



ADVANCE OF BIOTECHNOLOGY ON RAMIE

苧麻生物技术 研究进展

□ 李宗道/主编



□ 湖南科学技术出版社

Advance of Biotechnology on Ramie
苧麻生物技术研究进展

主 编 / 李宗道

副主编 / 王春桃

苎麻生物技术研究进展

主 编：李宗道

责任编辑：唐乘花

出版发行：湖南科学技术出版社

社 址：长沙市展览馆路3号

印 刷：湖南省新华印刷一厂

厂 址：长沙市芙蓉北路564号

邮 码：410008

(印装质量问题请直接与本厂联系)

出版日期：1996年4月第1版第1次

开 本：850×1168毫米 1/32

印 张：10.5

字 数：274,000

印 数：1—1,000

ISBN 7-5357-2013-7/S·299

定 价：15.00元



前 言

生物技术又称生物工程 (Biotechnology), 它是一门综合性的科学技术, 也是一门迅速发展的边缘学科。它吸收并综合了近代生物学、微生物学、生物化学、分子遗传学和化学工程学等新领域的新成就, 操纵生物的基因、细胞、组织和系统, 以造福人类为目标, 为人类展现出一幅过去梦想不到的美妙前景。生物工程通常包括基因工程、细胞工程、微生物工程和酶工程四大分科。国内外有关权威专家、学者公认 21 世纪将是生物技术的世纪。它将为人类作出不可估量的贡献。

苕麻是祖国的特产和创汇作物。全世界苕麻的优势在中国, 中国的优势在湖南。我们预见到生物技术的迅速发展和巨大的潜力将对苕麻的研究产生积极的影响, 因此将十多年来本人指导下的硕士、博士研究生有关苕麻生物技术方面的毕业论文, 以及科研协作单位专家、教授们共同研究的有关这方面的论文精选编辑成册, 供读者参考, 并希望苕麻学科和生物技术方面从业者对这一新崛起的科技领域深入地探索, 共同为开拓祖国美好的未来努力奋进。

主编 李宗道

目 录

1. 苎麻育种的困难与生物技术的应用 刘国民 (1)
2. 苎麻组织培养简报 周朴华等 (5)
3. 苎麻组织培养及其在快速繁殖上的应用
..... 颜昌敬、胡继金等 (8)
4. 植物激素对苎麻试管苗生根的影响
..... 胡继金、颜昌敬等 (20)
5. 苎麻试管苗移栽技术研究 李宗道、颜昌敬等 (26)
6. 苎麻叶片组织培养的研究 赵庆华、潘昌立等 (32)
7. 苎麻试管苗未离体叶面生芽的细胞学观察
..... 胡继金 (38)
8. 苎麻花药和未授粉子房离体培养的研究
..... 刘国民等 (49)
9. 苎麻 (*Boehmeria nivea* L.) 花药离体培养的研究
 I. 雄核发育的细胞学观察 刘国民、郑思乡等 (60)
10. 苎麻原生质体培养再生植株的研究 陈喜文 (73)
11. 苎麻原生质体培养及植株再生 陈喜文等 (109)
12. 苎麻子叶原生质体的分离和初步培养 陈喜文等 (118)
13. 苎麻不同来源原生质体的分离和培养的比较
 研究 陈喜文等 (125)
14. 影响苎麻原生质体培养再生的主要因子研究
..... 熊兴耀、甘霖等 (132)
15. 苎麻人工种子制备技术 陈德富 (138)
16. 苎麻体细胞胚胎发生及其人工种子制备技术
 的研究 陈德富等 (170)

17. 苎麻多倍体诱导的研究 谢卓荣 (184)
18. 苎麻多倍体诱导的基础研究 董延瑜、郑思乡等 (192)
19. 苎麻倍性育种中染色体数目变化研究简报
..... 湖南农业大学苎麻倍性育种课题组 (205)
20. 苎麻多倍体及其杂交后代的细胞学观察
..... 郑思乡等 (207)
21. 组织培养在苎麻多倍体研究中的应用初报
..... 郑思乡等 (216)
22. 农作物孤雌生殖的诱导及其在育种上的应用
..... 钟爱平等 (224)
23. 苎麻诱导无融合生殖及其胚胎学初步研究
..... 钟爱平 (230)
24. 苎麻孤雌生殖后代染色体倍性的初步观察
..... 晏春耕等 (252)
25. 苎麻纯系培育和杂种优势预测的研究 熊和平等 (259)
26. 植物无融合生殖及其在苎麻育种中的应用
..... 臧巩固 (274)
27. 苎麻属无融合生殖种质资源的初步研究 臧巩固 (281)
28. 光周期钝感全雌性苎麻特征特性的初步鉴定
..... 周瑞阳 (283)
29. 苎麻染色体核型和 Giemsa C-带型及 PMC
减数分裂行为的研究 程尧楚等 (293)
30. 青叶苎麻染色体核型和 Giemsa 带型的初步
分析 肖瑞芝等 (302)
31. 苎麻属三组五种核型研究 臧巩固 (307)
32. 苎麻花粉母细胞减数分裂的观察 段映池等 (316)
33. 苎麻外源基因导入研究简报 陈德富等 (321)

