

基于二次回归正交旋转探究不同植物生长调节剂对3种葡萄砧木茎段快繁的影响

李志慧, 刘春燕, 彭 雪, 薛 靖, 邓 慧, 周 龙*

(新疆农业大学园艺学院, 乌鲁木齐 830052)

摘要:【目的】通过对5BB、1103P、SO4葡萄砧木在初代培养、继代培养、生根培养过程中不同培养基和植物生长调节剂的筛选,建立高效茎段快繁体系。【方法】以3种葡萄砧木的单芽茎段为材料,应用二次回归正交旋转组合设计的试验方案进行增殖培养,探究不同的植物生长调节剂对繁殖系数的影响。【结果】适用于3种葡萄砧木的初代培养的培养基均为MS培养基,并添加2.00 mg·L⁻¹ 6-BA、0.20 mg·L⁻¹ IBA、0.20 mg·L⁻¹ GA₃,萌发率均可达100%。影响5BB和1103P葡萄砧木增殖培养的3种植物生长调节剂的主次顺序为IBA>GA₃>6-BA,最适宜的增殖培养配方为MS+2.00 mg·L⁻¹ 6-BA+0.25 mg·L⁻¹ IBA+0.50 mg·L⁻¹ GA₃;影响SO4葡萄砧木增殖培养的3种植物生长调节剂的主次顺序为6-BA>GA₃>IBA,最适宜的增殖培养配方为MS+1.52 mg·L⁻¹ 6-BA+0.25 mg·L⁻¹ IBA+0.36 mg·L⁻¹ GA₃。最适宜5BB、SO4葡萄砧木的生根培养配方为1/2MS+1.50 mg·L⁻¹ IBA+0.10 g·L⁻¹ Ac,并进行7 d暗培养;最适宜1103P砧木的生根培养配方为1/2MS+1.00 mg·L⁻¹ IBA+0.10 g·L⁻¹ Ac,并进行7 d暗培养。【结论】最适宜3种葡萄砧木初代培养的培养基均为MS培养基。最适宜5BB和1103P葡萄砧木的6-BA质量浓度为2.00 mg·L⁻¹、IBA质量浓度为0.25 mg·L⁻¹、GA₃质量浓度为0.50 mg·L⁻¹;最适宜SO4葡萄砧木的6-BA质量浓度为1.52 mg·L⁻¹、IBA质量浓度为0.25 mg·L⁻¹、GA₃质量浓度为0.36 mg·L⁻¹。最适宜3种葡萄砧木生根培养的暗培养时间为7 d,Ac质量浓度均为0.10 g·L⁻¹,最适宜5BB、SO4葡萄砧木生根培养的IBA质量浓度为1.50 mg·L⁻¹,5BB葡萄砧木的生根系数可达2.60,SO4葡萄砧木的生根系数可达1.47;最适宜1103P葡萄砧木生根培养的IBA质量浓度为1.00 mg·L⁻¹,生根系数可达2.30。

关键词:葡萄砧木;植物生长调节剂;茎段快繁;二次回归正交旋转

中图分类号:S663.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2023)02-0286-14

Effects of different plant growth regulators on rapid propagation of three types of grape rootstocks based on quadratic regression orthogonal rotation

LI Zhihui, LIU Chunyan, PENG Xue, XUE Jing, DENG Hui, ZHOU Long*

(College of Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, Xingjiang, China)

Abstract:【Objective】Xinjiang is the largest grape producing area in our country, and grape industry has developed rapidly, but the problems of soil drought and salinization in some areas have become the factors restricting its industrial development. Using resistant rootstocks has become one of the most effective measures for grape cultivation in the world. However, in actual production, grape rootstock breeding quantity is limited, because most rootstocks are susceptible to virus. Therefore, using plant tissue culture to cultivate strong seedlings has become one of the important ways. This study aimed to establish a high-efficiency stem section rapid propagation system by screening different media and plant growth regulators concentration for 5BB, 1103P and SO4 grape rootstock varieties in the process of primary culture, subculture, and rooting culture, so as to provide reference for rapid propagation and production of grape rootstocks.【Methods】The test materials were 5BB, 1103P and SO4 annual rootstock

收稿日期:2022-05-24 接受日期:2022-07-18

基金项目:新疆维吾尔自治区重点研发项目(2020B01003-1);新疆农业大学研究生科研创新项目(XJAUGRI2022018)

作者简介:李志慧,女,在读硕士研究生,研究方向为葡萄栽培生理。Tel:17799236506, E-mail:lizihui20220418@126.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:15099536836, E-mail:zhoulong2004@126.com

seedlings from the Sanping Teaching Practice Base of Xinjiang Agricultural University, which were planted in the Characteristic Fruit Tree Research Center, College of Horticulture, Xinjiang Agricultural University for potted seedling cultivation. After about 60 days, the diameters of 1–2 mm thick semi-lignified canes were taken for experimental treatment. Explant disinfection was as below: cutting new shoots into 2–3 cm long stem segment with a single bud, putting into the beaker, covering with gauze, rinsing 1 hour, and removing surface stains. Then, the explants were soaked in 75% ethanol for 30 s on the ultra-clean bench, disinfected with 0.10% $HgCl_2$ solution for 8 minutes, and rinsed with sterile water for 3–5 times to remove the residual disinfectant on the surface of the explants. Finally, the stems were placed in the sterile inoculation plate for further use. In primary culture, B5, MS and WPM medium were used as the basic medium, and $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 , $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose, and $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ agar were added at the same time, pH was adjusted to 5.80, 1 stem segment per bottle, 10 bottles for each medium, and the experiment was repeated 3 times. After 30 days of culture, the pollution rate, mortality rate and axillary bud germination rate were counted. The subculture adopted a quadratic regression orthogonal rotation combined experimental design, and different concentrations of 6-BA (concentration of $1\text{--}3.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), IBA (concentration of $0\text{--}0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), and GA_3 (concentration of $0\text{--}1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) were added, and its effect on the proliferation coefficient was explored. In rooting culture, 1/2MS medium was used as the basic medium, and different concentrations of IBA ($0, 0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}, 1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}, 1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) and Ac ($0, 0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}, 0.20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) were added, and its effect on rooting coefficient was explored. During the whole culture process, the culture conditions were as follows: the culture temperature was $(25\pm1)^\circ\text{C}$, the light intensity was 2000–2500 lx, and the lighting time was $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$.
【Results】During primary culture, by screening three different media, it was found that compared with B5 medium and WPM medium, the primary medium suitable for the three types of grape rootstocks were MS medium, supplemented with $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, and $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 , and the germination rate could reach 100%. During subculture, the effects of different concentrations of 6-BA, IBA and GA_3 on the proliferation coefficient of grape rootstocks were explored through quadratic regression orthogonal rotation combined experimental design. It was found that the primary and secondary order of the three plant growth regulators affecting the proliferation and culture of 5BB and 1103P grape rootstocks was: IBA> GA_3 >6-BA, and the most suitable proliferation culture formula was MS+ $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 ; the primary and secondary order of the three plant growth regulators affecting the proliferation and culture of SO4 grape rootstocks was: 6-BA> GA_3 >IBA, and the most suitable proliferation culture formula was MS+ $1.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $0.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 . During rooting culture, by adding different concentrations of IBA and Ac, under different dark treatment conditions (0 d, 3 d and 7 d), the optimal concentration and dark treatment time of plant growth regulators for rooting culture were explored. It was found that the most suitable culture formula for rooting culture of 5BB and SO4 rootstocks was 1/2MS+ $1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Ac, and dark-treated for 7 days, the rooting coefficient of 5BB rootstocks could reach 2.60, and that of SO4 rootstocks up to 1.47. The most suitable culture formula for rooting culture of 1103P rootstock was 1/2MS+ $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ Ac, and dark-treated for 7 days, and the rooting coefficient could reach 2.30.
【Conclusion】The most suitable medium for primary culture of three types of grape rootstocks was MS medium. The optimal concentrations of 6-BA, IBA and GA_3 for 5BB and 1103P grape rootstocks were $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, respectively. The optimal concentrations of 6-BA, IBA and GA_3 for SO4 grape rootstocks were $1.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and $0.36 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The optimal dark culture time for rooting of the three types of grape rootstocks was 7 d, and the Ac concentra-

tion was $0.10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The optimal IBA concentration for rooting of 5BB and SO4 grape rootstocks was $1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The rooting coefficient of 5BB grape rootstocks was 2.60, and that of SO4 grape rootstocks was 1.47. The optimal IBA concentration for rooting culture of 1103P grape rootstock was $1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the rooting coefficient was 2.30. In the study it was found that the effects of different media and plant growth regulators on the stem rapid propagation of three types of grape rootstocks were preliminarily explored, and a reference for the rapid propagation and production application of grape rootstocks was provided.

