

君子兰无性繁殖的研究

赵桂兰 简玉瑜

(吉林省农科院大田所)

提 要

君子兰在吉林省是一种很受人们欢迎的观赏植物。它是异花授粉植物。我们拟通过组织培养技术进行大量快速繁殖。本文研究了外植体的选择,明确了萌发的种子、种胚、茎尖都适做快速繁殖的外植体,经离体培养能产生不定芽或愈伤组织。用种子、种胚、茎尖做外植体的已被诱导出植株,并诱导生根移至土壤中。MS为基本培养基。

正常君子兰植株,要经过3—5年培育,才能开花结实;有性繁殖系数一般一次产生100粒左右的种子,有性繁殖中,同一品种授粉率低,同株授粉结实率更低,并且后代生活力减退。因此君子兰繁殖一般采用不同品种授粉,后代变异,难以保持优良品种的种性。目前我省君子兰爱好者,已培育出许多名贵品种,如凤冠、花脸和尚、和尚短叶、春城短叶、抱头和高等十多个优良品种;另外,国际花卉苗木出口,必须严格检疫。我们拟通过组织培养技术,大量快速繁殖,在短期内获得纯度高、数量大、和母本一致的名贵品种后代,这样不仅可满足国内人们生活的需要,而且可以以试管苗出口。

为了这个目的,我们研究了以下几个问题:找出适合快繁的外植体和相应的培养基;外植体扩繁途径;如何促进芽体成苗和不断增殖;壮苗成株,促进生根和移栽等技术。

材 料 和 方 法

采用垂笑、黄技师、胜利和胜利杂种、春城短叶等几个品种。外植体包括叶、心叶、叶鞘、根尖、侧芽、茎尖、花瓣、花丝、花药、子房、胚珠、种子、种胚13个部分,茎尖和侧芽采用放射方向切割,尽量使每个切块有皮层组织,望获得更多的不定芽。

材料的消毒先用自来水冲洗外植体数分钟,并用肥皂水洗刷表面,再用自来水冲洗干净,然后在无菌条件下用75%乙醇浸30秒,放进5%次氯化钠消毒10分钟,或用饱和漂白粉上清液消毒30分钟(另根据外植体的部位而变动消毒时间),最后用无菌水冲洗5次。根据不同外植体切割或不切割,接种于不同培养基中。

试验了MS、B₅、ER、SH、White五种基本培养基;并在MS培养基的基础上添加不同激素、生长素,共设计了51种培养基。接种材料放置于24—28℃,10小时光照的培养室内培养。

不定芽产生后,分二种方法进行培养:一是转入固体分化培养基,一是转入液体培养基。

结 果

一、外植体的选择:

为了达到快速繁殖的目的,我们试验了13种外植体;以种子、种胚、茎尖、叶鞘、

• 刘德璞、罗希明1983年参加部分工作。

子房、胚珠6种外植体较好，在离体培养条件下能产生不定芽或愈伤组织。

表1 1983年不同植株茎尖外植体芽的诱导率

株号	品种	叶片数	接种块数	出现芽数	芽的诱导率(%)
4	垂笑	7	25	8	32
5	垂笑	10	33	4	12
7	垂笑	7	35	1	2
8	垂笑	10	32	12	37
9	垂笑	9	31	1	3
10	垂笑	11	35	14	40
11	胜利杂种	8	39	14	35
12	胜利杂种	12	38	1	2
13	胜利杂种	7	40	4	10
14	胜利杂种	6	29	2	6
16	长春短叶	8	47	0	0
18	垂笑	6	45	0	0
19	大胜利	15	90	0	0
20	大胜利	15	158	0	0

从表1可以看出，芽的诱导率与品种有很大关系，繁殖率高的品种（如第4—10株，均为垂笑），茎尖外植体芽的诱导率高达30—40%；反之，如长春短叶（第16株）未获得芽。另外茎尖不定芽出现多少似乎与幼苗年令有关，植株太大（15片叶）或过小（如侧芽），不定芽出现不多；以7—10片叶的幼苗的不定芽成活好。由于出现不定芽后进行固体和液体培养的对比，有的芽分割一半至固体，一半转液体；有的同一植株同一培养基一半芽转固体，一半芽转液体，大大影响芽的成苗率。就是在这种情况下，其中第11株，移栽后成苗为5株，即35%的芽成苗。

