

文章编号:1001-3679(2006)02-0124-04

花卉脱毒快繁技术研究进展

蔡汉权¹, 李粉玲¹, 林珊珊²

(1. 广东韩山师范学院, 广东 潮州 521041; 2. 福建农林大学园艺植物生物研究所, 福建 福州 350002)

摘要:对脱毒快繁技术进行简要介绍, 分析了我国花卉脱毒快繁技术的发展现状, 为花卉脱毒快繁技术的未来研究方向提出一些建议。

关键词:花卉脱毒快繁; 组织培养; 进展

中图分类号:S31 **文献标识码:**A

Research Progress on the Technology of Veridical and Quite Pepproduce for the Flowers

CAI Han-quan¹, LI Fen-ling¹, LIN Shan-shan²

(1. Hanshan Normal College, Guangdong Chaozhou 521041 PRC;

2. Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Fuzhou 350002 PRC)

Abstract: By making a brief introduction to the technology of veridical and quite pepproduce and analyzing its present develop situation in China, this paper offers some suggestions on the orientation in the future research on the Technology of veridical and quite pepproduce for the flowers.

Key words: Veridical and quite pepproduce for the flowers, Culture of tissue, Progress

0 前言

近20年来,植物组织培养技术不断发展和完善,从而带动了花卉脱毒快繁技术的发展。花卉脱毒主要的技术方法有:茎尖组培脱毒、物理学方法脱毒、热疗法与茎尖组织培养技术相结合脱毒等。其中最重要的技术就是组织培养脱毒,它也是研究的热点。花卉组织培养是运用植物细胞全能性原理,切取植物体各部分,如芽、叶片、茎段、鳞片、花瓣等,在人工控制的无菌条件下进行培养,获得大量完整植株,即克隆花卉。这项技术的进展对于如何提高名优花卉的繁殖速度,为市场提供整齐一致、无病虫害的优良苗木起到了很大的作用。在解决花卉生产规模化、现代化问题上,

当代生物技术——植物组织培养可以在以下几方面发挥作用:良种的快速繁殖,无性繁殖类型花卉的脱毒,新品种的选育,种质资源的保存和交换。其中,快速繁殖技术和脱毒苗培育技术是植物组织培养应用最广泛和最有成效的两个领域。

1 脱毒快繁技术基本原理

1.1 脱毒

“脱毒”首先要从“病毒病”谈起,病毒病对长期应用营养繁殖(分株、扦插等)的花卉和花卉生产的危害相当严重。病毒病不同于细菌病害和真菌病害。细菌和真菌都有完整的细胞结构和代谢系统,而病毒不具备细胞结构,缺乏酶系统和合成蛋白质系统,其增殖是利用寄主的核糖体来合成

收稿日期:2006-02-09;修订日期:2006-02-27

作者简介:蔡汉权(1967-),男,讲师,从事植物组织培养的的教学和研究工作。

其特有的蛋白质,并由各个组分各自合成,重新装配组成新的病毒粒体,与植株正常代谢密切相关。迄今,尚缺乏特异性较强的只对病毒而不对植株产生药害的药剂。自上个世纪50年代发现通过植物组织培养可以除去病毒以来,在生产上已被广泛应用,并将其纳入常规良种无性繁殖的一个重要程序。植物组织培养是目前最有效的去除病毒的方法,几乎对所有病毒有效(还可除去其他病原体,如细菌、真菌、类菌质体),周期短,效率高,可与快速繁殖相结合,此外由于不需化学药剂,可以减少污染、防止公害,因而具有良好的经济效益和社会效益。感病植株体内的病毒分布不均匀,其数量随植株部位和年龄而异,越靠近茎尖顶端的区域病毒的浓度也越低。分生区域维管束,病毒只能通过胞间连丝传递,赶不上细胞不断分裂和活跃的生长速度,因此生长点含有病毒的数量极少,几乎检测不出病毒。植物组织培养脱毒的原理主要就是利用茎尖分生组织不带毒或少带毒。

