

树莓离体培养无性系的建立

何家涛 董珍文 王会 赵劲松 (襄樊职业技术学院, 湖北襄樊 441021)

摘要 以树莓带芽茎段或顶芽为外植体, 探讨不同激素种类与水平对其不定芽分化、增殖与不定根形成的影响, 并筛选了树莓试管苗移栽的适宜基质。结果表明: 不定芽启动培养以 MS+BA 1.0 ng/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L 为宜; 继代增殖以 MS+BA 0.5~1.0 ng/L+NAA 0.1~0.5 ng/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L+干酪素 30~50 mg/L 为宜; 不定根分化以 1/2 MS+IBA 0.2~0.4 ng/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L 或 1/2 MS+NAA 0.5 ng/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L 为宜, 生根率高于 96%; 在泥炭或泥炭:蛭石=1:1 的基质中移栽, 成活率高于 93.8%。

关键词 树莓; 离体培养; 无性系

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)13-3028-02

树莓 (*Rubus corchorifolius*) 为蔷薇科悬钩子属多年生浆果类果树, 其果实甜酸、芳香, 有很高的营养价值, 既是很好的鲜食果品, 也可加工成果汁、果酒、果干、蜜饯等食品。其果实富含维生素 C、维生素 E、SOD 等抗衰老物质。由于含水杨酸较多, 还具有醒酒、止咳、消炎的作用。因而, 它不仅是一种美味水果, 而且在保健、食品加工等方面具有广泛的用途, 堪称“世界水果之王”, 是近年来发展最为迅速的集营养与保健于一身的第 3 代新兴水果, 极具开发利用前景。目前, 我国栽培的树莓品种主要是从国外直接引种, 难以满足树莓产业发展对优质高产品种的需求^[1,2]。笔者以美国选育的红树莓品种——极品 (*Summie*) 为材料, 在借鉴同仁^[3-5]关于树莓离体培养研究的基础上, 探讨建立离体培养无性系技术体系, 以期为实现树莓优良品种种苗大规模工厂化生产奠定技术基础。

1 材料与方

1.1 材料 于 4~5 月从襄樊职业技术学院试验基地的红树莓极品 (*Summie*) 的母株上, 取生长健壮的枝条为外植体。该品种为美国俄勒冈州选育的早熟高产品种, 适宜在我国华中、华北、西北等地栽培, 材料引自中国林业科学研究所。

1.2 方法

1.2.1 外植体表面灭菌。 将取下的枝条去叶并剪切成 3~4 cm 茎段, 用饱和的洗涤液浸泡 5~10 min, 流水冲洗 20~30 min, 在超净工作台上用浓度 75% 酒精浸泡 30 s, 再用 0.1% $HgCl_2$ 浸泡 6~7 min, 最后用无菌水冲洗 3~4 次, 每次 1~2 min, 用无菌纸吸干水分, 以备接种。

1.2.2 启动培养。 取已表面灭菌的材料, 切割成 1~2 cm 带 1 芽茎段, 接种于启动不定芽分化培养基上, 以获得无菌材料, 40 d 后统计萌芽率。以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度水平的 BA(0.1、0.5、1.0、2.0 ng/L), 共 4 个处理。

1.2.3 继代增殖培养。 将启动培养中获得的无菌材料, 切成 2 cm 左右带 1 芽茎段, 接种于增殖培养基中, 35 d 后统计增殖率, 以筛选适宜的增殖培养基。以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度水平的 BA(0.1、0.5、1.0、2.0 ng/L) 和 NAA(0.1、0.5、1.0 ng/L), 共组成 12 个处理。

1.2.4 生根培养。 将丛芽分割成高 2~3 cm、带 3~4 叶的单芽, 接种于诱导生根培养基中, 25 d 后统计生根率, 以筛选适

宜的生根培养基。以 1/2 MS 为基本培养基, 附加不同浓度水平的 IBA(0.1、0.4、0.8 ng/L) 或 NAA(0.1、0.5、1.0 ng/L), 并以 1/2 MS 为对照, 共 7 个处理。

以上培养基均附加蔗糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L, pH 值 5.8~6.2; 在压力 1.1 kg/cm²、121 条件下湿热灭菌 20 min。培养条件均为: 光照强度 1 500~2 000 lx, 温度 (23±1) °C, 光照时间 13 h/d。

