

樟叶越桔组培苗生根和移栽技术研究

赵展平^{1,2}, 何芳¹, 唐军荣², 罗旭璐², 赵平², 黄荐², 丁勇^{1✉}

(1.西南林业大学云南省高校林木生物技术重点实验室, 昆明 650224; 2.西南林业大学 国家林业局西南地区生物多样性保育重点实验室, 昆明 650224)

✉通信作者 丁勇(1979-), 男, 副教授, 主要从事植物生物技术及分子生物学方面的教学与研究工作, (E-mail) dingyong@swfu.edu.cn。

摘要 樟叶越桔 (*Vaccinium dunalianum* Wight) 是广泛应用于化妆品行业皮肤美白的天然美白活性剂原料熊果苷的主要植物来源之一, 采用植物组织培养技术进行种苗繁殖时, 现有的配方获得的生根苗基部会形成愈伤组织, 影响移栽。为解决樟叶越桔组培苗生根质量不佳、移栽成活率低的问题, 本研究以樟叶越桔继代苗为试验材料, 采用单因子实验从激素类型及浓度、培养基类型和蔗糖质量浓度对其生根的适宜条件进行了筛选, 并进一步研究了不同基质配比对樟叶越桔移栽苗存活率的影响。结果表明: 激素种类和浓度、培养基类型对樟叶越桔生根率影响最大, 其次为蔗糖质量浓度; 最适合樟叶越桔生根的激素及浓度为 IBA 2.0 mg·L⁻¹、基本培养基类型为 1/4MS、蔗糖质量浓度为 15 g·L⁻¹, 樟叶越桔组培苗最佳生根培养基为 1/4MS + IBA 2.0 mg·L⁻¹ + 活性炭 0.1 g·L⁻¹ + 蔗糖 15 g·L⁻¹, 生根率达 100%, 平均生根数为 7.67 条/株; 根系呈辐射状、基部无愈伤组织, 组培苗生长健壮、叶色浓绿; 樟叶越桔组培苗移栽时以全腐殖土基质为佳, 成活率达 83.7%, 植株叶片舒展, 生长状况良好。本研究建立的优化体系有效地提高了樟叶越桔组培生根苗的生根率和生根质量, 解决了后期移栽成活困难的问题, 为优良的樟叶越桔植株规模化生产提供了科学依据和技术支持。

关键词 樟叶越桔; 激素; 生根; 移栽; 组培苗

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201809011

Rooting and transplanting techniques of tissue culture plantlets of *Vaccinium dunalianum*

ZHAO Zhanping^{1,2}, HE Fang¹, TANG Junrong², LUO Xulu², ZHAO Ping², HUANG Jian², DING Yong^{1✉}

(1. Key Laboratory for Forest Biotechnology in Yunnan, Department of Education, Southwest Forestry University, Kunming 650224; 2. Key Laboratory of State Forestry Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming 650224)

Abstract *Vaccinium dunalianum* Wight is one of the main plant sources for arbutin which is widely used in cosmetic formulations as the natural active agents to whiten the skin. During the tissue culture process of *V. dunalianum*, the base of the rooting plantlets obtained by the current culture medium often formed the callus, which affected significantly the survival rate after transplantation. In order to improve the rooting quality of the proliferation plantlets and survival rate of the transplanted plantlets of *V. dunalianum*. The optimum medium components for the root induction of the proliferation plantlets of *V. dunalianum*, including hormone types and concentrations, medium types and sucrose concentrations, were analyzed by the single factor experiment, and further probed the effects of different substrate ratios on the survival rate of the transplanted *V.*

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31460076 , 21462040) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31460076 , 21462040)].

作者简介: 赵展平(1994-), 男, 湖南衡阳人, 硕士研究生, 主要从事代谢途径与分子生物学研究, (E-mail) frankzhaozhanping@outlook.com。

网络首发时间: 2018-12-11 09:00:38 **网络首发地址:** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/45.1134.q.20181208.0956.002.html>

dunalianum plantlets in this study. The results showed that the medium types and the hormone types and their concentrations had more significant effects on the rooting rate than sucrose concentration. For the root induction, the optimal hormone and its concentration were IBA 2.0 mg·L⁻¹, the optimal media was 1/4MS and the optimal sucrose concentration was 15 g·L⁻¹. The most suitable medium for the root induction of the proliferation plantlets of *V. dunalianum* was 1/4MS+ IBA 2.0 mg·L⁻¹+ activated carbon 0.1 mg·L⁻¹+ sucrose 15 g·L⁻¹, by which the rooting rate could reach 100%, and the average number of roots was 7.67 per plant. The root system of proliferation plantlets of *V. dunalianum* was radially extended and none callus was formed at the base of the rooting plantlets. In addition, the tissue culture plantlets of *V. dunalianum* grew strong and had dark-green leaves. For the transplantation of *V. dunalianum* plantlets, the optimal media for transplantation was the 100% humus, in which the survival rate reached up to 83.7%, and the tissue culture plantlets obtained by the experiments grew well and had healthy leaves. The optimization system established by this study, which had effectively improved the roots quality and rooting rate of the proliferation plantlets and the survival rate of the transplanted plantlets of *V. dunalianum*, and provided scientific and technological support for the large-scale production of high quality *V. dunalianum* plants.

