园 艺 学 报 2004, 31 (1): 90～93
Acta Horticulturae Sinica

中国野生葡萄的离体培养与快速繁殖

张剑侠 王跃进* 李沛玲 张今今 潘学军 徐 炎 唐海波
(西北农林科技大学园艺学院, 杨凌 712100)

摘 要: 以中国野生葡萄 12 个种 22 个株系的单芽茎段为外植体进行了离体培养与快速繁殖研究。结果表明, 除塘尾刺葡萄外所有株系在 MS + BA 0.5～1.0 mg·L^{-1} + IBA 0.2 mg·L^{-1}中均有较好的萌芽效果, 并在 1/2 MS + IBA 0.1～0.2 mg·L^{-1}中继代生根良好。少数株系的适宜继代与生根培养基为 1/2 MS + IBA 0.1～0.2 mg·L^{-1} + NAA 0.02 mg·L^{-1}。另外, 株系白河 - 35 - 1、华东葡萄 (株系名未定)、留坝 - 7、左山 - 1、安林 - 3、燕山 - 1、广西 - 1、广西 - 2 和泰山 - 1 的外植体在 1/2 MS + IBA 0.2 mg·L^{-1}中具萌芽和生根的双重作用, 可一次成苗。采用珍珠岩和营养土两步炼苗, 成活率可达 90 %以上。

关键词: 葡萄; 中国野生葡萄; 单芽茎段; 离体培养; 快速繁殖
中图分类号: S 663.1 **文献标识码**: A **文章编号**: 0513-353X (2004) 01-0090-04

In Vitro Culture and High Frequency Propagation of Chinese Wild *Vitis*

Zhang Jianxia, Wang Yuejin, Li Peiling, Zhang Jinjin, Pan Xuejun, Xu Yan, and Tang Haibo
(College of Horticulture, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling 712100, *China)*

Abstract: Using the stem-segment with single bud as the explant, in vitro culture and high frequency propagation of Chinese wild *Vitis* including 22 clones of 12 species were studied. The results showed that the most appropriate medium for producing buds to wild *Vitis* clones was MS + BA 0.5 - 1.0 mg·L^{-1} + IBA 0.2 mg·L^{-1} except the clone Tangwei and for rooting was 1/2 MS + IBA 0.1 - 0.2 mg·L^{-1}. The optimum midum for subculture and rooting to a few clones was 1/2 MS + IBA 0.1 - 0.2 mg·L^{-1} + NAA 0.02 mg·L^{-1}. In addition, the optimum medium for producing buds and rooting of explants of Baihe-35-1, Huadong (The clone has not been named), Liuba-7, Zuoshan-1, Anlin-3, Yanshan-1, Guangxi-1, Guangxi-2 and Taishan-1 was 1/2 MS + IBA 0.2 mg·L^{-1}, Which could develop seedling directly. As seedling domestication matrixes, pearlite and nutrient soil were adopted and the survival percent of seedlings could reach 90 %.

Key words: *Vitis*; Chinese wild *Vitis*; Stem-segment with single bud; In vitro culture; High frequency propagation

1 目的、材料与方法

中国野生葡萄资源丰富[1], 且丰产性好, 品质优于美洲葡萄 (*Vitis labrusca*), 对主要真菌病害有较强的抗性, 抗逆性亦强, 是作为抗性砧木及杂交育种的宝贵材料, 但多数种和株系扦插生根困难[2]。已有学者对野生葡萄资源进行试管苗建立的研究报道[3,4]。本研究对中国野生葡萄离体培养与快速繁殖的适宜培养基进行了筛选, 旨在为种质资源的试管保存及为生产上快速繁殖砧木提供技术参考。

