

文章编号:1001-7380(2015)05-0017-03

金焰彩栎试管微型嫁接技术研究

蒋泽平, 张 敏

(江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

摘要:以金焰彩栎试管苗为接穗, 黄山栎树试管苗为砧木, 对影响微嫁接苗成活的因子进行了研究。试验以黄山栎树优良单株具腋芽茎段为外植体, 灭菌后接种在 $1/2\text{ MS} + 0.5\text{ mg/L BA} + 0.1\text{ mg/L NAA}$ 培养基上培养 30 d 的无菌芽苗为砧木, 以金焰彩栎播种苗带侧芽的茎段为外植体, 灭菌后接种在改良 $1/2\text{ MS} + 0.02\text{ mg/L 6-BA} + 0.05\text{ mg/L NAA} + 0.05\text{ mg/L IAA} + 0.02\text{ mg/L IBA} + 30\text{ g/L 蔗糖}$ 的培养基中培养 30 d 的无菌芽苗为接穗, 使用劈接法, 嫁接后在含有不同基本培养基和不同种类、质量浓度的生长调节剂的培养基上培养。结果表明:以培养 30 d 带 2 叶的金焰彩栎试管芽苗为接穗, 培养 30 d 带 2 叶的黄山栎树试管芽苗为砧木, 嫁接后以改良培养基 $1/2\text{ MS} + 0.02\text{ mg/L 6-BA} + 0.05\text{ mg/L NAA} + 0.05\text{ mg/L IAA} + 0.02\text{ mg/L IBA} + 30\text{ g/L 蔗糖}$ 进行培养, 微型嫁接苗成活率最高, 萌发生长效果最好。

关键词:金焰彩栎; 组织培养; 微繁殖; 微嫁接; 砧木; 接穗

中图分类号:Q949.755.5; Q943.1 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2015.05.005

试管嫁接又称微嫁接, 是一种在试管内将砧木与接穗进行嫁接的技术, 它是植物组织培养与嫁接技术的结合。这种嫁接技术是以组织培养为基础, 嫁接植物在人工控制的环境条件下培养, 排除了外界环境因素对嫁接成活的影响^[1-5]。

金焰彩栎 (*Koelreuteria bipinnata* var *integrifoliola* ‘Jinyan’) 是在黄山栎树实生苗中选出的优良品种, 其主要特性是树干或枝条呈黄色, 春季新芽、叶呈桔红色, 夏季叶呈黄绿色, 秋叶呈金黄色, 具有很高的园艺观赏价值。该植物主要采用嫁接方法进行繁殖, 但是繁殖速度偏低; 笔者对该新品种进行了组织培养技术研究并取得成功^[6], 但在组织培养技术研究发现, 经过一定代数 (5~8 代) 的继代培养后, 试管芽苗叶片会发生离层脱落, 严重影响继代繁殖。为此, 在前述研究的基础上, 笔者以金焰彩栎为接穗, 黄山栎树为砧木进行试管嫁接技术研究, 试图突破这一技术瓶颈, 为加快繁育速度, 满足园林绿化市场需求提供技术支撑。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

接穗和砧木分别为金焰彩栎、黄山栎树优良单

株无菌试管芽苗。

1.2 试验方法

试验以黄山栎树优良单株具腋芽茎段为外植体, 灭菌后接种在 $1/2\text{ MS} + 0.5\text{ mg/L BA} + 0.1\text{ mg/L NAA}$ 培养基上培养的无菌芽苗为砧木, 以金焰彩栎播种苗带侧芽的茎段为外植体, 灭菌后接种在改良 $1/2\text{ MS} + 0.02\text{ mg/L 6-BA} + 0.05\text{ mg/L NAA} + 0.05\text{ mg/L IAA} + 0.02\text{ mg/L IBA} + 30\text{ g/L 蔗糖}$ 的培养基中培养的无菌芽苗为接穗。

嫁接用砧木试验: 分别带 1, 2, 3, 4 片叶, 以不带叶的为对照, 其中带 2 片叶的砧木培养时间分别为 15, 30, 45 d, 以培养 30 d 带 2 片叶的金焰彩栎试管芽苗为接穗;

