果 树 学 报 2026,43(8):2272-2281
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20250353

# 软枣猕猴桃胚乳培养及植株再生体系的建立

刘 政,曲 淼,陈 坛,杨殿静,张卫东,何广仁,李立才*

(通化市园艺研究所,吉林通化 134000)

**摘 要:【目的】**探讨不同取样时间及不同激素浓度组合对胚乳组织培养的影响,建立完善的软枣猕猴桃胚乳培养技术体系,以获得多倍体植株。**【方法】**以不同生长时间的软枣猕猴桃未成熟种子内胚乳为外植体,设置不同激素浓度组合的培养基,筛选软枣猕猴桃胚乳培养的最佳取样时间及组织培养各阶段的适宜培养基,并对分化苗进行倍性检测。**【结果】**TH1、TH2、TH3、龙成二号最佳取样时间分别为花后60~70 d、70~80 d、65 d、70~80 d;最佳愈伤组织诱导培养基均为1/2MS附加0.05 mg·L$^{-1}$NAA,6-BA浓度($\rho$,后同)分别为0.5、2.0、1.0、1.0 mg·L$^{-1}$;经过多次愈伤组织继代培养后将其转移至3.0 mg·L$^{-1}$ Zt+1.0 mg·L$^{-1}$ 2,4-D培养基上进行分化培养,获得分化苗。**【结论】**不同生长时间的软枣猕猴桃胚乳组织培养,最佳取样时间为花后60~80 d,诱导培养基以1/2MS附加0.05 mg·L$^{-1}$NAA,0.5~2.0 mg·L$^{-1}$6-BA为宜,分化培养基3.0 mg·L$^{-1}$ Zt+1.0 mg·L$^{-1}$ 2,4-D效果较好。

**关键词:**软枣猕猴桃;胚乳培养;分化;培养基

**中图分类号:**S663.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2026)08-2272-10

## Establishment of an endosperm culture and plant regeneration system in *Actinidia arguta*

Liu Zheng, Qu Miao, Chen Tan, Yang Dianjing, Zhang Weidong, He Guangren, Li Licai*

*(Tonghua Horticultural Research Institute, Tonghua 134000, Jilin, China)*

**Abstract:**【Objective】The endosperm of angiosperms is a product of double fertilization, belonging to triploid tissue, containing genetic material from both parents, and differs from ordinary hybrids. It contains two copies of maternal genetic material and one copy of paternal genetic material. Due to the rapid development of biotechnology, triploid plants can be obtained through endosperm culture, and new nucellus-free germplasm can be acquired through hybridization, which holds significant breeding value for fruit trees that primarily rely on vegetative propagation. The study aimed to establish a complete technical system for endosperm culture of *Actinidia arguta*, and obtained polyploid plants.【Methods】In the early stage of the study, the callus induction screening experiments of different hormone ratios were carried out. It was found that the combination of 6-BA and NAA was more suitable for the callus induction culture of kiwifruit endosperm, and the callus induction rate was high and the differentiation of callus was promoted; Three kinds of artificially domesticated wild *A. arguta* and 'Longcheng No.2' with different reproductive stages were used as experimental materials to study the effects of different sampling times and culture media on the formation and differentiation of endosperm culture organs, and determine the best sampling period and culture medium formula; The differentiated plantlets were cultured in succession and subjected to flow cytometry for cell multiplication identification. Using the immature endosperm of *A. arguta* as explants, sampling was set when the immature endosperm began to form, and samples were taken every 10 days for a total of four times. The samples were inoculated onto

**收稿日期:**2025-06-24 **接受日期:**2026-01-11

**基金项目:**通化市科技发展计划资助项目-特色产业人才培养及梯队建设综合项目(2024010614)

**作者简介:**刘政,女,助理研究员,硕士。研究方向为实验室组培及田间种植技术。E-mail:570034121@qq.com

***通信作者** Author for correspondence. E-mail:l20260730@163.com

callus induction medium, and the callus induction status was surveyed every 10 days. Subsequently, the endosperm callus was inoculated onto different differentiation media, and the callus differentiation status was regularly monitored to determine the optimal sampling time and the best endosperm callus induction and differentiation media.【Results】Starting from the formation of the endosperm, samples were collected every 10 days for stereomicroscopic observation of seed morphology. As the seeds matured, the seed coat color gradually transitioned from light brown to dark brown, while the endosperm texture evolved from loose and incompletely filled to firm, hard, and fully enclosed. The embryo grew larger with progressively hardened texture, becoming easier to separate from the endosperm. This study effectively minimized embryo interference. After inoculation, the callus induction and growth were observed and recorded every ten days. The endosperm was induced to form callus tissue. With the increase of culture time, the callus became compact and differentiated into plants. Subsequent studies explored synergistic effects of NAA and 6-BA at different concentrations. After 60-day callus induction, researchers compared growth patterns across hormone ratios and sampling intervals. Significant variations in optimal induction media were identified across cultivars during different growth phases. The optimal culture medium was 1/2MS with NAA at 0.05, while 6-BA concentrations varied significantly (0.5, 2.0, 1.0 and 1.0). Under identical cultivation conditions, optimal sampling times varied significantly depending on maturity stages. Material TH1, TH2, TH3 and Longcheng No.2 showed optimal sampling at 60−70 days, 70−80 days, 65 days and 70−80 days post-flowering, respectively. Through observing callus differentiation under different media, we found that medium Ⅰ and Ⅱ strains simultaneously differentiated roots and shoots, with Ⅱ＞Ⅰ in shoot differentiation. The root systems of medium Ⅲ strains showed no bud differentiation, though overall differentiation numbers were relatively low. As cultivation time extended, browning became more pronounced, ultimately yielding unsatisfactory results. Flow cytometry analysis confirmed all differentiated seedlings were octaploid, validating this conclusion. Literature reviews indicate that transferring callus tissue to MS+1.0 mg·$L^{-1}$ 2, 4-D+3.0 mg·$L^{-1}$ Zt medium not only increased genetic variation but also significantly boosted plant differentiation, providing a basis for subsequent experiments. The results of the diploid detection by flow cytometer showed that the parental material of TH1, TH2, TH3 and their common parent material, and the parental material of Longcheng No.2 were all tetraploid. Using regenerated plants as controls and TH1 embryo tissue culture buds as reference for relative DNA content, the results showed that the regenerated plants were hexaploid, octoploid and octoploid (rather large). Physiological measurements revealed polyploid plants exhibited significantly longer leaves, wider leaf margins, larger stomatal openings, and reduced stomatal density compared to tetraploid plants, demonstrating better environmental adaptability.【Conclusion】Few studies have been conducted on the endosperm culture from *A. arguta*. This paper investigated the cultivation of endosperm from different reproductive stages of artificially domesticated wild *A. arguta* varieties. By regularly comparing the induction and differentiation of callus, it aimed to determine the optimal sampling time, endosperm callus induction medium, and differentiation medium. Through flow cytometry for ploidy identification, multiple polyploid plants were differentiated. The study found that the reproductive stage significantly affected the sampling time and tissue culture conditions. The reproductive stage discussed in this paper was incomplete, and future research can improve the endosperm tissue culture system by adding more varieties at various reproductive stages. Additionally, by investigating the traits of the offspring with different ploidy levels, superior varieties can be selected for breeding studies.