中国野生葡萄材料取自西北农林科技大学葡萄种质资源圃, 包括列于表 2 的材料及刺葡萄 (*V.*

收稿日期: 2003 - 02 - 21; **修回日期**: 2003 - 07 - 25
基金项目: 国家'863'计划课题 (2001AA24172); 国家"十五"科技攻关项目 (2002BA515B11); 国家自然科学基金项目 (30170653、30370993); 国家转基因植物研究与产业化开发专项 (JY03A20 - 02)
* 通讯作者

davidii）塘尾、秋葡萄（*V. romanetii*）江西 - 1，共 12 种 22 个株系。生长季节取母株上半木质化枝条或冬季取硬枝催芽萌发的嫩梢，剪成单芽茎段，常规消毒灭菌后，接种到诱导培养基中。诱导腋芽萌发的基本培养基为 MS 和 1/2 MS，继代与生根的基本培养基为 1/2 MS，附加不同浓度的 BA、IBA、IAA 及 NAA，蔗糖 3 %，琼脂 0.6 %，pH 6.0。培养过程中，每日光照 11 h，光强 1500～2000 lx，温度 26 ℃; 黑暗 13 h，温度 23 ℃。先在珍珠岩中炼苗，然后移入营养土（园土∶有机肥∶河沙为 2∶1∶2）中炼苗，最后移入大田。

2　结果与分析

2.1　诱导培养基的筛选

以 MS 为基本培养基，IBA 浓度为 0.2 mg·L⁻¹，配合 BA 浓度为 0、0.5、1.0、2.0、3.0 mg·L⁻¹，对秋葡萄平利 - 7 进行芽的诱导试验。结果发现，外植体接种 12 d 后，以上 5 种培养基均可诱导芽的萌发，但萌芽速度与长势存在较大差异。BA 为 3.0 及 2.0 mg·L⁻¹时，芽萌发后较难伸长，BA 为 1.0 mg·L⁻¹时，萌芽速度及长势均较好，且有些腋芽的冬芽和夏芽同时萌发，其次是 BA 为 0.5 mg·L⁻¹。因此，筛选出适宜平利 - 7 萌芽的培养基为 MS + BA 0.5～1.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.2 mg·L⁻¹。

2.2　芽的诱导

用筛选出的诱导培养基对各野生株系进行培养。结果显示，除塘尾外，所有株系在 MS + BA 0.5～1.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.2 mg·L⁻¹培养基中腋芽均易萌发。江西 - 1、华东葡萄、留坝 - 7、山东（♂）、泰山 - 1、甘肃 - 91、燕山 - 1、通化 - 3、广西 - 1 和广西 - 2 在 BA 0.5 mg·L⁻¹时诱导效果好，而渭南 - 3、岚皋 - 2、安林 - 3、平利 - 7、左山 - 1、左山 - 2、白河 - 40、华县 - 11、白河 - 35 - 1、83 - 4 - 96 和泰山 - 11 则在 BA 1.0 mg·L⁻¹时诱导效果好。塘尾在 BA 为 0.5 mg·L⁻¹时，腋芽萌发约 2 cm 后不再伸长，且逐渐衰老；BA 为 1.0 mg·L⁻¹时芽未萌发，而在 1/2 MS + IBA 0.3 mg·L⁻¹中萌芽良好，说明 BA 的存在不利于塘尾芽的诱导。这表明不同的野生株系对 BA 的要求存在着差异。

2.3　继代与生根培养基的筛选

将平利 - 7 长 3～4 cm 的无菌新梢从原茎段上切下，剪成单芽小茎段，继续转入诱导培养基 MS + BA 1.0 mg·L⁻¹ + IBA 0.2 mg·L⁻¹中培养，经 35 d 新梢又可长高至 3～4 cm。将其一部分继续转入该诱导培养基中，另一部分转入到所设计的 8 种 1/2 MS 继代培养基中培养（表 1）。结果显示，转入诱导培养基中的茎段可以继续萌芽生长，但芽伸长变慢，表明该诱导培养基已不适于继代培养。而在 8 种 1/2 MS 培养基中，小茎段 7～10 d 开始生根，30 d 时小苗可高达 3～7 cm，叶绿且根多；一般随生长素浓度的增加，生根数增加，根部产生的愈伤组织也增大。其中，以 1/2 MS + IBA 0.2 mg·L⁻¹培养基中小茎段生长快，健壮，所发根长、粗，且次级根较多，没有或极少产生愈伤组织。因此，该培养基最适于平利 - 7 的继代与生根培养（图版，A）。

