

植物组培与多倍体育种相结合的研究进展

邓平平, 罗 乐, 张启翔

(北京林业大学 园林学院 北京 100083)

摘 要: 利用组织培养可以加快多倍体的育种进程, 提高多倍体的诱导成功率。现主要介绍组织培养与多倍体育种结合应用的方法、材料、处理时间和浓度的选择, 以及这种方法的优缺点, 并对应用前景进行了展望。

关键词: 组织培养, 多倍体育种

中图分类号: Q 943.1 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)05-0111-03

近十几年来, 植物组织培养技术日臻完善, 多数植物都已经建立起了较为完善的再生体系, 由于条件易于控制, 现多用于与化学诱变结合诱导植物多倍体。

化学诱变与组培的结合, 使得多倍体诱导中融入了组织培养的优点。首先试验条件易于控制, 由于组培是在室内进行的, 这就在很大程度上降低了外界环境因素对于试验的干扰和影响。其次, 可以缩短育种时间, 由于组培能实现快速繁殖, 多倍体诱导时可一次处理大量的植物材料, 大大的加快了育种进程。第三, 利用组织培养技术可对诱导成功的材料进行快速繁殖, 获得更多的多倍体材料。另外由于所选材料大多幼嫩, 且处在分生状态的细胞, 容易受秋水仙碱的影响, 诱导成功率较高。同时方便鉴定, 在短期内可快速鉴定大批量株系, 筛选出多倍体, 且多倍体纯度高。

1 常用诱导方式

在组培与多倍体育种相结合的应用中, 常用的诱变剂是秋水仙碱, 根据材料与诱导方式的不同选用不同的浓度。常用的诱导方式有浸渍法、点滴法和混培法。

1.1 浸渍法

用过滤灭菌的不同浓度的秋水仙碱直接浸泡植物的组织和器官, 后播于未加秋水仙碱的培养基中, 此方法成功的在香竹竹^[1]、四季桔^[2]、金柑^[3]、新疆雪莲^[4]等多种植物多倍体诱导中得到了应用。关于浸泡的浓度和时间目前说法不一, 根据植物、组织和器官的不同而有各自较适合的剂量和处理时间。由于浸渍法与植物的组织器官直接接触, 诱导成功率较高。另外为了进一步加强植物材料和药液之间的接触, 提高诱导的成功率, 何建等^[5]将获得的无菌试管苗茎尖转移到已过滤灭

菌的浓度为 0.05%、0.1%、0.2%、0.4% 的秋水仙碱溶液中, 放于摇床上轻轻摇动使其与秋水仙碱溶液充分接触, 处理完毕用无菌水冲洗 4~5 次, 转入到不含有秋水仙碱的继代培养基上继续培养, 得到较理想的效果。

1.2 点滴法

将植物材料用灭过菌的棉花包裹, 滴加不同浓度的无菌秋水仙碱溶液, 保持材料与药液的接触, 随时滴加药液。此法可用于避免长时间的处理致使秋水仙碱溶液分解, 影响加倍诱导的效果。

1.3 混培法

将不同浓度的秋水仙碱溶液加入培养基中, 后将材料灭菌后直接接到培养基中进行培养, 由于材料只单面接触培养基, 并不能较充分的与秋水仙碱药液接触, 因此诱导效果并不是很理想, 但也有较为成功的例子。王强等将川贝母淡黄色愈伤组织切成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.5 cm 的小块, 转入含有秋水仙碱浓度分别为 100、500、1 000、2 000 mg/L 的愈伤组织诱导培养基中, 处理分别为 1、5、10 d, 处理完毕后转入不含秋水仙碱的分化培养基中进行分化培养, 获得四倍体植株^[6]。

以上 3 种方法各有利弊, 对于不同植物材料的诱导也产生了不同的加倍效果, 如郑君强等^[2]用秋水仙碱诱导四季桔的研究结果表明浸渍法效果较好; 而段英姿^[7]等用秋水仙碱诱导菘蓝多倍体时发现秋水仙碱加入培养基中有助于多倍体的形成。

