

## 香榧不同微型嫁接方法初探

谷红霞, 叶雯, 钱宇汀, 叶晓明, 戴文圣

(浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300)

**摘要:** 为探明香榧 *Torreya grandis* ‘Merrillii’ 微型嫁接最适宜的方法, 提高香榧繁殖系数, 以榧树实生幼苗和未形成顶芽的香榧嫩梢为研究对象, 采用劈接、钻孔接和腹接 3 种方法, 设计接穗留叶 2 片、4 片、6 片, 接穗保留/摘除顶端等试验, 研究不同微型嫁接香榧苗的萌发动态、成活率和生长状况。结果表明: 劈接法嫁接的香榧苗, 在萌芽动态、嫁接工效与生长状况方面都具有较明显的优势, 嫁接 15 d 后接穗露白, 成活率高(89.7%), 接穗新梢生长量大; 但在粗度增加量、新枝数和新茬数等指标上无显著差异( $P>0.05$ )。接穗留叶数量对嫁接苗的成活率也有影响, 以 4~6 片为宜; 短期内接穗保留顶端的嫁接苗更易成活。综合来看, 接穗摘除顶端, 留叶 4~6 片, 用劈接法嫁接最适宜香榧微型嫁接。图 3 表 4 参 17

**关键词:** 森林培育学; 香榧; 微型嫁接; 劈接; 钻孔接; 腹接

**中图分类号:** S723.2      **文献标志码:** A      **文章编号:** 2095-0756(2018)01-0183-06

## Micrografting methods with *Torreya grandis* ‘Merrillii’

GU Hongxia, YE Wen, QIAN Yuting, YE Xiaoming, DAI Wensheng

(State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

**Abstract:** To confirm the best micrografting method and improve the propagation coefficient of *Torreya grandis* ‘Merrillii’, seedlings which were not lignified and sprigs with no *T. grandis* ‘Merrillii’ terminal bud were prepared for an experiment to study dynamic germination changes, survival rates, and growth conditions. Different micrografting techniques with scions having 2, 4, and 6 pieces of leaves as well as scions with and without terminal buds were used. The micrografting methods design with treatments of cleft grafting, drill grafting and side grafting and 3 replications. Every treatment was randomly selected 30 seedlings to statistics and analyze. Results showed that cleft grafting of *T. grandis* ‘Merrillii’ seedlings had more advantages. The scions germinated after being grafted 15 d, and the grafting survival rate was high (89.7%) which was significant difference under the LSD significance test method with the other two micrografting methods at  $P=0.05$ . Also, the cleft grafted seedlings which growth of new shoots was greater, but the coarseness of growth, the number of new branches and stubble, and the number of new crops and leaves showed no significance differences at  $P=0.05$ . This study showed that micrografting seedlings of scions without terminal buds were more likely to survive in the short term, but in the long run, cleft grafting with scions removed on terminal buds and with 4 to 6 pieces of leaves was the most suitable for growth of *T. grandis* ‘Merrillii’. [Ch, 3 fig. 4 tab. 17 ref.]

**Key words:** silviculture; *Torreya grandis* ‘Merrillii’; micrografting; cleft grafting; drill grafting; side grafting

香榧 *Torreya grandis* ‘Merrillii’ 是红豆杉科 Taxaceae 榧属 *Torreya* 榧树 *Torrent grandis* 经人工选育和嫁接繁殖栽培的优良变异品种。香榧的实生亲代性状易出现分离或变异, 不能保持优良单株的栽培和品质特性<sup>[1]</sup>; 生产上多用嫁接繁殖, 常见方法是用 2 年生以上的实生大苗进行嫁接, 也有的用砧嫁接

收稿日期: 2017-02-27; 修回日期: 2017-03-20

基金项目: 中央财政林业科技推广示范项目(2016TS02); 浙江省科学技术重点研发计划项目(2016C02052-12)

作者简介: 谷红霞, 从事经济林培育与利用研究。E-mail: 1508225999@qq.com。通信作者: 戴文圣, 教授, 博士, 从事经济林良种选育与栽培、生理、生态学研究。E-mail: dai\_wensheng@163.com

