

组培脱毒技术在新疆葡萄快繁育苗中的应用

张爱华,容新民,李玉国

(石河子农业科技开发研究中心组培室,新疆 石河子 832000)

摘要: 本文以优质葡萄品种紫香无核的芽作为外植体,对组织培养快速繁殖中的消毒时间、培养基的激素种类与用量等关键技术进行了系统的研究,并筛选出了最适宜的分化培养基和生根培养基,为大面积的进行组织培养脱毒提供了理论指导。

关键词: 新疆;葡萄;组织培养;脱毒技术

中图分类号: S336;663.1 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-361X(2008)02-0056-03

组织培养(Plant Tissue Culture)是应用无菌培养的方法培养植物的一个离体部分,在无菌条件下使之生长或发育的方法^[1]。组织培养作为一新兴技术和研究手段,已广泛应用于葡萄育种、葡萄种质资源保存、葡萄生产等方面^[2,3]。近10年来,新疆葡萄生产发展很快,但葡萄病毒病也迅速蔓延,严重威胁葡萄产业的健康发展。通过葡萄组培脱毒技术,可在短期内大量提供急需良种苗木,满足生产中的需求,并能有效地脱除病毒,生产无病毒苗木,实现葡萄的无毒化栽培,这将为新疆葡萄大面积的无毒化育苗提供理论指导。

1 材料和方法

收稿日期:2008-01-24

天18~20℃,夜间8~10℃;叶菜类的苗白天10~15℃,夜间3~4℃。

6.9 病虫害防治

育苗前温室、育苗容器、基质、种子等严格消毒;育苗棚室内禁止吸烟;进行各项农事操作之前,要用肥皂水洗手,以防病害传播;发现中心病株及时拔除,并喷药防治;秧苗定植喷药预防病害发生。

6.10 成苗标准

穴盘育苗一般是1次成苗,作商品苗出售应严格掌握苗龄和成苗标准。

7 出苗

1.1 供试材料

组培材料为新疆石河子葡萄研究所自育品种“紫香无核”葡萄。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒、接种

取“紫香无核”的新梢,除去叶片,保留3~4cm的单芽茎段,先用自来水冲洗10min,用蒸馏水洗涤1次,在超净工作台上用70%酒精浸泡一下,再用0.1%L汞分别浸泡3、5、7、9、11min,然后用无菌水冲洗4~5次,并以无菌滤纸吸干水分,置于双目解剖镜下,用无菌镊子和解剖针剥离幼叶和叶原基,切取0.1~0.2mm的茎尖分生组织,接种于分化培养基上进行诱导分化培养。3~4个月后转到生根培养基上培养。

1.2.2 培养基分化培养基

本实验采用了5种分化培养基的配方: A_1 :1/2MS+6-BA 1.0+1BA0.02+GA0.2; B_1 :1/2MS+6-BA0.8+1BA0.02+GA0.2; C_1 :1/2MS+6-BA1.0+1BA0.03+GA0.2; D_1 :1/2MS+6-BA0.5+1BA 0.05+GA0.2; E_1 :1/2MS+6-BA 1.0+GA 0.2。生根培养基5种: A_2 :1/2MS+IAA0.2; B_2 :1/2MS+NAA0.2; C_2 :1/2MS+IBA0.3; D_2 :1/2MS+IBA0.4; E_2 :1/2MS+IBA0.2。培养

秧苗达到壮苗标准后及时出苗。秧苗包装容器应有一定强度,可选用纸箱、木条箱或塑料箱。远距离运输装苗量不易过大,运输过程中应采取控温、保湿、防风、遮阳等措施保护秧苗。秧苗运输的适宜温度喜温:果菜为10~15℃,喜冷凉蔬菜为5~6℃。

8 育苗材料的回收和储藏

平盘和穴盘用完完后要清除基质等残留物,可用5:1的水和次氯酸钠溶液浸泡。处理后在荫凉处用薄膜密封24h,再用清水冲洗干净并放在荫凉处凉干,然后储藏在无鼠害、虫害、干燥的库房里备用。

基琼脂浓度 0.75%,蔗糖浓度 2.5%,pH 值为 5.8。

1.2.3 培养条件

培养室的温度控制在 $25\pm 2^{\circ}\text{C}$,并用双管 40W 日光灯照射 12h/d。

1.2.4 移栽

待试管苗长到 6~7cm 时,在温室或培养室中将瓶口打开,锻炼 2~3d 后,用无菌水洗净根部的培养基移栽至基质为泥炭土与砂壤土各半的塑料盆中,并用塑料膜盖好。保持室内温度 25°C 、相对湿度 100% 的小环境,每天喷水并通风 1 次,3d 后可以开一条小缝以通风,以后逐渐扩大直至全部揭开,每周浇 1 次营养液。炼苗 10d 后即可移栽入营养钵,置于温室中培养成苗。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对培养基污染和茎段褐变的影响

