



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



面向21世纪课程教材

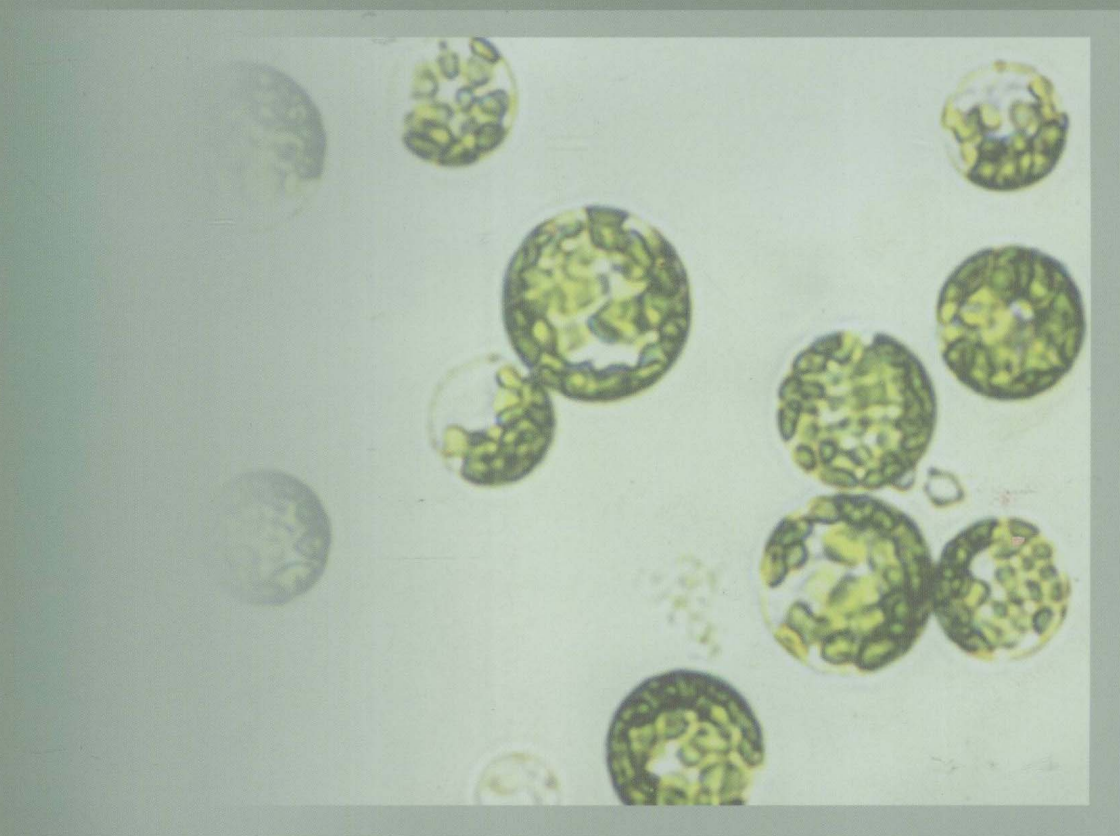
Textbook Series for 21st Century

植物细胞组织培养

(第2版)

刘庆昌 吴国良 主编

ZhiWuXibaoZuZhiPeiYi



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等教育“十一五”国家级规划教材

面向21世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

植物细胞组织培养

(第2版)

刘庆昌 吴国良 主编

中国农业大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

植物细胞组织培养/刘庆昌,吴国良主编.—2版.—北京:中国农业大学出版社,
2010.01

ISBN 978-7-81117-907-1

I. 植… II. ①刘… ②吴… III. 植物-细胞培养:组织培养 IV. Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 196353 号

书 名 植物细胞组织培养

作 者 刘庆昌 吴国良 主编

策划编辑 洪重光

责任编辑 洪重光

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤 陈 莹

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62731190,2620

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2010 年 1 月第 2 版 2010 年 1 月第 1 次印刷

规 格 787×1 092 16 开本 21.75 印张 515 千字

印 数 1~3 000

定 价 32.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

第 1 版前言

本教材是国家教育部面向 21 世纪教学内容和课程体系改革 04—13 项目研究成果。

植物细胞组织培养既是植物遗传工程的基础和关键环节之一,也是一种实用性极强的高新技术,已经发展成为植物生产类、草业科学类、森林资源类、环境生态类、生物科学类等各专业本科生的重要课程。开设《植物细胞组织培养》课程,是当今生命科学飞速发展的要求,也是学生今后实际工作的迫切需要。

自 20 世纪 80 年代以来,国内出版了不少有关植物细胞组织培养方面的著作,这些著作对推动植物细胞组织培养的研究与应用起了极大的作用。但是,这些著作中,能真正作为本科生教材而进行使用的书籍却很少。因此,我们在多年教学的基础上,编写了这本《植物细胞组织培养》教材。

