

DOI:10.11937/bfyy.201711025

笃斯越桔高效再生体系的建立

李 冰^{1,2}, 苏 上^{2,3}, 王丽金^{2,3}, 吴 杰^{2,3}, 王亮生², 饶力群¹

(1. 湖南农业大学 生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 中国科学院 植物研究所, 北京 100093;

3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要:以笃斯越桔带叶嫩茎为外植体,研究植物生长调节剂对其叶片、茎段等不定芽再生及组培苗瓶内生根壮苗的影响;探索不同移栽技术对组培苗移栽成活率的影响。结果表明:玉米素(ZT)能够促进叶片、茎段等外植体高效分化出不定芽,联合使用吲哚丁酸(IBA)能够降低增殖系数,使不定芽叶片更绿、茎较粗壮, $MWPM+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ ZT}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}$ 为最佳不定芽再生培养基;且低浓度的 IBA 能有效促进组培苗生根,矮壮素(CCC)具有壮苗作用, $MWPM+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ CCC}$ 为最佳壮苗生根培养基;该研究提出的育苗袋辅助移栽技术,使组培苗移栽成活率达到 100%,建立了笃斯越桔高效再生体系。

关键词:笃斯越桔;再生;生根;矮壮素;育苗袋;移栽

中图分类号:S 663.903.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)11-0124-06

笃斯越桔(*Vaccinium uliginosum* L.)属杜鹃花科(Ericaceae)越桔属(*Vaccinium*)多年生落叶灌木,

第一作者简介:李冰(1991-),女,硕士研究生,研究方向为植物分子生物学。E-mail:libing_hunau@126.com.

责任作者:王亮生(1964-),男,博士,研究员,博士生导师,现主要从事园艺学等教学与科研等工作。E-mail:wanglsh@ibcas.ac.cn.

基金项目:欧盟第七框架资助项目(FP7-613793);国家自然科学基金资助项目(31270376);国际科技交流与合作资助项目(2011DFA30560-2)。

收稿日期:2017-02-08

俗称都柿、甸果、黑豆树等^[1]。笃斯越桔主要分布于北半球寒温带地区、北极低海拔地区,具有强抗寒能力,能耐-50℃低温^[2-3]。其果实中花青苷、黄酮醇苷等成分含量高于常见果蔬,具有突出的抗氧化活性^[4-8]。

目前用于越桔属植物组织培养的激素主要有玉米素(Zeatin, ZT)、噻苯隆(Thidiazuron, TDZ)、异戊烯腺嘌呤(2-isopentenyladenine, 2ip)、6-苄基腺嘌呤(6-Benzyladenine, 6-BA)、吲哚丁酸(Indole-3-butyric acid, IBA)、萘乙酸(Naphthalene acetic acid, NAA)等。不同遗传背景、不同外植体组织对激素的响应及需

Tissue Culture and Plant Regeneration of *Melastoma candidum* var. *albiflorum*

CHEN Gang¹, WANG Yinghua¹, JIN Hong²

(1. Faculty of Life Science, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061; 2. Fairy Lake Botanical Garden, Shenzhen and Chinese Academy of Sciences, Shenzhen, Guangdong 518004)

Abstract: Stems of *Melastoma candidum* var. *albiflorum* was used as explants. The effects of types of basic medium and plant growth regulators on multiple shoots inducing were studied, and the optimum medium for rooting was selected. The results showed that 1/4MS basic medium containing $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA was the most effective in inducing multiple shoots. The optimal culture medium for rooting was 1/2MS with $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA. The survival rate of the plantlets was up to 90% after being transplanted into soil, and one year later the plants could flower and seed normally.