**Key words:** *Actinidia arguta*; Endosperm culture; Differentiation; Media

软枣猕猴桃（*Actinidia arguta*）果实因含有20余种必需营养素和一系列维生素[1]，具有一定的保健作用，总糖含量为8.8%，有机酸含量为1.5%[2]，酸甜适口，在全世界范围内获得越来越多消费者的认可。长白山区野生软枣猕猴桃是我国珍贵的抗寒果树资源，但多年来，由于采伐过度，造成优质软枣猕猴桃野生资源濒临灭绝。通化地区具备发展长白山软枣猕猴桃得天独厚的自然条件。因此，在保护现有野生资源的同时，开展优良野生植株个体的育种研究对实现高产、优质具有关键作用。在植物育种领域，胚乳组织培养技术作为多倍体育种的重要手段，为培养无籽或少籽果实开创了新途径。

关于胚乳组织培养的报道始于1933年，Lampe等[3]对胚乳培养进行了最初尝试，中国离体胚乳培养研究开始于20世纪70年代，先后在苹果[4]、猕猴桃[5]、橙[6]、桃[7]、枇杷[8]、梨[9]、枸杞[10]等果树上应用并获得再生植株。目前，对软枣猕猴桃胚乳培养的研究较少。野生软枣猕猴桃个体小，种子多，胚乳培养是提高其食用品质、便于加工的有效育种手段。前人开展了不同激素配比[11-13]的愈伤组织诱导筛选试验，6-BA和NAA组合更适合软枣猕猴桃胚乳愈伤组织诱导培养，愈伤组织诱导率高且能促进愈伤组织分化。本研究以3个生育期不同的野生软枣猕猴桃TH1、TH2、TH3及四倍体[14]软枣猕猴桃品种龙成二号的胚乳为试验材料，研究不同取样时间、培养基条件对胚乳愈伤组织诱导及分化的影响，确定最佳取样时期、培养基配方。将分化植株继代培养并进行倍性鉴定，成功建立了高效且完善的离体胚乳培养体系，为软枣猕猴桃胚乳离体再生研究提供技术支撑。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

1.1.1 取样亲本信息 软枣猕猴桃为雌雄异株植物。TH1、TH2、TH3亲本材料为吉林绿元现代农业发展有限公司人工嫁接野生软枣猕猴桃株系，共用一个父本材料f1，种植地为吉林省通化市通化县葫芦套村；龙成二号购于辽宁新宾，父本材料f2为通化市园艺研究所人工嫁接野生雄性软枣猕猴桃，种植地为吉林省通化市东昌区园艺研究所。母本材料信息见表1。

1.1.2 外植体获取 花后50 d，每隔10 d选取软枣猕猴桃未成熟果实，剖开挑出种子，部分种子用于观察形态发育，其余种子均放置于干净烧杯中，洗涤剂清洗后用流水冲洗30 min。在无菌条件下，用75%乙醇浸泡30 s，再置于0.1% $HgCl_2$溶液中振荡8 min，无菌水洗涤3~4次，剔除幼胚，即获得胚乳材料并直接进行接种。每份胚乳材料样品用亲本材料编号+DAF+花后天数表示，如：TH1-DAF50。

**表1 母本信息**

**Table 1 Female parent information**

| 材料编号 Material number | 果实成熟日期 Date of fruit maturity | 成熟期 The duration of maturity/d | 果实特征 Fruit characteristics | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 形状 Form | 纵径×横径 Vertical diameter and cross section/cm |
| TH1 | 09-01—09-05 | 90 | 长椭圆形 Oblong | 3.0×2.5 |
| TH2 | 09-10—09-15 | 100 | 长椭圆形，菱形凸起 Oblong, rhomboid bulge | 2.5×2.3 |
| TH3 | 09-25—09-30 | 110 | 心形 Heart-shaped | 2.3×2.3 |
| 龙成二号 Longcheng No. 2 | 09-01—09-05 | 100 | 长椭圆形 Oblong | 4.7×2.8 |

注：成熟期时长均以花后天数表示，表中数据为当年调查结果。

Note: The time of maturity duration was expressed in days after flowering, the data in the table were the results of the survey in that year.

1.1.3 倍性检测及生理性状测定材料 倍性测定：亲本材料（包括父母本）及再生植株选取叶片，胚试管苗选取根系。亲本及胚试管苗均以四倍体软枣猕猴桃品种龙成二号作为对照，再生植株以胚试管苗作为对照。

分化芽继代后，进行管外生根培养。培养45 d后

测定株高、茎基直径、叶片长度与宽度、气孔数量与大小。

### 1.2　方法

1.2.1　种子形态发育观察　将1.1.2中取样获得的种子，使用手术刀片沿种子中线切开，在体视显微镜下观察不同时间点胚乳及胚的形态变化，并拍照记录。

1.2.2　胚乳愈伤组织诱导及分化培养基　软枣猕猴桃胚乳愈伤诱导培养基设置不同浓度的NAA和6-BA组合：当NAA浓度（$\rho$，后同）为0.05 mg·L$^{-1}$时，6-BA浓度为0.5、1.0、1.5、2.0 mg·L$^{-1}$；当6-BA浓度为1.0 mg·L$^{-1}$时，NAA为0.05、0.1、0.15、0.2 mg·L$^{-1}$（表2）。