本教材全面、系统地介绍了植物细胞组织培养的基本概念、基本原理、基本操作技术、研究方法等,较全面地反映了国内外最新研究成果,信息量大,概念准确,图文并茂,技术方法详细具体,实用性较强。

本书共分 12 章,第 1 章绪论、第 6 章细胞培养和第 8 章体细胞杂交由刘庆昌编写;第 2 章植物细胞组织培养的基本技术由翟红编写;第 3 章植物组织器官培养和第 10 章植物离体繁殖技术(其中的蔬菜部分由张成合编写)由吴国良编写;第 4 章茎尖分生组织培养由高遐虹和范双喜编写;第 5 章单倍体细胞培养由张献龙编写;第 7 章原生质体的分离和培养由王庆亚编写;第 9 章体细胞无性系变异由张成合编写;第 11 章种质离体保存由宋明编写;第 12 章植物遗传转化由巩振辉编写。另外,高美英参加了第 3 章的部分编写工作,屈红征参加了第 10 章的部分编写工作。全书由刘庆昌和吴国良统稿和定稿。

在本教材编写过程中,得到了中国农业大学戴景瑞院士的大力支持和热情指导,华南农业大学陈炳铨教授、中国医学科学院药用植物研究所张荫麟研究员、中国农业大学刘青林副教授对本书提出了宝贵的修改意见。谨在此表示衷心的感谢。

刘庆昌 吴国良
2002 年 7 月

第 2 版前言

植物细胞组织培养既是植物遗传工程的基础和关键环节之一,也是一种实用性极强的高新技术,已经发展成为植物生产类、草业科学类、森林资源类、环境生态类、生物科学类等各专业本科生的重要课程,成为这些专业本科生需要掌握的重要技术之一。

《植物细胞组织培养》(第 1 版)自 2003 年 1 月出版后,得到农林院校广大师生的认可,认为本教材的内容体系及具体内容科学、合理,深入浅出,便于学生理解和掌握。

《植物细胞组织培养》(第 2 版)保持了第 1 版的内容体系,全面、系统地介绍了植物细胞组织培养的基本概念、基本原理、基本操作技术、研究方法等,概念准确,技术方法详细具体,实用性较强;对各章具体内容做了适当修改,较全面地反映了国内外最新研究成果,增加了多幅代表性图片;考虑到植物细胞组织培养在植物次生代谢产物生产中的应用愈来愈广,因此增加了植物次生代谢产物生产一章。本教材被列入普通高等教育“十一五”国家级规划教材。

本书共分 13 章,第 1 章绪论、第 6 章细胞培养和第 8 章体细胞杂交由刘庆昌编写;第 2 章植物细胞组织培养的基本技术由翟红编写;第 3 章植物组织器官培养和第 10 章植物离体繁殖技术中的果树离体繁殖技术、林木离体繁殖技术以及药用植物离体繁殖技术由吴国良编写,第 10 章中的蔬菜离体繁殖技术和观赏植物离体繁殖技术由孙世海编写;第 4 章茎尖分生组织培养由范双喜和高遐虹编写;第 5 章单倍体细胞培养由张献龙编写;第 7 章原生质体的分离和培养由郭仰东编写;第 9 章体细胞无性系变异由张成合编写;第 11 章种质离体保存由宋明编写;第 12 章植物遗传转化由巩振辉编写;第 13 章植物次生代谢产物生产由周立刚编写。全书由刘庆昌、郭仰东、周立刚、翟红统稿和定稿。

在本教材编写过程中,得到了中国农业大学戴景瑞院士的大力支持和热情指导,并担任本书主审;其他兄弟院校的有关老师对本教材提出了宝贵的修改意见。在此谨向他们表示诚挚的谢意!

植物细胞组织培养所涉及的领域广泛,限于作者们的教学与科研的局限性,遗漏和不妥之处在所难免,恳请读者指正,以利再版时修改。

刘庆昌 吴国良
2009 年 9 月

第1版编者

主 编 刘庆昌(中国农业大学)
吴国良(山西农业大学)

编 者 张献龙(华中农业大学)
王庆亚(南京农业大学)
巩振辉(西北农林大学)
张成合(河北农业大学)
宋 明(西南农业大学)
翟 红(中国农业大学)
高遐虹(北京农学院)
范双喜(北京农学院)

审 稿 戴景瑞 院士

第 2 版编者

主 编 刘庆昌(中国农业大学)
吴国良(河南农业大学)

