



高职高专规划教材

◎农林与生物系列◎

植物组织培养技术

ZHIWU ZUZHI PEIYANG JISHU 汪本勤 朱志国◎主 编



北京师范大学出版集团
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP
安徽大学出版社

高职高专规划教材

◎农林与生物系列◎

植物组织培养技术

主 编 汪本勤 朱志国

副主编 韩亚超 方宇鹏

编 者 陈长征 涂清芳

朱秀蕾 汪忠浩



北京师范大学出版集团
BEIJING NORMAL UNIVERSITY PUBLISHING GROUP
安徽大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养技术/汪本勤,朱志国主编. —合肥:安徽大学出版社,2013.7

高职高专规划教材. 农林与生物系列

ISBN 978-7-5664-0622-4

I. ①植… II. ①汪… ②朱… III. ①植物组织—组织培养—高等职业教育—教材
IV. ①Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 139937 号

植物组织培养技术

汪本勤 朱志国 主编

出版发行:北京师范大学出版集团

安徽大学出版社

(安徽省合肥市肥西路3号 邮编 230039)

www.bnupg.com.cn

www.ahupress.com.cn

印刷:安徽省人民印刷有限公司

经销:全国新华书店

开本:184mm×260mm

印张:10.75

字数:234千字

版次:2013年7月第1版

印次:2013年7月第1次印刷

定价:22.00元

ISBN 978-7-5664-0622-4

策划编辑:李梅 武溪溪

责任编辑:武溪溪

责任校对:程中业

装帧设计:李军

美术编辑:李军

责任印制:赵明炎

版权所有 侵权必究

反盗版、侵权举报电话:0551-65106311

外埠邮购电话:0551-65107716

本书如有印装质量问题,请与印制管理部联系调换。

印制管理部电话:0551-65106311

前言

植物组织培养是现代生物技术的重要组成部分,是一门专业性、实践性很强的技术,在现代农林业生产和科研上具有广泛的应用,如植物种质资源保存、种质资源创新、花卉苗木快速繁殖、脱毒苗的繁育、植物次生代谢产物的生产等。“植物组织培养”作为技术含量高、应用价值好的现代生物技术课程,对高职农林和生物类专业建设,对学生实践能力、创新能力和创业能力的培养,对产学研结合以及为农业生产和地方经济建设服务具有重要的现实意义。近年来,植物组织培养(简称“组培”)企业如雨后春笋般发展起来,试管苗在国内外市场上已形成产业化,目前需要大量的组培技术人才。2010年,国家职业院校技能大赛中也开设了“植物组织培养”竞赛项目。因此,许多院校的农林和生物类专业都开设了“植物组织培养技术”这门课程。

为更好地服务于高职高专教学,我们组织了多位长期工作在植物组培教学一线的教师编写了这本项目化教材。本书的特点是:按照高等职业教育办学指导方针和高职高专人才培养目标及规格的要求,以“必需够用”为度,基于工作过程开发教学项目,以项目化形式构建教学内容体系;每个项目包括学习目标、知识传递、技能训练和项目测试,条理清晰,理论与实践一体化;力求语言简洁,通俗易懂,内容系统,材料丰富,可以满足不同学校 and 不同学习者的自主选择;注重实用性,体现最新的教科研成果。

本书内容包括4个模块共13个项目。其中项目一属于导论部分。项目二至项目七属于基础技能模块,是基于工作过程开发的6个项目,是进行植物组织培养必须具备的基本知识和技能。项目八至项目十二是技能拓展模块,属于要求较高的知识,可供不同层次的学习者选择使用。项目十三属于实际应用模块,列举了常见又具有较高应用价值的花卉类、树木类、药用植物类、果蔬类等20多种植物的组织培养技术,可供不同专业方向的学习者选择使用。

