维普资讯 http://www.cqvip.com

树莓组培快繁技术体系研究

张林水[1],李志民[2],李 波[1],吴 霞[1],上官小霞[1],李燕娥[1]
(1.山西省农业科学院棉花研究所,山西 运城 044000;2.山西省绿洲科技有限公司,山西 运城 044000)

摘 要:树莓外植体用 $HgCl_2$ 消毒时间以 10min 为宜,培养基 MS 附加 6-BA 0.5mg/L+NAA 0.20~0.25 mg/L,每株增殖 9.2~9.8 个;培养基附加 IBA 0.2mg/L,每株平均生根数 3.09 条;树莓试管苗生根 4~6 条及根长 1.0cm 以上,扣杯保湿时间超过 4 周,避开高温干燥的季节移栽,成活率为 79.6%~84.6%。

关键词:树莓;组培;快繁;移栽;成活率
中图分类号:S663.203.6 **文献标识码**:A **文章编号**:1002-2481(2006)01-0032-03

Rapid-Propagation Technique System of *Rubus Crataegifolius* through Tissues Culture

ZHANG Lin-shui[1], LI Zhi-ming[2], LI Bo[1], WU Xia[1], SHANGGUANG Xiao-xia[1], LI Yan-e[1]
(1. *Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng* 044000, *China*;
2. *Luzhou Science and Technology Limited Company in Shanxi, Yuncheng* 044000, *China*)

Abstract: The proper sterilized time for the explants of *Rubus crataegifolius* was 10 minutes in Hgcl2. The fruit numbers could be increased by 9.2~9.8/plant by means of media supplemented with 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.2~0.25mg/L, while the roots could be increased by 3.09 roots/plant in media supplemented with IBA 0.2mg/L. Each tuber seedling had 4~6 roots and each of them was 1.0cm long. After transplanting, the seedlings were covered with plastic cups for over 4 weeks. When transplanting is done during non high temperature and dry seasons, the survival rate was 79.6%~84.6%.

Key words: *Rubus crataegifolius*; Tissues culture; Rapid-propagation; Transplant survival rate

树莓(*Rubus crataegifolius*)属于蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus* L)藤本植物,我国只有野生资源分布,而在欧洲 16 世纪已开始驯化栽培,逐渐形成了黑、红、黄三大品种类型,并育成不少优良品种。树莓果实为聚合状浆果,外观形美色丽,晶莹剔透,口味酸甜芬芳,富含多种有机酸和维生素,营养价值很高,可供鲜食和加工高档果汁、饮料及制作果酱之用。我国近几年引进了一些优良品种进行示范繁殖。为了尽快推广这一稀缺名贵水果,我们对其进行了组培和快繁技术研究。

1 材料和方法

1.1 供试材料

树莓苗木来自山西绿洲科技有限公司从美国引进的黑树莓品种 JSH,B 和 R。

1.2 试验方法

采用外植体—消毒处理—无菌苗快繁增殖—快繁苗诱导生根—移栽的步骤进行。

2 结果与讨论

2.1 外植体表面消毒对树莓无菌苗的影响

晴天下午 14~15 时在种植园采集树莓当年生半木质化枝条,基部浸入水桶保湿带回实验室。用自来水冲净尘土,再用自来水流水冲洗 30min,剪成带 1 个腋芽的节段,置超净工作台,用 70% 酒精消毒 15s 后,用无菌水冲洗 2~3 次。然后用 0.1% $HgCl_2$ 消毒,设置消毒时间 5,7,10,15min 等 4 个处理,每个处理 10 个腋芽,接种在初培培养基上。初培培养基成分为:MS+蔗糖 30g/L+

* 收稿日期:2004-09-13
作者简介:张林水(1951-),男,山西新绛人,副研究员,主要从事转基因棉花选育研究工作。通讯作者李燕娥。

维普资讯 http://www.cqvip.com

琼脂 7g/L，pH6.8。最后放进光照培养间培养，每天光照 12h，照度 2 000lx，温度控制在 25～28℃。4 周后观察培养效果。

试验结果（表 1）表明，树莓外植体用 0.1% $HgCl_2$ 消毒 10min，既可达到彻底灭菌的目的，接种的腋芽又不受伤害。消毒时间太短，灭菌不彻底，如 5 和 7min 处理污染率达 20%～90%。消毒时间过长，虽可彻底灭菌但腋芽受损严重。

