

美人指葡萄组培快繁技术研究

吴丽敏, 娄汉平

(铁岭农业职业技术学院园艺系, 辽宁 铁岭 112001)

摘要:采用美人指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,为美人指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:美人指葡萄;组织培养;快繁

中图分类号:S633.1

文献标识码:B

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,也是其它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进行节培法的繁殖,使污染率大大降低。

1 材料与方法

1.1 试材处理

试材品种采自铁岭农业职业技术学院园艺系葡萄园的美人指葡萄,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。取美人指葡萄带有冬芽的夏芽副梢,采用的处理方法为,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,浸泡时间为16~18 min,再用无菌水冲洗5~6次后,将枝条剪成带1个冬芽的茎段,长约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 培养基和培养条件

初始培养基用B5做基本培养基,分别添加6-BA 0.5、1.0、2.0 mg/L和IBA 0.1、0.3、0.5 mg/L,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;以及IBA 0.5 mg/L制成增殖生根培养基,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2 500 lx,每日光照16 h,温度25~27℃。

1.3 试管苗移栽

试管苗的移栽要在保护地内进行,在试管苗进行移栽前要进行练苗。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3~4枚正常叶片时,连同培养瓶转入日光温室内,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,当从其瓶口伸出油亮的叶片且幼茎呈淡红色时即可出瓶,然后进行沙培炼苗,在备有下铺电热线并能调节温度的沙床。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,盖好临时塑料小拱棚。最初3 d,小拱棚内温度保持的25±2℃,最高不超过30℃,最低不低于20℃,相对湿度保持在90%~95%。光照为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。6~7 d后完全拆除临时小拱棚。最后进行温室营养钵炼苗,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1:1:0.2的营养钵中。栽于营养钵中的苗,扣小拱棚的最初几天,温度、湿度、光照的要求和管理同沙培苗。

大田苗圃移栽。选疏松肥沃、排灌水方便、距温室较近、日照良好的地块做为苗圃地。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 促使茎段萌芽培养基筛选

用6-BA和IBA对外植体进行启动培养后,发现3d后有芽萌发。第10d观察,凡加有1.0和2.0 mg/L 6-BA者,生长情况都较好,以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。据此认为,B5 + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L是美人指葡萄启动芽萌发的最适培养基(表1)。

表1 培养基中添加不同浓度6-BA和IBA对美人指葡萄萌芽的影响

Table 1 Effect of different concentration of 6-BA and IBA on grape germination

培养基中 6-BA (mg/L)	培养基中 IBA (mg/L)	芽萌发所需天数 (d)及萌芽数	10 d后芽的 平均长度(cm)
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 不同培养基对增殖生根的影响

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)。接入增殖生根培养基后第30天调查结果

表2 不同培养基对美人指葡萄增殖生根的影响
Table 2 Effect of different medium on multiplication and rooteng of grape

培养基	平均生根数 (个)	平均根长 (cm)	增殖系数	生根率 (%)
1号	1.6	1.3	4.6	75
2号	1.3	1.0	6.2	68
3号	2.0	2.1	5.1	96
4号	2.5	2.6	5.5	98

注:1号 B5 + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L; 2号 B5 + 6-BA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L; 3号 B5 + 6-BA 0.02 mg/L + IBA 0.5 mg/L; 4号 B₅ + IBA 0.5 mg/L

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,是美人指葡萄茎段培养的最佳促进萌芽培养基和增殖生根培养基。经过练苗后,生根后的试管苗移栽成活率90%以上。

参考文献:

- [1] 曹汝义, 齐与枢. 葡萄组织培养及应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [2] 曹汝义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996, 1

Studies on Tissue Culture for Rapid Propagation of Munage Grape

WU Li-min, LOU Han-ping

(Horticulture Department, Tieling Agricultural Vocation-technical College, Tieling, Liaoning 112001)

Abstract: Micropropagation with auxiliary shoot tips and single-bud segments of Munage grape showed that the optimum initial medium was B5 + 6-BA 2.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L + 3% sucrose + 0.6% agar, the optimum medium for mulitiplication and rooting was B5 + IBA 0.5 mg/L + 3% sucrose + 0.6% agar, both the medium adjust pH to 5.8~6.0 Wellfed shoots with 3~4 cm root on each were transplanted onto vermiculite medium.

Key words: Munage grape; Tissue culture; Micropropagation