Key words: Grape rootstock; Plant growth regulator; Stem rapid propagation; Quadratic regression or-
thogonal rotation

葡萄(*Vitis vinifera* L.)是葡萄科(Vitaceae)葡萄属(*Vitis* L.)多年生木质藤本植物,可鲜食、制干、制汁、药用等,因其适应性强,经济效益高,广泛种植在世界各地^[1-2]。新疆作为中国最大的葡萄产区,因其光热资源丰富,葡萄品质独特而闻名中外。在传统种植过程中,多以自根苗繁育,无法避免土壤干旱^[3]、盐渍化^[4]等生态脆弱的问题,这严重制约其产业发展。因此,采用抗性砧木成为解决这一问题的有效措施之一。5BB、1103P、SO4、贝达、山河1号等葡萄砧木具有较强抗旱、抗盐碱能力,且生根和嫁接状况良好^[5-6]。但在实际生产中,砧木通过扦插等方式繁殖数量有限,且易感染病毒^[7]。茎段快繁作为植物组织培养的关键技术之一,具有取材方便、不易污染、繁殖系数高的特点,可实现苗木脱毒、离体再生,已成为欧美地区葡萄栽培的主流方式^[8-9]。Yildirim等^[10]研究发现,MS培养基比WPM、QL、DWK培养基所培养的Öküzgözü葡萄和Boğazkere葡萄生长效果好;蔡文博等^[11]对夏黑、红地球、巨峰和玫瑰香进行增殖培养和生根诱导时发现,WPM培养基比1/2MS培养基中的葡萄茎段萌发率高,且叶片长势好,生根量多,更利于组培苗扩繁。多种植物生长调节剂的相互作用对植株快繁会产生一定的积极作用。林茜等^[12]对阳光玫瑰的诱导培养时发现, $1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 和 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的相互作用可得到最高的萌芽率。农艳丰等^[13]发现,在阳光玫瑰继代培养时添加 $1.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT 和 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA 的无菌芽较为粗壮,叶色更深。苏玲等^[14]在贵妃玫瑰的生根培养中发现,以1/2MS培养基为基本培养基,并添加 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 时,其生根率达到最高,根系生长状况最优。中国大部分研究集中在鲜食和酿酒葡萄上,对砧木研究较少,且不同的葡萄品种对培养基中各成分的响应各不相同^[15],探究不同的植物生长调节剂对繁殖系数的影响已成为建

立高效茎段快繁体系的关键所在。笔者在本研究中旨在通过对5BB、1103P、SO4葡萄砧木在初代培养、继代培养、生根培养过程中不同培养基和植物生长调节剂的筛选,以期为葡萄砧木的快速繁殖和生产应用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为来自新疆农业大学三坪教学实践基地的5BB、1103P、SO4一年生苗,其中5BB砧木亲本为*V. berlandieri* × *V. riparia*,1103P砧木亲本为*V. berlandieri* 'Rességuier' × *V. rupestris* 'Du Lot',SO4砧木亲本为*V. berlandieri* × *V. riparia* 'No.4'^[16],将其种植在新疆农业大学园艺学院特色果树研究中心室内阳台,进行盆栽苗培养,每个品种30盆。约60 d后,取直径为1~2 mm粗半木质化的新梢进行试验处理。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 将新梢剪成2~3 cm长的单芽茎段,放在烧杯中,盖上纱布,用流水冲洗1 h,去除表面污渍。随后在超净工作台上,以75%乙醇浸泡30 s,用0.10% HgCl₂溶液消毒8 min,随后用无菌水冲洗3~5次,去除外植体表面消毒剂残留,最后将茎段置于已灭菌的接种盘中备用。

1.2.2 初代培养 以B5、MS、WPM培养基为基本培养基,同时添加 $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA、 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA₃、 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂,调节pH为5.80。在超净工作台上,剪去外植体两端浸染过消毒剂的部分,留取长1.50~2.00 cm带腋芽的茎段,接种于培养基上,每瓶接1个茎段,每种培养基10瓶,3次重复。培养30 d后统计污染率、死亡率和腋芽萌发率。培养条件为:培养温度(25 ± 1)℃,光照度2000~2500 lx,光照时间12 h·d⁻¹。

$$\text{污染率}/\% = (\text{污染数}/\text{接种数}) \times 100;$$

死亡率/%=(死亡数/接种数)×100;

腋芽萌发率/%=(萌芽数/接种数)×100。

1.2.3 继代培养 外植体培养30 d后,待萌发的丛生芽生长至长度为5~6 cm时进行继代培养。剪切萌发的丛生芽,去除叶片后剪成单芽茎段(长10~15 mm)。继代培养选用三因素二次回归正交旋转组合试验设计,以初代培养所筛选的MS培养基为基本培养基,并添加不同质量浓度的3种植物生长调节剂(6-BA、IBA、GA₃)、30 g·L⁻¹蔗糖、7 g·L⁻¹琼脂,调节pH为5.80。

参照高林等^[17]的二次回归正交旋转组合试验设计,设6-BA质量浓度为1~3.00 mg·L⁻¹、IBA质量浓度为0~0.50 mg·L⁻¹、GA₃质量浓度为0~1.00 mg·L⁻¹,3种激素各设5个浓度水平进行组合试验。各水平编码值与浓度详见表1。

根据试验设计,优化后的水平编码值与激素质

表1 6-BA、IBA和GA₃的编码与浓度

Table 1 Coding and concentration of 6-BA, IBA and GA₃

植物生长调节剂各浓度水平编码值 Concentration level coded values for plant growth regulators	各浓度水平编码值对应的各个植物生长调节剂处理质量浓度 The treatment concentration of each plant growth regulator corresponding to the coded value of each concentration level/(mg·L ⁻¹)		
	X ₁ (6-苄基腺嘌呤) X ₁ (6-BA)	X ₂ (吲哚丁酸) X ₂ (IBA)	X ₃ (赤霉素) X ₃ (GA ₃)
-γ(-1.68)	1.00	0.00	0.00
-1	1.41	0.10	0.20
0	2.00	0.25	0.50
1	2.59	0.39	0.79
γ(1.68)	3.00	0.50	1.00
△ _j	0.59	0.15	0.29

量浓度如表2所示。其中,X₁、X₂、X₃分别代表6-BA、IBA、GA₃的处理浓度。每个处理接种3瓶,每瓶接种一个丛生芽,3组重复。30 d后统计不定芽的增殖情况,计算增殖系数(分别以Y₁、Y₂、Y₃代表5BB、

表2 增殖培养优化方案及结果

Table 2 Optimization scheme and results of proliferation culture

处理编号 Treatment number	各处理植物生长调节剂浓度 水平的编码值 Coded values of plant growth regulator concentration levels for each treatment			各浓度水平编码值所对应的各个植物生长调节剂处理质量浓度 The treatment concentration of each plant growth regulator corresponding to the coded value of each concentration level/(mg·L ⁻¹)			增殖系数 Multiplication coefficient		
	X ₁ 6-BA	X ₂ IBA	X ₃ GA ₃	6-苄基腺嘌呤 6-BA	吲哚丁酸 IBA	赤霉素 GA ₃		Y ₁	Y ₂
1	1	1	1	1.99	0.80	0.80	1.67	1.22	1.33
2	1	1	-1	1.99	0.80	0.20	1.44	1.44	2.00
3	1	-1	1	1.99	0.20	0.80	1.67	1.67	1.56
4	1	-1	-1	1.99	0.20	0.20	1.56	1.56	2.22
5	-1	1	1	0.26	0.80	0.80	1.67	1.33	1.67
6	-1	1	-1	0.26	0.80	0.20	1.22	1.56	1.33
7	-1	-1	1	0.26	0.20	0.80	1.78	1.22	1.44
8	-1	-1	-1	0.26	0.20	0.20	1.44	1.67	1.22
9	1.68	0	0	2.50	0.50	0.50	2.89	1.56	1.33
10	-1.68	0	0	0.00	0.50	0.50	2.33	1.78	1.56
11	0	1.68	0	1.25	1.00	0.50	2.11	2.22	1.00
12	0	-1.68	0	1.25	0.00	0.50	1.78	1.22	1.11
13	0	0	1.68	1.25	0.50	1.00	1.78	1.56	1.22
14	0	0	-1.68	1.25	0.50	0.00	1.56	1.67	1.78
15	0	0	0	1.25	0.50	0.50	1.00	1.00	0.67
16	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.67	0.56	0.78
17	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.78	1.00	1.00
18	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.78	1.22	0.56
19	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.56	0.78	1.00
20	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.56	1.00	0.78
21	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.33	1.00	1.00
22	0	0	0	1.25	0.50	0.50	0.44	0.78	1.00
23	0	0	0	1.25	0.50	0.50	1.11	1.00	0.56

1103P 和 SO4 葡萄砧木的增殖系数)。培养条件与初代培养条件相同。

增殖系数=总芽数/接种芽数。

1.2.4 生根培养 将继代培养中长势相近的丛生芽切下,转接到生根培养基上。以1/2MS培养基为基本培养基,添加不同质量浓度的IBA(0、0.50 mg·L⁻¹、1.00 mg·L⁻¹、1.50 mg·L⁻¹)和Ac(0、0.10 g·L⁻¹、0.20 g·L⁻¹),并附加30 g·L⁻¹蔗糖、7 g·L⁻¹琼脂,调节pH为5.80,共12个处理,每个处理接种10瓶,每瓶1株,重复3组。接种后先进行一段时间的暗培养(0 d、3 d、7 d),随后进行12 h·d⁻¹光周期培养,30 d后统计根长和生根系数。培养条件与初代培养条件相同。

生根系数=总生根数/总接种苗数。

1.3 数据分析

采用Microsoft Excel 2010进行数据整理,DPS软件进行二次回归正交旋转组合试验设计,SPSS 20.0软件进行单因素方差分析(Duncan法, $p<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对茎段初代培养的影响

由表3可知,不同培养基对3种葡萄砧木茎段初代培养的腋芽萌发率和平均株高存在显著差异($p<0.05$)。5BB砧木中,MS培养基的腋芽萌发率达到100%,株高达到最大为25.20 mm,且茎段无污染死

