

激素·草木灰及光质对“蓝丰”蓝莓组培苗诱导和增殖的影响

王 珊, 王永平*, 鲍华鹏 (江苏农林职业技术学院, 江苏句容 212400)

摘要 [目的] 筛选“蓝丰”蓝莓增殖的最优方法, 以降低成本, 提高增殖系数。[方法] 以蓝莓品种“蓝丰”为试验材料, 研究了不同激素、不同草木灰含量及不同光质对“蓝丰”蓝莓芽诱导及增殖的影响。[结果] 不同激素、不同草木灰含量及不同光质对蓝莓增殖均有影响; “蓝丰”最适的诱导培养基为 WPM + ZT 2.0 mg/L; “蓝丰”蓝莓最适的增殖培养基为 WPM + ZT 1 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 1.0 g/L; “蓝丰”蓝莓组培快繁以红光处理增殖效果最好。[结论] 建立了“蓝丰”蓝莓组培快繁体系, 为其大规模生产提供理论依据。

关键词 “蓝丰”蓝莓; 组织培养; 诱导; 增殖

中图分类号 S663.2 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)15-035-02

The Effect of Hormones, Plant Ash and Light Quality on Induction and Proliferation of “Berkeley” Blueberries Somaclone

WANG Shan, WANG Yong-ping, BAO Hua-peng (Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong, Jiangsu 212400)

Abstract [Objective] The aim was to screen the optimal methods of proliferation of “Berkeley” blueberries somaclone, in order to reduce costs and improve the multiplication factor. [Method] Using “Berkeley” blueberries as material, The effect of hormones, plant ash and light quality on induction and proliferation of “Berkeley” blueberries somaclone was studied. [Result] Different hormones, plant ash content and light quality all affected the blueberry proliferation; The optimum induction medium of “Berkeley” blueberry was WPM + ZT 2.0 mg/L; The optimal proliferation medium of “Berkeley” blueberry was WPM + ZT 1 mg/L + 0.08 mg/L NAA + 1.0 g/L plant ash; proliferation effect of “Berkeley” blueberry seed micropropagation treated with red light was best. [Conclusion] The study established rapid propagation system of “Berkeley” blueberry, in order to provide theoretical basis for the mass production of blueberry.

Key words “Berkeley” blueberries; Tissue culture; Induction; Proliferation

蓝莓(*Semen trigonellae*) 又称越橘或蓝浆果, 属杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium*)。其果实为蓝色或红色, 酸甜适中, 果实低能量且含有多种抗氧化成分, 具有极高的营养价值和医疗保健作用。蓝莓广泛分布于北半球, 野生蓝莓主要生长在美国和加拿大, 常分布在丘陵地带或海拔 400 ~ 1 400 m 的山地, 常见于山地林内或灌丛中^[1]。蓝莓适应性较强, 耐贫瘠, 病虫害少, 喜酸性土壤, 一般要求土壤 pH 为 4.5 ~ 5.5, 土壤腐殖质层有机质含量为 8% ~ 12%, 喜湿润, 抗旱性差^[5-6]。

蓝莓的繁殖方法主要是扦插和组织培养, 但由于插条来源受母株数量的限制, 组织培养法更适合蓝莓快速发展的需要^[7]。组培苗在阶段发育上比常规法育成的苗更健壮^[8-9]。国内外对蓝莓组培再生的研究已有较多报道。对蓝莓愈伤组织培养研究最早的是 Niekerson, 1978 年 Niekerson 找出了 2 种最有利于枝条增生的改良 Knops 培养基^[10]。此后又发现, 适合蓝莓组织培养快繁的为 1/2MS 培养基和 WPM 培养基, Wolfe 等^[11] 比较了 7 种基本培养基对“蓝丰”蓝莓芽诱导和生根的影响, 结果显示在 WPM 培养基上“蓝丰”蓝莓生长最好。目前用于蓝莓增殖的激素多采用玉米素(ZT), 但 ZT 价格昂贵, 提高了蓝莓组培苗的生产成本, 间接提高了蓝莓的市场价格, 影响了蓝莓的产业化发展, 笔者通过对比不同激素、草木灰及光质培养筛选“蓝丰”蓝莓增殖的最优方法, 以降低成本, 提高增殖系数。

