

我国植物组织培养研究进展

胡选萍 (陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西汉中 723001)

摘要 介绍我国植物组织培养技术的发展现状, 并且在此基础上总结其发展变化规律, 最后展望了植物组织培养技术的发展趋势。

关键词 植物组织培养; 发展现状; 展望

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)10-04095-03

自从 1902 年德国科学家 Gottlieb Haberlandt 提出植物细胞的全能性理论后^[1], 细胞全能性研究逐渐成为生物学研究领域的热点, 而建立在细胞全能性基础上的植物组织培养技术从此逐渐兴起和发展。近年来, 植物组织培养技术(Plant Tissue Culture)作为一种基本的试验技术和基础的研究手段, 显示出巨大的应用潜力, 被广泛应用于植物学、遗传学、育种学、栽培学、解剖学、病理学等各个领域之中。笔者拟对目前我国植物组织培养的现状进行系统的分析, 便于更好地了解我国植物组织培养的发展水平, 把握国内该领域的研究现状, 同时也有助于探索植物组织培养发展的基本规律, 预测其发展态势。

1 植物组织培养的发展现状

1.1 研究比例稳定增长 近年来植物组织培养技术发展十分迅速, 其发展的水平和程度最突出地表现在相关研究的数量。在中国期刊网, 笔者采用“组织培养”作为篇名精确搜索, 结果发现在所有组织培养的相关研究中植物的组织培养占有绝对优势(91.95%)。之所以出现这种现象, 最主要的原因可能与研究材料本身的全能性水平有关。与植物细胞相比较, 高等动物细胞的分化程度相对较高, 在分化过程中形成各种高度特化的细胞, 相应地, 其细胞全能性水平则相对较低, 所以在人工培养条件下, 不容易脱分化而进入新的细胞分裂周期。

在植物组织培养领域, 通过对每年发表的相关文章数量进行详细统计, 并根据时间与发表数量之间的对应关系进行作图。由图 1 可知, 植物组织培养研究相关文章的数量总体上稳步增长, 并且在不同阶段的增长幅度不同。根据增长幅度的变化, 将植物组织培养按年际分为 3 个阶段: ①停滞阶段, 主要处于 20 世纪 50 年代到 70 年代; ②相对增长阶段, 主要表现在 70 年代到 90 年代末; ③繁荣阶段, 进入 21 世纪后, 植物组织培养迎来了其快速增长的繁荣期。

1.2 研究领域大幅扩展 随着植物组织培养技术在国内的兴起和发展, 该技术的应用和研究迅速渗入到相关的部门和领域。通过对国内已发表权威核心期刊论文系统搜索, 并将其根据所属领域进行系统划分。结果发现, 目前植物组织培养的应用和研究主要涉及到花卉、药用植物、农林蔬菜和理论研究 4 个方面。

由图 2 可知, 在四大领域植物组织培养的研究状况具有相似的规律, 也表现出一定的差异。虽然研究领域不同, 但各领域关于植物组织培养的文章随年代的增加均呈现增长

趋势; 但对于不同领域, 文章数量发展变化幅度不尽相同, 其中以花卉园艺领域变化幅度相对最大, 而理论研究领域变化幅度相对最小; 在同一时代, 植物组织培养的研究数量不完全相同, 但在每个阶段均以农林蔬菜领域的研究占多数。这可能与中国是个农业大国, 农林资源相对比较丰富有关。

