

兔眼蓝莓组织培养过程中褐化与生根问题的探讨

郑理乔, 黄成林, 刘 华, 梅 莹, 傅松玲*

(安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036)

摘 要: 以兔眼蓝莓茎尖和茎段形成的愈伤组织和长期继代培养的试管苗为材料, 接种于改良的 WPM 和 1/2 WPM 的培养基中, 研究活性炭与 Vc 液对兔眼蓝莓外植体和愈伤组织形成中褐化的影响以及外源体、活性炭对无根苗瓶内生根的影响。结果表明, 当培养基中加入 Vc 液并含 100~200 mg·L⁻¹ 的活性炭时, 能有效防止外植体褐化的发生; 当培养基中加入 Vc 液并含 200~500 mg·L⁻¹ 活性炭时, 可有效防止愈伤组织褐化发生。蓝莓继代培养试管苗在 1/2 WPM 的培养基中添加 0.2 mg·L⁻¹ IBA, 并含 100~200 mg·L⁻¹ 活性炭时生根情况最为理想, 经过 7 d 暗培养, 30 d 后生根率高达 87.8%。

关键词: 兔眼蓝莓; 组织培养; 褐化; 瓶内生根

中图分类号: S723.132.6

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2012)05-0777-06

Discussion on browning and rooting in tissue culture propagation of Rabbit-eyes blueberry

ZHENG Li-qiao, HUANG Cheng-lin, LIU Hua, MEI Ying, FU Song-ling

(School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural of University, Hefei 230036)

Abstract: In this paper, callus and long-term trained tube seedlings induced from stem tip and stem section of Rabbit-eyes blueberry were inoculated to the modified WPM and 1/2 WPM mediums to study the effects of activated carbon and Vc on browning reaction. The effects of exogenous substance, activated carbon on the plant roots were also studied. The results showed that the explant browning could be controlled if the medium contained Vc liquid and activated carbon of 100-200 mg·L⁻¹. The callus browning could be effectively prevented in the medium contained Vc liquid and activated carbon of 200-500 mg·L⁻¹. The suitable condition for blueberry training was the modified 1/2 WPM medium with addition of 0.2 mg·L⁻¹ IBA, and activated carbon of 100-200 mg·L⁻¹. If so, the rooting rate could reach to 87.7% after cultivation for 30 days.

Key words: Rabbit-eyes blueberry; tissue culture; browning; rooting in tube

蓝莓 (*Semen Trigonellae*) 属于杜鹃花科 (*Ericaceae*) 越橘属 (*Vaccinium spp.*), 为多年生落叶或常绿灌木或小灌木树种。由于蓝莓果实中含有花青素、黄酮等多种多酚类生理活性成分具有很强的抗氧化性, 具有促进视红素再合成、改善循环、抗溃疡、抗炎症、提高免疫力、增强心脏功能、抗心血管疾病、抗衰老、抗癌及抗突变等多种生理活性功能, 具有较高经济价值和广阔开发前景的新兴果树树种^[1]。国际粮农组织将其列为人类五大健康食品之一^[2]。蓝莓还可以作为极佳的观光果园树种, 春季早花、夏季果熟如蓝色海洋, 入秋叶呈红

色。蓝莓也可制作盆景果树。蓝莓在发达国家已成为愈来愈普及的果品, 也越来越受到我国消费者所青睐, 市场潜力巨大。由于我国缺乏其繁殖材料, 而组织培养为扩大繁殖系数的重要方法, 因此有关蓝莓品种的繁殖及组织培养研究较多^[3-5]。但笔者在 2 年来的实验中发现易褐化和生根困难成为蓝莓组培过程中的重要问题^[6-9], 是蓝莓大规模生产的直接限制因子, 也是目前急需解决的关键问题。因此, 笔者就兔眼蓝莓组织培养繁育中常出现的褐化等问题进行了研究, 以期减少蓝莓组织培养中褐化的概率。此外, 还通过设置生根培养基外源激素种类与

