

环境因素和嫁接方法对甘蓝型油菜幼苗嫁接成功率的影响

范永海[§], 常 玮[§], 赵彬言, 魏思雨, 段回春, 李加纳, 卢 坤^{*}

(西南大学农学与生物科技学院/农业科学研究院/重庆市油菜工程技术研究中心, 重庆, 400715)

摘要:以甘蓝型油菜品种中双11为相互嫁接材料,利用正交试验和二次正交回归试验,解析保湿、遮光处理、光照时长、子叶去留、温度、相对空气湿度等环境因素对甘蓝型油菜苗期嫁接的影响;对3个不同时期的幼苗分别采用平接、斜接、插接、侧接和舌接法进行嫁接,综合评价各时期的最佳嫁接方法。结果表明,保湿处理对幼苗期嫁接成功率影响最显著,其次是遮光处理;光照时长和子叶去留影响较小。温度和湿度二次正交回归试验分析表明,缓冲期嫁接伤口愈合最适宜温度为24.4℃,相对空气湿度为88%左右;高空气湿度下,接穗在伤口愈合处极易生长不定根,适当降低空气湿度能抑制不定根的生长。10d的幼苗进行嫁接,5种嫁接方法成功率均达到85%以上;20d的幼苗用舌接法嫁接成功率达到93.3%,而平接和斜接法只有56.7%和46.7%;40d的幼苗在5种嫁接方法下成功率均显著下降,舌接、插接和侧接成功率分别为45%、35%和23.3%,而平接和斜接仅为13.3%和10%。

关键词:甘蓝型油菜;嫁接;环境因素;成功率

中图分类号:S565.4 文献标识码:A 文章编号:1007-9084(2018)04-0516-08

Effect of environmental factors and grafting methods on grafting success rate of rapeseed (*Brassica napus*) seedling

FAN Yong-hai[§], CHANG Wei[§], ZHAO Bin-yan, WEI Si-yu, DUAN Hui-chun, LI Jia-na, LU Kun^{*}

(College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University/Academy of Agricultural Sciences, Southwest University/Rapeseed Engineering & Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: Orthogonal test and quadratic orthogonal regression experiment were used to analyze the effect of environmental factors on seedling grafting of *Brassica napus*. The condition included moisture, shading, day time, cotyledon removal or not, temperature, relative air humidity, with Zhongshuang 11 as the grafting material (stock and scion). Three different stages of rapeseed seedlings were grafted by flat, splice, hole insertion, side, approach method, respectively. The best grafting method for each stage was comprehensively evaluated. Results indicated that among those environmental factors, the moisture had the greatest significant effect on grafting success rate, followed by shading. However, day time and cotyledon kept or not had little effect on success rate. Quadratic orthogonal regression analysis of temperature and humidity showed that the optimal temperature for healing wound was 24.4℃ and relative air humidity was about 88%. Grafted seedlings were easy to develop adventitious roots on the wound healing of scion under high air humidity, and reducing air humidity appropriately could inhibit adventitious root. The success rates were more than 85% among the 5 grafting methods when the seedlings were grafted at 10 d. For 20-day seedlings, the success rate reached 93.3% using the approach grafting, while the flat and splice was 56.7% and 46.7%, respectively. The success rates of 40-day seedlings were significantly decreased under the

收稿日期:2018-05-07

基金项目:国家重点研发计划(2018YFD0100501);国家自然科学基金(31571701和U1302266);111项目(B12006);中央高校基本科研业务费专项资金(XDJK2012A009)

作者简介:范永海(1994-),男,硕士研究生,从事油菜遗传育种研究,E-mail:fyh1212@email.swu.edu.cn

§ 同等贡献作者:常 玮(1997-),女,本科生,从事油菜分子遗传研究,E-mail:changwei1919@163.com

* 通信作者:卢 坤(1980-),男,研究员,博士,从事油菜分子遗传和基因组进化研究,E-mail:drlukun@swu.edu.cn

5 grafting methods. Success rates of approach, hole insertion and side method were 45% , 35% and 23.3% , respectively, while the flat and splice were only 13.3% and 10% respectively.

Key words:*Brassica napus*; grafting; environmental factors; success rate

嫁接技术广泛应用于果树育种和农作物良种保存、快速繁育,在提高果树和农作物产量、抗逆和抗病能力以及改良作物品质等方面具有重要的应用价值^[1-4]。嫁接成功率是衡量嫁接效率的重要指标,不仅受到接穗和砧木亲和力等自身因素影响,同时也受环境因素和嫁接技术等外界因素控制。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)嫁接研究中,Tsukaya等^[5]利用*acl1(acaulis1)*突变体与野生型进行花序嫁接,采用了楔形嫁接法将花序作为接穗嫁接到砧木的茎上。随后 Rhee等^[6]对 Tsukaya 的方法进行改进,在最佳生长周期进行楔形嫁接成活率可达 87%。拟南芥根茎嫁接中,Turnbull等^[8]发现“Y”型嫁接成功率稍高于水平嫁接和楔形嫁接。Huang和Yu^[9]等利用针头固定嫁接技术,改善了拟南芥的嫁接环境,大幅度提高了拟南芥的嫁接效率。Marsch - Martínez^[10]从光照时间、子叶数目等方面系统地分析了外界因素对嫁接成活率的影响,发现短日照有利于嫁接植株伤口的愈合,去除子叶更有利于嫁接体存活;西瓜(*Citrullus lanatus*)嫁接中也发现了相似的结果^[11]。可乐果(*Cola acuminata*)嫁接中发现,相同时期的接穗嫁接到不同苗龄期砧木上,低苗龄砧木成功率高于高苗龄砧木^[12]。

