

组织培养脱毒技术

在新疆葡萄快繁中的应用

张爱华 容新民 李玉国

(新疆石河子农业科技开发研究中心组培室 832000)

摘要:本文主要是关于葡萄组织培养脱毒技术的研究,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

The Technique of Tissue Culture and Virus-free in Xin jiang Grape Rapid Propagation and its Application

Zhang Ai-hua Rong Xin-min Li Yu-guo

(The development of agricultural science and technology research center in
Xin jiang Shihezi Tissue Culture Room, Xinjiang Shihezi 832000)

Abstract: This paper is to examine grape virus-free tissue culture technology research, high-quality grape varieties to the Zixiangwuhe as a bud explants, rapid propagation of tissue culture in the disinfection time, medium type and dosage of hormones such key technology for the system research and selected the most suitable rooting medium and differentiation medium for a large area of tissue culture detoxification provided theoretical guidance.

key words: Xin jiang ;grape; Tissue Culture; the Virus-free Technology

植物组织培养是应用无菌培养的方法培养植物的一个离体部分,也即是一种将自然环境中分离出来的植物细胞或组织放入含有合成培养基的瓶中,在无菌条件下使之生长或发育的方法。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。近十年来,新疆葡萄生产发展很快,对发展新疆农村经济和提高人民生活水平起到了很大的促进作用。但葡萄病毒病也迅速蔓延,严重威胁葡萄产业的健康发展。尤其是对新品种的选育和引进,可在短期内大量提供急需良种苗木,满足生产中的需求,更重要的是能有效地脱除病毒,生产无病毒苗木,实现葡萄的无毒化栽培。利用组织培养进行脱毒不但突出了生产的实用性,而且可以节省人力物力,使脱毒工作更加简便有效。

1 材料和方法

1.1 供试材料

作者简介:张爱华(1979-),女,助理农艺师,主要从事葡萄组培快繁的研究。

提供的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%升汞分别浸泡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:A1:1/2MS+6-BA 1.0+1BA0.02+GA0.2; B1:1/2MS+6-BA0.8+1BA0.02+GA0.2; C1:1/2MS+6-BA1.0+1BA0.03+GA0.2; D1:1/2MS+6-BA0.5+1BA0.05+GA0.2; E1:1/2MS+6-BA 1.0+GA 0.2。生根培养基也是5种:A2:1/2MS+IAA0.2; B2:1/2MS+NAA0.2; C2:1/2MS+IBA0.3; D2:1/2MS+IBA0.4; E2:1/2MS+I-

BA0.2。培养基琼脂浓度 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沙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一次营养液。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

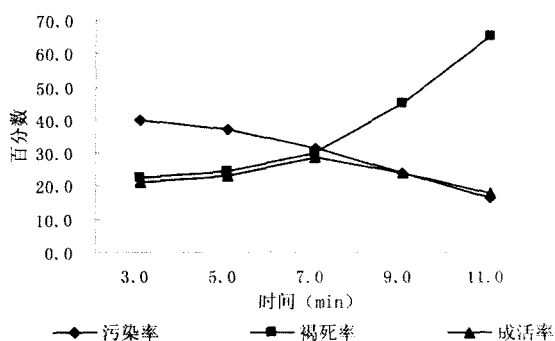


图 1 消毒时间对培养基污染和茎段褐变的影响(min,%)

从图 1 可知,0.1%升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%升汞消毒 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 茎尖在不同分化培养基上的生长情况

培养基	接种株数	平均高度	平均分化丛数
A1	30	3.54	3.64
B1	30	2.42	2.25
C1	30	4.72	4.57
D1	30	1.54	2.49
E1	30	1.98	1.83

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)
A2	30	2.58	2.46	7.25	1.74	1.06
B2	30	3.76	3.14	6.35	1.85	1.19
C2	30	3.64	3.48	5.48	1.47	1.03
D2	30	3.01	2.43	3.61	1.03	1.21
E2	30	4.05	3.18	7.10	1.95	1.28

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 C1 培养基的茎尖生长最长 4.72cm,平均分化丛数也达到最大的 4.57。而在培养基 E1 茎尖长度最短 1.98 cm,分化丛数也最少 1.83。由此可见,C1 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。

另外,还可以看出,将葡萄外植体接种在 C1 培养基上的高度最大 4.72cm,并且 C1 配料是:1/2MS+6-BA 1.0+IBA0.03+GA0.2,而 E1 培养基上的高度最小只有 1.98cm,E1 配料是:1/2MS+6-BA 1.0+GA 0.2。其中 C1 和 E1 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,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,选用含 I-BA 的 E2 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 C2、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 0.2mg/kg 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

3.1 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

春小麦施用“世绿”

农大环保生物肥效应初报

王晓影 宋 伟 陈 辉

(黑龙江省农垦总局九三科研所 嫩江 161441)

摘要:探讨“世绿”农大环保生物肥在春小麦上的应用效果和最佳施用量及对农药残留的降解作用。结果表明,春小麦使用“世绿”农大环保生物肥不仅能提高春小麦产量,并能对农药残留降解有作用。此项试验的实施为环保生物肥在春小麦上的应用及春小麦绿色栽培制度的建立提供依据。

关键词:环保生物肥;春小麦;效应

“世绿”农大环保生物肥由黑龙江八一农垦大学植物研究中心与加拿大合作研制开发,利用生物有机、无机三维一体,采用先进的生物发酵复合技术研制而成,生物环保型降解增效剂利用特效菌种研制而成。高效增产植物根际药肥有效活菌数 2 亿/g,具有活化土壤养分等多种功能,其有机活性优于一般生物有机肥料,符合高产绿色无污染食品要求,是一种新型环保、高效生物绿色有机肥源,黑龙江省东部垦区已广泛试用。我们引用“世绿”农大环保生物肥

主要验证其在西部雨养区在春小麦上应用效果及对农药残效的降解作用,本试验为农大环保生物肥在本区域推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黑龙江省农垦大学植物研究中心提供“世绿”农大环保生物肥,试验品种优质春小麦早熟品种龙麦 30、中早熟品种龙麦 29。

1.2 试验内容

在 7 分钟时,成活率最高。

3.2 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。

3.3 选择含有 IBA 浓度在 0.2mg/kg 的 E2 培养基对葡萄的诱导生根最好。

综上所述,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,满足生产中的需要,更重要的能有效地脱除病毒,生产无病苗木,实现葡萄的无毒化栽培。当 IAA 浓度在 0.2~1.0mg/L 范围内,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。

葡萄离体快繁的根本目的是繁育大量高质量的脱毒苗木,为新疆葡萄的生产服务。因此,在研究新疆葡萄快繁技术体系的过程中,必须对试管苗的移栽技术体系进行研究。本研究在前期对葡萄试管驯

化移栽研究的基础上,重点对培养基与移栽成活率的关系进行了研究,结果发现葡萄脱毒苗质量是制约其成功定植大田的关键因素。

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] 曾镛,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
- [5] 陈振光.园艺植物离体培养学[M].北京:中国农业出版社.
- [6] 韩君,蓬德霞.红地球葡萄快繁育苗技术探讨[J].内蒙古农业科技,2000,(5):11~12
- [7] 刘永清,谭昌秀.葡萄组织培养脱毒技术的研究[J].福建果树,2004(2):10~12
- [8] 张剑侠,王跃进,李沛玲,等.中国野生葡萄的离体培养与快速繁殖[J].园艺学报,2004,31(1):90~93
- [9] 潘学军,张文娥,唐冬梅,等.无核葡萄离体快繁技术研究[J].中国南方果树,2007,36(2):44~46