

玉米组织培养研究进展

位昕禹

(1.黑龙江省农业科学院黑河分院, 黑龙江黑河 164300)

摘要:近些年来玉米组织培养技术发展十分迅速,玉米组织培养技术作为一种新型的科研技术,越来越受到人们的重视。浅谈植物组织培养技术的基本原理、意义及面临的一些问题,综述了玉米子房和幼胚系统的组织培养研究、玉米茎尖和根尖离体培养研究和玉米花粉和花药培养研究。

关键词:组织培养;原理;玉米

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2009)02-0161-03

Research Progress on Maize Tissue Culture

WEI Xin-yu

(Heihe Sub-academy of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heihe, Heilongjiang 164300)

Abstract: Tissue culture of maize has developed rapidly in recent years. Tissue culture of maize as a new technology of science research, is attracting increasing attention. It was referred to the following aspects in this paper: Firstly, the principle and significance of tissue culture and the problems during tissue culture were described simply; Secondly, tissue culture of maize ovary and young embryo system research, culture in vitro of maize stem tip and root tip research, tissue culture of maize pollen and anther research were summarized.

Key words: tissue culture; principle; maize

1 植物组织培养

1.1 植物组织培养的意义

植物组织培养首先不仅可以生产大量的优良无性系,而且可以获得人类需要的多种代谢物质;其次,细胞融合可打破种属间的界限,克服远缘杂交不亲和性障碍,在植物新品种的培育和种性的改良中发挥着巨大的作用;再次,还可获得单倍体、三倍体及其它多倍体、非整倍体;最后,组织培养的植物细胞也成为在细胞水平上分析研究的理想材料。

1.2 植物组织培养的基本原理

植物组织细胞培养的依据是植物细胞的全能性和再生作用。1902年,德国著名植物学家 G. Haberlandt 根据细胞学理论,大胆地提出了高等植物的器官和组织可以不断分割,直到单个细胞,即植物体细胞,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力的观点。组织培养选用的基础培养基有 MT、MS、SH、White、N₆ 等,由于不同种类植物所需要的生长条件有所不同,有的培养基要作一些改良,有的要选择专

用培养基,但是一般采用较多的是 MS。组织培养采用固体培养基的比较多,但固体培养基只有在植物的周围的营养物和激素被吸收,而大多数的物质还残留在培养基里,如果这些培养基还能被利用,对工厂化生产的减少成本方面有很大的帮助。杜勤^[1]等在外源激素条件下,研究液体和固体培养基对黄瓜子叶培养器官分化的影响,结果用液体培养基直接诱导花芽率更高,分化高峰期出现的时间也更早。这也说明了液体培养基对外植体的生长更有利,只是固体培养基在操作上更方便,被较广泛应用。

胚性愈伤组织比非胚性愈伤组织具有更强的生长能力、胚胎发生能力和相对较高的同工酶活性,而形成胚状体再分化出植株比形成愈伤组织再形成植株要更容易。Kavikishor 在对水稻盐适应细胞的研究中,认为 ABA 可促进初次生长在盐胁迫下的愈伤组织对盐的适应能力。陆卫^[2]等分析了外源 ABA 可使谷子胚性愈伤组织生长减缓,使正常胚性愈伤组织在 NaCl 胁迫下与耐盐胚性愈伤组织的生长差异消失。也许这是由于细胞在适应盐胁迫的生理过程中调整蛋白质的合成与降解以适应新的环境。李玲^[3]通过百草枯和苯甲酸钠对渗透胁迫下抗旱性不同玉米品种愈伤组织的影响的研究,得出了抗旱性强的品种愈伤组织抗氧化胁迫

收稿日期: 2008-08-28

作者简介: 位昕禹(1984-),男,黑龙江省佳木斯市人,学士双学位,在读硕士,研究实习员,从事作物遗传育种研究。E-mail: weixinyu2001@163.com.

