

## 插皮接技术在棉花再生植株嫁接中的应用

吴慎杰, 李飞飞, 张天真\*

(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 南京 210095)

**摘要:**首次将插皮接技术用于棉花再生植株的嫁接,详细介绍了它的操作过程和实用技巧,该法要求简单,操作方便,成活率高;成活后砧芽枝摘心留叶有利于接穗良好生长发育。在砧木适合的嫁接时期、成活率和生长速率等方面与劈接法作了比较。结果表明:插皮接对砧木和接穗粗细比例无严格要求,从而延长了砧木可使用的时期,砧木生长过程中适合劈接的时间有一周左右(3~5片真叶),而在此以后的较长时间内均适合于插皮接(4~5片真叶直到开花期);由于形成层吻合好,使用的砧木较大,有较发达的根系,在高成活率的前提下相对缩短了再生植株成活的时间。再生植株嫁接前不练苗,在嫁接后采取新的保湿和透气策略,使练苗和嫁接同期进行,有效缩短了再生植株缓苗时间。

**关键词:**嫁接;棉花;再生植株

**中图分类号:**S562.034      **文献标识码:**A

**文章编号:**1002-7807(2006)06-0347-05

## Application of Bark Grafting Method on Grafting of Regeneration Cotton

WU Shen-jie, LI Fei-fei, ZHANG Tian-zhen\*

(National Key Laboratory of Crop Genetics & Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Bark grafting method is applied in grafting of regeneration cotton for the first time, and its manipulation processes and skills are also introduced in detail. The advantages of bark grafting lie in its simpleness, easy operation, and the high survival rate of regeneration plants. Leaf remaining and tip pruning of stocks is propitious to the well growth of cions of live regeneration plant. In the experiment, Hai 7124 (*Gossypium barbadense* L.) with strong root system and highly resistance to disease was selected as stocks, and regeneration plant of Coker 312 was used as cions. The growth stage of stocks, survival rate and growth rate of bark grafting were compared with those of cut grafting. The results indicated that the method of cut grafting had strict demand for growth stage of stocks or the proportion of diameter between stocks and cions. As to cut grafting, the growth period of 35~40 days stocks (i. e. stocks with 3~5 leaves) was the best suitable period of grafting. The survival rate of regeneration cotton at this stage was higher than heretofore or after. In addition, the same size of diameter between stocks and cions was needed for cut grafting because it could make the cambiums be integrated completely. Bark grafting had no strict selection on the growth stage of stocks or the proportion of diameter between stocks and cions when compared with the method of cut grafting. The survival rate of grafting of regeneration cotton was about 90% using 35~66 days stocks (i. e. the growth stages of stocks from four or five euphylla to florescence) in bark grafting. So under the precondition with the same highest survival rate of regeneration cotton in bark grafting, the available time of stock was prolonged one month than in cut grafting. Under the condition of the same growth stage of stock

**收稿日期:**2006-03-28      **作者简介:**吴慎杰(1971-),男,博士研究生;\*通讯作者:cotton@njau.edu.cn

**基金项目:**国家重大基础研究发展规划项目(2002CB111301)

and the same grafting time, the survival rate might had significant difference between two grafting methods, whereas the growth rate of cions had no difference. It suggested that the growth rate of cions was significantly positively correlated with stock growth stage (35~66 days) ( $r=0.94$ ). Since the inosculation of cambium was tighter and stocks had the flourish roots in bark grafting, it relatively reduced the surviving time of regeneration plants under the precondition of remaining the high survival rate of regeneration plants. Since new strategies of keeping humidity and ventilating were adopted in grafting, in which grafting and shoot hardening were performed simultaneously, regeneration plants need not be hardened before grafting and the time for seedling revive could be effectively reduced. In this report, essentials of grafting, management after grafting, and practical manipulation skills of regeneration plants were also discussed. It came to the conclusion that the selection of optimal grafting strategy lied on the growth stage of stock. The 35~40 days stocks (i. e. stocks with 3~5 leaves) were fit for cut grafting while 35~66 days stocks (i. e. the growth stages of stocks from four or five euphylla to florescence) were fit for bark grafting. In general, bark grafting was better than cut grafting as a whole.