**表2　培养基不同激素浓度配比情况**

**Table 2　Different combinations of hormone concentrations**

| 培养基类别 Culture medium category | 培养基序号 Culture medium number | 基本培养基 Basal culture medium | $\rho$（激素）Hormone concentration/（mg·L$^{-1}$） | | | $\rho$（附加物）Additive concentration/（mg·L$^{-1}$） |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | NAA | 6-BA | Zt | CH |
| 诱导培养基 Inducing medium | 1 | 1/2MS | 0.05 | 1.0 | − | − |
| | 2 | 1/2MS | 0.10 | 1.0 | − | − |
| | 3 | 1/2MS | 0.15 | 1.0 | − | − |
| | 4 | 1/2MS | 0.20 | 1.0 | − | − |
| | 5 | 1/2MS | 0.05 | 0.5 | − | − |
| | 6 | 1/2MS | 0.05 | 1.5 | − | − |
| | 7 | 1/2MS | 0.05 | 2.0 | − | − |
| 分化培养基 Differentiation medium | Ⅰ | MS | 0.10 | − | 3.0 | 500 |
| | Ⅱ | MS | − | − | 1.0 | 400 |
| | Ⅲ | 1/2MS | 0.02 | 1.0 | − | − |

分化培养基参照3个不同配比的猕猴桃胚乳愈伤分化培养基进行配置。

1.2.3　接种与培养　每瓶培养基接种1块胚乳，培养条件为琼脂浓度5 g·L$^{-1}$，pH=5.6~5.8，恒温26 ℃，光照度1500~2000 lx。接种后，每10 d观察并记录愈伤组织的诱导及生长发育情况；培养60 d，调查并统计愈伤组织诱导率及愈伤组织紧致占比（愈伤组织紧致占比=愈伤组织形态紧致数量/愈伤组织总数）。

1.2.4　再生植株性状观察与倍性鉴定　撕取1.1.3中再生植株的成熟叶片下表皮，置于载玻片上，吸干水，加入1~2滴0.5%甲苯胺蓝，染色1~2 min，用蒸馏水洗涤并晾干，在光学显微镜下进行形态学观察。使用测微尺测量气孔孔径；株高使用直尺测量地表到茎尖的长度；茎基直径用数显游标卡尺测量；选取长势完好的叶片测量长度、宽度（叶基与叶尖对折后的中间部位）。

将倍性检测材料送至中国科学院植物研究所，用流式细胞仪测定样品相对DNA含量。

### 1.3　数据分析

利用Excel及SPSS25.0软件进行数据统计及方差分析。

## 2　结果与分析

### 2.1　首次取样时间的确定

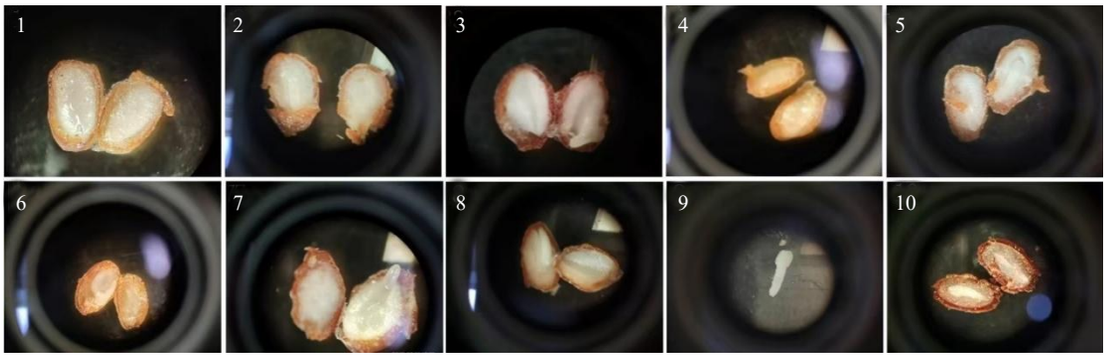
图1观察结果表明，取样时间过早，如TH2-DAF50、TH3-DAF50、龙成二号-DAF50，胚乳组织呈液态，此时胚乳不易取出；TH3-DAF60胚乳形态虽已符合取样要求，但此时胚较难分离，故将取样时间延迟5 d；TH1-DAF50、TH2-DAF60、TH3-DAF65、龙成二号-DAF60胚乳处于细胞形成期的半透明胶状体，此时取样效果最佳，胚乳与胚较易分离，可避免胚对胚乳愈伤组织诱导的干扰。随着种子发育，最后一次取样时种皮颜色由浅褐色逐渐变为深褐色，胚乳质地由不紧致、不完全填充种壳逐渐变为质地紧致且完全充满种壳（图1）。

### 2.2　胚乳愈伤诱导及分化过程

由图2可知，培养10 d，胚乳组织开始进行脱分化形成愈伤组织，为无色透明，组织结构松散；随着培养时间的延长，愈伤组织由疏松变为紧致，逐渐转变为绿色；培养30 d，表面出现颗粒状突起，生长速度加快；培养60 d时，表面开始分化出不定芽。

### 2.3　取样时间对愈伤诱导的影响

由图3-A可知，TH1、TH2和龙成二号的愈伤组




1. 龙成二号-DAF50；2. 龙成二号-DAF60；3.TH1-DAF50；4.TH2-DAF50；5.TH2-DAF60；6. TH3-DAF50；7. TH3-DAF60；8. TH3-DAF65；9.TH3-DAF65 胚；10. TH3-DAF95。

1. Longcheng No.2-DAF50; 2. Longcheng No.2-DAF60; 3.TH1-DAF50; 4. TH2-DAF50; 5.TH2-DAF60; 6.TH3-DAF50; 7.TH3-DAF60; 8.TH3-DAF65; 9. The embryo of TH3-DAF65; 10.TH3-DAF95.

