

近年来花卉类(含草皮、花灌木)组织培养 技术发展综述

刘慧民¹, 佟桂英², 袁晶波³

(1. 东北农业大学园林系, 哈尔滨 150030; 2. 大庆市东风公园; 3. 大庆市公用局园林处 163001)

摘要:综述了花卉类(含草皮、花灌木)植物组织培养技术在近年来的新进展;包括新方法的采用,新观点的提出,新设备的发明及使用。并从四个方面进行了综述,取材范围不断扩大;培养基的改进;培养技术的研究及发展;实验手段逐步完备。本文着重论述培养技术的研究及发展和实验手段逐步完备这两方面的新发展。

关键词:花卉(广义);组织培养;培养技术;实验手段;新发展

中图分类号: S68.603.6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2000)02-0038-01

1 前言

随着植物组织培养技术在各个领域的研究迅速发展并日益完善,人们对组培中外植体生长、分化的规律性探索逐步深化,卓有成效地进行了各方面的植物组培工作。组织培养,作为一种新技术、新途径,可广泛应用于遗传育种、快速繁殖、苗脱毒、种质资源保存与交换、生理学及病理学研究、有机物生产等各个方面。一方面在理论上可探讨细胞生长、分化的机理及有关的细胞生理学和遗传学问题,另一方面在生产上,组培中的技术得到越来越广泛的应用。正因为如此,组培近年来吸引了越来越多的农业、生理生化、细胞、遗传育种、医药等各部门研究者的关注,其结果又导致组织培养技术不断发展,在植物学科各个领域及生产实践中得到越来越广泛的应用。

总结近年来花卉类植物组培技术的发展,体现在四个方面:取材范围扩大;培养基的改进;培养技术的研究及发展;实验手段逐步完备。本文就此两部分加以综述。

2 培养技术的研究及发展

2.1 培养方式

培养方式发展的趋势是:从固体培养到液体培养,从静止培养到振荡或旋转培养。液体培养一经采用就表现出许多优越性。

纸桥培养:在液体培养基中放入滤纸,再将外植体置于滤纸上培养,可避免外植体渗入培养基造成死亡。目前这种方式已广泛应用于试管液体培养,效果很好。

微室培养:将少量细胞或原生质体与少量培养基置于小盖玻片上,倒扣于凹穴载片上,用凡士林密封。类似的微滴培养:用25~120ml培养基与少量原生质体置于凹穴载片上,用矿物油覆盖防止蒸发。这二种方式的优点在于:便于培养过程中连续进行显微观察。

液体培养:液体培养在培养大量植物细胞中显示了优势。细胞培养利用细胞体系,运用现代生物工程手段,进行工业规模生产,以获得各种产品的一门新兴跨学科技术。1959年, Nickell用20L硫酸瓶进行蔷薇茎段细胞培养,并放到不锈钢发酵罐中,1962年, Byrne用机械搅拌罐进行细胞大量培养成功;70年代,微生物发酵技术迅速发展,此时出现了多种形式的发酵罐(摇瓶,平叶轮发酵罐,叶轮发酵罐,气升式发酵罐等),并证明气升式发酵罐适合植物细胞的培养之用。Tanaka采用传氧效率高的转鼓反应器进行长春花细胞培养,结果细胞增殖快,次生物质分泌多且稳定, Ulbrich采用螺旋反应器培养洋紫苏细胞获得高产量次生物。Hegglin等报导了一种用于植物细胞团培养的生物反应器。

至今已利用生物反应器进行大量细胞培养获得有用次生物质的花卉类有:冬青、蔷薇、*lilium* sp. 金鱼草、长春花、紫草、蔓长春花、小檗、唐松草等。这项技术应用于生产,其优点在于:1. 生产不受季节限制;2. 占地少,生产效率高;3. 便于迅速筛选生产率高的细胞株;4. 在培养物中加入前体物质,能产生原植株没有或不含的化合物。

植物细胞固定培养:固定植物细胞是门新技术,它汇集了细胞培养,固定技术的新成果。1979年有着以固定

植物细胞的报道。使固定植物细胞进行物质合成的实验成为可能,且具有细胞生长缓慢,有利于次生物质积累,易于收获次生物质等优点,固定植物细胞反应器产生并用于生产(批量反应器,连续型反应器,循环型反应器)。刘涤报道用此项技术培养长春花细胞,细胞增殖减慢,次生物质合成量为游离细胞的10倍,且长春花生物碱可分泌到培养基中。

2.2 试管苗的环境控制研究

近几年对试管苗环境控制研究报道增多,特别是光质、温度、酸碱度的研究有所发展。光因子:倪德祥等在“光质对香石竹试管苗生长发育影响的研究中,发现白光下产量最高,其次是红光、黄、绿、蓝光抑制产量增长。黑暗中的产量仅为白光的1/4且实验中得到可靠数据认为试管苗不自养,虽也进行光合作用,但培养基中的蔗糖抑制光合作用碳固定,蓝光处理有利于蛋白质合成,叶绿素合成需要复合光,单色光抑制叶绿素合成。倪德祥等又在“光质对花叶芋组培形态发生影响”中研究,黄光诱导芽发生频率高,且对类胡萝卜素合成最有利。光质不同未引起苗形态发生途径差异,只是对生物总量,器官发生先后及多少有影响。