油菜嫁接研究中,Filek等^[13]用插接法把未春化的接穗嫁接到春化的砧木上,电流刺激试验记录开花百分比,结果发现极性电流能促进短日照下的开花。官春云等^[14]用插接法对不同油菜品种进行嫁接,嫁接成功率达到 50% 以上。Ostendorp等^[15]用平接法对生长 6d 的甘蓝型油菜幼苗嫁接发现,除去子叶的幼苗在长日照下有更高的成功率。耿建明等^[16]对不同品种甘蓝型油菜幼苗嫁接发现,在空气湿度为 90% 的保湿遮光处理下,嫁接苗具有较高的成活率。在不同甘蓝型油菜基因型硼效率差异机制研究中,郭丽丽对传统的插接法进行改进,发现改进后的嫁接方法在幼苗期嫁接成功率明显提高^[17]。

总结前人研究发现,环境因素和嫁接方法对嫁接成功率有显著的影响,但目前的研究主要集中在少数几个环境因素,且缺乏对不同幼苗时期和多种嫁接方法的比较。甘蓝型油菜作为多倍体研究的模式植物,在木质部和韧皮部有大量的分泌物,非常适合用于研究小分子物质、mRNA 和 microRNA 等的长距离运输机制^[18-20],嫁接技术是开展此类研究的

重要技术手段。为此,本研究采用正交试验,对多个环境因素进行组合分析,系统比较各环境因素对嫁接成活率的影响以及适合幼苗伤口愈合的最优环境因素组合,并进一步在 3 个幼苗阶段比较 5 种嫁接方法的成活率,以明确不同生长时期幼苗的最佳嫁接方式。本研究不仅为甘蓝型油菜苗期嫁接研究奠定了基础,也可为其它一年生草本植物嫁接研究提供参考。

1 材料方法

1.1 材料

甘蓝型油菜优质高产品种中双 11 的种子由重庆市油菜工程技术研究中心提供。试验于 2017 年在西南大学农业科学研究院人工气候室进行。种子催芽萌发前先用 10% 的 NaClO 溶液浸泡消毒 1 ~ 2h,然后用蒸馏水润洗多次。种子消毒后,在铺有三层滤纸的培养皿内进行萌发,待两片子叶完全伸展后,移至营养液中水培(营养液配方参考耿建明等^[16])20d,再移栽至营养土中。人工气候室光照强度设定 500μmol · m⁻² · s⁻¹,光照时间 16h,相对空气湿度 75%,日昼温度 22℃、夜间温度 16℃。

1.2 试验设计

1.2.1 环境因素对甘蓝型油菜嫁接成功率的影响

为明确不同环境因素组合对甘蓝型油菜幼苗嫁接成功率的影响,待幼苗长出第一片真叶后(10d 左右),按表 1 所示开展四因素二水平正交试验,四个

表 1 不同环境因素比较的四因素二水平正交表

Table 1 Two - level orthogonal array with 4 factors for comparison of different environmental factors

试验组 Experiment group	变量 1 factor 1	变量 2 factor 2	变量 3 factor 3	变量 4 factor 4
1	A1	B1	C1	D1
2	A1	B1	C2	D2
3	A1	B2	C1	D2
4	A1	B2	C2	D1
5	A2	B1	C1	D1
6	A2	B1	C2	D2
7	A2	B2	C1	D2
8	A2	B2	C2	D1

注:变量 1(光照长短),A1:长光照,A2:短光照;变量 2(遮光处理),B1:不遮光,B2:遮光;变量 3(子叶去留),C1:不去子叶,C2:去子叶;变量 4(保湿条件),D1:不保湿,D2 保湿,下同
Note:Factor 1(day time), A1:long - day(16h); A2:short - day(8h). Factor 2(shading), B1:no shading, B2:shading. Factor 3(cotyledon removal or reservation), C1:cotyledon reservation, C2:cotyledon removal. Factor 4(moisturizing condition), D1:no moisturizing, D2:moisturizing. Same as below

环境因素分别为光照时长、遮光处理、子叶去留和保湿处理。其中,光照时长分长光照(光照 16h)和短光照(光照 8h)两个水平;遮光处理为幼苗嫁接后避光生长 24h 和不避光两种方式;子叶去留设为嫁接时去除和保留两种方式;保湿条件分保湿和不保湿两种,其中保湿处理为幼苗嫁接后立刻置于有水的培养罐中,以保鲜膜封住盖口进行保湿(相对湿度维持在 100%),48h 后撤去保鲜膜。采用平接嫁接方法,嫁接切口位于子叶下方约 2cm 处(上部做接穗,下部做砧木)。幼苗嫁接后,用嫁接膜缠绕嫁接接口并用嫁接夹固定接口。每组试验以 20 株嫁接苗为单位,进行重复。嫁接工具在嫁接前用 75% 酒精进行消毒处理,嫁接植株缓冲期在光照培养箱的