法嫁接<sup>[2-5]</sup>。但传统方法采穗困难、嫁接速度慢、嫁接受季节限制等问题,使得香榧繁殖系数低、育苗成本高,制约了香榧产业的发展。近年来,有人将组培得到的香榧优株枝段用腹接法嫁接到当年播种的实生砧木上,即进行嫩枝嫁接<sup>[6-7]</sup>,可使其成活率达83.3%,为香榧开展微型嫁接作了有益的探索。微型嫁接是指把母株或试管苗上切取的茎尖嫁接到幼苗或试管苗上的嫁接技术,该技术早见于草本植物的茎尖嫁接,20世纪70年代MURASHIGE等<sup>[8]</sup>将其应用到木本植物的脱病毒植株的培养上,随后陆续在腰果 *Anacardium occidentale*<sup>[9]</sup>和马来沉香 *Aquilaria malaccensis*<sup>[10]</sup>上得到应用;在中国,该项技术主要应用于柑橘 *Citrus reticulata*<sup>[11-12]</sup>,梨 *Pyrus bretschneideri*<sup>[13]</sup>,樱桃 *Prunus avium*<sup>[14-15]</sup>等果树的育种和高品质苗木大量快速繁殖,在针叶树种尤其是香榧中鲜见报道。本研究探讨了不同微型嫁接方法、接穗留叶数量、顶端去留等措施对香榧嫁接苗成活和生长的影响,提高香榧良种繁殖系数,降低育苗成本,实现工厂化育苗,为探索香榧良种快繁新技术,解决香榧生产上良种苗木供应短缺的问题提供理论和实践基础。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试验材料

1.1.1 砧木准备 试验所用砧木来自浙江省杭州市临安野草农业开发有限公司的香榧育苗基地。于2015年10月采收榧树种子,采用塑模拱棚、湿毛毡布覆盖层积催芽;翌年1月,挑选刚露胚根或种壳开裂种子播种到无纺布营养钵中;即将展叶时,选取生长势相对一致的榧树实生小苗备用。

1.1.2 接穗采集 试验所用接穗采自浙江农林大学香榧基地。于2016年4月在香榧母树上采集未形成顶芽、未木质化或半木质化的当年生嫩枝作接穗,截取长度为2~3 cm,留叶4~6片,一半保留顶端,另一半摘除顶端,随采随接。

### 1.2 试验方法

1.2.1 嫁接方法<sup>[16]</sup> 本试验采用劈接(图1A),钻孔接(图1B)和腹接(图1C)等3种微型嫁接方法,60株·方法<sup>-1</sup>。①砧木处理。采用劈接和钻孔接时,先将榧树实生小苗距离幼茎基部2~3 cm处剪断、削平;劈接时用刀片沿砧木中间向下切1 cm长的切口;钻孔接时用镊子从上而下垂直在砧木中间钻出孔径1 mm,深1 cm的小孔。腹接时砧木不剪,在离幼茎基部2~3 cm处用刀片从上而下斜切至中部,切口长约1 cm。②接穗处理。劈接用接穗,将香榧穗条用11号手术刀片削成两面等长、剖面长约1 cm的楔形;钻孔接时将接穗削成圆锥形;腹接用穗条削成一面长、另一面短的马耳形。③插穗包扎。将处理好

