

不同品种野生软枣猕猴桃最佳组培方法的研究

刘延吉¹, 郝桂杰¹, 姜岩岩², 田晓艳³

(1. 沈阳农业大学 生物科学技术学院, 辽宁 沈阳 110866; 2. 沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110886;

3. 沈阳农业大学 食品学院, 辽宁 沈阳 110866)

摘要:以 5 个品种野生软枣猕猴桃(H1、H2、H3、H4 和 H5)茎段为外植体,采用 6-BA 和 NAA 的组合进行研究,筛选适宜于野软枣猕猴桃各品种快繁的最佳培养基,以期建立离体培养快繁体系。结果表明:品种和培养基对猕猴桃外植体扩繁有显著影响;H1 在 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的培养基中最适宜扩繁;H2 在 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的培养基中最适宜扩繁;H3 和 H4 在培养基 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L 中最适宜扩繁;H5 在培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 中最适宜扩繁。

关键词:软枣猕猴桃;组织培养;发芽率;增殖系数

中图分类号:S 663.4 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)17-0124-03

软枣猕猴桃 [*Actinidia arguta* (Sieb. et Zucc.) Planch. ex Miq] 属于猕猴桃科 (Actinidiaceae) 猕猴桃属 (*Actinidia*) 多年生落叶藤本植物, 又名软枣子, 猕猴桃梨, 藤瓜, 分布于东北、华北、西北及长江流域, 以东北南部山区较为常见, 是猕猴桃品种改良的重要种质资源, 是最有利用价值的物种之一^[1-3]。目前, 软枣猕猴桃市场需求量不断增加, 但是由于其资源缺乏, 而且用播种、嫁接、扦插等常规方式繁殖比较困难, 并且品种之间各有差异, 所以就影响了优良软枣猕猴桃品种的大面积发展。关于软枣猕猴桃的组培研究虽有报道^[4-5], 但这些研究主要讨论了组培技术, 且结果差异比较大。现以软枣猕猴桃的茎段为外植体, 研究了不同培养基对不同品种扩繁的影响, 筛选各自适宜的最佳培养基, 以期对不同品种野生软枣猕猴桃的快繁提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以 5 个品种野生软枣猕猴桃(品种代号 H1、H2、H3、H4 和 H5)为试材, 于 2010 年 5 月的某一晴天采自辽宁省鞍山市长白山地区。取长约 10~15 cm 的当年生健壮、无病虫害新梢作外植体, 进行组培研究。试验所用试剂均为国产分析纯。

1.2 试验方法

将试验材料带回实验室, 剪去叶片, 剪成 3~4 cm

长的带芽茎段, 然后用自来水冲洗干净, 再用洗衣粉溶液浸泡 2~3 min, 并用软毛刷洗腋芽基部, 将刷洗后的外植体用流水冲洗 2 h。在无菌条件下, 将冲洗干净的茎段用 75% 的酒精冲洗 20 s, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 5 min, 无菌水冲洗 5 次, 切成 1~1.5 cm 左右长的茎段供接种用。

消毒后的茎段外植体接种于以 MS 为基本培养基, 附加不同植物激素组成的 9 种芽分化培养基中: A: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L(单位下同); B: MS+6-BA 1.0+NAA 0.3; C: MS+6-BA 1.0+NAA 0.5; D: MS+6-BA 1.5+NAA 0.2; E: MS+6-BA 1.5+NAA 0.3; F: MS+6-BA 1.5+NAA 0.5; G: MS+6-BA 2.0+NAA 0.2; H: MS+6-BA 2.0+NAA 0.3; M: MS+6-BA 2.0+NAA 0.5。每个配方设置 6 次重复, 每瓶接种 6 个健壮的茎段。每天观察生长状况, 30 d 后观察芽的分化数和生长状况, 统计分化率和增殖系数, 筛选各品种最适宜生长的培养基。所有培养基均含蔗糖 30 g/L, 琼脂 5.5 g/L, pH 5.8~6.0, 培养温度为 (25±1)℃, 光照时间 12 h/d, 光强 1 500~2 000 lx。