Key words *Vaccinium dunalianum* Wight, hormone, rooting, transplanting, tissue culture plantlet

樟叶越桔 (*Vaccinium dunalianum* Wight) 又名饭米果、长尾越桔, 为杜鹃花科 (Ericaceae) 越桔属 (*Vaccinium*) 植物, 多年生常绿灌木, 生于山坡灌丛、阔叶林下或石灰山灌丛, 稀附生常绿阔叶林中树上, 偶成乔木, 全株可药用, 具有祛风除湿、舒筋活络等功效, 我国主产于云南、四川、贵州、西藏等地 (方瑞征, 1986)。本课题组研究发现樟叶越桔是一种富含熊果苷和咖啡酰熊果苷类物质的特殊民族资源植物, 是广泛应用于化妆品行业的皮肤美白天然活性剂原料熊果苷的主要植物来源之一 (Zhao et al, 2008)。樟叶越桔幼嫩叶芽经过一系列工艺后在云南彝族民间作为茶代用品饮用, 因形似雀嘴呈锥状, 又称“雀嘴茶”, 研究发现“雀嘴茶”和樟叶越桔阴干果实中氨基酸种类齐全, 含量丰富, 且含有丰富的矿质元素和营养素, 有较高的营养和保健价值 (杨芳等, 2011; 罗旭璐等, 2014^b)。樟叶越桔花冠淡绿带紫红色或淡红色, 还具有一定的观赏价值, 园林上可用于丛植或行道树 (王丽娜, 2010), 同时在城市绿化上也有广阔的应用前景。

樟叶越桔目前仍处于野生状态, 加上其原生境遭受破坏严重、植株生长缓慢, 导致樟叶越桔野生资源日益匮乏, 其种质资源保护利用与良种繁育技术亟待开发。常用的林木种苗繁殖方式包括种子繁殖、扦插繁殖和组培繁殖等。有研究者以野生樟叶越桔种子为实验材料, 研究了不同处理方法对樟叶越桔种子萌发的影响, 发现樟叶越桔种子萌发率均低于 70% (任国香等, 2017), 同时由于缺乏樟叶越桔优良家系, 种子繁殖易出现性状分离。采用传统的扦插繁殖技术开展樟叶越桔种苗繁育也存在需穗条多、对母株伤害大、繁殖速度慢等缺点。然而组培快繁技术则是一种有效的樟叶越桔植物资源开发和保护技术。当前, 国内外对越桔属多种植物的组培快繁技术研究已有报道, 使用组培快繁技术可使蓝莓茎段成活率高达 85.7%, 愈伤组织诱导率可达 88% (房小晶等, 2014); 和加卫和徐中志 (2007) 以云南越桔继代培养的芽苗转接于生根培养基中, 生根率达 78%, 炼苗成活率可达 90% 以上。目前本课题组已经就樟叶越桔的组织培养研究开展了一定的基础工作, 一是以野生樟叶越桔幼嫩带芽茎段为外植体, 建立了樟叶越桔的组织培养与快速繁殖体系, 外植体诱导萌发率为 83.33%, 生根率为 86.67% (罗旭璐等, 2014^a); 二是以樟叶越桔组培苗叶片为试验材料, 建立了樟叶越桔叶片诱导不定根的培养体系, 并试图通过定向培养植物细胞或组织来获取熊果苷和咖啡酰熊果苷类物质等活性次生代谢产物 (卜程洪等, 2018)。但还未有开展樟叶越桔生根苗的移栽炼苗研究。同时前期实验发现樟叶越桔继代培养苗转接于生根培养基中, 虽然生根率超过了 85%, 但并没有达到最佳; 同时, 现有生根配方获得的组培生根苗基部还存在大量愈伤组织, 导致移栽成活率低。

