

细胞分裂素种类及添加量 对蓝浆果叶片离体再生的影响

张祝丽, 於虹, 刘梦华, 姜燕琴^①

[江苏省·中国科学院植物研究所(南京中山植物园), 江苏 南京 210014]

摘要: 以南方高丛蓝浆果(*Vaccinium corymbosum* hybrids)品种‘南月’(‘Southmoon’)优选系 A18 和兔眼蓝浆果(*V. ashei* Reade)品种‘灿烂’(‘Brightwell’)离体叶片为外植体, 研究了培养基中添加不同浓度 TDZ(0.5、1.0 和 2.0 mg · L⁻¹)、CPPU(2.0、4.0 和 8.0 mg · L⁻¹)、ZT(2.0、4.0 和 8.0 mg · L⁻¹)和 2iP(4.0、8.0 和 16.0 mg · L⁻¹)对叶片不定芽再生的影响。结果表明:在培养基中添加 TDZ 和 CPPU 对叶片不定芽的诱导效果优于 ZT 和 2iP, 再生率有显著差异($P < 0.05$)。TDZ 诱导不定芽出现所需的时间最短且再生率最高, 不定芽密集并呈深绿色; 其中, 在添加 0.5 ~ 2.0 mg · L⁻¹ TDZ 的培养基上, A18 叶片再生率均为 100.00%, ‘灿烂’叶片再生率最高达 79.17%。CPPU 也有较强的诱导能力但不定芽出现所需的时间推迟 3 ~ 5 d, 且不定芽的密集程度也有所降低; 其中, 在添加 2.0 ~ 8.0 mg · L⁻¹ CPPU 的培养基上, A18 叶片再生率为 100.00% ~ 93.75%; 而‘灿烂’叶片再生率随 CPPU 质量浓度提高呈下降趋势(72.91% ~ 47.91%)。ZT 和 2iP 诱导能力差, 在添加不同质量浓度 ZT 和 2iP 的培养基上 A18 和‘灿烂’叶片再生率均为 0.00%。此外, A18 和‘灿烂’的再生能力有差异, 在相同条件下 A18 叶片的再生能力优于‘灿烂’叶片。研究结果显示:基因型以及培养基中细胞分裂素的种类和添加量是影响不同品种蓝浆果叶片不定芽再生的主要因素。

关键词: 蓝浆果; 离体叶片; 细胞分裂素; 不定芽; 再生率; 影响因素

中图分类号: Q943.1; S663.035.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2013)01-0070-06

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2013.01.11

Effects of type and adding amount of cytokinins on regeneration *in vitro* leaves of blueberries (*Vaccinium* spp.) ZHANG Zhuli, YU Hong, LIU Menghua, JIANG Yanqin^① (Institute of Botany, Jiangsu Province and the Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2013, 22(1): 70-75

Abstract: Taking *in vitro* leaves of superior strain A18 of cultivar ‘Southmoon’ of *Vaccinium corymbosum* hybrids and cultivar ‘Brightwell’ of *V. ashei* Reade as the explants, effect of different concentrations of TDZ (0.5, 1.0 and 2.0 mg · L⁻¹), CPPU (2.0, 4.0 and 8.0 mg · L⁻¹), ZT (2.0, 4.0 and 8.0 mg · L⁻¹) and 2iP (4.0, 8.0 and 16.0 mg · L⁻¹) added in media on adventitious bud regeneration was studied. The results show that induction effect of adding TDZ and CPPU in media on adventitious bud is better than those of adding ZT and 2iP with the significant difference ($P < 0.05$) in regeneration rate. Required time of adventitious bud appearance induced by TDZ is the shortest and regeneration rate is the highest, and adventitious buds are dense and dark green, in which, regeneration rate of A18 leaves all is 100.00% and that of ‘Brightwell’ is up to 79.17% in media adding 0.5–2.0 mg · L⁻¹ TDZ. Also, CPPU possesses the relative strong induction ability but required time of adventitious bud appearance postpones 3–5 d, and adventitious bud intensity decreases, in which in media adding 2.0–8.0 mg · L⁻¹ CPPU, regeneration rate of A18 leaves is 100.00%–93.75% and that of ‘Brightwell’ appears the decreasing trend (72.91%–47.91%) with rising of CPPU concentrations. Induction effect of ZT and

