

几种葡萄砧木组培快繁生根研究

郑平生, 李向东, 李国梁

(甘肃省经济作物技术推广站, 甘肃 兰州 730030)

摘要:以葡萄砧木品种“520A”、“贝达”、“SO4”、“变叶葡萄”为试材, 对其进行了组培快繁生根移栽研究。结果表明:GS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是葡萄砧木外植体不定芽诱导及试管苗增殖的最适组合;GS+IBA 0.05 mg/L 处理葡萄砧木试管苗生根效果最好, 以珍珠岩和蛭石为基质试管苗移栽成活率最高。

关键词:葡萄砧木;组培快繁;生根

中图分类号:S 663.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)03-0101-03

葡萄生产中, 由于干旱、寒冷、盐碱、湿涝、病虫害等不利因素的存在影响其生长和结果。选择抗逆性强的砧木进行嫁接栽培, 可以克服自然环境中的不利因素, 扩大葡萄种植范围, 降低生产成本, 提高产量、品质和种植效益。我国自 20 世纪 60 年代开始进行葡萄砧木及嫁接栽培研究, 经过几十年的努力, 引进筛选出了一批抗逆性较强、嫁接亲和力较好的葡萄砧木, 但在生产中未能全面推广应用, 其中一个主要原因是这些砧木常规繁育生根较难, 繁殖系数低。该试验对几种抗逆性强的葡萄砧木进行了组培快繁及生根研究, 以期高抗逆性葡萄砧木繁育及葡萄嫁接栽培提供依据。

1 材料与方

1.1 试验材料

供试葡萄砧木品种为“520A”、“贝达”、“SO4”、“变叶葡萄”(子午岭野生葡萄, 作为砧木嫁接后适应性强, 有较强的抗病性和抗寒性)。

第一作者简介:郑平生(1975-), 男, 硕士, 农艺师, 现主要从事果树生物技术研究及示范推广等工作。E-mail: zps9999@126.com.

收稿日期:2013-11-07

以 GS 为基本培养基, 添加 15 g/L 蔗糖, 5 g/L 琼脂, pH 为 5.8。

1.2 试验方法

将采集的外植体材料用流水冲洗 1 h, 然后用无菌水漂洗 3 次; 在超净工作台上先用 70% 的酒精浸泡 10 s, 再置于 0.1% 的 HgCl₂ 溶液中消毒 5 s, 然后用无菌水洗涤 3 次, 用消毒滤纸吸干枝条表面水分待接种。

1.2.1 不定芽诱导与增殖培养 将材料剪成单芽茎段接种于附加不同浓度 6-BA、NAA 的 GS 培养基上进行培养, 每种激素设 0.1、0.5 mg/L 2 个浓度处理, 30 d 统计芽萌发情况。每处理 20 瓶, 每瓶 3 株, 单芽茎段接种。接种后在温度 (25±2)℃、光照强度 2 000~3 000 lx, 24 h 全光照下培养。

1.2.2 生根培养 将诱导生成的葡萄砧木试管苗剪成单芽茎段转接于附加 IBA、IAA 不同浓度的 GS 培养基上, 每种激素设 0.01、0.05、0.10 mg/L 3 个浓度处理。接种 15、30 d 分别统计试管苗株高、茎段数、分生芽数、生根数和根长等指标。每处理 20 瓶, 每瓶 3 株, 单芽茎段接种。接种后在温度 (25±2)℃、光照强度 2 000~3 000 lx, 24 h 全光照下培养。

Abstract: Taking the sandy soil in Yinchuan interior desert as material, the effect of sandy soil bacterial diversity in different organic materials treatments (1. with 5% poplar chips mixed with soil; 2. with 5% poplar chips mixed with soil and covered with willow branches on surface; 3. with soil surface covered by wood chips) were studied, with no treatment as control (CK), the soil bacterial in different treatment were studied by the denatured gradient gel electrophoresis (DGGE). The results showed that under the treatments 1, 2, 3, the structure of bacterial community changed in different degrees. The abundance of community structure was highest in treatment 3, then in 2 and lowest in 1. The results of clustering analysis showed that, two groups were clustered. They respectively were CK and 3, which similarity was 63% and treatment 1 and 2, which similarity was 67%. One bacteria which had the 96% similarity with bacteria related to organic materials decomposition was isolated and identified.

