



# 红阳猕猴桃的组织培养快繁技术

王 姍<sup>1</sup>,黄雪云<sup>2</sup>,陶 玉<sup>1</sup>,张晓霞<sup>1</sup>

(1.江苏农林职业技术学院,江苏 句容 212400;2.如皋市江安镇农业服务中心 江苏 如皋 226500)

**摘要:**为提高红阳猕猴桃组织培养效率,以红阳猕猴桃带芽嫩茎段和再生苗叶片为外植体,通过组培快繁试验,对影响红阳猕猴桃嫩茎段腋芽萌发和再生苗不定芽再生的生长调节物质的用量和作用进行分析筛选。结果表明:红阳猕猴桃最适宜诱导腋芽萌发的培养基为 WPM+1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 和 WPM+1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA,在此条件下带腋芽茎段萌芽率达 100%;再生苗叶片不定芽诱导的最佳培养基为 WPM+1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D;最适合红阳猕猴桃不定芽增殖的培养基为 WPM+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D。

**关键词:**红阳猕猴桃;组织培养;快繁技术;愈伤组织

红阳猕猴桃(*Actinidia chinensis* var. *rufopulpa* Liang et Ferguson)属猕猴桃科(Actinidiaceae)猕猴桃属(*Actinidia*)多年生浆果类藤本植物。中国是猕猴桃的原产地,有着丰富的猕猴桃

遗传资源<sup>[1]</sup>,红阳猕猴桃是在四川猕猴桃原产地苍溪发现的自然变异品种<sup>[2]</sup>,其果皮绿色,果肉黄绿色,果心鲜红色,肉质细嫩,香甜如蜜;维生素 C 含量达 135.8 mg·100 g<sup>-1</sup>;红阳猕猴桃鲜果横剖面沿果心有紫红色线条,呈放射状分布,似太阳光芒四射,故称“红阳猕猴桃”<sup>[3]</sup>。红阳猕猴桃中富含多种营养元素,肉质鲜嫩,果心小,果味浓,品质极佳。总糖的质量分数为 13.45%,高出世界流行品种海沃德近 5%<sup>[4]</sup>。红阳猕猴桃具有早果性,丰产性且抗逆性强,有很高的经济价值和商品

收稿日期:2017-12-13

基金项目:江苏高校品牌专业建设工程资助项目(ppzy2015b173);江苏农林职业技术学院科技计划资助项目(2015kj031)。

第一作者简介:王姍(1985-),女,在读硕士,从事园林植物应用研究。E-mail:656268687@qq.com。

## 参考文献:

- [1] 张建国.沙棘生态经济型优良杂种选育研究[M].北京:科学出版社,2008.
- [2] 陶可全,黄士杰.龙江果树[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2016:518-519.
- [3] 张连翔,惠兴学,金秀梅,等.俄罗斯沙棘良种实生苗年高生长节律的研究[J].沙棘,2003,16(2):10-12.
- [4] 胡建忠.沙棘引种试验地选择与布局[J].国际沙棘研究与开发,2012,10(4):29-31.
- [5] 胡建忠.种沙棘引种后的田间物候期调查[J].国际沙棘研究与开发,2012,10(4):12-14.

## Introduction Experiment of *Hippophae rhamnoides* L. Improved Species from Russia in the Black Soil Area of Northeastern China

WU Yu-xi

(Institute of Berries, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suiling 152200, China)

**Abstract:** In order to expand the germplasm resources of *Hippophae rhamnoides* L. in China, 22 varieties of seabuckthorn introduced from Russia and 4 domestic clones of *Hippophae rhamnoides* L. were used as test materials and planted in Suiling county of Heilongjiang province. The adaptability after introduction was observed, and the phenology, growth rhythm and growth of seedlings were observed and analyzed. The test results showed that all introduced varieties had stronger resistance and robust growth. Among them, the varieties of 201320, 201307, 201301 and 201304 performed better in the black soil area of northeastern China.