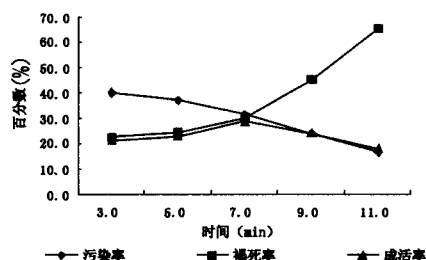


图 1 消毒时间对培养基污染和茎段褐变的影响

从图 1 可知,0.1%L 汞消毒的时间随着时间的增加,其分化培养基受污染的概率和茎段褐变的比率也不同。消毒时间与污染率成开口朝下的抛物线型,消毒处理时间长,培养基受污染的概率小,但与褐死率成开口朝上的抛物线型,消毒处理时间长,培养基茎段褐变的比率大;相反,处理时间短,培养基受污染的概率增大,而茎段褐变的比率变小。然而消毒时间与成活率成抛物线型,在 0.1%L 汞消毒 7min 时,成活率达到最大 28.6%,培养基受污染的概率和茎段褐变的比率适中而且茎段被诱导分化的成活率最高。

从图 1 中还可以看出,随着消毒时间的增加,褐死率从 3min 的 22.5% 上升到 11min 的 65.3%,增加

了 42.8%。但是随着消毒时间的增加,污染率则从 3min 的 40% 降低到 11min 的 16.7%,下降了 23.3%。由此可见,褐死率是影响成活率的主导因素,可以在试验中降低褐死率从而提高葡萄的成活率。

2.2 不同培养基对葡萄外植体高度和分化丛数的影响

表 1 是对葡萄外植体进行 2~3 个月的培养的结果,从表中可以看出,在 C_1 培养基的茎尖生长最长 4.72cm,平均分化丛数达到最大的 4.57;在培养基 E_1 茎尖长度最短 1.98 cm,分化丛数最少为 1.83。由此可见, C_1 培养基上培养的茎尖愈伤组织为紧密的绿色,而且分化丛数多、生长快、植株高。该培养基在继代培养中继续被选用,为最适分化培养基。

表 1 茎尖在不同分化培养基上的生长情况

培养基	接种株数(株)	平均高度(cm)	平均分化丛数(丛)
A_1	30	3.54	3.64
B_1	30	2.42	2.25
C_1	30	4.72	4.57
D_1	30	1.54	2.49
E_1	30	1.98	1.83

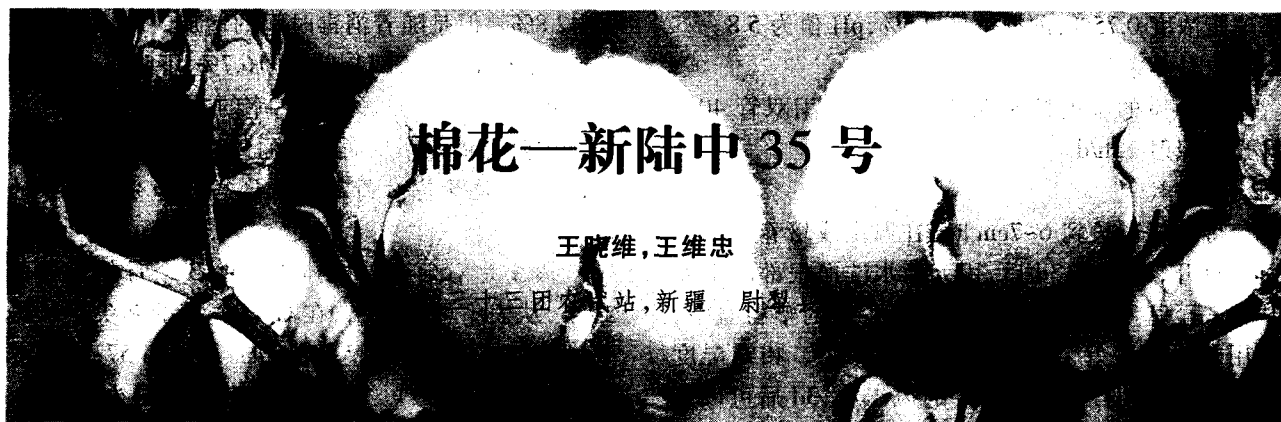
另外,还可以看出,将葡萄外植体接种在 C_1 培养基上的高度最大 4.72cm,并且 C_1 配料是:1/2MS+6-BA 1.0+IBA0.03+GA0.2,而 E_1 培养基上的高度最小只有 1.98cm, E_1 配料是:1/2MS+6-BA 1.0+GA 0.2。其中 C_1 和 E_1 配料上就是相差 IBA,这说明在培养基上增加 IBA 可以明显的增加葡萄外植体的生根,对提高接种的成活率有一定的辅助作用。

