

喜树不定芽的诱导及植株再生

陈颖* 曹福亮 李淑娴 谢寅峰

南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037

Adventitious Bud Induction and Plantlet Regeneration of *Camptotheca acuminata*

CHEN Ying*, CAO Fu-Liang, LI Shu-Xian, XIE Yin-Feng

College of Forest Resource and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037

1 植物名称 喜树(*Camptotheca acuminata*), 别名旱莲木。

2 材料类别 一年生喜树带芽茎段。

3 培养条件 芽诱导培养基: (1)MS+NAA 0.05 mg·L⁻¹(单位下同)+6-BA 1.0。芽增殖培养基: (2)MS+NAA 0.1+6-BA 0.5; (3)MS+NAA 0.1+6-BA 1.0; (4)MS+NAA 0.1+6-BA 2.0; (5)MS+NAA 0.5+6-BA 0.5; (6)MS+NAA 0.5+6-BA 1.0; (7)MS+NAA 0.5+6-BA 2.0。壮苗培养基: (8)MS+NAA 0.05+6-BA 0.1~0.5。生根培养基: (9)1/2MS+NAA 0.1+IBA 1.0; (10)1/2MS+NAA 0.5+IBA 1.0; (11)1/2MS+NAA 1.0+IBA 1.0。以上所有培养基均附加6.5 g·L⁻¹琼脂、30 g·L⁻¹蔗糖, pH值为5.9。培养温度为(25±2)°C, 光照度为1000~2000 lx, 光照时间14 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 茎段腋芽的诱导 剪取一年生喜树枝条, 去叶, 洗净, 流水冲洗4 h, 70%酒精消毒30 s, 无菌水冲洗后用0.1% HgCl₂消毒4~5 min, 消毒时加1~2滴吐温-20。无菌水冲洗4~5次, 无菌滤纸吸干水分, 剪成1 cm左右带一个芽的茎段, 接种在灭过菌的芽诱导培养基(1)上。1周后腋芽萌发, 叶片展开; 20 d后小枝长6 cm, 诱导成活率达92%。

4.2 不定芽的诱导 将培养基(1)上诱导的枝条切成0.8~1 cm带芽茎段, 接种在芽增殖培养基上, 7 d后腋芽开始萌发, 继而在芽基部产生大量不定芽丛, 每个芽丛3~4个不定芽。在培养基(2)、(5)(低浓度6-BA 0.5 mg·L⁻¹)上, 芽的增殖是从长高芽的叶腋处长出, 少部分从基部长出, 增殖倍数为2.0~4.0; 在(3)、(4)、(6)、(7)含高浓度6-BA(1.0~2.0 mg·L⁻¹)的培养基上, 芽增殖方式是从膨大的基部分化的, 产生的不定芽又会产生更多的不定芽和腋芽, 增殖倍数达7.0~15.0。有的不定芽丛充满整个茎段, 体积达5 cm³, 芽总数可达

几十个甚至上百个。整个组织块上可以看到许多原有的叶片黄化、干化, 将其剥去后看到无数小芽丛, 高0.1~0.5 cm。从整个生长情况来看, 培养基(6)为最佳培养基。

4.3 壮苗培养 为了获得既长得高又较绿的优质芽苗, 采用两步分化方法, 即先选用培养基(6)诱导大量的不定芽, 然后切取0.5 cm³左右、带有众多小芽的组织块转接到壮苗培养基(8)中。组织块上的小芽能够正常生长, 苗较绿, 每块可产生有效苗(2~3 cm)多达5~6个, 芽苗20 d后可长至3 cm左右。

4.4 根的诱导 芽苗长至3~4 cm时转到生根培养基中, 在培养基(9)(NAA 0.1+IBA 1.0)上生根最早而多, 接种后第4天就有根长出, 其它在10 d左右也有根长出。生根率最高达95%。

4.5 炼苗及移栽 将生根后15 d的再生植株, 去掉封口膜, 炼苗3~5 d, 然后移栽于蛭石与营养土混匀的基质上, 用塑料薄膜封盖, 注意保湿。10 d后苗木成活, 长势较好, 成活率达80%以上。

5 意义与进展 喜树属珙桐科旱莲木属植物, 是我国南方特有的树种, 落叶乔木。从喜树的皮中分离出的喜树碱(camptothecin, CPT)和10-甲氧基喜树碱具有抗癌活性, 已成为继红豆杉之后的第2个重要的木本抗癌药用植物。喜树碱过去一直是从成年喜树上采集果实或从根皮中提取。现在的研究证明, 组织越幼嫩, CPT含量越高。喜树嫩叶中CPT的含量是种子中的1.5倍、树皮中的2.5倍。说明喜树原料生产应以获取尽可能多的幼嫩叶片为目的, 组织培养将有可能成为实现喜树工厂化快繁育苗的有力手段。经检索, 喜树的组织培养在国外已有报道, 但在国内尚未见。

收稿 2003-11-13 修定 2004-07-06

* E-mail: chenying@njfu.edu.cn, Tel: 025-85427323