

## 猕猴桃实生苗培育与砧木的工厂化生产

邵卫平, 刘永立\* (浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310058)

**摘要** [目的]研究猕猴桃实生苗培育与砧木的工厂化生产技术。[方法]猕猴桃种子通过  $GA_3$  不同处理后进行组织培养。[结果]猕猴桃种子通过 2.5 g/L  $GA_3$  浸种 12 h, 用 10% 次氯酸钠消毒 10 min, 播种于铺有一层湿润滤纸的培养皿中进行暗培养, 以获得较高的发芽率。将发芽的种子及时转入培养基 (MS+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂粉, pH 5.8) 中, 在组培室内进行培养, 可迅速获得猕猴桃实生苗。以带芽茎段为外植体对猕猴桃实生苗进行单株扩繁, 可得到基因型相同的株系。[结论]‘徐香’和‘布鲁诺’实生苗可以作为猕猴桃的砧木使用, 以实现猕猴桃砧木的工厂化生产。

**关键词** 猕猴桃; 实生苗; 砧木; 培养基

中图分类号 S663.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)08-017-03

## Technique of Cultivating Seedling and Rootstock's Factory Production of Kiwifruit

SHAO Wei-ping, LIU Yong-li\* (College of Agriculture &amp; Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058)

**Abstract** [Objective] To study the technique of cultivating seedling and rootstock's factory production of kiwifruit. [Method] Kiwifruit seeds were used as materials in tissue culture after different treatments with  $GA_3$ . [Result] To obtain a higher germination rate of seeds, the kiwifruit seeds were treated with  $GA_3$  at 2.5 g/L for 12 hours, and sterilized with 10% of sodium hypochlorite for 10 minutes, then the seeds were sowed in culture utensil with moistened filter paper and dark cultured. The germinated seeds were inoculated timely on the medium (MS+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+30 g/L sucrose +7 g/L agar power, pH 5.8) and cultured in tissue culture room, then we can get lots of kiwifruit seedlings quickly in this way. Rapid propagation individually of kiwifruit seedling by using the bud-stem segments as explants can obtain lines with the same genotype. [Conclusion] ‘Xuxiang’ and ‘Bruno’ seedlings can be used as kiwifruit rootstocks, thus rootstock's factory production of kiwifruit can be realized.

**Key words** Kiwifruit; Seedling; Rootstock; Culture medium

实生苗可以用作培育优良新品种以及提供大量砧木, 因此培育实生苗对猕猴桃生产具有很大实用价值。猕猴桃种子具有休眠特性, 因此萌发慢, 对发芽环境条件要求高<sup>[1]</sup>。成熟猕猴桃种子需要低温冷藏破除休眠后才能萌发, 因此传统上使用层积法、直播法、变温处理、赤霉素浸种等方法来促进其萌发<sup>[2]</sup>。这些方法都在一定程度上提高了发芽率, 缩短了萌芽时间, 但仍不能满足快速培育健壮苗木的需求。笔者通过对猕猴桃种子发芽率影响因子进行研究, 探索猕猴桃种子的萌发特性, 提高种子发芽率, 并通过对实生苗的单株扩繁, 建成‘徐香’、‘红阳’和‘布鲁诺’3个品种猕猴桃的株系, 以期对猕猴桃育种和砧木的生产提供借鉴。

## 1 材料与方 法

**1.1 试验材料** 供试材料为‘徐香’、‘布鲁诺’和‘红阳’猕猴桃种子。

**1.2 试验方法** 取出猕猴桃果实中的种子, 用 2.5 g/L  $GA_3$  溶液浸泡处理, 然后于超净工作台上用 10% 的次氯酸钠溶液消毒 20 min, 再用无菌水清洗 3~5 次, 每次 5 min。取出种子放到滤纸上吸去水, 然后置于铺有湿润滤纸的一次性培养皿上, 每板 40 粒种子, 每个处理 3 板。将培养皿放到温度 (25±2)℃ 的组培室, 在光周期 16 h/8 h (光/暗) 条件下培养。观察种子发芽状况, 10 d 后统计各个处理的发芽率。