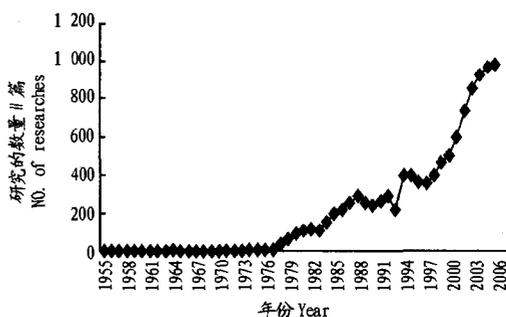


图 1 植物组织培养的年间变化趋势

Fig.1 Annual change trend of plant tissue culture

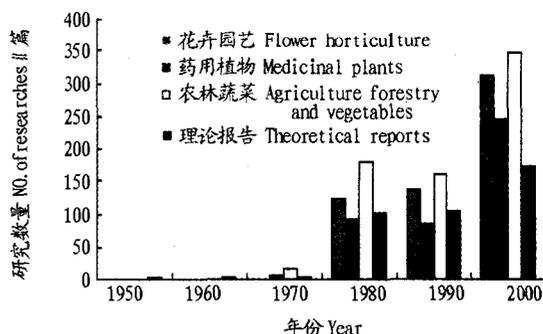


图 2 不同领域中植物组织培养研究状况

Fig.2 The situation of research on plant tissue culture in different fields

1.3 研究种类的丰富度增加 在我国, 植物组织培养的发展不仅表现在不同领域中的进步和繁荣, 而且体现在所涉及和研究植物种类丰富度的增加。在 20 世纪 50、60 年代植物组织培养技术在我国基本上还属于新兴产业。罗士韦等以银色橡胶菊^[2]和人参^[3]作为研究对象进行初步的尝试和探索。到 70 年代, 虽然植物组织培养在国内逐步启动和发展, 但是所涉及的植物种类仍然较少, 研究的物种丰富度相对较低。随着植物组织培养研究深度和广度的拓延, 研究范围的进一步扩大, 涉及领域迅速增多, 相应地, 所涉及的植物种类也大幅增加。80、90 年代所涉及的植物种类就有 300 多种。而到 21 世纪, 植物组织培养所涉及的植物种类已经几乎遍及所有研究领域, 而且植物种类的数量还将进一步增加。

1.4 研究技术的结合度增强 科学技术的发展从来都不是单一、孤立的, 在技术和技术之间、领域和领域之间会不断地

作者简介 胡选萍(1975-), 女, 陕西韩城人, 讲师, 从事植物组织培养方面的研究。

收稿日期 2007-11-14

交叉、融合。在植物组织培养的发展历程中,同样也表现出这种变化趋势。在早期阶段(20世纪50~70年代),植物组织培养还基本上处于孤立的探索阶段。在这个阶段,植物组织培养技术与其他学科领域如物理、化学及生物技术等基本上没有明显的结合。70年代,逐渐出现植物组织培养与细胞学^[4]、遗传学^[5]逐步结合的例子。80年代,植物组织培养技术与其他学科技术的结合已经相对比较普遍,具体表现在同位素示踪技术^[6]、计算机咨询系统^[7-8]、扫描电镜技术^[9]、液氮保存技术^[10]、生物化学技术等手段在植物组织培养领域中的应用,尤其是与各种生物化学技术手段(如同功酶^[11]、等电点聚焦电泳^[12]、放射免疫测定^[13]等)在植物组织培养中得到了普遍应用。90年代,植物组织培养技术已经与各种新的研究技术手段广泛结合,具体表现为同电镜技术^[14]、高压液相色谱^[15]、激光诱变技术^[16-17]、辐射诱变技术^[18]、生化同工酶谱技术^[19]、染色体显微技术^[20-21]、反向HPLC技术^[22]、超低温保存技术^[23]等的交叉融合,其中以各种生化技术特别是色谱技术的密切结合为主要表现形式。90年代末,植物组织培养技术已经开始表现出与遗传转化手段^[24]相融合的基本态势。21世纪,虽然植物组织培养技术与其他学科技术结合的总案例数目变化不大,但是所结合的技术类型发生了巨大的变化。具体内容有全息技术^[25]、生物反应器技术^[26]、辐射诱变技术^[27-29]、遗传转化技术(农杆菌转化)^[30-31]、基因工程手段(基因枪轰击技术)^[32]、SSR分子标记技术^[33]、RAPD分子标记技术^[34]、高效液相色谱技术^[35]、太空诱变技术^[36]、分子标记辅助选择育种技术等^[37]。由此可见,21世纪最明显、最突出的特点是植物组织培养技术与分子手段密切结合并快速发展。

1.5 研究的定量化程度加深 定性研究与定量研究历来是科学研究的2种基本定位方向。20世纪50~70年代,植物组织培养技术刚刚起步,所以定量试验技术基本还没有涉足该领域。而从80年代开始,定量技术初步应用于植物组织培养的研究之中,并快速成为研究的一个重要方面。研究的数量不但迅速增加,而且研究的水平不断提升。具体表现为研究所涉及的自变量和因变量选择定位的深度和丰富度以及试验设计方法的多元化程度(表1)。

显然,随着植物组织培养研究的深入,研究所选取的自变量逐渐丰富和全面;因变量并非仅仅局限于基本的形态指标,生理生化指标也逐渐被选择,并且作为重要的试验变量;试验设计方法也逐步从单因素试验过渡到设计相对复杂、但结果更加可靠的多因素设计。

