

培养环境对枣组培微嫁接的影响

秦子禹^{1,2}, 刘孟军^{1*}, 王娜^{1,3}, 赵锦⁴, 苗利军¹ (1. 河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; 2. 河北科技师范学院生命科学系, 河北昌黎 066600; 3. 河北科技师范学院园艺园林系, 河北昌黎 066600; 4. 河北农业大学生命科学学院, 河北保定 071001)

摘要 [目的]建立一套高效的枣组培微嫁接体系。[方法]以感染枣疯病的婆枣组培苗(以下简称染病苗)为砧木,以冬枣组培苗茎段为接穗,研究若干环境因子对枣组培微嫁接成活率的影响。[结果]将枣组培微嫁接苗置于蔗糖浓度为 50 g/L MS 无激素培养基中的成活率较高。适宜的培养基 pH 值为 6。采用不同封口材料控制培养瓶内湿度的研究表明,棉塞和单层封口膜封口可保持瓶内湿度,并有利于微嫁接苗的成活。微嫁接苗在 28 ℃ 进行培养较为适宜。在适宜条件下枣组培微嫁接的成活率最高,达 33.3%。[结论]培养基蔗糖浓度、pH 值、培养温度和湿度均会影响枣微嫁接苗成活率。

关键词 枣; 组培微嫁接; 培养环境

中图分类号 S655.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)20-08480-02

Influence of Culture Environment on *in vitro* Micrografting of *Ziziphus jujuba* Mill.

QIN Zi-yu et al (College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

Abstract [Objective] The study aimed to establish a efficient system of micrografting techniques of *Ziziphus jujuba* Mill. [Method] Using Pozao plantlets infected by witches broom disease as rootstocks and Dongzao plantlets as scions, the influences of culture environment on the micrografting of *Ziziphus jujuba* Mill were studied. [Result] The higher survival rate was obtained with the optimum culture medium: MS medium with 50 g/L sugar without plant growth regulations. The optimum pH of medium was 6. Meanwhile, culture bottles sealed with cotton plug and single closure could keep humidity of the inner bottles and was benefit for micrografting. The optimum culture temperature was 28 ℃. At above condition, the highest survival rate of micrografting jujube was 33.3%. [Conclusion] The sugar concentration, pH of medium, temperature and humidity all could affect the survival rate of micrografting.

Key words *Ziziphus jujuba* Mill.; *in vitro* micrografting; Culture environment

组培微嫁接是一种在组培条件下将砧木与接穗进行嫁接的技术,是组培快繁与嫁接技术的结合^[1]。微嫁接已被广泛应用于快速检测植物病毒^[2-4]、繁殖保存珍贵育种材料、脱除植物病毒^[5-7]等方面。此外,微嫁接还可以应用于追踪观察嫁接不亲和现象,对果树同属不同种的嫁接亲和性进行早期鉴定^[8]。经典的果树微芽嫁接技术自 Murashige 等创立以来,已被广泛应用于柑桔(*Citrus*)、桃(*Prunus perica*)、杏(*P. armeniaca*)、樱桃(*P. avium*)、李(*P. salicina*)、苹果(*Malus*)等果树的研究与生产中。至今,枣组培微嫁接研究尚未见报道。该研究以感染枣疯病的婆枣组培苗为砧木,以冬枣组培苗茎段为接穗,对影响枣组培微嫁接的若干因素进行了研究,旨在建立一套高效的枣组培微嫁接体系,为加快枣疯病抗病品种筛选等工作提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料 试验材料取自河北农业大学中国枣研究中心干果种质资源与分子辅助育种实验室。

1.2 方法 在无菌条件下,切取染病苗茎段为砧木,长约 2 cm,并将砧木顶端削成楔形;切取含有 2~3 个节位的冬枣组培苗茎段为接穗,并从基部纵切,长 5~7 mm。将砧木插入接穗中,用无菌锡箔纸将接口部位绑紧,然后将嫁接好的试管苗插入无激素的 MS 处理培养基中进行培养。培养基蔗糖浓度设 10、30、50、70 g/L 4 个处理,以无蔗糖培养基为对照;培养基 pH 值设 6、7、8、9 4 个处理;培养温度设 24、28、33 ℃ 3 个处理;通过加盖不同封口材料控制培养瓶内湿度,设棉塞+牛皮纸盖(湿度较小)、棉塞+单层封口膜(湿度中等)、棉塞+双层封口膜(湿度较大)3 个处理。每个处理均嫁接 30