表3 不同培养基对葡萄砧木茎段初

代培养腋芽萌发率的影响

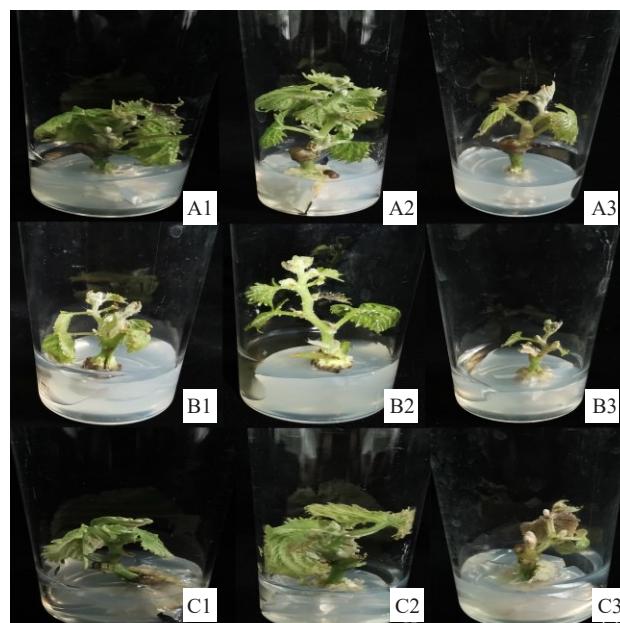
Table 3 Effects of different medium on germination rate of axillary buds in primary culture of grape rootstock stem

砧木 Roots-	培养基 Mediums	萌发率 Sprouting percentage/ %	平均株高 Average plant height/mm	污染率 Contamina- tion rates/%	死亡率 Mortal- ity/%
5BB	B5	96.67±3.33 a	20.94±0.58 ab	0.00	3.33
	MS	100.00±0.00 a	25.20±1.83 a	0.00	0.00
	WPM	96.67±3.33 a	18.24±0.55 b	0.00	6.67
1103P	B5	100.00±0.00 a	16.03±0.96 ab	0.00	0.00
	MS	100.00±0.00 a	20.90±1.20 a	0.00	0.00
	WPM	100.00±0.00 a	13.88±0.76 b	0.00	0.00
SO4	B5	96.67±3.33 a	18.49±0.43 b	3.33	0.00
	MS	100.00±0.00 a	22.43±0.39 a	0.00	0.00
	WPM	100.00±0.00 a	15.60±0.84 b	0.00	0.00

注:同列数据后不同小写字母表示相同品种不同培养基之间差异显著($p<0.05$)。

Note: Different lowercase letters after the data in the same column indicate significant differences between different media of the same variety ($p<0.05$)。

亡,B5培养基和WPM培养基的腋芽萌发率均为96.67%,但B5培养基从生芽的株高略大于WPM培养基,且WPM培养基的死亡率较高。1103P砧木的3种培养基的腋芽萌发率均达到100%,且茎段无污染死亡,但MS培养基的平均株高达到最大,为20.90 mm。SO4砧木中的MS和WPM培养基的腋芽萌发率达到100%,且茎段无污染死亡,但MS培养基的株高略高于WPM为22.43 mm,B5培养基的腋芽萌发率最低(96.67%),且污染率为3.33%。各砧木在不同培养基中的生长状况如图1所示。



A. 5BB; B. 1103P; C. SO4; 1. B5 培养基; 2. MS 培养基; 3. WPM 培养基。

A. 5BB; B. 1103P; C. SO4; 1. B5 medium; 2. MS medium; 3. WPM medium.

图1 不同砧木初代培养的生长状况

Fig. 1 Growth status of primary culture of different rootstocks

2.2 不同植物生长调节剂对增殖系数的影响

2.2.1 二次回归方程的建立 由表2中5BB葡萄砧木的数据分析可得二次回归方程 $Y_1=0.71-0.05 X_1 - 0.07 X_2 + 0.06 X_3 + 0.55 X_1^2 + 0.32 X_2^2 + 0.22 X_3^2 + 0.03 X_1 X_2 - 0.06 X_1 X_3 + 0.03 X_2 X_3$ 。由表4中F值可知, $F_1 = 4.456 < F_{0.05}(2, 8) = 4.46$, 回归方程失拟不显著,认为所选用的回归模型适当,未受其他因子的影响。回归显著性检验 $F_2 = 5.448 > F_{0.05}(3, 5) = 5.41$, 回归显著,回归方程拟合较好,模型准确度可达95%。在剔除 $\alpha=0.10$ 时的不显著项,得到优化后的方程 $Y_1 = 0.71 + 0.55 X_1^2 + 0.32 X_2^2 + 0.22 X_3^2$ 。

表4 5BB 砧木增殖培养试验结果的方差分析

Table 4 Variance analysis of proliferation culture test results of 5BB Rootstocks

变异来源 Variation source	平方和 Quadratic sum	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	比值F Ratio F	p值 p-values
X_1	0.0371	1	0.0371	0.2474	0.6272
X_2	0.0740	1	0.0740	0.4932	0.4949
X_3	0.0423	1	0.0423	0.2821	0.6043
X_1^2	4.7962	1	4.7962	31.9874	0.0001
X_2^2	1.5534	1	1.5534	10.3600	0.0067
X_3^2	0.7329	1	0.7329	4.8880	0.0456
X_1X_2	0.0055	1	0.0055	0.0368	0.8509
X_1X_3	0.0253	1	0.0253	0.1688	0.6879
X_2X_3	0.0066	1	0.0066	0.0441	0.8369
回归模型 Regression model	7.3523	9	0.8169	$F_2=5.448$	0.0077
总误差值 Total error value	1.9492	13	0.1499		
失拟项值 Mismatch value	1.4343	5	0.2869	$F_i=4.456$	0.0139
纯误差值 Pure error value	0.5150	8	0.0644		
总和 Summation	9.3015	22			

由表2中1103P葡萄砧木的数据分析可得二次回归方程 $Y_2=0.93+0.04 X_1-0.16 X_2-0.04 X_3+0.21 X_1^2+0.23 X_2^2+0.19 X_3^2-0.07 X_1X_2+0.07 X_1X_3-0.01 X_2X_3$ 。由表5中 F 值可知, $F_i=2.647 < F_{0.05}(9, 14)=2.65$, 回归方程失拟不显著, 认为所选用的回归模型适当, 未受其他因子的影响。回归显著性检验 $F_2=4.818 > F_{0.05}(9, 5)=4.77$, 回归显著, 回归方程拟合较好, 模型准确度可达95%。在剔除 $\alpha=0.10$ 时的不显著项, 得到优化后的方程 $Y_2=0.93-0.16 X_2+0.21 X_1^2+0.23 X_2^2+0.19 X_3^2$ 。

由表2中SO4葡萄砧木的数据分析可得二次回归方程 $Y_3=0.81+0.13 X_1+0.01 X_2+0.01 X_3+0.27 X_1^2+0.13 X_2^2+0.29 X_3^2-0.10 X_1X_2-0.24 X_1X_3+0.01 X_2X_3$ 。由表6中 F 值可知, $F_i=2.488 < F_{0.05}(7, 21)=2.49$, 回归方程失拟不显著, 认为所选用的回归模型适当, 未受其他因子的影响。回归显著性检验 $F_2=6.839 > F_{0.05}(3, 4)=6.59$, 回归显著, 回归方程拟合较好, 模型准确度可达95%。在剔除 $\alpha=0.10$ 时的不显著项, 得到优化后的方程 $Y_3=0.81+0.13 X_1+0.27 X_1^2+0.13 X_2^2+0.29 X_3^2-0.24 X_1X_3$ 。

2.2.2 单因素效应分析 采用“降维法”对3种植物生长调节剂进行单因素效应分析, 如表4所示, X_1 、

表5 1103P 砧木增殖培养试验结果的方差分析

Table 5 Variance analysis of proliferation culture test results of 1103P rootstocks

变异来源 Variation source	平方和 Quadratic sum	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	比值F Ratio F	p值 p-values
X_1	0.0169	1	0.0169	0.2845	0.6027
X_2	0.3713	1	0.3713	6.2623	0.0265
X_3	0.0268	1	0.0268	0.4521	0.5131
X_1^2	0.6819	1	0.6819	11.5011	0.0048
X_2^2	0.8041	1	0.8041	13.5625	0.0028
X_3^2	0.5591	1	0.5591	9.4298	0.0089
X_1X_2	0.0406	1	0.0406	0.6850	0.4228
X_1X_3	0.0406	1	0.0406	0.6850	0.4228
X_2X_3	0.0015	1	0.0015	0.0255	0.8759
回归模型 Regression model	2.5710	9	0.2857	$F_2=4.818$	0.0118
总误差值 Total error value	0.7708	13	0.0593		
失拟项值 Mismatch value	0.4804	5	0.0961	$F_i=2.647$	0.0731
纯误差值 Pure error value	0.2904	8	0.0363		
总和 Summation	3.3418	22			

表6 SO4 砧木增殖培养试验结果的方差分析

Table 6 Variance analysis of proliferation culture test results of SO4 rootstocks

变异来源 Variation source	平方和 Quadratic sum	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	比值F Ratio F	p值 p-values
X_1	0.2470	1	0.2470	4.3282	0.0578
X_2	0.0004	1	0.0004	0.0072	0.9336
X_3	0.0022	1	0.0022	0.0379	0.8487
X_1^2	1.1351	1	1.1351	19.8876	0.0006
X_2^2	0.2621	1	0.2621	4.5927	0.0516
X_3^2	1.3075	1	1.3075	22.9080	0.0004
X_1X_2	0.0780	1	0.0780	1.3668	0.2634
X_1X_3	0.4465	1	0.4465	7.8229	0.0151
X_2X_3	0.0015	1	0.0015	0.0265	0.8732
回归模型 Regression model	3.5132	9	0.3904	$F_2=6.839$	0.0034
总误差值 Total error value	0.7420	13	0.0571		
失拟项值 Mismatch value	0.4516	5	0.0903	$F_i=2.488$	0.0861
纯误差值 Pure error value	0.2904	8	0.0363		
总和 Summation	4.2552	22			