收稿日期: 2011-03-16

基金项目: 国家林业局项目 (201004016) 和安徽省科技攻关项目 (10010302001) 共同资助。

作者简介: 郑理乔, 女, 硕士研究生。E-mail: qiao1281228@126.com

* 通讯作者: 傅松玲, 女, 博士, 教授, 博士生导师。E-mail: fusongling@ahau.edu.cn

浓度、活性炭浓度和光照处理条件等诱导蓝莓试苗木的高效生根率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用兔眼粉蓝的茎尖及茎段形成的愈伤(在相同条件下培养 30 d 形成的愈伤)作为供试材料。选用兔眼粉蓝继代培养 40 d、高 3 cm 左右的健壮无根苗为供试材料进行生根培养。

1.2 方法

1.2.1 培养条件 基础培养基为改良 WPM 或 1/2 WPM (以水合硝酸钙 $684.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硝酸钾 $190.00 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和盐酸硫胺素 $0.10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 代替原 WPM 培养基中的硫酸钾、氯化钙、硫酸亚铁), 附加激素 ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 培养基中含蔗糖 $30 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 琼脂 $9 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH 5.0。在研究活性炭与 Vc 液对兔眼蓝莓外植体和愈伤组织形成中褐化的影响时, 培养条件为温度 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$ 、光强 $2\ 000\sim 2\ 500 \text{ lx}$ 、光照 $16 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$; 在研究兔眼蓝莓组培苗瓶内生根技术时, 培养条件为温度 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$, 经过 7 d 暗培养后转入光强为 $2\ 000\sim 2\ 500 \text{ lx}\ 16 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 光照培养。

1.2.2 活性炭与 Vc 液对兔眼蓝莓外植体和愈伤组织形成中褐化的影响 Vc 液的配制。称取 Vc 200 mg 溶解后定容至 1 L, 过滤除菌直接加至培养基表面。

活性炭浓度对外植体及愈伤的褐化影响的实验设计。设置 5 个组, 每组接种 30 个外植体和愈伤组织, 3 个重复。①改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$; ②改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭; ③改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭; ④改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭; ⑤改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $1\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭。

Vc 液与不同浓度活性炭共同作用对外植体及愈伤褐化影响的试验设计。设置 5 个组, 每组接种 30 个外植体和愈伤组织, 3 个重复。⑥改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 液; ⑦改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭 + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 液; ⑧改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭 + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 液; ⑨改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭 + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 液; ⑩改良 WPM + ZT $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + $1\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭 + $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Vc 液。

1.2.3 兔眼蓝莓组培苗瓶内生根技术 不同外源激素的种类和浓度对生根影响的试验设计。设置 15 个组, 每组接种 30 个继代培养无根苗, 3 个重复。分别在改良 1/2 WPM 中添加外源激素(NAA、IBA、BA), 并分别将其浓度设置为 0.1、0.2、0.5、1.0 和 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 进行对比试验。

不同活性炭浓度对生根影响的试验设计。设置 5 个组, 每组接种 30 个继代培养无根苗, 3 个重复。在相同的外源激素种类和浓度条件下分别在改良 1/2 WPM 中加入活性炭(100 、 200 、 500 、 $1\ 000$ 和 $2\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 进行对比试验。

2 结果与分析

2.1 活性炭与 Vc 液对兔眼蓝莓外植体和愈伤组织形成中褐化的影响

2.1.1 活性炭浓度对外植体褐化的影响 设置不同浓度的活性炭梯度, 分别在 5 d、10 d、15 d、20 d、25 d 和 30 d 观察蓝莓外植体褐化及生长情况, 结果如表 1。由表 1 可以看出, 总体上活性炭对蓝莓外植体起到抗褐化的作用, 其中在附加 $100\sim 200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭时褐化率最低。未加活性炭的情况下, 30 d 后蓝莓的褐化率高达 43.3%, 且褐化蔓延至整个植株, 褐化严重, 侧芽也渐渐生长衰弱。在附加 $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭时, 30 d 后观察其褐化率大大降低, 褐化率为 7.8%, 且褐化程度较轻, 25 d 前其褐化仅出现在剪口处, 中间部位都为绿色, 25 d 后褐化才向中间蔓延, 侧芽生长旺盛。在附加 $200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭时, 蓝莓外植体 30 d 后褐化率为 6.7%, 褐化程度较轻, 生长状况良好。在附加 $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭时, 前期褐化程度较轻, 在第 5 天和第 10 天时, 蓝莓外植的褐化率只为 2.2% 和 5.5%, 但在后期其褐化或枯萎严重, 褐化率增加至 16.7%。

