

越橘组织培养研究进展

梁晓晶¹, 代志国¹, 翟熙伦²

(1. 东北农业大学 园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国农业科学院 烟草研究所, 山东 青岛 266061)

摘要:综述了国内外越橘组织培养中无菌繁殖系的建立、继代增殖培养、愈伤组织诱导及分化、试管苗生根培养和试管苗的驯化移栽等方面的研究内容, 并对组织培养在越橘上的应用及展望进行了分析。

关键词:越橘; 组织培养; 应用

中图分类号:S663.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)06-0138-05

越橘, 又称蓝莓, 属于杜鹃花科越橘属(*Vaccinium*)植物, 为多年生落叶或常绿果树, 是近年来兴起的营养保健水果, 在各个领域都有广泛的用途, 例如: 食品、美容甚至医药方面等。越橘果实的营养成分被国际粮农组织认定为五大健康食品之一, 不但可以延缓体内的细胞衰老, 减缓老年性疾病的发生, 而且对于癌症、眼部疾病、心脏病、记忆力减退等, 有良好的保健预防作用^[1-11]。采用组织培养技术可进行越橘种质资源创新、缩短育种周期和培育无病毒苗木等。现对近十年来国内外在越橘组织培养等方面的研究进展进行综述, 旨在为越橘组织培养的进一步研究提供参考。

1 组织培养技术研究

1.1 无菌繁殖系的建立

1.1.1 取材时间 不同组织和器官, 因为其不同的生长发育阶段和特性, 在组织培养中产生的效果是不同的, 同时外植体的种类也是影响组织培养的重要因素之一。许多植物以茎段作为外植体诱导愈伤组织的成功率要远远高于用其它外植体诱导。对于越橘而言, 外植体采集最好选择水培后萌发的芽或在春季采集, 此时不仅植株生长旺盛, 并且能够有效降低污染率, 幼龄植株的分化能力也较强, 同时应尽可能选择在一年生或当年生枝条上采集外植体。Sidorovich E A 等, 通过研究表明, 对于植株的分化效果, 不同生长时期获取试材会产生差异性明显的结果。并指出获取茎段

的最佳时期是 4 月份, 相比其它时期, 此时期的茎段不易产生愈伤组织, 生长快, 芽分化较多且褐变较少。

王连润等人以夏普蓝、戴安娜等 6 个越橘品种为外植体于当年的 10 月选取无病虫害且生长势健壮的枝条, 将叶片摘除后, 用洗洁剂将枝条清洗干净, 放于自来水下冲洗 30 min 左右。再将枝条剪成 3~4 cm 的茎段, 每个茎段上有 1~2 个饱满的芽。研究表明, 选取植株健壮生长势优良的枝条, 带隐芽的茎段作为外植体, 建立的无菌体系, 成苗率高达 90%, 仅有 8% 的污染率^[14]。

1.1.2 外植体的选择与灭菌 在进行植物组织培养过程中, 因为外植体先诱导愈伤组织, 再诱导产生不定芽, 这一途径也用于越橘的组织培养, 并且能在多种外植体诱导出愈伤组织进而分化出不定芽。Hrisko D 等于 1993 年以越橘的茎尖、实生苗子叶和上胚轴为外植体诱导不定芽获得成功, 根的外植体的诱导尚在研究探索阶段。以越橘叶片诱导不定芽有大量的报道, 在进行高丛越橘和兔眼越橘研究的结果表明可通过叶片诱导出不定芽。矮丛越橘以子叶或胚可获得不定芽和愈伤组织, Chernik 等对上胚轴诱导不定芽进行了试验, 研究表明以非子叶叶片器官诱导偶尔获得不定芽。Sidorovich 等对种子和胚诱导不定芽尚未成功。

一般越橘的外植体为 1~2 cm 的带芽茎段, 或把当年生枝条剥去芽鳞, 切去基部的受损组织, 接种于诱导芽萌发的培养基中, 或取叶片剪成 1 cm² 的方块接种于培养基上。以茎尖为外植体进行诱导不定芽效果最好, 高达 79% 的萌动率, 成芽速度快, 节间膨大并有愈伤组织出现, 同时污染率、死亡率比较低; 以老叶为外植体在进行诱导不定芽的过程中, 出现少量的愈伤组织, 芽的诱导