**Keywords:** *Hippophae rhamnoides* L.; introduction experiment; adaptation; the black soil area of northeastern China

开发前景。红阳猕猴桃中富含多种营养元素,受到越来越多的人喜爱。

随着红阳猕猴桃栽培面积的扩大,良种苗的需求量也在不断增加。但由于猕猴桃是雌雄异株的植物,倍性复杂,采用种子繁殖,周期长,且不容易获得大量的雌株群体。而目前常用的传统方法如扦插、嫁接,成活率不高,且效率低下。因此需要引进新的方法和手段系统的开展猕猴桃的良种繁育工作,采用组织培养技术开展快速繁殖成为重要的良种繁育途径。目前,世界上猕猴桃生产大国的猕猴桃主要来源于组织培养<sup>[5]</sup>。利用组织培养技术有利于快速繁殖大量优质苗,组织培养有利于保存猕猴桃的优良性状,通过大量繁殖愈伤组织,分化、生根、驯化培养获得大量优质猕猴桃组培苗。吴秀华等以海沃德猕猴桃无菌苗的叶片为外植体,采用一步出芽法对不定芽进行诱导、增殖和生根,从而成功建立离体快繁体系<sup>[6]</sup>。尚霄丽等<sup>[7]</sup>以中华猕猴桃叶片为外植体,不定芽分化率达 87.5%。隆前进等<sup>[8]</sup>以红阳带芽茎段为外植体进行出芽诱导,通过不定芽增殖和生根成功建立离体快繁体系。刘长春等<sup>[9]</sup>以金富猕猴桃带芽茎段为外植体,诱导腋芽萌发,再通过增殖培养和生根建立了快繁体系。张海平等<sup>[10]</sup>以其茎尖为外植体,经愈伤组织出芽建立快繁体系。由于猕猴桃不同品种间存在基因型差异<sup>[11]</sup>,因此,需要针对特定品种来筛选适宜的培养基配方。本试验以红阳猕猴桃为试材,研究影响其离体培养成苗过程的主要因素与关键技术,力求建立一个高效、稳定的快繁技术体系,为该品种的推广和原生质体培养与体细胞杂交等相关研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

以一年生红阳猕猴桃幼嫩枝条为材料,取长势健壮的幼嫩带腋芽茎段为外植体,进行组织培养。

试验仪器有 LDZX 型立式压力蒸汽灭菌器(上海申安医疗器械厂;压力表精度 1.6 级,型号 LDZX-60FA)、无菌操作台(上海咏星生物科技有限公司;洁净度 $\leq 3.5$  颗 $\cdot L^{-1}$ , $\geq 0.5 \mu m$  的尘埃,噪声 $\leq 63$  dB(A);平均风速 0.3~0.6 m $\cdot s^{-1}$ ;振动 $\leq 4 \mu m$ ;菌落数 $\leq 0.5$  个 $\cdot mL^{-1} \cdot h^{-1}$ )、电子天平(上海上平仪器有限公司;Max = 100 g, Min =

10 mg,d=0.1 mg,e=10 d)、蒸馏水器(上海科析试验仪器厂,型号 5 L $\cdot h^{-1}$ )、微量移液器(上海高鸽工贸有限公司)。

### 1.2 方法

试验于 2015 年 10 月在江苏农林职业技术学院研发楼组培室进行。

1.2.1 消毒处理 将材料除叶后用软刷刷净材料表面,放入烧杯中罩上纱布,用流水冲洗 2 h。在无菌超净工作台上,用 75%酒精消毒 40 s 后,用无菌水冲洗 2 遍,再用 0.1%氯化汞灭菌 8 min,处理后再用无菌水冲洗 5~6 遍。茎段剪成 1.5 cm 的小段,每段带一个芽,垂直插入培养基中。

1.2.2 培养基筛选 将消毒灭菌过的带芽茎段接种于不同培养基,添加不同浓度的 6-BA、ZT、NAA,共 8 个处理,每个处理接 30 株,重复 3 次。30 d 后统计萌芽率、褐化率和污染率。

