

葡萄组培苗瓶外生根技术研究

王蓉¹, 顾建新², 何梅¹

(¹新疆农业职业技术学院生物中心, 昌吉 831100; ²乌鲁木齐县果蔬研究所, 乌鲁木齐 830031)

摘要:采用不同种类和浓度的生长素诱导葡萄组培苗瓶外生根, 并观察组培苗在不同处理基质、不同的温度、不同的生理年龄条件下生根的效果。通过优化技术参数, 建立了葡萄组培苗瓶接生根的技术优化体系, 结果表明, 用浓度为 0.3mg/L 的 IBA 浸蘸处理的插条, 在温度为 27~29℃ 的环境条件下在基质珍珠岩上培养, 瓶苗茎段的生根率可达 85.5%, 移栽后苗木的成活率达 98%, 相对于其他方法有了较大的提高。该技术的建立有助于实现葡萄工厂化育苗技术的商业化扩大。

关键词:葡萄组培苗; 瓶外生根; 生长素

中图分类号: Q-33 **文献标识码:** A

Study on Technology of Tissue Culture the Seedling's Rooting in Grape Outside the Bottle

Wang Rong¹, Gu Jian xing², He Mei¹

(¹Horticulture department of Xinjiang Agricultural vocational-technical college, Changji, 831100;

²Institute of Urumq County Fruit and Vegetable, Urumq 830031)

Abstract: The paper researches the different type and the density growth hormone which induct rooting tissue culture the seedling in grape outside the bottle, and, the effect of tissue culture the seedling's rooting in grape was observed in the different processing matrix, the different temperature, and the different physiological age condition. we established the grape group to cultivate the technical optimization system which can directly took root outside the bottle. The result indicated that use 300mg/L IBA soaks with the density dips processing the cutting, 27~29 °C environmental condition raises under the matrix perlite, the root rates to be possible to reach 85.5 %, after transplanted nursery stock's survival rate to reach 98 %, was opposite had a bigger enhancement to the alternative means. establishment of technology is helpful to the realization of commercial expansion.in grape factorization culture of seedling

Key words: Tissue culture the seedling of grape, Rooting outside the bottle, Growth hormone

葡萄属木本植物, 组培苗在瓶内生根时, 根基部易形成大量愈伤组织, 阻碍了根与维管束组织之间的流通, 降低了根的吸收功能, 并且已形成幼嫩的肉质根, 无须根成, 造成移栽后根系的恢复能力差, 幼苗成活率低。瓶内生根在驯化移栽的过程中操作复杂, 在工厂化育苗中是造成苗木成本过高的主要原因。采用瓶外生根, 幼苗产生的根系基部无大块愈伤组织, 已产生须根, 苗木不经驯化可直接栽入苗圃, 苗木移栽后成活率较高, 它既省去了瓶内生根所需的原料和生产程序, 缩短育苗周期, 又降低了生产成本, 提高了生产效率^[1]。

目前国内对葡萄组培快繁工厂化育苗中的瓶外生根技术研究及应用较少。研究了影响葡萄瓶外生根的主要因素, 分析生根率和根系生长的动态变化, 为葡萄组培苗工厂化生产提供相关技术参数。

1 试验材料

试验所苗木是由生物中心自行繁殖的第 6 代瓶苗。幼苗在瓶内生长正常, 叶色深绿, 茎杆组织充实, 无玻璃化和任何变异现象。扦插基质选用经 121℃ 高压灭菌珍珠岩, 扦插容器使用 128 孔穴盘, 穴口直径 3.0cm, 穴深 4.8cm。移栽基质山土 pH5.6。移栽容器营

基金项目: 新疆省农业厅资助项目“设施果树栽培品种的引进与繁殖”(2001EA890001)。

第一作者简介: 王蓉, 女, 1970 年出生, 研究方向: 园艺植物组织培养, E-mail: hemei0823@163.com。通信地址: 843300 新疆省昌吉州 新疆农业职业技术学院园林科技学院。