在教材编写过程中,我们参阅了大量书籍和文献资料,在此对其著作者表示诚挚的谢意!由于时间仓促,书中难免存在错误和不妥之处,恳请使用者批评指正。

编者

2013年4月

项目一 植物组织培养概述	(1)
学习目标	(1)
知识传递	(1)
1. 植物组织培养的基本概念	(1)
2. 植物组织培养原理	(3)
3. 植物组织培养技术的发展	(4)
4. 植物组织培养技术的应用	(7)
5. 植物组织培养的一般工作流程	(9)
项目测试	(11)
项目二 组织培养实验室和组织培养工厂的设计与管理	(12)
学习目标	(12)
知识传递	(12)
1. 实验室选址	(12)
2. 实验室布局	(12)
3. 实验室组成与功能	(13)
4. 仪器设备、器皿和器械用具	(16)
5. 器皿洗涤	(22)
技能训练	(23)
实训1 参观学校植物组织培养实验室(或组织培养工厂)	(23)
实训2 器皿的洗涤和环境消毒	(24)
项目测试	(25)
项目三 培养基及其配制	(26)
学习目标	(26)
知识传递	(26)



1. 培养基	(26)
2. 培养基的配制和灭菌	(30)
技能训练	(32)
实训 1 MS 培养基母液的配制与保存	(32)
实训 2 MS 固体培养基的配制	(34)
实训 3 灭菌技术	(36)
项目测试	(38)
 项目四 无菌操作技术与接种	 (39)
学习目标	(39)
知识传递	(39)
1. 灭菌和消毒	(39)
2. 外植体的选择	(41)
3. 外植体的消毒	(42)
4. 初代接种操作技术	(44)
技能训练	(45)
实训 1 常用消毒剂的配制	(45)
实训 2 无菌接种	(46)
项目测试	(47)
 项目五 试管苗的培养	 (48)
学习目标	(48)
知识传递	(48)
1. 培养条件	(48)
2. 初代培养	(49)
3. 继代培养	(50)
4. 生根培养	(52)
5. 组织培养过程中的异常现象及解决办法	(54)
技能训练	(57)
实训 1 菊花的茎段培养	(57)
实训 2 石斛兰的种子培养繁殖技术	(58)
实训 3 试管苗培养过程的管理	(59)
项目测试	(59)
 项目六 试管苗的驯化与移栽	 (61)
学习目标	(61)



知识传递	(61)
1. 试管苗的驯化	(61)
2. 试管苗的移栽	(62)
技能训练	(64)
实训 试管苗的驯化与移栽	(64)
项目测试	(66)
 项目七 最佳培养方案的筛选	(67)
学习目标	(67)
知识传递	(67)
1. 最佳培养方案的筛选	(67)
2. 最佳培养方案的筛选方法	(69)
技能训练	(70)
实训 菊花组培快繁最佳培养方案的筛选	(70)
项目测试	(71)
 项目八 无病毒苗的培养技术	(72)
学习目标	(72)
知识传递	(72)
1. 无病毒苗培养的意义	(72)
2. 无病毒种苗的生产原理	(73)
3. 茎尖培养脱毒技术	(74)
4. 脱毒植物移栽	(76)
5. 无病毒植株的鉴定、繁殖和利用	(76)
技能训练	(78)
实训 1 马铃薯茎尖培养	(78)
实训 2 马铃薯脱毒苗的鉴定	(80)
项目测试	(81)
 项目九 花药和花粉培养技术	(82)
学习目标	(82)
知识传递	(82)
1. 花药培养与单倍体育种	(82)
2. 花药培养技术	(83)
3. 单倍体植株的二倍化	(86)



技能训练	(87)
实训 小麦花药培养技术	(87)
项目测试	(88)
项目十 细胞培养技术	(89)
学习目标	(89)
知识传递	(89)
1. 单细胞的分离	(89)
2. 细胞悬浮培养	(91)
3. 单细胞培养	(93)
技能训练	(98)
实训 植物细胞的分离和悬浮培养	(98)
项目测试	(100)
项目十一 原生质体培养技术	(101)
学习目标	(101)
知识传递	(101)
1. 原生质体培养	(101)
2. 原生质体融合	(106)
技能训练	(109)
实训 烟草原生质体培养	(109)
项目测试	(111)
项目十二 植物种质资源离体保存	(112)
学习目标	(112)
知识传递	(112)
1. 常温保存	(112)
2. 低温保存	(113)
3. 超低温保存	(114)
技能训练	(117)
实训 豌豆茎尖分生组织的超低温保存	(117)
项目测试	(118)
项目十三 植物组织培养实例	(120)
花卉类	(120)

