

软枣猕猴桃“寒玉1号”组培技术研究

杜鹏瑶, 刘德江, 徐彪, 赵佳明, 申健* (佳木斯大学生命科学学院, 黑龙江佳木斯 154007)

摘要 [目的]探索软枣猕猴桃“寒玉1号”适宜组培方法。[方法]以新生腋芽为外植体,筛选最佳消毒方法,并对影响其生长的NAA、6-BA等生长调节物质的浓度进行筛选。[结果]以5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂ 6 min或9 min, 5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 6 min为适宜消毒方法,污染率和褐化率均较低;腋芽在WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L培养基中增殖效果最佳,增殖系数可达5.6,株高3.9 cm;丛生芽在WPM + NAA 0.3 mg/L培养基中诱导生根效果最佳,生根率可达100%,平均根条数为4.4条,平均根长为5.2 cm。[结论]软枣猕猴桃“寒玉1号”可采用组织培养的方法进行快速繁殖。

关键词 软枣猕猴桃;“寒玉1号”;腋芽;组织培养

中图分类号 S663.4 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2017)22-0098-03

Tissue Culture Technique for *Actinidia arguta* “Hanyu No. 1”

DU Peng-yao, LIU De-jiang, XU Biao, SHEN Jian* et al (Life Science College, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang 154007)

Abstract [Objective] To explore the suitable tissue culture technique for *Actinidia arguta* “Hanyu No. 1”. [Method] With axillary bud as explant, the best disinfection method was filtered, and the NAA, 6-BA concentration were selected. [Result] The best disinfection methods were 5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂ 6 min or 9 min, 5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 6 min, in which the mortality rate and contamination rate were lower. The best medium of inducing germinating of explant was WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, in which the ratio of proliferation was 5.6 and the height of plant was 3.9 cm. The best medium of inducing rooting from cluster buds was WPM + NAA 0.3 mg/L, in which the rate of rooting was 100%, the average number of root was 4.4 and the average length of root was 5.2 cm. [Conclusion] It concluded that *Actinidia arguta* “Hanyu No. 1” can adopt the method of tissue culture for rapid propagation.

Key words *Actinidia arguta*; “Hanyu No. 1”; Axillary bud; Tissue culture

软枣猕猴桃(*Actinidia arguta*),属于猕猴桃科猕猴桃属,是多年生藤本落叶植物,别名软枣子、猕猴桃、猕猴桃梨、中华软枣猕猴桃等。软枣猕猴桃果实可食用,富含多种营养成分,具有很高的营养和经济价值^[1],可加工成果脯、罐头、果汁、果酱,也可以用来制作糕点或酿酒等^[2]。软枣猕猴桃还可药用,具有健胃、解热、止血等功能,其根及根皮对消化道癌症具有一定的抑制和治疗作用^[3]。软枣猕猴桃属于雌雄异株植物,以野生为主,果实的产量和质量不高。自20世纪90年代开始驯化人工栽培,多采用种子播种、枝条扦插等方式进行常规繁殖。种子繁殖存在无法辨别雌雄植株的缺点,扦插等繁殖方法存在繁殖系数低等缺点,很难满足市场的需求^[4-5]。为了快速获得大量可结果雌株,对其组培技术进行研究,通过筛选最佳消毒方法和植物生长调节物质使用浓度,建立高效快速繁殖体系,以期软枣猕猴桃的大面积推广栽培提供支持。

1 材料与方

1.1 材料 试验材料为软枣猕猴桃“寒玉1号”枝条,实验室内水培促使其腋芽萌发,取新生3~5 cm腋芽进行试验。

1.2 方法

1.2.1 腋芽消毒方法 将腋芽剪切成2 cm长的小段置于无菌瓶内,用5% NaClO和0.1% HgCl₂浸泡消毒,消毒时间如下: X₁(5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂ 3 min), X₂(5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂ 6 min), X₃(5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂

9 min), X₄(5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 3 min), X₅(5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 6 min), X₆(5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 9 min)。NaClO和HgCl₂浸泡消毒后再用无菌水冲洗3次,最后放入带有滤纸的无菌培养皿上备用。

1.2.2 腋芽增殖培养 将消毒后的腋芽接种到增殖培养基中,培养基配方如下: Y₁(WPM + 6-BA 2.0 mg/L), Y₂(WPM + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), Y₃(WPM + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L), Y₄(WPM + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L), Y₅(WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), Y₆(WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L), Y₇(WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L), Y₈(WPM + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), Y₉(WPM + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L), Y₁₀(WPM + 6-BA 4.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L)。每瓶培养基接种5个腋芽,每个处理接种5瓶,重复3次。统计腋芽增殖系数(增殖系数 = 再生丛生芽总数/接种腋芽总数)、平均株高等。