1.6 研究向两极化发展 随着生物科学逐步朝着宏观和微观两极发展,植物组织培养技术作为生物科学中不可缺少的一员,其发展方向也表现出两极化的趋势。20世纪50、60年代,植物组织培养技术刚刚起步,主要定位点在相对比较粗放、宏观角度,探索组织培养的基本机理,发展和完善基本理论。70年代已有学者尝试从细胞水平上研究植物组织培养。80年代,植物组织培养的研究内容不再局限于选择和寻找合适的培养条件,以诱导外植体表现出全能性,最终形成完整植株,而是逐步从生理、生化水平研究植物组织培养的机理,其中以植物组培过程中特殊次生代谢产物、过氧化酶等类似

同功酶研究相对较多。而进入90年代,微观研究以生理生化水平为主并逐步向分子水平过渡。21世纪,虽然细胞、生理、生化水平的研究依然存在,但是植物组织培养在微观方面已经显示出新的特点,即植物组织培养技术与各种分子技术的密切结合,并从分子水平去探索植物组织培养的机理。

表1 植物组织培养定量研究的特点

Table 1 Features of quantitative research on plant tissue culture

时间	自变量	因变量	实验设计方法
Time	Independent variable	Dependent variable	Design of test
80年代	激素、光照、基因型、继代培养状况、培养基、射线、EMS、SA等对植物组织培养的效果,其中以激素比较常见,常用的激素有2,4-D,赤霉素、激动素、萘乙酸等	植物的各种形态建成指标、器官发生、发育途径、组织培养效率、同工酶谱等	多因素试验设计
90年代	激光、硝酸银、基因型、不同激素、苯基噻二唑基脲(TDZ)、多效唑、硝酸镧、酚类、多胺、糖、氮、寡糖素、椰乳、玉米赤霉烯酮、外植体类型、光质、山梨醇、青霉素、精胺等	POD活性、总酚含量、核酸含量、过氧化酶含量、生根、芽分化状况、愈伤组织分化情况、可溶性蛋白含量等	单因素双因素、多因素均匀设计、多因素正交设计
21世纪	各种生长调节剂、基因型、香蕉汁、不同激素(LFS、KT、6-BA、NAA)、钴辐射、复合添加物、各种培养条件(光、温等)、氮离子注入、鞘氨醇、水分胁迫、不同附加物、琼脂浓度、PH值、低温锻炼、外植体类型、VB1、干燥处理、苯基噻二唑基脲(TDZ)多效唑等	植株再生情况、NaCl耐性、抗氧化酶活性、Ve、愈伤组织培养情况、黄酮类化合物的含量、培养基凝固程度、过氧化酶活性、下胚轴分化状况等	单因素双因素、多因素正交设计、二次回归正交设计等

虽然植物组织培养在微观研究方面表现出一系列明显的特点和潜在的优势,但是相对于整个植物组织培养研究而言,微观方面的研究只是较小的一部分,还处于发展的初步阶段。随着科技的进步,植物组织培养在微观和宏观2个大方向上都有非常广阔的发展空间。在微观方面,随着分子技术的蓬勃发展,从分子水平上探索植物组织培养的机理,研究植物组织培养过程的基本规律,将是未来研究的一大热点,因为植物组织培养技术材料的快速易得将会表现出明显的优势;在宏观方面,植物组织培养技术将更加取向于快速扩繁,趋近于生产实践,将加快从实验室搬到生产实际应用大舞台上的步伐,其快速化、高效化、简约化、低成本等特点将是研究考虑的主要因素。

2 展望

植物组织培养技术作为一种重要的研究方法、一种不可或缺的研究手段,经过长时间的兴衰发展和转承变化,最终在国内生物科学领域中占有一席之地。该研究通过系统的分析,总结出国内植物组织培养技术发展过程中的6个基本特点,揭示了当今我国植物组织培养研究的基本态势和未来发展趋势。

虽然我国植物组织培养的发展历程并非一帆风顺,并且在发展变化过程中还存在一些具体问题,但是总体来说,随着科学技术的进步、研究领域的拓展,我国植物组织培养技术的进一步发展是不可阻挡的必然趋势,并将逐步与其他学科领域的相关技术进一步交叉融合,在各大研究领域得到深

入普及和广泛应用,研究的深度日益增加,广度逐渐外延。同时,研究定位也会向两极化方向发展,即一方面走向宏观、定性,以快速高效、简约低成本为目标的粗放化方向发展;另一方面走向微观和定量,密切与各种分子技术手段相结合,并以各种数量统计技术为基本载体快速发展,以探索机理、研究机制为目标的精细化方向发展。

总之,植物组织培养作为生物科学研究和生产实际应用的一门基本技术,终将与生物高新技术结合,成为连接宏观和微观研究的一座桥梁,成为生物技术中应用最广、最具有现实价值的技术。