组培生根苗的质量直接会影响到移栽苗的成活率, 进而决定种苗的培育成本, 因此, 采用植物组织培养技术进行种苗生产, 要有完整的组培工艺流程, 其次要不断优化工艺流程, 以不断降低生产成本。基于此, 为了进一步完善樟叶越桔的组培快繁工艺流程, 降低育苗成本, 推进种苗的工厂化生产进程。本实验在前期研究基础上, 以樟叶越桔继代苗为试验材料, 从生根激素类型及浓度的比较、基本生根培养基的筛选、糖分浓度的筛选和移栽基质配比的筛选开展了研究, 旨在提高樟叶越桔组培苗生根率、生根质量以及移栽成活率, 降低生产成本, 为樟叶越桔的优良植株的繁育和规模化生产提供技术支持。

1. 材料与方法

1.1 植物材料

以云南省武定县产野生樟叶越桔离体培养后的继代苗为试验材料, 由西南林业大学国家林业局西南地区生物多样性保育重点实验室培育。

1.2 试验方法

1.2.1 试验材料预处理

将樟叶越桔丛生芽转接在 $1/2\text{MS} + \text{IAA } 1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{活性炭 } 0.1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基中进行壮苗处理 2 个月, 获得壮苗后的樟叶越桔继代苗, 并去除分裂素的影响, 再挑选叶色浓绿、生长健壮、无污染的继代苗接种在后续生根培养基上。培养基 pH 值为 5.8~6.0; 培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度 3000 lx, 每天光照 12 h; 50 d 后统计生根率; 试验于西南林业大学云南省高校林木生物技术重点实验室进行。

1.2.2 不同激素及浓度对樟叶越桔组培苗生根影响

以 $1/2\text{MS} + \text{琼脂 } 5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{活性炭 } 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为基础培养基, 设 IBA ($1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), NAA ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), IAA ($0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 共 12 个处理, 同时设置不加激素的空白对照组。每组处理 30 瓶, 每瓶 10 颗苗, 重复 3 次。

1.2.3 不同培养基对樟叶越桔组培苗生根影响

设置了 5 种不同的培养基类型, 分别为 MS、 $1/2\text{MS}$ 、 $1/4\text{MS}$ 、 $1/8\text{MS}$ 、WPM, 其他添加成分有 IBA $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、琼脂 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{活性炭 } 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、蔗糖 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。每组处理 30 瓶, 每瓶 10 颗苗, 重复 3 次。

1.2.4 不同糖分含量对樟叶越桔组培苗生根影响

以 $1/4\text{MS} + \text{IBA } 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} + \text{活性炭 } 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为基础培养基, 设置了 4 种蔗糖浓度, 分别为 $5 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $25 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $35 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。每组处理 30 瓶, 每瓶 10 颗苗, 重复 3 次。

1.2.5 不同基质比对樟叶越桔组培苗移栽成活影响

将生根培养基上植株健壮, 叶片舒展, 根系发达的生根苗放置移栽环境中闭瓶处理 7 d 后, 从培养瓶小心取出并冲洗残留培养基, 移栽至炼苗基质中。炼苗移栽基质设全腐殖土、红壤: 腐殖土 (1:1)、红壤: 腐殖土 (2:1)、红壤: 腐殖土 (4:1) 共 4 个处理, 每个处理均全面喷洒多菌灵, 浇透水后第二天进行移栽, 期间保证其空气温度不高于 30°C , 每个处理移栽 50 株樟叶越桔生根苗, 重复 3 次, 3 个月后统计其成活率。

1.3 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0 软件统计试验数据并进行显著性分析。按照下列公式计算生根率和成活率:

$$\text{生根率} = (\text{生根苗数} / \text{接种的总苗数}) \times 100\%$$

$$\text{成活率} = (\text{移栽后成活苗数} / \text{移栽总苗数}) \times 100\%$$

根据观察根系发达、粗壮的程度把组培苗生根状况描述为生根良好、生根较好、生根较差和生根差四个等级, 表中“生根良好”记为“++++”, “生根较好”记为“+++”, “生根较差”记为“++”, “生根差”记为“+”。

2. 结果与分析

2.1 不同激素类型及浓度对樟叶越桔组培苗生根影响

从表 1 可看出, 对照组的组培苗未生根, 不同 IAA 浓度处理的组培苗生根效果有差异但不显

著，根的数量少，基部少量愈伤组织，其最高生根率为 73.33%。不同浓度 NAA 处理下的组培苗生根率在随着 NAA 浓度的增加逐渐提高，在 NAA 2.0 mg·L⁻¹ 处理下生根率达到 80.00%，根系也随之变得发达、粗壮，但根的数量少，基部有大量愈伤组织。不同浓度 IBA 处理的组培苗生根效果呈现显著差异，随着 IBA 浓度的升高，组培苗生根率呈现先升高再下降的趋势，在 IBA 2.0 mg·L⁻¹ 处理下其生根率达到最高，为 81.67%，樟叶越桔的生根效果也最佳，根系发达、粗壮，呈辐射状，基部无愈伤组织，植株叶片舒展（如图 1、图 2）。