1. 蝴蝶兰	(120)
2. 大花蕙兰	(122)
3. 非洲菊	(124)
4. 红掌	(125)
5. 凤梨	(126)
6. 百合	(127)
树木类	(129)
7. 杨树	(129)
8. 桉树	(130)
9. 樱花	(131)
10. 红叶石楠	(133)
11. 美国红栎	(134)
药用植物类	(135)
12. 金线莲	(135)
13. 红豆杉	(136)
14. 银杏	(137)
15. 贝母	(138)
16. 太子参	(139)
果蔬类	(140)
17. 马铃薯	(140)
18. 草莓	(142)
19. 苹果	(145)
20. 香蕉	(148)
21. 柑橘	(150)
22. 葡萄	(153)
附录	(155)
1. 常用英文缩写及词义	(155)
2. 几种常用基本培养基成分表	(156)
3. 生长调节剂摩尔质量与浓度	(157)
4. 乙醇和稀酸、稀碱的配制	(157)
5. 培养物的异常表现、症状产生原因及改进措施	(157)
主要参考文献	(159)

学习目标

- (1)掌握植物组织培养的基本概念和原理;
- (2)了解植物组织培养技术的发展历程;
- (3)明确植物组织培养技术在生产和科学研究上的应用及工作流程。

知识传递

1. 植物组织培养的基本概念

1.1 植物组织培养的概念

植物组织培养是指在无菌和人工控制的环境条件下,在人工配制的培养基上,将植物体的一部分(器官、组织、细胞或原生质体)进行离体培养,使其发育成完整植株的过程。由于组织培养是在脱离植物母体的条件下进行的,所以也称作离体培养。

植物组织培养的广义概念是指对植物的器官、组织、细胞及原生质体进行离体培养的技术;其狭义概念是指对植物的组织(如分生组织、表皮组织、薄壁组织等)及培养产生的愈伤组织进行培养的技术。从活体植株上切取下来用于进行培养的部分,如根、茎、叶、花、果以及它们的组织切片和细胞等,叫作外植体。

1.2 植物组织培养的特点

植物组织培养是 20 世纪发展起来的一门新技术。特别是近 30 多年来,由于基础理论研究的深入,组织培养技术的发展更为迅速,应用范围也越来越广,以植物为研究对象的各个分支学科几乎都在使用组织培养技术。植物组织培养之所以发展的如此快速、应用的如此广泛,是由于其具备以下几个特点。



(1) 培养条件可以人为控制

组织培养采用的植物材料完全是在人为提供的培养基和小气候环境条件下进行生长。培养基中包含了植物生长所需的水分、大量元素、微量元素、有机物和植物激素；培养基的pH和渗透压也是人为设定的；培养过程中摆脱了大自然中四季、昼夜的变化以及灾害性气候带来的不利影响，且培养条件均一，对植物生长极为有利，便于稳定地进行周年培养生产。

(2) 生长周期短，繁殖率高

由于植物组织培养可人为地控制培养条件，根据不同植物、不同部位的要求而提供不同的培养条件，因此植株生长快，往往1~2个月即为1个周期。虽然植物组织培养需要一定的设备及能源，但植物材料能按几何级数繁殖生产，故总体来看成本低廉，且能及时提供规格一致的优质种苗或脱病毒种苗。