1.2.3 再生芽诱导 以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA、NAA,共 9 个处理。所有培养基中蔗糖含量为 30 g $\cdot L^{-1}$ 、琼脂含量为 6 g $\cdot L^{-1}$ ,pH5.8。每个培养瓶内接 1 个茎段,每处理 9 瓶,重复 3 次。置于温度为(25 $\pm 1$ ) $^{\circ}C$ ,光照为 12 h $\cdot d^{-1}$ ,光强 100  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ 的条件下培养,光照 16 h $\cdot d^{-1}$ 。30 d 后,记录腋芽萌发情况。

1.2.4 再生苗叶片不定芽诱导 无菌条件下,将再生苗叶片边缘剪掉,然后剪成 1 cm $\times$ 1 cm 的叶盘,接种于培养基上,叶脉部分及伤口贴近培养基,每瓶放置 3 片。以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA(1,2 mg $\cdot L^{-1}$ )、NAA(0.1、0.2、0.3 mg $\cdot L^{-1}$ )、2,4-D(0.1、0.2 mg $\cdot L^{-1}$ )共 12 个处理。先进行暗培养 20 d 后,转入光强 100  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ,光照为 16 h $\cdot d^{-1}$ ,温度为(25 $\pm 1$ ) $^{\circ}C$ 条件下培养 10 d 后统计不定芽诱导率 and 不定芽数量。

1.2.5 再生苗不定芽增殖 将诱导出的不定芽进行切割分离,将生长状况和不定芽大小基本一致的单个不定芽接种到添加不同浓度的 6-BA(0、1,2 mg $\cdot L^{-1}$ )、NAA(0.1、0.2、0.3 mg $\cdot L^{-1}$ )、2,4-D(0.2 mg $\cdot L^{-1}$ )的增殖培养基中,置于光周期 16 h $\cdot d^{-1}$ ,光强 100  $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$ ,温度为(25 $\pm 1$ ) $^{\circ}C$ 条件下培养,每处理 10 瓶,重复 3 次,计 30 瓶。30 d 后统计不定芽增殖率 and 不定芽增殖系数。

1.2.6 数据分析 采用 Excel 2007 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对茎段诱导出芽的影响

由表 1 可知,茎段接种 7 d 后,W1 处理的部分茎段腋芽开始萌发,30 d 后,W1 的所有茎段都萌发,萌发率达 100%,褐化率为 0;W2 处理大部分茎段也萌发了,萌发率为 80%,褐化率为 0;添加 ZT 的培养基萌芽率较低,不适宜作为红阳猕

猴桃的诱导激素,而添加了 6-BA 的培养基萌芽率达到 60%~100%,但是以 MS 作为基本培养基,后期均出现不同程度的褐化现象,而以 WPM 为基本培养基,最低褐化率为 0,结果表明,红阳猕猴桃最适宜诱导腋芽萌发的培养基为 WPM+1 mg·L<sup>-1</sup>6-BA+0.10 mg·L<sup>-1</sup>NAA。

表 1 不同培养基对腋芽萌芽的影响

Table 1 The effect of different mediums on axillary bud germination

处理 Treatments	培养基类型 Medium type	激素浓度/(mg·L <sup>-1</sup> ) Hormone			外植体个数 Explant number	萌芽率/% Germination rate	褐化率/% Browning rate
		6-BA	ZT	NAA			
M1	MS	1	0	0.1	30	66.67	46.67
M2	MS	2	0	0.1	30	60.00	73.33
M3	MS	0	0.05	0.1	30	36.67	100.00
M4	MS	0	0.10	0.1	30	30.00	86.67
W1	WPM	1	0	0.1	30	100.00	0
W2	WPM	2	0	0.1	30	80.00	0
W3	WPM	0	0.05	0.1	30	40.00	10.00
W4	WPM	0	0.10	0.1	30	23.33	13.33

2.2 激素浓度对红阳猕猴桃带腋芽茎段出芽诱导的影响

由表 2 可知,茎段接种 7 d 后茎段普遍膨大,10 d 后 A9 开始出现小苗,其次是 A6、A8 培养基。13 d 后,A4、A5、A7 培养基陆续出现小苗。30 d 后,A1 和 A4 萌芽最多,萌芽率均为 100%,A2、A5 次之,萌芽率分别为 88.89%、85.50%。

表 2 不同激素 6-BA 和 NAA 浓度配比  
对再生芽诱导的影响

Table 2 The effect of different 6-BA and NAA concentrations on adventitious shoot induction

