

兔眼蓝莓“灿烂”组织培养与植株再生研究

朱宏芬, 沈 岚, 黄 坚, 张国芳, 王 芳, 刘 健

(宁波市农业科学研究院 生物技术研究所, 浙江 宁波 315040)

摘 要:以兔眼蓝莓“灿烂”(‘Britewell’)当年生带腋芽半木质化茎段为外植体,研究了不同培养基、激素对兔眼蓝莓“灿烂”植株再生的影响。结果表明:WPM 为适宜基本培养基;WPM+(0.5~1.0)mg/L ZT 组合是最适的初代幼芽诱导培养基,诱导率达 86%以上;WPM+0.1 mg/L TDZ+0.1 mg/L IBA 组合是较合适的增殖培养基,增殖率可达 5.48,继代培养宜以较低浓度的 TDZ(0.02 mg/L 和 0.05 mg/L)交替使用为好;1/2WPM+1.0 mg/L 6-BA 是较理想的生根培养基组合,有效生根率达 63.2%。

关键词:兔眼蓝莓;组织培养;植株再生

中图分类号:S 663.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)19-0105-03

蓝莓(*Vaccinium* spp.)属杜鹃花科(Ericaceae)越桔亚科(Vaccinioideae)越桔属(*Vaccinium*)多年生落叶或常绿灌木果树,又称蓝浆果或越桔,果实为浆果^[1]。蓝浆果含有多钟有保健功能的化合物,如抗氧化剂、花青素、细菌抑制因子、叶酸、维生素 A 和 C、胡萝卜素、鞣花酸和纤维素等,有“神奇果”的美誉,具有较高的经济价值和广阔的开发前景^[2]。蓝莓苗木繁殖方法主要有扦插和组织培养^[3]。扦插繁殖的速度较慢,品种容易退化;组培育苗繁殖速度快,适宜于优良品种的工厂化大规模

繁殖,并可实现蓝莓苗木脱毒化生产,从根本上杜绝病毒病和虫害发生。关于蓝莓的离体快速繁殖,国内外已有大量的报道,但现有的文献资料大多是用玉米素(ZT)来进行增殖,该试验以 WPM 为基本培养基,用 ZT 快速诱导茎段腋芽萌发,用价格相对低廉的 TDZ 继代增殖,建立蓝莓离体植株再生体系,为推进蓝莓良种低成本规模化生产提供必要的技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为引进贵州麻江的兔眼蓝莓“灿烂”(‘Britewell’)。以当年生带腋芽半木质化茎段为外植体。

第一作者简介:朱宏芬(1974-),女,浙江宁波人,本科,农艺师,现主要从事植物组培研究工作。E-mail:nbnkyzhu@163.com.

基金项目:宁波市科技局农业科技攻关资助项目(2010C10049)。

收稿日期:2012-06-11

参考文献

- [1] 张浪. 滨水绿地景观[M]. 北京:中国建筑工业出版社,2008.
- [2] Shuuleworth S. The use of photographs as an environment perception medium in landscape studies[J]. J Environ Manage, 1980(11): 61-76.
- [3] 翁殊斐,陈锡沐,黄少伟. 用 SBE 法进行广州市公园植物配置研究

[J]. 中国园林,2002(5): 84-86.

[4] 俞孔坚. 自然风景景观评价方法[J]. 中国园林,1986(3): 38-40.

[5] 唐东芹,杨学军,许东新. 园林植物景观评价方法及其应用[J]. 浙江林学院学报,2001,18(4): 394-397.

Study on the Waterfront Plants Landscape Evaluation in Yangzhou

LI Li

(Department of Landscape Horticulture, Yangzhou Vocational College of Environment and Resources, Yangzhou, Jiangsu 225127)

Abstract: Taking the waterfront plants landscape in Yangzhou urban as the object, excellent plant community landscape were choosed, SBE were used to evaluate the various types of landscape, the waterfront plants landscape features and the better effect landscape of plant configuration mode from that were obtained, relevant proposals for the development of Yangzhou in the future were put forward, to provide reference on the waterfront landscaping.