Keywords: *Melastoma candidum* var. *albiflorum*; stem; multiple shoots; plant regeneration

求相差很大,激素浓度及互作对不定芽、愈伤组织、根的形成具有很大影响^[9-10]。前人认为 ZT 浓度在 $0.5\sim 4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、2ip 浓度在 $5\sim 20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,越桔茎段快繁效果好^[11-12];TDZ 一般先促进外植体形成愈伤组织再形成不定芽^[13-14];2ip 抑制愈伤组织的形成,促进芽的再生,与 NAA 联用对芽有抑制作用^[15];高剂量 2ip 与 IAA 联用,可促进不定芽的产生,与 IBA 联用可促进不定芽节间伸长^[16]。MEINERS 等^[17]研究表明 IBA 可促进组培苗瓶内生根。

目前,笃斯越桔组织培养有了一定的研究基础,刘永富等^[18]以笃斯越桔去叶带芽嫩茎为外植体,在 WPM 培养基中添加高浓度 2ip($15\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)能够高效诱导笃斯越桔产生丛芽;宗长玲等^[19]以笃斯越桔叶片为外植体,在 MS 培养基中添加 ZT($2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)能够使叶片再生出不定芽,但仍存在组培苗过于纤细、生根困难、移栽成活率低的问题。该试验以笃斯越桔带叶嫩茎为外植体,通过筛选 ZT、TDZ、IBA 等植物激素浓度,探索诱导笃斯越桔不定芽再生及生根的最佳培养基配方。矮壮素(Chlormequat chloride, CCC)具有抑制植株生长的作用,常被用于矮化植株,该试验在生根培养基中添加矮壮素,以期在诱导笃斯越桔组培苗生根的同时进行壮苗,并提出了育苗袋辅助移栽技术,以提高笃斯越桔组培苗的移栽成活率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

该试验所用笃斯越桔外植体(*V. uliginosum*)于 2013 年 8 月采自黑龙江省大兴安岭塔河县,取当年生枝条,选择半木质化且含有饱满但未萌发腋芽的茎段,带回实验室,用于后续试验。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌外植体的获得 将外植体剪掉叶片,用自来水冲洗 1 h,剪成长约 2 cm 的茎段,使每个茎段含有 1~2 个腋芽,随后将这些茎段置于超净工作台中进行表面消毒处理。将处理好的茎段竖直接种于不含激素的改良 WPM 培养基(MWPM)上,该培养基的配制参考 LIU 等^[20]的方法。将接种的外植体置于温度为 $(25\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 、光周期 16 h/8 h、光照强度为 1 200 lx 的组培室进行培养,7~10 d 后转移未被污

染的外植体至新的 MWPM 培养基上,置于相同条件下继续培养至其腋芽萌发,用于后续试验。

1.2.2 笃斯越桔的分化诱导 以 MWPM 为基础培养基,配制分化诱导培养基 DSF 1~10,各培养基植物激素组成如表 1 所示。每种培养基均含有蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、琼脂 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,用稀硫酸调节至 pH 5.4, 121°C 、20 min 高温灭菌后,分装于培养瓶,每种培养基至少制备 3 瓶,每瓶倒入 40~50 mL 培养基,待其凝固备用。取笃斯越桔腋芽萌发生长至 4~8 cm 的无菌枝条,将其剪成长约 1 cm 的茎段,分别水平接入分化诱导培养基上,每瓶 15~20 个茎段,每种培养基接种 3 瓶,置于温度 $(25\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 、光周期 16 h/8 h,光照强度为 1 200 lx 的组培室培养,30~40 d 后统计外植体不定芽分化情况。

表 1 笃斯越桔分化诱导培养基成分

Table 1 Composition of the culture mediums used in the regeneration of *V. uliginosum*

培养基名称 Medium name	激素组成 Composition of plant growth regulator/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
TDZ	ZT 2,4-D IBA NAA 6-BA
DSF 1	2.0 0.1
DSF 2	2.0 0.1
DSF 3	2.0 0.5
DSF 4	0.5
DSF 5	1.0
DSF 6	1.5
DSF 7	2.0
DSF 8	2.5
DSF 9	1.0 0.1
DSF 10	1.0 0.5

1.2.3 笃斯越桔组培苗的壮苗生根培养 以 MWPM 为基础培养基,配制诱导生根及壮苗培养基(SG 1~11),SG 1~5 添加不同浓度的 IBA,SG 6~11 同时添加不同浓度的 IBA 和 CCC(表 2)。每种培养基均含有蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 、琼脂 $8\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,用稀硫酸调节 pH 5.4, 121°C 、20 min 高温高压灭菌后,分装于培养瓶中,每瓶约 50 mL,每种培养基至少制备 3 瓶,静置使其凝固备用。取笃斯越桔组培苗,将其剪成 3~4 cm 的茎段,分别垂直接入生根诱导培养基中,每种培养基接入至少 90 个茎段,每瓶 20~30 株。将接种后的材料置于温度为 $(25\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 、光周期 16 h/8 h、光照强度为 1 200 lx 的组培室培养,30~40 d 后统计生根率、壮苗情况。

