



“紫香无核”葡萄组培微繁工厂化生产

容新民, 刘静, 高波

(新疆石河子葡萄研究所, 新疆石河子 832000)

“紫香无核”又名“新葡四号”, 是新疆石河子葡萄研究所用无核紫作父本, 玫瑰香作母本杂交选育的无核葡萄新品种。2004年4月通过了自治区农作物品种审定委员会审定命名。2004年6月, 石河子葡萄研究所采用组培微繁技术, 对“紫香无核”进行大规模扩繁。到2005年7月, 共生产试管苗140万株, 污染率控制在5%以下, 增殖倍数4.1倍。完成大田栽植42万株, 成活率99%以上。现将快繁技术简介如下:

1 工艺流程 (见图1)

2 生产过程

2.1 建立组培苗无性系和初代培养

2.1.1 培养基筛选

参照酿酒葡萄、红地球、木纳格、藤稔等葡萄品种组培培养基配方, 筛选出了适应于“紫香无核”葡萄组培生产的GS培养基。

2.1.2 外植体采集、消毒

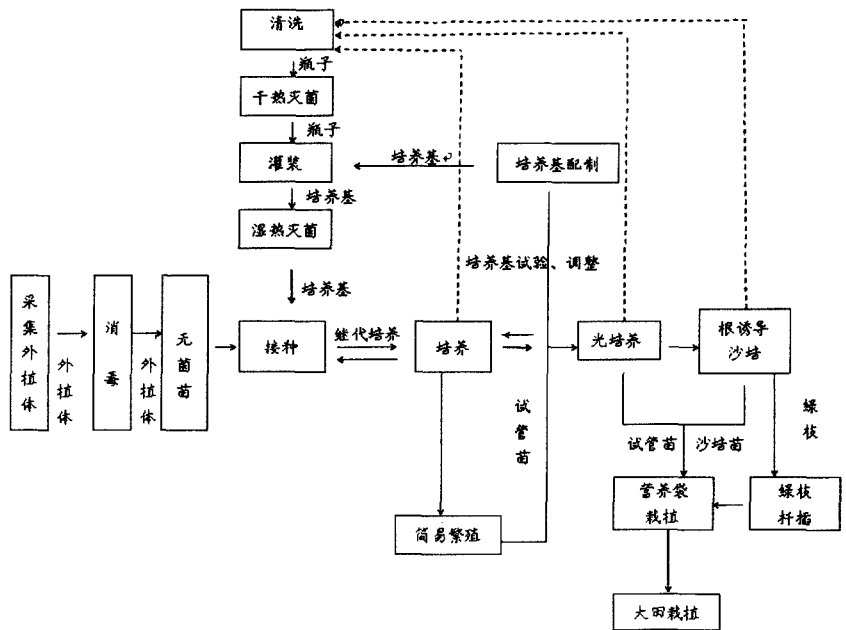
自2004年7月3日开始, 从母株上采集单芽茎段进行消毒灭菌。尽量采集距离地面1m以上的枝条顶部绿枝, 质量要求接近半木质化。采后经过无菌水冲洗5次, “84”消毒液、酒精和升汞分别进行浸泡消毒后, 再用无菌水冲洗3次后方

可接种, 然后进入初代培养。9月5日以后停止采集, 因为此后的外植体或者萌芽率低, 或者污染率高。截至9月5日, 共采集外植体3万余个, 培养“紫香无核”品种无菌苗1.5万株。

2.2 继代培养、扩繁

2.2.1 继代接种

当无菌苗在试管中长至瓶塞或培养基利用完时转接。每次接种前接种室需用70%的酒精喷雾使空气中的灰尘沉降, 并用紫外线灯



注:

- (1) 清洗、烘干: 承担组培过程中所有玻璃器皿的清洗和烘干工作。
- (2) 灌装、灭菌: 负责培养基筛选、检测、制作、灌装和灭菌工作。
- (3) 外植体采集、消毒和无菌苗的培养只在组培生产的前期进行, 可与培养基配制、灌装、灭菌等工艺同步进行。
- (4) 培养、扩繁: 承担试管苗(包括外植体)、接种、培养、继代、扩繁等工作。
- (5) 光驯化和根诱导(沙培): 用于试管苗从实验室生产环境转移到自然环境后的适应、锻炼和诱导新根。
- (6) 在沙培过程中, 可采集生长健壮的绿枝进行绿枝扦插。
- (7) 在时间不足情况下, 可省去沙培环节, 直接将完成光驯化的试管苗移栽到营养袋中。

