

Zalerion varium 接种对蓝莓扦插苗生根及生长的影响

刘凤红¹, 程显好², 顾亮³

(1. 鲁东大学 生命科学学院, 山东 烟台 264025; 2. 鲁东大学 农学院, 山东省食用菌技术重点实验室, 山东 烟台 264025;

3. 烟台市农业科学研究院, 山东 烟台 264025)

摘要:在温室营养穴盘栽培条件下,以蓝莓“杜克”品种的无根扦插苗和真菌 *Zalerion varium* 液体培养物为试材,采用3种接种方法(基部接种、浸泡接种和喷雾接种),研究了不同接种方法处理下接种真菌 *Zalerion varium* 和未接种之间“杜克”蓝莓扦插苗的根系菌根侵染率、地上部分鲜重、根系总长、根表面积、叶绿素荧光参数等特征的差异。结果表明:采用3种接种方法, *Zalerion varium* 均可不同程度地定殖与侵染蓝莓扦插苗的根系;接种 *Zalerion varium* 真菌显著促进宿主蓝莓扦插苗的生根和生长,与未接种对照相比,接种“杜克”蓝莓扦插苗的地上部分鲜重、根系总长和根系表面积以及叶绿素荧光参数 Fv/Fo 和 Fv/Fm 均显著提高;接种 *Zalerion varium* 真菌后,可显著促进蓝莓扦插苗的生根和生长,但3种接种方法有显著差异,其中基部接种和浸泡接种2种方法比喷雾接种方法更为有效。

关键词: *Zalerion varium*; 接种方法; “杜克”蓝莓扦插苗; 生根; 生长

中图分类号: S 663. 915 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2014)20-0100-05

蓝莓属杜鹃花科越桔属(*Vaccinium*)多年生灌木类小浆果果树,学名越桔^[1]。其果实为蓝色或红色,因其具有极高的营养价值和医疗保健作用,近年来种植面积迅速扩大^[2],特别是北高丛越桔中的“杜克”品种因其果实大、口感好、鲜食保质期长等优点而深受市场和种植户的青睐^[3]。由于蓝莓苗木繁育条件要求苛刻,离体培

养和快速繁殖技术因其复杂的程序很难在一般种植户中推广,只能由专业育苗机构通过繁杂的育苗技术得到,这一特点造成了成品苗价格昂贵的现状,限制了蓝莓行业的发展。

菌根是植物和微生物所建立的互惠共同体,是生物界最重要、最广泛的一类共生现象,在对协调生态系统中各生物之间的物质交换、能量流动、信息传递等方面具有深远的经济、社会和生态意义^[4]。野生蓝莓能与欧石楠菌根真菌(Ericoid mycorrhizas, ERM)和深色有隔内生真菌(Dark septate endophytes, DSE)形成共生关系^[5]。大量的研究证实,ERM可以产生将土壤中的有机质分解为氨基酸和氨基糖的酶,这些小分子物质为蓝莓的正常生长提供充足的营养^[6]。Scagel等^[7]通过对蓝莓扦插苗接种菌根真菌,提高了根系菌根侵染率,为菌根真菌

第一作者简介:刘凤红(1987-),女,山东菏泽人,硕士研究生,研究方向为微生物资源与开发。E-mail:lfh, happy. liu@163. com.

责任作者:程显好(1966-),男,山东平度人,教授,硕士生导师,现主要从事菌物资源与开发等研究工作。E-mail:chengxianhao@sohu. com.

