DOI:10.3865/j.issn.1001-3547.2018.02.006

李其友 男，武汉市农业科学院作物研究所所长、正高职高级农艺师，全国瓜菜工厂化育苗产业技术创新战略联盟理事长、湖北省园艺学会理事、湖北省西甜瓜协会理事、中国蔬菜协会种苗分会理事。引进、消化、吸收美国 speeding 公司工厂化穴盘育苗技术，促进了武汉地区芦笋结构调整和小型礼品西瓜产业化发展，将穴盘育苗发展成了企业集群，嫁接、育苗技术走在全国前列。参与农业部公益性行业农业科研专项《设施农业高效育苗标准化生产工艺与配套设备研究与示范》，主持省市 4 项科研项目，取得 2 项发明专利、6 项实用新型专利、发表论文 10 余篇，主编《西瓜、甜瓜设施栽培》一书。获得湖北省科技进步一等奖、三等奖，农业部丰收二等奖、武汉市科技进步二等奖，曾被评为湖北省第六届优秀科技副县长，2014 年被湖北日报传媒集团联合省发改委、科技厅、农业厅评为 2012-2013“湖北三农杰出人物”。

人参果茎尖脱毒与组培快繁技术研究

张丽芳 李荣琼 包涛 李国昌 施林 蒋瑜 杨春利

摘 要：对人参果进行了组培脱毒快繁技术的研究，试验结果表明，以植株新发的枝条作为外植体，直接剥取生长点培养，脱毒率较低，而把枝条切成茎段培养成无菌苗后，再用无菌苗的茎尖来脱毒，脱毒率高。适宜的人参果茎尖生长点诱导成苗培养基为：MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L；继代快繁的培养基为不加任何激素的 MS 培养基或 MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L；人参果组培苗的生根较容易，继代和生根同步进行。人参果组培苗在草炭土或过筛的腐叶土中的移栽成活率可以达到 94%以上。

人参果（*Solanum muricatum* Aiton）原名为香瓜茄，又名香艳梨、艳果，属茄科蔬菜、水果兼观赏型草本植物。其成熟的果实呈奶油色或米黄色带紫色条纹，呈椭圆形、卵圆形、心形或陀螺形。果肉为淡黄色，清香多汁，腹内无核，风味独特，可食率达 95%以上，具有高蛋白、低脂肪、低糖等特点，富含钙、维生素 C、钼、钴、硒等几十种人体所需的微量元素，尤其是硒、钙的含量大大高于其他的水果和蔬菜[1]，具有抗癌、抗衰老、降血压、降血糖、消炎、补钙、美容等功效，是一种较受欢迎的鲜食水果，也可作为蔬菜食用，人参果亦具有极高的观赏价值，可作盆景在庭院、阳台或房前屋后栽培。

人参果曾被医学界称为“生命之火”、“抗癌之王”[2,3]。近些年来，由于农业产业结构的调整和发展高原特色农业的要求，人参果作为高原特色水果在云南各地发展迅速，种植面积不断扩大。人参果常规繁殖是采用种子和扦插 2 种方法，但 7~9 月高温期结的果中没有种子，适温期结的果中有少量的种子，但种子的发芽率较低，因此，在人参果种植区域，多采用扦插育苗，农户连年自留种自繁自用，这种无性繁殖容易导致病毒在种植过程中传播和积累，加重了病毒病的发病几率和为害程度，严重影响了人参果的产量和品质，制约了人参果的种植发展。通过植物组织培养技术进行茎尖脱毒，可解决植物病毒引起的退化问题，恢复品种原有的优良特性，用组培快繁技术进行工厂化生产获得大量脱毒组培苗，能满足生产中对

优质种苗的需要。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从昆明市石林县西街口镇人参果种植地中选择生长势强、植物学特性明显、无病虫害的植株，剪取生长充实的新发枝条作为试验材料。

1.2 试验方法

①外植体的选择与处理 将从石林西街口镇采来的人参果枝条进行修剪，切取枝条顶端 3~4 cm 长的顶芽，用自来水冲洗 30 min，在超净工作台上进行消毒处理。先用剪刀将顶芽下的 2~3 台较大叶片剪除，用 70%酒精处理 30 s，无菌水冲洗 2 次，然后放入已消毒的瓶中，再用 0.1%的升汞浸泡 10 min，浸泡时不间断摇荡瓶子，以确保外植体得到全面彻底的消毒，最后用无菌水反复冲洗 5 次。

