

## 山葡萄“双红”组培快繁技术的研究

纪绍辉,周延峰,汤萍,温海燕,张艳玲,朴铉哲

(延边林业科学研究院,吉林,延边 133001)

**摘要:**对山葡萄“双红”组培快繁技术的研究结果表明: B5 培养基为最佳基本培养基, BA0.03 mg·L<sup>-1</sup> + IBA0.2 mg·L<sup>-1</sup> 为最佳激素水平配比, 生根率达 100%; 年增殖次数 8.5 次, 每次增殖倍数 3.2 倍, 年增殖倍数为 27.2 倍; 移栽炼苗平均成活率为 92.5%, 圃地定植成活率可达 99.9%。

**关键词:**山葡萄; 组织培养; 快繁技术

### Research on rapid - propagation of *Vitis amurensis* sp.

Ji Shao - hui , ZHOU Yan - feng ,

TANG Ping, WEN Hai - yan, ZHANG Yan - ling, PIAO Xuan - zhe

(Yanbian Academy of Forestry Science, Yanbian 133001, China)

**Abstract:** The research on rapid - propagation of *Vitis amurensis* sp. shows following results: Taking B5 as basic medium and BA0.03mg·L<sup>-1</sup> + IBA0.20 mg·L<sup>-1</sup> as the ration of hormone level, the rooting rate could attain 100%; annual multiplication is up to 8.5 times and each time is 3.2 folds, annual multiplication fold could reach 27.2; The survival rate of transplanted seedling by hardening off is 92.5% and 99.9% of planting stock in nursery.

**Key words:** *Vitis amurensis* sp.; tissue culture; rapid - propagation technique

山葡萄 (*Vitis amurensis* Rupr) 是用途很广、经济价值极高的野生藤本果树。山葡萄的常规繁殖方法以嫁接为主, 但繁殖系数低, 费工费时。为寻求山葡萄的快繁技术, 我们从 2000 年开始以“双红”为材料对其进行组织培养技术的研究, 获得了理想的研究结果。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 试验材料

供试材料山葡萄“双红”来源于中国农业科学院左家特产研究所。4 月初, 我们从左家购

买 1 a 生苗 20 株, 定植于温室后的空地, 作为组培试验材料。4 月末至 5 月初, 山葡萄苗开始陆续萌芽抽梢, 进入正常生长状态。根据我们以往的工作经验, 外植体应视其木质化程度于 6 月中下旬剪取为宜, 若采取过早, 材料较嫩, 消毒处理不易掌握; 采取过晚, 则培养物腋芽不易抽梢。

#### 1.2 研究方法

##### 1.2.1 无菌培养的 建立

##### 1.2.1.1 外植体的 选取

外植体的选取可分为夏季和冬季两个时间。夏季选取时, 外植体应视其木质化程度于 6 月中下旬剪取为宜。入冬后采条, 应取经水培萌动的腋芽抽出的嫩枝条作为外植体。

##### 1.2.1.2 外植体的 表面消毒

收稿日期: 2006 - 06 - 15

作者简介: 纪绍辉 (1969 - ), 女, 吉林延吉人, 高工, 主要从事植物组织培养方面的研究。

外植体采取后,将叶片从叶柄基部切除,用70%的酒精棉球轻轻擦拭外植体表面,然后将枝条切成2 cm左右含单个腋芽的茎段用70%酒精冲洗30 s,再用0.1%的氯化汞溶液浸泡8~10 min并不断搅动,倒去氯化汞溶液,用无菌水冲洗3~5次,然后接种到培养基上。

### 1.2.2 培养基

试验采用的基本培养基为B5和Ms,附加不同的激素配比,IBA为0.10~0.30 mg·L<sup>-1</sup>,BA为0.01~0.05 mg·L<sup>-1</sup>。

### 1.2.3 继代增殖培养

将“双红”的无菌材料接入筛选出的最佳培养基配方中进行继代增殖,当无菌苗顶瓶时进行下一次的继代。每次继代时,把无菌苗的茎条分别切成含单芽的茎段,重新接入培养基中培养。这样便可以确定年增殖次数及增殖倍数。

### 1.2.4 炼苗与定植

春季在温室中进行炼苗。首先,将试管苗根部附着的培养基冲洗干净,以确保根部吸收通畅,避免杂菌滋生。然后,将根部用50%多菌灵配制的0.1%水溶液浸洗一下,按

5 cm×5 cm的株行距栽在装有基质(基质用55%敌克松可湿性粉剂配制的0.1%水溶液消毒)的育苗盘中,基质分别为珍珠岩、河沙、沙土。

移栽成活后,当苗高长至15~20 cm时,即可运至苗圃地定植,一个生长期后调查成活率。

### 1.3 培养条件

上述培养基中均含有蔗糖2.5%,琼脂0.6%,pH值5.8~6.0,高压灭菌(1 kg压力)18 min。培养室的培养温度为23℃~28℃,光照强度1500 Lx~2000 Lx,光暗周期12 h/12 h,空气湿度40%~50%。

## 2 结果与讨论

### 2.1 培养基筛选

经过3个周期的培养后,山葡萄“双红”外植体在不同培养基上的培养效果明显不同,见表1。通过表1可以看出:培养物在B5培养基中茎条分化率高,生长好,根数多并且粗壮;而在Ms培养基中茎条分化率低,细弱,无根或少根。因此,确定B5培养基为最佳基本培养基。

