

君子兰组织培养与快繁技术研究进展

叶露莹

(福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002)

摘要: 综述了君子兰的组织培养与快速繁殖技术的研究进展, 指出了应注意的问题, 并分析了君子兰组织培养在快繁上应用的优越性与前景。

关键词: 君子兰; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S682.1*3

文献标识码: A

文章编号: 1673-0925(2006)03-0231-03

Progress in the tissue culture and micropropagation of *Clivia miniata* Regel

YE Lu-ying

(College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The progress in the tissue culture and micropropagation of *Clivia miniata* was summarized, the related problems were also put forward, and the advantage and the foreground of the applications of the tissue culture to the micropropagation of *Clivia miniata* were further analyzed.

Key words: *Clivia miniata*; tissue culture; micropropagation

君子兰是石蒜科君子兰属的多年生草本植物, 具有观赏价值。其株形端庄、典雅; 叶片对称、挺拔, 四季常青翠绿; 花姿优美、舒展; 花色艳丽、多彩。君子兰一季观花, 三季看果, 四季赏叶。其花朵常在冬春两季以及圣诞节、元旦、春节期间开放, 象征喜庆、吉祥、富贵, 成为点缀居室、装饰厅堂、友情馈赠的理想花卉, 被誉为“花之君子”、中国室内花卉的“皇后”^[1,2]。

君子兰的有性繁殖后代为高度杂合型, 亲本的优良性状不能通过杂交得到稳定保存。目前, 君子兰的繁殖多采用分株、种子繁殖方式, 获得的新植株可以保持其母本原有的性状, 不会发生变异。而分株繁殖每年每株仅可得1-3株, 增殖倍率不高, 极大地限制了君子兰的生产和开发。近年来, 采用君子兰种胚进行快速繁殖, 以提高其繁殖系数。目前, 随着花卉业的迅猛发展, 君子兰新的优良杂交品种不断涌现。为了提高君子兰的繁殖速度, 许多学者开始探索通过组织培养快速繁殖君子兰的新途径^[3-5]。君子兰组织培养快速繁殖体系, 已在生产上得到广泛应用, 对君子兰花卉的发展具有十分重要的意义。

1 组织培养与快繁技术

自从20世纪80年代以来, 君子兰的组织培养、快速繁殖和脱毒方面有不少的研究报道^[3,4,6-12]。从材料选择到试管苗移栽君子兰的组织培养过程大体可分为培养材料的选择、培养前的消毒处理、愈伤组织的诱导、愈伤组织继代和增殖培养、芽的分化培养、展叶培养、根的分化培养和试管苗移栽等阶段。从理论上分析, 从组织培养开始到君子兰试管苗移栽至少需要6-8个月或更长的时间。然而在实际培养过程中, 要获得君子兰的试管苗一般需要1a或更长的时间^[3]。

1.1 外植体

在君子兰组织培养中, 主要以成熟胚、幼胚、子房、花托和花丝作为培养材料。一般情况下, 君子兰幼年的组织较老年的组织有较高的形态发生能力。

君子兰的组培和其他植物组培一样, 要求在严格的无菌条件下进行, 除了对培养基进行高温、高压灭菌外, 对于首次培养的材料, 也必须进行严格的表面消毒灭菌。整个操作过程都在超净工作台上完成。培养材料的灭菌方法较多, 应根据所选择的君子兰材料而定。如对种子表面进行消毒处理的时间比其他材

收稿日期: 2006-06-16

基金项目: “948”计划(991029)资助项目。

作者简介: 叶露莹(1985-), 女。研究方向: 园林植物与规划设计。

料长。种子的消毒步骤为:流水冲洗 5 - 10 min → 70% (体积分数) 酒精处理 30 - 60 s → 0.1% (质量分数) 升汞处理 5 - 15 min → 无菌水冲洗 3 - 5 次 (每次冲洗 5 - 15 min 以上) → 无菌吸水纸拭干表面水迹 → 取种胚, 切割后移至培养基上培养。