株,重复 3 次,40 d 后调查嫁接成活率、嫁接苗的生长动态。

嫁接成活率(%) = 成活株数/嫁接株数 × 100% (1)

2 结果与分析

2.1 培养基蔗糖浓度对枣微嫁接成活的影响 从表 1 可以看出,培养条件为培养基 MS + 琼脂 3.5 g/L, pH 值 6,培养温度 25 ℃ 时,随着培养基中蔗糖浓度的增加,嫁接成活率明显增加。当蔗糖浓度为 50 g/L 时,微嫁接成活率最高,达 26.7%;但蔗糖浓度达 70 g/L 时成活率降为 0,且砧木不同程度地出现干枯黄化现象,接穗或从砧木上脱落或在砧木上黄化干枯,接口均不能愈合。这可能是由于培养基中蔗糖浓度较低,不能满足砧木的营养需求,进而影响嫁接接口的愈合;随着蔗糖浓度的增加,砧木的营养状况得到改善,促进了嫁接接口的愈合,提高了嫁接的成活率;但蔗糖浓度过大时,培养基的高渗透势影响了砧木对营养的吸收,进而影响了嫁接接口的愈合,使嫁接成活率下降。研究表明,枣组培微嫁接时以 50 g/L 的蔗糖浓度为宜。因此,在以下试验,培养基均采用 50 g/L 的蔗糖浓度。

2.2 培养基 pH 值对枣微嫁接成活的影响 从表 2 可以看出,随着培养基 pH 值的增大,嫁接成活率明显下降。当 pH 值为 6 时,嫁接成活率最高,达 26.7%;但 pH 值升为 9.0 时,嫁接苗只成活 1 株,且 60 d 后叶片变黄脱落死亡。这是由于 pH 值过高,不利于砧木的生长,砧木逐渐枯死,致使嫁接失败;而当 pH 值小于 6.0 时,培养基不能固化,嫁接苗得不到支撑,亦难以成活。因此,枣组培微嫁接时培养基 pH 值以 6.0 为宜。在以下试验中,培养基 pH 值均调整到 6.0。

2.3 培养温度对枣微嫁接成活的影响 从表 3 可以看出,当温度为 28 ℃ 时,微嫁接的成活率最高,达 33.3%,且玻璃化现象较轻;当温度为 24 ℃ 时,虽然没有玻璃化现象的出现,但成活率较低,仅为 23.3%;当温度为 33 ℃ 时,玻璃化现象最严重,玻璃化率达 50.0%,砧木接穗茎叶均呈半透明水

基金项目 国家科技攻关项目(2001-BA502B09-04);河北省科技攻关项目(04220111D)。

作者简介 秦子禹(1978-),男,河北成安人,硕士,助教,从事遗传育种方面的研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-05-07

浸状,失去利用价值。为此,28℃对枣微嫁接成活最有利。在以下试验中,培养温度均为28℃。

表1 培养基蔗糖浓度对枣微嫁接成活的影响

Table 1 Effects of sugar concentration in culture medium on survival rate of micrograft plantlets

蔗糖浓度//g/L Sugar concentration	嫁接株数 Number of grafted plant	成活株数 Number of survived plant	成活率//% Survival rate
0	30	2	6.7 d
10	30	3	10.0 cd
30	30	5	16.7 bc
50	30	8	26.7 a
70	30	0	0 e

注:同列不同字母表示邓肯氏新复极差检验在0.05水平上呈显著差异。下同。

Note: Different letters within one column showed significance at 0.05 level by Duncan's multiple range test. The same as follows.

表2 培养基pH值对枣微嫁接成活的影响

Table 2 Effects of pH value of culture medium on survival rate of micrograft plantlets

pH值 pH value	嫁接株数 Number of grafted plant	成活株数 Number of survived plant	成活率//% Survival rate
6	30	8	26.7 a
7	30	4	13.3 b
8	30	2	6.7 c
9	30	1	3.3 c

表3 培养温度对枣微嫁接成活的影响

Table 3 Effects of culture temperature on survival rate of micrograft plantlets

温度//℃ Temperature	嫁接株数 Number of grafted plant	成活株数 Number of survived plant	成活率//% Survival rate	玻璃化株数 Number of vitrifi cation	玻璃化率 %
24	30	7	23.3 b	0	0 c
28	30	10	33.3 a	1	10 b
33	30	10	33.3 a	5	50 a

