彩色马蹄莲组织培养研究进展

郑 柱, 商宏莉

(四川师范大学 生命科学学院, 四川 成都 610068)

摘 要:现就彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrida*)的组织培养技术作以简要的综述,从马蹄莲外植体的选择和消毒,初代培养和继代增殖中培养基、激素及培养方式的选择、试管苗移栽等一系列相关研究上介绍了国内外的研究进展,并对存在的问题和今后的发展方向进行了探讨。

关键词:彩色马蹄莲;组织培养;研究进展

中图分类号:S 682.2⁺64;S 603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)03-0066-04

马蹄莲(*Zantedeschia aethiopica* (Calla Lily)),天南星科,马蹄莲属^[1],多年生宿根植物,原产南非,耐荫,是重要的观叶和切花。而其近缘种——彩色马蹄莲(*Zantedeschia hybrid*),肉穗花序包于红、黄、粉红、橘红、橙黄或红黄色佛焰苞内。多数彩色马蹄莲的绿叶带月白色斑点或条纹,是很好的配叶材料。由于花、叶皆佳,在国内外花卉市场深受欢迎,具有很大的发展潜力^[2]。目前,彩色马蹄莲在新西兰、荷兰、日本、美国、以色列的产量最大。但是,由于彩色马蹄莲优良品种的传统繁殖只能采用分球方法,而分球法一般需在休眠期进行,繁殖周期长,繁殖系数小,因此,很难满足产业化生产的需要^[3]。为了加快良种的推广,组织培养技术成为生产马蹄莲脱毒种苗和将有性繁殖获得种子进行快繁的有效途径^[4]。经过多年对彩色马蹄莲组织培养的研究,已成功获得组培苗,但是到目前为止,国内总体的培养情况还存在一些问题,如外植体来源有限、污染率高、繁殖系数较小、移栽成活率不高等。受限于这些问题,国内能够规模化生产彩色马蹄莲的公司较少,产量有限,致使在部分地区的花卉市场甚至很难买到彩色马蹄莲。针对以上问题,现就组织培养方面阐述国内外彩色马蹄莲的研究进展,以期对彩色马蹄莲的规模化快速生产提供参考依据。

1 马蹄莲组织培养研究进展

从1902年 Haberlandt 提出的细胞全能性的概念,到1958年 Steward 和 Reinert 用胡萝卜髓细胞培养成株证实细胞的全能性以来,组织培养技术在基础理论和实际应用方面都获得了飞快的发展,已广泛应用于快速繁殖、种苗脱毒、遗传育种、种质资源保存与交换、人工种

子、基因工程研究等,通过组培再生成株的植物种类和品种日益增多,自1960年法国 Morel 将植物组培技术应用用于兰花的快速繁殖并取得成功以来,至今有关花卉组培方面的研究很多,能进行组织培养的花卉已达成百上千种,并且还不断有新的报道^[5]。

花卉的组织培养包括外植体的选择、外植体的消毒、接种培养、继代增殖、试管苗出瓶等一系列操作过程。在整个过程中,任何一个环节出现问题都会给下面的工作带来无法弥补的损失。尽管植物组织培养的理论较为完善,已经有众多的花卉组织培养的成功材料可以查阅,但是由于物种的多样性和个体的差异性等因素,培养者需要进行小规模的小规模的试验,这是十分重要的。

就马蹄莲而言,1981年 Cohen D 等成功地进行了马蹄莲的离体培养^[6];我国对马蹄莲组织培养的研究起步较晚,最早于1989年由林荣等报道了马蹄莲离体培养的成功^[7]。马蹄莲的组培材料多采用小块茎作为外植体,而长期生长于湿润土壤中的块茎本身带有很多真菌和细菌,极易造成培养基和组培苗的污染,而传统的灭菌方法证明是无效的。因此,在建立初代培养体系的时候降低污染率就是首先需要解决的一个问题。在进行外植体的常规灭菌之前,使用杀菌剂或者热水浴能够获得良好的效果。例如,Ruiz Sifre G^[8]、Kritzinger E M^[9]等先后对不同杀菌剂或抗生素的灭菌效果进行了初步的研究,试验表明其降低污染效果较好。Langens Gerrits M 报道了组培前热水浴预处理马蹄莲外植体可减少内生菌污染^[10]。国内李群等也针对初代培养过程中污染率极高的问题,先后进行了热水浴和杀菌剂预处理外植体的初步研究^[11-12]。

