

我国植物组织培养的发展现状与前景展望

郝玉华

(淮安生物工程高等职业学校, 江苏淮安 223200)

摘要: 植物组织培养作为一种有效的技术手段已被广泛应用于生产实践的各个领域。本文从植物组织培养技术的应用现状, 指出植物组织培养在植物学研究、育种学研究的基础地位和林木花卉育苗产业中的科技支撑与保障作用。同时通过对植物组织培养中存在的问题进行分析, 结合当前国内外在这一领域的一些范例, 提出了我国植物组织培养的发展对策与展望。

关键词: 植物; 组织培养; 发展现状; 前景展望

中图分类号: S-1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2008)04-0020-04

植物组织培养是从 20 世纪 30 年代初期发展起来的一项生物技术。它是指在无菌条件下, 将离体的植物器官(如根、茎尖、叶、花、未成熟的果实、种子等)、组织(如形成层、花药组织、胚乳、皮层等)、细胞(如体细胞、生殖细胞等)、胚胎(如成熟和未成熟的胚)、原生质体(如脱壁后仍具有生活力的原生质体)培养在人工配制的培养基上, 给予适宜的培养条件, 诱发产生愈伤组织、潜伏芽等, 进而培育成完整的植株, 统称为植物组织培养。由于是在试管内培养, 而且培养的是脱离植株母体的培养物, 因此

也称之为离体培养或试管培养。根据外植体来源和培养对象的不同, 又分为植株培养、胚胎培养、器官培养、组织培养、原生质体培养等。

1 我国植物组织培养的应用现状

1.1 在植物育种上的应用

1.1.1 单倍体育种 单倍体植株往往不能结实, 在培养中用秋水仙素处理, 可使染色体加倍而成为纯合二倍体植株, 这种培养技术在育种上的应用称为单倍体育种。单倍体育种具有高速、高效率、基因型一次纯合等优点, 因此, 通过花药或花粉培养的单倍体育种已经作为一种崭新的育种手段, 并已开始育成大面积种植的作物新品种。

1.1.2 胚胎培养 在植物种间杂交或远缘杂交中,

化栽培、直播栽培等技术均在江苏得到快速发展, 由此带来了不同栽培技术体系对品种的合理选择与优化布局等问题。如水稻直播栽培, 一般水稻苗期植株根系入土浅, 根群量小, 固着力不强, 到水稻乳熟期, 形成“头重脚轻根底浅”的现象, 易发生倒伏。因此, 应选择茎秆粗壮, 基部节间较短, 分蘖力较强, 穗数较多, 穗型中等, 株型适中的中、矮秆品种。随机械的改进、塑料软盘育秧等相关配套技术的成熟, 水稻机插秧省工、省时、高产、稳产优势得到充分体现, 机插秧面积迅速发展。机插秧秧龄一般 15~20 d, 叶龄 3.5~4 叶, 因此, 对于前茬种有作物的大田, 机插秧必须推迟播种。机插秧选用品种应符合机插秧的特点, 尤其在熟期上应选用适宜迟播的早中熟品种。因此, 必须重视适合稻作生产新技术要求的新品种选育和推广。

收稿日期: 2008-04-16

作者简介: 郝玉华(1957—), 女, 江苏淮安人, 副教授, 高级农艺师, 主要从事作物栽培和植物组织培养的教学与科研工作。Tel: (0517) 85508886; E-mail: hnhaoyuhua@126.com。

(上接第 19 页)

以布局优化、品质优化、质量安全化为主线, 以产业链式开发为突破口, 加快发展优质稻米产业。

据统计, 自 2001 年以来, 江苏省共审定通过了达国标优质三级以上的水稻品种 55 个, 其中一级品种 7 个, 二级 17 个, 三级 31 个, 为江苏发展优质稻米产业奠定了良好的基础。今后, 在加快适应性广的优质高产品种选育的同时, 重点要加大现有优质品种的推广力度, 不断优化品种结构。在品种推广中注重扩大优质籼稻组合的推广, 压缩中低质杂交稻组合的种植; 扩大优质且适口性好的粳稻品种种植面积, 压缩中低质粳稻的生产。

2.5 适应不同稻作技术需要, 加快培育和推广专用品种

除了传统的大、中苗常规栽培技术外, 水稻机械

杂交不孕给远缘杂交带来了许多困难。而采用胚的早期离体培养可以使胚正常发育,并成功地培养出杂交后代,再通过无性系繁殖获得数量较多、性状一致的群体。胚培养已在 50 多个科属中获得成功。远缘杂交中,可将未受精的胚珠分离出来,在试管内用异种花粉在胚珠上萌发受精,产生的杂种胚在试管中发育成完整植株,此法称为“试管受精”。用胚乳培养可以获得三倍体植株,为诱导形成三倍体植物开辟了一条新途径。三倍体加倍后能得到六倍体,可育成多倍体新品种。