将‘徐香’和‘布鲁诺’发芽的种子接种到加 50 ml 培养基的培养瓶中, 当长出 5 片叶片以后以带芽茎段为外植体进

行单株扩繁, 培养基成分为 MS 培养基+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+30 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂粉, 用 10% HCl 或 1 mol/L 的 NaOH 溶液调 pH 至 5.8, 在 121℃ (1.2 kg/cm<sup>2</sup>) 下高压灭菌 20 min。无菌苗在温度 (25±2)℃ 的组培室内, 在光周期 16 h/8 h (光/暗) 条件下培养。此后每 28 d 继代一次。

## 2 结果与分析

**2.1 赤霉素浸种时间对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响** 由图 1 可知,  $GA_3$  溶液浸种能够显著提高‘徐香’猕猴桃种子的发芽率。浸种 6~24 h 种子发芽率均达到 65% 以上, 而不经  $GA_3$  溶液浸种发芽率仅为 5%。浸种 12 h 和 18 h 2 个处理, 猕猴桃种子发芽率相近, 分别为 75.83% 和 75.80%, 且均高于浸种 6 h 时的发芽率 65.83%, 说明对‘徐香’猕猴桃而言, 2.5 g/L  $GA_3$  溶液浸种 12 h 能达到理想的打破休眠效果。且通过加长浸种时间至 3 d, 种子萌芽后接种到培养基上会出现污染, 可能是因为种子浸泡时间过长, 细菌等侵入到种皮内部导致不能彻底消毒灭菌所致。故‘徐香’猕猴桃种子发芽浸种 12 h 即可。

**2.2 消毒时间对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响** 10% 次氯酸钠溶液消毒时间对‘徐香’猕猴桃种子发芽率有一定影响, 不同消毒时间处理发芽率均为 75% 以上, 但总体上消毒时间短则发芽率较高。由图 2 可知, 消毒时间 5 min 时, 发芽率最高, 达到 83.33%, 但消毒 5 min 时培养皿中会出现污染, 即使在培养皿中发芽时无污染出现, 将发芽的种子接种到培养基上培养时也会出现污染现象, 造成时间与物质的浪费。故消毒时间以 10 min 为宜, 在保证较高发芽率的同时, 又能避免污染。

**2.3 不同发芽方式对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响** 由

**基金项目** 浙江省科技厅科技攻关重大农业项目“猕猴桃分子标记辅助育种研究”(J31334)。

**作者简介** 邵卫平 (1989-), 女, 河南杞县人, 硕士研究生, 研究方向: 园艺植物生物技术。\* 通讯作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事园艺植物生物技术研究。

**收稿日期** 2015-02-02

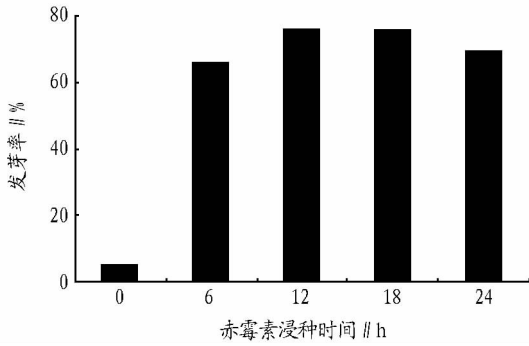


图1 赤霉素浸种时间对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响

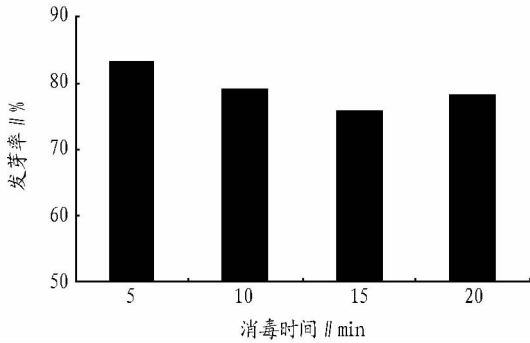


图2 10%次氯酸钠溶液消毒时间对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响

图3可知,培养皿上仅铺一层湿润滤纸时,‘徐香’猕猴桃种子发芽率最高,为73.33%,而加入MS培养基和含1 mg/L GA<sub>3</sub>的MS培养基后,种子发芽率分别降为60.83%和64.17%。且仅在湿润滤纸上培养的种子发芽较快,7 d时发芽率已达53%,而此时培养基上的种子才开始破芽萌发。在培养基中加入1 mg/L GA<sub>3</sub>对种子萌发的促进作用极小,说明在猕猴桃种子发芽阶段,经2.5 g/L GA<sub>3</sub>溶液浸种12 h后,已能够满足打破休眠和促进种子萌芽的作用,取得良好的发芽效果。