2 诱导材料的选择

用于组织培养的外植体材料均可以用来诱导多倍体, 但是秋水仙碱对于正在分裂的细胞诱导成功率较高, 因此大多数学者都采用愈伤组织和丛生芽进行诱导。近年来随着诱导技术的逐渐成熟, 也见了用种子、离体组织进行成功诱导的报道。

2.1 种子

用种子进行多倍体诱导的试验以前多见于田间实验, 但由于温度、光照条件的不确定性, 对于诱导结果有

第一作者简介: 邓平平(1983-), 女, 吉林人, 在读硕士, 研究方向为新品种选育。E-mail: help_you_help_me@163.com.

基金项目: “十一·五”科技支撑计划资助项目(2006BAD01A08)。

收稿日期: 2008-12-20

一定的影响。因此现多用组织培养的方法进行多倍体诱导。张蜀敏等^[4]用秋水仙碱浸种法:将未消毒的雪莲种子分别浸泡在 0、0.1%、0.3%、0.5%、0.7%、0.9%、1.1%的秋水仙碱与 2%的二甲基亚砷溶液中共处理 6 h,然后将处理后的种子消毒后,接种到 MS 基本培养基上培养。但是试验结果并不理想,出现了较多的嵌合体。

2.2 愈伤组织

愈伤组织为正在分裂的细胞,用秋水仙碱进行处理后,较容易出现多倍体。目前用愈伤组织进行多倍体诱导取得了较成功的结果。王跃华^[8]用秋水仙碱溶液诱导茎段愈伤组织,将已培养的川黄柏茎段愈伤组织切成小块分别接种在含有不同浓度的秋水仙碱(过滤灭菌)的培养基上进行芽分化培养 25 d 后将诱导产生的不定芽再转入不含有秋水仙碱的生根培养基中培养,40 d 后获得多倍体组培苗。用不同浓度的秋水仙碱溶液浸泡愈伤组织后转入不含秋水仙碱的培养基中进行培养。

2.3 丛生芽

芽比较幼嫩,较容易经秋水仙碱处理后加倍,并得到较为纯和的多倍体。曹杨^[9]用生姜试管苗的初生芽作为无菌材料,浸泡于 0.2%秋水仙碱 12 h,得到较高诱导率的多倍体。

2.4 幼苗

可以先培育出无菌幼苗,后用秋水仙碱进行处理。段英姿等^[10]将秋水仙碱过滤灭菌后配成含不同浓度的秋水仙碱分化培养基,将长 1.5~2 cm 健壮幼苗转入该培养基中,分别处理 5、7、10 d,再转入生根培养基中培养。

2.5 叶片

叶片可直接用秋水仙碱进行处理,诱导多倍体。王鸿鹤等将秋水仙碱过滤灭菌后按不同浓度分别加入分化培养基中,将叶片预培养 1 周后转入上述培养基中,分别处理 1、2 周后,无菌水冲洗,用无菌滤纸吸干后转入分化培养基培养。但结果并不理想,随着秋水仙碱处理浓度与时间的加长,叶片受损害较为严重^[11]。

2.6 茎段

茎段近来也较多的被用来诱导多倍体,并可见较成功的报道。商宏莉等^[12]在无菌的条件下利用秋水仙碱对红千层无菌苗茎段进行处理,成功的诱导出了四倍体植株。

2.7 茎尖

茎尖比较幼嫩,分生能力强,经药液处理较容易获得多倍体。周堂英等^[13]用不同浓度的秋水仙碱对粉葛的无菌苗茎尖进行不同时间的处理,成功诱导出遗传物质加倍的同源四倍体。

2.8 体细胞胚胎

体胚萌发早期对秋水仙碱有较强的耐受性,用体胚诱导多倍体成功率较低。李正红等^[14]以地锦幼胚愈伤组织诱导的体细胞胚胎为材料用秋水仙碱浸泡处理,仅有一种处理出现了多倍体,比率为 40%。

