

A Summary of Tissue Culture and Rapid Propagation of Raspberry

Hangqian Liao, Caizhi Chen, Weifeng Wei, Guoyuan Shao*

School of Agriculture and Food Science, Zhejiang University of Agriculture and Forestry, Hangzhou Zhejiang
Email: 675164727@qq.com, *360900227@qq.com

Received: Sep. 30th, 2018; accepted: Oct. 11th, 2018; published: Oct. 18th, 2018

Abstract

In this paper, the tissue culture techniques of palm leaf raspberry were reviewed from the aspects of explant selection and disinfection methods, primary and subculture conditions, and the problems existing in the rapid propagation of palm leaf tissue culture were proposed.

Keywords

Raspberry, Tissue Culture, Rapid Propagation Technology

掌叶覆盆子组培快繁技术综述

廖杭倩, 陈财志, 卫威风, 邵果园*

浙江农林大学农业与食品科学学院, 浙江 杭州
Email: 675164727@qq.com, *360900227@qq.com

收稿日期: 2018年9月30日; 录用日期: 2018年10月11日; 发布日期: 2018年10月18日

摘要

论文从外植体选取和消毒方法、初代和继代培养条件等方面综述了掌叶覆盆子的组培快繁技术, 并提出了目前掌叶覆盆子组培快繁过程中存在的问题, 有一定的理论参考价值。

关键词

掌叶覆盆子, 组织培养, 快繁技术

*通讯作者。

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

掌叶覆盆子，学名 *Rubus chingii* Hu，又名华东覆盆子、树莓、牛奶果、大号角公等，蔷薇科悬钩子属藤状灌木。成熟果实富含氨基酸、糖、有机酸及多种维生素、矿质元素，尤其是过氧化物歧化酶(SOD)含量为水果之最，被誉为“新型第三代水果之王”，有健肾益精、养心安神、抗衰保健等功效[1]，受到欧美等国家的普遍欢迎。掌叶覆盆子种植具有投入少，产出高，病虫害少等优点，但目前我们国家的覆盆子人工栽培方向的发展比较缓慢，仅见江西省部分地区种植，在浙江地区有开展过一些覆盆子的产业化研究项目[2]。

掌叶覆盆子各部位均可利用，叶可以当做茶叶、也可以当做药材，果实可供食用，口感酸甜细腻、可入药、可加工成果汁饮品等，种子、根部均也可药用，全株植株可做绿化观赏树种，或家庭园艺品等。覆盆子作为一种优质的药食同源型的水果，它的营养价值和保健作用也广泛的受到我们的关注。之前的覆盆子研究大多偏重于资源分布的调查，覆盆子人工种植的可行性以及简单的覆盆子营养评价，对于覆盆子的种植栽培和加工制作等实用的技术研究与推广工作则非常薄弱，现在覆盆子的价值已从原有的单一利用走向多元利用的方向，可以适当扩大种植面积。

2. 生物学特性

掌叶覆盆子，蔷薇科悬钩子属多年生浆果类果树[3]。藤状灌木，定植3~4年进入盛果期，经济寿命可达20年左右，一般生长在湿润且不易积水的土壤中。掌叶覆盆子为两性花，单生，白色，花径约2.5~4.0 cm；5片花瓣，花萼5裂；花中雄蕊占多数，直立状；有较多数心皮，着生于球形的花托上。花粉黄色近球形，具有一定粘性，异花授粉，一般需虫媒，也可人工授粉[4]，位于枝顶的花开花期较早，结的果实也大。单花整个花期时间仅3~4天，整个植株花开放时间约20天[5]需要一定阳光照射但是怕暴晒，不耐热、不耐寒、不耐旱和忌积水积水易造成根部腐烂。在海拔高于1000 m的地方，植株也能够正常生长，但果实生长会比较差。对土壤要求不严格，但是选择富含腐殖质的酸性土壤种植比较好，果实在已饱满呈绿色未成熟时采摘。

掌叶覆盆子的人工栽培一般采用分株或压条等无性繁殖方法，但繁殖系数不高，繁殖周期长，受自然环境约束较大，故种苗的来源也受较大限制，近年来组培快繁体系的建立和推广将有利于实现覆盆子的规模化种植。

