

假俭草的组织培养与植株再生

马生健^{1,2} 曾富华¹ 蓝海婷¹ 吴志华^{1,2} 卢向阳²

¹湛江师范学院生物系, 湛江 524048; ²湖南农业大学生物技术系, 长沙 410128

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of Common Centipedegrass

MA Sheng-Jian^{1,2}, ZENG Fu-Hua¹, LAN Hai-Ting¹, WU Zhi-Wua^{1,2}, LU Xiang-Yang²

¹Department of Biology, Zhanjiang Normal College, Zhanjiang 524048; ²Department of Biotechnology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128

1 植物名称 假俭草(*Eremochloa ophiuroides*), 又名百足草。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 (1)诱导愈伤组织培养基: MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹ (单位下同)+2, 4-D 4.5。(2)继代培养基: MS+6-BA 0.1+2, 4-D 4.0+Vc 5.0。(3)芽分化培养基: MS+6-BA 2.0+NAA 1.0+CoCl₂ 5.0+TDZ 0.5。(4)生根培养基: 1/2MS+NAA 0.5+IAA 0.5+MET 0.5+活性炭 0.1%。以上培养基均加3%蔗糖、0.3%植物凝胶(Phytigel, Sigma分装), pH 5.8~6.0。培养温度为(26±2)°C, 诱导愈伤组织时不光照, 分化、生根时光照12 h·d⁻¹, 光照度2 000 lx。

4 生长与分化情况

4.1 无菌外植体的获得 将假俭草成熟种子浸入双蒸水中保湿3 h, 然后经75%乙醇浸泡30 s, 0.1% HgCl₂表面消毒处理10 min, 不停地摇动, 然后在超净台上用无菌水冲洗5~8次。

4.2 愈伤组织的诱导 将假俭草的种子接种在诱导培养基上15 d左右, 种胚部位长出黄色种芽, 同时, 白色不透明的疏松愈伤组织也诱导长出。接种30 d后, 将去掉种芽的愈伤组织在继代培养基上连续继代60 d。每30 d换1次新鲜的培养基。大部分愈伤组织转变成黄色致密结节状的胚性结构。

4.3 芽的分化和生根 将上述胚性愈伤组织移入分化培养基上, 5~7 d后有绿芽长出, 20 d左右大部分愈伤组织长出了数十个芽, 分化长芽率在90%以上。当芽长至3~5 cm时转入生根培养基上, 10~15 d后都长出2~3 cm的白根。芽分化培养基中增加了CoCl₂和TDZ, CoCl₂能抑制体内乙烯的产生, TDZ是一种类似于细胞分裂素的物质, 此两类物质都能提高假俭草愈伤组织的分化长芽率; 生根培养基上添加了活性炭。

4.4 组培苗的移栽 待芽丛长至5~8 cm、根长至3~5 cm时, 将培养瓶从光照培养箱移至自然气候条件下适应3~5 d, 然后开盖炼苗2~3 d, 小心取出分化苗丛, 用无菌水冲净根部残留的培养

基, 移栽到经高温灭菌的土壤中, 定期浇灌1/2Hoagland培养液, 成活率达100%, 且苗生长旺盛(图1)。

5 意义与进展 假俭草属禾本科蜈蚣草属, 原产于我国南部, 是一种暖季型的草坪草, 有许多优良性状, 适应多种土壤和气候, 应用广泛。柴明良^[1]认为暖季型比冷季型草坪草更难诱导出胚性愈伤组织及再生植株。本文用的植物凝胶固化剂能明显提高暖季型假俭草胚性愈伤组织的诱导率和分化率。得到的结果可为假俭草的遗传转化体系建立提供技术基础, 同时也可供其它草坪草的组织培养和转基因研究参考。国内外对暖季型草坪草进行组织培养的种类不多, 主要有结缕草与狗牙根, 假俭草的组织培养在国内尚未见报道。



图1 假俭草移栽成活

参考文献

- 1 柴明良. 草坪草转基因研究进展. 科技通报, 2002, 18(1): 68~69

收稿 2003-02-08 修定 2003-08-25
资助 广东省科技攻关项目(2KM03103N)和湛江科技攻关项目(湛财企[2001]114号; [2001]121.18)。