

毛樱桃茎尖培养的初步研究*

董义虎 杨增海 胡霓云 路广明

(西北农业大学园艺系)

摘 要

本文研究了影响毛樱桃 (*Prunus tomentosa* Thunb.) 茎尖培养的有关因素。毛樱桃茎尖在MS, G, L三种培养基上均可增殖生长, 但以在L培养基中生长较好。在附加的六类激素中, 以IBA, BA最为有效, 适宜的浓度为IBA 1.0, BA 1.0或ZT 1.0。诱导生根以 $\frac{1}{2}$ L培养基附加 NAA 0.1较好, 削伤和暗培养可大大提高生根率。移栽入土前, 在0.1%克菌丹溶液中浸根5分钟可提高成活率。

关键词 毛樱桃; 茎尖培养; 增殖生长; 生根率; 成活率

应用茎尖培养进行大量繁殖的研究, 在果树 上已有不少报道^[1, 8]。在櫻桃中已有关于甜櫻桃、酸櫻桃茎尖培养的研究资料, 而对于抗寒、耐旱、适应性强, 可作为桃、李等矮化砧木的毛櫻桃, 仅见到由茎段诱导成愈伤组织的资料^[8], 尚未见到茎尖培养成苗的报道。本试验的目的是研究影响毛櫻桃茎尖增殖生长, 新梢生根与小植株入土存活的有关因素, 以便进一步为毛櫻桃‘工厂化’快速育苗提供依据。

材料和方法

从二至五年生毛櫻桃树上采取5厘米左右长的嫩梢, 经流水冲洗0.5—1小时, 用0.1%升汞表面消毒10分钟, 用无菌水冲洗2—3次后, 在超净工作台上切取0.5厘米的茎尖和带腋芽茎段, 接种到3%蔗糖的增殖培养基中, 待生长4—5周后, 把大于1厘米的新梢切下, 诱导生根, 其余作继代培养用。诱导生根采用三种方法: (1) $\frac{1}{2}$ L基本培养基 + NAA(萘乙酸); (2) $\frac{1}{2}$ L培养基 + NAA + 新梢基部削伤; (3) $\frac{1}{2}$ L + NAA + 黑暗处

* 本文曾得到北京植物研究所王伏雄、王玉英, 西北植物研究所潘景丽、东北农学院吴绛云以及本校王鸣、李嘉瑞等同志审阅, 并提出宝贵意见, 在此一并致谢。

本文于1985年11月30日收到。

理。生根培养基加入2%蔗糖,各培养基均加0.6%琼脂。培养基pH调至5.6—5.8,15磅灭菌20分钟。培养温度 $25^{\circ}\pm 2^{\circ}\text{C}$,光强1500—2000lux,每天16小时光照。

把新梢接入生根培养基中培养5周后,调查生根率,并对已生根植株,在室温下去掉试管塞锻炼2—3天,取出试管苗,洗去根上附着的培养基,移至盛有沙土的塑料钵中,在15—18℃下保湿培养1周,便逐渐提高温度到25℃。在温室中生长1个月后,移至散射的自然光下锻炼1—2周,再移到大田。遮荫5—7天后,进行正常田间管理。

试 验 结 果

一、不同培养基对茎尖增殖生长的作用

用L^[7]、G^[4]、MS三种培养基,附加ZT(玉米素)和IBA(吲哚乙酸 毫克/升)各1.0。第二次又比较了L和G两种培养基,附加BA(6-苄基氨基嘌呤)1.0,IBA0.5(表1)。结果表明,毛樱桃在这三种培养基上均可生长,对于增殖数目,它们之间无显著差异,而对于大于1厘米的新梢率,L培养基则明显优于G和MS培养基。在G培养基中,有些新梢叶片颜色淡黄,在MS培养基中,虽叶色正常,但长势较差。可见L培养基比较适合毛樱桃茎尖生长。

表1 不同培养基对毛樱桃茎尖增殖生长的影响

培养基	激素	ZT 1.0 + IBA 1.0			BA 1.0 + IBA 0.5		
	项目	接种数	平均每芽增殖数	>1cm新梢率(%)	接种数	平均每芽增殖数	>1cm新梢率(%)
L		42	1.1a	56.3a	35	3.2a	30.6a
G		33	1.1a	22.2b	35	2.9a	14.6b
MS		40	1.1a	16.7b			

