

高等学校生命科学类专业系列教材



植物生物技术

夏海武 陈庆榆 主 编

合肥工业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

植物生物技术/夏海武,陈庆榆主编. —合肥:合肥工业大学出版社,2008. 5

ISBN 978-7-81093-757-3

I. 植… II. ①夏…②…陈 III. 植物—生物技术—高等学校—教材 IV. Q94
中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 074444 号

植物生物技术

夏海武 陈庆榆 主编

责任编辑 汤礼广

出 版	合肥工业大学出版社	版 次	2008 年 6 月第 1 版
地 址	合肥市屯溪路 193 号	印 次	2008 年 6 月第 1 次印刷
邮 编	230009	开 本	787×1092 1/16
电 话	总编室:0551-2903038	印 张	16.25
	发行部:0551-2903198	字 数	352 千字
网 址	www.hfutpress.com.cn	印 刷	合肥创新印务有限公司
E-mail	press@hfutpress.com.cn	发 行	全国新华书店

ISBN 978-7-81093-757-3

定价: 26.00 元

如果有影响阅读的印装质量问题,请与出版社发行部联系调换。



序

生命科学进入基因组时代之后，人们对生命的理解和对物种的改良便进入一个崭新的发展阶段。生物技术是 20 世纪末人类科技史上最令人瞩目的高新技术之一，它是提高国力的重要手段，同时也为人类有效解决面临的食品短缺、疾病防治、人口膨胀、环境污染、能源匮乏等一系列重大问题带来了希望。在现今的国际上，科学家和企业家一致公认，生物技术将是关系到国家命运的关键技术之一和创新产业经济的一个重要增长点。

在世界农业发展史上，曾出现过大的农业革命，被称为“绿色革命”。20 世纪五六十年代的绿色革命以高秆变矮秆为标志的优质、高产小麦和水稻良种的全面推广，使全世界粮食产量跃上了一个新的台阶，缓解了当时墨西哥、印度等国人口增长过快的危机；20 世纪 70 年代初我国成功地培育了杂交水稻，人类创造了更高的农业奇迹。进入 21 世纪之际，现代生物技术已在农业生产的诸多领域得到了广泛应用，并取得了显著的成效，有力的推动着农业生产实现新的绿色革命，特别是以基因调控为中心的植物生物技术的应用已超越农业，在环境、医药等技术领域也得到了新的应用和开拓出了许多新的产品。

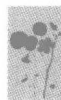
21 世纪以来，不断涌现的生物技术创新成果表明了生物技术时代的到来。人类面临着人口、资源、环境的危机，因此更加重视高新生物技术的应用。越来越多的科技工作者，尤其是青年学子开始投入到这一重要研究领域。为此，高等院校生命科学和农业科学类的多数专业都相继开设生物技术课程是十分必要的。

夏海武教授主持编写的这本《植物生物技术》教材，吸收了近年来国内



外关于该领域的许多最新成果，系统地介绍了植物生物技术的基础理论和基本技术，还从普通本科院校的实际出发，深入浅出，力求把生物技术高深理论用通俗易懂的语言表述出来，同时特别注重对实践环节的概述。因此，本书是一本内容简明、新颖、实用、可读性强的教材。相信本书的出版将为生物、农林等相关专业的本科生的教学提供有力的帮助，为相关领域的研究者和生产人员提供有益的参考。

北京大学生命科学学院教授 林忠平



前 言

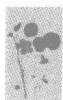
自 1902 年德国著名植物学家 Haberlandt 首次进行高等植物的组织培养实验,并提出植物细胞全能性理论以来的 100 多年中,经许多学者不懈地努力,植物组织与细胞培养技术得到了蓬勃发展。特别是近半个世纪以来,植物组织和培养技术取得了惊人的进步,并在生产实践中得到广泛应用,且取得了巨大的效益。同时,由于植物组织与细胞培养技术在单倍体育种、原生质体融合和基因工程植物的再生和培养中起着重要的作用,因此它为现代农业生物技术的发展提供的坚实的基础。

随着植物组织培养和分子生物学技术的不断进步,1983 年首次获得了转基因植物,植物基因工程和分子标记辅助育种等新技术于是得到迅速发展和广泛应用,并形成了一个具有无限活力的新领域——植物生物技术。