表 1　0.1% $HgCl_2$ 消毒时间对树莓外植体的灭菌效果

项目	消毒时间(min)			
	5	7	10	15
接种腋芽(个)	10	10	10	10
污染率(%)	90	20	0	0
腋芽受损程度	无	无	无	严重

2.2　激素配比对试管苗增殖的影响

树莓组培试管苗增殖基本培养基为 MS＋蔗糖 30g/L＋琼脂 7g/L，pH6.8，另附加不同浓度的细胞分裂素，6－苄基氨基嘌呤（以下简称 6－BA）和生长素萘乙酸（以下简称 NAA）配合使用。

2.2.1　单一激素与试管苗增殖的关系　采用单一激素 6－BA 处理试管苗切段，6－BA 浓度设置 0.2，0.3，0.4，0.5，0.8，1.0，1.5mg/L 等 7 个处理，每个处理接 10 个试管苗切段，放在人工光照培养室培养，4 周后检查试管苗增殖效果。

表 2　6－BA 浓度对树莓试管苗增殖的影响

项目	6－BA 浓度(mg/L)						
	0.2	0.3	0.4	0.5	0.8	1.0	1.5
每株增殖数	1.2	2.4	4.6	8.2	11.6	15.6	14.5
叶色	浓绿	浓绿	浓绿	浅绿	浅绿	浅绿	浅绿
茎质量	粗壮	粗壮	粗壮	稍细	细弱	细弱	细弱

试验结果（表 2）表明，6－BA 浓度为 0.2～0.4mg/L 时，试管苗每株增殖 1.2～4.6 株，增殖数量较少，但叶色浓绿，芽体粗壮韧性好；当 6－BA 浓度增大到 0.8～1.5mg/L 时，试管苗每株增殖 11.6～15.6 株，增殖数量大为提高，但芽体细弱质量差；只有 6－BA 浓度为 0.5mg/L 时，试管苗每株增殖 8.2 株，增殖数量适中，芽体细而不脆。因此，综合来看，6－BA 浓度为 0.5mg/L 时，试管苗的增殖效果较为理想。

2.2.2　激素配合使用与试管苗增殖的关系　采用 6－BA 和 NAA 配合使用，当 6－BA 浓度为 0.5mg/L 时，设置 NAA 浓度(mg/L)为 0.05，0.10，0.15，0.20，0.25 等 5 个处理，每个处理接种 10 个试管苗切段，人工光照培养室培养，4 周后检查试管苗增殖效果。

试验结果（表 3）表明，当 6－BA 浓度为0.5 mg/L 时，NAA 浓度 0.20～0.25mg/L 的处理培养效果较好，接种芽每个切段增殖数量为 9.8～9.2 个，并且后代苗质量较高，叶色浓绿，茎粗壮。

表 3　6－BA 与 NAA 配合使用对树莓试管苗增殖的影响

处理	6－BA/NAA 浓度(mg/L)				
	0.5/0.05	0.5/0.10	0.5/0.15	0.5/0.20	0.5/0.25
增殖数	9.2	9.2	9.6	9.8	9.2
叶色	浅绿	绿	绿	浓绿	浓绿
茎质量	较细	较壮	较壮	粗壮	粗壮

2.3　激素对试管苗生根的影响

基本培养基为 1/2MS＋蔗糖 30 g/L＋琼脂 7g/L，pH6.8，设置生长素吲哚丁酸（IBA）不同浓度(mg/L)进行试验，共设计 0，0.1，0.2，0.3，0.4，0.5 等 6 个浓度作为试验处理，每个处理接种 30 个试管苗，在人工光照培养室培养，2 周后观察生根培养效果。

试验结果（表 4）表明，当培养基不加激素 IBA 时，树莓试管苗也能生根，但生根率较低，为 75%，且根较纤细易断。当 IBA 浓度为 0.1～0.2 mg/L 时，生根率提高到 92%～100%，每株根数达到 3.09～3.33 条，根长 0.27～0.61cm，所生根均为比较坚韧匀称的皮层根，质量很好。当 IBA 浓度增大到 0.3～0.5mg/L 时，虽然生根率达到 100%，但每株生根数下降到 2.38～2.88 条，根长度 0.10～0.58cm，并且所生根全为难以栽植成活的愈伤根。因此综合判断认为，IBA 较合适的浓度应为 0.2mg/L。

表 4　IBA 浓度对树莓试管苗生根培养效果的影响

IBA 浓度(mg/L)	接种株数	生根率(%)	生根数(个/株)	根长度(cm)	根质量	根种类
0	30	75	1.63	0.78～2.03	纤细易断	皮层根
0.1	30	92	3.33	0.21～0.75	匀称	皮层根
0.2	30	100	3.09	0.27～0.61	匀称坚韧	皮层根
0.3	30	100	2.88	0.12～0.17	匀称坚韧	愈伤根
0.4	30	100	2.86	0.13～0.54	脆、粗短	愈伤根
0.5	30	100	2.38	0.10～0.58	脆、粗短	愈伤根

