

植物组织培养技术发展简况

卞连荣

(江苏省兴化第二职业高级中学 江苏兴化 225700)

摘 要 本文对植物组织培养技术的起源和发展情况作了简单介绍。

关键词 组织培养 ;理论依据 技术

中图分类号 Q949.36

文献标识码 A

文章编号 1007-7731(2007)05-42-01

植物组织培养是本世纪发展起来的一门新技术 由于科学技术的进步 尤其是外源激素的应用 使植物组织培养不仅从理论上为相关学科提出了可靠的实验证据 而且成为一种大规模、批量工厂化生产种苗的新方法 并在生产上越来越得到广泛的应用。

植物组织培养是指通过分离植物体的一个或数个体细胞或植物体的一部分(即外植体)接种到培养基上 在人工控制的条件下进行培养 使其生长为完整的植株。对于植物组织培养技术的起源和发展简况 这里作介绍如下。

1 组织培养的理论依据

1838-1839年 德国植物学家 M. J. Schleiden 和德国动物学家施旺 T. Schwann 创立了细胞学说。根据这一学说 如果给细胞提供和生物体内一样的条件 每个细胞都应该能够独立生活。1902年 德国植物学家 G. Haberlandt 在细胞学说的基础上 大胆提出要在试管中人工培育植物。他预言离体的植物细胞具有发育上的全能性 能够发育成为完整的植物体。即植物的体细胞 在适当的条件下 具有不断分裂和繁殖 发育成完整植株的潜在能力。他首次发表了植物离体细胞培养实验的报告。这种细胞全能性理论是植物组织培养的理论基础。

不但植物体细胞可以表现全能性 花粉在培养条件下也可能进行脱分化 通过愈伤组织或胚状体发育成单倍体植株。植物组织培养不仅包括在无菌条件下利用人工培养基对植物组织进行培养 而且包括对胚胎、细胞、原生质体的培养。

2 植物组织培养之父

1898年德国植物学家 G. Haberlandt 设计用实验方法来检验细胞学说。他自己配制培养基 用高等植物的叶肉细胞、髓细胞、腺毛、雄蕊毛、气孔保卫细胞等作为材料进行离体培养。G. Haberlandt 在植物细胞培养的论文中认为 单细胞在人工配制的培养基上培养 能够通过细胞分裂而恢复成完整的植物体 即植物细胞具有全能性。1912年 G. Haberlandt 的学生 Kotte 和美国的 Robins 在根尖培养中获得了组织培养的成功 Kotte 采用了无机盐、葡萄糖、蛋白胨、天冬酰胺 及添加各种氨基酸的培养基。Rob-

ins 用含无机盐、葡萄糖或果糖的琼脂培养基 培养了长度为 1.45-3.75cm 的豌豆、玉米和棉花的茎尖 形成了一些缺绿的茎和根。到 20 世纪 60 年代 他所提出的种种理论都已先后实现。G. Haberlandt 作为植物组织培养的先驱 被他的后继者们誉为“植物组织培养之父”。

3 植物组织培养综合培养基建立者

1933 年我国学者李继桐和沈同培养银杏的离体胚时 将银杏胚乳提取物加入培养基 促进了胚的生长。1934 年荷兰植物学家 F. W. Went 发现了生长素 即吲哚乙酸。1934 年美国的 White 通过对番茄根尖的组织培养 建立了第一个活性生长的无性繁殖系统 并反复转移到新鲜培养基中继代培养 使根的离体培养实验获得了真正的成功 并在以后 28 年间培养了 1600 代。这之后 White 又以小麦根尖为材料 研究了光、温度、通气、pH 值、培养基组成等各种培养条件对生长的影响 并于 1937 年建立了第一个组织培养的综合培养基 其成分包括 3 种 B 族维生素 即吡哆醇、硫胺素和烟酸 该培养基后来被定名为 White 培养基。White 最先建立了植物组织培养的综合培养基。与此同时 Gauthere(1934)在研究山毛柳和黑杨等形成层的组织培养实验中 提出了 B 族维生素和生长素对组织培养的重要意义 并于 1939 年连续培养胡萝卜根形成层获得了首次成功。同年 White 用烟草种间杂种的瘤组织 Nobecourt 用胡萝卜均建立了与上述类似的连续生长的组织培养物。因此 Gautherer White 和 Nobecourt 一起被誉为组织培养学科的奠基人。1943 年 White 发表了《植物组织培养手册》专著 使植物组织培养开始成为一门新兴的学科。