1.2.3 生根培养 将组培增殖形成的幼苗接种到生根培养基中进行生根培养,培养基配方如下: G₁(WPM + NAA 0.1 mg/L), G₂(WPM + NAA 0.2 mg/L), G₃(WPM + NAA 0.3 mg/L), G₄(WPM + NAA 0.4 mg/L), G₅(WPM + IBA 0.1 mg/L), G₆(WPM + IBA 0.2 mg/L), G₇(WPM + IBA 0.3 mg/L), G₈(WPM + IBA 0.4 mg/L)。每瓶培养基接种5个丛生芽苗,每个处理接种5瓶,重复3次。每天定期观察统计其生根时间,20 d后计算生根率(生根率 = 生根苗数/接种苗数)、每株苗生根数、根长等指标。

1.2.4 培养条件 培养温度为(21 ± 2)℃,空气相对湿度40%~50%,光照时间12 h/d,光强为1 500~2 000 lx^[6]。

1.3 数据处理与分析 用Excel 2003对数据进行计算,用SPSS16.0软件进行统计分析。

基金项目 佳木斯大学应用技术类项目(yz2014-005);佳木斯大学大学生创新项目(2014xj15)。

作者简介 杜鹏瑶(1992—),男,山西大同人,硕士研究生,研究方向:生药学。*通讯作者,讲师,博士,硕士生导师,从事经济植物栽培生理研究。

收稿日期 2017-05-10

2 结果与分析

2.1 不同处理外植体生长情况 接种7 d后,对不同消毒方法外植体的污染率和褐化率进行统计,结果见表1。由表1可知, X_3 和 X_6 处理外植体污染率较低,二者间差异不显著。 X_1 处理污染率最高,达33.3%。 X_6 处理外植体褐化率最高,为30.7%。 X_1 、 X_2 和 X_4 处理外植体褐化率较低,3个处理间差异不显著。固定NaClO消毒时间,随着 $HgCl_2$ 消毒时间的延长,污染率会逐渐降低,褐化率会逐渐增高。固定 $HgCl_2$ 消毒时间,随着NaClO消毒时间的延长,在污染率方面,除 X_1 和 X_4 处理差异显著外,其他处理变化不显著;在褐化率方面,除 X_1 和 X_4 处理差异不显著外,其他处理差异显著。这说明NaClO和 $HgCl_2$ 对外植体的消毒及褐化均产生了一定的作用。综合考虑, X_2 、 X_3 和 X_5 处理在软枣猕猴桃“寒玉1号”外植体消毒方面为较适宜的方法。

表1 不同处理对外植体生长的影响

Table 1 Effects of different treatments on growth of explants

处理 Treatments	接种个数 Inoculation number	污染率 Contamination rate %	褐化率 Browning rate %
X_1	75	33.3 a	5.3 c
X_2	75	13.3 c	6.7 c
X_3	75	10.7 d	14.7 b
X_4	75	26.7 b	8.0 c
X_5	75	13.3 c	13.3 b
X_6	75	8.0 d	30.7 a

注:同列数据后小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P < 0.05$)

2.2 不同处理腋芽增殖情况 腋芽接种30 d后,调查其增殖情况,结果见表2。腋芽接种及增殖生长情况见图1a、b。由表2可知,10种不同的培养基均能诱导外植体增殖, Y_6 处理的腋芽增殖系数最高,为5.6;增殖苗株高最高,为3.9 cm,均显著高于其他处理。这说明在诱导腋芽增殖上 Y_6 处理为适宜的培养基配方。固定6-BA浓度,随着NAA浓度的增大,增殖系数出现先增后降的现象。当6-BA浓度为2.0和3.0 mg/L时,随着NAA浓度的增大,株高出现先增后降的现象;当6-BA浓度为4.0 mg/L时,随着NAA浓度的增大,株高出现下降的现象。固定NAA浓度,随着6-BA浓度的增大,增殖系数和株高均出现先增后降的现象。