Key words: Yangzhou; the waterfront plants landscape; landscape evaluation; plant configuration

1.2 试验方法

1.2.1 无菌材料的建立 将外植体洗净,剪成 3~4 cm 左右的茎段,流水冲洗 2 h,用 70%酒精杀菌 30 s,再用 0.1%升汞溶液浸泡 6~8 min,无菌水冲洗 4~5 遍,切成带单个腋芽的茎段,接种于诱导培养基上(表 1)。诱导培养基选用 WPM 和 MS 2 种基本培养基,加入蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,pH 5.0~5.2,设 ZT、6-BA 2 种激素 9 种处理。培养条件:温度(25±2)℃,光照强度 2 000~2 500 lx,光照时间 12 h/d。

1.2.2 丛生芽的诱导与增殖 当诱导培养基上的幼芽生长到约 4~5 cm 长时,将其剪成单芽茎段,转接于添加不同激素配比的 WPM 培养基上(表 2),培养条件同上,培养 40 d 后观察不同培养基上芽的生长情况和增殖数量。

1.2.3 试管苗的生根培养 将 2~3 cm 长的芽接种到附加不同生长激素的生根培养基上(表 3),观察不同培

养基上试管苗的生根能力。以 1/2WPM 为基本培养基,加入蔗糖 20 g/L,培养条件同上。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对蓝莓初代幼芽诱导的影响

由表 1 可知,在 MS 培养基上,幼芽生长较差,都有不同程度的黑心、枯梢、死亡现象发生,而 WPM 培养基上的芽都生长正常,表明 WPM 是比较适宜的基本培养基。而从生芽的诱导率则受细胞分裂素种类及其浓度影响。该试验结果表明,ZT 的诱导率明显要好于 6-BA。在 ZT 0.5~1.0 mg/L 培养基上,诱导率均在 80%以上,茎段在培养 7 d 左右,腋芽开始萌动,15 d 左右叶片开始展开,且芽生长健壮,35 d 左右可达 3~5 cm 高度。ZT 达到 1.5 mg/L 时,出现了部分玻璃化苗,有效芽率有所降低。因此 WPM+(0.5~1.0)mg/L ZT 组合是最适的初代幼芽诱导培养基。

表 1 不同培养基对初代幼芽诱导的影响

Table 1 Effects of different medias on bud induction

培养基 /mg·L ⁻¹	接种数 /个	萌芽数 /个	萌芽率 /%	芽长势
MS+0.5 ZT	22	18	81.8	叶色黄绿,株高可达 3~4 cm,有黑心枯梢,滞长现象
MS+1.0 ZT	18	16	88.9	
MS+1 6-BA	25	6	24.0	叶色黄绿,节间未见伸长,黑心,逐渐落叶死亡,或生长缓慢,1~2 cm
MS+2 6-BA	23	10	43.4	
WPM+0.5 ZT	22	19	86.4	叶色黄绿,7 d 萌动,生长正常,节间快速伸长,株高可达 5 cm 左右
WPM+1.0 ZT	27	25	92.6	
WPM+1.5 ZT	21	20	95.2	叶色黄绿,部分玻璃化苗
WPM+1 6-BA	20	4	20.0	叶色黄绿,植株正常,生长缓慢,1~2 cm
WPM+2 6-BA	26	12	46.1	

注:以腋芽萌动,叶片展开计为有效芽。

Note: The axillary buds to sprout, leaf unfolding counted as effective buds.