基金项目:山东省科技发展计划资助项目(ZR2012GSF12110);山东省科技发展计划资助项目(2012YD11009)。

收稿日期:2014-06-10

Abstract: Taking cotyledons, cotyledon node and hypocotyl of 20 kinds of cucumber cultivated cultivars as material, the germination rate, callus and induced differentiation of adventitious buds were tested, the most suitable for cucumber varieties of regeneration system was established. The results showed that the highest germination rate were 66.7% and 83.3% for ‘Nongjiale’ and ‘Shennongchunsi F1’ cucumber; the cotyledon node germination rate was the best in the medium of MS+0.5 mg/mL 6-BA for different type explants; ‘Nongjiale’ and ‘Shennongchunsi F1’ cucumber in the medium of MS+0.5 mg/L 6-BA+1.0 mg/L AgNO₃ got the highest bud value-added factor and the induction rate were 50.0% and 56.3%. According to the germination rate, callus induction and bud differentiation in different varieties, the fast and high frequency regeneration system in cucumber was established. The study would provide the technological basis for the gene engineering of cucumber.

Keywords: cucumber; cotyledon node; adventitious buds; regeneration system

在蓝莓育苗中的应用提供了理论支撑。除了 ERM 外,蓝莓根系中还存在一类分类地位不明确的深色有隔内生真菌,与 ERM 和蓝莓互作一样,DSE 真菌和宿主植物有着各种各样的复杂关系^[8]。尽管 DSE 真菌促进宿主生长的详细机制并不清楚,但有研究者认为,DSE 真菌可能通过促进宿主对营养物质的吸收,间接地改变了宿主对营养物质的利用^[9-10]。因此,DSE 真菌在蓝莓菌根化育苗中也具有应用价值。在自然条件下,真菌对蓝莓根系的侵染需要较长的时间,而且侵染率相对较低^[11]。接种菌根真菌后,可以使植物根系与真菌更快的建立共生关系,促进宿主植物生长繁殖。

该课题组在前期研究工作中,从山东省栽培蓝莓根部分离到一株 DSE 真菌 *Zalerion varium*,将其与组培苗共培养,采用 3 种接种方法接种于蓝莓无根扦插苗,研究其对扦插苗生根与生长的影响,以期探讨其在蓝莓苗木生产中的应用价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菌种为鲁东大学农学院实验室保存的菌株 *Zalerion varium*,分离自山东栽培“杜克”蓝莓根系。

供试蓝莓扦插苗为烟台农业科学研究院培养的“杜

克”品种。挑选长势一致(株高 5~6 cm,7~8 叶片)且植株健壮的“杜克”蓝莓苗,剪取地上部分作为“杜克”蓝莓扦插枝条,蒸馏水浸泡 30 min 后取出备用。

供试栽培基质为苔藓。先用 pH(5.1±0.2)的蒸馏水浸泡 8~10 h,沥干水分后装入聚丙烯塑料袋,放入高压灭菌锅,121℃ 灭菌 2 h。待温度降低后使用。

供试栽培工具为 50 孔(5 行×10 列)营养穴盘。营养穴盘经高锰酸钾溶液浸泡 2 d 后自然晾干备用。为了排除各处理之间的干扰,每个穴盘只设 1 个处理。

培养基为 MEA 培养基:葡萄糖 2%、大豆蛋白胨 0.3%、麦芽浸粉 3%,pH(5.4±0.2)。

1.2 试验方法

1.2.1 液体种子制备 将保藏的菌种接入试管斜面 MEA 培养基中,25℃ 培养 10 d,置于 4℃ 冰箱中保存备用。将 200 mL 液体培养基装于 500 mL 锥形瓶,121℃ 高压蒸汽灭菌 30 min,将活化好的菌种接入液体培养基中,每瓶接 0.5 cm² 大小菌种 1 块,于 25℃、150 r/min 摇床中培养 15 d。得到液体 DSE 真菌培养物。

1.2.2 栽培与接种 试验设 3 种接种方法,具体接种办法见表 1。试验共设 7 个处理,每处理 50 个重复,整个试验共 350 株“杜克”蓝莓扦插苗。试验营养穴盘随机排列。

