

君子兰试管苗叶片植株再生的影响因素研究

关 丽 霞

(辽宁农业职业技术学院 生物技术系, 辽宁 营口 115009)

摘 要:以君子兰试管苗叶片为试材,研究了不同培养基、叶片不同部位、增殖代数等因素对其植株再生的影响。结果表明:君子兰试管苗叶片基部再生能力最强,其最佳诱导分化培养基为MS+ZT 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;组织培养增殖1~7代试管苗叶片的再生能力较强,随之培养再生能力减弱,10代后再生能力最弱;培养基1/2MS+IBA 1.0 mg/L为试管苗生根最适宜的培养基,生根率达98%以上。

关键词:君子兰;叶片;植株再生

中图分类号:S 682.1⁺3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0114-03

君子兰(*Clivia miniata*)属石蒜科君子兰属多年生草本植物,有“温室园艺女王”的美誉,作为一种高档花卉,是点缀家庭和大型会场的极好素材。君子兰具有吸收尘埃、净化空气的功能,被称为天然氧吧,因此,深受消费者的青睐。君子兰以其极高的观赏价值和文化价值而产生了可观的经济效益。

君子兰通常只用2种方式繁殖,即播种繁殖和分株繁殖。君子兰为高度杂合体,播种繁殖难以保持其优良性状,而分株繁殖系数低,繁殖速度慢,远远不能满足商品化生产的需求。组织培养是商业化产苗及培育珍稀、优、新品种的良好途径。许多学者利用组织培养技术,用种胚、叶片和花器官等获得了君子兰再生植株^[1-6],但进展较缓慢,主要原因在于增殖系数低、增殖缓慢及增殖周期长,因此君子兰组培生产尚未达到工厂化、商品化生产的程度。该试验对君子兰试管苗叶片植株再生的影响因素进行了深入研究,并建立了一定的技术体系,在保证君子兰组织培养常规增殖的同时,增加了一条新的增殖途径,大大提高了其增殖系数、缩短了增殖周期,推进了君子兰组培工厂化、商品化育苗的进程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试大花君子兰(*C. miniata*)由辽宁营口盖州君子兰养殖农户提供,选用1a生君子兰钵栽苗茎尖,在培养基MS+BA 1.5 mg/L(单位下同)+KT 1.0+NAA 0.2+CH 500诱导培养而获得的无菌试管苗。

作者简介:关丽霞(1978-),女,辽宁抚顺人,本科,实验师,现主要从事花卉和树木的组织培养等研究工作。

收稿日期:2013-01-18

1.2 试验方法

1.2.1 君子兰叶片的不同部位及不同培养基对试管苗叶片再生能力的影响 选用增殖培养40 d左右的生长健壮的试管苗叶片,将叶片前端、基部及中部1 cm范围内叶片剪切成0.7~1 cm²,按极性接种到不同培养基上培养。A1:MS+ZT 1.0+KT 0.5+NAA 0.1;A2:MS+ZT 1.0+KT 0.5+NAA 0.5;A3:MS+ZT 1.5+KT 0.5+NAA 0.1;A4:MS+ZT 1.5+KT 0.5+NAA 0.5;A5:MS+ZT 1.5+KT 0.5+NAA 1.0。附加琼脂6.0 g/L,蔗糖30 g/L,pH 5.8。每处理接种30个材料,重复2次,50 d后观察统计。

1.2.2 君子兰试管苗增殖代数对试管苗叶片再生能力的影响 选用增殖培养1、3、5、6、7、8、9、10代,生长40 d左右健壮的试管苗叶片,将叶片基部1 cm范围内叶片剪切成0.7~1.0 cm²,按极性接种到培养基MS+ZT 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L上培养。每处理接种30个材料,重复2次,50 d后观察统计。

1.2.3 不同培养基对君子兰试管苗叶片分化芽苗瓶内生根的影响 研究君子兰试管苗叶片分化芽苗在不同培养基(B1:MS+IBA 1.0;B2:1/2MS+IBA 0.5;B3:1/2MS+IBA 1.0;B4:1/2MS+IBA 1.5。附加琼脂6.0 g/L,蔗糖15 g/L,pH 5.8)上的生根情况。选用试管苗叶片分化芽苗70 d左右,株高1.5 cm以上苗,剪切成单苗接种到生根培养基上培养。每个处理接种30株,重复2次。

1.2.4 培养条件 光照强度2 000 lx,光照时间12 h/d,温度(21±1)℃。

2 结果与分析

2.1 叶片的不同部位及不同培养基对其再生能力的影响

外植体接种 21 d 后,在材料切口处陆续出现愈伤组织,继续培养形成绿色瘤状物,45 d 后分化出芽(图 1A)。50 d 时进行统计。由表 1 可以看出,叶片的不同部位及不同培养基对叶片的再生能力影响很大。叶片的不同部位再生能力不同,基部再生能力最强,前端最差,中部处在二者之间;不同培养基对叶片的再生能力影响很大,愈伤组织诱导率以 A2、A4 和 A5 最高均达 100%,而分化率则以 A4 最高,A5 次之,但根据苗的长势情况而定,以 A4:MS+ZT 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 为叶片再生的最佳培养基。

