

树莓组织培养技术体系研究

任 爱

(山西省杨树丰产林实验局, 山西 大同 037006)

摘 要: 以树莓带芽茎段、茎尖、叶片为外植体, 探索树莓组织培养快速繁殖技术体系, 着重研究各阶段的最佳培养基配方及培养程序。结果认为: 树莓组培外植体最佳取材时间应在4月, 带芽茎段为其理想的外植体材料, 外植体用0.5% NaClO消毒20 min效果最好; 分化增殖最佳培养基为MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+IBA 0.3 mg·L⁻¹+GA₃ 0.3 mg/L; 最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+活性炭0.1%; 苗高4 cm, 有4片以上叶子, 1条~3条以上根系的健壮试管苗, 置于温室进行炼苗移栽, 移栽基质以纯砂: 珍珠岩=1:1时成活率最高可达92.0%。

关键词: 树莓; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S722.3+7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-726X(2008)01-0012-02

Study on the Tissue Culture System of Raspberry

Ren Ai

(Shanxi Poplar High-yield Forest Bureau, 037006 Datong, China)

Abstract: The tissue culture system of raspberry, especially on the optimum formula of culture medium and culture procedure at each phase was researched by using stem segment with buds, shoot tip, leaves as explants. The results showed that, the optional time of cutting explant was in April. Ideal explant should be stem segment with buds, disinfected by 0.5 % NaClO for 20 minutes. The best differentiation and proliferation medium is MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+IBA 0.3 mg·L⁻¹+GA₃ 0.3 mg·L⁻¹. The rooting medium is 1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+activated carbon 0.1 %. The cultured plantlets, with four centimeters in height, four or above leaves, 1-3 or above roots, were transplanted in perlite and sand(1:1) to keep in green house. so the survival rate will reach 92.0 %.

Key words: raspberry; tissue culture; rapid propagation

树莓属蔷薇科悬钩子属多年生灌木, 其果品富含多种维生素、氨基酸、矿物质等营养元素, 是近年来世界上发展迅速的集营养与保健于一身的第3代新兴水果。本实验通过对树莓初代培养、继代培养、生根培养以及炼苗和移栽等一系列的研究, 探讨适合树莓组培的培养基类型、外植体材料、炼苗和移栽方式, 为建立树莓的组织培养体系、加快树莓有效繁殖速度、实现树莓试管苗工厂化生产提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为盆栽树莓(*Rubus idaeus* L.), 采自山西省杨树丰产林实验局林业科技服务中心温室。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体取材

为探索外植体材料及取材季节对培养效果的影响, 我们于2006年2月, 4月, 8月, 10月分别进行取材试验。选生长健壮的无病虫害母株, 剪取生长力较强的茎段、茎尖、叶片, 迅速装入塑料袋带回室内; 清洗、消毒后接种; 30 d后统计存活率、污染率和出芽率。

1.2.2 无菌系的建立

以茎段、茎尖、叶片为外植体, 在自来水下冲洗约1 h后置于超净工作台上, 用75%酒精溶液浸泡30 s, 分别用0.5% NaClO 20 min、0.2% NaClO 15 min和0.2% HgCl₂ 6 min 3种消毒方法处理; 用无菌水漂洗5次, 每次3 min, 置于消毒瓶中备用。接种时将茎尖形态学下部直接接种于培养基上; 茎段切成1 cm~2 cm长, 带腋芽, 基部切口为楔形, 有助

于扩大外植体的吸收面积;将叶片切成0.5 cm×0.5 cm的小块,上表皮向下接种在培养基上。

1.2.3 培养基筛选试验

本试验所用基本培养基为MS、1/2MS,琼脂7.0 g/L~7.5 g/L,pH值5.4~5.6,添加的激素类物质有6-苄基氨基嘌呤(6-BA)、奈乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)。外植体接种30 d后,将成活外植体转入分化培养基;每处理10瓶~20瓶,重复2次~3次,每瓶接种6个~8个材料;培养周期40 d~50 d。生根培养时,一般将较大的苗由基部切割移入生根培养基,其余较小的芽、基部芽团及愈伤组织块仍转入分化培养基中增殖培养。

1.2.4 培养条件

培养室温度(26±2)℃,光照强度1 000 Lx~2 000 Lx,每天光照12 h。

1.2.5 试管苗的移栽

移植棚设在林业科技服务中心温室内,温度20℃~30℃,湿度80%~90%;移栽基质为粗粒状蛭石;移植盘为80 cm×40 cm×12 cm的塑料盘。

2 结果分析

2.1.1 取材季节对培养效果的影响

取材季节对培养效果有显著的影响,4月取材死亡率最低,2月和4月污染率较低,消毒比较容易;2月可供接种的外植体数量不多,而4月取材的外植体诱导快、生长健壮、诱导侧芽较多。因此4月为最佳取材时期。

2.1.2 取材部位对诱导分化的影响

茎段接种20 d后,腋芽开始萌动,切口处膨大长出黄褐色半透明状愈伤组织;茎尖接种25 d后,顶芽开始萌发;叶片接种30 d后,边缘出现黄绿色颗粒状愈伤组织。诱导率由高到低的顺序是:茎段>茎尖>叶片。以茎段为外植体进行初代培养,其诱导率为79.3%,茎尖为45.4%,两者的出芽率分别为50.6%,40.8%,而叶片的诱导率较低,且不易出芽。因此,树莓带芽茎段为其理想的外植体材料。