1.2 基本培养基

培养基是君子兰培养物离体生长、发育的重要营养源, 它主要由基本培养基和植物生长调节物质两大部分组成。基本培养基是由多种无机盐和有机营养元素组成的。在多种培养基中 MS 培养基比较适合君子兰组织培养; N6 和 Miller 等培养基也可在君子兰培养的某一特定阶段使用^[3]。

1.3 生长调节剂

植物生长调节剂是培养基的重要组成部分。同一种君子兰的不同器官、同一培养物的不同生长发育阶段都需要使用 1 种或几种不同剂量的植物生长调节剂, 对培养物的生长和分化加以控制。在君子兰试管苗培养过程中, 细胞的增殖、芽的分化和生根也是由添加的植物生长调节物质控制的, 这是君子兰组织培养成败与否的关键^[3]。

在君子兰初期培养中, 植物激素用量较高。一般在 MS 培养基中添加 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA, 同时配合 $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D。较高质量浓度的生长素可以诱导脱分化和促进愈伤组织生长, 而细胞分裂素有强烈的诱导芽形成的能力, 可以促进分化出苗。细胞分裂素用量过高会抑制芽的发生; 用量过低则不能诱导出苗, 使植物加速衰老, 甚至死亡。2,4-D 质量浓度过高会抑制形态发生过程。生根培养阶段则只使用 MS 培养基添加 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。细胞分裂素与生长素的比值较低有利于生根。但是, 不同外植体对植物生长调节剂的要求有所不同。

1.3.1 愈伤组织培养阶段对生长调节剂的要求 不同材料的愈伤组织培养阶段对生长调节剂的要求有所不同。采用未成熟胚 (授粉 15 d 后) 作为培养材料, 在 MS 培养基上附加一定质量浓度的生长素和细胞分裂素有利于愈伤组织的诱导, 植物生长调节剂一般可用 NAA ($0.01 - 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、6-BA ($0.2 - 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 ZT ($0.1 - 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 等^[6,7]; 采用胚、花萼、叶^[8]、花丝、根、花柱、子房壁^[9] 为培养材料^[10], 以 MS 为基本培养基, 采用一定质量浓度的 2,4-D、6-BA 和 NAA 有利于愈伤组织的诱导; 采用花托、子房为培养材料, 在 MS 培养基上附加一定质量浓度的 KT ($0.5 - 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 NAA ($0.5 - 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 则有利于愈伤组织的诱导^[11]。

1.3.2 芽的分化阶段对生长调节剂的要求 以未成熟胚 (授粉 15 d 后) 为培养材料, 在 Mille 或 MS 培养基上附加 KT ($0.5 - 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 NAA ($0.25 - 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 有利于芽的诱导^[6,7]; 以胚、花萼、叶^[8]、花丝、根、花柱、子房壁^[9] 为培养材料, 在 MS 培养基里添加一定质量浓度的 2,4-D ($0.5 - 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA ($0 - 5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)^[10] 可促进芽的分化。也有研究表明, 以叶片为培养材料, 可采用一定质量浓度的 6-BA、NAA 和 LH 进行芽的诱导^[8]; 以花托、子房为培养材料, 可采用 1/2 MS 无机盐、MS 有机物和一定质量浓度的 ZT、NAA 和 IAA 进行芽的诱导^[11]。

1.3.3 生根培养阶段对生长调节剂的要求 以未成熟胚 (授粉 15 d 后) 为培养材料, 在 Miller 或 MS 培养基上附加一定质量浓度的 KT 和 NAA 有利于长根, 但所使用的激素质量浓度不宜过高^[6,7]; 采用胚、花萼、叶^[8]、花丝、根、花柱、子房壁^[9] 为培养材料, 在 MS 培养基上附加一定质量浓度的 2,4-D、6-BA 和 NAA 有利于长根^[10]; 以花托、子房为培养材料, 采用 1/2 MS 无机盐 + MS 有机物 + 一定质量浓度的 IBA、6-BA、IAA, 有利于根的诱导^[11]。