2.2 不同激素组合对蓝莓丛生芽增殖的影响

由表 2 可知,一定浓度的 TDZ 和 ZT 都能诱导出丛生芽,并且二者在一定的浓度范围内,增殖率均与浓度呈正相关,其中 ZT 1.5 mg/L 和 TDZ 0.1 mg/L 组合的增殖率达到了 4.80 和 5.48,效果最好。但是 TDZ 出芽质量明显要好于 ZT,显得健壮,叶色深,而 ZT 出芽则比较细长,ZT 浓度达到 1.5 mg/L 时有较明显的玻璃化现象。TDZ 达到 0.2 mg/L 时,产生大量愈伤组织,抑制了

丛生芽产生,因此 WPM+0.1 mg/L TDZ+0.01 mg/L IBA 组合是较合适的增殖培养基,同时也可有效避免玻璃苗。试验中还发现,TDZ 0.1 mg/L 继代培养后增殖率更高,单株增殖数达到 8~10 株,其中部分为丛生腋芽,部分则为愈伤组织分化成苗,愈伤组织分化成苗表现为苗细小,有些叶片边缘畸形,继代培养宜以较低浓度的 TDZ(0.02 和 0.05 mg/L)交替使用为好。

表 2 不同激素组合对丛生芽增殖的影响

Table 2 Effects of different hormone combinations on bud proliferation

培养基 /mg·L ⁻¹	接种芽 数/个	分化芽 数/个	增殖率 /%	芽长势
WPM+0.02 TDZ+0.1 IBA	35	64	1.83	叶色绿,生长健壮,丛生芽 1~2 个
WPM+0.05 TDZ+0.1 IBA	35	88	2.51	叶色绿,生长健壮,丛生芽簇状,2~3 个
WPM+0.1 TDZ+0.1 IBA	35	192	5.48	叶色绿,生长健壮,丛生芽数多,5~6 个,基部有愈伤组织膨大
WPM+0.2 TDZ+0.1 IBA	35	48	1.37	基部愈伤组织大块,芽少或没有
WPM+1.0 ZT+0.2 NAA	35	92	2.63	叶色黄绿,苗细长,丛生芽 2~3 个
WPM+1.5 ZT+0.2 NAA	35	168	4.80	苗细长,长势弱,有玻璃化现象,丛生芽 4~5 个

2.3 不同激素组合对蓝莓苗生根的影响

由表3可知,蓝莓在1/2WPM基本培养基添加不同激素的生根都较慢且生根率不高。接种30 d后观察0.1和0.5 mg/L IBA无生根,1.0 mg/L IBA生根率才9.6%,0.05 mg/L NAA生根率为7.2%。接种60 d后观察0.1 mg/L IBA生根率22.4%,0.5 mg/L IBA生根率33.2%,1.0 mg/L IBA生根率63.2%,0.05 mg/L NAA生根率45.2%。表明IBA的生根效果要好于NAA,在一定的范围内,IBA浓度的递增有利于蓝莓试管苗生根率的提高。1/2WPM+1.0 mg/L IBA是较理想的生根培养基组合。

表3 不同激素组合对蓝莓苗生根的影响

Table 3 Effects of different hormone combinations on rooting

培养基 /mg·L ⁻¹	接种 苗数	始根 天数	30 d生根 苗数	30 d生根率/%	60 d生根 苗数	60 d生根率/%	平均根 数/条
1/2WPM+0.1 IBA	250	35	—	—	56	22.4	3~7
1/2WPM+0.5 IBA	250	33	—	—	83	33.2	3~7
1/2WPM+1.0 IBA	250	23	24	9.6	158	63.2	3~7
1/2WPM+0.05 NAA	250	26	18	7.2	113	45.2	3~5

3 讨论

近年来TDZ作为一种新型、价格低廉的细胞分裂素类似物已被广泛应用于组织培养上,并有研究表明其活性超过玉米素^[4]。TDZ在其它植物上的研究有很多,但在蓝莓组培快繁方面的研究较少,且只限于叶片的愈伤组织诱导及不定芽再生方面的研究。韩婷婷等^[5]在矮丛蓝莓叶片的愈伤组织诱导及植株再生中用0.5 mg/L TDZ诱导叶片愈伤组织并分化成芽;崔广荣等^[6]在蓝莓离体叶片胚状体高效发生及其组织学观察试验,邢瑞丹等^[7]在2个蓝莓品种离体叶片不定芽再生体系的建立中都提到TDZ对蓝莓叶片不定芽再生频率影响显著。该试验以蓝莓茎段为外植体,研究和分析了TDZ和ZT 2种不同的细胞分裂素对蓝莓试管苗增殖生长的影响,表明TDZ增殖效果和出芽质量明显要好于ZT,丛生芽簇状,矮壮,无玻璃化现象。因此,在蓝莓组培快繁