处理 Treatments	激素配比/(mg·L <sup>-1</sup> ) Hormone concentration		外植体数 Explant number	萌芽率/% Germination rate
	6-BA	NAA		
A1	1	0.1	27	100.00
A2	2	0.1	27	88.89
A3	3	0.1	27	66.67
A4	1	0.2	27	100.00
A5	2	0.2	27	85.50
A6	3	0.2	27	75.61
A7	1	0.3	27	62.25
A8	2	0.3	27	55.56
A9	3	0.3	27	31.75

红阳猕猴桃接种到添加 6-BA 和 NAA 的 WPM 培养基中都可以萌芽,在 1~3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA 处理下,以 1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA 萌芽率最高,随 6-BA 浓度的增加,萌芽率下降。在 6-BA 浓度为 1 mg·L<sup>-1</sup> 时,NAA 以 0.1 和 0.2 mg·L<sup>-1</sup> 为最好,萌芽率均可以达到 100%。由此可知,在培养基中添加激素的最佳配比为 1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 和 1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA,带腋芽茎段萌芽率达 100%。

2.3 不同激素浓度对再生苗叶片不定芽诱导的影响

叶片接入 6 d 后,叶片边缘开始膨大,尤其是叶片的叶脉处明显膨大,诱导出愈伤组织,13 d 愈伤组织越来越多,颜色多为黄绿色,质地紧致,部分开始出现芽点,18 d 时芽点逐渐增多,28 d 后芽点开始分化出小苗,40 d 后丛生芽密集生长。

由表 3 可知,培养基中各激素浓度对红阳猕猴桃的不定芽再生有明显影响。B3 培养基出现愈伤组织仅 10 d,时间最早,且愈伤组织非常多。18 d 后叶片周围普遍出现明显的白绿色芽点并开始分化小苗。B4、B5 处理在 30 d 后叶脉、叶柄处分化出不定芽。50 d 后,B4 和 B5 分化出的不定芽较多,分化率分别达 91.67% 和 94.44%。结

果表明,再生苗叶片不定芽诱导的最佳培养基为 B5:WPM+1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D。

表 3 不同激素浓度组合对再生苗叶片诱导的影响

Table 3 The effect of different hormone concentrations on leaf induction of regeneration seedlings

处理 Treatments	激素配比/(mg•L <sup>-1</sup> ) Hormone concentration			外植体数 Explant number	出芽率/% Emergence rate
	6-BA	NAA	2,4-D		
B1	1	0.1	0.1	36	41.67
B2	1	0.2	0.1	36	44.44
B3	1	0.3	0.1	36	30.56
B4	1	0.1	0.2	36	91.67
B5	1	0.2	0.2	36	94.44
B6	1	0.3	0.2	36	72.22
B7	2	0.1	0.1	36	61.11
B8	2	0.2	0.1	36	58.33
B9	2	0.3	0.1	36	50.00
B10	2	0.1	0.2	36	30.56
B11	2	0.2	0.2	36	25.00
B12	2	0.3	0.2	36	27.78

2.4 不同激素配比对不定芽增殖的影响

由表 4 可知,当培养基中 6-BA 浓度为 0 mg·L<sup>-1</sup> 时,增殖率均达到 100%,增殖系数为 4.12~6.11,当培养基中 6-BA 浓度为 1 mg·L<sup>-1</sup> 时,增殖

表 4 不同激素浓度对再生苗愈伤组织增殖的影响

Table 4 Effect of different hormone concentrations on proliferation of regeneration seedling callus

处理 Treatment	激素配比/(mg·L <sup>-1</sup> ) Hormone concentration			增殖率/% Reproduction	繁殖系数(倍) Reproduction
	6-BA	NAA	2,4-D	rate	coefficient (times)
C1	0	0.1	0.2	100.00	4.12
C2	0	0.2	0.2	100.00	6.11
C3	0	0.3	0.2	100.00	5.03
C4	1	0.1	0.2	100.00	4.06
C5	1	0.2	0.2	83.33	4.11
C6	1	0.3	0.2	90.00	3.28
C7	2	0.1	0.2	66.67	2.96
C8	2	0.2	0.2	50.00	3.19
C9	2	0.3	0.2	50.53	3.02