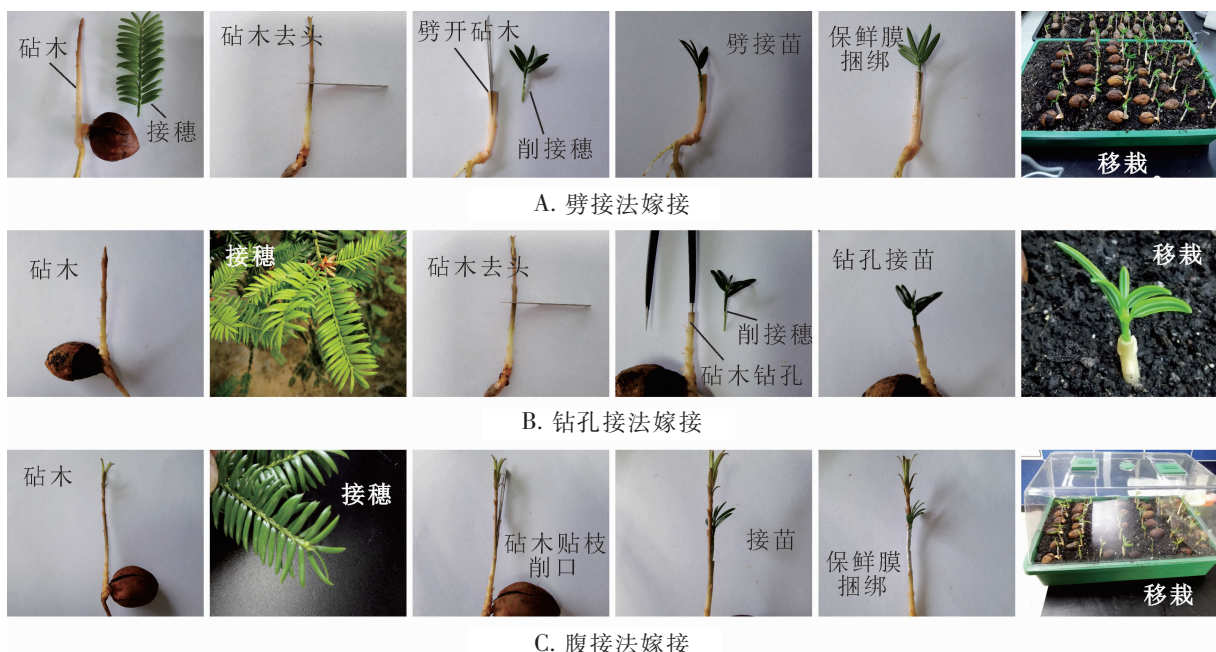


图1 不同微型嫁接方法流程

Figure 1 The micrografting methods of *Torreya grandis* 'Merrillii'

的穗条插入切开的砧木中，用宽约 1 cm 的保鲜膜将接口捆严绑紧。④接后管理。将嫁接苗置于装有基质湿度为 90% 左右条件一致的育苗盒里自然生长，统一管理。腹接苗待到接穗萌动后截掉砧木上部。

1.2.2 接穗类型 ①留叶数量。分别设置在穗条上留 2, 4, 6 片叶片等 3 种处理。②顶部处理。设置穗条摘顶和穗条留顶 2 种处理。③嫁接时间。为保证试验结果的重复性，在 4 月 14 日首次嫁接后，于 4 月 15 日，4 月 18 日又进行 2 次嫁接，共 3 次重复。

### 1.3 指标测定

1.3.1 接穗萌发动态及生长量测定 嫁接苗于嫁接当天测量接穗高度、接穗粗度和砧木粗度。在嫁接后 15, 30, 45 和 60 d 记录嫁接苗新梢萌发情况；90 d 后，考虑到嫁接苗成活率，随机选取 30 株再次测量，并记录其新增枝条数、新增叶片数和新茬数。嫁接后 1 a，对不同接穗类型嫁接苗的地径，苗高和新茬数进行测定比较。

1.3.2 嫁接成活率观测 记录不同留叶数量的嫁接苗株数，同时记录嫁接速率(株·h<sup>-1</sup>)；45 d 后调查成活株数，并统计成活率，计算嫁接工效。

### 1.4 数据处理及分析

采用 Excel 2010 对所测数据进行整理及图表绘制，用软件 SPSS 17.0 对数据进行方差分析，利用最小显著差(LSD)法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同嫁接方法对嫁接苗萌发生长的影响

不同嫁接方法下嫁接苗萌发动态的观测结果见表 1。嫁接 15 d 内，多数嫁接苗均未萌动，特别是钻孔接苗，全部处于未萌动状态；15 d 后，劈接和腹接接穗已有少量露白迹象，说明这些嫁接苗已经成活并且开始生长；此时钻孔接的嫁接苗还未露白，说明采用此法嫁接的接穗与砧木之间的愈合时间较长，恢复生长较迟缓。嫁接 30 d 后，钻孔接苗虽然已有部分穗条开始萌动，但未萌动的比例仍然很高；嫁接 45 d 后，劈接苗和腹接苗多数都已萌动，说明此时大多数嫁接苗已成活萌发，但只有劈接苗出现展叶现象。嫁接 60 d 后，劈接苗都已展叶，钻孔接苗和腹接苗还剩少数没有露白。整体来看，用劈接法接穗萌发生长最快，腹接次之，钻孔接最慢。