表 1 接种方法

Table 1 Inoculation methods

接种方法 Inoculation methods	处理 Treatment	具体处理情况说明 Information about treatment
空白对照 Control	CK	只用蒸馏水保持其正常水分需要,免去已灭菌 DSE 真菌液体培养物对试验结果的干扰
基部接种 Applying	CK1 T1	已灭菌 DSE 真菌液体培养物加入“杜克”蓝莓扦插枝条基部,添加量为 5 mL/株 DSE 真菌液体培养物加入“杜克”蓝莓扦插枝条基部,添加量为 5 mL/株
浸泡接种 Soaking	CK2 T2	已灭菌 DSE 真菌液体培养物浸泡接种“杜克”蓝莓扦插枝条 20 min DSE 真菌液体培养物浸泡接种“杜克”蓝莓扦插枝条 20 min
喷雾接种 Spraying	CK3 T3	已灭菌 DSE 真菌液体培养物稀释 100 倍喷施栽培基质,每天 19:00 喷 1 次,连续喷施 1 周 DSE 真菌液体培养物稀释 100 倍喷施栽培基质,每天 19:00 喷 1 次,连续喷施 1 周

1.2.3 “杜克”蓝莓扦插苗培养 在鲁东大学农学院试验基地玻璃温室内培养,每天用蒸馏水保持栽培基质适宜的湿度,昼夜环境温度 25℃/18℃,环境湿度 70%~80%RH,光照时间 18 h,每天隔 1 h 对塑料棚通风 1 次,每周浇 1 次 1/2WPM 营养液,常规水分管理。根据光照强度的不同,适当选择用遮阳网进行全遮阴、半遮阴或不遮阴。观察记录植株生长状况。

1.3 项目测定

1.3.1 菌根侵染率测定 “杜克”蓝莓扦插苗(注明:“杜克”蓝莓扦插枝条在接种生长 14 d 后开始生根,此时称其为“杜克”蓝莓扦插苗)和 DSE 真菌共生 35 d 后,分别取“杜克”蓝莓扦插苗根系周围带根尖的须根,每个处理取 10 株共 30 个根段,流水轻轻冲洗表面基质。将根放入装有 10%KOH 的离心管中于 80℃ 电热水浴锅内水浴 20 min 进行透明。蒸馏水冲洗 3 遍,用 10% HCl 在

90℃ 电热水浴锅内作用 15 min 进行酸化处理^[12]。再用 0.05% 棉兰(蒸馏水:甘油:乳酸=1:1:1,v/v/v)于 90℃ 电热水浴锅内染色 20 min。最后用 50% 的乳酸浸泡脱色至少 12 h。通过方格交叉法测定“杜克”蓝莓扦插苗根系的菌根侵染率^[13]。

1.3.2 生长指标的测定 在“杜克”蓝莓扦插苗和 DSE 真菌共生 35 d 后,从每个处理中随机选取 20 株幼苗,蒸馏水冲洗掉根系基质并用滤纸擦干后,用电子天平测定植株地上部分的鲜重,然后用根系扫描仪(WINRhizo)测定根系的总长度及根系表面积。

1.3.3 叶绿素荧光指标的测定 在“杜克”蓝莓扦插苗和 DSE 真菌共生 35 d 后,从每个处理中随机选取 10 株幼苗,用便携式植物效率分析仪(Handy-PEA)测定从植株顶端向下第一完全展开功能叶的叶绿素荧光参数,测定结果直接从 PEA 软件中导出。

1.4 数据分析

采用 Excel 软件完成数据整理和计算;SPSS 11.5 软件进行单因素方差分析;t-检验检测 pearson 相关系数的显著差异性;Sigma Plot 10.0 软件完成作图。

2 结果与分析

2.1 “杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率

空白对照(CK)和未接种对照(CK1、CK2、CK3)相比,“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率无显著差异($P>0.05$),因此排除了已灭菌 DSE 真菌液体培养物对“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率的影响。接种组平均水平比对照组“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率增加了 51.54%,差异极显著($P<0.01$)。未接种的“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率偏低的原因可能是栽培基质中可利用的真菌资源相对较少。由图 1 可知,3 种接种方法中,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)2 种接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率无明显差异($P>0.05$);基部接种(T1)和喷雾接种(T3)之间、浸泡接种(T2)和喷雾接种(T3)之间,“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率均有极显著差异($P<0.01$)。因此,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)这 2 种接种方法是更为有效的。通过染色后的显微观察,可明显看到 DSE 真菌侵入蓝莓根表皮细胞,形成清晰的菌根结构,如图 2 所示。

