



徐亚英,黄晓梅,罗育,等. 树莓组培快繁技术研究[J]. 黑龙江农业科学,2020(9):70-73,74.

树莓组培快繁技术研究

徐亚英,黄晓梅,罗育,谢丽

(黑龙江农业职业技术学院,黑龙江佳木斯 154007)

摘要:为探索树莓最佳的组织培养快速繁殖技术,以新生的腋芽为外植体,以 MS 为基础培养基,加入不同浓度的细胞分裂素 6-BA、生长素 NAA 及 IBA,研究树莓的离体快繁技术。结果表明:最佳的初代培养基是 1/2 MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹+NAA 0.15 mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹ 活性炭;增殖最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.01 mg·L⁻¹,增殖系数为 4.7。最佳的生根培养基为 1/2 MS+IBA 0.8 mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹ 活性炭,生根率达到 100%,平均的根条数是 9 条,平均的根长是 7.6 cm。

关键词:树莓;初代培养;增殖培养;生根培养

树莓(*Rubus idaeus* L.)是蔷薇科(Rosaceae)、悬钩子属(*Rubus*)的多年生小型灌木,又叫马林、覆盆子、木莓等。它的果实为聚合果,含有人体必需的多种维生素、氨基酸与矿物质,尤其是富含人体能够吸收的天然抗癌物质、SOD 及水杨酸等,具有较高的营养价值与药用价值。树莓果实除了鲜食,还能制成速冻的果实、果酒、蜜饯、果冻、果汁等系列食品,是目前风靡国内外的第三代水果之一^[1-5]。

我国引入树莓的优良品种已有 30 多年的历史,栽培面积不断扩大,但目前仍然以根蘖、扦插等传统繁殖方式为主,不仅繁殖效率低,速度慢,且较易受季节的影响。而采用组织培养快繁技术可以避免上述不足。另外,树莓组织培养技术国内已有一些相关报道,但繁殖系数较低仍然是其技术瓶颈之一,很大程度上不能满足生产的需求^[6-8]。为提高树莓的繁殖系数,本研究采用组织培养技术对树莓进行快繁技术的研究,为今后的工厂化育苗提供一定的技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 树莓品种为费尔杜德,于 2019 年 5 月末从黑龙江省佳木斯市莲江口树莓生产基地选取健壮无病虫害带腋芽的半木质化枝

条水培。

1.1.2 试验药品及规格 硝酸铵、硝酸钾、七水硫酸镁、无水氯化钙、磷酸二氢钾、碘化钾、硼酸、硫酸铜、NAA、6-BA、维生素 B₁、维生素 B₆、烟酸、蔗糖等,所有药品均为分析纯试剂。

1.1.3 培养基的制备 配制 MS 基本培养基,并根据需要添加不同浓度的 6-BA、NAA、IBA 植物生长调节剂。

初代培养基:1/2 MS+6-BA 0.1(0.2,0.3) mg·L⁻¹+NAA 0.01(0.05,0.10,0.15) mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹ 活性炭;

继代增殖培养基:MS+6-BA 0.5(1.0,1.5,2.0) mg·L⁻¹+NAA 0(0.01,0.03) mg·L⁻¹;

生根培养基:1/2 MS+IBA 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0,1.2 mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹ 活性炭;

以上培养基均加入 8.0 g·L⁻¹ 琼脂粉,30 g·L⁻¹ 蔗糖。用 1 mol·L⁻¹ 的 HCl 将培养基 pH 调到 5.5,搅拌均匀,煮沸,待琼脂融化后,分装到培养瓶中。在 121 ℃下,高压灭菌 20 min 后取出放于培养室内冷却凝固后待用。

1.2 方法

1.2.1 诱导培养 接种材料处理:将水培的枝条剪切成含有一个腋芽的茎段,放在烧杯中流水冲洗 30 min,在无菌超净操作台上用 75% 酒精消毒 30 s,无菌水冲洗 3 次,用 0.1% 升汞灭菌 8 min,用无菌水冲洗 5 次,然后用无菌滤纸吸干茎段上的水分,剪切掉茎段两端伤口。

