

建立杂交枫香营养器官体细胞胚胎发生体系

李泓萱 包芬 李颖 马海瑶 程龙 范英明 赵健 张金凤*

(北京林业大学 北京 100083; *通讯作者, zjf@bjfu.edu.cn)

摘要:【目的】枫香属 (*Liquidambar* spp.) 树种是世界性重要林木资源, 也是我国主要用材树种。

其中, 北美枫香和枫香杂交获得的杂交枫香 (*L. styraciflua* × *L. formosana*) 具有明显的杂种优势, 是我国未来林业产业发展创新的重要树种。目前, 杂交枫香以未成熟合子胚为外植体高效体胚发生体系已经建立。但存在受季节制约, 得到的再生植株遗传价值未经证实等不足, 因此建立以营养器官为外植体的体胚发生体系将弥补现有技术的不足, 有利于杂交枫香实现规模化无性繁育, 并为分子辅助育种提供技术支撑。本研究明确基因型、外植体类型和外源激素等因素对杂交枫香营养器官体细胞胚胎发生体系建立的影响。

【方法】以 FX-2、FX-12 和 FX-54 三种基因型 8 个月试管苗的叶片、叶柄和茎段作为外植体, 在含有不同激素浓度的诱导培养基上诱导愈伤组织, 将诱导的愈伤组织继代于添加不同激素浓度组合的增殖培养基上增殖培养, 获得胚性愈伤组织, 随后转至体胚成熟培养基上, 得到成熟体胚, 将成熟子叶胚转至含有不同浓度 6-BA 的萌发培养基进行萌发, 获得再生植株。【结果】以不同基因型杂交枫香叶片、叶柄和茎段作为外植体, 在诱导阶段, 基本培养基添加 1.0 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L 6-BA, 愈伤组织诱导率最高。FX-2 叶片、叶柄和茎段愈伤组织诱导率分别为 90%、97%和 97%。FX-12 叶片、叶柄和茎段愈伤组织诱导率分别为 80%、87%和 70%。FX-54 叶片、叶柄和茎段愈伤组织诱导率分别为 93%、90%和 80%。据观察, 叶片和叶柄诱导的愈伤组织颗粒状明显, 组织更加松散, 而茎段诱导的愈伤组织不松散且更加紧致, 因此选择叶片和叶柄诱导的愈伤组织进行增殖培养。在增殖培养阶段, 基本培养基中添加 1.0 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L 6-BA, 愈伤组织增殖速度最快。FX-2 叶片和叶柄来源的愈伤组织增殖鲜重分别为 3.36g 和 3.48g。FX-12 叶片和叶柄来源的愈伤组织增殖鲜重分别为 3.49g 和 3.52g。FX-54 叶片和叶柄来源的愈伤组织增殖鲜重分别为 3.74g 和 3.62g。将愈伤组织转至体胚成熟培养基中, FX-2 只有叶柄成功诱导体胚发生, 体胚成熟个数为 22 个/g。FX-54 叶片和叶柄外植体均成功诱导体胚发生, 体胚成熟个数分别是 17 个/g 和 13 个/g。FX-12 没有成功诱导体胚发生。将成熟子叶胚转至体胚萌发培养基中, 基本培养基中添加 0.5 mg/L 6-BA, 体胚萌发率最高。FX-2 体胚萌发率为 60%。FX-54 叶片和叶柄来源的体胚萌发率分别为 77%和 73%。

【结论】本研究首次建立杂交枫香营养器官的体胚发生体系, 其中, 不同基因型的不同外植体诱导体胚能力有显著差异, FX-2 叶柄能诱导体胚发生, FX-54 叶片和叶柄均能诱导体胚发生, 而 FX-12 则不能诱导体胚发生。该技术突破杂交枫香营养器官难以诱导体胚发生的瓶颈。

关键词: 体细胞胚胎发生; 植物生长调节剂; 叶片; 叶柄; 茎段