

植物组培新方法——开放式组织培养研究概况

周亚辉

(上海市浦东新区农业技术推广中心, 上海 201201)

摘要: 植物开放式组织培养是优化传统组培技术的新方法。文章从抑菌剂、培养基成分、器具灭菌方法、培养容器及培养方式等方面阐述开放式组织培养的研究概况。

关键词: 开放式组织培养; 研究概况; 抑菌剂

植物组织培养是在植物细胞全能性学说理论基础上发展形成的一套较为完整的技术体系, 经过近100多年的研究与发展, 已日趋完善与成熟, 其在良种繁育与脱毒、次生代谢产物生产、种子资源保存等方面取得引人瞩目的进展, 产生了巨大的效益, 也有力地推动了生物科学中有关领域的研究。但是, 由于植物组织培养技术对无菌环境要求较为严格, 造成组培生产投入过高、操作程序繁杂、污染严重等问题, 制约了该技术的应用和普及。为此, 众多研究者围绕降低成本、提高效率、减少污染等方面, 不断探索优化传统组培技术的新方法。本文对近些年来备受关注的新型组培方式——开放式组织培养的研究概况进行综述。

1 植物开放式组织培养的基本概念

植物开放式组织培养简称开放组培, 是指在抑生素的作用下, 使植物组织培养脱离严格无菌的操作环境, 不需要高压灭菌和超净工作台, 在自然、开放的有菌环境中进行植物的组织培养^[1]。

2 开放组培与传统组培相比较的优势

2.1 简化操作环节

在开放组培中, 培养基和接种用的剪刀、镊子、刀片等操作工具均不用高压锅灭菌, 接种不需要在超净工作台上进行, 因此简化了传统组培操作环节, 提高了组培效率。李文英构建的百合开放组培体系中, 人工效率是传统组培的2倍左右^[2]。

2.2 降低生产成本

开放组培不使用人工光源, 利用自然光进行培养; 培养容器选择范围扩大, 一般用塑料杯代替组培瓶; 省去高压锅灭菌和超净工作台接种过程。以 100×10^4 株苹果砧木罗六为例进行初步统计, 开放组培与传统组培相比能节省成本60%左右^[1]。

2.3 组培苗质量高

开放组培的培养基不经高压灭菌, 激素和营养元素损失较少, 同时培养容器透光性能也较好。所以, 组培苗不仅分化正常, 有较高的分化率, 且组培苗生长比传统组培苗健壮^[1]。

3 开放式组织培养的研究概况

目前, 已在果树、蔬菜、花卉等领域成功开展开放式组织培养, 研究重点主要围绕抑菌剂种类和浓度的确定、培养基成分的优化、灭菌方法的选择等方面。

3.1 抑菌剂

开放组培是在自然有菌环境中进行, 不经过高压灭菌, 不使用超净工作台, 因此筛选出既能防止污染而又不影响培养物生长的有效抑菌剂是该项技术的关键点。目前, 在植物开放式组织培养中, 使用植物提取物、食品添加剂、农药、消毒剂等作为抑菌剂的研究均有报道。崔刚^[3]运用辩证中医理论, 从多种植物中提取具有杀菌、抗菌活性物质, 成功研制出具有广谱杀菌能力的抑生素, 通过大量试验表明, 植物提取物能渗透到植物内部, 对植物内生菌具有较强的杀灭作用, 同时对植物材料的伤害较轻。王丹等^[4]发现在红豆杉培养基中添加0.2 g/L山梨酸钾的抑菌效果最好。王赵玉等^[5]研究得出, 白菜种子开放组培中生物农药大蒜素在0.1~0.7 g/ml范围内对植物生长影响较小, 抑菌效果较好; 化学药剂代森锰锌在0.1~0.7 g/L浓度范围内对植物根和芽的生长有明显的促进作用, 抑菌效果较理想。对长柄扁桃的开放组培培养结果表明, 50%多菌灵可湿性粉剂和75%代森锰锌可湿性粉剂能有效抑制培养基污染^[6]。通过向甘蔗培养基添加不同浓度的次氯酸钠作为抑菌剂, 发现浓度800 mg/L以上可有效抑制培养基的污染, 组培苗的增殖系数以900~1 000 mg/L较好, 生根效果以1 000~1 100 mg/L为佳^[7]。陈泽斌等^[8]用3种不同的抑菌剂对蓝莓进行开放组培, 综合抑菌效果、对植物组织生长的影响及成本因素考虑, 认为组菌清1 ml/L在蓝莓开放组培中为最佳使用浓度。

