

绒柏的组织培养和植株再生

王建华¹ 齐力旺¹ 韩素英^{1,2,*}

中国林业科学院¹ 林业研究所细胞生物学实验室, ² 森林生态环境与保护研究所, 北京 100091

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Chamaecyparis pisifera* cv. 'Squarrosa'

WANG Jian-Hua¹, QI Li-Wang¹, HAN Su-Ying^{1,2,*}

¹Laboratory of Cell Biology, Research Institute of Forestry, ²Research Institute of Forestry Ecology, Environment and Protection, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China

1 植物名称 绒柏(*Chamaecyparis pisifera* cv. 'Squarrosa')。

2 材料类别 四年生盆栽的一年生茎段。

3 培养条件 所用培养基及激素为: (1) MS+6-BA 0.2 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.5+2, 4-D 0.75+尿素 60; (2) MS+ 6-BA 3.5+NAA 0.3+2, 4-D 0.8; (3) MS+6-BA 3.5+IBA 0.5+NAA 0.5+ 尿素 80; (4) MS+6-BA 2+NAA 0.05+IBA 0.05+LH 50+VC 5; (5) MS+6-BA 3+NAA 0.2+LH 80+VC 40 +AC 1.5 g·L⁻¹; (6) MS+6-BA 0.2+NAA 0.2+IBA 0.1; (7) MS+6-BA 0.5+NAA 1+IBA 0.1; (8) MS+KT 0.3+IBA 0.2+2, 4-D 1.8。培养基中蔗糖(1)为3.5%, (2)、(8)为4%, (5)为2.5%, 其余均为3%; 琼脂0.7%; pH 5.7。培养温度为(24±4)℃; 光照时间14 h·d⁻¹, 光强在起始和继代培养时为20~32 μmol·m⁻²·s⁻¹, 生根培养时为40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 诱导培养 3月中旬, 采取绒柏树冠中上部茎段, 用水洗净, 切成3~5 cm长的茎段, 用70%酒精浸泡15 s, 0.05%的氯化汞消毒7 min, 无菌水冲洗4次。切去少许外植体切口, 然后切成0.6~1.0 cm长, 接种于培养基(1)~(5)上, 每瓶接种4~6个外植体。7~10 d后, 外植体萌动生长; 经20 d, 培养基(1)上的外植体基部产生少许愈伤组织, 每个外植体有3~5个丛生芽分化, 培养基(2)、(3)上的正常生长, 不产生愈伤组织; 培养基(4)、(5)上的则有针叶变态现象, 基部产生棕褐色愈伤组织。

4.2 增殖与壮苗培养 培养基(1)上的丛生芽和培养基(2)、(3)上不定芽转接于培养基(6)上, 正常伸长生长, 基部很少产生愈伤组织, 约30 d后,

直接生根培养。培养基(4)、(5)上的虽有针叶变态现象, 但分化频率高、效果好, 可作为增殖培养。其中培养基(5)的效果最好, 颜色嫩绿, 45 d后, 平均高为4.3 cm。

4.3 继代培养 绒柏分化培养特征是有针叶变态现象, 先为苞片状, 后膨大为菜花状, 至此试管苗不再伸长。培养基(4)、(7)上有此现象可重新转接于培养基(5)上, 25 d后, 转接于培养基(6)上进行恢复培养, 再转接于生根培养。

4.4 生根培养 将不定芽剪成1.5~2.0 cm的茎段, 转接于培养基(8)上。12 d后, 明显伸长, 基部有不定根突出; 20 d后有根长出; 约40 d, 明显形成白色粗壮根, 根长2~4 cm, 生根率为85%左右。

4.5 移栽 绒柏嫩茎生根后, 开瓶炼苗, 洗净根部琼脂, 用100 mg·L⁻¹的多菌灵溶液浸蘸一下根部, 然后移栽于灭菌后的蛭石、砂土(1:2)的基质中, 适当遮荫, 约20 d后再移植于砂土中, 成活率可达90%以上。

5 意义与进展 绒柏是重要的园林绿化树种, 其盆栽更具有观赏和经济价值。近10年来, 裸子植物的离体培养取得了巨大的进展。但我国关于园林裸子植物组织培养技术报道甚少。本文结果可供绒柏组织培养和快速繁殖参考, 绒柏的组织培养和快速繁殖未见报道。

收稿 2005-05-30 修定 2005-08-09

资助 国家转基因与产业化专项(J2002-B-005、JY03-B-28-02)和国家林业局“948”项目(98-4-04-02)。

*通讯作者(E-mail: syhanqi@yahoo.com.cn, Tel: 010-62888882, Fax: 010-62872015)。