

## 野牛草成熟胚离体培养及植株再生

钱永强<sup>1</sup> 孙振元<sup>2,\*</sup> 冯霞<sup>2</sup> 李云<sup>1</sup> 韩蕾<sup>2</sup>

<sup>1</sup>北京林业大学生物学院, 北京 100083; <sup>2</sup>中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091

### *In vitro* Culture and Plantlet Regeneration from Mature Embryo of *Buchloe dactyloides* (Nutt.) texoka

QIAN Yong-Qiang<sup>1</sup>, SUN Zhen-Yuan<sup>2,\*</sup>, FENG Xia<sup>2</sup>, LI Yun<sup>1</sup>, HAN Lei<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Biological Sciences, Beijing Forestry University, Beijing 100083; <sup>2</sup>Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091

**1 植物名称** 野牛草 [*Buchloe dactyloides* (Nutt.) texoka]。

**2 材料类别** 成熟胚。

**3 培养条件** (1)愈伤组织诱导培养基 MS+2, 4-D 1.5~6.0 mg·L<sup>-1</sup>(单位下同)+6-BA 0.1+脯氨酸1 000+水解酪蛋白(CH) 500+谷氨酰胺500+ α-酮戊二酸100+硫代硫酸银(STS) 5; (2)愈伤组织继代培养基: MS+3/2MS(有机)+2, 4-D 2.5+6-BA 0.1+CH 1 000+聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 200或维生素C(VC) 200; (3)再生培养基: 不附加任何植物生长调节物质的MS基本培养基(MS<sub>0</sub>)。所有培养基中均添加3%蔗糖、0.56%琼脂, pH 5.8。愈伤组织诱导及继代培养为暗培养, 不定芽分化及植株再生过程中光照12 h·d<sup>-1</sup>, 光照度为1 500 lx, 培养温度为(25±1)℃。

**4 生长与分化情况**

**4.1 无菌材料的获得** 以成熟种子为外植体, 剥除颖后, 用洗涤剂将种子洗刷干净, 70%酒精浸泡60 s后, 无菌水冲洗, 再用75% NaClO原溶液(含有效氯7%~10%)浸泡15~30 min, 无菌水冲洗5~6次, 接种到愈伤组织诱导培养基中。

**4.2 愈伤组织的诱导与继代培养** 在诱导培养基中培养3 d后, 种子发芽, 将芽切成长约3 mm的组织块, 转接到原诱导培养基中。暗培养10 d后, 各组织块两端形成暗白色、结构疏松的愈伤组织。培养15 d后, 愈伤组织明显增大, 并有部分愈伤组织开始褐化。将愈伤组织转移到添加PVP 200或VC 200的继代培养基中暗培养20 d后, 添加STS所诱导的愈伤组织表面长出淡黄色

松脆的新愈伤组织。

**4.3 愈伤组织分化及植株再生** 将继代培养20 d后的愈伤组织转入再生培养基MS<sub>0</sub>中, 光下培养30 d后发现, 有10%的愈伤组织形成芽点, 单块愈伤组织形成芽点数平均为15个。继续培养至第40天, 芽点发育成健壮的不定芽, 并均有少量不定根形成。

**4.4 生根与移栽** 将从生芽转入新鲜MS<sub>0</sub>培养基中, 培养10 d左右, 每个不定芽基部长出3~4条长约2 cm的白色根。生根再生植株炼苗7 d后, 将小苗移出, 洗净再生苗根部残留培养基, 栽植到珍珠岩、蛭石、草炭土各1/3的基质中, 适当遮阴, 保持湿度为80%~90%, 温度控制在25℃左右。20 d后即可成活, 成活率达92%。

**5 意义与进展** 野牛草属禾本科野牛草属, 又名水牛草, 原产北美中部半干旱地区。是一种耐寒、耐热、抗旱, 且在低护养水平下能保持优良品质的重要暖季型多年生低矮草坪草。极具抗旱性是其最突出的特征之一, 它能在极端干旱时进入休眠状态, 一旦条件适宜又迅速恢复生长。在我国华北、西北和东北等地都有大面积成功引种。以野牛草成熟胚为外植体建立再生体系, 外植体取材可不受季节及采集时间限制。野牛草成熟胚获得再生植株尚未见报道。

收稿 2003-11-21 修定 2004-03-29

资助 国家高技术研究发展计划(863计划)“优质抗逆草坪草早熟禾等新品种选育”(2002AA24061)。

\*通讯作者(E-mail: sunzy@forestry.ac.cn, Tel: 010-62889626)。