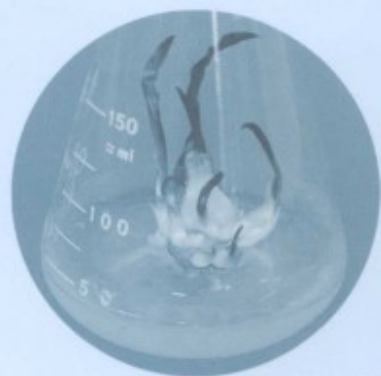


浙江省高等教育重点建设教材




葛胜娟 主编

植物组织培养

应用生物技术、农艺、园艺、园林、
商品花卉等专业用

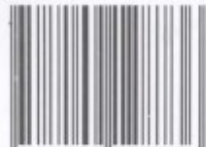


 中国农业出版社



封面设计 杨 璞

ISBN 978-7-109-12873-6



9 787109 128736 >

定价：26.00 元

□ 浙江省高等教育重点建设教材

植物组织培养

葛胜娟 主编

应用生物技术、农艺、园艺、
园林、商品花卉等专业用

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物组织培养 / 葛胜娟主编. —北京: 中国农业出版社,
2008. 9
ISBN 978-7-109-12873-6

I. 植… II. 葛… III. 植物-组织培养 IV. Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 120475 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100125)

责任编辑 徐建华

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2008 年 9 月第 1 版 2008 年 9 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 14.75

字数: 331 千字 印数: 1~3 000 册

定价: 26.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

ZHIWUZUZHIPEIYANG

内容简介

本教材以培养植物组织培养的高技能人才为目标，优化结构、整合内容。主要包括植物组织培养的基本理论，实验室组建，培养基配制，基本操作技术，器官培养，细胞培养与原生质体培养，脱毒技术，快速繁殖技术及工厂化生产等内容，每章都有复习测试题目；还含实验实训指导和培养基配方等相关附录。本教材保持系统性，突出实践性，注重先进性。通过学习，可以明确组织培养的基本概念和原理，具备组建应用性组培实验室，进行花卉、蔬菜、果树等良种快繁与无病毒种苗生产的技能，进行育种和种子生产的初步技能，以及继续学习与持续发展的能力。本教材适于高职高专院校应用生物技术、农艺、园艺、园林、商品花卉等相关专业的教学使用，也可用于职业技术培训和农林科研与技术推广、应用人员参考。

主 编 葛胜娟（嘉兴职业技术学院）

副主编 赵 华（金华职业技术学院）

张小玲（温州科技职业学院）

编 者（按汉语拼音排序）

葛胜娟（嘉兴职业技术学院）

施隆文（嘉兴职业技术学院）

王慧俐（杭州万向职业技术学院）

吴林森（丽水职业技术学院）

张小玲（温州科技职业学院）

赵 华（金华职业技术学院）

赵 骊（丽水学院）

郑慧俊（杭州职业技术学院）

前 言

植物组织培养开始于20世纪初,从20世纪60年代开始,这项技术得到了迅速发展,渗透到植物生理学、病理学、药理学、遗传学、育种学以及生物化学等领域,并成为一项举世瞩目的现代生物技术。目前,植物组织培养的快速繁殖、去除病毒、加速育种进程、次生代谢产物生产和种质资源保存等技术在农业、林业、工业、医药业等多种行业得到广泛应用,取得了巨大的经济效益、社会效益及生态效益。植物组织培养技术的应用,对推进种子种苗工程的建设,提高生产技术水平与质量效益具有重要作用。我国植物种质资源和劳动力资源比较丰富,近年来随着效益农业、都市农业的发展,农业科研院所和农业现代化园区几乎都有组培项目,新兴的组培企业也不断涌现。植物组织培养项目的进行,特别是实现组培苗的产业化迫切需要一批实践能力强的植物组织培养高技能人才。为此,高职院校的农学、园艺、园林和生物技术类专业都开设了植物组织培养课程。目前植物组织培养方面的教材与书籍很多,有的偏重于系统理论性,有的偏重于实际操作性,为了加强针对性,使植物组织培养的教学更适合高职教育的实际需要,经浙江省教育厅批准,编写了《植物组织培养》这本浙江省高等教育(高职类)的重点建设教材。