不同微型嫁接方法下嫁接苗的生长动态如表 2 所示。劈接苗的接穗新梢生长量最大，腹接法次之，不同嫁接方法的差异显著( $P < 0.05$ )。钻孔接的嫁接苗新萌发枝梢的粗度较粗，与另 2 种嫁接方法差异显著( $P < 0.05$ )。腹接苗砧木粗度增长最快，显著高于劈接和钻孔接( $P < 0.05$ )。在新增枝条数和新茬数上，不同方法之间无显著差异。不同嫁接方法对嫁接苗新增叶片数的影响达到显著水平( $P < 0.05$ )，腹

表 1 香榧不同微型嫁接苗接穗萌发观测

Table 1 Germination of different micrografting seedlings of *Torreya grandis* 'Merrillii'

嫁接方法	培育时间/d	比例/%			
		未萌动	露白	萌芽	展叶
劈接	15	93.3	6.7	-	-
	30	53.3	36.7	10.0	-
	45	40.0	43.3	13.3	3.3
	60	-	-	-	100.0
钻孔接	15	100.0	-	-	-
	30	80.0	13.3	6.7	-
	45	70.0	20.0	10.0	-
	60	36.7	43.3	20.0	-
腹接	15	96.7	3.3	-	-
	30	73.4	23.3	3.3	-
	45	23.3	70.0	6.7	-
	60	6.7	53.3	26.7	13.3

说明：“-”表示未出现。



接苗新增叶片数最多,劈接次之,钻孔接最少。由此认为,用劈接法嫁接的苗木前期生长较快,较其他方法更适宜香榧微型嫁接繁殖。

表2 香榧不同微型嫁接苗生长测定

Table 2 Growth indexes of different micrografting seedlings of *Torreya grandis* 'Merrillii'

嫁接方法	新梢高度/cm	新梢茎粗/mm	砧木增粗/mm	新枝数/个	新茬数/茬	增加叶片数/片
劈接	8.16 ± 0.48 a	1.14 ± 0.13 b	0.45 ± 0.03 b	1.80 ± 0.05 a	1.37 ± 0.11 a	53.80 ± 2.26 b
钻孔接	4.58 ± 0.19 c	1.28 ± 0.19 a	0.52 ± 0.05 b	2.60 ± 0.06 a	1.20 ± 0.14 a	48.00 ± 2.70 c
腹接	6.15 ± 0.40 b	1.18 ± 0.16 b	0.84 ± 0.03 a	2.07 ± 0.07 a	1.40 ± 0.13 a	69.27 ± 2.73 a

说明:不同字母表示在0.05水平上差异显著。

图2为嫁接苗培育一定时间后的枝梢生长形态(拍摄于2016年11月25日)。由图2可知:劈接香榧苗在生长高度上有优势,腹接香榧苗存在顶芽五分枝生长现象,而钻孔接香榧苗新生嫩枝生长较为分散。

## 2.2 接穗顶端保留与否对嫁接苗生长动态的影响

接穗是否保留顶端对香榧微型嫁接苗生长动态也有影响,图3显示:接穗保留顶端的嫁接苗于嫁接后15 d就出现顶芽萌动迹象,并在后期生长中出现较多不定芽;而接穗摘除顶端的嫁接苗在嫁接后30 d左右才有不定芽开始萌动。表3为培育1 a后的嫁接苗生长动态观测图,发现接穗保留顶端与否对嫁接苗地径和新茬数的生长无明显差异,但就苗高而言,摘除顶端的嫁接苗要显著高于保留顶端的嫁接苗。

## 2.3 不同微型嫁接方法对嫁接成活率的影响

嫁接45 d后,不同嫁接方法、不同留叶数量嫁接苗的成活率统计结果见表4。劈接法接穗留叶数为4片时,嫁接苗成活率最高,达97.8%;腹接法接穗留叶数为6片时,嫁接苗的成活率达到了86.7%;无论哪种方法嫁接,接穗留叶2片的嫁接苗成活率都是最低的。综合来看,劈接法平均成活率最高,达到了89.7%,显著高于其他方法。不同嫁接方法在嫁接速率上差异不显著,但在嫁接工效上劈接法明显高于钻孔接法和腹接法,说明劈接技术容易掌握、便于操作。由此可以认为,较另2种嫁接方法而言,劈接法更适用于香榧的微型嫁接。