我国是一个农业大国,应用现代生物技术发展农业是一个十分迫切和重要的任务,因此,农业人才的培养也应由传统学科向植物科学技术专业转变,让新兴学科向传统专业渗透,以适应农业现代化的需要。

植物生物技术是高等学校农林专业和生物科学等相关专业的一门重要的专业基础课或选修课,但课时有限,因此本书在编写过程中,在力求新颖的同时,特别注重基础知识、基本理论和技能的概述,希望它能成为一本真正适应高等院校教学的教材。全书分为植物组织与细胞培养、植物基因工程与分子标记和植物生物技术实验三大部分,各部分内容相互衔接形成统一整体。

本书在编写过程中得到许多专家和老师的指导和帮助,并引用了国内外许多科学家的文献资料,北京大学生命科学学院林忠平教授在百忙之中



审阅书稿并为本书作序，在此一并表示衷心的感谢。

由于编者的水平有限，加之时间仓促，书中可能还存在一些缺点和错误，真诚地希望专家和读者批评指正。

编 者



目 录

绪 论	(1)
-----------	-----

第一篇 植物组织与细胞培养

第一章 植物组织培养实验室的建设和离体操作技术	(8)
-------------------------------	-----

第一节 植物组织培养实验室的建设	(8)
------------------------	-----

第二节 培养基	(15)
---------------	------

第三节 灭菌与消毒	(22)
-----------------	------

第二章 植物细胞形态建成	(25)
--------------------	------

第一节 植物细胞的全能性	(25)
--------------------	------

第二节 愈伤组织的诱导	(26)
-------------------	------

第三节 器官建成	(28)
----------------	------

第四节 体细胞胚胎建成	(33)
-------------------	------

第三章 植物离体快繁技术	(42)
--------------------	------

第一节 离体快繁的一般方法	(42)
---------------------	------

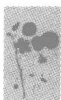
第二节 离体无性繁殖中存在的一些问题	(49)
--------------------------	------

第三节 离体无性繁殖的商业性生产的范围和应用	(52)
------------------------------	------

第四章 无病毒苗木培育	(54)
-------------------	------

第一节 植物脱毒方法	(55)
------------------	------

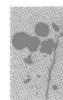
第二节 脱病毒植株的检测	(60)
--------------------	------



第三节 脱病毒植株的保存与繁殖	(62)
第五章 单倍体和多倍体的培养	(63)
第一节 花药培养	(63)
第二节 花粉（小孢子）培养	(75)
第三节 胚乳培养	(77)
第六章 细胞悬浮培养与次生代谢物的生产	(82)
第一节 细胞悬浮培养	(82)
第二节 培养细胞生产有用次生代谢物	(89)
第七章 原生质体培养和体细胞杂交	(97)
第一节 原生质体培养	(98)
第二节 植物体细胞杂交	(108)

第二篇 植物基因工程与分子标记

第八章 基因工程的基本技术	(120)
第一节 凝胶电泳技术	(120)
第二节 PCR 技术	(124)
第三节 核酸分子杂交技术	(129)
第九章 基因工程的工具酶和载体	(130)
第一节 基因工程的工具酶	(130)
第二节 基因工程的载体	(139)
第十章 植物目的基因的克隆与分离	(146)
第一节 植物基因工程研究常用的基因	(146)
第二节 目的基因的制备与克隆	(150)



第三节 目的基因的分离	(155)
第十一章 植物的转基因技术	(164)
第一节 植物基因转化的受体系统	(164)
第二节 农杆菌介导的基因转移	(165)
第三节 DNA 直接转移法	(169)
第十二章 转基因植物中外源基因的表达与调节	(173)
第一节 植物基因表达调节概述	(173)
第二节 转基因沉默的发生机理及其消除对策	(176)
第三节 环境因素对转基因表达活性的影响	(179)
第四节 提高转基因表达水平的若干技术途径	(179)
第十三章 转基因植株的鉴定及利用	(182)
第一节 报告基因的表达检测	(182)
第二节 外源基因整合的分子杂交检测	(185)
第三节 转基因植物的 PCR 检测	(189)
第四节 转基因植物的应用	(190)
第十四章 分子标记	(194)
第一节 分子标记概述	(194)
第二节 分子标记主要类型、原理与特点	(195)
第三节 分子标记技术的应用	(204)
第十五章 植物基因工程的安全性评价	(207)
第一节 转基因植物的安全性评价	(207)
第二节 转基因植物安全性评价的主要内容	(208)
第三节 国内外转基因植物的安全性评价概况	(209)