1.1.3 细胞融合 通过原生质体融合,可部分克服有性杂交不亲和性而获得体细胞杂种,从而创造出新种群或育成优良品种,这是组织培养应用最诱人的一个方面,已获得 40 余个种间、属间、甚至科间的体细胞杂种、愈伤组织,有些还进而分化成苗。目前,采用原生质体融合技术已经能将不易杂交的植物(如番茄与马铃薯、烟草与龙葵、芥菜与油菜等)原生质体融合后获得属间杂种。随着原生质体融合、选择、培养技术的不断成熟和发展,今后可望获得更多有应用价值的经济作物体细胞杂种及新品种。

1.1.4 基因工程 用基因工程的方法,把目标基因切割下来并通过载体使外来基因整合进植物的基因组是完全有可能的,这项研究如果获得成功,将克服作物育种中的盲目性,而变成按人们的需要操纵作物的遗传变异,育成优良品种。目前这项研究成为最热门的领域,但植物的遗传背景比原核生物更为复杂,因此,要用基因工程实现作物改良以增加产量和改善品质,这是 21 世纪生物技术领域要解决的一个重大科学问题。

1.1.5 培养细胞突变体 无论是愈伤组织培养还是细胞培养,培养细胞均处在不断分生状态,容易受培养条件和外界环境(如射线、化学物质等)的影响而产生诱变,从中可以筛选出对人们有用的突变体,从而育成新品种。例如,对植物抗病虫性、抗寒性、耐盐性、抗除草剂毒性、生理生化变异株等的诱发为新品种筛选和选育提供了丰富的变异材料。目前,这种方法已筛选出抗病、抗盐、高赖氨酸、高蛋白、矮秆高产的植物突变体,有些已应用于生产。

1.2 在植物脱毒和快速繁殖上的应用

植物脱毒和离体快速繁殖是目前植物组织培养应用最多、最有效的一项技术。很多农作物都带有病毒,特别是无性繁殖植物如马铃薯、甘薯、草莓、大

蒜等。但是,感病植株并非每个部位都带有病毒。White 早在 1943 年就发现植物生长点附近的病毒浓度很低甚至无病毒。利用植物茎尖组织培养方法,取一定大小的茎尖进行培养,可获得脱病毒苗,再用脱病毒苗进行快速繁殖,生产大量脱病毒种应用于农业生产,能极大地提高产量和改善品质。目前组织培养脱毒快繁技术在马铃薯、甘薯、甘蔗、菠萝、香蕉、草莓等主要经济作物上已成功应用。一些繁殖系数低、不能用种子繁殖的“名、优、特、新、奇”作物品种以及脱病毒、新育成品种、新引进品种、稀缺育种材料、优良单株、濒危植物和基因工程植株等都可通过离体快速繁殖,且获得比常规方法快数万倍至数百万倍的繁殖效果。另外,在观赏植物、园艺作物、经济林木上也大量利用了离体快繁技术,如华南植物园、上海园林科研所等单位利用组培快繁方法繁殖兰花、非洲紫罗兰,中国农科院花卉所成功培育出的香石竹、白鹤芋、火鹤等组培苗已在北京市的鲜花生产企业进行了大规模的推广应用。组培试管苗生产已在国际国内市场形成产业化。

1.3 在植物有用次生代谢产物生产上的应用

利用植物组织或细胞的大规模培养,有可能生产出人类所需要的一切天然有机化合物,如蛋白质、脂肪、糖类、药物、香料、生物碱及其他化合物。因此,近年来这一领域已引起人们的极大兴趣,许多产业部门纷纷投资进行研究。目前,大约已有 20 多种植物的培养组织中有效物质高于原植物,国际上已获得这方面专利 100 多项。用单细胞培养生产蛋白质,将给饲料和食品工业提供广阔的原料生产前途;用组织培养方法生产微生物以及人工不能合成的药物或有效成分的研究正在不断深入,如中国科学院植物研究所的紫草细胞大规模培养、华中理工大学的红豆杉细胞大规模培养、上海中医药大学的黄芪毛状根大规模培养等,有些已进行产业化生产,预计今后将有更大发展。

1.4 在植物种质资源保存和交换上的应用

农业生产是在现有种质资源的基础上进行的,由于自然灾害和生物之间的竞争以及人类活动对大自然的影响,已有相当数量的植物物种在地球上消失或正在消失。具有独特遗传性状生物物种的绝迹是一种不可挽回的损失。利用植物组织和细胞法低温保存种质,可大大节约人力、物力和土地,还可挽救濒危物种。同时,离体保存的材料不受各种病虫害侵染、不受季节限制,利于种质资源的地区间及国