从表2不同外植体芽的诱导率对比看，种子、种胚芽的诱导率高达85—93%，茎尖32%，胚珠为6%，而子房、花丝、花药、根、叶则只产生愈伤组织，无不定芽。

从目前获得苗的扩繁途径看，以直接形成不定芽为主，从愈伤组织再分化苗并未获得；液体培养，悬浮细胞扩繁快，但是从悬浮细胞再度分化苗更困难。有待进一步研究。

二、培养基的筛选

三年共设计51种培养基。第一步比较了五种不同基本培养基，只有在MS和SH培养基获得不定芽，B₅、ER对君子兰培养均不适应，未见不定芽的产生，White培养基在诱导方面作用不明显，但对壮苗、生根有好处，诱导芽还是以MS为最好。

在以MS为基本培养基的45种处理中，变动6BA、KT、NAA、IAA、2,4-D、Z-1T等用量，试验不同细胞激素和生长素对君子兰分化的影响，筛选出16种较好的分化培养基。这16种培养基均能诱导出不定芽（见表3）。如以芽最后成苗率来看，以1、10、20、25、49、50号培养基最好，他们主要成分如下表（见表4）。

从这6种培养基看出6BA、NAA、2,4-D对君子兰不定芽的诱导关系较大，特别是6BA的作用显著，6BA1.5mg/l时，芽的诱导率为69%（表3，20号培养基），6BA2mg/l时，达90%（49号培养基）。但是丛芽的产生不明显。

为了进一步明确这几个成分对芽的诱导的影响，设计了6组培养基对比，以种胚为外植体，MS为基本培养基。第一组是6BA（以0—3mg）用量对比。第二组是2,4-D

表3 不同分化培养基芽的诱导率的对比

培养基代号	外植体	接种块数	出现芽数	芽的诱导率(%)	已移至土植株数
1	茎尖	46	12	26	3
1	种胚	25	6	24	
2	茎尖	52	17	32	1
10	茎尖	54	14	25	5
10	种子、种胚	56	18	32	
20	种子、种胚	51	35	69	2
21	种胚	13	4	30	
22	种胚	20	2	10	
23	茎尖、种胚	36	11	30	
25	种胚	18	7	38	1
29	种胚	15	7	47	
30	种胚	6	1	16	
33	种胚	12	6	50	
46	种胚	15	3	20	
47	种胚	10	4	40	
48	种胚	10	2	20	
49	种胚	10	9	90	1
50	种子、种胚	27	13	48	3

表5 6 BA不同用量对芽诱导的影响

6 BA用量	接种块数	出现芽数	芽的诱导率(%)
0	9	0	0
1	25	6	24
2	9	2	22
3	15	7	47

第一组, NAA和2,4-D均为1 mg, 比较6 BA的作用。从表5看出6 BA用量的增加, 对芽的诱导有增加的趋势。

第二组, NAA和6 BA均为1 mg时, 比较2,4-D的作用。2,4-D用量的提高可提高芽的诱导率。

第三组, NAA用量变动在0.5—1 mg之间, 对芽的诱导有好处; 上面所述的16棵已移至土壤的植株, 12株的培养基均有NAA(培养基1、10、20、25)。另外从第五组对比看, 2,4-D和6 BA用量与第一组相同, 只变NAA为IAA, 未见芽的出现。说明IAA对君子兰芽的诱导作用不如NAA。而49、50号培养基虽然没有NAA, 所得的植株是先在别的培养基培养后转至49、50号的, 不可能否定NAA的作用。

致于KT的用量, 似乎在用量不高时(0.1—0.5 mg)有25—28%的芽诱导率; 第10号培养基以茎尖为外植体时成苗率较高, 1983年获得5个完整植株; 而38号培养基, KT的用量为5 mg时, 未见不定芽出现。

Z-T(玉米素核苷)似乎对君子兰的分化作用不大。

表4 六种分化培养基主要成分

培养基代号	基本培养基	NAA 2, 4-D	6 PA	KT	IAA	Ad(mg/l)
1	MS	1	1	1		
10	MS	1	1		0.5	
20	MS	0.5	0.1	1.5		
25	MS	0.5	1	0.5	0.1	0.5
49	MS			2		
50	MS			3		80

注: NAA(萘乙酸), 6 BA(6-苄氨基嘌呤), KT(6-咪喃氨基嘌呤)IAA(吲哚乙酸), Ad(硫酸腺嘌呤), 2 A-D(2, 4-二氯苯乙酸)

(0—3 mg)用量对比。第三组是NAA(0—1 mg)用量对比。第四组是KT(0.5—5 mg)对比。第五组IAA和NAA的对比。第六组Z—T(2—4 mg)的对比。

