

兔眼蓝莓组培苗瓶内生根技术研究

熊翠林

(安徽省林业高科技开发中心,安徽合肥 230001)

摘要:为快速繁殖兔眼蓝莓优良品种,该文以“粉蓝”继代培养试管苗为试验材料,改良1/2WPM培养基为基本培养基,研究不同浓度激素、活性炭、光照条件对兔眼蓝莓生根的影响。结果表明,在加入了0.2mg/L IBA,并添加含活性炭200~500mg/L的改良1/2WPM的培养基中生根情况最为理想,调光培养17d左右生根,培养30d转光照培养60d后观察生根率高达86.9%。该研究为实现兔眼蓝莓的工厂化快速育苗提供了技术支持。

关键词:兔眼蓝莓;组培;外源激素;活性炭;光照;生根

中图分类号 S663.9 文献标识码 A 文章编号 1007-7731(2018)06-0046-03

Rooting Technology of *Vaccinium ashei* Reade Tissue Culture in Vitro Seeding

Xiong Cuilin

(High-tech Development Center in Anhui Forestry, Hefei 230001, China)

Abstract: In order to propagate the species of *Vaccinium ashei* Reade, the effects of different exogenous hormones and concentrations, activated carbon, and light intensity on the rooting of *Vaccinium ashei* Reade were studied by using improved 1/2 WPM medium as the basic medium, with long-term subculture of plantlets for the test materials. The results indicated that the optional combination of test-tube rooting with *Vaccinium ashei* Reade was improved 1/2 WPM supplemented with 0.2mg/L IBA and 200~500mg/L activated carbon. Swap the light for 17d place around a root, for 30 d after the switch to light train 60d rooting rate of 86.9% was observed. This study provided technical support for the industrial production of *Vaccinium ashei* Reade.

Key words: *Vaccinium ashei* Reade; Tissue culture; Exogenous hormones; Activated carbon; Light conditions; Rooting

兔眼蓝莓(*Vaccinium ashei* Reade)是杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* spp.)多年生落叶或常绿灌木。蓝莓果实含有花青素、黄酮等多种多酚类生理活性成分,具有很强的抑菌、抗氧化、抗衰老、抗癌及抗突变等多种生理活性功能^[1,2],被国际粮农组织列为人类五大健康食品之一^[3]。“粉蓝”为兔眼蓝莓经济价值较高的一种,口感好、品质佳,深受人们的青睐。随着人们对水果市场多样化要求的提高以及人们对营养保健天然果品认识的深入,蓝莓市场潜力非常巨大。

然而,蓝莓的常规繁殖速度慢,且受插条数量和扦插生根率的影响,特别是优良品种繁殖难以满足市场对种苗的需求,利用组织培养技术来快速高效地获得大量无性系组培苗成为了获取优质蓝莓苗木的主要途径^[4]。自1990年代起,我国相继从美国、加拿大引进优良蓝莓品种,并开展了蓝莓植物组织培养技术方面的研究^[5,6],但兔眼蓝莓组培苗瓶外生根成活时间长、技术要求高,而在瓶内生根慢、生根率较低、发根周期长^[7,8],制约了优良品种的产业化育苗进程。因此,探索解决兔眼蓝莓试管生根

问题和提高成苗系数成为亟待解决的重要课题。为此,本研究选择适合安徽省栽培的兔眼蓝莓品种中的“粉蓝”进行组织培养研究,通过设置生根培养基外源激素种类、激素浓度、活性炭浓度和光照处理条件等,以期诱导粉蓝试管苗高效生根,为“粉蓝”组培苗工厂化快速繁育提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料 选用“粉蓝”继代培养40d、高3cm左右的健壮无根苗为供试材料进行生根培养。

1.2 实验方法

1.2.1 培养条件 以改良1/2WPM(以水合硝酸钙684.00mg/L、硝酸钾190.00mg/L和盐酸硫胺素0.10mg/L代替原WPM培养基中的硫酸钾、氯化钙、硫酸亚铁)为基础培养基,添加蔗糖30g/L,琼脂9g/L, pH值5.0,培养的温度设为(25±2)℃。