收稿日期: 2006-06-14。修回日期: 2006-07-26。

养钵。

2 试验方法

2.1 用不同种类和浓度的外源激素处理茎段

将组培苗从瓶内取出,剪成长度为 2cm 带一个叶片的茎段,再将茎段分别放在不同浓度的 IBA、NAA、NAA+IBA 生长素处理液中浸蘸几秒钟后,插入无菌基质,扦插深度约为 0.8~1.0cm,插后叶面喷洒无菌水,用消毒塑料薄膜覆盖保湿,膜内湿度保持在 80%左右。将扦插苗放在温度 25℃,光照 2000~2500lx,光周期 16h 的环境条件下培养,15d 后调查茎段的生长情况。

2.2 基质不同处理的扦插试验

以无菌珍珠岩作基质,设置 3 个处理 A:用蒸馏水混拌珍珠岩,茎段用 0.3mg/L IBA 浸蘸扦插。B:用 1/2MS 母液混拌珍珠岩,茎段用 0.3 mg/L IBA 溶液浸蘸扦插。C:1/2MS+0.3 mg/L IBA 液体在 121℃条件下灭菌后混拌珍珠岩,茎段直接扦插。D:1/2MS 液体在 121℃条件下灭菌后混拌珍珠岩,茎段用 0.3 mg/L IBA 溶液浸蘸扦插。E:用蒸馏水 +0.3 mg/L IBA 液体培养条件同 3.1。20d 后调查苗木的成活率和生根情况。

2.3 不同温度的培养试验

采用 3.2 方法中的设置 A 处理茎段。处理后分别将扦插苗置于 20℃、25℃、27℃、30℃等不同的温度下培养,培养的光周期和光照强度与 2.1 相同。15d 后调

查苗木的生根率。

2.4 不同质量瓶苗的扦插试验

在 2.1 的环境条件下培养 20、30、40、50、60d 的瓶苗分别进行瓶外扦插。每一种类扦插 100 株,茎段用 0.3 mg/L IBA 浸蘸,扦插基质用处理 D,培养温度 27~30℃,光周期和光照强度与 2.1 相同。20d 后调查生根率和污染率。

2.5 瓶内瓶外生根苗的驯化移栽成活率对比试验

瓶内生根苗当根系长度 0.5~1.0cm 时,将瓶苗放到光照强度为 8000~10000Lx,白天温度 25℃,夜间 20℃的变温环境下炼苗 30d,移栽前 3d 开盖炼苗,每天早中晚各喷一次水,以保持足够的湿度。3d 后将试管苗从瓶中取出,用清水洗净根上的培养基,用 0.1% 的多菌灵进行根部消毒后,移入营养土中^[2]。瓶外生根苗当苗木高度为 3cm 左右,无需炼苗和消毒,直接移入营养土中,栽后适当遮光。10d 后调查成活率。

3 结果与分析

3.1 不同种类和浓度的外源激素对茎段生根的影响

从试验的 10 个处理中,没有用生长素进行生根诱导的茎段在 20d 内生根率是 43.3%,而其他处理茎段生根率在 71%~86%之间(表 2)。这一结果表明生长素是提高幼苗的生根重要因素。其中 0.2 mg/L NAA 和 0.3 mg/L IBA 诱导生根的效果最好,生根率达 85%以上,这一结果表明不同种类和浓度的生长素对幼苗的

表 1 不同种类和浓度的生长激素诱导茎段的效果

激素种类	浓度 (mg/L)	株数 (个)	生根率 (%)	生根数 (个)	腋芽萌率 (%)
NAA	0.10	1000	81.6	1.9	73.3
	0.20	1000	86.67	1.6	63.3
	0.30	1000	81.67	2.0	53.3
NAA+IBA	0.05+0.05	1000	80.0	1.7	71.6
	0.10+0.10	1000	71.67	2.1	61.7
	0.1+0.05	1000	75.0	1.9	66.7
IBA	0.10	1000	75.0	2.0	75.0
	0.20	1000	74.6	1.7	76.2
	0.30	1000	85.0	2.1	76.7
清水	CK	1000	43.3	1.4	76.7

