

不同激素水平对蓝莓增殖的影响

张彩玲^{1,2}, 朱延明¹

(1. 东北农业大学 生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 黑龙江农业经济职业学院, 黑龙江 牡丹江 157041)

摘 要:选取生长旺盛的蓝莓幼嫩枝条作为外植体,以改良的 WPM 为基本培养基,研究了 ZT 和 BA 对不定芽的影响,以及细胞分裂素和生长素的组合对不定芽的影响。结果表明:以改良 WPM 为基本培养基添加 ZT 1.5 mg/L,蔗糖 20 g/L 适合外植体的诱导和增殖,增殖倍数可达 40 倍以上。

关键词:蓝莓;增殖;激素

中图分类号:S 663.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)04-0141-02

蓝莓(*Blueberry*)属杜鹃花科越桔属(*Vaccinium*)多年生落叶或常绿灌木,果实为浆果。全世界约 400 个种,我国约 91 个种 28 个变种,主要分布于东北和西南地区,因含有其它果品中少有的特殊成分以及丰富的钾、铁、锌、锰等微量元素,被誉为“浆果之王”。目前,世界上蓝莓种植面积较大的国家有美国、加拿大、波兰、荷兰等,我国蓝莓主要分布在东北地区,有近 20 a 的引种栽培历史,同时内蒙古、山东、浙江、贵州、云南等地也因地制宜地引种栽培了蓝莓^[1]。该试验通过不同激素水平对蓝莓增殖情况进行研究,筛选出最适合蓝莓增殖的培养基,为今后蓝莓的工厂化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

蓝莓材料采集于黑龙江农业经济职业学院试验田,该材料于 2007 年 3 月由黑龙江省农业科学院引种,试验品种有美登(*Blomidon*)和北陆(*Northland*)。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌体系的建立 选长势旺盛的幼嫩枝条,除去所有叶片,切取除顶芽外的第 3~10 节茎段作外植体^[2],把经过预处理的材料在无菌条件下,放进 75% 的酒精中,约 30 s 后用无菌水冲洗 2~3 次,用 0.1% 的升汞浸泡 10 min,再用无菌水冲洗 5 次。将材料切成 1 cm 左右的茎段,接种于事先配制好的培养基中。

1.2.2 基本培养基的选择 试验选择 MS、B₅、WPM 和改良 WPM 为基本培养基,激素用量相同,培养基中添加蔗糖 20 g/L,琼脂粉 5 g/L,pH 5.8,培养温度为 25℃,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h/d,培养 40 d 后统计萌发率。改良的 WPM 基本培养基(Lloyd 和 McCown, 1980),为 Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 684 mg/L, KNO₃ 190 mg/L, C₁₀H₁₃FeN₂NaO₈ 73.4 mg/L 和盐酸硫胺素 0.1 mg/L 取

代原 WPM 培养基中的 K₂SO₄、CaCl₂、FeSO₄ 和 Na₂-EDTA^[3]。

1.2.3 丛生芽的诱导与增殖 以改良的 WPM 为基本培养基,附加不同种类和浓度的激素,培养 45 d 后统计不同培养基上的芽增殖数目,其它的条件和基本培养基筛选的条件相同。

2 结果与分析

2.1 不同的基本培养基对茎段再生的影响

该试验选用了不同的基本培养基(表 1),所用培养基均附加 ZT 1 mg/L,每瓶接种 1~2 个茎段,接种时把茎段平放,芽点接触培养基,每种培养基接种 30 瓶。由表 1 可知,MS 培养基和 B₅ 培养基上基本没有任何的萌发,WPM 培养基和改良的 WPM 培养基均有不同程度的愈伤组织和不定芽的分化,相比较而言,改良 WPM 培养基分化的效果要好一些,可达到 87.5%,但分化出的愈伤组织和不定芽的生长比较缓慢。

表 1 不同培养基对茎段再生的影响

基本培养基	接种数/个	分化率/%
MS	30	0
B ₅	30	0
WPM	40	65
改良 WPM	40	87.5

2.2 不同浓度的 ZT 和 BA 对不定芽诱导的影响

在无菌条件下,取已经分化出的芽作为接种材料,接种到以改良 WPM 为基本培养基附加不同浓度 ZT 和 BA 的培养基中,45 d 后进行统计(表 2),带芽的茎段生长 20 d 左右,在基部形成了少量的愈伤组织,有的在愈伤组织上开始分化出苗,有的在腋芽处开始分化出苗。由表 2 可看出,不同浓度的 ZT 和 BA 对芽的生长表现明显不同,ZT 的分化效果明显好于 BA,在 ZT 浓度为 1.5 mg/L 时,试管苗的增殖倍数最高,可达 40 多倍,而且芽生长健壮,几乎没有无效苗(图 1),随着 ZT 浓度的升高,增殖倍数反而降低,当浓度达到 3 mg/L 时,试管苗有玻璃化现象,而且无效苗增多。