## 3 结论与讨论

相比于传统嫁接法应用2年生以上实生苗和生长1 a的穗条,微型嫁接法所用砧穗均取自当年,可有效缩短良种苗木培育时间,劳动强度低、可操作性强,且嫁接不受时间限制,具有很好的应用前景。与沉香 *Aguilaria sinensis* 的最适微型嫁接法研究结果不同<sup>[8]</sup>,本试验中,劈接法在嫁接苗生长量、成活率、嫁接工效上都高于钻孔接法和腹接法,且萌动较早,苗高生长量较大,因此,可认为是香榧



图2 不同微型嫁接方法下香榧苗的生长形态

Figure 2 Growthform of different micrografting seedlings of *T. grandis* 'Merrillii'



A~C. 接穗保留顶端; D~F. 接穗摘除顶端

A和D于2016年5月9日拍摄; B和E于2016年7月9日拍摄; C和F于2016年11月25日拍摄

图3 接穗顶端不同处理下的嫁接苗

Figure 3 Different micrografting seedlings with/without crown

表3 接穗是否保留顶端对培育1 a的嫁接苗生长的影响

Table 3 Growth of micrografting seedlings with/without crown after 1 year

	地径/mm	苗高/cm	新茬数/茬
保留顶端	2.99 ± 0.11 a	9.79 ± 0.58 b	2.15 ± 0.08 a
摘除顶端	3.21 ± 0.15 a	13.14 ± 1.26 a	2.20 ± 0.20 a

说明:不同字母表示在0.05水平上差异显著。

表 4 香榧不同微型嫁接苗成活情况统计表

Table 4 The survival statistics of different micrografting seedling in *Torreya grandis* 'Merrillii'

嫁接方法	保留叶片/片	嫁接株数/株	成活株数/株	成活率/%	平均成活率/%	嫁接速率/(株·h <sup>-1</sup> )	嫁接工效/(株·h <sup>-1</sup> )
劈接	2	45	36	80.0 c			
	4	45	44	97.8 a	89.7 a	40	35.88
	6	45	41	91.1 b			
钻孔接	2	20	12	60.0 b			
	4	25	17	68.0 a	66.0 b	36	23.76
	6	20	14	70.0 a			
腹接	2	30	12	40.0 c			
	4	30	23	76.7 b	68.0 b	39	26.52
	6	30	26	86.7 a			

说明：不同字母表示在 0.05 水平上存在显著差异。嫁接工效=嫁接速率×嫁接成活率/100。

微型嫁接的最佳选择。

接穗留叶 4~6 片的微型嫁接成活率较高，与苹果 *Malus domestica* 试管微嫁接保留叶片 2~4 片为宜的研究结果较为一致<sup>[17]</sup>，说明不同树种微型嫁接时接穗保留一定数量叶片有利于提高嫁接成活率，这可能与叶片功能有关，具体机制有待于进一步研究。对香榧微型嫁接苗生长的长期监测发现，保留顶端的嫁接苗萌芽较早，但后期苗高的生长显著低于摘除顶端的嫁接苗。因此，就长期生长来看，采用穗条摘除顶端的处理技术不仅可以培育高质量的苗木，而且可提高接穗利用率，降低对母树的影响，大大减低育苗成本。

本研究为香榧微型嫁接提供了方法和实践探索，填补了香榧良种栽培微型嫁接技术的空白，但砧苗培养、嫁接时间、激素应用等诸多因素需要深化研究，将进一步探索香榧微型嫁接苗的愈合机制和调控措施，构建香榧良种工厂化快速繁殖技术体系。