第三篇 植物生物技术实验

实验一	培养基母液的配制	(214)
实验二	植物组织培养培养基的制备	(216)
实验三	胚培养	(218)
实验四	叶片愈伤组织的诱导	(219)
实验五	不定芽的增殖培养	(221)
实验六	单细胞的分离与培养	(222)
实验七	原生质体的分离、纯化与培养	(224)
实验八	植物基因组 DNA 的提取	(226)
实验九	质粒的提取与鉴定	(230)
实验十	大肠杆菌感受态的制备和转化	(232)
实验十一	PCR 基因扩增	(234)
附 录		(236)
附录一	植物生物技术常用缩略语	(236)
附录二	植物组织培养常用的培养基成分	(239)
附录三	常用几种培养基中的离子浓度比较	(240)
附录四	离心机转数与离心力的列线图	(241)
附录五	用血球计数板计数原生质体的方法	(241)
附录六	常用的限制性核酸内切酶的主要性质	(243)
附录七	常用抗生素配制及使用浓度	(244)
附录八	常用试剂配方	(244)
参考文献		(247)



绪 论

生物技术是近年来人们公认的一项高新技术，它广泛用于医药卫生、农业、轻工、食品、化工、能源和环境保护等领域，促进传统产业的技术改造和新兴产业的形成，是具有巨大经济效益的潜在生产力，对解决人类面临的食品短缺、疾病防治、人口膨胀、环境污染、能源匮乏等一系列重大问题带来了希望，因而引起了世界各国的普遍重视。生物技术是 20 世纪人类科技史上最令人瞩目的高新技术之一，并将是 21 世纪核心支柱产业，许多国家都将生物技术确定为增强国力的关键性技术之一。

生物技术一般是指人们以现代生命科学为基础，结合其他基础学科的科学原理，采用先进的工程技术手段，按照预先的设计改造生物体或加工生物原料，为人类生产出所需产品或达到某种目的的技术。因此，生物技术是一门新兴的综合性学科。而植物生物技术是生物技术的研究领域之一，它主要是由植物组织培养、植物细胞工程和植物基因工程三部分组成。广义的植物生物技术是指提高和改良农作物产量和品质的所有技术；狭义的植物生物技术是指利用植物器官、组织、细胞以及分子水平的操作，促进植物繁殖、有用物质生产和品种遗传改良的技术。本书主要讨论狭义植物生物技术的内容。

一、植物生物技术的发展简史

植物生物技术已经有 100 多年的历史了，从 1902 年德国植物生理学家哈布兰特 (Gottlieb Haberlandt) 提出植物全能性理论和进行植物离体组织培养，标志着植物生物技术的开始。

100 多年来，植物生物技术经历了植物组织培养、植物细胞工程技术和植物基因工程的发展过程，各个发展过程有先后顺序又相互交叉，并与其他学科的发展紧密相连。植物细胞工程是在植物组织培养的基础上发展的，植物基因工程技术依赖于植物组织培养和细胞工程以及分子生物学等技术，三者之间的相互渗透促进了植物生物技术的深入发展。

1. 植物组织培养及细胞工程技术的发展

在施莱登 (M. J. Schleiden) 和施旺 (T. Schwann) 创立细胞学说的基础上，哈布兰德提出了高等植物的组织和器官可以不断分割，直到单个细胞，并可以通过培养把植物的体细胞培养成为人工胚，每个细胞都像胚胎细胞那样可以经过在体外培养而成为一棵完整的植株。在这一思想的指导下，他用小野芝麻和凤眼莲叶肉细胞以及虎眼万年青表皮细胞等材料进行离体无菌培养，细胞虽然生活了较长时间，但始终未能发生细胞分裂和增殖。原因主要是使用的培养基过于简单，选用的实验材料又是高度分化的，细胞脱分化和分化较难。虽然如此，他提出的理论却一直指引着无数生物学家去攀登新的高峰，经过近一个世纪的努力，才使这项技术趋于完善和成熟。