(3) 管理方便，利于工厂化生产和自动化控制

植物组织培养是在一定的场所和环境条件下，人为提供一定的温度、光照、湿度、营养、激素等条件，既利于高度集约化的高密度工厂化生产，也利于自动化控制生产。与盆栽、田间栽培等相比，省去了中耕除草、浇水施肥、防治病虫害等一系列繁杂工作，可以大大节省人力、物力及田间种植所需要的土地。

1.3 植物组织培养的类型

根据外植体的来源和培养对象，植物组织培养可分为组织培养、器官培养、胚胎培养、细胞培养和原生质体培养等。

(1) 组织培养

对植物体的各部分组织进行离体培养的方法称为组织培养，植物体的组织包括茎尖分生组织、形成层、木质部、韧皮部、表皮组织、胚乳组织和薄壁组织等；组织培养也可以指对由植物器官培养产生的愈伤组织进行培养。植物组织和愈伤组织均能通过再分化诱导形成植株。

(2) 器官培养

对植物各种器官及器官原基进行立体培养的方法称为器官培养。根据植物种类和培养用途的不同，离体器官培养可以用于分离茎尖、茎段、根尖、叶片、叶原基、子叶、花瓣、雄蕊、雌蕊、胚珠、胚、子房、果实等外植体。

(3) 胚胎培养

对植物的成熟胚、未成熟胚以及胚器官进行离体培养的方法称为胚胎培养。胚胎培养所用的材料有幼胚、成熟胚、胚乳、胚珠、子房等。

(4) 细胞培养

对由愈伤组织等进行液体振荡培养所得到的能保持较好分散性的离体单细胞、花粉单细胞或很小的细胞团进行培养的方法称为细胞培养。细胞培养时常用的细胞有性细胞、叶肉细胞、根尖细胞、韧皮部细胞等。

(5) 原生质体培养

用酶或物理方法除去细胞壁，对植物的原生质体进行培养的方法称为原生质体培养。



2. 植物组织培养原理

2.1 植物细胞的全能性

植物组织培养是根据植物细胞具有全能性的理论基础发展起来的一项新技术。植物细胞全能性是指任何具有完整细胞核的植物细胞,都拥有形成一个完整植株所必需的全部遗传信息,这些遗传信息在适宜的环境条件下都具有形成完整植株的能力。

植物在生长发育的过程中,从一粒种子(受精细胞)能产生形态和结构完整的植株。在植株上,某器官的体细胞表现出一定的形态,具有一定的功能,这是由于它们受到器官和组织所在环境的束缚,但其遗传力仍潜伏存在。体细胞一旦脱离原来所在的器官或组织,处于离体状态时,在一定营养、激素和环境条件的诱导下,就能表现出全能性,生长发育成完整的植株。一个已分化的细胞要表现它的全能性,必须经历脱分化和再分化两个过程。

2.2 细胞分化、脱分化与再分化

在植物生长发育过程中,往往通过幼嫩原始生长点细胞的生长、分裂、分化或脱分化和再分化过程形成完整的植株,经过开花结果完成它的生活史。

(1) 细胞分化

只要植物细胞具有一个完整的膜系统和一个具有生命力的细胞核,即使是已经高度成熟和分化的细胞,也还保持着恢复到分生状态的能力。在植物组织培养中,将离体组织或器官放在一种能促进其细胞增殖的培养基上进行离体培养时,这些离体的组织或器官就会进行细胞分裂,形成一种高度液泡化的呈无定形态的薄壁细胞,即愈伤组织。

细胞分化是指细胞在形态结构和功能上发生永久性的适度变化过程。例如一粒成熟的种子含有一个很小的胚,构成胚的所有细胞几乎都保持着未分化的状态 and 旺盛的细胞分裂能力,这些细胞的细胞质浓稠,细胞核较大,细胞与细胞之间无胞间隙,没有很明显的差异。这些细胞叫作胚性细胞、分生性细胞或未分化细胞(如茎尖、根尖分生组织)。在适宜条件下,随着种子的萌发,构成胚的所有细胞开始分裂活动,使细胞数目增加。随着时间的推进,细胞的发育发生不同变化,在形态和功能上也发生变化,有的形成了根、茎、叶的细胞,保持分裂能力;有的逐渐失去分裂能力,进入细胞分化阶段。细胞的分化主要是由细胞内的基因决定的,也就是说,分化是基因在时间和空间两个方面的差次表达的结果。