当活性炭浓度附加至 $1\ 000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 蓝莓外植体褐化情况前期和后期差异更为明显, 第 5 天褐化率仅为 1.1%, 30 d 后褐化率为 18.9%, 且褐化或枯萎严重, 但其新生侧芽异常健壮。活性炭是一种吸附性较强的无机吸附剂, 能吸附各种微量物质和微小颗粒, 在培养基内加入活性炭后, 褐变率在活性炭一定浓度范围内显著降低, 但随着活性炭浓度增加愈伤组织和侧芽都生长缓慢, 这可能是因为活性炭在吸附培养基中有害物质的同时, 也吸附培养基中的营养成分^[10-11], 从而使外植体保持常绿状态而无法正常生长形成愈伤组织及侧芽。活性炭对蓝莓外植体和愈伤组织的褐变有一定的抑制作用, 但须选择适宜的浓度, 浓度过低, 抑制作用弱; 浓度

过高会吸附很多活性物质, 从而影响外植体的生长。在该试验中的活性炭对蓝莓外植体的褐变有较好的抑制效果, 并且可以促进外植体的生长。因此若在

培养基中加入活性炭, 可考虑适当提高激素的浓度, 所以在组织培养的不同阶段加入不同浓度的活性炭, 能提高培养的效果。

表 1 活性炭对外植体褐化的影响

Table 1 The effects of activated carbon on explant browning

处理 Treatment	不同培养天数蓝莓外植体褐化及生长情况 The explant browning and its growth state of blueberry with different cultivation time					
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d
①	褐化率/% Browning rate 12.2	14.4	15.6	24.4	34.4	43.3
	状况 Growth state 剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	褐化蔓延至中间, 褐化较重, 有侧芽生长迹象	褐化蔓延至中间, 褐化较重, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至中间, 褐化较重, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至整个植株, 褐化重, 侧芽生长渐衰	褐化蔓延至整个植株, 褐化重, 侧芽生长渐衰
②	褐化率/% Browning rate 1.1	3.3	3.3	4.4	5.5	7.8
	状况 Growth state 剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻, 有侧芽生长迹象	剪口褐化 中间绿色, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	剪口褐化 中间绿色, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至中间, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至中间, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛
③	褐化率/% Browning rate 0	2.2	3.3	4.4	5.5	6.7
	状况 Growth state 剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻, 有侧芽生长迹象	剪口褐化 中间绿色, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	剪口褐化 中间绿色, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至中间, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛	褐化蔓延至中间, 褐化程度较轻, 侧芽生长旺盛
④	褐化率/% Browning rate 2.2	5.5	7.8	7.8	13.3	16.7
	状况 Growth state 剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	褐化或枯萎较重, 有侧芽生长迹象	褐化或枯萎较重, 侧芽生长缓慢	褐化或枯萎重, 侧芽生长缓慢但健壮	褐化或枯萎重, 侧芽生长缓慢但健壮
⑤	褐化率/% Browning rate 1.1	4.4	8.9	12.2	18.9	18.9
	状况 Growth state 剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	剪口褐化, 中间绿色, 褐化程度较轻	褐化或枯萎较重, 有侧芽生长迹象	褐化或枯萎较重, 侧芽生长缓慢	褐化或枯萎重, 侧芽生长缓慢但非常健壮	褐化或枯萎重, 侧芽生长缓慢但非常健壮

