

树莓丛生芽诱导与植株再生

李璟琦, 孙晓东

(陕西教育学院生命科学系, 陕西西安 710061)

摘 要: 取树莓当年生的幼嫩枝做外植体, 培养于附加不同种类和不同浓度激素的MS培养基上, 在诱导培养基MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l上培养20d左右, 腋芽开始分化增殖。在芽的增殖试验中发现加入一定量的GA₃可大大提高增殖率, 适宜的培养基为6-BA1.0mg/l+NAA0.05mg/l+GA₃0.5mg/l, 有效增殖系数达3.38。用1/2MS+NAA0.4mg/l时生根效果较好, 生根率达90%以上。

关键词: 树莓; 组织培养; 增殖; 诱导; 再生

中图分类号: Q945.52

文献标识码: A

文章编号: 1008—598X(2007)01—0095—03

树莓 (*Rubus idaeus*) 是蔷薇科悬钩子属的浆果类灌木树种, 在欧美具有悠久的栽培历史。其果实味酸甜, 含有丰富的营养成分, 还是蜜源植物和药用植物, 具有止渴、除痰、发汗、活血的功效^[1,2], 近年来在国际市场上走俏, 成为果树行业的增长热点之一。红树莓与其他树莓品种相比, 除了营养价值高之外, 其浆果较大, 品质较好。目前生产上主要采用扦插、压条和分根繁殖, 不仅繁殖系数低、速度慢, 而且品质易退化, 难以得到迅速的推广和发展。利用组织培养快繁技术, 既可保持其优良种性, 又可在短期内使优株迅速扩大繁殖。通过多年研究, 采用组织培养方法快速繁殖红树莓的技术已经成熟, 为大规模工厂化生产提供了依据。

1 材料与方法

1.1 材料: 供试材料为西北农林科技大学农学院温室栽培的红树莓品种图拉美, 于其生长季节, 剪取当年新发健壮枝条进行试验。

1.2 方法: 接种当天从温室采取幼嫩茎段, 用自来水冲洗表面, 除去表面污染物, 在超净工作台上用刀片去掉茎段上的刺和绒毛, 放入大烧杯中, 用70%酒精灭菌30s, 再用0.1%升汞溶液浸泡后, 用无菌水冲洗45次, 将茎段横切成约0.5cm的小段(带一个腋芽), 接种到培养基上进行培养。

1.3 培养条件: 培养室温度为25℃, 以室内自然光为光源, 每天连续照射约10h。

1.4 培养基: 整个培养过程中采用MS为基本培养基^[3,4], 再附加不同种类和浓度的细胞分裂素(6BA, KT)和生长素(NAA), 组成各种不同种类和浓度激素水平的腋芽诱导培养基和增殖培养基, 蔗糖含量为30g/l, 琼脂4g/l, PH5.8。

2 结果与分析

2.1 树莓腋芽的诱导培养

2.1.1 丛生芽诱导培养基的筛选

将带有腋芽的茎段分别接种于MS+6-BA0.5mg/l和MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l的两种培养基中, 可以看到腋芽在第一种培养基中萌动慢, 而在附加6-BA和NAA的培养基中, 萌发整齐, 生长良好, 叶面舒展, 生长较快。所以MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l+蔗糖30g/l+琼脂4g/l可以作为树莓腋芽生长的诱导培养基。对萌生的幼芽每隔20d重新转接一次, 经过2~3次继代培养, 生长速度加快, 芽分化能力增强, 芽主茎生长到2~3cm, 基部可产生2~3个分蘖苗, 再切成单芽进行增殖培养。

收稿日期: 2006-11-20

作者简介: 李璟琦(1967-), 女, 江苏仪征人, 陕西教育学院生命科学系副教授。

2.1.2 外植体消毒时间对消毒效果的影响

在4月下旬将半木质化的带芽茎段经过0.1%升汞消毒处理不同时间后，接种在MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l+蔗糖30g/l+琼脂4g/l的诱导培养基上，实验结果如图1所示。可以看出，随着升汞消毒时间延长，虽然污染率可以降低，但是褐变死亡率却加剧。当0.1%升汞浸泡带芽茎段20min后，由于升汞的杀伤力较强，消毒时间太长，也会将幼嫩组织杀死。据此，选择0.1%升汞消毒10min较好。