系数为 3.28~4.06,当培养基中 6-BA 浓度为 2 mg·L<sup>-1</sup> 时,增殖率最高仅为 66.67%,增殖系数为 2.96~3.19。表明,不添加 6-BA 时较适宜红阳猕猴桃不定芽的增殖,培养基中 NAA 的量与不定芽增殖无线性关系,但是 NAA 起到促进芽苗生长的作用,结果表明最适合红阳猕猴桃不定芽增殖的培养基为 WPM+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+0.2 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D。

3 讨论与结论

在以往的关于猕猴桃的研究中,多发现猕猴桃组织快繁易发生褐化现象,阳小成等<sup>[12]</sup>在中华猕猴桃的组织培养及其实用快速繁殖中出现了褐化现象,刘延吉等<sup>[13]</sup>在研究软枣猕猴桃组织培养过程中也出现了褐变现象。本试验在前人的基础上,尝试以不同的培养基进行基本培养基的筛选,发现 WPM 培养基更适合于建立红阳猕猴桃带芽茎段的组织培养快繁技术。这与隆前进等<sup>[14]</sup>人在红阳猕猴桃的研究中有所不同。本试验结果表明在 WPM 培养基条件下,添加一定浓度 6-BA 和 NAA,红阳猕猴桃萌芽率达到 100%,褐化率为 0,而在 MS 基本培养基条件下,添加相同浓度的 6-BA 和 NAA,带腋芽茎段萌芽率仅为 66.67%,且褐化率达到 46.67%。两种培养基最显著的差异就是褐化率,采用 MS 培养基很容易出现褐化,而采用 WPM 作为基本培养基,褐化率均较低,当添加的激素浓度达到最佳时,褐化率可降为 0。这可能是因为 WPM 培养基中的无机盐浓度较低,培养基中的无机物可能是氧化酶合成及进行生理生化作用所必需的。培养基无机盐的浓度减少一半,可以有效降低褐化。培养基中的激素浓度也会影响褐化,高浓度细胞分裂素类物质会促使核桃<sup>[15]</sup>、巨桉<sup>[16]</sup>、甘蔗<sup>[17]</sup>发生褐化。在本试验中,激素对于褐化的影响作用较明显,随着激素浓度的增加褐化率也有所增加。

基本培养基为培养物保证了生存和最低生理活动所需要的基本条件。MS 和 WPM 培养基分别代表了不同的矿质营养水平和有机物水平,MS 为高盐含量培养基,WPM 为低盐培养基。本试验中红阳猕猴桃更适合在 WPM 培养基中诱导出芽,说明红阳猕猴桃初代培养不需要较高的矿质营养和有机物,一方面提高萌芽率,一方面降低褐化率。这与文国琴等<sup>[18]</sup>的研究不太一致,还需要进一步开展相关研究。培养基中的植物生长调节

剂是决定植物离体再生效率的最大影响因子<sup>[19]</sup>。培养基激素种类、浓度、不同激素配比对于外植体的细胞分裂、愈伤组织诱导、芽再生、根分化发育等有重要作用<sup>[18]</sup>。试验中红阳猕猴桃在添加激素为  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \sim 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 培养基中,带腋芽茎段萌芽率达 100%。可能红阳猕猴桃具有较高的细胞分裂素水平,不需要活性很高的激素就可以获得再生苗。

本试验采用带腋芽茎段诱导不定芽,再通过再生苗叶片诱导不定芽的方式进行红阳猕猴桃的组培快繁方式,尽管比常规程序多了一个步骤,但整体时间缩短,且繁殖系数高,成苗质量好,腋芽萌发率最高可达 100.00%,再生苗叶片诱导不定芽最高可达 94.44%,增殖系数最高达到 6.11。本研究成功建立了红阳猕猴桃植株再生体系,既达到了快速繁育种苗的目的,也为红阳猕猴桃的细胞工程育种打下了基础。