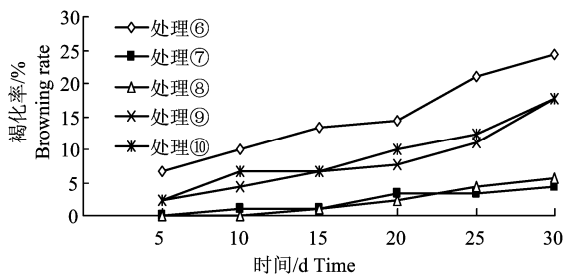


图 1 活性炭与 Vc 共同对外植体褐化的影响

Figure 1 Con-effects of activated carbon and Vc on explant browning

2.1.2 Vc 液与活性炭浓度共同作用对外植体褐化的影响 设置不同浓度的活性炭梯度并与 Vc 共同作用, 分别在 5 d、10 d、15 d、20 d、25 d 和 30 d 观察蓝莓外植体褐化及生长情况 (图 1)。

综合表 1 和图 1 可以看出, 活性炭和 Vc 共同作用对蓝莓外植体抗褐化最优, 加入 Vc 液并在含活性炭 100~200 mg·L⁻¹ 时其褐化率最低且褐化程度轻。对处理⑥和处理①进行比较可以看出, 在不加活性炭只添加 Vc 的情况下, 第 30 天时蓝莓的褐化率从 43.3% 降至 24.4%, 褐化程度也有所减轻。在附加 100 mg·L⁻¹ 活性炭和 200 mg·L⁻¹ Vc 液 30 d 后观

察,其褐化率仅4.4%,且褐化程度轻,生长状况良好。在附加200 mg·L⁻¹活性炭和200 mg·L⁻¹ Vc液30 d后观察,其褐化率为5.6%,且褐化程度轻,生长状况良好。在此基础上增加活性炭的浓度,蓝莓外植体褐化程度加重,30 d后观察其褐化率分别为17.8%,侧芽生长缓慢但健壮。

加入Vc后褐化率明显降低,这是由于Vc抗褐

化剂可以改变外植体周围的氧化还原电势,对酚类物质的氧化起到抑制的作用,从而减轻褐变^[12-13]。

2.1.3 活性炭浓度、Vc液与活性炭浓度共同对愈伤组织褐化的影响 设置不同浓度的活性炭、不同浓度的活性炭与Vc共同作用梯度,分别在5 d、10 d、15 d、20 d、25 d和30 d观察蓝莓愈伤组织褐化及生长情况(表2)。

表2 活性炭、活性炭与Vc共同作用对愈伤组织褐化的影响

Table 2 Effects of activated carbon and the combination of activated carbon with Vc on calli browning

处理 Treatment	不同培养天数蓝莓愈伤组织褐化个数/个						平均数 Average number	显著差异	
	Browning calli amount of blueberry with different cultivation time							Significant difference	
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d		0.05	0.01
①	2	5	6	11	26	42	15.33	a	AB
②	1	3	5	9	16	28	10.33	abc	ABC
③	1	2	2	7	12	18	7.00	bc	ABC
④	0	2	3	6	10	16	6.17	bc	BC
⑤	0	1	4	12	31	49	16.17	a	A
⑥	2	3	4	12	19	32	12.00	ab	ABC
⑦	0	2	3	11	15	20	8.50	bc	ABC
⑧	1	1	3	5	9	11	5.00	bc	C
⑨	0	2	3	3	8	11	4.50	c	C
⑩	1	1	2	11	21	33	11.50	abc	ABC

