



王禹. 软枣猕猴桃叶片再生培养的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2021(4):85-87.

软枣猕猴桃叶片再生培养的研究

王 禹

(黑龙江省农业科学院 园艺分院, 黑龙江 哈尔滨 150069)

摘要:为提高软枣猕猴桃优良种质资源的种苗繁育速度,本试验以软枣猕猴桃野生雌株资源 2851 的叶片为外植体,研究植物生长调节剂及 MS 和 1/2MS 对不定芽诱导、增殖、生根的影响。结果表明:软枣猕猴桃叶片的不定芽诱导培养基为 $MS+3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ TDZ}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 2,4-D}+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,再生率达到 67.2%;不定芽增殖培养基为 $MS+3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ TDZ}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$ 或者 $MS+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ ZT}+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,增殖系数分别为 4.7 和 4.9;组培苗生根培养基为 $1/2\text{ MS}+0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,生根率为 91.6%。

关键词:不定芽再生率;增殖系数;生根率;驯化

软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*),别名软枣子、藤瓜、藤枣、猕猴桃梨,属于猕猴桃科猕猴桃属,为多年生藤本落叶植物,分布在我国华北、东北、西北及长江流域,主要分布在东北南部长白山脉一带山区^[1]。软枣猕猴桃具有较高的营养及经济价值,果实可鲜食,富含丰富的蛋白质和矿物质,尤其维生素 C 的含量极高,具有提高人体的免疫力、降血压、血脂、美容等功效^[2-3]。

软枣猕猴桃主要采用种子及扦插方式进行种苗繁殖。种子繁殖具有繁殖周期长、遗传变异大、苗木生长势参差不齐等缺点;枝条扦插受母株数量、质量和气候条件限制,具有繁殖系数较低等缺点^[4],这些缺点可导致优异资源的驯化及推广工作减慢^[5]。因此,生产上应探索高效的软枣猕猴桃种苗繁殖方法。本研究以软枣猕猴桃的叶片为外植体,采用组织培养技术,探讨了如何高效的繁育软枣猕猴桃种苗,以期提高软枣猕猴桃优良品种及种质资源的种苗繁殖速度。

1 材料与方法

1.1 材料

以野生雌株资源 2851 的组培苗为试材。组培苗来源于黑龙江省农业科学院园艺分院组培室。

1.2 方法

1.2.1 不定芽诱导培养 培养基为 $MS+植物生长调节剂+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,pH5.4~5.8。

生长调节剂浓度 TDZ 1,2 和 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;2,4-D 0 和 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

将组培苗切成带 2~3 个叶片的小段,接种到不定芽诱导培养基上。接种完的茎段置于弱光条件下(不开补光灯)培养 40 d,每处理接种 30 瓶,每瓶接种 3 个茎段,试验重复 3 次。40 d 调查不定芽再生率及不定芽生长状态。

不定芽再生率(%) = 产生不定芽外植体个数/接种外植体个数 $\times 100$

不定芽生长状态:不定芽生长势及叶色。

1.2.2 不定芽增殖培养 培养基为 $MS+植物生长调节剂+7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,pH5.4~5.8。生长调节剂浓度为 TDZ 0 和 $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;6-BA 0 和 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;NAA 0 和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;ZT 0 和 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

将产生不定芽的叶片从茎段上切下,切成 $1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$ 大小接种到增殖培养基上。每 40 d 继代 1 次,每处理接种 30 瓶,每瓶接种 3 块叶片,实验重复 3 次。40 d 调查不定芽增殖系数及不定芽生长状态。

增殖系数 = 分化不定芽个数 / 接种的不定芽个数

不定芽生长状态:不定芽生长势及叶色。

1.2.3 组培苗生根培养 基本培养基+植物生长调节剂+ $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 琼脂}+30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 白糖}$,pH5.4~5.8。基本培养基采用 MS 或 1/2MS(仅为大量元素含量减少,其它元素含量不变),生长调节剂浓度为 IBA 0.2 和 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;NAA 0 和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

将组培苗切成 1 cm 长,带 2~3 片叶的小段接种到生根培养基上,每处理接种 30 瓶、每瓶接

收稿日期:2020-11-27

基金项目:黑龙江省农业科学院“农业科技创新跨越工程专项”软枣猕猴桃轻简化整形修剪模式创新与集成(HNK2019CX11-5)。

作者简介:王禹(1982—),女,硕士,助理研究员,从事植物组织培养研究。E-mail:liuwanda1982@126.com。

种 10 株,试验重复 3 次。20 d 调查组培苗生根率及组培苗生长状态。

组培苗生根率(%) = 生根的组培苗个数/接种的组培苗数×100

组培苗生长状态:组培苗生长势及叶色。

1.2.4 培养条件 温度 23±2 ℃,光照强度为 2 500~3 000 lx,光照时长 12 h·d⁻¹,相对空气湿度 40%~60%。

1.2.5 数据分析 试验数据采用 Excel 2019 进行处理。

2 结果与分析

2.1 适宜不定芽诱导的激素组合筛选

由表 1 得出,培养基中加入 2,4-D 可促进叶片不定芽的产生。以 MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ 2,4-D 培养基不定芽再生率最高,达到 67.2%,且不定芽生长健壮。