2.3 最适生根培养基筛选

适当培养基的选择是组织培养的关键,在前面大量的试验基础上,通过不同比例激素的对比选择合适的培养基。在生长素种类不同而剂量相同的 3 种培养基上培养茎尖,从试验的结果表明(见表 2),选用含 IBA 的 E_2 培养基,发根数量多且根较长,分别达到了 1.95 根和 7.10cm。这说明 IBA 对葡萄的诱导比 NAA 和 IAA 更有利,这与上个试验得到了印证。另外还发现,在均含有 IBA 而浓度不同的 C_2 、

表 2 茎尖在不同生根培养基上的生长情况

培养基	接种数(株)	高度(cm)	芽数(个)	根长(cm)	根数(根)	茎间距离(cm)
A_2	30	2.58	2.46	7.25	1.74	1.06
B_2	30	3.76	3.14	6.35	1.85	1.19
C_2	30	3.64	3.48	5.48	1.47	1.03
D_2	30	3.01	2.43	3.61	1.03	1.21
E_2	30	4.05	3.18	7.10	1.95	1.28



中图分类号:S562

文献标识码:B

文章编号:1001-361X(2008)02-0058-02

1 品种特性

新陆中35号生育期130d左右。植株筒型,叶片中等,叶色深绿,茎秆硬,抗倒伏,耐旱,耐盐碱。铃卵圆形,壳较厚。果枝始节7.3,高度21.4cm,空果枝比例19.1%,蕾铃脱落率53.9%,双铃率12.6%,果枝台数7.9台,单株结铃7.1个,单铃重5.3g,畸形桃比例3%~5%。衣分42%左右,籽指11g。Ⅱ-Ⅲ式果枝,株型较松散。吐絮畅且集中,易拾花,下部花瓣、瓣尖比例较高,絮洁白,霜前花率90%以上。

2 产量结构

育苗株数1.6万株/667m²,收获株数1.5万株/667m²,果枝台数7.9台,单株结铃6.1个,单铃重

5.3~5.5g,衣分42%,单产皮棉200~210kg/667m²。

3 生育进程

4月下旬齐苗,长势较旺,主茎日生长量0.3~0.5cm;5月下旬现蕾,株高20~25cm,主茎日生长量1.0~1.2cm,红茎比为50%~60%;蕾期长势呈强势,根系发达,株高40cm左右,主茎日生长量1.2~1.5cm,红茎比为65%左右;6月下旬进入始花期,主茎日生长量1.5~1.8cm;7月中旬进入花铃期,长势较强;打顶后株高65~70cm,平均果枝台数7.9台;8月25日前后开始吐絮。

4 主要栽培措施

4.1 播前准备

4.1.1 土地准备

施足底肥,667m²施油渣60~100kg或2m³有机肥,磷酸二铵25kg,钾肥5kg,锌肥2kg;作好冬灌、春灌,压碱洗盐;以墒为主,适时整地,做到上虚下实,要求达到“墒、松、碎、平、净、齐”6字标准;严抓拉线修边,检拾残茬、残膜,确保播种质量。

收稿日期:2008-01-16

D₂、E₂培养基上培养,其发根的数量和长短也存在着一定的差异,其中以0.2×10⁻⁶最为理想,即在E₂培养基上生长的组培苗芽数多,根长适中,茎间距离协调且萌芽后生长良好,植株粗壮。

3 结果与讨论

(1)污染率随着消毒时间的增加呈下降趋势,而褐死率是随着消毒时间的增加呈上升趋势,消毒时间在7min时成活率最高;(2)在适宜的培养基选择上看出,C₁培养基的葡萄外植体高度最高,并且分化丛数最多,而E₁培养基上的高度最低,分化丛数最少;(3)选择含有IBA浓度在0.2×10⁻⁶的E₂培养基对葡萄的诱导生根最好;(4)采用外植体培养具有不受材料和季节等因素的限制,繁殖速度快,尤其是对新优品种的引进和繁育,可在短期内大量提供急

需良种苗木,并能有效地脱除病毒,生产无病苗木,实现葡萄的无毒化育苗。当IAA浓度在0.2~1.0mg/L范围内^[4],对试管苗的生长、生根有极大影响。随着IAA浓度的增加,茎段生长减慢,增殖倍数减少,生根率降低,单株根数减少,生长状况不正常,茎基部愈伤组织块增大。

参考文献

- [1] 富桂荣,李勤贤,胡宗双.植物组织培养技术在农业生产中的应用[J].农业科技与信息,2007,5:22-23.
- [2] 马远,张振文,杨玉洁,等.葡萄组织培养应用研究进展[J].中外葡萄与葡萄酒,2002,4:23-26.
- [3] 曾镭,刘燕.植物组织培养中褐化问题的研究进展[J].安徽农学通报,2007,13(14):49-50.
- [4] 张亚飞,赵宇.脱毒葡萄试管苗组培快繁技术试验[J].陕西林业,2007,3:25.