表 2 不同处理的基质对生根的影响

基质处理	株数 (个)	污染率 (%)	生根率 (%)	根长 (cm)
A	100	12.5	81.2	1~3
B	100	64.8	27.4	0.5~1
C	100	10.8	45.2	3~5
D	100	3.00	87.2	2~5
E	100	0	38.2	1~2

诱导效果不同^[3]。从表中可以看出不同种类的激素对腋芽的促动效果不同,NAA 的促动效果明显低于 IBA,并且随着 NAA 浓度的增加腋芽萌芽率下降。IBA 促动效果与对照相似,说明 IBA 对腋芽的萌动没有影响。不同种类和浓度的生长激素对生根数的影响相似均高于对照。综上所述,0.3 mg/L IBA 适合作葡萄茎段瓶外扦插的外源激素。

3.2 不同处理的基质对生根的影响

从表 2 可以看出,处理 B 污染率最高为 64.8%,远远高于其它 4 个处理。因为在 5 个处理中,只有处理 B 的基质溶液没有经过无菌处理,试验证明营养液在非无菌条件下易变质感染幼苗。处理 A 和处理 D,采用插条基部浸蘸生长素方法,插后生根率在 80%以上,处理 C 和处理 E,采用瓶内生根的方式,将生长素拌

农业生物技术科学

入基质中,生根效果较差。处理 C 和处理 D,平均根长为 2~5cm,明显高于其它处理,基质中的营养液对根系的生长有一定的促进作用。综上所述,在工厂化育苗中处理 D 适合作组培苗瓶外生根的基质。

3.3 不同的温度对苗木生根的影响

从表中可以看出,在 20~30℃ 温度范围内,当温度

在 20℃ 左右时,幼苗的生根率是 32%(表 3),茎段基部出现褐色水腐现象,影响了根源基的形成,降低了生根率。温度高于 30℃,幼苗根长为 0.1~0.5cm,根系有变褐老化的趋势,不利于根原基的伸长和生长。在 27~30℃ 的温度条件下,幼苗的生根率和根系的生长状态最好,是葡萄瓶的瓶外生根的最适温度。

表 3 不同温度对瓶外生根的影响

温度 (°C)	生根率 (%)	生根情况
>20	32	根长 0.1~0.2cm, 褐色, 部分根尖变黑, 插条污染严重
25~27	79	根长 0.5~0.7cm, 白色
27~30	86	根长 0.5~0.7cm, 白色
>30	68	根长 0.1~0.5cm, 淡褐色, 部分产生大量的愈伤组织块

3.4 不同质量的瓶苗对生根的影响

从图 1 中可以看出培养了 60d 的瓶苗,叶片深绿,茎秆微红,茎段髓部微白色,茎段扦插后生根率和污染率都达到了最低,其原因也许是苗木髓部老化的程度,已不利于根源基形成。培养 20d 的瓶苗扦插后,第三天

叶片就开始萎焉失水腐烂,苗木腐烂后病菌向四周传播,对已生根的幼苗也进行侵染。培养了 40d 的瓶苗,扦插后生根率最高污染率最低,宜用于瓶外扦插。瓶苗培养的时间越长,苗木的污染率越低,苗木抵抗病菌的能力越强。