Key words: organic materials; bacterial diversity; denatured gradient gel electrophoresis (DGGE); 16S rDNA

1.2.3 练苗和移栽 葡萄砧木试管苗生长到瓶口,根系生长良好,有4~5片正常叶片时,将玻璃瓶移入温室,打开瓶塞,自然光照下练苗5~7d,用清水洗去培养基,移栽至基质中生长,空气湿度65%以上,温度20~25℃。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对葡萄砧木不定芽诱导及增殖培养的影响

葡萄砧木接种在不同浓度激素配比的培养基上,15d生成愈伤组织,30d诱导分化形成不定芽(表1)。诱导培养30d,大多数外植体产生愈伤组织并萌发产生不定芽,4个品种平均萌芽率为92.75%,最高99%,平均萌芽数为4.6个,最高为6个,芽平均长度2.8cm,最长3.4cm。6-BA对葡萄砧木不定芽的诱导具有明显的作用,随其浓度的增大,虽然外植体基部愈伤组织体积增大,诱导产生的不定芽数增多,但不定芽矮小、丛生状,且生长缓慢。0.1mg/L的6-BA处理的萌芽率、芽数均明显高于0.5mg/L的6-BA处理。添加NAA明显促进葡萄砧木试管苗不定芽生长,试管苗生长旺盛。0.1mg/L的处理试管苗芽苗长势明显好于0.5mg/L的处理。表1表明,低浓度的6-BA、NAA诱导葡萄砧木生成不定芽的效果较好,0.1mg/L 6-BA+0.1mg/L NAA是葡萄砧木外植体不定芽诱导及增殖培养的最优配比。在外源激素6-BA、NAA的作用下,4种葡萄砧木品种均生成不定芽,但品种间存在差异,根据芽发生率、平均芽数、增殖倍数、芽长度及整株生长情况等指标综合确定为“520A”的诱导效果最好,其次是“贝达”、“SO4”和“变叶葡萄”。

表1 培养30d后不同激素对葡萄砧木不定芽诱导及增殖培养的影响

品种	激素浓度/mg·L ⁻¹	接种数/个	芽萌发率/%	平均芽数/个	增殖倍数	芽长度/cm	生长情况
“520A”	6-BA 0.1	60	99	6.0	3.6	3.4	生长良好
	6-BA 0.5	60	96	5.7	3.3	3.2	生长良好
	NAA 0.1	60	91	4.3	2.4	2.7	生长良好
	NAA 0.5	60	89	4.0	2.2	2.5	生长较好
“贝达”	6-BA 0.1	60	99	5.7	3.4	3.3	生长良好
	6-BA 0.5	60	97	5.3	3.1	3.0	生长良好
	NAA 0.1	60	90	4.3	2.4	3.2	生长较好
	NAA 0.5	60	88	3.7	2.0	2.9	生长较好
“SO4”	6-BA 0.1	60	98	5.7	3.4	3.1	生长良好
	6-BA 0.5	60	95	4.0	2.7	2.7	生长良好
	NAA 0.1	60	91	3.3	1.8	3.0	生长较好
	NAA 0.5	60	87	3.0	1.6	2.5	生长较好
“变叶葡萄”	6-BA 0.1	60	97	6.0	3.6	2.8	生长良好
	NAA 0.1	60	92	5.0	2.9	2.1	生长较好
	NAA 0.5	60	89	4.0	2.2	2.5	生长较好
	6-BA 0.5	60	86	3.3	1.9	1.8	生长缓慢