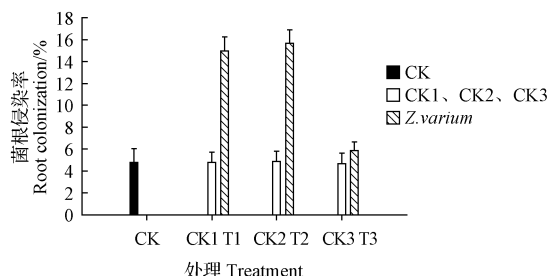
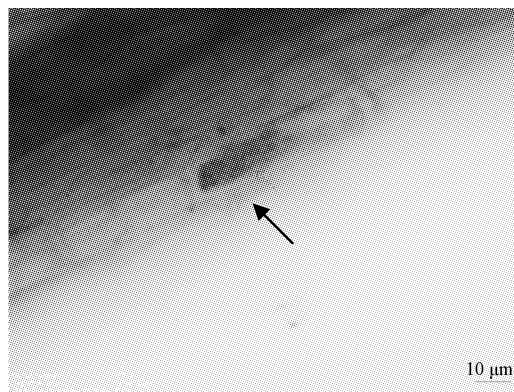


图 1 不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗根系菌根侵染率的影响

Fig. 1 Effect of different inoculation methods on root colonization of 'Duke' blueberry cutting seedlings

2.2 接种 DSE 真菌对“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生长的影响

由图 3 可知,空白对照(CK)和未接种对照(CK1、CK2、CK3)相比,“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生物量无显著差异($P>0.05$);同样也排除了已灭菌 DSE 真菌液体培养物对“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生物量的影响。不考虑接种方法不同时,接种比不接种“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生物量提高 54.65%,差异极显著($P<0.01$);且接种苗长势粗壮,叶色油绿,整齐性好。只考虑接种方法时,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)2 种接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生物量的影响无明显差异($P>0.05$);基部接种(T1)和喷雾接种(T3)之间、浸



注:箭头表示表皮细胞内菌丝圈结构。

Note: Arrows show the epidermal cells mycelia ring structure.

图 2 Zalerion varium 真菌和“杜克”蓝莓扦插苗共生侵染根情况(侵染 35 d)

Fig. 2 Symbiotic infect roots of 'Duke' blueberry cutting seedlings inoculated with *Zalerion varium*, 35 days after inoculation

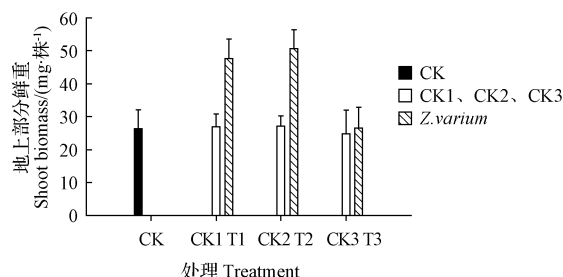


图 3 不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗地上部分鲜重的影响

Fig. 3 Effect of different inoculation methods on shoot biomass of 'Duke' blueberry cutting seedlings

泡接种(T2)和喷雾接种(T3)之间,“杜克”蓝莓扦插苗地上部分生物量均有显著差异($P<0.05$)。

2.3 接种 DSE 真菌对“杜克”蓝莓扦插苗根系生长的影响

空白对照(CK)和未接种对照(CK1、CK2、CK3)的蓝莓扦插苗,根部白色须根最少,接种 DSE 真菌的扦插苗的植株根部白色须根最多,植株生长茂盛。从图 4 和图 5 可以看出,接种 DSE 真菌可明显促进蓝莓扦插苗根系总长和根系表面积的增加,其中基部接种(T1)和浸泡接种(T2)2 种接种处理方法效果最好,均显著高于对照组($P<0.01$)。与对照组相比,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)处理的扦插苗根系总长和根系表面积分别增加 79.58 cm、7.81 cm² 和 77.98 cm、7.64 cm²。表明 DSE 真菌可以促进扦插苗生根和须根生长,大大增加根系与栽培基质的接触面积,继而提高了蓝莓扦插苗的生物量。DSE 真菌不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗均有较好的生根效果,接种植株的根数量多,根长而壮,这对扦插苗成活及移栽后的培育具有重要的作用。

