

蓝莓品种“粉红柠檬水”组培快繁体系的建立

赵子刚, 张辉, 俞财峰, 沈雪峰, 吴晓华, 舒雅娟 (上海青浦现代农业园区, 上海 201717)

摘要 [目的]建立蓝莓品种“粉红柠檬水”稳定高效的组培快繁体系。[方法]以“粉红柠檬水”带腋芽的茎段为材料,研究不同植物生长调节剂及生根基质对诱导、增殖、生根过程的影响。[结果]在改良 WPM 培养基上,添加玉米素 ZT 2.0 mg/L、NAA 0.1 mg/L 可成功诱导出芽,将芽接种在添加 0.3~1.0 mg/L ZT 玉米素的培养基上增殖良好,增殖系数 1.10~1.40;以水苔藓为扦插基质进行瓶外生根,生根成活率达 85.00%。[结论]该研究可为蓝莓品种“粉红柠檬水”果树种植推广奠定基础。

关键词 粉红柠檬水;组织培养;快繁

中图分类号 S 663 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)18-0086-02

Establishment of Tissue Culture Rapid Propagation System of Blueberry “Pink Lemonade”

ZHAO Zi-gang, ZHANG Hui, YU Cai-feng et al (Modern Agricultural Park of Qingpu, Shanghai, Shanghai 201717)

Abstract [Objective] To establish a fast and efficient tissue culture system of blueberry variety “Pink Lemonade”. [Method] The effects of different plant growth regulators and rooting matrix on the process of induction, proliferation and rooting were studied. The stem segments with axillary buds was used as material. [Result] In the improved WPM medium, adding zeatin 2.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L could successfully induce buds, and the improved WPM medium with the addition of 0.3–1.0 mg/L zeatin had a good proliferation and a proliferation coefficient of 1.10–1.40, and the rate of rooting was 85.00% with the water moss as the cuttage matrix. [Conclusion] The research could lay the foundation for the promotion of the “Pink Lemonade” planting.

Key words “Pink Lemonade”; Tissue culture; Rapid propagation

蓝莓又名越橘, 杜鹃花科越橘属, 为多年生落叶或常绿果树, 呈灌木状生长; 果实为浆果, 蓝色, 近圆形, 单果重 0.5~2.5 g; 果肉细腻, 种子极小, 甜酸适中, 具有宜人的香气, 可鲜食, 也可加工成果汁饮料、果酒等饮品。蓝莓果实营养丰富, 微量元素含量也很高, 特别是富含钙、磷、镁、锌、铁、锗、铜, 其抗氧化能力为所有果品、蔬菜之首, 对防止人体细胞衰老, 预防老年性疾病、心脏病、白内障、癌症、记忆力衰退等具有特殊功效, 因而被国际粮农组织列为五大健康食品之一, 被誉为“21 世纪功能性保健水果”和“水果皇后”^[1], 是近年世界发展最为迅速的集营养保健于一身的第三代果树新品种, 风靡世界。

国内外对于蓝莓组培快繁的研究较多^[2-3], 利用茎段、叶片作为外植体开展研究, 已在多个类群中建立了组培再生体系。“粉红柠檬水”属兔眼蓝莓系列, 由于成熟后果实呈鲜艳的红色, 现已成为家庭盆栽种植、旅游观光种植的新宠, 市场需求量较大, 常规扦插育苗受时节限制, 繁殖速度较慢, 生长势差, 果实品质较低, 组培快繁具有速度快、商品性高、连年生产、成本较低等优势, 因此建立适于该品种稳定高效的组培快繁体系意义重大。

1 材料与与方法

1.1 材料 试验于 2015 年 4 月—2017 年 10 月在上海青浦现代农业园区组培实验室和基地完成。品种为“粉红柠檬水”, 以 4—5 月蓝莓新生枝条为材料, 截取枝顶端 10 cm 长。

1.2 方法

1.2.1 外植体的选择与消毒。从田间选择无病健壮蓝莓母株, 截取枝顶端 10 cm 长, 用自来水冲洗 30 min 后, 在超净台上进行消毒处理, 用 70% 乙醇表面处理 30 s, 无菌水冲洗 2

次, 然后用 0.1% 氯化汞处理 8~10 min, 最后用无菌水冲洗 4 次, 将枝条剪切成至少带 1 个腋芽的茎段, 接种于诱导培养基上^[4-5]。接种后移至培养室内培养, 光照 2 000 lx, 16 h/d, 温度 (25±1) °C, 观察记录。

