

蓝莓最佳继代培养基的筛选试验

梁文卫

(黑龙江省农业科学院 浆果研究所,黑龙江 绥化 152204)

摘要:为解决蓝莓组培过程中分化率低的问题,从而获得蓝莓的最佳继代培养基,以矮丛蓝莓品种美登的无根试管苗为试材,采用正交试验的方法,设计四因素混合水平的继代培养基进行研究。结果表明:最适宜蓝莓的继代培养基是改良的 WPM+ZT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH5.0。

关键词:蓝莓;正交试验;继代培养基

中图分类号:S663.9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)08-0032-03

蓝莓(*Vaccinium uliginosum* Linn.),又名越橘,蓝浆果,杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(*Vaccinium* spp.)多年生落叶或常绿灌木或小灌木^[1]。因其果实营养丰富,具有极高的营养价值和营养保健作用,已成为 21 世纪世界范围内最具发展潜力的果树树种^[2-3]。

我国人工栽培蓝莓起步较晚,总体规模较小,现已无法满足消费者日益增长的需求。因此如何快速获得足够的蓝莓苗木,扩大蓝莓栽培面积成为急需解决的重要问题。

蓝莓的常规繁殖方法较多,有种子育苗、绿枝扦插、硬枝扦插、根插和分株嫁接等,但繁殖系数低,生长速度慢,品种容易退化。利用组织培养的方法可以在短期内大大提高繁殖系数,缩短繁殖时间,并且可以保持品种的优良特性,现已成为近年来众多学者研究的热点之一。目前在蓝莓组织培养研究方面虽然已取得了一些进展,但仍然存在一些问题,如培养过程中的污染率仍较高,分化率、生根率和移栽成活率需要进一步提高等^[4]。

该研究利用正交设计试验的方法,筛选出蓝莓的最佳继代培养基,以期解决蓝莓组培过程中分化率低的问题。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为矮丛蓝莓品种美登无根试管苗,由黑龙江省农业科学院浆果研究所生物技术实验室保存。

1.2 方法

1.2.1 继代培养基的选择 采用改良的 WPM 培养基为基本培养基,即以水合硝酸钙 $[\text{Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ $684\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、硝酸钾(KNO_3) $190\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、乙二胺四乙酸铁钠($\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{FeN}_2\text{NaO}_8$) $73.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和盐酸硫胺素 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 代替原 WPM 培养基中的 CaCl_2 、 K_2SO_4 、 FeSO_4 和乙二胺四乙酸二钠($\text{Na}_2\text{-EDTA}$)。

利用正交试验,按表 1 在基本培养基中添加不同浓度的 ZT(0.5 、 1.0 、 1.5 、 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、IBA(0 、 0.1 、 0.2 、 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、蔗糖(20 、 25 、 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、琼脂 $10\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,并设定不同的 pH(5.0 、 5.4 、 5.8)为继代培养基。

1.2.2 材料的选择、处理、接种与继代培养 在超净工作台中,将 40 d 苗龄的长势良好的美登无根试管苗剪成约 1 cm 大小带单芽的茎段,接入上述继代培养基中培养,每个处理接种 10 瓶,每瓶接种 1 个茎段,3 次重复。培养条件为温度 25°C ,相对湿度 60%,光照强度 3 000 lx,光照时间 $16\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

40 d 后,调查每个茎段分化的丛生芽数量,计算增殖系数(增殖系数=总丛生芽数/总接种芽个数);调查丛生芽的生长状况(茎质量及叶色)。

1.2.3 数据统计与分析 用 Excel 应用软件制作图表,用 SPSS 统计分析软件进行方差分析,并用 Duncan 检验进行多重比较,显著水平为 $P=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 ZT 浓度对蓝莓单芽茎段增殖系数的影响

由图 1 可看出,随着 ZT 浓度的增加,蓝莓单芽茎段的增殖系数呈先降低后增高的趋势。当 ZT 浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖系数最高,为 8.9,