参考文献

- [1] 曾洪学,张小华. 植物细胞全能性理论在中国的研究与实践[J]. 分子植物育种,2004,2(6):885-889.
- [2] ARREGUIN B, BONNER J, 罗士韦. 银色橡胶菊中橡胶形成的生物化学 II. 无菌的组织培养中橡胶的形成[J]. 植物生理学通讯,1955(6):44.
- [3] 罗士韦,黄文徽,曹国仪,等. 人参组织培养[J]. 植物生理学通讯,1964(2):26,38.
- [4] 王凯基,张丕方,倪德祥,等. 油橄榄(*Olea europaea* L.)组织培养的细胞组织学研究 II. 组织分化和器官发生[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 1979(3):225-230,306.
- [5] 蔡以欣,杨金水,李美华. 稻属植物的组织培养和细胞分化及其遗传变异的研究——I. 梗型杂交水稻茎尖愈伤组织的悬浮培养与细胞分化及其再生植株的各种变异研究[J]. 实验生物学报,1979(4):341-346,375-376.
- [6] 邢世岩. 同位素示踪技术在植物组织培养中的应用[J]. 核农学报,1989(4):183-186.
- [7] 金一庆,吴龙富,金逸民,等. 植物组织培养计算机咨询系统[J]. 科技通报,1989(5):11-13.
- [8] 金一庆,吴龙富,金逸民,等. 植物组织培养计算机咨询系统的研究[J]. 中国农业科学,1989(6):85-90.
- [9] 张树录,郑国锡. 糜子组织培养中体细胞胚胎发生的扫描电镜观察[J]. 电子显微学报,1988(1):1-4.
- [10] 施坚,邵燕,冯丽萍,等. 液氮深冷保存组织培养细胞[J]. 制冷学报,1980(3):59-62.
- [11] 倪德祥,曹勇伟,张丕方. 光质对毛地黄叶组织培养中大分子物质含量及过氧化物酶同工酶谱的影响[J]. 自然杂志,1987(6):478-479.
- [12] 邹韵霞,邓钧华. 长春花愈伤组织培养过氧化物酶同工酶等电点聚焦研究[J]. 中山大学学报:自然科学版,1987(2):107-111.
- [13] 荻森学,周荣仁. 组织培养次生代谢产物 VI. 甾类化合物(放射免疫测定法 Radioimmunoassay)[J]. 细胞生物学杂志,1987(4):171-173.
- [14] 陈德海,潘文兰,杨涛,等. 草莓组织培养细胞发育过程的电镜观察[J]. 厦门大学学报:自然科学版,1999(6):918-923.

- [15] 孙君,胡正海,成小飞. 利用高压液相色谱法测定红豆杉组织培养物中紫杉醇的含量[J]. 西北大学学报:自然科学版,1999(2):159-161.
- [16] 周有院,雷德柱,李友明. He-Ne 激光对植物组织培养中根、芽分化的影响[J]. 激光杂志,1993(3):147-149.
- [17] 张鸣鹤,周凌云,伏云昌,等. 激光对水稻组织培养的影响[J]. 激光杂志,1993(2):91,94.
- [18] 李春兰,侯全民,曾令和,等. 辐射诱变与组织培养相结合诱导小麦耐盐细胞系初探[J]. 核农学报,1990(1):8-12.
- [19] 张谦,郑国. 红豆草组织培养中不同培养物同工酶谱差异的研究[J]. 兰州大学学报:自然科学版,1996(2):88-93.
- [20] 蔡朝晖,高山林,郭蓓. 丹参组织培养材料的染色体显微鉴定技术[J]. 中国药科大学学报,1993(1):49.
- [21] 高山林,赵爱平,徐德然. 浙江贝母组织培养材料的染色体显微鉴定技术[J]. 中国药科大学学报,1990(6):27-30.
- [22] 赵剑,朱蔚华,吴蕴祺,等. 反相高效液相色谱法测定长春花组织培养物中吗啡生物碱含量[J]. 药学学报,1999(7):539-542.
- [23] 孙龙华,简令成. 红豆草组织培养物的超低温保存及其超微结构的观察[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 1990(4):262-267.
- [24] 王凌健,倪迪安,王光远,等. 青菜组织培养和转化系统的初步建立[J]. 实验生物学报,1999(1):93-95.
- [25] 宋英今,季静,刘海学,等. 生菜子叶组织培养及全息现象的研究[J]. 北方园艺,2007(1):142-144.
- [26] 赵望锋,王力华. 间歇浸没式生物反应器在大规模组织培养中的应用研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(2):317-320.
- [27] 朱道圩,杨育,理莎莎,等. (60)Co γ 射线种子辐射对中华猕猴桃组织培养幼苗生长的效应[J]. 植物生理学通讯,2006(5):189-190.
- [28] 洪亚辉,朱兆海,黄璜,等. 菊花组织培养与辐射诱变的研究[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2003(6):4-8.
- [29] 李洪杰,郭北海,张艳敏,等. 利用组织培养和辐射诱变创造高频率小麦与簇毛麦染色体易位[J]. 遗传学报,2000(6):511-519.
- [30] 任永霞,王罡,郭郁频,等. 番茄组织培养及其农杆菌介导类胡萝卜素合成酶基因 *LcbB* 的遗传转化[J]. 北方园艺,2006(1):98-100.
- [31] 杜何为,张祖新,郑用琏. 玉米组织培养及农杆菌遗传转化体系的研究[J]. 湖北农业科学,2004(2):34-36.
- [32] 刘雷,尹钧,任江萍,等. 基因枪轰击后大麦幼胚的组织培养及植株再生研究[J]. 华北农学报,2003(4):1-4.
- [33] 张志清,郑有良,魏育明,等. 小麦组织培养后代的醇溶蛋白和 SSR 位点的遗传变异[J]. 植物生理学通讯,2006(3):111-114.
- [34] 张汉尧,刘小珍,周健,等. 矮牵牛组织培养及变异苗的 RAPD 分析[J]. 广西植物,2006(1):76-77.
- [35] 耿莹莹,阙慧卿,邓思珊,等. 高效液相色谱法测定组织培养株中高三尖杉酯碱的含量[J]. 中国药理学杂志,2006(3):238-239.
- [36] 罗丽萍,郭燕华,蔡奇英,等. 经太空诱变的莲藕的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2004(2):201.
- [37] 李洪杰,李义文,张艳敏,等. 组织培养创造抗白粉病小麦-簇毛麦染色体易位及分子标记辅助选择[J]. 遗传学报,2000(7):608-613.