和渗透胁迫能力强于抗旱性弱品种,并且这是与含高活力抗氧化系统密切相关的一个结论。同时,还有人研究了病菌对愈伤组织的影响。汪国平^[4]等发现番茄愈伤组织的离体抗性与田间抗性呈相反趋势,因此在愈伤组织上进行番茄抗青枯病突变体筛选的难度较大。

1.3 植物组织培养面临的一些问题

影响组培外植体褐变的因子,主要有外植体酚类物质的含量及PPO活性上的差异、外植体的大小、酶促因子对外植体褐变的影响,以及培养基成分、激素类型。为解决这个问题,可以采取以下几种方法:将易于褐变的外植体放在黑暗条件下培养一段时间;连续转移,进行预处理;在培养基中加入抗氧化剂和其他抑制剂来抑制褐变。陈学森^[5]等,在银杏组织培养中应用了植酸作抗氧化剂,取得一定成效。植物离体培养及大量快繁过程中,试管苗常会产生玻璃化现象,吴若菁^[6]等在香石竹组培中,发现影响组培苗玻璃化的原因有以下几种类型:激素的种类、浓度;琼脂的浓度;外植体的取材部位;不适宜的培养条件。因此采取的克服方法也要因原因的不同而决定。通过愈伤组织培养植株时,常会出现染色体数目的变异,包括倍性变异和非倍性变异^[7]。这种变异普遍认为是丝分裂异常现象,可视为染色体数目变异和结构变异最直接的细胞学证据。

2 玉米组织培养研究

玉米是一种非常重要的粮食和饲料作物,近些年,地球资源的短缺向玉米等生物能源的供应者提出了迫切的要求,玉米的转基因工作一直备受关注,组织培养工作是玉米遗传转化的重要环节。Green和Philips^[8]首先报道了利用玉米幼胚作为外植体进行愈伤组织的诱导并成功地获得了二倍体的再生植株。随后,玉米组培技术得到了较快的发展。以花药、雌雄幼穗、成熟胚等作为外植体均能成功获得再生植株。由于玉米幼胚具有接种方便、易于愈伤组织诱导等优点,目前仍是玉米组培中广泛使用的外植体。玉米幼胚培养的再生效率受到多种因素的影响,其中基因型起着非常重要的作用。随着体细胞培养技术的不断完善和进步,目前已经能从幼穗、叶片、花药等诱导愈伤组织并再生植株,不同外植体形成愈伤及分化能力有很大差异,其中幼胚是最易诱导,也是目前最常用的外植体,但幼胚取材的时间受到严格的季节限制,由芽尖分生组织或丛生芽诱导愈伤组织可以免受季节限制,且周期较短,Zhong^[9]等第一次培养玉米茎尖分生组织诱导胚状体及丛生芽并获得再生植株,李学红^[10]等离体培养玉米茎尖,获得再生植株。Hodgestk^[11]等发现玉米自交系A188的再生能力明显高于其它自交系,其杂交后代也

表现出较高的再生频率。

2.1 玉米子房和幼胚系统的组织培养研究

玉米子房和幼胚属于二倍体,且分生能力较强,研究人员对玉米子房和幼胚开展了研究。在玉米基因工程中,玉米愈伤组织的培养特性对能否实现理想的转化效果具有较大影响,而决定玉米幼胚诱导愈伤组织效率的因素很多,如材料的基因型、胚龄、幼胚大小以及培养基成分等,其中最重要的影响因素是供试材料的基因型及培养基成分。 Ca^{2+} 与钙调蛋白(CaM)结合,能提高植物对逆境的抵抗能力。植物细胞 Ca^{2+} 浓度的微小变化,都将引起一系列生理生化反应。郑乐娅^[12]等考查了由玉米雌幼穗培养获得的63株再生植株 R_1 的自交结实性以及 R_2 自交结实植株的株高、果穗、籽粒等多种性状,均表现出不同程度的变异。李明军^[13]等以青、饲料玉米为材料,对幼胚愈伤组织的诱导、继代、植株再生、再生苗培养和移栽、生长及开花结实等方面进行了系统的研究。郭丽红^[14]等对玉米幼根根尖和成熟胚都以MS为基本培养基,分别在不同的激素配比、不同浓度的蔗糖和水解乳蛋白下,进行愈伤组织的诱导,得到分散性好、生长快的悬浮细胞系。付迎军^[15]等探讨了不同材料、不同培养基对玉米未授粉子房的影响,确定了未授粉子房最佳培养时期,筛选出一批用于玉米未授粉子房诱导频率高的培养材料。付凤玲^[16]等认为,在以 N_6 培养基为基础的诱导培养基和继代培养基中添加 $5\text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Ca}^{2+}$,在诱导培养基和继代培养基中分别添加 $1.00\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.50\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ S-3307,可提高胚性愈伤组织的诱导率和生长量,而不影响胚性愈伤组织的分化再生。分化培养基添加 $0.25\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ S-3307,可显著提高分化再生率。胡彦民^[17]等用6个玉米基因型的幼胚进行离体培养幼苗分化试验,从培养基种类、基因型和细胞质效应、激动素、分化前最后一次继代培养基中2,4-D质量浓度、蔗糖质量浓度等6个方面分析了幼苗分化的影响因素。玉米幼胚和子房组织的培养有利于培育正常的二倍体植株,有助于玉米品种的改良和改进,为玉米育种提供新的品种资源,因此玉米幼胚和子房组织的培养必将成为玉米研究的工作重点。

