美国无核葡萄新品种 SRO2 的组织培养与快速繁殖

胡如善,杨玉珍,孙廷,孙天洲 (河南省南阳农业学校 植物组织培养中心,河南南阳 473003)

摘 要:以美国无核葡萄新品种 SRO2 的茎尖进行组织培养,对适合不定芽分化、增殖、生根的培养基进行了研究,结果表明,利于不定芽诱导的培养基为 1/2MS+6-BA 0.5 mg/L+ IBA 0.1 mg/L,利于不定芽增殖的培养基为 1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+ IBA 0.1 mg/L,增殖率为 4.8,利于生根的培养基为 1/2MS+IBA 0.1 mg/L。

关键词:无核葡萄新品种 SRO2;不定芽诱导;增殖;组织培养;快速繁殖

中图分类号: S663.103.8

文献标识码:B

文章编号: 0528-9017(2006)02-0125-02

SRO2 是美国新推广的优良无核葡萄新品种,目前国内尚无引进栽培。因引进数量有限,在短时间内扩大栽培面积是比较困难的。南阳农业学校植物组织培养中心 2004 年从美国引进 SRO2,采用组织培养的办法进行快速繁殖研究,利用葡萄顶芽进行诱导再生,不改变原有品种性状,组培优势明显,短期内培养出大量的试管苗。SRO2 的果实黑色无核,甜香味美,颗粒圆形或轻卵圆形,单粒重10 g左右,果穗大,产量高。成熟期在8月中下旬,品种采收后保存期长,抗病能力强,生长势旺,是新一代的无核葡萄取代品种。关于葡萄新品种 SRO2 的组织培养研究和栽培国内尚未见报道。

1 材料与接种

取无核葡萄新品种 SRO2 的优良母株新生枝条嫩梢,用清水冲洗1~2h,70%酒精浸15s,0.1% 升汞进行表面消毒8~10 min,然后用无菌水冲洗4~5次,在无菌条件下剥去外层幼叶,切取0.3~0.5 m长的茎尖接种于起始培养基上[1,2]。

2 培养条件

起始培养基[3.4]为:

- (1) 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L (单位下同) + IBA0.2
 - (2) $1/2MS + 6-BA \ 0.5 + IBA \ 0.2$
 - (3) 1/2MS + 6-BA 0.3 + IBA 0.1
 - (4) 1/2MS + 6-BA 0.1 + IBA 0.1

继代培养基 (肌醇用量为 50 mg/L):

(5) 1/2MS + 6-BA 0.5 + NAA 0.2

- (6) 1/2MS + 6-BA 0.3 + NAA 0.2
- (7) 1/2MS + 6-BA 0.3 + IBA 0.1
- (8) 1/2MS + 6-BA 0.3 + IBA 0.2 牛根培养基:
- (9) 1/2MS + IBA 0.1
- (10) 1/2MS + IAA 0.1
- (11) 1/2MS + IBA 0.5
- (12) 1/2MS + IAA 0.5

以上每种培养基均加入蔗糖 2% , 琼脂 0.6%, pH 值 5.6~5.8, 培养温度 24℃, 每日光照 16 h, 光强2 000 lx^[1-4]。

3 生长与分化情况

3.1 芽的分化情况

将外植体接种于培养基(1)~(4)上,先放置于黑暗处理 $48 \sim 60 \ h^{[3]}$,然后置于2 $000 \ lx$ 光照下,经 $35 \sim 40 \ d$ 愈伤组织诱导出芽,以每个配方接种 20 个茎尖,不同培养基激素水平芽的分化情况如表 1。

实验结果显示:接种于培养基(3)上的茎尖,愈伤组织中等,平均分化出芽5.0个;接种于培养基(2)上的茎尖,愈伤组织过大,平均分化出芽0.5个;接种于培养基(1)上的茎尖,愈伤组织较大,平均分化出芽1.5个;接种于(4)上的外植体形成愈伤组织很小,外植体启动困难,基本上没有分化出芽。

3.2 茎段增殖

将高 5 cm 以上的不定芽切段 (带 1~2 个侧芽)接种于继代培养基 (5)~(8)上进行继代增

收稿日期: 2005-10-09

殖。实验以每个配方接种20瓶、每瓶接种6段、 30 d 后进行观察, 结果见表 2。

从生长情况看,接种于培养基(8)上茎段或 芽生长快,且同时生出粗壮根系,根与茎同时生

长,苗形态正常,生长健壮,繁殖倍数可达 4.8; 接种于培养基(5)上的茎段或芽也长出较多根系, 生长情况较好,繁殖倍数低于(8);接种于培养基 (6) 上的茎段或芽生长较差、繁殖倍数较低。