X_2, X_3 的均方分别为 0.0371、0.074、0.0423, 由此可知, 影响 5BB 砧木增殖培养的 3 种因素的主次顺序为: IBA > GA₃ > 6-BA。如表 5 所示, X_1, X_2, X_3 的均方分别为 0.0169、0.3713、0.0268, 由此可知, 影响 1103P 砧木增殖培养的 3 种因素的主次顺序为: IBA > GA₃ > 6-BA。如表 6 所示, X_1, X_2, X_3 的均方分

别为 0.2470、0.0022、0.0004, 由此可知, 影响 SO4 砧木增殖培养的 3 种因素的主次顺序为 6-BA > GA₃ > IBA。图 2 为各编码值下 3 种植物生长调节剂对增殖系数影响的变化趋势, 3 种植物生长调节剂对 3 种葡萄砧木的增殖效果均呈现先降低后升高的变化趋势, 且 6-BA 的增殖效果普遍高于 IBA 和

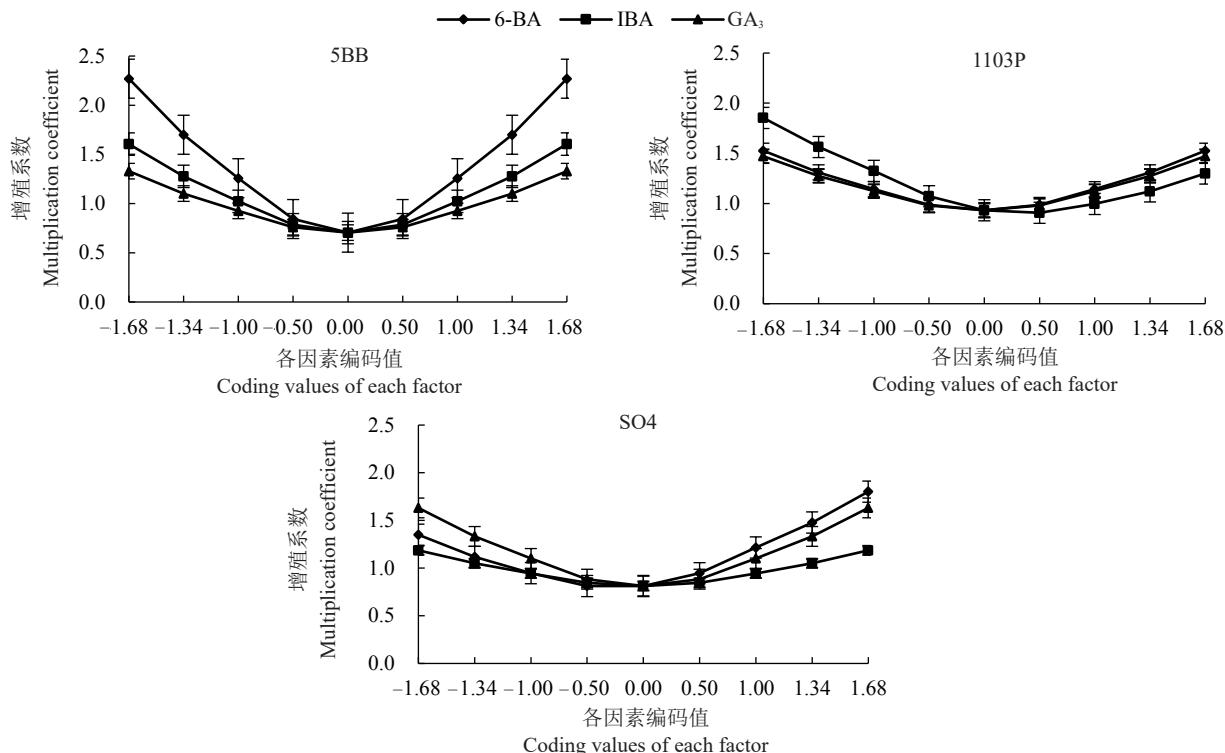


图 2 单因素效应分析

Fig. 2 Single factor effect analysis

GA₃, 当质量浓度均处于中间编码值时, 即 6-BA 为 2.00 mg·L⁻¹、IBA 为 0.25 mg·L⁻¹、GA₃ 为 0.50 mg·L⁻¹ 时, 各个品种的增殖效果均最优。

2.2.3 两因素相互作用效应分析 由表 4、表 5 可知, 5BB、1103P 砧木的回归方程中, X_1X_2, X_1X_3 和 X_2X_3 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时不显著, 即 6-BA 与 IBA、6-BA 与 GA₃、IBA 与 GA₃ 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时不显著; 由表 6 可知, SO4 砧木的回归方程中, X_1X_2 和 X_2X_3 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时不显著, 而 X_1X_3 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时显著, 即 6-BA 与 IBA、6-BA 与 GA₃ 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时不显著, IBA 与 GA₃ 的交互作用在 $\alpha=0.10$ 时显著。

对 3 种植物生长调节剂之间相互作用的影响效果进行比较分析, 由图 3 可知, 当 6-BA 和 IBA 均处于最高浓度水平时, 5BB、SO4 的增殖系数达到最大; 当 6-BA 处于最高质量浓度水平, IBA 最低质量

浓度水平处时, 1103P 增殖系数达到最大。

由图 4 可知, 当 6-BA 和 GA₃ 处于高质量浓度水平或低质量浓度水平时, 对 5BB、1103P 的增殖系数并无明显影响; 当 6-BA 处于最高质量浓度水平, GA₃ 最低质量浓度水平处时, SO4 增殖系数达到最大。

由图 5 可知, 当 IBA 和 GA₃ 均处于最高质量浓度水平时, 5BB、SO4 的增殖系数达到最大; 当 IBA 最低质量浓度水平, GA₃ 处于最高质量浓度水平或最低质量浓度水平时, 1103P 增殖系数均可达到最大。

2.2.4 频率分析法模拟最优点 5BB 砧木优化方案中各变量取值的频率分布如表 7 所示, 增殖系数大于 1.35 的方案有 112 个, 其中 95% 的试验方案中, 6-BA 适宜的编码值范围为 -0.45~4.45, IBA 适宜的编码值范围为 -0.38~0.88, GA₃ 适宜的编码值范围为 -0.73~1.73, 取平均值为最适浓度所对应的编码值, 即当 6-BA 的质量浓度为 2.00 mg·L⁻¹、IBA 的质

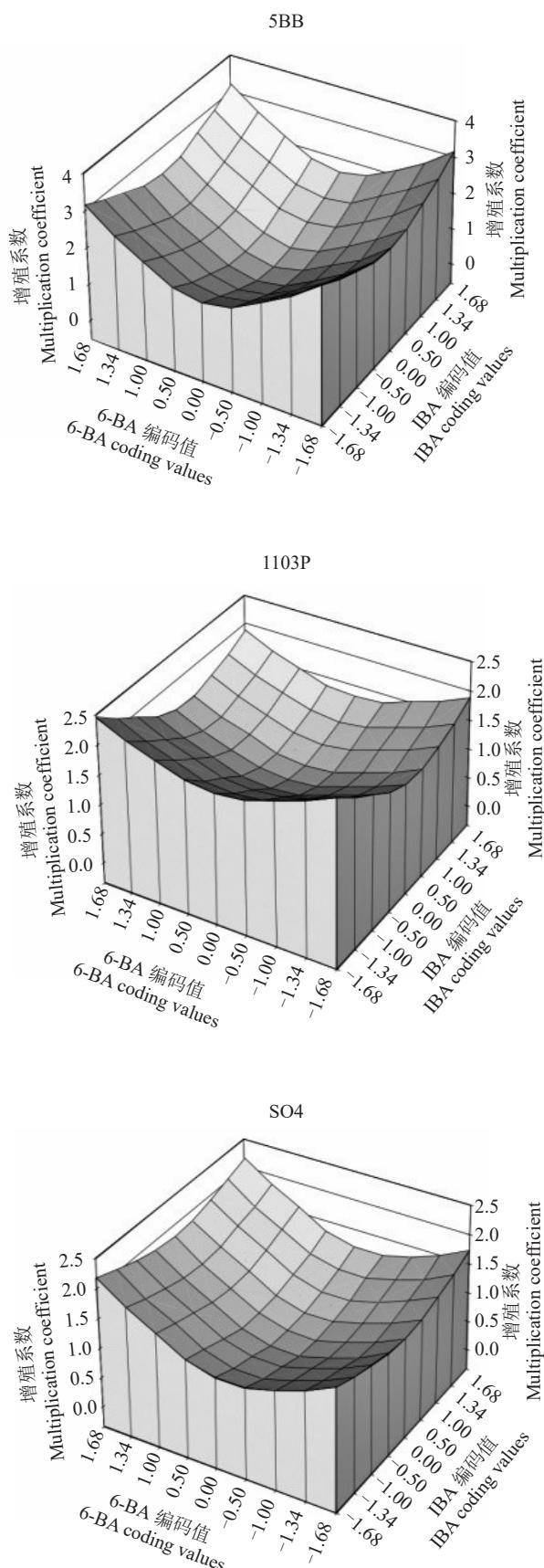
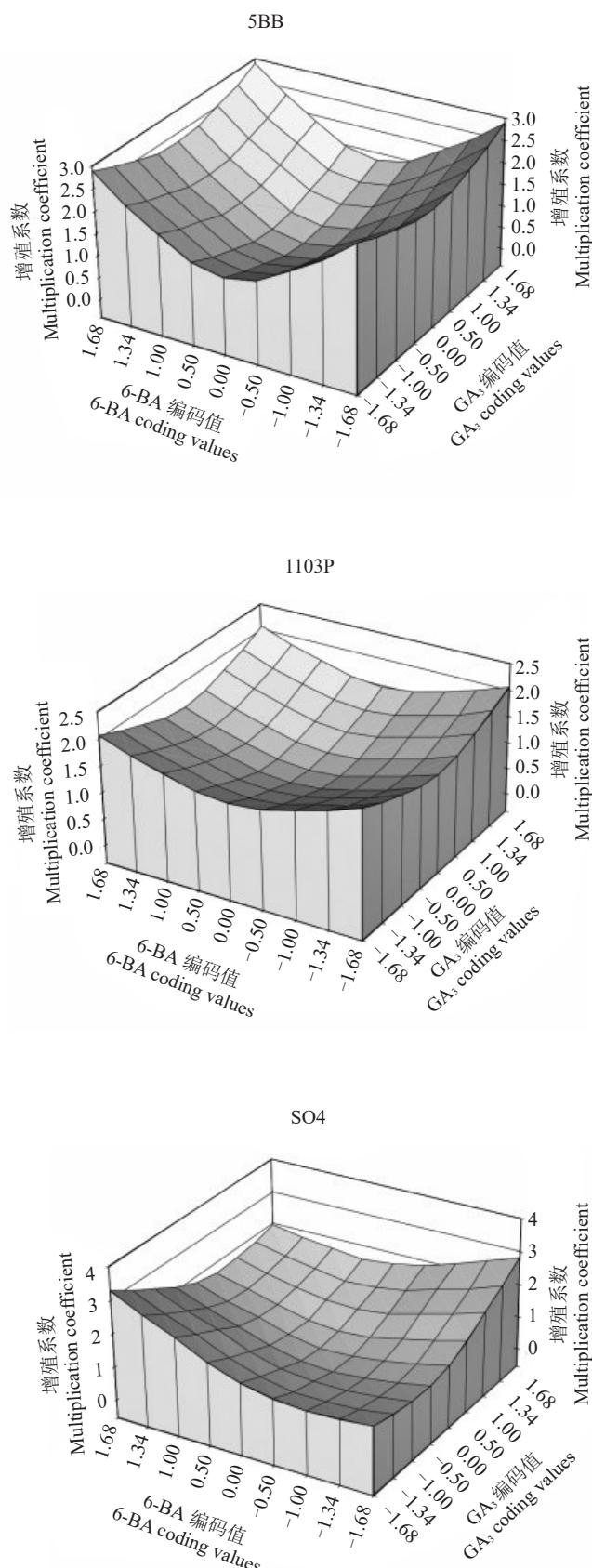