2.2 玉米茎尖和根尖离体培养研究

张一^[18]等探索了适于玉米根尖离体培养的多层滤纸床液体静止培养方法,培养的适宜体系为 $1/4\text{MS}$ 大量元素改良+ $1/2\text{MS}$ 微量元素+IBA $0.1 \sim 0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,黑暗培养。高树仁等以黑龙江省8个优良玉米自交系为试验材料,研究了玉米茎尖培养诱导愈伤组织及愈伤组织继代培养和植株再生,结果表明,不同培养基和基因型的愈伤组织诱导再生能力差异大,单一培养基效果不如复合培养基。刘世强^[19]等以玉米的3个

自交系及其配制的 3 个单交种的 5 种不同外植体诱导愈伤组织, 7~8 叶期的幼茎切段和授粉后 22 d 的幼胚表现有较高的出愈率。李学红^[29]等利用不同基因型的玉米芽尖分生组织在添加适宜浓度 62BA (62 苄基嘌呤) 的改良 MS 培养基上, 经过 4 周诱导培养和 4 周芽发育培养, 获得高频率的丛生芽和再生植株, 每个芽尖倍增数可达 3~8 芽。通过玉米植株的茎尖和根尖离体培养, 可以较为迅速地得到新的品种资源, 因此, 发展前景广阔。

2.3 玉米花粉和花药培养研究

玉米花粉和花药的培养一般可获取单倍体植物, 有利于促进玉米遗传育种工作的有效进展。叶珍^[21]等在玉米花药培养过程中, 对花药的雄核发育过程及其药壁组织变化进行观察发现, 玉米离体花药培养的雄核发育途径主要有 3 种, 即 A2V 途径、A2G 途径和 A2VG 途径, 药壁组织对雄核发育起着一定的作用。徐龙珠^[23]等研究发现磁场对提高玉米花药培养诱导率具有明显的促进作用。朱海山^[23]研究发现高温高压灭菌和过滤灭菌对于胚状体产生和绿色植株分化没有实质性差异, 而将蔗糖分开灭菌则可明显提高胚状体产生的数目。张慧英^[24]等发现杂种花药愈伤组织诱导率和绿苗分化率高。王子霞^[29]等研究发现玉米培养基最好, 活性炭有利于玉米花药培养。文仁来^[29]等研究发现在接种后 10 d 添加秋水仙碱, 愈伤组织诱导率最高。对于玉米组织的花粉和花药培养, 研究人员做了较为细致的研究, 结果表明, 花药和花粉培养较为容易产生新品种。

3 展望

组织培养技术正日趋成熟, 其发挥的作用也越来越明显。玉米组织培养的研究有利于种质资源的拓宽和新品种的诞生, 能够缩短传统遗传育种的周期, 并能促进生产力的提高。综上所述, 可以从三个方面促进发展: 一、搞好玉米后期再生植株的培育工作, 使其有利性状能够稳定遗传, 提高生产力的转化水平; 二、加强玉米种子组织培养的细致研究, 选择更为有效的培养基配方, 提高组织培养的成功率; 三、增强植物组织培养在种子培育和供应中的作用, 为育种领域提供新的育种材料。

参考文献:

[1] 杜勤, 竺莉红, 梁海曼. 无外源激素条件下液体和固体培养基对黄瓜子叶培养器官分化不同影响[J]. 生物技术, 1996 6(1): 17-19.
[2] 陆卫, 贾敬芬. 盐胁迫下外源 ABA 对谷子耐盐愈伤组织生理生化特性的影响[J]. 植物生理学报, 1997, 23(1): 61-66.