1.3 数据分析

采用 Excel, SPSS 11.5 软件对试验数据进行处理。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对不同品种外植体芽分化的影响

由图 1 可知, 所有培养基均能诱导芽的分化, 但诱导效果差异显著。H1 在培养基 A 中发芽率显著高于其它培养基, 其发芽率达到 66.67%, 次之是培养基 B, 培养基 M 中发芽率最低, 为 16.30%; H2 在培养基 D 中发芽率最高, 分别达到 59.83%; H3 和 H4 都在培养基 E 中

第一作者简介:刘延吉(1959-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为植物次生物质与功能食品。E-mail: yanjiliu@yahoo.com.cn.

基金项目:辽宁省科技厅攻关资助项目(2008204005)。

收稿日期:2012-05-23

发芽率最高,分别为 69.70% 和 85.91%,显著高于其它培养基。经过方差分析得知,品种($f=2.815, p<0.05$)和培养基($f=2.312, p<0.05$)对发芽率均有显著影响, H1 与 H2, H1 和 H5, H2 和 H4, H4 和 H5 两两差异显著, H3 与其它品种没有显著差异。

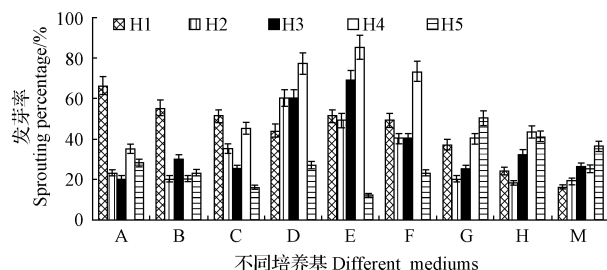


图1 不同培养基对不同品种外植体芽分化的影响

Fig.1 The impact of different mediums on differentiation of explants buds

2.2 不同培养基对不定芽增殖的影响

由图2可知,猕猴桃品种 H2、H3 和 H4 外植体在培养基 D、E 和 F 中的增殖倍数显著高于其它培养基,根据试验过程观察,生长多为丛生,苗叶片正常、茎节较短、植株较正常,这说明当 6-BA 的浓度为 1.5 mg/L,有利于打破顶端优势促进侧芽的连续萌发。NAA 浓度的不同使得各品种间存在差异。H1 和 H5 分别在培养基 A 和 G 中增殖倍数达到最大,分别为 6.60 和 5.02。经过方差分析得知,品种($f=2.747, p<0.05$)和培养基($f=2.486, p<0.05$)对发芽率均有显著影响, H2、H1 与 H4, H4 和 H5 两两差异显著, H3 与其它品种没有显著差异。