际间的交换和转移,给保存和抢救有用基因带来了希望。例如胡萝卜和烟草等植物的细胞悬浮物,在 $-20 \sim -196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的低温下贮藏数月,尚能恢复生长并且再生成植株。目前,我国在多个地方建立了植物种质资源离体保存设施。

1.5 在遗传、生理、生化和病理研究上的应用

植物组织培养技术推动了植物遗传、生理、生化和病理学的研究,已成为植物科学研究中的常规方法。花药和花粉培养获得的单倍体和纯合二倍体植株是研究细胞遗传的极好材料,在细胞培养中很容易引起变异和染色体变化,从而可得到作物的附加系、代换系和易位系等新类型,为研究染色工程开辟了新途径。细胞培养和组织培养为研究植物生理活动提供了一种极有力的手段。通过植物组织培养可以在植物的矿质营养、有机营养、生长活性物质等方面展开研究,有益于了解植物的营养问题。在细胞的生物合成研究中,细胞组织培养也极为有用,如查明了尼古丁在烟草中的部位等。细胞培养为研究病理学提供了方便,如植物的抗病性就可以通过单细胞或原生质体培养进行鉴定,短短几天之内就可以得到鉴定结果。

2 我国植物组织培养的研究进展

2.1 组培技术研究进展快速

从 20 世纪 50 年代我国植物组织培养创始人之一罗士韦教授在中国科学院上海植物生理研究所开展了组织培养的研究以来,植物组织培养技术已有丰硕的研究成果。在近 10 多年来其发展更为迅速,全国各地许多农业科研院所和高校都开展了植物组织培养研究工作,对农作物、观赏植物、园艺作物、经济林木等上千种植物进行组织培养研究并取得了成功,同时在实践中总结出很多有益的经验,如郑文静等较好地总结了植物组织培养中的常见问题和具体解决方法;吴毅明等在植物组织培养的环境微生态的研究中,用通透性好的化学纤维、纸卷、蛭石、沙子等代替琼脂作培养基,可有效地改善根际环境,促进小植物生根;刘思九采用的暴露培养法,即在敞口培养器中用特制的粉末状灭菌材料覆盖培养基和外植体,使其不受污染,通过特制装置补水,让组培苗暴露在室内空气中生长,其长势优良,不炼苗即可移栽。肖玉兰等研究的无糖箱式培养法(培养基不放糖,在培养瓶内用特殊装置注入 CO_2 ,然后加强光照 3~5 倍,小植物能进行光合作用自给养分),使植株

生长量成倍增长,有效地降低了生产成本。

2.2 组织培养设施不断改进,规模不断扩大

随着植物茎尖培养脱病毒技术以及离体快繁技术日趋成熟,20 世纪 90 年代以来全国各地相继建立了一批工厂化试管苗繁育基地,在马铃薯、草莓、香蕉、甘蔗、桉树、杨树以及一些花卉上已有商业化的试管苗生产体系,产生了良好的经济效益和社会效益,形成了“兰花工业”、“香蕉工业”。如从 1986~1992 年春,我国香蕉主产区的香蕉组培苗栽培总面积达 18 万 hm^2 ,2000 年全国香蕉组培苗商品量达 1 亿株左右,占全国商品组培苗总量的 2/3。马铃薯作为重要的经济作物,其脱毒苗增产可达 60%,脱毒种苗的生产也越来越被知名企业看好,如百事可乐公司投资在中国农业科学院建立的脱毒种薯组培生产车间。据不完全统计,目前我国约有 2 000 多家组培室,在上千种植物中建立了组培再生技术,年产组培苗几亿株。同时随着组织培养规模不断扩大,国内比较大的一些组培公司如新会组培育苗厂、海南热带植物组织培养研究中心、海南万恒种苗公司、杨凌农业高新技术开发区新建的组培中心等设施不断改进。目前新会组培中心的生产线已达半自动化,万恒种苗公司也从国外引进了高新技术和设备。这些组培厂年产种苗数千万株,极大地满足了市场的需求。

2.3 积极寻求开展同国内外组培技术的交流合作

对外开放以来,我国各农业科研院所、高等院校和组培中心(公司)在组织培养技术领域积极开展对外的技术交流与合作,借鉴和学习荷兰、美国、加拿大、英国等组培产业发达国家的成功经验,从而使国内组培产业得到了较大的发展。例如,中荷农业部合作组建了上海园艺培训示范中心,定期开设组培专业技术和管理知识等培训课程;组织专家访问美国加州的植物实验室公司总部,参观学习其现代化生产技术、先进管理水平和崭新的经营理念;安排有关专业人员出国学习农业高新技术;引进品种资源和组培生产管理技术等,这些措施有效推动了我国组培技术的发展。

