

植物组织培养研究

文慧婷 张翠玲

(中国热带农业科学院香料饮料研究所,海南万宁 571533)

摘要 培养植物体或一部分器官、组织、细胞以及原生质体,在人工控制的条件下(提供适宜的温度、湿度、光照和植物所需的激素及碳水化合物)下,使其按照人们意愿去分化或产生人们所需的部分或产物,来满足人们的需要,为人类造福。

关键词 植物;组织培养;应用

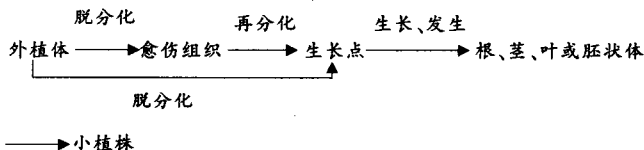
1 植物组织培养的概念和理论依据

1.1 植物组织培养的概念

植物组织培养(Plant tissue culture)是指在无菌的条件下,将离体的植物器官(根、茎、叶、花、果实、种子等)、组织(形成层、花药组织、胚乳、皮层等)、细胞(体细胞和生殖细胞)以及原生质体,培养在人工配制的培养基上,给予适当的培养条件,使其长成完整植株的过程。由于培养的是脱离植物母体的培养物,在试管内培养,所以也叫离体培养(Culture in vitro)或试管培养(In test-tube culture)。

1.2 植物组织培养的理论依据

植物组织培养的理论依据是植物细胞具有全能性(totipotency)。在组织培养中,我们把从活体上切取下来进行培养的那部分组织或器官叫做外植体。外植体通常都是多细胞的,并且组成它们的细胞常常包括各种不同的类型。因此,一个外植体所形成的愈伤组织也是异质性的,其中不同的细胞形成完整植株的能力不同。一个成熟的植物细胞能够再分化而形成完整的植株,是因为这些细胞具有全能性。所谓细胞全能性是指植物体任何一个细胞都携带着一套发育成完整植株的全部遗传信息,在离体培养情况下,这些信息可以表达,产生出完整植株,所以说组织培养的理论依据是植物细胞具有全能性。要使细胞全能性表达出来,形成完整植株,除了生长以外,还要经过分化、脱分化和再分化等过程(在有些情况下,再分化也可不经愈伤组织阶段,而直接发生于脱分化的细胞)。其过程为:



2 植物组织培养的类型

(1)根据所培养的植物材料不同,把组织培养分为器官培养(胚、花药、子房、根和茎的培养等)、分生组织培养、愈伤组织培养、悬浮细胞培养和原生质体培养等,其中愈伤组织是一种最常见的培养形式。所谓愈伤组织,是指当将离体组织或器官放在培养基进行离体培养时,这些离体组织或器官就会进行细胞分裂,形成一种高度液泡化的呈无定形态的薄壁细胞。

(2)根据培养方法来分,有平板培养、微室培养、悬浮培养和单细胞培养等。

(3)根据培养过程,将从植物体上分离下来的部分进行第一次培养,称初代培养(primary culture),以后将培养物转移到新培养基上继续培养,则统称继代培养(subculture)。

(4)根据培养基物理状态,把加入琼脂使培养基呈固体状态的培养,称固体培养(solid culture);不加入琼脂而培养基呈流体状态的培养,称液体培养(liquid culture)。

3 植物组织培养的应用和重要性

3.1 植物组织培养的应用

植物组织培养的快速繁殖,就是应用组织培养和细胞培养技术,快速繁殖珍稀濒危植物,使物种得以保存;以及快速繁殖名、优、特、新品种,使其在一定时间内繁衍为一定数量的植株。而且快速繁殖的植株能保持母本的生物特性和遗传性状,并且还可以在短期内种植于田间。比常规方法快数万倍到数千百万倍,相对于常规繁殖来讲,是一种指数式的增长,可以及时提供大量人们所需优质种苗。快速繁殖是当前植物细胞工程中应用最广泛、最有效的方法之一。近40年来,由于组织培养基础理论研究的深入,发展更为迅速,实际应用范围也越来越广。其实际的应用有以下几个方面:

(1)特殊育种材料的繁殖。利用作物的花药和花粉单倍体等组织培养育种法,与常规方法相比,组织培养可以在短时间内得到作物的纯系,从而加快特殊育种材料的繁殖过程。

(2)濒危植物的离体快繁。我国植物种类繁多,但由于环境污染、人为过度采挖和森林资源的破坏等因素影响,致使许多植物种类灭绝和濒临灭绝。如我国草药的研究和利用具有悠久的历史,但由于过度采挖,使某些药用植物资源遭到严重破坏,目前采用组织培养来加速药用植物的繁殖生长已获得成功,并投入工厂化生产,这在一定程度上可解决(缓解)这一难题(问题)。

(3)离体保存种质的快繁。种质资源的保存和基因库的建立,在育种工作中是十分重要的。由于组织培养材料的体积小,有利于在低温或超低温中长期保存。可将这些外植体在各种生长抑制条件下,使其缓慢生长,以达到长期保存的目的,以备将来之需。

(4)良种快繁。新育成的、新引进的、新发现的稀缺良种的快繁。用带根原基的试管苗移栽,既方便携带、贮运到异地移栽,而且还不容易受到运送过程中引起的各种机械损伤,可为引种提供便利。

成能量不足;同时在能够满足灵敏度的基础上,尽量采用较低的负高压,经过实验选择,灯电流为 80mA,负高压为 340V。

2.1.2 炉温与炉体高度。石英炉的温度至少应维持在能够将氢火焰点燃的程度上,较低的炉温不易克服复杂样品的气相干扰,过高的炉温会使灵敏度降低并增加噪声,取 50.0ng/mL 的硒溶液进行不同温度的原子化试验,原子化温度 750~800℃比较适宜;炉高也是很重要的参数,炉高过高,光源辐射到炉上引起的反射光强,产生较高空白;炉高过低,光束照射在尾焰上易波动,会降低灵敏度和精度。本试验中炉高选择 7.5mm。

2.1.3 载气及屏蔽气的选择。载气流过低起不到搅拌的作用,很难将氢化物带到石英炉,容易出现记忆效应。载气流过高会稀释氢化物,降低荧光值。载气流量最好是 400mL/min。屏蔽器流量最好是 1 000mL/min,可以杜绝周围空气的渗入,保证稳定的荧光效果。

2.2 硼氢化钠的用量

作为还原剂,如果硼氢化钠浓度低,那么还原高价硒的能力不强,灵敏度不高;如果硼氢化钠浓度高,则还原能力强,但是产生大量氢气,反而会降低灵敏度。根据实验中硒的荧光强度随硼氢化钠的变化(如图 1),硼氢化钠浓度在 10g/L 时,硒的荧光强度基本上可以达到最大。同时,硼氢化钠应溶于氢氧化钠中,氢氧化钠浓度在 0.5%比较合适,再低就难以抑制硼氢化钠的分解了。

2.3 共存离子的干扰及消除

Cu、Ag 等元素对硒形成严重干扰,Fe、Mn、Cr、Zn、K、Na、Ca、Mg 等元素对硒不干扰。Cu 对硒的干扰最大,因为 Cu^{2+} 优先与硼氢化钠反应,减少了硒的氢化物的生成。可以通过 Fe^{3+} 优先于 Cu^{2+} 与硼氢化钠反应生成 Fe^{2+} ,促使硒的氢化物生成。

(上接第 15 页)

(5)少量脱毒良种苗的快繁和无病毒苗大量快繁。采用常规的扦插、分株、种子等繁殖方式,长期的无性繁殖会使病毒积累,危害加重,品质下降;而种子多代繁殖也会引起品种退化。在组织培养中,利用茎尖培养可获得脱毒苗,以脱毒苗作为繁殖材料可获得大量无毒苗,以满足人们生产、生活需要。