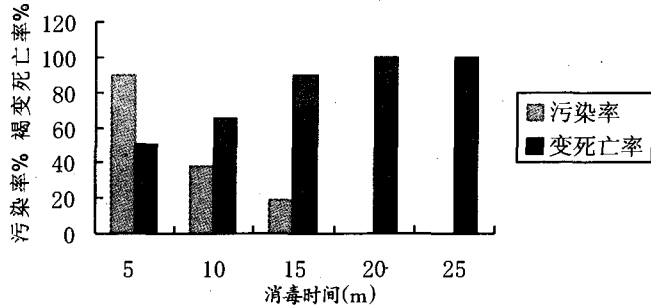


图1 升汞消毒时间对消毒效果的影响

2.2 树莓丛生芽的增殖培养

在丛生芽诱导过程中，单独附加6-BA或KT，丛生芽不萌动，只有少量愈伤组织生成。但同时附加不同浓度的6-BA和NAA0.05mg/l，对芽的诱导有效，如表1所示。当NAA为0.05mg/l时，6-BA浓度过高或过低都不利于丛生芽的诱导萌发，使得萌发时间推迟，萌发率降低，萌发芽数减少。当6-BA浓度为1.5mg/l时，还有玻璃化苗产生。当6-BA为1.0mg/l时，萌发芽数增多，萌发时间缩短，在此基础上再加入GA₃0.5mg/l配合使用时，效果最好。培养9d可见萌动，不仅可以防止玻璃化现象，而且芽增殖效果好，其伸长较快，产生小分枝较多，有效繁殖系数达到3.38。因此选择6-BA1.0mg/l+GA₃0.5mg/l+NAA0.05mg/l作为树莓丛生芽诱导的最佳激素组合。

表1 激素对丛生芽诱导的影响

激素	接种芽数	芽萌发天数	萌发芽数	有效繁殖系数
6-BA0.3+NAA0.05	13	17	6	1.42
6-BA0.5+NAA0.05 (mg/L)	13	12	7	1.35
6-BA1.0+NAA0.05	13	11	11	3.10
6-BA1.5+NAA0.05	13	13	5	1.57
6-BA1.0+NAA0.05+KT0.5	13	12	10	2.40
6-BA1.0+NAA0.05+GA ₃ 0.5	13	9—10	11	3.38

注：有效繁殖系数是指平均每次继代培养中由一个苗或一个芽段得到的有效新苗的个数。

2.3 生根培养

据资料介绍，蔷薇科许多植物试管苗较易生根，可在无激素的培养基中正常长出大量根系^[9]。将增殖培养获得的树莓无根苗选取3cm以上的大苗壮苗切取接入1/2MS生根培养基中，20d后观察，在基部有少量愈伤组织生成，并无生根迹象。说明此种培养基不适合于树莓生根，改用1/2MS附加不同浓度NAA，25d后观察，结果如表2所示。

表2 激素对生根培养的影响

激素浓度 (mg/l)	处理苗数	生根率	根数	根生长情况
NAA0.2	20	60	2—6	细长
NAA0.4	20	93	3—4	均匀生长
NAA0.8	20	75	1—2	均匀生长
NAA1.6	20	70	2—3	短而粗
NAA3.0	20	0	—	—

表2结果表明：NAA浓度过低时，根多但过于细长，不便移栽；NAA浓度过高则抑制根的诱导。在NAA为0.4mg/l时，诱导出的根数量适中，生长均匀，生根率超过90%。因此可以选择1/2MS+NAA0.4mg/L作为树莓的生根培养基。

2.4 炼苗及移栽

炼苗开始时将培养瓶的封口薄膜掀开,让瓶中的生根苗在室内环境中适应2~3d。然后取出,洗净根上附着的培养基栽入温室沙壤土中,每2~3d浇适量的水,7d后漫灌一次浇透水,促使根系生长。经过1个月的生长,发出新梢,移至大田栽植。

3 结论与讨论

3.1 取树莓当年生的幼嫩枝做外植体,在诱导培养基MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l上培养效果较好。在芽的增殖试验中发现加入一定量的GA₃可大大提高增殖率,适宜的培养基为6-BA1.0mg/l+NAA0.05mg/l+GA₃0.5mg/l,有效增殖系数达3.38。用1/2MS+NAA0.4mg/l时生根效果较好,生根率达90%以上。

