

# 兔眼蓝莓外植体抗褐化技术初探

田如英<sup>1</sup>, 刘燕<sup>2</sup>, 祁翔<sup>2</sup>, 王济红<sup>2</sup>

(1. 铜仁职业技术学院 贵州 铜仁 554300; 2. 贵州省生物研究所 贵州 贵阳 550009)

**摘要:**首次较系统地研究了解决兔眼蓝莓外植体初代培养易褐化的问题。认为在剪切外植体时先用杀菌剂浸泡枝条有利于降低污染率,用抗坏血酸浸泡外植体后再消毒,外植体在接种后1~2 d内褐化率为0,在培养基中添加抗氧化剂和增加琼脂浓度,完全可以将外植体芽诱导过程中的褐化率降低到10%以下。

**关键词:**兔眼蓝莓; 外植体培养; 抗褐化

**中图分类号:**S 663.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2009)12-0088-03

兔眼蓝莓(*Vaccinium ashei* Reade)为杜鹃花科(Ericaceae)越橘属植物,原产于美洲亚热带地区,是目前广泛栽培的一个重要种,适宜于热带及亚热带丘陵地区种植。在我国主要适于长江流域以南、华南等地区的丘陵地带栽培<sup>[1]</sup>。兔眼蓝莓果实中花青苷色素含量很高而且种类丰富(VMA)<sup>[2]</sup>,VMA对眼睛有良好的保健作用,能够减轻眼的疲劳及提高夜间视力;VMA还具有预防心血管疾病、脑血栓、抗衰老等功效<sup>[3,5]</sup>。因而被国际粮农组织列为五大健康食品之一<sup>[4]</sup>。

中国也有丰富的越橘属植物分布,但栽培起步较晚,目前仅有少数报导。我国自20世纪80年代开始引种蓝莓欧美栽培品种,共达100余个。目前在中国共分为南、北两大生产区域<sup>[7]</sup>。随着蓝莓种植高峰的兴起,蓝莓组培快繁育苗技术的应用更是迫在眉睫。国内外有关兔眼蓝莓的组培育苗技术已有很多报道。Lyrene提出用改良Knop培养基繁殖兔眼越橘的体系,但其繁殖周期过长<sup>[8]</sup>;金炜等研究了兔眼越橘快繁体系的最佳激素组合<sup>[9]</sup>;刘树英等对兔眼越橘初代培养的基本培养基进行了筛选,但并未对快繁体系作进一步的探讨<sup>[10]</sup>;通过重复前人的试验,发现外植体在消毒接种过程中较容易褐化,究竟怎样解决外植体褐化的研究,目前尚未见报道。因此,为探索解决外植体初代培养中容易褐化的问题进行了如下试验研究。

**第一作者简介:**田如英(1967-),女,土家族,贵州铜仁人,硕士,副教授,现从事苗木培育和教学研究。E-mail: try222@126.com。

**通讯作者:**王济红(1970-),女,硕士,副研究员,现主要从事植物学研究工作。

**基金项目:**贵阳市小河区科学技术计划资助项目([2004]小科技合同字第16号)。

**收稿日期:**2009-06-20

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

兔眼蓝莓8号杰兔(Premier)。

### 1.2 消毒方法及外植体修剪方式

剪取腋芽饱满的半木质化枝条,先用自来水冲洗干净,然后浸泡在一定比例的洗涤剂加灭菌剂的混合液中1 h,冲洗干净,再用蒸馏水冲洗。在超净工作台上修剪成1~1.5 cm长带芽茎段,上剪口距芽0.4 cm,下剪口距芽0.6 cm。然后浸泡在1.5%的抗坏血酸溶液中30 min,无菌水冲洗3次;用75%酒精消毒30 s,无菌水冲洗5次,然后用0.1%升汞溶液消毒10 min,最后用无菌水冲洗5次。