表 1　不同培养基对平利 - 7 继代与生根的影响

Table 1 Effect different media on subculture and rooting of Pingli-7

培养基 Media (mg·L⁻¹)	试管苗长势 The condition of test tube sprouts growth	生根 Rooting	愈伤组织 Callus	增殖系数 * Multiplication coefficient *
MS + BA1.0 + IBA0.2	+		+ + + +	2.8
1/2 MS	+ +	+ + +	+	3.5
1/2 MS + IBA 0.2	+ + + +	+ + +		5.4
1/2 MS + IBA 1.0	+ + + +	+ + + +	+ +	5.6
1/2 MS + IBA 2.0	+ +	+ + + +	+ + + +	3.4
1/2 MS + IAA 0.2	+ +	+ + +	+	3.8
1/2 MS + IAA 0.5	+ +	+ + +	+ +	4.0
1/2 MS + NAA 0.05	+ + +	+ + + +		4.2
1/2 MS + NAA 0.1	+ + +	+ + + +		4.3

* 外植体继二代茎段培养 40 d 后统计；增殖系数 = 增殖茎段数/原接种茎段数（下同）。

* The multiplication stems are investigated after the subculture stems are cultured for 40 days. Multiplication coefficient = No. of multiplication stems/No. of inoculated stems (The same below).

2.4　继代与生根

将筛选出的 1/2 MS + IBA 0.2 mg·L⁻¹培养基应用于其它株系的继代与生根，结果有 10 个株系新梢生长与生根效果表现极佳（表 2）。但有些株系在该培养基上生根较少且细长，有些株系则发根粗

壮而愈伤组织较大。因此我们又对生长素的浓度稍作调整，设计为 IBA 0.1～0.15 mg·L^{-1}和 IBA 0.1～0.2 mg·L^{-1} + NAA 0.02 mg·L^{-1}，获得了较好的培养效果（表2，图版，A～T），唯塘尾和江西-1尚未获得生根苗。这说明不同株系的生根对生长素浓度有较精细的要求。

用1/2 MS + IBA 0.2 mg·L^{-1}培养基对各野生株系进行外植体的直接诱导，结果显示，白河-35-1、华东葡萄、留坝-7、左山-1、安林-3、燕山-1、广西-1、广西-2和泰山-1的培养效果较好，芽萌发的同时基部长出1～4条根，并有次级根，因此该培养基也可作为这9个株系的一次成苗培养基。

表2 中国野生葡萄不同株系的继代与生根培养结果

Table 2 Results of subculture and rooting of different clone of Chinese wild *Vitis*

种 Species	株系 Clones	继代与生根适宜培养基 The optimum medium for subculture and rooting (mg·L^{-1})	主根数 Number of Main root	次生根数 Number of secondary root	平均增殖系数 The average multiplication coefficient
秋葡萄 *V. romanetii*	平利-7 Pingli-7	1/2MS + IBA0.2	2～7	中 Middle	5.4
山葡萄 *V. amurensis*	左山-1 Zuoshan-1	1/2MS + IBA0.2	4～9	中 Middle	3.8
	左山-2 Zuoshan-2	1/2MS + IBA0.2	3～4	多 More	4.0
	泰山-11 Taishan-11	1/2MS + IBA0.2	2～5	多 More	4.7
	通化-3 Tonghua-3	1/2MS + IBA0.2	3～7	中 Middle	4.1
燕山葡萄 *V. yeshanensis*	燕山-1 Yanshan-1	1/2MS + IBA0.15	2～4	多 More	4.2
复叶葡萄 *V. piasezkii*	甘肃-91 Gansu-91	1/2MS + IBA0.2	5～14	少 Less	3.6
	华县-11 Huaxian-11	1/2MS + IBA0.1	2～6	中 Middle	3.7
秋复叶葡萄 *V.* spp	留坝-7 Liuba-7	1/2MS + IBA0.2	3～6	多 More	4.9
华东葡萄 *V. pseudoreticulata*	白河-35-1 Baihe-35-1	1/2MS + IBA0.15 + NAA0.02	2～5	中 Middle	5.1
	广西-1 Guangxi-1	1/2MS + IBA0.15	2～3	中 Middle	3.5
	广西-2 Guangxi-2	1/2MS + IBA0.1	2～4	少 Less	3.2
	华东葡萄 Huadong Vitis	1/2MS + IBA0.1	2～4	少 Less	3.4
[illegible]葡萄 *V. adstricta*	泰山-1 Taishan-1	1/2MS + IBA0.1 + NAA0.02	3～7	中 Middle	4.3
	安林-3 Anlin-3	1/2MS + IBA0.2	4～8	中 Middle	3.5
麦黄复叶葡萄 *V. baihensis*	白河-40 Baihe-40	1/2MS + IBA0.2	3～5	多 More	4.3
小复叶葡萄 *V. liubaensis*	岚皋-2 Langao-2	1/2MS + IBA0.15	2～6	多 More	5.8
桑叶葡萄 *V. ficifolia*	山东(♂) Shandong(♂)	1/2MS + IBA0.2	4～12	中 Middle	4.0
毛葡萄 *V. quinquangularis*	渭南-3 Weinan-3	1/2MS + IBA0.2 + NAA0.02	2～5	少 Less	3.6
	83-4-96	1/2MS + IBA0.1 + NAA0.02	1～3	多 More	3.3