2.2 不同激素处理对葡萄砧木生根培养的影响

由表2可知,不同浓度的IBA可明显促进葡萄砧木试管苗生根和生长。在0.01~0.05mg/L的范围内,随着IBA浓度的增加,4个品种的生根率呈递增趋势。当浓度为0.05mg/L时,4个品种平均生根率达到最高,为99.5%,试管苗株高、发根数和平均根长均达到最大,试管苗长势旺盛;在0.05~0.10g/L的范围内,随IBA浓度的增大,4个葡萄品种生根率逐渐降低,试管苗株高、发根数和根长均呈递减趋势,试管苗长势减弱,且基部有愈伤组织产生,IBA浓度越大愈伤组织越多。由表3可知,适宜浓度的IAA处理对葡萄砧木试管苗生根有很大作用,随着IAA浓度的升高,试管苗生根率呈现先升高后降低的生长趋势。当IAA浓度为0.05mg/L时,4个品种平均生根率达到最高,为98.25%。试管苗株高、发根数和根长均达到最大值;之后随IAA浓度的增大,发根率降低,株高、发根数和根长呈递减趋势,试管苗基部有愈伤组织产生。表2、3表明,一定浓度的外源生长素IBA、IAA均可促进葡萄砧木根的发育和试管苗生长,但浓度过高诱导产生大量愈伤组织,抑制了试管苗的生根。0.05mg/L为IBA、IAA处理葡萄砧木试管苗生根的最佳浓度,且IBA处理较IAA处理试管苗生根效果好。4个品种间,激素处理“520A”生根最好,其次是“贝达”、“SO4”、“变叶葡萄”。

表2 IBA对葡萄砧木试管苗生根的影响

品种	IBA 浓度 /mg·L ⁻¹	接种数 /个	株高 /cm	生根率 /%	平均根数 /条	平均根长 /cm
“520A”	0.01	60	6.8	100	6.4	5.6
	0.05	60	7.4	100	9.1	7.5
	0.10	60	7.1	98	4.7	3.2
“贝达”	0.01	60	6.6	100	6.8	5.3
	0.05	60	6.9	100	9.6	7.0
	0.10	60	6.5	97	4.3	3.8
“SO4”	0.01	60	7.1	96	6.1	4.4
	0.05	60	7.2	100	7.2	5.2
	0.10	60	6.3	95	3.4	3.1
“变叶葡萄”	0.01	60	6.1	95	5.1	3.6
	0.05	60	6.2	98	6.0	4.1
	0.10	60	4.4	93	2.9	2.1

表3 IAA对葡萄砧木试管苗生根的影响

品种	IAA 浓度 /mg·L ⁻¹	接种数 /个	株高 /cm	生根率 /%	平均根数 /条	平均根长 /cm
“520A”	0.01	60	6.8	99	4.6	5.3
	0.05	60	7.2	100	5.4	5.9
	0.10	60	6.9	96	3.7	4.2
“贝达”	0.01	60	6.8	98	4.5	4.7
	0.05	60	7.0	99	4.9	5.1
	0.10	60	6.9	92	3.2	3.6
“SO4”	0.01	60	5.9	96	4.1	4.6
	0.05	60	6.5	98	4.4	5.2
	0.10	60	6.1	91	2.8	3.7
“变叶葡萄”	0.01	60	6.4	94	3.8	4.0
	0.05	60	6.9	96	4.2	4.9
	0.10	60	6.5	87	2.2	2.8

2.3 不同基质对葡萄砧木移栽成活的影响

由表4可知,以珍珠岩和蛭石为基质的试管苗移栽成活率较河沙高,平均成活率达75.0%,最高为80.0%。说明以珍珠岩和蛭石为基质透气性好,试管苗根系生长好。品种“贝达”成活率明显高于其它品种,说明“贝达”较其它品种容易移栽成活。试验还发现,试管苗越大、根系越多、生长越旺盛,移栽成活率越高,且移栽缓苗时间越短。

表4 基质对葡萄砧木组培苗练苗移栽成活的影响

Table 4 The effect of matrix on transplanting survival of grape rootstock explants

品种	基质类型	移栽数/株	成活数/株	成活率/%
“520A”	珍珠岩+蛭石	30	23	76.7
	河沙	30	18	60.0
“贝达”	珍珠岩+蛭石	30	24	80.0
	河沙	30	20	66.7
“SO4”	珍珠岩+蛭石	30	21	70.0
	河沙	30	19	63.3
“变叶葡萄”	珍珠岩+蛭石	30	22	73.3
	河沙	30	19	63.3