图3 6-BA与IBA的交互作用分析

Fig. 3 6-BA and IBA interaction analysis

图4 6-BA与GA₃的交互作用分析Fig. 4 6-BA and GA₃ interaction analysis

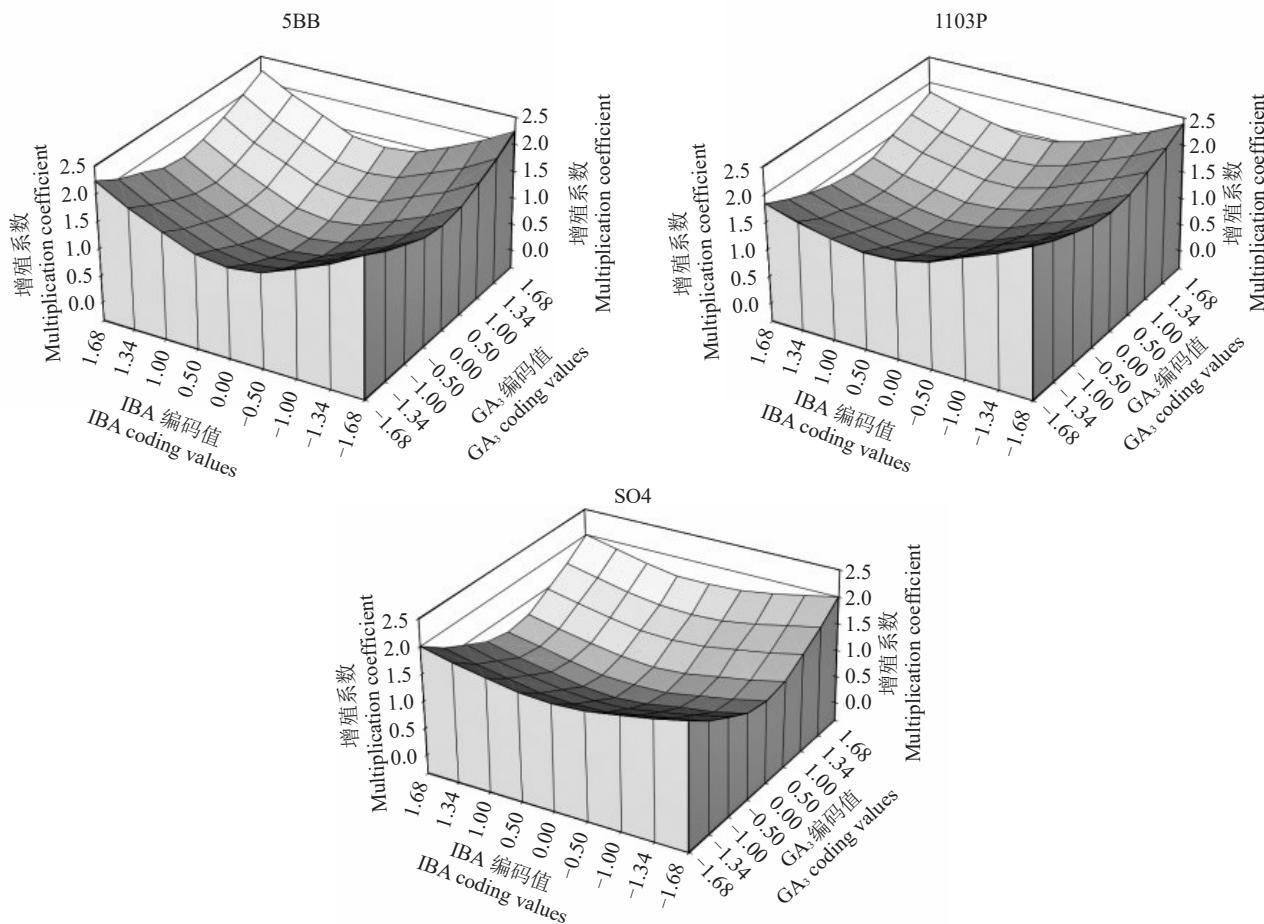
图 5 IBA 与 GA_3 的交互作用分析Fig. 5 IBA and GA_3 interaction analysis

表 7 5BB 砧木优化方案中各变量取值的频率颁布

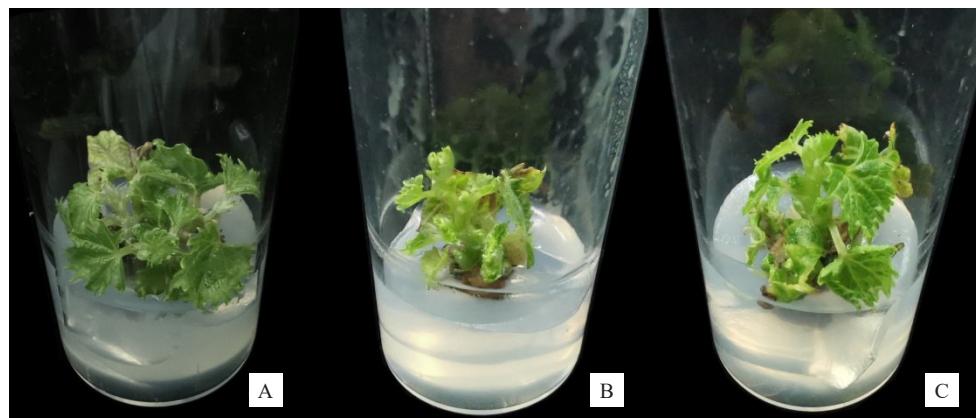
Table 7 Frequency promulgation of variable values in 5BB rootstock optimization scheme

植物生长调节剂各浓度水平编码值 Concentration level coded values for plant growth regulators	6-苄基腺嘌呤 6-BA		吲哚丁酸 IBA		赤霉素 GA_3	
	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency
			6-BA	IBA	GA_3	
$-\gamma$ (-1.68)	25.00	0.22	25.00	0.22	24.00	0.21
-1	24.00	0.21	22.00	0.20	22.00	0.20
0	14.00	0.13	18.00	0.16	20.00	0.18
1	24.00	0.21	22.00	0.20	22.00	0.20
γ (1.68)	25.00	0.22	25.00	0.22	24.00	0.21
合计 Total	112.00	1.00	112.00	1.00	112.00	1.00
增殖系数大于 1.35 的 112 个方案中 95% 的方案中植物生长调节剂浓度的分布区间	-0.24~0.24		-0.24~0.24		-0.24~0.24	
Distribution interval of plant growth regulator concentrations in 95% of the 112 regimens with a multiplication coefficient greater than $1.35/(mg \cdot L^{-1})$						
植物生长调节剂的最适浓度	-0.45~4.45		-0.38~0.88		-0.73~1.73	
Optimum scheme of growth regulator concentration/ $(mg \cdot L^{-1})$						

量浓度为 $0.25 mg \cdot L^{-1}$ 、 GA_3 的质量浓度为 $0.50 mg \cdot L^{-1}$ 时, 增殖培养的效果可达到最优(图 6-A)。

1103P 砧木优化方案中各变量取值的频率分布如表 8 所示, 增殖系数大于 1.31 的方案有 114 个, 其中 95% 的试验方案中, 6-BA 适宜的编码值范围