注:表中字母系邓肯氏多重比较的差异性,0.05水平。

二、不同激素种类对茎尖增殖生长的影响

以L培养基为基本培养基,选用IBA,GA(赤霉素)、NAA,BA,ZT,K(激动素)六种激素进行试验。

1. 生长素和赤霉素的效果

用IBA,NAA,GA各0.5(毫克/升),并以不加者(A₀)为对照,各处理均加ZT1.0。结果如图1所示,芽增殖倍数、有效新梢率,均以IBA最好,GA次之,NAA因愈伤组织多,外植体中间部分膨大,故较差。

2. 几种细胞分裂素的作用

选用BA,ZT,K三种细胞分裂素各1.0,以不加者(C₀)为对照,各处理均加

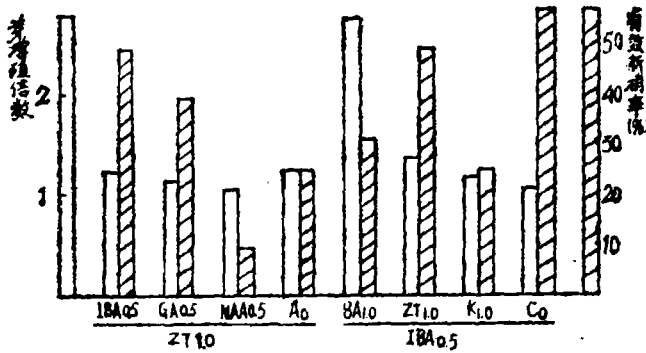


图1 不同激素对毛樱桃茎尖增殖生长的影响

IBA_{0.5}。其中以BA 1.0对芽增殖最为有效，它是对照的2.7倍，ZT和K次之。有效新梢率以ZT较高，但仍稍低于对照（见图1）。

以上试验结果表明，适合毛樱桃茎尖增殖生长的生长素以IBA为好，细胞分裂素以BA为好，ZT对增殖生长也有一定的促进作用。

三、不同激素浓度对茎尖增殖生长的影响

1. 不同浓度的ZT和IBA配合试验

在ZT（毫克/升）0.5、1.0、2.0和IBA 0.1、0.5、1.0各三个浓度组合试验中，以0.5—2.0毫克/升ZT和1.0毫克/升IBA为好，其中最好的组合为ZT1.0，IBA1.0。对照（即不加任何激素）只是芽萌发而已，即增殖比率还是1:1，且无有一个大于1厘米的有效新梢。而ZT1.0，IBA1.0的处理，芽增殖数是对照的1.5倍，且又有33.3%的有效新梢（见图2）。

2. 不同BA浓度对茎尖增殖和生长的效果

以L培养基为基本培养基、附加不同浓度的BA（0.0、0.5、1.0、2.0、3.0）均加入IBA1.0。凡加入BA者，每芽平均增殖倍数均在2.5以上。其中以BA1.0最高，平均每芽可增殖3.3倍，而增殖最多的一个芽可达10倍。在BA2.0和3.0中，有些形成了小芽丛，但未明显分离。有效新梢率以BA0.5最高（26.3%），其次为BA1.0（16.7%），在BA2.0以上，几乎无明显长高的新梢（见图3）。