1.4 天然复合物

在培养基中添加水解乳蛋白 (LH), 可以提供全面的氨基酸营养, 但也容易引起污染。

1.5 生根与移栽

有些君子兰培养物在芽分化的培养基上可以直接分化出新根, 但是, 也有一些必须转移到新根分化所需的特殊培养基上后才能诱导新根生长。君子兰试管苗根的质量直接影响其移栽成活率。试验结果表明, 采用适当的培养技术可以提高新根的质量, 例如, 当试管苗在根分化的培养基上开始发出新根后 (即新的根尖由黄色转为白色时), 则应及时转入无任何植物生长调节物质的 1/2 MS 培养基上。这样, 就可以促进试管苗根系的正常生长发育, 防止新根畸形发育。在培养基中添加质量分数为 0.02% - 0.5% 的活性碳对新根的发育十分有利。试管苗生根培养 1 个月后, 便可长出 3 - 4 片小叶, 有些根可长至 5 cm 以上, 此时即可进行试管苗移栽。移栽时, 先用清水洗净试管苗基部的培养基, 然后移入盛有君子兰营养土

的盆中。为了保持湿度,可先扣上玻璃钟罩(或在盆上套上塑料袋)。1-2周后,就可去掉保湿罩,转入正常栽培管理。

1.6 培养条件

在对君子兰进行首次离体培养时,可先将培养物置于23-25℃的黑暗处或每天在12-24h光照条件下培养,有利于愈伤组织的诱导。1个月后,每天在12-14h光照条件下进行培养。培养基以每月更换1次为宜。

一般培养室的温度应在20-25℃,每日光照8-12h,光照强度为1500-2500 lx,生根阶段可适当提高光照强度,以利于小苗生根,提高幼苗移栽成活率。若采用自然光照,幼苗素质好,能更好适应移栽后的新环境。

2 注意问题

某些情况下在前期组织培养中虽然有少量愈伤组织形成,但在后期培养未见继续分化、生长,而在培养过程中出现严重“褐变”。因此,为了防止“褐变”的发生,尽可能延长培养时间,使其能够形成愈伤组织,进而诱导分化。可通过添加活性炭或维生素来防止“褐变”。大规模的快速繁殖中出现的变异问题,可通过控制继代次数解决。除此之外,还应当注意细菌污染。

3 应用前景

君子兰花期长达3个月,有很高的观赏价值,经济价值也很高。君子兰的离体繁殖,为君子兰工厂化生产提供了可行的途径。君子兰组织培养的条件可以严格控制,不受时间、季节限制,因此,已成为君子兰种苗繁殖的重要手段,并已在商业化生产中显示出其优越性。

参考文献:

- [1] 陈宣耀. 长春君子兰精品赏析与培育[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2004:10-12.
- [2] 孙可群,张应麟,龙雅宜,等. 花卉及观赏树木栽培手册[M]. 北京:中国林业出版社,1998:75-80.
- [3] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991:280-284.
- [4] FINNIE J F, VAN S J. *In vitro* culture of *Clivia miniata* [J]. *Clivia Yearbook*, 1998, 1:7-11.
- [5] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2004:6-11.
- [6] 刘敏,舒金生. 君子兰未成熟胚的试管培养. 植物生理学通讯,1983(2):43.
- [7] 王晓丽,杨福. 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.
- [8] 刘继红,牛维和,徐玉冰,等. 大花君子兰无性快速繁殖[J]. 大众花卉,1987(2):29.
- [9] 李春荣,奚惕,杨文杰,等. 大花君子兰快速繁殖技术的研究[J]. 东北师范大学学报:自然科学版,1991(4):87-91.
- [10] 王永明. 君子兰组织培养初探[J]. 中国园林,1985,10(1):47-48.
- [11] 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.