

## 绒柏的组织培养和植株再生

王建华<sup>1</sup> 齐力旺<sup>1</sup> 韩素英<sup>1,2,\*</sup>

中国林业科学院<sup>1</sup> 林业研究所细胞生物学实验室, <sup>2</sup> 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-Hua<sup>1</sup>, QI Li-Wang<sup>1</sup>, HAN Su-Ying<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Cell Biology, Research Institute of Forestry, <sup>2</sup>Research 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<sup>-1</sup> (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<sup>-1</sup>; (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<sup>-1</sup>, 光强在起始和继代培养时为 20~32 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 生根培养时为 40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

### 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 分化培养** 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<sup>-1</sup> 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)。