本教材根据《教育部关于加强高职高专教育人才培养工作的意见》和《关于加强高职高专教育教材建设的若干意见》的精神和要求,根据区域经济、职业岗位和课程建设的需要进行编写。编写中,以培养植物组织培养的高技能人才为目标,围绕技术应用这条主线,收集和参阅了大量的相关文献,同时结合自身的科研成果和教学经验,优化结构、整合内容,理论部分强调基础性及与实践的联系,保证“必须、够用”;实践部分突出针对性和能力培养,内容选择时注重实用性和技术含量,既符合当前职业岗位的要求,又注意未来发展需求的特点。

本教材共8章,每章都有一份复习测试题,便于学生的复习和自我检测。第1章绪论由葛胜娟执笔,第2章实验室的组建由郑慧俊执笔,第3章培养基的配制由吴林森执笔,第4章基本操作技术由赵华执笔,第5章器官培养由施隆文执笔,第6章细胞培养和原生质体培养由赵骊执笔,第7章脱毒技术由王慧俐执笔,第8章植物快速繁殖技术及工厂化生产由张小玲执笔,整个教材最

后由葛胜娟修改、定稿。本教材编有 18 个实验实训项目和综合实训项目，便于指导实验实训，其中实验实训 1~9、13~18 和综合实训由葛胜娟执笔，实验实训 10~12 由赵骊执笔；另外，还由葛胜娟选编了培养基配方等 11 个相关附录，可供广大读者在教学和技术应用中查阅。

本教材保持系统性，突出实践性，注重先进性。通过学习，可以明确植物组织培养的基本概念和基本原理，掌握植物组织培养的一般技术和实用型技术，了解植物组织培养的前沿知识和研究型技术，具备组建应用性植物组织培养实验室，应用植物组织培养技术进行花卉、蔬菜、果树等良种快繁与无病毒种苗生产的能力，进行育种和种子生产的初步能力，以及继续学习与持续发展的能力。本教材适于高职高专院校应用生物技术、农艺、园艺、园林、商品花卉等相关专业的教学使用，也可用于职业技术培训和农林科研与技术推广、应用人员参考。

本教材在编写过程中，得到了杭州职业技术学院、杭州万向职业技术学院、温州科技职业学院、金华职业技术学院、丽水学院、丽水职业技术学院、嘉兴职业技术学院等院校领导和同行的支持与帮助，在此表示衷心的感谢。

由于编者水平有限，加之时间仓促，书中难免有错误或不当之处，恳请广大同行与读者批评指正，以便进一步修订。

编者
2008 年 6 月

目 录

○○○○○○○○○○○○○○○○○○

前言

第1章 绪论 1

第一节 植物组织培养的概念和类型 1

一、植物组织培养的概念 1

二、植物组织培养的类型 1

第二节 植物组织培养的理论依据 2

一、植物细胞的分化、脱分化和再分化 2

二、外植体的再生途径 4

三、植物细胞的全能性 5

第三节 植物组织培养的发展简史 8

一、探索阶段 8

二、奠基阶段 9

三、迅速发展阶段 9

第四节 植物组织培养的应用及前景 10

一、植物组织培养的应用 10

二、植物组织培养的发展前景 13

复习测试题 14

第2章 实验室的组建 16

第一节 实验室设计 16

一、实验室的设计原则 16

二、实验室的基本构成 16

三、实验室的安全规则 18

第二节 实验室设备与器具的配置 18

一、准备室仪器设备与器皿器械的配置 18

二、缓冲室的配置 23

三、无菌操作室的设备与器具配置 23

四、培养室的设备配置 24

复习测试题 25

第3章 培养基的配制	27
第一节 培养基的成分	27
一、无机营养	28
二、维生素与肌醇	29
三、氨基酸	30
四、有机附加物	30
五、植物生长调节物质	30
六、糖	32
七、琼脂	33
八、其他成分	33
九、水	34
十、pH	34
第二节 培养基的种类	34
一、培养基的分类	35
二、常用的基本培养基及其配方	35
第三节 培养基的配制	37
一、准备工作	37
二、母液的配制和保存	38
三、培养基的配制、灭菌与保存	40
复习测试题	44
第4章 基本操作技术	46
第一节 外植体的选择与处理	46
一、外植体的选择	46
二、外植体的处理	47
第二节 外植体的接种与培养	49
一、外植体的接种	49
二、外植体的培养	50
第三节 试管苗的驯化与移栽	54
一、试管苗的驯化	54
二、试管苗的移栽	54
第四节 常见问题与解决措施	55
一、污染及其防止措施	55
二、褐变及其防止措施	55
三、玻璃化现象及其防止措施	57
复习测试题	58