**Key words:** graft; cotton; regeneration plant

不同棉花品种组培再生植株的报道很多,且组培方法在转基因上应用也取得了极大的成功。再生小植株直接移栽到土或蛭石中,由于根系较弱而不易成活,成活率一般仅有20%左右,限制了棉花转基因技术的利用。若采用嫁接法可以很好地解决这个问题<sup>[1-3]</sup>,大大地加快了转基因棉花的育种速度<sup>[1]</sup>。采用劈接法有关文献已做了详细的报道<sup>[1-3]</sup>,虽然劈接法成活率较高,但对砧木的生育期、砧木和接穗粗细比例都有严格要求;只有砧木长出3~5片真叶时嫁接最适宜,同时要求砧木和接穗粗细一致,这样才能保证两边形成层吻合良好、便于接口愈合和维持高的成活率。本文介绍插皮接<sup>[4-5]</sup>,砧木从长出4~5片真叶直到开花期都用来进行插皮接,与劈接法相比对砧木和接穗粗细比例无严格要求,且成活率较高;另外探讨一些再生植株嫁接繁育的技巧。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

采用根系发达抗病性强的海岛棉(海7124)的实生苗做砧木,接穗是Coker312的再生植株。

### 1.2 方法

**1.2.1 插皮接。**砧木的准备:选择根系发达、抗逆性强的海岛棉或育成品种作为砧木,冬天在温室种植用于嫁接;夏天直接在室外种植,在遮阳网室嫁接。将海岛棉(海7124)的种子催芽,种在花盆中,待长出4~5片真叶以后,即可用作砧木。从每个花盆中选择一株生长健壮的植株,用手术

刀去掉植株顶部,保留1~2个叶芽节位,用左手轻扶植株,右手用手术刀在截面一侧纵向切一刀,深度刚好到皮层和中柱之间,长度1~1.5 cm,作为砧木(图1)。

**削接穗:**在超净台上将再生植株从上段切下,长3~5 cm作为接穗。留下有1~2个节位的根部继续插在培养基中生长,若嫁接不能成活,腋芽重新长成新的植株仍可再嫁接,这样就可以保证每个再生植株的成活。在接穗下端向下削一刀,削成长1.0~1.5 cm的长削面,在长削面背后削成0.1 cm左右的短削面,使整个接穗下部呈楔形,然后在楔形两侧轻轻各削一刀,去掉上面少许皮层,不要深到中柱,使之露出形成层即可。

**插接穗:**手术刀片垂直于砧木茎的周围,沿着砧木纵切的刀口向两侧轻轻挑开皮层,接穗沿着纵切的刀口,长削面贴紧砧木中柱,短削面贴着砧木皮层向下插入插牢,直至长削面不再外露于砧木截面,短削面没入砧木皮层,接穗插好。

**绑扎和保湿:**接穗插好后,用细塑料绳自下而上斜缠绕至接口再往下缠绕打结。用带盖的剪去瓶底的干净的透光性好的矿泉水瓶之类的塑料瓶将其罩住,然后浇上水,周缘盖土来密封以保湿。

**嫁接后的管理:**嫁接后3~4 d通气,即旋开瓶盖罩住瓶口2/3,以防接穗发霉,7 d去掉瓶盖,10~12 d揭瓶,15 d左右解绳成活(图1)。为了让其快速生长,成活后用霍格兰营养液浇一次。

**1.2.2 劈接。**参照文献1~3,砧木的准备、保湿和嫁接后的管理同插皮接。

**1.2.3 试验设计。**于2005年2月23日一次在温室(28~34℃)种植砧木350盆,于3月20日开始嫁接,每5d一次,到4月30日结束,嫁接后1个月统计成活率和接穗生长量(cm);对两种嫁接方法不同嫁接时间进行统计比较(差异显著水平 $\alpha=0.05$ )。

## 2 结果与讨论

### 2.1 结果

由表1分析得出,生长35~40d的砧木,是劈接法最佳时期,在此前和此后劈接的成活率显著降低。这是因为,25~30d这一时期许多在嫁接后15d左右看来已经成活的植株,到1个月调查时还会死亡,约占总死亡数的1/3,一般都是砧木和接穗全死,推测是由于砧木弱小提供给接穗的营养不足、抗性弱,成活的植株本身的光合能力