表1 不同激素类型及其浓度对樟叶越桔组培苗生根的影响
Table 1 Effects of different types and concentrations of hormone on rooting of the tissue culture seedlings of *V. dunalianum*

激素类型 Hormone type	激素浓度 Hormone concentration (mg·L ⁻¹)	平均生根率 Average rooting rate (%)	生根情况 Growth condition of root
IAA	0.5	73.33±1.52ab	+++
	1.0	60.67±6.11bc	+++
	1.5	68.83±3.75bc	+++
	2.0	61.00±3.61bc	+++
NAA	0.5	56.67±6.43cd	++
	1.0	60.17±5.97bcd	+++
	1.5	74.67±0.58ab	+++
	2.0	80.00±1.00ab	++++
IBA	1.5	47.77±6.94e	++
	2.0	81.67±1.52a	++++
	2.5	35.83±26.50e	+
	3.0	22.78±12.51e	+
对照 Control	0	0.00 ± 0.00f	无 None

注：数据以平均值 ± 标准差表示；同一列中不同小写字母表示处理间在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Data are expressed as mean ± SD; Values within the same column follow by the different lowercases are significantly different among treatments at the level of 0.05. The same below.



图 1 IBA 2.0 mg·L⁻¹ 处理下的植株
Fig.1 Plants under treatment of IBA 2.0 mg·L⁻¹



图2 IBA 2.0 mg·L⁻¹ 处理下的根部
Fig.2 Roots under treatment of IBA 2.0 mg·L⁻¹

2.2 不同培养基对樟叶越桔组培苗生根影响

从表 2 可看出，不同培养基处理的樟叶越桔组培苗生根率存在显著性差异。其中 1/4MS 培养基处理的组培苗生根率最高，达 97.22%，根系数量多且粗壮，植株生长健壮（如图 3、图 4）；其次是 1/2MS 的培养基，生根率达到 81.67%，生根数量也较多，植株生长也较好。而其他培养基处理的组培苗根系则较细，生根率较低，植株生长较弱。

表2 不同培养基对樟叶越桔组培苗的生根影响
Table 2 Effects of different media on rooting of tissue culture seedlings of *V. dunalianum*

培养基 Medium	平均生根率 Average rooting ratio (%)	生根情况 Growth condition of roots
MS	0.00±0.00e	无
1/2MS	81.67±1.53b	++++
1/4MS	97.22±2.55a	++++
1/8MS	66.67±8.61c	+++
WPM	12.78±6.31d	+



图3 1/4MS 处理后的植株
Fig.3 Plants under treatment of 1/4MS



图 4 1/4MS 处理后的植株根部
Fig.4 Roots under treatment of 1/4MS

2.3 不同糖分浓度对樟叶越桔组培苗生根影响

从表 3 可以看出，添加 5~35 g·L⁻¹ 蔗糖后，各处理组生根率均较高，其中蔗糖 15 g·L⁻¹ 处理下的组培苗生根率最高，达到 100%，且根数量最多，长度最长，呈辐射状，苗生长健壮，叶色浓绿（如图 5、图 6）。

表3 不同糖分含量对樟叶越桔组培苗生根影响
Table 3 Effects of different concentrations of sugar on rooting of the tissue culture seedlings of *V. dunalianum*

蔗糖浓度 Concentrations of sugar (g·L ⁻¹)	平均生根率 Average rooting rate (%)	根数 Root number	根长 Root length(cm)	生根情况 Growth condition of root
5	91.11±3.47b	7.00±1.00ab	1.83±0.29ab	+++
15	100.00±0.00a	7.67±1.53a	2.13±0.31a	++++
25	86.67±5.77b	5.00±1.00ab	1.47±0.42ab	+++
35	88.33±2.89b	5.67±0.58b	1.53±0.12b	+++



图 5 蔗糖 15 g·L⁻¹ 处理下的植株
Fig.5 Plants under treatment of sugar 15 g·L⁻¹



图 6 蔗糖 15 g·L⁻¹ 处理下的植株根部
Fig.6 Roots under treatment of sugar15 g·L⁻¹

2.4 不同基质配比对樟叶越桔组培苗移栽成活影响

从表 4 可看出，把樟叶越桔生根苗移栽入不同基质进行移栽驯化，发现移栽成活率随着红土比值的加大而逐渐降低，长势也变的越差。最适的基质为全腐殖土，成活率最高，达到 83.64%，且叶片舒展，生长状况良好（如图 7）。