1 材料与方

1.1 材料 供试材料为蓝莓品种“蓝丰”。于 2013 年 5 月

基金项目 江苏省农业三新工程“脱毒优质蓝莓种苗快繁技术集成与推广”(SXGC[2013]383)。

作者简介 王珊(1985 -), 女, 安徽宿州人, 助理实验师, 硕士, 从事园林植物组培快繁方面的研究。* 通讯作者, 教授, 从事组培快繁方面的研究。

收稿日期 2015-03-31

份采集“蓝丰”蓝莓当年生枝条, 去叶片, 留叶柄, 将其剪成 2 ~ 3 cm 含单芽的茎段, 用流水冲洗 4 ~ 6 h, 在超净工作台上用无菌水冲洗一遍, 在 75% 乙醇中浸泡 40 s, 用无菌水冲洗 2 次, 再用 0.1% 升汞消毒 8 min, 立即用无菌水冲洗 6 次, 用无菌滤纸吸去材料上的水分, 剪去芽两端的伤口, 留 1 ~ 2 cm 长的单芽茎段, 将芽朝上垂直接种到诱导培养基上。

1.2 方法

1.2.1 诱导培养。诱导培养基以 WPM 为基本培养基, 分别添加 0.5、1.0、2.0、4.0 mg/L ZT, 各培养基中均添加蔗糖 30 g/L、琼脂 7 g/L, pH 调至 5.4。每瓶接种 1 个外植体, 每处理接种 30 瓶, 3 次重复。培养室的温度控制在 27 ℃, 光照强度 2 000 ~ 2 500 lx, 光周期为 16 h/d。30 d 后统计各处理的出芽情况, 记录出芽率及芽的生长状况。

诱导率 = (每处理下外植体出芽数/每处理下外植体总数) × 100%

1.2.2 增殖培养。将初代培养中诱导出的新芽转接 2 代后, 分别接种到增殖培养基上进行增殖培养, 增殖培养基以 WPM 为基本培养基, 按激素 NAA、ZT、草木灰含量的不同, 设不同配方的增殖培养基 A1 ~ A7, 其中添加琼脂 7 g/L, 蔗糖 30 g/L, pH 调至 5.4。每个处理接种蓝莓无菌苗 30 瓶, 每瓶接 15 个蓝莓茎段。将接种好的蓝莓种苗放到培养室培养, 培养温度 27 ℃, 光周期 16 h/d, 光照强度 2 000 ~ 2 500 lx。30 d 后观察增殖情况, 记录主枝高度、丛芽数、丛芽质量、增殖倍数。

A1: WPM + ZT 0.5 mg/L + NAA 0.08 mg/L; A2: WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L; A3: WPM + ZT 1.5 mg/L + NAA 0.08 mg/L; A4: WPM + ZT 2.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L; A5: WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 1 g/L; A6: WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 2 g/L;

A7;WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 3 g/L。

1.2.3 光质培养。以 WPM + ZT1.0 mg/L + NAA0.08 mg/L 为基本培养基,将组培苗分别置于 6 种 LED 光源下培养,分别为红光(R)、蓝光(B)、红光:蓝光=1:1(1RB)、红光:蓝光=2:1(2RB)、白光(W)、普通白炽灯(CK),其中每个处理接种蓝莓无菌苗 12 瓶,每瓶接 15 个蓝莓种苗茎段。将接种好的蓝莓种苗放于不同处理条件下培养,培养温度 27 ℃,光强保持一致为 1 000 lx,光周期为 16 h/d。30 d 后统计主枝高度、茎粗、增殖倍数。

2 结果与分析

2.1 不同 ZT 浓度对蓝莓诱导芽的影响 从表 1 可以看出,添加不同浓度 ZT 的培养基对外植体芽的诱导效果有差异,ZT 浓度为 2.0、4.0 mg/L 的诱导效果较好,分别为 83.3% 和 86.6%,与 ZT 浓度为 0.5、1.0 mg/L 的诱导效果有显著差异。ZT 浓度为 4 mg/L 的诱导效果比 2.0 mg/L 的诱导效果略高,但差异不显著。由此可知,“蓝丰”蓝莓最适宜的诱导培养基为 WPM + ZT 2.0 mg/L。