太差,不能提供根系生长所需的营养造成了恶性循环,最终导致死亡。到了45d,接穗和砧木相比直径太小,只能使一边的形成层对齐,两个形成层相吻合的概率减小,此时一般都是接穗死亡,整株死亡的情况很少见,45d及之后砧木更粗更老不适合劈接。砧木在25~30d时,不只是劈接法成活率低,由于还没有明显皮层和中柱的分化,也不能采用插皮接法。虽然插皮接在砧木生长35d时有较高的成活率(84.85%),与此时劈接的成活率(87.10%)相比较无显著差异,但是此时插皮接由于砧木皮层和中柱的分化刚刚开始而难度较大。和劈接法相比,插皮接利用35~66d苗龄的砧木均能保持90%左右的成活率,在和劈接最佳时期成活率无显著差异的前提下延长了砧木的使用时间一个多月,在1月18日种的砧木到4月仍可使用。

表1 嫁接成活率和生长速率统计

Table 1 Survival rate and growing rate of regeneration cotton plants by grafting

嫁接日期	砧木牛长时间/d	嫁接方法	嫁接数/株	成活数/株	成活率/%	接穗月牛生长量/cm
03-20	25	劈接	21	9	42.86	7.0±1.7
03-25	31	劈接	19	13	68.42	7.2±1.9
03-30	35	劈接	31	27	87.10	10.3±2.4
03-30	35	插皮接	33	28	84.85	10.5±2.9
04-04	40	劈接	30	27	90.00	12.7±3.1
04-04	40	插皮接	31	28	90.32	12.3±2.7
04-09	45	劈接	29	20	68.97	16.0±2.6
04-09	45	插皮接	32	28	87.50	16.4±3.0
04-14	50	劈接	30	19	63.33	18.1±3.9
04-14	50	插皮接	30	27	90.00	17.9±3.6
04-25	61	插皮接	30	26	86.67	19.0±4.5
04-30	66	插皮接	21	19	90.48	19.0±3.8

同一时期砧木和相同的嫁接时间,两种嫁接方法的成活率可能有显著差异,但接穗的生长速率无显著的差异;接穗的生长速率和砧木的大小(25~66d)呈显著正相关( $r=0.94$ )。不过就比较分析结果看,61~66d苗龄砧木嫁接的接穗生长速率差异不显著,可以预测砧木大到一定程度生长速率不会再有所提高还可能有所下降,原因是虽然大砧木发达的根系可以供给接穗足够的营养,但是接穗的生长也给下部提供光合产物,砧木小时下部是植株生长的限制因子,砧木足够大时接穗是植株的限制因子。砧木太大时植株上下部生长显然难以协调,可能影响成活率和生长速率。

就上述的结果进行分析,砧木35~40d适宜采取劈接法,砧木40~65d使用插皮接,是棉花

再生植株嫁接繁育的最优策略。

### 2.2 讨论

**2.2.1 砧木和接穗的选择和比例要求。**插皮对接穗的要求同劈接法一样,木质化程度越高成活率越高,原因在于输导组织发育良好。接穗长度要求适中,一般在3~5cm,并最好有2片以上的真叶,接穗太长或太短都会影响成活率。砧木选用海7124,它的抗逆和抗病性很强,苗期因病害而死亡的很少,种植时不需要特殊的土壤或介质;根系发达,可供给接穗充分的养分和水分,嫁接成活后整株死亡机率小;成活后植株生长过程中便于区分接穗和砧木的枝芽。劈接法要求砧木直径和接穗直径一致,便于两边的形成层吻合。插皮接在接穗侧面和背面削小斜面都可增加两者形成层吻合的机率,

这是插皮接简单易行,便于操作的关键。再加上插皮接选用的砧木较大,成活后接穗的生长速率加快,可相对缩短嫁接成活的时间。

**2.2.2 管理要点。**一般的,再生植株嫁接之前要打开三角培养瓶瓶盖练苗 2~3 d,才能取接穗,由于在空气中打开了瓶盖会污染发霉,练苗的时间不可能太长,效果不明显,接穗只能一次性使用;本试验没有练苗,在超净台上将再生苗从上段切下,长 3~5 cm 作为接穗,留下有 1~2 个节位的根部继续插在培养基中生长,若嫁接不能成活,腋芽重新长成新的植株仍可再嫁接。