表6 2,4-D不同用量对芽的诱导的影响

2, 4-D用量	接种块数	出现芽数	芽的诱导率(%)
0	6	0	0
0.5	2	0	0
1	25	6	24
2	3	1	33
3	13	6	50

另外，君子兰外植体一般不产生愈伤组织，我们从51种培养基中筛选出四种培养基可从种胚、胚珠、子房、幼根、茎尖获得愈伤组织。详见表7。

表7 同一培养基对不同外植体产生愈伤组织的比较

培养基号	外植体	接种块数	愈伤组织数	愈伤组织诱导率 (%)
20	种子、种胚	50	0	0
	子房	25	21	84
	幼根	21	4	14
27	种胚	10	4	40
	茎尖	10	0	0
33	胚珠	10	8	80
	茎尖	25	13	50
50	种子	20	0	0
	种胚	20	15	75
	茎尖	5	1	20

诱导芽出现后，一般在分化培养基上不容易抽茎，生长缓慢，必须及时转至有赤霉素的培养基；同时也可以变动基本培养基，把MS的大量元素降低或转至改良White培养基，降低糖分，植株才能健康生长起来，达到壮苗的目的。

随着植株生长，进一步诱导生根，经几年摸索，以 $\frac{1}{2}$ MS或改良White附加IAA、IBA各0.5mg时，生根良好。

君子兰植株生根后，转至砂培或直接转入营养土均可，君子兰移栽成活率高，几乎达到100%。

三、几种扩繁方法芽增殖率的比较

从这几年摸索，君子兰植株有顶端优势，当主茎的茎尖分割后可大量的产生不

定芽，在7—8片叶的幼苗期，一个茎尖可分割30—40块，可得14个不定芽，芽的诱导率达35—40%；茎尖去掉后，母株可不断产生侧芽，侧芽生长至7—8片叶时又可再分割，一年之内一个母株可分割2—3次，一年可得与母株种性一致的50—60株组培苗，也就是说，幼苗期就可扩繁50—60倍，第二年又再分割，这是用茎尖作外植体的无性繁殖。如用种胚作外植体，目前一个种胚可扩繁2—3个不定芽，有的单位达到5—6个，比一般种子繁殖增加2—5倍，扩大了优良植株的扩繁率；但是由于是通过种子异种异株授粉所得，每粒种子之间的遗传性不同，与母株遗传性也不完全一致。因此从这两种扩繁率高的方法对比，我们认为从保持种性角度来看，还是以幼苗茎尖作为外植体方法为佳。

除茎尖、种胚获得组培植株外，从叶鞘、胚珠、子房等组织可诱导出愈伤组织，但从我们目前的培养方法，不论是固体培养或液体培养，愈伤组织再分化十分困难，至今未从这个途径获得再生植株，促进愈伤组织的分化，有待进一步研究。

四、繁殖率与品种的关系

我们采用垂笑、胜利、胜利杂种、长春短叶、黄技师等几个品种，芽的诱导率以垂笑、胜利杂种和胜利高，黄技师低，长春短叶未获得不定芽；同时从试验的母株再生苗的能力也有相同的趋势。1983年9株移栽成活植株中，7株是胜利和胜利杂种，2株来自垂笑。1985年4株移进土培的植株，也是胜利品种。似有品种进化程度越高，增殖能力越低的趋势，而偏向野生型的品种，它的增殖力高。这种趋势对扩繁优良稀有的品种不利，但过去由于君子兰价格昂贵，试验材料不多，还有待进一步探讨。

五、组培植株生长情况和它的实用价值

我们从1983年获得了再生植株，1984年移至土培，一年多对植株生长发育作了观察，现已有七片叶子，生长良好；与母株再生苗对比，性状完全一致，没有什么变异，达到培育种性一致苗的目的。但另一方面应看到组培苗发育与正常实生苗差不多，但叶变窄变小，特

别是初期的1—3片叶子。因此从君子兰是花叶并美的观赏花卉来考虑,组培苗初期直接观赏价值会降低,待成株后生长逐步恢复正常,则观赏价值不会改变。致于组培苗能否提前开花,还有待观察。

这是我们初步研究结果,有许多问题有待进一步研究。

STUDIES ON CLONAL PROPAGATION OF CLIVIA BY TISSUE CULTURE

Zhao Guilan Jian Yuyu

(Soybean Institute, Jilin Academy of Agricultural Sciences)

ABSTRACT

Clivia is an important ornamental plant species in Jilin Province. Clivia is an perennial cross-pollinated plant. The objective of this study was to develop a method for clonal propagation through *in vitro* culture of explant. Clonal propagation of clivia through *in vitro* culture of shoot tip and germinating seed (germinal bud) have been highly succeeded. Plants have been successfully obtained through *in vitro* culture of shoot tip and germinating seed. Produced plantlets were rooted and transplanted into soil. The efficiency of various explant types is discussed. The results show that the best medium for the explant culture *in vitro* of clivia was the MS ones.