

提高棉花组培苗移栽成活率的技术措施

张慧军, 王丹, 张国强

(山西省农业科学院棉花研究所, 山西 运城 044000)

摘要: 本文分析了影响棉花组培苗移栽成活率的主要因素, 总结提出提高体细胞再生株和组培苗成活率的移栽技术。组培苗的发育状况、驯化过渡、移栽基质的选择、移栽环境的控制, 以及嫁接技术等是影响组培苗移栽成活的主要因素。组培苗驯化过渡期间, 要逐渐变换封口膜, 降低培养瓶湿度, 促进组培苗木质化; 组培苗嫁接时, 砧木只保留1片子叶, 通过三角形切口嫁接等措施, 提高棉花组培苗移栽成活率。

关键词: 棉花; 组培苗; 嫁接; 驯化

中图分类号: S562.04

文献标识码: A

文章编号: 1003-8701(2017)03-0006-03

Technical Measures to Improve the Survival Rate of Transplanted Cotton Seedlings from Tissue Culture

ZHANG Huijun, WANG Dan, ZHANG Guoqiang

(Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng 044000, China)

Abstract: In this paper, main factors affecting the survival rate of plantlets were analyzed, and the transplanting techniques to improve the survival rate of somatic cell regenerated and tissue cultured seedlings were summarized. Main factors affecting the survival rate of tissue cultured seedling were the development condition of the tissue culture seedlings, the acclimation of the plantlets, the selection of the transplanting substrate, the control of the transplanting conditions, and the grafting technology. During the acclimation period, we should gradually change sealing parafilms and reduce the moisture in culture bottles to promote lignification of seedlings. During grafting of plantlets, a cotyledon should be retained on seasland cotton rootstock and grafting by making a triangular incision. All above approaches are key measures for improving the survival rate of transplanted cotton seedlings.

Key words: Cotton; Tissue culture seedling; Grafting; Acclimation

棉花组培苗(俗称试管苗)系指经过组织培养或遗传转化后获得的棉花体细胞再生株。棉花组培苗从无菌培养基中移入花盆或大田是组织培养、遗传转化的重要环节。在南方热带雨林气候, 直接移栽不是问题。但是北方干燥的环境下, 棉花再生植株移栽成活难的问题一直困扰着棉花生物技术商品化的发展。近年来, 棉花组培苗都是通过嫁接方式进行移栽^[1-4]。而提高棉花组培苗嫁接移栽成活率是组织培养、遗传转化的重要研究课题。本文通过试验研究并结合长期

工作实践, 探讨了组培苗移栽过程中苗的发育状况、驯化过渡、嫁接技术等对移栽成活的影响, 提出了提高棉花组培苗移栽成活率的技术措施。

1 材料与方 法

1.1 材 料

以晋棉7号棉花品种的下胚轴为组织培养或转化的外植体, 通过胚胎分化途径获得组培苗。取叶片、下胚轴发育好, 高度在8~9 cm的组培苗作为移栽体。以根系发达, 耐逆性强的棉花品种作为嫁接砧木, 本试验以海岛棉作为嫁接砧木。以无菌土、无菌蛭石作为嫁接基质, 也可以购买现成的育苗基质。本试验采用丹麦品氏托普进口育苗基质。

收稿日期: 2017-02-28

基金项目: 山西省科技攻关项目(20150311004)

作者简介: 张慧军(1965-), 女, 副研究员, 硕士, 从事棉花生物技术研究。

1.2 方法

取发育健壮的组培苗,在超净台上将培养瓶的封口塑料膜拿掉,换成4层天平纸,放于培养架上在光照2 000 lx、温度(28±2)°C的条件下培养。5 d以后,再拿掉4层天平纸,换成3层天平纸,继续培养3 d,换成2层天平纸,继续培养2 d后,换成1层天平纸,组培苗叶片由浅绿转为深绿。

将组培苗瓶移至窗户边或阳台上(保证环境温度在25°C左右),接受自然光照射,培养一周。

从无菌瓶中取出自然光照射培养的组培苗,洗去根部培养基,嫁接于生长健壮的砧木上,浇足水,并覆盖塑料薄膜。一周以后,逐渐在薄膜上扎小孔透气,透气孔由小到大,以锻炼棉苗。

1~2个月以后,完全去掉塑料薄膜,获得嫁接移栽成活的棉花组培苗。

2 结果与讨论

2.1 组培苗的发育状况对移栽成活的影响

根据本试验观察和长期实践,组培苗下胚轴粗细和木质化程度、叶片发育情况等,对移栽成活皆有显著影响。组培苗下胚轴愈粗愈容易嫁接,成活率高;愈细愈不容易操作,嫁接不易成活。组培苗叶片数愈多,叶片大而平展,移栽后

接受阳光面积大,光合作用形成的养分充足,有利于移栽成活;反之叶片数少、小而不平展,接受阳光面积小,光合作用形成的养分不充足,移栽不易成活。

2.2 组培苗的驯化过渡对移栽成活的影响

组织培养的试管苗在培养瓶中的湿度为100%,下胚轴水质化程度高,叶片黄绿。移栽前的组培苗通过封口膜的逐渐变换,增加通气性,减少培养瓶内的湿度,并且逐渐接受自然光照射,这一循序渐进的驯化过程,使得组培苗叶片由浅绿转变为深绿,而且下胚轴水质化程度下降,木质化程度有所提高,有利于嫁接移栽成活。