温度:温度对离体培养的形态发生、生长有直接关系,随着取材范围扩大,发现温度对组培成败起决定作用。陆文梁报道:风信子雄蕊再生最适温度为25℃,母细胞分化温度为18~20℃。小孢子和花粉发育在温度连续下降中完成。花粉第一次有丝分裂温度为10℃,否则其不发育。

2.3 试管苗的退化及玻璃化现象

Debergh 1981年提出试管苗玻璃化的概念,并对此做了系统研究。已报导有此现象的花卉有:洋蓐、香石竹、花毛茛、绿桫木、紫萼苔、倒挂金钟、四季报春、卷丹、瑞香、香雪球、马蹄莲、菊花、补血草、彩叶芋、丝石竹等。目前虽对此做了大量研究,但玻璃苗形成的根本原因尚不清楚。Debergh认为是培养基衬质影响所致。Zir认为降低湿度,可降低苗的玻璃化。刘思颖对丝石竹玻璃苗研究发现:其叶内Ca、K含量偏高,叶片水势为正常叶的1.9倍。周菊华在瑞香试管苗玻璃化研究中发现:对愈伤组织进行40℃,0.5h热击处理,可消除玻璃苗发生,玻璃化现象广泛发生,目前尚没有有效的解决方法。

继代培养中试管苗有退化现象,Reed于1981年报导杜鹃花试管苗再培养中严重退化,发现培养基中激素浓度升高。李拓文对虾衣花试管苗退化研究中得到一致结论,因而认为降低继代培养基浓度为延缓退化方法。在对退化苗的营养状况仪器分析中发现,氨基酸和可溶性糖含量下降,调整培养基中的糖浓度,延缓退化。

随着组培技术应用于工厂化生产,组培苗的生育环境与调节的研究受到重视。1985年,日本千叶大学古在等从生态角度出发,认为应将组培器看作是一个生态系,

并将此生态系统模型化,特别是物质和能量收支动态的模式化研究,他们把组培看作繁殖、育苗、栽培、育种等技术的一部分,试图以传统的农业技术推动组培技术的发展,针对生产需要,建议以无菌室取代超净台,以透光性好的大型容器取代众多小培养器,系统地采用新材料,自动化、电脑、节能等新技术。认为有必要从多方面制定有关组培体系的设计,测量和控制的定量评价标准。

3 实验手段逐步完备

植物组织培养技术所以能进入到细胞水平甚至细胞器水平,与实验手段不断完备分不开,很多先进的光学仪器能保证显微操作的进行。许多医疗器械,仪器设备,可保证良好的无菌分离、培养和生长的过程,现代科学技术的发展,给组培技术提供了一套完善的设备条件,齐备的实验手段,现代科学技术的发展和互相渗透,促进,必将推动组培技术的新发展。

4 结束语

无论是理论研究,还是实际应用,花卉类植物组织培养的各方面如无性系快速繁殖,无病毒苗的工厂化生产,新品种新物种的创造和培育,突变体的选择和利用,原生质体杂交,基因转移,代谢物质生产以及建立真正的花卉类植物基因库或有价值的基因文库等研究将会更加广泛深入。近代细胞培养技术的不断完善,显微分辨力的提高,分子生物学和遗传学的发展,必将推动应用科学,尤其是组培技术的迅速发展。

参考文献

- 1 刘涤.固定植物细胞技术[J].植物生理学通讯,1989,(5)
- 2 罗正荣.植物组织中赤霉素含量的高效液相色谱法测定[J].华中农业大学学报,1996,(5)
- 3 倪德祥.光质对香石竹试管苗生长发育的影响[J].园艺学报,1985,(3)
- 4 韩迎山.植物组织培养的生物反应器[J].植物生理学通讯,1989,(5)
- 5 周立刚.生产次生物质的植物细胞大量培养[J].生物工程进展,1991,(4)
- 6 吴国良等.光质对满江红鱼腥藻生长和发育的影响[J].植物学报,1992,(1)
- 7 倪德祥.光质对花叶芋组织培养形态发生影响[J].园艺学报,1987,(3)
- 8 陆文梁等.温度对离体培养中風信子再生雄蕊的诱导[J].植物学报,1990,(11)
- 9 刘思颖.丝石竹玻璃苗的研究[J].园艺学报,1988,(4)
- 10 周菊华.瑞香试管苗玻璃化的研究[J].园艺学报,1990,(3)
- 11 李拓文.虾衣花试管苗退化因素的探讨[J].园艺学报,1989,(3)
- 12 史跃林.组培苗的生育环境与调节[J].植物生理学通讯,1990,(3)