2.4 培养湿度对枣微嫁接成活的影响 由于湿度对接口愈合起着关键作用,所以该试验通过采用不同的封口材料对培养瓶内湿度进行调控。从表4可以看出,随着湿度的增加,嫁接成活率也增加。当用牛皮纸封口时,微嫁接的成活率仅为16.7%;当用单层封口膜封口时,微嫁接成活率为33.3%;当用双层封口膜封口时,嫁接成活率最高,为40.0%,但此时出现玻璃化现象,且玻璃化高达50.0%,整个植株由下至上呈水渍状,砧木玻璃化程度最为严重。因此,以单层封口膜控制接种瓶内的湿度,对枣微嫁接最为合适。

3 结论与讨论

研究表明,将枣组培微嫁接苗置于蔗糖浓度为50 g/L、pH值为6.0的MS无激素培养基中,用棉塞加单层封口膜封

口保湿,在28℃环境下进行培养,微嫁接成活率最高,达33.3%。组培微嫁接不同于田间嫁接。田间嫁接由于砧木的营养由根系供应,养分供应充足,伤口愈合速度快。而在该试验中,作为砧木的组培苗茎纤细、柔软且无根系,其营养主要从培养基获得。适当的蔗糖浓度和pH值有利于砧木吸收营养,促进伤口愈合,有利于嫁接苗的成活。

表4 培养湿度对枣微嫁接成活的影响

Table 4 Effects of culture humidity on survival rate of micrograft plantlets

湿度处理 Humidity treatment	嫁接株数 Number of grafted plant	成活株数 Number of survived plant	成活率//% Survival rate	玻璃化株数 Number of vitrifi cation	玻璃化率 %
I	30	5	16.7 c	0	0 b
II	30	10	33.3 b	0	0 b
III	30	12	40.0 a	6	50 a

注:I 棉塞+牛皮纸盖;II 棉塞+单层封口膜;III 棉塞+双层封口膜。

Note: I cotton plug + kraft; II cotton plug + single closure; III cotton plug + double closure.

从嫁接接口湿度的调控方式来看,田间嫁接时通过使用材质较好的塑料条紧密绑缚就可以保持接口的湿度;而组培微嫁接是在组培条件下进行的,接口用锡箔支持,基本没有保湿的作用,其接口湿度与环境湿度一致。该试验通过使用不同的封口材料对培养瓶内的湿度进行调控,效果明显。田间嫁接时接口愈伤组织产生的适宜相对湿度为95%~100%。而在该试验中随着瓶内湿度的增加,嫁接的成活率并没有明显的增加。这可能是由组培材料木质化程度低、组织柔嫩,在高湿高温的环境中容易玻璃化造成的。

在组织培养条件下,影响微嫁接的因素还有很多,如激素种类、接穗及砧木状态、接口处理等。该文初步研究了培养基中蔗糖浓度、pH值、培养温度、培养湿度,今后还需对影响枣微嫁接的各种因素进行系统研究,以获得更高的微嫁接成活率,为枣的抗病育种与筛选工作奠定坚实基础。

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] EDNA T, SHIAMOVITZ N, SPIEGEL-ROY P. Rapidly diagnosing grapevine corkyhard by in vitro micrografting[J]. Hort Science,1993,28:667-668.
- [3] 程玉琴,韩振海,许雪峰,等. 小金海棠高效脱毒检测体系的探讨[J]. 园艺学报,2003,30(6):707-708.
- [4] 吴雅琴,章德明. 用离体微嫁接法快速检测苹果潜隐病毒[J]. 落叶果树,2001(2):4-6.
- [5] 宋瑞琳,吴如健,柯冲. 茎尖嫁接脱除柑桔主要病原的研究[J]. 植物病理学报,1999,29(3):275-279.
- [6] 马凤桐. 柑橘属茎尖嫁接脱毒的研究[J]. 植物学报,1989,31(7):565-568.
- [7] 蒋元晖,邱柱石,苏维芳,等. 利用茎尖嫁接脱毒培养无裂皮病的脐血橙[J]. 植物保护学报,1983(3):11-13.
- [8] 程玉琴,韩振海,许雪峰,等. 试管微嫁接早期鉴定小金海棠与苹果品种的亲和性[J]. 农业生物技术学报,2003,11(5):472-476.