收稿日期: 2011-01-13

第一作者简介: 梁晓晶(1987-), 女, 黑龙江哈尔滨市人, 硕士, 从事蓝莓等小浆果种质资源研究与利用工作。E-mail: shentingjing33@sina.com。

通讯作者: 代志国(1970-), 男, 吉林省安图县人, 硕士, 副教授, 硕士研究生导师, 从事蓝莓等小浆果种质资源研究与利用工作。E-mail: daizhiguo71@yahoo.com.cn。

过程十分艰难,所需的时间较长,萌动率较高,污染小,死亡率较高;以幼叶为外植体进行诱导的过程中萌动率很低,萌动力十分弱,在延长培养时间的条件下几乎不萌发,逐渐死亡。培养至 2 代后死亡率达 80%。

对外植体进行低温预处理可以减少褐变的发生,由于低温抑制多酚氧化酶的缘故,可使外植体处于旺盛的生长状态,减少了褐变的发生。研究表明,低温处理的那部分枝条萌动的多,褐变的少,萌动率为 60%,褐变率为 36.7%,而未低温处理的那部分枝条萌动的少,褐变的少,萌动率为 40%,褐变率为 70%^[6]。黄文江等人以 7 个北高灌越橘和 2 个南高灌越橘为试材,从田间健康生长的植株上剪取带壮芽的休眠枝条,室内插瓶水培催芽,待芽突破鳞片露出绿芽时,把枝条剪单茎段,结果表明,采用室内水培催芽,以萌动的芽为原始外植体进行建立无菌体系,可达 95% 的成苗率,最后形成生长势健壮的绿苗,仅有 5% 以下的污染率^[16]。

董朝莉采用 2 种外植体灭菌方法:(1)75% 酒精浸泡 10 s,无菌水冲洗 3 次,0.1% 升汞浸泡 10 min,无菌水冲洗 5 次;(2)75% 酒精浸泡 10 s,无菌水冲洗 3 次,12% H_2O_2 浸泡 10 min,无菌水冲洗 3 次,0.1% 升汞浸泡 10 min,无菌水冲洗 5 次。结果表明,初代培养污染率较高,以茎或叶作外植体的污染率均在 50% 以上。以叶片为外植体污染率高于用茎作外植体,增加 H_2O_2 灭菌程序对加强灭菌效果不明显,且对外植体严重杀伤^[17]。

1.1.3 培养基的选择 1983 年 Wolfe 比较了 7 种培养基,发现 Lloyd 和 McGown 的 WPM(Woody Plant Medium)培养基效果最好^[6]。一般培养的类型均为 Rowland L J 等的改良 WPM 基本培养基。制备时,将原 WPM 培养基中的 K_2SO_4 、 $CaCl_2$ 、 $FeSO_4$ 和 Na_2EDTA 以 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ 684 $mg \cdot L^{-1}$ 、 KNO_3 190 $mg \cdot L^{-1}$ 、 $C_{10}H_{13}FeN_2NaO_8$ 73.4 $mg \cdot L^{-1}$ 和盐酸硫胺素 0.1 $mg \cdot L^{-1}$ 代替。木本植物组织培养多采用 WPM 培养基,越橘的组织培养中大多选择 WPM 培养基和改良的 WPM 培养基^[4]。改良的 WPM 基本培养基,添加玉米素 0.5~2.0 $mg \cdot L^{-1}$ 。决定植物形态发生启动和分化方向重要的 2 个因素是植物激素的种类和浓度的配比。马艳丽以 4 种不同的培养基对越橘的组织培养进行试验研究,结果表明:对于高丛越橘(*Vaccinium corymbo-*

sum)的组培,改良 MS 培养基可使 75% 的外植体进行再生;对半高丛(*Vaccinium corymbosum/angusifolium*)用以改良 WPM 培养基,分化增值率达 85.3%;同时改良 WPM 培养基为基本培养基可使矮丛越橘(*Vaccinium angusifolium*)的再生频率达 79.2%;在兔眼越橘(*Vaccinium ashei*)的培养过程中发现改良 knops 培养基最为合适,将近 85% 的增值率^[18]。

