

桃的茎尖培养*

杨增海 胡霓云 路广明

(西北农学院园艺系)

在桃属(*Amygdalus*)茎尖培养中,成功的报道有限且多是砧木或实生苗^[2,6]。因桃品种试管新梢生根较难,这方面成功的报道极少。R. M. Skirvin等(1978)^[7]在旺盛生长期从“红港”(Red haven)、“哈贝蕾”(Horbelle)桃上取茎进行试管培养,其所生新梢未能诱导生根。Freddi Hammerslag等^[9]1980年研究了桃外植体污染和新梢增殖的问题,但没有诱导生根的报道。R. M. Skirvin等1981年研究了一种适于Harbrite桃试管新梢生根的改良培养基^[8],获得了生根植株。本试验在桃试管实生苗茎尖培养的基础上^[3],为加快良种繁育,又开展了桃品种茎尖培养的试验,以探寻桃试管新梢增殖和发根的适宜条件。

材料和方 法

试材是桃(*A. persica* L.) Batsch)品种“郑州早甜”。直接从果园嫁接4年生桃树上剪取幼嫩新梢(8—10厘米),去掉叶片和托叶,灭菌后,在无菌条件下切成0.5—0.8厘米带腋芽的小段。

为了探求各种激素最适宜的配合浓度,用MS培养基进行了 $L_3(3^1)$ 正交试验,选用了三种激素,每种激素三个水平。

A. GA₃(毫克/升)。(1)1.0, (2)5.0, (3)10.0

B. IBA(毫克/升)。(1)0.5, (2)2.0, (3)4.0

C. BA(毫克/升)。(1)0.5, (2)2.0, (3)4.0

各处理均加入0.6%琼脂、5%蔗糖,接种12个外植体。

在激素水平为BA0.5毫克/升、IBA2.0毫克/升、GA₃5.0毫克/升及附加500毫克/升LH的条件下,进行了MS、改良MS、G、Nitsch四种培养基的比较试验。在MS附加BA0.5毫克/升、IBA2.0毫克/升条件下进行了LH和CH浓度比较试验。培养一个月后检查外植体生长情况。

生根培养选用去除所有激素,附加物均减半的 $\frac{1}{2}$ MS培养基。

培养室温度:白天 $26 \pm 2^\circ\text{C}$,晚上 $23 \pm 2^\circ\text{C}$,每天16小时1500—3000勒克斯蓝光灯

* 本文曾经中国科学院植物研究所王伏雄研究员和王玉英同志、沈阳农学院景士西副教授及上海农科院园艺研究所果树研究室主任庄恩及同志审阅并提出修改意见,仅此致谢。

补充光照。生根苗移栽入土后，灌足水分，置于温度16—20℃、相对湿度70%以上的条件下促其成活。

试验结果

一、激素对桃茎尖生长分化的影响。正交试验结果见表1。

表1 生长调节物质L₉(3⁴)正交试验结果*

	A IBA (毫克/升)	B BA (毫克/升)	C GA ₃ (毫克/升)	空 列	有效新梢数			
					I	II	III	T _i
1	1(0.5)	1(0.5)	1(1)	1	6	4	6	16
2	1(0.5)	2(2)	2(5)	2	5	3	5	13
3	1(0.5)	3(4)	3(10)	3	0	0	0	0
4	2(2)	2(2)	1(1)	3	5	1	5	11
5	2(2)	3(4)	2(5)	1	1	1	1	3
6	2(2)	1(0.5)	3(10)	2	1	4	0	5
7	3(4)	3(4)	1(1)	2	0	0	0	0
8	3(4)	1(0.5)	2(5)	3	1	2	2	5
9	3(4)	2(2)	3(10)	1	1	2	1	4
T ₁	29	26	27	23	T ₁ 20	17	20	57
T ₂	19	28	21	18				
T ₃	9	3	9	16				
K ₁	9.7	8.7	9.0	7.7				
K ₂	6.3	9.3	7.0	6.0				
K ₃	3.0	1.0	3.0	5.3				
R	6.7	8.3	6.0	2.4				

* I. II. III. 一分别表示三个区组T₁. T₂. T₃. 一分别表示各列下同水平之T_i和T_j. 一各处理的小区总和 K₁. K₂. K₃. 一分别表示 $\frac{1}{3}T_1$. $\frac{1}{3}T_2$. $\frac{1}{3}T_3$. T_i. 一各区组的小区总和。R 一极差，等于各列下最大K值减最小K值。