作者简介: 周亚辉(1982-), 女, 硕士, 农艺师; 主要从事植物组织培养研究工作。

3.2 培养基成分

培养基为植株的生长提供了营养物质,但同时也为微生物滋生创造了适宜的条件,造成植株的污染,因此,研究者在优化、简化培养基方面开展相关研究。吴桂荣等^[9]研究蔗糖浓度、有机成分对贺州荸荠开放组培的影响,结果表明蔗糖浓度为2%时,抑菌效果较好,污染率为23.0%,有机成分去除甘氨酸时污染率最低,为11.0%,诱导率达80.7%。徐晓敏^[10]用1/2碳源和1/2母液开放式培养的马铃薯苗、甘薯苗,其平均重量、叶片数、根数、芽数与传统组培方法相比差异不显著。在红叶石楠开放式组织培养抗污染试验中发现,MS固体培养基中去除蔗糖的无糖培养法,有利于污染的控制^[11]。

3.3 器具灭菌方法

传统组培中,剪刀、镊子、刀片等操作工具采用高压灭菌或酒精灯灼烧灭菌,而在开放组培中省去高压灭菌环节。崔刚等^[1]对高压灭菌、酒精灯灼烧灭菌和抑生素浸泡灭菌的接种器具,做了大量传统接种对比试验,发现接种器具用75%酒精擦洗后,放在20%抑生素溶液中浸泡1h,接种过程始终浸泡在抑生素溶液中,就可有效防止由于接种器具引发的污染。解辉^[12]通过对比不同浓度次氯酸钠浸泡接种器具的消毒效果,建立器具消毒的最佳消毒方案,结果表明:0.8%的次氯酸钠是器具消毒的最适浓度,经0.8%的次氯酸钠浸泡消毒接种器具10min,接种过程始终浸泡在次氯酸钠溶液中,消毒效果与传统酒精灼烧灭菌污染率无显著差异。

3.4 培养容器

传统组培中,培养容器需选择耐高温高压的玻璃瓶和聚丙烯封口膜,而在开放组培中,采用培养基附加抑生素代替高压灭菌,因此,培养容器的选择范围较大^[1]。崔刚等^[1]在开放式组培中选用一次性塑料口杯作为培养容器,用PE保鲜膜封口,由于培养杯透光性和透气性好,植物在培养杯中生长健壮,分化和生根明显优于传统组培方式。百合开放组培采用高锰酸钾消毒塑料杯+高温灭菌塑料封口组合的培养基污染率最低^[2]。赵青华等^[13]将添加抑菌剂的培养基盛入圆柱形塑料盒、正方体塑料盒、一次性塑料杯、锥形瓶、方形培养盒等不同的培养器皿中,接种愈伤组织,观察生长分化情况,发现魔芋在培养瓶和培养盒器皿中组织生长良好,且培养容器可以反复使用,是开放组培的最佳选择。

3.5 培养方式

迄今为止,关于植物开放式组织培养中,鲜见关于培养方式的报道。在荸荠的开放式组织培养过程中,

尝试把开放组培接种后的培养物,分别使用培养室、玻璃温室、塑料大棚3种不同的培养方式进行培养,结果得出,在培养室中培养效果最好,污染率低而诱导率高^[9]。陈英等^[14]将不同浓度的杀菌剂SDIC加入到固体培养基和液体培养基中,观察对瓶苗生长的影响,发现两种培养方式没有明显的区别。张慎等^[15]认为循环流动的液体培养基不易被污染,比固体培养基更适合于植物开放式组织培养。

4 前景展望

植物开放式组织培养是对传统组培技术简化的研究,该项技术研究有效克服了传统组培过程中出现的操作程序繁琐、污染严重、培养成本高等问题,是未来植物组织培养发展的主要方向之一。影响开放组培成功的因素是多方面的,核心因素是要找到一种有效防止污染,且对植物生长无抑制作用的抑菌剂,培养基成分、灭菌方法、培养方式等方面也影响组培成功率。因此,针对不同的植物品种,众多研究者开展大量抑菌素种类和浓度筛选、培养基成分简化、灭菌方法、培养方式等方面的试验,成功构建几十种植物的开放式组培技术体系,有效地推动了组培苗产业化发展。但是仍有许多问题需要进一步研究,比如将抑菌剂的选择范围扩大,获得更有效的抑菌物。张慎等^[15]提出将纳米材料、乳铁蛋白作为抑菌剂应用在开放组培中,二者抑菌效果好,且不产生抗药性,具有很好的应用前景。另外,抑菌剂对组培苗生理生化方面的影响,培养基成分及激素用量的调整、培养条件等对组培苗分化、生根的影响等也有待于进一步探讨。开放式组织培养技术的推广和应用为组培技术产业化提供了新思路,我们相信随着理论研究的不断深入及技术研究的不断完善,植物开放式组培技术的发展前景将会越来越广阔。

参考文献:

- [1] 崔刚,单文修,秦旭等.植物开放式组织培养研究初探[J].山东农业大学学报,2004,35(4):529-533.
- [2] 李文英.百合“普瑞头”组织培养与开放组培初探[D].哈尔滨:东北林业大学,2012.
- [3] 崔刚.植物开放式组织培养与工厂化育苗新模式研究[D].泰安:山东农业大学,2005.
- [4] 王丹,刘霞.山梨酸钾在红豆杉开放式组织培养中的应用[J].安徽农业科学,2012,38(2):634-635.
- [5] 王赵玉,张健雄,户新宇等.抑菌剂在开放式植物组织培养中的应用[J].北方园艺,2012,(18):125-127.
- [6] 孙占育,曹彬,李红芳等.长柄扁桃开放式组培试验研究[J].现代农业科技,2013,(20):66.
- [7] 李松,刘欣,刘红坚等.次氯酸钠在甘蔗开放式组培苗繁

- 殖中的应用研究[J]. 中国糖料, 2016, 38(6):3-6.
- [8] 陈泽斌, 李冰, 高熹等. 抑菌剂在蓝莓开放组培中的应用试验研究[J]. 中国南方果树, 2017, 46(3):139-142.
- [9] 吴桂荣, 曲芬霞, 余炳锋等. 贺州荸荠开放式组织培养体系建立[J]. 北方园艺, 2013, (6):110-112.
- [10] 徐晓敏. 薯类作物开放式组培技术的建立[D]. 大连:大连工业大学, 2016.
- [11] 卢绪娟, 祝三强. 红叶石楠开放式组织培养污染试验初报[J]. 江苏林业科技, 2017, 44(3):5-8.
- [12] 解辉. 香蕉开放式组织培养体系研究[D]. 海口:海南大学, 2011.
- [13] 赵青华, 陈永波, 杨朝柱等. 魔芋开放式组织培养技术初探[J]. 氨基酸和生物资源, 2009, 31(4):79-82.
- [14] 陈英, 张西英, 刘江娜等. SDIC在马铃薯脱毒组培苗开放式快繁生产中的应用试验研究[J]. 新疆农垦科技, 2014, 37(11):38-40.
- [15] 张慎, 郭陶然, 邓志瑞等. 植物开放式组织培养的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(26):14281-14283, 14288.

A new way in plant tissue culture: current research status of open tissue culture

ZHOU Ya-hui

Abstract: Plant open tissue culture is a new method to optimize traditional tissue culture. The article reviewed the research status of open tissue culture from the aspects such as bacteriostat, ingredients of culture medium, sterilization method of the instruments, culture container and culture method.

Key words: open tissue culture; research status; bacteriostat

(上接6页)

参考文献:

- [1] 王连新, 曾峰, 张继祥. 分根灌溉对草莓光合特性及水分利用效率的影响[J]. 山东农业科学, 2009, (3):22-24.
- [2] 吕亚屏, 倪国仕, 王瑞等. 一种烟草双行凹型结合垄移栽方法:CN103782788A[P]. 2014.
- [3] 李珠怀, 牛立彬. 膜下微喷在节水灌溉中的应用效果分析[J]. 山西水利, 2012, (8):7-8.
- [4] 蔡庆生. 植物生理学实验[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2013.
- [5] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2000.
- [6] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [7] 杨彩红, 柴强. 交替灌溉对绿洲灌区间作小麦光合日变化的影响[J]. 麦类作物学报, 2016, 36(8):1028-1036.
- [8] 王林权, 周春菊. 夏玉米水肥异区交替灌溉施肥的产量与环境效应研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, (6):1651-1658.
- [9] 常永义, 张有富, 张林功. 不同水分处理对半干旱地区日光温室延后葡萄生长发育的影响[A]. 全国葡萄学术研讨会[C]. 2009.
- [10] 杨帆, 苗灵凤, 胥晓等. 植物对干旱胁迫的响应研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(4):586-591.
- [11] 杨再强, 邱译萱, 刘朝霞等. 土壤水分胁迫对设施番茄根系及地上部生长的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(3):748-757.
- [12] 刘明池, 小岛孝之, 田中宗浩等. 亏缺灌溉对草莓生长和果实品质的影响[J]. 园艺学报, 2001, 28(4):307-311.

Comprehensive evaluation of the cultivation model of “double-row concave ridge” in strawberry

DONG Shao-kang, GAO Fan, GUO Jia-xuan, SHEN Yuan-yue

Abstract: To promote the application of strawberry cultivation technology of high water fertilizer use efficiency, and evaluate water and fertilizer saving effect evaluation system of strawberry “double-row concave ridge” cultivation mode, the article took the strawberry “Confidante” as the test material to study the growth, yield, quality and water use index by setting two kinds of ridge mode, i. e. the double-row concave ridge and conventional ridge (CK). The results showed that under the premise of no influence on yield, the fruit soluble solids content increased by 12.7%, which was beneficial to the growth and distribution of roots, and showed the effect of water saving and fertilizer saving by root irrigation. Compared with CK, the water saving rate of strawberry was 46.03%.

Key words: strawberry; concave ridge; cultivation pattern; quality and yield; high efficiency utilization of water and fertilizer