马蹄莲试管苗移栽入土是一个重要的环节,提高其移栽成活率需要考虑很多的因素。Chen JunneJih 等研究发现:不考虑脱毒苗的大小,移栽到土床中的植株比移栽到盆中的植株生长出更大的块茎。其中直径大于3 cm 的块茎,前者有52%,后者只有25%^[13]。

第一作者简介:郑柱(1983-),男,在读硕士,从事遗传育种与生物技术研究。E-mail:seamonster1800@yahoo.com.cn。

通讯作者:商宏莉。

收稿日期:2007-10-11

2 彩色马蹄莲组织培养研究进展

彩色马蹄莲作为马蹄莲的近缘种,其生态习性不同于早已引种的马蹄莲 [*Z. aethiopicum* (L) Spreng.]。商业上提供的彩色马蹄莲品种由 6 个野生种杂交选育而成,品种间的形态、花色和生长适应性有明显差别。国内首先于 1988 年在广西引种成功^[14]。

2.1 外植体

迄今为止,经组织培养成功的植物,所使用的外植体几乎包括了植物体的各个部位,如根、茎(鳞茎、茎段)、叶(子叶、叶片)、花瓣、花药、胚珠、幼胚、块茎、茎尖、维管组织、髓部等^[15]。而使用块茎进行彩色马蹄莲的组织培养仍然是最为成熟和有效的。但是对于外植体的污染,针对不同的彩色马蹄莲品种,通过试验摸索最佳的灭菌方法,国内的相关工作者还需要做更多更细致的研究。

目前已有使用彩色马蹄莲的叶片进行组培的报道,叶片在常规的灭菌条件下即可达到良好的效果,但是就目前来看其诱导效果欠佳。例如,李国义切取彩色马蹄莲幼叶接种于不同激素浓度的培养基上,30 d 内观察,大部分叶片保持原来的接种状态仅有一小部分发生膨大的生长迹象。但其发生速度慢,体积较小,经继代培养也未表现出旺盛生长的迹象^[16]。刘金朗用两种彩色马蹄莲品种的幼嫩叶片,在 MS+KT 5.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 的培养基上,30~40 d 产生愈伤组织,并研究了不同浓度的 KT、6-BA 和 PP₃₃₃ 对愈伤组织增殖和不定芽分化的影响^[17]。其它部位还未见报道。

2.2 培养基、激素及培养方式的选择

植物离体形态的发生能力除了与基因型和外植体部位有关外,还与培养基添加的激素和碳源等密切相关。经过大量研究结果表明,植物激素的种类和配比是决定形态发生启动和方向的关键。

李倩中等研究了不同 NAA,BA 对彩色马蹄莲品种“风韵”组织培养过程中愈伤组织增殖、芽的分化和生根的影响^[18]。Xiao Tiao Jiang 等在彩色马蹄莲组培的培养基中添加了不同浓度的玉米素(ZT)发现:当玉米素浓度为 1~3mg/L 时芽外植体的新梢增殖被诱导,浓度为 0.2~0.4 mg/L 时促进新梢的伸长,浓度为 0.05~0.2 mg/L 时诱导生根^[19]。吴丽芳,熊丽等以彩色马蹄莲块茎芽或芽眼为外植体,MS 为基本培养基进行组培研究,结果表明:高浓度 BA 有利于愈伤组织和芽的分化,低浓度则对芽的生长有力。生根适宜的培养基为加 NAA 0.3 mg/L+IAA 0.2 mg/L^[20]。Purwito A 报道用马蹄莲栽培品种“Pink Persuasion”的芽得到的离体苗在添加 1,3,5 或 7 mg/L BA 和 0,5,10 mg/L 泛酸钙盐的 MS 培养基中增殖。观测了 IAA(0,0.1,0.3 和 0.5 mg/L)及继代培养次数(1~5 次)对植株芽增殖的影响^[21]。Chang H S 介绍了在添加不同植物生长调节剂浓度和

化合物的 MS 培养基上利用芽尖增殖进行银花马蹄莲微繁的方法。试验了 4 种细胞分裂素,发现 6-BA 和 TDZ 非常有效,而增加细胞分裂素浓度通常会导致低增殖率和生长迟钝^[22]。李国义等以黄花马蹄莲和红花马蹄莲为试材,取不同部位进行培养,试验结果表明,MS 为基本培养基,用沙和蛭石预培养有利于减少初代培养中的污染率,1%的 HgCl 中常规灭菌以 10 min 为宜。培养基中加入 6-BA 2.0 mg/L+ NAA 0.5 mg/L 时,有利于茎芽发生丛生芽和愈伤组织。培养基中加入 IBA-Na 0.2 mg/L 有利于无菌苗生根^[3]。