编 者 张献龙(华中农业大学)
巩振辉(西北农林大学)
张成合(河北农业大学)
宋 明(西南大学)
郭仰东(中国农业大学)
周立刚(中国农业大学)
翟 红(中国农业大学)
范双喜(北京农学院)
高遐虹(北京农学院)
孙世海(天津农学院)

审 稿 戴景瑞 院士

目 录

1 绪论	1
1.1 植物细胞组织培养的一般概念	1
1.2 植物细胞组织培养的发展简史	2
1.2.1 探索阶段	2
1.2.2 奠基阶段	3
1.2.3 迅速发展阶段	3
1.3 植物细胞组织培养在农业中的应用	5
1.3.1 在植物育种上的应用	5
1.3.2 在植物脱毒和离体快繁上的应用	5
1.3.3 在次生代谢产物生产上的应用	6
1.3.4 在植物种质资源保存和交换上的应用	6
1.3.5 在遗传、生理、生化、病理等研究上的应用	6
复习题	6
2 植物细胞组织培养的基本技术	7
2.1 基本设备	7
2.1.1 准备室	7
2.1.2 无菌操作室(区)	7
2.1.3 培养室	8
2.1.4 用具	9
2.1.5 小型器具	13
2.1.6 仪器	15
2.2 培养基	17
2.2.1 培养基的主要成分	26
2.2.2 培养基的制备	28
2.3 外植体	31
2.3.1 外植体的种类	31
2.3.2 外植体的消毒	33
2.3.3 外植体的培养	34
2.4 培养条件	37
2.4.1 温度	37
2.4.2 光照	37
2.4.3 通气	38
2.4.4 湿度	38
2.5 继代培养	38

2.5.1	继代培养	38
2.5.2	体细胞无性系变异	39
2.5.3	玻璃化	39
	复习题	40
3	植物组织器官培养	41
3.1	器官形成	41
3.1.1	概念	41
3.1.2	愈伤组织诱导	41
3.1.3	器官分化	43
3.1.4	外植体的器官发生途径	45
3.1.5	影响器官分化的因素	46
3.1.6	试管苗的驯化	48
3.2	体细胞胚胎发生	48
3.2.1	概念与特点	48
3.2.2	体细胞胚胎发生的途径及类型	51
3.2.3	体细胞胚胎发生的机制	53
3.2.4	影响体细胞胚胎发生的因素	53
3.3	胚培养	55
3.3.1	胚培养的意义	56
3.3.2	离体胚培养的发育方式	57
3.3.3	胚培养方法	58
3.4	胚乳培养	59
3.4.1	胚乳培养的意义	59
3.4.2	胚乳培养的方法	61
3.4.3	胚乳培养材料的倍性差异	62
3.5	离体授粉	62
3.5.1	离体授粉的概念	62
3.5.2	离体授粉的方法	63
3.5.3	影响离体授粉的因素	63
3.6	人工种子	65
3.6.1	人工种子的概念	65
3.6.2	人工种子的意义	65
3.6.3	人工种子的制作程序	66
3.6.4	人工种子的应用前景	68
	复习题	69
4	茎尖分生组织培养	70
4.1	茎尖分生组织培养的目的和应用	70
4.1.1	形态建成研究	70
4.1.2	无病株的生产	70
4.1.3	营养繁殖	71

4.1.4	育种中的应用	71
4.2	茎尖分生组织培养的方法	71
4.2.1	材料的准备	71
4.2.2	材料的消毒	72
4.2.3	组织片的分离	72
4.2.4	培养基	73
4.2.5	培养条件	73
4.3	脱毒苗的培育和病毒检测	74
4.3.1	脱毒苗的培育	74
4.3.2	病毒检测	78
4.4	几种主要植物的脱毒苗生产技术	81
4.4.1	马铃薯	81
4.4.2	甘薯	84
4.4.3	甘蔗	85
4.4.4	苹果	87
4.4.5	草莓	89
4.4.6	柑橘	91
4.4.7	香蕉	94
	复习题	96
5	单倍体细胞培养	97
5.1	单倍体的起源和遗传行为	98
5.1.1	单倍体的起源	98
5.1.2	单倍体的减数分裂行为	99
5.2	单倍体的应用价值	99
5.2.1	在植物育种中使后代迅速纯合	99
5.2.2	提高选择效率	100
5.2.3	排除杂种优势对后代选择的干扰	100
5.2.4	遗传研究的良好实验材料体系	100
5.2.5	突变体的筛选	101
5.2.6	消除致死基因	101
5.2.7	选育新型自交系	101
5.2.8	遗传转化的受体材料	101
5.2.9	基因表达研究的良好材料	101
5.3	离体培养条件下的小孢子发育	101
5.3.1	小孢子的正常发育	101
5.3.2	离体培养条件下的小孢子发育	102
5.4	花药培养	103
5.4.1	花药培养操作技术	103
5.4.2	影响花药培养的因素	105
5.4.3	逆境处理对小孢子胚胎发生的诱导作用	112

