



植物组织培养(又称植物离体培养)是将植物体的单个细胞(如花粉、体细胞)或组织、器官(如叶片、茎或根的一小段、花药、子房、胚、胚乳等),在无菌条件下,培养在人工配制的培养基上,使其生长和发育,直到形成某些器官(如根)或一个完整的植物体。从1958年Steward首次从胡萝卜块根诱导的培养细胞获得再生植株至今已有40多年的时间,无论是在探究植物学基本理论还是在实际应用中这项技术均发挥了巨大作用。上世纪80年代,在植物离体培养基础上发展起来的一门新兴技术——人工种子技术,其在快速繁殖优良品种、固定杂种优势、简化育种程序及与基因工程、脱病毒技术等其他生物技术相结合等方面显露出了诱人的应用前景。

1 人工种子的概念

植物人工种子(plant artificial seeds)概念有狭义和广义之分。

狭义的概念是指植物离体培养中产生的胚状体(包括体细胞胚和性细胞胚),包裹在含有养分和具有保护功能的物质中,并在适宜条件下能够发芽出苗的颗粒体。但由于技术原因以及花粉胚状体等性细胞胚有遗传分离或单倍体不育等不足,所以目前主要应用的是体细胞胚。胚状体是由非合子细胞分化形成的类似于胚的结构物,在一定的条件下,其可以通过胚胎发育程序形成植株。自然界中仅在少数植物中偶尔发现有天然形成的胚状体。胚状体在其发育早期与不定芽十分相似,但胚状体具有明显的极性,可以分化出茎端

和根端,同时它的维管束与其母体的维管束系统不是紧紧相连,所以,较易从母体脱离。

广义而言,人工种子是在胚状体或一块组织(顶芽、腋芽)、一个器官(小鳞茎等)之外加上必要的营养成分(人工胚乳)后,用具有一定通透性而无毒的材料将其包裹起来,形成的与天然种子相似的颗粒体。甚至不经包裹,作适当处理后直接播种发芽的体细胞胚;混在胶体物质中,用流质播种法直接播种的体细胞胚等也属于此类。但由于植物种子有有胚乳型与无胚乳型之分,对于无胚乳型植物的健壮胚状体不需要加入人工胚乳也能在有菌条件下发芽,而有胚乳型植物的体细胞胚的生长需要附加人工胚乳,且其人工种子发芽成苗显著底于前者。

2 人工种子的发展简史及国内外研究概况

1977年,Murashige在国际园艺植物学术会议上首次提出人工种子的设想,他认为植物体细胞胚有可能作为种子来加以应用。1980年,美国Purdue大学首次应用聚氧乙烯,通过干燥法制成多个胡萝卜体细胞胚,存活率达1%~4%。他们把用这种技术制成的小饼状物称为合成种子(synthetic seeds),并申请了专利。1984年,萨姆斯首次使用海藻酸钠为体细胞包裹介质,制成了主要含有个体细胞胚的人工种子。这种人工种子为球形,更加接近于天然种子植物,而且海藻酸钠对体细胞胚没有毒害,也不妨碍体细胞胚与外界环境进行水分和养分交换。据测定,应用这种技术制作的苜蓿和芹菜人工种子,在有菌条件下发芽率为

7%~10%,无菌条件下成苗率86%。从此,海藻酸钠很快被应用于胡萝卜、棉花、芹菜、玉米、莴苣等很多人工种子的介质中。由于很多植物的体细胞胚不易诱导成功或其质量不高,所以也有人尝试着用植物的顶芽、腋芽和小鳞茎等制作人工种子(如甘薯人工种子用腋芽)。

人工种子巨大的应用潜力,引起了世界各国的广泛重视。目前,美国加州植物遗传公司(PGI)、植物DNA技术公司等已投入巨资进行研究。法国南巴黎大学于1985年研制出了胡萝卜、甜菜及苜蓿人工种子,他们预计2005年形成产业,并将三倍体西红柿人工种子的研究纳入欧洲尤里卡计划。1985年,日本麒麟啤酒公司与美国合作研究了芹菜、莴苣与杂交水稻的人工种子。匈牙利研究的马铃薯人工种子也已进行了大规模田间试验。据报道,目前在国际上苜蓿、芹菜、番茄、胡萝卜已实现种胚生产。

