

红提葡萄组织培养的研究

高志明, 闻 杰
(周口职业技术学院 生物工程系, 河南 周口 466001)

摘 要:以葡萄的茎尖为外植体, 研究了不同的灭菌剂对葡萄外植体萌发的影响, 并筛选出最佳消毒剂, 同时筛选出不同培养基和激素浓度配比。结果表明: 不同的灭菌剂对无菌苗的萌发与生长有显著的影响, 使用 70%乙醇灭菌 30 s, 0.1%升汞灭菌 10 min, 可以达到最佳灭菌效果。筛选出 1/2MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 g/L, pH 5.8 的培养基为外植体萌发的最适培养基配比。

关键词: 葡萄; 组织培养; 激素
中图分类号: S 663. 103. 6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001—0009(2011)09—0144—02

红提葡萄又名晚红、红地球、红提子, 商品名称红提, 属欧亚种, 是由美国加利福尼亚州立大学于 20 世纪 70 年代用(皇帝×L12-80)×S45-48 杂交育成。果穗大, 整齐度好, 果皮中厚, 易剥离, 肉质坚实而脆, 细嫩多汁, 硬度大, 刀切而不流汁, 香甜可口, 风味独特, 耐贮运, 品质上等, 市场竞争力强, 是鲜食葡萄品种中最珍贵和最具有商业价值的品种之一, 发展前景广阔。因此近年来红提葡萄的种植面积越来越大, 为了在短时间内扩大栽培面积, 采用组织培养的方法进行快速繁殖, 利用葡萄茎尖进行诱导再生, 不改变原有品种性状, 组培优势明显, 短期内可培养出大量的试管苗。

1 材料与方法

1.1 试验材料

第一作者简介: 高志明(1974), 男, 本科, 讲师, 现主要从事植物学和植物生理学的教学研究工作。E-mail: gzmgzm1@126.com。
收稿日期: 2011—02—28

取自周口市园艺场的红提葡萄, 取优良母株新生枝条嫩梢作为材料。

1.2 试验方法

1.2.1 材料消毒 选取优良母株新生枝条嫩梢。均用自来水冲洗 5~10 min, 阴干后用表 1 方法进行消毒, 最后用无菌水冲洗 3~5 遍。在无菌条件下剥去外层幼叶, 在解剖镜下用镊子剥取茎端分生组织, 切取 0.3~0.5 mm 长的茎尖接种于分化培养基上。

表 1 不同消毒剂和消毒时间					
序号	消毒剂	消毒时间/s	消毒剂	使用浓度/%	消毒时间/min
1	70%酒精	30	次氯酸钙	9	10
2	70%酒精	30	过氧化氢	10	10
3	70%酒精	30	氯化汞	0.1	10

1.2.2 培养基的配制 各培养基的配制按表 2 的配方进行, 分装后, 经 121℃灭菌 20 min 备用。

Five Triploid Plants of *Lycium barbarum* L. Induced from Endosperm-cultural

MI Jia-li^{1,2}, CAO You-long², WANG Jun¹
(College of Plants Resource, Ningxia University, Yinchuan Ningxia750021)

Abstract : Take five genotypes of *Lycium barbarum* L. as material, the endosperm which removal and not removal the embryo on 6 kinds MS medium with different hormone content. The results showed that the callus was successfully induced from the endosperm of five genotypes . With the embryo, the highest induction ratio of the endosperm callus was 80.0%. The callus were then transferred to 5 kinds differentiation medium with different hormone content. The best medium was MS+0.2 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA+3% Sucrose+0.4% Agar, and the differentiation ratio of Ningqi No. 3 was the highest reached 10.7% After culturing the buds on rooting medium (1/2MS+0.01 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA)for 15 d, complete plants were obtained.

Key words : *Lycium barbarum* L.; endosperm; callus; triploid plan

表2 分化培养基的配方

处理	基本培养基	BA / mg · L ⁻¹	NAA / mg · L ⁻¹	蔗糖 / mg · L ⁻¹	琼脂 / mg · L ⁻¹	pH
A1	MS	1.0	0.1	30	7	5.8
A2	MS	1.0	0.2	30	7	5.8
A3	MS	0.5	0.1	30	7	5.8
A4	MS	0.5	0.2	30	7	5.8
A5	MS	0.3	0.1	30	7	5.8
A6	MS	0.3	0.2	30	7	5.8
A7	1/2 MS	1.0	0.1	30	7	5.8
A8	1/2 MS	1.0	0.2	30	7	5.8
A9	1/2 MS	0.5	0.1	30	7	5.8
A10	1/2 MS	0.5	0.2	30	7	5.8
A11	1/2 MS	0.3	0.1	30	7	5.8
A12	1/2 MS	0.3	0.2	30	7	5.8

