

优质葡萄品种组培快繁育苗工厂化技术研究

何家涛

(襄樊职业技术学院 生物工程系, 湖北 441021)

摘要: 本实验研究探讨了葡萄组培中的外植体诱导建立无菌繁殖系; 外植体生长分化和增殖培养基的筛选; 壮苗生根及驯化移栽等关键技术环节, 从而使优质葡萄品种组培快繁工厂化大规模育苗成为可能。

关键词: 葡萄; 组培; 快繁

中图分类号: S336 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-914X(2002)01-0016-04

葡萄(*Vitis Vinifera*)是温带地区著名水果, 其种植面积和产量在果树中居第二位, 近年来, 在我国农业产业结构调整中, 许多地区因其产量高, 营养价值高, 种植效益好而列为优先发展产业项目, 葡萄名、优、新品种苗木的需求量大增, 用常规繁殖方法难于满足, 而用组培快繁则可在短期内提供大量名、优、新品种苗木, 以促进葡萄产业发展。

本实验采用目前广泛推广的产量高, 果粒大, 品质好, 耐储运的中晚熟葡萄名优品种红地球[(Red Globe)又名晚红、红提]为材料, 以探讨葡萄组培快繁工厂化大规模育苗的技术环节, 材料引自中科院郑州果树研究所。

1 葡萄外植体诱导及建立无菌繁殖系研究

1.1 不同灭菌时间对外植体诱导成活率影响的研究:

1.1.1 材料与方法

从田间取生长旺盛的葡萄品种红提新梢顶端 1—2cm 茎尖或带芽茎段, 用自来水冲洗, 用饱和洗衣粉浸泡 10 分钟, 再用自来水冲洗干净, 然后在超净台上按不同方式进行表面灭菌, 接种在 1/2MS(无机盐减半) + BA $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + 琼脂 $7.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $30\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基中, 每处理接种 50 瓶(培养瓶 100mL), 每瓶接种一个材料, 三周后统计诱导成活率。培养室温度: $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照时间: $12\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$, 光照强度: 2000Lx (培养条件下同)

表(1) 不同灭菌方式及时间对外植体诱导成活率的影响。

灭菌方式	时间(min)	接种数	成活数	成活率(%)
0.1% HgCl_2	6	50	4	8
	8	50	12	24
	10	50	28	56
	15	50	26	52
	20	50	3	6
75% 酒精 30s + 0.1% HgCl_2	10	50	23	46
5% 次氯酸钠 3min + 0.1% HgCl_2	2	50	20	40

收稿日期: 2001-10-19; 修回日期: 2001-11-26

作者简介: 何家涛(1970-), 男, 湖北宜城人, 襄樊职业技术学院生物工程系讲师, 从事植物生理及组织培养研究。

1.1.2 结果与分析

表(1)反应:选用 0.1% HgCl₂ 不同灭菌时间对外植体诱导成活率影响较大。灭菌时间为 6-8 分钟时,因时间短,不能杀死所有病菌,灭菌不彻底,几乎全部污染;灭菌时间延长至 12-15 分钟,诱导成活率越来越高;之后,由于灭菌时间过长,对材料伤害加重,导致诱导成活率下降。因此,灭菌时间以 12-15 分钟最好。选择用 75% 酒精 30s + 0.1% HgCl₂ 10 min 和 5% 次氯酸钠 3 min + 0.1% HgCl₂ 2 min 灭菌,亦取得较好的灭菌效果和诱导成活率。

2 葡萄外植体生长分化及增殖培养基筛选研究

2.1 培养基不同激素含量水平对葡萄外植体诱导分化及增殖影响的研究:

2.1.1 材料与方法

选择用 1/2MS(无机盐减半)为基本培养基,取带二芽一叶茎段接种于不同激素种类及含量的培养基上,所有培养基均加琼脂 7.0g·L⁻¹,蔗糖 30g·L⁻¹,PH=5.8-6.2,每处理接种 50 瓶,每瓶接种三个材料,四周后从各处理中随机取 10 瓶统计增殖率,并进行统计分析。

2.1.2 结果与分析

表(2)培养基不同激素含量水平对外植体生长分化增殖的影响:

培养基种类	生长分化状况	增殖率
1/2MS+BA2.0+NAA0.01	一周后分化乳白色疏松愈伤组织,约半月左右,腋芽始萌动,长势旺。	3.5
1/2MS+BA2.0+NAA0.1	培养物反应不明显,芽不活动。	1.0
1/2MS+KT2.0+NAA0.1	愈伤组织乳白色,腋芽萌动,长势不旺。	2.5
1/2MS+BA1.0+IAA0.5	培养物反应不明显。	3.0
1/2MS+BA3.0+IBA0.1	一周后出现愈伤组织,结构致密,浅绿色,分化不定芽丛。	5.6
1/2MS+BA1.5+IBA0.1	一周后出现愈伤组织,结构致密,浅绿色,分化不定芽。	5.4
1/2MS+BA0.5+2.4-D0.1	愈伤组织乳白色发达,疏松,无不定芽分化。	1.0

由表(2)可知培养基激素种类及含量水平不同,葡萄试管苗生长分化及增殖率存在明显差异,其中以 1/2MS+BA3.0+IBA0.1 和 1/2MS+BA1.5+IBA0.1 增殖率最高。统计分析结果:二者同其它处理间存在 p=0.01 水平显著或极显著差异。

2.2 不同基本培养基对葡萄中间繁殖体分化增殖的影响。

2.2.1 材料与方法

葡萄红提品种继代增殖中,若长期以 1/2MS 为基本培养基,则瓶苗长势呈下降趋势,并出现枯叶现象,成为葡萄组培快繁大规模工厂化育苗的障碍因素。取带二芽一叶的茎段接种于不同基本培养基上,每处理接种 50 瓶,每瓶接种三个材料,从各处理中随机取 10 瓶,观察瓶苗长势、长相并统计平均增殖率,作统计分析。