第 5 章 器官培养	60
第一节 根的培养	60
一、根培养的意义.....	60
二、根培养的过程.....	61
三、离体根培养所用的培养基.....	61
四、影响离体根生长的因素.....	62
第二节 茎的培养	63
一、茎培养的意义.....	63
二、茎段培养所用的培养基.....	63
三、茎段培养的方法.....	64
四、影响茎段培养的因素.....	67
第三节 叶的培养	70
一、叶培养的意义.....	70
二、叶培养所用的培养基.....	70
三、叶培养的方法.....	71
四、影响叶组织培养的因素.....	72
五、离体叶组织茎和芽的发生途径.....	74
第四节 花药和花粉培养	75
一、花药和花粉培养的意义.....	75
二、花药和花粉培养的方法.....	76
三、单倍体植株的二倍化.....	79
四、影响花药和花粉培养的因素.....	80
第五节 胚培养	82
一、胚培养的意义.....	83
二、离体胚培养的发育途径.....	84
三、胚培养的方法.....	84
四、胚培养对培养基与培养条件的要求.....	85
复习测试题	87
第 6 章 细胞培养和原生质体培养	89
第一节 细胞培养	89
一、单细胞的分离.....	89
二、单细胞培养.....	90
三、细胞悬浮培养.....	92
四、细胞培养的应用.....	94
第二节 原生质体培养	95
一、原生质体分离.....	95

二、原生质体培养	98
三、原生质体融合	101
四、体细胞杂交在农业上的应用	102
复习测试题	103
第7章 脱毒技术	105
第一节 脱毒方法	105
一、茎尖培养脱毒	106
二、其他组织培养脱毒方法	108
三、热处理脱毒	109
四、茎尖培养结合热处理脱毒	110
五、抗病毒药剂法	110
第二节 脱毒苗的鉴定	110
一、直接检测法	110
二、指示植物法	111
三、抗血清鉴定法	111
四、酶联免疫吸附法	112
五、电子显微镜检测法	112
六、分子检测法	112
第三节 脱毒苗的保存	113
一、隔离保存	113
二、离体保存	113
复习测试题	114
第8章 植物快速繁殖技术及工厂化生产	116
第一节 快速繁殖的途径	117
一、无菌短枝扦插繁殖途径	117
二、丛生芽增殖途径	117
三、不定芽途径	118
四、胚状体途径	119
五、原球茎发育的途径	119
第二节 快速繁殖的程序	120
一、第一阶段：启动和建立无菌培养系	120
二、第二阶段：中间培养物的增殖	122
三、第三阶段：壮苗与生根	123
四、第四阶段：炼苗和移栽	123
第三节 快速繁殖的影响因素	124
一、外植体	124

二、培养基	125
三、培养条件	125
四、继代培养次数	125
第四节 快速繁殖中易发生的问题及解决方法	126
一、污染	126
二、外植体的褐变和有害物质的积累	126
三、试管苗的玻璃化	126
四、试管苗的遗传稳定性	127
第五节 常见植物的脱毒与离体快繁	128
一、马铃薯的脱毒和快繁	128
二、生姜的脱毒与快繁	130
三、兰科花卉的脱毒与快繁	132
四、桉树的快速繁殖	134
第六节 植物组织培养工厂化生产	135
一、组培工厂的设计	135
二、生产规模与计划的安排	136
三、组培苗工厂化生产技术规范流程	137
四、成本核算与效益分析	137
五、降低成本,提高经济效益	140
六、植物组织培养经营管理措施	141
复习测试题	143
实验实训指导	145
实验实训 1 植物组织培养实验室的参观	145
实验实训 2 植物组织培养实验室的卫生与消毒工作	146
实验实训 3 培养基母液的配制	147
实验实训 4 固体培养基的配制	149
实验实训 5 培养基和培养用具的消毒	150
实验实训 6 无菌操作技术	151
实验实训 7 无菌种子发芽	152
实验实训 8 愈伤组织诱导	153
实验实训 9 茎段培养	154
实验实训 10 球根培养	155
实验实训 11 分化培养	156
实验实训 12 生根培养	157
实验实训 13 组培苗出瓶移栽及管理	158
实验实训 14 茎尖脱毒培养	159
实验实训 15 褐化现象观察	160