接种及培养:在超净台上把切好的茎段接入初代培养基中,每个处理 5 瓶,重复 3 次,每瓶接种 3 个茎段。放入培养室的培养架上培养。25 d

收稿日期:2020-06-04

基金项目:黑龙江农业职业技术学院校级大学生创新创业项目。

第一作者:徐亚英(1980-),女,硕士,讲师,从事植物组织培养研究。E-mail:xuyaying2010@163.com。

通信作者:黄晓梅(1966-),女,博士,教授,从事植物组织培养研究。E-mail:hxm2004@126.com。

后观察茎段腋芽的萌发情况和新芽的生长状态,统计腋芽萌发率。

1.2.2 增殖培养 待茎段腋芽长至 4 cm 左右,将其从基部剪下,将诱导成的健壮单芽,分别转接到增殖培养基中培养。每个处理重复 3 次,每个重复为 5 瓶,每瓶接种 3 个单芽。25 d 后观察并统计芽苗的增殖情况^[5,9]。

1.2.3 生根培养 将 5 cm 以上的健壮组培苗木接种至 6 种生根培养基中。每个处理重复 3 次,每个重复为 5 瓶,每瓶 3 个苗木。20 d 后计算生根率、每株苗生根数、根长等指标^[10]。

1.2.4 驯化移栽及移栽基质的筛选 移栽前,将含有生根瓶苗的培养瓶移至温室内,增加光照,逐渐打开培养瓶的瓶盖,并在其瓶内加入刚没过培养基的蒸馏水,以防培养基暴露在空气中长菌。5 d 左右取出瓶苗,用清水洗净根系上的培养基,并将组培苗用 500~800 倍液的多菌灵浸根后分别栽植于不同配比的基质中(表 1),浇透水,盖上塑料薄膜保湿,每天中午通风,每个处理 50 株,30 d 后观察植株的生长状态,统计成活率^[2,10-11]。

表 1 移栽基质配比

Table 1 Transplanting matrix ratio

处理 Treatments	基质 Base material
1	河沙
2	河沙:珍珠岩=2:1
3	河沙:草炭土=1:1
4	草炭土:河沙:珍珠岩=1:1:1
5	营养土:蛭石:珍珠岩=1:1:1

1.2.5 培养条件 日光灯照明,培养温度为 25±2 ℃,空气相对湿度 80%左右,光照 14~16 h·d⁻¹,光强为 1 800~2 000 lx^[12]。

1.2.6 测定项目及方法 成活率(%)=(成活外植体数/接种无污染的外植体数)×100;

萌芽率(%)=(直接诱导出芽的外植体数/接种的无污染外植体数)×100;

萌芽数量=萌发的腋芽总数/接种茎段总数;

增殖系数=增殖的芽总数量/接种的芽总数量;

平均根数=生根苗总根数/生根苗数;

平均根长=生根苗根的总长度/根的总条数;

生根率(%)=(生根的组培苗数/接种的组培苗数)×100;

移栽成活率(%)=(成活的植株数量/移栽的植株数量)×100^[13]。

1.2.7 数据分析 试验数据均采用 Excel 2010 和 SAS 统计软件进行处理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 初代培养基的筛选

外植体在初代筛选培养基上培养 5 d 后,每个处理的腋芽均有萌发。25 d 后调查统计发现,各处理间瓶苗的生长状态有明显差异,4 号和 8 号培养基上诱导出的腋芽生长较快,株高达到 2 cm 左右,但 8 号腋芽的茎粗细不均,而 4 号腋芽生长较健壮,各项指标均达到最佳。其余筛选培养基上的腋芽叶色有的黄绿、有的原叶叶片枯黄;有的培养基上分化出的芽较瘦弱,腋芽生长缓慢,均 1 cm 左右,长势一般。因此,树莓初代培养的最佳培养基确定为 4 号,即 1/2 MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹+NAA 0.15 mg·L⁻¹(表 2)。

2.2 树莓最佳增殖培养基配方的筛选

外植体在增殖筛选培养基上培养 7 d 左右腋芽萌发,25 d 时观察记录腋芽的增殖生长情况,计算其增殖系数。由表 3 可知,12 种培养基配方均能诱导出芽,但芽的增殖系数及生长状态存在显著或极显著差异,即当 6-BA 浓度不变时,随着 NAA 浓度的增大,增殖系数有变小的趋势,其中 2 号的增殖系数最高,为 4.7 左右。故确定树莓继代增殖的最佳培养基配方是 2 号,即 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.01 mg·L⁻¹。