(6)自然和人工诱导有用突变体的快繁。在细胞和组织培养进程中,基因型易发生变异,因此人们采用紫外线、x 射线、 γ 射线等对培养物照射,或者在培养基中加入叠氮化合物等,以诱导和提高突变频率,产生人们需要的突变体,供人们筛选育种。

3.2 植物组织培养的重要性

(1)组织培养的优越性。可以不受植物其他部分干扰的情况下研究被培养的外植体的生长和分化的规律。

(2)组织培养的特点。取材少,培养材料经济;人为控制培养条件,不受自然条件影响;根据不同植物、不同离体部位的要求提供不同的培养条件,因此生长快,生长周期短,

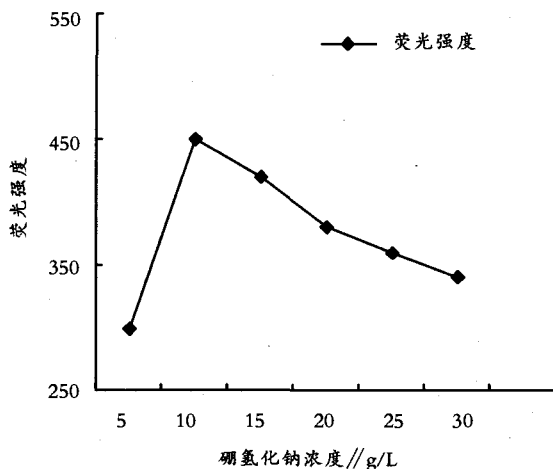


图1 硼氢化钠浓度对硒的影响

2.4 不同介质的选择

分别以盐酸、硫酸、硝酸、高氯酸和磷酸作为实验介质,发现硫酸中常含有硒,硝酸、高氯酸的氧化性强,磷酸的粘性大,只有硒在盐酸介质中稳定,荧光效果最好。

2.5 样品测定

分别向富硒康、富硒茶、魔芋中加入 0.2 μg 的四价硒,测定其回收率,结果比较满意(见表 3)。

表3 样品中硒含量

样品名称	硒含量/ $\mu\text{g}/100\text{g}$
富硒康	84.9
富硒茶	18.0
魔芋	285.6

2.6 线性范围和检出限

在本实验中,硒含量在 0~100 $\mu\text{g}/\text{L}$ 内呈现线形关系,相关系数 $r=0.999\ 6$,经过 12 次空白值的测定,得出该方法检出限为 0.20 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。

繁殖率高;而且管理方便,利于自动化控制。

植物生物技术(又称植物生物工程)是按照人类的意愿有目的地改良植物的一种新技术,是当前世界新技术革命的一个重要组成部分。组织培养是植物生物工程技术中的基础研究手段,在理论上是研究遗传、生理、生化和病理等学科十分有力的手段,促进生物学基础的发展;在生产上及在农学、园艺、林业和次生代谢产物工程等生产领域得到广泛应用。由此可见,无论在理论研究上或生产应用上,植物组织培养都是十分重要的。

4 参考文献

- [1] 刘青林,马伟,郑玉梅.花卉组织培养[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [2] 曹致义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002.
- [3] 潘瑞炽.植物组织培养[M].广州:广东高等教育出版社,2001.
- [4] 裘文达.园艺植物组织培养[M].上海:上海科学技术出版社,1986.
- [5] 裘文达,曹致义.植物组织培养实用技术[M].高等教育出版社,1989.
- [6] 文慧婷,张翠玲.瓷玫瑰的组织培养[J].现代农业科技,2006(6):12.
- [7] 文慧婷,张翠玲.艳凤梨的组培快繁技术研究[J].现代农业科技,2007(4):10.