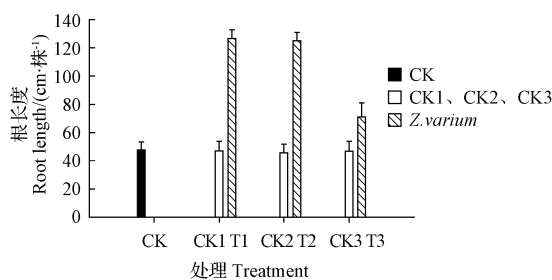


图 4 不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗根系总长的影响
Fig. 4 Effect of different inoculation methods on root length of ‘Duke’ blueberry cutting seedlings

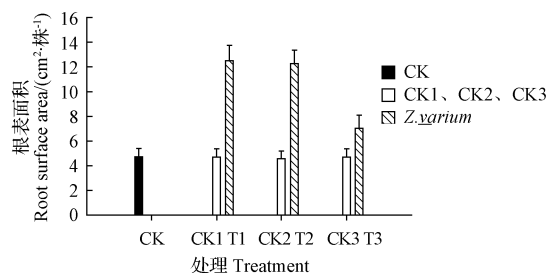


图 5 不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗根系表面积的影响
Fig. 5 Effect of different inoculation methods on root surface area of ‘Duke’ blueberry cutting seedlings

表 2 不同接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗叶绿素荧光参数(F_v/F_o 和 F_v/F_m)的影响

Table 2 Effect of different inoculation methods on chlorophyll fluorescence parameters(F_v/F_o and F_v/F_m) of ‘Duke’ blueberry cutting seedlings

接种方法 Inoculation methods	空白对照 CK		未接种对照 CK		Z. varium	
	F_v/F_o	F_v/F_m	F_v/F_o	F_v/F_m	F_v/F_o	F_v/F_m
T1			3.712±0.212	0.7506±0.0093	5.487±0.111	0.8411±0.0053
T2	3.731±0.201	0.7529±0.0115	3.705±0.202	0.7500±0.0107	5.592±0.192	0.8418±0.0054
T3			3.703±0.194	0.7481±0.0146	4.490±0.094	0.7899±0.0030

注:表中数据为平均值±标准误。
Note;Data in the table are average + standard error.

3 结论

该研究发现,与对照相比,接种 DSE 真菌的“杜克”蓝莓扦插苗的根系菌根侵染率、地上部分鲜重、根系总长和根系表面积以及叶绿素荧光参数 F_v/F_o 和 F_v/F_m 均有显著提高,尤其是对“杜克”蓝莓扦插条根系的发育有极为显著的促进作用,发达的根系为蓝莓吸收土壤中的水分和养分提供了保障,进而促进了蓝莓的生长。另一方面,DSE 真菌侵染蓝莓根系后可能通过其发达的菌丝体分泌一些把土壤有机质分解为小分子物质的酶,这些小分子物质被蓝莓的根系利用,为蓝莓的生长提供充足的营养物质。从真菌可以富集土壤中的重金属离子方面分析,蓝莓根系中的 DSE 真菌菌丝体可能会吸收蓝莓根系周围的对蓝莓有毒害作用的重金属离子,免去这些重金属离子对蓝莓根系细胞的胁迫干扰,使蓝莓一直生长在较为有利的环境中。综合以上分析,对 DSE 真菌接种“杜克”蓝莓扦插苗的试验为菌根化育苗提供有效