1904年,德国植物胚胎学家汉宁(Hanning)对萝卜和辣根的胚进行培养,提早长成了小植株。1922年,哈布兰特的学生Kotte和美国的Robbins采用无机盐添加糖和各种氨基酸的培养基对豌豆、玉米、棉花等根尖和茎尖进行培养,结果形成了缺绿的叶和根,能进行无限的生长。1925年,Laibach将亚麻种间杂交不能成活的胚取出培养,使杂种胚成熟,继而萌发成杂种植株。

1934年,美国植物生理学家怀特(White)用无机盐、糖类和酵母提取物的培养基,进行番茄根尖培养,建立了第一个活跃生长的无性繁殖系,并能无限的继代培养,获得了离体根培养的真正成功。在以后的28年间转接1600代仍能生长,并利用根系培养物研究了光照、温度、pH值、培养基组成对根生长的影响。接着,他用3种B族维生素——吡哆醇(B_6)、硫胺素(B_1)和烟酸(B_3)代替了酵母提取物,于1937年配制成适合根培养的White综合培养基,发现了B族维生素在离体根生长中的重要性。

法国的Gautheret(1934)在培养基中加入B族维生素和生长素后,使山毛柳形成层生长并形成愈伤组织。Nobecourt培养胡萝卜根,发现中央髓部细胞分裂活性很强,细胞增殖甚快,愈伤组织每4~6周转接一次,可无限继代下去,这是首次从液泡化的薄壁细胞建立的愈伤组织培养物。

在这个时期,由于White、Gautheret、Nobecourt等人的出色工作,建立了植物组织培养的综合培养基,它包括无机盐成分、有机成分和生长刺激因素。同时也建立了进行植物组织培养的基本方法,成为当今各种植物组织培养的技术基础。怀特于1943年出版了《植物组织培养手册》,这是第一部有关植物组织培养技术的专著。

1948年,Skoog和我国学者崔激在烟草髓培养研究中,发现腺嘌呤或腺苷可以解除培养基中生长素(IAA)对芽的抑制作用,并诱导成芽,从而发现了腺嘌呤/生长素的比例是控制芽和根分化的决定性因素之一。随后,在寻找促进细胞分裂的物质中,Miller等发现了激动素(KT),它和腺嘌呤有相同的作用,且效果更好,比腺嘌呤活性高3万倍。Skoog和Miller(1957)提出植物激素控制器官形成的概念,指出在烟草髓组织培养中,根和芽的分化取决于细胞分裂素和生长素的相对浓度,比例高时促进芽的分化,比例低时促进生根。这一概念至今被人们所接受。

Steward和Reinert在1956年进行胡萝卜根愈伤组织的液体培养,其游离组织和小细胞团的悬浮液可以进行长期继代培养。他们于1958年以胡萝卜的悬浮细胞诱导分化成完整的小植株,并且开花结实,使50余年前哈布兰德细胞全能性假说首次得到科学的验证,这一成果大大加速了植物组织培养研究的发展。

1960年,Morel培养兰花的茎尖,可以脱除病毒,并能快速繁殖兰花。其后植物离体微繁殖技术和脱毒技术得到快速发展。

1964年,Guha和Mabeshwari成功地从曼陀罗花药培养中诱导出单倍体植株。随后,Kameya和Hinata于1970年用悬滴法培养甘蓝×芥蓝杂种一代的成熟花粉,从单花粉培养中获得了单倍体植株,从而促进了植物单倍体细胞育种技术的发展。我国朱至清(1975)设计的 N_6 培养基,适合水稻和其他禾本科植物花药培养,在世界各国得到应用,促进了花药培养的研究。