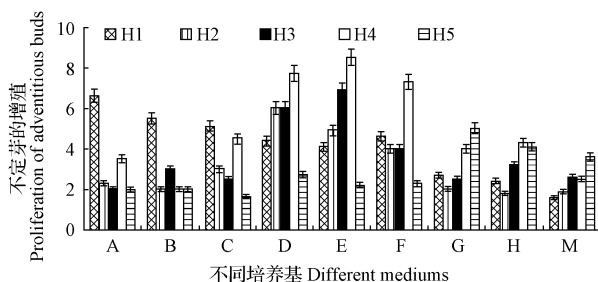


图2 不同培养基对不定芽增殖的影响

Fig.2 The impact of different mediums on proliferation of adventitious buds

3 结论与讨论

植物组织培养中外植体芽的诱导不仅与激素种类有关,而且还与激素组合浓度有关。大量试验表明,组织培养过程中细胞分裂素对不定芽诱导起作用。该试验发现 6-BA 的浓度为 1.5 mg/L 时,能够显著促进猕猴桃 H2、H3 和 H4 不定芽的产生,与前人的研究结果相似^[4-5]。外植体来源不同,内源激素水平也不同,而且培养基中所含激素相对浓度也不同,从而导致来源不同的外植体在分化能力等方面存有差异^[6-7]。方差分析得知,品种和培养基对猕猴桃外植体扩繁有显著影响。该试验研究发现, H1 在培养基 A 中外植体分化率、增殖系数最高, A 和 B 中成活率最高,说明品种 H1 在 6-BA、NAA 浓度分别为 1.0、0.2 mg/L 时适宜扩繁; H2 在培养基 D 中分化率、增殖系数最大, D 和 E 中成活率最大,说明 H2 培养基中 6-BA 和 NAA 的浓度为 1.5 和 0.2 mg/L 适宜扩繁; H3 和 H4 在 E 中分化率、增殖系数最高, D 和 E 中成活率最大,说明 H3 在 6-BA 和 NAA 的浓度分别为 1.5 和 0.3 mg/L 适宜扩繁; H5 在培养基 G 中均最大,说明 H5 在 6-BA 和 NAA 的浓度为 2.0 和 0.2 mg/L 适宜扩繁。关于不同培养基对不同野生软枣猕猴桃品种生根及移栽等方面有待进一步研究。

参考文献

- [1] 饶卫华,敖礼林,熊振芳. 软枣猕猴桃生物学特性及其商业栽培技术[J]. 现代园艺, 2007(5): 26.
- [2] 马月申,袁福贵,赵淑兰. 软枣猕猴桃果实营养成分的测定[J]. 特产研究, 1992(1): 44-45.
- [3] 饶卫华,敖礼林,熊振芳. 软枣猕猴桃的基本特性及商业栽培前景[J]. 中国南方果树, 2007(4): 63.
- [4] 刘瑞林,张春来,孟黎明. 软枣猕猴桃的组织培养[J]. 中国林副特产, 2001(3): 58.
- [5] 李昌禹,赵淑兰. 软枣猕猴桃组织培养研究[J]. 特产研究, 1998(1): 19-21.
- [6] 刘剑锋,阎秀峰,李霞,等. 高山红景天叶片愈上组织诱导与植物再生[J]. 东北林业大学学报, 2007(2): 33-34.
- [7] 赵淑兰,李继海,屈慧鸽,等. 软枣猕猴桃绿枝扦插繁殖及快速成苗试验[J]. 特产研究, 1999(4): 46-59.

Study on the Optimal Method of Tissue Culture on Different Species of Wild *Actinidia arguta*

LIU Yan-ji¹, HAO Gui-jie¹, JIANG Yan-yan², TIAN Xiao-yan³

(1. College of Bioscience and Technology, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 2. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866; 3. College of Food Science, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866)

苗用型土人参露地栽培技术

王淑慧¹, 王磊², 王庆¹

(1. 中国科学院植物种质创新与特色农业重点实验室, 中国科学院 武汉植物园, 湖北 武汉 430074;

2. 江苏省现代农业综合开发示范区农业局, 江苏 泰州 225300)

中图分类号:S 567.5⁺1 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2012)17-0126-01

土人参 [*Talinum paniculatum* (Jacq.) Gaertn.] 为马齿苋科土人参与多年生草本植物, 原产热带美洲, 我国中部和南部均有栽培。土人参是一种药食兼用植物, 其根、叶均既可入药, 又可作蔬菜食用, 作为一种集菜用、药用为一体的高档保健型蔬菜, 深受人们的喜爱, 具有广阔的市场开发前景。

土人参作为一种绿叶类蔬菜, 主要采用一次播种、多茬采收嫩茎叶的方式进行栽培生产。在生产实践中, 发现土人参易开花结实, 因消耗大量养分用于生殖生长而影响营养生长, 极大降低了嫩茎叶的品质和产量, 故需在整個生育期内注意摘除花序, 大大增加了人力。为了简化生产操作, 提高产品质量, 总结出了一套苗用型土人参栽培技术, 即直接用种子繁殖, 一次性采收嫩苗, 全年多次播种、采收相结合。该方法生产周期短, 管理简便, 产量高, 省工省力, 是一种具有推广应用价值的土人参栽培技术。

