

# 试管外生根对蓝莓生长发育的影响

王春华, 孙世海\*, 张桂霞, 郭 茹, 叶 霞, 巢 阳

(天津农学院园艺园林学院, 天津 300384)

**摘 要:**以蓝莓组培苗为试验材料, 研究比较了组培苗瓶内生根与瓶外扦插生根对蓝莓生长发育的影响。试验结果表明: 两种生根方法获得的蓝莓幼苗, 其净光合速率、蒸腾速率、胞间 CO<sub>2</sub> 浓度、气孔导度等光合特征参数均无显著性差异; 在水分利用效率、叶绿素含量、可溶性糖含量与可溶性蛋白含量等指标上也无显著性差异; 幼苗主茎粗、新生枝数、主茎长、叶色指数等各生长指标亦无显著性差异。取带有 5~6 片展开叶的试管芽顶芽进行瓶外扦插生根, 移栽成活率达到 88%, 说明试管芽瓶外扦插生根是培育蓝莓幼苗的一种可行方法, 可用作蓝莓繁殖。

**关键词:** 蓝莓; 试管苗生根; 光合特征参数

中图分类号: S663.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2021)03-0086-04

## Effect of *Ex Vitro* Rooting for the Test-tube Seedlings on the Growth and Development of Blueberry

WANG Chunhua, SUN Shihai\*, ZHANG Guixia, GUO Ru, YE Xia, CHAO Yang

(College of Horticulture and Landscape, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

**Abstract:** It was studied that the effects of the *in vitro* and *ex vitro* rooting for the test-tube seedlings on the growth and development of blueberry. The results showed that there were no significant differences at net photosynthetic rate, transpiration rate, intercellular CO<sub>2</sub> concentration and stomatal conductance. There were also no significant difference at water use efficiency, chlorophyll content, soluble sugar content and soluble protein content. There were no significant differences at growth indicators including main stem diameter, number of new shoots, main stem length and leaf color index. The survival rate of transplanting reached 88% when the shoot buds with 5 to 6 pieces of expanded leaves were taken for rooting outside the bottle. The *ex vitro* rooting is a feasible method for the test-tube seedlings of blueberry.

**Key words:** Blueberry; *Ex vitro* rooting; Photosynthetic characteristic parameter

蓝莓(*Vaccinium uliginosum* L.)又名蓝浆果, 属杜鹃花科(Ericaceae), 越橘属(*Vaccinium*), 以灌木为主的多年生果树<sup>[1]</sup>, 风味独特, 营养保健价值高, 加工制品多<sup>[2-3]</sup>, 被联合国粮农组织列为五大健康食品之一<sup>[4]</sup>。随着人们对蓝莓需求量的增加, 蓝莓苗需求量也随之扩大。

蓝莓的繁殖方法有组织培养繁殖、扦插繁殖、种子繁殖。一般采用扦插繁殖和组织培养繁殖, 由于扦插繁殖已经满足不了市场对种苗的需求,

且扦插繁殖的繁殖系数低, 生根速度慢, 易携带病毒, 阻碍了蓝莓种植面积的扩大。采用组织培养技术进行蓝莓繁殖, 速度快、健康植株比例高<sup>[5]</sup>。生根分为组培苗瓶内诱导生根和组培苗瓶外扦插生根, 大多数研究表明瓶内生根速度慢。由此, 本研究进行了瓶内生根与瓶外生根移栽后对比试验, 通过光合参数、叶绿素含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、新枝数、主茎粗等指标, 对比分析蓝莓两种育苗方法, 筛选出适宜的蓝莓栽培方法, 同时为提高蓝莓光合效率, 进而提高产量、改善品质提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 供试材料

试验于 2017 年至 2018 年在天津农学院园艺专业实验室完成。供试蓝莓组培苗品种为蓝丰自

收稿日期: 2019-02-21

基金项目: 天津农学院研究生培养质量提升项目(2017YYPY006);  
天津市科技计划项目(17ZXBFNC00210)