收稿日期: 2012-09-10

基金项目: 国家农业部公益性行业(农业)科研专项(201103037); 江苏省农业自主创新项目[CX(11)1011]

作者简介: 张祝丽(1985—), 女, 安徽安庆人, 硕士研究生, 主要从事蓝浆果组织培养的研究。

^①通信作者 E-mail: snurp2008@yahoo.com.cn

2iP is very poor, and regeneration rate of leaves of A18 and 'Brightwell' all is 0.00% in media adding different concentrations of ZT and 2iP. Otherwise, the regeneration ability is various between A18 and 'Brightwell', that of A18 leaf is superior to that of 'Brightwell' leaf under same culture condition. It is suggested that genotype and amount and concentration of cytokinins added in media are main factors influencing on regeneration of adventitious buds of leaves of different cultivars of blueberry.

Key words: blueberry (*Vaccinium* spp.); *in vitro* leaf; cytokinin; adventitious bud; regeneration rate; influencing factor

蓝浆果 (*Vaccinium* spp.) 又名越桔、蓝莓, 为杜鹃花科 (Ericaceae) 越桔属 (*Vaccinium* Linn.) 植物^[1]。由于其果实营养丰富、经济价值高, 近年来在中国发展迅速^[2]。有关蓝浆果不定芽再生的研究起步较早^[3], 目前国内学者主要集中于微繁和工厂化育苗方面的研究, 而国外学者在微繁的基础上开展了大量的不定芽再生研究^[4]。由于蓝浆果一般在强酸性且高有机质的土壤上才能生长, 因而蓝浆果栽培对土壤条件的要求比较苛刻。目前应用生物技术进行农作物及果树品种性状的改良是新品种培育的有效途径之一, 采用生物技术方法将外源耐盐碱基因导入蓝浆果品种中或在逆境条件下进行变异植株耐性的筛选, 以此获得耐高 pH 值的株系, 对扩大蓝浆果的栽培范围、推动蓝浆果产业的迅速发展有实际意义。但无论实施转基因育种还是变异植株的筛选都需要 1 个高频、高效的再生体系^[5]为基础。

培养基中细胞分裂素的类型和添加量是影响蓝浆果离体叶片再生效果的重要因素, 目前植物组织培养中使用的细胞分裂素有 2iP、ZT、ZTR、TDZ、CPPU 和 6-BA 等, 而在蓝浆果组织培养过程中对叶片再生诱导效果比较显著的为 ZT、TDZ 和 2iP^[6-8], 目前有研究者还将 CPPU 与其他激素配合使用进行蓝浆果不定芽及愈伤组织的诱导^[9]。

南方高丛蓝浆果 (*Vaccinium corymbosum* hybrids) 品种 '南月' ('Southmoon') 优选系 A18 为作者所在课题组培育出的优良实生后代, 而兔眼蓝浆果 (*V. ashei* Reade) 品种 '灿烂' ('Brightwell') 适合在温带地区种植, 该品种具有生长势强、风味佳的特点, 是 1 个值得推广的品种^[10-11]。作者以 A18 优选系和品种 '灿烂' 为研究对象, 在培养基中分别添加不同浓度的 4 种细胞分裂素 (TDZ、CCPU、ZT 和 2iP), 观察叶片不定芽再生状况, 以期筛选出适宜的细胞分裂素种类及添加量, 为建立高效、稳定的蓝浆果叶片离体再生体系提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试外植体为南方高丛蓝浆果品种 '南月' 优选系 A18 和兔眼蓝浆果品种 '灿烂' 的叶片, 均取自培养 30 d 的组培苗。