#### 参考文献:

- [1] 邹游,黄敏,侯若彤,等. ISSR 标记技术在猕猴桃遗传研究中的应用[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2008,33(1):111-115.
- [2] 朱道圩. 猕猴桃遗传育种研究现状与展望[J]. 河南农业大学学报,1995,29(4):328-336.
- [3] 石玮,张玲,刘永胜. 红阳猕猴桃叶片再生体系的建立[J]. 合肥工业大学学报(自然科学版),2015,38(4):1003-1005.
- [4] 汪克强,周建峰,王晓兵. 红阳猕猴桃的栽培与管理[J]. 山西林业科技,2010(5):68-71.
- [5] 谢志兵,鲁旭东. 猕猴桃组织培养中适宜激素组合的筛选[J]. 北方果树,2003(3):7-8.

- [6] 吴秀华,张艳玲,周月,等. ‘海沃德’猕猴桃叶片高频直接再生体系的建立[J]. 植物生理学报,2013,49(8):759-763.
- [7] 尚霄丽,马春华,冯建灿,等. 中华猕猴桃叶片再生体系的建立[J]. 江西农业学报,2010,22(4):50-52.
- [8] 隆前进,吴延军,谢鸣. ‘红阳’猕猴桃叶片和带芽茎段的组织培养快繁技术[J]. 浙江农业学报,2010,22(4):429-432.
- [9] 刘长春,陈泽雄,龚雪芹,等. 金富猕猴桃离体培养与植株再生的优化研究[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2007,32(5):124-128.
- [10] 张海平,周建峰,任目瑾. 海沃德猕猴桃组织培养快速繁育技术研究[J]. 陕西林业科技,2011(2):8-11.
- [11] 黄宏文,龚俊杰,王圣梅,等. 猕猴桃属(*Actinidia*)植物的遗传多样性[J]. 生物多样性,2000,8(1):1-12.
- [12] 阳小成,王伯初,叶志义,等. 中华猕猴桃的组织培养及其实用快速繁殖[J]. 重庆大学学报(自然科学版),2002(6):75-77.
- [13] 刘延吉,任飞荣. 软枣猕猴桃组织培养过程中外植体褐变的防止[J]. 北方园艺,2007(11):175-177.
- [14] 隆前进,吴延军,谢鸣. ‘红阳’猕猴桃叶片和带芽茎段的组织培养快繁技术[J]. 浙江农业学报,2010,22(4):429-432.
- [15] 刘兰英. ‘薄壳香’核桃组培中的褐化及防止措施研究[J]. 园艺学报,2002,29(2):171-172.
- [16] Bonga J M, Duran D J. Tissue culture in forestry Martinus[M]. Nijhoff;Dr. Junk Publisher,1982:228-235.
- [17] 陈正华. 木本植物组织培养[M]. 北京:高等教育出版社,1986:34-36,456-465,596-599.
- [18] 文国琴. 红阳猕猴桃快繁技术体系研究[D]. 成都:四川农业大学,2004:46-49.
- [19] 洪树荣. 猕猴桃离体茎段和叶愈伤组织的诱导和植株再生[J]. 湖北农业科学,1981(9):28-30.

## Tissue Culture and Propagation Technique of *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa* Liang et Ferguson

WANG Shan<sup>1</sup>, HUANG Xue-yun<sup>2</sup>, TAO Yu<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-xia<sup>1</sup>

(1. Jiangsu Vocational College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, China; 2. Agricultural Service Center of Jiang'an Town, Rugao 226500, China)

**Abstract:** In order to improve the tissue culture efficiency of *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa* Liang et Ferguson, the stems and leaves were used as explants to investigate the tissue culture and propagation technique. Effects of growth regulating substance on bud sprouting and adventitious buds regeneration were also tested. The results indicated that the most suitable medium for the induction of axillary buds was WPM +  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA and WPM +  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA, and the bud rate of the axillary buds was 100% under this condition. The optimal medium for the induction of the leaf of regeneration seedlings was WPM +  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D; The most suitable medium for adventitious bud proliferation was WPM +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA +  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  2,4-D.

**Keywords:** *Actinidia chinensis* var. *rufopulpa* Liang et Ferguson; tissue culture; propagation; callus