收稿日期:2014-03-04

作者简介:梁文卫(1984-),男,山西省运城市人,硕士,研究实习员,从事小浆果生物技术研究。E-mail:liangwenwei5@163.com。

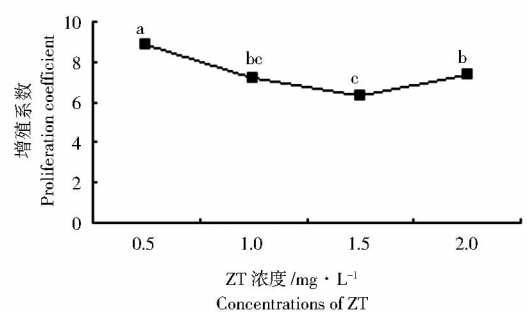


图 1 不同 ZT 浓度下蓝莓单芽茎段的增殖系数

图中蓝莓单芽茎段的增殖系数数据为平均数 ($n=120$), 不同小写字母表示数据差异显著性 ($P<0.05$)。下同。

Fig. 1 Proliferation coefficient of blueberry stem-segment with single bud at different concentrations of ZT

The proliferation coefficient of blueberry stem-segment with single bud was average ($n=120$), different lowercases mean significant difference at 0.05 level. The same below.

与 ZT 浓度为 1.0、1.5 和 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时差异显著。

2.2 IBA 浓度对蓝莓单芽茎段增殖系数的影响

由图 2 可看出,随着 IBA 浓度的增加,蓝莓单芽茎段的增殖系数呈先增高后降低的趋势。当 IBA 浓度为 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,增殖系数为 7.3,显著高于 IBA 浓度为 0、0.2 和 0.3 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时。

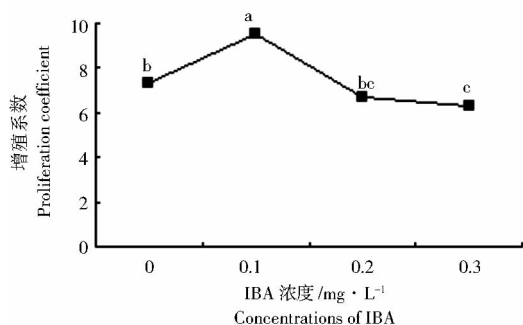


图 2 不同 IBA 浓度下蓝莓单芽茎段的增殖系数

Fig. 2 Proliferation coefficient of blueberry stem-segment with single bud at different concentrations of IBA

2.3 蔗糖浓度对蓝莓单芽茎段增殖系数的影响

由图 3 可看出,随着蔗糖浓度的增加,蓝莓单芽茎段的增殖系数呈先增高后降低的趋势。当蔗糖浓度为 25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,增殖系数为 6.9,显著高于蔗糖浓度为 20 和 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时。

2.4 pH 对蓝莓单芽茎段增殖系数的影响

由图 4 可看出,随着 pH 的增加,蓝莓单芽茎段

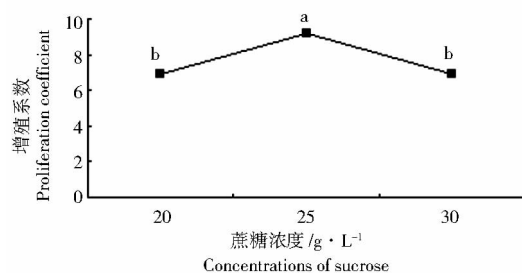


图 3 不同蔗糖浓度下蓝莓单芽茎段的增殖系数

Fig. 3 Proliferation coefficient of blueberry stem-segment with single bud at different concentrations of sucrose

的增殖系数呈先降低后升高的趋势。当培养基 pH 为 5.8 时,增殖系数最高为 7.9;与培养基 pH 为 5.4 时差异显著,但与 pH 为 5.0 时差异不显著。

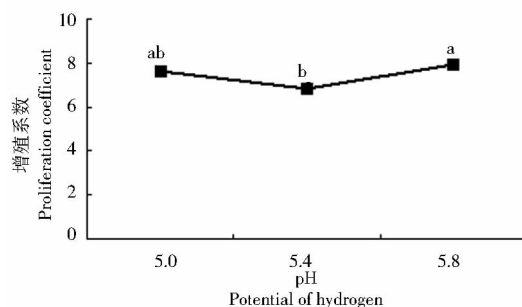


图 4 不同 pH 下蓝莓单芽茎段的增殖系数

Fig. 4 Proliferation coefficient of blueberry stem-segment with single bud at different pH

2.5 不同处理对蓝莓单芽茎段增殖效果的影响

由表 1 可以看出,ZT 浓度、IBA 浓度、蔗糖浓度、pH 对蓝莓单芽茎段的增殖系数均有不同程度的影响。由极差 R 分析可知,影响程度排序为:IBA 浓度>ZT 浓度>蔗糖浓度>pH,其最优处理组合是 16 号处理的组合即:ZT 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、IBA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、蔗糖 25 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 5.0。