4 组织培养技术的推动者

40 年代 Skoog 和崔徵在烟草茎切段和髓培养以及器官形成的研究中发现 腺嘌呤或腺苷可以解除培养基中生长素(IAA)对芽形成的抑制作用 而能诱导形成芽 从而明确了腺嘌呤与生长素的比例是控制芽和根形成的主要条件之一。即这一比例高时 产生芽 这一比例低时 形成根 相等则不分化。在寻找促进细胞分裂的物质过程中 Miller 等人于 1956 年发现了激动素。不久即知道激动素可以代替腺嘌呤促进发芽 并且效果可增加(下转 34 页)

膏其干物质的含量最高 ,为 70. 761% ,而且结晶的颜色最白。

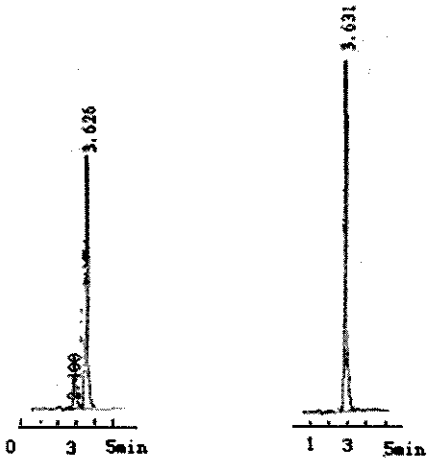


图6 A 样品(出峰 时间为 3. 626min) 图 7 标样(出峰 时间为 3. 631min)

4 总结

本实验的优点是简单、周期短 ,实验表明 ,在相同条件下 ,用 1% 活性炭脱色的效果较好 ,用 90% 的甲醇洗浸膏所测得青蒿素的含量最高 ,但不能使青蒿素结晶 ,同时还

(上接 42 页) 3 万倍。随后活力更高的细胞分裂素的发现并被应用于组织培养中 ,使得该技术如虎添翼 ,迅猛发展。这方面的成功发现 ,有力地推动了植物组织培养的发展。

1960 年 Cocking 等人用真菌纤维素酶分离植物原生质体获得成功。1971 年 ,Takebe 等在烟草上首次由原生质体获得了再生植株 ,这不仅在理论上证明了无壁的原生质体同样具有全能性 ,而且在实践上为外源基因的导入提供了理想的受体材料。80 年代中期以来 ,对禾谷类作物的原生质体培养也相继告捷 ,在这方面中国学者做出了重要贡献。以后相继在烟草、水稻、小麦、玉米、番茄、辣椒、草莓、苹果等多种植物培养中获得成功 ,其数目达到 160

(上接 182 页) 16. 7cm × 16. 7cm 折单产 6922. 5kg/hm²。把小区产量进行方差分析 ,18. 5cm × 20cm(27 万丛/hm²)、20cm × 20cm(25. 05 万丛/hm²) 2 处理的产量与其它 3 个处理产量存在显著或极显著的差异 ,16. 7cm × 20cm 处理与 16. 7cm × 16. 7cm 的产量差异显著 ,其它处理间产量不存在显著差异 ,见表 2。

