

培养基种类、玉米素浓度及 pH 值对蓝莓“美登”组培增殖生长的影响

廉家盛，朴炫春*，廉美兰，田娇

(延边大学长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室,吉林 延吉 133002)

摘要:以蓝莓“美登”品种茎段为外植体,研究基本培养基种类、ZT 浓度和培养基 pH 值对其组培苗增殖的影响,结果表明,B₅ 培养基比 MS、White 和改良 WPM 更适于“美登”不定芽增殖培养,当 B₅ 培养基中加入 2.0 mg/L ZT 时,每株可分化出 6.8 个不定芽,ZT 浓度低于或高于 2.0 mg/L 时,分化芽数降低。“美登”组培苗生长受到抑制。pH 值对美登组培苗增殖生长也有影响,pH 值为 5.4 时分化的芽数最多(11.5 个/株),且生长良好。

关键词: 蓝莓; 不定芽; 组织培养

中图分类号: S663

文献标识码: A

文章编号: 1004—7999(2010)04—0269—04

蓝莓(Blueberry),又名越橘、蓝浆果,属杜鹃花科(Ericaceae)越桔亚科(Vaccinioideae)越桔属(Vaccinioideae)植物^[1],为多年生落叶或常绿灌木或小灌木。蓝莓果实具有良好的营养保健作用^[2~3],包括增强视力、消除眼睛疲劳、防止脑神经老化、抗癌、软化血管、增强人体免疫等,其营养价值远高于苹果、葡萄、橘子等水果,堪称“世界水果之王”,是近几年世界发展最为迅速的集营养与保健于一身的果树,被国际粮农组织列为是人类 5 大健康食品之一^[4],据美国蓝莓专家预测,蓝莓将成为本世纪世界范围内最具发展潜力的果树树种^[5~6],具有广泛的市场前景。

然而,蓝莓规模化生产也存在问题,主要是种苗过于混杂,无法保证其种性^[7]。蓝莓种苗繁殖主要有扦插、嫁接及组织培养,其中扦插和嫁接繁殖方法繁殖速度慢、短期内不能满足生产需求,而且苗木生长势、果实品质等诸方面较组培苗有不足之处^[8~9]。目前关于蓝莓组培扩繁的研究也有一些报道^[10~11],但培养基组成等条件依品种有差异。该研究以蓝莓美登(Bloomidon)茎段为材料,研究培养基种类、玉米素浓度及 pH 值对美登组培苗增殖生长的影响,旨在为进一步大规模生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

剪取盆栽蓝莓美登品种半木质化枝条,去掉上部叶片,剪成 2~3 cm 茎段(带 1 个叶芽),流水下冲洗 30 min 后在超净工作台中用 75% 酒精消毒 2~3 min,无菌水冲洗 2~3 次,吸干水后在 0.1% 升汞中消毒 5~8 min,无菌水冲洗 2~3 次,吸干水分,剪去茎段两端,接种到 MS+1.0 mg/L 玉米素(Zeatin, ZT)培养基中。在温度(25±2)℃,相对湿度 70%,光照 1 600 lx,每天光照 16 h 的条件下培养 8 周,将增殖的丛生苗切成单株后接种(MS+1.0 mg/L ZT),每 8 周继代 1 次。

1.2 方法

1) 基本培养基种类的筛选 将美登茎段切成约 1.5~2 cm 大小,接入培养瓶中培养,每瓶接种 4 个茎段。培养基种类设置为 MS, White, 改良 WPM(具体改良为:以 Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 684 mg/L, KNO₃ 190 mg/L, C₁₀H₁₃N₂FeNaO₈ 73.4 mg/L 和盐酸硫胺素 0.1 mg/L 代替原 WPM 培养基中的 K₂SO₄ · CaCl₂、

收稿日期: 2010—10—12 基金项目: 延边大学研究生创新科研项目(2010)第 34 号。

作者简介: 廉家盛(1984—),男,吉林白山人,延边大学农学院园艺系,在读硕士。朴炫春为通讯作者,

Tel: 0433—2435588, E-mail: mllian@ybu.edu.cn

FeSO_4 和 Na_2EDTA) 和 B_5 培养基, 每种基本培养基中均加入 ZT 1.0 mg/L, 蔗糖 30 g/L 和琼脂 7 g/L, pH 值调节为 5.8. 培养 60 d 后从培养瓶中取出组培苗进行调查.