蓝莓单芽茎段在不同处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的生长状况(茎质量及叶色)不同,在 1、7 和 8 号处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的茎较粗壮,茎和叶片颜色为绿色或淡绿色;在 4 和 5 号处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的茎和叶片均发红;在 3、10、11 和 15 号处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的叶片发红较重;在 2、6、9、12、13 和 14 号处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的茎段细,不粗壮;在 16 号处理的继代培养基中诱导分化出的丛生芽的茎粗壮,叶片浓绿。

表 1 正交试验设计与结果
Table 1 Design and results of orthogonal test

处理 Treatment	误差 Error	ZT 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of ZT	IBA 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of IBA	蔗糖浓度/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of sucrose	pH	增殖系数 Proliferation coefficient	茎质量 Quality of stems	叶色 Color of leaves
1	1	0.5	0	20	5.0	7.4	绿色,较粗壮	绿色
2	1	1.5	0.2	20	5.8	6.3	淡绿色,较细	淡绿色
3	1	2.0	0.3	20	5.0	4.7	发红较重,较粗壮	发红较重
4	1	1.0	0.1	20	5.4	6.8	发红,较粗壮	发红
5	2	1.0	0.3	30	5.0	6.7	发红,粗壮	发红
6	2	2.0	0.2	25	5.0	7.4	淡绿色,较细	淡绿色
7	2	1.5	0.1	20	5.0	7.1	淡绿色,较粗壮	淡绿色
8	2	0.5	0.3	20	5.8	7.4	淡绿色,较粗壮	淡绿色
9	3	2.0	0	20	5.4	8.1	淡绿色,细	淡绿色
10	3	0.5	0.2	30	5.4	6.0	发红较重,粗壮	发红较重
11	3	1.0	0.2	20	5.0	7.0	发红较重,粗壮	发红较重
12	4	1.0	0	25	5.8	8.3	发红,较细	发红
13	3	1.5	0	30	5.0	5.5	发红,较细	发红
14	4	1.5	0.3	25	5.4	6.4	淡绿色,较细	淡绿色
15	4	2.0	0.1	30	5.8	9.4	发红较重,较粗壮	发红较重
16	4	0.5	0.1	25	5.0	14.8	绿色,粗壮	浓绿色
K1	25.2	35.6	29.3	54.8	60.6			
K2	28.6	28.8	38.1	36.9	27.3			
K3	26.6	25.3	26.7	27.6	31.4			
K4	38.9	29.6	25.2					
$\overline{K_1}$		8.9	7.3	6.9	7.6			
$\overline{K_2}$		7.2	9.5	9.2	6.9			
$\overline{K_3}$		6.3	6.7	6.9	7.9			
$\overline{K_4}$		7.4	6.3					
R		2.6	3.2	2.3	1.0			

注:表中增殖系数结果为平均值($n=30$);不同小写字母表示数据差异显著性($P<0.05$)。

Note: The proliferation coefficient was average($n=30$), different lowercases mean significant difference at 0.05 level.

3 结论

通过正交试验综合分析 ZT、IBA、蔗糖以及 pH 对蓝莓单芽茎段增殖效果的影响,筛选出最适宜蓝莓的继代培养基是 16 号处理的组合即:改良的 WPM+ZT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH5.0。

参考文献:

- [1] 李亚东. 越桔(蓝莓)栽培与加工利用[M]. 长春:吉林科学技术出版社,2001.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 刘太林. 蓝莓组织培养研究进展综述[J]. 安徽农学通报,2012,18(5):39.

Screening Test on the Best Subculture Medium for Blueberry

LIANG Wen-wei

(Berries Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences,Suiling,Heilongjiang 152204)

Abstract: In order to solve the promble of low differentiation rate during tissue culture of blueberry, and obtain the best subculture medium for blueberry, taking the rootless plantlets seedling of rosette blueberry variety (Blomidon) as materials, four factors mixed levels of subculture medium was studied by orthogonal experiment. The results showed that the optimum subculture medium for blueberry was improved with WPM+ZT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sucrose $25\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, and the pH was 5.0.

Key words: blueberry; orthogonal test; subculture medium