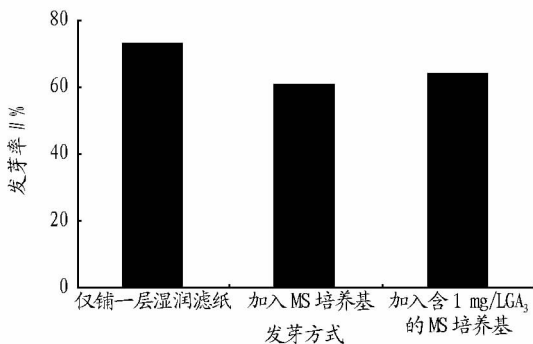


图3 不同发芽方式对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响

**2.4 暗处理对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响** 由图4可知,全天暗培养时‘徐香’猕猴桃种子发芽率为91.67%,明显高于8 h暗培养时的种子发芽率。可能是因为猕猴桃种子萌发过程需要暗培养,但5 d后8 h暗培养的培养皿中水分减少较多,10 d时滤纸表面已没有明显水渍,而全天暗培养的培养皿中还保存少量水分,故16 h/8 h(光/暗)培养处理中发芽率较低,可能是因为发芽所需水分不足所致。种子在一

次性培养皿中萌发过程中,不定时向内加入无菌水,不仅操作更加繁琐,且容易造成污染。而全天暗培养条件下已有较高的发芽率,且节省能源,故猕猴桃种子萌发过程中仅暗培养即可。

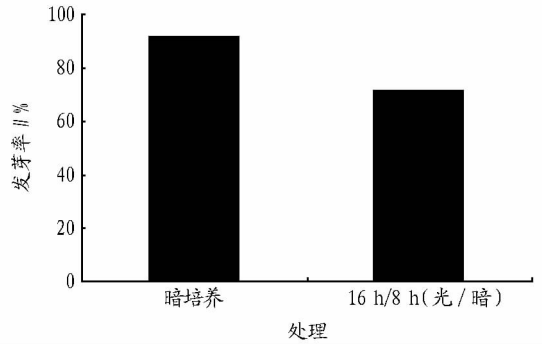


图4 暗培养对‘徐香’猕猴桃种子发芽率的影响

**2.5 不同猕猴桃品种对种子发芽率的影响** 由图5可知,猕猴桃不同品种间种子发芽率存在一定差异。‘徐香’猕猴桃种子发芽率最高,为90.83%,而‘布鲁诺’猕猴桃仅与之相差2.5%,但两者均明显高于‘红阳’猕猴桃种子的发芽率。‘徐香’和‘布鲁诺’果实中种子明显多于‘红阳’猕猴桃果实中的种子,因此若需要‘红阳’猕猴桃实生苗,则需要更多的‘红阳’猕猴桃果实,加大接种量。

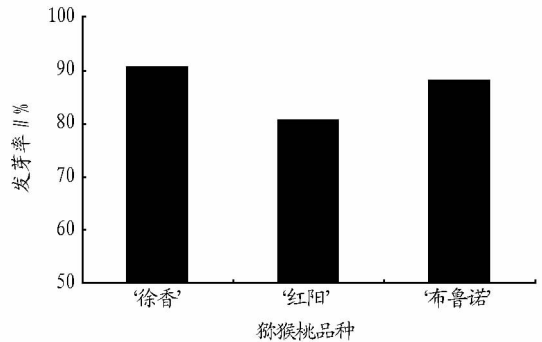


图5 不同猕猴桃品种对种子发芽率的影响

**2.6 猕猴桃实生苗株系的建立** 以带芽茎段为外植体,接入MS基本培养基+30 g/L蔗糖+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+7 g/L琼脂的培养基中,对‘徐香’和‘布鲁诺’实生苗进行单株扩繁,共建成了‘徐香’实生苗13个株系,‘布鲁诺’实生苗13个株系,每个株系包含40多株。可见MS基本培养基+30 g/L蔗糖+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+7 g/L琼脂粉适合两者生长。‘徐香’和‘布鲁诺’实生苗可作为猕猴桃的砧木使用,以实现猕猴桃砧木的工厂化生产。