2.1.3 不同消毒方法对外植体分化的影响

3种消毒方法对外植体的诱导有较大差异,用0.5% NaClO消毒20 min,外植体污染率最低,平均为34.8%;外植体的诱导率最高,平均为58.6%。因此,用0.5% NaClO消毒20 min效果最好。

2.2 分化培养基的筛选

将带节茎段接种于培养基6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L上,经过20 d左右的培养,茎段切口

处开始膨大,长出黄褐色半透明状愈伤组织,有的外植体上同时伴有1个~3个腋芽萌动;到25 d左右,愈伤组织进一步膨大,腋芽的叶片逐渐伸展,叶色鲜绿;经过35 d的初代培养,有些愈伤组织开始萌发出小芽丛。把萌发的愈伤组织转入丛芽诱导培养基MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.3 mg/L上,多数愈伤组织分化出丛苗,45 d后,增殖系数达到最大。

因此,侧芽诱导增殖的最佳培养基为:MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.3 mg/L+GA₃ 0.3 mg/L。

2.3 生根培养

2.3.1 不同培养基对试管苗生根培养的影响

将生长健壮的幼苗转接在生根培养基中,20 d左右其切口周围出现黄白色愈伤组织的根状突起,30 d后不定根陆续出现,40 d时统计根长、根数、生根率。结果认为1/2MS培养基是生根的最佳培养基;NAA为0.5 mg/L时生根率最高,达88.40%,与NAA为1.00 mg/L和NAA为0.05 mg/L的差异都显著。所以,NAA为0.5 mg/L为最佳激素水平。

2.3.2 活性炭对生根的影响

加活性炭于培养基中,主要是利用其吸附能力减少一些有害物质的影响,对某些植物诱导生根有利。但是活性炭对物质的吸附基本无选择性,即对有害物质吸附,对有利物质也吸附。适于树莓生根的最佳培养基为:1/2MS+NAA 0.5 mg/L+0.1%活性炭。

3 炼苗及移栽

生根试管苗的移栽是组织培养育苗的重要环节。移栽前要进行通风炼苗,先将生根试管苗的瓶口打开,使嫩苗逐渐与外界接触,提高适应能力,但要保持较高的空气湿度。移栽时用镊子轻轻取出试管苗,用流水将根部培养基冲洗干净,然后栽入蛭石中,待长出新的根尖后,移栽到已消毒的基质中。因试管苗根系吸收营养能力差,移栽后3 d内要经常给幼苗叶片喷施营养液;10 d内要注意适当遮荫,并及时喷水;1个月后记录其成活率。在试验的几种基质中,纯砂:珍珠岩=1:1的混合基质移栽成活率最高,可达92.0%;纯砂次之;珍珠岩:蛭石=1:1时混合的效果最差。

组织培养获得的试管苗能否大量应用于生产,取决于试管苗的移栽。为了提高移栽成活率,移栽小苗高度最好在5 cm以上,高度过低,一旦栽入土中

(下转第32页)

- [32] 李冰,刘宏涛,孙大业.植物热激反应的信号传导机理[J].植物生理与分子生物学学报,2002,28(1):1-20.
- [33] 陈忠,苏维埃.植物热激蛋白[J].植物学报,1999,41(10):1 090-1 093.

(上接第13页)

再浇水,会使部分叶片乃至整个植株贴于地面,影响其生长。幼苗生长2周后,其根系吸收能力和叶片同化作用能力已有了提高,而且已能适应外界环境,此时就可移栽到大田中去。

参考文献:

- [1] 曹翠兰,崔宏安,刘莉丽,等.树莓和黑莓的生物学与生

态学特性[J].陕西林业科技,2001(4):39-41.

- [2] 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.
- [3] 饶卫华.树莓及其繁殖方法[J].江西农业科技,1995(2):28.
- [4] 朱建华,彭士勇.植物组织培养实用技术[M].北京:高等教育出版社,1994.

(上接第26页)

91.9 mm少44.7 mm。降雨量多的年份,水平沟土壤储水量增加幅度相对更大,比雨季降雨量较少的2003年和2004年2a的平均值高出42.2 mm。

2) 落叶后水平沟比坡地0 cm~200 cm土层土壤储水量3a的平均值高出50.6 mm。

3) 相对的讲,隔坡水平沟核桃高生长量的高低,取决于年份降水量,尤其是6月至9月的降水量。欠水年雨季降雨相对较大,隔坡水平沟核桃高生长量在3a试验中也相对较大;而平水年雨季降雨较

少,有较严重的伏旱,核桃高生长量最小;丰水年全年降雨多,雨季降雨量大,高生长量最大。

4) 在同一年份中,隔坡水平沟核桃的高生长量均高于坡地核桃,3a平均高生长量比坡地核桃高23.3 cm。

参考文献:

- [1] 彭珂珊.黄土高原水土流失与山地水平沟的研究分析[J].山西水土保持科技,1992(3):13-15.

《山西林业科技》征订启事

《山西林业科技》是由山西省林业科学研究院与山西省林学会主办的综合性林业科技刊物。

季刊,A4开本,公开发行,国内统一刊号:CN14-1098/S,国际标准刊号:ISSN1007-726X。定价:每期6.00元,全年24.00元。欲订者请由银行或邮局汇款。

邮局汇款:地址:太原市新建南路105号省林科院,《山西林业科技》编辑部收;邮政编码:030012

银行汇款:开户银行:太原市农行新建南路支行;账号:0324-107001040008807;收款单位:山西省林学会

《山西林业科技》编辑部