

陈春伶,徐美隆,杨 智,等. 酿酒葡萄“蛇龙珠”茎尖复苏及生茎培养基的筛选[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):174-176.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.057

酿酒葡萄“蛇龙珠”茎尖复苏及生茎培养基的筛选

陈春伶^{1,2,3}, 徐美隆¹, 杨 智¹, 乔改霞¹, 郭晓婧¹, 袁 婷¹

(1. 国家经济林木种苗快繁工程技术研究中心,宁夏银川 750004;2. 种苗生物工程国家重点实验室,宁夏银川 750004;
3. 宁夏林业研究所股份有限公司,宁夏银川 750004)

摘要:以 B₅ 改良的培养基作为基本培养基,比较了添加不同浓度 6-BA 与 IBA 组合的培养基对酿酒葡萄“蛇龙珠”茎尖复苏及生茎的影响,筛选出适合蛇龙珠试管苗茎尖复苏的培养基为 B₅(改良) + 1.5 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L IBA + 30 g/L 蔗糖 + 7 g/L 琼脂,pH 值 5.8~6.0;筛选出适合蛇龙珠试管苗生茎的培养基为 B₅(改良) + 1.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA + 30 g/L 蔗糖 + 7 g/L 琼脂,pH 值 = 5.8~6.0。
关键词:酿酒葡萄“蛇龙珠”;茎尖复苏培养基;生茎培养基
中图分类号:S663.104 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0174-02

蛇龙珠,酿酒葡萄品种,别称解百纳;欧亚种,原产法国,为法国的古老品种之一,与赤霞珠、品丽珠是姊妹品种;1892 年引入中国,现在山东烟台、宁夏等地区有较多栽培。葡萄茎尖因其顶端分生细胞分裂生长速度大于病毒在细胞间传递感染的速度,加之顶端分生组织代谢产生的内源激素对病毒具有钝化作用^[1],所以茎尖顶端分生组织通常不含或含少量病毒^[1-5]。因此,通过蛇龙珠茎尖剥离脱毒技术,获取无病毒组织,再进行组织培养,可得到脱毒的蛇龙珠健康植株。本研究通过筛选脱毒过程中茎尖复苏培养基及生茎培养基,以期获得适合蛇龙珠的优良茎尖顺利复苏生长的培养基,为蛇龙珠的无毒苗快繁提供技术支持。

1 材料与与方法

1.1 材料

复苏培养材料:4 周龄蛇龙珠试管苗茎尖;生茎培养材料:在茎尖复苏培养基上培养 3 周的葡萄茎尖发育成的小苗。

1.2 方法

本研究以 0.8~1.0 mm 的蛇龙珠试管苗茎尖为脱毒处理材料,处理后的茎尖需要复苏培养才能生长为完整的植株。参考 Wang 等的研究^[6-8],设计试验。茎尖复苏培养基及生茎培养基均以 B₅ 为基础培养基,对 6-BA 和 IBA 2 种植物生长调节剂进行浓度筛选。

1.2.1 复苏培养基筛选 根据文献报道以 B₅(改良)为基础培养基,对 6-BA 设计 1.0、1.5、2.0 mg/L 等 3 个水平,对 IBA 设计 0.05、0.10、0.15、0.20 mg/L 等 4 个水平,设计完全试验,配制培养基(附加 30 g/L 蔗糖和 7 g/L 琼脂,以形成固体培养基),倒茎尖复苏培养基平板;以 4 周龄蛇龙珠试管苗为材料,解剖镜下取 0.8~1.0 mm 茎尖于待筛选的茎尖复苏培养

平板中,每板 15 个茎尖,每个处理设置 3 次重复;避光暗培养 3 d,然后光照培养。培养条件:温度(25±2)℃;光照度 2 000~2 500 lx;光照时间 16 h/d。1 周后统计成活率,2 周后统计生长状态。

1.2.2 生茎培养基筛选 根据文献资料以 B₅(改良)为基础培养基,设定 6-BA 为 1.0、1.5、2.0 mg/L,设定 IBA 为 0.05、0.10、0.15、0.20、0.30 mg/L 5 个水平,设计完全试验,配制生茎培养基(附加 30 g/L 蔗糖和 7 g/L 琼脂,以形成固体培养基),倒入 300 mL 玻璃瓶内,每瓶 60 mL。以茎尖复苏培养基处理 1、处理 5 所得到的 3 周龄茎尖为材料,每瓶生茎培养基接种 3~4 株葡萄小苗;光照培养,培养条件:温度(25±2)℃,光照度 2 000~2 500 lx,光照时间 16 h/d。4 周后统计成活率及生长状况。