②茎尖的剥取和无菌接种 在双筒解剖镜下由外向内逐层剥去幼叶，直至半球体顶端分生组织充分暴露出来，迅速切取 0.2~0.4 mm 茎尖，快速接种于茎尖诱导培养基上。诱导培养基为：a.MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L；b.MS+6-BA 0.10 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L；c.MS+6-BA 0.20 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L。

③茎尖分生组织培养和病毒检测 茎尖分生组织在诱导培养基上培养 3~4 周后，明显长大，然后转入 a 培养基培养 1~2 个月，长成完整的小植株。将所获得的小植株进行病毒检测，即抽提样品负染色制片，JEM100CX-Ⅱ透射电子显微镜检测。

④继代增殖和生根 将经检测后的不带病毒的核心苗剪成带 1~2 节的茎段，接种于继代增殖培养基上。继代增殖培养基为不加任何激素的 MS 培养基和 MS+6-BA (0.05~0.2 mg/L)+NAA (0.01~0.05 mg/L)+GA_3 0.1 mg/L，以上培养基均添加 3%蔗糖(或食用白糖)，用 6.5 g/L 琼脂粉固化，pH 值 5.8，分装于玻璃瓶中，每瓶注入 40 mL 培养基。培养条件：光照 2 000~3 000 lx，12 h/d，温度(25±2)℃。

⑤组培苗的驯化和移栽 带节茎段经过 25~30 d 培养，长至 6 cm 左右，有 6~7 台叶片的完整植株时，打开瓶口炼苗 1~2 d，然后取出苗后洗净其根部的培养基，移栽到装有草炭土或过筛腐叶土的漂盘中，放置于漂池内，移栽初期，漂池要套小拱棚。温度保持 15~25℃，相对湿度 85%~90%，适当遮荫，后期逐渐通风，增强光照。经炼苗 30~40 d，根系能够拢住基质坨，苗高 15~20 cm 时可移栽大田。

2 结果与分析

2.1 核心苗的获得

将茎尖生长点接种于 a、b 及 c 3 种诱导培养基上，在培养基 a 上，15 d 后生长点明显长大变绿，30 d 左右可长成 0.5 cm 小芽，45~50 d 可长成具有 2~3 个茎节的完整植株。培养基 b 上的生长点培养 30 d 左右，愈伤组织膨大，继续培养至 60 d 左右，从愈伤组织上形成小芽点，之后再缓慢长成完整植株。培养基 c 上的生长点比 b 上的愈伤组织更严重，成苗更慢。所以适宜的人参果茎尖生长点诱导成苗培养基为：MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L。外植体通过消毒后剥取茎尖生长点，经诱导培养，成苗率 28%。随机抽取植株进行病毒检测，JEM100CX-Ⅱ透射电子显微镜 5 万倍下平均每视野未观察到病毒粒体，即被确认为不带病毒，可作为脱毒核心种苗。脱毒成功率较低，一般只有 5%左右。

2.2 继代培养与快速繁殖

将经检测后的不带病毒的核心苗剪成带 1~2节的茎段，接种于不加任何激素的 MS 培养基与添加不同浓度 6-BA (0.05~0.2 mg/L)、NAA (0.01~0.1 mg/L) 和 GA_3 0.1 mg/L 的 MS 培养基上培养 25 d，观察苗的生长情况。结果表明，在不加任何激素的 MS 培养基，带节茎段接入 7 d 左右每段有 1~2 条新根长出，顶芽段已明显长高，中间茎段的腋芽已经萌出，由茎段变成完整的植株。随着培养时间的延长，植株长高、根系增多。培养 25 d 后，每株高达 6~7 cm，有 7~8 片叶，根系 4~6 条，叶色浓绿，茎秆粗壮。在添加激素的培养基上，当 6-BA 和 GA_3 浓度一定，NAA 为 0.01 mg/L 时，带节茎段的生根要比不加任何激素的 MS 培养基早 2 d，茎段接入 5 d 时已有根长出，每茎段长根 2~3 条。随 NAA 浓度的提高，生根变慢，茎段基部长出愈伤组织。NAA 浓度越高，生根越慢，愈伤越严重。当 NAA 和 GA_3 浓度一定，6-BA 浓度为 0.05 mg/L 时，植株生长势最强，随 6-BA 浓度的提高，植株长到 3~4 cm 时，出现分枝现象，即从植株基部往上第 2~3 个茎节处长出侧芽，每株分出 1~2 个分枝，植株分枝后，主干几乎停止长高，侧芽继续生长，但长势细弱。所以适宜的人参果继代快繁的培养基为：不加任何激素的 MS 培养基或 MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3