**图 1 不同材料种子发育差异情况**

**Fig. 1 Differences in seed development of different materials**

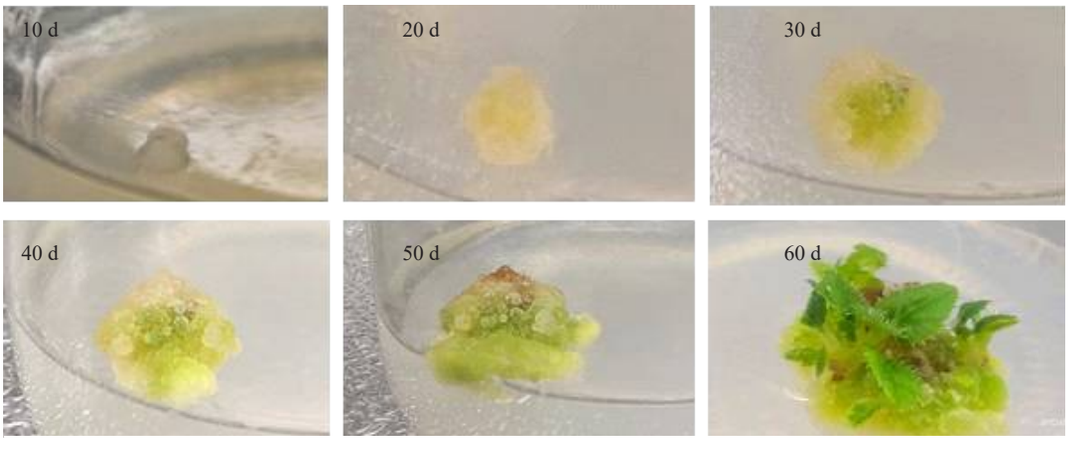
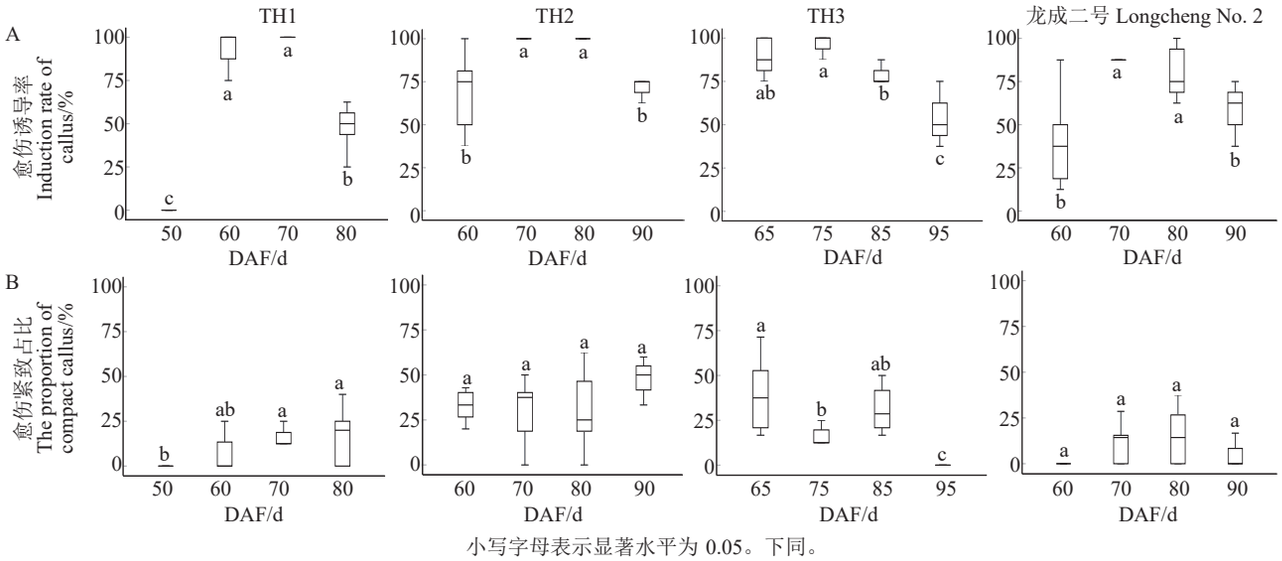



**图 2 TH1 胚乳培养 10~60 d 愈伤组织诱导及分化过程**

**Fig. 2 Induction and differentiation of callus from TH1 endosperm cultured for 10-60 d**




小写字母表示显著水平为 0.05。下同。

The data are presented as the mean ± standard deviation. Small letters indicate a significant difference at $P<0.05$. The same below.

**图 3 不同品种不同取样时间的愈伤诱导情况**

**Fig. 3 Induction of callus in different varieties and different sampling times**

织诱导率均在第2、3次取样时显著高于第1、4次取样；TH3-DAF75则显著高于TH3-DAF85、TH3-DAF95，与TH3-DAF65差异不显著，这表明TH1、TH2和龙成二号在第2、3次取样诱导效果好，TH3的适宜取样时期为DAF65、DAF75。

愈伤组织紧致程度越高，分化丛生苗的概率越大。由图3-B可知，TH1、TH2和龙成二号的愈伤组织紧致占比在第2、3次取样间无显著差异，且诱导效果较好，建议在此期间进行取样；TH3-DAF65则显著高于TH3-DAF75、TH3-DAF95，故DAF65取样效果较好。

### 2.4　不同激素浓度配比对胚乳愈伤组织诱导的影响

基于2.3中的结果，选取TH1-DAF70、TH2-DAF80、TH3-DAF65、龙成二号-DAF80作为外植体，比较分析各材料愈伤组织诱导的最佳激素配比。由图4可知，TH1-DAF70的5号培养基（0.05 mg·L$^{-1}$ NAA+0.5 mg·L$^{-1}$ 6-BA）愈伤组织诱导率达100%，愈伤组织紧致数量占比37.5%，为最佳培养基；TH2-DAF80的7号培养基（0.05 mg·L$^{-1}$ NAA+2.0 mg·L$^{-1}$ 6-BA）愈伤组织诱导率达100%，愈伤组织紧致数量占比62.5%，为最佳培养基；TH3-DAF65的1号培养基（0.05 mg·L$^{-1}$ NAA+1.0 mg·L$^{-1}$ 6-BA）愈伤组织诱导率达100%，愈伤组织紧致数量占比62.5%，为最佳培养基；龙成二号-DAF80的1号培养基（0.05 mg·L$^{-1}$ NAA+1.0 mg·L$^{-1}$ 6-BA）愈伤组织诱导率达100%，愈伤组织紧致数量占比37.5%，为最佳培养基。