第一作者简介:张彩玲(1981-),女,硕士,讲师,现从事植物组织培养研究工作。E-mail:zcl-422@163.com。

收稿日期:2010-11-19

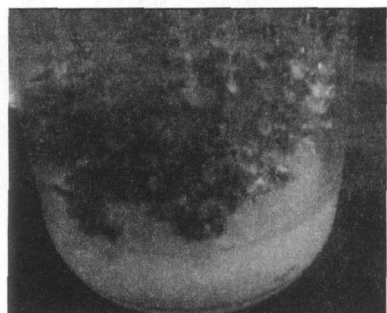


图1 增殖的蓝莓

表2 不同浓度 ZT 和 BA 对不定芽诱导的影响

激素	浓度 /mg · L ⁻¹	接种数 /个	分化率 /%	增殖倍数	试管苗生长情况
ZT	1	60	58.3	3.7	生长缓慢,分化差
	1.5	60	96.7	40.2	分化丛生苗多,质量好
	2	60	100	31.3	分化快,形成苗多
	3	60	100	18.7	苗质量差,愈伤紧密
BA	1	60	0	0	无苗的分化
	2	60	25	1.8	少量分化,增殖苗少
	3	60	75	13.4	部分分化,增殖少
	4	60	66.7	9.4	部分分化,长势弱

2.3 不同细胞分裂素和生长素对不定芽增殖的影响

将长高的不定芽切成 2 cm 左右的茎段,每个茎段至少含有 1 个腋芽,接种在以 WPM 为基本培养基附加不同细胞分裂素和生长素的培养基上(表 3),45 d 后统计增殖倍数。由表 3 可看出,当细胞分裂素与生长素组合时,不定芽的增殖倍数与单独用细胞分裂素时的增殖倍数相比没有增加反而下降,ZT 和 NAA 组合时,有大量的愈伤组织形成,分化率低,基本上不增殖,当 BA 和 NAA 组合时,愈伤组织形成的少,但是外植体处于不生长和不死亡的状态,有少量外植体从腋芽处增殖(图 2)。可见添加 NAA 不利于不定芽的增殖。

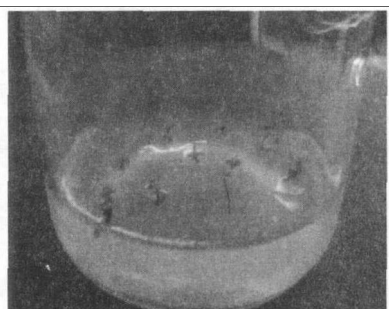


图2 没有增殖的蓝莓

表3 不同浓度细胞分裂素和生长素对不定芽增殖的影响

激素组合 /mg · L ⁻¹	接种数 /个	分化率 /%	增殖 倍数	试管苗生长情况
ZT 1.5+NAA 0.1	60	5	0.2	形成愈伤组织,分化差
ZT 1.5+NAA 0.5	60	1.6	0	愈伤组织紧密,几乎不分化
ZT 1.5+NAA 1	60	0	0	愈伤组织致密,不分化
ZT 2+NAA 0.1	60	8.3	0.2	形成愈伤组织,有芽的分化
ZT 2+NAA 0.5	60	0	0	愈伤组织致密,无芽的分化
ZT 2+NAA 1	60	0	0	愈伤组织致密,无芽的分化
BA 3+NAA 0.1	60	1.6	0.3	少量愈伤,芽少、生长缓慢
BA 3+NAA 0.5	60	0	0	少量愈伤,无芽、不生长
BA 4+NAA 0.1	60	6.7	0.8	有部分腋芽增殖、生长缓慢
BA 4+NAA 0.5	60	1.6	0.1	不生长、少量腋芽长出

3 结论与讨论

试验研究表明,改良的 WPM 培养基适合不定芽的再生,以改良的 WPM 为基础培养基添加 ZT 1.5 mg/L 对蓝莓的诱导和增殖具有良好作用,当 ZT 和 NAA 进行组合时,随着 NAA 浓度的升高,不定芽的增殖效率反而降低,甚至没有芽的分化,但愈伤组织的量却增加,这与 Sharon 的研究得出有关单独使用细胞分裂素比与生长素配合使用再生频率高的结论相同^[4]。但细胞分裂素之间的组合对增殖的影响并未做深入研究。

在蓝莓增殖培养研究过程中发现,即使是最适合的基本培养基和激素组合,在培养的过程中也有少量的愈伤组织形成,并有褐化现象,而且在增殖的过程中愈伤组织上和外植体的腋芽处均有不定芽的发生,不同品种之间的差别不是很大,并未做详细的统计,但随着细胞分裂素浓度的升高,Northland 品种有玻璃化现象出现,这有待于以后进一步研究。

参考文献

- [1] 史海芝,刘惠民. 国内外蓝莓研究现状[J]. 江苏农林科技, 2009, 36(4): 48-51.
- [2] 张凤生,鹿娜,姜森,等. 蓝莓组织培养与快速繁育[J]. 黑龙江农业科学, 2009(3): 3-5.
- [3] Row land L J, Ogden E L. Use of a cytokinin conjugate for efficient shoot regeneration from leaf sections of highbush blueberry [J]. HortScience, 1992, 27(10): 1127-1129.
- [4] Billing S G, Chin C K, Jelenkovic G. Regeneration of blueberry plantlets from leaf segments[J]. Hortscience, 1988, 23(4): 763-766.

Effect of Different Hormone on Proliferation of Blueberry

ZHANG Cai-ling^{1,2}, ZHU Yan-ming¹

(1. College of Life Sciences, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150070; 2. Heilongjiang Agricultural Economy Professional College, Mudanjiang, Heilongjiang 157041)

Abstract: Selected the huge growth of blueberry tender branches as the young plant stems with improved WPM for basic medium, the medium of *in vitro* shoot ZT and BA, and the influence of the auxin, cytokinins and combination of *in vitro* shoot effect were studied. The results indicated that with improving for basic medium WPM added 1.5 mg/L ZT, sucrose 20 g/L for explant induction and proliferation, the proliferation was 40 times above multiples

Key words: blueberry; proliferation; hormone