表 2 笃斯越桔生根诱导培养基成分

Table 2 Composition of the culture mediums used in the rooting of *V. uliginosum*

激素 Hormone/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	生根培养基 Rooting medium	生根壮苗培养基 Rooting and strong seedling medium
SG 1	SG 2 SG 3 SG 4 SG 5	SG 6 SG 7 SG 8 SG 9 SG 10 SG 11
IBA	0.1 0.5 1.0 1.5 2.0	0.1 0.1 0.5 0.5 1.0 1.0
CCC		5.0 10.0 5.0 10.0 5.0 10.0

1.2.4 笃斯越桔组培苗的移栽 以育苗袋辅助移栽技术对笃斯越桔组培苗进行移栽。以未进行瓶内壮苗生根的组培苗作为对照,定植于穴盘中(G0组)。试验分为2组,取瓶内壮苗生根的组培苗,一组定植于穴盘中(G1组);另一组定植于盆中,并用育苗袋套在上方,模拟高度密闭生长环境辅助移栽(G2组)。G0、G1组移栽的穴盘均用保鲜膜覆盖、密封四周,每组移栽30穴,每穴约5株;G2组移栽30盆,每盆约5株。穴盘和育苗盆中的基质均由草炭土和蛭石组成(草炭土:蛭石=3:1),且均已提前浇透水。将移栽后的组培苗置于温度 $(25\pm5)^{\circ}\text{C}$ 、光周期16 h/8 h、光照强度为1 200 lx的组培室进行培养,30~60 d后统计植株成活率。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂对不定芽诱导分化的影响

笃斯越桔外植体不定芽再生诱导试验结果如图1所示。由DSF 1~2可以看出,外植体与培养基接触处(叶尖、茎、切口处)均有愈伤组织形成,且愈伤组织上有再生芽形成,说明 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ对笃斯越桔的分化诱导具有明显效果;DSF 2分化效率低于DSF 1,说明与IBA相比,NAA抑制了愈伤组织和芽的增殖;但这2种培养基中的不定芽都生长缓慢,若要快速获得无菌苗,需要及时更换能够促进不定芽伸长的继代培养基。培养基DSF 3中外植体逐渐干枯死亡,表明 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D不能诱导笃斯越桔外植体产生不定芽。

