

文章编号:1001-4829(2006)04-0754-03

树莓组织培养与快速繁殖技术研究

和加卫¹,徐中志¹,唐开学^{2*},毕海林¹,和秀云¹,杨正松¹,朱映安¹

(1.云南省农业科学院高山经济植物研究所,云南 丽江 674100;2.云南省农业科学院,云南 昆明 650231)

摘要:以未萌发的腋芽和带芽茎段为外植体,对黑莓进行了组织培养和快速繁殖研究。结果表明,未萌发的腋芽是最佳的外植体,MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为最适的增殖培养基;随后将产生的不定芽转到1/2MS附加6-BA 1.0 mg/L的生根培养基中生根良好,移栽存活率达90%以上。

关键词:黑莓;组织培养;腋芽;茎段

中图分类号:S685.12 **文献标识码:**A

Tissue culture and rapid propagation of black raspberry

HE Jia-wei¹, XU Zhong-zhi¹, TANG Kai-xue^{2*}, BI Hai-lin¹, HE Xiu-yun¹, YANG Zheng-song¹, ZHU Ying-an¹

(1. Institute of Alpine Economic Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Lijiang 674100, China; 2. Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650231, China)

Abstract: The techniques of tissue culture and rapid propagation on black raspberry were studied by using axillary bud and stem with bud as explants. The results showed that the best explant was axillary bud, the optimal subculture medium was MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, and the rootage medium was 1/2 MS + 6-BA 1.0 mg/L.

Key words: black raspberry; tissue culture; axillary bud; stem

树莓为蔷薇科(Rosaceae)悬钩子属(*Rubus* L.)植物,灌木型果树,根、茎、叶皆有药用功效^[1],果实为聚合浆果,色泽宜人,风味独特,既可鲜食,也可加工成果酱、果汁、果冻及多种食品添加剂,其营养价值和营养价值远远高于苹果、橘子、葡萄等水果,在食品加工、医药、化妆、天然香料、食用色素等方面有着广泛用途,是近年来世界发展最为迅速的、集营养与保健于一身的第三代新兴水果^[2]。树莓栽培品种无刺黑莓具有植株无刺、大果、丰产、抗虫等优良性状,因此,对无刺黑莓品种进行组织培养研究,在短期内获得大量的优质种苗,满足树莓规模化生产的需要。

1 材料与方法

1.1 外植体的建立

选择生长健壮且无病虫害的无刺黑莓植株,取

腋芽和带芽茎段为外植体;先用洗衣粉液浸泡 10 min,流水冲洗 1 h,然后置于超净台,70%酒精消毒 30 s,再以 0.1% HgCl₂溶液处理 15 min,无菌水浸洗 5 次,滤纸吸干后接种于诱导基上。

1.2 起始培养

取消毒过的外植体腋芽和带芽茎段,分别接到起始培养基上:MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

1.3 增殖培养

将诱导形成的芽转接于下列增殖培养基上:①MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L,②MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,③MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,④MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L,⑤MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,⑥MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L,⑦MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L,⑧MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,⑨MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

1.4 生根培养及炼苗

选取生长健壮的单个丛生芽接种于培养基 1/2

收稿日期:2006-01-11

基金项目:云南省自然科学基金(2003C0015Z);国际合作(2001GH11)资助项目

作者简介:和加卫(1973-),助理研究员,主要从事高山经济植物的开发利用研究,*为通讯作者。

表 1 外植体萌发情况

Table 1 Germination of explants

外植体 Explant	接种数 Inoculated number	萌发数 Germination number	萌发率(%) Germination rate	污染数 Polluted number	污染率(%) Pollution rate
腋芽 Axillary bud	40	37	92.5	11	27.5
带芽茎段 Stem with bud	40	13	32.5	30	77.5

MS + 6-BA 1.0 mg/L (2 %蔗糖)上。根长至 1~2 cm 时,把试管瓶移到室温条件下进行炼苗,一段时间后,进行移栽。上述培养均为固体培养基,琼脂浓度为 0.65 %,蔗糖浓度为 3 %,培养温度为 $(23 \pm 2) ^\circ\text{C}$,光照强度为 1500 lx,光照时间为 12 h/d,培养基 pH 为 5.8~6.0。

2 结果与分析

2.1 起始培养

将消毒过的腋芽剥去鳞片,露出幼嫩芽体,接种于起始培养基中,10 d 后,腋芽基部开始有膨大,腋芽开始萌发;将消毒过的茎段切成 1 cm 左右,接种于起始培养基中,茎段茎基部有一定程度的膨大,20 d 后,带芽茎段基部形成愈伤组织,芽开始萌发。观察腋芽和带芽茎段萌发情况(表 1),发现腋芽萌发情况较好,污染少,带芽茎段绝大多数被污染,腋芽和带芽茎段少数变褐坏死。

