葡萄砧木'F-242'组织培养及快繁技术

刘 伟, 李希东, 刘 新

(青岛农业大学 生命科学学院 山东 青岛 266109)

摘 要:以葡萄砧木品种 F-242' 带芽新梢为供试材料, 研究了消毒时间、激素种类及其浓度配比、基本培养基对外植体生根的影响。结果表明: 75%乙醇 15 s, 0.1%的升汞 8 min 为葡萄砧木品种 F-242' 最佳的外植体消毒时间。附加生长素类物质 IAA 和IBA 可以明显促进'F-242' 外植体的生根, 且IAA 处理的综合效果要明显优于 IBA、IAA 的最佳附加浓度为 0.1 mg/L。不同的基本培养基对葡萄品种'F-242' 外植体生根影响显著, 其中以 MS 基本培养基为最佳。

关键词: 葡萄; 'F-242'; 外植体; 生根率

中图分类号: S 663. 104⁺. 3 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2010)01-0068-03

葡萄(Vitis.L.)属于多年生果树,由于长期运用扦插、嫁接与压条繁殖,使得葡萄品种退化严重,尤其在多雨地区易受病虫感染,对葡萄生产的发展极为不利。采用组织培养技术能保持葡萄品种母本的原有特性并可

第一作者简介:: 刘伟(1982), 男, 在读硕士, 现主要从事植物逆境生理方向的研究工作。 E-mail: liuwei5241@yahoo.com. cn。通讯作者: 刘新(1966-), 女, 博士, 教授, 现主要从事植物逆境生理与分子生物学研究工作。 E-mail: liuxin6080@yahoo.com. cn。基金项目: 农业部948 资助项目(2006-G26)。

在短期内大量繁殖,是一种极为有效的快繁途径。

'F-242' (Fercal, Berl. Colombard NoIA \times 333EM)是一种农艺性状优良的砧木品种, 抗根瘤蚜能力较强, 抗根结线虫, 抗钙能力强 抗缺铁失绿能力非常强, 抗旱耐石灰质土壤。抗霜霉病, 但不抗干枯病、蔓割病, 易患缺镁症 $^{\parallel}$ 。该研究的目的是建立'F-242' 组织培养及快速繁殖体系, 为'F-242' 这一优良砧木品种的快速推广做理论基础和技术支持。

- 1 材料与方法
- 1.1 试验材料

葡萄砧木品种 F-242'的 1 a 生带芽新梢, 取材于中

从植物学形态上难以发现的染色体自然加倍现象。

收稿日期: 2009-08-06

引进的 2 份近缘植物迪普沙瓜,一份材料染色体数 2n=24,与有关文献记载相符。另一份材料出现体细胞染色体 2n=44 的现象,不符合甜瓜属植物的染色体基数特征,是否与材料栽培过程中染色体产生自然加倍和缺失有关,有待进一步观察。

参考文献

- [1] 王吉明 尚建立,马双武.甜瓜近缘植物引进观察初报 J.中国瓜菜 2007(6): 31-33.
- [4] 王吉明 马双武. NaCl 胁迫对西瓜种子发芽的影响[J]. 北方园艺 2007(3): 20-22.
- [3] 张永兵 陈劲枫, 伊鸿平, 等. 甜瓜有丝分裂染色体制片技术及核型分析 』]. 西北植物学报 2005 25(9): 1735-1739.
- [4] 陈劲枫 钱春桃,林茂松,等.甜瓜属植物种间杂交研究进展[J].植物学通报,2004,21(1):1-8.

A Study on Chromosome Counts of Melon Wild Related Plants

WANG Ji-ming¹, HE Ping², MA Shuang-wu¹, SHANG Jian-li¹, ZHAO Chang-zhu¹

(1.Zheng zhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zheng zhou, Henan 450009; 2. Department of Biology, Zheng-zhou University, Zheng zhou, Henan 450001)

Abstract: The root s of germinating seeds were used to study on chromosome counts of nine melon relative pants and one wild melon plants. The results showed that chromosome number in somatic cells of most materials were 2n=24, equal to melon chromosome number, except one accession *C. anguria* with 48 chromosomes and one accession *C. dip saceus* with 44 chromosomes in somatic cells, the latter was not according to base chromosome numbe x=7 or x=12 in Cucumis, maybe whose chromosomes had spontaneous duplication and deletion during cultivation.

