

君子兰种子离体培养的研究

邓小敏¹, 雷家军¹, 薛晟岩²

(1. 沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110161; 2. 沈阳市园林科学研究院 花卉所, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: 试验对君子兰品种‘油匠’、‘胜利’、‘和尚’的种子离体培养进行了研究, 结果表明, 直接从果实中剥离而采用 70% 酒精 10 s + 0.1% 升汞 8 min 的消毒效果最好, 污染率仅 5.68%。基因型对种子组织培养的影响较大, ‘油匠’的种子较易于诱导出愈伤组织, 诱导率可达 72.97%。‘胜利’的种子最适诱导培养基为 MS+2,4-D 2 mg/L+BA 2 mg/L, 其诱导率为 52.94%, 最适分化培养基为 MS+NAA 1 mg/L+BA 1 mg/L, 分化率达 72.22%。君子兰种子在培养基上诱导产生愈伤组织并能大量分化成苗, 对君子兰组培工厂化生产有较大意义。

关键词: 君子兰; 种子; 组织培养

中图分类号: S 682.1⁺3; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0201-03

君子兰为石蒜科君子兰属 (*Clivia*) 多年生草本植物, 原产于南非, 后经德国和日本传入中国。主要包括大花君子兰 (*C. miniata*)、细叶君子兰 (*C. gardenii*)、有茎君子兰 (*C. caulescens*)、奇异君子兰 (*C. mirabilis*)、垂笑君子兰 (*C. nobilis*) 和大君子兰 (*C. robusta*) 6 大类, 其中大花君子兰和垂笑君子兰在我国较为常见。君子兰株形端正, 叶片左右对称, 叶色翠绿, 四季常青, 花大而色艳且花期长, 果球形红色且挂果期长, 叶、花、果均具有很高的观赏价值^[1]。

君子兰主要采用种子和分株繁殖。种子播种虽然可以大量繁殖, 但后代变异较大; 分株繁殖虽然后代性状与母本一致, 但繁殖系数太低, 难以满足生产的需求。目前, 组织培养技术已成为花卉繁殖的一条重要途径^[2-3]。为了加快君子兰的繁殖, 国内外已将茎、叶、花瓣、花丝、根等器官作外植体进行了离体繁殖研究^[4-10], 取得了一定的进展。在种子组织培养过程中, 发现种子在培养基上不仅能像在播种基质中一样萌发, 而且能通过诱导产生愈伤组织分化成苗, 能大大提高繁殖系数, 试验对此研究结果进行了报道。

1 材料与方法

1.1 供试材料

君子兰 3 个品种为‘油匠’、‘胜利’、‘和尚’, 为 4 a 生植株, 温室盆栽, 正常管理。

1.2 试验方法

1.2.1 种子消毒与接种

第一作者简介: 邓小敏(1982-), 女, 在读硕士, 主要从事观赏植物遗传育种研究。

通讯作者: 雷家军。E-mail: jiajunlei@yahoo.com.cn.

收稿日期: 2007-08-06

流水下冲洗 10 min, 然后在超净工作台上剥离出种子。种子消毒设 3 种处理, I: 0.1% 升汞 8 min; II: 70% 酒精 5 s + 0.1% 升汞 8 min; III: 70% 酒精 10 s + 0.1% 升汞 8 min。消毒期间不停振荡, 最后用无菌水冲洗 5~6 遍。接种 10 d 后调查种子的污染情况。为与之对比, 另外接种了 2005 年 12 月采收的种子, 方法是采收果实、收集种子后, 种子在自然条件下暴露在空气中保存 3 个月, 种子再经流水冲洗 10 min、用 70% 酒精 10 s + 0.1% 升汞 8 min 消毒、无菌水冲洗 5~6 遍后接种。将品种‘胜利’的种子接种在有 NAA 1~2 mg/L, 2,4-D 1~2 mg/L 和 BA 1~2 mg/L 4 种激素浓度配比组合的培养基中, 比较激素及其浓度对诱导和再生的影响。将‘油匠’、‘胜利’、‘和尚’的种子接种到 MS+2,4-D 1 mg/L+BA 1 mg/L 培养基中, 比较不同基因型对种子离体培养的影响。

1.2.2 培养基和培养条件 以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 NAA、2,4-D 和 BA, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 4 g/L, pH 为 5.8。培养温度为 (25±1) °C, 每天光照 12 h, 光照强度 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同取种方法和消毒方法对种子接种污染的影响

不同取种方法对君子兰品种‘油匠’种子消毒效果明显不同(表 1)。可以看出, 先前采收并暴露于空气中的种子消毒效果不好, 污染率高, 而直接在超净工作台上剥离果实中的种子消毒效果好, 接种污染率仅 5.68%。

从表 2 可以看出, 用 0.1% 升汞 + 70% 酒精的消毒效果好于没有附加 70% 酒精的消毒效果, 而附加 70% 酒精消毒 30 s (污染率 5.68%) 消毒效果稍好于 10 s (污染率 8.78%)。但附加 70% 酒精时君子兰种子萌发率略有降低。采用 0.1% 升汞 8 min + 70% 酒精 30 s 的消毒方法其萌发率 (72.73%) 稍低于不附加 70% 酒精 30 s 的萌