2.4 接种 DSE 真菌对“杜克”蓝莓扦插苗叶片叶绿素荧光参数的影响

在荧光测定系统中,可变荧光 F_v 与固定荧光 F_o 的比值 F_v/F_o 可代表光系统 II(PSII)活性,而 F_v 与最大荧光 F_m 的比值 F_v/F_m 可代表光系统 II 光化学的最大效率^[14]。由表 1 可知,空白对照(CK)和未接种对照(CK1、CK2、CK3)相比,“杜克”蓝莓扦插苗光系统 II(PSII)活性和光化学最大效率无显著差异($P>0.05$)。不考虑接种方法不同时,接种比不接种“杜克”蓝莓扦插苗光系统 II(PSII)活性提高 27.75%,接种极显著高于不接种对照($P<0.01$);光化学最大效率提高 8.88%,接种极显著高于不接种对照($P<0.01$)。只考虑接种方法时,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)2 种接种方法对“杜克”蓝莓扦插苗光系统 II(PSII)活性、光化学最大效率无明显差异($P>0.05$);基部接种(T1)和喷雾接种(T3)之间、浸泡接种(T2)和喷雾接种(T3)之间,“杜克”蓝莓扦插苗光系统 II(PSII)活性、光化学最大效率均有显著差异($P<0.05$)。因此,接种 DSE 真菌有利于维持较高的 PSII 活性和光能转化效率,从而提高光合效率。

的菌种资源。

基于探索多种接种方法以方便种植户选择的初衷,该研究采用了基部接种(T1)、浸泡接种(T2)和喷雾接种(T3)“杜克”蓝莓扦插条 3 种接种方法。与基部接种(T1)和浸泡接种(T2)相比,喷雾接种(T3)的“杜克”蓝莓扦插苗的根系菌根侵染率、地上部分鲜重、根系总长和根系表面积以及叶绿素荧光参数 F_v/F_o 和 F_v/F_m 均显著降低。分析其原因如下,在前期工作中,DSE 真菌是从“杜克”蓝莓根系分离得到的,对蓝莓的根系可能有一种共生专一性,而喷施液体 DSE 真菌处理“杜克”蓝莓扦插条时,DSE 真菌首先接触栽培基质,由于环境的温度和湿度的影响,可能不利于侵染蓝莓的根系。而基部接种液体 DSE 真菌培养物和用液体 DSE 真菌培养物浸泡接种“杜克”蓝莓扦插条这 2 种接种方法,使得蓝莓扦插条的基部和 DSE 真菌充分接触,为 DSE 真菌侵入扦插条内提供了充分的条件。因此,针对这 3 种接种方法而

言,基部接种(T1)和浸泡接种(T2)“杜克”蓝莓扦插条是更为有效的2种接种方法,浸泡接种(T2)促生长效果均显著高于基部接种。可能导致该结果的原因,一是苗木剪截后,使得DSE真菌更容易侵染苗木;二是浸泡接种(T2)方法可使苗木在接触栽培基质之前就完全接触DSE真菌,使得DSE真菌成为先锋菌株而首先占领苗木,抑制了土著菌根的形成,为目的菌根的形成打下基础。在实际应用中应根据菌株与苗的共生特性选择合适的接种方式,选择能够协同促进、达到共生平衡的最佳接种方式组合,接种活菌、可保存的菌剂或菌丸等方法用于蓝莓的大面积栽培,这将是一个提高效率、节约成本和提高成活率的有效管理方式。

由于该试验需要使用大量的蓝莓苗,所以仅试验了一个蓝莓品种与一种DSE真菌的共生关系,对于真菌和宿主之间的共生专一性的研究还需要进一步深入。该研究得出的结论虽然能为蓝莓大面积栽培提供一定的技术支持和菌种资源,但这些结论是在实验室条件下得出的。在自然条件下,DSE真菌主要分布在干旱生态环境下,DSE真菌的重要生态学功能可能协助宿主度过干旱的自然环境、提高宿主的耐旱性,因此下一步将筛选提高蓝莓抗旱能力的DSE真菌。