### 3 讨论

猕猴桃种子具有休眠特性,国内外很多学者在猕猴桃种子打破休眠方面作了很多研究。Lawes等<sup>[3]</sup>研究发现,沙藏或赤霉素处理24 h均能促进其萌发。Smith等<sup>[4]</sup>用沙藏加变温的方法处理猕猴桃种子,其发芽率显著增加。李从玉等<sup>[5]</sup>用CPPU对猕猴桃种子进行浸种,结果发现,不同浓度的CPPU能够不同程度地打破猕猴桃种子休眠,促进种子萌发。安成立等<sup>[1]</sup>采用变温处理和赤霉素处理种子,结果发现,变

温处理有利于种子萌发,5~20℃高变温比0~15℃低变温更有利于种子萌发;赤霉素处理可以有效促进猕猴桃发芽势和发芽率的提高,且高浓度效果较好。钱亚明等<sup>[6]</sup>进行了不同产地‘红阳’和‘徐香’猕猴桃种子的发芽试验,结果表明,不同产地、不同品种猕猴桃种子重量、萌芽率和发芽势有明显差异,但不同产地三者间并没有相关性。由此可知,猕猴桃种子的萌发受很多条件的影响。

朱道圩等<sup>[7]</sup>研究表明,用2.5 g/LGA<sub>3</sub>处理5 h和24 h对打破休眠的效果相同,发芽率均达95%以上。而周艳玲等<sup>[8]</sup>研究结果是GA<sub>3</sub>浸种时间以8 h为最宜。GA<sub>3</sub>浸种12 h已能达到较高发芽率,且接种前浸种已能够打破休眠,不必在萌芽过程中继续加入GA<sub>3</sub>。对于以种子为材料进行组织培养而言,还需要考虑污染问题。猕猴桃种子常用的消毒剂为次氯酸钠溶液,消毒剂浓度过高、消毒时间过长都易对种子造成损害。朱道圩等<sup>[7]</sup>以13%的次氯酸钠溶液消毒20 min取得了良好效果,而在该试验中使用10%的次氯酸钠溶液,对消毒时间进行探索,发现10 min亦能达到消毒效果。在培养基上发芽并不能提高猕猴桃种子的发芽率,反而会使发芽率下降,这与周艳玲等<sup>[8]</sup>的研究结论相同,但在培养基上能够及时检测出是否出现污染,在消毒技术不熟练的情况下也可在培养基上进行发芽,且培养基上的小苗后期生长较快。暗处理对‘徐香’猕猴桃种子发芽率影响的试验并不能说明全暗培养能够提高猕猴桃种子发芽率,对比朱道圩等<sup>[7]</sup>采用暗箱培养试验和周艳玲等<sup>[8]</sup>正常培养试验,两者均能够得到90%以上的发芽率,说明暗培养可能不是影响猕猴桃种子发芽率的重要因子。在该试验中24 h暗培养条件下发芽率高,更可能是由于其培养皿内水分充足促进萌芽所致。不同猕猴桃品种种子发芽率有所差别,在‘徐香’、‘红阳’和

(上接第16页)

度也明显低于热载体颗粒,因而混合物的临界流化速度会随着生物质颗粒浓度的增加而降低,压降也随着生物质颗粒浓度的增加而降低。有几个特例,如图4d中红松和石英砂混合物,质量比为2:5时临界流化速度低于质量比为2:3时临界流化速度;图4e中秸秆和河沙混合物,质量比为2:3时临界流化速度最大,压降也最大;图4f中秸秆和石英砂混合物,质量比为2:3时的压降略高于质量比为2:5的压降。分析这几种特例,产生的主要原因可能有:①试验过程中,因密封不好可能部分地方存在漏气,使得测量结果存在误差;②混合颗粒的形状差异使得粒径分布不均匀,出现部分颗粒聚集现象,流化过程中出现死区;③床层内压降值并不稳定,差压计读数存在波动,会引起读数误差。结合不同混合比的流化特性曲线可以看出,为了提高流化质量,选取生物质颗粒和热载体颗粒的配比为2:3比较合适。