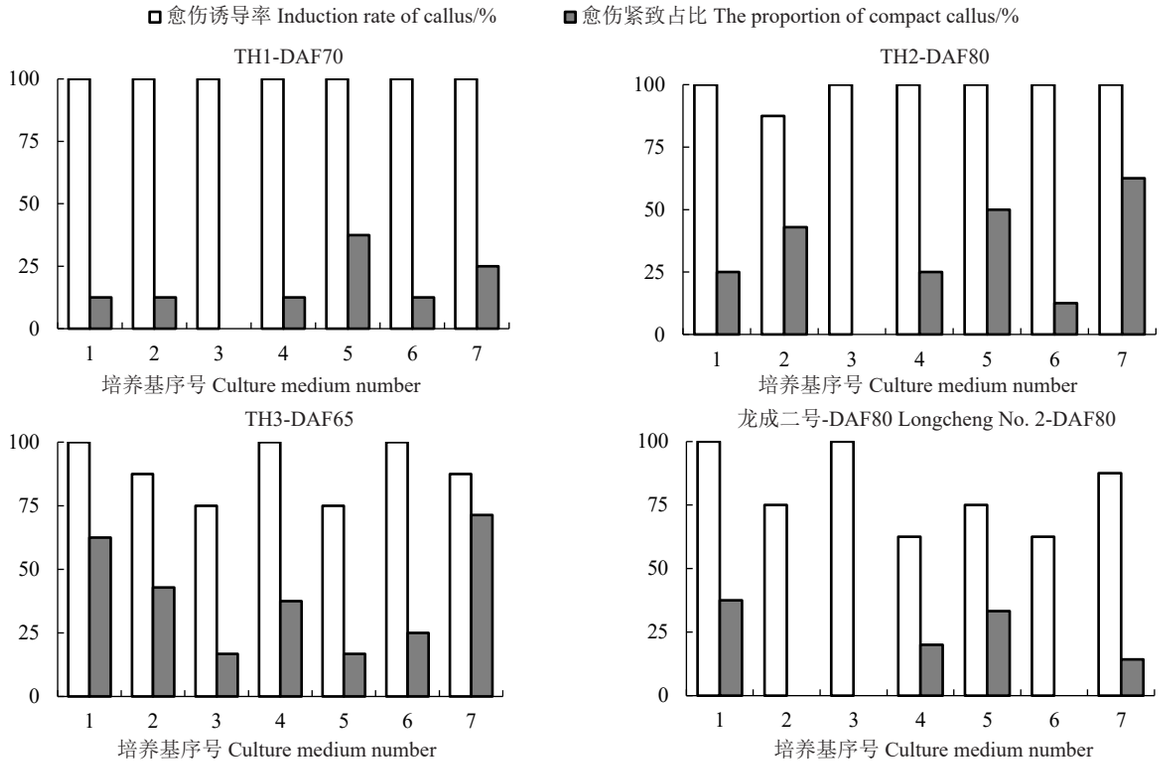



**图4　不同生长激素浓度配比对愈伤诱导的影响**

**Fig. 4　Effects of different growth hormone concentration ratios on induction and differentiation of callus**

### 2.5　胚乳愈伤组织分化培养基的筛选

对不同培养基的愈伤组织分化情况观察发现，Ⅰ、Ⅱ号培养基均能诱导分化出芽，分化芽数量Ⅱ＞Ⅰ，但Ⅱ号培养基无根分化；Ⅲ号培养基能分化出根，但无芽分化（表3）。整体来看，各培养基的分化数量较少，且随着培养时间的延长，褐化现象加重，分化效果不理想。

### 2.6　胚乳再生植株倍性鉴定及生理性状比较

2.6.1　*染色体倍性鉴定*　亲本材料的检测结果（图5-A）表明，龙成二号峰值在横坐标上的位置为86.3，TH1、TH2、TH3母本材料混样为89.4，父本材料（f1）为83.3，龙成二号父本（f2）为76.9，混样、f1、f2与龙成二号比值分别为1.04、0.96、0.89，结果表明均为四

表 3 不同生长激素浓度配比对胚乳愈伤分化的影响

**Table 3 Effects of different growth hormone concentration ratios on endosperm callus differentiation**

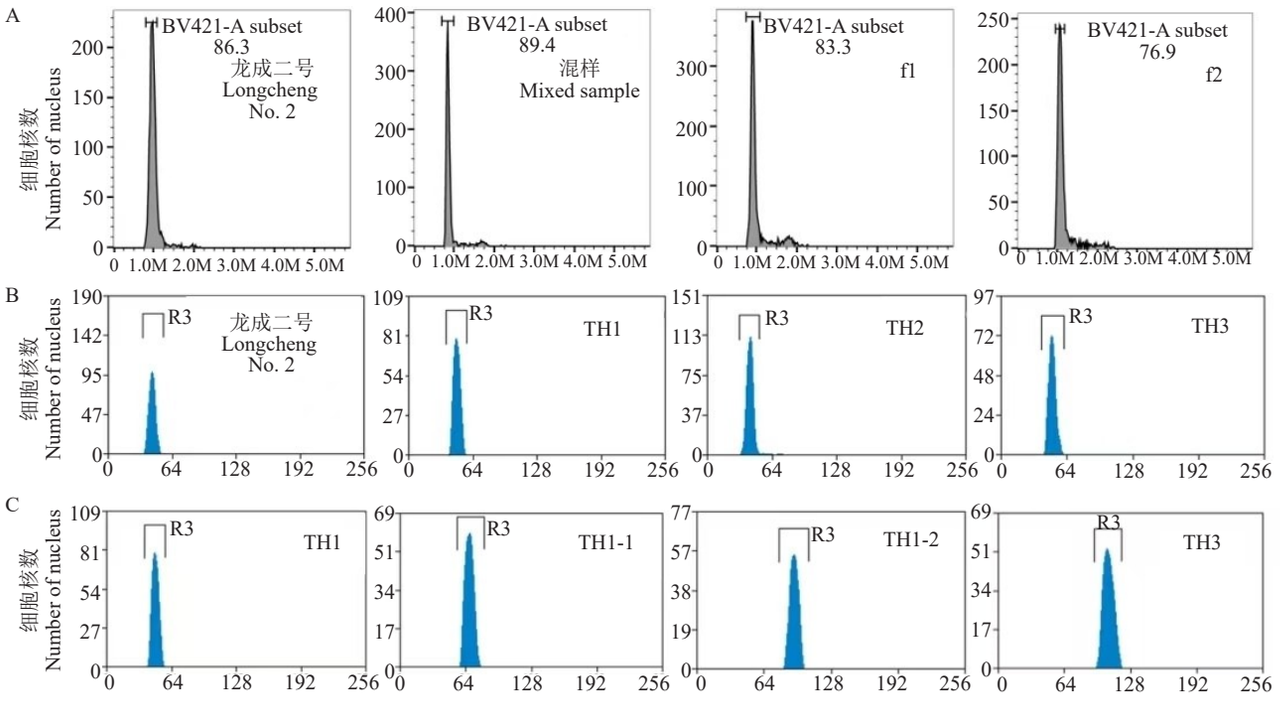
| 培养基序号 Culture medium number | 接种数 Quantity of callus | 再生苗数 Quantity of regenerated plantlets | 再生根数 Quantity of regenerated roots | 褐化数 Quantity of browning | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | 30 d | 40 d | 50 d |
| Ⅰ | 14 | 2 | 1 | 2 | 5 | 7 |
| Ⅱ | 13 | 4 | 0 | 5 | 7 | 8 |
| Ⅲ | 14 | 0 | 4 | 5 | 8 | 8 |

倍体。

胚试管苗的检测结果（图5-B）表明，龙成二号的峰值位于43.80，TH1、TH2、TH3分别为48.03、43.22、49.77，与龙成二号的比值分别为1.10、0.97、1.14，结果表明均为四倍体。

再生植株检测结果（图5-C）表明，TH1-1、TH1-2、TH1-3峰值分别为67.46、92.59、106.63，与TH1（胚试管苗峰值位于48.03）的比值分别是1.40、1.93、2.22，以此鉴定分别为六倍体、八倍体、八倍体偏大。

2.6.2 胚乳再生植株生理性状测定 生理性状测量结果（表4、图6）表明，六倍体及八倍体偏大的株高、叶长低于四倍体，而八倍体株高则显著高于四倍体；




A. 亲本材料；B. 胚试管苗；C. 再生植株。横坐标表示流式细胞技术测定的相对 DNA 含量，M 表示百万。

A. The parental material; B. The embryo culture; C. The regenerated plantlet. Abscissa indicates the relative DNA content identified by flow cytometry, M indicates million.