(上接第 4043 页)

表 4 不同肥料处理对大白菜品质的影响

Table 4 Effects of different fertilizer treatments on quality of Chinese cabbage

处理 Treatment	Vc mg/100 g	可溶性糖 Soluble sugar g/100 g	硝酸盐含量 Nitrate content mg/kg
CK	17.3 ± 1.8 aA	10.0 ± 0.7 cB	482.7 ± 11.5 bB
普 2 次 2 times of common fertilizer	13.9 ± 2.0 bAB	10.2 ± 0.4 cB	1 021.2 ± 125.1 aA
复合肥 Compound fertilizer	10.2 ± 1.4 cB	10.9 ± 1.4 bB	995.5 ± 62.1 aA
专 1 次 Once of special compound fertilizer	13.4 ± 1.9 bAB	13.6 ± 1.3 aA	1 148.6 ± 79.4 aA
专 2 次 2 times of special compound fertilizer	13.8 ± 0.8 bAB	12.3 ± 0.6 abAB	1 161.1 ± 153.9 aA

且价格也相对较低。

(3) 试验证明,在专用肥配方中添加肥料增效剂后制作的新型专用肥,效果更佳,具有明显的增产增效和改善品质之功效。养分利用率的提高还有利于农业生态环境的保护。

参考文献

- [1] 刘果,李绍才,杨志荣. 我国多功能肥料的发展概况[J]. 中国土壤与肥料, 2006(5):7-9,65.
- [2] 林翠兰,吕业成,徐润生,等. 一种新型有机肥和蔬菜专用肥的施用效果[J]. 生态环境,2004,13(5):232-233.
- [3] 徐宏林. 矿物添加剂对复混肥料的影响[J]. 资源开发与市场,2006,22(3):249-251,270.
- [4] 逢焕成,梁业森,吴江. 大豆施用增效剂的应用效果[J]. 土壤肥料,2005(4):22-24.
- [5] 陈倩,穆环珍,黄衍初. 木质素复合肥的研制及其对肥料氮磷有效性的影响[J]. 农业环境科学学报,2003,22(1):41-43.
- [6] 孙小燕,李卫华,丁洪. 风化石和硼在土壤中对尿素氨化与硝化作用及磷有效性的影响[J]. 磷肥与复肥,2005,20(1):68-69.
- [7] 丁洪,张伟光. 花生新型专用肥的研制与应用[J]. 中国油料作物学报,2002,24(4):57-60.
- [8] 李卫华,丁洪,颜明娟,等. 新型专用配方肥对马铃薯产量及品质的影响[J]. 中国农学通报,2007,23(3):289-292.