2 结果与分析

2.1 不同处理对蛇龙珠茎尖复苏的影响

从表 1 可以看出,处理 1、处理 2 的茎尖复苏培养基茎尖成活率最高,都能达到 100%;处理 5、处理 6、处理 7 成活率较高,都在 90% 以上。

表 1 蛇龙珠茎尖复苏培养基茎尖成活率统计

处理	生长调节剂浓度		成活率(%)				
	6-BA (mg/L)	IBA (mg/L)	重复 1	重复 2	重复 3	平均值	标准差
1	1.00	0.05	100	100	100	100	0.00
2	1.00	0.10	100	100	100	100	0.00
3	1.00	0.15	67	80	67	71	7.70
4	1.00	0.20	87	80	80	82	3.85
5	1.50	0.05	93	93	87	91	3.85
6	1.50	0.10	100	94	100	98	3.61
7	1.50	0.15	100	93	100	98	3.85
8	1.50	0.20	50	53	67	57	8.82
9	2.00	0.05	80	87	75	81	5.85
10	2.00	0.10	87	87	93	89	3.85
11	2.00	0.15	88	87	87	89	3.85
12	2.00	0.20	87	87	93	89	3.85

收稿日期:2014-08-20
基金项目:国家科技支撑计划(编号:2013BAD09B00);国家“948”项目(编号:2014-4-55)。
作者简介:陈春伶(1983—),女,湖北恩施人,硕士,助理研究员,从事植物组织培养与脱毒病毒检测技术研究。Tel:(0951)5667119;
E-mail:chunling8371@163.com。

由表 2 可知,处理 1、处理 5、处理 8 茎尖复苏培养基茎尖生长情况好,叶片面积大(图 1),最终得分都在 90 分以上。

综合考虑,处理 1、处理 5 茎尖复苏培养基是效果好的葡萄茎尖复苏培养基。

表 2 蛇龙珠茎尖复苏培养基茎尖生长状况统计

处理	A 类:0.8 cm < 叶宽 ≤ 1.0 cm 的叶片数(张)	B 类:0.6 cm < 叶宽 ≤ 0.8 cm 的叶片数(张)	C 类:0.25 cm < 叶宽 ≤ 0.6 cm 的叶片数(张)	总分	最终得分
1	46	0	0	46	100
2	34	11	0	39	88
3	13	0	19	18	55
4	7	30	0	22	59
5	35	6	0	38	93
6	31	15	0	39	84
7	24	20	0	34	78
8	22	4	0	24	92
9	22	15	0	29	79
10	0	40	0	20	50
11	27	13	0	33	83
12	21	19	0	31	76

注:总分 = A 类叶片数量 × 1 + B 类叶片数量 × 0.5 + C 类叶片数量 × 0.25;最终得分 = 总分 ÷ 总叶片数。



图1 蛇龙珠的茎尖复苏

2.2 不同处理对蛇龙珠组培苗生茎的影响

从表 3 可见,茎尖在处理 5 复苏培养基上复苏 3 周后,转入 B₅(改良) + 1.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA + 30 g/L 蔗糖 + 7 g/L 琼脂的生茎培养基效果最好:轻度褐化、无明显愈伤、有单株分化、长势好(图 2);其余培养基则表现为愈伤丛生、严重褐化、长势过弱或死亡。

3 讨论

3.1 茎尖复苏培养基筛选

好的茎尖复苏培养基不仅茎尖成活率要高,而且茎尖应该生长良好、长势旺盛。本研究从茎尖成活率和茎尖生长情况两方面对茎尖复苏培养基进行综合考量,最终选出成活率高、长势旺盛的 2 种茎尖复苏培养基供后续研究使用。