2) 培养基中 ZT 浓度对美登不定芽增殖分化的影响 在上述筛选出的最适基本培养基中分别添加 1, 2, 3, 4 和 5 mg/L ZT, 以不添加 ZT 处理为对照, 每瓶接种 4 个茎段. 培养基的其它成分为蔗糖 30 g/L, 琼脂粉 7 g/L, pH 值 5.8. 培养 60 d 后从培养瓶中取出组培苗进行调查.

3) pH 值对美登不定芽分化的影响 在 $B_5 + \text{ZT } 2.0 \text{ mg/L}$ 培养基中分别调节 pH 为 5.0, 5.2, 5.4, 5.6, 5.8, 6.0, 每瓶接种 4 个茎段. 其它成分相同, 即蔗糖 40 g/L, 琼脂 7 g/L. 培养 60 d 后从培养瓶中取出组培苗进行调查.

2 结果与分析

2.1 培养基种类对蓝莓不定芽增殖生长的影响

将美登茎段切成约 1.5~2 cm 接种于 MS, White, 改良 WPM 和 B_5 培养基中培养 20 d, 发现美登茎段下部长出新鲜腋芽, 且随培养时间逐渐变大, 约 30 d 开始分化出大量不定芽, 随后不定芽不断分化且逐渐生长. 不同培养基中不定芽的分化能力不同, 在 B_5 培养基中不定芽分化及生长显著好于 MS、WPM 及 White 培养基, 培养 60 d 时在 B_5 培养基分化的芽数达 6.4/株, 鲜物重和干物重分别可达 87.6, 18.1 mg(表 1).

表 1 培养基种类对美登不定芽增殖生长的影响

Table 1 Effect of medium types on growth of adventitious shoots in blomidon

| 培养基种类 Medium types | 鲜物重/(mg/株) Fresh weight | 干物重/(mg/株) Dry weight | 丛生芽数 Shoot numbers |
|-----------------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------|
| B_5 | 87.6 a | 18.1 a | 6.4 a |
| MS | 56.6 b | 9.6 b | 4.1 b |
| WPM | 20.7 c | 5.5 c | 3.7 b |
| White | 4.6 d | 1.8 d | 1.0 c |

2.2 ZT 浓度对美登不定芽增殖生长的影响

ZT 对美登不定芽分化影响较大, 当培养基中 ZT 浓度大于 2 mg/L 时, 接种的蓝莓茎段在培养 20 d 时开始逐渐长出愈伤组织, 进而形成不定芽. 而低于 2 mg/L ZT 处理, 产生的愈伤组织较少, 不定芽分化数量也较少, 随浓度的降低不定芽分化数量逐渐降低. 当培养基不添加 ZT 时, 不定芽几乎不分化, 生长不良.

表 2 ZT 浓度对美登不定芽增殖生长的影响

Table 2 Effect of ZT concentration on proliferation and growth of adventitious shoots in blomidon

| ZT/(mg/L) | 鲜物重/(mg/株) Fresh weight | 干物重/(mg/株) Dry weight | 芽/株 Shoots |
|-----------|----------------------------|--------------------------|---------------|
| 0 | 12.9 e | 4.1 e | 1.0 d |
| 1 | 161.7 b | 37.2 c | 4.4 b |
| 2 | 244.9 a | 53.1 a | 6.8 a |
| 3 | 178.5 b | 40.4 bc | 5.8 ab |
| 4 | 98.6 c | 18.4 d | 2.6 c |
| 5 | 46.0 d | 11.8 d | 2.2 c |

