

# PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub>、CCC 对越橘试管苗生长的影响

蒋小满, 赵建萍, 柏新富, 丁洁

(鲁东大学生命科学学院, 山东烟台 264025)

**摘要:**以 WPM + ZT2.0mg/L 为基本培养基, 添加不同种类和浓度的 PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub>、CCC, 比较其对越橘试管苗生长的影响, 结果表明: PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub>、CCC 3 种生长延缓剂中, 10~40mg/L 的 B<sub>9</sub> 和 10~80mg/L 的 CCC 对越橘试管苗具有延缓生长的作用, 由此长成的小苗健壮, 茎粗叶茂, 生根率高。而越橘试管苗对 PP<sub>333</sub> 极为敏感, 在极低浓度下 (0.05mg/L) 仍对越橘试管苗的生长产生强烈抑制, 并使试管苗生长畸形。

**关键词:** 越橘试管苗; PP<sub>333</sub>; B<sub>9</sub>; CCC; 复壮

**中图分类号:** S666.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0188-03

越橘, 又称蓝莓, 属于杜鹃花科越橘属灌木, 原产北美, 是 20 世纪中后期发展起来经济价值很高的新兴优良果树<sup>[1,2]</sup>。越橘果实具有极高的食用和药用价值, 被国际粮农组织列为五大健康食品之一<sup>[3,4]</sup>。

我国具有较丰富的野生越橘资源, 但野生越橘品种产量太低、栽种品质差, 需要经过品种改良才能应用于果树生产<sup>[5]</sup>。关于越橘品种改良工作国内研究得较少, 而欧美国家早在 20 世纪 30 年代就开始对越橘进行品种改良, 目前已获得大量适于大面积栽培优良栽培品种。为解决国内越橘栽培品种短缺的局面, 我国陆续从国外引进了一些越橘优良品种<sup>[6]</sup>。越橘主要采用枝条扦插,

根条繁殖等方式进行繁殖<sup>[7]</sup>。但在引种初期, 采用扦插繁殖周期长, 繁殖率低。应用组培技术则可在短时间内得到大量组培苗<sup>[8]</sup>。但越橘组培苗植株纤弱、生根率很低, 如直接进行扦插或移栽成活率难以保证。因此, 有必要对越橘组培苗进行壮苗研究。本实验采用多效唑 (PP<sub>333</sub>)、比久 (B<sub>9</sub>)、矮壮素 (CCC) 3 种生长延缓剂处理越橘试管苗, 研究其对越橘试管苗生长的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为鲁东大学组培室提供的继代 8~10 代的越橘试管苗, 品种为北高丛越橘和半高丛越橘。

### 1.2 培养基的配制

本研究所用基本培养基为 WPM 培养基<sup>[9]</sup>。越橘试管苗继代培养基为 WPM + ZT (玉米素) 2.0mg/L + 蔗糖 30g/L + 琼脂 6.0g/L。培养基 pH 值调节为 5.0。

**第一作者简介:** 蒋小满 (1964-), 女, 教授, 硕士, 主要从事植物生理学研究 E-mail: jiangxiaoman@163.com。

**收稿日期:** 2007-01-10

[12] 周根余, 苗秀莲, 程磊. 影响安祖花试管苗生长的若干因素[J]. 上海师范大学学报, 1999, 28(4): 76-81.

[13] 王进茂, 郑均宝, 高秀丽. 花烛组织培养的研究[J]. 河北果树研究,

2000, 15(1): 69-74.

[14] 吕芝香, 王曼丝, 董建国. 不同碳源对甘薯块根愈伤组织的形成和生长的影响[J]. 植物生理学报, 1981, 7(2): 105-110.

## Rapid Micropropagation *Anthuium andraeanum* by Cutting the Callus

LIU Shi-quan<sup>1</sup>, XU Ling<sup>1</sup>, ZHONG Tong-sheng<sup>1</sup>, DENG Zhong-ri<sup>1</sup>, ZHOU Gen-yu<sup>2</sup>

(1. Department of Chemistry and Environment Engineering, Hunan City University, Yiyang, 413000; 2. Genetics Laboratory, Department of Biology, College of Life and Environment Science, Shanghai Normal University, 200234)

**Abstract:** The increasing weightiness rates and bud differentiation rates were studied by cutting the *Anthuium andraeanum* callus. It was cut in three ways: uncut, cut into pieces and cut into mince on media MS+6-BA1.0mg/L+IBA0.1mg/L. The results showed that cutting the callus into pieces was much better than the other ways. And the effort for roots differentiation by different content of IBA and sucrose were also researched. The best medium for roots differentiation is 1/2MS+IBA0.5mg/L adding 5% sucrose.

