

不同浓度6-BA对“红标无核”葡萄茎段培养的影响

李永辉, 白远国, 邓云, 陈豪 (1. 荆州职业技术学院, 湖北荆州 434100; 2. 湖北省荆楚种业, 湖北荆州 434100)

摘要 以1/2MS、MS和B5为基本培养基研究了不同浓度的6-BA对“红标无核”葡萄茎段培养的影响。结果表明, 采用70%的乙醇20s和1.0g/kg升汞5min对外植体消毒效果最理想。芽诱导的6-BA最佳浓度为2.5ng/L, 在MS培养基上芽的诱导率达到90%, 在B5培养基上诱导率为80%; 在MS培养基中, 6-BA浓度为1.0ng/L, IAA浓度为0.5ng/L时, 芽的分化与增殖均为最佳; 在1/2MS生根培养基中, IBA浓度为1.0ng/L时生根率达84%, 平均根数为5条, 根生长良好。

关键词 6-BA; 红标无核; 葡萄; 组织培养

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)15-04452-02

Effect of the Different Concentration of 6-BA on Stem Segment Culturing of Hongbiao Seedless Grape

LI Yonghui et al (Jingzhou College of Vocation Technique, Jingzhou, Hubei 43400)

Abstract The apical stem and stem segment with axilla bud of Hongbiao Seedless Grape were cultured on the basic medium with different concentration of 6-BA. Results showed that using 70% ethanol for 20s and 1.0g/kg Hg for 5min got optimum effect on sterilizing explants. The optimum concentration of 6-BA was 2.5ng/L in inducing bud, with the bud induction of 90% on MS medium and 80% on B5 medium. When the 6-BA concentration was 1.0ng/L, IAA concentration was 0.5ng/L, the differentiation and multiplication of the induced buds were optimum. On the 1/2MS rooting medium, when IAA concentration was 0.5ng/L, the root grown well and the rooting reached 84%, with roots number of 5 on average.

Key words 6-BA; Hongbiao Seedless Grape; Tissue culture

“红标无核”是以二倍体郑州早红和四倍体巨峰杂交育成的, 也称‘8612’, 是一个三倍体葡萄新品种。国内外已有利用葡萄茎段、叶片、茎尖和花药等组织和器官为材料进行离体培养获得愈伤组织和芽苗的成功经验, 但至今尚无有关“红标无核”葡萄组织培养的报道, 笔者通过试验摸索、筛选该品种的组培方法, 以获得更多的植株, 满足市场的需求; 研究该品种的组织培养方法, 为用组织培养的方法繁殖该品种提供依据, 同时丰富葡萄组织培养的内容。

1 材料与方 法

1.1 试验材料 切取“红标无核”葡萄的茎尖和带腋芽的茎段作外植体。

1.2 试验方 法

1.2.1 培养基及配制。 试验愈伤组织的诱导采用MS和B5 2种培养基; 分化和增殖采用MS培养基; 生根采用1/2MS培养基; 各阶段根据不同需要附加NAA、6-BA等生长调节剂。所有培养基调整pH值至5.8~6.0。生长调节剂均在高压灭菌前加入, 高压灭菌条件121 30min。

1.2.2 材料消毒。 选取带1个腋芽的茎段, 切成1~2cm的小段, 在洗衣粉中浸泡10min, 用流水冲洗2~3h, 置于70%的酒精中消毒20s, 用无菌水冲洗2次, 取出后放入1.0g/kg升汞溶液中消毒3~6min, 无菌水冲洗3~4次, 1次1~2min, 在无菌条件下将其切成带1个腋芽的约0.5cm的小段。

1.2.3 芽诱导。 把切好的茎段接种于芽的诱导培养基上。试验共采用以下8种配方: P1: MS+6-BA₅+NAA_{0.5}, P2: MS+6-BA_{2.5}+NAA_{0.5}, P3: MS+6-BA₅+NAA_{0.25}, P4: MS+6-BA_{2.5}+NAA_{0.25}, P5: B5+6-BA₅+NAA_{0.5}, P6: B5+6-BA_{2.5}+NAA_{0.5}, P7: B5+6-BA₅+NAA_{0.25}, P8: B5+6-BA_{2.5}+NAA_{0.25}。(下标数字为浓度, 单位为ng/L, 下同)。接种10d后统计污染率、死亡率及成活率。3~4周当芽萌发后, 长至1.0cm左右时, 切下萌发的幼芽, 转入相同的培养基中继续培养。

1.2.4 芽的分化增殖生长。 当芽长至1.0~1.5cm时, 从原茎段上切下健壮的芽, 接入分化培养基。试验用Y1: MS+6-BA_{1.0}+IAA_{0.5}, Y2: MS+6-BA_{0.5}+IAA_{1.0}, Y3: MS+6-BA_{1.0}+IAA_{1.0}, Y4: MS+6-BA_{0.5}+IAA_{0.5}共4种培养基(下标数字单位为ng/L)。接种15d后观察芽的分化、增殖及芽的生长情况。

1.2.5 根诱导。 切取分化增殖培养基中茎叶生长健壮, 长度2cm以上的无根苗, 转接到生根培养基中进行生根培养。培养基为1/2MS基本培养基, 附加0.5~2.0ng/L不同质量浓度水平的IBA。培养条件为温度(25±2), 光照强度2000lx, 光照时间14h/d。观察生根数及发根时间的长短和根的粗细, 以确定最佳生根培养基, 同时每隔2d观察根的伸长长度。接种10d后调查生根及生长情况。