在越橘的组织培养中植物激素的种类、配比及相互之间的组合起着关键性的作用。在以叶片为外植体研究过程中,Sharon 以 'Berkeley' 和 'Bluehaven' 无菌苗的叶片诱导增殖时,在 WPM 培养基中添加 10~15 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 2ip,经 4 周培养后,获得 70%~100% 叶片不定芽的再生^[1]。Rowland 对建立越橘叶片再生体系过程中,细致的研究比较了培养基中激素种类,发现复合型细胞分裂素玉米素核甘(ZTR)相对于自由型的细胞分裂素如 ZIP 或 ZT 效果突出;Rowland 于 1994 年进一步探讨了越橘叶片再生体系中激素浓度的配比,结果表明添加 20 $\mu mol \cdot L^{-1}$ ZT 的处理是加入 15 $\mu mol \cdot L^{-1}$ 2ip 的处理不定芽分化率的 6 倍^[2]。Filipenya 以蔓越橘为材料,诱导不定芽产生再生,结果表明以 1/2WPM 为培养基在添加 1 $mg \cdot L^{-1}$ 2ip+0.5 $mg \cdot L^{-1}$ TDZ 或 5 $mg \cdot L^{-1}$ 2ip+0.2 $mg \cdot L^{-1}$ TDZ 2 种激素配比条件下,可使不定芽达到较高的再生频率,并且将此条件诱导出的不定芽放至无激素的培养基上不定芽的伸长生长效果尤为突出^[3]。

在以茎尖为外植体的研究过程中,董朝莉采用改良 WPM 为基本培养基,研究越橘的组培育苗技术。结果表明,以兔眼越橘当年生绿枝茎段为外植体可有效获得无菌苗;越橘茎段的离体增殖率受到培养基中细胞分裂素的调控,ZT1~2 $mg \cdot L^{-1}$ 和 2ip 10~20 $mg \cdot L^{-1}$ 的效果较好^[17]。

1.1.4 培养条件 在对外植体进行消毒灭菌的过程中,正确的杀菌时间及处理方法对获得灭菌效果好且不至破坏试材相当关键。在超净台上外植体的消毒灭菌一般选择 0.1% 升汞,大量的实验研究表明,6 min 的浸泡时间效果最佳,超过 6 min 容易杀死植物;浸泡时间小于 4 min,消毒不彻底,残存的污染物严重增大污染率;消毒时间大于 8 min,外植体容易被杀死或产生褐变,死亡率较高。一般的培养条件为在基本培养基中,添加蔗糖 20 $mg \cdot L^{-1}$ 、琼脂 6~8 $g \cdot L^{-1}$ 用 1 mol 的 NaOH 调节 pH 4.8 左右;培养基在 121℃、

131 kPa的条件下灭菌不超过 20 min。接种后培养温度为 25℃左右,光强度为 2 500 lx,光周期为 16 h 黑暗、8 h 光照的条件下。刘树英等研究发现光照强度为 3 000 和 4 000 lx 为芽增值的最适光强,芽增殖数量多且增殖系数分别达 4.0 和 4.5;还指出 pH 为 5.4 时培养生长长度达 7~9 cm^[6]。研究表明,在组织培养前进行暗培养可增加越橘不定芽的诱导率。Rida 以越橘叶片进行培养前,以黑暗条件下预培养 2 周,大大提高了不定芽的诱导率^[13]。

