

树莓组织培养与快繁技术研究

刘铸德, 罗纪石, 张凤忠, 李秋明

(汉中市农科所, 陕西汉中 723000)

摘要:以树莓的顶芽和茎段为外植体进行了离体培养, 筛选出最佳培养基: (1) 腋芽诱导培养基为MS+6-BA0.5+TDZ0.3+NAA0.1; (2) 试管苗增殖培养基为MS+6-BA0.5+TDZ0.1+NAA0.1; (3) 生根培养基为MS+NAA0.4。

关键词:树莓; 组织培养; 快繁

树莓是蔷薇科(Rosaceae)树莓属(RubusL又名悬钩子属)多年生灌木, 果实芳香、营养丰富, 含有多多种氨基酸、维生素、微量元素和抗癌物质, 是天然的保健果品(1), 除供鲜食外, 还可加工成果酱饮料等。目前世界上有30多个国家栽培树莓, 美国、前南斯拉夫、俄罗斯、波兰、加拿大和德国等国家, 年产量均在万吨以上(2)。我国树莓野生资源丰富, 但栽培品种主要由外国引进。进行树莓组织培养可加快育苗进程。

1、材料方法

1.1 外植体的培养和芽的诱导, 品种为黑树莓, 从旺盛生长的植株上取带有顶芽的幼嫩茎段, 用自来水冲洗5min, 在70%酒精中浸10S, 放入0.1%开汞溶液中消毒8min, 用无菌水冲洗干净, 剥取茎尖, 并切取带有1个腋芽的茎段, 接在培养基上。培养温度为 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 每天光照11h, 光照强度2000LX, 基本培养基MS, 蔗糖用量为3%, 琼脂用量为7g/L, 并添加不同的植物生长调节剂。

1.2 试管苗的移栽

栽培基质为腐叶土、菜园土、珍珠岩、腐熟有机肥=5:2:2:1, 大量移栽时, 每 m^3 基质用1%福尔马林溶液25kg喷洒, 混匀后盖薄膜堆放15天, 然后揭开薄膜使福尔马林挥发, 苗床基质厚度7-8cm。试管苗移栽前打开瓶塞炼苗1-2天, 自来水洗净根部培养基, 栽植密度 $3 \times 5\text{cm}$, 栽后基质浇透水, 搭小拱棚保温保湿, 一星期后, 逐渐揭膜通风, 降低湿度。

2、结果分析

2.1 芽的诱导和增殖: 外植体接在培养基上, 10天开始萌发, 25天左右, 在切口处形成愈伤组织, 40-50天形成丛生芽。表1表明, 培养基(4)的诱导效果最好。

表1 不同培养基对树莓外植体的诱导效果

培养基	外植体数(个)	成芽外植体(个)	成芽率(%)	分化芽数(个)	平均总芽数
(1)MS+6-BA2.0+NAA0.1	26	16	61.5	72	4.5
(2)MS+6-BA1.0+NAA0.1	25	18	72.0	97	5.4
(3)MS+6-BA0.5+NAA0.1	22	14	63.6	55	3.9
(4)MS+6-BA0.5+TDZ0.3+NAA0.1	28	22	78.6	134	6.1

(培养60天后测定)

将丛生芽剪成带有一个节的茎段, 接在增殖培养基上, 培养30天进行统计, 接种在(6)号培养基上的试管苗, 增殖倍数为8.7, 但苗细弱, 不能直接进行生根, 必须与培养基进行轮换培养当试管苗达到正常状态, 再用于生根培养。培养基(8)上的试管苗, 月增殖倍数7.0, 平均苗高3.1cm, 生长正常(见表2)。因此, 树莓试管苗增殖以(8)号培养基最佳, 同时, 在(6)(7)号培养基上轮换培养, 亦可达到较好的效果。

表2 不同培养基对树莓试管苗增殖的影响

培养基	接种芽数	增殖芽数	月增殖倍数	平均苗高(cm)	生长情况
(5)MS+6-BA2.0+NAA0.1	30	193	6.4	2.8	细弱
(6)MS+6-BA1.0+TDZ0.1+NAA0.1	30	251	8.4	2.0	细弱
(7)MS+6-BA0.5+NAA0.1	30	141	4.7	3.7	正常
(8)MS+6-BA0.5+TDZ0.1+NAA0.1	30	212	7.0	3.1	正常