图1 “紫香无核”葡萄组培微繁生产工艺流程



照射 20min。剪取无菌苗单芽茎段，接入继代培养基中。

2.2.2 培养室管理

将完成接种的试管苗转入培养室培养，温度 25~30℃，光照 2500~3000 lx，相对湿度 70% 以上。培养架上部温度高，下部温度低，可将新接种苗置于培养架上，继代过的试管苗放置于培养架下部，定期转动试管（玻璃瓶），使其均匀受光。试管苗 7~10d 生出新根，10d 后长出新叶。第一次继代苗在 20~25d，继代一次后的试管苗 15d 左右即可进行转接扩繁。

2.2.3 污染控制

葡萄组培大规模工厂化生产，试管苗污染难以控制，必须进行专项管理。用于培养试管苗的玻璃器皿需要 2 次灭菌，第一次在培养基灌装前，在干热灭菌箱进行干热灭菌，灭菌温度控制在 120℃，时间为 2h；第二次在培养基灌装后，用压力灭菌机进行湿热灭菌，温度控制在 120℃，时间为 20min。接种室、培养室每天早、晚各清洁 1 次，定期熏蒸消毒。培养架、玻璃器皿每周用 75% 酒精擦一遍。培养室放置加湿器，以增加空气湿度和减少空气浮尘。

2.2.4 培养基调整优化

不同批次的试管苗生长势不同，污染率不同，需对培养基进行调整和优化。连续继代的试管苗应适当加大青霉素的使用量。不需要连续继代的试管苗应适当加大生长类激素浓度，减少青霉素使用量。后期即将移栽的试管苗培养基中可增添适量的 PBO，利于试管苗健壮生长，提高移栽成活率。

2.2.5 红叶预防

“紫香无核”葡萄组培扩繁过程中，试管苗生长前期易发生红叶现象。首先是试管苗叶片变红，原叶片干枯，最后整株死亡。主要原因有 4 点：①培养室温度控制不当，室温低于 25℃ 和超过 32℃ 时，试管苗易产生红叶；②生根迟缓；③培养基中有机质含量过高；④接种操作不当。预防措施：a. 培养室温度严格控制在 25~30℃ 之间。b. 调整培养基，提高促使植物生根类激素（吡啶丁酸）浓度，降低有机质浓度。c. 强化对接种人员的管理，避免和减少接种过程中种芽在空气中滞留时间过长，酒精灯火焰灼伤种芽扦插过深或过浅等不正确的接种操作。

2.2.6 简易繁殖

培养室试管苗基数量大、接种来不及，可采用简易繁殖法。即用蛭石做基质，营养液（继代培养基母液的 1/3 浓度）和蛭石拌匀制成培养基，湿热灭菌后接种。采生长健壮茎段 2~3 节，插入基质中，在培养室培养 15~20d 左右长出新根，45d 后即可驯化移栽。污染率低于继代试管苗，成本降低约 1/3。

2.3 光驯化

试管苗在培养室处于异养环境，叶片气孔多处于开张状态，直接移栽，试管苗难以适应湿度低、光照强的自然环境。为提高其适应性，试管苗长至距瓶口 2/3 处时，需进行光驯化。每批试管苗光驯化大约需要 7d 左右。首先将试管苗从培养室移入光培养室。试管苗移入光培养室 3d 内，接受光强不超过 6000 lx，在此环境下完成

解绳和去瓶塞。3d 后光照逐渐增强，最高不超过 4 万 lx，相对湿度控制在 50% 左右。光驯化 5~6d 后，植株茎秆转红，叶片出现角质层并具有明显的向光性，叶片发亮。叶解剖观察，叶片气孔基本关闭，能够进行正常的光呼吸。一般在光驯化过程中，试管苗损失率在 5%~10% 之间。

2.4 根诱导

试管苗长时间在高湿、弱光、恒温条件下培养，生理功能不发达，适应自然土壤环境能力差，移栽前必须先在与自然环境相近的土壤环境中诱导生出具有吸收功能的新根，使其逐渐适应自然环境。

2.4.1 沙床准备

选择 pH7~8 的河沙（水洗沙），在温室内按长 5m、宽 3m、厚 0.15m 规格铺设沙床，再用 50% 多菌灵 800~1000 倍液和 0.04% 高锰酸钾溶液对沙床消毒。

2.4.2 栽苗

将完成光驯化的试管苗轻微修根后，按株距 0.05m，行距 0.15m 间距栽植于沙床，随栽随浇水，栽植完毕，用高 40cm、厚 0.5cm 玻璃将沙床四周和顶部封闭，玻璃框上覆盖塑料膜和遮阳网。

2.4.3 管理

栽植后 3d 内，玻璃框完全遮闭，空气湿度保持在 95% 以上，只允许微弱光线透入；3d 后逐渐揭除遮阳网和塑料膜，增加光照，降低湿度；7d 后玻璃框完全去除，试管苗长出新叶，为避免湿度降低过快，在玻璃框去除后 2d 内，定时对苗床喷淋清水。一般情况下，试管苗 10~15d 在沙床中长出新根。在