表1 不同培养基激素水平芽的分化情况

2006年第2期

培养基激素配比	接种茎段数	形成不定芽数	分化不定芽高度 (cm)	愈伤组织和芽的分化情况		
(1) 6-BA 1.0 + IBA 0.2	20	1.5	1 ~ 2	愈伤较大,不定芽分化率低		
(2) 6-BA 0.5 + IBA 0.2	20	0.5	0 ~ 1	愈伤过于疏松,不定芽少或无		
(3) 6-BA 0.5 + IBA 0.1	20	5.0	3 ~ 4	愈伤组织中等,不定芽萌动长成大量小植株,芽丛健壮		
(4) 6-BA 0.5 + IBA 0.1	20	0.2	0 ~ 1	愈伤过于致密,不定芽少或无		

表 2 不同激素配比与不定芽生长情况

激素水平	接种数	平均苗高(cm)	繁殖倍数	不定芽生长情况	
(5) 6-BA 0.5 + NAA 0.2	120	2.8	2.3	不定芽增殖率较高、叶色淡绿,长势较弱	
(6) 6 -BA 0.3 + NAA 0.2	120	0.5	0.7	不定芽增殖率低、色黄、低矮	
(7) 6-BA $0.5 + IBA 0.1$	120	2.0	3.5	诱导不定芽增殖率较低、纤细、丛生状	
(8) 6-BA 0.3 + IBA 0.1	120	3.4	4.8	不定芽增殖率高、芽丛健壮、叶色深绿,同时生出粗壮根系	

培养 30 d 后, 当芽的分化较多时, 会影响茎 的伸长,成苗率会降低,此时宜先将从生芽切下接 种于继代培养基上,使其成苗后再进行切段培养。 3.3 生根培养

当不定芽长到 3~4 cm、具 3~4 片叶时自底部 切下,接种于生根培养基(9)~(12)上进行生 根培养。实验以每个生根配方接种 20 瓶, 30 d 后 进行观察,结果见表3。

表 3 生根培养基与生根情况

培养基	生根数 (条)	生根率 (%)	根的生长情况
(9) 1/2MS + IBA 0.1	3 ~ 7	100	粗壮
(10) 1/2MS + IAA 0.1	2 ~ 3	70	细、短
(11) 1/2MS + IBA 0.5	> 7	90	细长
(12) 1/2MS + IAA 0.5	2 ~ 4	65	较细

从生根情况看,以接种于配方(11)上的茎段 生根最多, 但根细长, 试管苗移栽时不易成活; 接 种于配方(10)和(12)上的茎段生根数较少、根 细弱;接种于配方(9)上的茎段生根数适中,根 粗壮,生根率也高,为最佳配方。即茎段生根以 1/2MS + IBA 0.1 为宜。

4 试管苗驯化移栽

当苗长出5~6片叶,根长到3cm左右时、即 可开盖于温室内炼苗,炼苗2d后将苗取出、用清 水洗净根部的琼脂, 植于温室苗床内, 注意保湿, 逐步使试管苗适应温室环境,以防萎蔫[3,4]。当叶 片转绿增大,出现1~2片新叶,移入营养钵。营 养土为石:土=1:2、注意保湿、炼苗 40~50 d。当 幼苗长出3~5片新叶时方可下田移栽[3~5],成活 率可达99%以上。

5 小结

用茎尖组织培养方法进行无核葡萄新品种 SRO2 的快速繁殖,可保持品种优良性状,缩短推 广时间^[3]。以 1/2MS + 6-BA 0.5 + IBA 0.1, 蔗糖 2%为最佳,愈伤组织中等,分化出的芽较多。为 了提高茎尖成活率可适当将茎尖切大至 0.5~1 mm^[3],但茎尖切取过大,繁殖倍数会降低。继代 培养以 1/2MS + 6-BA 0.3 + IBA 0.1 为宜, 生长旺 盛、繁殖倍数较高。茎段生根以 1/2MS + IBA 0.1 为宜。继代培养和生根培养也可同时进行[3~5],这 样可缩短试管苗培养时间,移栽易成活[6]。

参考文献:

- [1] 陈振光.园艺植物离体培养学 [M].北京:中国农业出版社.
- [2] 曹孜义,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.
- [3] 吴月燕,陶伟芳. 葡萄离体培养及快速繁殖 [J]. 浙江林学 院学报, 2001, (2): 188-192.
- [4] 曹孜义、离体葡萄未成熟胚成苗途径研究 [J]、果树学报, 2000, (10); 25 - 26,
- [5] 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.
- [6] 于向君,薛俊.酒用葡萄快繁技术的研究 [J].中外葡萄 与葡萄酒, 2001, (1): 14-16.