适量的细胞分裂素对外植体的诱导和分化有着明显的作用,而生长素对不定根的诱导效果显著。但是对于单一品种而言,不同的试验仍然存在一定的差异性,没有统一的标准,这对于应用于彩色马蹄莲的工业化生产是一个有待解决的问题。

在植物组织培养过程中,培养因素对试管苗的生长发育有着极其重要的影响。传统的植物组织培养方式,采用密闭性很强的容器,置于一定的光照条件下以一定的明暗周期恒温培养,试管苗依靠培养基中的糖进行异养生长。培养容器内一般气体流动性差,相对湿度高,CO₂ 浓度不足,并且培养基中的糖容易造成微生物污染。而对植物进行无糖组织培养则可以在很大程度上改善上述问题^[23]。屈云慧等以彩色马蹄莲组培增殖苗为供试材料,采用 CO₂ 强制性供气系统和箱式培养容器,在附加 MS 大量原色的蛭石中进行无糖生根培养环境条件的控制研究,与常规的组培技术相比,成本降低 17% 左右,过渡成活率提高 10% 以上^[24]。

2.3 试管苗移栽

杨奎妹等报道:在彩色马蹄莲试管苗的生产中,移栽基质与移栽时间是试管苗脱离培养基后能否生存下去的两个重要因素。以蛭石作为移栽基质是简易可行的,它在多数品种中表现良好。移栽的适宜月份为 3~5 月。温室内最高温度 26~30℃,最高温度/最低温度的温差位于 15~18℃,基质温度(20 ± 2℃)时移栽效果较好^[25]。李国义等报道移栽基质以蛭石生根效果最好^[3]。

彩色马蹄莲经组培和移栽,其植株长势强,开花整齐,产花量高,且花色均匀一致,保持了原品种的特色。

2.4 马蹄莲试管块茎研究现状

在获得试管苗的基础上进一步培养形成试管块茎,这一技术已大量应用于许多种类的球根花卉中,例如百合、唐菖蒲、小苍兰等,在马铃薯上也得到了大规模的应用,这一利用微器官作为繁殖体的技术可以有效地解决组培苗移栽成活率低,并减少病毒的感染,提高生产效率。

王爱勤等在试管内诱导马蹄莲小块茎的形成,试验表明,培养基中蔗糖含量是主要硬性因素,10 mg/L 多

效唑对小块茎的形成和膨大有明显的促进作用,BA 则表现出抑制作用。芽长 5~7cm 作诱导材料形成小块茎的效果最好^[26]。张天琪等利用植物组织培养技术研究了细胞分裂素对彩色马蹄莲试管苗快繁和试管微型种球的诱导效应,筛选出适合彩色马蹄莲试管苗快繁和试管微型种球诱导的培养基^[27]。彭峰等进行了不同培养条件及植物生长调节剂等因子对彩色马蹄莲组培苗试管块茎诱导影响的试验。在此基础上,研究不用植物生长调节剂对诱导的影响,同时,试验也表明,并非所有植物生长调节剂都能诱导彩色马蹄莲块茎的膨大^[28]。

3 彩色马蹄莲组织培养过程中常见问题

菌类污染、褐变和玻璃化统称为植物组织培养的三大难题^[29]。菌类污染可以通过严格消毒和灭菌程序来控制,而试管苗褐变和玻璃化的发生原因和机理还有待进一步的研究。目前的防止措施都是治标不治本,从大量的试验总结得出的经验来看,选择适宜的外植体并建立最佳的培养条件,针对不同种类植物不同个体的适应性差异问题,进行个别因子的平衡剂量试验,是解决这类问题的主要策略。

另一方面,彩色马蹄莲组培苗经移栽后需要进行病害的防治管理。对马蹄莲危害最严重的是细菌性软腐病,除白色马蹄莲以外,其它种及杂交品种都较易感病,且至今没有特效的农药能抑制该病的发生。目前生产中只能采取各种综合措施以尽量减少发病带来的损失^[30]。

4 讨论与展望

近年来,马蹄莲属植物特别是彩色马蹄莲作为流行的高档盆花和切花品种,越来越受到人们的欢迎,具有巨大的市场发展潜力。但是,由于国内引种时间不长,科研投入有限等原因,我国马蹄莲相关研究滞后,国内生产基本依靠进口种球,并且在产业化生产中还存在许多问题,如彩色马蹄莲组培快繁初代培养中,常规灭菌条件下污染率很高;此外,生根苗的移栽成活率低等,致使生产成本较高,阻碍了工业化的大规模生产,而国外早已走在前面。为提高彩色马蹄莲组织培养的效率,应该从以下几点入手。