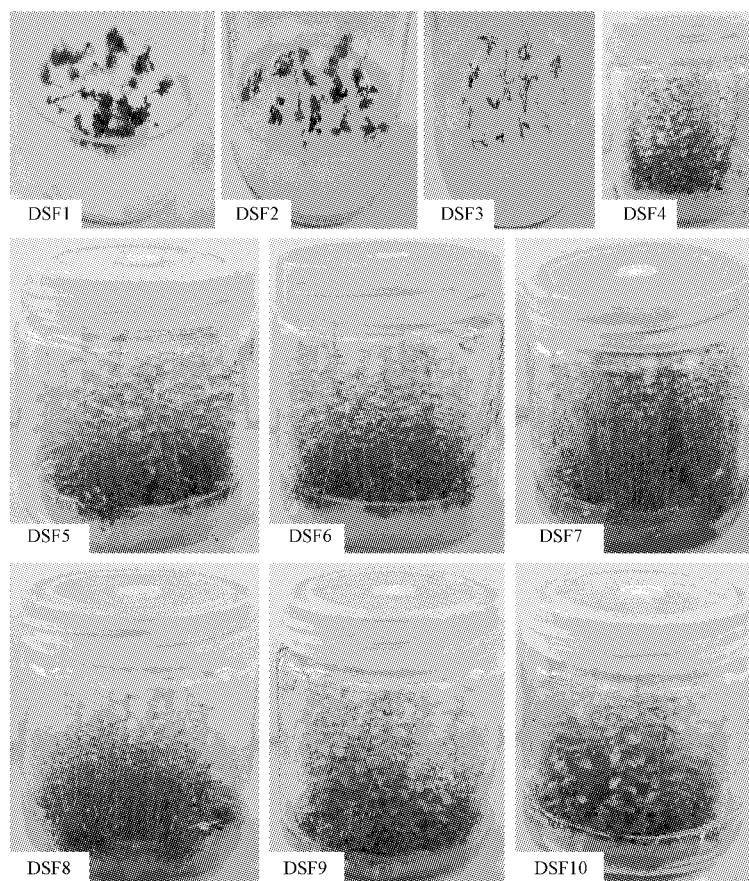


图1 不同培养基诱导笃斯越桔组培苗分化的情况

Fig. 1 Differentiation inducing results of *V. uliginosum* with different culture mediums

随着培养基中 ZT 浓度从 $0.5\sim 2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 变化,不定芽再生增殖倍数逐步增高(图1 DSF 4~8)。含有较低浓度 ZT 的 DSF 4($0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)能够促进外植体腋芽分化出不定芽,外植体与培养基接触处形成少量愈伤组织,且不定芽伸长速度较快;含有较高浓度 ZT 的 DSF 6~8($1.5\sim 2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)能够刺

激外植体更好地分化,叶片、茎段等外植体切口处及腋芽处有大量不定芽形成,且不定芽生长速度较快;在 ZT 浓度为 $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基 DSF 8 中,延长培养时间,分化率达100%。随着分化水平的提高,不定芽出现玻璃化的几率增加,因此,该试验认为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT 为诱导笃斯越桔分化的最佳激素

组成。由于含有较高浓度 ZT 的培养基分化的组培苗过于纤细(图 1 DSF 6~8),影响后续移栽,该试验在含有 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 的培养基中添加低浓度的 IBA($0.1, 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),结果表明,组培苗茎木质化程度增加,且 2 种培养基效果相当(图 DSF 9~10)。综上,DSF 9(MWPM+ $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT+ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA)为高效诱导笃斯越桔不定芽分化的最佳培养基。

2.2 IBA 及矮壮素对诱导生根、壮苗的影响

从表 3 可以看出,与对照相比,培养基 SG 1~2 的平均生根率较高,表明低浓度的 IBA ($0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)能够有效促进组培苗瓶内生根;SG 3~5 的结果表明较高浓度的 IBA ($1.0 \sim$

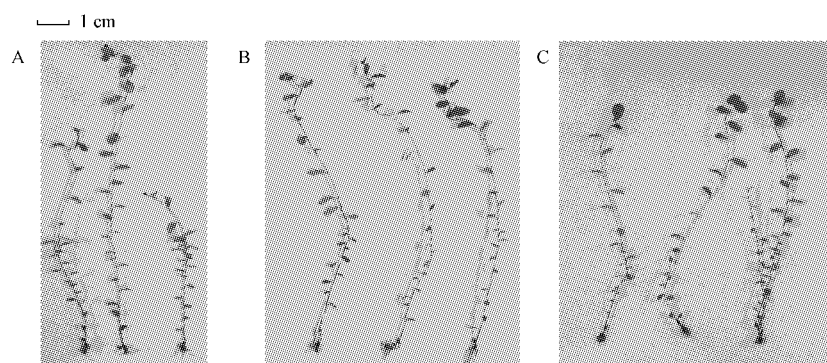
$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)对其生根具有明显抑制作用,且 IBA 浓度越高,抑制作用越明显。

SG 6~7 的结果表明,在 IBA 浓度较低时($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),添加矮壮素抑制生根,生根率降低了 50%以上;SG 10~11 的结果表明,在 IBA 浓度较高时($1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),添加矮壮素对生根的抑制作用降低;而在 IBA 水平适中($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)时,添加低浓度的矮壮素可以促进生根,并明显促进植株生长,组培苗长势更好,有利于后续移栽试验(图 2 C、D)。该研究筛选出笃斯越桔最佳生根诱导培养基为 SG 8 (MWPM+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CCC)。