邢瑞丹等以 2 个越橘品种 Sunrise 和 Geo 试管苗叶片为外植体材料的研究表明,最适的暗培养时间为 14 d,近轴面放置效果最好^[19]。越橘是对土壤酸度要求十分严格,大多数研究表明越橘的良好生长条件是 pH 为 4.8 左右。植物组织培养中培养基的酸碱度决定着外植体不定芽的分化程度。酸碱度影响着不定芽的萌动率及再生频率,一般再生频率随着酸度的降低而下降。pH 低于 5.2 或高于 5.3 均不利于丛生芽的诱导,表现低分化率,且死亡数目很多,适当的 pH 对丛生芽的诱导是非常重要的。

1.2 继代增殖培养

不同外植体的类型对越橘继代培养也有着明显的影响,研究表明叶片产生的芽在初期与茎段节处萌发的腋芽相比较弱小,但是经过壮苗培养后长势可跟上腋芽,1 个叶片可出芽 2~8 个^[17]。宁志怨在越橘丛生芽的诱导上利用改良 MS 培养基,MS+2 mg·L⁻¹ ZT+0.2 mg·L⁻¹ NAA 的增殖培养基上,经过 2 次继代培养后越橘的增殖系数可达到 30~50 倍。并且发现利用在初代培养过程中加入维生素 C 从而有效提高了越橘茎段的抗氧化性和防止了越橘茎段的褐化^[20]。刘树英对园蓝‘Gardenblue’等 7 个兔眼越橘研究表明,茎段芽的萌发生长适宜的激素配比为 15 mg·L⁻¹ 2ip+0.02 mg·L⁻¹ NAA,并且 2ip 的浓度为 15 mg·L⁻¹ 时,及 ZT 的浓度为 3 mg·L⁻¹ 时对芽的萌发有利^[15]。

取当年生无病虫害的枝条,切除基部的损伤组织,剥除芽鳞后接种生长培养基中。培养 2 周后不定芽开始萌动;培养大约 1 个月不定芽长出 4~5 cm 的绿梢,侧芽偶尔也萌发出 2~4 个新芽。和加卫和徐中志等人以云南越橘当年生休眠枝条为外植体在添加 ZT 浓度为 0.5 的改良 WPM 获得成功^[21]。不同基因型不定芽再生能力不同,邢瑞丹研究表明:以 2 个越橘品种北高丛越

橘 Sunrise 和南高丛 Geo 试管苗叶片为外植体材料,以改良的 WPM 为基本培养基,Sunrise 品种在 WPM+4.0 mg·L⁻¹ ZT+0.3 mg·L⁻¹ IBA+1.0 mg·L⁻¹ TDZ+20 g·L⁻¹ 蔗糖+6 g·L⁻¹ 琼脂培养基中生长最好,离体叶片不定芽再生频率达 100%,再生不定芽数可达 4.5 个以上;Geo 品种最适宜培养基为 WPM+4.0 mg·L⁻¹ ZT+0.3 mg·L⁻¹ IBA+20 g·L⁻¹ 蔗糖+6 g·L⁻¹ 琼脂,叶片不定芽再生频率达到 100%^[19]。

1.3 愈伤组织诱导及分化

韩婷婷等人在对矮丛越橘 Blomidon 品种的试管苗叶片为外植体的愈伤组织研究过程中发现,在长成不定芽后,不需切割直接接种于继代培养基上培养,培养至不定芽生出多个不定芽形成丛状,此阶段 28 d 左右,再将不定芽丛切割成 2~3 个的小芽丛,接种到继代培养基中继续培养,40 d 左右进行一次继代;并进一步发现 1/2WPM 为适宜的培养基添加 0.5 mg·L⁻¹ CPPU+1.0 mg·L⁻¹ ZT+0.5 mg·L⁻¹ TDZ 和 0.5 mg·L⁻¹ CPPU+0.5 mg·L⁻¹ ZT+1.0 mg·L⁻¹ TDZ 诱导愈伤率较高达 100%;以 1/2WPM+0.5 mg·L⁻¹ CPPU+1.0 mg·L⁻¹ ZT+0.5 mg·L⁻¹ TDZ,其诱导愈伤组织 50 d 后转接,平均分化芽数最多达 10.26 个^[22]。