2.2 芽诱导分化及丛芽的增殖

将起始培养中未污染的芽长至 2~3 cm 时转接于增殖培养基上。20 d 后,每个芽体可分化出 1~11 个新芽(表 2,图 1)。外源激素是诱导芽增殖的关键物质,适宜的激素组合可以使芽的增殖系数达到最高^[3]。从增殖系数来看,培养基⑦、⑧、⑨依次最高,培养基⑦长出的芽较矮小细缩,培养基⑧、⑨丛生芽生长畸形;从生长情况来看,培养基①生长最缓慢,且增殖系数最低,培养基⑤和⑥中芽长势好,且健壮,其中培养基⑥的增殖系数比培养基⑤的高,因

表 2 丛生芽的增殖情况

Table 2 Multiplication of buds

基本培养基	接种数 Inoculated number	分化数 Differentiated number	增殖系数 Proliferated times
①	20	20	1.0
②	20	26	1.3
③	20	42	2.1
④	20	76	3.8
⑤	20	98	4.9
⑥	20	120	6.0
⑦	20	176	8.8
⑧	20	184	9.2
⑨	20	198	9.9

此,培养基 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 是无刺黑莓品种工厂化育苗较适宜的增殖培养基。

2.3 根的诱导和试管苗炼苗移栽

单个丛生芽接种于生根培养基 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L (2 %蔗糖)上,10 d 后切口基部出现白色的根状突起,25 d 后,形成较多的根,每株生根 8 条以上,生根率为 95 % 以上(图 2)。因此,适宜黑莓生根的培养基为 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L。

当根长至 1~2 cm 时,把培养瓶移到室温条件下,2 d 后微开瓶,再过 2 d 后全开瓶,全开瓶 2 d 后可以进行炼苗移栽。以河砂与木屑混合作为苗床基质,用消毒剂消毒苗床。保持空气湿度和温度,遮荫养护,成活率可达 90 % 以上。



图 1 黑莓丛生芽增殖

Fig.1 The multiplication of buds



图 2 黑莓生根情况

Fig.2 The rooting seedlings

3 讨 论

黑莓腋芽表面被鳞片,在较长时间消毒后,内部芽体损伤较小,又保证了消毒效果,在适当的诱导培养基上,能很好地萌发并在基部形成愈伤组织。带芽茎段,外植体较大,消毒不彻底,容易污染。另外,取外植体选在初春,腋芽经过自然状态下的低温休眠,萌发率会得到一定程度的提高。所以,在黑莓的组织培养过程中,以腋芽作为外植体效果较好。在增殖过程中,随着继代次数的增加,激素的需要量会逐步下降,因此要根据黑莓的生长情况及时调整激素浓度,不断获得健壮的继代苗。

生根阶段,为节约成本,倒瓶时培养基稍微倒薄,接种密度可以稍大。出瓶洗苗时根不易与琼脂分离,易损伤根,影响炼苗成活率。为了减少根系的损伤,提高炼苗成活率,可以在培养基上放少量活性炭,或者在生根诱导 10 d 后开始瓶炼,4 d 后移栽。

参考文献:

- [1]和加卫,唐开学,杨静全,等. 云南省悬钩子属药用植物资源研究[J]. 中草药,2005,36(7):1078-1081.
- [2]和加卫,杨正松,唐开学,等. 树莓果实贮藏与加工性状研究[J]. 西南农业学报,2005,18(2):186-189.
- [3]黄苏珍. 地被悬钩子的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2004,40(1):60.

(责任编辑 王家银)

欢迎订阅 2007 年《中国果业信息》(月刊)

中国第一本全方位专注中国果业产前、产中、产后的综合指导类期刊

沟通果业信息,聚焦产业发展,立足市场分析,预测市场动向,探讨业界重点、热点、难点问题,展示最新科技成果。融新闻性、实用性、指导性、可读性为一体,为我国水果生产、科技、经贸活动以及各级政府业务主管部门、大型果场、龙头企业、产业协会规划决策提供参考。是果树行业各级管理人员,科研及技术推广人员,专业户,企业、协会工作人员,水果生产者与经营者等业界人士的必备刊物;是涉农企业展示形象、推销产品的理想平台。

主要栏目:产业论坛板块,包括政策法规、地方果业、实话实说、热点关注、果品经营、产销分析以及国外果业等。果业快讯板块,包括国内动态、产销行情和国际短波等。技术成果板块,包括各类果树的最新技术成果、专利及实用技术信息。

全国各地邮局(所)均可订阅,邮发代号 78-10。定价 4 元,全年价 48 元。

欢迎到本中心邮购,平寄免收邮寄费,挂号每期加收 3 元。欢迎代办发行,折扣从优。

编辑出版:中国南方果树信息中心 联系电话:(023)68349197,68349198(兼传真)

通讯地址:重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所,邮政编码:400712

电子邮件:gyxx@southfruit.com.cn citrusin@cta.cq.cn