Contents

1. The Difficulty of Breeding on Ramie and the Application of Biotechnology Liu Guomin (1)
2. A Brief Report on Tissue Culture of Ramie
..... Zhou Puhua et al. (5)
3. Study on Tissue Culture and Its Application for the Rapid Propagation of Ramie
..... Yan Chungjing et al. (8)
4. The Influence of Plant Hormones on Root Growth of Tissue Culture of Ramie Hu Jijin et al. (20)
5. Study on Transplant Technique of Vitro-plantlets of Ramie Li Tsongdao et al. (26)
6. Study on Leaf Culture of Ramie
..... Zhao Qinghua Pen Chengli et al. (32)
7. Cytological Observation of Bud Formation on the Leaf Surface of Test Tube Seedling of Ramie Hu Jijin (38)
8. Study of Anther Culture and Unpollinated Ovary Culture in Vitro of Ramie
..... Liu Guomin Zheng Sixiang et al. (49)
9. Study of Anther Culture in Vitro of Ramie (*Boehmeria nivea* L.)
 1. The Cytological Observation of Androgenesis
 Liu Guomin et al. (60)
10. Study of Protoplast Culture and Plant Regeneration of Ramie Chen Xiwen (73)

11. Protoplast Culture and Plant Regeneration of Ramie
..... Chen Xiwen et al. (109)
12. Isolation and Preliminary Culture of Cotyledon Protoplast of Ramie Chen Xiwen et al. (118)
13. Comparative Studies on Isolation and Culture of Different Protoplasts of Ramie Chen Xiwen et al. (125)
14. Study on the Main Factors to the Protoplast Culture and Regeneration in Ramie
..... Xiong Xingyao et al. (132)
15. Studies on Preparation Technique of Ramie Artificial Seed Chen Defu (138)
16. Studies on Somatic Embryogenesis and Preparation Technique of Artificial Seed of Ramie
..... Chen Defu et al. (170)
17. A Study on Induction of Ramie Polyploid
..... Xie Zhuorong (184)
18. Basic Studies on Induction of Ramie Polyploid
..... Dong Yanyu Zheng Sixiang et al. (192)
19. A Brief Report on the Study of Chromosome Numbers of Ploidy Breeding of Ramie
..... Section of Ploidy Breeding of Ramie, Hunan Agricultural University (205)
20. Cytological Studies on Polyploids and Its Hybrid Generation of Ramie Zheng Sixiang et al. (207)
21. The Application of Tissue Culture To the Study of Ramie Polyploid Zheng Sixiang et al. (216)
22. The Induced Apomixis of Field Crops and Its Application on Breeding Work Zhong Aiping et al. (224)
23. The Induced Apomixis of Ramie and the Primary Research of Its Embryology Zhong Aiping (230)

24. Chromosomal Ploidy Studies on Progeny of the Parthenogenetic Plants of Ramie
..... Yan Chungeng et al. (252)
25. Studies on Acquisition of Pure Lines and Forecast of Heterosis in Ramie Xiong Heping et al. (259)
26. The Induced Apomixis of Crops and its Application on Ramie Breeding Zang Gonggu (274)
27. A Preliminary Study on Apomixis of Genus *Boehmeria* Zang Gonggu (281)
28. The Preliminary Characterization of Day Neutral Gynoecious Ramie (*Boehmeria nivea* L.)
..... Zhou Ruiyang (283)
29. Studies on the Karyotype, Giemsa C-Bands and PMC Meiosis of Ramie Cheng Yaochu et al. (293)
30. A Preliminary Analysis on the Karyotype, Giemsa C-Bands of *Boehmeria nivea* var. *Tenacissima*
..... Xiao Ruizhi et al. (302)
31. A Karyological Study on Five Species in Three Sections of Genus *Boehmeria* Zang Gonggu (307)
32. Observation on the Meiosis of Pollen Mother Cell of Ramie Duan Yingchi et al. (316)
33. A Preliminary Report on Induction of Exogenous Genes of Ramie Chen Defu et al. (321)