1.2.3 材料的培养 把经过消毒的材料接种到各备用的分化培养基上, 培养温度控制在 25~27℃, 光照时间每天 14 h, 光照强度保持在 2 500 lx 左右, 培养室内隔一段时间消毒 1 次。

表3 不同消毒剂对外植体生长的影响

处理	消毒剂	消毒时间/ min	总接种数/ 个	平均染菌率/ %
1	10%过氧化氢	10	60	33.6
2	9%次氯酸钙	10	60	25.5
3	0.1%氯化汞	10	60	10.3

表4 培养基对愈伤组织诱导的影响

培养基	总接种数/ 个	未污染数/ 个	总萌发数/ 个	总萌发率/ %
A1	15	12	10	83
A2	15	12	11	91
A3	15	10	7	70
A4	15	11	9	81
A5	15	12	8	66
A6	15	9	7	78
A7	15	11	8	73
A8	15	10	9	90
A9	15	12	10	83
A10	15	14	13	93
A11	15	11	6	55
A12	15	11	9	81

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂和消毒时间对外植体生长的影响

将材料按表 1 的消毒剂和消毒时间进行消毒, 然后接种到各培养基上, 10 d 后统计外植体染菌情况。从表 3 可知, 过氧化氢的消毒效果好, 次氯酸钙的消毒效果较好, 而以氯化汞的消毒效果为最好。因此在以后的试验中选取 70%的酒精浸泡 30 s+0.1%氯化汞 10 min 为最佳消毒处理。

Study of Tissue Culture of Red Grape

GAO Zhi-ming, WEN Jie

(Department of Bioengineering, Zhoukou Vocational and Technical College, Zhoukou, Henan 466001)

Abstract: Taking mature embryo of grape as explants, the influence on the explants growth under different disinfectants were studied. Different mediums and hormone concentration ratios were selected. The results showed that the different disinfectants had a significant impact on the germination and growth of non-valline. steridizing for 30 seconds in 70% alcohol and steridizing for 10 minutes in 0.1% mercuric could achieve the best steridizing effect. The 1/2MS+BA 0.5 mg/ L+NAA 0.2 mg/ L+sucrose 30 g/ L+agar 7 g/ L medinm under pH 5.8 was the best medium for germination of matuer embryos.

Key words: grape; tissue culture; hormone

2.2 不同培养基对外植体生长的影响

选用 MS、1/2MS 2 种基本培养基, 把经过消毒的材料接种到各备用的分化培养基上进行培养, 10 d 后观察统计材料在各培养基上的萌发情况, 由表 4 可看出, A10 即培养基组合 1/2MS+BA 0.5 mg/ L+NAA 0.2 mg/ L+蔗糖 30 g/ L+琼脂 7 g/ L, pH 6.8 萌发率最高, 为 93%。

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 MS+IBA 0.3 mg/ kg+NAA 0.2 mg/ kg+蔗糖 15 g/ L+琼脂 5 g/ L(pH 6.8)上, 在培养室内培养, 一般 15 d 左右即可生根。

4 试管苗驯化移栽

当苗长出 5~6 片叶, 根长到 3 cm 左右时, 即可开盖于温室内练苗, 练苗 2 d 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。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, 练苗 40~50 d。当幼苗长出 3~5 片新叶时方可下田移栽。

5 小结

对新生枝条嫩梢进行消毒时, 以 70%的酒精浸泡 30 s+0.1%氯化汞 10 min 为最佳消毒处理, 消毒处理后污染率只有 10.5 %。对愈伤组织诱导的培养基以 1/2MS+BA 0.5 mg/ L+NAA0.2 mg/ L+蔗糖30 g/ L+琼脂 7 g/ L, pH 6.8 为最佳。出愈率为最高, 可达到 93%。

参考文献

[1] 刘捍中, 程存刚. 葡萄生产技术手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005.
[2] 张福庆, 于向君, 薛俊. 酒用葡萄组培脱毒快繁技术的研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2001, 2(1): 14-16.
[3] 周鹏, 郭安平, 王跃进, 等. 2 个葡萄品系外植体愈伤组织诱导和植株再生[J]. 热带作物学报, 2002, 23(3): 53-56.
[4] 白瑞兴, 温豁然, 李学峰, 等. 葡萄组织培养一次成苗技术[J]. 北方果树, 2009(3): 15-17.
[5] 范正全. 曲靖市麒麟区红地球葡萄露地高产栽培技术[J]. 中国果业信息, 2010(4): 55-57.