

两个红树莓品种的组培快繁技术研究

夏瑞英¹, 岳雷¹, 陆璐^{2,3}, 柳永霞¹, 王贊¹, 成艳玲¹, 余倩倩⁴, 杨伟¹

(1. 酒泉金硕元现代农业发展股份有限公司, 甘肃 酒泉 735000; 2. 西北师范大学新农村发展研究院, 甘肃 兰州 730070; 3. 甘肃特色植物有效成分制品工程技术研究中心, 甘肃 兰州 730070; 4. 华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要: 以红树莓品种海尔特兹和秋福的单芽茎段外植体为试验材料, 研究了树莓组培快繁各阶段的最佳培养基及出瓶移栽基质。结果表明, 初代培养基为 MS+6-BA 0.1 mg/L 时两个红树莓品种的诱导腋芽萌发效果最好, MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为最佳继代增殖培养基。海尔特兹的最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 秋福的最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L。最佳出瓶移栽基质为蛭石、河沙、育苗基质、园土按体积比 0.15:0.15:0.2:0.5 配制。

关键词: 红树莓; 海尔特兹; 秋福; 组培快繁

中图分类号: S723.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2017)04-0016-04

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2017.04.006]

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of 2 Red Raspberry Cultivars

XIA Ruiying¹, YUE Lei¹, LU Lu^{2,3}, LIU Yongxia¹, WANG yun¹, CHENG Yanling¹, YU Qianqian⁴, YANG Wei¹
(1. Jiuquan Jinshuoyuan Modern Agricultural Development Limited by Share Ltd., Gansu Jiuquan 735000, China; 2. Institute of New Rural Development Research, Northwest Normal University, Lanzhou Gansu 730070, China; 3. Characteristics of Plant Effective Components of Product Engineering Technology Research Center, Lanzhou Gansu Lanzhou 730070, China; 4. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou Guangdong 510642, China)

Abstract: For the purpose of rapid propagation of 2 cultivars of red raspberry Heritage and Autumn Bliss, media of each propagating stage in vitro and transplanting in soil are optimized and compared. Single~bud~stem cuttings of the two cultivars are used as initial explants in this research. The result shows that the highest initial sprouting rates are achieved with the both varieties on a MS medium supplemented with 6-BA at 0.1 mg/L; for shoot multiplication, a medium composition as MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L is the optimal. The best rooting medium for Heritage is 1/2MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L, while the highest rooting ratio for Autumn Bliss was observed on a medium 1/2MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L. Shoots developed good roots invitro are then transplanted into soil and a mixture of 15% vermiculite+15% sand+20% nursery matrix+50% garden soil is the best transplanting matrix.

Key words: Red raspberry; Heritage; Autumn Bliss; Tissue culture and rapid propagation

树莓(*Rubus spp.* L.)又名覆盆子, 属于蔷薇科悬钩子属植物, 多年生小灌木^[1]。树莓果实为聚合小浆果, 口味酸甜, 富含多种氨基酸、维生素、SOD(超氧化物歧化酶)、花青素、鞣花酸和树莓酮, 营养价值很高, 在国际市场上被誉为“黄金水果”。树莓的果实、根、茎、叶和种子还在食品加工、医药、化妆工业等方面被广泛应用^[2-3]。近年来国内外市场对树莓的需求量日益增加, 加

快了树莓产业的发展, 然而常规的繁殖方式难以满足市场对苗木的需求^[4-5]。2014 年, 我们将欧洲红树莓(*R. idaeus* L.)类型中的 5 个优良品种(系)引入河西走廊干旱沙漠化地区, 经过 3 a 的引种比较试验, 确定在当地推广海尔特兹、秋福和秋红 3 个秋果型红树莓品种^[6]。为了加速引入该地区树莓品种的推广种植, 我们对其中的两个品种海尔特兹和秋福进行了组培快繁技术研究。

收稿日期: 2016-12-26

作者简介: 夏瑞英(1991—), 女, 甘肃酒泉人, 助理农艺师, 主要从事树莓种苗试管快繁研究工作。联系电话:(0937)2682100。E-mail: abc850102as@126.com。

