

# 蓝莓组织培养与快速繁育

张凤生, 鹿娜, 姜淼, 李健虹, 薛丹丹, 王保菊, 武斌, 赵娜  
(哈尔滨市农业科学院, 黑龙江哈尔滨 150070)

**摘要:** 利用成龄蓝莓的茎段或茎尖为外植体, 培养在添加各种激素配比的 MW 培养基上。研究蓝莓离体繁殖影响因素, 筛选蓝莓离体所需最佳启动、增殖和生根的培养基及培养条件。结果表明: 在蓝莓幼芽分化时的启动培养基和增殖培养基最佳配方均为  $MW + NAA 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + BA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 适合生根的培养基为  $1/2 MW + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

**关键词:** 蓝莓; 组织培养; 快速繁育

中图分类号: S663.9      文献标识码: A      文章编号: 1002-2767(2009)03-0003-03

## Tissue Culture and Rapid Propagation of Blueberry

ZHANG Feng-sheng, LU Na, JIANG Miao, LI Jian-hong, XUE Dan-dan, WANG Bao-ju, WU Bin, ZHAO Na  
(Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150070)

**Abstract:** Taking adult stem blueberry or shoot tip as the explants, they were cultivated in the medium of MW adding with different ratio of hormone. The blueberry vitro propagation influencing factors, blueberry vitro screening for the best start, proliferation and the rooting medium and culture conditions were studied. The results showed that: blueberry budlet division at the start of the proliferation of medium and medium were the best formula  $MW + NAA 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + BA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , for the rooting medium for  $1/2 MW + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

**Key words:** blueberry; tissue culture; rapid propagation

蓝莓(Blueberry)又名越橘, 属于杜鹃花科乌饭属(*Vaccinium*)多年生落叶或常绿果树, 呈灌木状生长。蓝莓在我国又称蓝浆果或越橘, 因浆果为深蓝色而得名, 主要分布在北美。在我国大量分布在华东、华中、华南至西南及东北地区, 常分布在丘陵地带或海拔在 400~1 400 m 的山地, 常见于山地林内或灌丛中。果实为浆果、蓝色、近圆形, 单果重 0.5~2.5 g, 最大可达 3.5~5.0 g。果肉细腻, 种子极小, 甜酸适中, 具有宜人的香气, 可鲜食, 也可以加工成果汁饮料、国酒等饮品。蓝莓果实营养丰富, 据测定每百克蓝莓鲜果中含蛋白质 400~700 mg, 脂肪 500~600 mg, 碳水化合物 12.3~15.3 g, 维生素含量高于其它水果, 维生素 A 高达 81~100 国际单位, 维生素 E 2.7~9.5  $\mu\text{g}$ , SOD 5.39 国际单位; 微量元素含量也很高, 特别是富含钙、磷、镁、锌、铁、锗、铜, 抗氧化能力为所有果品、蔬菜之首。

并且蓝莓天然生长在空气新鲜、土质肥沃的山林里, 其产品(食用器官)具有质地新鲜, 风味独特, 营养丰富等特点, 在国内外被称为无污染的绿色保健食品, 倍受人们喜爱。它具有常规栽培水果无法比拟的优良

特性。首先, 常规水果经常需要施用农药, 水果产品上残留少量农药, 长期食用人体中就会积累越来越多的农药成份, 同时为了使种植的水果高产, 还要施用大量化肥, 不仅降低了种植水果的品质, 而且增加了水果大量的有害物质残留。尽管人类的医疗科技水平很发达, 但由于食物污染带来的种种慢性疾病越来越多。蓝莓在长期的进化当中, 逐渐具备了适应性强, 对气候及土壤条件要求低等一系列优点, 其抗病虫害能力强, 一般没有病虫害, 且其生长力顽强, 耐旱耐涝, 因而根本无需施用农药、化肥即可生长完好。因此可以说, 蓝莓无毒无害, 是卫生可靠的绿色食品。

蓝莓果实中含有丰富的鞣花酸和花青素类物质及丰富的营养成分, 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“世界水果之王”, 是近几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, 风靡当今欧美及亚洲的日本和澳洲的新西兰等国。正所谓“有病治病, 无病强身”, 达到延年益寿之目的。

试验对蓝莓的组织培养及快速繁殖进行了探索, 为通过组织培养法对蓝莓进行快繁以及进一步开展其基因工程奠定基础。

收稿日期: 2008-08-04

第一作者简介: 张凤生(1977-), 男, 黑龙江绥化市人, 学士, 农艺师, 主要从事园艺类组织培养研究。Tel: 13936322142; E-mail: zhuan-gli0451@sina.com。

