

核桃砧穗生理状态对微枝嫁接成活的影响^{*}

裴 东 奚声珂 董凤祥

摘要 核桃微枝嫁接是以子苗为砧木,以无根试管苗为接穗进行无性繁殖的一项新技术。子苗及试管苗生理状态对嫁接成活影响很大。真叶展开之前子苗内源细胞分裂素、生长素、含水量、葡萄糖、果糖均处于较高水平,嫁接易于成活(成活率为90%);真叶展开后,上述生理指标急剧下降,随之嫁接成活率也降低(成活率由82.5%降至25%)。上述生理指标较高、生理活性较强的试管苗有较高成活率(91.4%),而干瘦细长、老态、叶卷曲的试管苗上述生理指标低,嫁接难以成活(成活率37.1%)。

关键词 核桃 微枝嫁接 营养物质 内源激素

实现核桃(*Juglans regia* L.)良种化是生产上亟待解决的问题。然而常规嫁接不仅繁殖系数低,而且成活率极不稳定;加之核桃品种尤其是早实优良品种发育枝数量少,难以提供足够的优质接穗。80年代初核桃试管繁殖研究取得较大进展,但生根问题尚未解决^[1]。核桃微枝繁殖是以萌发不久的子苗为砧木,以无根试管苗为接穗,通过嫁接繁殖优良品种的一项技术。它越过了试管诱导生根的障碍,克服了核桃嫁接难愈合的困难,解决了接穗不足的问题,获得了稳定的和较高的嫁接成活率^[2],在生产上具有较大应用潜力。

核桃微枝嫁接成功与否除与环境条件有关外,与子苗和无根试管苗发育时期、内部生理状况密切相关,开展核桃砧穗生理状态与微枝嫁接成活关系的研究,有助于阐明核桃嫁接愈合机制和获得高而稳定的嫁接成活率。

1 材料和方法

1.1 材料

子苗(砧木)为山西汾阳龙眼核桃,无根试管苗(接穗)为中林5号品种。

1.2 方法

1.2.1 子苗培养和分期 将经过沙藏的核桃种子播种于沙床中,种子上覆沙厚度约10 cm,沙子的相对含水率为60%~80%,待子苗顶端伸出沙土后,依据子苗发育状态进行嫁接试验,同时取样进行生理指标分析,子苗发育状态分为 期:子苗出土7~10 d,茎处于迅速伸长期,无真叶; 期:子苗出土20 d,真叶开始出现; 期:子苗出土约30 d,真叶充分展开; 期:子苗出土60 d,苗茎半木质化。

1.2.2 无根试管苗培养及分类 无根试管苗培养和试管扩繁方法见文献[2]。依据试管苗外观特征,将其分为3类, 类:健壮、粗短、苗高1.5~2.5 cm、基径大于4 mm,叶片发育正常;

1997—08—22 收稿。

裴东助理研究员,奚声珂,董凤祥(中国林业科学研究院林业研究所 北京 100091)。

* 本文为1992~1997年林业部重点攻关课题“核桃抗性育种及微繁技术的研究”部分内容。

类:健壮,粗长,苗高 2.5 cm 以上,基径大于 4 mm,叶片发育正常; 类:细长,苗高 2.5 cm 以上,基径小于 4 mm,叶片卷曲,老态。取上述三类无根试管苗进行嫁接和生理指标分析。

1.2.3 嫁接和生理指标测定方法 首先把子苗栽入含营养土的纸杯中,然后采用劈接法嫁接,接口距子苗根颈部约 4~5 cm。嫁接完成后接口用塑料夹或封口膜固定,将接后子苗外套一塑料袋保湿,并将纸杯置于干燥、光照充足、温度 25~28 的条件下,嫁接后 30 d 调查成活率。

用烘干称重法测定含水率;葡萄糖、果糖、生长素(IAA)、细胞分裂素和脱落酸(ABA)采用高效液相色谱分析,细胞分裂素采用高效气相色谱法,样品至少为 30 株,充分混匀后进行分析。子苗分为根颈以下根系和接口至根颈的 4~5 cm 茎段。