作者简介: 王春华(1994-), 女, 在读硕士, 研究方向为植物快速繁殖与果树生产技术。

通讯作者: 孙世海, 男, 硕士, 教授, E-mail: sunshihai1980@sina.com

繁殖代苗,在 WPM+0.5 mg/L ZT+0.1 mg/L IBA 培养基上经多次继代增殖培养,进而瓶内生根培养和瓶外生根培养得到移栽苗。

## 1.2 方法

试管内生根组培苗培养采用改良 1/2 WPM,分别加入 IBA 0.1 mg/L、蔗糖 20 mg/L、琼脂 7 mg/L, pH 为 5.6 ~ 5.8,培养条件为温度 25 °C,光照强度 1 500 ~ 2 000 lx,光照时间 14 h/d。选择具有 3 ~ 5 条根、5 枚叶片的试管苗进行炼苗移栽。

蓝莓组培苗试管外生根培养先采用复壮培养基(改良 WPM+IBA 0.1 mg/L)获得健壮的试管芽。选择具有 5 枚叶片的健壮试管芽进行试管外扦插,扦插时先浸蘸 1 000 mg/L 的 IBA 5 s。扦插后放入小拱棚,保证温度 25 °C 左右,湿度 90% 以上。两种生根方式育苗基质为:草炭:蛭石:珍珠岩=3:1:1,所用黑色营养钵 6 cm×5 cm×5 cm,每个营养钵移栽或扦插 4 个材料。

试验采用成对试验设计,于 2018 年春季将两种生根方式获得的组培苗各 1 株移栽至同一花盆。移栽盆为长 20 cm、高 15 cm、宽 10 cm 长方形盆,共移栽 15 盆,即每盆内含瓶内及瓶外生根组培苗各 1 株。移栽基质为草炭:蛭石:珍珠岩=3:1:1,浇灌 1/10 WPM 配方的大量营养元素和铁盐营养液,在温室内培养,其他同常规栽培管理。

## 1.3 指标测定

光合特性测定采用便携式光合作用测定系统 CIRAS-3,于 9:30 ~ 10:30 测定,控制叶室中 CO<sub>2</sub> 浓度为 375 μL/L,温度 28 °C,光合有效辐射(PAR)为自然光。测定指标包括净光合速率(Pn)、蒸腾速率(Tr)、细胞间 CO<sub>2</sub> 浓度(Ci)、气孔导度(Gs)等。

采用乙醇法测定叶绿素含量,萘酚法测定可溶性糖含量,考马斯亮蓝 G-250 比色法<sup>[6]</sup>测定可溶性蛋白含量。采用 SPAD-502 叶绿素仪对叶片进行叶色指数测定。水分利用效率(WUE)采用净光合速率(Pn)与蒸腾速率(Tr)的比值<sup>[7]</sup>。

## 1.4 数据处理与分析

采用 Microsoft Excel 和 SPSS 22.0 进行数据处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 两种生根方式的蓝莓植株主要光合特性参数分析

由表 1 可知,瓶内生根与瓶外扦插生根获得的蓝莓植株,Pn、Tr、Ci、Gs 均无显著性差异。瓶内生根移栽的 Pn、Tr、Ci、Gs 平均值均大于瓶外扦插生根,但差值极小;两者 Pn 平均值相差仅 0.016 4 μmol/m<sup>2</sup>·s,其叶片对光能利用能力,合成生物量基本相同;两者 Tr 平均值差值为 0.172 8 μmol/m<sup>2</sup>·s; Ci 平均值差值为 3.756 0 μmol/m<sup>2</sup>·s; Gs 平均值差值为 1.720 8 μmol/m<sup>2</sup>·s。

表 1 不同生根方式的蓝莓植株光合特征参数比较

处理	Pn (μmol/m <sup>2</sup> ·s)	Tr (μmol/m <sup>2</sup> ·s)	Ci (μmol/mol)	Gs (μmol/m <sup>2</sup> ·s)	Pn/Tr
瓶内生根	7.959 6a	2.404 8a	343.181 8a	61.775 7a	3.309 9a
瓶外生根	7.943 2a	2.232 0a	339.425 8a	60.054 9a	3.558 7a

注:表中同列数据(平均值)后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),相同小写字母表示差异不显著( $P > 0.05$ ),下同

两者水分利用效率差异不显著性。瓶内生根 Tr 平均值大于瓶外生根,但是水分利用效率平均值小于瓶外生根,说明瓶外生根耗水量小而水分利用效率高,瓶内生根耗水量大水分利用效率低。