(2) 脱分化

一个已高度分化的成熟细胞转变为分生状态并形成愈伤组织的过程称为脱分化。在这个过程中,一个已经失去了分裂能力、处于分化成熟和分裂静止状态的细胞置于特定的增殖培养基上时,首先发生的变化是回复到分化性状态,这一状态包括因溶酶体的活动而降解将失去功能的细胞质组分,并产生新的细胞组分(即细胞器的解体与重建)。同时,细胞内酶的

种类与活性发生改变,细胞的性质和状态发生了扭转,转入分生阶段,恢复原有的分裂能力。

(3)再分化

将脱分化形成的无定形的愈伤组织转移到分化培养基上进行培养,愈伤组织又会重新分化出根、茎、叶,从而长成完整植株,这个过程称为再分化。

一个分化的细胞要表达出基因全能性,就要经过脱分化和再分化的过程,这也是植物组织和细胞培养所要达到的目的。设计培养基和创造培养条件的主要原则是要促进植物组织和细胞完成脱分化和再分化,培养的主要工作是设计和筛选培养基,探讨和建立合适的培养条件。在植物的生长发育过程中,已充分证实植物激素在调节细胞脱分化和再分化中起主要作用。植物对激素的反应十分敏感,培养基中生长素类和细胞分裂素类的种类、相对比例和绝对量都直接影响细胞的脱分化和再分化过程。因此,组织培养中常常通过调节激素的种类、浓度和相对比例来达到调节脱分化和再分化的目的。

2.3 器官发生和胚状体发生

植物的组织与细胞经过脱分化和再分化再生出新植株的过程中,特别是经过再分化时,通常经过两条途径:一是由愈伤组织的部分细胞先分化产生芽(或根),再在另一种培养基上产生根(或芽),然后形成一个完整的植株。芽和根都是植物的器官,因此这个过程叫作器官发生途径。另一个是在愈伤组织中产生出一些与种子中的胚相似的结构,即同时形成一个有苗端和根端的双极性结构,然后再在另一种培养基上同时发育成带有根的苗。这个过程由于与种子中胚的形成和种子萌发时形成幼苗的过程相似,所以叫作胚状体发生或无性胚胎发生(无性系)。人工种子的制作方法就是以这种组织为基础。

在组织培养条件下,再生成植株的形态发生过程,有器官发生和胚状体发生 2 种途径。不同种类的植物对培养的要求不同,有时同一种植物或在同一条件下,两种发生途径均有可能产生。其过程如图 1-1 所示。

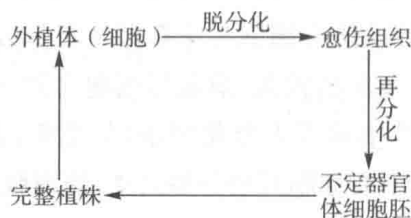


图 1-1 植物组织培养过程

3. 植物组织培养技术的发展

植物组织培养的研究起始于 1902 年德国植物生理学家 Haberlandt,至今已有 100 多年的历史。其发展过程大致分为以下 3 个阶段。

3.1 萌芽阶段(20 世纪初至 20 世纪 30 年代)

20 世纪初,在 Schleiden 和 Schwann 发展起来的细胞学说的推动下,1902 年德国植物学家 Haberlandt 提出了高等植物的器官和组织可以不断分割,直至分到单个细胞的观点,并设想离体细胞具有再生完整植株的潜力。他首次发表了《植物离体细胞培养实验》。1922 年,Haberlandt 的学生 Kotte 和美国的 Robbins 在根尖培养中获得了成功,所培养的根能在培养基中生长很长一段时间,并能进行继代培养。