表3 外源激素的种类和浓度对生根的影响

Table 3 Effects of exogenous hormone type and concentration on rooting

激素种类与浓度 Type and concentration of hormone	接种数/株 Inoculation number	有效生根数/株 Explants with effective rooting	有效生根率/% Effective rooting rate	开始生根时间/d Cultivation time for rooting	根生长情况 Growth state of roots
0.1 mg·L ⁻¹ NAA	90	2	2.2	32	++
0.2 mg·L ⁻¹ NAA	90	15	16.7	29	++
0.5 mg·L ⁻¹ NAA	90	18	20.0	22	+++
1.0 mg·L ⁻¹ NAA	90	10	11.1	31	++
2.0 mg·L ⁻¹ NAA	90	0	0.0	0	+
0.1 mg·L ⁻¹ IBA	90	42	46.7	28	++++
0.2 mg·L ⁻¹ IBA	90	57	63.3	20	++++
0.5 mg·L ⁻¹ IBA	90	53	58.9	22	++++
1.0 mg·L ⁻¹ IBA	90	21	23.3	22	+++
2.0 mg·L ⁻¹ IBA	90	11	12.2	29	+++
0.1 mg·L ⁻¹ BA	90	6	6.7	28	++
0.2 mg·L ⁻¹ BA	90	17	18.9	23	++
0.5 mg·L ⁻¹ BA	90	48	53.3	23	+++
1.0 mg·L ⁻¹ BA	90	33	36.7	21	+++
2.0 mg·L ⁻¹ BA	90	8	8.9	22	++

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0.5~1.0 cm，根数2条左右，根细；“++++”表示根数3~4条以上，根长2.1 cm，根粗，根乳白色，叶绿色。有效生根指根从茎基或皮部长出。

由表2可以看出,不加活性炭时蓝莓愈伤组织培养30 d后褐化率高达46.7%,随着活性炭浓度从

100 mg·L⁻¹增加至500 mg·L⁻¹,其褐化率也从31.1%降低至17.8%,其后继续增加活性炭浓度,蓝莓愈

伤组织褐化率又开始增加。处理⑥较处理①蓝莓愈伤组织在 30 d 后其褐化率从 46.7% 降至 35.6%，说明 Vc 液对愈伤组织的褐化有一定的抑制作用。在 Vc 液与活性炭共同作用时，随着活性炭的浓度增加，愈伤组织褐化率越低，在活性炭浓度为 200~500 mg·L⁻¹ 效果最好，此时的褐化率为 12.2%，在此基础上继续增加活性炭浓度，其褐化率反而增加。所以当 Vc 液与活性炭共同运用时，对蓝莓愈伤组织抗褐化效果最好。

2.2 兔眼蓝莓组培苗瓶内生根技术

2.2.1 外源激素的种类和浓度对生根的影响

在 1/2WPM 培养基中添加不同类型外源激素以及其不同浓度梯度，每天观察蓝莓无根苗生长情况，如表 3 所示。

由表 3 可以看出，兔眼蓝莓在 1/2 WPM 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 0.2 mg·L⁻¹ 时效果最佳，第 20 天开始生根，生根率高达 74.4%（表中怎么是 63.3%），且根数在 4~6 条以上，根长 4 cm 以上，根粗、乳白色，叶绿色，侧芽生长旺盛，有效生根指根从茎基或皮部长出。在 IBA 含量为 0.1 mg·L⁻¹ 时第 28 天开始生根，开始生根时间明显推迟，且有效生根率也有所降低。在 IBA 含量 0.2 mg·L⁻¹ 的基础上继续增加其含量，有效生根率、开始生根时间及根生长情况都有所降低。而兔眼蓝莓在 1/2 WPM 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。在 1/2 WPM 基础培养基外加激素 BA 的培养基中，生根率较低，多数试管苗愈伤化严重，根茎维管束不通。

植物激素的种类及其浓度对试管苗根的诱导有调控作用。试验结果表明，诱导蓝莓组培苗瓶内生根的最有效的外源生长素是 IBA，但不同浓度的 IBA 其诱导效果也不相同，0.2 mg·L⁻¹ 的 IBA 诱导兔眼蓝莓生根效果最佳。这可能是由于当 IBA 低于 0.2 mg·L⁻¹ 时，随着 IBA 浓度的升高，茎基部形成的愈伤组织逐渐增多，当浓度高于 0.2 mg·L⁻¹ 时，基部形成的愈伤组织又逐渐减少。因为是愈伤组织分化成根原基，根原基进一步发育成根。愈伤组织过少，难以诱导形成根原基，过多则产生茎和根的维管束不相通^[14]。本试验中 NAA 诱导生根时，苗基部形成较多愈伤组织，不定根生长在愈伤组织上，粗而短，或从愈伤组织上分化出许多细根，移栽时根容易断落。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^[15]。试验中 BA 诱导生