### 1.3 培养条件

所有试验均在光培室进行。光照强度为1 000~1 500 lx,光照时间14 h/d,温度24~26℃。

### 1.4 试验方法

1.4.1 不同抗氧化剂和消毒剂对外植体褐化的影响  
将杰兔(Premier)外植体茎段分别浸泡在1.5%浓度抗坏血酸、柠檬酸、亚硫酸钠溶液中30 min,然后每种浸泡处理分别用0.1%升汞和10%过氧化氢按消毒程序处理10 min,取出外植体茎段摊晾在滤纸上,每处理15个外植体,4次重复每2 min观察外植体褐变时间。

1.4.2 不同培养基对外植体褐变的影响 **试验材料:**杰兔(Premier)。**处理1:**WPM培养基+ZT 1.0 mg/L; **处理2:**改良WPM培养基(刘庆忠)+ZT 1.0 mg/L; **处理3:**改良WPM培养基(刘庆忠)+抗氧化剂A 2 g/L+ZT 1.0 mg/L; **处理4:**改良WPM培养基(刘庆忠)+抗氧化剂B 2 g/L+ZT 1.0 mg/L,均添加琼脂6 g/L,蔗糖20 g/L,活性碳0.5 g/L,pH 5.5。每处理接种10个外植体,4次重复,5 d后观察外植体褐变数。

1.4.3 不同封口方式对外植体褐化的影响 **基本培养基:**改良WPM培养基(刘庆忠)+抗氧化剂B 2 g/L+

ZT 1.0 mg/L, 添加琼脂 6 g/L, 蔗糖 20 g/L, 活性碳 0.5 g/L, pH 5.5, 分别盛装于以下 4 种容器中: 100 mL 广口组培瓶棉花塞封口; 100 mL 广口组培瓶橡胶塞封口; 100 mL 广口组培瓶保鲜膜封口; 100 mL 广口组培瓶玻璃塞封口。每种处理接种 10 个外植体, 4 次重复, 每 5 d 观察记录 1 次。

2 结果与分析

2.1 不同抗氧化剂和消毒剂对外植体褐化的影响

从表 1 可知, 抗坏血酸和亚硫酸钠可以延迟外植体褐变时间, 柠檬酸没有效果; 消毒剂选用升汞较好, 过氧化氢对外植体毒害较大。

表 1 不同抗氧化剂和消毒剂处理对外植体褐变的影响

处理	开始褐变/ min	50%褐变/ min	全部褐变/ min
升汞+ 抗坏血酸	47	80	157
升汞+ 柠檬酸	0	0	0
升汞+ 亚硫酸钠	49	133	200
升汞	4	16	32
过氧化氢+ 抗坏血酸	7	12	24
过氧化氢+ 柠檬酸	0	0	0
过氧化氢+ 亚硫酸钠	5	10	21
过氧化氢	0		

2.2 不同培养基对外植体褐变的影响

从表 2 可知, 通过添加抗氧化剂的改良 WPM 培养基有利于抑制外植体的褐化, 处理 4 较处理 3 效果好。

表 3 不同封口方式对外植体芽诱导的影响

处理	10 d	20 d	30 d	40 d
棉花塞	褐化 2 瓶壁未见水珠	褐化 2 25 个产生灰绿色芽点	褐化 2 产生芽点伸长至 0.5 cm, 灰绿色 培养基开始干缩	芽点展叶 每芽平均 3 叶长 0.6 cm, 培养基干缩硬化
橡胶塞	褐化 6 瓶壁有少量水珠	褐化 8 未见芽点	褐化 8 10 个产生 0.2 cm 长嫩绿色芽点	芽点伸长至 0.5 cm, 鲜绿色, 活力好, 瓶内有水珠
保鲜膜	褐化 14 瓶壁大量水珠	褐化 25, 未见芽点	32 个褐化死亡	
玻璃塞	褐化 16 瓶壁大量水珠	褐化 31, 未见芽点	40 个褐化死亡	

3 结论与讨论

该试验首次较系统地研究了解决外植体初代培养易褐化的问题。认为在剪切外植体时先用杀菌剂浸泡枝条有利于降低污染率, 用抗坏血酸浸泡外植体后再消毒, 外植体在接种后 1~2 d 内褐化率为 0, 在培养基中添加抗氧化剂和增加琼脂浓度, 完全可以将外植体芽诱导过程中的褐化率降低到 10% 以下。

参考文献

[ 1 ] 顾嫻, 贺善安. 蓝浆果与蔓越橘[ M ]. 北京: 中国农业出版社, 2001.  
[ 2 ] 顾嫻, 王传永, 贺善安. 兔眼蓝浆果品种果实养分测定[ J ]. 植物资源与环境 1998 7(3): 33-37.  
[ 3 ] Leahy, Speroni M, Starr J. Martin Latest Developments in Cranberry Heath Research [ J ]. Pharmaceutical Biology, 2002 40( 1 ): 50-55.