3 讨论与结论

葡萄砧木外植体不定芽及不定根的生成是一个复杂的过程,有众多影响因素,其中植物激素是重要的影响因素。适当的激素配合能够高效诱导细胞分裂启动和芽的分化^[1],细胞分裂素和生长素是组织培养中广泛应用的植物生长调节剂,一定浓度的细胞分裂素和生长素对诱导不定芽发生具有重要作用。李克喜等^[2]研究表明,6-BA能有效促进葡萄砧木不定芽生成,低浓度6-BA和NAA配合,诱导产生大量不定芽,且芽苗生长旺盛。6-BA浓度过高,诱导的不定芽数量虽增多,但芽苗矮小、呈丛生状,长势较差或几乎不长,说明激素诱导葡萄砧木不定芽生成有一定的浓度要求^[3-4]。

一定浓度的生长素IBA、IAA能有效促进葡萄砧木试管苗生根,且根系生长良好,试管苗长势旺盛。但生

长素浓度过高,试管苗基部诱导产生大量愈伤组织^[5],试管苗的生根、生长减弱,说明葡萄砧木组培生根中,生长素浓度不宜过高,否则会抑制试管苗发根、生长。该试验结果表明促进葡萄砧木试管苗生根的浓度不应高于0.05 mg/L,这与何家涛等^[6]、刘文瑜等^[7]、卢塔山等^[8]、刘伟等^[9]的研究基本一致。该试验结果还表明,葡萄砧木试管苗生根除激素作用外,经5~8次继代转接培养后,有部分试管苗开始生根,试管苗长势转好,继代次数越多,试管苗生根越容易、生长越旺盛,这可能与自身调节体内激素适应组培环境有关。

影响葡萄砧木试管苗练苗移栽成活的因素很多。发根多且粗壮的试管苗练苗移栽成活率较高;练苗环境温度控制在20~25℃、湿度65%以上试管苗移栽成活率高^[7];珍珠岩和蛭石为移栽基质,空隙大,透气性好,移栽成活率也高。

参考文献

- [1] 王小著,李玲.植物生长调节剂在植物组织培养中的作用[M].北京:化学工业出版社,2002:37-38.
- [2] 李克喜,王启凤.黑夏葡萄的组织培养与快速繁殖[J].中国南方果树,2004,33(4):72.
- [3] 张剑峡,王跃进.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.
- [4] 刘晓芹,冯美,王振平,等.葡萄砧木组培快繁研究[J].安徽农业科学,2010,38(17):8866-8868.
- [5] Wain W H. Problems in rooting cultured shoots//Micropropagation in Horticulture:Practice and commercial problems[M].Institute of Horticulture,1986:161-172.
- [6] 何家涛,赵劲松,董登文,等.高麦葡萄茎尖脱毒技术与高效再生体系[J].广东农业科学,2007(2):39-42.
- [7] 刘文瑜,王旺田,曹夜义,等.抗寒变叶葡萄砧木组织培养[J].江苏农业科学,2010(5):81-84.
- [8] 卢塔山,彭宏祥,张瑛.优质酿酒葡萄新品种IVW196组培快繁研究[J].西南农业学报,2004,17(4):497-499.
- [9] 刘伟,李希东,刘新.葡萄砧木‘F-242’组织培养及快繁技术[J].北方园艺,2010(1):68-70.

Study on *in vitro* Rooting Through Rapid Propagation of Several Grape Rootstock

ZHENG Ping-sheng, LI Xiang-dong, LI Guo-liang

(Extension Station of Economic Crop Technology, Lanzhou, Gansu 7300370)

Abstract: Taking ‘520A’, ‘beta’, ‘SO4’, ‘variable leaf grape’ of grape rootstock as materials, *in vitro* rooting and rapid propagation of four kinds of grape rootstock were studied. The results showed that GS + 6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L was the most suitable combination of grape rootstock explants adventitious bud differentiation and vitro proliferation; GS + IBA 0.05 mg/L had the best effect to grape rootstock rooting, and perlite plus vermiculite as transplanting plantlets had the highest survival rate.

Key words: grape rootstock; tissue culture and rapid propagation; rooting