2 结果和讨论

2.1 砧穗含水率与嫁接成活的关系

子苗和试管苗与常规嫁接的砧木和接穗相比最显著的特点之一是:组织幼嫩、含水率高。取 I 类无根试管苗与不同发育时期的子苗嫁接,结果见表 1。取不同类别的无根试管苗与 I 期子苗嫁接结果见表 2。

表 1 砧木(子苗)含水率与嫁接成活的关系

子苗发育分期	含水率 (%)	嫁接株数 (株)	成活率 (%)
I(子苗出土 7~10 d)	86.3	40	90.0
(子苗出土 20 d)	72.6	40	82.5
(子苗出土 30 d)	68.3	40	42.5
(子苗出土 60 d)	66.0	40	25.0

表 2 接穗(无根试管苗)含水率与嫁接成活的关系

无根试管苗类别	含水率 (%)	嫁接株数 (株)	成活率 (%)
I(苗高 1.5~2.5 cm 基茎 > 4 mm)	89.0	35	91.4
(苗高 > 2.5 cm 基茎 > 4 mm)	88.8	32	84.4
(苗高 > 2.5 cm 基茎 < 4 mm)	86.1	35	37.1

从表 1、2 可以看出,砧木幼嫩是获得较高成活率的条件, I 期子苗生长极为活跃,其组织含水率较高,为 72.6%~86.3%,嫁接成活率均在 80% 以上。 II 期子苗茎部含水量显著降低为 66.0%~68.3%,与 I 期子苗含水率差异极显著。嫁接成活率大幅度下降。不同类型无根试管苗其含水率也与嫁接成活有关, I 类试管苗含水率为 89.0% 和 88.9%,与 II 类试管苗含水率 86.1% 差异显著,前二者嫁接成活率(91.4%、84.4%)与后者(37.1%)差异极显著。

组织含水量高低不仅表明组织幼嫩程度,而且还反映了组织活跃的生长能力,而后者对于嫁接成活是至关重要的。另外在嫁接愈合过程中,输导组织连接前,砧穗尤其是接穗保持适宜的湿度和旺盛的细胞分裂状态,对接口愈合和输导组织形成是不可缺少的^[3]。

2.2 砧穗内源细胞分裂素水平与嫁接成活的关系

图 1、2 显示,核桃种子从萌发生长至真叶展开其茎部细胞分裂素水平呈明显下降趋势,真叶完全展开,其水平较低,并逐渐稳定。子苗嫁接结果表明,真叶完全展开前,有较高嫁接成活率,为 90.0% 和 82.5%,而真叶完全展开后,嫁接难以成活,成活率为 25%~42.5%。幼嫩和发育正常的试管苗有较高的细胞分裂素水平,为 547 ng/g DW 和 478 ng/g DW,以其为接穗嫁接成活率也较高,为 91.4% 和 84.4%。培养时间过长,外观老态的 II 类试管苗,其内源细胞分

