

南京椴体细胞胚胎发生体系建立

严灵君^{1,3,4} 李尹^{1,2} 雷佳妮^{1,2} 黄犀^{1,3,4} 王欢利^{1,3,4} 汤诗杰^{1,2,3,4*}

(1. 江苏省中国科学院植物研究所 南京 210000; 2. 南京中医药大学 南京 210023; 3. 江苏省植物资源研究与利用重点实验室 南京 210037; 4. 南京中山植物园 南京 210014)

摘 要:【目的】建立南京椴体细胞胚胎发生及再生植株的技术体系,解析南京椴体细胞胚的形态学建成过程,为南京椴无性繁殖体系建立及遗传转化体系奠定基础。【方法】以南京椴未成熟合子胚作为外植体,通过正交试验筛选胚性愈伤组织诱导最适的植物生长调节剂浓度及配比,每 25 d 进行愈伤组织继代,观察愈伤组织颜色、质地以及胚性分化能力,并记录愈伤组织质量变化;石蜡切片法观察不同愈伤组织内部的细胞结构。诱导胚性愈伤组织形成体细胞胚,将形成的体细胞胚置于不含激素的 MS 培养基进行培养,进而获得再生植株。【结果】南京椴胚性愈伤组织诱导最适宜培养基配方为 MS+3.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L CH +10 mg/L VC+30 g/L 蔗糖, pH 为 5.8。诱导产生的愈伤组织外观可分为 3 类:水渍化半透明愈伤组织、松散型淡黄色愈伤组织、紧密型黄色愈伤组织;石蜡切片观察发现,生长旺盛,质地较为坚硬、紧密,颜色为淡黄色至金黄色的愈伤组织为胚性愈伤组织,胚性细胞在愈伤组织内集中区域不固定,边缘及内部都较为多见。南京椴胚性愈伤组织在 MS+3.0 mg/L 2,4-D+0.2 mg/L 6-BA+0.5 mg/L CH +10 mg/L VC+30 g/L 蔗糖, pH 为 5.8 的培养基上可诱导形成体细胞胚,出胚率为 55.88%。显微形态观察发现,诱导形成的南京椴细胞胚发育过程包括球形胚、心形胚、鱼雷胚和子叶期胚的时期。将诱导所获得的体细胞胚置于不含任何激素的 MS+30 g/L 蔗糖的培养基上,暗光培养 5 d 后置于正常光照条件下,能形成健康植株。【结论】本研究以南京椴未成熟合子胚作为外植体,建立了南京椴体细胞再生体系,后续可继续培养优化条件提高转化率,推动遗传转化体系建立。

关键词:南京椴;胚性愈伤组织;体细胞胚发生;遗传转化;离体保存

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金项目(CX(22)3177);南京市绿化园林局科技项目合同(YLKJ202214JH);江苏省中国科学院植物研究所院士创新高地项目(JSPKLB2023060);国家自然科学基金项目(31700477);江苏省林业发展专项基金-椴树等植物种质资源收集保护。

*汤诗杰(1969.8-),安徽东至人,研究员,主要从事园林植物资源开发及利用研究, tangshijie69@aliyun.com。