

中华结缕草成熟胚的离体培养再生植株

韦善君¹ 孙振元^{2,*} 钱永强³ 余龙江¹ 韩蕾²

¹华中科技大学生命科学学院, 武汉 430074; ²中国林业科学研究院生物技术实验室, 北京 100091; ³北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083

Plant Regeneration from Mature Embryo of *Zoysia sinica* in vitro

WEI Shan-Jun¹, SUN Zhen-Yuan^{2,*}, QIAN Yong-Qiang³, YU Long-Jiang¹, HAN Lei²

¹College of Life Sciences, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan 430074; ²The Laboratory of Biotechnology, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091; ³College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083

1 植物名称 中华结缕草(*Zoysia sinica*)。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 基本培养基为改良MS(MSm): MS无机盐+核黄素(VB₂)1.0 mg·L⁻¹(单位下同)+盐酸噻胺(VB₁)1.0+烟酸(V_{pp})0.5+盐酸吡哆辛(VB₆)0.5+肌醇100+酶水解酪蛋白(CH)300+蔗糖30 g·L⁻¹+琼脂6.0 g·L⁻¹。愈伤组织诱导培养基:(1)MSm+葡萄糖20 g·L⁻¹+2,4-D 2.5+6-BA 0.25;愈伤组织继代培养基:(2)MSm+6-BA 0.1+2,4-D 1.6,(3)MSm+6-BA 0.1+2,4-D 2.0,(4)MSm+6-BA 0.1+2,4-D 2.4,(5)MSm+6-BA 0.1+2,4-D 2.8,(6)MSm+6-BA 0.1+2,4-D 3.2;分化培养基:(7)MSm。愈伤组织诱导和继代培养均为黑暗条件,分化培养过程中光照度为2 000 lx,光照时间为12 h·d⁻¹,培养温度(26±2)℃。

4 生长与分化情况

4.1 愈伤组织诱导 以成熟种子为外植体材料,种子用30% (W/V)的NaOH溶液除去颖壳蜡质,室温下自来水中浸泡20 h,含2%~4%有效氯的NaClO溶液浸泡20 min,无菌水清洗5次。用无菌滤纸吸干种子表面水分后接种于培养基(1)上。接种10 d后开始出现愈伤组织。经显微镜观察,愈伤组织是在种子萌发的芽基部或芽体上产生的,或者是在种子的胚部位直接发出,因而可以认为愈伤组织是由种子的成熟胚产生的。愈伤组织发生高峰期出现在第15~25天。40 d后统计愈伤组织诱导率为79.0%。愈伤组织质地不均一,一般内层白色到淡黄色、密实,外层多为白色、松软。

4.2 愈伤组织继代及分化 愈伤组织在培养基(2)~(6)上生长60 d后,相对生长量(W_t/W_0 , W_t 为愈伤组织继代培养 t 时间后的重量, W_0 为继代培养

前的重量)为2.5~3.6倍,各处理间差异不显著($P=0.05$)。愈伤组织按质地和色泽可分为3类:第一类呈白色到淡黄色,较密实;第二类呈白色水渍状或披针状,生长快;第三类呈黄褐色或褐色。在培养基(3)上第一类愈伤组织的比例最高,达46.0%~56.8%。说明继代培养基中2,4-D用量以2.0 mg·L⁻¹为宜。在培养基(7)上分化培养,仅第一类愈伤组织可以再生植株,10~15 d后即有少量芽原基,30~40 d后可见到明显的小芽丛,再生率达30%~60%。在苗丛形成的同时或随后,在基部发出须状根,生根率100%。

4.3 炼苗与移栽 小苗长至6~12 cm时,于室温下揭盖炼苗3 d后,取出小苗,用自来水清洗干净后移栽到营养钵的基质(泥碳:蛭石:鸡粪=30:10:1, W/W)中,于温室内培养。前10 d保持空气相对湿度为90%~95%,以后培养条件同于温室。再生苗移栽成活率95%以上。

5 意义与进展 中华结缕草是结缕草属植物中的一种重要坪用草种,叶片质地较细,色泽美,扩展快,具有耐践踏、抗高温干旱、耐瘠、抗病虫、抗盐碱等优点,毋须大力维护,可用于建植运动场、公园草坪等,但不足的是绿期短(在北方绿期只有180 d)。本文结果可能会为采用转基因技术培育绿色期长和抗寒性强的中华结缕草新品种(系)提供技术参考。结缕草(*Z. japonica*)组培已经有过报道,而中华结缕草成熟胚离体培养再生植株的报道则未见。

收稿 2003-12-01 修定 2004-06-21

资助 国家“863”项目(2002AA244061)。

* 通讯作者(E-mail:sunzy@caf.ac.cn, Tel: 010-628889626)。