嫁接用接穗试验: 分别带 1, 2, 3 叶片及茎尖, 以不带叶的为对照, 其中带 2 片叶的接穗培养时间分别为 15, 30, 45 d, 以培养 30 d 带 2 片叶的黄山栎树试管芽苗为砧木。

嫁接方式采用劈接进行。嫁接后接种到改良 $1/2\text{ MS} + 0.02\text{ mg/L 6-BA} + 0.05\text{ mg/L NAA} + 0.05\text{ mg/L IAA} + 0.02\text{ mg/L IBA} + 30\text{ g/L 蔗糖}$ 的培养基中进行培养。培养条件为: 光照度为 2 500 lx, 温度条件为 25~27℃, 光照时间 12 h/d。接种

收稿日期: 2015-05-25; 修回日期: 2015-09-12

基金项目: 江苏省农业科技支撑计划项目“彩叶栎树新品种选育” (BE2013450)

作者简介: 蒋泽平 (1963-), 男, 江苏丹阳人, 研究员, 主要从事林木花卉良种选育和植物组织培养技术研究。

10 瓶,每瓶培养 5 株。20 d 后统计成活率和嫩芽的萌发率,研究不同砧木、不同接穗对试管嫁接效果的影响。

以改良 1/2 MS, MS, WPM 外加 0.02 mg/L BA 为基本培养基,附加一定质量浓度的 NAA, IBA, IAA 等,以培养 30 d 带 2 叶的金焰彩栎试管芽苗为接穗,培养 30 d 带 2 叶的黄山栎树试管芽苗为砧木,培养条件同上。嫁接 20 d 后,观察嫁接苗接穗的萌发率和长势以及嫁接部位的愈合程度,研究不同培养基和生长调节物质对试管嫁接效果的影响。

成活率(%)=(成活数/嫁接数)×100;

萌发率(%)=(萌芽数/嫁接数)×100。

2 结果与分析

2.1 不同砧木对试管嫁接效果的影响

结果表明,7 种不同类型砧木在嫁接后其成活率有差异,不带叶的成活率只有 40%,其余类型的嫁接成活率均在 60% 以上,其中成活率最高的是培养 30 d 带 2 叶的砧木达 88%;不同类型砧木萌发率差异也很明显,不带叶的成活率只有 32%,带 1 叶的 54%,带 4 叶的 56%,其余类型的嫁接成活率均在 60% 以上,其中成活率最高的是培养 30 d 带 2 叶的砧木达 88%;从生长状况来看,同样也以培养 30 d 带 2 叶的砧木作砧木嫁接的生长最好,嫁接 10 d 后砧木开始产生不定根,20 d 后芽开始萌发并长势旺盛,其他砧木生根较慢,砧木和接穗愈合慢且生长缓慢,接穗后期逐渐褐化(见表 1)。因此,选择培养 30 d 带 2 叶的黄山栎树无菌芽苗是试管嫁接最合适的砧木。

表 1 不同砧木对试管嫁接效果的影响

砧木	嫁接数	成活数	成活率/%	萌发数	萌发率/%
带 1 叶	50	31	62	27	54
培养 15 d 带 2 叶	50	40	80	38	76
培养 30 d 带 2 叶	50	44	88	44	88
培养 45 d 带 2 叶	50	39	78	36	72
带 3 叶	50	35	70	33	66
带 4 叶	50	30	60	28	56
CK	50	20	40	16	32

2.2 不同接穗对试管嫁接效果的影响

由结果(见表 2)可以看出,7 种接穗在嫁接后 20 d 进行统计,其成活率差异大。以不带叶接穗的成活率最低,只有 40%,接穗萌发率也低,只有 32%;培养 30 d 带 2 叶的接穗成活率最高达 88%,

萌发率也最高达 88%;嫁接成活率由高到低的接穗分别为培养 30 d 带 2 叶>培养 15 d 带 2 叶>茎尖>培养 45 d 带 2 叶>带 1 叶>带 3 叶>不带叶 CK,相应的萌发率的高低排序与成活率一样。