1960 年, Cocking 利用纤维素酶和果胶酶酶解细胞壁获得高产量的原生质体以后, 原生质体培养发展起来。1971 年, Takebe 和 Nagata 用烟草叶肉细胞原生质体进行培养, 6 周后把形成的小细胞团转移到分化培养基上, 3~4 周后分化出大量的芽, 最后诱导生根。首次从原生质体培养中获得再生植株。

1972 年, Carlson 用 NaNO_3 作融合剂, 使粉蓝烟草和郎氏烟草原生质体融合, 首次获得两个烟草种间体细胞杂交株。Melchers 等 (1978) 获得了马铃薯和番茄的属间体细胞杂种, 而且该杂种具有耐寒性。Makankawkeyoon 等 (1995) 还获得了烟草和小鼠的杂种植株, 叶片中有小鼠免疫球蛋白 G 基因的表达。

早在 1942 年, Gautheret 就报道了组织培养中的次生代谢产物, 但直到 1967 年 Kaul 和 Staba 发现阿密苳培养细胞的次生代谢产物产量与整体植物相等后, 通过细胞培养产生有用化合物的研究才得到发展。

2. 植物基因工程与分子标记技术的发展

基因工程的出现是建立在几个重大发现和发明基础上的。1953 年, Watson 和 Crick 发现了 DNA 双螺旋结构, 阐明了遗传信息传递的中心法则, 使得人们对基因的本质有了越来越多的认识, 也奠定了基因工程的理论基础。1972 年, 美国斯坦福大学 P. Berg 博士的研究小组使用限制性内切酶 *EcoR* I, 在体外对猿猴病毒 SV40 DNA 和 λ 噬菌体 DNA 分别进行酶切, 然后用 T4 DNA 连接酶将两种酶切片段连接起来, 第一次在体外获得了包括 SV40 和 λ DNA 的重组 DNA 分子。1973 年, 美国加利福尼亚大学旧金山分校的 Herber Boyer 和斯坦福大学的 Stanley Cohen 选用了仅含单一 *EcoR* I 位点的质粒载体 pSC101, 并用 *EcoR* I 将其切为线性分子, 然后将该线性分子与同样具有 *EcoR* I 黏性末端的另一质粒 DNA 片段和 DNA 连接酶混合, 从而获得了具有两个复制起始点的新的 DNA 分子。1973 年 S. Colen 等将两种分别编码卡那霉素和四环素的抗性基因相连接, 构建出重组 DNA 分子, 然后转化大肠杆菌, 获得了既抗卡那霉素又抗四环素的双重抗性特征的转化子菌落, 这是第一次成功的基因克隆实验, 基因工程也由此宣告诞生。

植物基因工程对植物育种的影响有间接作用和直接作用。间接作用是筛选分子标记和构建分子标记遗传图谱, 为植物育种提供参考。直接作用就是对植物基因进行遗传操作。

1974 年, Grodzicker 等第一次将限制性内切酶片段长度多态性 (RFLP) 用作腺病毒温度敏感突变型的遗传标记。

1980 年, D. Bostein 等首次提出用 RFLP 构建人类遗传学连锁图。就是利用限制性内切酶酶解 DNA 片段后, 产生若干不同长度的小片段, 其数目和每一片段的长度反映了 DNA 限制位点的分布。它可作为某一 DNA 的特有指纹。

1983 年, 首批转基因植物 (烟草、马铃薯) 问世。

1986 年, Powell - Abel 等首次获得抗烟草花叶病毒 (TMV) 的转基因烟草植株, 展现了转基因植物应用的喜人前景, 植物基因工程随即进入快速发展时期。

1989 年, 简单序列重复多态性 (SSR) 技术产生。1990 年, Weber 报道人类 DNA 中存在短的串联重复序列。所谓微卫星是由 2~6bp 的重复单位串联而成, 一个微卫星长



度一般小于 100bp。不同品种或个体核心序列的重复次数不同,但重复序列两侧的 DNA 序列是保守的,利用与核心序列互补的引物,通过 PCR 扩增和电泳可分析不同基因型个体在每个 SSR 位点上的多态性。