2.3 树莓最佳生根培养基的筛选

由表 4 可知,6 种筛选培养基配方均能诱导根的分化,但根的长度、多少、粗细及生长状态有显著性差异,随着 IBA 浓度的增大,生根效果越好,当其浓度超过 0.8 mg·L⁻¹时,其生根率及各项指标呈下降趋势。其中 4 号处理的生根最早,根数和根长表现最好,叶色浓绿,叶片大小正常,植株生长状态也最好。4 号的平均根长、平均根数极显著高于其他处理;3 号与 4 号处理的生根率之间存在显著差异,并与其他处理之间存在极显著的差异。因此,树莓继代增殖的最佳培养基是 4 号,即 MS+IBA 0.8 mg·L⁻¹。

表 2 不同激素浓度对腋芽诱导的影响

Table 2 Effects of different hormone concentrations on axillary bud induction

处理 Treatments	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	接种数 Inoculation quantity	萌发数 Germination number	诱导率 Induction rate/%	腋芽生长状态 Axillary bud growth state
1	0.1	0.01	45	45	100.0	较小,诱导速度较慢
2	0.1	0.05	45	45	100.0	较小,较细弱
3	0.1	0.10	45	45	100.0	较小,较细弱
4	0.1	0.15	45	45	100.0	最早被诱导出,生长健壮、浓绿,生长速度最快
5	0.2	0.01	45	45	100.0	诱导速度较慢,较小,较弱
6	0.2	0.05	45	45	100.0	长势一般,较纤弱
7	0.2	0.10	45	42	93.3	长势不一,粗细不一
8	0.2	0.15	45	45	100.0	长势不一,粗细不一
9	0.3	0.01	45	45	100.0	长势一般,较纤弱
10	0.3	0.05	45	45	100.0	长势一般,较弱小
11	0.3	0.10	45	45	100.0	长势一般,较弱小、僵化
12	0.3	0.15	45	45	100.0	长势一般,较弱小、僵化

表 3 不同处理对腋芽增殖的影响

Table 3 Effects of different treatments on axillary bud proliferation

处理 Treatments	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	接种数 Inoculation quantity	增殖系数 Multiplication coefficient	植株生长状态 Plant growth state
1	0.5	0	45	2.8 Bb	有少许黄叶,生长状态不一
2	0.5	0.01	45	4.7 Aa	叶色浓绿,生长健壮
3	0.5	0.03	45	2.3 CDde	叶色黄绿,有的叶片边缘枯萎
4	1.0	0	45	1.9 Ehgf	生长缓慢,叶片黄化
5	1.0	0.01	45	2.7 BCbc	大小一致,有少许黄叶
6	1.0	0.03	45	2.4 BCDd	叶色浓绿,边缘有少许黄叶
7	1.5	0	45	1.7 Eh	叶色浓绿,边缘有少许黄叶
8	1.5	0.01	45	2.5 BCDcd	较纤弱,叶片边缘黄化
9	1.5	0.03	45	2.3 CDde	较纤弱,叶色黄绿
10	2.0	0	45	2.1 DEegf	大小不一,有的叶片黄化,枯萎
11	2.0	0.01	45	2.2 DEedf	叶色黄化,植株大小不一
12	2.0	0.03	45	1.8 Egh	生长缓慢,有的叶片黄化、枯萎

注:不同大小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平差异显著性。下同。
Note:Different capital and lowercase letters indicate significant difference at 0.01 and 0.05 level. The same below.

表 4 不同处理对组培苗木根系生长情况的影响

Table 4 Effects of different treatments on root growth of tissue culture seedlings

处理 Treatments	IBA/(mg·L ⁻¹)	平均根长 Average root length/cm	平均根数/条 Average number of roots	生根率 Rooting rate/%
1	0.2	6.1 Bb	7.0 Ee	89 Ce
2	0.4	6.4 Bb	7.8 Cc	93 Bc
3	0.6	6.2 Bb	8.5 Bb	97 Ab
4	0.8	7.6 Aa	9.1 Aa	100 Aa
5	1.0	6.4 Bb	7.4 Dd	92 BCdc
6	1.2	6.1 Bb	7.6 DCdc	90 BCde

2.4 树莓最佳移栽基质的筛选

由表 5 可知,组培苗木移栽 30 d 后,河沙作为移栽基质,由于保水透气性较好,苗木成活率最高,为 84%,植株生长状态最好,叶色鲜绿,增长速度较快。其他处理苗的移栽成活率均较低,其