根诱导过程中,葡萄苗叶片和茎秆易生霉菌,可用甲基托布津和多菌灵进行预防,后期用加大通风量的方法预防病害。

2.4.4 绿枝扦插

前期沙培(根诱导)苗,可部分采集绿枝进行扦插育苗。先用河沙(水洗沙)制作沙床(规格同沙培苗),用0.1%高锰酸钾和0.1%多菌灵各消毒一遍。在生长已达半木质化的沙培苗上采集绿枝,对叶片修剪后将其扦插于沙床内,用玻璃框遮闭。扦插后玻璃框内沙床温度保持在25℃左右,湿度保持在90%以上,光照控制在1~2万lx。一般扦插后8~10d可生根,之后可逐渐提高光照强度,降低沙床湿度,并逐渐撤掉玻璃框。20d后,绿枝长出2~3片叶,可植入营养袋生长。

2.5 营养钵移栽

2005年4月初开始,陆续将沙培苗从沙床中挖出,移栽到温室营养钵中。营养土以有机质含量较高的草甸土为主,加入少量蛭石(10%),并用敌克松和多菌灵对营养土进行消毒灭菌处理。栽苗时以及栽苗后10d内,光照强度控制在2万lx以内,温度15~25℃,最高不能超过28℃,空气湿度70%~90%,栽苗时少量浇水,土壤湿度不能过高。移栽苗一般在5~7d发出新叶,7~10d产生新根。幼苗生长前期每隔5d喷布10ppm爱多收1次,共喷3次。栽植10d后,用0.3%尿素或二胺灌根,以促使幼苗生长。

2.6 大田栽植

2.6.1 炼苗

营养钵苗长有6片叶时通风炼

苗。尽量利用阴雨天开始炼苗。先从温室顶部逐渐打开通风口,通风强度逐渐提高,直至温室完全敞开。炼苗前期,要适当对苗子喷布清水。一般在温室完全敞露7d左右,即可完成全部炼苗工作。

2.6.2 栽植

在挖好的定植沟内,施入有机肥4~5m³/667m²,浇水、整沟、铺膜后进行组培苗栽植。栽植时,边栽边浇水,用喷雾器将叶片洗净,3d后再补浇1次水。

组培苗田间栽植从5月20日开始,到6月19日结束,共栽苗42万株。行株距3.5m×0.6m,栽植密度308株/667m²。建立“紫香无核”葡萄组培苗示范基地80hm²,成活率96%以上。

3 生产管理

3.1 细化分工、单独核算

整个生产过程设置了清洗、灌装、灭菌、接种、培养、光驯化、根诱导、栽植等部门,各部门细化分工,明确生产目标和责任,实行成本单独核算,提高了生产效率,降低了生产成本。

3.2 合理计划,严密组织

2005年3月葡萄组培生产达到高峰,清洗、灌装、灭菌每日生产量达到6000瓶,当日接种量达到3万株。所有工序全部启动,生产环节增多,生产线拉长。为保证生产的有序进行,首先对材料和半成品的有序进行,首先对材料和半成品在各工序上的流动量和流动时间进行严格计算,按倒退法确定生产量和流动量,生产过程中对其不断进行调整并严格控制,各工序衔接紧密,组织有序,从而保证了大批量、规模化生产的顺利完成。

3.3 实行定额计件工作制

为了提高工作效率,对个别工序(清洗、灌装、灭菌、接种等)实行定额计件工作制,要求操作人员每日必须完成最低生产定额,超额奖励,工资实行计件制并与成活率和污染率指标挂钩,充分调动了员工的积极性。人均接种量达到240瓶(1000~1200个芽),成活率达80%以上,污染率4%以下。

3.4 组织科技攻关

抽调科研技术人员,组成技术攻关小组,一方面对传统的葡萄组培生产技术进行筛选、试验、改良和优化,应用于“紫香无核”葡萄组培工厂化生产;另一方面,对生产中出现新的技术难题组织技术攻关,将试验成果直接应用于生产。

3.5 人员培训

专门成立培训机构,负责对操作人员的技术培训,包括组培基本理论、操作技法、污染控制等,采取课堂教学与岗位技术操作相结合,操作人员考核合格才能上岗。

4 结束语

植物组培微繁技术,可以广泛应用于林木、果树、花卉、蔬菜等稀有和新品种的快速扩繁,也可应用于作物脱毒生产、种质资源保护、作物育种等领域。“紫香无核”葡萄组培微繁工厂化生产,将葡萄组培微繁实验室生产技术,经过优选、改良和集成,应用于工厂化、规模化生产,取得了良好成效。由于时间短促,对生产技术和管理工作研究尚不够全面和透彻,需在今后的工作中进一步完善和提高。