但是在后期的芽诱导过程中 瓶内出现大量水珠, 所有处理外植体有继续褐化的现象。

表 2 不同培养基对外植体褐化的影响

处 理	接种数	保存数	褐变数	感染数
WPM	40	15	20	5
改良 WPM	40	27	10	3
改良 WPM+ 抗 A	40	31	5	4
改良 WPM+ 抗 B	40	38	2	0

2.3 不同封口方式对外植体褐化的影响

从表 3 试验结果看, 棉花塞封口方式外植体褐化最少, 20 d 后产生芽点, 30 d 和 40 d 后芽不断伸长生长, 灰绿色, 瓶壁不挂水珠, 30 d 以后培养基开始干缩、硬化; 橡胶塞封口方式褐化程度其次, 30 d 左右才开始产生芽点, 嫩绿色, 伸长生长较快, 到 40 d 时, 芽点伸长至 0.5 cm, 鲜绿饱满, 瓶壁四周挂有水珠, 枝条有继续褐化现象; 保鲜膜和玻璃塞 2 种封口方式褐化较严重, 基本上没有产生芽点, 到 30 d 时外植体大部分褐化死亡。通过如上试验观察发现, 培养瓶内湿度太大也是造成外植体褐化严重的原因之一。通气性较好的棉花塞虽然外植体褐化率较低, 芽点产生快, 但是后期培养基容易失水变干, 不利于芽的伸长生长, 因而瓶的封口方式以橡胶塞为好, 可以通过增加琼脂浓度来调节瓶内水分含量, 琼脂添加量以 10~15 g/L 最好。

[ 4 ] Toufexis A. The new source of vitamins[ J ]. Time 1992, 139( 14 ): 8.  
[ 5 ] Durham D G, Liu Z X, Richards R E. Unsaturated Ering triterpenes for Rubus pinfaensis[ J ]. Phytochemistry, 1996( 2 ): 505-508.  
[ 6 ] 於虹, 贺善安, 顾嫻. 我国和世界蓝浆果的发展前景[ J ]. 植物资源与环境学报, 2001, 10( 2 ): 52-55.  
[ 7 ] 於虹, 王传永, 顾嫻, 等. 中国蓝浆果生产现状[ J ]. 植物资源与环境学报, 2005, 14( 2 ): 42-48.  
[ 8 ] Lyrene P M. Micropropagation of rabliteye blueberries [ J ]. Hort-Science 1981, 15: 80-81.  
[ 9 ] 金炜, 陈品良, 顾嫻. 植物激素对越桔组织培养中侧芽增殖的影响[ J ]. 植物学通报 1991, 8( 2 ): 53-54.  
[ 10 ] 刘树英, 张志东, 吴林, 等. 兔眼越桔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.

# 施硅对草莓光合特性和产量的影响

王耀晶<sup>1</sup>, 刘鸣达<sup>2</sup>, 李 冬<sup>3</sup>

(1. 沈阳农业大学 理学院 辽宁 沈阳 110161; 2. 沈阳农业大学 土地与环境学院, 辽宁 沈阳 110161; 3. 辽宁省林业职业技术学院 林学系, 辽宁 沈阳 110101)

**摘 要:** 采取田间试验与室内分析相结合的方式, 研究了施硅对露地栽培草莓的光合特性和产量的影响。结果表明: 施硅可提高草莓叶片净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )与胞间  $CO_2$  ( $C_i$ ) 浓度, 降低蒸腾速率( $T_r$ ), 提高草莓植株对水分的利用; 施硅可提高草莓单株结果数、平均单果重, 降低畸形果数和病果数, 进而明显地提高草莓产量, 不同施硅处理和对照相比, 增产幅度达到 10.28%~29.24%, 当施硅量为 2.93 kg/667m<sup>2</sup> 时, 可获得最高产量。