### 3 结论

通过流态化实验台,研究了颗粒粒径、生物质颗粒和热

载体颗粒混合配比等参数对流化质量的影响。研究表明,对于同种物料,随着粒径的增加,临界流化速度增大;床层压降随着气速的增加也逐渐增大;对于同种粒径的不同种类颗粒,临界流化速度随颗粒堆积密度的增加而增大;随着混合比的增加,临界流化速度几乎都降低,选取生物质颗粒和热载体颗粒的配比为2:3时流化质量相对较好。该研究为生物质热裂解反应器优化设计提供参考依据。

### 4 结论

该研究发现,猕猴桃种子通过2.5 g/L GA<sub>3</sub>浸种12 h,用10%次氯酸钠消毒10 min,在铺有一层湿润滤纸的培养皿中进行暗培养,可以获得较高的发芽率,将发芽的种子及时转入培养基(MS基本培养基+30 g/L蔗糖+2 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA+7 g/L琼脂粉,pH 5.8)中,在组培室内进行培养,可迅速获得猕猴桃实生苗。以带芽茎段为外植体对猕猴桃实生苗进行单株扩繁,可得到基因型相同的株系。‘徐香’和‘布鲁诺’实生苗可以作为猕猴桃的砧木使用,以实现猕猴桃砧木的工厂化生产。

### 参考文献

- [1] 安成立,刘占德,刘旭峰,等.猕猴桃种子萌发特性研究[J].北方园艺,2011(5):51-53.
- [2] 鲁松,李策宏.温度及赤霉素对峨眉山野猕猴桃种子萌发的影响[J].种子,2012,31(10):89-92.
- [3] LAWES G S, ANDERSON D R. Influence of temperature and gibberellic acid on kiwifruit (*Actinidia chinensis*) seed germination[J]. N. Z. Journal of Experimental Agriculture, 1980, 8: 277-280.
- [4] SMITH R L, TOY S J. Effect of stratification and alternating temperatures on seed germination of the Chinese gooseberry: *Actinidia chinensis* planch [J]. Proceedings-American Society for Horticultural Science, 1967, 90: 409-412.
- [5] 李从玉,张扬. CPPU对猕猴桃种子发芽的影响[J].安徽农业科学,2010,38(4):1802-1803.
- [6] 钱亚明,赵密珍,庞夫花.不同产地红阳和‘徐香’猕猴桃种子发芽试验[J].江苏农业科学,2014,42(10):154-155.
- [7] 朱道圩,王静毅,吕宗强.猕猴桃实生苗组织培养体系建立的研究[J].落叶果树,2005,37(2):5-7.
- [8] 周艳玲,秦华明,赖幸韵,等.猕猴桃实生苗再生体系的建立[J].广西植物,2009,29(4):514-517.

载体颗粒混合配比等参数对流化质量的影响。研究表明,对于同种物料,随着粒径的增加,临界流化速度增大;床层压降随着气速的增加也逐渐增大;对于同种粒径的不同种类颗粒,临界流化速度随颗粒堆积密度的增加而增大;随着混合比的增加,临界流化速度几乎都降低,选取生物质颗粒和热载体颗粒的配比为2:3时流化质量相对较好。该研究为生物质热裂解反应器优化设计提供参考依据。

### 参考文献

- [1] 刘荣厚.生物质快速热裂解制取生物油技术的研究进展[J].沈阳农业大学学报,2007,38(1):3-7.
- [2] 李三平,王述洋,孙雪,等.新型内胆式双热型生物质热解反应器设计模型[J].林产化学与工业,2014,34(1):49-56.
- [3] 邹家柱,刘泽华.生物质与惰性颗粒流化特性的实验研究[J].南华大学学报:自然科学版,2011,25(2):33-36.
- [4] 吴占松,马润田,汪展文,等.流态化技术基础及应用[M].北京:化学工业出版社,2006.
- [5] 栾敬德,刘荣厚,武丽娟.生物质快速热裂解制取生物油的研究[J].农机化研究,2006(12):206-210.