0.1 mg/L。

人参果组培每个增殖周期一般为 25~30 d，增殖倍数 4~5 倍。经过几个继代周期后，数以万计的脱毒优质人参果苗即可长成。

2.3 生根培养

人参果组培苗的生根较容易，带节茎段在萌芽长高的同时长出根系，增殖和生根同步进行，一次成苗，不需要单独进行生根阶段。

2.4 组培苗的移栽

人参果组培苗移栽前首先在温室中自然光条件下炼苗 1~2 d，再从瓶中取出小苗，用自来水洗净附在苗上的培养基，移栽于基质为草炭土或过筛的腐叶土的漂盘中，移栽好的漂盘放置于漂池内，移栽后一周内盖小拱棚保湿并加盖遮阳网，30 d 后观察组培苗的生长情况和统计移栽成活率。草炭土和过筛的腐叶土 2 种不同的基质上苗的成活率没有明显的区别，都超过 94%，但是草炭土上苗的长势明显优于腐叶土，草炭土上的苗平均株高比腐叶土上的多 1.6 cm，苗的颜色浓绿，叶片大，根更发达。试管苗经过 40 d 左右炼苗后，就可以移栽到大田了。

3 讨论与结论

人参果的脱毒过程中，通过直接从植株上选取新发枝条作为剥取茎尖生长点的外植体，这样做不仅需要大量的外植体材料，而且脱毒率也较低，只有 5%左右。用植株上剪取的枝条经消毒处理后，切成带节茎段直接接种于不加激素的 MS 培养基或 MS+6-BA 0.05 mg/L+NAA 0.01 mg/L+GA_3 0.1 mg/L 上，培养成完整的植株（无菌苗）。把无菌苗剪成带节茎段，在同一培养基上继代 2~3 个周期，等无菌苗繁殖到一定数量后，再用这些无菌苗的顶芽来剥取生长点并培养成完整的植株，随机抽取生长点长成的植株进行病毒检测，不带病毒的植株即可作为核心种苗来快繁。这种先经过无菌苗培养后再用无菌苗脱毒的方法，剥取生长点较容易，成苗率高，脱毒率也高。

人参果组培苗继代快繁过程中对激素的需求不明显，植株在无激素的 MS 培养基中就能长得很好。6-BA 和 NAA 的浓度直接影响茎段长成完整植株的速度和质量。在 6-BA 浓度一定的情况下，NAA 浓度超过 0.01 mg/L 时，随着浓度增加，茎基部接触培养基部分出现白色疏松愈伤组织越多，植株长势变慢。当 NAA 浓度为 0.01 mg/L 时，6-BA 浓度超过 0.05 mg/L，随着 6-BA 浓度增加，植株分杈增多，主茎生长变慢，甚至顶芽干枯坏死，枝干和叶片变脆。因此，适宜人参果继代快繁的培养基为不加任何激素的 MS 培养基或低浓度的 6-BA 和 NAA 配比。

参考文献

[1] 李荣琼，李国昌. 云南高原特色人参果无公害生产技术[M].昆明：云南科技出版社，2014：1-3.

[2] 陈健，管其宽.人参果栽培与利用[M].北京：金盾出版社，2002：3.

[3] 符伟玉，张建和.香瓜茄微量元素含量的分析[J].广州微量元素科学，2004，11(8)：51-53.

张丽芳，云南昆明市农业科学研究院，
电话：0871-64625062，
E-mail：690028312@qq.com
李荣琼，包涛，施林，蒋瑜，杨春利，昆明市农业科学研究院
李国昌，石林县经作站
收稿日期：2017-11-17

公　告

《长江蔬菜》原有邮箱 cjsczzs@263.net，因收发邮件不通畅，作者来信易丢失，故自 2017 年 12 月 19 日起不再启用。作者投稿或者有其他需求，请通过投稿邮箱 1733172762@qq.com 或者投稿系统 http://journal.cjveg.com，特此公告！