表 1 不同 ZT 浓度对蓝莓外植体芽诱导的影响

ZT 浓度//mg/L	接种数//瓶	出芽数量//个	出芽率//%
0.5	30	12	40.0c
1.0	30	18	60.0b
2.0	30	25	83.3a
4.0	30	26	86.6a

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

2.2 不同激素浓度对蓝莓生长及增殖的影响 从表 2 可以看出,蓝莓芽增殖以 A5 处理效果最佳,增殖倍数达 13.8 倍,其次为 A6、A7 处理,分别为 12.2、12.6 倍,但两者差异不显著。A1 处理下的增殖倍数最低,仅为 5.8 倍。A5、A6、A7 3 个处理下的增殖倍数均高于前 4 个处理,而这 3 个处理分别添加了不同浓度的草木灰,说明在培养基中加入一定含量的草木灰能够提高蓝莓的增殖倍数,但随着草木灰浓度的增加,增殖倍数随之减小。A5 处理下的主枝高度最高,达 7.9 cm,丛芽数也达到最高即 6.8 个,且丛芽生长健壮。A6、A7 处理次之,高度分别为 7.3、7.4 cm,且随着草木灰浓度的增加主枝高度也随之减小,但 A6、A7 主枝高度差异不显著,丛芽数也较多,且丛芽粗壮,由于 A5、A6、A7 3 个处理均添加了不同浓度的草木灰,说明培养基中添加一定量的草木灰对蓝莓的主枝高度、丛芽数和丛芽质量具有较好的效果。而 A1 处理下的主枝高度最低,仅为 3.8 cm,丛芽数也仅为 1.8 个,

表 2 不同激素浓度对蓝莓生长及增殖的影响

处理	主枝高度//cm	丛芽数//个	丛芽质量	增殖倍数
A1	3.8e	1.8e	粗壮	5.8f
A2	4.9d	4.5d	粗壮	9.8e
A3	5.8c	5.2c	弱	10.4d
A4	5.6c	5.3c	弱	11.6c
A5	7.9a	6.8a	粗壮	13.8a
A6	7.3b	5.9b	粗壮	12.2b
A7	7.4b	6.0b	粗壮	12.6b

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

为各处理最低。

可见添加了草木灰的培养基对蓝莓的增殖倍数、主枝高度、丛芽数、丛芽质量均产生了有利影响,但草木灰的浓度并非越高越好,该试验中以添加 1 g/L 草木灰效果最好,当添加草木灰浓度高于 1 g/L 时,增殖倍数则有所下降,因此,“蓝丰”蓝莓的最佳培养基以 A5 处理最好,即 WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 1 g/L。

2.3 不同光质培养对蓝莓生长及增殖的影响 由表 3 可知,光质对“蓝丰”组培苗的增殖倍数有显著影响。在光照时间和温度相同的条件下,红光处理下增殖倍数最高,达到 9.6 倍,对于蓝莓的茎向生长较好且不利于褐化,其次是红蓝光 1:1 的处理,为 8.2 倍,最低的是对照处理,仅为 4.5,增殖倍数变化规律为 $R > 1RB > 2RB > B > W > CK$ 。不同光质培养对蓝莓主株高度也产生了显著影响,R 处理下主枝高度最高,达 9.0 cm,其次是 1RB、2RB 处理,CK 处理下的主枝高度最低,说明试验中的几种光照处理对蓝莓主枝高度均产生了促进作用,其中 W 处理与对照处理差异不显著。不同光质对蓝莓生长及增殖的影响表明,红光有利于蓝莓主枝增高,茎段增粗及增殖倍数的增加;其次,红蓝组合光 1RB 表现次之;与白炽灯相比,红光和组合光 LED 具有明显的优势,增殖苗健壮,株高较高,茎段增殖倍数大,有利于组培苗的生长。

表 3 不同光质对蓝莓生长及增殖的影响

处理	主枝高度//cm	茎粗	增殖倍数
R	9.0a	粗	9.6a
B	4.6d	细	6.8c
1RB	8.1b	粗	8.2b
2RB	7.1c	粗	7.5c
W	3.6e	细	4.6d
CK	3.4e	细	4.5d

