

蓝莓种苗繁育技术研究进展

肖海峻 孟利前 陈兰芬 汤久杨

(北京农业职业学院 北京 102442)

摘要 蓝莓集保健和营养于一体,被认为是含抗氧化物质最多的水果之一。组培技术是蓝莓种苗繁育的主要方式,具有繁殖系数高、生产成本低等优点。文章从蓝莓的营养价值、生物学特性、组培繁育程序和组培研究进展等方面进行了综述,指出蓝莓组培过程中存在问题及改进措施,对促进蓝莓产业化进程具有重要意义。

关键词 蓝莓 种苗 组培技术

中图分类号 S663.9

文献标识码 A

文章编号 2096-1197(2017)01-0102-05

Research progress on breeding technology of blueberry

XIAO Haijun, MENG Liqian, CHEN Lanfen, TANG Jiuyang

(Beijing Vocational College of Agriculture, Beijing 102442, China)

Abstract: Blueberry is nutritive and sanitarian which is considered as rich in antioxidant in all fruits. Tissue culture is used as the main way to blueberry breed in the course of production with such advantage as higher propagation coefficient and lower cost production. This essay summarized from its nutritive value, biological feature, seed breeding program and progress in the research of tissue culture indicating problems and improvement measures which had a significant meaning in promoting the industrialization of blueberry.

Keywords: Blueberry; Breed; Tissue culture technology

1 蓝莓概述

1.1 蓝莓的营养价值

蓝莓为杜鹃花科越橘属多年生落叶或常绿灌木,营养价值极高。据相关资料统计,100 g 蓝莓果实中含有水分 84 g,能量 238.6 kJ,碳水化合物 15 g,膳食纤维 2.5 g,糖 10 g,钙 6 mg,钾 77 mg,VC9.7 mg,叶酸 6 μg,维生素 B6 52 μg。除此之外,蓝莓果实中还富含 SOD、花青甙,被认为含抗氧化物质最多的水果之一^[1]。具有增强人体免疫、抗癌、软化血管和消除视觉疲劳等保健功效,是集保健和营养于一体、具有较高的经济价值和广阔开发前景的新兴果树树种。

1.2 蓝莓的生物学特性

蓝莓主要分布在我国西南、华南及东北地

区。栽培种可分为高丛蓝莓、矮丛蓝莓和兔眼蓝莓 3 个类型,其中高丛蓝莓又可分为北高丛蓝莓、半高丛蓝莓和南高丛蓝莓 3 种。蓝莓对自然生长环境条件要求严格,喜土质疏松、通气、湿润、有机质含量高的酸性沙壤土、砂土或草炭土。种苗的主要培育方式有扦插、种子繁殖、嫁接和组培。但种子繁殖、扦插和嫁接存在发芽率低、成活率低、繁殖系数小、周期长等缺点。这三种方法均难以满足市场对种苗生产的需求^[2-3],而利用组培技术既可以降低生产成本、提高繁殖系数,又可以在短期之内获得大量的无病毒种苗^[4]。因此,组培技术已成为蓝莓种苗繁育的主要方式之一,且在生产实践中应用的越来越广。

收稿日期 2016-12-04

基金项目 北京市农业科技面上项目(2016021)

作者简介 肖海峻(1966—),女,教授,博士,主要从事植物组织培养基方面的教学和研究工作。

2 蓝莓组培繁育程序

在蓝莓快繁过程中,一般选用茎段作为外植体进行培养,其工艺流程如下:

茎段(顶芽、侧芽)—幼枝—短枝—生根—移栽
驯化

具体操作过程如下:

2.1 田间取材

在每年 3—5 月份,将用于外植体取材的苗木盆栽于日光温室中,选择生长健壮的半木质化的新梢上剪取当年生的枝条,去除叶片,先用肥皂水洗净,再用流水冲洗 2 h。

2.2 灭菌及接种

将材料适当切割,在超净工作台上用 75%酒精进行表面消毒 30 s,用无菌水冲洗 3~5 次,再用 0.1%升汞灭菌 8~10 min 后,用无菌水冲洗 5 次,用无菌滤纸吸去多余水分,然后将外植体切成单芽茎段接入到初代培养基中培养。培养条件为温度 25 ℃,光照时间 200 0~300 0Lx,光照周期为 16 h 光照/8 h 暗光。