1 材料与方法

1.1 外植体

供试的蓝莓品种由哈尔滨市农业科学院提供,为智利引种蓝莓。选长势旺盛的幼嫩枝条,除去所有叶片,切取除顶芽外的第 3~10 节茎段作外植体。

1.2 无菌材料的获得

将外植体表面用洗衣粉液洗净,自来水冲洗 30 min,在超净台上用 70%酒精表面灭菌 1 min,0.1%升汞浸泡 10 min,无菌水冲洗 5 次,在解剖镜下去掉芽鳞再用 0.1%升汞灭菌 4 min,无菌水冲洗 5 次,最后将枝条切成长 0.5~1.0 cm 带腋芽的茎段。

1.3 实验方法

实验采用的培养基是在 MS 和 WPS 基础上改良的 MW 培养基分别加入不同质量浓度的 BA 和 NAA,制成改良的 MW 培养基。从中选择最适合幼芽诱导分化、增殖生根的培养基。培养基 pH4.0~5.0 在 121℃、131 kpa 的条件下灭菌 20 min。培养温度(24±2)℃,光照 10~12 h·d<sup>-1</sup>,光照强度为 1 200~1 600 lx。

2 结果与分析

2.1 不同培养基及不同外植体对初始分化的影响

由表 1 可见,经过改良的 XY 培养基适合蓝莓组培苗的生长分化率在 86%以上。在接种采用新抽嫩茎作为外植体消毒过程简便易行,污染率低且分化率明显提高。

表 1 不同培养基及不同外植体对初始分化的影响

培养基	外植体	污染率/ %	分化率/ %
MS	休眠芽	70	8
	嫩芽	13	48
WPS	休眠芽	79	5
	嫩芽	15	80
MW	休眠芽	75	9
	嫩芽	5	86

2.2 不同激素与浓度对蓝莓芽分化的影响

以改良的培养基 XY 为基本培养基作激素和浓度的 7 种不同组合见表 2,I 组合不加任何激素芽不分化;I 组合只加低浓度的生长素 NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>不加任何细胞分裂素,则只有个别芽分化,但没有形成植株;III 组合只加细胞分裂素 BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>而不加任何生长素,则有少数芽分化,形成的苗的数量比较少;IV 组合只加细胞分裂素 KT 0.5 mg·L<sup>-1</sup>而不加任何生长素,则有少数芽分化,形成苗数量也较少;V 和 V 两组合在加细胞分裂素 KT 和 BA 的基础上,结合使用低浓度的生长素 NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>,芽的分化明显提高。其中加细胞分裂素 BA 与低浓度的生长素 NAA 的配合使用效果好于细胞分裂素 KT 与低浓度生长素 NAA 的组合效果。VI 组合培养基用 MS 加生长素 NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>,结果培养基 MS 的效果好于 MW。

表 2 不同激素与浓度对芽分化的影响

培养基	组合号	BA/ mg ° L <sup>-1</sup>	KT/ mg ° L <sup>-1</sup>	NAA/ mg ° L <sup>-1</sup>	接种芽数	分化频率	生长情况
MW	I	0	0	0	10	0	没有分化
MW	II	0	0	0.05	10	30	少数分化
MW	III	0.5	0	0	10	20	少数分化
MW	IV	0	0.5	0	10	20	少数分化
MW	V	0	0.5	0.05	10	50	分化形成多丛苗条
MW	VI	0.5	0	0.05	10	80	分化苗条
MS	VII	0	0	0.05	10	80	形成苗条少

2.3 细胞分裂素和生长素不同浓度对芽分化的影响

为了研究细胞分裂素 BA 与生长素 NAA 对芽分化的最适浓度的比值,分别对 BA 和 NAA 进行 6 个不同浓度水平的实验(见表 3,表 4)。

表 3 同一浓度细胞分裂素和不同浓度生长素对芽分化的影响

培养基号	NAA / mg ° L <sup>-1</sup>	BA / mg ° L <sup>-1</sup>	接种芽数	分化芽数	分化率 / %
1	0.05	0	10	0	0
2	0.05	0.1	10	1	10
3	0.05	0.3	10	5	50
4	0.05	0.5	10	8	80
5	0.05	0.8	10	2	20
6	0.05	1.0	10	0	0

表 4 同一浓度生长素和不同浓度细胞分裂素对芽分化的影响

培养基号	BA / mg ° L <sup>-1</sup>	NAA / mg ° L <sup>-1</sup>	接种芽数	分化芽数	分化率 / %
1	0.5	0	10	1	10
2	0.5	0.01	10	3	30
3	0.5	0.03	10	5	50
4	0.5	0.05	10	8	80
5	0.5	0.08	10	4	40
6	0.5	0.10	10	3	30

从表 3 和表 4 可以看出,在生长素 NAA 相同的浓度的情况下,细胞分裂素 BA 6 个不同浓度的组合实验中 BA 为 0.3~0.5 mg·L<sup>-1</sup>时效果最佳 芽的分芽数和分化率最高 而高于或低于这个浓度范围芽的分化率都低。在细胞分裂素 BA 为 0.5 mg·L<sup>-1</sup>相同浓度下的生长素