苧麻育种的困难与生物技术的应用

刘国民

(湖南农业大学 长沙 410128)

苧麻是最优良的韧皮纤维作物之一，苧麻纤维在纺织工业等方面有着广泛的用途。我国苧麻产业经过1987年以来一段时期内的低谷徘徊之后，近来又渐现回升势头。由于世界苧麻纺织品市场的扩大，生产上需要有计划地扩大种植面积，故迫切需要各种适应不同应用目的和栽培条件的苧麻品种，例如高产、优质、抗病虫害、抗旱、抗寒、抗风、抗涝等不同类型的品种。但目前通过传统的杂交育种方法选出一个优良品种至少需要10年时间，因为苧麻是一种多年生作物，而且目前生产上应用的品种和其他育种材料都是杂合体，遗传背景非常复杂。实践证明，如采用两个杂合体苧麻亲本进行杂交，要从杂种后代中选出一个可在生产上推广应用的品种往往需要数年甚至数十年时间；如试图将某一苧麻品种连续自交以获得纯系，则往往随着自交代数的增加，自交后代的生长势明显衰退，或者高度不育，甚至某些基因型的自交后代不能正常地在自然条件下完成生活史周期。育种周期太长是目前苧麻育种实践中的一大难题。由于这一原因，近年来世界上新选育出来的优良苧麻品种寥寥无几。这与苧麻产业的迫切需求是极不相称的。为了扭转这一局面，可以考虑应用以下现代生物技术手段：

一、单倍体育种

单倍体育种在其他作物中已成为一种比较常用的手段，而在

苧麻方面则尚属起步阶段。采用单倍体育种方法至少有两大优点：一是可以大大缩短育种周期，因为即使是杂合体起源的单倍体，加倍后立即变成纯合体。二是隐性基因纯合化后可以直接表达，故有利于提高选择效率。从理论上讲，将苧麻的花药（或游离花粉粒）和未授粉子房进行离体培养，或用适当药物处理未授粉子房使之进行无融合生殖，或通过筛选双胚苗（其中一株往往是单倍体），均可获得单倍体植株，然后通过染色体加倍即可获得各种各样的二倍体纯系。在此基础上，一方面，通过对纯系进行选择，可望选育出理想的纯合品种以克服目前苧麻种子繁殖中普遍存在的性状分离问题；另一方面，经过配合力测定筛选出理想的杂交组合，然后用 F_1 代杂交种子繁殖以利用杂种优势。而且，在杂种后代中，通过进一步选择和品比，也可望获得高产、优质或抗性强的品种或品系。因此，单倍体育种手段不仅可使苧麻杂种优势的利用成为可能，而且可大大缩短育种周期，为苧麻育种开辟一条捷径。

二、多倍体育种

多倍体一般具有植株高大和抗逆性强等优点。但是另一方面，多倍体植株往往结实率低，种子发芽缓慢或发芽率很低。由于苧麻是以收获韧皮纤维为主要目的的作物，较低的结实率反而可能有利于提高纤维产量。而且，由于苧麻在生产上主要是实行无性繁殖，这种情况有利于保持多倍体品种的特性。

通过人工诱导苧麻多倍体植株来改良现有品种的特性也可加速苧麻育种进程，因为这有可能在相对较短的时间内为生产上提供苧麻新品种。目前国内已有几则关于成功获得苧麻多倍体植株的报道，但尚未培育出可在生产上大面积推广应用的苧麻多倍体优良品种。

在苧麻多倍体育种实践中，一般的方法是用浸有秋水仙素的羊毛脂（或脱脂棉）处理田间（或盆栽）植株主茎或腋芽的生长点，使其分生细胞的染色体加倍。然后剪下经过处理的嫩梢进行保湿生根。为了提高工效和诱发频率，也可以在组织培养室内用

秋水仙素处理试管苗或经无菌发芽而来的实生苗，然后进行染色体鉴定。一旦发现多倍体单株，即可采取切段快速繁殖以扩大群体，然后再移栽大田进一步选择。

三、幼胚培养

育种工作者在实践中发现，苧麻属中各种间的杂交是完全不孕的，即使是在栽培种 *Boehmeria nivea* 的品种间杂交中，也常有某些杂交组合表现出高度的杂交不孕现象。通过幼胚培养可望克服杂交不孕这一障碍。在其他作物中已有许多关于通过幼胚培养成功地营救远缘杂种胚的报道，但这方面的工作在苧麻方面尚属空白。此外，幼胚培养也是一种通过无性途径大量繁殖远缘杂种的方法。当远缘杂种 F_1 数量较少时，可以将幼胚诱导成愈伤组织，然后通过继代培养再分化以扩大杂种群体。这样的愈伤组织还可以用秋水仙素处理，使杂种染色体加倍再生双倍体。

