果腐烂病研究。E-mail:zwbzky@163.com.

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划资助项目(TDGCX201215;201310757002)。

收稿日期:2014-01-17

Abstract: Taking 5~7 cm and no root healthy tissue culture seedlings of 'Lingwuchangzao' as scion and *Zizyphus jujube* seedlings as the rootstock, using the outside tube micrografting techniques, the effect of different moisture materials, time of hardening tissue culture seedling, age of seedling root stock and different concentrations of BA on the graft survival rate were studied. The results showed that the best moisture materials was the parafilm, it was better moisturizing effect and easy to operate; the appropriate training time was 5~6 days; age was two piece of true leaf of seedling root stock and concentrations of BA was 15 mg/L, the graft survival rate was the highest with 91.4%.

Key words: *Zizyphus jujube*; tube culture seedling; micrograft; survival rate