4.1 无菌体系的建立

组织培养过程中无菌体系的建立,包括用于组培的不同品种马蹄莲外植体的最佳取材部位、最佳取材时期、最佳灭菌方法的建立。此外,不添加碳源,使用 CO₂ 强制性供气的无糖培养方式,以及近年来围绕杀菌剂的研制和使用、简化组培环节、降低组培成本而建立一套完整可行的开放式组织培养模式,并在几十种植物上取得了成功,这些都对彩色马蹄莲的组培起着重要的参考依据。

4.2 诱导外植体的方法

组培过程中诱导外植体生长分化的方法,其本身具有易成功、变异小,性状均一的特点,是最能保持无性系后代品种特性的一种繁殖方式,且繁殖速度快。采取这一方法,植物生长调节剂的选择和配比是关键。针对不同的品种,注意外植体所含少量的内源激素的问题,通过添加不同比例的外源激素的方式,诱导外植体的生长和分化。

4.3 提高试管苗移栽成活率

试管苗移栽入土是个重要的转折:营养方式由异养变为自养;培养环境由无菌变为有菌;从恒温、高湿、弱光向自然变温、低湿、强光过渡。因此在移栽过程中,应根据当地的气候环境特点、不同品种马蹄莲的习性、设备条件、季节等特点,做到逐步缩小外界环境的变化,使植株能尽快适应外界的变化,并具备一定程度的抗微生物感染的能力。

4.4 从实验室走向商业化生产

在理论研究和成本核算有效的基础上,建立一整套完善的生产方案,在各生产环节建立严格的科学管理体系,并积极开拓市场。同时还应注重新品种的研发和保护,这才是体现市场竞争力的最大资本。

4.5 做好基础研究工作

深入研究马蹄莲组培过程中存在的玻璃化、褐变、畸形等各种问题,只有这样才能更好的为马蹄莲商业化生产服务,才能更好的发挥组织培养技术在规模生产上的优势,取得更大的经济效益。

参考文献

- [1] Corr B E. Zantedeschia research in the United States; past, present and future[J]. Acta Hort, 1990, 337:177-189.
- [2] 刘青林,马伟. 花卉组织培养[M]. 北京:中国农业出版社, 2003.
- [3] 李国义,龚东芳,张丽梅,等. 彩色马蹄莲组培快繁技术的研究[J]. 北方园艺, 2004(2):64-65.
- [4] Zettler F W, Abo EL-Nil M M, Hartman R D. Dasheen mosaic virus. Kew Surrey. Descriptions of plant viruses[M]. England: CMI/ AAB, 1978, 191.
- [5] 徐寿霞. 组织培养在花卉产业中的应用前景[J]. 江西园艺, 2003(1): 36.
- [6] Cohen D. Micropropagation of Zantedeschia hybrids [J]. Comb. Proc. Intl. Plant Prop. Soc. 1981, 31:312-316.
- [7] 林荣,王秀琴,王润珍,等. 马蹄莲组织培养和快速繁殖[J]. 广西植物, 1989, 9(2):97-102.
- [8] Ruiz Sifre G, Rosa Marquez E, Flores Ortega C E. Zantedeschia aethiopia propagation by tissue culture[J]. Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico, 1996, 80(3): 193-194.
- [9] Kritzing E M, Van Vuuren R J, Woodward B, et al. Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of Zantedeschia aethiopia with commercial fungicides and antibiotics [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 1998, 52(1-2):61-65.
- [10] Langens Gerrits M, Albers M, de Klerk G J, et al. Hot-water treatment before tissue culture reduces initial contamination in Lilium and Acer [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1998, 52(1-2):75-77.
- [11] 李群. 热水浴预处理对马蹄莲初代培养过程中污染的控制[J]. 四川

病毒杀虫剂的研究现状

姚东伟¹, 郑宇^{1,2}, 张光星²

(1. 上海市农业科学院园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106; 2. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801)

摘要:病毒杀虫剂是当今生物农药研发的热点。现就昆虫病毒杀虫剂的研究、开发及其优点与局限进行了概述, 并展望了未来发展前景。

关键词:病毒; 杀虫剂; 研究

中图分类号:S 482.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)03-0069-04

当前应用化学农药防治害虫依然是提高作物产量的主要措施之一, 但是由于化学农药的不合理、加量使用, 病虫害产生抗药性, 导致农药残留量大、环境污染严重、人畜中毒现象时有发生, 严重危害到了人们的生活。减少使用高毒高残留农药, 并推广无公害种植技术就成了当务之急, 病虫害的生物防治也就显得尤为迫切。而在众多的生物农药中, 病毒杀虫剂因其特异性强, 对人、畜安全, 不易破坏生态平衡而脱颖而出, 倍受人们的关注, 已成为当今生物农药研究与开发的热点。

