

大山楂成年树茎尖的离体培养 *

张巨祥 汪婉芳

(河北省科学院生物研究所)

大山楂(*Crataegus pinnatifida* Bge. var. *major* N. E. Br.)为山楂的变种，各地栽培的山楂，都以此变种为主^[4]。至今用组织培养方法培养成功的事例，国内外尚未见报道^[3]。近年来，涣光^[6]、王玉英^[1]、王际轩^[2]等，分别培养了山楂(*Crataegus pinnatifida*)茎尖和实生苗茎尖，並能加速繁殖，但是，用上述材料所繁殖出来的苗木，仍须嫁接大山楂才能获得优良植株。

我们从1982年开始，进行大山楂成年树茎尖的离体培养试验研究，已经得到了大量丛生试管苗和生根试管苗，并且移栽成活，至今已经继代培养了7—8次，仍然保持着旺盛的分化能力，培养40—50天，平均每个幼芽增殖6倍，最高可达15倍以上。

材料、方法和结果

(一) 试验材料的准备和茎尖的初代培养

初代培养指外植体茎尖第一次培养。春季取15年树令的大山楂枝条，催芽后切成为1—2厘米长的带芽茎段，放入0.1%HgCl₂溶液或饱和漂白粉上清液中，进行表面的消毒，在无菌条件下用无菌水冲洗4—5次。切取芽端(约3—5毫米)，接种在：(1) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.5毫克/升、蔗糖3%，(2) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.5毫克/升、蔗糖5%，(3) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.1毫克/升、蔗糖5%，pH值均为6.0、琼脂为6.0克/升的三种培养基上，每种

培养基接种70个茎尖，放置在夜温19±2℃，昼温27±2℃下培养，光照强度为1500Lux，每天光照10小时，培养35天后调查成活率与分化率。结果表明：在(1)号培养基上接种的70个茎尖，全部干枯死亡。(2)、(3)号培养基茎尖成活率分别为75%和82%，分化率分别为82%和78%，平均每个茎尖所分化的不定芽数分别为3.1个和2.7个。因此认为，大山楂成年树茎尖初代培养时，3%的蔗糖是不足的，必须提高蔗糖的浓度。所以在含有蔗糖为5%的(2)、(3)号培养基上，表现了很好的诱导成活和分化的效果。还可以看出，在(2)、(3)号培养基里的IAA由0.1毫克/升增至0.5毫克/升，对大山楂成年树茎尖初代培养的成活率，分化率及每个茎尖所分化的不定芽数，似乎没有多大影响。

(二) 继代培养

外植体茎尖初代培养，大约培养40—50天，就可以分化成丛生不定芽。这些不定芽都有不同程度的伸长。此时，选取粗细、健壮一致的2—3毫米长的不定芽，转接到下列5种培养基上，每种培养基接种30个幼芽，放置在与初代培养相同的条件下，进行继代培养，培养36天后，调查分化率、分化不定芽数及有效苗的百分率(指大于1.5厘米的不定芽数占总不定芽数的百分比)。

五种培养基是：

- (1) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.5毫克/升、蔗糖5%
- (2) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.1毫克/升、蔗糖5%
- (3) MS + 6-BA2毫克/升 + IAA0.3毫克/升、蔗糖4%
- (4) MS + 6-BA1毫克/升 + IAA0.5毫克/升、蔗糖4%
- (5) MS + 6-BA1.5毫克/升 + IAA0.1毫克/升、蔗糖3%