1 播种前准备

土人参耐热、耐干旱, 耐湿性亦强, 对土壤要求不严, 但在水分充沛、排水良好、有机质丰富的土壤中生长旺盛; 土人参性喜光照, 在强光照条件下, 茎叶生长快, 叶片肥厚多汁, 而在弱光条件下, 植株矮小, 叶片软而薄。土人参用作叶菜栽培, 大田种植宜选择疏松肥沃、光照充足的田块; 为使产品茎叶鲜嫩肥厚, 整地时要先施基肥, 一般每 667 m² 施腐熟有机肥 1 000~1 500 kg、

复合肥 10~30 kg, 深翻整地做成高畦。

2 播种育苗

土人参种子产量高, 生产上主要采用播种繁殖, 但存在出苗不整齐、自然出苗期长的缺点。土人参种子要求比较高的发芽温度, 15℃以下时种子难以萌发, 30~35℃时, 发芽率、发芽速度显著增高。为了在生产过程中促进出苗, 缩短生产周期, 需在播种前对种子进行催芽处理。播种前, 将种子置阳光下晒 3 h, 然后于 50~55℃温水中浸种 3 h, 将种子取出沥干, 再用湿润纱布包好, 置于 35℃培养箱中保湿催芽, 其间每天用 20~30℃的温水淘洗种子 1 次, 待大部分种子露白时便可进行播种。

土人参喜温暖气候, 播种时间宜选在清明后、地温升至 15~20℃时。土人参种子细小, 千粒重为 0.18~0.20 g, 播种时, 采用划沟条播, 沟距 15 cm, 沟内均匀撒种。播种后覆盖一层薄土, 浇足透水。此后, 注意保持苗床湿润。播种后 5~7 d, 小苗即可出齐。

3 田间管理

土人参出苗后, 二叶一心时间苗, 3~4 叶时定苗, 苗距 8 cm 左右。土人参喜肥, 定苗后每隔 10~15 d 施人粪尿促进植株生长。苗期注意中耕除草, 改善土壤的水分、养分、温度、热量状况。土人参少有病虫害危害, 可以不使用农药, 以达到生产无污染绿色蔬菜的目的。

4 采收与接茬

土人参播种后 30~40 d, 株高 15 cm 左右时进行整株采收, 产量 2 000~2 500 kg/667m²。采收完毕后整地, 重新进行播种和生产, 在长江流域, 此操作可持续至 11 月中旬。

5 小结

苗用型土人参是以大苗态的功能叶为产品主体, 其叶片肥嫩, 粗纤维少, 口感鲜美, 食用品质上佳; 其种植简单, 生产周期短, 管理简便, 成本低, 产量高, 效益好, 是一种很好的栽培生产方式, 具有广阔的开发利用前景。

第一作者简介: 王淑慧(1979-), 女, 博士, 助理研究员, 现主要从事药用植物开发利用研究工作。E-mail: shuhuiwang@wbgcas.cn.

责任作者: 王庆(1955-), 女, 研究员, 现主要从事药用植物迁地保护和驯化栽培及其开发利用等的研究工作。E-mail: wangqing@wbgcas.cn.

基金项目: 中国科学院知识创新工程资助项目(KSCX2-EW-J-20); 江苏省科技计划资助项目(BE2008383)。

收稿日期: 2012-07-18

Abstract: The tissue culture system about different species of wild *Actinidia arguta* (H1, H2, H3, H4 and H5) were established by using their stem segments explants. The best medium was studied and screened, which suited for different kinds of wild *Actinidia arguta* rapid propagation by the combination of 6-BA and NAA. The results indicated that the species and mediums had significantly impact on the stem segments explants. The most suitable medium for propagation in species H1 was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the most suitable medium for propagation in species H2 was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L; the most suitable medium for propagation in species H3 and H4 was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L, the most suitable medium for propagation in species H5 was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L.

Key words: wild *Actinidia arguta*; tissue culture; sprouting percentage; coefficient of multiplication