Key words: melon; related plant; chromosome counts

·研究简报

粮南王山谷君顶酒庄。

1.2 试验方法

将供试材料用自来水冲洗1~2h,并将其剪成带单 芽的茎段。先用75%的乙醇浸泡15 s, 无菌水冲洗3~5 次。然后用 0.1%的升汞处理 8 min, 无菌水冲洗 3~5 次。最后将茎段接种于不同的生根培养基上培养,30 d 后观察生根情况。

1.3 培养条件

所用培养基的 pH 值为 5.8 琼脂 8 g/L 蔗糖为 30 g/L, 同时附加不同浓度配比的激素。培养温度为 (25±1) ℃, 光照时间 12 h, 光照强度为 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对 F-242' 外植体成活率的影响

消毒时间对葡萄无菌系的建立有很大的影响,它直 接影响无菌苗的数量及质量。如表 1 所示, 随着 0.1% 升汞处理时间的延长,植株污染率逐渐下降,但同时植株 的褐化率却逐渐升高。当 75 % 乙醇处理 15 s, 0.1 % 升汞 处理 8 min 时, 外植体的成活率达到最高, 为 43.33 %。

2.2 激素对'F-242'外植体牛根的影响

2.2.1 IAA 对 F-242' 外植体生根的影响 适宜浓度的 IAA 处理对葡萄外植体生根具有很大的影响。由表 2

可知,随着IAA浓度的升高,生根率出现先升高后降低 的生长趋势(表 2)。 当附加 0.1 mg/L 的 IAA 时,生根 率达到最高,为 92.90%。同时其株高(5.70±0.52)cm, 平均根数 (6.60 ± 0.52) cm, 植株长势较之其它处理差异 显著。结果表明, 附加 0.1 mg/L 的 IA A, 可以有效地促 进葡萄砧术 F-242' 外植体的生根, 且植株长势较好, 但 浓度过高,则会出现毒害作用,不利于生根及植株生长。 2.2.2 IBA 对 F-242 外植体生根的影响 适 官浓度的 IBA 处理对葡萄外植体生根同样具有很大的影响。由 表 3 可以看出, 附加不同浓度的 IBA 可以明显促进 'F-242' 外植体的生根率及生长势。在 0~0.2 mg/ L 范 围内, 随着 IBA 浓度的升高, 生根率基本呈现上升趋势。 当附加 0.2 mg/L 的 IBA 时, 生根率达到最高, 为 67.50%,同时其株高为 (2.30 ± 0.20) cm,平均根数为 (5.00 ±0.78)个,植株长势较之其它处理差异显著,但仅 比附加 0.1 mg/L IBA 处理的外植体生根率高 5%(62.50%), 平均根长高 0.4 cm, 植株长势略好于其它处 理,但差异不显著。结果表明,附加 0.2 mg/L 的 IBA, 可以有效地促进 F-242' 外植体的生根, 但与 IAA 相比 各指标均处干较低的水平。

消毒时间对 F-242' 外植体成活率的影响(P<0.05) 表 1

75% 乙醇 / s	0.1%升汞/ min	接种数/株	污染数/株	污染率/ %	褐化数/株	褐化率 %	成活数/ 株	成舌率/ %
15.00	6.00	30.00	17.00	56.67a	5.00	16.67 d	8.00	26. 67d
15.00	8.00	30.00	10.00	33.33b	7.00	23. 33 b	13.00	43.33a
15.00	10. 00	30.00	7.00	23.33c	13.00	43. 33a	9.00	30.00c
15.00	12. 00	30.00	5.00	16.67d	15.00	20.00c	10.00	33. 33b