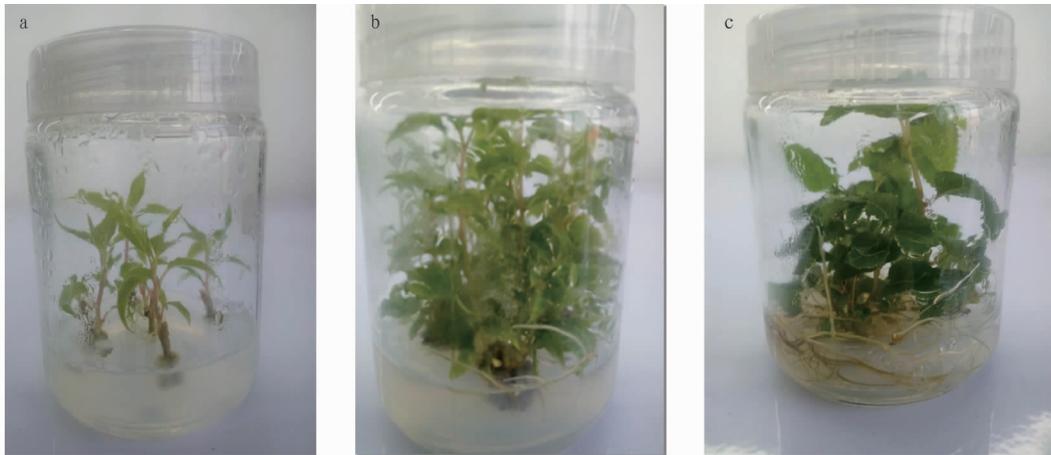
表2 不同处理对腋芽增殖的影响

Table 2 Effects of different treatments on axillary bud multiplication

处理 Treatments	增殖系数 Multiplication coefficient	株高 Plant height//cm
Y_1	1.6 f	1.5 e
Y_2	2.9 e	2.2 d
Y_3	3.6 d	2.6 c
Y_4	3.0 e	2.0 d
Y_5	5.1 b	3.2 b
Y_6	5.6 a	3.9 a
Y_7	5.1 b	2.9 b
Y_8	4.5 c	3.1 b
Y_9	4.9 b	2.6 c
Y_{10}	3.8 d	2.7 c

注:同列数据后小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences ($P < 0.05$)



注:a.接种腋芽;b.腋芽增殖 c.组培苗生根

Note:a. inoculated with axillary bud;b. axillary bud multiplication;c. rooting of tissue culture seedling

图1 “寒玉1号”组培苗生长情况

Fig. 1 The growth of tissue culture seedling “Hanyu No. 1”

2.3 不同处理组培苗生根情况 接种后20 d,调查组培苗生根情况,结果见表3和图1c。由表3可知,丛生芽苗在附加不同浓度IBA和NAA的培养基上均能生根。 G_3 、 G_4 、 G_7 处理的生根率均为100%,显著高于其他处理。 G_3 处理的生根时间最短,为5 d。 G_3 处理的根数和根长表现最好,根数

为4.4条,根长为5.2 cm,均显著高于其他处理。在提高生根时间和生根率方面,适宜浓度的IBA和NAA均能达到良好的效果,但在促进根数及根长方面NAA效果优于IBA。综合各因素考虑, G_3 处理为促进软枣猕猴桃“寒玉1号”组培苗生根的适宜培养基配方。

表3 不同处理对组培苗生根的影响

Table 3 Effects of different treatments on rooting of tissue culture seedling

处理 Treatments	生根时间 Rooting time d	生根率 Rooting percentage//%	根数 Root number//条	根长 Root length cm
G ₁	11	86.7 c	1.8 d	2.2 d
G ₂	7	93.3 b	2.4 c	3.8 b
G ₃	5	100 a	4.4 a	5.2 a
G ₄	7	100 a	2.5 c	4.1 b
G ₅	9	90.7 b	2.0 d	1.9 d
G ₆	7	92.0 b	2.6 c	2.3 d
G ₇	6	100 a	3.5 b	3.5 c
G ₈	7	94.7 b	2.4 c	3.0 c

注:同列数据后小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters within the same column mean significant differences($P < 0.05$)

3 结论与讨论

通过对6种不同消毒方法进行比较发现,不同消毒剂的处理时间对软枣猕猴桃外植体的消毒效果有较大影响,5% NaClO 8 min + 0.1% HgCl₂ 6 min 或 9 min, 5% NaClO 10 min + 0.1% HgCl₂ 6 min 这3个处理为外植体适宜消毒方法;在增殖培养过程中,WPM + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 为腋芽增殖最佳培养基,低浓度的NAA对丛生芽的诱导有

(上接第84页)

明控释尿素减施一定量水稻产值不减少,超过此合理减施量水稻产值较常规尿素均降低。虽然控释尿素成本较普通尿素高,但其一次性基施降低了人工追肥成本,减施20%水稻纯收入较普通尿素增加1416元/hm²,增幅达5.7%。产投比施用控释尿素各处理均高于普通尿素。可见水稻生产上控释尿素减施一定量能够有效提高水稻产量和经济效益,达到节本增效的目标,以控释尿素减施20%效果最佳。

3 结论与讨论

鉴于控释氮肥的高肥力和长效肥作用,有研究认为在减量施用控释氮肥的条件下依然可达到稳产甚至高产的作用,这对于成本控制具有现实意义^[11]。该试验结果表明,控释尿素减氮20%水稻产量显著高于普通尿素分次施用,这与鲁艳红等^[12]在早稻上的研究结果即包膜控释尿素较常规尿素减氮15%和30%均增产一致。且通过提高水稻产量构成中的有效穗和穗实粒数可提高产量,这与谢春生等^[13]研究认为一次性施用控释肥增加了水稻成穗数、穗粒数从而实现增产结果一致。