发率(81.55%)。因此,君子兰种子的最佳消毒方法为:采用直接采自果实的种子,用0.1%升汞10 min+70%酒精10 s进行消毒。

表1 不同取种方法对种子接种污染的影响

取种方法	接种种子数	污染种子数	污染率/%
存放种子	94	80	85.11
种子直接采自果实	88	5	5.68

表2 不同消毒方法对种子接种污染及萌发的影响

消毒方法	接种		污染率/%	萌发	
	种子数	种子数		种子数	萌发率/%
0.1%升汞8 min	103	16	15.53	84	81.55
70%的酒精10 s+0.1%升汞8 min	148	13	8.78	116	78.38
70%的酒精30 s+0.1%升汞8 min	88	5	5.68	64	72.73

2.2 不同激素浓度及配比对种子愈伤组织诱导及分化的影响

将种子接种于不同浓度NAA、BA、2,4-D的4种培养基上(表3),50 d后在芽以下部位脱分化,出现淡黄色愈伤组织(图1),继续在原来的培养基上进行培养,30~50 d后愈伤组织出现绿色突起,培养20~30 d可形成再生苗(图2)。在4种培养基上种子的诱导分化效果不同,在MS+2,4-D 2 mg/L+BA 2 mg/L的培养基上外植体愈伤组织诱导率最高(54.05%),而在MS+NAA 1 mg/L+BA 1 mg/L的培养基上分化率最高(72.22%)。2,4-D和BA组合有利于愈伤组织的形成,但却不利于分化成苗,而NAA和BA的组合适合君子兰分化成苗,且低浓度更有利。



图1 君子兰种子离体培养



图2 君子兰种子离体培养产生愈伤组织分化成苗

表3 不同激素浓度及配比对‘油匠’愈伤组织诱导及分化的影响

培养基 /mg·L ⁻¹	接种 种子数	产生愈伤组织 的种子数	愈伤组织 诱导率/%	愈伤组织分化 成苗的种子数	分化率 /%
MS+NAA 1+BA 1	37	18	48.65	13	72.22
MS+NAA 2+BA 2	40	15	37.50	10	66.67
MS+2,4-D 1+BA 1	34	18	52.94	11	61.11
MS+2,4-D 2+BA 2	37	20	54.05	9	45.00

2.3 基因型对种子组织培养的影响

将‘油匠’、‘胜利’、‘和尚’的种子接种在MS+2,4-D 1 mg/L+BA 1 mg/L的培养基上,观察不同基因型对种子外植体诱导产生愈伤组织及愈伤组织再分化的影响(表4)。结果表明,品种‘油匠’的愈伤组织诱导率最高达到72.97%,与‘胜利’、‘和尚’2个品种的愈伤

组织诱导率有明显差异,而‘胜利’、‘和尚’2个品种的愈伤组织诱导率相差不大。3个品种的愈伤组织的分化率较为接近。

表4 君子兰不同品种对种子愈伤组织诱导及分化的影响

品种	接种 种子数	产生愈伤组织 的种子数	愈伤组织 诱导率/%	分化成苗的 种子数	分化率 /%
油匠	37	27	72.97	20	74.07
胜利	34	18	52.94	11	61.11
和尚	35	18	51.43	10	55.56

3 讨论

暴露于空气中的种子由于污染严重,接种时很难将其彻底消毒干净,而采用直接从果实中剥离出的种子通过消毒处理后,其污染率很低,只有5.68%。因此,在采用种子接种时最好直接从种子中获取种子。此外,君子兰种子消毒中不宜用70%酒精消毒过长时间,否则会严重影响其萌发率。

在组织培养快速繁殖过程中,茎尖是最常采用的外植体,但是君子兰的茎为短缩茎,不仅取材难度很大,难以彻底将其消毒,并且接种后褐化严重,此外,君子兰1株植株只有1个茎尖,对植株的取材直接导致其死亡。虽然有人采用君子兰的花瓣、花丝、子房等为外植体获得过再生苗,但愈伤组织诱导率和分化率均较低^[9-10]。试验采用君子兰的种子进行组织培养,较其他外植体有利于诱导愈伤组织。‘胜利’和‘和尚’的种子离体培养过程中还发现有的直接形成丛生芽,其增殖率较高。

外源激素对愈伤组织诱导起重要作用。试验中采用NAA、BA、2,4-D 3种激素组合,发现MS+2,4-D 1 mg/L+BA 1 mg/L较利于愈伤组织的诱导,而MS+NAA 1 mg/L+BA 1 mg/L较利于愈伤组织分化成苗。不同基因型对种子组织培养有一定影响,‘油匠’较‘胜利’和‘和尚’更易于诱导愈伤组织并分化成苗。但在分化成苗过程中,观察到愈伤组织褐化较严重,影响其分化成苗,从而影响了君子兰实现快速繁殖的目标。因此,要实现君子兰的快速繁殖还要解决好褐化问题,有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 郭文场. 君子兰[M]. 北京:中国林业出版社,2003:11.
- [2] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京:中国林业出版社,2000.
- [3] 程广有. 名优花卉组织培养技术[M]. 北京:科学技术文献出版社,2001.
- [4] 夏万由. 君子兰无性系组培繁殖试验研究[J]. 种子,2004,23(5):57-58.
- [5] 王晓丽,杨福,金研铭. 君子兰(*Clivia miniata* Regel)胚培养及快繁技术的初步研究[J]. 吉林农业大学学报,1998,20(2):20-21,25.
- [6] 刘福平,林丽仙,郑明琼. 君子兰组织培养[J]. 亚热带植物通讯,2000,29(3):50-51.
- [7] 刘敏,舒金生. 垂笑君子兰的组织培养[J]. 园艺学报,1984,11(1):47-49.