1.2.2 不同外源激素的种类和浓度对生根影响 设置10个组,每组接种30个继代培养无根苗,3次重复。分别在改良1/2WPM中添加不同外源激素(NAA、IBA),并分别将

其浓度设置为0.1mg/L、0.2mg/L、0.5mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L进行对比试验。

1.2.3 不同活性炭浓度对生根影响 设置5个组,每组接种30个继代培养无根苗,3次重复。在相同的外源激素种类和浓度条件下分别在改良1/2WPM中加入活性炭(100mg/L、200mg/L、500mg/L、1000mg/L、1500mg/L、2000mg/L)进行对比试验。

1.2.4 不同光照处理对生根影响 设置4个组,每组接种30个继代培养无根苗,3次重复。在相同的外源激素种类和浓度及相同浓度的活性炭的条件下,60d后观察。试验条件分别为:(1)无调光培养,光照强度1500~2000Lx,光照12h/d。(2)调光培养7d后,转光照强度1500~2000Lx,光照12h/d。(3)调光培养15d后,转光照强度1500~2000Lx,光照12h/d。(4)调光培养30d后,转光照强度1500~2000Lx,光照12h/d。(5)调光培养60d。

1.3 实验材料 接种后7、15、30、60d分别调查组培苗生根数、有效生根数和根长指标,统计生根率、有效生根率、平均生根数和平均根长。计算公式为:

生根率(%)=生根株数/总接种数×100;

有效苗生根率(%)=生根株数(每株根数≥3)/总接种数×100;

平均生根数(条·株⁻¹)=生根总条数/生根苗数;

平均根长(mm)=所有根总长度/生根总条数。

2 结果与分析

2.1 不同外源激素的种类和浓度对生根的影响 以1/2WPM为基本培养基,添加不同浓度的NAA和IBA溶液,将继代增殖培养基中健壮幼苗进行生根培养,兔眼蓝莓无根苗生根情况如表1和图1所示。结合表1和图1可知,植物激素的种类及其浓度对生根培养基中幼苗的诱导生根有差异。结果表明,NAA和IBA对兔眼蓝莓瓶内生根都有促进作用,其中在1/2WPM基础培养基外加激素IBA的培养基中生根较为理想,尤其在IBA含量在0.2mg/L时效果最佳,第20天开始生根,根从茎基或皮部长出,生根率高达65.6%,且根数在4条以上,根长1cm以上,根粗,呈乳白色。随着浓度的增加,生根开始时间、有效生根数、生根率和根的平均长度均呈降低趋势。这可能是由于愈伤组织分化成根原基,并进一步发育成根,当IBA浓度高于0.2mg/L时,基部形成的愈伤组织过多则产生茎和根的维管束难以相通^[9]。“粉蓝”在1/2WPM基础培养基外加激素NAA的培养基中生根率较低,开始生根时间较长,多数试管苗基部出现愈伤组织,根变短,叶片呈淡绿色。NAA浓度小于0.5mg/L时,生根率、生根数和根的平均长度均随外源激素浓度的增加呈增加趋势,但增加NAA浓度大于0.5mg/L时,生根率降低,基部愈伤化严重,诱导产生

的根质地变差。试验中NAA诱导生根时,愈伤组织上生长的不定根粗而短,分化出的许多细根移栽时根容易脱落,这可能与生长素类物质有诱导愈伤组织形成和胚状体产生相关。

表1 外源激素的种类和浓度对生根的影响

外源激素	浓度(mg/L)	接种数(株)	有效生根数(株)	有效生根率(%)	根生长情况
NAA	0.1	90	3	3.3	++
	0.2	90	16	17.8	++
	0.5	90	23	25.6	+++
	1.0	90	13	14.4	++
	2.0	90	1	1.1	+
IBA	0.1	90	43	47.8	++++
	0.2	90	59	65.6	++++
	0.5	90	52	57.8	++++
	1.0	90	22	24.4	+++
	2.0	90	12	13.3	+++