组培苗驯化对移栽成活率的影响见表1,经过驯化的组培苗嫁接移栽成活率较高,一般在70%以上,而未经过驯化的组培苗嫁接移栽成活率较低,壮苗45.0%,弱苗仅有26.7%,多数不能移栽成活。移栽前先将培养瓶口的塑料纸换成天平纸,10 d内逐渐由4层减至1层,这样培养瓶内的湿度逐渐减小,组培苗便会逐渐适应湿度小的环境,利于移栽成活;最后把培养瓶移至阳台或窗边接受自然光,促进组培苗木质化,利于移栽成活。

表1 无菌组培苗驯化对移栽成活率的影响

试管苗种类	驯化与否	移栽方法	移栽植株数	成活植株数	成活率(%)
壮苗	经过驯化	嫁接	48	45	93.8
	未经驯化	嫁接	20	9	45.0
弱苗	经过驯化	嫁接	17	12	70.6
	未经驯化	嫁接	15	4	26.7

另外,组织培养的试管苗所需营养完全来自培养基,移栽前要逐渐减少培养基的碳源,“逼迫”叶片进行光合作用,满足移栽后组培苗的营养需要。

2.3 砧木苗的苗龄对移栽成活的影响

砧木苗真叶生长至2~4片叶时嫁接最好,易操作也容易愈合成活。过小不易操作,过大不易愈合。

2.4 移栽基质对移栽成活的影响

为了满足棉花苗期生长,育苗基质必须是通气、蓄水、保温、营养,最好是经过消毒的,或者是伴有杀菌剂的营养基质。通常用的是无菌土或是蛭石拌复合肥。后来有报道用沙土混合物,基质预先翻晒消毒,保持湿润^[2]。也有报道用无菌混合土(沙子:蛭石=1:1)^[3]。目前主要用丹麦品氏

托普进口育苗基质,该基质用于试管苗移栽最好,就是价格昂贵。

2.5 移栽环境对移栽成活的影响

环境条件直接影响组培苗嫁接移栽的成活,关键是控制好嫁接后一周的光、温、湿。刚嫁接的试管苗必须覆盖塑料薄膜或罩玻璃杯保持湿度,避免阳光直射,温度以25~30°C为宜。一周之后逐渐放小孔,由小到大,直至完全去掉塑料薄膜或玻璃杯。

2.6 嫁接技术对移栽成活的影响

熟练的嫁接技术是提高移栽成活率的关键因素。常规的嫁接方法中,都是保留砧木的2片子叶。而笔者试验发现,组培苗嫁接时,砧木保留1片子叶,成活率较高,为91.3%;不保留子叶,嫁接成活率为83.3%;而保留2片子叶,成活率只有

75.0%(见表2)。而且发现,保留2片子叶,不利于嫁接操作,尤其在用绳缠绕切口时容易碰到子叶,会使插在切口的接穗移出,容易折断。保留1片子叶,切口处形成三角形,容易夹住接穗,利于缠绕切口,固定牢成活率高。不保留子叶虽然利于操作,但接穗插入切口时,必须用手扶来固定。

表2 砧木子叶数对组培苗嫁接移栽成活率的影响

砧木子叶 保留情况	嫁接 植株数	嫁接成 活株数	成活率 (%)
0	18	15	83.3
1	23	21	91.3
2	16	12	75.0

在实际操作中,直接用手术刀切去砧木1片子叶,从子叶处中心沿下胚轴方向切5~10 mm。试管苗从培养瓶取出,切掉根部,茎段对称削尖,将其插入砧木切口,用绳缠紧重合部位。该方法容易操作,嫁接初期接穗所需营养可以从砧木根部输送,子叶作用不大,可以去掉,有利于操作。

3 小 结

棉花组培苗移栽是从无菌到有菌、从高温高湿条件向常规条件过渡的过程。影响移栽成活的关键因素是组培苗的发育状况,驯化过渡,移栽基质的选择,移栽环境光、温、湿的控制,以及嫁接技术的掌握等。要提高移栽成活率,必须掌握、控制和利用好这些关键因素,特别是要搞好驯化过渡,保留砧木1片子叶,并熟练掌握嫁接技术。

参考文献:

- [1] 李艳娥,朱 楨,吴 霞,等.转基因再生棉花初报[J].中国棉花,2000,27(3):25-30.
- [2] 张 浩,李 锐,刘 亮,等.棉花高效嫁接技术研究[J].湖北农业科学,2011,50(24):5060-5062.
- [3] 王清连,张宝红,刘 方.一种适用于再生植株和转基因植株移栽的新方法[J].河南职技师院学报,1999,27(3):27-29.
- [4] 张香娣,王坤波,刘 方,等.棉花试管苗嫁接移植方法[J].中国棉花,2000,27(3):38.

(责任编辑:王 昱)