**关键词:** 硅; 草莓; 光合特性; 产量

**中图分类号:** S 668.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)12-0090-03

尽管硅是地壳中含量居第二位的元素, 但其是否为植物的必需元素尚未有定论。已有的研究证实, 硅能够改善植物的生理活动、增强作物的抗病虫害能力、缓解逆境条件对作物的胁迫、改善作物品质、提高作物产量, 是许多作物的有益元素<sup>[1-3]</sup>。关于硅在草莓上的应用报道<sup>[4-5]</sup>尚不多见, 且以往研究施用的硅肥多为碱性硅酸盐, 因而究竟是由于改变了土壤 pH 条件, 或是陪伴离子的作用, 抑或是硅素的效应很难说清。该试验在调节 pH 和消除陪伴离子影响的基础上, 研究了施硅对草莓光合特性、结果情况和产量的影响, 以期在草莓生产中科学施用硅肥提供参考。

**第一作者简介:** 王耀晶(1972-), 女, 达斡尔族, 黑龙江省齐齐哈尔人, 博士, 副教授, 现从事化学和土壤与植物营养等方面的研究工作。E-mail: wyjsau@163.com。

**通讯作者:** 刘鸣达(1970-), 男, 内蒙古赤峰市人, 博士, 教授, 现主要从事土壤肥力和农业环境与生态方面的教学和科研工作。E-mail: mdsausoil@163.com。

**收稿日期:** 2009-06-20

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

田间小区试验于 2004 年 8 月至 2005 年 7 月在沈阳农业大学果树研究基地草莓园进行, 供试土壤有效硅 214.23 mg/kg, 全碳 35.65 g/kg, 有效磷 135.12 mg/kg, 有效钾 127.06 mg/kg, pH 6.86。供试草莓(*Fragaria ananassa* Duch.) 选用 1 a 生匍匐茎苗, 品种为幸香。硅肥和钾肥分别为化学纯硅酸钾和分析纯硫酸钾试剂。

### 1.2 田间试验

试验设 6 个处理, 4 次重复, 各处理随机区组排列。每 667 m<sup>2</sup> 施硅量(以 SiO<sub>2</sub> 计)分别为: 1.08 kg (Si1)、2.16 kg (Si2)、3.24 kg (Si3)、4.32 kg (Si4) 和 5.40 kg (Si5), 另设对照(CK)处理(即无硅处理)。硅肥作为基肥一次性施入, 用硫酸中和硅酸钾的碱性, 各处理间硫和钾的差异以硫酸钾补齐。草莓定植前施入腐熟农家肥 5 000 kg/667m<sup>2</sup> 和氮磷复合肥 50 kg/667m<sup>2</sup>。施肥整地后划定试验小区。小区长 2 m, 宽 1.5 m, 面积为 3.0 m<sup>2</sup>, 草莓株行距为 25 cm。每区栽种草莓 40 棵, 整个生育期按常规方法管理。

## Blueberry Rabbit Anti-browning Explants Technology

TIAN Ru-ying<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>2</sup>, QI Xiang<sup>2</sup>, WANG Ji-hong<sup>2</sup>

(1. Guizhou Tongren Vocational and Technical College, Tongren, Guizhou 554300, China; 2. Guizhou Province Institute of Biology, Guiyang, Guizhou 550009, China)

**Abstract:** In this paper, first systematically studied the rabbit eye blueberry explants early browning problem. It could reduce pollation rate by soaking explants into fungicide before cuttins the explants. With soaking the explants into ascorbil acid, the browning rate was 0 after ino culated 1 to 2 days. When added with anti-oxidants and increasins the agar concentration in medium, it could reduce the browning rate below 10% in the process of inducing bud explants.

**Key words:** Rabbit eye blueberry; Explant culture; Anti-browning