表2 不同栽培密度产量比较表

规格 (cm)	小区产量 (kg/13. 3m ²)			平均 (kg/13. 3m ²)	折合单产 (kg/hm ²)	产量差异显著性	
	I	II	III			5%	1%
16. 7 × 16. 7	9. 10	9. 20	9. 40	9. 23	6922. 5	c	B
16. 7 × 20	9. 30	9. 70	9. 50	9. 50	7125. 0	b	B
18. 5 × 20	10. 10	10. 30	10. 20	10. 20	7650. 0	a	A
20 × 20	9. 90	10. 10	10. 30	10. 10	7575. 0	a	A
23. 3 × 20	9. 00	9. 60	9. 60	9. 40	7050. 0	bc	B

溶解了大量的杂质 ;用 80% 甲醇洗浸膏所测得的纯度高于 90% 甲醇洗浸膏 1. 71 个百分点 ,同时有沉淀析出 ,而且也不比用 90% 的甲醇洗浸膏所测得青蒿素的含量低很多。综上所述 ,在相同条件下 ,用 80% 的甲醇洗浸膏的效果最好 ,能把一部分的杂质除去 ,不足之处是用 80% 甲醇洗浸膏时操作不易于控制。

参考文献

[1] 惠玉虎 ,何锦伟 ,杨朝昆. 等. HPLC - ELSD 法测定 黄花蒿提取物 中青蒿素 [J]. 中草药. 2006 (7) 1020 - 1021.
[2] 葛发欢 ,张镜澄 ,陈列. 黄花蒿中青蒿素的超临界 CO2 流体提取 工艺研究 [J]. 中国医药工业杂志. 2003 (6) 250.
[3] 郭燕 ,王俊 ,陈正堂. 青蒿素类药物的药理作用新进展[J]. 中国 临床药理学与治疗学. 2006 11(6) 615 - 620.
[4] 李子颖 ,李士雨 ,齐向娟. 青蒿素提取技术研究进展[J]. 中药研 究与信息. 2002 (2) :17 - 21.
[5] 张玲 ,杜小英 ,姜锦花. 青蒿素提取分离工艺研究 [J] 现代中药 研究与实践. 2005 (6) 57 - 58.
[6] 李国栋 ,周全 ,赵长文 ,等. 青蒿素类药物的研究现状 [J] 中国药 学杂志. 1998 (7) 3 - 7.
[7] 周莫平 ,赵敏 ,周志强. 黄花蒿资源的研究进展[J]. 国土资源研 究. 2006 (3) 93 - 94. (责编 潘兰 陆艾五)

多种 ,其中烟草、水稻和小麦等的花药育种培养在中国取得了引入注目的成就。

由于植物组织培养技术日趋成熟和完善 ,该技术已在快速繁殖、去除病毒、加速育种进程、次生代谢产物生产和种质资源的保存等方面创造了巨大的经济效益和生态效益。今后 随着科技进步 ,这项技术肯定将继续对人类的 经济和生产活动产生重大的影响。

参考文献

[1] 潘瑞炽. 植物组织培养 . 广东高等教育出版社出版 ,2001 年 5 月 ,第二版.
[2] 余守超. 植物组织培养中外植体褐变机理研究进展 . 山东林业 科技 ,2004 ,5. (责编 潘兰)

3 小结与讨论

(1)栽培密度试验结果表明 ,以 18. 5cm × 20cm(27 万丛/hm²)、20cm × 20cm(25. 05 万丛/hm²)两种栽培密度 群体结构好 ,产量最高。

(2)优质稻佳辐占种植表现株型适中 ,叶色浓绿 ,茎秆粗壮 ,谷粒细长 ,成熟期转色好 ,穗头大小中等 ,结实率高 ,中抗稻瘟病。米质是福建省审定通过的第一个米质指标基本达到部颁一级优质米标准的高产优质早稻新品种 ,2003 年通过福建省农作物品种审定委员会审定(闽审稻 2003001) ,值得加快推广 ,提高农民种粮效益。

(3)由于佳辐占分蘖力不强 ,栽培上应适当密植 ,插足基本苗 ,增加有效穗 ,才能提高产量。 (责编 张杨林)