### 2.2 两种生根方式的蓝莓叶片叶绿素含量比较

叶绿素是植物进行光合作用的主要色素,在

光合作用的光吸收中起核心作用。由表 2 可知,瓶内生根与瓶外生根的叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、类胡萝卜素含量、叶绿素 a/b、叶绿素总量均无显著性差异;瓶内生根的叶绿素 a 与叶绿素 b 平均值都大于瓶外生根,但叶绿素 a/b 平均值瓶内生根却小于瓶外生根,说明叶绿素 a 与叶绿素 b 的含量与叶绿素 a/b 无明显的相关性。

表 2 瓶内与瓶外生根蓝莓叶绿素、可溶性糖和可溶性蛋白含量比较

处理	叶绿素 a (mg/L)	叶绿素 b (mg/L)	类胡萝卜素 (mg/L)	叶绿素 a/b	叶绿素总量 (mg/L)	可溶性糖 (%)	可溶性蛋白 (mg/g)
瓶内生根	7.303 3a	3.263 3a	2.626 7a	2.238 3a	10.573 3a	0.003 4a	3.617 6a
瓶外生根	6.410 0a	2.476 6a	1.943 3a	2.588 3a	8.890 0a	0.004 4a	3.379 3a

### 2.3 蓝莓叶片可溶性糖和可溶性蛋白含量比较

由表2可以看出,瓶内生根与瓶外生根的可溶性糖含量、可溶性蛋白含量均无显著性差异;可溶性糖含量瓶外生根平均值大于瓶内生根平均值,但含量均极小,二者差值为0.001 0%;可溶性蛋白含量瓶内生根平均值大于瓶外生根平均值,

差值为0.238 3 mg/g。

### 2.4 蓝莓叶片叶色指数和植株生长特性分析

由表3可知,主茎粗、新生枝条数、主茎长、叶色指数均无显著性差异,但其平均值瓶内生根均大于瓶外生根,差值小。

表3 瓶内与瓶外生根蓝莓生长指标的比较

处理	主茎粗(cm)	新生枝数(个)	主茎长(cm)	叶色指数(SPAD)
瓶内生根	0.477a	5.625a	44a	34.99a
瓶外生根	0.452a	4.75a	41.25a	33.44a

### 2.5 蓝莓试管芽瓶内生根与瓶外生根移栽后成活率分析

瓶内生根时,试管苗大小一致性较差,生根时间长;瓶内生根有部分根生长在基部愈伤组织上,这种根在试管苗移栽时易脱落,而生长在茎部的根牢固且易成活,由于在试管内已生根,移栽后管理相对容易。本试验选用不定根均生长在茎部的试管苗进行移栽,生根时间90 d,成活率92.7%(表4);孙书伟等<sup>[8]</sup>研究了外源激素对瓶内生根率的影响,30 d左右,生根率达100%;饶宝蓉等<sup>[9]</sup>发现瓶内生根45 d后,生根率达88%;宋刚等<sup>[10]</sup>发现瓶内生根36 d后,生根率达100%。

表4 蓝莓试管芽瓶内与瓶外生根移栽后成活率 %

试管苗(大小)	3~4片展开叶	5~6片展开叶
瓶内生根	-	92.7
瓶外生根	52.3	88.0

注:瓶内生根数据为茎段上直接发生不定根的试管苗移栽成活率;瓶外生根数据取带顶端生长点的试管芽进行扦插

瓶外生根时,剪取大小一致的顶芽蘸取外源激素扦插,易保持苗的整齐一致性,但管理时需要保持较高湿度、适宜温度,生根前必须叶面喷施营养液,生根后较易管理。本试验选取带顶端生长点的试管芽进行扦插,生根45 d后,移栽成活率88.0%(表4);顶芽大小对移栽成活率有明显影响。部分学者采用不带顶芽的茎段进行试管外扦插生根,生根率和移栽成活率较低。余宏傲等<sup>[11]</sup>研究表明,40 d后,生根率在95%以上;黄国辉等<sup>[12]</sup>研究表明,90 d后,生根率达66.5%;程淑云<sup>[13]</sup>研究表明,45 d后,生根率为73%。