表 3 蛇龙珠生茎培养基筛选

处理	生茎培养基	总株数	成活株数	褐化程度	形成愈伤程度	是否丛芽	是否生根	长势
1	1.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L IBA	9	0	全部褐死	愈伤	丛芽	否	死亡
2	1.0 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L IBA	9	9	基部轻微褐化	大量愈伤	丛芽	否	好
3	1.0 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L IBA	9	1	严重褐化	大量愈伤	丛芽	生根	弱
4	1.0 mg/L 6-BA + 0.20 mg/L IBA	9	9	轻微褐化	愈伤	丛芽	生根	一般
5	1.0 mg/L 6-BA + 0.30 mg/L IBA	9	9	基部叶片褐死	未形成肉眼可见愈伤	单株	生根	弱
6	1.5 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L IBA	7	4	基部叶片褐死	愈伤	丛芽	生根	弱
7	1.5 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L IBA	7	7	轻微褐化	未形成肉眼可见愈伤	单株	生根	很好
8	1.5 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L IBA	7	7	基部褐化	大量愈伤	丛芽	生根	一般
9	1.5 mg/L 6-BA + 0.20 mg/L IBA	7	2	严重褐化	愈伤	单株	生根	弱
10	1.5 mg/L 6-BA + 0.30 mg/L IBA	7	7	基部褐化	大量愈伤	丛芽	生根	叶发红
11	2.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L IBA	8	4	基部叶片褐死	愈伤	丛芽	短根	弱
12	2.0 mg/L 6-BA + 0.10 mg/L IBA	8	8	未发生褐化	大量白色愈伤	丛芽	生根	叶发红
13	2.0 mg/L 6-BA + 0.15 mg/L IBA	8	8	轻微褐化	愈伤	丛芽	生根	弱
14	2.0 mg/L 6-BA + 0.20 mg/L IBA	8	8	褐化	愈伤	丛芽	生根	叶发红
15	2.0 mg/L 6-BA + 0.30 mg/L IBA	10	10	基部叶片褐死	未形成肉眼可见愈伤	单株	一半	好



图2 蛇龙珠的生茎培养

6-BA 是人工合成的植物生长调节剂,具有促进细胞延长、细胞分裂、芽形成等作用。IBA 也是人工合成的植物生长调节剂,是 IAA 的类似物,具有促进不定根形成和根生长的作用。顾沛雯等研究发现,6-BA 和 IBA 在茎尖复苏中是不可缺少的植物生长调节剂,不添加 6-BA 或不添加 IBA 都不

能诱导茎尖萌发^[7],只有二者共同使用,才能成功诱导茎尖萌发。Wang 等研究发现,在茎尖复苏培养基中添加 IBA 比添加 NAA 效果好,有利于不定根的形成^[6,9]。6-BA 的浓度大于 0.5 mg/L 时对小芽的顶端优势有明显抑制作用,会产生大量丛芽;6-BA 浓度低于 0.5mg/L 时有利于小芽的正常生长,不易产生大量丛芽。

本研究根据文献资料采用赋值加权的方式将成功复苏的茎尖的生长情况量化,从而易于比较和分析。本研究以叶片宽度为基本参考,根据复苏 2 周的茎尖生长情况将叶片宽度分为 3 类:A 类叶片 0.8 cm < 叶宽 ≤ 1.0 cm;B 类叶片 0.6 cm < 叶宽 ≤ 0.8 cm;C 类叶片 0.25 cm < 叶宽 ≤ 0.6 cm。A 类叶片每张赋值 1,B 类叶片每张赋值 0.5,C 类叶片每张赋值 0.25。这样,复苏后茎尖的生长情况得以量化,从而为评价其生长状况提供了方法和依据。

陈永华,王 佩,陈 莹,等. 几种观赏植物根系诱导条件的优化[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):176-178.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.058

几种观赏植物根系诱导条件的优化

陈永华,王 佩,陈 莹,付伟华

(中南林业科技大学林学院,湖南长沙 410004)

摘要:以 6 种观赏植物仙人掌(*Opuntia stricta*)、万年青(*Rohdea japonica*)、虎皮兰(*Sansevieria trifasciata*)、发财树(*Pachira macrocar*)、苏铁(*Cycas revoluta*)、鹅掌柴(*Schefflera octophylla*)为材料,采用正交试验设计的方法研究遮光方式、曝气时间、营养液类型对诱导根系生长的影响。结果表明:6 种观赏植物的根系诱导最佳水平分别为:发财树(清水-不曝气-不遮光),鹅掌柴(清水-曝气 10 h/d-全遮光),虎皮兰(霍格兰德配方-曝气 5 h/d-不遮光),万年青(霍格兰德配方-曝气 5 h/d-遮 1/2 光),苏铁(霍格兰德配方-曝气 5 h/d-遮 1/2 光),仙人掌(日本园试营养液配方-不曝气-不遮光)。