本试验没有提前练苗而在后面的保湿和透气策略上有所改变,使得练苗和嫁接同时进行。在此之前,保湿用的是剪去瓶口的透光性好的矿泉水瓶(或烧杯、罐头瓶等)将其罩住,然后浇上水,周缘盖土来密封,以保湿防接穗萎蔫(或用塑料薄膜将花盆罩住,缚在花盆的边缘)。3~4 d 在瓶子下面适当通气,太早会萎蔫,太晚会发霉,都不易成活。透气 1 h 后,观察接穗是否和透气前一样,若有异常,不能通气,要继续密封,若正常 7~10 d 后可揭去塑料瓶。此次用的是带盖的剪去瓶底的干净的透光性好的矿泉水瓶之类的塑料瓶将其罩住,3~4 d 旋开瓶盖罩住瓶口 2/3 进行通气,第 7 d 去掉瓶盖,12 d 揭瓶,这样在 3~12 d 的时间内,植株所处的状态和再生植株在三角瓶培养基中的练苗状态基本一致,透气、保湿不易发霉,练苗时间大大延长,原来嫁接成活时接穗原有的展开叶片几乎全部脱落而长出的新叶才能存活的情况有所改善,大大缩短了缓苗的时间。

移去瓶子即于当天傍晚叶面喷施 0.1% 的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,每周 2 次,以促进接穗生长,减少接穗原有叶片脱落。去绳时间一般在半月左右,太早接穗与砧木间愈合不好,容易折断;太晚在接口的两端易形成大的瘤状物,而中间部分很细,影响养分和水分的运输、生长<sup>[1-3]</sup>。

**2.2.3 实际应用的技巧。**实际嫁接的经验发现,不论是劈接法还是插皮接法,砧木叶片的保留有利于成活,实在没有叶片至少应保留子叶节。劈接时砧木较小一般保留 2 片子叶,若能再留有 1~2 个真叶更易成活。原因是保留的叶片可以蒸腾水分保持瓶内湿度,进行光合作用给植株提供养分。保留一个节位的理由在于伴随小接穗的成活其可以长出腋芽,同样可以保湿,对腋芽进行摘心留叶可给小植株提供养分有利于接穗的发育。

较大砧木生长旺盛,茎秆粗壮,但是底部的叶片容易脱落,而嫁接时留茬又不能太高,此时的保湿策略是在一个花盆里留多株棉苗,一株用来嫁接,别的用来蒸发水分。嫁接后密封在一个大塑料瓶里(塑料薄膜下),实际已证明特别有效,接穗嫁接至成活都不会萎蔫。更优的作法是:去除砧木的顶芽,在上面留叶片,而在茎的较低部位用“T”形切口接法来嫁接,即用手术刀片在砧木茎下端切一个刚到中柱的“T”形切口,剥离皮层,按插皮接来嫁接,方法同上。由于砧木所留功能叶片的数目多,保湿性好,能提供较多的光合产物,促进了根系的生长和接穗所生长,嫁接植株几乎全部成活,且长势很旺(图 2)。待接穗长到足够大小,可紧靠接口截去砧木上端。

### 3 结论

适合劈接法的砧木时期大约一周<sup>[1-3]</sup>,此时成活率 90% 左右。插皮接法嫁接转基因再生棉株,成活率为 85%~94%,相对缩短了再生植株嫁接成活的时间,并且对砧木的选择范围要求不严,克服了只用劈接对砧木生长时期要求较严的缺陷,二者结合可很好地解决棉花试管苗难以成活的问题;且不必多次种植砧木,便于田间管理,降低成本,节省人力。利用插皮接法嫁接棉花再生植株提高定植成活率,尚未见有关文献报道。此方法操作简单,方便易行,总体优于劈接法,是一种可靠的植株再生手段。本实验室已利用果枝、叶枝、主茎的梢端为接穗,用插皮接扩繁了许多植株构建成群体,如:扩繁不育植株或保存生长力较弱的特有种质。

### 参考文献:

- [1] 王伟,陈宛新,朱 祯,等. 转基因棉花高效定植方法的研究[J]. 植物学报, 1999, 41(10): 1072-1075.
- [2] 张寒霜,李俊兰,赵俊丽,等. 棉花再生植株嫁接移栽技术研究[J]. 中国棉花, 2003, 30(7): 29.
- [3] 李燕娥,朱 祯,吴 霞,等. 转基因再生棉花嫁接初报[J]. 中国棉花, 2000, 27(3): 25-30.
- [4] 陈 培. 银杏嫁接新方法—插皮接[J]. 江苏林业科技, 1995, 22(3): 36.
- [5] 朱朝勤. 龙爪槐的插皮接技术[J]. 江苏林业科技, 1994 (4): 43-44. ●