3. 外植体选择和消毒

选择生长健壮、长势旺盛的野生覆盆子优良单株，截取一年生带芽茎段是理想的外植体。林绍巢等[6]研究得出一年生的带芽覆盆子茎段在各种浓度配比下的细胞分裂素和生长素下都有较高的出芽率，可达到73.3%以上。

一年生带芽的茎段，剪去叶片，清洗表面，在流动自来水下冲洗30 min左右，在超净工作台上进行消毒，先将外植体放入一个干燥的无菌瓶中，用70%的酒精浸泡30 s，再用2.8%有效氯的次氯酸钠水溶液浸泡15 min，最后无菌水冲洗5次，最后用吸水纸吸干备用。

4. 初代培养

不同植物生长调节剂浓度配比的培养基中, 固定附加蔗糖 25 g/L, 琼脂 5.5 g/L, PH 调至到 5.8 左右。培养室内的温度控制在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照时间在每天 12 小时左右, 光照强度控制在 2500 lx。将消毒处理过的带芽覆盆子茎段全部接种到好的初代培养基中进行培养。30 天左右可以出芽。

不同种类植物生长调节剂及不同浓度配比影响覆盆子外植体出芽率, 以 MS 为基本培养基, 分别加入不同浓度的细胞分裂素和生长素, 覆盆子外植体均具有有较高的出芽率, 在细胞分裂素与生长素的浓度配比为 5:1 与 7.5:1 的培养基中, 覆盆子外植体的出芽效果明显增强, 出芽率最高可达 90% 以上。尤其当浓度配比为 7.5:1 时出芽效果极佳[5] [6]。

5. 增殖培养

由于在初代培养中获得的覆盆子芽、苗的数量有限, 不能够充分发挥组织培养快速繁殖的优势, 需要再通过继代培养来获取大量的增殖材料。芽分化培养基筛选试验以初代培养获得的健壮侧芽接种在不同培养基上进行繁殖, 主要对侧芽的出芽数量和芽的生长情况进行对比观察。

潘彬容[7]等研究表明, 以 MS 为基本培养基, 加入 2.0 ml/L 的 KT 和 0.20 ml/L 或 0.40 ml/L NAA, 芽生长情况都为健壮, 增殖倍数也达到 3.4、3.6 倍, 效果最佳。

6. 壮苗生根培养

增殖芽长到 3~4 cm 左右, 切下并转入生根培养基中, 培养 30 天左右可以生根。以 1/2 MS 为基本培养基, 不同浓度 NAA 的处理下, 生根率差异不大, 但平均每株生根数及根的质量差异较大。结合生根率、根质量及生根数考虑, 1/2 MS + NAA 0.2 ml/L 综合表现最佳, 生根率达 90.6%, 平均每株生根 4.8 条, 并且根质量较好, 为茎段生根壮苗最适培养基[6]。

7. 驯化移栽

栽培基质可选择河沙+珍珠岩, 移栽时, 基质用 1% 福尔马林溶液或多菌灵溶液消毒。试管苗移栽前打开瓶塞室内炼苗 1~3 天, 自来水洗净根部培养基, 移栽到苗床后基质, 保温保湿遮光养护, 经过一周左右的过渡培养, 逐步降低湿度。一周可长出新根, 两周可长出新叶, 表明移栽成活。

8. 覆盆子组培快繁体系存在问题

随着掌叶覆盆子的栽培面积急剧增加, 组培苗的需求也日益增加。但在瓶苗扩繁及生根过程中, 会出现细菌污染, 感染率高达 50%。掌叶覆盆子快繁过程中常见的细菌有甲基杆菌 GR3 (红色菌)、微杆菌 (黄色菌) 和恶臭假单胞菌 F1 (白色菌) 这三种[8] (青霉素标记为 K1, 链霉素标记为 K2, 头孢噻肟钠标记为 K3, 土霉素标记为 K4)。

使用抗生素会对叶片产生影响, 部分抗生素剂量加入不合适如加入中量土霉素和链霉素都可能导致组培苗黄化, 土霉素甚至会导致材料的死亡。抗生素直接加入法更适合且更便于控制。