1.2 方法

实验于 2012 年 5 月至 6 月在江苏省·中国科学院植物研究所蓝浆果组培室中进行。选取组培苗 2~5 节的叶片, 用解剖刀在叶片中脉处划 2 刀后分别接种到添加了不同质量浓度 TDZ、CPPU、ZT 和 2iP 的 WPM 培养基 (含 25 g·L⁻¹ 蔗糖和 5 g·L⁻¹ 琼脂, pH 5.3) 上, 对照 (CK) 则不添加细胞分裂素; 接种时将叶片近轴面接触培养基。其中, TDZ 的质量浓度为 0.5、1.0 和 2.0 mg·L⁻¹; CPPU 的质量浓度为 2.0、4.0 和 8.0 mg·L⁻¹; ZT 的质量浓度为 2.0、4.0 和 8.0 mg·L⁻¹; 2iP 的质量浓度为 4.0、8.0 和 16.0 mg·L⁻¹; 共设置 12 个处理组和 1 个对照组, 每组接种 16 片叶, 各 3 次重复 (即每组共接种 48 片叶)。暗培养 2 d 后, 置于温度 (25±2) °C、光照度 900~1 000 lx、光照时间 16 h·d⁻¹ 的条件下培养。

在 不定芽 出现前每天观察并记录叶片形态的变化, 待不定芽长出后每周观察并记录叶片及不定芽生长情况。5 周后统计不定芽再生数量; 根据不定芽生长情况对不定芽色泽 (分为嫩黄、浅绿和深绿 3 个等级) 及密集度 (分为一般、密集和极密 3 个等级) 进行分级, 并按照以下公式计算每一处理组的不定芽再生率: 再生率 = (再生不定芽的叶片数/接种叶片数) × 100%。

1.3 数据整理和统计分析

使用 Excel 2003 统计分析软件对实验数据进行整理, 采用 SPSS 15.0 统计分析软件对实验数据进行方差分析。

2 结果和分析

2.1 对优选系 A18 叶片不定芽形成及再生率的影响

培养基中添加不同种类及不同浓度细胞分裂素对南方高丛蓝浆果品种‘南月’优选系 A18 叶片再生的影响见表 1;不同处理组离体叶片的再生状况见图 1-1~8。

表 1 的结果表明:不同种类和不同浓度细胞分裂素对 A18 离体叶片不定芽的诱导效果存在差异,其中 TDZ 的诱导效果最好, CPPU 其次, ZT 和 2iP 的诱导效果最差。接种 6 d 后,所有处理组的叶片开始向远轴

面方向卷曲。在添加了不同浓度 TDZ、CPPU 和 ZT 的培养基上培养 6 d,叶柄处即出现膨大的圆球形愈伤组织,而在对照培养基上叶柄出现圆球形愈伤组织所需时间为 10 d。接种 10 d 后在添加不同浓度 TDZ 及添加 2.0 和 4.0 mg · L⁻¹ CPPU 的培养基上叶片伤口处开始膨大,在伤口边缘肉眼可见黄绿色愈伤组织及不定芽的芽点;而在添加 8.0 mg · L⁻¹ CPPU 的培养基上不定芽芽点的出现时间推迟 3 d。接种 15 d 后在添加不同浓度 TDZ 及添加 2.0 和 4.0 mg · L⁻¹ CPPU 的培养基上叶片划伤处及边缘开始长出不定芽,而在添加 8.0 mg · L⁻¹ CPPU 的培养基上叶片划伤处及边缘开始长出不定芽的时间是在第 18 天,也推迟了 3 d。

表 1 不同浓度和不同种类细胞分裂素对南方高丛蓝浆果品种‘南月’优选系 A18 叶片不定芽再生的影响

Table 1 Effect of different concentrations and types of cytokinins on adventitious bud regeneration of leaves of superior strain A18 of cultivar ‘Southmoon’ of *Vaccinium corymbosum* hybrids