1.2.2 诱导产生不定芽。将蓝莓茎段接种于含不同浓度玉米素 ZT (0、2.0、4.0 mg/L)、NAA (0、0.1 mg/L) 的改良 WPM 培养基上, 每个培养瓶接种 3 个茎段。采用完全区组设计, 共设 6 种培养基配比方案 (表 1), 每周观察记录分生组织的生长动态, 30 d 后统计萌发率, 萌发率 = 萌发芽数/无菌外植体数 × 100%。

表 1 ZT 与 NAA 配比方案

Table 1 ZT and NAA matching scheme mg/L

处理 Treatment	ZT	NAA
A ₁	0	0
A ₂	0	0.1
A ₃	2.0	0
A ₄	2.0	0.1
A ₅	4.0	0
A ₆	4.0	0.1

1.2.3 继代增殖。将诱导分化产生的健壮小苗进行分割, 然后把分割开的小苗接种到增殖培养基上, 继代组培苗株数为 20 株/瓶, 每个处理 10 瓶, 培养容器为 200 mL 玻璃瓶, 增殖培养过 60 d 继代 1 次。增殖培养基采用含玉米素 ZT (0、0.3、0.5、1.0、1.5 mg/L) 的改良 WPM 培养基, 采用完全区组设计, 共设立 5 种培养基配比方案, 记为 B₁~B₅。60 d 后统计增殖系数及苗粗壮度, 增殖系数 = 增殖芽数/正常丛芽数。

1.2.4 组培苗驯化与瓶外生根。由于组培苗在无菌、高湿、强光等优越条件下生长形成, 如直接将其移至大田, 势必会出现生理功能上的紊乱而不能成活, 因此, 移栽前要将培养

作者简介 赵子刚 (1984—), 男, 山东邹城人, 农艺师, 硕士, 从事植物组织培养研究。

收稿日期 2018-03-22; **修回日期** 2018-04-04

瓶从培养室中取出置于自然条件下,打开瓶盖,让幼苗进行透气锻炼,以提高抗逆性。24 h 后,从瓶中取出,将其剪成2~3 cm 的茎段,速蘸生根液(1 g/L IBA)后栽入不同混合基质(草炭:珍珠岩为2:1)及水苔藓中。用塑料薄膜盖好,保持湿度70%以上,初期适当遮光,后期逐渐通风,增加光照30 d 后,可去除塑料薄膜,统计成活率,成活率=成活植株数/移栽植株数×100%。

表2 不同 ZT 与 NAA 对比对蓝莓初代诱导的影响

Table 2 Effects of different ZT and NAA ratios on the induction of blueberry

处理 Treatment	接种芽数 Inoculating bud number//个	萌发芽数 Germination number//个	萌发率 Germination rate//%	畸变芽数 Distortion bud number//个	畸变率 Distortion rate//%
A ₁	45	5	11.11	0	0
A ₂	45	6	13.33	0	0
A ₃	45	23	51.11	0	0
A ₄	45	25	55.56	0	0
A ₅	45	28	62.22	6	13.33
A ₆	45	30	66.66	8	17.77

2.2 茎段增殖 将诱导出的蓝莓苗转接到继代培养基上,60 d后调查芽的增殖情况。由表3可知,芽的增殖受 ZT 浓度的影响,较低浓度 ZT 有利于单芽生成(图1),高浓度 ZT 反而会提高芽的畸变率,表现为苗纤细瘦弱,木质化程度低,不利于持续的继代增殖,该试验认为增殖过程中最适的植物

表3 ZT 对蓝莓茎段增殖的影响

Table 3 Effects of ZT on the proliferation of blueberry stem

处理 Treatment	接种芽数 Inoculating bud number//个	萌发芽数 Germination number//个	增殖系数 Proliferation coefficient
B ₁	180	110	0.61
B ₂	200	220	1.10
B ₃	180	190	1.05
B ₄	200	280	1.40
B ₅	160	340	2.22



图1 蓝莓茎段增殖情况

Fig.1 Blueberry stem proliferation

2 结果与分析

2.1 初代诱导 由表2可知,A₃~A₆这4种培养基均能诱导蓝莓产生不定芽,即蓝莓腋芽萌发需要 ZT 的参与。当 ZT 超过2.0 mg/L 时,萌发率并无显著提高,但芽畸变率提高,表现为木质化程度低,有黄化现象,这表明高浓度的 ZT 会影响茎尖的正常分化。该试验表明,蓝莓初代诱导过程中较适宜的植物生长调节剂为 ZT 2.0 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L。