为 $-0.51~4.51$, IBA 适宜的编码值范围为 $-0.27~0.77$, GA_3 适宜的编码值范围为 $-0.73~1.73$, 取平均值为最适质量浓度所对应的编码值, 即当 6-BA 的质量浓度为 $2.00 mg \cdot L^{-1}$ 、IBA 的质量浓度为 $0.25 mg \cdot L^{-1}$ 、 GA_3 的质量浓度为 $0.50 mg \cdot L^{-1}$ 时, 增殖培养的效果可达



A. 5BB; B. 1103P; C. SO4.

图 6 不同砧木继代培养的生长状况

Fig. 6 Growth status of subculture of different rootstocks

表 8 1103P 砧木优化方案中各变量取值的频率颁布

Table 8 Frequency promulgation of variable values in 1103P Rootstock optimization scheme

植物生长调节剂各浓度水平编码值 Concentration level coded values for plant growth regulators	6-苄基腺嘌 6-BA		吲哚丁酸 IBA		赤霉素 GA ₃	
	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency
-γ (-1.68)	25.00	0.22	25.00	0.22	25.00	0.22
-1	23.00	0.20	25.00	0.22	23.00	0.20
0	18.00	0.16	20.00	0.18	18.00	0.16
1	23.00	0.20	20.00	0.18	23.00	0.20
γ (1.68)	25.00	0.22	24.00	0.21	25.00	0.22
合计 Total	114.00	1.00	114.00	1.00	114.00	1.00
增殖系数大于 1.31 的 114 个方案中 95% 的方案中植物生长调节剂浓度的分布区间 Distribution interval of plant growth regulator concentrations in 95% of the 114 regimens with a multiplication coefficient greater than 1.31/(mg·L ⁻¹)	-0.24~0.24		-0.29~0.17		-0.24~0.24	
植物生长调节剂的最适浓度 Optimum scheme of growth regulator concentration/(mg·L ⁻¹)	-0.51~4.51		-0.27~0.77		-0.73~1.73	

到最优(图 6-B)。

SO4 砧木优化方案中各变量取值的频率分布

如表 9 所示,增殖系数大于 1.22 的方案有 111 个,其中 95% 的试验方案中,6-BA 适宜的编码值范围

表 9 SO4 砧木优化方案中各变量取值的频率颁布

Table 9 Frequency promulgation of variable values in SO4 Rootstock optimization scheme

植物生长调节剂各浓度水平编码值 Concentration level coded values for plant growth regulators	6-苄基腺嘌 6-BA		吲哚丁酸 IBA		赤霉素 GA ₃	
	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency	次数 Number	频率 Frequency
-γ (-1.68)	25.00	0.23	24.00	0.22	25.00	0.23
-1	19.00	0.17	22.00	0.20	21.00	0.19
0	18.00	0.16	19.00	0.17	16.00	0.14
1	24.00	0.22	22.00	0.20	24.00	0.22
γ (1.68)	25.00	0.23	24.00	0.22	25.00	0.23
合计 Total	111.00	1.00	111.00	1.00	111.00	1.00
增殖系数大于 1.22 的 111 个方案中 95% 的方案中植物生长调节剂浓度的分布区间 Distribution interval of plant growth regulator concentrations in 95% of the 111 regimens with a multiplication coefficient greater than 1.22/(mg·L ⁻¹)	-0.20~0.29		-0.24~0.24		-0.21~0.27	
植物生长调节剂的最适浓度 Optimum scheme of growth regulator concentration/(mg·L ⁻¹)	-1.03~4.07		-0.38~0.88		-0.86~1.58	

为-1.03~4.07, IBA 适宜的编码值范围为-0.38~0.88, GA₃ 适宜的编码值范围为-0.86~1.58, 取平均值为最适质量浓度所对应的编码值, 即当 6-BA 的质量浓度为 1.52 mg·L⁻¹、IBA 的质量浓度为 0.25 mg·L⁻¹、GA₃ 的质量浓度为 0.36 mg·L⁻¹ 时, 增殖培养的效果可达到最优(图 6-C)。

2.3 不同浓度 IBA 和 Ac 对生根培养的影响

由表 10~表 12 可知, 不同质量浓度的 IBA 和 Ac

在不同时间的暗处理下对不同砧木根长及生根系数的影响程度各不相同, 各处理间存在显著差异($p < 0.05$), 以暗培养 7 d、0.10 g·L⁻¹ 的 Ac 更有利于根的生长。5BB 和 SO4 砧木的根长和生根系数整体随着暗培养时间、IBA 质量浓度的增加而增加, IBA 质量浓度为 1.50 mg·L⁻¹ 时, 5BB 砧木的生根系数可达 2.60, 生长状况如图 7-A 所示, SO4 砧木的生根系数可达 1.47, 生长状况如图 7-C 所示。1103P 砧木随着

表 10 不同浓度 IBA 和 Ac 对 5BB 生根培养的影响

Table 10 Effects of IBA and Ac at different concentrations on rooting culture of 5BB

处理编号 Treatment number	培养基 Medium	ρ (吲哚丁酸) IBA concentration/ (mg·L ⁻¹)	ρ (活性炭) Ac concentration/ (mg·L ⁻¹)	暗培养时间 Dark-treated time/d				根长 Root length/mm	生根率 Rooting coefficient/%
				0	3	7	根长 Root length/mm		
1	1/2MS	0.00	0.00	34.86±2.69 ab	0.63±0.67 c	37.87±2.77 bc	0.43±0.07 cd	42.08±1.26 b	0.50±0.06 e
2		0.00	0.10	39.47±3.17 a	0.37±0.33 d	46.12±0.74 a	0.27±0.03 e	59.31±2.61 a	1.00±0.12 d
3		0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	8.43±4.23 d	0.50±0.06 e
4		0.50	0.00	0.00	0.00	12.42±0.59 de	0.40±0.06 de	26.54±0.69 c	1.77±0.15 bc
5		0.50	0.10	25.43±5.18 c	0.93±0.67 b	10.94±0.31 e	0.57±0.07 c	25.65±0.43 c	1.03±0.12 d
6		0.50	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	12.39±0.58 d	0.53±0.07 e
7		1.00	0.00	0.00	0.00	15.29±0.61 d	0.53±0.09 cd	12.61±0.69 d	2.00±0.15 b
8		1.00	0.10	29.61±0.91 bc	1.33±0.15 a	35.47±0.72 c	1.60±0.06 a	41.23±0.44 b	1.53±0.12 c
9		1.00	0.20	27.35±1.65 c	0.97±0.09 b	40.12±2.83 b	1.10±0.06 b	41.57±0.65 b	1.47±0.15 c
10		1.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	13.02±0.40 d	2.07±0.12 b
11		1.50	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	27.26±0.58 c	2.60±0.12 a
12		1.50	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	12.46±0.57 d	0.60±0.12 e

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters after the same column of data show significant differences ($p < 0.05$). The same below.

表 11 不同浓度 IBA 和 Ac 对 1103P 生根培养的影响

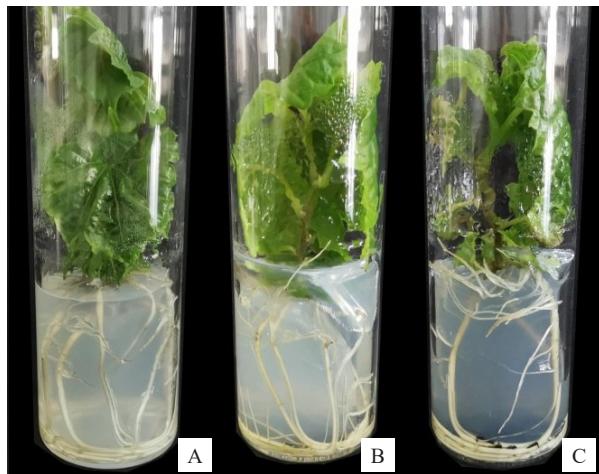
Table 11 Effects of IBA and Ac at different concentrations on rooting culture of 1103P

处理编号 Treatment number	培养基 Medium	ρ (吲哚丁酸) IBA concentration/ (mg·L ⁻¹)	ρ (活性炭) Ac concentration/ (mg·L ⁻¹)	暗培养时间 Dark-treated time/d				根长 Root length/mm	生根率 Rooting coefficient/%
				0	3	7	根长 Root length/mm		
1	1/2MS	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2		0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3		0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	25.69±4.30 b	1.50±0.15 bc
4		0.50	0.00	12.84±1.64 b	1.37±0.88 a	11.83±1.82 d	1.43±0.18 ab	12.72±1.59 c	1.03±0.19 d
5		0.50	0.10	0.00	0.00	23.82±0.75 b	1.60±0.10 ab	29.49±1.60 b	1.47±0.07 bc
6		0.50	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	30.84±1.31 ab	1.33±0.24 cd
7		1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8		1.00	0.10	18.93±1.96 a	1.10±0.12 b	28.43±1.61 a	1.67±0.35 a	36.58±1.95 a	2.30±0.10 a
9		1.00	0.20	0.00	0.00	18.07±1.87 c	1.27±0.13 b	31.83±3.82 ab	1.80±0.11 b
10		1.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
11		1.50	0.10	0.00	0.00	16.19±1.84 c	1.23±0.03 b	17.25±0.39 c	1.43±0.15 bc
12		1.50	0.20	19.15±2.20 a	1.03±0.13 b	0.00	0.00	17.21±1.33 c	1.27±0.15 cd

表 12 不同浓度 IBA 和 Ac 对 SO4 生根培养的影响

Table 12 Effects of IBA and Ac at different concentrations on rooting culture of SO4