**Key words:** *Anthuium andraeanum*; Cut way of callus; Buds differentiation; Roots differentiation

采用常规高压灭菌方法<sup>9</sup>。

1.3 生长延缓剂处理

在越桔试管苗继代培养基中分别添加 PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub>和 CCC, 添加浓度如表 1 所示。

表 1 培养基中添加 PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub>和 CCC 的浓度

培养基编号	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
PP <sub>333</sub> (mg/L)	0	0.05	0.1	0.2	0.4	—	—	—	—	—	—	—	—
B <sub>9</sub> (mg/L)	0	—	—	—	—	10	20	40	80	—	—	—	—
CCC (mg/L)	0	—	—	—	—	—	—	—	—	10	20	40	80

1.4 试管苗培养

选取长势一致的越橘继代材料, 切取长度为 1.5cm 的中部茎段, 每茎段留 2~3 个茎节。每瓶转 4 段。每个处理接转 7 瓶。培养温度 25±2℃, 光照强度 2 000Lx, 每天的光照时间 16h。

1.5 指标测定

培养 40d 后, 测定各处理的株高、叶数、茎粗、叶面积、平均节间长、增殖数等。叶面积的测定: 将每个处理的试管苗的全部叶片展平铺在浸湿的滤纸上, 扫描仪扫描, 应用 ImagePro plus V5.1 积分软件获得总叶面积, 再根据叶片数计算每个叶片的平均叶面积。

1.6 试管苗生根

将生长延缓剂处理后的, 株高在 3cm 以上的试管苗转接到越橘生根培养基中, 30d 后统计生根率。生根培养基为 1/2WPM + IBA (吲哚丁酸) 1.0mg/L + 蔗糖 20g/L + 蛭石。

2 结果及分析

2.1 PP<sub>333</sub>对越橘试管苗生长的影响

培养基中添加 PP<sub>333</sub>对越橘试管苗的生长具有显著的抑制作用(见表 2)。低浓度(0.05mg/L)的 PP<sub>333</sub> 处理, 试管苗已出现茎杆发红、叶片加厚肥大、叶色异常现象。当 PP<sub>333</sub> 的浓度超过 0.1mg/L 时, 越橘试管苗矮小呈簇状, 叶片肥大变硬, 基部叶卷曲隆成半球形, 芽增殖减少, 有部分茎段不分化, 甚至死亡。北高丛越橘较半高丛越橘对 PP<sub>333</sub> 更为敏感。显然在供试的浓度范围内, PP<sub>333</sub>对越橘的纵向生长有强烈的抑制作用, 并抑制试管苗的增殖。

表 2 PP<sub>333</sub>对越橘试管苗生长的影响

品种	PP <sub>333</sub> 浓度 (mg/L)	平均株高 (cm)	叶数/株	平均茎粗 (mm)	叶面积 (mm <sup>2</sup> /片)	增殖数
北高丛越橘	0	7.7	8.33	0.51	3.64	27
	0.05	4.8	6.56	0.58	9.78	20
	0.1	2.3	5.71	0.64	7.10	26
	0.2	1.4	5.43	0.62	7.81	21
	0.4	1.1	6.41	0.63	11.56	12
半高丛越橘	0	4.3	6.58	0.53	7.39	74
	0.05	4.1	7.09	0.60	5.93	72
	0.1	2.6	6.73	0.48	5.57	76
	0.2	1.5	6.22	0.63	8.23	53
	0.4	1.1	5.63	0.64	8.20	24

2.2 B<sub>9</sub>对越橘试管苗生长的影响

培养基中添加 B<sub>9</sub>后对越橘试管苗的株高有一定抑制作用, 并随着 B<sub>9</sub>处理浓度的增大抑制程度增加(表 3), 当 B<sub>9</sub>浓度达 80mg/L 时, 北高丛越橘试管苗株高不到对照组的 1/3。B<sub>9</sub>处理后叶面积较对照组明显增大, 茎杆变粗, 使试管苗明显较对照组健壮。但半高丛越桔每株叶片数略有减少, 而半高丛越桔每株叶片数略有增加。从增殖率来看, B<sub>9</sub>对北高丛越橘试管苗的增殖有一定促进作用, 但对于半高丛越橘, 当 B<sub>9</sub>的处理浓度超过 20mg/L 时对试管苗的增殖有一定的抑制作用。

