

提高柑桔茎尖微型嫁接成苗率研究

陈如珠 李耿光 张兰英 李开莲

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

摘要 砧木枳壳、酸桔、福桔、酸橙、柠檬在不同天龄与接穗“红江橙”进行嫁接试验。结果表明, 他们最适于嫁接的时间分别为14、16、23—25、16、19天; 接穗为三叶原基时, 相应最高成苗率为75.0%、76.5%、50.0%、57.1%、66.7%。接穗是四叶原基时, 成苗率可达100%。还试验了一些技术措施如嫁接技术、方式, 接穗、砧木管理等与嫁接成苗率的关系。嫁接试管苗经自来水浸泡一天, 100 ppm 蔡乙酸处理一小时, 移植于新土:珍珠岩(7:3)的混合土中, 在适宜的温度下, 成活率达80~90%以上。

关键词 柑桔; 茎尖嫁接; 成苗率

柑桔病毒病随着栽培面积的不断扩大和检疫制度不完善, 流行越来越广。黄龙病等危害极大, 有的种植区甚至趋于被毁灭。因此消除黄龙病等病毒病, 已是当前急待解决的问题之一。热处理、茎尖培养、茎尖微型嫁接、珠心苗培养等都能获得无病毒植株, 但有一些技术不够完善, 有一些出现童期现象等。采用茎尖微型嫁接培养无毒苗的技术研究始于1972年^[5], 接着Navarro等^[6]对无病毒苗的获得和鉴定技术作进一步的完善。我国李耿光等^[1]首先报道了甜橙、椪柑、蕉柑的茎尖嫁接研究, 后来蒋元晖等^[2]获得脱毒脐血橙植株, 赵学源等^[3]还用这一技术鉴定我国栽培品种的裂皮病。前人的结果表明, 茎尖嫁接不但能脱毒, 而且能克服童期现象。现在, 美国、西班牙、意大利等国已应用于生产。为使这一技术尽快在我国推广, 我们在提高嫁接成苗和移植成活率, 以及适用不同地区的砧木方面, 做了一些生产应用性试验。

材料与方 法

1、砧木种子的消毒和培养

供试砧木有枳壳(*Poncirus trifoliata*)、酸桔(*Citrus reticulata* Blanco.)、福桔(*C. reticulata* Blanco.)、酸橙(*C. aurantium* L.)、柠檬(*C. limon* (L.) Burm. f.)等。从成熟的果中取出种子并冲洗干净后, 用小块纱布包住放于55.5—56℃温水中热处理30分钟, 旨在保证砧木不带毒。在无菌条件下用0.1% HgCl_2 浸泡10—15分钟, 无菌水冲洗干净, 剥去种皮接种于不含任何激素的MS培养基上。黑暗条件下发芽, 温度 $27 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

2、接穗处理

试验以优良品种“红江橙”作接穗。选择健壮的刚抽出2—3 cm 长的新梢, 去除较大的叶片, 滤纸吸干后用0.1% HgCl_2 消毒5—10分钟, 备用。

3、微型嫁接及培养

采用李耿光等^[1]方法嫁接。接穗大小为2—3个叶原基(约0.18 mm长), 嫁接后小心插入用滤纸作支持物的MS液体培养基中, 蔗糖浓度7.5%, pH5.8。在光强2000勒克斯, 光照12—14小时, 温度 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 条件下培养, 一周后及时去除砧木不定芽。待嫁接小苗长出2

—3片叶后,转移于大号试管中,这时培养基蔗糖浓度改为2—3%。

4、嫁接试管苗移栽

移植前将试管苗置于室内自然光下锻炼一周。取出苗充分洗干净并在清水中泡一天,再用100 ppm的萘乙酸浸根1小时。栽植于消毒

土壤(或新土)与珍珠岩混合土中,种植后用薄膜套罩保湿,置于室内散射光下,待小苗长出1—2片新叶后,移入隔虫网室按常规育苗管理。

表1 不同砧木与红江橙嫁接成苗的关系

砧木	最佳嫁接苗龄(天)	嫁接株数(株)	成苗株数(株)	成苗率(%)
枳壳	14	45	26	57.8
酸桔	26	17	13	74.7
福桔	23—25	29	14	48.3
柠檬	19	15	10	66.7
酸橙	16	26	12	46.2