表4 不同基质配比对樟叶越桔组培苗移栽成活率影响
Table 4 Effects of different substrate ratios on the survival ratio of transplanted tissue culture seedlings

基质 Substrate ratios	成活率 Survival rate (%)	生长状况 Growth condition
全腐殖土 The 100% humus	83.70	良好
红土：腐殖土（1：1） Red clay：Humus（1：1）	40.00	较差
红土：腐殖土（2：1） Red clay：Humus（2：1）	30.91	差
红土：腐殖土（4：1） Red clay：Humus（4：1）	34.55	差



图7 3个月后全腐殖土处理下的植株
Fig.7 The plants under treatment of humus after 3 months

3.结论与讨论

本试验通过研究不同激素类型及浓度、培养基类型和糖质量浓度等因素对樟叶越桔组培苗生根的诱导影响,获得樟叶越桔理想的生根培养基配方为: $1/4\text{MS} + \text{IBA } 2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{活性炭 } 0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 15 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, 生根率最高可达到 100%; 并进一步研究了不同基质对比对樟叶越桔移栽苗存活率的影响,得出樟叶越桔组培苗移栽时以全腐殖土基质为佳,成活率达 83.7%。

在植物组培快繁过程中,组培苗的生根及炼苗移栽是该工艺流程中最后两个核心环节。生根苗质量的好坏直接影响到后期的炼苗移栽,而移栽成活率的高低则直接影响组培快繁的生产成本。在组培苗的生根过程中,激素的类型及浓度对根系的形成最为关键。Ikeuchi et al (2016) 研究发现,植物能够再生缺失的组织和器官,通过激素诱导可加快再生进程。生长素对不定根的诱导效果在不同的植物中表现不同 (Abdulaziz & Bahrany, 2002)。生长素 IBA 和 NAA 对不定根的诱导比生长素 IAA 要稳定 (Al-Juboory et al, 1998), 有研究证明在多种植物中 IBA 对不定根的诱导作用效果较好 (Prakash et al, 1999; Rani & Grover, 1999; Fracro & Echeverrigaray, 2001)。本研究比较了一定浓度范围内的 IAA、NAA 和 IBA 三种激素对樟叶越桔组培苗生根的影响,结果表明 IAA 和 NAA 处理的樟叶越桔生根苗基部会存在大量愈伤组织,而 IBA 处理的樟叶越桔生根苗基部无愈伤组织,生根质量好,且生根率随着 IBA 浓度的升高先增加达到峰值后再降低的变化规律,这与野含笑 (曹基武等, 2015)、蓝莓 (韩德伟, 2013) 和笃斯越橘 (王振武等, 2015) 等植物的变化规律类似。本研究表明 IBA 浓度为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,樟叶越桔组培苗生根率最高且根系发达,该 IBA 最适浓度高于前

期课题组诱导樟叶越桔叶片产生不定根的 IBA 最适浓度 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA (卜程洪等, 2018), 推测樟叶越桔组培苗的茎和叶片响应 IBA 诱导生根的敏感度存在一定的差异。另外, 本实验只研究了不同单一激素及浓度对樟叶越桔组培苗生根的影响, 为了降低樟叶越桔组培快繁生产成本, 进一步提高组培苗的生根质量, 后续可从多种激素组合及其浓度对樟叶越桔组培苗生根的影响开展深入研究。

大量元素在对植物的生长发育有着极其重要的作用, 除氮元素外, 磷、钾、钙、镁等元素都对植物细胞酶活性有一定影响, 在植物新陈代谢过程中起着重要作用。程磊和胡宋英 (2003) 研究发现, 低浓度的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 有助于诱导根的形成和生长。本研究结果表明 $1/4\text{MS}$ 培养基处理的樟叶越桔组培苗生根率高、生根效果最好, MS 培养基处理下的樟叶越桔组培苗不生根, 推测是高浓度的大量元素 (如: Ca^{2+} 和 Mg^{2+}) 对樟叶越桔组培苗生根有抑制作用。郑小江和刘金龙 (2001) 在对天师栗茎芽组织培养研究中, 也发现高浓度的无机盐对生根有明显的抑制作用。而 $1/8\text{MS}$ 培养基较 $1/4\text{MS}$ 培养基处理下的樟叶越桔组培苗生根率又有所下降, 推测过低浓度的大量元素又无法满足组培苗生根的营养需求, 这与刘正娥等 (2012) 的研究结果类似。前期罗旭璐等 (2014^a) 研究结果发现 WPM 是最适宜培养基, 生根率为 86.67%, 而本实验结果显示 WPM 培养基处理下的樟叶越桔组培苗生根率只有 12.78%, 且其根系生长差, 原因可能与本研究中樟叶越桔组培苗生根处理前进行的壮苗处理有关, 其中的内在机理还需要进一步深入研究。