2.9 胚根

胚根较幼嫩,诱导成功率相对较高,但容易产生嵌合体。张蜀敏等^[4]待种子露白后,待胚根长至 1 cm 左右,转接至含有 2%二甲基亚砷(DMSO),且分别含 100、400、600 mg/L 秋水仙碱的 MS 基本培养基上依次培养 12、18、24 h。

3 处理浓度和时间

秋水仙碱是一种有毒药剂,处理不当会对植物造成伤害。秋水仙碱处理的浓度和时间因诱导的方法和材料的不同有所差异。浓度高、处理时间长诱导率高,但是容易对植物造成伤害;浓度低、时间短则不易得到多倍体植株。一般有效浓度为 0.0006%~1.6%。但浓度大小因植物的不同和同一植物的不同部位而有所差异,因此浓度和时间的处理还要事先进行预试验,找到最适的浓度和时间。但一般 0.2%~0.4%水溶液效果较好^[15]。另外由于浸渍法直接与植物材料接触,故所需浓度相对较低,而混培法则相对要提高秋水仙碱的浓度(针对同一植物同一部位的处理)。

4 存在的问题

组培与化学诱变的结合存在着一些问题,一是由于需要进行足够的诱变处理才能筛选出有用的多倍体。二是由于一些植物材料尚未建立完善的组培快繁体系,因此,此方法并不能用于所有的植物上,具有局限性。三是由于室内与外界环境差异较大,室内条件单一易于控制,而田间、温室会受到诸多因素影响,这就影响了组培苗移栽的成活率,造成诱变成功的植株移栽后死亡的现象。四是目前多倍体育种主要采用的是秋水仙碱药剂,由于秋水仙碱是一种有毒物质,对于人类和环境都有一定的危害,另外也容易对植物产生毒害作用,因此寻找一种既能有效诱导多倍体,又能减少有毒危害的药剂是今后的研究方向。

5 前景展望

组培与多倍体育种的结合应用,不仅是新的诱导方法,而且可以解决一些多倍体育种中容易产生的问题,加快多倍体育种的进展,具有较为广阔的应用和发展前景。

目前对于组培体系较为完善的植物可进行大量的诱导处理培育多倍体,同时应加强蔬菜、林木、药用植物等的离体培养技术,从而实现组培与多倍体育种相结合应用,以期达到改良物种和丰富种质资源的目的。

参考文献

[1] 瞿素萍,熊丽,莫锡君,等.香石竹的多倍体诱导及其变异研究[J].西

南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(5): 609-612.

[2] 郑君强, 罗筱玉, 方小燕. 秋水仙碱对四季桔多倍体的诱导效应[J]. 福建果树, 2005(4): 3-5.

[3] 郑君强, 陈露薇, 罗筱玉 等. 金柑多倍体诱导初探[J]. 亚热带农业研究, 2005(4): 17-20.

[4] 张蜀敏, 王晓军, 郝秀英 等. 新疆雪莲多倍体的诱导初探[J]. 西北农业学报, 2008, 17(1): 216-220.

[5] 何建, 冯焱, 王建辉 等. 长穗桑组织培养和四倍体新种质诱导[J]. 西南农业学报, 2008, 21(1): 142-146.

[6] 王强, 兰利琼, 傅华龙. 秋水仙碱诱导川贝母(*Fritillaria cirrhosa* D. Don)愈伤组织多倍体的研究[J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(6): 449-452.

[7] 段英姿, 陈玉琴, 柴凤瑞. 秋水仙碱诱导菰蓝多倍体的研究[J]. 唐山师范学院学报, 2006, 28(2): 21-23.

[8] 王跃华. 川黄柏多倍体诱导研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 448-451.

[9] 曾杨, 高山林, 王蔚 等. 脱病毒生姜同源四倍体的诱导和鉴定[J]. 药物生物技术, 2006, 13(5): 338-342.

[10] 段英姿, 客绍英, 曹静 等. 秋水仙碱诱导南丹参多倍体的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(6): 445-448.

