

文章编号:1001-7380(2015)04-0038-03

# 君子兰组织培养研究进展

王纪<sup>1</sup>, 张敏<sup>2</sup>, 黄利斌<sup>2</sup>

(1. 南京晓庄学院, 江苏 南京 211171; 2. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

**摘要:**对君子兰组织培养中外植体选择与消毒、外植体褐化问题、外植体主要诱导技术及组织培养苗生根移栽等方面进行了论述,同时提出今后的研究展望,以期为建立君子兰高效组织培养体系及工厂化育苗提供参考。

**关键词:**君子兰;组织培养;外植体;褐化;诱导;移栽;展望

**中图分类号:**S682.1<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2015.04.009

## Review of research progress in *Clivia miniata* tissue culture

WANG Ji<sup>1</sup>, ZHANG Min<sup>2</sup>, HUANG Li-bin<sup>2</sup>

(1. Nanjing Xiaozhuang University, Nanjing 211171, China; 2. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

**Abstract:** We reviewed the research progress in the tissue culture techniques for *Clivia miniata*, which involved the choice and disinfection, browning of explants, culture conditions, regenerated plantlet rooting and transplanting. By analyzing extent problems, we also gave a future prospect of the plant tissue the culture techniques, which would provide references for industrialized the culture and breeding of *Clivia miniata*.

**Key words:** *Clivia miniata*; Tissue culture; Explant; Browning; Induction; Transplant; Prospect

植物组织培养技术的出现,对植物种苗繁育以及育种领域的工作产生了重大的影响。这项技术应用在君子兰上的主要目的是进行植株扩繁及优良品种选育。早在1984年,刘敏就做了君子兰微繁殖的报道<sup>[1]</sup>。后来的学者又利用君子兰的不同品种,在不同的外植体类型、外植体灭菌消毒、褐变、培养基和培养条件以及生根技术等各方面开展大量研究,取得了一定的研究结果<sup>[1-9]</sup>。现结合实践经验和国内外有关文献对君子兰组织培养技术的研究进展进行详述。

### 1 外植体材料的选择

外植体类型是影响植物组织培养效果的首要因素。在君子兰组织培养过程中,使用过的外植体有:成熟胚、未成熟胚、子房、花托、花丝、花瓣、叶片、茎段、茎尖、根等<sup>[1-14]</sup>。1984年刘敏等以花蕾期的花

瓣及未成熟胚珠为材料,成功获得再生植株<sup>[1]</sup>。之后何奕昆以君子兰子房为材料从子房壁上诱导出愈伤组织继而分化成再生植株<sup>[3]</sup>。邓小敏等以不同品种的君子兰种子为材料,进行离体培养获得愈伤组织并能大量分化成苗<sup>[7]</sup>。刘福平等分别用无菌君子兰幼苗的茎尖、叶片和根为外植体诱导出愈伤组织,其中茎尖诱导率最高超80%<sup>[4]</sup>。还有研究者用钵栽苗茎尖和叶片为材料也成功诱导出再生小植株,并发现叶片的不同部位对再生能力的影响很大,基部再生能力最强,前端最差,中部处在二者之间<sup>[10]</sup>。

### 2 外植体材料的灭菌消毒

外植体材料的灭菌消毒是植物组织培养的第一步,也是外植体初代培养中关键的技术环节。这一环节决定了组织培养工作能否进行下去。君子兰外

收稿日期:2015-05-12;修回日期:2015-07-02

基金项目:江苏省农业三新工程项目“彩叶君子兰高效繁育技术示范”(SXGC[2014]295)

作者简介:王纪(1981-),女,江苏南京人,实验师,博士,从事植物组织培养研究。

植体材料的灭菌,一般的处理方法是:流水冲洗→70%~75%酒精浸泡→无菌水冲洗→0.1%升汞浸泡→无菌水冲洗。但由于升汞的剧毒性,国外多已不用,而以其他灭菌剂取代之,例如 NaClO<sup>[10-14]</sup>。但君子兰外植体消毒的系统研究还未见报道,不同类型外植体的消毒方法也没有总结,只是提到种子的消毒一般是流水冲洗 5~10 min→70%酒精 30~60 s→0.1%升汞 5~15 min→无菌水冲洗 5~8 次→接种;叶片消毒方法:0.1%升汞 10 min→无菌水冲洗 4~5 次<sup>[6-14]</sup>。