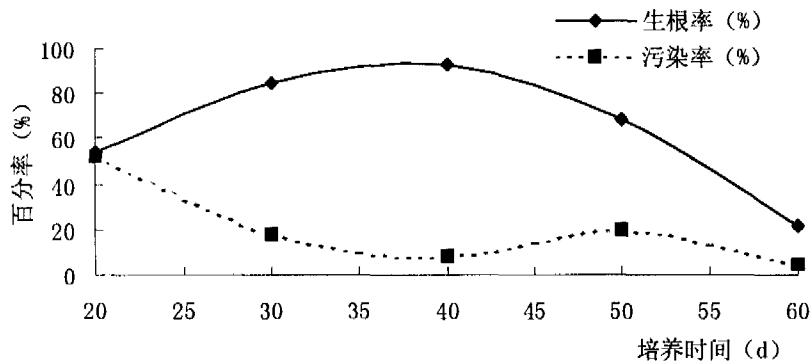


图 1 不同质量的瓶苗扦插后污染率和生根率调查

3.5 瓶内生根苗和瓶外生根苗比较

试验证明,瓶外生根率低于瓶内生根率。瓶外根系

的质量优于瓶内根系。在移栽驯化时间上瓶外苗比瓶内秒缩短了 20d。移栽成活率提高了 34%。

表 4 瓶内和瓶外生根苗的质量比较

类别	平均生根率	根系生长状态	生根驯化时间	移栽成活率
瓶内生根	92	根基部有大量愈伤组织,根系呈白色,肉质,较粗较硬,无须根,易折断。	50—60	64
瓶外生根	85.6	根系木质化,细而柔软,主根上布满了大量的须根。根系呈黄白色。	30—40	98

4 讨论

4.1 试验比较了激素种类、浓度诱导葡萄组培苗在瓶外生根的影响,筛选出最佳的生根诱导条件是采用 0.3 mg/L 的 IBA 进行浸蘸处理。从试验结果可以发现,激素处理与否对于小苗的生根率影响至关重要,其次是激素种类和浓度对腋芽的萌动作用影响较大。其原因可能一定浓度的生长素 NAA 对生长点的生长有一定的抑制作用,导致了组培苗的生长周期的延长^[4]。试管苗一般在高湿、弱光恒温条件进行异养培养,出瓶后叶片极易失水萎焉和污染,所以幼苗浸蘸生长素必须在几秒钟内完成,才能保证叶片的生命力。

4.2 扦插基质采用营养液处理目的是为了加快幼苗根系生长,在无菌营养液处理的基质中生长的幼苗,主根上着生大量的二级根系和三级根系,苗木移栽后根系的恢复能力极强。这是提高苗木移栽成活的关键原因之一。

4.3 试验证明,葡萄组培苗在 27± 2℃ 的温度条件下,根原基的形成、伸长和生长最快,苗木污染腐烂较少。在 20℃ 左右的条件下,有利于病原菌的繁殖。因此,在扦插苗培养初期,需要高温强光照,加快促进根原基的形成,提高幼苗的自养能力。根系形成后温度可逐渐降低到 25± 2℃,以保证根系的生长质量。

4.4 瓶外生根率比瓶内低,其主要原因是试管苗从无菌状态的高温、高湿、弱光的环境过渡到有菌状态的自然条件,因不适应环境条件的变化导致死亡^[4]。死苗的现象,一种为茎段基部感染病菌腐烂而死,另一种为无根苗在扦插前后的新环境下失去了水等物质而破坏了它们间的动态平衡所致叶片失水萎蔫而死。

4.5 移栽成活率是检验是否成功的关键。试管无根苗瓶内生根和瓶外移栽是两个单独过程。综合国内外研究认为,试管苗瓶外生根比瓶内生根后移栽成活率显著提高。其主要原因,在形态解剖方面,因为在培养基上诱导形成的根与芽茎的输导系统不同,无根毛,恢复能力差造成死亡。生理功能方面,生根试管苗的根系吸收功能极低,叶片气孔不能关闭,开口过大,光合能力低等原因造成。瓶外生根苗是木质根,着生大量须根,恢复能力较强,而瓶内生根的根系往往是肉质根,吸收功能很差^[5]。瓶外生根在生根过程中已经逐步适应了

环境,经受了自然环境的锻炼,不适应环境的弱苗在生根过程中已经被淘汰,移栽苗都是抗逆性强的壮苗,容易成活。

参考文献

- [1] 徐振华,王学勇,李敬川,等.试管苗瓶外生根研究进展[J].中国农学通报,2002,18(4):84-87
- [2] 冯敏,简化.葡萄组培方法的探讨 [M]. 甘肃农业科技,1992,(4):22-23
- [3] 徐振华,白志英,林艳,等.月季试管苗生根的形态解剖学观察[J].园艺学报,1998,25(4):405-407
- [4] 何云芳,余有祥,袁丽珍,等.金线莲组培苗的试管外生根和大田移栽技术[J].浙江林业科学,1998,18(2):22-25
- [5] 曹夜义,刘国明.实用植物组织培养技术教程[M].甘肃:甘肃科学技术出版社,2002.101~112

(责任编辑:秦守亮)