通信作者: 杨伟(1971—), 女, 甘肃酒泉人, 工程师, 主要从事树莓栽培与管理工作。联系电话:(0937)2682100。E-mail: abc850102as@126.com。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试红树莓品种为海尔特兹和秋福,由酒泉金硕元现代农业发展股份有限公司树莓示范园提供。于5—6月剪取2a生植株上生长健壮、无病虫害的半木质化枝条作为外植体,带回实验室进行消毒灭菌处理。

制备MS培养基母液的化学试剂(分析纯)由西陇化工股份有限公司提供,琼脂和抑菌剂清菌易由北京康贝斯生物试剂有限公司提供,蔗糖(分析纯)由天津大茂化学试剂厂提供,育苗基质由河南育美丰育苗基质有限公司提供。园土取自酒泉金硕元树莓示范园。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌外植体的获得 将采集的枝条从叶柄处剪去叶片,再剪成1cm左右带1个腋芽的茎段。于超净工作台上先用75%乙醇溶液浸泡30s,再用1g/kg的氯化汞溶液加2滴吐温80浸泡4min,无菌水冲洗4~5次后,用无菌滤纸吸干茎段表面水分后接种。

1.2.2 初代培养 将经灭菌处理的带芽茎段分别接种在各初代培养基上。以MS为基本培养基,培养基中加入琼脂6.5g/L、蔗糖30g/L,调节pH至5.8。培养基编号及添加的活性炭和植物生长调节剂见表1。每个处理20瓶,每瓶接3个外植体。于光照强度2800~3800Lx、温度24~28℃、湿度45%~65%、光照周期14h/d条件下进行培养观察。

表1 初代培养基中活性炭和植物生长调节剂处理配方

培养基编号	活性炭/(g/L)	6-BA/(mg/L)
A1	0	0
A2	2.0	0
A3	3.5	0
A4	5.0	0
A5	0	0.1
A6	0	0.2

1.2.3 继代培养 待初代培养中的腋芽萌发长至4~5cm长度时,将其切下,剪成带1~2个腋芽的幼嫩茎段,接种在各继代培养基上。继代培养基以MS为基本培养基,培养基中加入琼脂6.5

g/L、蔗糖30g/L。添加的植物生长调节剂共设置了6个处理(B1~B6,见表2)。每个处理20瓶,每瓶3个幼嫩茎段。于2800~3800Lx的光照强度、24~28℃的温度、45%~65%的湿度、14h/d的光照周期条件下进行培养观察。待新的侧枝长至4~5cm高时进行下一轮继代,如此反复进行培养。获得所需数量的芽苗后转到生根培养基上进行生根培养。

表2 继代培养基激素配方 mg/L

培养基编号	6-BA	NAA	GA3
B1	0.5	0.05	0
B2	0.5	0.10	0
B3	0.5	0.10	1.0
B4	1.0	0.05	0
B5	1.0	0.10	0
B6	1.0	0.10	1.0

1.2.4 生根培养 生根培养的基础培养基为1/2MS。培养基中加入琼脂6.5g/L、蔗糖20g/L。添加的植物生长调节剂设置了6个处理(C1~C6,见表3)。于2800~3800Lx的光照强度、24~28℃的温度、45%~65%的相对湿度、14h/d的光照周期的条件下进行培养观察。

表3 生根培养基植物激素配方 mg/L

培养基编号	IBA	NAA
C1	0.10	0
C2	0	0.10
C3	0.05	0.10
C4	0.10	0.20
C5	0.10	0.05
C6	0.20	0.10

1.2.5 炼苗与移栽 当试管苗生有3~7条2cm左右的新根时,将瓶苗转移到接近移栽环境的温室内,经过7~10d逐渐打开瓶盖,之后从瓶中取出小苗,洗净根部培养基,移栽至沙床上。沙床上的苗木经21~28d后移栽至装有不同配比基质的营养钵中(表4)。28~35d后记录苗木成活率。

表 4 移栽基质配方 %

移植基质 编号	蛭石	河沙	育苗基质	草炭	园土
D1	30	30	10	0	30
D2	10	10	40	0	40
D3	15	15	0	20	50
D4	10	10	0	30	50
D5	10	10	20	0	60