2.5 炼苗与移栽

3～6月份对试管苗加强光照（2500～3000 lx），培养1周后，选择生长势强且根系粗壮、洁白的壮苗，在超净工作台上转入盛有珍珠岩（经灭菌）的营养钵中，用1/8 MS + IBA 0.01 mg·L^{-1}营养液浇透，然后用灭过菌的塑料杯盖严。在恒温26 ℃的培养室内，先暗培养1～2 d，然后每日光照11 h。第4天浇1.0 g·L^{-1}多菌灵，间隔7 d再浇1次；第7天浇营养液1次，间隔7 d再浇1次。在此期间，每日对小苗喷雾保湿。第15天起逐渐将塑料杯打开，第25天将塑料杯完全取掉，隔日喷雾保湿（图版，U）；第30天移入营养土中，再经10 d后移入大田，盖上遮荫网。经这种方法炼苗后，最终成活率达90%以上。但在秋冬季炼苗成活率不高，一般为20%以下，因此，秋冬季不适于炼苗移栽。

参考文献：

1 贺普超主编. 葡萄学. 北京：中国农业出版社，1999. 563页

2 张剑侠，王跃进，周 鹏，等. 中国野生葡萄及其杂种在海南的硬枝扦插试验. 中外葡萄与葡萄酒，2000，(3)：26～28

3 彭宏祥，刘荣光，邹 瑜，等. 桂西岩山区野生葡萄资源与繁殖技术. 西南农业学报，1999，12（4）：101～105

4 蒋爱丽，金佩芳. 植物生长调节剂对几种野生葡萄试管苗生长的影响. 上海农业学报，1995，11（4）：87～89

图版说明　1. **中国野生葡萄株系**（A：**平利** - 7，B：**燕山** - 1，C：**泰山** - 11，D：**左山** - 1，E：**通化** - 3，F：**安林** - 3，G：**山东**（♂），H：**甘肃** - 91，I：**留坝** - 7，J：**泰山** - 1，K：**广西** - 1，L：**左山** - 2，M：**岚皋** - 2，N：**白河** - 35-1，O：**白河** - 40，P：**华东葡萄**，Q：83-4-96，R：**渭南** - 3，S：**华县** - 11，T：**广西** - 2）。2. **试管苗在珍珠岩中炼苗成活**。

Explanation of plates　1. Clones of Chinese Wild *Vitis*（A：Pingli-7，B：Yanshan-1，C：Taishan-11，D：Zuoshan-1，E：Tonghua-3，F：Anlin-3，G：Shandong（♂），H：Gansu-91，I：Liuba-7，J：Taishan-1，K：Guangxi-1，L：Zuoshan-2，M：Langao-2，N：Baihe-35-1，O：Baihe-40，P：Huadong，Q：83-4-96，R：Weinan-3，S：Huaxian-11，T：Guangxi-2）. 2. Test tube seedlings survived after transplanting to matrix of pearlite