处理编号 Treatment number	培养基 Medium	ρ (吲哚丁酸) IBA concentration/ (mg·L ⁻¹)	ρ (活性炭) Ac concentration/ (mg·L ⁻¹)	暗培养时间 Dark-treated time/d					
				0		3		7	
				根长 Root length/mm	生根率 Rooting coefficient/%	根长 Root length/mm	生根率 Rooting coefficient/%	根长 Root length/mm	生根率 Rooting coefficient/%
1	1/2MS	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2		0.00	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3		0.00	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4		0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	9.16±0.82 c	1.20±0.15 b
5		0.50	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00	33.48±5.41 b	0.83±0.03 c
6		0.50	0.20	20.35±2.69 b	0.70±0.12 a	24.44±2.91 bc	0.77±0.03 c	30.57±4.16 b	1.27±0.07 ab
7		1.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
8		1.00	0.10	25.29±2.61 a	0.67±0.03 a	27.78±2.22 ab	1.07±0.07 b	0.00	0.00
9		1.00	0.20	0.00	0.00	32.56±5.34 a	1.33±0.17 a	35.27±2.23 b	0.67±0.09 c
10		1.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	7.19±1.04 cd	0.70±0.12 c
11		1.50	0.10	20.13±1.64 b	0.87±0.20 a	21.49±2.50 c	0.97±0.07 b	42.63±2.52 a	1.47±0.15 a
12		1.50	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00



A. 5BB; B. 1103P; C. SO4.

图 7 不同砧木生根培养的生长状况
Fig. 7 Growth status of rooting culture of different rootstocks

IBA 质量浓度的增加呈现先增加后减少的变化趋势,当 IBA 质量浓度为 1.00 mg·L⁻¹时,生根系数可达 2.30,生长状况如图 7-B 所示。

3 讨 论

3.1 不同培养基对茎段初代培养的影响

培养基是外植体赖以生存和发展的营养基质,其无机物、有机物含量的差异会对芽的诱导造成不同的影响^[18]。杨光等^[19]对状元红葡萄研究时发现,相比 MS 培养基和 B5 培养基,1/2MS 培养基可获得

更高的茎段腋芽萌发率,这可能是因为 1/2MS 培养基中无机盐含量较少,低盐反而促进了芽的萌发。B5 培养基为高硝酸钾培养基,铵盐较少,对试管苗的生长抑制作用较小,有利于芽的萌发^[20]。Mozafari 等^[21]研究时发现,MS 培养基比 WPM 培养基更适合 Khoshnav、Farkhi、Bidaneh Sefid 葡萄外植体的培养,更利于芽的生长。这与本研究结果一致,即 MS 培养基更利于茎段腋芽的萌发。

3.2 不同植物生长调节剂对增殖系数的影响

继代培养是试管苗增殖扩繁的重要环节之一,除营养物质外,还可通过多种植物生长调节剂协同作用共同促进试管苗生长,从而提高增殖效果^[22]。植物生长调节剂浓度范围过高或过低都会影响外植体的生长,而利用二次回归正交旋转组合设计,可进一步优化各个植物生长调节剂的浓度范围,从而更准确地计算出适宜不同品种所需的浓度范围^[23]。Alizadeh 等^[24]对 4 个遗传不同的葡萄砧木 Dogridge、SO4、H-144 和 3309C 研究时发现,6-BA 和 NAA 的联合使用更利于促进芽的增殖,即当 6-BA 质量浓度为 2.00 mg·L⁻¹,NAA 质量浓度为 0.20 mg·L⁻¹更利于芽的增殖,并且在一定程度上可以缩短培养周期。Batukaev 等^[25]研究时发现,0.50 mg·L⁻¹ 6-BA 和 2.00 mg·L⁻¹ KT 有利于提高复杂抗性葡萄品种芽的增殖效果。Kinfe 等^[26]研究时发现,不同质量浓度的 BAP 和 IBA 能促进芽的增殖,当 6-BA 质量浓度为

1.00 mg·L⁻¹, IBA 质量浓度为 0.10 mg·L⁻¹时, Chenin blanc 葡萄和 Canonannon 葡萄的增殖效果最好, 在 6-BA 质量浓度为 2.00 mg·L⁻¹, IBA 质量浓度为 0.10 mg·L⁻¹时, Ugni blanc 葡萄的增殖效果最好。Khan 等^[27]对 King's Ruby 葡萄研究时发现, 在 1.00 mg·L⁻¹ 6-BA 和 0.10 mg·L⁻¹ GA₃ 组合优化的培养基中, 芽数量和长度最大。6-BA 和 KT 是较为稳定的细胞分裂素, 可以促进细胞分裂和扩大, 在增殖培养阶段, NAA 增殖效果略强于 IBA, GA₃ 可以打破休眠从而促进细胞生长^[28]。由此可知, 对于不同品种, 选择合适的植物生长调节剂及其浓度是提高增殖系数的关键所在^[29]。

3.3 不同浓度 IBA 和 Ac 对生根培养的影响

生根培养是植株成苗的关键, 除了受植物生长调节剂的影响外, 还与环境等多种因素的影响有关^[30]。本研究表明, 适宜 5BB、SO4 葡萄砧木生根培养的 IBA 质量浓度为 1.50 mg·L⁻¹, 适宜 1103P 葡萄砧木生根培养的 IBA 质量浓度为 1.00 mg·L⁻¹。Amiri 等^[31]对 Sultanine 葡萄研究时发现, 在 1/2MS 培养基中添加 1.00 mg·L⁻¹ IBA 生根率最高, 可达 95%。IBA 作为常见的生长素对诱导不定根的生长具有一定的特异性^[32], 同时, 在生根培养基中加入一定质量浓度的 Ac 会增加根长和生根频率, 对提高根系质量至关重要^[33]。笔者在本研究中发现, 添加 Ac 的处理中, 试管苗的生根情况均优于未添加 Ac 的处理。Lazo 等^[34]对火焰无核的研究中发现, 在 1/2MS 培养基中添加 2.00 mg·L⁻¹ IBA、0.20 g·L⁻¹ Ac, 根系可获得较好的发育。由此可知, 适量的活性炭可通过吸附作用在创造黑暗环境的同时促进试管苗生根^[35]。

4 结 论

本研究表明, 最适宜 3 种葡萄砧木初代培养的培养基均为 MS 培养基, 萌发率均可达 100%。最适宜 5BB 和 1103P 葡萄砧木的 6-BA 质量浓度为 2.00 mg·L⁻¹, IBA 质量浓度为 0.25 mg·L⁻¹、GA₃ 质量浓度为 0.50 mg·L⁻¹; 最适宜 SO4 葡萄砧木的 6-BA 质量浓度为 1.52 mg·L⁻¹, IBA 质量浓度为 0.25 mg·L⁻¹、GA₃ 质量浓度为 0.36 mg·L⁻¹。最适宜 3 种葡萄砧木生根培养的暗培养时间为 7 d, Ac 质量浓度均为 0.10 g·L⁻¹, 最适宜 5BB、SO4 葡萄砧木生根培养的 IBA 质量浓度为 1.50 mg·L⁻¹, 5BB 葡萄砧木的生根系数可达 2.60, SO4 葡萄砧木的生根系数可达 1.47;

最适宜 1103P 葡萄砧木生根培养的 IBA 质量浓度为 1.00 mg·L⁻¹, 生根系数可达 2.30。

参考文献 References:

- [1] 贺普超. 葡萄学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 12-15.
HE Puchao. Enology[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1994: 12-15.
- [2] 李小红, 李运景, 马晓青, 郭军, 刘海礁, 郑国清, 陶建敏. 我国葡萄产业发展现状与展望[J]. 中国南方果树, 2021, 50(5): 161-166.
LI Xiaohong, LI Yunjing, MA Xiaoqing, GUO Jun, LIU Haijiao, ZHENG Guoqing, TAO Jianmin. Development status and prospect of grape industry in China[J]. South China Fruits, 2021, 50(5): 161-166.
- [3] 由佳辉, 高林, 王海鸥, 卢倩倩, 周龙, 李树德. 干旱胁迫对 9 个葡萄砧木品种生理指标的影响[J]. 经济林研究, 2020, 38(3): 180-189.
YOU Jiahui, GAO Lin, WANG Haiou, LU Qianqian, ZHOU Long, LI Shude. Effects of drought stress on physiological indexes of nine grape rootstock varieties[J]. Non-wood Forest Research, 2020, 38(3): 180-189.
- [4] 鲁倩君, 陈丽靓, 马媛媛, 刘迎, 赵云文, 赵宝龙, 孙军利. 盐碱胁迫对不同葡萄砧木光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 果树学报, 2022, 39(5): 773-783.
LU Qianjun, CHEN Liliang, MA Yuanyuan, LIU Ying, ZHAO Yunwen, ZHAO Baolong, SUN Junli. Effects of saline-alkali stress on photosynthetic and chlorophyll fluorescence characteristics of different grape rootstocks[J]. Journal of Fruit Science, 2022, 39(5): 773-783.
- [5] 侯毅兴, 阿克居里德孜·努尔改里得, 薛靖, 周龙, 李树德. 鲜食葡萄砧穗组合生理指标及亲和力分析[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2022(2): 33-37.
HOU Yixing, Akejulidezi·Nuergailide, XUE Jing, ZHOU Long, LI Shude. Analysis on physiological indexes and affinity of different stock-scion combinations of table grapes[J]. Sino-Overseas Grapevine & Wine, 2022(2): 33-37.
- [6] 郑秋玲, 刘万好, 刘笑宏, 谭洋洋, 肖慧琳, 王建萍, 宋忠志, 宫磊, 唐美玲, 卢建声. 4 种砧木对‘赤霞珠’葡萄果实品质及抗氧化活性的影响[J]. 中国果树, 2021(9): 36-41.
ZHENG Qiuling, LIU Wanhai, LIU Xiaohong, TAN Yangyang, XIAO Huilin, WANG Jianping, SONG Zhizhong, GONG Lei, TANG Meiling, LU Jiansheng. Effects of four rootstocks on fruit quality and antioxidant activity of ‘Cabernet Sauvignon’ grape[J]. China Fruits, 2021(9): 36-41.
- [7] JAMWAL M, SINGH B, SHARMA N, KUMAR R, ARTI S, SHARMA A, WALI V K, PARMAR A M. *In vitro* regeneration of grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Perlette[J]. World Journal of Agricultural Sciences, 2013, 9(2): 161-166.
- [8] PEDRO T S, PEIRO R, VILLANOVA J, OLMOS A, GISBERT C. *In vitro* propagation of *Vitis vinifera* L. cv. Monastrell[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2017, 27: 80-83.
- [9] GARCÍA-GONZÁLES R, QUIROZ K, CARRASCO B, CALIGARI P. Plant tissue culture: current status, opportunities and challenges[J]. Ciencia Einvestigación Agraria, 2010, 37(3): 5-30.
- [10] YILDIRIM H, OZDEMIR G. Influence of BAP concentrations and nutrient medium composition on *in vitro* regeneration of ‘Öküzgözü’ and ‘Boğazkere’ (*Vitis vinifera* L.) cultivars[J]. Erwerbs-Obstbau, 2018, 60(1): 55-59.
- [11] 蔡文博, 段虹, 王军, 朱元娣. 4 个鲜食葡萄品种组培快繁体系