因此,选择带 2 叶培养 30 d 的金焰彩栎无菌芽苗做接穗是试管嫁接最合适的接穗。

表 2 不同接穗对试管嫁接效果的影响

接穗	嫁接数	成活数	成活率/%	萌发数	萌发率/%
带 1 叶	50	35	70	30	60
培养 15 d 带 2 叶	50	39	78	35	70
培养 30 d 带 2 叶	50	44	88	44	88
培养 45 d 带 2 叶	50	36	72	34	68
带 3 叶	50	30	60	25	50
茎尖	50	38	76	38	76
CK	50	20	40	16	32

2.3 不同培养基和生长调节剂对试管嫁接效果的影响

从结果(见表 3)可见,在培养 30 d 带 2 叶的黄山栎树试管芽苗做砧木,培养 30 d 带 2 叶的金焰彩栎试管芽苗做接穗嫁接后在不同的培养基上培养试验,不同的基本培养基中添加不同质量浓度的生长调节剂和蔗糖的 9 种组合,对试管嫁接效果影响不同。处理 6,5,4 效果最好,萌发率分别达到 88%,85%,82%,嫁接 14 d 后砧木开始生根,接穗萌发,生长较好。认为改良 1/2 MS+0.02 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+0.02 mg/L IBA+0.05 mg/L IAA+30 g/L 蔗糖为最合适的嫁接培养基。

表 3 不同基本培养基、生长调节剂、蔗糖对试管嫁接效果的影响

处理	基本培养基	NAA/(mg/L)	IBA/(mg/L)	IAA/(mg/L)	蔗糖/(g/L)	萌发率/%
1	MS	0.01	0.02	0.03	20	72
2	MS	0.03	0.04	0.05	30	78
3	MS	0.05	0.06	0.08	40	75
4	改良 1/2 MS	0.01	0.04	0.08	40	82
5	改良 1/2 MS	0.03	0.06	0.03	20	85
6	改良 1/2 MS	0.05	0.02	0.05	30	88
7	WPM	0.01	0.06	0.05	30	80
8	WPM	0.03	0.02	0.08	40	78
9	WPM	0.05	0.04	0.03	20	70

3 结论与讨论

在金焰彩栎试管嫁接过程中,接穗的选择是影响嫁接成功与否的关键因素之一。以培养 30 d 带 2 叶的试管芽苗为接穗效果最好,其原因可能是,外植体经组织培养后萌发的新芽,具有一定的木质化,容

易成活;接穗大小与砧木大小一致,嫁接后砧木和接穗更加容易愈合;培养30 d带2叶的金焰彩棠试管芽苗接穗带叶,嫁接后能进行光合作用制造营养,提高了成活率^[7-8]。砧木的选择,同样也是影响试管嫁接成活率的关键因素之一^[9-10],砧木宜选择培养30 d带2叶的黄山栎树试管芽苗做砧木,嫁接后置于生根培养基中培养,这样有利于接穗与砧木的愈合以及营养的供应,提高成活率和萌发效果。

参考文献:

- [1] Jonard R, Hugard J, MaChix J, et al. In vitro micro-grafting and its applications to fruit science[J]. Scientia Horticulturae, 1983, 20(1):147-159.
- [2] Estrada-Luna A A, López-Peralta C, Cárdenas-Soriano E. In vitro micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp) [J]. Scientia Horti-

culturae, 2002, 92(3/4):317-327.