其它环境因素参照步骤 1.1。数据分析时,设计光照时长×遮光和光照时长×子叶去留互作分析试验组。

根据上述鉴定出的成功率最高的环境因素组合,针对温度和相对空气湿度两个对嫁接成功率有重要影响的环境因素,以 DPS 7.0.5^[21] 进行二次正交回归试验(表 2),以明确嫁接伤口愈合过程中适宜的温度和空气湿度。试验设计中温度的零水平设为 22℃,变化区间为 4℃;空气相对湿度的零水平设为 70%,变化区间为 20%。试验分析以水平变化区间为因子变量值进行数据分析;如,温度零水平为 22℃,变化区间为 4℃,则 0.02 实际表示温度为 $22 + 4 \times 0.02 = 22.08^{\circ}\text{C}$ 。嫁接方法等参考上述内容。

表 2 温度和相对湿度的二次正交回归试验设计
Table 2 Quadratic orthogonal regression experimental design for temperature and relative humidity

试验组 Experiment group	温度水平区间 Temperature level	湿度水平区间 Humidity level	温度 Temperature/℃	相对空气湿度 Humidity/%
1	1	1	26	90
2	1	-1	26	50
3	-1	1	18	90
4	-1	-1	18	50
5	-1.458 1	0	16(16.167 6)	70
6	1.452 4	0	28(27.81)	70
7	0	-1.459 8	22	40(40.804)
8	0	1.468 2	22	100(99.364)
9	0	0	22	55

注:括号中的值为试验设计参考值。由于试验中无法完全精确控制到该条件,试验中设定为靠近该值的整数
Note: Reference values in the experimental design were in the brackets. Due to the fact that this condition could not be precisely controlled as the experimental design, close parameters were used in this study

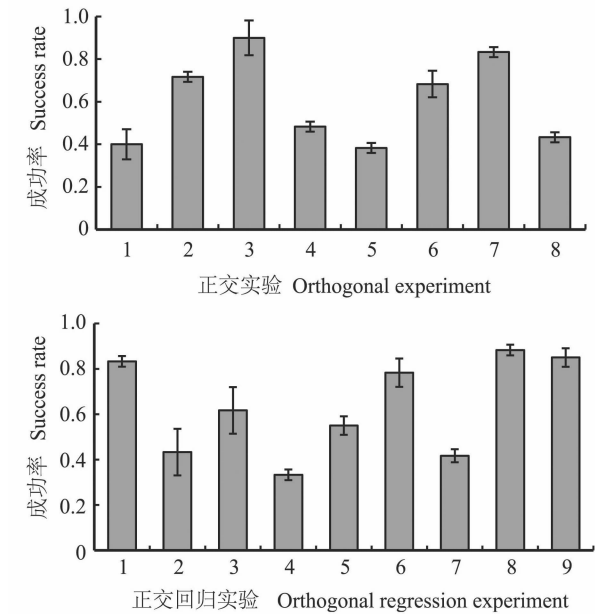
1.2.2 甘蓝型油菜幼苗期 5 种嫁接方案的比较
基于 1.2.1 的研究结果,获得甘蓝型油菜幼苗嫁接伤口愈合的最佳环境条件。在该条件下,采用平接、斜接、插接、侧接和舌接五种不同的嫁接方法分别对 10d、20d、40d 的幼苗进行嫁接后比较成功率,明确甘蓝型油菜幼苗不同时期的最优嫁接方法。幼苗前 2 周培养方式如 1.2.1 中所描述,两周后移栽至组培瓶中,营养液水培至 3~4 叶时期(20d 左右),移栽到花盆中土培。水培营养液每 3d 更换一次,土培时每 3d 浇水一次。

五种嫁接方法的具体操作如下。平接:砧木和接穗水平 180°横切嫁接;斜接:同样角度(一般为 45°)切砧木和接穗,对齐砧木和接穗的切割面;插接:用探针或刀片沿砧木茎上部一侧开一狭缝,将接穗切成一定角度并插入砧木;侧接:砧木茎切出一个有角度的缝隙,接穗切成一个角度,插入砧木的缝隙(嫁接部分愈合后,需要去除砧木顶端部分);舌接:砧木和接穗的茎上各切一个相对角度的狭缝并重叠,嫁接部位愈合后,先切断移除砧木顶部,2~3 d 后切断接穗根部。

1.3 数据分析
采用 DPS7.05^[21] 统计软件进行方差分析和 t -test 检验。方差分析中,将 F 值<1 的变异项作为空闲因子列,将其平方和与自由度和误差项的平方和与自由度合并,作为试验误差平方和的估计值。利用 t -test 对不同时期不同嫁接方法对嫁接存活率的影响进行统计检验, P 值<0.05 为显著水平, P 值<0.01 为极显著水平。