表 3 笃斯越桔组培苗诱导生根结果

Table 3 Rooting inducing results of *V. uliginosum*

培养基 Medium	接种数 Explant number	平均生根率 Average rooting rate/%	培养基 Medium	接种数 Explant number	平均生根率 Average rooting rate/%
CK	90	7.78 ± 2.94	SG 6	103	19.90 ± 4.46
SG 1	103	76.36 ± 17.08	SG 7	66	31.52 ± 20.09
SG 2	85	45.13 ± 6.36	SG 8	130	81.47 ± 3.48
SG 3	68	36.58 ± 6.28	SG 9	111	44.98 ± 5.84
SG 4	93	0	SG 10	95	30.77 ± 6.00
SG 5	60	0	SG 11	65	11.73 ± 8.96



注:A. CK 效果;B. SG 1 效果;C. SG 8 效果。

Note: A. Effect of CK; B. Effect of SG 1; C. Effect of SG 8.

图 2 不同培养基对笃斯越桔组培苗的诱导生根情况

Fig. 2 Rooting induced results of *V. uliginosum* with different culture mediums

2.3 育苗袋辅助移栽

笃斯越桔组培苗移栽 30、60 d 后的平均成活率如图 3 所示。表明移栽 30 d 后未进行瓶内壮苗生根的 G0 组成活率较低,为 69.37%;经过瓶内壮苗生根的 G1 组成活率较高,为 73.79%,瓶内壮苗生根后用育苗袋辅助移栽的 G2 组成活率达 100%。移栽 60 d 后再次观察组培苗生长状况,发现 G0 组的成活率比移栽后 30 d 时下降了近 15 个百分点,而 G1 和 G2 组仍保持稳定的成活率。

育苗袋辅助移栽的 G2 组如图 4 C 所示,为刚刚

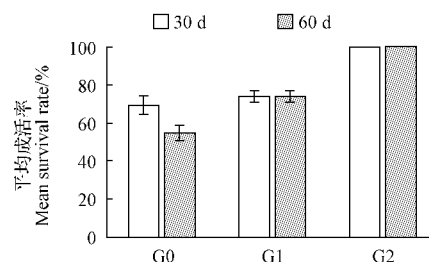
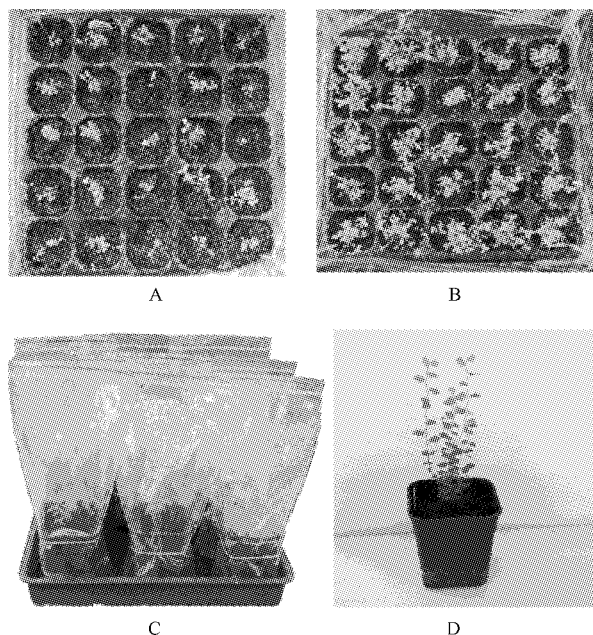


图 3 不同移栽方法笃斯越桔组培苗成活率

Fig. 3 Survival rate of *V. uliginosum* plantlets transplanted by different methods



注:A. G0组移栽效果;B. G1组移栽效果;C. G2组育苗袋辅助移栽技术示意图;D. G2组移栽效果。

Note: A. Transplanting effect of G0; B. Transplanting effect of G1; C. The nursery bag-assisted transplanting technique of G2; D. Transplanting effect of G2.