表 3 B<sub>9</sub>对越橘试管苗生长的影响

品种	B <sub>9</sub> 浓度 (mg/L)	平均株高 (cm)	叶数/株	平均茎粗 (mm)	叶面积 (mm <sup>2</sup> /片)	增殖数
北高丛越橘	0	7.7	8.3	0.51	3.64	27
	10	7.0	7.8	0.52	13.73	63
	20	4.8	7.5	0.60	9.13	35
	40	4.0	7.5	0.70	13.75	37
	80	2.5	6.7	0.65	23.41	27
半高丛越橘	0	4.5	6.6	0.53	7.39	74
	10	4.4	10.0	0.72	7.60	96
	20	3.2	6.3	0.61	7.71	44
	40	2.2	7.1	0.73	8.02	45
	80	2.0	6.3	0.79	8.66	55

2.3 CCC 对越橘试管苗壮苗的影响

培养基中添加 CCC 后, 不同的越橘品种的反应有所不同。各种浓度的 CCC 处理对北高丛越橘试管苗的株高均有抑制作用, 并随着 CCC 处理浓度的增大株高抑制程度增大(表 4)。同样, CCC 对试管苗的茎粗和叶面积具有显著促进作用, 试管苗明显较对照组粗壮, 但每株叶片数有所下降。CCC 的浓度在 10~40mg/L 的范围时对北高丛越橘试管苗的增殖具有一定的促进作用, 但 CCC 浓度达 80mg/L 时对试管苗增殖产生抑制。CCC 处理对半高丛越桔的影响则有所不同。培养基中添加 CCC 后, 试管苗的株高、叶片数、茎粗、叶片面积均大于对照组, 而试管苗的增殖数与对照组没有明显差异。

表 4 CCC 对越橘试管苗壮苗的影响

品种	CCC 浓度 (mg/L)	平均株高 (cm)	叶数/株	平均茎粗 (mm)	叶面积 (mm <sup>2</sup> /片)	增殖数
北高丛越橘	0	7.7	8.3	0.51	3.64	27
	10	7.9	7.5	0.67	14.69	28
	20	4.6	6.1	0.65	13.25	63
	40	5.7	6.6	0.70	12.10	58
	80	2.8	5.9	0.75	15.12	21
半高丛越橘	0	4.5	6.6	0.53	7.39	74
	10	9.0	7.3	0.60	7.59	72
	20	9.5	8.9	0.65	11.86	78
	40	9.2	10.2	0.67	8.20	72
	80	7.5	7.2	0.68	7.85	89

2.4 生长延缓剂处理后试管苗的生根情况

由表 5 可见, 不论是北高丛越橘还是半高丛越橘都

表现为: 经生长延缓剂壮苗后的无根试管苗的生根率明显高于对照组, 其中又以低浓度生长延缓剂处理后生根效果较好。显然, 试管苗经生长延缓剂处理后, 可以明显提高其生根率。

表5 生长延缓剂处理后对试管苗生根率的影响 (%)

品种	对照	B <sub>9</sub> (mg/L)				CCC (mg/L)			
		10	20	40	80	10	20	40	80
北高丛越橘	28.0	80.0	76.0	48.0	44.0	80.0	56.0	36.0	32.0
半高丛越橘	32.0	100	100	80	48.0	100	72.0	40.0	36.0