参考文献

- [1] 顾娟,贺善安. 蓝浆果与蔓越桔[M]. 北京:中国农业出版社,2001.
- [2] 於虹,王传永,吴文龙. 蓝浆果栽培与采后处理技术[M]. 北京:金盾出版社,2003.
- [3] Kim J G, Kim H L, Kim S J, et al. Fruit quality, anthocyanin and total phenolic contents, and antioxidant activities of 45 blueberry cultivars grown in Suwon, Korea [J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine and Biotechnology), 2013(14):793-799.
- [4] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [5] 袁继鑫,侯智霞,孙莹. 大兴安岭地区野生蓝莓菌根真菌着生状态的初步观察[J]. 甘肃农业大学学报,2012(5):105-108.
- [6] Haselwandter K, Dobemigg B, Beck W, et al. Isolation and identification of hydroxamate siderophores of ericoidmycorrhizal fungi [J]. Bio Metals, 1992(5):51-56.
- [7] Scagel C F, Wagner A, Winiarski P. Inoculation with ericoid mycorrhizal fungi alters root colonization and growth in nursery production of blueberry plants from tissue culture and cuttings [J]. Small Fruits Review, 2005(4):113-135.
- [8] Newsham K K. A meta-analysis of plant responses to dark septate root endophytes [J]. New Phytologist, 2011, 190:783-793.
- [9] Wu L Q, Guo S X. Interaction between an isolate of dark-septate fungi and its host plant *Saussurea involucreta* [J]. Mycorrhiza, 2008(18):79-85.
- [10] Wu L Q, Lyu Y L, Meng Z X, et al. The promoting role of an isolate of dark-septate fungus on its host plant *Saussurea involucreta* Kar. et Kir. [J]. Mycorrhiza, 2010(20):127-135.
- [11] Scagel C F. Inoculation with ericoid mycorrhizal fungi alters fertilizer use of highbush blueberry cultivars [J]. HortScience, 2005, 40:786-794.
- [12] Koske R E, Gemma J N. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas [J]. Mycological Research, 1989, 92:486-488.
- [13] Giovannetti M, Mosse B. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots [J]. New Phytologist, 1980, 84:489-500.
- [14] 尤扬,叶永忠. 植物激素对黄姜叶片 F_v/F_o 和 F_v/F_m 的影响 [J]. 安徽农业科学, 2007(35):5701-5702, 5724.

Effect of *Zalerion varium* Inoculation on the Rooting and Growth of Blueberry Cutting Seedling

LIU Feng-hong¹, CHENG Xian-hao², GU Liang³

(1. College of Life Science, Ludong University, Yantai, Shandong 264025; 2. College of Agricultural Sciences, Ludong University, Key Laboratory for Edible Mushroom Technology of Shandong, Yantai, Shandong 264025; 3. Yantai Institute of Agricultural Sciences, Yantai, Shandong 264025)

Abstract: Taking ‘Duke’ blueberry cutting seedling and *Zalerion varium* as materials, three inoculation methods were applied in greenhouse: applying liquid cultures to the substrate, spraying liquid *Zalerion varium* cultures into the substrate and soaking the unrooted tissue culture plantlets for 20 minutes. The root colonization, the shoot biomass, the root length and the root surface area and the chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_o and F_v/F_m were compared between plants infected with *Zalerion varium* and those not infected under different inoculation treatments. The results showed that plants became naturally colonized by *Zalerion varium* with three inoculation methods, however, the intensity of root colonization were different. The rooting and growth of cutting seedlings were remarkably promoted. Compared to the non-inoculation plants, the shoot biomass, the root length and the root surface area and the chlorophyll fluorescence parameters F_v/F_o and F_v/F_m were increased significantly. Compared to spraying liquid *Zalerion varium* cultures into substrate, applying liquid cultures to the culture substrate and soaking the cuttings for 20 minutes were more effective.

Keywords: *Zalerion varium*; inoculation method; ‘Duke’ blueberry cutting seedling; rooting; growth