2.3 继代培养

为了进一步扩大组培瓶苗的数量,对已建立的无菌培养物要进行继代培养,每 40~50 d 繁殖 1 次,继代培养的条件为温度 20~30 ℃,光照强度为 200 0~300 0Lx,光照周期为 12~16 h。

2.4 壮苗生根培养

蓝莓的生根方法可分为瓶内生根和瓶外生根,瓶内生根主要通过在培养基中添加 IBA,而瓶外生根则主要通过筛选基质组分和比例的筛选,找出最佳配比,从而在短期内使生根率达到最高。

2.5 移栽驯化

移栽和驯化是蓝莓快繁获得成功的关键阶段,瓶内的环境与自然环境差别较大,因此组培苗需经过驯化,逐步适应外界环境。同时需加强水、气、光照等的管理,以提高组培苗的成活率。

3 蓝莓组织培养技术研究进展

对于蓝莓组培技术的研究,不同学者选用不同

的品种从不同角度进行了大量的研究,笔者从以下几个方面进行综述。

3.1 外植体的采集时间和部位

在蓝莓组培过程中,可选用种子、休眠枝条、叶片和茎段或茎尖作为外植体培养,但在生产实践中,国内许多学者选用当年萌发的带腋芽的茎段或顶芽作为外植体^[1-4]。其优点是易操作,成活率和增殖率高,且可以保持其种性^[5],而国外则选用叶片作为外植体进行研究所占比例较大^[6]。

3.2 无菌系的建立

3.2.1 基本培养基的筛选 基本培养基可维持外植体的基本生存,其种类包括 MS、1/2MS、White、B5、WPM、改良 WPM 培养基等类型。在组培实验和组培生产中一般可根据植物的种类、培养部位和培养目的选择不同的基本培养基。1983 年 Wolfe 比较了 7 种培养基,发现 WPM(Woody Plant Medium)对蓝莓的培养效果最好^[7],目前大多数学者也采用 WPM 作为基本培养基。聂飞等^[8]在兔眼蓝莓的繁殖研究中使用了改良 WPM 培养基效果最好,再生率达 85%。马怀宇等^[9]在对高丛蓝莓离体叶片再生研究中认为,WPM 最适合蓝莓叶片再生,1/2WPM 略次之。对于这一研究结果,不同的学者也有不同的意见,如马艳丽^[10]研究认为,高丛蓝莓用改良 MS 培养基培养效果好,再生率可达到 75%。廉家盛^[11]等以美登茎段为外植体,研究 MS、White、改良 WPM 和 B5 基本培养基对蓝莓不定芽增殖的影响,其研究认为 B5 培养基是最适蓝莓不定芽增殖的培养基。由此可见,在培养基的选择过程中应根据不同品种选择不同的基本培养基,而不是照抄照搬别人的研究结果。

3.2.2 初代培养基的筛选 将蓝莓外植体接种到培养基后开始了初代培养,其目的是获得无菌材料或建立无性繁殖系。在此过程中,需对不同植物激素的种类和浓度进行优化,以促进外植体分化成健壮的试管苗。很多学者对添加的植物激素种类和浓度进行了大量的研究,归纳起来主要集中在以下几个方面:一是选用一种激素设置不同的浓度梯度进行研究,如聂飞^[8]以兔眼蓝莓茎段作为外植体,ZT 浓度设置为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L 4 个梯度,分别研究其