## 3 结论与讨论

植物的光合特征是分析外界环境影响植物光合生理代谢的重要手段。试验中观察到,在1/2WPM

培养基中添加IBA 0.1~0.3 mg/L获得易成活根多健壮的组培苗。与孙书伟<sup>[8]</sup>的研究结论相似,此激素浓度可获得生根多健壮的组培苗。选用IBA 1 000 mg/L,浸蘸5 s,易获得瓶外生根的组培苗。与王雪娇<sup>[14]</sup>和宗树斌等<sup>[15]</sup>研究相近。瓶内生根与瓶外生根两种方法移栽的植株,Pn、Tr、Ci、Gs均无显著性差异,WUE无显著性差异,叶绿素含量无显著性差异。可溶性蛋白的积累有利于提高细胞的保水能力,对细胞的生命物质及生物膜起到保护作用,常用作筛选抗旱性的指标。两种生根方式的蓝莓组培苗可溶性糖含量与可溶性蛋白含量均无显著性差异。本研究可溶性糖含量极低,前人研究中,蓝莓叶片的可溶性含量均在2.5%以上<sup>[16-17]</sup>。其原因是本试验采用的是组培苗移栽且为一年生植株,并未开花结果。在植物生长过程中,可溶性糖含量不仅影响了植株的生长发育及呼吸代谢,而且决定了果实的风味及产量品质,有研究显示,其含量在叶片中与在果实中显著相关<sup>[18-19]</sup>。蓝莓为两年生结果植株,三年生植株大量结果,本试验的蓝莓苗尚未开花结果。因此其可溶性糖含量极低。各生长指标包括的主茎粗、新生枝数、主茎长、叶色指数均无显著性差异。这两种方法均可用作蓝莓繁殖。

关于组培苗两种方法移栽后植株比较还未有相关研究,大多数研究主要侧重于瓶外扦插生根最适宜的激素浓度<sup>[20-21]</sup>,瓶内生根最适宜的培养基及激素<sup>[22-23]</sup>等。由于瓶内生根时间长、配置培养基所用蔗糖、琼脂、玻璃器皿、培养室条件等,使得成本变高。因此,本试验结合前人研究,选择组培苗瓶外扦插生根移栽,获得的蓝莓幼苗整齐度好,较大的顶芽扦插生根,移栽后成活率高,试管外生根是一种可行方法,为蓝莓的繁殖提供指导依据。

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 ] 王珊珊,孙爱东,李淑燕.蓝莓的保健功能及其开发应用[J].中国食物与营养,2010(6):17-20.
- [ 3 ] 李亚东,张志东,吴林.蓝莓果实的成分及保健机能[J].中国食物与营养,2002(1):27-29.
- [ 4 ] 谢兆森,吴晓春.蓝莓栽培中土壤改良的研究进展[J].北方果树,2006(1):1-4.
- [ 5 ] 刘捷,吴小峰,刘学平,等.蓝浆果的组织培养及离体微繁殖技术研究[J].江苏农业科学,2007,(5):101-103.
- [ 6 ] 曹建康,姜微波,赵玉梅.果蔬采后生理生化实验指导[M].北京:中国轻工业出版社,2017:68-69.
- [ 7 ] 汤飞洋.4种杜鹃品种的光合特性及其抗旱性研究[D].杭州:浙江农林大学,2016.
- [ 8 ] 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.
- [ 9 ] 饶宝蓉,陈泳和,江文清,等.蓝莓夏普蓝组培苗繁殖技术研究[J].江西农业学报,2014,26(10):46-49.
- [ 10 ] 宋刚,徐银,宋金耀,等.蓝莓试管苗不定根的诱导研究[J].江苏农业科学,2011,39(6):89-91.
- [ 11 ] 余宏傲,王法格,叶朝军,等.'薄雾'蓝莓试管苗室内瓶外生根试验[J].中国果树,2017(1):37-39.
- [ 12 ] 黄国辉,姚平.蓝莓组培苗瓶外生根的研究[J].江苏农业科学,2011,39(4):227-228.
- [ 13 ] 程淑云.蓝莓组培苗瓶外生根技术的研究[J].农业科技通讯,2009(4):48-50.
- [ 14 ] 王雪娇,代志国,高庆玉,等.蓝莓组培苗瓶外扦插生根的研究[J].江苏农业科学,2017,45(4):30-32.
- [ 15 ] 宗树斌,王永平,顾立新,等.激素对蓝莓组培苗瓶外生根的影响[J].山东林业科技,2014(6):40-42.
- [ 16 ] 陈小民.外源亚精胺对干旱胁迫下蓝莓生理生化的影响[D].杭州:浙江农林大学,2017.
- [ 17 ] 董丽君,李树和,张子帆,等.不同浓度木醋液对蓝莓生长发育的影响[J].湖北农业科学,2018,57(6):88-89.
- [ 18 ] 马琴国,王引权,赵勇.蒽酮-硫酸比色法测定党参中可溶性糖含量的研究[J].甘肃中医学院,2009,12(6):46-48.
- [ 19 ] 牛松,李树和,董丽君,等.不同营养液配方对蓝莓幼苗生长影响的研究[J].天津农学院学报,2016,23(3):43-46.
- [ 20 ] 简大为.蓝莓阳光蓝组培苗瓶外生根技术研究[J].湖北农业科学,2016,55(19):5011-5012,5077.
- [ 21 ] 李京,张妍妍,张建璞.蓝莓组培苗瓶外生根技术的优化[J].林业科技,2013,38(5):4-6.
- [ 22 ] 黄作喜,胡东方,李强,等.蓝莓生根培养基的筛选[J].内江师范学院学报,2016,31(12):37-40.
- [ 23 ] 张凯,刘明群,赵建华,等.蓝莓品种都克组培苗瓶内生根培养研究[J].中国果树,2015(1):49-51.