根时，多数试管苗愈伤化严重，根茎维管束不通，这可能与 BA 的细胞分裂素活性很高有关。

2.2.2 活性炭浓度对生根的影响

在相同的外源激素种类和浓度条件下设置不同浓度的活性炭含量，每天观察蓝莓无根苗生长情况（图 2）。

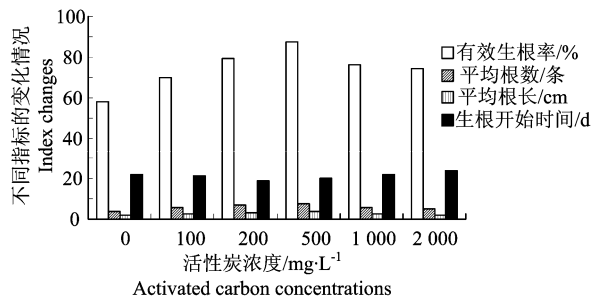


图 2 不同活性炭浓度对生根的影响

Figure 2 Effects of concentrations of activated carbon on rooting

通过实际观察和图 2 可知，培养基中添加活性炭对兔眼蓝莓试管苗生根有明显的促进作用，不但缩短生根时间，增加了生根率、生根数和根的平均长度，而且植株上部叶片浓绿，生长旺盛，说明活性炭对蓝莓生根起到了一定的促进作用。添加 200 mg·L⁻¹ 和 500 mg·L⁻¹ 的活性炭的生根率达到 80% 和 87.8%，平均生根数为 6.9 条和 7.4 条，根的平均长度为 3.2 cm 和 3.9 cm，生根开始时间缩短至 19~20 d。在 200~500 mg·L⁻¹ 的活性炭含量中，增加或减少其浓度，在相同培养基及外在条件下都不及 200~500 mg·L⁻¹ 的活性炭含量。

许多研究表明，活性炭能明显促进根的伸长生长^[16-17]。试验中使用活性炭也提高了生根质量，其原因可能是活性炭为根的生长营造了近似自然生长条件下的黑暗环境，吸附培养过程中植物细胞分泌以及培养基中有毒副作用的物质，有利于生根^[18]。但随着活性炭浓度增加其促进根生长的作用减弱。这可能是由于活性炭是一种吸附性较强的无机吸附剂，能吸附各种微量物质和微小颗粒，在吸附培养过程中植物细胞分泌的以及培养基中有毒副作用物质的同时，也吸附培养基中的营养成分^[19-20]。活性炭对蓝莓根生长有一定的促进作用，但须选择适宜的浓度。浓度过低，抑制作用弱；浓度过高会吸附很多活性物质，从而影响根的生长。在该试验中的活性炭对蓝莓根的生长有较好的促进效果，并且可以使植株的生长旺盛。因此若在培养基中加入活性炭，可考虑适当提高激素的浓度，能得到更好效果。

3 小结与讨论

由活性炭与 Vc 液对兔眼蓝莓外植体和愈伤组织形成中褐化的影响实验得出以下初步结论: (1) 当采用粉蓝的茎尖和茎段作外植体时, 经在培养基中加入活性炭和 Vc 液都能一定程度地抑制褐变现象, 促进外植体的生长, 但以活性炭的抑制作用较明显; 当 Vc 液与活性炭二者综合运用时, 并在活性炭浓度在 $100\sim 200\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 效果最好。(2) 培养基中加入活性炭和 Vc 液都能一定程度地抑制愈伤组织褐变现象, 但以活性炭的抑制作用较明显, 当 Vc 液与活性炭二者综合运用时, 并在活性炭浓度在 $200\sim 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 效果最好。

影响褐化的因子很复杂, 随植物的种类、基因型、外植体部位及生理状态、培养方式的不同, 褐化程度也不同^[21]。要想从根本上解决褐化问题, 还是需要对褐化发生的原因、生理遗传等做更深入的研究^[22]。