1.2 快繁

快速繁殖是指在无菌条件下,利用植物体的一部分在人工控制的营养和环境条件下繁殖植物的方法,由于其繁殖速率快,称之为“快(速)繁(殖)”,又由于其所用材料细小,称之为“微(型)繁(殖)”^[1]。其实质是一种特殊的营养繁殖方法,是常规植物扦插的扩展和延伸。快速繁殖速度快,首先反映在增殖方式上,只要建立起组织培养快速繁殖增殖体系,材料将按几何级别增殖,增殖系数因植物种类有差异,多在5~10之间;其次与大田繁殖受季节影响不同,组织培养环境几乎恒定,因此可进行周年生产,一般1年内有6个左右的增殖周期。同时,由于环境、养分等繁殖条件差异较小,苗木生长具有较好的一致性,因而也就具有较好的商品性。快繁技术是一门经验性非常强的技术学科,一些随机因素影响大,现在还缺乏其所涉及的机理尤其是形态建成理论和器官分化机理的研究,如分化过程中植物内源激素的动态变化、酶系统变化等。只有把这些基本问题弄清楚,才能从根本上解决植株再生问题,使快繁技术上升到一个新水平。

2 花卉脱毒快繁技术进展

脱毒快繁技术是植物组织培养中应用最广泛和最有效的研究领域,花卉组织培养技术已在快

速繁殖、去除病毒、加速育种进程、次生代谢产物生产和种质资源保存方面取得了巨大的进展。我国科研工作者利用组织培养手段繁育的花卉品种主要集中在以下几方面:(1)种子繁育难,从播种到开花生育期长的花卉;(2)由于病毒侵染种性退化、花型衰败的花卉;(3)多倍体花卉品种。多倍体花卉不能正常产生种子,无法用传统的种子方法繁殖,植物组织培养是保持品种、扩大种苗来源的重要方法^[2]。

虽然,国内对花卉组织培养技术的研究取得一定的进展,许多名贵花卉的组培苗也得到了实际应用,但和先进的花卉生产国荷兰、意大利、泰国等相比,我国花卉业还存在相当大的差距,究其原因主要与我国花卉业未能实现现代化、规模化生产有关。我国农业生物技术工作者对3000多种植物进行了组培最佳培养基的筛选工作,但真正应用于大规模产业化的组培植物主要是果树类作物及一些经济作物,全国已建成葡萄、苹果、香蕉、马铃薯、甘蔗等快繁生产线11条,供应试管苗达几千万株,生产的香蕉已进入国际市场。随着人民生活水平提高,人民对花卉需求量增加,花卉组培苗向产业化发展势在必行。目前花卉组培苗产业化发展较快的主要有香石竹、百合、大花惠兰,马蹄莲的组培苗也在向产业化方向发展,但规模较小,未能真正形成气候。

2.1 脱毒快繁技术进展

病毒病的危害给花卉生产带来重大的损失,由于感染病毒病,花卉品种严重退化,花少且小,甚至畸形变色,毫无观赏价值。因此,脱除病毒的研究成为当今重要的课题。早在1934年,White首次成功地进行了番茄根尖的组织培养,1960年,Morel进行兰花快速离体繁殖成功,到1994年,用组培方法快速繁殖的花卉园艺植物已近80个科约450种,利用组培法脱毒更具有广泛的应用性。此外,花器官等其它器官培养脱毒也是一种有效的脱毒方法。现在离体培育无病毒苗已成为花卉生产中的重要环节。许多花卉脱毒苗植株生长健壮,花多且大,优等花增多,商品价值亦随之提高。所以,培育无病毒苗在园艺生产上具有重要意义。

2.1.1 茎尖组培脱毒 利用植物体顶端分生组织区含毒量最低原理,切取包括生长点以下0.2 mm~1.0 mm长,带有1~2个叶原基的茎尖进行组培以脱去病毒。开创这一繁殖方法的是法国人

Morel, 他在 1960 年就从感染病毒的兰花植株上分离茎尖(0.1 mm)培养出了去病毒的兰花植株, 同时实现了兰花的大量繁殖, 试管“兰花工业”随之兴起。采用茎尖培养去除病毒, 其原理是在染病毒植株体内, 病毒分布并不均匀。在生长点病毒含量最低, 在分生区内无维管束, 病毒扩散慢, 加之植物细胞不断分裂增生, 所以病毒含量少, 在茎尖生长点几乎检测不出病毒, 因此切取茎尖愈小愈好, 但太小了不易培养成活, 过大则不能去毒, 所以难度较高, 试材要多, 才能真正选出去病毒的幼苗, 只要获得少量去毒苗, 就可以扩大繁殖。去病毒后, 植株生长势强, 产花量上升, 花色鲜艳。