裂素水平较低, 为 317 ng/gDW , 嫁接成活率仅为 37.1% 。综上所述, 无论是子苗或是试管苗, 内源细胞分裂素水平与嫁接成活密切相关。

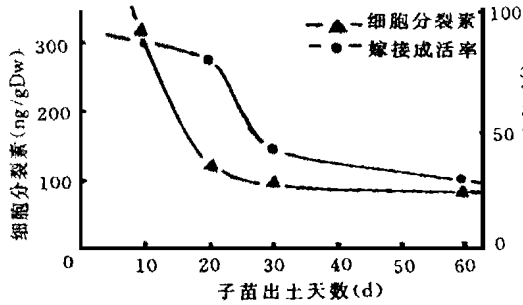


图1 子苗细胞分裂素水平与嫁接成活率的关系

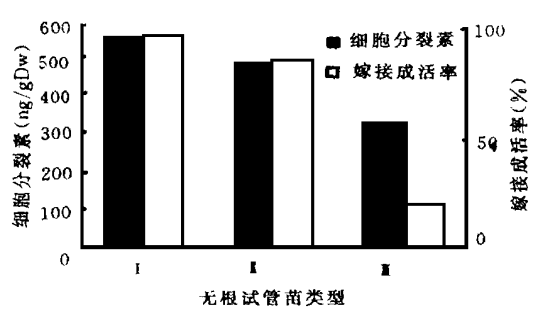


图2 无根试管苗细胞分裂素水平与嫁接成活率的关系

通常认为根系是细胞分裂素合成的主要场所, 核桃种子萌发过程中下胚轴首先伸长并进行活跃根系发育和生长, 根系的活跃生长为胚芽的生长提供了大量细胞分裂素。胚芽依靠种子内贮藏营养进行迅速的细胞分裂和伸长, 直到真叶展开。真叶展开后, 子苗开始光合作用, 根系和地上部生长明显降低, 子苗发育由依靠贮藏物质转变为依靠合成的光合产物, 试验表明这一代谢的改变与嫁接成功与否有密切关系。而其中细胞分裂素水平改变是众多生理因素中的重要因素。

细胞分裂素可以促进细胞分裂和扩大, 并在器官分化中起主要作用。嫁接愈合过程是接穗和砧木形成一层细胞原生质体的融合过程。而细胞分裂素与细胞融合及融合后细胞分化密切相关^[3], 细胞分裂素的供应减少与嫁接不亲和有关^[4]。

2.3 砧穗内源生长素水平与嫁接成活的关系

图3表明子苗茎部内源IAA水平在真叶展开前后急剧下降, 由 108.5 ng/gDW 降至 69.9 ng/gDW , 其嫁接成活率也由 82.5% 降至 25% 。

图4表明生长活跃而正常的 I、II 类试管苗具有较高的 IAA 水平和嫁接成活率, 而生长缓慢、色黄、干瘦的 III 类试管苗其内源生长素水平较低, 嫁接成活率也低。一般认为, 生长素以束缚状态存在于种子中, 种子在萌发过程中生长素由束缚态变为游离型, 并运输至各器官行使功能。试验结果表明, 子苗茎部和无根试管苗高生长素水平均与嫁接亲合呈正相关。

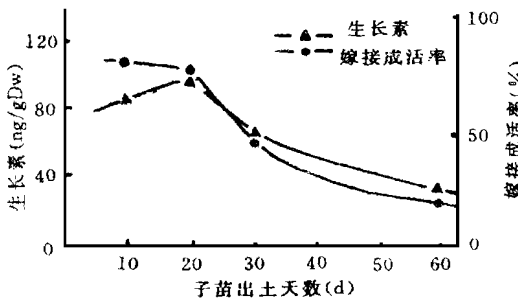


图3 子苗生长素水平与嫁接成活率的关系

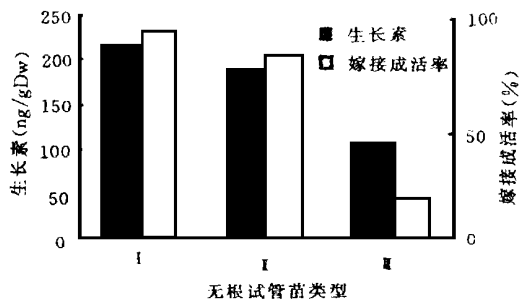


图4 无根试管苗生长素水平与嫁接成活率的关系

2.4 砧穗中葡萄糖+果糖含量与嫁接成活的关系

子苗出土至真叶展开前后,茎中葡萄糖+果糖含量呈明显下降趋势,展叶后下降趋势减缓。~期的含量分别为:224、113、78、67 g/kg,这一趋势反映了子苗萌发生长由前期依靠贮藏营养,至后期依靠叶片合成营养的变化过程。类无根试管苗葡萄糖+果糖的含量57 g/kg显著低于(79 g/kg)、(83 g/kg)类无根试管苗。、期子苗与、类无根试管苗嫁接,成活率都在80%以上,这与其营养物质含量较高有一定关系。