表 1 不同生长调节剂浓度对不定芽诱导的影响

生长调节剂组合	不定芽再生比率/%	不定芽生长势
1 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	0	无不定芽产生
1 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L ⁻¹ 2,4-D	10.7	不定芽产生慢,芽绿色
2 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	35.8	不定芽产生快,芽绿色
2 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L ⁻¹ 2,4-D	63.2	不定芽产生快,芽绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	51.3	不定芽产生快,芽绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L ⁻¹ 2,4-D	67.2	不定芽产生快,芽绿色

表 2 不同生长调节剂浓度对不定芽增殖的影响

生长调节剂组合	不定芽增殖系数	不定芽生长势
3 mg·L ⁻¹ TDZ	3.6	不定芽增殖快,芽绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	4.7	不定芽增殖快,芽绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	5.2	不定芽增殖快,芽黄绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ ZT	5.1	不定芽增殖快,芽黄绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ ZT	5.6	不定芽增殖快,芽黄绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	4.7	不定芽增殖快,芽黄绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+0.5 mg·L ⁻¹ ZT+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	5.1	不定芽增殖快,芽黄绿色
3 mg·L ⁻¹ TDZ+1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ ZT+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	5.2	不定芽增殖快,芽黄绿色
1 mg·L ⁻¹ 6-BA	1.3	不定芽增殖慢,芽绿色
1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ ZT	4.9	不定芽增殖快,芽绿色
1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	1.0	不定芽增殖慢,芽绿色
1 mg·L ⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L ⁻¹ ZT+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	4.6	不定芽增殖快,芽绿色
0.5 mg·L ⁻¹ ZT	2.3	不定芽增殖快,芽绿色
0.5 mg·L ⁻¹ ZT+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	2.6	不定芽增殖快,芽绿色

2.3 适宜组培苗生根的培养基及激素组合筛选

由表 3 可知,1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹ IBA+0.1 mg·L⁻¹ NAA 生根率最高,达到 92.3%,且组培苗生长快、生根快。在驯化过程中发现,软枣猕

2.2 适宜不定芽增殖的激素组合筛选

由表 2 可知,培养基中添加 TDZ、6-BA、ZT 都可促进软枣猕猴桃叶片不定芽增殖,但三者组合浓度太高可导致不定芽生长势减弱。培养基 MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+1 mg·L⁻¹ 6-BA 增殖系数为 5.2,MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.5 mg·L⁻¹ ZT 增殖系数为 5.1,MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ ZT 增殖系数为 5.6,3 mg·L⁻¹ TDZ+0.5 mg·L⁻¹ ZT+0.1 mg·L⁻¹ NAA 增殖系数为 5.1,MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ ZT+0.1 mg·L⁻¹ NAA 增殖系数 5.2,虽然这 5 组激素处理组合增殖系数都达到了 5.0 以上,但叶片发黄,不利于不定芽继续增殖,未选用。因此,以 MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.1 mg·L⁻¹ NAA 或者 MS+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ ZT 增殖系数分别为 4.7 和 4.9,且不定芽生长健壮,为不定芽增殖最佳培养基。

猴桃株高 3 cm 以下、根长 1 cm 以内的组培苗移栽成活率高,组培苗太高或者根长太长都不利于驯化成活。因此,生根培养时适宜选择植株生长慢、生根快的培养基,以 1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹

IBA 为生根培养基最佳,生根率为 91.6%。

表 3 不同基本培养基及生长调节剂浓度对组培苗生根的影响

基本培养基及生长调节剂组合	生根率/%	组培苗生长势
MS+0.2 mg·L ⁻¹ IBA	83.5	生根慢,植株生长快
MS+0.5 mg·L ⁻¹ IBA	81.7	生根慢,植株生长快
MS+0.2 mg·L ⁻¹ IBA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	86.9	生根慢,植株生长快
MS+0.5 mg·L ⁻¹ IBA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	90.1	生根慢,植株生长快
1/2 MS+0.2 mg·L ⁻¹ IBA	91.6	生根快,植株生长慢
1/2 MS+0.5 mg·L ⁻¹ IBA	89.7	生根快,植株生长慢
1/2 MS+0.2 mg·L ⁻¹ IBA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	92.3	生根快,植株生长快
1/2 MS+0.5 mg·L ⁻¹ IBA+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	91.3	生根快,植株生长快