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

(1)前人已经在不同的基本培养基上建立了不同品种蓝莓的繁殖体系,研究表明蓝莓更适宜在 WPM 培养基上生长与增殖,能够达到较大的增殖倍数和较好的生长效果。在基本培养基中添加一定浓度的 ZT 对芽的诱导率有明显促进作用。此外,蓝莓诱导芽的成活率还与蓝莓的生理特性、基因性状有关。在“蓝丰”蓝莓诱导培养过程中,外植体的保鲜对诱导芽的成活率非常重要,外植体的消毒时间与诱导芽的成活率相关,在试验过程中,无菌操作的严谨性也影响蓝莓诱导芽的成活率。

(2)在不同激素浓度对“蓝丰”蓝莓增殖影响的试验中,对蓝莓快繁较好的培养基为 WPM + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.08 mg/L + 草木灰 1 g/L。相对于其他浓度,ZT 浓度为 1.0 mg/L 时,“蓝丰”蓝莓增殖效果最好,当加入一定含量的草木灰时,能够提高蓝莓的主枝高度、丛芽个数及增殖倍数,且新增殖的丛芽较粗壮,质量较高。由于草木灰主要成分为碳酸

(下转第 42 页)

密度与穗粗(x_8)相关系数为 $-0.959\ 6$,呈极显著负相关,回归方程是 $y=5.89-0.15x_8$;密度与秃尖长(x_9)相关系数为 $0.953\ 7$,呈极显著正相关,回归方程是 $y=-2.37+0.47x_9$;密度与穗行数(x_{10})相关系数为 $-0.912\ 1$,呈极显著负相关,回归方程是 $y=19.82-0.79x_{10}$;密度与行粒数(x_{11})相关系

数为 $-0.963\ 4$,呈极显著负相关,回归方程是 $y=43.65-1.13x_{11}$;密度与百粒重(x_{12})相关系数为 $-0.982\ 3$,呈极显著负相关,回归方程为 $y=346.75-5.11x_{12}$;密度与出子率(x_{13})相关系数为 $-0.935\ 0$,呈极显著负相关,回归方程是 $y=95.40-1.35x_{13}$ 。

表2 穗部性状调查

处理	穗长//cm	穗粗//cm	秃尖长//cm	穗行数	行粒数	千粒重//g	出子率//%
①	17.6	5.1	0.1	15.7	38.0	321.4	88.8
②	17.4	5.1	0.1	15.6	37.6	320.1	88.1
③	17.1	5.1	0.2	15.4	37.2	318.7	87.2
④	16.8	4.9	0.5	15.1	36.8	312.8	87.0
⑤	15.7	4.7	1.1	14.2	35.6	308.8	86.4
⑥	14.5	4.6	1.6	13.8	33.9	304.5	84.7
⑦	13.0	4.5	2.1	11.8	33.1	299.3	81.9

3 结论与讨论

(1)随种植密度增加,周单8号产量先增后减,与其他品种相似^[1-2]。密度在6.00万株/hm²时,产量为9 148.15 kg/hm²,产量与种植密度的回归方程为 $Y=3\ 392.184\ 76+1\ 881.396\ 667X-159.318\ 306\ 9X^2$,对应的最佳种植密度为5.85万株/hm²,最高理论产量为8 946.08 kg/hm²。

(2)玉米单产是有效穗数、穗粒重等因素共同作用的结果。种植过稀,单株生长发育好,穗大、子粒饱满,但是不能充分利用土地、空间、养分和光照等资源,单位面积总穗数减少,导致单位面积产量不高;随着种植密度增加,单位面积穗数增加,光热资源得到有效利用,依靠群体优势,玉米单产提高^[3-5];种植过密,由于通风透光不良,抑制了单株生长发