NAA 6 个不同浓度的组合实验中, 当 NAA 的含量为  $0.03 \sim 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时效果最佳, 芽的分化率和分芽数最高, 而高于或低于该浓度范围芽的分化率都低。

2.4 不同生长素对丛生芽生根的影响

将无根嫩茎转入生根培养基中以诱导生根。一般

一周以上形成幼根。20 d 以后形成多条须根。影响生根的主要因子是培养基类型和附加生长素种类和浓度。本实验采用不同的培养基、附加不同种类和不同浓度的生长素(见表 5)。

由表 5 可以看出在不添加生长素时以 1/2MW 的

表 5 生长素(NAA)对蓝莓丛生芽生根的影响

培养基号	母液	NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	根数(条)/棵	生根苗数/接苗数	生根率/%	生长状况
1	MW	0	5	40/80	50	生根较少苗细弱
2	1/2MS	0	4	40/80	50	生根较少苗弱
3	1/2MW	0	7	56/80	70	生根较多苗较好根细
4	1/2MW	0.2	9	60/80	75	生根较多较粗苗较好但发黄
5	1/2MW	0.3	10	64/80	80	生根多粗壮苗绿
6	1/2MW	0.5	13	78/80	97	生根最多粗壮苗绿且壮

培养基生根率最高, 根条数多, 加入 NAA 可以使生根率明显提高, 以  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  最好, 根条数多且粗壮苗长得比较好。所以适合的培养基为 1/2MW 培养基, 加入的激素以 NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  为最好。

2.5 试管苗移栽

当幼苗形成发达的根系就可以移栽到备好土的营养杯中, 育苗前首先将营养杯瓶口塞打开。在自然光下进行抗性锻炼。移栽时洗净沾在根上的培养基, 移入土中。用透明罩盖一周, 使小苗适应新的环境。去罩后在通风阴凉处每天喷水 2 次, 大约 10 d 左右度过缓苗期小苗生长挺拔, 有的长出新叶这时可以移栽到自然光下正常生长、管理。

3 讨论

实验结果表明, 在实验初期采用了幼嫩的茎段为外植体, 为了进一步完善其快速繁殖的技术, 应对休眠枝条加强研究。在添加 BA 时培养基中的浓度不宜过高, 否则在添加 BA 后, 茎节开始变粗, 由切口处逐渐产生愈伤组织后再分化出芽, 不定芽增殖系数低, 遗传稳定性差。在诱导增殖时添加 NAA 的培养基中 NAA 浓度不宜大于  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , NAA 浓度过高形成的丛生芽团密集、矮化而抑制了主茎伸长, 难以分离出正常小苗。是否可以改用其他激素进行调节还需进一步研究。

4 结论

以蓝莓幼嫩的茎段为外植体, 其启动培养基和增殖培养基最佳配方均为  $\text{MW} + \text{NAA} 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{BA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 适合生根的培养基为  $1/2\text{MW} + \text{NAA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

参考文献:

[ 1 ] Line Brissette, Laurence Tremblay, Danitel Lord. Micropopagation of lowbush blueberry from mature field-grown plants[ J ]. Hortscience, 1990, 25(3): 349-351.

[ 2 ] Wolfe D E, Eck P, Hin C. Evaluation of seven media for micropropagation of highbush blueberry[ J ]. Hort Science, 1983 18(6): 703-705.

[ 3 ] 程广有. 名优花卉组织培养技术[ M ]. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 5-70.

[ 4 ] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[ M ]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 24-74.

[ 5 ] 顾嫻, 贺善安. 蓝浆果与蔓越桔[ M ]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 1-24.

[ 6 ] Nikerson N L. Invitor shoot formation in loebush blueberry seedling explants[ J ]. Hortscience, 1978 13(6): 698.

[ 7 ] 刘庆忠, 赵红军, 郑亚芹, 等. 高灌蓝莓微体繁殖技术研究初报[ J ]. 落叶果树, 2001(5): 1-3.

[ 8 ] 王侠礼, 钟士传, 郑亚芹, 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.

[ 9 ] 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: 1-2.

[ 10 ] 赵建萍, 毕可华, 王修强, 等. 不同支持物对“艾西丝”南瓜试管苗生根影响的研究[ J ]. 生物技术, 1998 8(3): 27-29.

[ 11 ] 刘庆忠, 赵红军. 高灌蓝莓的组织培养及快速繁殖[ J ]. 菌数生理学通讯, 2002, 8(3): 253.

[ 12 ] 程广有, 刁淑清. 笃斯越桔硬枝扦插技术研究[ J ]. 吉林林学院报, 1999, 15(3): 163-165.

[ 13 ] 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.

[ 14 ] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[ M ]. 甘肃: 甘肃科学技术出版社, 1998.

[ 15 ] 苗平生. 海南省的野生果树资源[ J ]. 园艺学报, 1990, 17(3): 169-176.