表1 外植体在不同培养基上的培养效果

基本培养基	分化率(%)	褐变死亡率(%)	后期反应
Ms	18	82	嫩茎细弱,茎条生长慢,无根、少根
B5	100	0	嫩茎较粗壮,茎条生长快,根多、粗壮

\* 以当年萌生半木质化茎段作外植体,附加激素为IBA0.10 mg·L<sup>-1</sup>+BA0.02 mg·L<sup>-1</sup>。

表2 组培苗在不同激素水平配比培养基上的生长效果

激素水平组合 (mg·L <sup>-1</sup> )	茎条生长节数 (个)	诱导生根速度 (d)	生根数量 (条)	生根率(%)
BA(0.01)+IBA(0.10)	1~2	20	1~2	37.9
BA(0.01)+IBA(0.20)	1~2	19	1~2	42.3
BA(0.01)+IBA(0.30)	1~	17	2~3	47.1
BA(0.03)+IBA(0.10)	2~3	14	2~4	54.9
BA(0.03)+IBA(0.20)	3~4	9	5~7	100.0
BA(0.03)+IBA(0.30)	2~3	16	2~4	63.7
BA(0.05)+IBA(0.10)	1~2	20	1~2	42.7
BA(0.05)+IBA(0.20)	1~3	16	2~4	53.9
BA(0.05)+IBA(0.30)	1~2	19	2~3	46.7

在 B5 基本培养基中分别附加九种不同配比的激素组合进行试验,经过 5 个周期的培养后,组培苗在不同激素水平配比的培养基上的生长效果存在显著差异,见表 2。通过表 2 可以看出,在  $BA0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  激素水平配比的培养基上,中间繁殖体在每个培养周期中,10 d 左右就可以生根,茎条生长快,根数多并且粗壮,生根率可以达到 100%;而在其他激素水平配比的培养基上,中间繁殖体都出现了不同程度的茎条细弱、生长慢、无根或少根等现象。因此,确定  $BA0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  为最佳激素水平配比。

## 2.2 继代增殖

无菌材料接种在  $B5 + BA0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 2.5\% + \text{琼脂 } 0.6\%$  的培养基上,含单芽的茎段培养 10 d 左右即可生根,同时腋芽抽梢伸长,6 周后无菌苗开始顶瓶,此时应重新继代。因此,我们认为山葡萄“双红”的继代周期为 6 周,以此计算,则全年的增殖次数为 8.5 次。继代时将无菌苗切成含单芽的茎段,重新接入培养基中培养。这样,每次继代时一株无菌苗所切成的段数即为每次的增殖倍数。在我们的试验中平均每次的增殖倍数为 3.2 倍,而年增殖次数为 8.5 次,则每株无菌苗年增殖倍数为 27.2 倍。

## 2.3 移栽炼苗

表 4 移栽炼苗成活率的调查

基质	移栽数量 (株)	成活数量 (株)	移栽成活率 (%)
珍珠岩	240	233	97.1
沙土	240	188	78.3
河沙	240	152	63.3

当组培苗即将顶瓶、初步形成根系后,即可进行移栽炼苗。移栽后应浇透水,并用塑料布将育苗盘罩好,以确保小苗周围的空气湿度达到 90% 以上,温室的温度应控制在  $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$  范围内。1 周后再将塑料布逐渐打开,以达到通风透气的目的。1~2 周小植株陆续长出须根,生长基本稳定,可以进行移栽炼苗成活率的调查。山葡萄组培苗不同基质移栽炼苗的成活情况见表 4。

从表 4 中可以看出,当基质为珍珠岩时组

培苗移栽的成活率最高,可达 97%。因此,确定珍珠岩为移栽炼苗的最佳基质。另外,移栽炼苗时还应该注意,当试管苗根长 1~2 cm,尚发白时移栽最好,若待其长出侧根,而且颜色变为褐色时再移栽,成活率则较低。

当组培苗在育苗盘中炼苗成活后,可将小苗移至基质为腐殖土:河沙 = 7:3 的  $10 \text{ cm} \times 10 \text{ cm}$  营养钵中继续锻炼。此时,应浇透水,注意遮阴,控制湿度,加强通风,待小苗长出新叶时,说明根系的生理功能已恢复并不断增强,可以进行成活率调查。

2003 年 4 月移栽 6 438 株,8 月中旬调查,成活 6 026 株,成活率为 93.6%。2004 年 4 月移栽 5460 株,8 月中旬调查,成活 4 987 株,成活率为 91.3%。平均移栽成活率为 92.5%。

## 2.5 圃地定植

当苗高长至 15~20 cm 时,即可运至苗圃地定植。运输过程中切勿将苗木地上部分碰伤,而且车箱上面要用塑料布覆盖以防苗木失水。定植最好在阴天进行,否则要采取遮阴措施。定植时,将苗木带土轻轻从营养钵中取出,植于栽植穴中,培土时超过根际 1~2 cm 即可,不要埋得过深。可按行距 50 cm,株距 40 cm 栽植,定植后必须浇透水,以后可按天气情况掌握浇水次数。

2004 年 8 月 25 日定植山葡萄“双红”组培苗 4 500 株。翌年春进行抽样调查,成活 4 496 株,定植成活率为 99.9%。

## 3 结论

3.1 B5 培养基是山葡萄“双红”组培快繁的最佳基本培养基,在附加  $BA0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,茎条生长快,根数多并且粗壮,生根率可以达到 100%,增殖与生根同步进行,操作简便。

3.2 按上述方法进行山葡萄“双红”组培快繁,年增殖次数可达 8.5 次,平均每次增殖倍数为 3.2 倍,每株无菌苗年增殖倍数为 27.2 倍,完全符合工厂化无性快繁的要求。

3.3 山葡萄“双红”组培苗在以珍珠岩为移栽基质时,移栽炼苗的成活率最高可达 97%;山葡萄“双红”组培苗的移栽平均成活率为 92.5%;圃地定植的成活率为 99.9%。