2.5 砧穗中 IAA/ABA 比值与嫁接成活的关系

从子苗萌发至真叶展开,其地上部和地下部内源 IAA、ABA 都表现出下降的总趋势(表3)。真叶完全展开后 IAA、ABA 处于较低而且稳定状态。从砧木地上部和地下部 IAA/ABA 值不难发现:地上部与地下部 IAA/ABA 值相近或大于地下部,嫁接成活率高;而当地上部比值比地下部大 1.4 时,嫁接难以成活。砧木地上、地下及试管苗间 IAA/ABA 值相近时成活率高,即、期子苗与、类无根试管苗嫁接成活率高。从试验结果也可以看出,砧木、期子苗的地上部和类无根试管苗的 IAA/ABA 值较高。这与前人研究相矛盾,一般认为 IAA 和 ABA 及其二者间平衡是细胞分裂分化、愈伤组织和输导组织形成的启动者和调节者^{3,6)},但本试验结果表明:砧木和试管苗中 IAA/ABA 值是 与嫁接成活呈反相关,这一结果可能与子苗前期萌发生长靠贮藏物质而不是合成物质有关。

表3 砧穗中 IAA、ABA 与 IAA/ABA 值

(单位: ng/gDW)

激素水平 及比值	子 苗								无根试管苗		
	地 上 部			地 下 部					类	类	类
	期	期	期	期	期	期	期	期			
IAA	88.1	108.5	69.9	71.2	105.5	64.4	54.3	49.2	278.4	240.1	211.5
ABA	29.6	21.0	12.0	11.9	32.0	10.9	13.3	12.1	82.3	71.6	42.3
IAA/ABA	3.0	5.2	5.7	6.0	3.3	5.9	4.1	4.1	3.4	3.3	5.1

3 小 结

子苗及无根试管苗的生理状态与嫁接成活密切相关,子苗在展叶前后内部生理代谢发生明显改变。展叶前具有较高的细胞分裂素和生长素水平,组织含水率高,果糖和葡萄糖含量也高,生长极为活跃,因而此期进行嫁接,接口易愈合,成活率高;展叶后,上述生理指标急剧下降,子苗生理活性降低,嫁接难以愈合,成活率低。以上述生理指标均较高的、类无根试管苗为接穗,可获得较高的嫁接成活率,类无根试管苗生理指标低,嫁接难以愈合成活。

参 考 文 献

- 1 郝荣庭,张毅萍主编.中国果树志.核桃卷.北京:中国林业出版社,1996.
- 2 奚声珂,杨彬.核桃微枝嫁接技术的研究.林业科学研究,1992,5(5):531~535.
- 3 Doley D. Effects of growth regulating substances and water potential on the development of wound callus in *Fraxinus*. *New Phyto.*, 1970, 1: 69.
- 4 Pandey K K. Genetic transformation and "graft-hybridization" in flowering plants. *Theor. Appl. Genet.*, 1976, 47: 299~302.
- 5 Andrus P K. Graft incompatibility. *Hort. Rev.*, 1993, 15: 183.
- 6 Xi Rongting, Ding Pinhai. A study on the uniting process of walnut grafting and factors affecting. *Acta Horticulturae*, 1993, 3(11): 160~166.

Studies on Some Scion-rootstock Physiological Indexes Related to Micrografting Survival of Walnut

Pei Dong Xi Shengke Dong Fengxiang

Abstract Walnut microshoot grafting is a new technique using juvenile seedlings as rootstocks and shoots in vitro as scions to propagate walnut cultivars. Some tests were carried out to focus on the relation between scion-rootstock physiological states and grafting survival. Results were that during the first main leaf expanding, there was a significant change of the physiological metabolism in rootstock seedlings, which was closely related to the grafting survival. Before the leaf was fully expanded, the level of cytokinin, auxin, water content, glucose and levulose in rootstock was higher, the grafting uniting can easily be achieved and the survival rate was more than 80.8%. After the leaf expansion, the physiological indexes went down and the grafting uniting became more and more difficult. The physiological state on shoots in vitro and their grafting also demonstrated that the tender, fast growing and strong shoots showed higher levels of the physiological indexes, and their grafting survival rate was higher, whereas the old, thin and longer shoots with twisted leaves showed lower levels of the indexes, and their grafting was difficult.

Key words walnut microshoot grafting cytokinin auxin glucose levulose

Pei Dong, Assistant Professor, Xi Shengke, Dong Fengxiang (The Research Institute of Forestry, CAF Beijing 100091).