中营养土:蛭石:珍珠岩(V:V:V)=1:1:1的移栽基质成活率最低,仅为 8%,可能是由于该基质的透水透气性不好导致的。树莓不同处理的成活率存在极显著差异。

表 5 不同移栽基质配比及移栽成活率

Table 5 Different transplanting matrix ratio and transplanting survival rate

处 理 Treatments	基质 Base material	移栽苗数 Number of transplanted seedlings	成活苗数 Number of survival seedlings	成活率 Survival rate/%
1	河沙	50	42	84 Aa
2	河沙:珍珠岩=2:1	50	18	36 Dd
3	河沙:草炭土=1:1	50	29	58 Bb
4	草炭土:河沙:珍珠岩=1:1:1	50	23	46 Cc
5	营养土:蛭石:珍珠岩=1:1:1	50	4	8 Ee

3 结论与讨论

3.1 讨论

目前,树莓的组培快繁技术的研究较多,因为树莓的品种不同,所用的生长激素及试验设计等不同,研究结果差异较大。如李钱等^[14]研究树莓的组培快繁,结果表明,秋红最佳诱导的培养基为MS+BA 1.0 mg·L⁻¹+GA₃ 0.5 mg·L⁻¹+IAA 0.3 mg·L⁻¹,诱导率可达 77.1%;海尔特兹最佳的增殖培养基是MS+BA 0.5 mg·L⁻¹+GA₃ 0.5 mg·L⁻¹+IAA 0.1 mg·L⁻¹;品种 D 最佳的增殖培养基是MS+BA 0.7 mg·L⁻¹+GA₃ 0.5 mg·L⁻¹+IAA 0.1 mg·L⁻¹;最佳生根培养基为1/2 MS+IBA 0.3 mg·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹,生根率可达 95.2%。于非^[5]用树莓品种哈瑞太兹与红宝玉的一年生带腋芽枝条的茎段作为外植体,建立树莓组织培养快繁体系。结果表明,哈瑞太兹的最适增殖培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹;红宝玉的最适增殖培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹;组培苗最佳生根培养基均为1/2 MS+IBA 1 mg·L⁻¹+NAA 2 mg·L⁻¹。

3.2 结论

通过对树莓费尔杜德初代诱导培养、继代增殖培养、生根筛选培养及驯化移栽基质的筛选,最终确立了该品种树莓的最佳快繁体系,即初代诱导的最适培养基是1/2MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹+NAA 0.15 mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹的活性炭;增殖最佳培养基是MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA

0.01 mg·L⁻¹;最佳生根培养基配方是1/2 MS+IBA 0.8 mg·L⁻¹+1.0 g·L⁻¹的活性炭;最佳的移栽基质为河沙。

参考文献:

[1] 安玉明. 费尔杜德树莓试管苗驯化移栽基质配方的筛选研究[J]. 园艺与种苗,2011(5):75-76,79.

[2] 郭玉霞,董彦琪,刘喜存,等. 红树莓组培快繁技术研究[J]. 河南农业科学,2011,40(4):127-128,133.

[3] 王丽玲. 树莓、黑莓引种驯化及组培快繁技术的研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2004.

[4] 徐娥,李岩. 树莓的组织培养及快速繁殖[J]. 中国野生植物资源,2006,25(1):64-65.

[5] 于非. 树莓组织培养快繁体系的建立[J]. 中国林副特产,2017(3):8-10.

[6] 解瑞彬,李秋菊,曹媛媛,等. 树莓的组织培养快繁研究[J]. 天津农业科学,2009,15(3):23-25.

[7] 李艳霞,刘忠玲,刘建明,等. 树莓品种“波拉纳”组培繁殖体系建立[J]. 森林工程,2018,34(2):26-29.

[8] 陆杨辉. 植物生长调节物质及外植体部位对树莓愈伤组织诱导的影响试验初报[J]. 南方农业,2018,12(17):137-140.

[9] 和加卫,徐中志,唐开,等. 树莓组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 西南农业学报,2006,19(4):754-756.

[10] 毕海林,徐中志,和加卫,等. 野生树莓组织培养技术研究[J]. 中国野生植物资源,2007,26(2):68-69.