3.2 树莓离体培养初始外植体的接种时间的选择非常重要。本实验表明:以4月中旬至5月初的新生枝条带有腋芽的茎段作为外植体接种效果较好,萌芽率和成苗率较高。在3月下旬至4月上旬间接种,腋芽茎段褐变坏死现象严重。5月下旬以后由于温度过高,接种时污染严重。所以选择4月中旬至5月上旬这段适宜接种时间,可迅速建立起无性繁殖体系。

3.3 氧化褐变是组织培养中的一个关键问题,能否防止氧化褐变直接关系到组织培养的成败。不同植物发生的程度不同^[5,6],防止褐变的方法也各异,何琼英^[7]曾用抗坏血酸来阻缓或防止褐化,但是某些抗氧化剂如抗坏血酸不耐高温,如果作为培养基的附加成分,进行高温灭菌时破坏了其性质。在本实验中我们分别采用连续转接和培养基中加入Na₂S₂O₃的方法,结果表明:培养基中加入Na₂S₂O₃防止褐变效果不理想,采用连续转接的方式,可以减轻并防止褐化现象发生。

3.4 试管植物的玻璃化现象是一种生理性病变,在组织培养中发生极为普遍^[8,9,10]。在许多植物上玻璃化现象已引起人们重视,并做了初步研究,师校欣^[11]在苹果砧木上曾用PVA防止玻璃化苗效果最好,胡继金^[12]用青霉素清除香石竹玻璃苗取得良好效果,孔祥生^[13]在甜柿组培中采用提高琼脂浓度可有效防止玻璃化苗的产生。本实验在增殖培养阶段发现GA₃对腋芽生长十分重要,在培养基中GA₃与6-BA同时存在时,不仅对腋芽的生长和增殖有利,而且可以防止玻璃苗产生。

[参考文献]

- [1] 王宏斌,陈铁山,崔宏安. 树莓和黑莓的栽培与加工利用[J]. 陕西林业科技, 2000 (2): 66—69.
- [2] 尚国华. 树莓营养成分及利用[J]. 中国野生植物, 1987 (2): 34—36.
- [3] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 56—79; 337—338.
- [4] 陈正华. 木本植物组织培养及应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 37—55.
- [5] 姚洪军, 罗晓芳. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21 (3): 78—84.
- [6] 董建华. 几种热带水果的褐变与PPO[J]. 热带作物研究, 1990 (2): 92—99.
- [7] 何琼英, 张东方, 王润华. 抗坏血酸处理防止香蕉吸芽对外植体褐变的研究[J]. 华南农业大学学报, 1998, 19 (2): 41—44.
- [8] 卜学贤, 陈维伦. 试管植物的玻璃化现象[J]. 植物生理通讯, 1987, 23 (5): 13—19.
- [9] 邢世岩. 木本植物组织培养玻璃化的原因和控制[J]. 国外作物组织培养, 1987, 21: 88—94.
- [10] 徐妙珍, 张雅君, 李伟, 等. 林木组织培养的障碍及对策[J]. 林业科技, 1992, 17 (3): 10—12.
- [11] 师校欣, 马宝昆, 高仪. 植物离体繁殖中玻璃苗的发生与防治[J]. 植物学通报, 1992增刊: 20.
- [12] 胡继刚, 阮颖, 廖爱军, 等. 青霉素清除香石竹玻璃苗作用的研究[J]. 植物学通报, 1992增刊: 13.
- [13] 孔祥生, 张妙霞, 杜爱玲, 等. 甜柿离体快繁技术研究, 华中农业大学学报[J]. 1998, 17(2): 178—186.

[责任编辑 朱毅然]

Shoot Propagation and Plant Regeneration of *Rubus Idaeus*

LI Jing-qi, SUN Xiao-dong

(Shaanxi Institute of Education, xi'an 710061, China)

Abstract: Tender stems picked from one year branches of FREEBERLY as explant were disinfected by common way to induce shoots and cultivated in MS medium of different Phythermones. The results showed that axillary buds were stimulated and stretched on MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l. About 20 days later differentiation and multiplication began. The rate of proliferation was greatly enhanced because of the supplement of GA₃ in the shoot multiplication experiment. The suitable multiplication medium of axillary buds was MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.05mg/l+GA₃0.5mg/l. The effective propagation coefficient was 3.38. More than 90% of shoots were roots on 1/2MS+NAA0.4mg/l.

Key words: *Rubus idaeus*, tissue culture; inducement; propagation; regeneration