(责任编辑:王丝语)

(上接第81页)

本研究表明马铃薯叶片 SPAD 值与叶绿素 a、叶绿素 b、总叶绿素相关程度与单株块茎重关系密切,单株块茎数和单株块茎重决定着马铃薯产量。综合以上分析结果可以看出,可以把 SPAD 值作为生理育种的指标,在早期选育出目标品系。

#### 参考文献:

- [ 1 ] 李合生.现代植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2002:137-141.
- [ 2 ] 中国植物生理学会.光合作用研究进展(第三集)[M].北京:科学出版社,1984:40-42.
- [ 3 ] 陈防,鲁剑巍.SPAD-502 叶绿素计在作物营养快速诊断上的应用初报[J].湖北农业科学,1996(2):31-34.
- [ 4 ] 屈卫群,王绍华,陈兵林,等.棉花主茎叶 SPAD 值与氮素营养诊断研究[J].作物学报,2007,33(6):1010-1017.
- [ 5 ] 艾天成,周治安,李方敏,等.小麦等作物叶绿素速测方法研究[J].甘肃农业科技,2001(4):16-18.
- [ 6 ] 曹树青,陆巍,翟虎渠,等.用水稻苗期叶绿素含量相对稳定期估算水稻剑叶光合功能期的方法研究[J].中国水稻科学,2001,15(4):309-313.
- [ 7 ] 雷泽湘,艾天成,李方敏,等.草莓叶片叶绿素含量、含氮量与 SPAD 值间的关系[J].湖北农学院学报,2001,21(2):138-140.
- [ 8 ] 程艳,吴春燕,张晓旭,等.蕹菜叶片 SPAD 值与叶绿素含量的相关性分析[J].东北农业科学,2018,43(4):44-47.
- [ 9 ] 张宝林,高聚林,刘克礼.马铃薯在不同密度及施肥处理下叶片叶绿素含量的变化[J].中国马铃薯,2003,17(3):137-140.
- [ 10 ] 苏云松,郭华春,陈伊里.马铃薯叶片 SPAD 值与叶绿素含量及产量的相关性研究[J].2007,20(4):690-693.
- [ 11 ] 肖关丽,郭华春.不同温光条件下不同马铃薯叶片 SPAD 值变化规定研究[J].中国马铃薯,2007,21(3):146-148.
- [ 12 ] 张宪政.植物叶绿素含量测定—丙酮乙醇混合液法[J].辽宁农业科学,2006(3):26-28.
- [ 13 ] Scott C Chapman, Hector J Barreto. Using a chlorophyllmeter to estimate specific leaf nitrogen of tropical maize during vegetative growth [J]. Agron Journal, 1997, 89: 557-662.

(责任编辑:王丝语)