实验实训 16 污染现象观察	161
实验实训 17 幼胚培养	161
实验实训 18 花药培养	162
综合实训	164
附录	167
附录 1 植物组织培养常用英文缩略语	167
附录 2 植物组织培养培养基配方汇集	168
附录 3 培养基中常用植物生长调节物质、维生素、糖类的主要性能	174
附录 4 培养基中常用植物生长调节物质配方类型与用途	176
附录 5 常用植物生长调节物质浓度单位换算表	176
附录 6 酒精稀释和稀酸稀碱配制方法	177
附录 7 蒸汽压力与蒸汽温度对照表	177
附录 8 洗涤液的配制和器皿的清洗	178
附录 9 部分植物的适用培养基参考配方	179
附录 10 培养物在各阶段的不良表现、可能原因及改进措施	203
附录 11 中华人民共和国农业行业标准	204
主要参考文献	222

第 1 章

绪 论

学习目标

1. 熟悉植物组织培养的概念和类型。
2. 了解植物组织培养的基础理论：植物细胞的分化、脱分化和再分化，外植体的再生途径，植物细胞全能性及其表达和实现。
3. 了解植物组织培养的发展历史和应用范围。

植物组织培养技术是 20 世纪发展起来的一门新技术。近 30 多年来，随着组织培养基础理论研究的深入，发展迅速，应用范围越来越大，几乎以植物为研究对象的各个分支学科都在广泛地进行组织培养。目前，植物组织培养已日益广泛地应用于植物的良种繁育与脱毒，种质资源的储存，细胞次生代谢物质的生产，细胞工程和基因工程的生物技术育种，以及遗传学和生物学基础的研究。植物组织培养是研究植物离体培养的原理和方法的科学，是现代生物技术的重要组成部分，它的进一步研究和应用，必将大大提高植物生产水平与技术水平，加速植物科学现代化的进程。

第一节 植物组织培养的概念和类型

一、植物组织培养的概念

植物组织培养是指通过无菌操作，把植物的外植体接种于人工配置的培养基上，在人工控制的环境里进行培养，使其成为完整植株的方法。植物的外植体是指用于植物组织培养的接种材料，它包括植物体的各种器官（如根、茎、叶、茎尖、花、果实等）、组织（如形成层、表皮、皮层、髓部细胞、胚乳等）、细胞（如大孢子、小孢子及体细胞）和原生质体等。由于组织培养的培养物是在离体条件下培养的，因此也称离体培养。

从理论上说，所有的植物细胞与组织材料都能培养成功。但实际上接种的外植体不同，培养的难易程度也不同。

二、植物组织培养的类型

根据划分依据的不同，植物组织培养有多种分类方法。

（一）根据外植体不同的分类

1. **植株培养** 植株培养是指对幼苗或较大的植株进行培养，包括扦插苗培养和种子苗的

离体无菌培养，主要目的是提供适合接种的外植体或用于研究植株在某些培养基上的反应。

2. 胚胎培养 胚胎培养是指把原胚或成熟胚、胚乳、胚珠或子房分离出来进行离体无菌培养，主要目的是克服远缘杂交不育以及用于三倍体育种。

3. 器官培养 器官培养是指分离根尖、根段、茎尖、茎段、叶片、叶原基、子叶、花瓣、花药或花粉、果实等作为外植体进行离体无菌培养。

4. 组织培养（狭义） 狭义的组织培养是指分离植物体的各部分组织（如分生组织、形成层、胚乳组织、薄壁组织或愈伤组织等）进行离体无菌培养，通过分化诱导使其最后形成植株。

5. 细胞培养 细胞培养包括单细胞、多细胞或悬浮细胞和细胞的遗传转化体的离体无菌培养等。

6. 原生质体培养 原生质体培养包括原生质体、原生质融合体和原生质体的遗传转化体的无菌培养等。

根据所培养的植物材料不同，Gamborg 有不同的分类方法。他把植物组织培养分为 5 类，即愈伤组织培养、悬浮细胞培养、器官培养、茎尖分生组织培养和原生质体培养。其中愈伤组织是一种最常见的培养类型，因为除了茎尖分生组织培养和少数器官培养外，其它培养类型都要经历愈伤组织阶段才能产生再生植株。