注、采用 Duncan's 新复极差方法分析,不同字母表示在 5% 水平差异显著 下同。

表 2	IAA 对 F-242' 外植体生根情况的影响(P<0.05)

IAA/ mg ° L-1	生根率/ %	平均根长/cm	平均根数/ 个	株高/ cm	生根情况
0.00	40. 00d	$0.81\mathrm{d}{\pm}0.27$	$2.52c\pm0.24$	$1.90\mathrm{d}\pm0.21$	侧根少、长势弱
0.01	60.00c	$4.40b\pm 1.34$	$5.20b\pm0.20$	$2.90c\pm0.13$	侧根较少、长势弱
0.05	83. 30b	$3.59c\pm 1.20$	$5.75b\pm0.16$	$4.60b\pm0.40$	根较粗、侧根较多
0.10	92.90a	$5.30a\pm1.11$	$6.60a\pm0.20$	5.70 a±0.34	根粗壮、侧根多
0.20	90.00a	$5.42a\pm0.86$	$5.67b\pm0.08$	$5.40ab\pm0.19$	根粗壮、侧根多

表 3 IBA 对'F-242'外植体生根情况的影响(P≤0.05)

IBA/ mg ° L-1	生根率/%	平均根长/cm	平均根数/ 个	株高/ cm	生根情况
0.00	43. 00d	$0.86c\pm0.20$	1.52 d \pm 0.20	$1.60b\pm0.30$	侧根少、长势弱
0.01	62. 50b	$1.32b\pm0.32$	$3.62b\pm0.30$	$1.90 \mathrm{ab} \pm 0.40$	侧根较少、长势弱
0.05	50.00c	1.27b \pm 0.19	$2.50c\pm0.18$	$2.40\mathrm{a}{\pm}0.50$	根较粗、侧根较多
0. 10	62. 50b	$1.50b\pm 0.28$	$4.83a\pm0.40$	2.60a±0.10	根粗壮、侧根多
0.20	67.50a	$1.92a\pm0.10$	$5.00a\pm0.78$	$2.30ab\pm 0.20$	根粗壮、侧根多

不同基本培养基对'F-242' 外植体生根的影响(P < 0.05) 表 4

基本培养基	生根率/%	平均根长/cm	平均根数/ 个	株高/ cm	生根情况
MS	91.67a	$1.74a\pm0.24$	$2.75a\pm0.20$	2.50a±0.40	根粗壮、长势好
1/2MS	87. 77b	$1.61a\pm0.12$	$2.27\mathrm{e}\pm0.13$	2. $10b\pm0.20$	根较粗、长势较好
NN-1969	90. 12ab	$1.27 \mathrm{b} \pm 0.19$	2.50 b ± 0.18	$1.90\mathrm{c}{\pm}0.50$	根较粗、长势弱
GS	84. 65c	$0.83\mathrm{d}{\pm}0.38$	$1.96 d \pm 0.23$	$1.50 d \pm 0.40$	根纤细、长势弱
B ₅	80. 33d	1.09c±0.10	$2.50b\pm0.30$	$1.60 \mathrm{d} \pm 0.20$	生根很晚 长势弱

2.3 不同基本培养基对 F-242' 外植体生根的影响

3 结论与讨论

不同的消毒时间对葡萄无菌苗的数量及质量影响显著。试验发现,随着 0.1%升汞处理时间的延长、葡萄砧木' F-242' 污染率逐渐下降,但同时植株的褐化率却逐渐升高。这可能是由于消毒时间过长,对幼嫩的外植体材料产生了毒害作用,加剧了外植体的褐变进程,从而导致了外植体的褐化死亡。