[11] 王鸿鹤, 葛欣, 徐启江 等. 秋水仙碱诱导重瓣大岩桐(*Sinningia speciosa*)多倍体的研究[J]. 热带亚热带植物学报, 1999, 7(3): 237-242.

[12] 商宏莉, 汪卫星, 向素琼 等. 利用组织培养技术进行红千层多倍体诱导[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2003, 25(5): 396-399.

[13] 周堂英, 李惠波, 向素琼 等. 粉葛组织培养及同源四倍体诱导[J]. 中草药, 2005, 36(8): 1230-1233.

[14] 李正红, 孙振元, 彭镇华. 秋水仙碱诱导地锦多倍体研究[J]. 核农学报, 2005, 19(6): 430-435.

[15] 程金水. 园林植物遗传育种学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1999: 178-179.

[16] 谭德冠, 庄南生, 黄华孙. 组织培养与秋水仙碱诱导相结合培育植物多倍体的应用(综述)[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(1): 77-80.

[17] 刘进平, 郑成木. 诱变结合植物组织培养在植物育种中的应用(综述)[J]. 上海农业学报, 2004, 20(1): 19-22.

[18] 彭尽晖, 张良波, 彭晓英. 秋水仙碱在植物倍性育种中的应用进展[J]. 湖南林业科技, 2004, 31(5): 22-25.

[19] 张兴翠. 药用百合的多倍体诱导及快速繁殖[J]. 西南农业大学学报, 2003, 25(1): 14-17.

[20] 王俐. 库拉索芦荟的多倍体诱导及其变异初报[J]. 云南植物研究, 2001, 23(4): 493-496.

[21] 张数鑫, 谢芝馨, 于元杰 等. 秋水仙素结合组织培养技术诱导大葱多倍体的研究[J]. 生物技术, 2005, 15(4): 67-70.

[22] 张智慧, 张金渝, 金航木. 组织培养在药用植物育种上的应用[J]. 西南农业学报, 2006, 19(增刊): 496-499.

[23] 彭尽晖, 张良波, 彭晓英. 秋水仙素在植物倍性育种中的应用进展[J]. 湖南林业科技, 2004, 31(5): 22-25.

[24] 乔永刚, 宋芸, 田永生. 园艺植物多倍体育种中组织培养技术应用现状及展望[J]. 农业网络信息, 2006(3): 98-100.

[25] 时学工, 王丽萍. 组织培养和化学诱导在草本花卉育种中的应用[J]. 种子科技, 2002(1): 35-36.

[26] 胡洲鹤, 覃子海, 蔡玲. 秋水仙素诱导桉树多倍体的初步研究[J]. 广西林业科学, 2004, 33(4): 195-197.

[27] 陈发棣, 蒋甲福, 房伟民. 秋水仙素诱导菊花脑多倍体的研究[J]. 上海农业学报, 2002, 18(1): 46-50.

[28] 郑思乡, 胡秀, 雷小云 等. 离体培养条件下三色堇多倍体诱导研究[J]. 云南农业大学学报, 2003, 18(4): 397-400.

[29] 郑思乡, 雷小云, 董志渊 等. 离体培养条件下金鱼草多倍体诱导研究[J]. 云南林业科技, 2003(4): 80-83.

[30] 王军玲, 汪卫星, 郭启高 等. 鸡冠花离体快繁及多倍体诱导[J]. 分子植物育种, 2008, 6(1): 187-192.

[31] 张志胜, 黎扬辉, 姜蕾 等. 红掌四倍体的离体诱导及其鉴定[J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 729-734.

The Research of the Domestic Plant Tissue Culture in Connection with the Polyploid Breeding

DENG Ping-ping, LUO Le, ZHANG Qi-xiang
(Landscape College, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Tissue culture could be used to speed up the polyploid breeding process, and improve the success rate of induction. This paper described the methods, materials, processing time and the concentration, the advantages and disadvantages of this method, and the application prospect.

Key words: Tissue culture; Polyploid breeding