我国1984年由上海植物生理所罗士韦先生最早介绍了人工种子。1987年,我国开始将人工种子研究纳入国家高科技发展规划(863计划),主要是一些经济作物(西洋参、橡胶树、南方特有果树及高营养胡萝卜等)的人工种子的研究。

目前,世界范围内已进行人工种子试验的物种有:胡萝卜、苜蓿、芹菜、黄连、刺五加、西洋参、小麦、玉米、水稻、甘薯、橡胶树、柑桔、云杉、大麦、油菜、桑树、檀香、百合、莴苣、杨树等30多种植物。

3 人工种子的基本制作流程

人工种子的制作主要包括胚状体的诱导、包裹制种与发芽试验。以海藻酸钠包裹体细胞胚制作人工种子的研究可分为:愈伤组织诱导→体细胞胚诱导→体细胞胚的同步化→体细胞胚的分选→体细胞胚的包裹(人工胚乳)→包裹外膜→人工种子的贮藏→发芽成苗试验→检查体细胞变异程度及农艺研究。

由于农业生产的季节性限制,加上人工种子含水量大,常温下易萌发,但也易失水干缩,所以贮藏难度比较大。

4 人工种子的应用

天然种子是有性生殖的产物,在生产上受季节限制,并且杂交种只能种植一代,第二代杂种优势就会丧失,性状严重分离。人工种子本质上属于无性繁殖,因

此具有其本身的优势:

4.1 繁殖速度快。一个体积12 L的发酵罐,20几天生产的胡萝卜体细胞可制做1.000万粒人工种子,可供几十公顷土地种植之用。

4.2 能够固定杂种优势,使 F_1 代杂交种多代利用,在一定程度上取代了天然种子,起到了节省种源的作用。

4.3 在制作过程中可以适量加入必要的生长调节物质、有益的微生物或农药等,可以人为地影响和控制植物的生长发育并增加其抗逆性。

4.4 使自然条件下不结实或种子昂贵的植物得以快速繁殖;保存及快速繁殖脱毒苗。与普通试管苗比较,人工种子成本低、运输方便

4.5 可以成为基因工程技术应用到生产中的桥梁。

人工种子的研制目前尚处于实验室阶段,还有许多难题有待解决,如许多重要植物的体细胞胚未诱导成功或不能产生大量的高质量的体细胞胚;形成的体细胞发芽率偏低;人工种子无性系变异问题。在经过愈伤组织诱导体细胞胚过程中发生遗传上的变异率高;人工种子的干燥、贮藏问题尚没有解决,还需进一步研究包裹材料的筛选与进行人工种皮的模拟;自动化生产人工种子的工艺问题、目前人工种子还不能像天然种子那样方便、灵活地使用。

随着人工种子的研究日益深入及制作工艺的完善,人工种子作为一项高新技术而被广泛的用于农业、林业育种和良种的快速繁殖、环境绿化及保护生物多样性,将是指日可待的。这必将产生巨大的经济效益和社会效益。我们可以相信,在不久的将来人工种子必将在千里沃野上开花结果。

参考文献

- 1 汤绍虎等.甘薯人工种子研究.作物学报:1994,20(6).
- 2 廖苏梅,金笛.植物人工种子的概况.生物学通报:2001,(8)4~6.
- 3 黄绍兴等.木薯淀粉对人工胚乳及人工种子发芽率的影响.生物工程学报:1995,11(1)39~44.
- 4 李修庆主编.植物人工种子概念.植物人工种子研究.北京:北京大学出版社,1990,1~18.
- 5 潘瑞炽等.植物生理学(第三版):1995,249~257. ▲