结果与讨论

一、不同砧木与嫁接成苗率的关系

在华南柑桔产区,有水田种植、坡地、丘陵地种植等,气候条件亦有干旱、多雨等。不同产区要求相应的适于生长的砧木类型。茎尖微型嫁接脱毒也应该选择不同的砧木作嫁接材料。为此,我们采用了五种典型的常用砧木,试验它们的成苗率和红江橙嫁接的亲性和,如表1所列结果。从中得出,上述五种砧木都表现能与接穗亲和,且有生产的实用意义。其中,酸桔、柠檬作砧木的成苗率要比枳壳、酸橙、福桔高。我们还观察到,砧木不定芽的萌发以酸橙、酸桔、福桔较早,约9—10天;柠檬、枳壳约12—14天左右。砧木不定芽萌发与嫁接成苗率无明显关系,嫁接芽的萌发与砧木强弱有关,强壮的砧木萌发早。这一结果为茎尖微型嫁接脱毒苗推广于不同类型产区提供依据。

二、提高茎尖嫁接成苗率

柑桔茎尖嫁接培养无病毒苗这一技术要应用于生产实践,提高成苗率是主要的环节。而这一环节除砧木与接穗的亲性和外,与砧木的生长时间及生长状况有密切的关系。由于不同种类砧木的发芽、生长速度不同,从播种到适于嫁接(上胚轴长2.0 cm以上)的时间有差异。因此,对各种砧木进行不同天龄嫁接试验,结果列于表2。表中数据是按照我们的培养条件从三次重复试验所得的结果。从中看出,不同砧木有各自最适嫁接时间:枳壳14天,酸桔26天,福桔23—25天,柠檬19天,酸橙16天,在它们的最适嫁接时间内,成苗率高的如酸桔可达76.5%、枳壳为75.0%,较低者为福桔50%。若不在此期间内,成苗率明显降低,甚至为零。以上结果与我们以前(李耿光等^[1])的基本一致,再次证明掌握砧木的最适嫁接时间进行嫁接是提高嫁接成活率的关键环节。

另外,我们以酸桔作砧木,试验不同茎尖大小的嫁接,结果是:只含一个叶原基的全部接穗不能接活;含有二个叶原基的接穗,成活率极低,在12—19.2%范围内;而三个叶原基的,成活率则达76.5%;四个叶原基的,达100%。根据Navarro等^[6]的研究证实,只有小于0.18mm长度(约三叶原基)的茎尖,是不带病毒的。虽然四个叶原基的成活率高,但不能脱毒。因此,在寻求提高成苗率的同时,必须考虑嫁接苗是否完全脱毒,此技术才能真正地应用于生产上。

要提高嫁接成苗率,除上述因素及我们以前研究的控制某些实验条件(如蔗糖浓度,砧

表2 不同时间的砧木与红江橙嫁接的成苗率

枳 壳		酸 桔		福 桔		酸 橙		柠 檬	
苗龄 (天)	成苗率 (%)	苗龄 (天)	成苗率 (%)	苗龄 (天)	成苗率 (%)	苗龄 (天)	成苗率 (%)	苗龄 (天)	成苗率 (%)
12	25.0	15	33.3	21	30.0	12	0.0	15	41.7
14	75.0	17	40.0	23	46.0	14	41.7	17	20.0
16	48.0	18	30.0	25	50.0	15	42.9	19	66.7
17	44.4	20	47.5	26	20.0	16	57.1	22	22.2
18	20.0	21	28.6			18	0.0	28	10.0
19	0.0	22	21.4						
		26	76.5						
		30	45.0						

红江橙接穗为三个叶原基。

木的光照, 接穗激素处理和培养条件等)外, 根据我们实验室多年的工作体会, 还需具有熟练的嫁接技术, 采用“倒T”式嫁接, 接穗是抽出2—2.5 cm长的梢, 及时去除砧木不定芽等。