2.2 生根培养, 健壮的丛生芽, (下转33页)

法完全保定猪只,部分是打“飞针”或使用的针头过短,很难保证肌肉注射,使疫苗注于皮下脂肪层,降低了免疫效果。

3.6 按疫苗说明剂量使用效果不佳:按疫苗使用说明,猪瘟免疫剂量均为1头份。我们每年采用正向间接血凝试验对猪瘟免疫抗体进行过血清学监测,统计结果显示,按1头份剂量免疫,抗体合格率远远低于2-4头份剂量免疫。充分说明,1头份剂量免疫效果不佳。

3.7 免疫程序不合理:母猪在配种前已免疫接种过猪瘟疫苗,那么仔猪有母源抗体存在,应在50-65日龄之间进行首次免疫;若母猪未免疫,仔猪则在20日龄进行首免。部分养殖户不善于保存免疫卡(档案),常提供错误信息,造成免疫时间不合理,特别是有母源抗体的仔猪,由于体内抗体的中和吸附作用,不能诱发机体产生免疫应答,导致免疫失败。

3.8 药物引起的免疫抑制:抗病毒类、地塞米松、氯霉素等药物可导致免疫抑制。养殖户为了预防动物疫病,经常在饲料中添加一些药物,从而抑制了猪瘟免疫效果。

3.9 疫苗间相互干扰:有的养殖户为了简化免疫程序,常采用猪瘟、猪丹毒、猪肺疫三联苗进行免疫。我们对同群仔猪分组进行单苗与三联苗免疫,20天后抽血进行抗体监测,结果显示三联苗免疫抗体滴度明显低于单联苗;经调查统计分析,三联苗免疫后猪瘟的发病率也高于单联苗。

(上接29页)

分切成单株,转接到生根培养基上,10天后可长出白色的根,25-35天可进行移栽。不同的培养基生根效果不同,接种在培养基(9) MS+NAA0.4中的无根苗,生根率100%,基部长出4-7条根,并形成发达的根系;接种在培养基(10) MS+IBA0.5上,生根率65%,苗的基部长出1-3条较粗的根。表明(9) MS+NAA0.4,是树莓试管苗最佳生根培养基。

2.3 移栽,当试管生根苗长至4-5cm高时,进行移栽,栽前先炼苗2天。在苗床温度20-25℃的条件下,栽后一周长出新根,两周长出新叶,

3.10 免疫麻痹:近几年来部分杂志报道,采用大剂量猪瘟兔化弱毒疫苗,免疫生猪能起到治疗和强化免疫作用,但也能造成免疫抑制,发生免疫麻痹。实践证明,猪只如果处在免疫麻痹状态,当超大剂量活疫苗强化免疫时,反而会引起发生临床疾病。

4、对策

4.1 各级政府要加大对基层兽医站的投资力度、强化基础设施和冷链建设,使疫苗保存、运输有硬件保障。

4.2 业务部门应加强对兽医防疫员的技术培训和政治思想教育,确保疫苗保存、运输、稀释、注射、消毒等方法正确,严格按照《动物防疫技术操作规程》进行操作,不打“飞针”,不打过期苗、失效苗,确保剂量足、部位准、消毒正确严格。

4.3 加强母源抗体和免疫抗体监测力度,确定最佳免疫时间和免疫剂量,因地制宜的制定免疫程序。

4.4 加强免疫档案管理,让养殖户了解免疫档案在防疫工作中所起的重要作用,是制订动物免疫程序的参考依据、是动物销售前办理产地检疫的凭证。

4.5 加强兽药和防疫知识宣传力度,让养殖户了解药品及防疫的相关知识,不要轻意乱投药,简单的使用多联苗和盲目的扩大免疫剂量,以免造成免疫抑制,影响免疫效果。

50天左右植株达到15cm,成活率可达90%以上。3月上旬移栽的试管苗,5月初定植于大田,到10月份,枝条长达1.5米以上。

参考文献

[1]付术琳、程智慧、徐重益,不同树莓品种生活力与抗病性及繁殖特征研究,西北农林科技大学学报,2005,33(1):87~90。

[2]王小蓉、汤浩茹、邓群仙,中国树莓属植物多样性及品种选育研究进展,园艺学报,2006.33(1):190~196。