1990 年, J. G. K. Williams 和 Welsh 等分别研究提出随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术,就是用一个(有时用两个)随机引物(一般 8~10bp)非定点的扩增基因组 DNA 得到一系列的多态性 DNA 片段,然后电泳检测其多态性。遗传材料的基因组 DNA 如果在特定引物结合区域发生 DNA 片段插入、缺失或碱基突变,就有可能导致引物结合位点的分布发生相应变化,导致 PCR 产物增加、减少或发生分子量变化,产生 RAPD 标记。此技术在苹果、葡萄、猕猴桃、柑橘等果树上进行品种鉴别、性别识别、无核基因、矮化等方面的研究和应用取得较大成绩。

1992 年,由荷兰 Keygene 公司科学家 Zabeau 和 P. Vos 发明扩增长度片段多态性 (AFLP) 技术,1993 年获得欧洲专利局专利。它结合了 RFLP 技术的可靠性和 PCR 技术的高效性,具有 DNA 用量少,灵敏度高,不需要预先知道基因组的信息等优点。

1993 年,首例转基因植物产品(耐储存番茄)进入市场。

1993 年,我国第一例转基因作物抗病毒烟草进入大田实验。

据统计,到 2000 年全球转基因植物种植面积就达到 4420 万公顷,转基因植物的市场销售额超过 30 亿美元。

1996 年, E. Lander 提出 SNP。它是对某特定区域的核苷酸序列进行测定,将其与相关基因组中对应区域的核苷酸序列比较,检测出单个核苷酸的差异,这个有差异的 DNA 区域称为 SNP 标记。SNP 标记在大多数基因组中存在较高的频率、数量丰富,可进行自动化检测。

二、植物生物技术在农业中的应用

植物生物技术是对植物品质和性状进行改造的技术,包括植物组织培养技术、细胞工程、基因工程等多种生物技术,主要是指植物基因工程和与之相关的植物组织细胞培养技术、分子标记育种技术等。

1. 植物脱毒及离体快速繁殖

通过植物微茎尖培养可以获得无病毒植株,因而可以用于植物脱毒,解决生产实践中植物病毒危害问题。这是植物组织培养应用得最早、最多、最广泛的一个方面。早在 1960 年, Morel 通过兰花茎尖培养,可以脱除病毒并能快速繁殖,很快用于生产,形成了利用组织培养法繁殖的“兰花工业”。在其高效益的刺激下,植物脱毒及离体快速繁殖技术得到迅速发展,现在已有多种经济植物的脱毒及快速繁殖技术应用于生产中,利用植物组织培养技术可快速繁殖某些花卉和园艺植物、经济植物以及药用植物。在我国,马铃薯无毒种薯和甘蔗种苗的生产起步较早,现已广泛应用;苹果、樱桃、葡萄、柑桔等果树的试管苗在生产上已大面积应用;草莓、香蕉等草本水果的脱毒种苗年生产量超过千万株;杨树、桉树等经济林木也已推广使用组织培养快速繁殖苗;兰花、月季、香石竹等花卉的试管苗在生产中已得到成功应用;地黄、金线莲、芦荟、枸杞等药用植物



的试管快速繁殖技术也已得到应用。

2. 花药培养与单倍体育种

花药或花粉培养、未授粉子房以及胚珠培养等诱导形成单倍体植株，是获得纯合体植株的主要途径。1964年，Guha和Maheshwari培养曼陀罗花药获得了单倍体植株以来，各国科学家在单倍体育种这一领域做了大量工作。1975年，我国朱至清设计的 N_6 培养基，适合水稻和其他禾本科植物花药培养，在世界各国实验室中得到应用，促进了花药培养的研究；L. H. San-Noreum于1976年培养大麦未成熟胚珠得到单倍体植株。通过单倍体培养后再染色体加倍的办法，加速后代纯合、快速组合多种性状、缩短育种进程、简化育种程序，已培育出一大批高产优质品种在生产上应用。我国在单倍体育种的研究和应用上一直处于国际先进水平，已建立40多种植物的单倍体培养成株技术，育成的水稻、小麦、玉米、烟草、甜椒等新品种已在生产上大面积推广。