表 1 叶片的不同部位及不同培养基对试管苗叶片再生能力的影响

	叶片前端		叶片中间		叶片基部	
	诱导率/%	分化率/%	诱导率/%	分化率/%	诱导率/%	分化率/%
A1	5	0	11	0	17	0
A2	100	0	100	0	100	1
A3	7	0	17	0	23	0
A4	100	34	100	49	100	78
A5	100	0	100	1	100	3

注:诱导率(%)=愈伤组织总块数/接种总块数×100%;分化率(%)=分化的愈伤组织块数/诱导愈伤组织总块数×100%。

2.2 君子兰试管苗增殖代数对试管苗叶片再生能力的影响

由表 2 可以看出,君子兰组织培养增殖 1~7 代试管苗叶片诱导率、分化率均较高,无太大差异;增殖 8 代以上的试管苗叶片的诱导率、分化率逐次降低,差异显著,再生能力下降;增殖培养 10 代的君子兰试管苗叶片的分化能力低至 3.3%,几乎无再生能力。因此,君子兰组织培养增殖 1~7 代试管苗叶片的再生能力较强,随后培养再生能力减弱,10 代后再生能力最弱。

表 2 君子兰试管苗增殖代数对试管苗叶片再生能力的影响

增殖代数/代	1	3	5	6	7	8	9	10
诱导率/%	100	100	100	100	100	96	75	51
分化率/%	78	84	81	78	75	48	24	3.3

2.3 不同培养基对君子兰试管苗叶片分化芽苗瓶内生根的影响

接种到生根培养基中的试管苗 15 d 左右,开始形成根原基,25 d 左右根长 2~3 cm(图 1B),从而形成完整植株(图 1C)。由表 2 可以看出,君子兰在不同生根培养基上的生根率及根生长情况明显不同。在生长素浓度一致的情况下,低无机盐浓度的 1/2MS 较高无机盐浓度的 MS 生根率和生根质量高;当无机盐等其它条件一致的情况下,生长素浓度为 0.5~1.5 mg/L 时,随浓度升高,根长增长,生根率提高,但当浓度高于 1.0 mg/L 时,苗

基部产生愈伤组织,再从其上长根,且生根率开始下降。因此低无机浓度的 1/2MS+IBA 1.0 mg/L 为生根最佳培养基。

表 3 不同培养基对君子兰试管苗叶片分化芽苗瓶内生根的影响

培养基	生根率/%	根生长情况
B1	75.0	根黄褐色,粗短,1~2 条
B2	47.0	根黄绿色,细短,最多 1 条
B3	98.5	根黄绿色,细长,2~3 条
B4	81.0	根黄绿色,细长,1~3 条

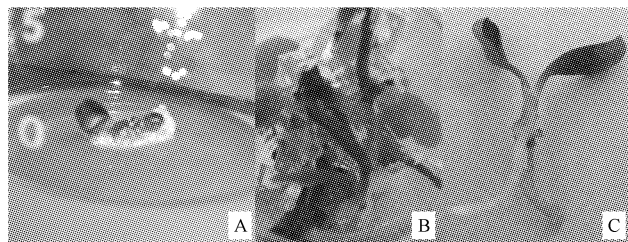


图 1 君子兰试管苗叶片植株再生过程

注:A:试管苗叶片诱导分化的芽;B:芽苗试管内生根;C:试管苗叶片再生完整植株。

3 结论与讨论

组织培养是君子兰工厂化繁苗的有效手段,也是君子兰珍稀品种保存和快速、有效推广的必行之路。课题组受部分君子兰栽培农户委托,于 2009 年 10 月开始进行了君子兰组织培养育苗研究,在研究过程中发现组培常规繁苗周期长、增殖系数低、年育苗量小,因此在常规增殖同时,将增殖过程修剪掉的叶片进行分化诱导,并进行了深入研究,大大增加了增殖原材料,提高了增殖系数,提高了年育苗量。经 2 a 多的研究表明,君子兰试管苗叶片基部再生能力最强,其最佳诱导分化培养基为 MS+ZT 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;组织培养增殖 1~7 代试管苗叶片的再生能力较强,8~9 代时试管苗培养再生能力减弱,10 代后再生能力最弱;培养基 1/2MS+IBA 1.0 mg/L 为试管苗生根最适宜的培养基,生根率达 98%以上。