* 张慧茹同志参加试验工作，试验材料由河北省果树所都保春同志鉴定，一并致谢！

pH值为6.0，琼脂为6.0克/升

结果表明：幼芽在五种培养基上都能成活和分化，平均每个幼芽所分化的不定芽数除(4)号培养基略低以外，其余四种培养基能达到5个以上，其中(5)号培养基最好，平均每个幼芽分化6.4个不定芽，最高可达14个。但是，在这个培养基上所分化的不定芽，簇生过于密集，不易伸长，大于1.5厘米的有效苗只有0.8%；(3)号培养基平均每个茎尖所分化的不定芽为5.1个，但大于1.5厘米的有效苗却占总芽数的47%，是其它几种培养基的3倍至几十倍。因此，在继代培养时，若要以加速繁殖为主要目的，增加不定芽数目，则应使用(5)号培养基。如果既要繁殖，又要得到有效苗，则使用(3)号培养基。另外，大量试验表明，继代培养的幼芽，以切取3—5毫米长的小芽和苗端最有利于分化不定芽，而且所分化的不定芽生长整齐。如果切取的幼芽在7毫米以上，则分化不定芽的速度慢，数量少，上、下不定芽的大小很不一致。每次继代的间隔时间，一般需要40—50天，如此周而复始地继代下去，可以进行若干代。

(三) 生根培养

切取1—1.5厘米高的健壮无根幼苗，接种在含有IAA(0、1.0、1.5、2.0毫克/升)的改良1/2MS培养基上(去掉碘化钾、肌醇、铁盐不减半)，以1/2MS(铁盐不减半)附加IAA 1.5毫克/升的培养基为对照，蔗糖均为2%，pH为6.0。每种培养基接种30个无根幼苗，在与上述相同的条件下，培养30天，比较各培养基的生根效果。结果表明，大山楂无根幼苗在改良的1/2MS培养基中，不加任何生长素时，都不能生根，附加1.5毫克/升的IAA生根率最高，可达83%。附加1.0和2.0毫克/升的IAA生根率则为40%和26%；而在没有改良的1/2MS培养基上，附加1.5毫克/升的IAA，只有7.7%的生根率，比改良的培养基低10.8倍。因此认为，在1/2MS培养基中，完全去掉碘化

钾和肌醇，附加1.5毫克/升的IAA，对大山楂无根幼苗生根是适宜的。

(四) 移栽

无根幼苗在生根培养基上约培养25—30天，根长达1厘米左右，此时打开培养瓶盖子，锻炼2—3天后，进行移植。夏天为了防止高温，可将生根幼苗移植在遮荫的育苗池内“假植”，待小苗逐渐长出3—4片新叶时，移出育苗池进行露地“定植”。冬天可在温室移植。移植基质以普通砂性土壤为好，移植后，温度保持在20—25℃效果最好。试验表明，土壤温度过高，小苗容易腐烂。温度若低于20℃，幼苗生长缓慢。温度低于15℃时，幼苗则会停止生长，叶片逐渐变红而脱落，最终干枯而死亡。移植后5天内要用塑料薄膜复盖，保持湿度在90%以上，5天以后逐渐打开塑料薄膜，10天后则可完全去掉。

讨论

大山楂无根幼苗诱导生根比较困难，我们曾在培养中附加活性炭、根皮昔、间苯三酚，基质曾用过河砂、蛭石等，结果效果都不理想。由于发现碘化钾抑制杜鹃花根的分化¹⁷，肌醇有抑制棉花根生长的效应¹⁵，故在1/2MS培养基中(铁盐不减半)，完全去掉了碘化钾和平肌醇，结果使大山楂无根幼苗的生根率由1/2MS的7.7%提高到83%，提高10.8倍。这说明肌醇和碘化钾对大山楂无根幼苗生根同对杜鹃花和棉花一样，有抑制作用。但碘化钾和肌醇，谁起主导作用，仍需进一步试验研究。

参考文献

- [1] 王玉英、高新一，1982，中国农业科学，(1)：24—28。
- [2] 王际轩等，1982，园艺学报，(4)：7—9。
- [3] 王际轩，1983，山西果树，(1)：29—34，(2)：40—41。
- [4] 刘治兴、刘兵，1980，辽宁人民出版社，丹东，5—26。
- [5] 沈曾佑、张圣章、颜季琼，1982，植物生理学报，4(2)：183—187。
- [6] 澳光、汪景山，1981，植物生理通讯，(4)：43。
- [7] Anaerson W. C. (蒲富慎译)，1980(1981)，国外农学—果树，(3)：1—6。