

无核白鸡心葡萄组培快繁技术研究

李风光, 娄汉平, 吴丽敏

(辽宁省铁岭农业职业技术学院园艺系, 辽宁 铁岭 112001)

摘要:该试验采用无核白鸡心葡萄秋季副梢的茎段为外植体,最佳的取材时间为9月中旬,适宜的基本培养基为 B5+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+3%蔗糖+0.6%琼脂, pH 值调至 5.8~6.0, 为无核白鸡心葡萄茎段离体培养的最佳启动萌芽培养基; B5+IBA 0.5 mg/L+3%蔗糖+0.6%琼脂, pH 值调至 5.8~6.0, 为最佳增殖生根培养基, 生根率达 98%。试管苗根长 3~4 cm 时开始移栽, 移栽成活率 90%。

关键词:无核白鸡心葡萄; 组织培养; 快繁

葡萄的组培培养过程可分为四种类型, 即无菌短枝型、丛生芽增殖型、器官发生型和胚状体发生型。其中无菌短枝型的培养方法最早由 Galzy(1966)报道的, Galzy 将待繁殖的材料剪成带一叶的单芽茎段, 转入成苗培养基, 一定时间后成苗, 再剪成带一叶的单芽茎段, 继代又可成苗。这种方法可以一次成苗, 遗传性状稳定, 培养过程简单, 适用范围大, 移栽易成活。这是葡萄试管繁殖最常用, 也是其他方法最后阶段的常用方法。我们在采用这种方法的过程中, 发现外植体在灭菌的过程中有污染率高的问题, 这可能主要由于外植体是直接采自田间和外植体较大的原因。为此, 我们在这种节培法的基础上进行了一些改进, 即外植体采用秋季的副梢, 使冬芽萌发, 用冬芽萌发后的嫩芽用节培法繁殖, 使污染率大大降低。

1 材料与方法

1.1 试材的选择与处理

试材采自铁岭农业职业技术学院园艺系葡萄园的无核白鸡心葡萄, 外植体选用葡萄的夏芽副梢茎段, 外

植体采集时间为9月中旬至10月初。取无核白鸡心葡萄带有冬芽的夏芽副梢, 剪取距顶端 3~5 节的茎段, 采后立即去掉叶片, 装入塑料袋中, 带回实验室, 用自来水冲洗 1~2 h, 再用洗洁精稀释液洗涤枝条 4~6 次。在无菌条件下用 70% 酒精浸泡 30 s, 用 0.1% 升汞溶液浸泡 16~18 min, 再用无菌水冲洗五六次后, 将枝条剪成带 1 个冬芽的茎段, 长 1~2 cm, 接入初始培养基中。当萌发的外植体长到 1~2 cm 时, 接入筛选出的增殖生根培养基中进行继代培养, 当长到 3~4 cm 时, 再次进行继代或移栽。每种处理有 24 瓶(150 mL 三角瓶), 每瓶接 4 个茎段。

1.2 适宜激素组合的筛选

初始培养基用 B5 做基本培养基, 分别添加 0.5、1.0、2.0 mg/L 6-BA 和 0.1、0.3、0.5 mg/L IBA, 进行激素配比试验, 筛选出适合外植体启动分化的培养基。增殖生根培养基用 B5 为基本培养基, 分别配加 6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L、6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L、6-BA 0.02 mg/L+IBA 0.5 mg/L、IBA 0.5 mg/L, 制成增

收稿日期:2006-01-09

作者简介:李风光(1960-),男(蒙古族),辽宁省法库县人,现为铁岭农业职业技术学院园艺系主任,副教授,主要从事园艺、观赏园艺教学及研究工作,(电话)13998102082,(电子信箱)louhanping@126.com。

降低近 3℃,但仍高于冷水滴灌的两个处理。

2.4 蓄热式滴灌使葡萄生长发育期提前

表 3 结果表明, 巨峰葡萄在蓄热式滴灌条件栽培下各个物候期都较对照提前。萌芽期比对照提前 2~4 d,

表 3 不同处理对葡萄物候期的影响 月-日

物候期	蓄热式滴灌	冷水滴灌(对照)
萌芽期	02-02-02-03	02-04-02-07
开花期	03-08-03-10	03-13-03-15
转色期	05-19-05-22	05-26-05-29
成熟期	06-15-06-17	06-20-06-22

开花期提前约 5 d, 转色期提前约 7 d, 成熟期提前约 5 d。

3 小结

蓄热式滴灌缓冲了温室 1 天内气温的急剧变化, 特别是夜间急剧降温的现象得以缓解, 减轻了急剧降温对植物生长的不利影响。蓄热式滴灌在灌溉后能提高地温, 避免冷水灌溉后土壤温度急剧下降, 特别是傍晚灌溉, 夜间地温的提高有利于植物根系的正常吸收和树体的生长发育, 物候期提前, 果品可提早上市。

蓄热式滴灌上水自动化, 节省了人工, 降低了生产成本。

殖生根培养基,比较对增殖生根的影响。培养基中均加入3%蔗糖、0.6%琼脂,pH值调至6.0。培养条件为光照强度2500 lx,每日光照16 h,温度25~27℃。