3 关于褐变问题

植物组织培养过程中外植体变褐死亡是诱导分化和再生芽产生的重大障碍,植物组织细胞中的酚类物质被氧化后产生棕褐色的醌类物质,使组织变成褐色。在离体培养过程中,这类物质扩散到培养基中,致使外植体生长受到抑制以致死亡,导致培养失败<sup>[11]</sup>。赵妮等以 2 年生大花君子兰实生苗为试验材料,对其组织培养过程中褐化的发生及防止措施作了探讨,结果证明褐化发生与叶片接种方式、培养基中激素种类有关,方差分析结果呈极显著,极差分析表明,君子兰叶片接种方式对防止褐变作用最

大,2,4-D 和 BA 对防止叶片褐变作用次之<sup>[6]</sup>。影响植物组织培养中褐变的因子很多,如植物的种类,外植体取材部位及生理状态,培养基成分,培养条件等,一般减轻褐变应选择幼龄的外植体、培养基中采用较低浓度的无机盐、合适的激素种类等,光照过强、温度过高也会加强褐变的产生<sup>[15]</sup>。在君子兰组织培养过程中可以结合上述因素对褐变加以系统研究。从而找到防止褐变发生的最佳方法。

4 培养基及培养条件

学者们认为适合君子兰组织培养的基本培养基是 MS 培养基<sup>[1-14]</sup>,从目前诸多的研究中可以看出,用于君子兰组织培养的激素有细胞分裂素类和生长素类,常用的细胞分裂素有 6-BA,KT 和 ZT,常用的生长素类有 NAA,IBA 和 2,4-D。激素种类、浓度和不同组合对君子兰外植体的诱导、增殖、分化、生根起着主导作用<sup>[15]</sup>。不同的品种、不同的外植体对激素的种类、浓度及其组合要求也不同<sup>[8]</sup>。因此有关君子兰组织培养的许多试验主要集中在有关激素调节方面。

现将目前已有报道的君子兰组织培养快繁的研究配方总结如下(见表 1)。

表 1 君子兰组织培养的几种配方

参考文献	培养阶段	外植体	培养基及激素配比	备注
[9]	诱导	未成熟胚	MS + 2.0 mg/L NAA + 1.5 mg/L BA	诱导四倍体
[11]	诱导	叶片	MS + 1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 2.0 mg/L 2,4-D + 3.5% 蔗糖	愈伤组织诱导
	生根	无根芽苗	1/2 MS + 2.0% 蔗糖	
[2]	诱导	花瓣、未成熟胚珠	MS + 0.5 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L ZT	
	分化	愈伤组织	MS + 0.1 mg/L NAA + 0.5 mg/L BA + 1.0 mg/L ZT	
[6]	诱导	叶片	MS + 2.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L 2,4-D + 5% 蔗糖	愈伤组织诱导
[5]	诱导	幼叶	MS + 2.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L ZT + 1.0 mg/L LH + 4% 蔗糖	
	生根	分化芽	MS + 0.1 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 4% 蔗糖	愈伤组织诱导
[4]	诱导	茎尖、幼叶	MS + 2.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L 2,4-D	壮苗生根
	分化	愈伤组织	MS + 2.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L 2,4-D	
[10]	生根	无根芽苗	1/2MS + 1.0 mg/L NAA + 0.2mg/L BA + 2% 蔗糖	
	诱导分化	试管苗叶片	MS + 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L KT + 1.5 mg/L ZT	
[3]	生根	叶片分化芽苗	1/2MS + 1.0 mg/L KT	
[7]	诱导分化	子房壁	MS + 2.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L 2,4-D + 3% 蔗糖	生根率达 98%
	诱导	种子	MS + 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L 2,4-D + 3% 蔗糖	愈伤组织分化出芽
	分化	愈伤组织	MS + 1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L NAA + 3% 蔗糖	诱导愈伤组织
[8]	诱导分化	叶片	MS + 3.0 mg/L BA + 2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L KT + 3% 蔗糖	愈伤组织分化成苗

## 5 生根与移栽

君子兰组织培养研究表明,生根有 2 种方式,一种是直接在分化培养基上生根,另一种是将无根芽苗转移到专门的生根培养基上培养生根<sup>[4-5,10]</sup>。具体的生根培养基配方见表 1。当试管苗生根培养长出小叶 3~4 片后,就可进行试管苗的移栽了。移栽时注意经过 7~14 d 的炼苗后再进行正常的栽培管理<sup>[16]</sup>。