3 讨论

PP<sub>333</sub> 作为生长延缓剂已广泛应用于试管苗的壮苗及生根诱导<sup>[10~14]</sup>。尽管试管苗复壮及生根诱导所采用的 PP<sub>333</sub> 浓度因植物种类的不同有一定差异, 但试管苗壮苗所用浓度一般在 0.1 ~ 10mg/L 的范围内。试验结果表明, 越橘试管苗对 PP<sub>333</sub> 非常敏感, 在 0.05mg/L 的浓度下对试管苗的生长已经产生强烈的抑制效应, 试管苗生长异常, 显然, PP<sub>333</sub> 不适于越橘试管苗的复壮。CCC 和 B<sub>9</sub> 作为赤霉素的拮抗物, 抑制茎端下部区域的细胞分裂和伸长生长, 使生长速率减慢, 导致植物体节间缩短, 诱导矮化<sup>[15~16]</sup>。在试验中, B<sub>9</sub> 和 CCC 对越桔试管苗的抑制存在基因型差异, 北高丛越橘对 B<sub>9</sub> 和 CCC 反应更加敏感一些, 表现为株高的降低, 茎粗、叶面积的增大, 每株的叶片数减少, 而 CCC 对半高丛越橘不仅对株高没有抑制作用, 反而起促进作用, 但同时对叶片数量、茎粗和叶面积也起到一定的促进作用。所以, 就越橘试管苗的复壮而言, B<sub>9</sub> 和 CCC 均有较好的表现, 不仅可以适度抑制试管苗的纵向生长, 使试管苗生长健壮, 提高后期的生根率, 而且对不定芽的增殖有一定的促进作用, 显然这对越橘试管苗的快速繁殖非常有利。不同越橘品种对生长延缓剂的不同反应可能与赤霉素的合成有多条途径, B<sub>9</sub> 和 CCC 对每条合成途径的抑制作用可能存

在差异有关<sup>[17]</sup>。

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).  
[2] 李亚东, 姜惠铁, 张志东, 等. 中国蓝莓产业化发展的前景[J]. 沈阳农业大学学报(社会科学版), 2001, (1).  
[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).  
[4] 陈卫. 蓝莓及其营养保健功能[J]. 中外食品, 2003, (7).  
[5] 修英涛, 常凤英, 姜河, 等. 我国蓝莓(越橘)栽培研究现状及发展措施[J]. 辽宁农业科学, 2003, (03).  
[6] 邵达元. 关于开展蓝莓果引种试栽研究的论证意见[J]. 烟台果树, 2006, (2).  
[7] 马艳萍. 蓝莓的生物学特性、栽培技术与营养保健功能[J]. 中国水土保持, 2006 (2).  
[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, (03).  
[9] 崔德才, 徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003. 5.  
[10] 赵建萍, 蒋小满, 柏新富, 等. PP<sub>333</sub>、B<sub>9</sub> 和 CCC 对脱毒马铃薯试管苗繁殖的影响[J]. 植物生理学通讯, 2003(6).  
[11] 李明军, 陈明霞, 洪森荣, 等. NAA、IBA 和 PP<sub>333</sub> 对怀山药试管苗生长发育的影响[J]. 广西植物, 2004, (4).  
[12] 翟进升, 常兴亚, 张军. NAA 和 PP<sub>333</sub> 对人参组培苗素质的影响[J]. 中国农学通报, 2004, (5).  
[13] 邱运亮. PP<sub>333</sub> 对八仙花试管苗快繁的影响研究[J]. 中国农学通报, 2005(4).  
[14] 徐启江, 李玉花, 陈典. PP<sub>333</sub> 对分蘖洋葱试管苗增殖和生根的影响[J]. 植物生理学通讯, 2004(3).  
[15] 王小兰, 李同祥. 生长抑制剂对甜菜种质试管保存的影响效应[J]. 中国糖料, 2005, (4).  
[16] 赵成章. 植物生长延缓剂 MET 在水稻组织和细胞培养中的作用[J]. 植物学通讯, 1992, 9(增刊).  
[17] 余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 1998, 439-457.

Effects of PP<sub>333</sub>, B<sub>9</sub> and CCC on Tube-plantlets Growth of Cowberry

JIANG Xiao-man, ZHAO Jian-ping, BAI Xin-fu, DING Jie  
(Institute of Life Science, Ludong University, Yantai 264025)

**Abstract:** To test effects of PP<sub>333</sub>, B<sub>9</sub> and CCC on tube-plantlets growth of cowberry, we added them at different concentrations respectively to the base medium (WPM+ZT 2.0mg/L). The results showed that B<sub>9</sub> (10-40mg/L) or CCC (10-80mg/L) could slowdown the growth rate of tube-plantlets. After treating with B<sub>9</sub> or CCC, the plantlets grew strong, the stem became thickset, and the rooting rate became higher. The tube-plantlets of cowberry were very sensitive to PP<sub>333</sub>. The growth of tube-plantlets was sorely restrained at very low concentrations of PP<sub>333</sub> (0.05mg/L), and the tube-plantlets grew abnormally.

**Key words:** Tube-plantlets; Cowberry; PP<sub>333</sub>; B<sub>9</sub>; CCC; Rejuvenation