

猕猴桃胚乳培养研究

穆蓉雪, 赵丹丹, 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] 建立猕猴桃胚乳培养体系。[方法] 将猕猴桃种子消毒后取胚乳作为外植体, 接种于含有 NAA 和 6-BA 不同组合的 1/2MS 培养基上进行培养, 调查不同 NAA 和 6-BA 组合对猕猴桃不同器官形成的影响。[结果] 6-BA 对不定芽的形成有促进作用, 其中植物生长调节剂组合 NAA 0.1 $\mu\text{mol/L}$ + 6-BA 5 $\mu\text{mol/L}$ 对不定芽的形成最有效, 而植物生长调节剂组合 NAA 0.5 $\mu\text{mol/L}$ + 6-BA 1 $\mu\text{mol/L}$ 对不定根的形成最有效。[结论] 该研究为猕猴桃的胚乳培养提供了技术支持。

关键词 猕猴桃; 胚乳培养; 植物生长调节剂; 不定芽; 不定根

中图分类号 S663.4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)01-0059-02

Study on *in vitro* Culture of Kiwifruit Endosperm

MU Rong-xue, ZHAO Dan-dan, LIU Yong-li (College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310058)

Abstract [Objective] To establish *in vitro* culture system of kiwifruit endosperm. [Method] After disinfection of the seeds of kiwifruit, the endosperm was used as explant to inoculate on 1/2MS medium containing different combinations of NAA and 6-BA. We investigated the effects of different 6-BA and NAA combinations on the organogenesis of kiwifruit endosperm callus tissue. [Result] 6-BA preferably promote organogenesis of endosperm callus. The maximum induction frequency of the adventitious buds was observed in the combination of 0.1 $\mu\text{mol/L}$ NAA + 5 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA, while the maximum induction frequency of the adventitious roots was observed in the combination of 0.5 $\mu\text{mol/L}$ NAA + 1 $\mu\text{mol/L}$ 6-BA. [Conclusion] This study provided technical support for kiwifruit endosperm culture.

Key words Kiwifruit; Endosperm culture; Plant growth regulator; Adventitious buds; Adventitious roots

猕猴桃果实小且有大量的种子, 如果能获得无籽或少籽的大果型猕猴桃, 对提高猕猴桃的品质有重要意义。植物三倍体一般会表现巨大型和高度不育性, 因此猕猴桃胚乳培养有望培育出无籽或少籽优良品种。迄今为止已经对美味猕猴桃 (*Actinidia deliciosa*)^[1-2]、中华猕猴桃 (*A. chinensis*)^[3-4]、软枣猕猴桃 (*A. arguta*)^[5] 等猕猴桃胚乳培养方面进行了研究, 并获得了胚乳培养的再生植株, 然而对“早金”品种的胚乳培养还没有报道。该研究以猕猴桃“早金”品种为材料, 取种子中胚乳, 通过组织培养方法, 探讨植物生长调节剂 (NAA 和 6-BA) 不同组合对不定芽和不定根形成的影响, 建立一个适合“早金”品种胚乳培养的再生体系, 为猕猴桃“早金”品种胚乳培养提供技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料及预处理 选取“早金”猕猴桃品种的健康果实 (新西兰 Zespri 公司的品种), 用自来水冲洗 30 min, 然后用 75% 乙醇消毒 1 min, 之后在超净工作台内用 0.2% 升汞水灭菌 20 min, 再用无菌水冲洗 3 次。在超净工作台内的无菌条件下, 取出种子, 剥去种皮后并去掉胚, 接种在培养基中。所用的基本培养基为 1/2MS 培养基, 琼脂粉添加量为 5 g/L, 蔗糖使用浓度为 20 g/L。然后用 0.1 mol/L 的 NaOH 调节 pH 至 5.7~5.8, 用高压锅在 121 $^{\circ}\text{C}$ 下灭菌 20 min。

1.2 试验设计与方法 为了探讨植物生长调节剂对胚乳愈伤组织中器官形成的影响, 将植物生长调节剂设置成以下浓度: NAA 0、0.1、0.5 $\mu\text{mol/L}$, 6-BA 0、1、5、10 $\mu\text{mol/L}$, 将二者进行组合。培养条件: 培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$, 光周期为 16 h/8 h,