处理 Treatment	时间/d ¹⁾ Time ¹⁾			不定芽特征 Character of adventitious bud		再生率/% ²⁾ Regeneration rate ²⁾
	t1	t2	t3	密集度 Intensity	色泽 Color	
对照(CK)	10	-	-	-	-	0.00b
0.5 mg · L ⁻¹ TDZ	6	10	15	极密 Very dense	深绿 Dark green	100.00a
1.0 mg · L ⁻¹ TDZ	6	10	15	极密 Very dense	深绿 Dark green	100.00a
2.0 mg · L ⁻¹ TDZ	6	10	15	极密 Very dense	深绿 Dark green	100.00a
2.0 mg · L ⁻¹ CPPU	6	10	15	密集 Dense	浅绿 Light green	100.00a
4.0 mg · L ⁻¹ CPPU	6	10	15	密集 Dense	浅绿 Light green	100.00a
8.0 mg · L ⁻¹ CPPU	6	13	18	一般 Ordinary	嫩黄 Bright yellow	93.75a
2.0 mg · L ⁻¹ ZT	6	-	-	-	-	0.00b
4.0 mg · L ⁻¹ ZT	6	-	-	-	-	0.00b
8.0 mg · L ⁻¹ ZT	6	-	-	-	-	0.00b
4.0 mg · L ⁻¹ 2iP	-	-	-	-	-	0.00b
8.0 mg · L ⁻¹ 2iP	-	-	-	-	-	0.00b
16.0 mg · L ⁻¹ 2iP	-	-	-	-	-	0.00b

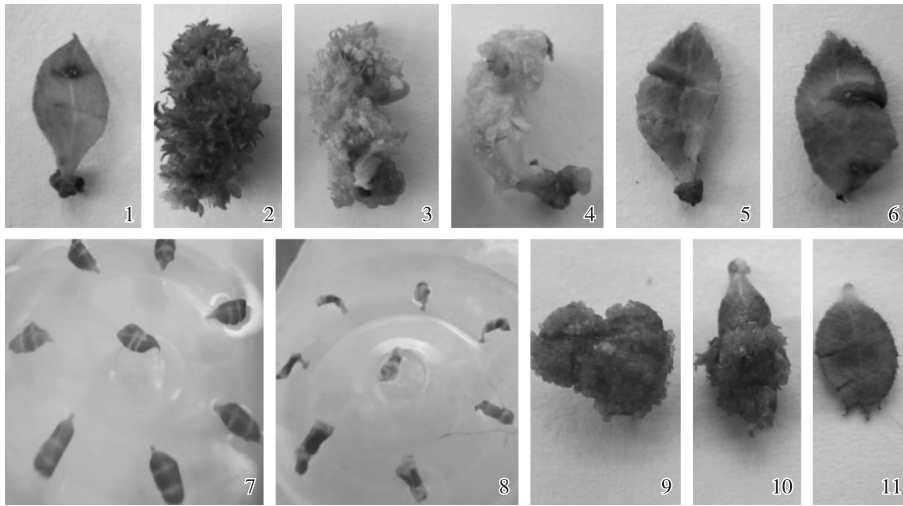
¹⁾t1: 叶柄出现愈伤组织所需的时间 Required time of callus appearance on petiole; t2: 出现不定芽芽点所需的时间 Required time of adventitious bud dot appearance; t3: 出现不定芽所需的时间 Required time of adventitious bud appearance.

²⁾同列中不同的小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$) Different small letters in the same column indicate the significant difference ($P < 0.05$).