Nickerson、Cohen 等的研究证明 2ip,即 f6(3-甲基-2-丁烯基氨基)嘌呤对试管越橘有增殖幼枝的作用。陈慧都研究结果表明选用玉米素(最适浓度为 0.5~1.0 mol·L⁻¹)接种单芽茎段外植体可迅速萌芽长出幼枝,试验品种为半高丛越橘 Northsky、Northblue 以及矮丛越橘 Blomidon 和 Brunswick 4 个品种^[23]。刘庆忠等人通过对 6 个北高丛越橘品种和 2 个南高丛越橘品种研究表明,在改良 WPM 附加玉米素 0.5~2.0 mg·L⁻¹ 的增殖培养基上,增殖倍数达 50 倍以上^[25]。

1.4 试管苗生根培养

越橘属的很多植物都是没有侧根,根系较弱。大量报道指出,越橘在试管中生根效果较差,生根速度慢,生根率低,并且试管苗生长势弱,根较细。在添加 IBA 的 1/2WPM 培养基中,培养至 3 周生根率还不到 10%,即便延长培养 6 周生根率也不明显。以往的越橘微体繁殖研究,一般均在试管外生根或在弥雾条件下扦插试管幼枝生根^[7]。研究结果表明最佳生根培养基的激素组合 1/2WPM+0.1 mg·L⁻¹ BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA 可

达 42.9% 的生根率^[15]。刘庆忠研究证实,在黑暗条件下预培养 10 d 左右,可提高试管苗的生根率^[24]。越橘组培苗在试管内生根效果不佳,生根慢,因而主要采用试管外生根方法。将试管苗幼枝基部培养基洗净,用 1 000、2 000、3 000 mg·L⁻¹ IBA 速蘸(1S)处理,扦插于腐苔藓培养基上,培养盘上扣小拱棚置于温室内,冬季棚温控制在 15~25℃,夏季不超过 28℃,培养 20 d 后即可生根,生长良好^[24]。此后刘庆忠等人在 1/2 改良 WPM 附加 IBA 0.1 mg·L⁻¹ 的生根培养基上,培养 40 d 后生根率达到 30%~70%。对将继代培养后的芽苗接种于生根培养基,可达 78% 的生根率,30 d 后基部可长出 1.0~1.5 cm 的不定根约 2~4 条。高丛越橘研究表明在培养 30 d 左右的生根培养基上,可将生根的试管苗或未生根的新梢移栽栽培,移栽基质为 1:1 的草炭土与河沙。移栽后将密闭小拱棚,可达到保湿作用,封闭 40 d 后,越橘苗达到恢复并长势较好状态后慢慢通风,1 个月浇 2 次 0.5% 的 FeSO₄ 溶液,可达 50% 以上的成活率^[25]。

国内大量研究表明 1/2 WPM 培养基对越橘生根效果较好。和加卫研究以 1/2 WPM+NAA 0.05 的生根培养基,5 周后基部可长出 2~4 条 1.0~1.5 cm 长的不定根,生根率 78%^[21]。李晓燕、张志东以 Northland、St. Cloud、Bluecrop、Blo-midon、Chignecto 和 Elliott 等品种带芽茎段作为外植体接种改良的 WPM+ZT 0.3~0.7 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 7 g·L⁻¹ 培养基进行培养,结果表明越橘组培苗良好的遗传稳定性可能与采用适宜的繁殖方式(带芽茎段)、激素种类与浓度(ZT 0.3~0.7 mg·L⁻¹)等有关^[26]。孙阳等对 3 种越橘品种 Sierra、Bluecrop 和 Toro 叶片离体再生研究,以改良 WPM 培养基进行培养。结果表明,ZT 浓度在 0.15 mg·L⁻¹ 时对越橘叶片离体再生效果最佳,IBA 对越橘叶片离体再生能力影响较小;不同品种之间的叶片生根速率差异十分显著,在相同生长素浓度下,3 个品种的生根率由低到高依次是 Bluecrop<Sierra<Toro^[27]。徐宏等人以带芽茎段为外植体研究表明,不同的越橘具有不同的最佳繁育方法,高丛和半高丛越橘适宜组培繁育,越橘在丛生生根培养基 1/2WPM+IBA 0.1 mg·L⁻¹ 培养,生根率可达 30% 以上,试管苗经温室锻炼后成活率达 60%^[28]。