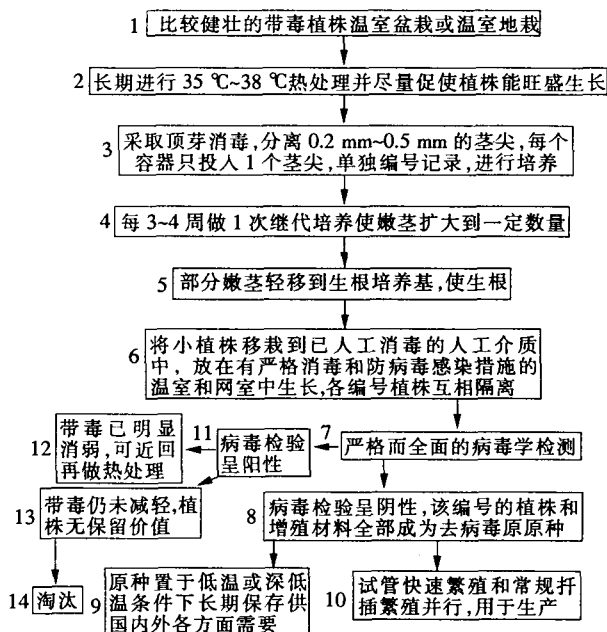
2.1.2 物理学方法脱毒 原理是将待脱毒植株在高温或低温下处理一段时间以脱除病毒。香石竹置于 38℃ 环境中两个月, 其茎尖中的病毒即可被消除; 菊花植株在 5℃ 条件下经 4~7.5 个月处理后, 切取茎尖进行培养可除去菊花矮化病毒(CSV)和菊花褪绿斑驳病毒(CCMV)。物理学方法脱毒大多作为配合组培脱毒的手段出现。

2.1.3 茎尖培养与化学疗法相结合脱毒法 虽然用化学疗法来清除完整植株的病毒未获成功, 但对其体外培养组织和原生质体作化学处理已获得一些有希望的结果。例如, 对兰属(*Cymbidium*)的离体茎尖用齿兰环斑病毒(ORV)的抗血清作预处理, 提高了无毒植株的频率(Inoue, 1971)。一种能防治一系列动物 DNA 和 RxA 病毒的 Virazole(Ribavirin)即病毒唑, 能清除烟草原生质体再生植株内的 PVX(Shepard, 1977)。此外, 在培养基中加入环己酰胺、放线菌素-D、碱性孔雀绿等病毒抑制剂, 也能显著地提高产生无病毒植株的百分率^[3]。

2.1.4 热疗法与茎尖组织培养技术相结合脱毒

对于单用茎尖或热疗法难以脱除的病毒, 可先进行热力处理, 使植株茎尖无毒化, 再采用茎尖组织培养法, 脱毒成功的几率更高。附图^[4]展示了茎尖培养结合热处理去除病毒的一般程序。

2.1.5 其他途径脱毒 通过花卉各种器官或组织诱导产生愈伤组织, 然后从愈伤组织再诱导分化苗, 长成植株, 可以获得脱毒苗。这对于唐菖蒲、水仙等球根花卉的脱毒均已获得成功。如刘文萍等人用唐菖蒲花蕾进行离体培养, 可脱除烟草花叶病毒, 脱毒率为 60%。水仙的子房切片可诱导愈伤组织成苗。经愈伤组织脱毒途径, 可能



附图 茎尖培养结合热处理去除病毒的一般程序

会产生变异, 使花卉丧失其原先的经济价值, 但也会产生有益的变异。

2.2 花卉脱毒快繁技术的发展趋势

经过多年的发展, 我国学者在花卉脱毒快繁技术领域内取得了不少的研究成果, 一些名贵花卉的组培苗的生产已经进入了商业化阶段。但和国外相比, 我国快繁研究无论从广度还是深度上都还存在着较大的差距。国外研究品种多, 不仅研究种(品种)间差异, 还研究无性系间的差异。这有助于发现基因型作用的本质和内在机理并获得使不同基因型植物组织培养成功的经验。更为重要的是对植物组织培养苗各阶段的生长特性、遗传稳定性及组培苗田间表现等方面进行了研究, 这有助于确定继代培养合适的代数 and 培养时间, 把握适时更新培养材料, 这些都是影响苗木遗传稳定性的重要因素。花卉体细胞胚胎发生是花卉组织培养中的一个研究热点, 国外学者从不同角度介绍了花卉体细胞胚胎发生中生理生化的变化及体胚发生过程中植物激素对其的影响; 体胚发生与胚性基因表达的关系; 体胚发生的无性系变异等^[5]。此外, 在培养环境条件控制方面的工作做得更细、更精, 更容易对培养物的反应做出反应。这些研究对于促进植物快繁技术体系的完善和实现组培苗商品化、工厂化生产都是十分必要的^[6]。相比之下, 我国的快繁技术研究大多还仅仅局限于不同材料再生植株研究, 即研究的重点在于确定组织培养中控制分化、生长、生根的主要