3 结论与讨论

软枣猕猴桃野生雌株资源 2851 叶片的不定芽诱导培养基为 MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ 2,4-D+7 g·L⁻¹ 琼脂+30 g·L⁻¹ 白糖,再生率 67.2%;不定芽增殖培养基为 MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.1 mg·L⁻¹ NAA 或者 MS+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ ZT+7 g·L⁻¹ 琼脂+30 g·L⁻¹ 白糖,增殖系数 4.7 和 4.9,组培苗生根培养基为 1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹ IBA+7 g·L⁻¹ 琼脂+30 g·L⁻¹ 白糖,生根率 91.6%。

李昌禹等^[6]认为在软枣猕猴桃组织培养的培养基中加入 2,4-D,可促进愈伤组织分化成苗,本试验在不定芽诱导试验中发现,培养基中加入 2,4-D 可促进叶片不定芽的产生,与该观点一致。近年来的研究发现可采用 6-BA 来代替 ZT 进行不定芽增殖^[7],且适当浓度的 6-BA 对猕猴桃的不定芽增殖有明显的促进作用,但浓度太高却对茎伸长却有抑制作用^[8]。在增殖过程中发现,采用 TDZ 的增殖培养基本和采用 ZT 的培养基相比,并没有对茎的伸长生长造成影响,芽生长势基本相同;虽然增殖系数低 0.2,但 ZT 价格较高,实际生产中可根据需求选择激素。在驯化过程中发

现,软枣猕猴桃株高 3 cm 以下、根长 1 cm 以内的组培苗移栽成活率高,组培苗太高或者根长太长都不利于驯化成活;顾红亦认为组培苗形态特征对移栽成活率有显著影响^[9]。因此在筛选生根培养基时,除要有较高的生根率,还要考虑组培苗组培苗形态特征是否利于移栽成活。

参考文献:

[1] 王广富,艾军,秦红艳,等.不同品种软枣猕猴桃愈伤组织诱导及植株再生[J].吉林农业大学学报,2018,40(3):311-315.

[2] 赵春莉,汤昊,姚思扬,等.响应面法优化软枣猕猴桃组培增殖培养基[J].吉林农业,2019(2):64-66.

[3] 郑小华.软枣猕猴桃茎、叶离体培养与植株再生的研究[D].雅安:四川农业大学,2008.

[4] 王广富.软枣猕猴桃花药培养及再生体系建立[D].北京:中国农业科学院,2017.

[5] 孟怡君.软枣猕猴桃生根培养研究[J].防护林科技,2018(6):46-48.

[6] 李昌禹,杨义明,赵淑兰,等.软枣猕猴桃杂种胚挽救及快繁体系的建立[J].特产研究,2007(2):32-33.

[7] 林苗苗,方金豹,齐秀娟,等.软枣猕猴桃‘天源红’离体再生体系的建立[J].广西植物,2016,36(11):1358-1362,1302.

[8] 刘峥,张太奎,张汗尧.猕猴桃组织培养研究现状与展望[J].福建林业科技,2013,40(4):231-235.

[9] 顾虹.草莓组培苗标准化研究[J].安徽农学通报,2003,9(5):53.

Study on Leaves Regeneration of *Actinidia arguta*

WANG Yu

(Horticultural Branch, Heilongjiang Academy of Agriculture Sciences, Harbin 150069, China)

Abstract: In order to improve the breeding speed of fine germplasm resources of *Actinidia arguta*, the leaves of wild female resources of 2851 was used as the explant in this experiment, we studied the effects of plant growth regulators, MS and 1/2 MS on adventitious bud induction, adventitious bud proliferation and rooting of tissue culture seedling. The results showed that the *Actinidia arguta* of adventitious bud of leaves regeneration medium was MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ 2,4-D+7 g·L⁻¹ agar+30 g·L⁻¹ sugar, the regeneration rate could reach 67.2%; adventitious bud proliferation culture medium was MS+3 mg·L⁻¹ TDZ+0.1 mg·L⁻¹ NAA+7 g·L⁻¹ agar+30 g·L⁻¹ sugar or MS+1 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ ZT+7 g·L⁻¹ agar+30 g·L⁻¹ sugar, the proliferation coefficients were 4.7 and 4.9, respectively; and rooting culture medium was 1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹ IBA+7 g·L⁻¹ agar+30 g·L⁻¹ sugar, the rooting rate was 91.6%.

Keywords: adventitious bud regeneration rate; proliferation coefficient; rooting rate; domestication