1.2.5 试管苗移栽。 当试管苗不定根长 1 cm 左右、高 3~4 cm、具 4~5 片叶时, 从培养瓶中取出, 洗净基部培养基, 用 800~1 000 倍多菌灵浸泡基部 2~3 min 后, 移栽于不同基质中, 同时采取适度降温、遮光、增湿等技术措施, 以提高试管苗移栽成活率。移栽基质设泥炭、泥炭(V):蛭石(V)=1:1、蛭石、珍珠岩 4 个处理, 30 d 后统计成活率。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对红树莓腋芽萌动的影响 取带芽茎段接种于启动培养基上, 5~7 d 腋芽开始萌动, 35~40 d 部分形成丛生芽。由表 1 可见, 随启动培养基中 BA 浓度的提高, 腋芽萌动率有提高的趋势。在 BA 浓度较高 (2.0 ng/L) 时, 不定芽数量多, 但丛芽生长细弱; 在 BA 浓度较低 (0.1~0.5 ng/L) 时, 不定芽数量少, 但芽健壮、长势旺。综合两方面因素, 红树莓启动培养以附加 BA 1.0 ng/L 的培养基效果最好。

表 1 不同培养基对红树莓腋芽萌动的影响

培养基	接种数	出芽数	萌芽率	芽长势情况
	个	个	%	
MS+BA 0.1	35	14	40.0	芽健壮、量少
MS+BA 0.5	34	16	53.0	芽健壮、量较少
MS+BA 1.0	40	29	72.5	芽较健壮、量较多
MS+BA 2.0	40	34	85.0	芽长势弱、量多

注: 表中激素浓度单位为 ng/L, 下同。

2.2 不同激素种类与水平对红树莓不定芽增殖的影响 带芽茎段接种于继代增殖培养基上, 一般 3~5 d 芽陆续萌动, 25~35 d 再次形成不定芽丛。由表 2 可见, 继代增殖培养基中附加的 BA 与 NAA 水平不同, 芽的增殖率与长势存在显著差异。增殖率与 BA 浓度密切相关, 在 BA 试验浓度范围内, 随 BA 浓度提高, 增殖率有提高的趋势, 但在 BA 浓度较高 (2.0 ng/L) 时, 增殖系数在 6.2 以上, 丛芽细弱, 且后续试验表明, 随继代次数增加, 出现玻璃化现象, 不利后期成苗; 而 BA 浓度较低 (0.1 ng/L) 时, 芽健壮, 但增殖率低。增殖率与 NAA 浓度亦表现出相关性, 在 0.1~0.5 ng/L 范围内有提高的趋势。上述试验结果表明, 红树莓增殖培养中, 外源激素

基金项目 湖北省襄樊市科技局资助项目。

作者简介 何家涛 (1965-), 男, 湖北宜城人, 副教授, 从事园艺生物技术研究。

收稿日期 2006-05-07

BA 0.5 ~ 1.0 ng/L 和 NAA 0.1 ~ 0.5 ng/L 增殖效果好, 丛芽壮。

进一步的试验表明: 在培养基中附加干酪素 30 ~ 50 ng/L, 丛芽生长更健壮, 且对增殖率影响不大, 说明含有机氮营养丰富的培养基有利于红树莓丛芽的生长。

表2 不同激素种类与水平对红树莓不定芽增殖的影响

培养基种类	分化丛生	增殖系	芽生长情况
	芽总数 个	数 倍	
MS+ BA0.1+ NAA0.1	56	2.8	健壮, 丛芽不明显
MS+ BA0.1+ NAA0.5	64	3.2	健壮, 丛芽不明显
MS+ BA0.1+ NAA1.0	57	2.9	健壮, 丛芽不明显
MS+ BA0.5+ NAA0.1	112	5.6	较健壮, 丛芽明显
MS+ BA0.5+ NAA0.5	118	5.9	较健壮, 丛芽明显
MS+ BA0.5+ NAA1.0	82	4.1	较健壮, 丛芽明显
MS+ BA1.0+ NAA0.1	116	5.8	较健壮, 丛芽明显
MS+ BA1.0+ NAA0.5	121	6.1	较健壮, 丛芽明显
MS+ BA1.0+ NAA1.0	86	4.3	较健壮, 丛芽不明显
MS+ BA2.0+ NAA0.1	140	7.0	长势弱, 丛芽明显
MS+ BA2.0+ NAA0.5	145	7.3	长势弱, 丛芽明显
MS+ BA2.0+ NAA1.0	124	6.2	长势弱, 丛芽明显