对蓝莓增殖率的影响,研究结果认为,在上述几种浓度下均可诱导蓝莓产生丛生枝条,繁殖系数相差不大。而李丽容^[12]等认为,对于兔眼蓝莓腋芽最佳诱导培养基为 WPM+2.0 mg/L ZT,这一结果与宁志怨^[13]的研究结果一致。二是在基本培养基上添加种类和浓度均不同的激素观察其对蓝莓的诱导率。不同的学者添加激素的种类和比例不一致,且研究结果不一致。宁志怨^[13]等认为在 MS+2.0 mg/L ZT+0.2 mg/L NAA 的增殖培养基上,经过 2 次继代培养后蓝莓的增殖系数可达到 30~50 倍。廖容^[14]等以蓝丰茎段为外植体,MS 基本培养基附加不同浓度的 6-BA(1, 2, 3 mg/L)和 NAA (0.2, 0.5 mg/L),研究结果发现,MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 为最佳诱导培养基,诱导率为 88.9%。苏艳等人以兔眼蓝莓和南高丛蓝莓为研究对象,改良 WPM 为基本培养基,附加不同浓度的 ZT(1.5, 2.0, 2.5, 3.0 mg/L)和 NAA(0.1 mg/L)进行研究,发现不同基因型的蓝莓品种,其最佳诱导培养基的组合浓度不同,但 ZT 最佳浓度范围在 2.0~3.0 mg/L。阳翠^[5]等人以莱格西为外植体,改良 WPM 为基本培养基,在基本培养基中附加不同浓度的 6-BA(2.0, 2.5, 3.0, 3.5, 4.0 mg/L)和 NAA 0.2 mg/L,研究结果发现,当 6-BA 浓度为 3.0 mg/L、NAA 为 0.2 mg/L 时,诱导出芽率高达 88%。从以上综述来看,不同学者的研究结果不一致,出现这种情况的原因分析如下:蓝莓的基因型、激素的种类、浓度及基本培养基种类均是影响茎段或茎尖诱导率的因素,且影响方式较为复杂,主要是生长素和细胞分裂素都有各自的作用机理,且两者联合使用存在协作效应,因此,在生产实践中,需通过实验筛选出最佳组合,以提高蓝莓诱导率为目的。

3.3 继代培养基的筛选

经初代培养建立了无性繁殖系,获得一定数量的中间繁殖体。为满足蓝莓产业发展种苗的要求,需进一步繁殖,使其数量越来越多。蓝莓中间繁殖体发生的类型主要为丛生芽增殖型。在增殖培养基中添加能够促进侧芽增殖和生长的植物激素。通常细胞分裂素与一定量的生长素配合,可诱导不定芽的分化、侧芽的萌发与生长,在这方面许多学者做了大量

的研究,但由于选用品种不一样,因而研究结果也不一样。阳翠^[5]等人以莱格西为外植体,改良 WPM 为基本培养基,在基本培养基中附加不同浓度的 ZT (1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 3.5 mg/L),其研究结果表明,当附加的 ZT 浓度为 1.5 mg/L 时,莱格西继代增殖的倍数最高,为 4.6 倍,且产生的丛生芽整齐度较好。杨艳敏^[15]以斯巴坦、伯克利等为外植体,以 WPM 为基本培养基,设置 5 个 ZT 浓度(0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mg/L),分别添加 GA₃ 0.5 mg/L 和 IBA 0.1 mg/L,经过 56 d 后观察,各品种对玉米素的反映不同,斯巴坦最佳玉米素浓度为 0.7 mg/L,而伯克利为 0.5 mg/L,当几种激素联合使用时,对于伯克利来说,最佳激素组合是 WPM + 0.5 mg/L ZT + 0.1 mg/L IBA + 0.5 mg/L GA₃。岳建^[16]以奥尼尔茎段为外植体,基本培养基 WPM 上添加不同浓度的 ZT(1, 2, 3, 4 mg/L)和 zip(5, 10, 15, 20 mg/L),于 60 d 后统计增殖倍数,比较研究的结果发现,当 ZT 浓度为 3.0 mg/L 时增殖倍数达到最大,zip 浓度为 10 mg/L 时,增殖倍数为 4.5,低于 ZT 的增殖倍数。由此可见,对于不同的蓝莓品种外植体增殖培养阶段,能够选择适合的培养基种类及适当的激素比例,对蓝莓增殖效果具有重要意义。

3.4 生根培养

蓝莓没有侧根,其根系较弱,关于蓝莓的生根问题,不同学者从瓶内生根和瓶外生根两方面进行比较研究。

3.4.1 瓶内生根 对于瓶内生根培养基,大多数学者认为使用 1/2WPM 作为基本培养基效果较好,在添加激素中以 IBA 的效果好于 NAA。孙书伟^[17]以 1/2 WPM 为基本培养基,对蓝丰、伯克利组培苗进行生根研究发现,蓝丰在含有 0.1 mg/L IBA 的培养基上,生根数量和生根率最好,28 d 的生根率达 100%,而伯克利在添加 0.05 mg/L IBA 的培养基上,32 d 时生根率达 100%。梁文卫^[18]以蓝莓品种美登的无根试管苗为试材,脱脂棉为支持物,添加 1/2 WPM 及不同浓度的 IBA、NAA,对试管苗的瓶内生根效果进行研究表明,美登蓝莓无根试管苗在 1/2 WPM 培养基上添加浓度分别为 2.0 mg/L IBA 和