TDZ 诱导不定芽再生的能力极强,在培养基中添加不同浓度 TDZ,叶柄出现圆球形愈伤组织所需的时间和出现不定芽芽点所需的时间均较短且出芽时间比较一致,诱导出的不定芽色泽深绿且非常密集(图 1-2);在培养基中添加 0.5~2.0 mg · L⁻¹ TDZ 均能使 A18 叶片不定芽再生率达 100.00%。CPPU 对 A18 叶片不定芽再生也有较强的诱导作用,在培养基中添加 2.0~4.0 mg · L⁻¹ CPPU,出现不定芽所需的时间也较短,不定芽再生率为 100.00%,但诱导出的不定芽密集且颜色偏浅绿色、愈伤组织较多(图 1-3);在培养基中添加 8.0 mg · L⁻¹ CPPU,出现愈伤组织所需

的时间与出现不定芽所需的时间均延长 3 d,诱导出的愈伤组织和不定芽颜色均偏嫩黄色(图 1-4),叶片再生率降为 93.75%。在培养基中添加 ZT 和 2iP 对 A18 叶片的诱导效果均不佳,叶片的再生率均为 0.00%(表 1);在添加 ZT 的培养基中只能诱导 A18 叶柄产生圆球形愈伤组织(图 1-5),而在添加 2iP 的培养基中叶片未出现任何再生现象(图 1-6)。

差异显著性分析结果表明:在添加不同浓度 TDZ 和 CPPU 的培养基上, A18 叶片的再生率均高于对照及添加不同浓度 ZT 和 2iP 的培养基,差异达显著水平 ($P < 0.05$)。



1-8. 南方高丛蓝浆果品种‘南月’优选系 A18 Superior strain A18 of cultivar ‘Southmoon’ of *Vaccinium corymbosum* hybrids; 1. 对照 The control; 2. 培养基中添加 0.5 mg · L⁻¹ TDZ Adding 0.5 mg · L⁻¹ TDZ in medium; 3. 培养基中添加 2.0 mg · L⁻¹ CPPU Adding 2.0 mg · L⁻¹ CPPU in medium; 4. 培养基中添加 8.0 mg · L⁻¹ CPPU Adding 8.0 mg · L⁻¹ CPPU in medium; 5. 培养基中添加 4.0 mg · L⁻¹ ZT Adding 4.0 mg · L⁻¹ ZT in medium; 6. 培养基中添加 4.0 mg · L⁻¹ 2iP Adding 4.0 mg · L⁻¹ 2iP in medium; 7. 示 A18 的愈伤组织 Showing callus of A18; 8. 示 A18 的芽点 Showing bud dot of A18. 9-11. 兔眼蓝浆果品种‘灿烂’ Cultivar ‘Brightwell’ of *V. ashei* Reade; 9. 培养基中添加 2.0 mg · L⁻¹ CPPU Adding 2.0 mg · L⁻¹ CPPU in medium; 10. 培养基中添加 0.5 mg · L⁻¹ TDZ Adding 0.5 mg · L⁻¹ TDZ in medium; 11. 对照 The control.

图 1 在添加不同浓度和不同种类细胞分裂素的培养基上蓝浆果离体叶片再生状况的比较
Fig. 1 Comparison of regeneration status of *in vitro* leaves of blueberries (*Vaccinium* spp.) in media adding different concentrations and types of cytokinins

2.2 对品种‘灿烂’叶片不定芽形成及再生率的影响

培养基中添加不同种类及不同浓度细胞分裂素对兔眼蓝浆果品种‘灿烂’叶片再生的影响见表 2; 不同处理组离体叶片的再生状况见图 1-9 ~ 11。

表 2 结果表明: 在培养基中添加不同种类和不同浓度细胞分裂素对‘灿烂’叶片不定芽形态及再生率的影响有明显差异, 其中 TDZ 和 CPPU 的诱导效果优于 ZT 和 2iP。在添加 TDZ 和 CPPU 的培养基上培养

表 2 不同浓度和不同种类细胞分裂素对兔眼蓝浆果品种‘灿烂’叶片不定芽再生的影响

Table 2 Effect of different concentrations and types of cytokinins on adventitious bud regeneration of leaves of cultivar ‘Brightwell’ of *Vaccinium ashei* Reade