上,用TDZ代替ZT,能在一定程度上降低组培成本,提高成苗质量,有利于规模化生产。

组织培养过程中出现变异是一种常见的现象,尤其是通过愈伤组织获得的再生植株遗传稳定性差^[8-10]。因此,继代培养中要促进丛生芽产生,减少愈伤组织成苗,应选用较低浓度的TDZ(0.02和0.05 mg/L)交替使用,以保持母株的优良性状,减少试管苗变异。陈肖英等^[11]在TDZ研究进展中提出TDZ诱导的不定芽通常节间缩短,造成矮化,这些可能是由于改变了赤霉素的代谢过程。该试验也证实了此点,在合适的浓度范围,TDZ与GA的组合可能会更适合蓝莓继代培养,这有待进一步试验研究。

参考文献

- [1] 中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 57卷3分册. 北京:科学出版社,1991:75-164.
- [2] 於虹,贺善安,顾烟. 我国和世界蓝莓果的发展前景[J]. 植物资源与环境学报,2001,10(2):52-55.
- [3] 修英涛,常凤英,姜河,等. 我国蓝莓(越桔)栽培研究现状及发展措施[J]. 辽宁农业科学,2003(3):21-23.
- [4] 杨业正. 棉花脱叶剂TDZ简介[J]. 植物生理学通讯,1989(6):63-64.
- [5] 韩婷婷,孙周平. 矮丛蓝莓叶片的愈伤组织诱导及植株再生[J]. 西北植物学报,2010,30(3):615-620.
- [6] 崔广荣,陆峰,曹华龙,等. 蓝莓离体叶片胚状体高效发生及其组织学观察[J]. 激光生物学报,2008,17(5):599-607.
- [7] 邢瑞丹,刘庆忠,陈新,等. 两个蓝莓品种离体叶片不定芽再生体系的建立[J]. 山东农业科学,2009(5):8-11.
- [8] Larkin P J, Scowcroft W R. Somaclonal variation—a novel source of variability from cell cultures for plant improvement[J]. Theor Appl Genet, 1981,60:197-214.
- [9] 贾春兰,王纪方,金波. 蔬菜作物组织培养对染色体倍性变异的影响[J]. 中国蔬菜,1991(6):17-18.
- [10] Giesbach R J. Selected topics on induced chromosome changes in tissue cultured cells[J]. Hortic Science, 1987,22(6):1024-1026.
- [11] 陈肖英,叶庆生,刘伟. TDZ研究进展(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2003,32(3):59-63.

Tissue Culture and Plant Regeneration of *Vaccinium ashei* 'Britewell'

ZHU Hong-fen, SHEN Lan, HUANG Jian, ZHANG Guo-fang, WANG Fang, LIU Jian

(Institute of Biotechnology Research, Ningbo Academy of Agricultural Sciences, Ningbo, Zhejiang 315040)

Abstract: Taking semi-lignified stem with axillary bud of *Vaccinium ashei* 'Britewell' as explants, the effects of the different medias and hormones on plant regeneration were studied. The results showed that WPM was a suitable basic medium. The optimal primary medium for stem with axillary bud was WPM+(0.5~1.0) mg/L ZT, and the induction rate was more than 86%; the suitable proliferation medium was WPM+0.1 mg/L TDZ+0.1 mg/L IBA, the proliferation rate up to 5.48 times. Following the subculture should be at a lower concentration of TDZ (0.02 mg/L and 0.05 mg/L) alternating as well; the rooting medium was 1/2WPM+1.0 mg/L BA, and the effective rooting rate reached 63.2%.

Key words: *Vaccinium ashei*; tissue culture; plant regeneration