糖作为组培苗生命活动的碳源和能源物质, 同时具有调节渗透压和提高植物耐盐性的作用 (刘丽萍, 2006)。蔗糖在植物组织培养中得到了广泛的应用, 既可为植物生长提供能源, 又可促进植物组织分化。有研究发现蔗糖对植物根的生长有一定的调节作用, 严华兵等 (2011) 发现高蔗糖浓度能促进不定根的发生, 张硕等 (2012) 却发现蔗糖对小麦根的生长具有抑制作用, 而 De Faria et al (2004) 研究则表明不同蔗糖浓度对体外培养的石斛生根影响较小。本研究结果显示不同蔗糖浓度处理的樟叶越桔组培苗生根率均高于 85%, 表明蔗糖浓度对樟叶越桔组培苗生根的影响较小。可见, 蔗糖对植物组培苗根的生长影响因物种不同而不同。研究还发现在培养基中加入适量的活性炭, 既可吸附植物细胞分泌的毒性物质以及培养基中有毒副作用的物质, 也可为根的生长营造近似自然生长条件下的暗环境, 因此, 在生根培养基中添加活性炭可有利于生根 (刘根林等, 2001; 张文泉等, 2015; 冯汉青等, 2016)。

越桔属植物根系较弱, 没有侧根, 组培苗移栽阶段较难成活 (梁晓晶等, 2011), 因此对基质的要求也较高。在组培苗移栽过程中, 基质起着支持和固定植物的作用, 为植物提供相对适宜的生长环境。不同基质的保湿性、透气性和抗菌性等能力不同。樟叶越桔与蓝莓 (董朝莉, 2011)、蔓越橘 (张丽华, 2012)、红豆越橘 (田新华等, 2015) 等同为越桔属植物, 比较适合生长在疏松多孔、富含有机质、酸性的人工基质中。试验结果表明, 采用全腐殖土处理的樟叶越桔组培苗移栽效果最好, 炼苗成活率达 83.7%, 推测全腐殖土富含有机质且土质疏松透气, 利于植物幼苗生长。此外, 由于试管苗从高湿恒温的无菌环境转移到低湿变温的有菌环境, 适应能力较弱 (黄卓忠和严华兵, 2007), 因此, 对环境的要求非常严苛, 除对选用的移栽基质采取常规消毒处理外, 移栽后的管护同样尤为重要, 严格控制好温湿度, 否则极易造成移栽苗死亡。

参考文献:

- [1] ABDULAZIZ M, BAHIRANY A I, 2002. Effect of phytohormones on in vitro shoot multiplication and rooting of lime *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing[J]. *Sci Hort-Amsterdam*, 95(4): 285~295.
- [2] AI-JUBOORY K H, SKIRVIN R M, WILLIAMS D J, 1998. Callus induction and adventitious shoot regeneration of gardenia(*Gardenia jasminoides* Ellis) leaf explants[J]. *Sci Hort-Amsterdam*, 72(3-4): 171~178.
- [3] BU CH, ZHANG H, LUO XL, et al, 2018. Establishment of adventitious root culture system of *Vaccinium dunalianum*[J]. *J SW For Coll (Nat Sci Ed)*, 38 (3): 200-205. [卜程洪, 张詠, 罗旭璐, 等, 2018. 樟叶越桔不定根培养体系建立[J]. 西南林业大学学报 (自然科学版), 38 (3): 200-205.]
- [4] CAO JW, YUAN S, LIU CL, et al, 2015. Effect of different media and different hormone concentrations on growth of cutting roots of *Michelia skinneriana*[J]. *N Hortic*, 2015 (2): 64-67. [曹基武, 袁帅, 刘春, 等, 2015. 不同基质及激素浓度对野含笑扦插生根的影响[J]. 北方园艺, 2015 (2): 64-67.]
- [5] CHEN L, HU SY, 2003. Micropropagation of *Opuntia dillenii* (Ker-Gawl.) Haw. [J]. *Guihaia*, 2003 (3): 259-263+290. [程磊, 胡宋英, 2003. 仙人掌的微繁殖[J]. 广西植物, 2003 (3): 259-263+290.]
- [6] DONG CL, 2011. A comparative experiment on transplanting survival rate of tissue cultured Blueberry plantlets[J]. *J S Agric Sci*,