注: 每种培养基的接种数均为20个。

2.3 不同激素种类与水平对红树莓不定根形成的影响 单芽接种于生根培养基上, 一般7~10 d 切口处出现白色根状突起。由表3可见, 红树莓较易生根, 最适宜生根培养基为1/2 MS 附加IBA0.2~0.4 ng/L 或NAA0.5。

表3 不同激素种类与水平对红树莓不定根形成的影响

培养基	生根数生根率		单株均根	根系生长情况
	株	%		
1/2 MS+ IBA0.2	46	96	4.2	根较细弱, 自然均匀
1/2 MS+ IBA0.4	50	100	5.4	根较细弱, 自然均匀
1/2 MS+ IBA0.8	45	90	4.3	根较细弱, 自然均匀
1/2 MS+ NAA0.1	42	84	3.4	根粗壮
1/2 MS+ NAA0.5	49	98	4.0	根粗壮
1/2 MS+ NAA1.0	44	85	3.2	根粗壮, 基部生长疏松愈伤
1/2 MS(CK)	26	54.2	2.1	根较细弱, 自然均匀

注: 每种培养基的接种数均为50株。

2.4 不同基质对红树莓试管苗移栽成活率的影响 由表4可见, 用泥炭或泥炭 蛭石=1:1 作基质的处理, 试管苗生长快, 移栽成活率超过93.8%, 苗质优良。而用珍珠岩作基质

的处理, 试管苗移栽成活率最低为72.3%, 且试管苗生长缓慢, 可能与其保水性差有关。同时, 红树莓移栽试验表明: 试管苗苗龄20~25 d, 根长1 cm左右时, 试管苗生理活性旺, 根吸收能力强, 此时移栽不易伤根, 成活率更高。

表4 不同基质对红树莓试管苗移栽成活率的影响

移栽基质	移栽苗数	成活苗数	成活率
	株	株	%
泥炭	256	245	95.7
泥炭 蛭石=1:1	256	240	93.8
蛭石	256	216	84.3
珍珠岩	256	185	72.3

3 小结

近几年来我国树莓产品供不应求, 树莓开发利用前景广阔。但我国栽培树莓品种主要依靠国外引种。树莓传统繁殖方式一般采用分株、培养根蘖苗等, 不能满足树莓生产快速发展对良种的需求, 因而, 通过离体培养进行无性快繁, 以满足树莓生产快速发展对良种的需求, 对推动我国树莓产业发展具有重要的现实意义。

该试验结果表明: 红树莓品种不定芽启动培养以 MS + BA 1.0 ng/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L 为宜; 继代增殖以 MS + BA 0.5 ~ 1.0 ng/L + NAA 0.1 ~ 0.5 ng/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L + 干酪素 30 ~ 50 ng/L 为宜, 增殖率可达 5.6 ~ 6.1, 且芽健壮; 不定根分化以 1/2 MS + IBA 0.2 ~ 0.4 ng/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L 或 1/2 MS + NAA 0.5 ng/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂 6.5 g/L 为宜, 生根率超过 96%; 在泥炭或泥炭 蛭石=1:1 基质中驯苗, 成活率超过 93.8%。同时, 进一步试验研究表明: 树莓种苗工厂化育苗中, 为快速获取大量健壮丛芽, 可据丛芽生长情况, 及时灵活调整外源激素浓度, 高浓度与低浓度交替使用。

参考文献

- [1] 黄庆文. 树莓及其丰产栽培 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 1-3.
- [2] 张建成, 屈红征, 张晓伟. 树莓的特性及开发利用前景 [J]. 山西果树, 2005(2): 31-32.
- [3] 王丽玲, 郭军战, 陈钟山, 等. 树莓和黑莓茎段组织培养研究初报 [J]. 经济林研究, 2002, 20(3): 24-25.
- [4] 李春艳, 汪卫星, 向素琼, 等. 树莓离体培养与快速繁殖研究 [J]. 中国南方果树, 2005, 34(3): 71-72.
- [5] 刘义萍. 引进国外树莓品种组织培养生根试验 [J]. 北方园艺, 2005(4): 79-80.