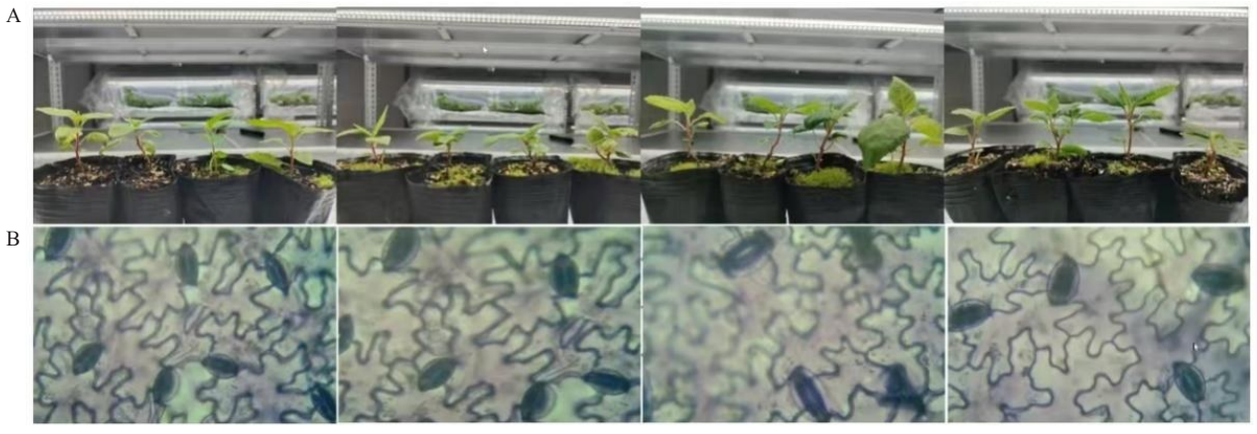
图 5 流式细胞技术鉴定软枣猕猴桃材料的 DNA 相对含量

**Fig. 5 Identification of relative DNA content in *Actinidia arguta* material by flow cytometry**

表 4 变异植株与正常植株生理指标比较

**Table 4 Comparison of physiological indicators between mutant and normal plant**

| 植株编号 Plant number | 株高 Plant height/cm | 茎基直径 Stem diameter/mm | 叶片形态 Leaf morphology | | 气孔形态 Stomatal morphology | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 长度 Length/cm | 宽度 Width/cm | 密度 Density/mm$^{-2}$ | 长度 Length/μm | 宽度 Width/μm |
| TH1 | 4.41±0.56 b | 1.86±0.26 b | 2.94±0.33 a | 1.80±0.15 a | 81.18±18.07 a | 34.25±6.33 c | 19.97±2.18 b |
| TH1-1 | 3.11±0.23 c | 1.92±0.27 b | 1.78±0.19 b | 1.23±0.08 b | 81.26±15.51 a | 34.46±3.22 c | 23.49±3.39 a |
| TH1-2 | 5.80±0.42 a | 2.35±0.30 ab | 2.43±0.78 ab | 1.69±0.50 ab | 74.53±11.55 a | 43.81±7.12 a | 26.25±6.34 a |
| TH1-3 | 4.23±0.92 b | 2.45±0.33 a | 1.87±0.48 b | 1.46±0.40 ab | 74.00±15.45 a | 42.71±6.50 ab | 25.23±2.89 a |




A. 植株形态；B. 叶片气孔（×400）。

A. Plant morphology; B. Leaf stoma (×400).

**图 6　再生植株生理性状比较**

**Fig. 6　Comparison of physiological traits in regenerated plants**

六倍体、八倍体及八倍体偏大的茎基直径、气孔大小均高于四倍体，八倍体及八倍体偏大的气孔密度降低。植株倍性增加在生理性状上的表现（除气孔密度外）相较四倍体差异显著，多倍体多数表现为株高降低，茎加粗，叶片变小，气孔变大，气孔密度降低。八倍体株高的显著增加仍需结合后续田间表现进行深入研究（需后续验证）。

## 3　讨　论

胚乳的发育进程可分为早期、旺盛生长期和成熟期。前人研究发现[15-17]，发育早期的未成熟胚乳较难诱导愈伤组织及器官分化；旺盛生长期的胚乳是胚乳培养的最佳外植体；成熟期胚乳虽可形成愈伤组织并持续生长，部分还可分化器官并形成三倍体植株，但其愈伤诱导率较低。本研究中，不同生育期材料的最佳取样时间差异较大，TH1、TH2、TH3、龙成二号分别在花后 60~70、70~80、65、70~80 d 愈伤诱导率及愈伤紧致占比最高。

在植物的离体胚乳培养中，植物生长调节剂的种类及组合对愈伤组织形成具有重要影响，生长素和细胞分裂素的配比是诱导愈伤组织形成极为重要的因素[18]。黄贞光等[5]认为2,4-D对诱导猕猴桃愈伤组织形成具有重要作用；桂耀林等[19]研究发现ZT在猕猴桃胚乳培养中效果最好；Tian 等[20]发现在同时含有BA和NAA的培养基上，胚乳组织可诱导形成愈伤组织，但当生长素总浓度过高时会抑制愈伤组织的发生[21]。本研究设置了7个不同浓度的NAA和6-BA组合，筛选出适合各材料胚乳愈伤组织诱导的最适培养基。结果表明，最适NAA浓度均为0.05 $mg \cdot L^{-1}$，低浓度NAA利于软枣猕猴桃胚乳愈伤组织的诱导，材料TH1、TH2、TH3、龙成二号的最适6-BA浓度分别为0.5、2.0、1.0、1.0 $mg \cdot L^{-1}$。