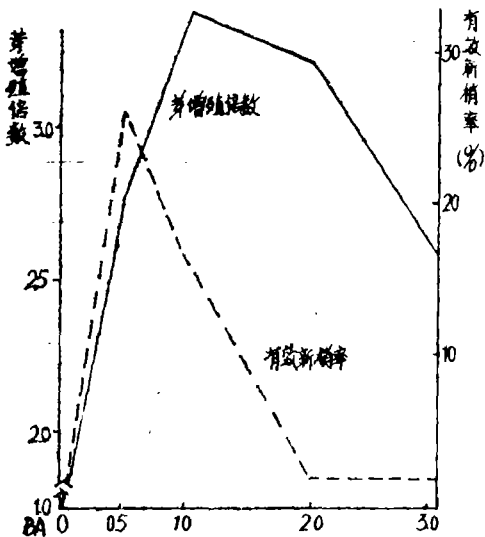


图3 不同BA浓度对茎尖增殖和生长的效果

四、诱导生根

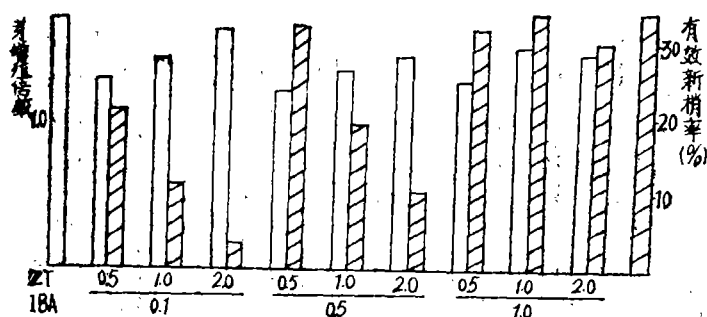


图2 ZT和IBA不同浓度对增殖和生长的影响

1. 不同浓度的NAA对生根的效果

以 $\frac{1}{2}$ L培养基附加不同浓度的NAA (毫克/升) (0.0、0.1、0.25、0.5、1.0) 结果表明, 不加NAA, 则无根的形成, 附加NAA 0.1—1.0都可诱导生根, 但随NAA浓度的提高, 生根率有降低趋势, 其中以NAA 0.1和0.25生根率高, 即分别为65.4%和63.6%, 且根生长正常。NAA 0.5的处理, 愈伤组织多, 到NAA 1.0时, 根短而粗。第二次又比较了NAA 0.1和NAA 0.25这二个浓度, 这次在新梢基部一面削伤3—5毫米, 结果同前, 还以NAA 0.1的处理生根率最高, 即为70% (见表2)。

表2

NAA浓度对生根的影响

处理	NAA浓度	接种数	生根率 (%)	平均根条数
I	0.0	28	0	0
	0.1	26	65.4	3.1
	0.25	22	63.6	5.3
	0.5	25	52.0	3.8
	1.0	20	50.0	5.9
I (削伤)	0.1	30	70.0	2.0
	0.25	31	64.5	2.1

2. 不同光暗处理及削伤对生根的影响

以 $\frac{1}{2}$ L为基本培养基, 附加NAA 0.1, 进行不同的光暗处理。全黑暗处理是在新梢接入生根培养基后, 立即放在黑暗条件下培养12天, 以后再放到每天16小时的光照下培养, 另以不经过黑暗培养者为对照, 结果表明黑暗处理提高了生根率, 最高者可比对

照提高20%，而对根条数的多少无影响。在全黑暗下培养 并在新梢一侧削伤 处理，生根率达到了100%（见表3）。另外，黑暗处理根出现较早，在接后10天就可见到根长出，比对照可提早两天。在接后十二天调查，黑暗处理生根率为93.5%，而一般光暗处理生根率仅47.1%。由此可见，黑暗处理，有利于根的发生。在削伤处理中，采用一面削伤（马耳形，斜面长3—5毫米）和两面削伤（楔形），并以不削伤为对照，削伤明显提高了生根率，一面削伤和两面削伤均比对照分别提高18.3%和31.6%（见表3）。

表3 不同光暗和削伤处理对生根的影响

光周期	削伤	接新梢数	生根率 (%)	平均根条数
全黑暗	一面削伤	31	100a	3.8a
	两面削伤	42	97.6a	2.8b
光：暗 16：8 (小时)	未削伤	25	62.5c	2.5b
	一面削伤	52	80.8bc	2.6b
	两面削伤	34	94.1ab	3.4ab

注：表中数字为接入新梢后 1 个月的调查资料。

五、试管苗移栽入土

把在试管中培养了一个月以上生了根的小植株取出，移栽到盛有沙土的塑料钵中，五周后统计成活率，试验结果见表4。由表4可知，用0.1%克菌丹和代森锌浸5分钟的处理，其生根率分别比对照高24.9%—33.7%，其中以0.1%克菌丹浸5分钟效果最好，成活率达85%。另外，移栽时根系较发达者（根长大于1厘米，根条数多于三条）比根较小者成活率可提高18.2%。