- [3] 陈如珠,李耿光,张兰英.柑桔三倍体的试管嫁接及微繁殖的研究[J].中国柑桔,1992,21(4):10-12.
- [4] 周艳,周洪英,朱立,等.植物微嫁接研究进展[J].贵州科学,2013,31(2):194-199.
- [5] 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.
- [6] 蒋泽平,张敏.金焰彩棠组织培养技术研究[J].江苏林业科技,2015,42(3):40-42.
- [7] 曾斌,李疆,张孝霖,等.库尔勒香梨试管微体嫁接技术的研究[J].新疆农业科学,2006,43(1):47-49.
- [8] 董丽芬,邹朋波,贾彩霞,等.核桃微体嫁接方法研究[J].西北林学院学报,2007,22(2):79-81.
- [9] 成密红,成鸿飞.果树微型嫁接技术研究进展[J].陕西林业科技,2005(2):49-51,63.
- [10] 董高峰,黄涛,李耿光,等.外源激素对沙田柚茎尖微嫁接成活率的影响[J].生态科学,2001,20(3):26-30.

(上接第9页)

物学特性,做好虫情预测预报工作。定期剥查虫瘿,根据虫态的变化,做出羽化盛期的预测^[11]。

(2)抓住每年最合适的防治时间即成虫羽化盛期,采取药剂喷洒防治措施,每隔4~5 d,连续喷治2~3次,将虫害控制在不成灾范围内。

(3)加强竹林的培育和管理,搞好林地卫生,提高早竹林抗虫能力,降低虫害的发生^[12]。

参考文献:

- [1] 刘力,潘锡东.早竹高产笋用林及其土壤理化性质分析研究[J].竹子研究汇刊,1994,13(3):38-43.
- [2] 沈代琦.苦竹主要虫害防治技术初探[J].安徽农学通报,2013,19(11):74-75,98.
- [3] 徐天森,葛振华.毛笋泉蝇与毛竹退笋关系的研究[J].林业科学,1966,11(3):30-37.
- [4] 梁光红.黄甜竹林间主要害虫调查[J].福建林业科技,2003,

31(3):34-36,39.

- [5] 王问学,莫建初,王明旭等.竹广肩小蜂的生物、生态学特性及综合治理研究[J].中南林学院学报,1994,14(1):29-34.
- [6] 陈顺立,吴晖,陈更新.竹小蜂幼虫空间分布型及抽样技术研究[J].华东昆虫学报,1997,6(1):50-54.
- [7] 杨忠武,唐艳琼,全桂生,等.林间竹腔注射防治刚竹泰广肩小蜂和竹泰广肩小蜂试验研究[J].广西林业科学,2011,40(1):56-57.
- [8] 孙品雷,陈为民,黄照岗,等.毗虫啉竹腔注射防治竹泰广肩小蜂试验[J].中国森林病虫,2005,24(1):20-22.
- [9] 刘国.注射法大面积防治楠竹小蜂试验[J].湖南林业科技,1997,24(1):56-57.
- [10] 朱国良,朱朝华,吴浙东.雷竹基地竹小蜂的危害及防治技术研究[J].浙江林业科技,2000,20(2):53-54.
- [11] 莫建初,王问学,王明旭,等.竹小蜂的化学防治实验[J].林业科技通讯,1992(9):12-14.
- [12] 黄照岗,石纪茂,郑建国,等.早竹园竹笋夜蛾防治实验[J].中国森林病虫,2006,25(4):35-37.

(上接第5页)

- [16] 王燕龙,姜言生,曲志才,等. SSR分子标记在作物种质资源鉴定中的应用[J].山东农业科学,2012,44(10):11-18.
- [17] 殷继艳,张建国. SSR标记技术在杨属植物研究中的应用[J].四川林业科技,2009,30(2):25-29.
- [18] Lewers K S, Saski C A, Cuthbertson B J, et al. A blackberry (*Rubus* L.) expressed sequence tag library for the development of simple sequence repeat markers[J]. BMC Plant Biology, 2008, 8

(1):69.

- [19] Castro P, Stafne E T, Clark J R, et al. Genetic map of the primocane fruiting and thornless traits of tetraploid blackberry[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2013, 126(10):2521-2532.
- [20] Dossett M, Bassil N V, Lewers K S, et al. Genetic diversity in wild and cultivated black raspberry (*Rubus occidentalis* L.) evaluated by simple sequence repeat markers[J]. Genetics Resources and Crop Evolution, 2012, 59(8):1849-1865.