0.2 mg/L NAA, 培养 10 d 后即可生根, 生根率达 100%。20 d 后即可达到移栽要求。而王连润等^[19]研究发现, 蓝莓在改良的 1/2WPM 基本培养基添加 0.3 mg/L IBA 的生根培养基上光照培养 20 d 后, 生根率不到 5%, 培养 60 d 后生根率才达 70%~90%。由此可见, 不同品种其瓶内生根率和生根时间不同, 产生差异的原因与品种的不同有关, 但孙阳^[20]等人的研究认为, 在同一品种的生根实验中, 通过改变激素的种类或浓度并不能提高其生根率。

3.4.2 瓶外生根 由于瓶内生根速度慢、生根率低且生长势弱, 因而在实际生产中常常采用瓶外生根技术。大多数学者围绕瓶外生根所用激素种类、浓度及基质种类、配比比例进行研究。李京^[21]以大兴安岭野生蓝莓为研究对象, 对影响瓶外生根的 4 个因素进行 4 因素 3 水平正交实验, 研究结果发现, 对蓝莓苗瓶外生根质量影响因素从大到小的排列顺序依次为激素种类、基质种类、激素浓度和处理时间, 且最佳方案是生根粉(500 mg/L), 基质由珍珠岩和草炭土组成, 比例为 1:1。黄国辉^[22]等人以蓝莓组培复壮苗为插条, 对生根激素处理时间和不同基质(苔藓、草炭土、珍珠岩和沙河)组成比例进行研究认为, IBA 3 个处理浓度间生根率差异不显著, 而不同生根基质对生根率有较大影响, 苔藓上生根率最高, 达 60%, 珍珠岩与河沙不宜作蓝莓组培苗瓶外生根基质。岳建^[16]等对奥尼尔进行瓶外生根实验发现, 最适合的处理激素是 1 g/L 的 IBA, 基质为 1 份苔藓加 2 份蛭石, 生根率可达 50%~60%。姚平^[23]则认为,

将蓝莓茎段蘸 100 mg/L IBA 并扦插到以苔藓为基质苗床上, 保持小拱棚内空气相对湿度为 95%以上, 40 d 后生根率可达到 70%~80%。综上所述, 瓶外生根技术直接关系根系生活力的问题, 因而也是关系到蓝莓组培苗成活率高的一项措施, 在生产实践中具有重要意义。

4 存在问题及展望

蓝莓在我国栽培已有多年的历史, 由于组培技术具有操作简单、增加繁殖系数、缩短培育周期、生产时间不受季节地域的限制等优点, 因此, 组培技术在蓝莓产业化进程中发挥了重要的作用, 各地已建立起一套较完善的培养体系。但在生产实际中仍存在以下问题: 一是采用外植体繁殖时, 污染率较高; 二是在增殖过程中, 存在分化率较低; 三是生根过程中生根率较低, 生根时间较长; 四是存在玻璃化现象和褐变现象; 五是不同基因型品种的无菌系的建立没有合理的理论依据, 需进一步进行有规律的探索研究, 为蓝莓工厂化育苗提供相应的理论基础。

随着组培技术的成熟和发展, 有学者提出无糖培养微繁技术和开放式组培法。这两种组培技术可解决传统组培技术面临的问题, 如植物在繁殖过程中的污染、褐变和玻璃化等问题, 同时还可避免过量使用消毒剂和杀菌剂所带来的环境污染等问题, 因此, 一些关于组培新技术的产生和发展可为蓝莓产业化发展提供技术支持, 保证蓝莓工厂化育苗健康快速地发展。

参考文献:

- [1] 马艳萍. 蓝莓的生物学特性、栽培技术与营养保健功能[J]. 中国水土保持, 2006(2): 47-49.
- [2] 张般般, 杨静慧, 刘艳军, 等. 耐盐树莓突变体叶片的解剖结构变化[J]. 天津农业科学, 2016, 23(12): 53-56.
- [3] 赵兴宇, 李丽丽, 杨洪一. 蓝莓茎段离体快繁研究[J]. 北方园艺(生物技术), 2015(1): 103-105.
- [4] 申岩. 蓝莓露地栽培技术[J]. 天津农业科学, 2009, 15(3): 62-64.
- [5] 阳翠, 王军, 补学梅, 等. 蓝莓莱格西组培苗繁殖技术研究[J]. 现代农业科技, 2016(2): 100-101.
- [6] 郝明明, 杜小春, 周文婷. 蓝莓的快速繁殖[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(22): 11759-11761.
- [7] Wolf D E, Eck P, Chin C K. Evaluation of seven media for micropropagation of high bush blueberry[J]. Hort Science, 1983, 18: 703-705.
- [8] 聂飞, 廖优江, 何健, 等. 美国兔眼蓝莓繁殖技术研究[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(4): 39-41.
- [9] 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,2004,35(2):212-215.
- [10] 马艳丽.越橘组培快繁技术研究[J].吉林林业科技,2005(34):3-5.
- [11] 廉家盛,朴炫春,廉美兰,等.培养基种类、玉米素浓度及pH值对蓝莓“美登”组培增殖生长的影响[J].延边大学农学学报,2010,4(32):25-28.
- [12] 李丽容,金开正,赖联森.玉米素对蓝莓组培增殖生长的影响研究[J].安徽农业科学,2013,41(30):11961-11962.
- [13] 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,2007,5(6):64-66.
- [14] 廖容,冯巧丽,何珊.蓝丰蓝莓快繁过程中初代培养基的筛选研究[J].现代园艺,2012(5):4-5.
- [15] 杨艳敏,陶承光,魏永祥.蓝莓组织培养工厂化育苗[J].北方园艺,2012(7):129-131.
- [16] 岳健,杨东,董正兵,等.奥尼尔蓝莓组培快繁体系的建立[J].浙江农业科学,2015,9(56):1419-1421.
- [17] 孙书伟.蓝莓组培苗瓶内生根的探讨[J].湖北农业科学,2009,48(4):786-788.
- [18] 梁文卫,宋鹏慧,阎聪,等.美登蓝莓试管苗瓶内快速生根试验[J].中国果树,2015(4):45-46.
- [19] 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.
- [20] 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.
- [21] 李京,张妍妍,张建瑛.蓝莓组培苗瓶外生根技术的优化[J].林业科技,2013,5(38):4-6.
- [22] 黄国辉,姚平.蓝莓组培苗瓶外生根的研究[J].江苏农业科学,2011,4(39):227-228.
- [23] 姚平,孙书伟.蓝莓组织培养瓶内复壮瓶外生根快繁技术[J].北方园艺,2009(4):191-192.

(责任编辑 侯旭光)

(上接 83 页)

划结果进行详细的分区评述。该区划结果在内蒙古地区具有较高的实用价值,为合理、充分地利用气候

资源,避免和克服不利的气候条件,进行合理的农牧林业布局提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 吉中礼.对农业气候区划中水分指标的改进[J].干旱地区农业研究,1986,4(1):14-19.
- [2] 冯晓云,王建源.基于GIS的山东农业气候资源及区划研究[J].中国农业资源与区划,2005,26(2):60-62.
- [3] 张海梅,符晓,牟萌.GIS与农业气候区划[J].安徽农业科学,2006,34(7):1503-1504.
- [4] 黄淑娥,殷建敏,王怀清.“3S”技术在县级农业气候区划中的应用[J].中国农业气象,2001,22(4):40-42.
- [5] 白世彪,陈晔,王建,等.值线绘图软件SURFER7.0中九种插值法介绍[J].物探化探计算技术,2002(24):157-162.
- [6] 冯锦明,赵天保,张英娟.基于台站降水资料对不同空间内插方法的比较[J].气候与环境研究,2004(9):261-276.
- [7] 李新,程国栋,卢玲.空间内插方法比较[J].地球科学进展,2000(15):260-265.
- [8] 宫德吉,郝幕玲,侯琼.旱灾成灾综合指数的研究[J].气象,1996,22(10):3-7.
- [9] 内蒙古自治区土壤普查办公室.内蒙古自治区土壤肥料工作站.内蒙古土壤[M].北京:科学出版社,1994.
- [10] 马晓群,王效瑞,徐敏,等.GIS在农业气候区划中的应用[J].安徽农业大学学报,2003,30(1):105-108.
- [11] 裴浩,敖艳红,李云鹏,等.内蒙古阿拉善地区气候区划研究[J].干旱区资源与环境,2000,14(3):46-56.
- [12] 苏二虎,冯勇,赵瑞霞,等.内蒙古自治区玉米分区发展方向及技术策略探讨[J].内蒙古农业科技,2009(4):9-11.

(责任编辑 吴云霞)