（二）根据培养基态相的分类

1. 固体培养 在培养基中加入一定量的凝固剂（常用琼脂），加热溶解后，分别装入培养用的容器中，冷却后即得到固体培养基。将外植体接种在加凝固剂的培养基中进行组织培养的方法称为固体培养。固体培养所需设备简单，使用方便，成本较低，在生产应用中较为普遍。但固体培养基使培养物固定在一个位置上，只有部分材料表面与培养基接触，不能充分利用培养容器中的养分；而且，培养物生长过程中排出的有害物质容易积累，由此造成自我毒害，所以必须及时转移。

2. 液体培养 凡不加凝固剂的培养基即是液体培养基。将外植体接种在不加凝固剂的培养基中进行组织培养的方法称为液体培养。液体培养又有静止培养、旋转培养、振荡培养等。液体培养需要转床、摇床之类的设备，但通过振荡培养，给培养物提供良好的通气条件，有利于外植体的生长，同时也避免了固体培养的缺点。

（三）根据培养过程的分类

1. 初代培养 初代培养是指从植物体上分离下来的外植体进行的第一次培养，也称为第一代培养。

2. 继代培养 第一次培养以后，将培养物转移到新的培养基上继续进行培养成为继代培养。

第二节 植物组织培养的理论依据

一、植物细胞的分化、脱分化和再分化

（一）植物细胞的分化

细胞分化现象普遍存在于植物界，无论是高等植物还是低等植物，都存在细胞分化现

象。高等植物中的种子植物，经双受精后形成合子，合子第一次分裂形成两个在形态和生理上有区别的细胞即顶细胞和基细胞。由于顶细胞和基细胞生理上的差异而导致形态发生上的差别，这就是高等植物的细胞分化。细胞分化的结果形成具有根端和茎端的胚胎（种子）。根端和茎端分生组织细胞不断分裂和分化，就是种子发芽。接着经过一系列的形态发生过程，建成具有不同功能的器官（根、茎、叶、花、果实、种子）最终完成植物个体发育周期。

所谓细胞分化就是由于细胞的分工而导致的细胞结构和功能的改变，或发育方式改变的过程（图 1-1）。

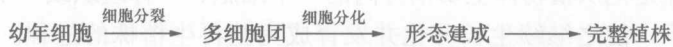


图 1-1 高等植物细胞分化示意图

（二）植物细胞的脱分化

细胞分化使植物细胞成为结构和功能特征特异的成熟细胞，这些成熟细胞只要具有一个完整的膜系统和一个有生命力的核，即使已经高度成熟和分化，也还有恢复到分生状态的能力。一个成熟细胞转变为分生组织状态或胚性细胞状态的过程就是细胞脱分化。脱分化后的细胞，经过细胞分裂，产生无组织结构、无明显极性、松散的细胞团称为愈伤组织。

愈伤组织原本是指植物在受伤后于其伤口表面形成的一团薄壁细胞。在植物组织培养中，愈伤组织则是指在人工培养基上由外植体形成的一团无序生长的薄壁细胞；而植物细胞的脱分化就是一个成熟细胞转变成分生状态，即形成愈伤组织的过程。

（三）植物细胞的再分化

植物细胞的再分化是指脱分化后的分生细胞（愈伤组织）在特定的条件（离体培养）下，重新恢复细胞分化能力，并经历器官发生和形态建成，进一步发育成完整植物体的过程（图 1-2）。



图 1-2 高等植物细胞脱分化和再分化示意图

（四）植物细胞脱分化和再分化的条件

植物细胞的脱分化和再分化需要具备隔离条件和植物生长调节物质的作用。

1. 机械隔离和生理隔离 整体植物的每个细胞、组织和器官均受其周围的细胞、相邻的组织、器官的制约。一般情况下，它们只能执行着自己特定的功能。这种相互制约的关系，使植物体形成一个协调的整体。整体植物细胞间，由胞间连丝所连接，使植物体成为一个“共质体”，胞间连丝保持植物代谢和发育上的协调一致。植物离体培养时由于切割，把器官、组织或细胞从整体植物上分离下来，使它们脱离整体，消除了整体对它们的制约，因而能够进行脱分化和再分化。

2. 植物生长调节物质的作用 生长素在植物细胞脱分化、形成愈伤组织或胚性细胞团的过程中是不可缺少的物质。生长素中尤以 2,4-D 对启动植物细胞分化和形成胚性细胞团更为重要。细胞分裂素能使已经脱分化的细胞，或细胞团保持持续有丝分裂，从而使细胞团能够进行分裂变多。植物生长素和细胞分裂素也是细胞再分化必不可少的物质，这