#### 4 参考文献

- [1] 黎章矩, 戴文圣. 中国香榧[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [2] 郭钦标, 任钦良, 马正三, 等. 香榧种砧嫁接技术的研究[J]. 浙江林学院学报, 1986, 3(1): 43 - 48.  
GUO Qinbiao, REN Qinliang, MA Zhengsan, et al. Studies on the seed-stock grafting techniques of *Torreya grandis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 1986, 3(1): 43 - 48.
- [3] 刘越秀. 香榧嫁接和人工授粉技术初探[J]. 江西林业科技, 2008(1): 34 - 35.  
LIU Yuexiu. Preliminary study on graft and artificial pollination of *Torreya grandis* [J]. *J Jiangxi For Sci Technol*, 2008(1): 34 - 35.
- [4] 吴连海, 颜福花, 姜根平, 等. 香榧实生大苗嫁接技术试验[J]. 浙江林业科技, 2013, 33(2): 67 - 70.  
WU Lianhai, YAN Fuhua, JIANG Genping, et al. Experiment on grafting of *Torreya grandis* 'Merrillii' seedling [J]. *J Zhejiang For Sci Technol*, 2013, 33(2): 67 - 70.
- [5] 王乔春. 影响苹果试管嫁接苗培育的因素[J]. 果树科学, 1996, 13(2): 79 - 83.  
WANG Qiaochun. Factors affecting the growth and survival of in vitro grafted apple [J]. *J Fruit Sci*, 1996, 13(2): 79 - 83.
- [6] 金航标. 香榧组织培养及室内嫩枝嫁接技术研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2008.  
JIN Hangbiao. Study on the Technique of Tissue Culture and the Shoot-grafting of *Torreya grandis* 'Merrillii' in Greenhouse [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2008.
- [7] 庄观山. 香榧嫁接苗培育与低产林管理[J]. 园艺与种苗, 2012(10): 9 - 12.  
ZHUANG Guanshan. Cultivation of grafted seedlings and low-yield forest management of *Torreya grandis* [J]. *Hortic Seed*, 2012(10): 9 - 12.
- [8] MURASHIGE T, BITTERS W P, RANGAN T S, et al. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clone [J]. *HortScience*, 1972, 7: 118 - 119.

- [9] MNENEY E E, MANTELL S H. In vitro micrografting of cashew [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2001, **66**(1): 49 – 58.
- [10] TORUAN-MATHIUS N, SITUMORANG J, RACHMAWATI D, *et al.* Compatibility studies of interspecific in vitro micrografting of agarwood (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) [J]. *Biotrop Southeast Asian J Trop Biol*, 2008, **15**(2): 95 – 109.
- [11] 陈如珠, 李耿光, 张兰英, 等. 提高柑桔茎尖微型嫁接成苗率研究[J]. 广西植物, 1991, **11**(1): 63 – 66.  
CHEN Ruzhu, LI Gengguang, ZHANG Lanying, *et al.* High frequency of successful grafts obtained by shoot-tip grafting in citrus in vitro [J]. *Guihaia*, 1991, **11**(1): 63 – 66.
- [12] 陈泽雄, 刘奕清, 娄娟. 利用柑橘茎段诱导不定芽改进微芽嫁接技术的研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2007, **32**(1): 57 – 61.  
CHEN Zexiong, LIU Yiqing, LOU Juan. Improvement of shoot-tip micrografting through adventitious bud induction from citrus stem explants [J]. *J Southwest China Norm Univ Nat Sci Ed*, 2007, **32**(1): 57 – 61.
- [13] 赵巍巍, 陈蕾, 曹后男, 等. 梨的试管微嫁接技术研究[J]. 安徽农业科学, 2010, **38**(2): 624 – 626.  
ZHAO Weiwei, CHEN Lei, CAO Hounan, *et al.* Study on micro-grafting in vitro of tube pear [J]. *J Anhui Agric Sci*, 2010, **38**(2): 624 – 626.
- [14] 成密红. 樱桃组织培养及微型嫁接技术研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.  
CHENG Mihong. *Study on the Technique of Tissue Culture and the Micro-Grafts of Cherry* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2006.
- [15] 成密红, 郭军战, 苏美琼, 等. 樱桃组培苗微型嫁接技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, **35**(12): 63 – 66.  
CHENG Mihong, GUO Junzhan, SU Meiqiong, *et al.* Study on the technique of micrografts of cherry [J]. *J Northwest A&F Univ Nat Sci Ed*, 2007, **35**(12): 63 – 66.
- [16] 高新一, 王玉英. 林木嫁接技术图解[M]. 北京: 金盾出版社, 2009.
- [17] 周瑞金, 杜国强, 师校欣, 等. 影响转基因苹果试管微嫁接苗成活的因子[J]. 果树学报, 2007, **24**(2): 215 – 217.  
ZHOU Ruijin, DU Guoqiang, SHI Xiaoxin, *et al.* Studies on factors affecting survival rate of micro-graft in vitro in transgenic apple [J]. *J Fruit Sci*, 2007, **24**(2): 215 – 217.