1 昆虫病毒杀虫剂国内外研究进展

病毒, 是非细胞形式的最小有机体, 是一种原始的生命形态, 一个病毒由两部分组成: 内部髓核和外部衣壳。目前, 世界上已从 1100 多种昆虫中发现了 1 600 多种昆虫病毒, 其宿主涉及昆虫 11 目 43 科, 我国已从 7 个目, 35 科的 196 个虫种中分离到 240 多株昆虫病毒, 用于害虫生物防治的昆虫病毒主要是杆状病毒科的核多角体病毒(NPV)、颗粒体病毒(GV)和质型多角体病毒(CPV), 主要用于防治棉铃虫、菜青虫、桑毛虫、斜纹夜蛾、小菜蛾等害虫。昆虫病毒的最大特点是当被昆虫食入后能形成包涵体, 一个包涵体中含有一个或多个病毒粒子。包涵体不溶于水, 也不溶于有机溶剂, 但能溶于酸碱溶液。然后在昆虫的胃液作用下释放病毒粒子, 感染幼虫, 近而在昆虫体内大量繁殖, 干扰其血液循环, 最终昆虫感病死亡。昆虫病毒的感染途径主要是食入感

第一作者简介: 姚东伟 (1979-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事园艺种子加工技术研究。E-mail: yaodong412@sina.com。

基金项目: 上海市中小企业创新资金资助项目(0639HIN07)。

收稿日期: 2007-09-13

师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(5): 520-521.

[12] 李群, 陈丽萍, 石铁松. 马蹄莲组培过程中真菌和细菌污染的消除方法研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(6): 607-609.

[13] Chen JunneJih, Liu MingChung. Size of vitro plantlets affects subsequent tuber production of acclimated calla lily[J]. HortScience, 2000, 35(2): 290-292.

[14] 才华. 广西引种多色马蹄莲成功[N]. 花卉报, 1988-7-22.

[15] 刘庆昌, 吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.

[16] 李国义. 彩色马蹄莲组培快繁研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.

[17] 刘金朗. 植物生长调节剂在彩色马蹄莲组培与快繁中的生理效应[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 185.

[18] 李倩中, 陈发棣, 赵桂菊. NAA, BA 对彩色马蹄莲品种“风韵”组织培养的影响[J]. 江苏林业科技, 1998, 25(增刊): 167-169.

[19] Xiao TiaoJiang, Li Heng, Long ChunLin, et al. Studies on the micro-propagation of four Zantedeschia cultivars[J]. Acta Botanica, Yunnanica, 1998, Suppl. X: 101-103.

[20] 吴丽芳, 熊丽, 屈云慧, 等. 彩色马蹄莲组培研究[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(5): 423-426.

[21] Purwito A, Aisyah S I, Tjandra A. Micropropagation of calla lily

(Zantedeschia sp) by tissue culture[J]. Tropenlandwirt, Beiheft, 2001, (73): 307-312.

[22] Chang H S, Chakrabarty D, Hahn E J, et al. Micropropagation of calla lily (Zantedeschia albomaculata) via in vitro shoot tip proliferation[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 2003, 39(2): 129-134.

[23] 牟宇宁, 高亦珂. 植物无糖组培技术研究进展[J]. 林业科技开发, 2007, 21(1): 10-12.

[24] 屈云慧, 熊丽, 张素芳, 等. 彩色马蹄莲组织苗无糖生根培养的环境控制[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2): 166-169.

[25] 杨奎妹, 张和琴, 邹荫, 等. 彩色马蹄莲等花卉新品种引进筛选及栽培技术的研究[J]. 天津建设科技, 1999(4): 32-33.

[26] 王爱勤, 何龙飞, 王彦红, 等. 马蹄莲块茎试管培养研究[J]. 广西农业科学, 1998(2): 92-94.

[27] 张天琪, 李荣旗, 王玉忠, 等. 细胞分裂素诱导彩色马蹄莲试管微型种球[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(3): 108-111.

[28] 彭峰, 陈嫣嫣, 郝日明, 等. 彩色马蹄莲试管块茎诱导研究[J]. 江苏农业科学, 2006(3): 94-96.

[29] 于惠敏, 路朋, 何晓光. 植物组织培养技术及常见问题和解决措施[J]. 山东教育学院学报, 2005(6): 101-103.

[30] 周涤, 吴丽芳. 马蹄莲研究进展[J]. 中国农学通报, 2006, 22(9): 284-290.