虽然控释尿素成本较普通尿素高,但适当减量施用可以有效降低施肥成本,另外控释尿素作为基肥一次性施用有效降低分次追肥人工成本,水稻产量的增加和施肥成本的降低足以弥补肥料价格高产生的不足,纯收入控释尿素减量20%较100%N量普通尿素增收5.7%,达到节本增效的目标。

综合考虑水稻产量效应及经济效益,在该试验条件下或

促进作用,浓度过高会对诱导有抑制作用;在生根培养过程中,WPM + NAA 0.3 mg/L 为最佳生根培养基,在提高生根时间和生根率方面,适宜浓度的IBA和NAA均能达到良好的效果,但在促进根数及根长方面NAA效果优于IBA。

目前,国内外已有许多软枣猕猴桃优良品种的人工繁殖及栽培获得成功。我国具有丰富的野生软枣猕猴桃品种资源,但这些品种人工繁殖并开发利用的极少。软枣猕猴桃的开发利用研究还需要进一步的努力。该研究建立了软枣猕猴桃“寒玉1号”的高效植株再生体系,为软枣猕猴桃及其优良品种的开发利用和工厂化育苗奠定了基础。

参考文献

- [1] 苍晶,王学东,张达,等. 软枣猕猴桃果实生长发育的研究[J]. 东北农业大学学报,2004,35(1):77-83.
- [2] 王占勤,米建海,纪虎娃,等. 野生软枣猕猴桃果实品质初步研究[J]. 山西林业科技,2011,40(3):26-27.
- [3] 朴一龙,赵兰花. 延边地区软枣猕猴桃资源分布和开发利用前景[J]. 延边大学农学报,2009,31(1):32-35.
- [4] 张伟庆,李红莉. 软枣猕猴桃播种栽培技术初探[J]. 林业勘查设计,2009(3):100-101.
- [5] 龙茹,秘树青,王子华,等. 外源激素对软枣猕猴桃硬枝扦插生根的影响[J]. 河北科技师范学院学报,2010,24(2):12-15.
- [6] 顾地周,高捍东,王玉方,等. 基于均匀设计法优化长白瑞香离体培养及种质试管保存体系[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2011,42(1):23-29.

与该试验类似的生态区域,水稻一次性基施减氮20%的控释尿素较普通尿素取得显著的增产效应,并且有利于提高水稻经济效益。

参考文献

- [1] 侯云鹏,杨建,李前,等. 施氮对水稻产量、氮素利用及土壤无机氮积累的影响[J]. 土壤通报,2016,47(1):118-124.
- [2] 马立珩,张莹,隋标,等. 江苏省水稻过量施肥的影响因素分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版),2011,32(2):48-52,80.
- [3] 刘红江,郭智,郑建初,等. 太湖地区氮肥减量对水稻产量和氮素流失的影响[J]. 生态学杂志,2017,36(3):713-718.
- [4] 杨梢娜,俞巧钢,叶静,等. 施氮水平对杂交晚粳“浙优12”产量及氮素利用效率的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2010,16(5):1120-1125.
- [5] 邢光熹,施书莲,杜丽娟,等. 苏州地区水体氮污染状况[J]. 土壤学报,2001,38(4):540-546.
- [6] 汪华,杨京平,金浩,等. 不同氮素用量对高肥力稻田水稻-土壤-水体氮素变化及环境影响分析[J]. 水土保持学报,2006,20(1):50-54.
- [7] 苑俊丽,梁新强,李亮,等. 中国水稻产量和氮素吸收量对高效氮肥响应的整合分析[J]. 中国农业科学,2014,47(17):3414-3423.
- [8] 李敏,郭熙盛,叶舒娅,等. 硫膜和树脂膜控释尿素对水稻产量、光合特性及氮肥利用率的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2013,19(4):808-815.
- [9] 王晓琪,朱家辉,陈宝成,等. 控释尿素不同比例配施对水稻生长及土壤养分的影响[J]. 水土保持学报,2016,30(4):178-182.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000.
- [11] 侯红乾,黄永兰,冀建华,等. 缓/控释肥对双季稻产量和氮素利用率的影响[J]. 中国水稻科学,2016,30(4):389-396.
- [12] 鲁艳红,聂军,廖育林,等. 不同控释氮肥减量施用对双季水稻产量和氮素利用的影响[J]. 水土保持学报,2016,30(2):155-161.
- [13] 谢春生,唐桂虎,徐培智,等. 一次性施用控释肥对水稻植株生长及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2006,12(2):177-182.