2.4　树莓试管苗移栽与试管苗本身条件及移栽方法的关系

试管苗移栽是快繁能否成功的关键一环。韩国统计 1991 年一些商业性实验室繁殖的部分观

维普资讯 http://www.cqvip.com

赏花卉移栽成活率,高的可达 100%,而低的只有 30%~50%。甘肃农业大学计算,葡萄试管苗移栽成本占总成本的 56%~78%。由此说明,移栽技术对离体快繁的成功是极为重要的。影响移栽成活率的因素很多,本试验仅就几个主要因素进行探讨研究。

2.4.1 试管苗根数和根长度对移栽成活率的影响 选择生根条数不同的试管苗作试材,移栽在 8cm×10cm 的营养钵内。营养钵装园土为基质,浇透水后移栽试管苗,然后立即扣塑料口杯保湿,放在单层遮阳网下遮阳,30d 后观察成活率。

试验结果(表 5)表明,树莓试管苗根数 1~3 条时,移栽成活率在 55.0%~73.5%(短根)和 65.0%~71.0%(长根);根数 4~6 条时,移栽成活率提高到 78.0%~98.8%(短根)和 91.0%~97.2%(长根)。说明试管苗根数较多时,移栽成活率较高。另外,试管苗根长超过 1.0cm 的移栽成活率平均为 78.9%,比根长不足 0.5cm 的移栽成活率平均 73.6% 提高 5.3 个百分点。由此看出,试管苗根条数相同而根较长时,移栽的成活率也较高。

表 5 树莓试管苗生根数和根长度对移栽成活的影响

根长类型	根数(个/株)	移栽株数	成活株数	成活率(%)
长根(≥1.0cm)	Σ	1005	793	78.9
	1	160	109	68.1
	2	200	130	65.0
	3	200	142	71.0
	4	190	179	94.0
	5	200	182	91.0
	6	55	51	97.2
短根(≤0.5cm)	1	200	110	55.0
	2	200	147	73.5
	3	200	134	67.0
	4	200	156	78.0
	5	170	147	86.5
	6	80	79	98.8
	Σ	1050	773	73.6

2.4.2 试管苗不同品种根长度对移栽成活的影响 为了确定根长度对试管苗移栽成活率的影响,分品种进行了试验。移栽环境条件相同,30d 后观察成活率。

试验结果(表 6)表明,试管苗根长度对移栽成活的影响在不同品种和不同移栽时间表现不同。品种 R 在 8 月上旬高温时期移栽时,根较长者成活率 68.0%,比根较短者的 60.0%高 8.0 个百分点;而在 8 月中旬移栽时,长根苗移栽成活率 85.1%,与短根苗的 86.4%基本相当。品种 JSH 在 8 月上旬高温时期移栽的,其长根苗和短根苗的成活率基本相当(88.0%和 87.3%)。

表 6 树莓试管苗根长度和移栽期对移栽成活的影响

根长类型	移栽期(月-日)	移栽株数	成活株数	成活率(%)
长根(≥1.0cm)	08-05	50	44	88.0
短根(≤0.5cm)	08-05	55	48	87.3
长根(≥1.0cm)	08-03	50	34	68.0
短根(≤0.5cm)	08-03	50	30	60.0
长根(≥1.0cm)	08-16	121	103	85.1
短根(≤0.5cm)	08-17	22	19	86.4

3 小结

3.1 树莓组培快繁制备无菌苗时,掌握 $HgCl_2$ 消毒外植体时间是关键,消毒时间太短不可能彻底灭菌,时间过长则可能杀死部分外植体,合适时间以 10min 为宜。

3.2 树莓试管苗继代培养基用 MS+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.20~0.25mg/L,每切段增殖数量为 9.2~9.8 个。

3.3 树莓试管苗生根培养基用 1/2MS+蔗糖 30g/L+琼脂 7g/L+IBA 0.2mg/L,每株生根平均 3.09 条,根长 0.27~0.61cm,根较粗壮且有弹性。

3.4 树莓试管苗生根数在 4 条以上,且根长1.0 cm 以上时,移栽成活率可达 78.0%~98.8%;而生根数在 1~3 条,根长在 0.5cm 以下时,移栽成活率仅 55.0%~73.5%;根长在 1.0cm 以上时,移栽成活率也只能达到65.0%~71.0%。

参考文献:

[1] 曹孜义. 刘国民. 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.

[2] 王 涛. ABT 生根粉与增产灵的作用原理及配套技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991.

[3] 才淑英. 园林花卉扦插育苗技术[M]. 北京:中国林业出版社,1998.