## 6 问题与展望

君子兰是多年生常绿草本植物,可观可赏,全株入药。除美化环境外,还有一定的药用价值<sup>[18]</sup>。君子兰植株体内含有石蒜碱和君子兰碱,还含有微量元素硒,药物工作者利用含有这些化学成分的君子兰株体进行科学研究,用来治疗癌症、肝炎病、肝硬化腹水和脊髓灰质病毒等。通过试验证明,君子兰叶片和根系中提取的石蒜碱,不但有抗病毒作用,而且还有抗癌作用<sup>[18]</sup>。植物次生代谢与调控正在受到越来越多专家的关注,君子兰株体中含有的抗病毒及抗癌的物质有些就属于次生代谢物,而这些代谢物很难在体外合成,因此对君子兰次生代谢的研究是今后组织培养的重要方向。

虽然人们在君子兰组织培养方面取得了一定进展,也成功建立过植株再生体系,但其研究结果存在很大差异,难以建立一套完整、高效、通用的植株再生体系<sup>[16]</sup>。另外,君子兰体细胞胚胎发生途径的研究还未见报道,因此,需要加强研究,找到不同品种、不同外植体最适的培养基配方;需要在组织培养过程中进行培养基筛选、机理研究,来建立一套完善的植株再生体系,为君子兰优良植株的扩繁提供依据。

鉴于现有的研究成果还未在生产实践中转化,工厂化育苗的开展更无从谈起。组织培养苗都是在培养环境最佳情况下获得的,需要经过炼苗后才能适应外界的环境。而关于炼苗移栽方面的研究也很少,这也是今后君子兰组织培养研究的方向。

### 参考文献:

- [1] 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] 刘 敏. 几种观赏花卉的组织培养[J]. 武汉植物学研究, 1987,5(1):93-95.
- [3] 何奕昆. 几种植物的组织培养及植株再生研究[J]. 南充师院学报,1988,9(4):279-95.
- [4] 刘福平,林丽仙,郑明琼,等. 君子兰组织培养[J]. 亚热带植物通讯, 2000,29(3):50-51.
- [5] 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.
- [6] 赵 妮,邹志荣,刘青林. 君子兰叶片组织培养研究初报[J]. 陕西农业科学, 2005(4):51-52.
- [7] 邓小敏,雷家军,薛晟岩. 君子兰种子离体培养的研究[J]. 北方园艺,2008(2):201-203.
- [8] 邢桂梅,吴海红,徐兴伟,等. 君子兰组织培养研究[J]. 园艺与种苗, 2011(4):104-107.
- [9] 王 冲,雷家军,邢桂梅,等. 君子兰未成熟胚四倍体诱导及染色体数鉴定[J]. 园艺学报, 2011,38(7):1371-1376.
- [10] 关丽霞. 君子兰试管苗叶片植株再生的影响因素研究[J]. 北方园艺, 2013(9):114-116.
- [11] Wang Q M, Wang Y Z, Sun L L, et al. Direct and indirect organogenesis of *Clivia miniata* and assessment of DNA methylation changes in various regenerated plantlets[J]. Plant Cell Report, 2012,31(7):1283-1296.
- [12] Wang Q M, Gao F Z, Gao X, et al. Regeneration of *Clivia miniata* and assessment of clonal fidelity of plantlets[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2011,109(2):191-200.
- [13] Ran Y D, Simpson S. *In vitro* propagation of the genus *Clivia*[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2005,81(2):239-242.
- [14] 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, 34(6):1563-1568.
- [15] 曹孜义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学出版社,2001.
- [16] 叶露莹. 君子兰组织培养与快繁技术研究进展[J]. 亚热带农业研究,2006,2(3):231-233.
- [17] 刘 敏,舒金生. 君子兰未成熟胚的试管培养[J]. 植物生理学通讯,1983(2):43.
- [18] 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.
- [27] Johnson D, Campbell C D, Lee J A, et al. Arctic microorganisms respond more to elevated UV-B radiation than CO<sub>2</sub>[J]. Nature, 2002, 416(6876):82-83.
- [28] Donegan K K, Palm C J, Fiand V J, et al. Changes in levels, species and DNA fingerprints of soil microorganisms associated with cotton expressing the *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* endotoxin[J]. Applied Soil Ecology, 1995, 2(2):111-124.

(上接第 34 页)

- [25] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology [J]. FEMS Microbiological Ecology, 1997, 24(4):289-300.
- [26] Johnson D, Leake J R, Lee J A, et al. Changes in soil microbial biomass and microbial activities in response to 7 years simulated pollutant nitrogen deposition on a heathland and two grasslands [J]. Environmental Pollution, 1998, 103(2/3):239-250.