2.2.2 结果与分析

表(3)不同基本培养基对葡萄生长分化、增殖的影响:

基本培养基种类	生长分化状况	增殖率
1/2 MS	瓶苗长势一般,出现枯叶现象	3.5
MS	瓶苗长势一般,出现枯叶现象	3.5
改良 MS(肌醇 10mg/L)	瓶苗长势一般,无枯叶现象	3.8
B5	瓶苗长势旺,无枯叶现象	3.6

由表(3)可知:换用 B5 或改良 MS 可消除葡萄品种红提继代增殖中出现的枯叶现象,统计分析结果表明提高增殖率差异不显著。

3 生根技术研究

3.1 材料与方

取带二芽一叶的茎段,接种于不同激素种类及含量水平的生根培养基中,培养基均含琼脂 $7.0\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、蔗糖 $20\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $\text{PH}=5.8-6.2$ 。每处理接种 20 瓶,每瓶接种二个材料,二十天后统计生根率、生根数和根均长。

3.2 结果与分析

表(4)不同激素种类、水平培养基对葡萄试管苗生根的影响。

培养基种类	接种株数	生根株数	生根率%	根数	根均长(cm)
1/2MS + NAA0.1	40	38	95	2-3	1.0
1/2MS + NAA0.5	40	27	67.5	1-2	0.3
1/2MS + NAA1.0	40	8	20	1-2	0.3
1/2MS + IBA0.1	40	38	95	3.0	1.5
1/2MS + IBA0.5	40	10	25	1-2	0.4
1/2MS + IBA1.0	40	4	10	1-2	0.35
1/2MS + NAA0.1 + IBA0.1	40	39	97.5	3-4	2.0
1/2MS + NAA0.5 + IBA0.5	40	15	37.5	1-2	0.5
1/2MSO(不加生长素)	40	0	0	0	0

由表(4)可知:1/2MS + NAA0.1 + IBA0.1 处理生根率、根数、根长均明显优于其它处理,为促进葡萄品种红提瓶苗生根的最佳培养基配方。

4 驯苗移栽技术研究

葡萄试管苗驯化移栽是组培快繁中的重要技术环节之一,具有较高的试管苗成活率,才能使组培技术实用化。影响葡萄试管苗成活的主要因素取决于瓶苗的质量、基质种类、光照、温度、湿度的不同。

当葡萄试管苗生根三十天左右,根长 2-3cm 时,开瓶炼苗 3-5 天后,取出试管苗,洗净基部培养基,用 800-1000 倍百菌清液消毒 3-5min,种植于蛭石:珍珠岩=2:1(体积比)的基质中,保持光强 2000-2500 lx、温度 20-25℃、前期保持大气 RH:90-95%,可使炼苗成活率达 93% 以上。

参考文献:

- [1] 曹农义. 实用组织培养技术[M]. 北京:农业出版社, 1992. 352~360.
- [2] 吴力游. 果树无病毒育苗[M]. 江西:江西科技出版社, 1994. 225~260.
- [3] 庄云飞. 无机基质组培快繁葡萄技术[J]. 植物生理通讯, 2001, (4):298~299.

The Technological Research on Tissue Culture Propagating Quickly by Factorizing Growing Seedlings of High Quality Grape

HE Jia - tao

(Department of Biological engineering, Xiangfan Vocational and
Technical College, HuBei, 441021)

Abstract: This experiment researched and probed into the bacteria - free propagation system induced and established in the grape tissue culture , into the differentiation of them and the screening in the multiplicative culture medium, and into the crucial technical links in taking roots, transplanting, etc of the strong sprouts, thus it is possible to propagate the high - quality grape variety in factory and the seedlings on a large scale

Key words: grape; tissue culture; propagating quickly

(审稿:徐鸿涛 编辑:聂国朝 校对:何宪平)

新书推荐

襄樊科教书店向广大师生推荐

书 名	版 别	定 价	作 者
(一)教师角色与教师发展新探	教育科学	38.00	叶澜
(二)课程改革与课程评价	教育科学	29.50	叶澜
(三)学生自我发展之心理学探究	教育科学	30.50	叶澜
(四)中国基础教育改革的文化革命	教育科学	27.50	叶澜
(五)师生沟通的艺术	教育科学	18.20	唐思群
(六)现代教育技术走向信息化教育	教育科学	31.20	祝智庭
(七)教会学生思维	教育科学	26.00	郅庭瑾
(八)教学论与生活	教育科学	9.00	苏 J1.B. 赞科夫
(九)论教学过程最优化	教育科学	12.00	苏 .K 巴班斯基
(十)脑功能开发的理与实践	教育科学	14.00	沈德立
(十一)差异教学论	教育科学	16.00	华国栋
(十二)教师职业技能	教育科学	18.00	刘英陶
(十三)新课程中教师行为的变化	首都师大	19.80	付道春
(十四)综合实践活动课程设计与实施	首都师大	22.00	郭元祥
(十五)苏霍姆林斯基选集(1~5卷)	教育科学	280.00	苏·苏霍姆林斯基

襄樊市科教书店简介:

主 营:职业技术教育理论、科研图书、大中专院校教材、学校图书馆装备、计算机教材、执业、职称、等级考试用书、自学考试教材辅导。

供书单位:湖北省襄樊市科教书店

地 址:襄樊市襄城区檀溪路8号

邮 编:441021 电话:0710—3539734(传真)

全 称:襄樊市科教书店。

开 户 行:农行襄城区支行西街分理处

帐 号:01-451001040000236

联 系 人:刘昌平

欢迎来人来电咨询,邮购、选购