2 结果与分析

2.1 不同环境因素组合对嫁接成功率的影响
在温度和湿度保持恒定时,幼苗期各个试验组嫁接成功率如图 1。图 1 正交试验直观看出,甘蓝型油菜在不同处理组合下,嫁接成功率不同。其中,第 3 处理组合(长光照/遮光/不去子叶/保湿)成功率最高,达到 90%;第 5 处理组合(短光照/遮光/不去子叶/不保湿)成功率最低,只有 38.3%。为检验不同环境因素对成功率的影响,对组合试验进行方差分析。其中,对试验结果进行显著性分析时,设置光照时长×子叶去留互作为空闲因子($F < 1$)。结果



注:X轴上的数字代表与表1和表2对应的试验组合
Note: Number in X-axis represents corresponding experimental groups in Table 1 and Table 2, respectively

图1 不同环境因素正交试验和正交回归试验的嫁接成功率
Fig. 1 Grafting success rates affected by combinations of different environmental factors in orthogonal experiment and orthogonal regression experiment

表3 不同环境因素影响嫁接成功率的极差分析
Table 3 Range analysis of grating success rate affected by different environmental factors

变量 Variation	水平1 Level 1	水平2 Level 2	极小值 Minimum	极大值 Maximum	极差R Range R	调整R' Adjust R'
A	0.630 5	0.622 5	0.607 0	0.689 1	0.057 0	0.082 6
B	0.581 2	0.666 8	0.581 2	0.697 0	0.085 6	0.125 5
A × B	0.573 4	0.674 2	0.620 3	0.676 1	0.063 0	0.090 6
C	0.612 2	0.614 4	0.641 1	0.661 1	0.019 8	0.027 8
A × C	0.635 9	0.639 8	0.630 4	0.671 6	0.023 0	0.033 9
D	0.434 9	0.824 1	0.470 5	0.771 0	0.359 3	0.521 7

2.2 温度和相对湿度对嫁接存活率的影响

在2.1 试验3 处理(长光照/遮光/不去子叶/保湿)的条件下,探究温度和空气相对湿度对幼苗嫁接成功率的影响。从图1 正交回归试验直观看出,嫁接苗在处理组合8 (22℃/100%)下成功率最高,达到了88.3%;而在试验组合4(18℃/55%)下成功率最低,只有33.3%。由此可见,温度和湿度对嫁接苗的成功率影响较大。

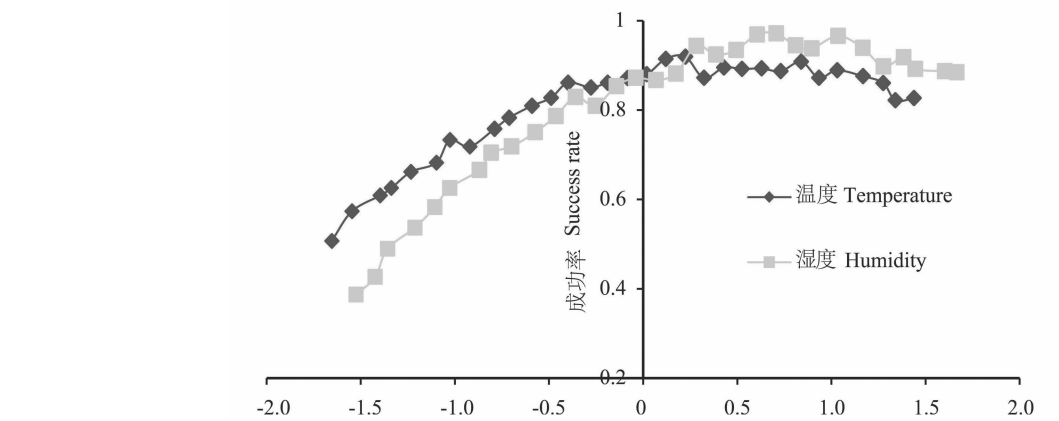
为探究适合甘蓝型油菜苗期嫁接适宜的温度和湿度组合,对二次正交回归组合进行二次多项式回归分析。分析表明,温度和湿度对嫁接成活影响显著,温度(X_1)和湿度(X_2)的二次回归模型方程式 $Y=0.838\ 5+0.0778\ 0X_1+0.165\ 8X_2-0.095\ 3X_{12}-0.111\ 9X_{22}+0.040\ 0X_1X_2$ 。分别对温度和湿度进行单因子效应(图2)和双因子互作分析(图3),从单因子效应分析的x-y折线图可以看出,嫁接成功率受温度和湿度变化区间的影响,且湿度对成功率

表明,保湿处理达到极显著水平($F=216.041\ 7^{**}$),遮光处理达到显著水平($F=12.484\ 4^*$),光照时长和子叶去留以及光照时长×子叶去留互作均未达到显著水平, F 分别为5.401 0、0.619 8和6.552 1。

对各个因素和交互作用的极差比较分析发现,保湿和遮光处理的极差|R|分居第一、第二位,是影响嫁接存活的关键因素(表3)。其次是光照时长和光照时长×遮光,而子叶和光照时长×子叶去留影响较小。根据各试验因子的平均数可以看出,A取A1、B取B2、C取C1或C2、D取D2为好,即嫁接苗的最佳嫁接处理组合是A1B2C1D2(试验组合3)或A1B2C2D2。由于A1B2C2D2未在正交试验内,设计长光照/遮光/去子叶/保湿试验组,成功率达到了86.7%。除此之外,由于光照时长水平差异不显著,A2B2C1D2试验组合也可,即试验组合7。从图1正交试验也直观看出,试验组3(长光照/遮光/不去子叶/保湿)和7(短光照/遮光/不去子叶/保湿)嫁接成功率最高,分别为90%和83.3%。