生长调节剂为 ZT 0.3~1.0 mg/L。

2.3 组培苗驯化与生根 将组培茎段剪切成2~3 cm(至少带2个腋芽),速蘸生根液后栽入不同基质中,由表4可知,混合基质中的成活率只有68.33%,低于在水苔藓中的成活率(85.00%),因此,蓝莓组培苗瓶外生根时较理想的生根基质为水苔藓(图2)。

表4 不同基质对蓝莓组培苗生根成活的影响

Table 4 Effects of different matrix on rooting of blueberry tissue culture seedlings

基质 Matrix	移栽数 Transplants number//个	成活苗数 Survival seedling number//个	成活率 Survival rate//%
混合基质 Mixed matrix	120	82	68.33
水苔藓 Water moss	120	102	85.00



图2 蓝莓组培苗驯化生根

Fig.2 Domestication and rooting of blueberry tissue culture seedlings

(下转第115页)

植物进行合理的轮作、间作、套作等高效种植模式。目前,已发现许多林木对草本植物具有较强的化感作用,如白栎树、红栎^[15]、蓝桉^[16]、槟榔、橡胶^[17]、胡椒、芒果、黄皮^[18]、巨桉^[19]、核桃^[20]、木豆^[21]、红叶李^[22]、盐肤木^[23]等,并且来自林木的化感物质因其浓度不同对草本植物的作用效果也是不同的。众多研究发现,高浓度的化感物质抑制植物生长,低浓度的化感物质不影响或促进植物生长。化感物质的浓度是影响化感效应的主要因素,化感作用的性质和强度取决于化感物质的浓度大小。该研究表明,白千层树皮乙醇提取液对黑麦草、苜蓿种子的萌发和幼苗生长存在一定的化感作用。在低浓度下,黑麦草、苜蓿种子的发芽率会升高,但是发芽势已经开始受到抑制;在高浓度下,对上述 2 种植物种子萌发起抑制作用,且浓度越高,化感抑制作用越明显,表明随着种子萌发,其对提取物的适应度增加。白千层树皮乙醇浸提液对黑麦草、苜蓿幼苗根和茎的生长也表现出了低促高抑的现象。该研究通过测试白千层提取液对受体萌发和生长影响的一些形态学指标的影响,初步表明白千层树皮中含有对黑麦草和苜蓿种子萌发、根芽生长起化感作用的次生化合物,希望能为饲草种植、草坪建植以及白千层在园林植物绿化配置提供依据。但该研究仅以测试白千层的某一组织的浸提液对受试植物种子发芽和幼苗生长的影响为主,未涉及化感物质的筛选和浓度测定。至于白千层其他组织是否具有化感作用及其化感作用的生理生化机制,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] LOW T. Bush medicine [M]. North Ryde, NSW: Angus and Robertson, 1991:60.
- [2] 邓永学,王进军,鞠云美,等.九种植物精油对玉米象成虫的熏蒸作用比较[J].农药学报,2004,6(3):85-88.
- [3] 张海燕,邓永学,王进军.几种植物精油对长角扁谷盗成虫的熏蒸作用