- 的建立[J].核农学报,2019,33(2):248-254.
- CAI Wenbo, DUAN Hong, WANG Jun, ZHU Yuandi. Establishment of *in vitro* rapid micropropagation of four table grape cultivars[J]. Journal of Nuclear Agriculture, 2019, 33(2):248-254.
- [12] 林茜,高营营,覃换玲,黄天琨,赵宇,王钟霞,陈淑媛.‘阳光玫瑰’葡萄组培脱毒快繁技术研究[J].果树学报,2021,38(3):435-443.
- LIN Qian, GAO Yingying, QIN Huanling, HUANG Tiankun, ZHAO Yu, WANG Zhongxia, CHEN Shuyuan. Study on rapid propagation technology of virus-free seedlings by tissue culture in ‘Shine Muscat’ grape[J]. Journal of Fruit Science, 2021, 38 (3):435-443.
- [13] 农艳丰,王利园,李健.‘阳光玫瑰’葡萄嫩茎的组织培养研究[J].西南师范大学学报(自然科学版),2021,46(6):52-56.
- NONG Yanfeng, WANG Liyuan, LI Jian. On tissue culture of ‘Sunshine Rose’ grape stems[J]. Journal of Southwest Normal University (Natural Science Edition), 2021, 46(6):52-56.
- [14] 苏玲,宫磊,尹向田,杨立英,杨阳.贵妃玫瑰葡萄组培技术探究[J].安徽农业科学,2020,48(8):51-53.
- SU Ling, GONG Lei, YIN Xiangtian, YANG Liying, YANG Yang. Study on tissue culture technology of the ‘Guifeimeigui’ grape [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2020, 48(8):51-53.
- [15] YERBOLOVA L S, RYABUSHKINA N A, OLEICHENKO S N, KAMPITOVA G A, GALIAKPAROV N N. The effect of growth regulators on *in vitro* culture of some *Vitis vinifera* L. cultivars[J]. World Applied Sciences Journal, 2013, 23(1): 76-80.
- [16] 战吉成,李德美.酿酒葡萄品种学[M].北京:中国农业大学出版社,2010:134-138.
- ZHAN Jicheng, LI Demei. Wine grape varieties[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2010:134-138.
- [17] 高林,冯琳骄,褚佳瑶,由佳辉,艾克热木·伊力哈木,周龙,陆彪.石生茶藨茎段快繁体系的建立[J].经济林研究,2021,39 (4):69-78.
- GAO Lin, FENG Linjiao, CHU Jiayao, YOU Jiahui, Aikeremu · Yilihamu, ZHOU Long, LU Biao. Establishment of rapid propagation system of *Ribes Saxatile* Pall. stem segment[J]. Economic Forest Research, 2021, 39(4):69-78
- [18] 王蒂,陈劲枫.植物组织培养[M].2版.北京:中国农业出版社,2013:27-29.
- WANG Di, CHEN Jinfeng. Plant tissue culture[M]. 2nd ed. Beijing: China Agricultural Press, 2013:27-29.
- [19] 杨光,金桂花,董俊,张青,龚娜.‘状元红’葡萄的脱毒与快繁技术研究[J].浙江农业学报,2014,26(1):72-76.
- YANG Guang, JIN Guihua, DONG Jun, ZHANG Qing, GONG Na. Study on virus-free and rapid propagation techniques of ‘Zhuangyuanyihong’ grape[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2014, 26(1):72-76.
- [20] 曹孜义.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996:22-32.
- CAO Ziyi. Practical plant tissue culture technology tutorial[M]. Lanzhou: Gansu Science and Technology Publishing, 1996:22-32.
- [21] MOZAFARI A A, GHORAISHI O, GHADERI N, JAVADI T. Micropropagation of grape cultivars (*Vitis vinifera* L.) on different basal media supplemented with benzyl adenine[J]. Agriculture Conspectus Scientificus, 2016, 81(3):23-129.
- [22] 骆萌,王杰,李玉玲,宋士任,赵丽萍,许文平.‘新郁’葡萄离体再生体系的建立[J].北方园艺,2016(9):109-113.
- LUO Meng, WANG Jie, LI Yuling, SONG Shiran, ZHAO Liping, XU Wenping. Establishment of regeneration system of ‘Xinyu’ grapevine *in vitro*[J]. Northern Horticulture, 2016(9):109-113.
- [23] 徐国前,栾丽英,焦旭亮,张振文.测定葡萄与葡萄酒总酚的二次回归正交旋转优化设计[J].果树学报,2011,28(3):531-535.
- XU Guoqian, LUAN Liying, JIAO Xuliang, ZHANG Zhenwen. Optimizing a simple determination method for total phenolics in grape and wine through quadratic regression rotational combination design[J]. Journal of Fruit Science, 2011, 28(3):531-535.
- [24] ALIZADEH M, SINGH S K, PATE V B, DESHMUKH P S. Comparative performance of *in vitro* multiplication in four grape (*Vitis* spp.) rootstock genotypes[J]. International Journal of Plant Production, 2010, 4(1):41-50.
- [25] BATUKAYEV A A, PALAEVA D O, BATUKAVE M S, SOBRALIEVA E A. *In vitro* reproduction and *ex vitro* adaptation of complex resistant grape varieties[C]//International Conference on Smart Solutions for Agriculture (Agro-SMART 2018). Paris: Atlantis Press, 2018: 895-899.
- [26] KINFE B, FEYSS A, BEDADA G. *In vitro* micropropagation of grape vine (*Vitis vinifera* L.) from nodal culture[J]. African Journal of Biotechnology, 2017, 16(43):2083-2091.
- [27] KHAN N, AHMED M, HAFIZ I, ABBASI N, EJAZ S, ANJUM M. Optimizing the concentrations of plant growth regulators for *in vitro* shoot cultures, callus induction and shoot regeneration from calluses of grapes[J]. Journal International Des Sciences De La Vigne Et Du Vin, 2015, 49(1):37-45.
- [28] 巩振辉,申书兴.植物组织培养[M].2版.北京:化学工业出版社,2013:41-42.
- GONG Zhenhui, SHEN Shuxing. Plant tissue culture[M]. 2nd ed. Beijing: Chemical Industry Press, 2013:41-42.
- [29] 齐向丽,师校欣,杜国强.‘红国王’葡萄组织培养快速繁殖[J].分子植物育种,2020,18(3):982-987.
- QI Xiangli, SHI Xiaoxin, DU Guoqiang. Rapid propagation of ‘Hongguowang’ grape tissue culture *in vitro*[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(3):982-987.
- [30] 董媛媛,柴慈江,夏瑞,黄洁萍,岑芳.环境、茎段状态与无糖培养基对葡萄试管苗生根的影响[J].天津农学院学报,2021,28 (1):17-20.
- DONG Yuanyuan, CHAI Cijiang, XIA Rui, HUANG Jieping, CEN Fen. Effects of environment, stem section state and sugar-free medium on rooting of grape plantlet *in vitro* cultured in soil supporting medium[J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2021, 28(1):17-20.
- [31] AMIRI S, MOHAMMADI R, AKBARI R. The effects of cytokinin and auxin interactions on proliferation and rooting of seedless grapevine (*Vitis vinifera* L.) ‘Sultanine’ [J]. Erwerbs-Obstbau, 2019, 61(1):85-92.
- [32] ABIDO A I A, ALY M A M, HASSANEN S A, MOHAMED G. *In vitro* propagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) Muscat of Alexandria cv. for conservation of endangerment[J]. Middle-East Journal of Scientific Research, 2013, 13(3):328-337.
- [33] OLAH R. The use of activated charcoal in grapevine tissue culture[J]. Vitis Geilweilerhof, 2017, 56(4):161-171.
- [34] LAZO M F, TRONCOSO R R, TIZNADO M E, MATINEZ M A, ARISPURO V, OSUMA M A, DOMINGUE R M. Surface disinfection procedure and *in vitro* regeneration of grapevine (*Vitis vinifera* L.) axillary buds[J]. Springerplus, 2016, 5:453.
- [35] ARIFUZZAMAN M, SULTANA S, HOSSAIN M S, SAIFULLA H. Paraphernalia of growth regulators during *in vitro* micropropagation of grapevine (*Vitis vinifera* L.) from shoot tips and nodal segments[J]. Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences, 2016, 3(4):326-331.