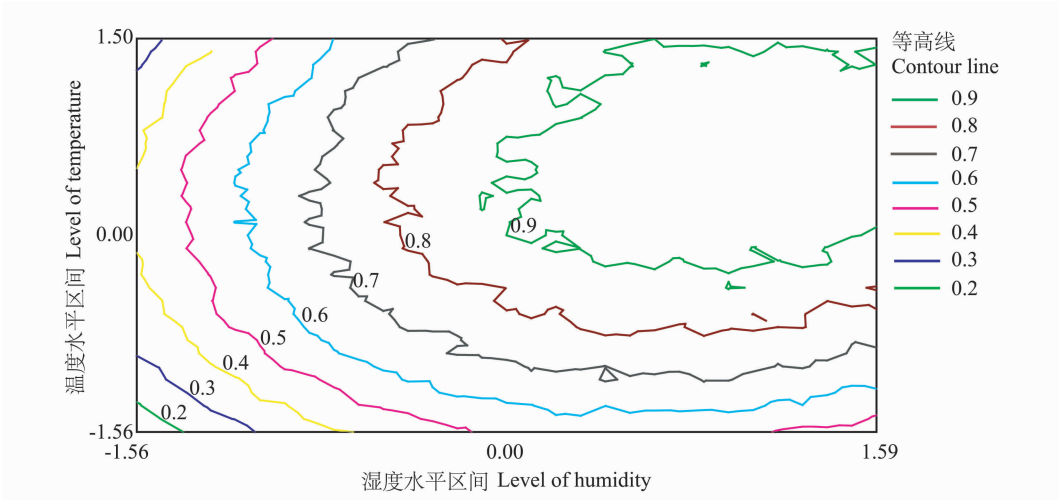
影响较温度略大,但均存在最大成功率控制区间。温度在0(22℃)到0.4(23.6℃)区间成功率最高,而湿度在0.5(80%)到0.8(86%)左右成功率最高,其成功率均达到90%以上(图2)。双因子互作分析发现(图3),成功率随着温度和湿度的共同降低而降低,两因子在不同的水平上的互作,对成功率有较大影响。同一成功率对应多个不同水平的温度和湿度变化区间,即使温度(湿度)在某一水平上,有多个湿度(温度)对应区间构成同一水平上的成功率(图3)。整体上来说,两因子互作在负区间的成功率明显低于正区间,即高成功率对应的温度和湿度基本在正区间。两因子的二项式分析表明,当温度(X_1)变化区间等于0.619 8,湿度(X_2)等于0.887 2(温度24.479 2℃,湿度87.744 0%)时,成功率达到98.62%。由于这一组温度和湿度的值未在回归组合试验内,为验证试验分析结果的可靠性,设置温度24℃,湿度90%试验组对分析结果进行验

证试验,成功率达到了 95% 左右。



注:变化区间为试验设计变量在零水平上下变动;温度零水平设为 22℃,变化区间为 4℃;空气相对湿度零水平设为 70%,变化区间为 20%。
Note:The range of variation is the variation of experimental design fluctuating at zero level; the zero level of temperature is set as 22℃, and the variation range is 4℃; the zero level of air relative humidity is set as 70% and the variation range is 20%

图 2 温度和湿度影响嫁接成功率的单因子效应 X-Y 折线图
Fig.2 X-Y line chart of grafting success rates affected by temperature and humidity



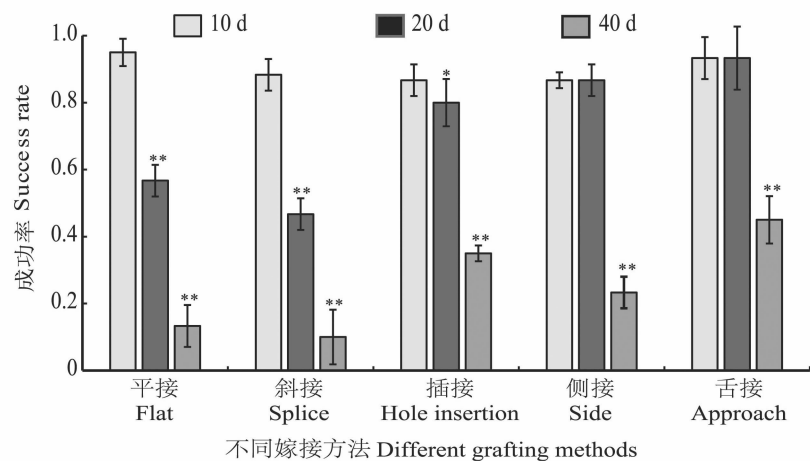
注:变化区间为试验设计时变量在零水平上下变动;温度零水平设为 22℃,变化区间为 4℃;空气相对湿度零水平设为 70%,变化区间为 20%。
Note:The range of variation is the variation of experimental design fluctuating at zero level; the zero level of temperature is set as 22℃, and the variation range is 4℃; the zero level of air relative humidity is set as 70% and the variation range is 20%