- [J].植物保护,2005,31(2):60-63.
- [4] 朱德明,丁丽,匡钰,等.茶树油对芭蕉炭疽菌菌丝生长和孢子萌发的抑制活性[J].食品研究与开发,2008,29(6):134-137.
- [5] 张美翠,赵瑞英,阮永明.茶树和桉树精油杀虫剂对扶桑绵粉蚧的毒力测定[J].浙江师范大学学报(自然科学版),2016,39(1):70-73.
- [6] 肖凯军,银玉容,郭祁远,等.白千层油及其在医药上的应用[J].中国现代应用药学,2001,18(6):423-425.
- [7] 丁恺.茶树油的性质、应用及市场发展[J].牙膏工业,2005(1):44-46.
- [8] 张孝杰.白千层的抑菌机理及其应用研究[D].厦门:集美大学,2013.
- [9] 林海清,刘少明,欧阳革成,等.非寄主植物提取物对橘小实蝇的产卵拒避作用[J].环境昆虫学报,2008,30(3):224-228.
- [10] 李燕婧,钟正贤,林霄,等.互叶白千层醇提物的药理作用研究[J].广西中医药,2013,36(3):77-79.
- [11] 陈秀娜,翁殊斐,冯志坚,等.广州市高校行道树景观调查与分析[J].广东园林,2010,32(3):54-57.
- [12] 阎飞,杨振明,韩丽梅.植物化感作用(Allelopathy)及其作用物的研究方法[J].生态学报,2000,20(4):692-696.
- [13] 王晓英,冯殿齐,张元湖,等.古树对萝卜、白菜化感作用的生物测定和作用机制研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2013,44(3):333-339.
- [14] 曾任森.化感作用研究中的生物测定方法综述[J].应用生态学报,1999,10(1):123-126.
- [15] LODHI M A K. Role of allelopathy as expressed by dominating trees in a lowland forest in controlling productivity and pattern of herbaceous growth [J]. American journal of botany, 1976, 63(1): 1-8.
- [16] DEL MORAL R, MULLER C H. Fog drip: A mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globules* [J]. Bulletin of the torrey botanical club, 1969, 96(4): 467-475.
- [17] 颜桂军,朱朝华,陈秋波,等.槟榔、橡胶化感作用的初步研究[J].江西农业大学学报,2006,28(5):713-717.
- [18] 颜桂军,朱朝华,骆焱平,等.胡椒、芒果和黄皮的化感作用潜力[J].应用生态学报,2006,17(9):1633-1636.
- [19] 高丹,胡庭兴,黄绍虎,等.巨桉主要器官浸提液对三种牧草的化感作用初步探讨[J].四川农业大学学报,2007,25(3):365-368,372.
- [20] 别智鑫,翟梅枝,贺立虎,等.核桃青皮水浸液对小麦和三叶草的化感作用研究[J].西北林学院学报,2007,22(6):108-110.
- [21] 许岳飞,毕玉芬,金晶炜.木豆化感作用对 6 种灌草种子萌发和幼苗生长的影响[J].云南农业大学学报,2008,23(3):375-380.
- [22] 朱强,安黎,邹梦辉,等.红叶李水浸液对 4 种草坪植物的化感作用[J].浙江农林大学学报,2014,31(5):710-715.
- [23] 李悦,王金辉,朱世贝,等.盐肤木水浸液对 2 种常见杂草的化感作用[J].安徽农学通报,2015,21(8):35-36.

(上接第 87 页)

3 结论与讨论

该试验以“粉红柠檬水”的带腋芽茎段为外植体,接种在添加 ZT 2.0 mg/L 及 NAA 0.1 mg/L 的改良 WPM 培养基上进行初代诱导,将诱导的芽在添加 0.3~1.0 mg/L ZT 的改良 WPM 培养基上进行增殖,增殖系数达 1.10~1.40,所诱导的蓝莓苗木质化程度较高,可直接用于瓶外扦插生根,最佳生根基质为水苔藓,生根成活率为 85.00%。

已有的研究表明,蓝莓组织培养以 MS、WPM 为基本培养基效果较好^[6-8],该研究采取改良 WPM 培养基,添加 ZT,不仅增殖系数高,而且增殖苗的木质化程度高,可以直接进行瓶外扦插生根,成活率高,成本低,可实现工厂化快速育苗。作为第三代果品,蓝莓有着广阔的市场前景,组培育苗

加快了繁育速度,为该品种的果树种植推广奠定了基础。

参考文献

- [1] 郝瑞.越桔及其栽培[J].中国果树,1987(1):24-28.
- [2] NICKERSON N L, HALL V. Callus formation in stem internode section of lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) cultured on a medium containing plant growth regulators [J]. Hort Rev, 1976, 16: 29-35.
- [3] 陈慧都,郝瑞,关爱年,等.越桔工厂化育苗研究[J].中国农业科学,1990,23(3):44-50.
- [4] 张凤生,鹿娜,姜淼,等.蓝莓组织培养与快速繁育[J].黑龙江农业科学,2009(3):3-5.
- [5] 王侠礼,钟士传,郑亚琴,等.美国高灌蓝莓的引进及微体快繁技术研究[J].中国种业,2003(12):40-41.
- [6] 樊庆杰,张彩玲,韩超慧.北高灌蓝莓的离体快速繁殖研究[J].中国新技术新产品,2009(19):231.
- [7] 张力思,魏海蓉,艾呈祥,等.培养基组分对蓝莓组培增殖效率的影响[J].落叶果树,2006,38(4):13-14.
- [8] 陈镇.高丛蓝莓组培体系及种子萌发率的建模研究[D].金华:浙江师范大学,2011.

科技论文写作规范——题名

以最恰当、最简明的词句反映论文、报告中的最重要的特定内容,题名应避免使用不常见的缩略语、首字母缩写词、字符、代号和公式等。一般字数不超过 20 字。英文与中文应相吻合。英文题名词首字母大写,连词及冠词除外。