2 结果与分析

2.1 初代培养

由表 5 可见, 不同品种的外植体在相同培养基上的诱导结果不同。在相同的培养基上, 秋福的诱导结果普遍优于海尔特兹。同一品种在不同培养基上的表现也不同。海尔特兹的腋芽萌发率在培养基 A1、A5、A6 上较高, 分别为 68.33%、65.83% 和 57.50%; 这 3 个处理的污染率也较低, 分别为 23.75%、12.50% 和 15.00%; A4 培养基上的芽苗伸长较快, 平均株高达 4.5 cm。秋福的腋芽萌发率在培养基 A1、A5 上较高, 分别为 91.67% 和 82.50%; A4、A5 培养基上的芽苗伸长较快, 平均芽苗株高达 5.0 cm, 然而 A4 培养基上的污染率(24.20%)要高于 A5(15.00%)。综合分析结果认为, A5 培养基为初代培养的最佳培养基。

2.2 继代培养

由表 6 可见, 在相同的培养基上, 海尔特兹的增殖系数明显高于秋福的增殖系数, 但苗木伸长较慢。在 B4 培养基上 2 个品种的芽增殖倍数均为最高(海尔特兹 3.83, 秋福 3.08)。B4 芽增殖倍数高于 B1 芽增殖倍数(海尔特兹 3.00, 秋福

2.58), B5 芽增殖倍数(海尔特兹 3.44, 秋福 2.77)高于 B2(海尔特兹 2.94, 秋福 2.37), B6 芽增殖倍数(海尔特兹 2.58, 秋福 2.06)高于 B3(海尔特兹 1.67, 秋福 1.59), 说明随着 6-BA 浓度的增加, 树莓品种芽增殖倍数明显提高。B3 芽苗株高(海尔特兹 2.5 cm, 秋福 3.0 cm)高于 B2 芽苗株高(海尔特兹 2.0 cm, 秋福 2.5 cm), B6 芽苗株高(海尔特兹 1.5 cm, 秋福 2.5 cm)高于 B5 芽苗株高(海尔特兹 1.0 cm, 秋福 2.0 cm), 说明 GA3 对树莓芽苗有一定的伸长作用。综合芽增殖系数和芽苗株高评价, 继代增殖 B2 为最佳培养基。

表 6 两个红树莓品种继代培养芽增殖结果^①

培养基 编号	海尔特兹		秋福	
	芽增殖 倍数	株高 /cm	芽增殖 倍数	株高 /cm
B1	3.00	1.5	2.58	2.5
B2	2.94	2.0	2.37	2.5
B3	1.67	2.5	1.59	3.0
B4	3.83	1.0	3.08	1.5
B5	3.44	1.0	2.77	2.0
B6	2.58	1.5	2.06	2.5

①芽增殖倍数: 每继代扩繁一次的芽苗增殖倍数, 平均 45 d 为一个扩繁周期。

2.3 不同培养基对生根的影响

由表 7 可见, 不同品种在相同培养基上的生根结果存在较大差异。同一品种在不同培养基上的生根结果也存在较大差异。海尔特兹的生根率以 C5 培养基最高, 达 87.5%; 每株根数较多, 为 2~9 条。秋福的生根率以 C6 培养基最高, 为 83.33%, 说明 C6 培养基最适合其生根, 根长达

表 5 两个红树莓品种初代培养诱导结果

培养基编号	海尔特兹			秋福		
	污染率 /%	腋芽萌发率 /%	苗高 /cm	污染率 /%	腋芽萌发率 /%	苗高 /cm
A1	23.75	68.33	4.0	17.50	91.67	4.5
A2	23.75	21.67	3.5	13.75	44.79	4.0
A3	35.42	46.15	3.5	20.00	46.67	4.5
A4	28.00	19.83	4.5	24.20	39.49	5.0
A5	12.50	65.83	4.0	15.00	82.50	5.0
A6	15.00	57.50	3.0	10.00	52.50	4.0