处理 Treatment	时间/d ¹⁾ Time ¹⁾			不定芽特征 Character of adventitious bud		再生率/% ²⁾ Regeneration rate ²⁾
	t ₁	t ₂	t ₃	密集度 Intensity	色泽 Color	
对照 (CK)	14	-	-	-	-	0.00d
0.5 mg · L ⁻¹ TDZ	10	14	20	密集 Dense	深绿 Dark green	77.08b
1.0 mg · L ⁻¹ TDZ	10	14	20	密集 Dense	深绿 Dark green	79.17a
2.0 mg · L ⁻¹ TDZ	10	14	20	密集 Dense	深绿 Dark green	62.50c
2.0 mg · L ⁻¹ CPPU	10	16	25	一般 Ordinary	深绿 Dark green	72.91a
4.0 mg · L ⁻¹ CPPU	10	16	25	一般 Ordinary	深绿 Dark green	58.33b
8.0 mg · L ⁻¹ CPPU	10	16	25	一般 Ordinary	深绿 Dark green	47.91c
2.0 mg · L ⁻¹ ZT	10	-	-	-	-	0.00d
4.0 mg · L ⁻¹ ZT	14	-	-	-	-	0.00d
8.0 mg · L ⁻¹ ZT	14	-	-	-	-	0.00d
4.0 mg · L ⁻¹ 2iP	14	-	-	-	-	0.00d
8.0 mg · L ⁻¹ 2iP	14	-	-	-	-	0.00d
16.0 mg · L ⁻¹ 2iP	14	-	-	-	-	0.00d

¹⁾ t₁: 叶柄出现愈伤组织所需的时间 Required time of callus appearance on petiole; t₂: 出现不定芽芽点所需的时间 Required time of adventitious bud dot appearance; t₃: 出现不定芽所需的时间 Required time of adventitious bud appearance.

²⁾ 同列中不同的小写字母表示差异显著 (P<0.05) Different small letters in the same column indicate the significant difference (P<0.05).

10 d 叶片开始向远轴面方向卷曲,叶柄处出现膨大的圆球形愈伤组织;而在对照及添加 ZT 及 2iP 的培养基上叶柄产生圆球形愈伤组织所需的时间为 14 d。在添加 TDZ 的培养基上培养 14 d 后‘灿烂’叶片伤口处开始膨大且在伤口边缘肉眼可见黄绿色愈伤组织及芽点,培养 20 d 后开始分化出不定芽;而在添加 CPPU 的培养基上愈伤组织和不定芽出现的时间均有所推迟,需培养 16 d 后叶片才能产生愈伤组织及芽点,培养 25 d 后开始分化出不定芽。在培养基中添加 ZT 和 2iP 均不能诱导‘灿烂’叶片产生不定芽。观察结果显示:从品种‘灿烂’叶片再生的不定芽大部分产生于伤口处,极少数出现在叶片边缘,产生的不定芽均为深绿色,其中在添加 CPPU 的培养基上诱导出的不定芽小而稀疏,在添加 TDZ 的培养基上诱导出的不定芽大而密集(图 1-9,10)。

通过再生率(表 2)的比较可见:TDZ 对‘灿烂’叶片再生的诱导能力最强,其中在添加 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的培养基上诱导效果最好,在所有处理组中叶片再生率最高(79.17%)。CPPU 对叶片再生的诱导作用也较强,在添加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上叶片再生率可达 72.91%;但随 CPPU 添加量的提高叶片再生率逐渐下降,在添加 $8.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上叶片再生率仅为 47.91%。ZT 和 2iP 对‘灿烂’叶片再生的诱导效果最差,在培养基中添加不同浓度 ZT 和 2iP,‘灿烂’叶片的再生率均为 0.00%。

差异显著性分析结果表明:在添加不同浓度 TDZ 和 CPPU 的培养基上,虽然‘灿烂’叶片再生率均有差异,但均高于对照及添加不同浓度 ZT 和 2iP 的培养基,差异达显著水平($P < 0.05$)。

3 讨论和结论

蓝浆果离体叶片的再生能力主要受基因型、培养基中的激素及环境条件等因素的影响。基因型是决定叶片再生的先决条件,而调节培养基中的激素种类和浓度是获得高效再生不定芽的重要手段之一。