3.2 奠基阶段(20 世纪 30 年代末至 20 世纪 50 年代末)

自 Haberlandt 的实验之后直到 1934 年,美国的 White 用番茄根建立了第一个活跃生长的无性繁殖系,并反复转移到新鲜培养基中进行继代培养,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 1600 代仍能生长。利用这些根系培养物,人们有效地研究了光照、温度、通气、pH、培养基组成等各种培养条件对根生长的影响,为以后的棉花等组织培养技术的成熟奠定了基础。1937 年,第一个组织培养的综合培养基建立起来,其成分均为已知化合物,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。与此同时,Gautheret 在研究山毛柳和黑杨等形成层组织的培养中发现,在含有葡萄糖和盐酸半胱氨酸的诺普溶液中,这些组织虽然可以不断地增殖几个月,但只有在培养基中加入 B 族维生素和生长素吲哚乙酸(IAA)以后,山毛柳形成层组织才能显著地生长。这些实验揭示了 B 族维生素和生长素对组织培养的重要意义。1939 年,连续培养胡萝卜根形成层首次获得成功。同年,White 用烟草种间杂种的瘤组织、Nobecourt 用胡萝卜分别建立了与上述类似的连续生长的组织培养物。因此,Gautheret、White 和 Nobecourt 被誉为组织培养的奠基人。我们现在所用的培养方法和培养基,基本上都是在这三位科学家所建立的方法和培养基的基础上演变而来的。后来,White 于 1943 年出版了《植物组织培养手册》,从而使植物组织培养成为一门新兴的学科。

20 世纪 40 年代至 50 年代初期,活跃在植物组织培养领域的研究者以 Skoog 为代表,研究的主要内容是利用嘌呤类物质处理烟草髓愈伤组织的生长和芽的形成。Skoog(1944)和崔微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,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。当这一比例较高时,产生芽;这一比例较低时,则形成根;这一比例相等时则不分化。这些实验结果促进了激动素的发现和以后利用激动素和生长素在组织培养中控制器官分化工作的开展。

在寻找促进细胞分裂物质的过程中,1955 年,Miller 等从鲱鱼精子 DNA 中分离到一种首次为人所知的细胞分裂素,并把它定名为激动素。不久便发现激动素可以代替腺嘌呤促进发芽,并且效果可增加 30000 倍。现在,具有和激动素类似活性的合成的和天然的化合物已有多种,它们总称为细胞分裂素。应用这类物质,就有可能诱导已经成熟和高度分化的组



织细胞进行分裂。最后使上述控制器官分化的腺嘌呤与生长素的比例关系变为激动素与生长素的比例关系。这方面的成功发现,有力地推动了植物组织培养技术的发展。

3.3 快速发展和应用阶段(20 世纪 60 年代至今)

20 世纪 60 年代以后,植物细胞培养进入了迅速发展时期,有关研究工作更加深入和扎实,并开始走向大规模的应用阶段。

(1)原生质体培养取得重大突破

1960 年,Cocking 等用真菌纤维素酶分离植物原生质体获得成功,使人们对原生质体的培养产生了极大兴趣。1971 年,Takebe 等首次用烟草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也具有全能性,而且在实践上为外源基因的导入提供了理想的受体材料。20 世纪 80 年代中期以来,对禾谷类作物的原生质体培养也相继获得成功,中国学者在这方面做出了重要贡献。

(2)细胞融合技术应运而生

原生质体培养的成功也促进了体细胞融合技术的发展。1972 年,Carlson 等通过两个烟草物种之间原生质体的融合获得了第一个体细胞杂种。1978 年,Melchers 等获得了马铃薯和番茄的体细胞杂种。以后在有性亲合及有性不亲合的亲本之间,不同研究者又获得了一些其他的体细胞杂种。在这方面,高国楠等建立的用聚乙二醇(PEG)促进细胞融合的方法得到了广泛的应用。