参考文献

- [1] 郑迎冬,杨永勇,蒋林.君子兰的茎段培养[J].仲恺农业技术学院学报,2000,13(1):19-22.
- [2] 林淦,韩萍,王海燕.君子兰快速离体繁殖研究[J].安徽农业科学,2007(15):4439,4445.
- [3] 邢桂梅,毕晓颖,雷家军.君子兰花器官离体培养[J].园艺学报,2007(6):1563-1568.
- [4] 邓小敏,雷家军,薛晨岩.君子兰种子离体培养的研究[J].北方园艺,2008(2):201-203.
- [5] 邢桂梅,王冲,吴海红,等.君子兰花丝离体培养影响因素研究[J].沈阳农业大学学报,2010(5):531-534.
- [6] 史凯丰,白华段.君子兰组织培养的研究进展[J].科技信息,2010(4):789.

天山樱桃组织培养中初代培养物的建立

彭 妮, 李艳艳, 邵巧婷, 周 龙

(新疆农业大学, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘 要:以濒危野生果树天山樱桃(*Cerasus tianschanica* Pojark)茎段为试材,在研究不同灭菌剂种类及灭菌时间对外植体材料的灭菌效果后,研究比较了不同培养基种类和不同生长调节剂浓度组合对天山樱桃茎段启动培养的影响,以建立天山樱桃茎段的初代培养体系。结果表明:外植体材料灭菌以酒精 20 s+HgCl₂ 12 min 为好,MS 培养基中腋芽的萌发率高于 B₅ 培养基,初代培养的配方为 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA+30 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂粉为佳。

关键词:天山樱桃;初代培养;组织培养;建立

中图分类号:S 662.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)09-0116-03

天山樱桃(*Cerasus tianschanica* Pojark)属蔷薇科(Rosaceae)樱桃属(*Gerasus*)矮生樱亚属植物,又称野樱桃。哈萨克语称其牙,天山樱桃目前在我国仅分布在新疆西天山伊犁地区的霍城县、察布查尔县、新源县和塔城地区巴尔鲁克山等地,其花色绚丽,果实鲜艳,营养价值很高,既可供观赏,又可生食。自古就为当地少数民族所喜食,被誉为“雪域圣果”^[1]。野生状态下天山樱桃树体矮小、根系发达、抗寒、耐旱、耐瘠薄,且具有早果、矮化及抗病等优点,可以作为与李亚属种或樱亚属的种质资源杂

交,可为樱桃砧木的选育提供良好的亲本材料,为种间资源创新提供可能,是一种十分宝贵的野生果树资源。

樱桃一般以种子育苗和分蘖育苗为主,但是种子育苗存在沙藏困难、出苗率低、根系分布浅、易倒伏、易感染根癌病等缺点;分蘖育苗苗木不整齐,难以大规模繁育。采用组织培养不仅能克服常规育苗繁育时间长、技术性强、劳动强度大等方面的不足,而且还可以充分利用野生资源,提高品种纯度,加快该品种的繁育与推广速度,降低育苗成本,达到繁育规模化、工厂化的现代农业要求^[2]。而快速繁殖的第一步就是无菌培养物的建立,这对于多年生野生果树天山樱桃来说是一个较为棘手的问题,该研究针对此问题进行了探讨,以期能为天山樱桃的离体快繁体系建立奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

天山樱桃来源于新疆伊犁地区霍城县大西沟野果林,2010 年移栽于新疆农业大学试验基地,于 2011 年

第一作者简介:彭妮(1986-),女,硕士,现主要从事园艺植物生物技术方面的研究工作。E-mail:pengni0524@126.com.

责任作者:周龙(1976-),男,博士,副教授,现主要从事野生果树种质资源研究等工作。E-mail:zhoulong2004@126.com.

基金项目:教育厅青年教师科研培训基金资助项目(XJEDU2010S18);国家教育部重点资助项目(212199);新疆自治区果树学重点学科资助项目。

收稿日期:2013-01-28

Study on Factors Influencing Plant Regeneration of *Clivia miniata* Leaf

GUAN Li-xia

(Department of Biotech, Liaoning Agricultural Vocation-technical College, Yingkou, Liaoning 115009)

Abstract: Taking the leaf of *Clivia miniata* as material, the effects of different culture mediums, different leaf parts and multiplication algebra on the plant regeneration *in vitro* was studied. The results showed that the *in vitro* *Clivia miniata* leaf base regeneration capacity was the strongest, and the best differentiation medium was MS+ZT 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L; tissue culture proliferation 1~7 generation of the *in vitro* *Clivia miniata* leaf regeneration ability was stronger, then culture regeneration ability was abate, 10 generations after the regenerative capacity of the weakest; the best rooting medium for the *in vitro* plant was 1/2MS+IBA 1.0 mg/L, with rooting rate more than 98%.

Key words: *Clivia miniata*; leaf; plant regeneration