图4 笃斯越桔组培苗移栽60 d后的生长情况

Fig. 4 Growth results of *V. uliginosum* L. plantlets transplanted after 60 days

移栽时的状态。图4 A、B、D为笃斯越桔移栽60 d后的生长情况。与对照组相比,瓶内生根壮苗后移栽的组培苗生长状况稳定,育苗袋辅助移栽的植株则表现出最佳的生长状况。

3 讨论与结论

ZT具有高效的分化诱导作用,常被用于诱导木本植物外植体的分化。该试验中,笃斯越桔外植体在含有ZT的培养基上可不经愈伤组织,直接在腋芽或叶片、茎段等与培养基接触的切口处形成不定芽,分化效率达100%,而在添加TDZ的培养基上先形成愈伤组织,再分化为不定芽,这与前人的研究结果基本一致^[11,14]。相比而言,ZT能够更快地促进不定芽产生,且不定芽生长速度更快。IBA能够抑制不定芽产生,同时促进组培苗叶片增大、节间变长^[16]。该试验在选出的最佳笃斯越桔外植体不定芽诱导浓度ZT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的基础上添加低浓度的IBA,使不定芽茎变粗,叶片增大,增加了快繁体系的稳定性。经过优化,该研究筛选出可以同时为笃斯越桔外植体进行不定芽诱导分化和继代的培养基

DSF 9,可减少培养基配制的工作量,缩短笃斯越桔组培周期。

木本植物组培存在生根难的问题。刘永富等^[18]选取1/4 MS培养基进行笃斯越桔诱导生根,该试验结果表明,直接在MWPM培养基中添加低浓度IBA亦可对笃斯越桔组培苗起到良好的生根诱导效果,无需更换基础培养基。为提高移栽成活率,在生根培养基中加入矮壮素,结果表明,低浓度矮壮素能够抑制组培苗疯长,对组培苗起到壮苗作用。

宗长玲等^[19]在移栽前对笃斯越桔组培苗进行沙植处理,移栽成活率为78%。该试验移栽过程中,提出了育苗袋辅助移栽技术,在很大程度上维持了组培苗生长环境的稳定性,包括空气湿度、温度及空气流动性,有利于组培苗出瓶后逐渐适应外界环境,为其提供了较好的过渡空间,极大地提高了笃斯越桔组培苗成活率,达到100%,且育苗袋中的笃斯越桔组培苗生长速度较快,枝叶健壮,可实现优质组培苗的快繁需求。同时,育苗袋辅助移栽为温室移栽提供了一个过渡期,使得进行温室移栽的时间选择更加灵活。

综上,该试验通过优化ZT、IBA、CCC等激素的组合及用量,筛选出诱导笃斯越桔外植体不定芽分化的最佳培养基为DSF 9(MWPM+ $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT+ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA);最佳笃斯越桔组培苗瓶内壮苗生根培养基为SG 8(MWPM+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA+ $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CCC);配合使用育苗袋辅助移栽技术,笃斯越桔组培苗的移栽成活率达到了100%,该试验建立了高效、完整的笃斯越桔快繁体系,为笃斯越桔资源的保护与利用及后续的遗传转化和分子育种研究奠定了技术基础。

参考文献

- [1] 宗长玲,邓萌,宗成文,等. 笃斯越桔研究进展[J]. 北方园艺, 2011(12):173-176.
- [2] 郝瑞. 长白山笃斯越桔的调查研究[J]. 园艺学报, 1979(6):87-93.
- [3] 臧建磊,刘庆忠,李亚东,等. 植物CBF转录因子及其在植物抗寒性中的作用[J]. 安徽农业科学, 2011(39):6329-6331.
- [4] MÄÄTTÄ-RIIHINEN K R, KÄHKÖNEN M P, TÖRRÖNEN A R, et al. Catechins and procyanidins in berries of *Vaccinium* species and their antioxidant activity[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53:8485-8491.
- [5] KIM Y H, BANG C Y, WON E K, et al. Antioxidant activities of *Vaccinium uliginosum* L. extract and its active components[J]. Journal of Medicinal Food, 2009(12):885-892.
- [6] 李慧. 蓝莓果皮类黄酮构成特点及品种间差异比较[D]. 北京: 中国科学院, 2011.