注:+表示只长愈伤;++表示多数试管苗愈伤化严重,根茎维管束不通,根极少;+++表示根长0.5~1.0cm,根数2条左右,根细;++++表示根数3~4条以上,根长2.1cm,根粗,根乳白色,叶绿色。有效生根指根从茎基或皮部长出。

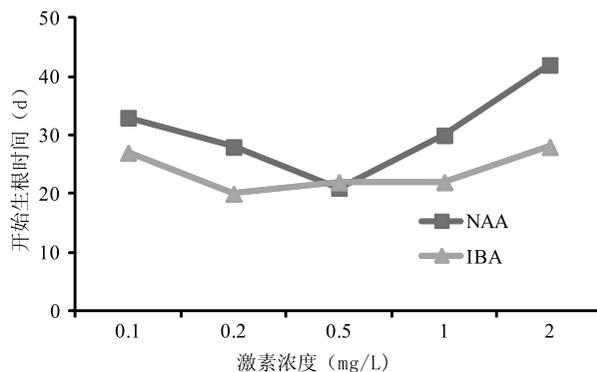


图1 不同外源激素种类和浓度对开始生根时间的影响

2.2 不同活性炭浓度对生根的影响 活性炭对组培苗瓶内生根具有重要影响。在相同的外源激素种类和浓度条件下,“粉蓝”无根苗生长情况受活性炭浓度变化的生根情况如表2所示。活性炭能明显促进根的伸长生长^[10,11]。试验结果表明,培养基中添加活性炭对“粉蓝”试管苗生根有明显的促进作用,明显增加无根苗有效生根率、生根数和根的平均长度,而且植株上部叶片浓绿,生长旺盛。而相比培养基中无活性炭时,插入培养基的茎基部形成愈伤组织后生根,但不久茎停止生长,苗长势差。不同活性炭对“粉蓝”生根促进作用存在不同的浓度效应。活性炭浓度为500mg/L时的生根效果最好,有效生根率达到75.6%,平均生根数为5.5条,根的平均长度为3.8cm(表2)。

表2 不同活性炭浓度对生根的影响

活性炭浓度 (mg/L)	有效生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)
0	55.7	3.9	2.4
100	67.6	4.8	2.7
200	73.3	5.3	3.2
500	75.6	5.5	3.8
1000	71.1	4.9	3.5
1500	69.8	4.4	2.8
2000	68.1	4.2	1.9

试验中活性炭的加入为“粉蓝”根的生长营造了近似自然生长条件下的黑暗环境,吸附植物生长过程中细胞分泌的具有抑制作用的酚类化合物^[12],减少因有害物质累积对苗株产生的毒害作用,促进“粉蓝”生根,表现出随活性炭浓度的增加而提高生根效果。但活性炭浓度过大,在吸附细胞分泌物和培养基中毒副作用物质的同时,也吸附培养基中的营养成分,表现出随着活性炭浓度增加其促进根生长作用的减弱。因此,采用添加活性炭促进组织生根中,须选择适宜的浓度。同时,在培养基中加入活性炭时,可适当提高激素浓度以获得更好的效果。

2.3 不同光照处理对生根的影响 光照对植物细胞、组织、器官的生长、分化具有很大的影响。在相同的外源激素和活性炭条件下,不同的光照条件处理下“粉蓝”无根苗生长情况如表3所示。由表3可知,调光培养有利于根的生长,缩短了生根时间,增加了生根率、生根数和根的平均长度,并且使植株上部叶片浓绿,生长更为旺盛,说明调光培养对“粉蓝”生根促进作用明显。调光培养30d后,转光照强度1500~2000Lx,光照12h/d,60d后观察“粉蓝”的生根率达到86.9%,平均生根数为7.2条,根的平均长度为2.3cm,生根开始时间缩短至17d。在调光培养30d的基础上,增加或减少其调光培养时间,在相同培养基及外在条件下都不及30d的调光培养所得到的效果。