植物生长调节剂对胚乳植株再生发挥关键作用。前人研究发现[22]，Zt对猕猴桃胚乳愈伤组织的分化十分有效。本研究发现，愈伤组织在含Zt的培养基上分化效果较好，但随着培养时间的延长，愈伤组织褐化数量增多，可能与培养基中添加CH有关[23-25]。中华软枣猕猴桃的研究表明[26]，高浓度ZT与2，4-D配合才能较好地促使胚状体发生。本研究采用MS+1.0 $mg \cdot L^{-1}$ 2,4-D+3.0 $mg \cdot L^{-1}$ Zt[19]进行分化培养，分化植株数量多，倍性变异类型多。

多倍体中染色体数目的加倍造成控制性状的某些基因表达更加明显，因此对植物的形态特征也产生明显变化，如叶片颜色变深、叶表面的气孔变大，密度降低，叶长、叶宽变大，植物的茎干粗壮，植株矮化，细胞中某些元素含量相对提高，对环境的适应性变强等[27-28]，通过植株形态学及气孔观察实现对多倍体进行初步筛选[29-31]。本研究发现，相同生长条件下，植株倍性增加，茎粗增加，气孔变大，气孔密度降低，这表明多倍体可以更好地响应环境变化。

## 4　结　论

TH1、TH2、TH3、龙成二号胚乳外植体的最佳取样时间分别为花后 60~70、70~80、65、70~80 d；愈伤

组织诱导的最佳培养基均为基本培养基1/2MS附加0.05 mg·L$^{-1}$ NAA，在6-BA浓度上差异较大，分别为0.5（TH1）、2.0（TH2）、1.0（TH3）、1.0 mg·L$^{-1}$（龙成二号）；将获得的愈伤组织转移至3.0 mg·L$^{-1}$ Zt和1.0 mg·L$^{-1}$ 2,4-D培养基中进行分化培养，成功获得六倍体、八倍体及八倍体偏大等多倍体分化苗。

## 参考文献 References：


[1] 崔雪艳 . 软枣猕猴桃组织培养技术研究[J]. 园艺与种苗，2017，37(4)：1-2.
Cui Xueyan. Study on tissue culture techniques of *Actinidia arguta*[J]. Horticulture & Seed，2017，37(4)：1-2.

[2] 宋建宇，刘振盼，孙阳，刘钊，郑泽洋，杨伟聪，李玉莹，卢立媛，张永华，梁泰铭 . 一种八倍体软枣猕猴桃的培养方法及其应用：CN202411662177.8[P]. 2025-02-07.
Song Jianyu，Liu Zhenpan，Sun Yang，Liu Zhao，Zheng Zeyang，Yang Weicong，Li Yuying，Lu Liyuan，Zhang Yonghua，Liang Taiming. A cultivation method and application of octoploid *Actinidia arguta*：CN202411662177.8[P]. 2025-02-07.

[3] Lampe L，Mills C O. Growth and development of isolated endosperm and embryo of maize[J]. Journal of Botany，1933，20(10)：669.

[4] 毋锡金，刘淑琼，周月坤，钱南芬，张鹏，谢鸿勋，张福寿，阎振龙 . 苹果胚乳愈伤组织的诱导和植株的分化[J]. 中国科学，1977，7(4)：355-359.
Wu Xijin，Liu Shuqiong，Zhou Yuekun，Qian Nanfen，Zhang Peng，Xie Hongxun，Zhang Fushou，Yan Zhenlong. Induction of hypocotyl callus tissue and differentiation of plants in apple[J]. Scientia Sinica (Mathematica)，1977，7(4)：355-359.

[5] 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.
Huang Zhenguang，Huangfu Youli，Xu Leyin. A triploid plant was obtained by cultivating kiwifruit endosperm[J]. Chinese Science Bulletin，1982，27(4)：247-250.

[6] 陈如珠，李耿光，张兰英 . 红江橙胚乳愈伤组织诱导和三倍体植株再生[J]. 植物学报，1991，33(11)：848-854.
Chen Ruzhu，Li Gengguang，Zhang Lanying. Callus induction and triploid plant regeneration from endosperm of ‘Hongjiang’ sweet orange[J]. Acta Botanica Sinica，1991，33(11)：848-854.

[7] 孟新法，周维燕 . 桃胚乳离体培养再生植株的研究(初报)[J]. 北京农业大学学报，1981(4)：95-98.
Meng Xinfa，Zhou Weiyan. Induction of embryoid and production of plantlets *in vitro* from endosperm of peach[J]. Journal of China Agricultural University，1981(4)：95-98.

[8] 陈振光，林顺权，林庆良 . 枇杷胚乳培养获得植株试验初报[J]. 福建农学院学报，1983，12(4)：343-346.
Chen Zhenguang，Lin Shunquan，Lin Qingliang. A preliminary report on the formation of plantlets from endosperm culture of loquat[J]. Journal of Fujian Agricultural College，1983，12(4)：343-346.

[9] 赵惠祥 . 锦丰梨胚乳植株的诱导及其倍性[J]. 植物学通报，1983，18(2)：38-39.
Zhao Huixiang. Induction endosperm plants of ‘Jinfeng’ pear and ploidy[J]. Chinese Bulletin of Botany，1983，18(2)：38-39.

[10] 顾淑荣，桂耀林，徐廷玉 . 枸杞胚乳植株的诱导及染色体倍性观察[J]. 遗传学报，1987，14(1)：37-41.
Gu Shurong，Gui Yaolin，Xu Tingyu. Induction of endosperm plants in *Lycium chinense* Mill.，var. *potaninii* (Pojark) A. M. Lu. and examination on chromosome ploidy[J]. Acta Genetica Sinica，1987，14(1)：37-41.

[11] 赵丹丹 . 猕猴桃胚乳培养与倍性变异的研究[D]. 杭州：浙江大学，2011.
Zhao Dandan. Studies on endosperm culture and ploidy variations of kiwifruit[D]. Hangzhou：Zhejiang University，2011.

[12] 周国英 . 猕猴桃的几种组织培养快繁技术[J]. 经济林研究，1997，15(1)：45-46.
Zhou Guoying. Several tissue culture rapid propagation techniques of kiwifruit[J]. Economic Forest Researches，1997，15(1)：45-46.

[13] 林颖，龙自立，张璐，叶庆富，刘永立 . 猕猴桃胚乳再生植株体系的优化[J]. 核农学报，2012，26(2)：257-261.
Lin Ying，Long Zili，Zhang Lu，Ye Qingfu，Liu Yongli. Optimum technological parameters for regeneration system of endosperm of *Actindia chinensis* cv. ‘Jintao’ [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences，2012，26(2)：257-261.

