

· 研究信息 ·

不同类型葡萄无菌培养体系建立的影响因素

张宗勤* 贺燕

西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌712100

本文以欧洲葡萄(*Vitis vinifera* L.)无核栽培品种“无核白”(Thompson Seedless)和“杨格尔”(Youngle)、欧山杂种(*V. vinifera* L. cv. Muscat Hamburg × *V. amurensis* Rupr)有核品种“北醇”、野生类型华东葡萄(*V. pseudoreticulata* W. T. Wang)品系“白-35-1”等为材料(均取自本校葡萄种质资源圃),进行了以下研究:(1)取材时期。分季节6次采样,常规清洗后用75%乙醇(V/V)浸泡15 s, 0.1% HgCl₂消毒8 min, 无菌水冲洗4次, 无菌剪切成单芽茎段, 接种到大量元素含量减半的MS+IBA 0.1 mg·L⁻¹(单位下同)的培养基上。50 mL三角瓶接种1个芽, 每处理最少40瓶。(25±1)℃, 40 μmol·m⁻²·s⁻¹光照培养12 h·d⁻¹。观察生长状况, 记录污染与褐变情况。污染率(%)=(未褐化绿芽被污染外植体数/未褐变的绿色外植体数)×100; 褐变率(%)=(褐变的外植体数/接种的外植体数)×100。数据经ANOVA软件处理。(2)取材部位。取枝条顶芽、梢部1~3节、4~6节为外植体, 按上述方法消毒后培养, 观察并记录污染、褐变与生长情况。(3)消毒与外植体处理方法。取葡萄嫩枝梢1~3节, 常规清洗, 采用5种方法处理后接种: ①75%乙醇10 s, 0.1% HgCl₂ 3 min, 无菌水冲洗2次后, 用CA/AA溶液(抗坏血酸100 mg溶解于1 000 mL的15%柠檬酸水溶液中, 高压灭菌)浸泡3 h, 再用0.1% HgCl₂消毒6 min, 无菌水冲洗4次, 每处理接种12瓶, 每瓶4个外植体; ②75%乙醇1 min, 其它同①; ③方法①沥干CA/AA液后, 150 mL三角瓶接种约30个茎段, 重复2次, 培养室预培养48 h后, 再按方法①第2步处理后接种; ④将③法中预培养时间改为72 h; ⑤以实验(1)的方法处理为对照。接种后30 d, 统计计算接种效率[(绿色外植体数/总外植体数)×100]和污染率。(4)适宜培养基的筛选。以NN₆₉、1/2MS为基本培养基, 分别附加不同浓度IBA、6-BA, 正交表L₄(2³)设计。获得如下主要

结果:

1. 取材时期对无菌培养建立的影响具有显著性差异。不同类型品种(系)具有相似的趋势, 4~5月间为各种类型葡萄取材的最佳时期(图1)。

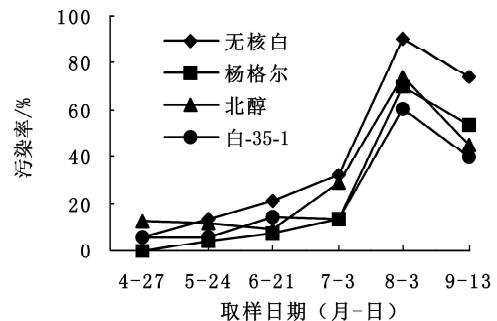


图1 不同取样日期的污染率

2. 葡萄枝顶1~3节为适宜的外植体材料, 4~6节材料次之, 顶芽不适宜于作为外植体的材料, 平均褐变率分别为30%、40%与66.6%, 接种效率分别为62%、32%与22%。

3. 5种处理方法得到了具有明显差异的绿苗率和污染率(表1)。二次间歇式消毒方法③表现出最佳接种效果。

4. 通过正交试验分析, 适宜培养基为1/2MS+6-BA 1.0+IBA 0.1 mg·L⁻¹(资料未列出)。

表1 消毒及外植体处理方法对无菌培养建立的影响

处理方法	污染率/%	褐变率/%	接种效率/%
①	14.29 ^b	30	60 ^B
②	7.41 ^a	46	50 ^B
③	4.25 ^a	6	90 ^A
④	17.78 ^b	10	74 ^B
⑤	6.06 ^a	34	62 ^B

大小写字母分别示 $\alpha=0.01$ 和 $\alpha=0.05$ 时的差异显著性。

收稿 2004-11-10 修定 2005-03-20

*E-mail: zzq315@163.com