[11] 袁艺,李纯,张扬,等. 树莓组织培养及植株再生[J]. 激光生物学报,2007,16(3):334-337.

[12] 黄悦,罗小娟,陶小买. 树莓种苗组织培养技术体系研究[J]. 贵州农业科学,2018,46(10):100-103.

[13] 赵芮. 软枣猕猴桃离体快繁技术的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2016.

[14] 李钱,田明芳. 树莓组培快繁技术研究[J]. 北方果树,2013(5):11-12.



张鹤. 抚育间伐对油松林枯落物层持水能力的影响研究[J]. 黑龙江农业科学, 2020(9):74-77.

抚育间伐对油松林枯落物层持水能力的影响研究

张 鹤

(河北省木兰围场国有林场 北沟分场, 河北 围场 068450)

摘要:为探究抚育间伐对油松林枯落物层持水能力影响,以未抚育间伐、抚育间伐2年与抚育间伐4年油松纯林为研究对象,利用室内浸泡法对枯落物层的各项持水指标进行测定。结果表明:采取抚育间伐措施后的油松纯林枯落物的厚度与蓄积量均有增加,大小排序为抚育4年>抚育2年>未抚育,抚育后4年的枯落物蓄积量是未抚育的1.31倍。采取抚育间伐措施后的油松纯林枯落物最大持水率呈下降的趋势,大小排序为未抚育>抚育2年>抚育4年;枯落物最大持水量则与之相反,呈现增长的趋势,大小排序为抚育4年>抚育2年>未抚育,抚育后4年的枯落物最大持水量是未抚育的1.11倍,说明采取抚育间伐的经营措施后4年内油松纯林枯落物层的最大持水量呈现增长的趋势。枯落物有效拦蓄量,大小排序为抚育4年>抚育2年>未抚育;林分枯落物有效拦蓄率呈下降趋势,大小排序为未抚育>抚育2年>抚育4年。

关键词:抚育间伐;油松林;枯落物;持水能力

木兰围场地处冀北地区,是该地区的重要水源林分布地区,是一道防沙固土的天然屏障,有利于冀北地区的生态安全和水资源的安全,因此对该地区的水源涵养林持水能力的研究是非常有必要的,而枯落物层作为林分持水能力重要组成部分,其能够通过截留降水的方式发挥其持水能力^[1]。针对木兰围场地区的林分研究较多,但是多集中在森林病虫害防治、森林防火、生物多样性等方面^[2-4],对采取抚育间伐的林分经营措施后林分枯落物持水能力的研究较少,因此本研究中以

未抚育间伐、抚育间伐后2年与抚育间伐4年的油松林为研究对象,测定枯落物层持水能力进行比较,以期为该地区水源涵养林健康经营提供理论依据^[5-6]。

1 研究区概况

选择河北省木兰围场国有林场林区作为研究地点,海拔高750~1 650 m,年平均温度是-1.4~4.7℃,全年西北部的无霜期为90~100 d,年均降水量380~560 mm。河北围场植物种类繁多,据调查统计有野生种子植物90科、371属、793种,有大型真菌24科60种,有苔藓植物34科83属201种,有蕨类植物12科14属22种^[7]。

收稿日期:2020-05-10

作者简介:张鹤(1989-),男,学士,助理工程师,从事森林经营工作。E-mail:196704796@qq.com。

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of Raspberry

XU Ya-ying, HUANG Xiao-mei, LUO Yu, XIE Li

(Heilongjiang Agricultural Vocational and Technical College, Jiamusi 154007, China)

Abstract: In order to explore the best tissue culture and rapid propagation technology of raspberry, new axillary buds were used as explants, MS as basic medium, and different concentrations of cytokinin 6-BA, auxin NAA and IBA were added. The results showed that the best primary culture medium was 1/2 MS + 6-BA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 0.15 mg·L⁻¹ + activated carbon 1.0 g·L⁻¹; the best medium for proliferation was MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.01 mg·L⁻¹, and the proliferation coefficient was 4.7. The best rooting medium was 1/2 MS + IBA 0.8 mg·L⁻¹ + 1.0 g·L⁻¹ activated carbon, the rooting rate reached 100%, the average number of roots was 9, and the average root length was 7.6 cm. This method can be used for rapid propagation of raspberry.

Keywords: raspberry; primary culture; proliferation culture; rooting culture