外植体不定根的生成是一个复杂的过程,影响因素众多。其中以植物激素的影响最为重要,尤其是生长素的效果最为明显。结果表明,在一定浓度范围内,随着IAA 浓度的不断增加,生根率也随之升高。说明IAA 对葡萄砧术 F-242' 外植体的生根具有明显的促进作用,0.1 mg/L 为最佳的 IAA 附加浓度。但随着 IAA 浓度的升高,生根率和植株长势均呈现先升高后降低的趋势,这可能是因为过高浓度的 IAA 对外植体的生根及长势产生了部分毒害作用。何家涛等通过研究不同生长素对高妻葡萄试管苗的生根情况,认为高妻葡萄的最适培养基为 1/2MS+IAA 0.5 mg/L¹²。与该试验结果类似,但最适生长素 IAA 的浓度与该试验略有差异,这可

能是由于处理材料的不同所造成的。IBA 对葡萄砧木 'F-242'生根效果影响显著,但没有明显的浓度效应,且 与同等浓度的IAA 处理相比 其生根率及植株的长势均 低于前者。这与卢塔山等和胡如善等的研究结果存在 差异^[34]。

基本培养基的选择同样是影响葡萄'F-242' 外植体生根的一个重要因子。试验研究了 5 种基本培养基附加最佳浓度的激素 IAA 对'F-242' 外植体生根的影响。结果表明, MS 基本培养基上培养的'F-242' 外植体生根率为最高, 可达 91. 67%, 其综合效果也优于其它处理。1/2MS和 NN-1969 次之, B。最低。这与王起才等对喀什哈尔葡萄的研究结果一致^[5], 而与高疆生等对木那格葡萄研究结果存在差异^[6], 他们认为, 1/2MS 的效果要更好一些。另外, 张晓申和王慧瑜则发现 B。基本培养基对'美人指'葡萄无菌苗的生根效果最好^{7]}。这可能是由于不同的试验材料对各种无机盐含量、有机成分种类需求不一致所造成的。

参考文献

- [1] 杜远鹏 翟衡, 王忠跃, 等. 葡萄根瘤蚜抗性砧木研究进展[1]. 中外葡萄与葡萄酒 2007(5):19-21.
- [4] 何家涛 赵劲松,董珍文,等. 高妻葡萄茎尖脱毒技术与高效再生体系[]. 广东农业科学, 2007(2): 39-42.
- [3] 卢塔山 彭宏祥, 张瑛. 优良酿酒葡萄新品种 NW 196 组培快繁研究
- []]. 西南农业学报 2004, 17(4):497-499.
- [4] 胡如善 杨玉珍, 孙廷 等. 美国无核葡萄新品种 SRO2 的组织培养与快速繁殖[J]. 浙江农业科学, 2006(3): 125-126.
- [5] 王起才, 马纪 张富春. 喀什哈尔葡萄组织培养及再生体系的建立 [1]. 新疆农业科学 2008 45(1):42-46.
- [6] 高疆生 张卫芳, 欧勇慧. 木那格葡萄的组培快繁试验 JJ. 落叶果树 2003(4): 46.
- [7] 张晓电 王慧瑜.美人指葡萄组培快繁技术研究[J]. 落叶果树. 2003 (2): 11-12.

Establishment of Tissue Culture and Rapid Propagation System of Grape Rootstock 'F-242'

LIU Wei, LI Xi-dong, LIU Xin

(College of Life Sciences Qingdao Agricultural University, Qingdao Shansong 266109)

Abstract: In order to establish the efficient rapid propagation system of grape rootstock 'F-242', the effects of different disinfection times, hormones and their concentration ratio, basic mediums on rooting of explants were studied. The results indicated that the influence of different disinfection times were significantly different. The explants were sanitized in 75% alcohol for 15 s and then treated in 0.1% mercuric chloride for about 8 min, contamination can be controlled efficiently. The treatment which adding IAA and IBA could promote rooting of explants efficiently and the comprehensive effect of adding IAA was better then IBA. 0.1 mg/L was the best adding concentration of IAA. The different basic mediums on rooting of explants were significantly different and MS was the best.

Key words: grape; 'F-242'; explants; rooting rate