由外源激素的种类和浓度、活性炭对兔眼蓝莓组培苗瓶内生根的影响实验得出以下初步结论: (1) 当采用粉蓝健壮无根苗为供试材料进行生根培养时, 在培养基中加入外源激素时有助于根的生长, 且以 IBA 的效果最为明显; 当在改良 1/2 WPM 基础培养基中加入 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA, 效果最好。(2) 培养基中加入活性炭对蓝莓根的生长有极佳的促进作用, 在添加 $200\sim 500\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭后生根效果最好。

大量研究结果表明, 树木发生不定根的难易还取决于基因型, 这由本身遗传因素决定^[23], 表现为不同树种和同一树种不同品种甚至不同个体间发生不定根能力存在差异。此外, 不定根的发生与培养基、激素、光照等诱导条件也密切相关。影响生根的因子很复杂, 要想从根本上优化树木的生根, 还是需要对生根的原因、生理遗传等方面做更深入的研究。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 乌凤章, 土贺新, 陈英敏, 等. 我国兔眼蓝莓生理生态研究进展[J]. 北方园艺, 2006(3): 48-49.
- [3] 刘树英, 张志东, 吴林, 等. 兔眼越橘芽增生诱导培养基及激素的筛选[J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(1): 55-57.
- [4] Graham J, Greig K, McNicol R J. Transformation of blueberry without antibiotic selection [J]. Annals of Applied Biology, 1996, 128(3): 557-564.
- [5] Song G Q, Sink K C. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) [J]. Plant Cell Rep, 2004, 23(7): 479-484.
- [6] 翟晓巧. 木本植物组织培养褐化控制策略[J]. 河南林业科技, 200, 8(1): 38-40.
- [7] 田如英, 刘燕, 祁翔, 等. 兔眼蓝莓外植体抗褐化技术初探[J]. 北方园艺, 2009(12): 88-90.
- [8] 赵建萍, 柏新富, 蒋小满, 等. 蓝莓品种试管苗生根研究[J]. 林业科技, 2010(7): 59-61.
- [9] 孙书伟. 蓝莓组培苗瓶内生根研究[J]. 湖北农业科学, 2009(4): 786-788.
- [10] 刘用生, 李有勇. 植物组织培养中活性炭的使用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 214-217.
- [11] 王东霞, 力场杰. 如何对抗植物组织中的组织褐变[J]. 中国花卉盆景, 2002, 12: 29-30.
- [12] 朱至清. 二十世纪我国植物学家对植物组织培养的贡献[J]. 植物学报, 2002, 44(9): 75-84.
- [13] 夏志会, 于志勇. 碧桃的繁殖与栽培管理[J]. 河北林业科技, 2005(8): 113.
- [14] 林宗铿, 陈振东, 蔡坤秀, 等. 植物生长调节剂对白芦笋(*Asparagus officinalis* L.) 花药培养来源试管苗生根诱导的研究[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(4): 651-655.
- [15] 潘瑞炽. 植物组织培养[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2002: 23-24.
- [16] 韩文璞, 袁明莲. 活性炭在甜樱桃组织培养中的应用[J]. 落叶果树, 2001, 33(3): 7-8.
- [17] 李林, 黄忠良, 唐德瑞, 等. 蔗糖、活性炭对美国黄松不定芽增殖和生长的影响[J]. 福建林学院学报, 2005, 25(3): 260-263.
- [18] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] 刘用生, 李有勇. 植物组织培养中活性炭的使用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 214-217.
- [20] 王东霞, 力场杰. 如何对抗植物组织中的组织褐变[J]. 中国花卉盆景, 2002(12): 29-30.
- [21] 曹孜义, 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.
- [22] 曾镭, 刘燕. 植物组织培养中褐化问题的研究进展[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(14): 49-50.
- [23] Wojciech L, Grzegorz S, Dorota W. Field performance of highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. 'Herbert' propagated by cuttings and tissue culture [J]. Scientia Horticulturae, 2005, 106(2): 162-169.