三、提高嫁接苗移栽成活率

柑桔嫁接试管苗移植的成活率与移植前处理, 移植的时间和条件密切相关, 我们试验了下面几个因子。

1. 移植前处理: 当嫁接苗在试管内具有3—4片真叶并长出幼嫩根系, 生长旺盛时, 将试管从恒温培养室中移至常温室自然光条件下锻炼一周以上, 然后将小苗从试管中取出, 自来水冲洗后再放于盛有自来水的烧杯中一天。经过这样处理后, 临植前再用100 ppm萘乙酸泡1小时, 小苗的成活率比从试管取出冲洗后立即栽植的提高将近一倍。移植后一个月检查, 前者平均成活率83.3%, 后者44.4%。主要原因可能是: 小苗从高渗透压培养条件下取出, 从异养转入自养, 同时叶片气孔处于开放状态, 失去正常调节功能, 极易失水萎蔫^[4], 需要有一个生理适应过程。此外观察到, 后者死亡主要从根颈腐烂开始。

2. 土壤及培养条件: 试验土壤为消毒栽培土或新土与珍珠岩配比。结果是: 70%的土和30%珍珠岩的配比最佳, 成活率达93.3% (30株统计)。不经消毒的栽培土+珍珠岩 (7:3), 移栽苗大部分死亡。小苗定植后, 应用渗透法浇水, 切忌在新叶抽出前浇营养液 (Hoagland溶液), 否则会引起小苗大量死亡及霉菌滋生。但是, 当嫁接苗新叶抽出后, 用适量的营养液浇洒, 则能加速小苗生长。

3. 温湿度条件: 刚定植时, 为了保湿, 移植盆均应套上塑料薄膜罩, 经过一周后, 视小苗生长良好, 半揭开薄膜, 新叶抽出后完全揭开; 如薄膜覆盖太久, 会因通气条件不好或湿度过大而引起小苗死亡。在温差不大 (22—30℃), 空气湿度较大 (85%以上) 的季节, 试用恒温培养室与室温移植, 结果无多大差异。

只要注意以上几点, 嫁接试管苗成活率一般可达80—90%。

参 考 文 献

- [1] 李耿光等, 1978: 柑桔茎尖培养的初步研究. 植物生理学报, 4 (2): 189—195.
- [2] 蒋元晖等, 1983: 利用茎尖嫁接脱毒培养无裂皮病的脐血橙. 植物保护学报, 10 (3): 166.
- [3] 赵学源等, 1986: 我国柑桔栽培品种的裂皮病鉴定和脱除. 园艺学报, 13 (2): 91—94.
- [4] 李文安, 1988: 我国利用离体组织培养进行快速繁殖的研究简况. 植物生理学通讯, 1988 (1): 69—71.
- [5] Murashige, T., et al., 1972: A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clones. Hortiscience, 7: 118—119.
- [6] Navarro, L., et al., 1975: Improvement of shoot-tip grafting in vitro for virus-free citrus. J. Amer. Soc. Hort. Sci., 100 (5): 471—479.

HIGH FREQUENCY OF SUCCESSFUL GRAFTS OBTAINED BY SHOOT-TIP GRAFTING IN CITRUS IN VITRO

Chen Ruzhu, Li Gengguang, Zhang Lanying and Li Kailian
(South China Institute of Botany, Academia Sinica, Guangzhou 510650)

Abstract The rootstocks *Poncirus trifoliata*, 'Suanju' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco), 'Fuju' mandarin (*C. reticulata* Blanco), Sour orange (*C. aurantium* L.), lemon (*C. limon* (L.) Burm. f.) grafted with shoot-tip scion 'Hongjiang' orange (*C. sinensis* Osb.) in different ages of rootstock seedling incubated in dark. The suitable age of rootstock was 14, 26, 23–25, 16, 19 days, and a frequency of successful grafts was 75%, 76.5%, 50%, 57.1%, 66.7% respectively (scion of three-leaf-primordium shoot-tip was used). Additionally, 100% successful grafts was obtained by using fourleaf-primordium shoot-tip. When the grafts were transplanted into a pot containing aseptic soil and perlite (7:3), a successful rate of 80–90% was gotten in the controlling conditions.

Key words *Citrus*: Shoot-tip grafting; Frequency of successful grafts