- [7] KUSZNIEREWICZ B, PIEKARSKA A, MRUGALSKA B, et al. Phenolic composition and antioxidant properties of Polish blue-berried honeysuckle genotypes by HPLC-DAD-MS, HPLC post column derivatization with ABTS or FC, and TLC with DPPH visualization[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60: 1755-1763.
- [8] WANG L J, SU S, WU J, et al. Variation of anthocyanins and flavonols in *Vaccinium uliginosum* berry in Lesser Khingan Mountains and its antioxidant activity[J]. Food Chemistry, 2014, 160: 357-364.
- [9] CHRISTIANSON M L, WARNICK D A. Temporal requirement for phytohormone balance in the control of organogenesis *in vitro*[J]. Developmental Biology, 1985(2): 494-497.
- [10] SU Y H, LIU Y B, ZHANG X S. Auxin-cytokinin in interaction regulates meristem development[J]. Molecular Plant, 2011(4): 616-625.
- [11] 刘树英, 张志东, 吴林, 等. 兔眼越桔芽增生诱导培养基及激素的筛选[J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(1): 55-57.
- [12] CHANDLER C K, DRAPER A D. Effect on zeatin and 2ip on shoot proliferation of three highbush blueberry clones *in vitro*[J]. Hort-Science, 1986, 21: 1065-1066.
- [13] JAMES D H, READ P E. *In vitro* shoot regeneration from inter node segments and inter node-derived callus of blueberry (*Vaccinium* spp)[J]. Acta Horticulture, 1993, 346: 125-130.
- [14] CAPPELLETTI R, SABBADINI S, MEZZETTI B, et al. The use of TDZ for the efficient *in vitro* regeneration and organogenesis of strawberry and blueberry cultivars[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 207: 117-124.
- [15] CHERNIK V F. Plant regeneration from explant of sterile seedling in two introduced varieties of *Vaccinium corymbosum*[J]. Horticultural Science, 1992, 121: 3-4.
- [16] LITWINCZUK W, WADAS M. Auxin-dependent development and habituation of highbush blueberry (*Vaccinium × coveleanum*) 'Herbert' *in vitro* shoot cultures[J]. Scientia Horticulturae, 2008, 119: 41-48.
- [17] MEINERS J, SCHWAB M, SZANKOWSKI I. Efficient *in vitro* regeneration systems for *Vaccinium* species[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2007, 89: 169-176.
- [18] 刘永富, 陈建军, 吴俊遥, 等. 笃斯越桔组培繁殖育苗技术研究初报[J]. 吉林林业科技, 2008, 37(4): 40-43.
- [19] 宗长玲, 宗成文, 赵巍巍, 等. 长白山笃斯越桔优良单株组培快繁技术的研究[J]. 北方园艺, 2012(4): 113-116.
- [20] LIU C, CALLOW P, ROWLAND L J, et al. Adventitious shoot regeneration from leaf explants of southern highbush blueberry cultivars[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2010, 103: 137-144.

Efficient Regeneration System for *Vaccinium uliginosum* L.

LI Bing^{1,2}, SU Shang^{2,3}, WANG Lijin^{2,3}, WU Jie^{2,3}, WANG Liangsheng², RAO Liquan¹

(1. College of Bioscience and Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128; 2. Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

Abstract: The tender stem explants with leaves from *Vaccinium uliginosum* L. were cultured on medium supplemented with different type, concentration and combination of plant growth regulators to study their effects on adventitious buds regeneration and rooting and shoot growth, respectively. And the effects of different transplanting techniques on the survival rate of plantlets were studied as well. The results indicated that ZT could promote the differentiation of adventitious buds from explants such as leaves and stem segments. The multiplication coefficient was reduced and the adventitious buds were more green and stout when explants were cultured on medium with IBA. The best medium for adventitious buds regeneration was MWPM+1.0 mg · L⁻¹ ZT+0.1 mg · L⁻¹ IBA. Low concentration of IBA could effectively promote the rooting rate of shoots and chlormequat could make the seedlings more strong so that the optimum medium for rooting and strong seedling was MWPM+0.5 mg · L⁻¹ IBA+5.0 mg · L⁻¹ CCC. In the process of transplanting the survival rate reached 100% when the transplanting technique assisted with the nursery bag was used. The results showed that an efficient regeneration system was established for *Vaccinium uliginosum* L. in this study.

Keywords: *Vaccinium uliginosum* L.; regeneration; rooting; chlormequat chloride; nursery bag; transplantation