育,导致穗小、粒轻甚至倒伏、空秆,单位面积产量降低。在生产实践中,应注意选择适宜的种植密度。

参考文献

[1] 杨国虎,李新,王承莲,等. 种植密度影响玉米产量及部分产量相关性状的研究[J]. 西北农业学报,2006,15(5):57-60,64.
[2] 周文伟,李桂枝,宋万友,等. 高产优质玉米新品种周单11号的选育及栽培技术[J]. 农业科技通讯,2008(9):106-107.
[3] 吕丽华,陶洪斌,夏来坤,等. 不同种植密度下的夏玉米冠层结构及光合特性[J]. 作物学报,2008,34(3):447-455.
[4] 王志刚,高聚林,任有志,等. 春玉米超高产群体冠层结构的研究[J]. 玉米科学,2007,15(6):51-56.
[5] TURGUT I,DUMAN A,BILGILI U,et al. Alternate row spacing and plant density effects on forage and dry matter yield of maize hybrids (*Zea mays* L.)[J]. J Agron Crop Sci,2005,91:146-151.

(上接第36页)

钾,为碱性,可能是在加入高浓度草木灰时,草木灰直接作用于蓝莓培养基,使得蓝莓培养基的pH发生了变化,也可能是沉淀了培养基中的钙离子。草木灰为植物燃烧后的灰烬,所以凡是植物所含的矿质元素,草木灰中几乎都含有^[12],研究表明5种草木灰浓度对羊肚菌菌丝生长均有促进作用,认为和草木灰所含成分有关,草木灰主要含有钾、钙、磷、镁、硫、铁、硅等,其中含钾、钙最多,因此在草木灰中起作用的不仅是钾素,还有磷、钙、镁和微量元素等^[13],草木灰对蓝莓的增殖也起到了促进作用,但哪种元素在发挥主要作用,仍有待于进一步研究。该试验是在添加ZT的同时添加了草木灰,如果只添加草木灰是否仍有明显的促进作用需要进一步论证。如果能用草木灰取代ZT,将大大降低生产成本。

(3)光在植物组织培养中所起的作用主要是在形态建成方面,但光质对植物细胞的某些分化过程所起的作用会因植物种类的不同而有所不同^[14]。即使是同一植物不同发育时期以及不同组织或器官对同一种光质的反应也不尽相同,从而表现出光质生物学的复杂性。对于“蓝丰”蓝莓而言,与白炽灯相比,红光和红蓝组合光LED具有明显的优势,增殖苗健壮,株高较高,茎段增殖倍数大,有利于组培苗的生长。红光和红蓝组合光LED促进了“蓝丰”蓝莓的增殖,间接降低

了生产成本。

参考文献

[1] 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.
[2] 李亚东,吴林,刘洪章,等. 越橘果实中营养成分分析[J]. 北方园艺,2004(3):22-23.
[3] 顾妮,王传永,吴文龙,等. 美国蓝浆果的引种[J]. 植物资源与环境学报,1998,16(4):33-37.
[4] 王连润,胡忠荣,李坤明,等. 蓝莓试管苗移栽及苗期管理技术[J]. 云南农业科技,2009(5):48.
[5] 姜冬,张利萍. 蓝莓的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(3):25-27.
[6] 孙贵宝. 关于蓝莓植物学特性的研究[J]. 天津农林科技,2004(5):39-41.
[7] 黄文江,刘庆忠,阙显照. 高灌蓝莓离体繁殖的研究[J]. 安徽师范大学学报:自然科学版,2004,3(9):314-316.
[8] 刘庆忠,赵红军. 高灌蓝莓的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(3):253.
[9] 刘庆忠,赵红军,郑亚芹,等. 高灌蓝莓微体繁殖技术研究初报[J]. 落叶果树,2001(5):44-46.
[10] 唐晓杰,葛春华,杜凤国,等. 北土越橘组织培养快速繁殖技术研究[J]. 北华大学学报:自然科学版,2005,6(3):262.
[11] WOLFE D E,ECK P,CHIN C. Evaluation of seven media for micropropagation of highbush bluebeng[J]. Hort Science,1983,18:703-705.
[12] 邹小龙,姜川,章小洪. 浅谈草木灰在食品加工行业中的应用与展望[J]. 价值工程,2014(2):278-279.
[13] 胡俊梅. 农作物秸秆资源化利用分析[J]. 广东农业科学,2010(4):207-210.
[14] 邓艳. 激素及LED光质对蓝莓和文心兰离体快繁的影响[D]. 南昌:江西农业大学,2011.