3 我国植物组织培养中存在的主要问题

3.1 组培技术尚不完全成熟,组培投入成本较高、效益较低

目前,我国的组织培养技术相对于国外来说,还只是边摸索边应用的阶段,一些组培关键的技术问

题尚未能克服,如组培苗的污染、褐化、玻璃化问题以及繁殖系数较低等技术未能达到理想效果,有些国内外热销和名贵的植物品种因技术体系不完全成熟而不能进行规模化生产。同时由于植物组培生产要求组培设施、仪器设备较完备,需较大投资,在生产过程中水电费用高,生产效益较低。我国组培产业的研究和发展还有待进一步加强。

3.2 组培专业技术和管理人员较少

在农业发达的国家和地区,组培技术人员都是经过严格培训出来的,多者专业培训十几年,少的也有几年专业培训;而我国除少部分组培技术人员有机会接受专业技术培训外,大多数从事组培的人员都没有机会培训,特别是能出国接受专业培训的人微乎其微。在组培产业中,很多参与组培厂管理和技术工作的人员都是工作后才真正接触组培,边工作边学习,而少量专门从事组培研究的专家却不能直接参与生产和管理,使得技术和管理不能有机地结合,从而影响了其产效。这些状况影响了我国组培技术的研究和发展进程。

3.3 组培设施系统较落后,国际竞争力较弱

国外新型工厂化组培苗的生产,从培养基的制备、消毒、存储和植物的接种、培养、观察等都是在无菌工作间进行的,这样大大降低了污染率,提高了工作效率;而在国内,由于资金有限,除了在接种台上必需的无菌操作外,其他的都是在自然空气中,加之培养室环境控制不好,故污染率较高。在培养方式方面,发达国家采用穴盘纤维营养液无糖培养方式,有效地降低了成本,其培养室内的光照、光质、光周期、温湿度、CO₂ 浓度等全部采用自动控制,而我国多数还是采用基质容器的粗放培养。在日本等国家接种上已投入能分清材料好坏的机器人操作,但我国至今还是人工接种。这些因素影响了我国组培产业的国际竞争力。

4 我国植物组织培养产业发展的对策思考

4.1 加强宏观管理和指导,建立良好的生产秩序

首先要加强宏观管理和指导,从我国国情出发,根据国家计划、地区发展和市场需求,及时地调整产品方向,并选一些技术已成熟、难以繁殖或珍稀名贵品种来繁殖或脱毒,避免多家品种重复生产;同时,应该由政府有关部门负责,建立和健全行业组织,规范生产和管理行为,要加强市场调研,根据市场的需求指导确定不同作物的组培苗生产。应充分吸取

1998 年我国芦荟组培苗生产的教训,避免生产的盲目性,使我国的组织培养产业步入有序、健康的发展轨道。

4.2 加强技术交流与合作,提高组培科技水平

加强对外技术交流和合作关系,聘请国内外知名组培专家、学者做技术顾问,开办培训班,加强组培技术和经营管理人员的专业培训,提高组培产业从业人员技术水平,完善组培科技支撑体系,提高组培产业技术水平。根据实际情况,着力解决组培生产过程中遇到的污染、褐化、玻璃化问题和繁殖系数较低等问题,采取有效措施,降低人工接种污染率和提高繁殖系数,最终提高组培苗移栽成活率和组培效益。

4.3 引进外资,改善组培设施系统,提高组培规模化生产水平

生产实践证明,组培快繁自动化、现代化、专业化程度越高,生产效益越大。我国组培工厂规模普遍偏小,竞争力差,应集中力量培育一批龙头组培生产企业,积极引进外资,引进国外组培苗工厂化生产的新型设备,促进产业升级。同时在“品种调准、产品做优”的原则指导下,紧跟国际发展前沿,根据市场需求,重点研究市场开发潜力好、经济价值高的珍稀苗木,因地制宜地开展组培技术研究和工厂化生产,建立种苗工厂化生产繁育基地,实现组培种苗专业化和规模化生产。

5 我国植物组织培养的前景展望

植物组培快繁的国内现状与趋势表明该项技术已由试验阶段进入了生产阶段,在花卉、蔬菜、果树、中草药等已有 100 多个品种能工厂化生产,花卉年出口创汇能力已达 8 000 多万美元。同时,随着我国加入 WTO 后国内农业的国际贸易出现更加自由宽松的环境,要抓住机遇,引进、吸收、消化国外先进的组培经验和成果,根据我国现在的经济和农业发展情况,积极发展组培业,适当创建半自动化、专业化的组培快繁工厂,有选择地生产一些名贵、珍稀及国内外紧俏的植物品种,或在植物脱毒、转基因上进行商业化生产,在实践中培养和造就出一批组培产业的生产、技术及经营管理人才,形成自己的特色和生产格局,在未来的国际竞争中和在组培苗品种、生产技术、经营管理、市场流通等方面逐步缩小与组培业发达国家的差距,逐步与国际市场接轨,从而为发展我国现代农业提供可靠的技术支撑。