光照强度为 40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。每个处理栽植 6 瓶, 每瓶内 10 个外植体。

1.3 指标测定 培养 45 d 后统计不定芽和不定根的形成情况。

2 结果与分析

2.1 不定芽形成率 由图 1 可知, 当 6-BA 浓度小于 1 $\mu\text{mol/L}$ 时, 没有出现不定芽的形成。当 6-BA 浓度达 5 $\mu\text{mol/L}$ 以上时, 随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽形成率反而出现减小的现象。当 NAA 浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、6-BA 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 胚乳愈伤组织不定芽形成率达到最大值 (33%)。

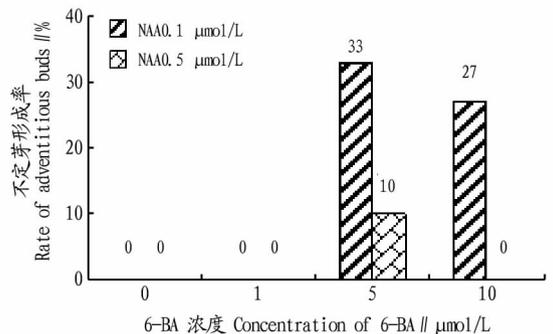


图 1 植物生长调节剂对猕猴桃胚乳愈伤组织不定芽形成率的影响

Fig. 1 Effect of plant growth regulators on rate of adventitious buds from the callus derived from endosperm of kiwifruit

2.2 不定芽形成数 由图 2 可知, 当 6-BA 浓度小于 1 $\mu\text{mol/L}$ 时, 没有出现不定芽的形成。当 6-BA 浓度达 5 $\mu\text{mol/L}$ 以上时, 出现一定数量的不定芽。当 NAA 浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$ 、6-BA 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时, 不定芽形成数达到最大值, 约为 3 个。

2.3 不定根形成率 由图 3 可知, 当 6-BA 浓度为一定时,

基金项目 浙江省科技厅科技攻关重大农业项目“猕猴桃分子育种研究” (J31608)。

作者简介 穆蓉雪 (1995—), 女, 山东威海人, 硕士研究生, 研究方向: 园艺植物分子育种。* 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 2017-10-31

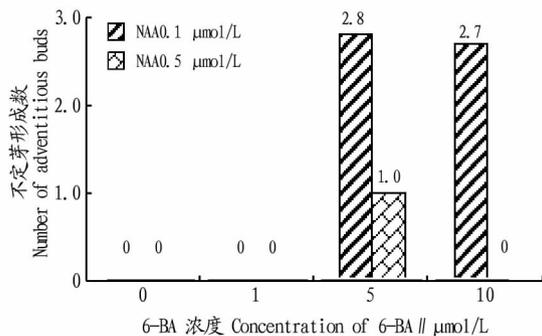


图2 植物生长调节剂对猕猴桃胚乳愈伤组织不定芽形成数的影响

Fig.2 Effect of plant growth regulators on number of adventitious buds from the callus derived from endosperm of kiwifruit

随着 NAA 浓度的增加,不定根形成率随之增加。当 NAA 浓度一定时,随着 6-BA 浓度的增加,不定根形成率减少。当 NAA 浓度为 0.5 μmol/L、6-BA 浓度为 1 μmol/L 时,不定根形成率达到最大值(69%);当 NAA 浓度为 0.1 μmol/L、6-BA 浓度为 10 μmol/L 时,不定根形成率最小(17%)。由此可见,高浓度的 NAA 有利于诱导不定根的形成。

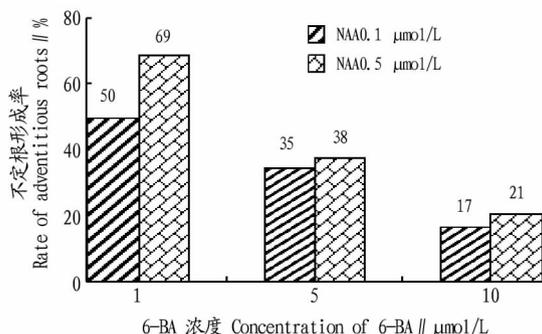


图3 植物生长调节剂对猕猴桃胚乳愈伤组织不定根形成率的影响

Fig.3 Effect of plant growth regulators on rate of adventitious roots from the callus derived from endosperm of kiwifruit