图 3 温度与湿度双因子交互影响嫁接成功率的等高线图
Fig.3 Contour map of grafting success rate affected by interaction between temperature and humidity

2.3 不同时期不同嫁接方法对嫁接存活率的影响

基于 2.1 和 2.2 中对 10d 左右的甘蓝型油菜幼苗嫁接综合分析结果,在最适合嫁接伤口愈合的温度(24℃)和湿度(90%)等条件下,对不同生长时期的油菜幼苗(前 20d 水培,20d 后移栽到花盆中土培)分别以五种不同的嫁接方法进行组合分析,以明确不同时期幼苗的最优嫁接方法。研究结果表明(图 4),10d 左右的幼苗(1~2 片真叶)在五种嫁接方法中均有较高的成功率,特别是平接和舌接均达到 90% 以上,斜接、插接和侧接的成功率则为 85% 左右。20d 左右的幼苗(3~4 片真叶),平接和斜接方法成功率显著降低(t -test, $P_{\text{平接}}=0.0025$ 、 $P_{\text{斜接}}=0.0055$),相对于 10d 的幼苗均降低了 40% 左右;

插接明显降低(t -test, $P_{\text{插接}}=0.0286$),相对 10d 的幼苗降低了 7% 左右;而另外三种嫁接方法成功率变化不大,但舌接成功率仍为 90% 以上。对 40d 的油菜苗(6~8 片真叶),五种嫁接方法的成功率均显著降低(t -test, $P_{\text{平接}}=0.0015$ 、 $P_{\text{斜接}}=0.0029$ 、 $P_{\text{插接}}=0.0081$ 、 $P_{\text{侧接}}=0.0004$ 和 $P_{\text{舌接}}=0.0041$),均未超过 50%,平接和斜接甚至降至 20% 以下,侧接和插接降低到 23.3% 和 35%,而舌接也只有 45%。上述 3 个不同时期甘蓝型油菜的嫁接成功率比较分析表明,随着油菜苗龄的增加,嫁接成功率显著下降,可能与其伤口愈合能力下降有关。同一时期不同的嫁接方法对成功率有明显的影响,植株苗龄越大影响越明显。



注: * 表示显著水平, ** 表示极显著水平
Note: * represents the significant level, ** represents the highly significant level

图 4 五种嫁接方法对甘蓝型油菜不同时期幼苗嫁接成功率的影响
Fig. 4 Grafting success rate affected by 5 grafting methods in different *B. napus* seedling stages

3 讨论

影响嫁接成功率的因素是多方面的,如砧木与接穗的亲合力、物候期及生命活力、环境因素以及嫁接技术等^[22,23],其中,首要因素是接穗和砧木亲和力的强弱,两者亲缘关系越近亲合力就越强,嫁接越易成活。本研究采用中双 11 为嫁接研究材料,排除了亲合力原因对嫁接成功率的影响。由于甘蓝型油菜为一年生植物,植株在苗期的生命活力极强,同时也排除了砧木与接穗生命活力对嫁接成功率的影响。

Marsch – Martínez 等^[10]在模式植物拟南芥嫁接研究中,发现短日照有利于嫁接植株存活,去除子叶的嫁接体成功率高于有子叶的嫁接体。本研究中对 1~2 周的甘蓝型油菜进行嫁接,除去子叶的嫁接苗成功率略低于有子叶嫁接苗,但两者差别不显著,说明子叶去留对甘蓝型油菜嫁接成活率影响较小,可能是由于子叶仅在油菜幼苗萌发早期提供营养物质,而在嫁接时子叶已基本完成自身使命,因此其去留对嫁接试验结果影响较小。本研究中光照时长对甘蓝型油菜幼苗时期的嫁接成功率影响不大,且长日照相对短日照而言更有利于嫁接伤口的愈合,这可能是油菜嫁接苗经过 24h 的黑暗处理后,需要进行更多的光合作用合成相应的物质以促进嫁接伤口愈合,与 Marsch – Martínez 等^[10]的结论不同,而与 Ostendorp 等^[15]结果相似。在拟南芥的嫁接中保湿是影响嫁接成活率的关键因素^[6],在甘蓝型油菜的嫁接过程中,遮光和保湿处理也能提升嫁接苗的成功率^[16]。本研究中,嫁接苗从嫁接开始到嫁接成功若一直处于高湿条件下,嫁接成功率始终维持在较

高水平,这是由于较高的空气湿度有利于植物体伤口的愈合^[24,25]。但在高湿度愈合的过程中,嫁接植株很可能会在靠近接穗部分生长出幼嫩的不定根^[26]。我们通过对相对湿度的调控发现,嫁接植株在相对湿度 100% 保湿 24h 后,适当降低相对湿度能抑制不定根的生长,但这一机制目前尚不清楚。同时我们也发现,对嫁接苗进行黑暗处理也能提高嫁接苗的成功率,这可能是由于植物体在受到损伤后,适当进行黑暗处理或降低光照能减缓植物体生命代谢,有利于植物体自身进行愈伤复合^[27,28]。此外,在一定范围内适当提高温度有利于嫁接愈伤伤口的愈合^[29~31]。如黄瓜 (*Cucumis sativus*) 苗在 20~25℃ 嫁接最为适宜^[32];番茄 (*Solanum lycopersicum*) 在昼温恒定 26℃,夜温维持 16℃ 有利于嫁接苗的愈合^[33]。本研究对温度的单因子效应分析表明(图 2),甘蓝型油菜在 22~24℃ 时,最有利于嫁接苗愈伤组织的愈合。但由于温度和湿度存在互作关系,对成功率分析时,还应考虑湿度对嫁接成功率的影响。通过对温度和湿度双因子互作分析表明,当温度 24.4℃,湿度 87.7% 时,嫁接成功率最高,达到了 95% 以上,验证试验(温度为 24℃,湿度为 90% 进行嫁接)也证明了该组数据的可靠性。