由表 2 可知, 培养 60 d 后, 不定芽的鲜物重、干物重和不定芽数量, 在 ZT 0~2 mg/L 时, 随着 ZT 浓度的升高而增加, 在 ZT 2 mg/L 处理出现最大值(鲜物重 244.9 mg, 干物重 53.1 mg); 当 ZT 浓度继续升高时, 不定芽鲜物重、干物重和不定芽数量则呈下降趋势, 尤其 ZT 浓度为 5 mg/L 时, 不定芽鲜物重和干物重仅为 45.96 和 11.80 mg. 因此, 在美登不定芽分化培养时, 在 B_5 培养基中加入 2 mg/L ZT 最为适宜.

2.3 pH值对美登不定芽生长的影响

为了探明pH值对美登不定芽分化增殖的影响,分别设置pH值5.2,5.4,5.6,5.8,6.0对美登不定芽增殖分化的效果进行比较(表3)。pH值5.4时最适合美登不定芽增殖分化,不定芽数多,芽健壮,鲜物重、干物重和不定芽数量分别为283.4,44.4 mg和11.5个/株。

表3 pH值对美登不定芽的增殖的影响

Table 3 Effect of pH on growth of adventitious shoots in blomidon

| pH值 pH value | 鲜物重/(mg/株) Fresh weight | 干物重/(mg/株) Dry weight | 芽/株 Shoots |
|-----------------|----------------------------|--------------------------|---------------|
| 5.2 | 127.4 d | 18.4 c | 5.0 c |
| 5.4 | 283.4 a | 44.4 a | 11.5 a |
| 5.6 | 185.4 bc | 28.9 b | 7.8 b |
| 5.8 | 164.6 c | 26.9 b | 5.5 c |
| 6.0 | 99.5 e | 15.3 c | 3.3d |

3 讨论与结论

3.1 培养基种类对美登不定芽增殖生长的影响

试验结果表明,培养基种类对美登不定芽增殖生长的影响中,B₅培养基最适合蓝莓不定芽增殖生长。这与刘庆忠^[11],马艳丽^[12]等改良WPM培养基有利于‘蓝丰’‘伯克利’蓝莓组培的结果不同,说明蓝莓不同品种对培养基的要求不同,因此,通过组织培养方式生产蓝莓种苗时依据品种需使用不同的培养基,对于‘美登’品种的组培茎段培养,B₅培养基较为适宜。

3.2 ZT浓度对美登不定芽增殖生长的影响

美登不定芽增殖生长的培养过程中,B₅培养基中加入2 mg/L的ZT最为适宜。这与宁志怨等^[13]ZT浓度为2 mg/L时最适合蓝莓不定芽增殖相一致。

3.3 pH值对美登不定芽增殖的影响

在培养过程中过酸或过碱培养基中不定芽增殖分化均受影响,导致生长不良。这与周琳等^[14]研究结果相近,不同蓝莓品种适宜的pH值范围不同。本试验最适宜美登不定芽增殖的pH值为5.4。

参考文献:

