

紫花苜蓿胚状体形成中的二次诱导

庞晓斌* 李彦航

吉林大学植物科学学院, 长春 130062

Second Inducement in *Medicago sativa* L. Embryoid Inducement

PANG Xiao-Bin*, LI Yan-Fang

College of Plant Science, Jilin University, Changchun 130062, China

1 植物名称 紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.)。

2 材料类别 下胚轴。

3 培养条件 (1) 胚状体诱导培养基: UM+KT 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同)+2, 4-D 10.0+脯氨酸 2 300+葡萄糖 30 000; (2) 胚状体增殖培养基: MS+2, 4-D 0.4; (3) 生根培养基: 1/2MS+NAA 0.05+IBA 0.5。以上培养基均加入 7.0% 的琼脂, pH 5.8。培养温度为 (25±2) °C, 光照时间 12 h·d⁻¹, 光强为 30 μmol·m⁻²·s⁻¹ 左右 (周俊彦和郭扶兴 1996)。

4 生长与分化情况

4.1 外植体的获得 种子在无菌条件下, 用 75% 的乙醇消毒 10 min, 再用 0.1% 的升汞溶液浸泡 15 min, 最后无菌水冲洗 4~5 次, 接种于 1/2MS 培养基中。温度 (25±2) °C, 光照时间 16 h·d⁻¹, 光强为 36~50 μmol·m⁻²·s⁻¹。5~6 d 后, 诱导出幼苗, 以未出真叶时的下胚轴为外植体。

4.2 胚状体的诱导 下胚轴接种在培养基 (1) 上暗培养 30 d 后, 仅呈浸润状的愈伤组织是胚性愈伤; 光照培养 7 d 后, 胚性愈伤组织表面出现大量淡绿色突起, 形成球形胚前体; 再转接到 MS₀ 上, 经过 15 d 的培养, 球形胚前体进一步发育, 形成光学显微镜下可见的球形胚、心形胚、鱼雷胚和子叶胚 (张万军和王涛 2002), 胚状体的诱导率达到 26.54%。

4.3 二次诱导的胚状体诱导率 以成熟的子叶胚为外植体, 切割成直径为 0.2~0.5 cm 大小的试材, 重新接种于培养基 (1) 上进行二次诱导。30 d 后, 这些外植体全部形成胚性愈伤组织; 光照培养 7 d 后, 转接到 MS₀ 上; 15 d 后, 胚状体的诱导率均达到 100%, 明显优于第 1 次的胚状体诱导率 (26.54%), 且胚状体的生长状态良好。重复 3

次, 结果一致。前后 2 次诱导显示, 成熟子叶胚状体的诱导率明显高于下胚轴的诱导率, 这跟成熟子叶胚组织幼嫩, 且大多细胞均处于高度分化状态相关 (袁澍等 2003)。

4.4 胚状体增殖 将球形胚移入培养基 (2), 每 15 d 继代增殖 1 次。增殖过程中, 及时把大量胚状体分割, 否则, 胚状体成簇生长, 互相竞争营养, 造成畸形。

4.5 试管苗根的诱导 将成熟的子叶胚转入 MS₀ 培养基, 待幼苗长到 2~3 cm 时, 转入培养基 (3) 上进行生根诱导。20 d 后, 生根率达到 90% 以上。

4.6 炼苗与移栽 待根长到 2~3 cm 时, 去掉封口膜, 温室内炼苗 4~5 d。取出生根苗, 洗净根部的固体培养基, 移入珍珠岩基质中。塑料薄膜覆盖, 温度 20~22 °C, 光照时间 12 h·d⁻¹, 光强 30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 保持基质湿润。20 d 后移栽到含腐植质的花盆中, 30 d 后, 成活率达 90% 以上。

5 意义与进展 紫花苜蓿在组织培养时分化率低, 一直是令人困扰的限制因素。本文采用二次培养方法, 结果紫花苜蓿胚状体的诱导率达到 100%, 从而解决了紫花苜蓿胚状体诱导率不高的问题, 同时也为植物胚状体再生体系的建立提供了新的思路。

参考文献

- 袁澍, 贾勇炯, 林宏辉 (2003). 诱导植物体细胞胚发生的几个生理因素. 植物生理学通讯, 39 (5): 508~512
张万军, 王涛 (2002). 紫花苜蓿愈伤成苗高频再生体系的建立及其影响因素的研究. 中国农业科学, 35 (12): 1579~1583
周俊彦, 郭扶兴 (1996). 细胞分裂素类物质在植物体细胞胚发育中的作用. 植物生理学通讯, 32 (4): 247~253

收稿 2005-09-12 修定 2005-12-26

* E-mail: pxb0411@163.com, Tel: 010-66248735