关键词:水培;根系诱导;正交设计;观赏植物;优化

中图分类号:S680.4⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0176-03

水培观赏植物是继 20 世纪 60 年代世界农业的“绿色革命”之后,兴起的一场新的“种植革命”^[1]。它是通过现代生化技术对普通土培植物的根部进行诱导驯化,使其适应水环境生长,再采用专用营养液进行栽培的一种培育方式^[2]。而目前制作水培花卉采用的植物材料一般为土培花卉,由于土培花卉根系的生理与结构特征,使其难以直接适应水生环

境^[3]。若将土培花卉直接培养在水中,由于水环境阻碍了植物正常的呼吸作用,大部分植物会因为供氧不足而逐渐死亡,解决这一难题的关键是诱导出水生根系^[4]。已有研究表明,影响植物根系诱导的主要因素有遮光方式、曝气时间、营养液类型等^[5-6]。因此,本研究主要集中在根系诱导方法上,研究遮光方式、曝气时间、营养液类型 3 个因素对 6 种观赏植物根系诱导影响,结果将为水培花卉的发展提供技术支持。

收稿日期:2014-09-03

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2012BAC09B03);湖南省教育厅科学研究项目(编号:13B147)。

作者简介:陈永华(1977—),男,博士,副教授,主要研究方向为观赏园艺学。E-mail:chenyonghua3333@163.com。

3.2 生茎培养基筛选

茎尖复苏培养、生茎培养、生根培养,各阶段的生长调节剂配比有所不同。本研究发现,将 1~2 mm 的 4 周龄蛇龙珠葡萄试管苗茎尖接种于 B₅(改良)+1.5 mg/L 6-BA+0.05 mg/L IBA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂的茎尖复苏培养基上,暗培养 3 d 后,见光正常培养,3 周龄时转入 B₅(改良)+0.3 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IAA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂的生茎培养基,光照正常培养 4 周后转入 B₅(改良)+0.2 mg/L IBA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭的生根培养基,最为合适。此方法处理过的蛇龙珠茎尖成活率高、不易褐化、长势良好。

葡萄生茎培养基筛选试验中出现大量的愈伤和丛芽现象,其可能原因是 6-BA 的浓度偏高或添加了 IBA 而不是 IAA。董晓玲等研究发现,培养基中 6-BA 浓度偏高会导致小芽难以生长成为较长的幼茎并产生丛芽^[9]。如果培养基中添加 IBA 而不是 IAA 则会导致芽丛生缓慢并且难以生长为较长的幼茎。

参考文献:

[1]陈泽雄. 园艺植物病毒脱毒技术研究进展[J]. 北方园艺,2007

1 材料与方法

1.1 材料

发财树(*Pachira macrocarpa*)、苏铁(*Cycas revoluta*)、鹅掌柴(*Schefflera octophylla*)、万年青(*Rohdea japonica*)、虎皮兰

(5):58-60.

[2]张振臣,李大伟,于嘉林,等. 植物病毒细胞间运动及运动蛋白基因介导的抗病性研究进展[J]. 农业生物技术学报,2000,8(4):403-408.

[3]孙 琦,张春庆. 植物脱毒与检测研究进展[J]. 山东农业大学学报:自然科学版,2003,34(2):307-310.

[4]曹雪松. 植物病毒在细胞内和细胞间运动的研究[J]. 莱阳农学院学报,2002,19(4):251-252.

[5]Wang Q C, Panis B, Engelmann F, et al. Cryotherapy of shoot tips: a technique for pathogen eradication to produce healthy planting materials and prepare healthy plant genetic resources for cryopreservation[J]. Annals of Applied Biology, 2009, 154(3):351-363.

[6]Wang Q C, Valkonen J P. Cryotherapy of shoot tips: novel pathogen eradication method[J]. Trends in Plant Science, 2009, 14(3):119-122.

[7]顾沛雯,洪 波,马永明,等. 宁夏玉泉营地区葡萄卷叶病田间自然发病调查及检测[J]. 宁夏农学院学报,2001,22(3):21-23,38.

[8]王曼丽,谢满玉,胡秋英. 葡萄茎尖培养与腋芽切段快速繁殖技术[J]. 湖南农业科学,1992(6):28-29.

[9]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):38-39.