- [1] 李亚东.越橘(蓝莓)栽培与加工利用[M].长春:吉林科学技术出版社,2002.
- [2] 李亚东,吴林,刘洪章,等.越橘果实中营养成分分析[J].北方园艺,1996(3):22—23.
- [3] 祖容.浆果学[M].北京:中国农业出版社,1996.
- [4] 顾姻.蓝浆果与蔓越桔[M].北京:中国农业出版社,2001.
- [5] 张华,李景琳,李传欣,等.越桔红色素提取工艺的研究[J].辽宁农业科学,1999(2):8—12.
- [6] 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.
- [7] 董朝莉.蓝莓芽诱导与再生研究[J].广西农业科学,2009,40(3):293—295
- [8] Ahmed E. Long term effects of propagation by tissue culture or softwood single-node cutting on growth habit, yield, and berry weight of “northblue”blueberry[J]. HortScience,1996,16(4):705—706.
- [9] Read P E, Hartley C A, Sandahl J G, et al. Field performance of in vitro propagation blueberries[J]. Proc Int'l Plant Prop Soc, 1987,22(4):450—452.
- [10] 黄文江,周守标,潘超,等.越橘属植物克隆的体外繁殖[J].中国野生植物资源,2005,24(2):62—64.
- [11] 马艳丽.越橘组培快繁技术研究[J].吉林林业科技,2005,34:3—5
- [12] 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,2002,38(3):253.
- [13] 宁志怨,江芹,陈静娴,等.蓝莓丛生芽的诱导及植株再生[J].分子植物育种,2007,5(6):64—66.
- [14] 周琳,徐海军,李静,等.土壤pH值对蓝莓幼苗生长发育的影响[J].国土与自然资源研究,2010(1):91—94.

Effect of medium types, ziatin concentration and pH on shoot proliferation and growth of Blueberry in vitro

LIAN Jia-sheng, PIAO Xuan-chun*, LIAN Mei-lan, TIAN Jiao

(Key Laboratory of Nature Resource and Functional Molecular of Changbai Mountain of Yanbian University, Yanji Jilin 133002, China)

Abstract: The stems of Blueberry "Blomidon" were used as explant to investigate the kinds of culture medium, the concentration of ZT and pH of medium that affecting the rapid propagation of shoots of Blueberry. The results showed that B₅ was more suitable for blueberry in vitro shoot proliferation than MS, White and improved WPM. The B₅ supply with 2.0 mg/L ZT differentiated 6.8 shoots and bud differentiation decreased and shoots growth was inhibited when the concentration of ZT below or above 2.0 mg/L. The pH value of medium also had effect on shoots growth and the shoots grew well and the differentiation was up to 11.5/ plant in pH of 5.4.

Key words: blueberry; proliferation; tissue culture

[上接第 256 页]

[9] 丁世萍, 严菊强, 季道藩. 糖类在植物组织培养中的效应[J]. 植物学通报, 1998, 15(6): 42—46.

[10] 李友勇. 植物组织培养中碳源的作用[J]. 植物生理学通讯, 1984, 30(3): 214—217.

Effect of several factors on rhizome proliferation and growth of *Cymbidium sinense* Willd

ZHENG Yan-yan¹, PIAO Xuan-chun¹, LI Yan², LIAN Mei-lan^{1*}

(1. Key Laboratory of Nature Resource and Functional Molecular of Changbai Mountain of Yanbian University 133002, China; 2. Environmental Protection Bureau of Longjing, Longjing Jilin 133400, China)

Abstract: The rhizomes were used as explants to investigate the effect of medium types, NAA concentration and sugar types on rhizome proliferation and growth of *Cymbidium sinense* in vitro. The results showed that it is not suitable when Hyponex 1 and Hyponex 2 are individually used as culture medium for rhizome differentiation and growth, but combination of both media was optimum, better than MS medium. The medium supplemented with BA and NAA promoted rhizome proliferation, the maximum amount rhizome with favorable growth is found in the medium of Hyponex-12+BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L. Sucrose was more suitable for rhizome culture than fructose and glucose.

Key words: *Cymbidium sinense*; rhizome; tissue

培养基种类、玉米素浓度及pH值对蓝莓“美登”组培增殖生长的影响

作者: 廉家盛, 朴炫春, 廉美兰, 田娇, LIAN Jia-sheng, PIAO Xuan-chun, LIAN Mei-lan, TIAN Jiao
 作者单位: 延边大学长白山生物资源与功能分子教育部重点实验室, 吉林, 延吉, 133002
 刊名: 延边大学农学学报
 英文刊名: JOURNAL OF AGRICULTURAL SCIENCE YANBIAN UNIVERSITY
 年, 卷(期): 2010, 32(4)