- 42 (11): 1375-1377. [董朝莉, 2011. 蓝莓组培苗移栽存活对比试验[J]. 南方农业学报, 42 (11): 1375-1377.]
- [7] FANG RZ. 1986. Studies on Chinese *Vaccinium*[J]. Acta Bot Yunnan, 8 (3): 239-259. [方瑞征, 1986. 中国越橘属的研究[J]. 云南植物研究, 8 (3): 239-259.]
- [8] FANG XJ, LI YX, WEN GQ, et al, 2014. Study on the tissue culture and rapid propagation of Blueberry[J]. Seed, 33 (9): 118-120. [房小晶, 李永霞, 文光琴, 等, 2014. 蓝莓组培与快繁技术研究[J]. 种子, 33 (9): 118-120.]
- [9] FENG HQ, DU BB, WANG QW, et al, 2016. The role of activated carbon in protecting the roots of wheat seedlings under cadmium stress[J]. Acta Ecol Sin, 36 (10): 2962-2968. [冯汉青, 杜变变, 王庆文, 等, 2016. 镉胁迫下活性炭对小麦幼根的保护作用[J]. 生态学报, 36 (10): 2962-2968.]
- [10] FRACRO F, ECHEVERRIGARAY S, 2001. Micropagation of *Cunila galioides*, a popular medicinal plant of South Brazil[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 64(1): 1~4.
- [11] HAN DW, 2013. Effect of rooting of tissue culture seedlings of Blueberry under IBA[J]. Jiangsu Agric Sci, 41 (7): 38-40. [韩德伟, 2013. IBA对蓝莓组培苗瓶内生根的影响[J]. 江苏农业科学, 41 (7): 38-40.]
- [12] HE JW, XU ZZ, 2007. Tissue Culture of *Vaccinium duclouxii* (Lévl.) Hand. -Mazz[J]. Plant Physiol Comm, 43 (2): 320. [和加卫, 徐中志, 2007. 云南越桔的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 43 (2): 320.]
- [13] HUANG ZZ, YAN HB, 2007. Advance in non-tube rootage technology for test-tube plantlets in vitro[J]. Guangxi Agric Sci, 38 (2): 124-12. [黄卓忠, 严华兵, 2007. 试管苗瓶外生根技术[J]. 广西农业科学, 38 (2): 124-12.]
- [14] IKEUCHI M, OGAWA Y, IWASE A, et al, 2016. Plant regeneration: cellular origins and molecular mechanisms[J]. Develop, 143(9): 1442-1451.
- [15] LIANG XJ, DAI GZ, ZHAI XL, 2011. Review of progress in tissue culture of Blueberry[J]. Heilongjiang Agric Sci, 2011 (6): 138-142. [梁晓晶, 代志国, 翟熙伦, 2011. 越橘组织培养研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2011 (6): 138-142.]
- [16] LIU GL, LIANG ZH, ZHU J, 2001. Effects of activated charcoal on plant tissue cultures: a review[J]. J Jiangsu For Sci Technol, 28 (5): 46-48. [刘根林, 梁珍海, 朱军, 2001. 活性炭在植物组织培养中的作用概述[J]. 江苏林业科技, 28 (5): 46-48.]
- [17] LIU LP, 2006. Effect of exogenous sucrose on seed germination, seedling growth, flavonoids accumulation and salt tolerance of roots in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) [D]. Nanjing: Nanjing Agric Univ: 35-39. [刘丽萍, 2006. 外源蔗糖对荞麦种子萌发、幼苗生长和黄酮积累及根系耐盐性的影响[D]. 南京: 南京农业大学: 35-39.]
- [18] LIU ZE, ZHU Y, LOU C, 2012. The effects of macronutrient components on tissue culture and rapid propagation of *Bambusa multiplex*[J]. J Bamb Res, 31 (1): 46-51. [刘正娥, 朱颜, 楼崇, 2012. 大量元素组成对孝顺竹苗组培快繁的影响[J]. 竹子研究汇刊, 31 (1): 46-51.]
- [19] LUO XL, TANG JR, LI N, et al, 2014^a. Tissue culture and rapid propagation of *Vaccinium dunalianum*[J]. Plant Physiol J, 50 (11): 1717-1720. [罗旭璐, 唐军荣, 李娜, 等, 2014^a. 樟叶越桔的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报, 50 (11): 1717-1720.]
- [20] LUO XL, ZHANG DG, LI YH, et al, 2014^b. Nutritional composition of dried fruits of in *Vaccinium dunalianum* Wight[J]. Jiangsu Agric Sci, 42 (1): 242-244. [罗旭璐, 张德国, 李永和, 等, 2014^b. 樟叶越橘阴干果实的营养成分[J]. 江苏农业科学, 42 (1): 242-244.]