2 结果与分析

2.1 不同升汞处理时间对污染率、死亡率及成活率的影响

由表1可见, 该品种在升汞处理5min的情况下, 成活率达80%, 明显高于升汞处理3和6min的50%和55%。而污染率随升汞处理时间的延长而下降, 升汞处理6min时, 污染率为0。而褐死率则正好相反, 随升汞处理时间的延长, 褐死率呈上升趋势, 可能是由于升汞对幼嫩组织有较强的伤害作用。综合成活率、污染率、褐死率来看, 葡萄外植体消毒采用70%的酒精20s和1.0g/kg升汞5min为宜。

表1 不同升汞处理时间对“红标无核”葡萄污染率、死亡率及成活率的影响

酒精处理 s	升汞处理 min	接种数 株	污染率 %	褐死率 %	成活率 %
20	3	20	40	10	50
20	4	20	40	5	55
20	5	20	10	10	80
20	6	20	0	45	55

2.2 不同培养基与激素配比对芽萌发的影响 由表2分析可知, 茎段接种后, 从芽的萌发率和激素浓度之间关系来看, P2、P3、P6、P7 4种处理的芽萌发率明显高于其他处理, 两者

间没有相关性。其原因尚不清楚。

表2 不同培养基与激素比对葡萄芽诱导的影响

处理	接种数 株	萌芽数 株	萌芽率 %
P1	20	4	20
P2	20	18	90
P3	20	19	95
P4	20	6	30
P5	20	2	10
P6	20	16	80
P7	20	17	85
P8	20	2	10

2.3 不同培养基与激素比对芽的分化和增殖生长的影响

表3 显示,使用Y3 培养基不定芽的分化率最高,但芽未能伸长生长。Y1 培养基中不定芽的分化和增值倍数均处于中间位置,但芽不仅分化好而且伸长生长也良好。表明在6-BA 浓度一定的情况下,IAA_{0.5} 对芽的分化效果比IAA_{1.0} 要好。Y2 处理中,不定芽的分化很少。说明当6-BA 的浓度小于IAA 的浓度时,不利于芽的分化。综合分析,Y1 是“红标无核”的最佳分化增殖培养基。

表3 不同培养基与激素比对葡萄芽的分化增殖影响

处理	接种数 株	分化数 株	分化数 %	增殖倍数
Y1	60	50	83.3	4.1
Y2	60	6	10.0	3.6
Y3	60	55	91.6	4.4
Y4	60	46	76.6	2.8

2.4 不同激素水平对根诱导的影响 表4 显示,以1/2MS 为基本培养基,IBA 浓度为0.5 ng/L,生根率和生根数都较低。当IBA 的浓度为1.0 ng/L 时,生根率为84%,明显高于其他浓度水平。随着IBA 浓度的继续增加,生根率和生根数反而呈下降趋势,当浓度达2.0 ng/L 时,甚至完全不生根。

3 结论与讨论

(1) “红标无核”葡萄茎段的组织培养,消毒以70% 酒精20 s 结合1.0 g/kg 升汞的效果最好。芽的分化和增殖则以MS+6-BA_{1.0}+IAA_{0.5} 的效率最高,生根宜用1/2 MS+IBA 1.0

ng/L。

(2) 从植物园采的外植体带菌多,因此采用生长季节中的嫩茎段,这些外植体的细胞通常分裂旺盛,生长势旺,易成活。材料消毒时间过长,污染率虽低,但褐死严重;而过短,尽管褐死降低,但污染率较高。

表4 不同激素水平对葡萄试管苗生根的影响

IBA 质量浓度 ng/L	接种数 株	生根数 株	生根率 %	每株生根数 条
0.5	20	7.0	35	2.0
1.0	20	16.8	84	5.0
1.5	20	10.0	50	4.2
2.0	20	0	0	0

(3) 在芽的诱导过程中,细胞分裂素有诱导芽并促进腋芽生长的作用。在培养初期,细胞分裂素和生长素同时起作用,愈伤组织和芽均诱导产生,但由于生长素的浓度相对较高,在后期致使已萌发的芽枯萎并产生大量愈伤组织。

(4) 在葡萄芽的增殖生长中,通过选择适宜的培养基或调节激素种类与浓度配比,在同一阶段能完成芽的分化与伸长成苗,可加快繁殖速度。较高浓度的6-BA 能抑制芽的顶端优势,使腋芽发育,分化大量芽丛。

(5) 在生根培养过程中激素IBA 不宜过高也不宜过低。过高会出现茎段基部产生大量愈伤组织,抑制发根抽茎;过低会出现茎段基部不发根或生根条数少的现象。而适当浓度的IBA 不仅发根长根速度快,而且生长粗壮,侧根多,呈白色。

参考文献

- [1] 曹孜义. 葡萄组织培养研究的进展 [J]. 甘肃农业大学学报,1986 (1):53-60.
- [2] 赵胜建,郭紫娟. 三倍体无核葡萄育种研究进展 [J]. 果树学报,2004,21 (4):80-84.
- [3] 刘永清,谭昌秀. 葡萄组织培养脱毒技术研究 [J]. 福建果树,2004(2):10-11.
- [4] 赵胜建,赵淑云,郭紫娟,等. 三倍体葡萄新品种——无核早红 [J]. 园艺学报,2000,27(2):79-81.
- [5] 曹孜义,刘中民. 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.
- [6] 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,2001,18(2):80-84.
- [7] 董晓玲,李世诚,金佩芳,等. 几种激素对葡萄茎尖培养的影响 [J]. 上海农业科技,1990(3):39-40.