参考文献(14条)

1. 李亚东 越橘(蓝莓)栽培与加工利用 2002
2. 李亚东;吴林;刘洪章 越橘果实中营养成分分析 1996(03)
3. 祖容 脍果学 1996
4. 顾姻 蓝浆果与蔓越桔 2001
5. 张华;李景琳;李传欣 越桔红色素提取工艺的研究 1999(02)
6. 修英涛;常凤英;姜河 我国蓝莓(越桔)栽培研究现状及发展措施[期刊论文]-辽宁农业科学 2003(03)
7. 董朝莉 蓝莓芽诱导与再生研究[期刊论文]-广西农业科学 2009(03)
8. Ahmed E Long term effects of propagation by tissue culture or softwood single-node cutting on growth habit, yield, and berry weight of "northblue"blueberry 1996(04)
9. Read P E;Hartley C A;Sandahl J G Field performance of in vitro propagation blueberries 1987(04)
10. 黄文江;周守标;潘超 越橘属植物克隆的体外繁殖[期刊论文]-中国野生植物资源 2005(02)
11. 马艳丽 越橘组培快繁技术研究[期刊论文]-吉林林业科技 2005(1)
12. 刘庆忠;赵红军 高灌蓝莓的组织培养及快速繁殖[期刊论文]-植物生理学通讯 2002(03)
13. 宁志怨;江芹;陈静娴 蓝莓从生芽的诱导及植株再生[期刊论文]-分子植物育种 2007(06)
14. 周琳;徐海军;李静 土壤pH值对蓝莓幼苗生长发育的影响[期刊论文]-国土与自然资源研究 2010(01)

本文读者也读过(10条)

1. 张力思. 魏海蓉. 艾呈祥. 李勃. 刘庆忠 培养基组分对蓝莓组培增殖效率的影响[期刊论文]-落叶果树2006, 38(4)
2. 董朝莉. DONG Chao-li 培养基组分对蓝莓组培苗移栽存活的影响[期刊论文]-广西农业科学2010, 41(6)
3. 王大平. WANG Da-ping 不同因素对兔眼蓝莓离体培养芽诱导效果的影响[期刊论文]-安徽农业科学2009, 37(15)
4. 孙阳. 魏海蓉. 程淑云. 刘庆忠. 李宪利. 刘崇琪. SUN Yang. WEI Hai-rong. CHENG Shu-yun. LIU Qing-zhong. LI Xian-li. LIU Chong-qi 蓝莓组培苗玻璃化及恢复的研究[期刊论文]-山东农业科学2008(3)
5. 郑琪. 孙叶芳. 赵虎. 邢海. 林国梅. 黄岳夫 几种“南高丛”蓝莓新品种的组培快繁技术研究[期刊论文]-上海农业科技2011(2)
6. 孙晓梅. 王新苗. 杨宏光. 张丽杰. 崔文山. SUN Xiao-mei. WANG Xin-miao. YANG Hong-guang. ZHANG Li-jie. CUI Wen-shan 矮丛蓝莓‘北极星’启动培养研究[期刊论文]-北方园艺2010(1)
7. 王平红. Wang Ping-hong 活性炭对蓝莓组培苗生根的影响[期刊论文]-安徽农业科学2010, 38(22)
8. 林宝山. 杜凤国. LIN Bao-Shan. DU Feng-Guo 越桔品种‘爱国者’的组织培养和快速繁殖[期刊论文]-植物生理学通讯2006, 42(5)
9. 刘庆忠. 赵红军. 郑亚芹. 王侠礼. 石立岩 高灌蓝莓微体繁殖技术研究初报[期刊论文]-落叶果树2001, 33(5)
10. 姚平. 孙书伟 蓝莓组织培养瓶内复壮瓶外生根快繁技术[期刊论文]-北方园艺2009(4)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_ybdxnxxb201004010.aspx