1.5 试管苗的驯化移栽

当继代植株长出 2~3 cm 健壮的不定根约 3~5 条时可进行炼苗与移栽。越橘的移栽,基质选用混合部分草炭土和少量有机肥含腐殖质丰富的土壤,土壤 pH 为 5 时最佳,土壤需透气性良好。再生苗炼苗 2 d 左右即可适应露地条件,表现为生长势优良,成活率达 90% 以上。

王连润等人以夏普蓝、戴安娜等 6 个越橘品种为外植体研究表明,在生根培养基上培养 60 d 后试管苗可生出健壮的根,此时放至移栽环境中 7 d 左右,炼苗前 1~2 d 将瓶口打开,在自然光照下进行炼苗。取出试管苗,彻底清洗根部的培养基,栽至草炭与珍珠岩 1:1 的基质,基质先用 800~1 500 倍液敌克松进行消毒处理,移栽至封闭小拱棚,15 d 后可长出新根,并逐渐适应外界条件。当时越橘苗长势较好时可 1 个月浇灌 2 次 0.1% FeSO₄ 溶液,可达 85% 以上的成活率^[14]。刘庆忠等人对高丛越橘研究表明,将于温室锻炼的越橘试管苗,放置于露地进行 7 d 的炼苗,后移栽畦内撒少量草炭土的沙壤土中,并在生长季中浇灌 FeSO₄ 溶液 2~3 次。加盖遮阳网可保持土壤湿润。移栽当年越橘苗可长至 50 cm,第 2 年春 60% 的植株可开花结果^[24]。

2 组织培养在越橘上的应用及展望

采取植物的组织培养技术手段,对于我国越橘种质资源的保存及开发利用具有一定的价值。经组培后的越橘苗在阶段发育上比常规法育成的苗更健壮。可以得到无病毒和不带菌的苗木,繁殖速度大大快于常规方法,不受季节限制^[2]。越橘在一般自然状态下以二倍体和四倍体 2 种形式存在,但由于越橘的杂种杂合性,使得采用传统育种手段进行越橘育种既费时又费力。因此,不少学者对优良越橘品种微体快繁技术展开研究,以便建立完善的组织培养体系,为大规模工厂化生产提供理论依据。开展其组织培养研究有利于保存各种不同越橘的优良性状,这些种质资源的保存为以后新优品种的培育奠定了基础。组织培养技术在越橘中的开展,有利于快速繁殖大量优质的无毒苗。组织培养无性系的建立,给越橘的外源基因转化,实现其品种改良提供了高频再生体系。越橘组织培养在近年取得了巨大进展,但也存在一些问题。首先,获得的再生植株品种多,但是缺乏理论研究。其次,越橘组织培养在育种上缺乏进一步研究和应用,选育各种抗性品种、转基

因品种的研究仅停留在探索阶段,可应用的品种还很少。尽管对越橘组织培养已经做了如此众多的研究,但仍有继续研究的必要。对越橘再生植株的发生机理和进行工厂化高效再生体系研究等方面还有极大的研究前景。

参考文献:

- [1] Sharon, CzBilling, Chee K. Chin, GojkoJelenkovic. Regeneration of blue berry plantlets from leaf segments[J]. Hort-science, 1988, 23(4): 763-766.
- [2] Rowland L J, Elizabeth L O. Use of cytokinin conjugate for efficient shoot regeneration from leaf sections of high bush blueberry[J]. Hortscience, 1992, 27(10): 1127-1129.
- [3] FiliPenya V L, Dolgov S V. Effect of combinations of phytohormones on morfogenesis in tissue cultured leaves of American cranberry (vaccinium macorpon)[J]. Acta Biochim Pol., 2007, 54(4): 733-740.
- [4] Rida A, Shibli M A, Smith L. Direct shoot regeneration from Vaccinium Pahalae (Ohelo) and V. myrtills (Bilberry) leaf explant[J]. Hortscience, 1996, 31(7): 1225-1228.
- [5] Samir C Debnath. Effects of eat honsource and eoneen traction on development of lingonberry (Vaeeniumvitisidaea L.) shoot seultivatedinvitro from nodalex plants[J]. Invitro Cellular and Develo pmental Biology—Plant, 2005, 41(2): 145-150.
- [6] Wolfe D E, Eck P, Chin C K. : Evaluation of seven media for micropropagation of high bush blueberry[J]. Hori. Science, 1983, 18: 703-705.
- [7] Rowland L J, Ogden E L. Use of a cytokinin conjugate for efficient shoot regeneration from leaf sections of highbush blueberry[J]. Hort Science, 1992, 27(10): 1127-1129.
- [8] Hruskoci J D, Read P E. In vitro shoot regeneration from internodes segments and internode-driven callus of blueberry (Vaccinium spp) [J]. Acta Horticulture, 1993, 346: 127-132.
- [9] Luby J. Blueberries and cruneberries[C]//Moon J N, Ballington J R. Genetics resoures of temperature fruit and nut crops. CAB Internatinal, 1997.
- [10] Fang R Z. Studies of Chinese vaccinium[J]. Acta Botanica Yunnanica, 1986, 8(2): 239-258.
- [11] Paul E. Blueberry Scisen[M]. New Brunswick and London: Rutgers University press, 1988.
- [12] Guo Y, Wang C Y, Wu W L, et al. Induction of American blueberries[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 1998, 7(4): 33-37.
- [13] 金彦磊. 越桔离体再生及其再生过程的组织学研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2009.
- [14] 王连润, 马钧, 胡忠荣, 等. 蓝莓离体快速繁殖研究[J]. 红河学院学报, 2009, 7(5): 16-18.
- [15] 刘淑英. 兔眼越桔微繁程序的建立及影响因素的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2002.
- [16] 黄文江, 刘庆忠, 阚显照. 高灌蓝莓离体繁殖的研究[J]. 安徽师范大学学报(自然科学版), 2004, 27(3): 314-317.
- [17] 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.
- [18] 马艳丽. 越橘组培快繁技术研究[J]. 吉林林业科技, 2005, 34(1): 3-5.
- [19] 邢瑞丹, 刘庆忠, 陈新, 等. 2个蓝莓品种离体叶片不定芽再生体系的建立[J]. 山东农业科学, 2009(5): 8-11.
- [20] 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(S): 64-66.
- [21] 和加卫, 徐中志, 唐开学, 等. 云南越桔的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(2): 320.
- [22] 韩婷婷, 孙周平. 矮丛蓝莓叶片的愈伤组织诱导及植株再生[J]. 西北植物学报, 2010, 30(3): 615-620.
- [23] 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.
- [24] 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.
- [25] 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.
- [26] 李晓燕. 越橘离体培养诱导多倍体技术研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2006.
- [27] 孙阳, 刘顺标, 程淑云, 等. 3个蓝莓品种叶片离体再生及生根技术研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(11): 4411-4412.
- [28] 徐宏, 胡勇, 杨普, 等. 安徽蓝莓种苗组培扦插繁育技术初探[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(11): 4427-4428.

Review of Progress in Tissue Culture of Blueberry

LIANG Xiao-jing¹, DAI Zhi-guo¹, ZHAI Xi-lun²

(1. Horticultural College of Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030;
2. Tobacco Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shandong, Qingdao 266061)

Abstract: Tissue culture of blueberry at home and abroad was summarized from the research contents of establishment of aseptic propagation, subculture proliferation culture, callus induction and differentiation, in vitro rooting cultivation, domestication and transplantation of plantlets. The application and prospects of tissue culture on blueberry were analyzed.

Key words: blueberry; tissue culture; application