2,4-D 和 6-BA 对菊芋愈伤组织诱导的影响

李成伟, 姚晓惠, 陈新兵

(商丘师范学院生命科学系 河南, 商丘 476000)

摘要: 菊芋是一种十分具有开发利用价值的菊科植物, 试验以 MS 培养基为基本培养基, 附加不同种类和浓度的植物生长调节物质, 对菊芋的块茎进行愈伤组织的诱导培养研究, 结果表明: 浓度为 0.05 mg/L 的 6-BA 的诱导效果最差; 6-BA 0.05 mg/L 和 2,4-D 0.05 mg/L 组合有利于愈伤组织的诱导; 浓度为 0.05 mg/L 的 2,4-D 最有利于愈伤组织的诱导。

关键词: 菊芋; 愈伤组织; 诱导

中图分类号: S632.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0203-03

菊芋 (*Helianthus tuberosus* Linn) 属菊科, 向日葵属, 多年生草本植物。菊芋原产于北美, 经欧洲传入中国, 在中国南北各地均有栽培, 分布极广^[1]。菊芋适应性强, 耐贫瘠、耐寒、耐旱, 种植简易, 一次播种多次收获, 产量极高。其生产成本低, 产品用途广, 具有很高的经济价值、药用价值和生态价值。菊芋可食部分一般为块茎, 呈纺锤型或不规则瘤型, 皮有红色、黄色和白色, 质地细致、脆嫩, 味甜适口, 还含有氨基酸、维生素等, 可作

蔬菜, 腌制成酱菜或制成洋姜脯则更具独特风味, 是制作绿色食品的上乘原料。其中菊糖含量极高, 菊糖水解后的果糖, 用于医药及制作果糖、糕点等, 还是制造淀粉和酒精的工业原料。利用现代生物技术进行深加工精制而成的菊芋粉、低聚果糖和超高果糖浆, 是当今保健食品的全新多功能配料, 具有增殖体内双歧杆菌和抗癌作用^[2]。另外, 菊芋产茎叶量高, 是优良的家畜饲料; 由于其根系特别发达, 又是很好的保持水土、防风固沙的植物; 夏、秋季节植株顶部遍开盘状黄花, 形如菊, 并有美化宅舍作用^[3]。因此, 充分开发利用这一自然资源有十分重要的意义。试验以菊芋的块茎作为外植体, 进行菊芋愈伤组织的诱导, 旨在为菊芋的再生体系的建立和综合利用提供试验材料。

第一作者简介: 李成伟 (1972-), 男, 河南民权县人, 留荷博士, 系主任, 副教授, 主攻分子植物病原体互作和分子育种研究方向。
E-mail: lichengwei166@sohu.com.

收稿日期: 2007-08-01

[8] 牛维和, 徐玉冰, 刘继红. 大花君子兰无性快速繁殖[J]. 大众花卉, 1987(2): 29.

[9] 陈为民. 大花君子兰子房、花托和花丝培养再生植株[J]. 植物生理学

通讯, 1986(3): 46.

[10] 李淑华, 袁增玉, 陈力. 君子兰组织培养在生植株的研究[J]. 黑龙江农业科学, 1988(4): 39-41.

Study on Tissue Culture of Seeds in *Clivia Miniata* Regei

DENG Xiao-min¹, LEI Jia-jun¹, XUE Sheng-yan²

(1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China; 2. Institute of Flower, Shenyang Academy of Landscape Sciences, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: The seeds of *Clivia miniata* Regei cvs 'You Jiang', 'Sheng Li', 'He Shang' were used to culture in vitro in this paper. The results showed that the seeds collected from the fruit directly were disinfected with 70% alcohol 10 sec plus 0.1% HgCl₂ 8 min was the best, with the rate of pollution 5.68%. Seed culture in vitro was to some extent impacted by genotypes, which was relatively easy to induce callus in 'You Jiang' with the rate of induction 72.97%. The optimal induction medium for seed culture in vitro in 'Sheng Li' was MS + 2,4-D 2 mg/L + BA 2 mg/L, with the rate of induction 52.94%, and the optimal differentiation medium was MS + NAA 1 mg/L + BA 1 mg/L, with the differentiation rate of 72.22%. It is great significant for micropropagation of kafirily because the seeds in the medium could be induced callus and differentiated a large number of plantlets.

Key words: *Clivia miniata* Regei; Seeds; Tissue culture