从极值R的大小及趋势图,可以大致找出对茎尖分化因素的主次关系。比较好的组合是A₁B₁C₁。

主			次
B	A	C	

MS培养基附加BA 0.5毫克/升、IBA 0.5毫克/升、GA₃ 1.0毫克/升产生的有效新梢数最多。BA 和 IBA 0.5—2.0毫克/升利于新梢的健壮生长, GA₃ 1.0—5.0毫克/升新梢生长也较良好,但BA和IBA浓度均提高到4毫克/升, GA₃浓度在10毫克/升时对新梢生长有明显的抑制作用。

二、不同培养基对茎尖生长的影响

培养基比较试验(见表2)。

表2 四种培养基对桃茎尖生长分化的影响*

	组号	分化出的新梢数	组总和 T _{ij}	培养基总和 T _i	平均 \bar{X}_i
MS	1	1 3 2 3	9	31	2.6b**
	2	4 4 1 4	13		
	3	2 3 1 3	9		
改良MS	1	1 1 4 2	8	24	2.0b
	2	1 1 3 1	6		
	3	2 3 4 1	10		
G	1	4 4 4 3	15	42	3.5a
	2	4 4 4 3	15		
	3	4 4 1 3	12		
Nitsch	1	1 0 0 1	2	6	0.5c
	2	0 2 0 1	3		
	3	0 1 0 0	1		

* 每组接种4瓶,每瓶四个外植体。

** 采用新复极差测验,显著水平0.05。

表 3 四种培养基成分比较

	M S	改良M S	G	Nitsch
KNO_3	1900	475	3000	2000
NH_4NO_3	1650	413		
NH_4SO_4			160	
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	440	220	
CaCl_2				25
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	370	440	250
$\text{N}_2\text{H}_2\text{PO}_4$				250
KH_2PO_4	170	170	500	
KCl				1500
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}^*$	27.8	55.6	27.8	
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.6	其余同MS	其余同MS	0.5
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.3			3
H_3BO_3	6.2			0.5
KI	0.83			
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25			0.025
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025			0.025
$\text{COCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025			
甘氨酸	2.0			
VB_1	0.4			
VB_6	0.5			
烟酸	0.5			
肌醇	100			
蔗糖	30000			34000

* $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 用Fe--Na--EDTA代替。

结果表明, G培养基(本实验室改良的一种、表3)分化出的有效新梢最多, 叶片肥大, 节间较长, 生长健壮(照片1)。其次是MS和改良MS培养基, Nitsch培养基接种三周后枯死, 不适于桃的茎尖培养。

三、LH和CH对桃茎尖生长的影响

在桃茎尖及腋芽培养中, 发现带节的茎切段, 在MS+BA0.5毫克/升+IBA 2.0毫克/升+LH500毫克/升, 形成的愈伤组织较多, 有效新梢为61.5%, 外植体显著膨大, 新梢生长健壮。LH浓度增加到1000毫克/升, 产生一定的抑制作用, 有效新梢为40%, 但二者均明显高于对照16%, 附加CH500—1000毫克/升的效应均低于LH。

四、IBA浸泡时间对桃试管新梢生根的影响

为提高试管苗的素质及移栽成活率, 选用均匀一致的试管新梢作为试材, 用100PPm IBA分别浸泡其基部2、4、6、8小时, 每处理10个新梢, 以不浸泡作为对照。处理后转移到生根培养基。结果表明, 新梢浸泡的时间不同, 不定根的多少、生根状况也不同。浸泡2小时者, 第10天发现不定根的产生, 且根数较多(见照片2), 平均2.5条。浸泡时间增加, 生根率有降低趋势: 浸泡2小时生根率76.9%, 4小时生根率50%, 6、8小时生根率分别为25.0%和47.4%, 后者一般表现根短。不浸泡IBA者所有新梢完全不能生根。

桃试管小植株移栽入3份土、1份砂的塑料营养钵中, 一周后即开始新的生长, 叶片增大。两个月后苗高可达到5厘米左右(照片3)。移栽时用0.1%代森锌浸根3—5分钟, 有利于幼苗成活。移栽入土的具体方法和入土后的管理条件跟我们以前报道的方法相同^[5]。