在拟南芥幼苗根茎嫁接方法中,Y 型嫁接成功率较水平嫁接(平接)和楔形嫁接稍高^[8]。Yin 等^[26]在 Turnbull 研究基础上对嫁接技术进行了改进,提出无套管斜面嫁接方法,该方法将拟南芥嫁接体的成功率提高到 80%。橄榄幼苗期,用切接、劈接、带木质部芽接三种方法对不同生长时期的幼苗嫁接,发现茎粗在 0.5~1cm 切接法成活率最高,达到 65%;而茎粗在 1~2cm 劈接法成活率最高,达到

60%^[34]。不同的嫁接方法也同样被研究于油菜^[13~16]、西瓜 (*Citrullus lanatus*)^[11]、蔬菜^[35]、树木^[36~38]等物种中。本研究中,对油菜3个不同时期的幼苗采用五种不同方法进行嫁接,其中,10d左右的幼苗在5种嫁接方案下均有较高的成功率,表明这个时期的油菜苗创伤愈合能力最强;20d左右的幼苗,采用舌接嫁接成功率达到90%以上,但平接和斜接都明显降低,这是由于接穗和砧木在舌接和插接法中接触面积最大,增强了接穗和砧木形成愈合组织的过程;40d后的油菜苗在几种嫁接方法中成功率均较低,表明油菜随着苗龄的增加,油菜的愈合能力、砧木和接穗的亲合力显著降低。就嫁接的难易程度而言,舌接>插接>侧接>斜接>平接;从成功率、嫁接技术、试验时间等综合分析,发现幼苗从子叶到2叶期,采用平接法成功率最高;生长3周左右的幼苗,采用舌接法最优;生长一月以上的幼苗,采用插接效果相对较好。在不同的苗期选择合适的嫁接方法,能有效地提高嫁接成功率。

4 结论

适宜的温度和湿度是嫁接形成愈合组织的必要条件,空气湿度越接近饱和,对伤口愈合越有利。油菜幼苗嫁接后先黑暗条件处理24h,能促进愈合组织生长。甘蓝型油菜在萌发两周内(2片真叶)最适合做嫁接,但随着苗龄的增加,植物体伤口愈合能力显著下降。综合而言,萌发两周内(1~2片真叶)的幼苗,使用平接法嫁接效果最好;3周左右(3~4片真叶时期)的幼苗,采用舌接法可达到理想效果;一个月的幼苗,利用插接方法嫁接较为适宜。

参考文献:

[1] Tsaballa A, Athanasiadis C, Pasentsis K, et al. Molecular studies of inheritable grafting induced changes in pepper (*Capsicum annuum*) fruit shape[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 149: 2-8.

[2] Rouphael Y, Schwarz D, Krumbein A, et al. Impact of grafting on product quality of fruit vegetables[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 127(2): 172-179.

[3] Josefa L M, Alberto G, Francisco P A, et al. Grafting is an efficient alternative to shading screens to alleviate thermal stress in greenhouse-grown sweet pepper[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 149: 39-46.

[4] Consuelo P, Sergio G N, Ana Q, et al. Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation[J]. Plant Sci, 2015, 230: 12-22.

[5] Tsukaya H, Naito S, Redei G P, et al. A new class of mu-

tations in *Arabidopsis thaliana*, *acaulis1*, affecting the development of both inflorescences and leaves[J]. Development, 1993, 118(3): 751-764.

[6] Rhee S Y, Somerville C R. Flat-surface grafting in *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Mol Biol Rep, 1995, 13(2): 118-123.

[7] Nisar N, Verma S, Pogson B J, et al. Inflorescence stem grafting made easy in *Arabidopsis* [J]. Plant Methods, 2012, 8(1): 50.

[8] Turnbull C G N, Booker J P, Leyser H M O. Micrografting techniques for testing long-distance signalling in *Arabidopsis*[J]. Plant J, 2002, 32(2): 255-262.

[9] Huang C, Yu T S. A pin-fasten grafting method provides a non-sterile and highly efficient method for grafting *Arabidopsis* at diverse developmental stages[J]. Plant Methods, 2015, 11: 38.

[10] Marsch-Martínez N, Jphn F, Karla L G A, et al. An efficient flat-surface collar free grafting method for *Arabidopsis thaliana* seedlings [J]. Plant Methods, 2013, 9: 14.

[11] Hassell R L, Memmott F, Liere D G. Grafting methods for watermelon production [J]. Hortscience, 2008, 43(6): 1677-1679.