1.3 试管苗移栽

试管苗的移栽在保护地内进行。在试管苗进行移栽前要进行炼苗,首先进行光培炼苗。培养室培养的试管苗高达瓶口,当试管苗根长达3~4 cm,有三四枚正常叶片时,连培养瓶转入温室或大棚内,去掉瓶塞,在干净的温室中,2×10⁴~4×10⁴ lx自然光下炼苗3~7 d。当其从瓶口伸出油亮的叶片,幼茎呈淡红色时即可出瓶,进行沙培炼苗,沙培在备有下铺电热线并能调节温度的沙床上进行。阴天或傍晚,将培养瓶内的幼苗轻轻倒出,洗去根上附着的培养基,栽入沙床后,搭好临时小拱棚。最初3 d,棚内温度保持25±2℃,最高不超过30℃,最低不低于20℃,相对湿度保持90%~95%,光照强度为7×10³~1×10⁴ lx,夜间或阴天要人工补充光照。3 d后降低棚内湿度到70%~80%,光强逐渐增加到4×10⁴ lx。六七天完全拆除临时拱棚,进行温室营养袋炼苗。经沙培的合格苗,小心挖出,在空气湿度不低于70%、温度不高于20~25℃、无直射光下,栽入肥:沙:腐熟有机肥为1:1:0.2的营养钵中。栽于营养钵中的苗,扣棚的最初几天,温度、湿度、光照的要求和管理同沙培苗。

最后进行露地苗圃移栽。选疏松肥沃、排灌方便、距温室较近、日照良好的地块作为苗圃地,按一般营养钵苗进行移栽及管理即可。移栽于苗圃地的幼苗应保证有3个月的生长期,并及时打顶去副梢,促进枝芽成熟。

2 结果与分析

2.1 适宜茎段萌芽的激素组合

用6-BA和IBA对外植体进行启动培养后,发现3 d后有芽萌发。第10 d观察,加有1.0和2.0 mg/L 6-BA的生长情况都较好;6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L生长情况最好,平均每个茎段有3个芽萌发,平均生长量

为1.6 cm。因此认为,B5+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L是无核白鸡心葡萄启动芽萌发的最适培养基(表1)。

表1 添加不同浓度6-BA和IBA对无核白鸡心葡萄萌芽的影响

B5培养基中新加激素(mg/L)		芽萌发所需天数 (d)及萌芽数(个)	10 d后芽的平均 长度(cm)
6-BA	IBA		
0.5	0.1	8(1.4)	0.5
0.5	0.5	6(1.5)	0.8
0.5	1.0	7(1.8)	1.0
1.0	0.1	6(2.0)	1.2
1.0	0.5	5(2.1)	1.3
1.0	1.0	6(2.2)	1.2
2.0	0.1	5(2.7)	1.4
2.0	0.5	3(3.0)	1.8
2.0	1.0	4(2.8)	1.6

2.2 适宜增殖生根的激素组合

增殖生根培养基中加有6-BA时,虽然分枝较多,增殖系数大,但愈伤组织和根系生长均较慢,生根率、平均生根数和平均根长均较小。在加有IBA 0.5 mg/L的培养基中,增殖系数较高,生根率、均生根数和平均根长最大。因此,B5+IBA 0.5 mg/L最适合增殖生根(表2)。

表2 不同培养基对无核白鸡心葡萄增殖生根的影响

B5培养基中新加激素 (mg/L)		平均生根数 (个)	平均根长 (cm)	增殖系数	生根率 (%)
6-BA	IBA				
1.0	0.5	1.6	1.3	4.6	75
0.5	0.5	1.3	1.0	6.2	68
0.02	0.5	2.0	2.1	5.1	96
0	0.5	2.5	2.6	5.5	98

注:接入增殖生根培养基后第30天调查结果。

3 小结

本试验由于取材时间是在秋季,茎段的成熟度高,因而可忍耐较长时间的升汞处理。试验表明,基本培养基B5+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L和B5+IBA 0.5 mg/L,加入3%蔗糖、0.6%琼脂制成的培养基,调pH值至6.0,是无核白鸡心葡萄茎段培养的最佳促进萌芽培养基和增殖生根培养基。经过炼苗后,生根后的试管苗移栽成活率90%以上。

Fast propagation of 'Thompson seedless' by tissue culture

LI Feng-guang, LOU Han-ping, WU Li-min

(Horticulture Department of Tieling Agriculture Vocation Technology College Tieling, Liaoning, 112001, China)

Abstract: Stem sections of side autumn shoots of 'Thompson seedless' grape as in vitro plants adopted in middle September were cultured. The suitable culture medium B5+6-BA 2.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+3% suger+0.6% agar, pH was regulated 5.8~6.0. It was the best medium for in vitro culture of grape stem section for bud initiation. The medium of B5+IBA 0.5 mg/L+3% suger+0.6% agar, pH was regulated 5.8~6.0 was the best for rooting culture and rooting rate could reached 98%. Tube seedlings could be transplanted when they were 3~4 cm long and transplanted survival rates could reach 90%.

Key words: 'Thompson seedless' grape; Tissue culture; Fast propagation