(3)花药离体培养取得显著成功

1964 年,印度 Guha 等成功地在曼陀罗花药培养中由花粉诱导得到单倍体植株,这促进了对花药和花粉培养的研究。以后在烟草、水稻、小麦、玉米、番茄、辣椒、草莓、苹果等多种植物中相继获得成功,其中烟草、水稻和小麦等的花药育种培养在中国取得了引人注目的成就。

(4)离体快速繁殖和脱毒技术得到广泛应用

1960 年,Motel 提出了一个离体无性繁殖兰花的方法,其繁殖系数极高。由于这种方法有很大的应用价值,兰花生产者很快采用该方法并迅速建立起兰花培育工业。进入 20 世纪 70 年代,用这种方法繁殖的兰花已达到至少 35 属 150 余种。除兰花外,在其他很多观赏植物和经济作物中,离体快速繁殖(简称“快繁”)也形成了工厂化的生产规模。在以无性繁殖为主的一些重要作物中,通过茎尖脱毒培养也产生了可观的经济效益。

(5)与分子生物学联姻,产生了转基因育种技术

作为组织培养与分子生物学结合的产物,转基因育种技术在 20 世纪 70 年代中期得以诞生,从而为定向改变植物遗传性以满足人类需要开辟了一条崭新的途径,并成为当今植物遗传改良领域的研究热点。如今,转基因抗虫棉、抗虫玉米、抗除草剂大豆和抗虫油菜等已在生产中大面积推广。据 2000 年统计,全世界转基因作物种植面积已占农作物种植面积的 16%,并取得了巨大的经济效益。



在整个组织培养发展的历史中,我国学者也曾经做出多方面的贡献。除了前述的崔微的研究以外,还有 1993 年李继侗等关于玉米等植物离体根尖培养的研究,以及罗士韦等关于幼胚和茎尖培养的研究,李正理等关于离体胚中形态发生及离体茎尖培养的研究,王伏雄等关于幼胚培养的研究等,这些都是植物组织培养中各有关领域的很有价值的阶段性成就。

4. 植物组织培养技术的应用

4.1 优良种苗的快速繁殖

用组织培养的方法进行植物快速繁殖是生产上最有潜力的应用,包括花卉和观赏植物,以及蔬菜、果树、大田作物及其他经济作物。快繁技术不受季节等条件限制,生长周期短,且能使很难繁殖的植物快速增殖,加上培养材料和试管苗的小型化,可在有限的空间内培养出大量植株。因此,组织培养突出的优点是“快”,利用这项技术可以使一个植株一年内繁殖出几万到几百万个植株。如一株兰花一年可繁殖 400 万株;一株葡萄一年可以繁殖 3 万多株;草莓的一个顶芽一年可繁殖 10^8 个芽。对一些繁殖系数低、不能用种子繁殖的“名、优、特、新、奇”作物品种的繁殖更为重要。对于脱毒、新育、新引进、稀缺、优良单株、濒危等植物可以通过离体快繁技术,以比常规方法快数万倍甚至数百万倍的速度进行扩大增殖,及时提供大量的优质种苗。

4.2 无病毒苗的培养

几乎所有植物都遭受到病毒病不同程度的危害,有的种类甚至同时受到数种病毒病的危害,尤其是很多靠无性繁殖的园艺植物,若感染病毒病,则代代相传,越染越重。自从 Morel(1952 年)发现采用微茎尖培养的方法可得到无病毒苗后,脱毒工作引起了人们的高度重视。实验证明,感病植株并非每个部位都带有病毒,其茎尖生长点等尚未分化成维管束的部分,可能不带病毒或带病毒极少。若利用组织培养(简称“组培”)技术进行茎尖分生组织培养,再生的植株有可能不带病毒。经鉴定后,利用脱毒苗进行组培快繁,所得到的组培苗就不会或极少发生病毒病,从而获得脱毒苗。组织培养无病毒苗的方法已在很多作物的常规生产上得到应用,如马铃薯、甘薯、草莓、苹果、香石竹、菊花等。已有不少地区建立了无病毒苗的生产中心,对于无病毒苗的培养、鉴定、繁殖、保存、利用和研究形成了一个规范的系统程序,从而保持了园艺植物的优良种性和经济性状。