表3 不同光照处理对生根的影响

试验条件	生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)	生根开始时间 (d)
1	76.3	5.5	1.6	20
2	78.2	5.9	1.8	19
3	81.3	6.6	1.9	18
4	86.9	7.2	2.3	17
5	86.1	7.1	1.9	17

有研究发现,新梢转入生根培养基中经调光培养不经暗处理的发根率增加20%^[13],本试验结果与其基本一致,其原因可能与暗处理有利于生长素在基部的分布有关,也可能是某些与生根有关基因的表达受光调控。但是如上实验,调光培养时间不足和时间过长,都会影响到“粉蓝”根部的生长,有关光对“粉蓝”生根的作用机理尚待进一步研究。

3 结论与讨论

“粉蓝”组织培养过程中,试管苗的生根质量受多种因素的影响,外源激素的种类和浓度、活性炭浓度以及光照条件不同,生根差异明显。当采用“粉蓝”健壮无根苗为供试材料进行生根培养时,外源激素的加入有助于根的生长,在改良1/2WPM基础培养基中添加0.2mg/L IBA,效果最好。在培养基中加入活性炭和使“粉蓝”经过一段时间的调光培养,对“粉蓝”根的生长都有极佳的促进作用,在添加含活性炭200~500mg/L,并进行调光培养30d后转光照强度1500~2000Lx,60d后生根效果最好。

蓝莓为弱根系无根毛植物,常规条件下生根周期长。通过对本实验添加外源激素和活性炭进行生根的组培苗移栽驯化,成活率高于直接从空白培养基生根无愈伤组织的组培苗。但兔眼蓝莓生根机理复杂,影响生根的因子繁多,提高粉蓝生根还需要从生根机制、遗传机理方面做进一步的研究。对于移栽的瓶苗,后续基质的选择也是影响组培苗存活的关键点,需要根据移栽条件进行进一步研究。

参考文献

- [1]Bornsek SM,Zibera L,Polak T,et al.Bilberry and blueberry anthocyanins act as powerful intracellular antioxidants in mammalian cells[J].Food Chem,2012,134(4):1878-1884.
- [2]Lacombe A,Wu VCH,White J,et al.The antimicrobial properties of the lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) fractional components against foodborne pathogens and the conservation of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* [J].Food Microbiol, 2012,30(1):124-131.
- [3]苑兆和.世界蓝莓生产历史与发展趋势[J].落叶果树,2003(1): 49-52.
- [4]邵振中,吴晓波.兔眼蓝莓丛芽诱导及生根研究[J].安徽农业科学,2013,41(1):19-20,22.
- [5]孙书伟.蓝莓组培苗瓶内生根的探讨[J].湖北农业科学,2009,48(4):786-788.
- [6]罗兰艳,范淑芳,简大为,等.蓝莓组织培养技术研究进展[J].湖北林业科技,2016,45(1):31-35.
- [7]王大平.兔眼蓝莓试管苗生根培养的研究[J].北方园艺,2010(16):140-142.
- [8]王济红,祁翔,姚松林,等.低浓度外源激素对兔眼蓝莓扦插繁殖的影响[J].西南农业学报,2008,21(3):741-744.
- [9]潘瑞焯.植物组织培养[M].广州:广东高等教育出版社,2002: 23-24.
- [10]张文泉,何志国,杨秀钟,等.不同pH值和活性炭浓度对蓝莓不定芽分化的影响[J].中南林业调查规划,2015,34(03):55-57.
- [11]王平红.活性炭对蓝莓组培苗生根的影响[J].安徽农业科学, 2010,38(22):11762-11763.
- [12]罗智勇,周俊,文斌,等.兔眼蓝莓灿烂的快繁技术优化[J].中国果菜,2013(11):18-20.
- [13]曹致义,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,1995.

(责编:张宏民)