四、研制人工种子

人工种子技术在生产上具有可大批生产，成本低，发芽和生长速率比较一致，体积小，运输方便，可直接播种和机械化操作等优点。前已述及，由于目前所有苧麻品种都是杂合体，故用天然种子繁殖会导致性状分离，使产量和品质严重下降。采用人工种子繁殖则不存在性状分离的问题，因为体细胞胚（或不定芽）是由无性繁殖体系产生的。因此，人工种子技术在固定苧麻杂种优势方面也具有重要意义。在苧麻育种工作中，一旦发现优良单株或突变体，就可以应用人工种子技术在室内常年加速繁殖。

人工种子技术是80年代中期才兴起的一项高新兴生物技术，但是发展很快，目前在美、日、法等国已有十几家植物遗传公司、科研机构或大学的实验室在从事这方面的研究工作。我国在这方面也是走在世界前列的，已经在水稻、芹菜、橡胶树、胡萝卜等作物的人工种子制作技术及有关的生理生化研究方面取得了重要成果。苧麻人工种子的研制目前尚处起步阶段，这项技术在不远的

将来也可能成为加速育种进程的有效手段。

五、原生质体融合

苎麻属有 50 多个种，中国有 10 余个种。但世界上大面积栽培的只有 *Boehmeria nivea* 一个种（白叶种）。此外，*B. tenacissima*（绿叶种）在南洋群岛也有小面积种植。由于种间远缘杂交不孕及栽培种某些杂交组合的杂交不孕现象的存在，传统的杂交育种方法不能将某些野生种的优良特性转育到栽培种中来，甚至连栽培种中不同育种材料所具有的某些优良性状有时也难以综合到同一品系或品种中来。

通过原生质体融合可望越过上述障碍。原生质体融合技术对于作物品种改良有以下三个方面的意义：一是可以通过体细胞杂种途径将有性不亲和物种间的基因组组合到一起；二是通过自发的染色体丢失或人工辐射，将供体基因组的一部分有益基因引入到另一基因组中，产生不对称杂种（Asymmertric hybrid）；三是可经原生质体融合技术实现细胞器的融合与重组。因此，原生质体融合技术在远缘杂交育种、抗性育种及杂种优势的利用等方面具有诱人的潜在价值。目前已有数十例通过原生质体融合技术成功地获得杂种植株的报道，主要集中在十字花科、伞形花科及茄科植物之间或科内。在方法上，最初是采用 NaNO_3 法使原生质体融合，以后用高 Ca^{2+} —高 pH 法、PEG 法以及最近的电融合法，融合效率不断提高。我国最近也开始着手苎麻原生质体培养和体细胞杂交方面的研究。如获成功，无疑将有助于加速苎麻育种进程。

生物技术在苎麻育种方面的应用前景是非常广阔的。除上面所提到的五个方面以外，还有一些生物技术手段，如试管小苗繁殖、体细胞无性系变异与离体筛选，乃至植物基因工程等，均可直接或间接地应用到苎麻育种上来。育种单位可以根据实验条件、育种目标及生产需要加以选择应用。总之，在苎麻育种方面，传统的杂交育种方法育种周期太长，为加速培育出更多优良苎麻品种以满足生产上的急需，就必须借助生物技术手段。

苧麻组织培养简报

周朴华 李宗道 徐桥生

(湖南农业大学 长沙 410128)

为了加速繁殖苧麻育种优良材料,1979年春夏季我们对苧麻的侧芽、地上茎切段、地下茎切段、叶片等分别进行组织培养,摸索植物激素对苧麻愈伤组织诱导以及愈伤组织分化的影响,目前得到大量愈伤组织;愈伤组织分化了根,但未分化出芽。在培养中侧芽能生长,其基部长出愈伤组织,并分化出大量的根。

材料为苧麻品种“白脚麻”,取其侧芽、地上茎段、地下茎段、叶片,先在75%酒精中浸30秒,再转入0.1%氯化汞溶液消毒10分钟,在无菌箱内用无菌水冲洗4~5次,分别接种在White、MS等多种培养基上,培养基补加2,4-D、IAA、NAA、6-BA、KT等生长素与激动素类诱导愈伤组织及其芽的再生,兹将试验结果简报如下:

一、茎切段培养

无论地上茎、地下茎切段对激素的作用都十分敏感,而对基本培养基的选择是不严格的。1厘米左右茎切段在附加2,4-D、NAA、IAA、6-BA、KT等激素的多种培养基上,愈伤组织虽然能大量形成,但不同处理还是有较大差异(见表)。尤其在附加2ppm 2,4-D的培养基上愈伤组织两天就大量形成,增长速度很快,在附加2ppm 6-BA的培养基上愈伤组织增长速度虽较慢,但较致密。在培养基中同时附加1ppm 2,4-D、1ppm KT的激素,明

显地抑制了苧麻地上茎和地下茎切段愈伤组织形成。在无激素培养基上能大量形成愈伤组织，增长速度也比较快，这表明苧麻茎切段所具有的内源激素水平足以保证其脱分化而产生愈伤组织。苧麻茎切段所形成的愈伤组织继代或不继代培养均能分化出根来。我们推测愈伤组织在新陈代谢过程中可能产生有毒物质抑制芽的形成，因而在培养基中加入1%活性碳，至今仍未分化出芽。

表 不同激素对苧麻离体茎段*形成愈伤组织的影响

组别	处 理	接种数 (块)	形成愈伤 组织数 (块)	愈伤组织 生长状况	愈伤组 织颜色	愈伤组 织质量
1	2ppm2,4-D	30	30	++++	黄 白	疏松、 小瘤状
2	1ppm2,4-D + 1ppm KT	32	—			疏
3	无激素	27	25	++	淡黄白	疏松
4	2ppm KT	31	31	+++	绿	致密
5	2ppm6-BA	37	37	++	绿	致密

* 基本培养基：MS；KT：激动素；6-BA：6 苄基腺嘌呤

地下茎切段本身具有芽，在6-BA、KT激素的影响下有利于芽的生长，因而将地下茎切成1厘米左右长带芽的小段（或茎切段纵剖开）培养基能加速苧麻繁殖，而关键问题是接种材料表面消毒。2,4-D、NAA、IAA各2ppm不利于芽的生长，不定根无论在生长素或激素的条件下生长都较快。

二、侧芽培养

将叶腋中的侧芽无菌取下接种在附加6-BA、KT的MS基本培养基上，1~2周后相继发出绿叶，而且侧芽基部很容易形成愈

伤组织，愈伤组织也容易分化出根，问题是侧芽茸毛多，很难消毒彻底，感染十分严重。

三、叶的培养

烟草等植物通过叶的培养诱导出植株已取得成功经验。叶片数量多，取材方便。我们接种了 2×2 厘米的叶片小块，观察到叶脉切口端容易形成愈伤组织，但苧麻叶片背面白色茸毛厚而密，消毒困难，感染严重。

通过苧麻植株各部分组织的培养使我们认识到尽管苧麻一般用地下茎进行无性繁殖，根、芽十分容易形成，但愈伤组织再生出芽比较困难。我们初步认为苧麻愈伤组织增殖速度快不利于芽的分化，也可能愈伤组织在形成和增殖过程中产生某些物质抑制了芽的形成，这些都需要进一步研究。

苎麻组织培养及其在快速繁殖上的应用

颜昌敬 赵庆华

(上海市农业科学院作物育种栽培研究所 上海 200026)

胡继金 周朴华 范鸿芝 李宗道 潘昌立 王春桃

(湖南农业大学 长沙 410128)

苎麻是我国的特产和重要的纺织纤维作物, 占世界总产量的80%左右。目前, 国内当家品种多属杂种一代^[1], 用种子繁殖必然会发生性状分离、变异, 严重影响纤维品质和产量。在生产上可长期利用无性繁殖来保持品种纯度和良种特性, 但繁殖系数太低, 远不能满足目前全国纷纷建立苎麻纺织原料基地、实行品种区域化的需要。所以, 我们从1979年起开展了用组织培养法快速繁殖苎麻良种的研究^[2], 不仅从苎麻茎、叶诱导出愈伤组织和分化成苗, 并且从茎叶和腋芽直接成苗, 快速增殖。同时, 我们继1979年获得腋芽苗后, 又研究了通过腋芽快速增殖法建立苎麻无性系和繁殖利用的程序^[3], 以及植物激素对试管苗生根的影响和试管苗移栽技术^[4]。

一、苎麻组织培养和快速繁殖程序

1. 材料和方法

试验材料是苎麻 (*Boehmeria nivea* L.) “黄壳早”品种。直接从大田取材料, 要把地下茎、茎和叶上的尘、泥洗净, 在70%~95%酒精中浸洗约30秒钟, 再在1.6%有效氯的漂白精溶液中消

本文原载中国农业科学1982年第2期。