[3] 李玲. 百草枯和苯甲酸钠对渗透胁迫下抗旱性不同玉米品种愈伤组织的影响[J]. 植物生理学报, 1998 24(4): 405-412.
[4] 汪国平, 吴定华, 曾宪铭. 番茄愈伤组织对青枯病菌及其培养滤液的抗性研究[J]. 华南农业大学学报, 1998 19(1): 54-57.
[5] 陈学森, 张艳敏, 董会. 植酸在银杏组织培养中应用的研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 9(2): 24-27.
[6] 吴若菁, 尤华明, 彭东辉. 香石竹组培苗玻璃化控制的研究[J]. 福建林学院学报, 1995, 15(4): 360-363.
[7] 周朝鸿. 三种百合属植物再生植株的染色体数量变异[J]. 林业科学研究, 1997, 10(6): 663-667.
[8] Greeno Phillips. Plant regeneration from tissue cultures of maize [J]. Crop Science, 1975 15: 417-421.
[9] Zhong H, Srinivasan C, Mariam B S. In vitro morphogenesis of corn (Zea mays L.) I [J]. Differentiation of Multiple Shoot Tip Plants, 1992, 187: 483-489.
[10] 李学红, 苏玲, 张举仁. 玉米芽尖培养和丛生芽发生[J]. 山东大学学报(自然科学版), 1997 32(4): 461-465.
[11] Hodgstock, Kamokk. Genotype specificity of somatic embryogenesis and regeneration in maize [J]. Bio. Technology, 1986, 4 219-224.
[12] 郑乐娅, 黄忠祥, 吴家道. 玉米雌穗穗培养再生植株变异性的遗传-再生植株 R₁ 性状变异[J]. 安徽农业科学, 1991(3): 219-222.
[13] 李明军, 张嘉宝, 杨建伟. 青饲玉米幼胚的组织培养及其再生植株的开花结实[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 1995, 23(2): 69-73.
[14] 郭丽红, 陈善娜, 龚明. 植物生长调节物质对玉米根尖愈伤组织培养的影响[J]. 昆明师范高等专科学校学报, 2002, 24(4): 24-26.
[15] 付迎军, 任海洋, 白艳凤, 等. 玉米未授粉子房离体培养及植株再生[J]. 玉米科学, 2005, 13(1): 33-35, 38.
[16] 付凤玲, 李晚忱, 荣廷昭. N₆ 培养基添加钙和烯效唑对玉米幼胚培养的作用[J]. 作物学报, 2005, 15(3): 634-639.
[17] 胡彦民, 赵锦慧, 汤继华, 等. 玉米幼胚离体培养幼苗分化的影响因素研究[J]. 河南农业大学学报, 2003, 37(4): 326-330.
[18] 张一, 段留生, 翟志席, 等. 玉米离体根尖的多层滤纸床液体静止培养方法[J]. 西北植物学报, 2001, 21(6): 1188-1193.
[19] 刘世强, 尹庆良, 张欣, 等. 玉米愈伤组织的诱导、分化及细胞分离培养[J]. 辽宁农业科学, 1992(2): 22-27.
[20] 李学红, 李东玲. 玉米芽尖培养中的高频率体细胞胚胎发生与植株再生[J]. 植物生理学通报, 2000(4): 430-433.
[21] 叶珍, 胡延玉. 玉米离体花药培养的细胞学和组织学观察[J]. 四川农业大学学报, 2000 18(2): 145-147.
[22] 徐龙珠, 李效宇, 张根发. 玉米幼穗离体培养体细胞胚高频发生的研究[J]. 大学学报(自然科学版), 1999(6): 1125-1129.
[23] 朱海山. 灭菌方法、碳源物质及浓度对玉米花药培养的影响[J]. 云南农业大学学报, 1996, 11(1): 14-19.
[24] 张慧英, 韦家川, 郑比兰. 提高玉米花药培养愈伤组织诱导率的研究[J]. 广西农学院学报, 1990 9(3): 6-10.
[25] 王子霞, 杨克锐, 海热古力, 等. 玉米花药培养的初步研究[J]. 新疆农业科学, 2001, 38(6): 346-347.
[26] 文仁来, 阎飞燕, 吴翠荣, 等. 玉米花培早期添加秋水仙碱共培养的研究初报[J]. 玉米科学, 2000, 8(4): 23-24.