4.3 在植物育种上的应用

植物组织培养技术为育种提供了许多方法,使育种工作在新的条件下能够更有效地进行。如用花药培养单倍体植株;用原生质体进行体细胞杂交和基因转移;用子房、胚和胚珠完成胚的试管发育和试管受精;保存种质资源,等等。

胚培养技术很早就被利用。在种属间远缘杂交的情况下,由于生理代谢等方面的原因,杂种胚常常停止发育,因此不能得到杂种植物。通过胚培养则可以保证远缘杂交的顺利进行,胚培养技术在桃、柑橘、菜豆、南瓜、百合、鸢尾等许多农作物和园艺植物远缘杂交育种中都得到了应用。大白菜与甘蓝的远缘杂交种“白蓝”,就是通过杂种胚的培养而得到的。对于早期发育幼胚因太小而难培养的种类,还可采用胚珠和子房培养来获得成功。利用胚珠和子房培养也可进行试管受精,以克服柱头或花柱对受精的障碍,使花粉管直接进入胚珠而受精。

苹果、柑橘、葡萄、草莓、石刁柏、甜椒、甘蓝、天竺葵等 20 多种植物通过花药、花粉的培养得到了单倍体植株。在常规育种中,为得到纯系材料,要经多代自交,而单倍体育种可以经染色体加倍而迅速获得纯合的二倍体,大大缩短了育种的世代和年限。

利用组织培养可以进行突变体的筛选。突变体的产生因部位而异,茎尖的遗传性比较稳定,根、茎、叶乃至愈伤组织和细胞培养的变异率则较大。培养基中的激素能够诱导变异,变异率因激素浓度而不同。此外,采用紫外线、X 射线、 γ 射线对材料进行照射,也可以诱发突变的产生。在组织培养中,产生多倍体、混倍体的现象比较多,而产生的变异为育种提供了材料,可以根据需要进行筛选。利用组织培养,采用与微生物筛选相似的技术在细胞水平上进行突变体的筛选更富有成效。

原生质体培养和体细胞杂交技术的开发,在育种上展现了一幅崭新的蓝图。已有多种植物经原生质体培养得到再生植株,有些植物得到体细胞杂种,这在理论和实践上都有重要价值。随着研究的深入和工作水平的提高,原生质体培养将会在育种上产生深远的影响。

4.4 次生代谢物的生产

利用大规模培养的植物细胞或组织,可以高效生产人类需要的各种天然有机化合物,如蛋白质、脂肪、糖类、药物、香料、生物碱、天然色素及其他活性物质。因此,近年来这一领域引起了人们极大的兴趣和高度重视,国际上这方面的专利有 100 余项。如利用细胞培养生产蛋白质,将给饲料和食品工业提供广阔的生产前景;利用组织培养生产人工不能合成的药物或有效成分等的研究正在不断地深入;利用组织培养生产药用植物中的有效药物成分,如紫杉醇、人参皂苷、紫草宁、蒽醌、咖啡因、香料植物中的香精、彩色果实中的天然色素等。

4.5 植物种质资源的离体保存

植物种质资源是农业生产的基础,而自然灾害、生物间竞争及人类活动等已造成相当数量的植物物种消失或濒临消失,特别是具有独特遗传性状的生物物种的绝迹,更是一种不可挽回的损失。常规的植物种植资源保存方法耗费人力、物力和土地,使得种质资源流失的情况时有发生。利用植物组织培养进行离体低温或冷冻保存,可大大节约人力、物力和土地,还可挽救濒危物种。同时,离体保存的植物材料不受病虫害侵染和季节限制,有利于种子资源在地区间及国际间交换。如草莓茎尖在 4℃ 黑暗条件下,茎培养物可以保持生活力达 6 年,期间只需每 3 个月加入一些新鲜培养基。