植物组织培养的影响因素

杨斌¹ 郭海燕²

(1、石河子大学校产办 新疆 石河子 832003; 2、石河子大学政法学院 新疆 石河子 832003)

摘要:高等植物离体组织培养是21世纪的重要研究内容,植物离体组织的形态建成是一个可调控的过程,本文分析了影响外植体组织培养的内外环境因素。

关键词:高等植物;组织培养

植物组织的离体生长条件包括营养条件与其他环境条件两大方面^[1]。由于离体组织生长所需的营养成分全部来自培养基中,所以培养基的合适与否是关系到培养能否成功的关键。植物组织离体生长时对营养的需求与完整的植物体是基本相同的,但前者对营养的要求更全面,不仅要求营养成分齐全充分,同时对培养基(液)的酸碱度、渗透压和无菌条件也有较严格的要求^[2]。除此以外,植物组织细胞的离体生长还必须满足一定的环境条件,包括温度、湿度及通气条件等。

1. 植物组织培养的营养条件:植物组织培养的营养条件包括培养基中的营养成分、培养基的酸碱条件、培养基的渗透压、培养基的无菌条件等^[3]。

1.1 营养成分:要使植物组织培养获得成功,最关键的因素是培养基的成分和特性。培养植物组织的培养基必须具备以下基本条件:①培养基必须供给植物组织生长发育所需要全部盐类、氨基酸、脂类、糖类、维生素等营养元素;②培养基必须具有缓冲能力,亦即含有非毒性的缓冲液,即使细胞产生酸性物质,仍能保持PH值在一定范围内;③培养基中不能有微生物,否则,这些微生物便会利用培养基中的良好营养条件,很快增殖起来,并破坏培养的活细胞。

1.2 酸碱条件:培养基的酸碱条件对芽的分化有一定影响,但是人们往往重视不够。在培养过程中,培养基的PH值不是一成不变的,往往随着培养基的失水和养分的消耗,PH值会发生一定的变化,难以保持恒定。培养基中PH为5.8时效果最佳,通常把培养基中的PH值调整到5.6-6.0的范围内,过高或过低都会有不利影响。但由于植物种类的不同,对PH值的要求也可能有一些差异。

1.3 渗透压:培养基的渗透压对细胞的增殖和胚状体的形成都有十分明显的影响。在植物组织细胞培养,特别是花药和胚胎的培养中受到了普遍的影响。胡萝卜的细胞悬浮培养时,在无生长素的MS基本培养基中能诱导形成胚,但在MS培养基中若加入12%蔗糖或其他高渗透压物质(如甘露醇和山梨醇)时,形成的胚就比较小。培养基中的渗透压一般由糖类物质来调节,诸如蔗糖、葡萄糖、果糖、甘露醇和山梨醇等。

2. 植物组织培养的环境条件

植物组织培养的环境条件包括培养基的物理性质、光照条件、温度条件、湿度条件以及气相条件(Chaleff 1981)^[4]。但就离体细胞、组织和器官来讲,营养是最重要的因素,光则处于次要地位。

2.1 培养基的物理性质:培养基是处于固体状态还是液体状态对离体的组织或细胞的生长发育甚至器官分化的影响较大,但这一方面的报道较少。琼脂一方面起固化剂的作用,即固化后作为培养材料的支持物,另一方面具有吸附作用,可除去细胞代谢废物。若琼脂用量过高,培养基的透性差,根系气体交换受阻,影响根系的物质代谢,各种养分和激素在培养基中的扩散速度减慢,降低了细胞分裂素的活性,根的细胞分裂受阻。若琼脂用量过低,培养基凝固性差,湿度大反而导致“玻璃化”现象的产生。有一些资料表明,培养基的状态主要是对组织细胞的形态发生有一定的影响。如在进行烟草植物组织细胞培养时,当把其愈伤组织由液体培养基转到固体培养基中时,它立即分化出苗。在菊苣根段培养时,培养基的物理性质决定着器官分化的类型,即在液体培养基中的滤纸桥上培养时,会分化出营养芽;而在固体培养基上培养时,则形成花芽,并且随着琼脂浓度的增加(6%-36%),外植体形成花芽的百分比也在增加。但琼脂浓度过高,会导致培养基太

硬,外植体获取的养分和生理活性物质也会减少,这将抑制组织细胞的生长。

2.2 光照条件:在植物组织离体无菌培养中,光照的作用并不是提供光合作用的能源,因为最初培养的组织是处于异养条件下,培养基中已有足够的碳源(加入的蔗糖)供利用。光照对培养的植物组织的作用是一种诱导效应,诱导植物组织脱分化与再分化。在各种植物组织培养中,植物组织的脱分化和再分化对光照的要求是不同的。如在进行菊苣组织培养时光照对根形成有促进作用,虽在1/100lx的光照条件下形成根的数量较少,但若在黑暗中生长,即使供给足够的糖,却总是比在光照下形成的根更少。

有正常光周期的植物对光照强度及光周期的要求较严格。例如,在对短日照敏感的葡萄茎切段培养中,在短日照培养条件下茎切段仅能形成根。在对长日照植物菊苣的根段培养时,在长日照条件下才诱导根段形成花芽。而在对短日照植物紫雪花的茎节培养时,仅在短日照条件下才能诱导茎节形成花芽,在长日照下无此作用。而对日照不敏感的品种,对光照的要求则不严格,在任何光周期下都可使组织再分化。

光质作用的阐明,近年亦有较大发展。早期(20世纪60年代)发现蓝光对烟草组培苗的愈伤组织的形成有促进作用,而远红光和红光则没有促进作用。光质对根的形成作用正好与芽相反,远红光和红光较强,白光次之,蓝光和黑暗则有抑制作用。

2.3 温度条件:在植物组织培养中,温度高低对其器官发生的数量和质量有一定的影响。一般都采用24-28℃的恒温条件进行培养。对一般植物来讲,这样的温度都可使植物组织较好的生长,并能分化形成芽和根。但是也有一些资料表明,有些植物组织甚至需要更低或更高的温度。如培养温度在18℃时,对烟草组织培养时苗的形成有良好的促进作用,高于33℃和低于12℃对苗的形成都不利。因此,培养室的温度最好能保持有一定的昼夜温差。

2.4 湿度条件:一般要求培养室的相对湿度在70-80%。培养室湿度太低,培养基易失水、干裂,影响培养物对培养基营养的吸收;湿度过高则易引起封口膜长霉,造成污染。在合适的条件下,培养容器内的相对湿度一般可达到100%。

从以上所述表明,植物细胞、组织或器官的分化是受基因调控的,而基因又必需在一定部位,一定时间和一定条件下才能表达。^[5]

参考文献

- [1].张谦.豆科植物组织和细胞培养的种类名录.植物生理学通讯.1986(5):66-76.
- [2].寿天德.现代生物学导论.中国科学技术大学出版社.1998:223-224.
- [3].守思扬,楼士林(主编).生物技术概论.科学出版社.厦门大学面向21世纪系列教材.1999,8:199-200.
- [4].胡含,王恒立.植物基因工程原理与技术.科学出版社.1998:182-183.