表 7 两个红树莓品种生根培养生根结果

培养基 编号	海尔特兹			秋福		
	生根率 /%	每株根数 /根	根长 /cm	生根率 /%	每株根数 /根	根长 /cm
C1	14.29	1~3	0.5~1.5	33.33	1~4	0.5~2.0
C2	41.67	1~3	0.3~2.0	15.79	1~4	0.5~3.0
C3	16.67	1~7	0.3~2.0	66.67	1~7	0.5~2.0
C4	16.67	1~11	0.2~1.5	66.67	1~15	0.3~1.5
C5	87.50	2~9	0.5~1.5	16.67	1~11	0.5~2.0
C6	33.33	2~13	0.5~1.5	83.33	2~9	0.5~2.0

0.5~2.0 cm; 每株根数较多, 为 2~9 条。

2.4 移栽

由表 8 可见, 在不同配方的移栽基质中, 组培苗成活率不同。两个品种的组培苗在 D3 中成活率最高, 达 96%。

表 8 两个红树莓品种驯化苗移栽成活率

移栽基质 编号	移栽数 /株	成活数 /株	成活率 /%
D1	100	81	81
D2	100	60	60
D3	100	96	96
D4	100	90	90
D5	100	75	75

3 结论与讨论

任爱^[7]、李岩等^[8]认为带腋芽的嫩枝茎段是树莓组织培养快速繁殖的最佳外植体; 唐中彦等^[9]认为树莓的茎尖、茎段是诱导芽丛的良好材料。试验结果表明, 半木质化的带芽茎段是海尔特兹和秋福组培快繁的最佳外植体。两个红树莓品种的初代培养基均以 MS+6-BA 0.1 mg/L 的诱导结果最好; 最佳继代增殖培养基均为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 海尔特兹的最佳生根培养基为 MS+IBA 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 而秋福的最佳生根培养基为 MS+IBA 0.2 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 最佳移栽基质为蛭石 15%+ 河沙 15%+ 草炭 20%+ 园土 50%。

菌类污染、褐化和玻璃化是对这两个树莓品种进行组培快繁时遇到的三个主要障碍。有研究表明, 培养基中加入抗生素能有效控制内生菌污

染^[3]。本试验在继代培养基中加入抗生素氨苄青霉素, 污染率得到明显降低, 但对继代增殖产生不良影响, 芽苗生长较慢和轻微发黄。我们在初代培养基中加入 0.15 g/L 的‘清菌易’后, 细菌污染得到明显控制, 但仍有霉菌污染。创伤是引起树莓组培苗褐化的主要原因, 在继代时应尽量轻巧快速操作, 防止转接材料失水。生长缓慢的试管苗, 玻璃化也较重, 用玉米素核苷 (Zeatin ~ riboside, ZR) 替代 6-BA 有减轻玻璃化的效果, 此试验仍在进行中。

参考文献:

- [1] 杨帆, 张万博, 朗贤波, 等. 植物生长调节剂对树莓组培苗增殖生长的影响[J]. 延边大学农学学报, 2014, 36(1): 12~15.
- [2] 张林水, 李志民, 李波, 等. 树莓组培快繁技术体系研究[J]. 山西农业科学, 2006, 34(1): 32~34.
- [3] 王禹, 高庆玉, 张丙秀. 树莓组培苗快繁体系的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(5): 0546~0548.
- [4] 杨艳敏, 袁兴福, 魏永祥, 等. 树莓组培快繁及工厂化育苗技术研究[J]. 园艺与种苗, 2012(1): 32~35.
- [5] 李钱, 田明芳. 树莓组培快繁技术研究[J]. 北方果树, 2013(5): 11~12.
- [6] 岳雷, 陆璐, 杨伟, 等. 红树莓在河西走廊的引种观察[J]. 甘肃农业科技, 2016(12): 37~39.
- [7] 任爱. 树莓组织培养技术体系研究[J]. 山西林业科技, 2008(1): 12~13.
- [8] 李岩, 徐娥. 树莓组培快繁生产技术[J]. 农业科技通讯, 2004(9): 18.
- [9] 唐中彦. 树莓组培及快速繁殖的研究[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(15): 4451.