不同剂量的抗生素对掌叶覆盆子组培苗生长和生根有一定影响, 但只有 K2-1 和 K2-2 对覆盆子组培苗生长的影响具有显著性特征, K2-1 还对覆盆子组培苗生根的影响具有显著性特征。其中林绍巢[6]等人研究表明 K1-1 和 K1-2 能很好地抑制红色菌的生长, 其抑制率超过 80%, K2-3 能较好地抑制红色菌生长, 其抑制率超过 50%。K1-1, K2-3 以及 K2-4 对黄色菌有较好的抑制效果, 其抑制率超过了 50%。K3-1 和 K3-2 对乳白色菌有好的抑制效果, 其抑制率在 60% 以上。红色细菌污染的掌叶覆盆子组培苗应用 K1-1 处理, 其存活率最高; 用 K1-1 + K2-3 处理, 其生根率最高。黄色细菌污染的掌叶覆盆子组培苗应用 K1-1

+ K2-3 处理, 其存活率最高且生根率最高。乳白色细菌污染的掌叶覆盆子组培苗应用 K2-3 + K3-1 处理, 其存活率和生根率均最高。

随着我国科技发展水平不断提高, 人民条件的提升, 我国平均寿命不断提高, 老龄化明显上升, 老年性痴呆显然成为世界性的难题, 如何防治老年性痴呆也成了一个亟待解决的现状。传统医学上认为, 肾阳虚是老年性痴呆现象发生的内在机制, 补肾助阳可以延缓衰老、是防治老年性痴呆的一个重要途径。黄丽萍等[9]研究表明覆盆子的氯仿和乙酸乙酯提取部分都具有良好的改善肾阳虚型痴呆实验白鼠的学习记忆能力, 亦可说明覆盆子具有益肾固精, 助阳缩尿的功能, 可入药用于治疗老年痴呆, 抗衰老, 有良好保健功效。那么覆盆子的价值也就会随之体现出来, 如浙江磐安县深泽乡 1999 年销售干果 32 吨, 收益 78.4 万元。覆盆子干果价格连年上涨, 2006 年价格达到 65 元/kg, 2010 年高达 110 元/kg [10]。至今年 2018 市场报价已经达到 200 元/kg。

综上所述, 覆盆子的资源开发利用具有较好的发展前景, 也可以发挥较大的社会效益和经济效益, 自然也会奠定覆盆子的组织培养快速繁殖体系。

基金项目

浙江农林大学学生科研训练项目(2013200053)。

参考文献

- [1] 汪传佳, 徐小静, 康志雄, 钱孝炎. 掌叶覆盆子的开发利用研究概况[J]. 陕西林业科技, 2001(1): 65-68.
- [2] 汪传佳, 徐小静, 康志雄, 等. 覆盆子资源开发利用研究综述[J]. 浙江林业科技, 2004, 24(1): 65-68.
- [3] 江景勇, 陈珍. 掌叶覆盆子的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2015(10): 173-176.
- [4] 陈少风, 叶居新, 朱祥玲, 等. 若干悬钩子属植物的花粉形态研究[J]. 植物研究, 1996, 16(4): 463-466.
- [5] 王传永, 吴文龙, 黄树芝, 等. 几种野生悬钩子家化的生物学基础研究[J]. 植物资源与环境, 1993, 2(3): 33-40.
- [6] 潘彬荣, 罗天宽, 张永鑫. 掌叶覆盆子的组织培养技术[J]. 浙江农业科学, 2010(3): 508-510.
- [7] 林绍巢, 潘彬荣, 罗天宽, 张永鑫. 掌叶覆盆子组织培养技术研究[J]. 温州农业科技, 2010(3): 23-26.
- [8] 何莹, 腾进婧, 陈灿灿, 杨华. 掌叶覆盆子快繁过程中细菌污染的种类及控制[J]. 社科学论, 2016(26): 148-149.
- [9] 黄丽萍, 熊玉洁, 赵梦岚, 等. 覆盆子有效部位改善肾阳虚型痴呆大鼠学习记忆作用机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(19): 192-196.
- [10] 李孝苗, 何家庆. 覆盆子资源及其开发利用[J]. 安徽农业科学, 2000, 28(1): 128.

Hans 汉斯

知网检索的两种方式:

1. 打开知网首页 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2164-5507, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>
期刊邮箱: hjas@hanspub.org