2.4 不定根形成数 由图4可知,NAA与6-BA对不定根形成数的影响并不明显,所形成的不定根数量始终保持2~3根。当NAA浓度为0.1 μmol/L时,随着6-BA浓度的增加,不定根形成数略有减少,但是减少的数量有限。

3 讨论

在猕猴桃胚乳培养中器官的形成,通常是外部培养条件和植物体内部环境共同起作用,其中内源激素的比例和浓度对器官形成的调控,起着至关重要的作用。在植物组织培养中,对培养基中植物生长调节剂种类和浓度的调整,可以有效地影响植物体内源激素的水平,从而调节芽和根等器官的形成。不同植物生长调节剂的比例和浓度的变化,会影响到

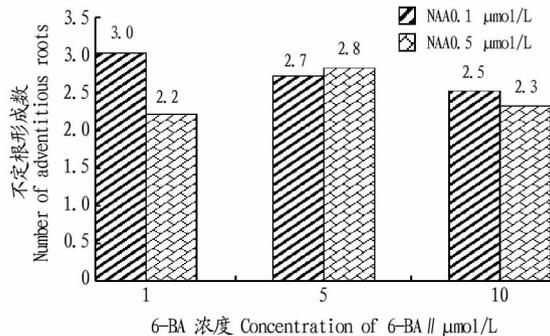


图4 植物生长调节剂对猕猴桃胚乳愈伤组织不定根形成数的影响

Fig.4 Effect of plant growth regulators on number of adventitious roots from the callus derived from endosperm of kiwifruit

培养物本身基因表达产物的多少,进而影响器官形成和组织分化的过程。

在猕猴桃胚乳组织培养过程中,不定芽和不定根的形成对植物生长调节剂种类和浓度的要求有较大差异^[6]。该研究采用了植物生长调节剂 NAA 与 6-BA 的不同组合,非常有效地诱导了愈伤组织和器官的形成。研究表明低浓度的 NAA 和高浓度的 6-BA 组合利于诱导不定芽的形成,而高浓度的 NAA 和低浓度的 6-BA 组合利于诱导不定根的形成。因此可以通过调整植物生长调节剂的种类和浓度,调控猕猴桃“早金”品种器官分化的方向。

4 结论

以“早金”猕猴桃种子的胚乳作为外植体,接种于含有 NAA 和 6-BA 不同组合的 1/2MS 培养基上进行培养,得到如下结论。

(1)植物生长调节剂 6-BA 对猕猴桃“早金”品种胚乳愈伤组织不定芽的形成有促进作用,其中植物生长调节剂组合 0.1 μmol/L NAA + 5 μmol/L 6-BA 对不定芽的诱导率最大。

(2)植物生长调节剂组合 0.5 μmol/L NAA + 1 μmol/L 6-BA 对猕猴桃“早金”品种胚乳愈伤组织不定根的诱导最为有效。

参考文献

- [1] 桂耀林,母锡金,徐延玉.猕猴桃胚乳植株形态分化的研究[J].植物学报,1982,24(3):216-221.
- [2] 桂耀林,徐延玉,顾淑荣,等.猕猴桃胚乳培养中的胚胎发生[J].武汉植物学研究,1988,6(4):395-397.
- [3] 黄贞光,皇甫幼丽,徐乐茵.猕猴桃胚乳培养获得三倍体植株[J].科学通报,1982,27(4):247-250.
- [4] 洪树荣,黄仁煌,武显维,等.中华猕猴桃胚乳植株后代的观察[J].植物学通报,1990,7(4):31-36.
- [5] MACHNO D,PRZYWARA L. Endosperm culture of Actinidia species[J]. Acta biologica cracoviensis series btanica,1997,39(1):55-61.
- [6] 林颖,龙自立,张璐,等.猕猴桃胚乳再生植株体系的优化[J].核农学报,2012,26(2):257-261.