[12] Abu M D, Abraham A, Julius Y, et al. Genotypic effect of rootstock and scion on grafting success and growth of kola (*Cola nitida*) seedlings[J]. Am J Plant Sci, 2014, 5: 3873-3879.

[13] Filek M, Biesaga-Koscelniak J, Marcinska I, et al. The effects of electric current on flowering of grafted scions of non-vernalized winter rape [J]. Biologia Plantarum, 2003, 46(4): 625-628.

[14] 官春云, 黄见良, 李 桢, 等. 芥菜型油菜与甘蓝型油菜嫁接嵌合体的性状表现[J]. 作物学报, 2006, 32(8): 1244-1247.

[15] Ostendorp A, Pahlow S, Deke J, et al. Protocol: optimization of a grafting protocol for oilseed rape (*Brassica napus*) for studying long-distance signaling [J]. Plant Methods, 2016, 12: 22.

[16] 耿明建, 郭丽丽, 赵竹青, 等. 甘蓝型油菜品种间相互嫁接及对其生长发育的影响[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 185-189.

[17] 郭丽丽. 采用嫁接方法研究不同甘蓝型油菜基因型硼效率差异机制[D]. 武汉: 华中农业大学, 2007.

[18] Gialavisco P, Kapitza K, Kolasa A, et al. Towards the proteome of *Brassica napus* phloem sap[J]. Proteomics, 2006, 6: 896-909.

[19] Pant B D, Buhtz A, Kehr J, et al. MicroRNA399 is a long-distance signal for the regulation of plant phosphate homeostasis[J]. Plant J, 2008, 53: 731-738.

- [20] Buhtz A, Pieritz J, Springer F, et al. Phloem small RNAs, nutrient stress responses, and systemic mobility [J]. BMC Plant Biol, 2010, 10: 64.
- [21] 唐启义, 冯明光. DPS 数据处理系统 - 实验设计、统计分析 & 数据挖掘 [M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [22] Erturk Y, Ercisli S, Haznedar A, et al. Effects of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on rooting and root growth of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*) stem cuttings [J]. Biol Res, 2010, 43(1): 91 - 98.
- [23] 朱高浦, 李芳东, 杜红岩, 等. 植物嫁接技术机理研究进展 [J]. 热带作物学报, 2012, 33(5): 962 - 967.
- [24] Mun B, Jang Y, Goto E, et al. Measurement system of whole - canopy carbon dioxide exchange rates in grafted cucumber transplants in which scions were exposed to different water regimes using a semi - open multi - chamber [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 130: 607 - 614.
- [25] 刘婧冉, 杜长霞, 樊怀福. 植物嫁接砧穗愈合机制研究进展 [J]. 浙江农林大学学报, 2018, 35(3): 552 - 561.
- [26] Yin H, Yan B, Sum J, et al. Graft - union development; a delicate process that involves cell - cell communication between scion and stock for local auxin accumulation [J]. J Exp Botany, 2012, 63: 4 219 - 4 232.
- [27] 赵渊渊. 温光环境因子对茄果类蔬菜套管嫁接苗愈合的影响 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.
- [28] 陈同强, 李娟起, 田永强, 等. 贮藏时间对黄瓜双断根嫁接苗质量的影响 [J]. 中国蔬菜, 2015(9): 39 - 43.
- [29] Vu N T, Xu Z H, Kim Y S, et al. Effect of nursery environmental condition and different cultivars on survival rate of grafted tomato seedling [J]. Acta Horticulturae, 2011, 1037: 765 - 770.
- [30] 袁 伟. 亚低温对温室黄瓜生长发育及产量的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2006.
- [31] 赵锋亮. 长期夜间亚低温和长期昼间亚高温对茄子生长发育的影响 [D]. 郑州: 河南农业大学, 2008.
- [32] 韩晓燕, 别之龙. 不同温度处理对嫁接黄瓜幼苗生理特性的影响 [J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 219 - 226.
- [33] 赵渊渊, 董春娟, 尚庆茂. 夜温对番茄套管嫁接苗愈合的影响 [J]. 西北植物学报, 2015, 35(3): 493 - 499.
- [34] 温志为. 不同嫁接方法对橄榄成活率及生理影响比较研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2010.
- [35] Leea J M, Kubotab C, Tsao S J, et al. Current status of vegetable grafting: diffusion, grafting techniques, automation [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 127: 93 - 105.
- [36] Ranjith K, Victor J, Ilango R. Impact of grafting methods, scion materials and number of scions on graft success, vigour and flowering of top worked plants in tea (*Camellia* spp.) [J]. Scientia Horticulturae, 2017, 220: 139 - 146.
- [37] Parlak S. Clonal propagation of mastic tree (*Pistacia lentiscus* var. *chia* Duham.) in outdoor beds using different rootstock and grafting techniques [J]. J Forest Res, 2018, 29(4): 1 061 - 1 067.
- [38] Yuan H W, Zhao L, Chen J J, et al. Identification and expression profiling of the *Aux/IAA* gene family in Chinese hickory (*Carya cathayensis* Sarg.) during the grafting process [J]. Plant Physiol Bioch, 2018, 127: 55 - 63.

(责任编辑: 郭学兰)