表4 不同处理对入土成活的影响

处	理	移栽数	成活率 (%)
药浸根	克菌丹	20	85.0***
	代森锌	21	76.2**
未浸根	对照	39	51.3
	大根	22	68.2*
	小根	8	50.0

注：* 0.2水平。
** 0.1水平。
*** 为与对照相比的差异性0.05水平（t测验）。

把塑料钵中移栽成活后的小植株,经在室外锻炼适应后,带土移至大田,其成活率为100%。

讨 论

1.毛樱桃茎尖在MS、L、G三种培养基上经两次试验表明,L培养基的有效新梢数比MS、G培养基都高一倍以上,证明L培养基对毛樱桃的试管繁殖是适用的。L培养基的最大特点是降低了 NH_4NO_3 含量(400),是MS培养基的1/4,用 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ (1200)代替了 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$,另外,大大降低了 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1.0)和KI(0.08)的含量。

2.一般认为^[5,8]细胞分裂素和生长素对于茎尖增殖与生长是必须的,正确精选这两类激素,并调整其浓度对达到最大数量的繁殖体则又是必要的,不同的树种要求各异。我们在六种激素试验中发现,BA和IBA对毛樱桃茎尖增殖与生长最为有效,其最适浓度为IBA1.0和BA1.0,最高的增殖比率可达10:1。

3.在 $\frac{1}{2}$ L培养基附加NAA0.1的基础上,对毛樱桃新梢基部削伤,可提高生根率,这与Snir^[9]对甜樱桃的试验结果相同。可见,削伤是提高樱桃类试管生根的一个有效手段。另外,在黑暗中培养十二天,比在一般光暗(16/8)条件下生根率高,且生根较早,但有些生根的小植株叶片发黄,如果减少黑暗处理时间,可能有利于小植株正常生长,这还有待进一步试验。

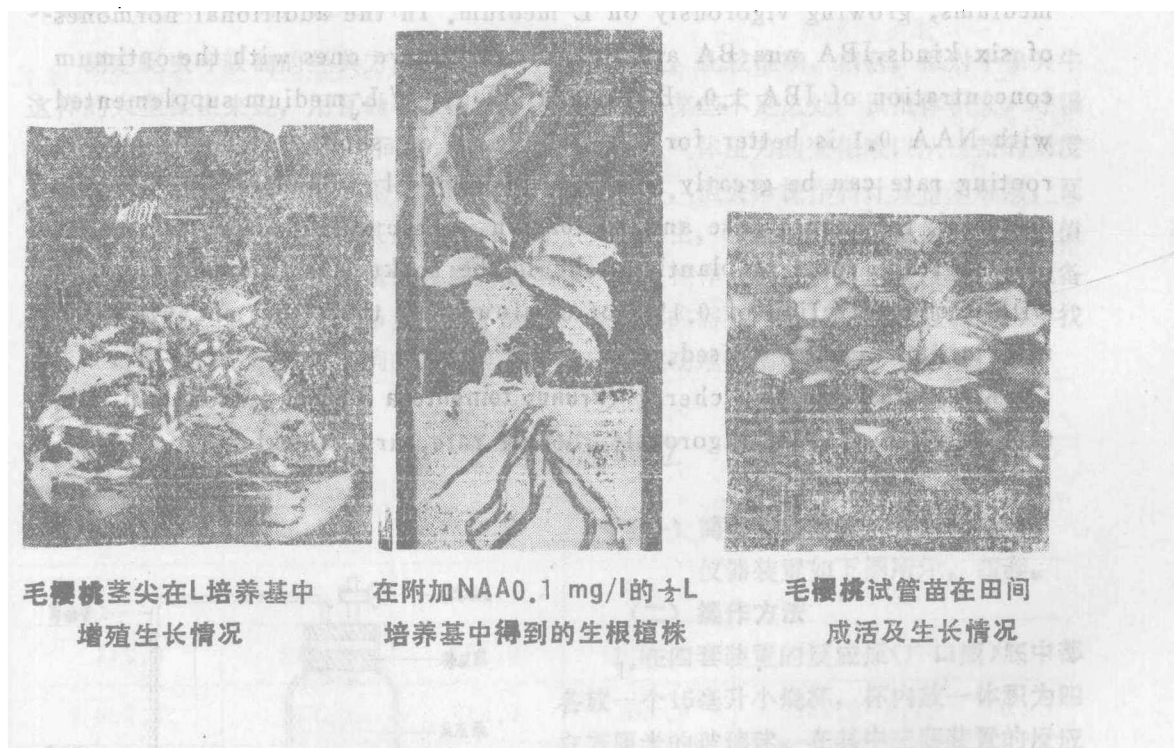
4.对于提高试管苗移栽入土的成活率,目前还存在着很大问题,且这方面报道尚少^[5]。有人研究了桃胚培养苗的入土成活问题,认为用0.1%代森锌浸根可提高成活率^[3],昼夜温差与幼苗成活率之间高度相关^[2]。我们发现用药剂处理同样对茎尖培养苗有效。另外,凡小植株根系大(尚未变褐)叶片多且完整者,并给以高湿低温(RH95—100%, 15—18℃)则有利于成活。