3. 原生质体培养及细胞杂交

自从1960年E. C. Cocking用纤维素酶和果胶酶处理番茄幼苗根，降解细胞壁获得原生质体以来，至今已有250多种高等植物原生质体培养得到再生植株。

原生质体培养可以克隆再生植株群中表现出来的有益变异，筛选出优良品种或通过原生质体融合等方法实现远缘杂交和外缘基因的导入，从而创造新种或育成优良品种。自1972年P. S. Carlson获得烟草种间原生质体融合的体细胞杂种植株以来，到目前已有数十种属间体细胞杂种和几例科间体细胞杂交成功的报道。

4. 利用植物组织培养生产有用次生代谢产物

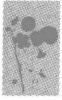
利用组织或细胞大规模培养，以合成人们需要的天然有机化合物，已取得令人振奋的进展。利用组织培养法生产微生物以及人工不能合成的药物及有效成分、香料、工业原料等有机物的研究越来越多。利用细胞培养生产这些次生物质，不仅可以克服天然资源的不足，并且不需要占用农田，不受自然条件限制，还可以通过筛选高产细胞株、改进培养技术及调控代谢途径等方法，大大提高生产率。在生物反应器设计、细胞培养阶段、诱发子和生物转化研究的基础上，国内外开始研究工厂化培养细胞生产有用化合物。例如，1983年，日本三井石油化学工业公司使用750L植物细胞反应器培养紫草细胞生产紫草宁；还培养长春花细胞生产吲哚碱，培养烟草细胞生产烟碱，培养人参细胞生产人参皂苷，培养红豆杉细胞生产紫杉醇等。

5. 植物种质资源的保存

植物种质的保存引起各国的高度重视，但常规田间保存种质资源耗资巨大，且往往达不到万无一失的目的。利用组织和细胞培养法低温保存种质，可大大节约人力、物力和土地，同时也便于种质交换和转移，防止病虫害的人为传播，是一种效率高、可靠性大、消耗低的种质资源保存方法。

6. 分子标记辅助育种

分子标记技术在植物分类、植物多样性、种质资源保护、遗传图谱的建立、基因定位与辅助选择育种、品种鉴定等研究方面均取得较好的应用效果。传统的植物分类方法主要是形态标记分类法，可靠性差，许多物种之间的分离关系及亲缘关系仍需进一步研



究。将分子标记应用于确定亲本之间的遗传差异和亲缘关系，可划分杂种优势群，提高杂交优势潜力。

分子图谱的建立一方面有助于追踪目标基因，另一方面对数量性状基因座定位研究也具有很大影响。它可将数量性状拆分，分别估计各个位点的表型效应，进而对其定位。

分子标记在种质资源研究中的主要用途之一，就是绘制品种的指纹图谱。这种图谱多态性丰富，具有高度的个体特异性和环境稳定性，甚至可以检测到一些基因组中的微小变异。因此，指纹图谱技术极其适合于品种鉴定和新品种登记、品种纯度和真实性检验等。

利用各品种指纹图谱的差异程度可判断品种间亲缘关系的远近，测量品种间遗传距离，进行系谱分析，并在指导杂种组合配制、杂种优势预测等方面具有重要作用。

7. 转基因植物

植物生物技术中的转基因技术突破了物种间的界限，转移有用的基因，使远缘植物之间可以进行基因交换，为创造新的植物开拓了无限广阔的前景。

自 1983 年世界上首次成功地获得第一株转基因植物以来，植物基因工程技术在作物品种改良、抗病、抗虫、抗除草剂、杂种优势的利用等方面广泛应用，并得到迅速发展。据统计，2003 年全球转基因植物的种植面积就达到 6770 万公顷，种植面积大的国家依次为美国 4280 万公顷、阿根廷 1390 万公顷、加拿大 440 万公顷、巴西 300 万公顷、中国 280 万公顷。种植的主要转基因植物是大豆 4140 万公顷、玉米 1550 万公顷、棉花 720 万公顷、油菜 360 万公顷。主要转基因性状是抗除草剂、抗虫等。

总之，植物生物技术是一门年轻而富有生命力的科学，它已取得了举世瞩目的进展，随着科学技术的不断发展，植物生物技术研究也将不断向深度和广度发展，农业将成为其应用最广阔、最活跃、最富有挑战性的领域。

第一篇

植物组织与细胞培养