TDZ 和 CPPU 均具有较强的诱导作用,在较低浓度下就能使叶片产生大量不定芽。Shibli 等^[12]在培养基中仅添加 $0.9 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ,2 种蓝浆果叶片的不定芽再生率可达 75%,TDZ 浓度低于本实验所设置的 TDZ 最低浓度。Debnath^[13]在对蓝浆果叶片进行再生诱导时,设置了 5 个 TDZ 浓度梯度(0、0.1、1、5

和 $10 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$),发现添加 $1 \sim 5 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 可达到最佳诱导效果,与本研究结果基本相似。Cao 等^[14-15]的研究结果显示:在蓝浆果品种‘蓝丰’(‘Bluecrop’)叶片再生体系中, $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的诱导效果是 $20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 的 3 倍,低浓度 TDZ 就能表现出极强的诱导作用。张桂芬等^[16]认为:CPPU 是细胞分裂素类植物生长调节剂,其活性高于一般嘌呤类细胞分裂素,具有促进细胞分裂和细胞扩大、延缓植物衰老等作用,常用于农业生产中。在蓝浆果的组织培养研究中,对 CPPU 的应用研究也有报道。韩婷婷等^[17]的研究结果显示:在添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 和 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的培养基上或添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的培养基上,蓝浆果叶片愈伤组织诱导率及再生率均高达 100%。在本实验中,在添加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上优选系 A18 和品种‘灿烂’不定芽再生率也均较高,表明 CPPU 对不定芽再生具有较强的诱导作用。

在植物组织培养中,外植体的再生能力与基因型有直接关系,受基因调控。孙阳等^[18]用 3 个蓝浆果品种叶片进行离体再生实验,结果显示:不同蓝浆果品种的离体叶片再生能力有差异,在 ZT 浓度相同的条件下,品种‘陶柔’(‘Toro’)叶片的再生能力最强,品种‘蓝丰’最差。基因型不同,叶片不定芽再生能力差异较大^[19-20]。马怀宇等^[21]的研究结果表明:蓝浆果品种‘乔治亚姆’(‘Gem’)和‘日出’(‘Sunrise’)叶片的再生率在最优培养基中可以达到 100%,而品种‘美登’(‘Blomidon’)和‘蓝丰’叶片在所有供试培养基中再生率均低于 15%。Billings 等^[22]通过比较蓝浆果品种‘伯克莱’(‘Berkeley’)和‘蓝哈芬’(‘Bluehaven’)的叶片诱导能力,找出其共性并筛选出最佳的愈伤组织诱导与不定芽再生培养基;Meiners 等^[23]对数个蓝浆果品种的再生状况进行了比较,发现添加 $20 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 对于所有供试品种都是最佳的,仅品种‘红珍珠’(‘Red Pearl’)例外,仅需添加 $1 \text{ } \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。在本研究中,优选系 A18 和品种‘灿烂’的不定芽再生能力差异较大;在添加 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 的培养基上,A18 叶片再生率高达 100.00%、而‘灿烂’叶片再生率最高仅为 79.17%;在添加 $8.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ CPPU 的培养基上,A18 叶片再生率高达 93.75%、而‘灿烂’叶片再生率仅为 47.91%。因此,在建立再生体系时,应尽量利用多种基因型进

行比对和筛选,且针对不同的品种应采用其各自适宜的再生体系。

由上述实验结果可见:TDZ 和 CPPU 对叶片不定芽的诱导效果优于 ZT 和 2iP,其中,在培养基中添加 $0.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 均能使 A18 不定芽再生率达 100.00%,在培养基中添加 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ TDZ 对‘灿烂’叶片不定芽诱导效果最佳;在同样条件下南方高丛蓝浆果品种‘南月’优选系 A18 叶片的再生能力优于兔眼蓝浆果品种‘灿烂’叶片。因此,培养基中细胞分裂素的添加量和种类以及基因型是影响优选系 A18 和品种‘灿烂’叶片不定芽再生的主要因素,但有关蓝浆果其他品种叶片再生条件及其影响因素还有待进一步的深入研究。

参考文献:

[1] 顾 姻,贺善安. 蓝浆果与蔓越桔[M]. 北京:中国农业出版社,2001:3.