因素,只重视培养基、培养条件的优化选择,缺乏进一步深层次的研究,缺乏系统性。

2.3 新技术展望

抗病性是高等植物固有的遗传特性。通过原生质体融合和培养产生细胞杂种是基因组转移的重要途径。因此,采用导入抗病基因的原生质体融合技术可以得到能抗病毒的杂交种。可以设想,这一技术应用到花卉植物中,得到能抗病毒的杂交种也是可能的^[7]。

现代生物技术不断发展,和现代计算机技术结合的高新技术也逐步得到发展,可以利用计算机智能控制技术和数据库技术,收集各类花卉脱毒快繁技术信息,建立该领域的专家系统,指导脱毒快繁技术的应用,这也应该是未来的一个发展方向。

3 小结

花卉脱毒快繁技术具有很高的市场应用前景,从花卉种苗的市场前景来看,鲜切花消费日盛,使栽培规模不断扩大,优质种苗更是热销。除鲜切花外,昂贵的F1代盆花种子,如2元/粒的丽格海棠,出苗率低的大岩桐等,可以通过种子试管无菌播种技术或切割芽、叶片为外植体进行组织培养。价值极高的珍稀国兰品种,如水晶艺绿云、末梅、大富贵等都可以尝试通过组培来增加繁殖系数。因此为了使花卉脱毒快繁技术取得更大的

发展,最有效的途径就是将技术应用商业化。商业化以后,才能获得继续研究的资金,才能在实际应用中发现更多的问题。研究过程中,不仅要注重研究脱毒快繁各个环节的重要因素,更要注重机理性的研究,注重培养机理和规律的总结,形成系统化的理论体系,并不断在实验中予以检验。还应该跟踪国际生物技术发展情况,加强国际交流,可以适当引进适合我国实际情况的技术,并在此基础上进行深入的研究。

参考文献:

- [1] 钟 宇,张 键,罗承德,等.观赏植物快繁技术研究概况[J].四川农业大学学报,2000,20(3):295-298.
- [2] 杨小玲,刘书亭.花卉组培快繁与产业化发展现状及前景[J].天津农业科学,2001,7(1):1-3.
- [3] 王凤兰,等.球根花卉病毒病及脱毒的研究进展[J].广西农业生物科学,2001,20(3):215-219.
- [4] 冷肖荀.花卉茎尖培养脱毒与检测[J].生物学通报,2003,38(3):14.
- [5] Immerman J L, Somatic embryogenesis. A model for early development in higher plants [J]. Plant Cell, 1993,5:1411-1423.
- [6] 傅术琳,程智慧,徐重益.植物组织培养快繁体系与产业化[J].现代化农业,2002,(4):4-6.
- [7] 谢嘉华,袁建军.花卉脱毒培养与优质种苗生产[J].生物学,2001,18(5):37-38.

敬告作者·读者

《江西科学》对来稿篇首页地脚处的要求

《江西科学》为《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》执行优秀期刊。为进一步提高本刊质量,更全面、更好地执行《中国学术期刊(光盘版)检索与评价数据规范》,适应各文摘刊物、数据库、中国科技论文统计与分析的需要,便于广大读者检索、使用本刊刊载的科技信息资源,本刊要求广大作者在来稿篇首页的地脚处标注来稿日期、基金项目(若有)和作者简介等3个项目。

来稿日期可由编辑部标注收稿日期,作者留空1行位置即可。

凡来稿属自然科学基金资助项目、省(部)级以上的重大科研项目或攻关项目、国家863计划项目、开放实验室研究项目等资助产出的科研论文,务必请在来稿篇首页的地脚处注明项目名称及编号,项目名称应按国家有关部门规定的正式名称标注,多项目或多基金资助者应依次列出。并附上有关批准书的复印件。

作者简介的内容包括:姓名、出生年份、性别、民族、籍贯、最高(或最后)学历、学位、职称、职务、享受政府特殊津贴(如有)级别与年份、研究方向以及联系电话号码、E-mail等。