[14] 刘振盼，崔艳红，孙阳，卢立媛，刘钊，宋建宇，杨伟聪，尤文忠 . 17份软枣猕猴桃种质资源染色体倍性鉴定与SSR遗传多样性分析[J]. 中国果树，2025(10)：59-65.
Liu Zhenpan，Cui Yanhong，Sun Yang，Lu Liyuan，Liu Zhao，Song Jianyu，Yang Weicong，You Wenzhong. Chromosome ploidy identification and SSR genetic diversity analysis of 17 *Actinidia arguta* germplasm resources[J]. China Fruits，2025(10)：59-65.

[15] Miyashita T，Ohashi T，Shibata F，Araki H，Hoshino Y. Plant regeneration with maintenance of the endosperm ploidy level by endosperm culture in *Lonicera caerulea* var. *emphyllocalyx*[J]. Plant Cell，Tissue and Organ Culture (PCTOC)，2009，98(3)：291-301.

[16] 彭晓军，王永清 . 枇杷胚乳愈伤组织诱导和不定芽发生的研究[J]. 四川农业大学学报，2002，20(3)：228-231.
Peng Xiaojun，Wang Yongqing. Callus induction and plant regeneration from endosperm of loquat[J]. Journal of Sichuan Agricultural University，2002，20(3)：228-231.

[17] 刘建福，吴清 . 阳桃的组织培养与快速繁殖[J]. 热带亚热带植物学报，2004，12(3)：265-267.
Liu Jianfu，Wu Qing. Rapid *in vitro* propagation of *Averrhoa carambola*[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany，2004，12(3)：265-267.

[18] 孙琪，王亚楠，张焕，许玉兰，蔡年辉，唐军荣 . 西番莲组织培养技术研究[J]. 种子，2018，37(7)：78-81.

Sun Qi，Wang Yanan，Zhang Huan，Xu Yulan，Cai Nianhui，Tang Junrong. Study on the tissue culture technology of *Passiflora edulis* Sims[J]. Seed，2018，37(7)：78-81.

[19] 桂耀林，母锡金，徐廷玉 . 猕猴桃胚乳植株形态分化的研究[J]. 植物学报，1982，24(3)：216-221.
Gui Yaolin，Mu Xijin，Xu Tingyu. Studies on morphological differentiation of endosperm plantlets of Chinese gooseberry *in vitro*[J]. Acta Botanica Sinica，1982，24(3)：216-221.

[20] Tian L T，Ke Y N，Gan S R，Chen Y Q，Chen Y，Yang Z F，Wang X G. Triploid plant regeneration from mature endosperms of *Sapium sebiferum*[J]. Plant Growth Regulation，2012，68(2)：319-324.

[21] 田雨风 . 马尾松胚乳愈伤组织诱导及不定芽分化的研究[D]. 贵阳：贵州大学，2021.
Tian Yufeng. Study on induction of hypocotyl xylem callus and differentiation of adventitious buds in Chinese red pine[D]. Guiyang：Guizhou University，2021.

[22] Thammina C，He M Y，Lu L T，Cao K S，Yu H，Chen Y Q，Tian L T，Chen J M，McAvoy R，Ellis D，Zhao D G，Wang Y J，Zhang X，Li Y. *In vitro* regeneration of triploid plants of *Euonymus alatus* ‘Compactus’ (Burning Bush) from endosperm tissues[J]. HortScience，2011，46(8)：1141-1147.

[23] 顾淑荣，桂耀林，徐廷玉 . 枸杞胚乳植株的诱导[J]. 植物学报，1985，27(1)：106-109.
Gu Shurong，Gui Yaolin，Xu Tingyu. Induction of endosperm plantlets in *Lycium*[J]. Acta Botanica Sinica，1985，27(1)：106-109.

[24] 顾淑荣，桂耀林，刘淑琼，徐廷玉 . 枸杞胚乳愈伤组织细胞的悬浮培养及无丝分裂的活体观察[J]. 植物学报，1991，33(6)：478-481.
Gu Shurong，Gui Yaolin，Liu Shuqiong，Xu Tingyu. Suspension culture of endosperm callus cell and amitosis *in vitro*[J]. Acta Botanica Sinica，1991，33(6)：478-481.

[25] 王莉，陈素萍，秦金山，王大桢，邵启全，牛德水 . 枸杞胚乳植株的诱导和它的倍性水平[J]. 遗传学报，1985，12(6)：440-444.
Wang Li，Chen Suping，Qin Jinshan，Wang Dazhen，Shao Qiquan，Niu Deshui. Induction of endosperm plants from *Lycium barbarum* and its ploidy level[J]. Acta Genetica Sinica，1985，12(6)：440-444.

[26] 薛庆善 . 体外培养的原理与技术[M]. 北京：科学出版社，2001.
Xue Qingshan. Principles and techniques of in vitro culture[M]. Beijing：Science Press，2001.

[27] 张永福，赵海，岳绍雄，杨婷，包启凡，鲁桂芝，谢映美 . 秋水仙素对蓝莓染色体加倍的效应及初步鉴定[J]. 昆明学院学报，2015，37(3)：72-76.
Zhang Yongfu，Zhao Hai，Yue Shaoxiong，Yang Ting，Bao Qifan，Lu Guizhi，Xie Yingmei. Effect of colchicine on blueberry chromosome doubling and preliminary identification[J]. Journal of Kunming University，2015，37(3)：72-76.

[28] 陈绪中，罗正荣 . ‘罗田甜柿’胚乳培养获得十二倍体再生植株[J]. 园艺学报，2004，31(5)：589-592.
Chen Xuzhong，Luo Zhengrong. Dodecaploid plantlets regenerated from endosperm culture of ‘Luotiantianshi’ persimmon[J]. Acta Horticulturae Sinica，2004，31(5)：589-592.

[29] Wang L J，Sheng M Y，Wen P C，Du J Y. Morphological，physiological，cytological and phytochemical studies in diploid and colchicine-induced tetraploid plants of *Fagopyrum tataricum* (L.) Gaertn[J]. Botanical Studies，2017，58：2.

[30] 郑于莉 . 秋水仙素创制同源四倍体青花菜新种质[D]. 南京：南京农业大学，2014.
Zheng Yuli. Induction of new germplasm of autotetraploid broccoli by colchicine[D]. Nanjing：Nanjing Agricultural University，2014.

[31] Eng W H，Ho W S，Ling K H. *In vitro* induction and identification of polyploid *Neolamarckia cadamba* plants by colchicine treatment[J]. PeerJ，2021，9：e12399.