[2] 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,2003:1-8.

[3] NICKERSON N L, HALL L V. Callus formation in stem internode section of lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium* Ait.) cultured on a medium containing plant growth regulators[J]. Horticultural Research, 1976, 16: 29-35.

[4] DEBNATH S C. Propagation of *Vaccinium in vitro*: a review[J]. International Journal of Fruit Science, 2006, 6(2): 47-71.

[5] 陶建敏,耿其芳,庄智敏,等. 蓝浆果叶片高效再生体系的建立[J]. 西北植物学报,2006,26(3): 0610-0614.

[6] ROWLAND L J, OGDEN E L. Use of a cytokinin conjugate for efficient shoot regeneration from leaf sections of highbush blueberry[J]. HortScience, 1992, 27(10): 1127-1129.

[7] 崔广荣,陆 峰,曹华龙,等. 蓝莓离体叶片胚状体高效发生及其组织学观察[J]. 激光生物学通报,2008,17(5): 599-607.

[8] 姜燕琴,於 虹,邓桂秀,等. ZT 和 2iP 对 3 个南方高丛蓝浆果优选系丛生枝增殖及生长的影响[J]. 植物资源与环境学报,2009,18(4): 23-27.

[9] 马怀宇. 越橘离体叶片再生体系的建立及其影响因素的研究[D]. 长春:吉林农业大学园艺学院,2003:9-11.

[10] 聂 飞. 我国兔眼蓝莓栽培研究进展与发展前景[J]. 贵州农业科学,2009,37(1): 153-155.

[11] 王传永,吴文龙,於 虹,等. 兔眼蓝浆果在南京地区的生长和结实情况[J]. 植物资源与环境,1998,7(3): 28-32.

[12] SHIBLI R A, SMITH M A L. Direct shoot regeneration from *Vaccinium pahalae* (Ohelo) and *V. myrtillus* (Bilberry) leaf explants[J]. HortScience, 1996, 31(7): 1225-1228.

[13] DEBNATH S C. A two-step procedure for adventitious shoot regeneration from *in vitro*-derived lingonberry leaves: shoot induction with TDZ and shoot elongation using zeatin[J]. HortScience, 2005, 40(1): 189-192.

[14] CAO X L, HAMMERSCHLAG F A, DOUGLASS L. A two-step pretreatment significantly enhances shoot organogenesis from leaf explants of highbush blueberry cv. Bluecrop[J]. HortScience, 2002, 37(5): 819-821.

[15] CAO X, HAMMERSCHLAG F A. Improved shoot organogenesis from leaf explants of highbush blueberry[J]. HortScience, 2000, 35(5): 945-947.

[16] 张桂芬,常中开. CPPU 应用研究概况[J]. 企业科技与发展,2010(23): 22-24.

[17] 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): 0615-0620.

[18] 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.

[19] 宋 刚,徐 银,宋金耀,等. 不同因素对高丛越橘叶片初代培养的影响[J]. 江苏农业科学,2010(4): 44-45.

[20] 邢瑞丹,刘庆忠,陈 新,等. 两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.

[21] 马怀宇,李亚东,刘庆忠,等. 高丛越橘离体叶片再生植株研究初报[J]. 东北农业大学学报,2004,32(5): 212-215.

[22] BILLINGS S G, CHIN C K, JELENKOVIC G. Regeneration of blueberry plantlets from leaf segments[J]. HortScience, 1988, 23(4): 763-766.

[23] MEINERS J, SCHWAB M, SZANKOWSKI I. Efficient *in vitro* regeneration systems for *Vaccinium* species[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2007, 89: 169-176.

(责任编辑:惠 红)