参 考 文 献

- [1] 杨乃博: 试管植物名录,《植物生理学通讯》,1982年,第4期,第61页。
- [2] 徐祝英、庄恩及: 果树试管苗移栽技术研究,《上海农业科技》,1982年,第3期,第26—27页。
- [3] 杨增海、胡霓云、路广明: 早熟桃胚培养的研究,《西北农学院学报》,1983年,第1期,第15—24页。
- [4] 杨增海、胡霓云、路广明: 桃的茎尖培养,《西北农学院学报》,1984年,第1期,第13—19页。
- [5] Anderson, W.C.: Mass propagation by Tissue Culture: principles and practice, Proceedings of the Conference on Nursery Production of Fruit Plants Through Tissue Culture-Applications and Feasibility, 1980: 1~10.

- [6] Cossio, F., In vitro propagation of Viadimir Sour cherry, Hort. Ab 52(5)1982: 258 (仅见摘要)。
- [7] Hammerschlag, F. Micropropagation of peach, proceedings of the Conference on Nursery production of Fruit plants through Tissue Culture-Applications and Feasibility, Beltsville Maryland, 1980, 52.
- [8] Skirvin, R. M.: The tissue culture of fruit crops Cloning agricultural plants via in vitro techniques, Chemical Rubber Comp. Pr., Florida, 1981.
- [9] Snir, I.: In vitro propagation of sweet cherry cultivars, Hort-Sience, 17(2)1982: 192.

附照片



毛樱桃茎尖在L培养基中
增殖生长情况

在附加NAA0.1 mg/l的1/2L
培养基中得到的生根植株

毛樱桃试管苗在田间
成活及生长情况

A Preliminary Research on Shoot Tip Culture of Manchu Cherry (*Prunus tomentosa* Thunb.) in Vitro

Dong Yihu Yang Zenghai Hu Niyun Lu Guangming
(Horticultural Department of Northwestern Agricultural University)

Abstract

This paper deals with some factors affecting shoot tip culture of Manchu cherry (*Prunus tomentosa* Thunb.) in vitro. Manchu cherry shoot tips can propagate on such three kinds of mediums as MS, G and L mediums, growing vigorously on L medium. In the additional hormones of six kinds, IBA and BA are the most effective ones with the optimum concentration of IBA 1.0, BA 1.0 or ZT 1.0. $1/2$ L medium supplemented with NAA 0.1 is better for the induction of shoot propagation. The rooting rate can be greatly improved by a basal wound on one or two sides of the shoot base and incubation in the dark, prior to transplanting, the roots of plantlets should be soaked in Captan solution with a concentration of 0.1% for 5 minutes so that the survival rate may be increasingly raised.

Key words: Manchu cherry (*Prunus tomentosa* Thunb.), shoot tip culture in vitro growing vigorously, rooting rate, survival rate