- [21] PRAKASH E, SHA V K, SAIRAM R P, RAO K R, 1999. Regeneration of plants from seed-derived callus of *Hybanthus enneaspermus* L. Muell., a rare ethnobotanical herb[J]. Plant Cell Rep, 18(10): 873~878.
- [22] RANI G, GROVER I S, 1999. In vitro callus induction and regeneration studies in *withania somnifera* L. (Dunal)[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 57(1): 23~27.
- [23] REN GX, TANG B, OUYANG LP, et al, 2017. Effect of different treatments on the seed germination of *Vaccinium dunalianum*[J]. J Mt Agric Biol, 36 (4): 49-54. [任国香, 唐彪, 欧阳路平, 等, 2017. 不同处理方法对樟叶越桔种子萌发的影响[J]. 山地农业生物学报, 36 (4): 49-54.]
- [24] RICARDO T. DE FARIA, FABIANA N. RODRIGUES, LUCIANA DO V. R. OLIVEIRA, et al, 2004. In vitro *Dendrobium nobile* plant growth and rooting indifferent sucrose concentrations[J]. Hortic(Bras, Brasilia), 22(4): 780-783.
- [25] TIAN XH, XING YJ, ZHANG JY, et al, 2015. Study on key techniques of in vitro culture from *Vaccinium vitis-idaea* L. [J]. For Eng, 31 (2): 57-60. [田新华, 邢亚娟, 张建瑛, 等, 2015. 红豆越橘离体培养关键技术研究[J]. 森林工程, 31 (2): 57-60.]
- [26] WANG LN, 2010. Distribution and application on landscap garden of *Vaccinium*[J]. Heilongjiang Agr Sci, 2010 (6): 93-94. [王丽娜, 2010. 越橘资源分布及在园林绿化中的应用[J]. 黑龙江农业科学, 2010 (6): 93-94.]
- [27] WANG ZW, DAI ZG, PENG XX, et al, 2015. Study on induction of callus and rooting of tube seedling of *Vaccinium uliginosum* L. [J]. Jiangsu Agric Sci, 43 (12): 59-61. [王振武, 代志国, 彭醒醒, 等, 2015. 笃斯越橘愈伤组织诱导分化及试管苗生根研究[J]. 江苏农业科学, 43 (12): 59-61.]
- [28] YAN HB, YANG LT, LI JL, et al, 2011. The effects of different sucrose concentrations on the growth of *dioscorea fordii* Prain et Burk. in vitro plantlets[J]. J Trop Crops, 32 (07): 1325-1329. [严华兵, 杨丽涛, 李俊玲, 等, 2011. 不同蔗糖浓度对山薯组培苗形态发生途径的影响[J]. 热带作物学报, 32 (07): 1325-1329.]
- [29] YANG F, SHAO JL, YANG B, et al, 2011. Analysis of nutritional components in *Vaccinium dunalianum* Wight[J]. Modern Food Sci & Tech, 27 (12): 1516-1519. [杨芳, 邵金良, 杨斌, 等, 2011. 雀嘴茶营养成分的分析及评价[J]. 现代食品科技, 27 (12): 1516-1519.]
- [30] ZHANG C, HUANG YQ, ZHANG FX, 2012. Effects of sucrose on root growth and morphological change in common wheat[J]. J of Anhui Agr Sci, 40 (35): 16987-16988. [张硕, 黄豫谦, 张飞雄, 2012. 蔗糖对小麦根生长和形态学的影响[J]. 安徽农业科学, 40 (35): 16987-16988.]
- [31] ZHANG LH, 2012. Effects of soil improvement on growth and mineral nutrition of Cranberry[J]. Jilin: Jilin Agric Univ: 43-

44. [张丽华, 2012. 不同栽培基质对蔓越橘生长及矿质营养的影响[D]. 吉林: 吉林农业大学: 43-44.]
- [32] ZHANG WQ, HE ZG, YANG XZ, et al, 2015. Effects of pH and active carbon on the *Vaccinium Spp* tissue culture[J]. Cent S Forest Inv Plann, 34 (3): 55-57. [张文泉, 何志国, 杨秀钟, 等, 2015. 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, 34 (3): 55-57.]
- [33] ZHAO P, TANAKA T, HIRABAYASHI K, et al, 2008. Caffeoylarbutin and related compounds from the buds of *Vaccinium dunaliahum*[J]. Phytochem, 69(18): 3087-3094.
- [34] ZHENG XJ, LIU JL, 2001. Studies on tissue culture for bud of stem in *Aesculus wilsonii*[J]. Chin Trad Herb Drugs, 2001 (11): 79-81. [郑小江, 刘金龙, 2001. 天师栗茎芽组织培养研究[J]. 中草药, 2001 (11): 79-81.]