讨 论

在本试验中, 桃品种“郑州早甜”茎尖、腋茎的培养, 通过, $L_9(3^4)$ 正交试验, 可以看出, MS附加BA 0.5毫克/升、IBA 0.5毫克/升、 GA_3 1.0毫克/升产生的有效新梢数最多。结果表明, 与试管实生苗茎尖培养一样, BA的最适浓度为0.5毫克/升。生长素IBA的浓度发生了变化, 由2.0毫克/升降到0.5毫克/升, 但必须附加1毫克/升 GA_3 , 说明加入 GA_3 可以部分代替IBA的作用。

2. 在四种培养基比较试验中, G培养基分化出的新梢最多, 生长旺盛, 叶片大, 节间伸长, 培养三个月仍能健壮生长。

与MS相比, G培养基的突出特点是大大增加了 KNO_3 (3000毫克/升)即硝态氮的含量, 降低了铵态氮的含量, 以 $(NH_4)_2SO_4$ (160毫克/升)代替 NH_4NO_3 , 同时增加了 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (440毫克/升)和 KH_2PO_4 (500毫克/升)的含量, 降低了 $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ (220毫克/升)含量。

3. 用100ppm IBA浸泡新梢基部, 结果发现随浸泡时间的增加, 新梢生根率有降低的趋势, 根的发育趋向不良, 浸泡8小时, 不定根短小, 有的两周左右就会发黄变褐。表明用100ppm IBA浸泡基部2小时, 新梢内源激素及所吸收的外源生长素的总和, 足以促进根基始体的形成和生长。如果继续延长浸泡时间, 则新梢生长素含量增加, 从

而对根原始体的进一步生长发育产生抑制作用,这与赵惠祥^[4]在苹果砧木茎尖培养中所得到的结论是一致的。

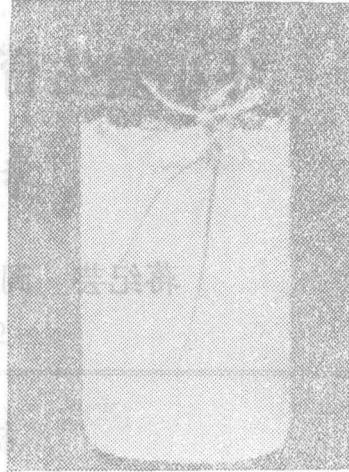
新梢的生根率与其发育状况有关。壮苗易于生根,弱苗生根较差或不能生根。新梢长的比短的易生根,叶片多的比少的易生根。这可能是由于健壮新梢内源激素水平适当,营养状况良好的缘故。

参 考 文 献

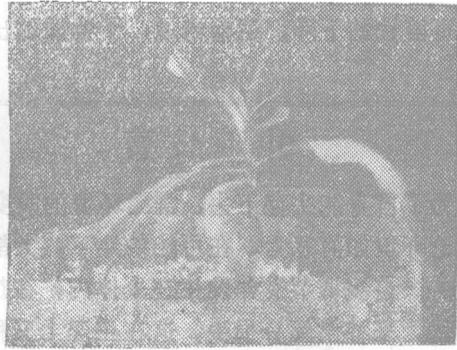
- [1] 上海植物生理研究所细胞室, 植物组织和细胞培养, 1978, 上海科技出版社, 199—208。
- [2] 费开韦、薛光荣, 国外温带落叶果树组织培养研究综述, 中国果树, 增刊, 1980, 20—33。
- [3] 杨增海、胡霓云、路广明, 桃茎尖试管繁殖成苗, 植物生理学通讯(3) 1982, 42—43。
- [4] 赵惠祥, 苹果砧木—珠美海棠茎尖培养, 中国农业科学院果树研究所科学研究年报, 1979, 126—127。
- [5] 杨增海、胡霓云、路广明, 早熟桃胚培养技术的研究, 西北农学院学报, 1983, (1), 15—25。
- [6] Jones, O.P., Hopgood, M.E. 1979, "Journal of Horticultural science" 54 (1) 63—66。
- [7] Skirvin, R.M., M.C. Chu, 1978, Tissue Culture may Revolutionize the Production of peach shoots, Illinois Research, 14 (4) 18—19。
- [8] Skirvin, R.M., M.C. Chu and H. Rukan, 1981, An Improved Medium for the In Vitro Rooting of Harbrite Peach, Fruit Varieties Journal, 36 (1), 15—17
- [9] Freddi Hammerschlag, 1980, Peach Micropropagation, 美国马里兰州组织培养学术讨论会资料。



照片1 在G培养基中培养6周的茎尖。



照片2 在100ppm IBA溶液中浸泡2小时后在无激素的 $\frac{1}{2}$ MS培养基中得到的完整植株



照片3 入土成活的小植株