5.4.4	单倍体植株再生	113
5.4.5	单倍体植株的加倍处理	113
5.4.6	孤雄生殖诱导的分子机制	114
5.5	花粉(小孢子)培养	115
5.5.1	花粉培养与花药培养的比较	115
5.5.2	分离花粉的方法	116
5.5.3	花粉(小孢子)培养方法	117
5.5.4	影响花粉(小孢子)培养的因素	118
5.6	禾本科植物花药培养中的白化苗现象	119
5.7	从雌配子体诱导单倍体植株	120
5.8	单倍体细胞培养与植物育种	120
	复习题	122
6	细胞培养	123
6.1	单细胞的分离	123
6.1.1	由植物器官分离单细胞	123
6.1.2	由愈伤组织分离单细胞	124
6.2	单细胞培养	125
6.2.1	单细胞培养方法	125
6.2.2	影响单细胞培养的因素	128
6.3	细胞悬浮培养	130
6.3.1	培养方法	130
6.3.2	培养基	132
6.3.3	培养基的振荡	132
6.3.4	悬浮培养细胞的同步化	132
6.3.5	细胞增殖的测定	134
6.3.6	悬浮培养细胞的植株再生	134
6.3.7	影响细胞悬浮培养的因素	136
6.4	细胞培养的应用	139
6.4.1	筛选突变体	139
6.4.2	生产次生代谢产物	140
6.4.3	其他应用	140
	复习题	141
7	植物原生质体的分离和培养	142
7.1	原生质体培养的意义及研究进展	142
7.1.1	原生质体的概念	142
7.1.2	原生质体的性质	142
7.1.3	原生质体培养的意义	144
7.1.4	原生质体培养的研究进展	145
7.2	植物原生质体分离	148
7.2.1	原生质体分离的一般程序	148

7.2.2	原生质体供体的选择	149
7.2.3	原生质体分离的基本方法	150
7.2.4	原生质体的纯化	152
7.2.5	原生质体活力的测定	153
7.2.6	影响原生质体分离及活力的因素	154
7.3	植物原生质体培养	158
7.3.1	培养方法	158
7.3.2	培养基	160
7.3.3	植板密度	161
7.4	原生质体植株再生	162
7.4.1	细胞壁形成	162
7.4.2	细胞分裂和愈伤组织的形成	163
7.4.3	植株再生	163
7.4.4	原生质体再生植株的遗传变异及其利用	165
7.5	原生质体培养实例	165
7.5.1	水稻原生质体培养	165
7.5.2	小麦原生质体培养	166
7.5.3	玉米原生质体培养	167
7.5.4	棉花原生质体培养	168
7.5.5	大豆原生质体培养	169
7.5.6	油菜原生质体培养	170
7.5.7	马铃薯原生质体培养	171
7.5.8	苹果原生质体培养	171
7.5.9	菊花原生质体培养	173
7.5.10	药用植物原生质体培养	174
	复习题	175
8	体细胞杂交	176
8.1	原生质体融合	176
8.1.1	自发融合	176
8.1.2	诱发融合	177
8.2	杂种细胞的选择	181
8.2.1	细胞系互补的选择方法	181
8.2.2	利用物理特性差异的选择方法	182
8.2.3	依据生长特性差异的选择方法	183
8.3	杂种细胞培养和杂种植株再生	183
8.4	体细胞杂种的鉴定	184
8.4.1	形态学鉴定方法	184
8.4.2	细胞学鉴定方法	185
8.4.3	同工酶鉴定方法	185
8.4.4	分子生物学鉴定方法	186

8.5	原生质体融合类型	188
8.5.1	对称融合	188
8.5.2	非对称融合	189
8.5.3	配子-体细胞融合	190
8.5.4	亚原生质体-原生质体融合	190
8.6	体细胞杂种的核型	190
8.7	细胞质杂种	191
8.8	植物体细胞杂交技术的应用	192
8.8.1	用体细胞杂交合成植物新类型	193
8.8.2	用体细胞杂交创制植物育种新材料	193
8.8.3	用体细胞杂交培育植物雄性不育系和恢复系	194
8.9	通过原生质体摄入细胞器、微生物及外源 DNA	195
8.9.1	叶绿体移植	195
8.9.2	核移植	195
8.9.3	微生物移植	195
8.9.4	外源 DNA 的摄入	196
	复习题	196
9	体细胞无性系变异	197
9.1	体细胞无性系变异的来源及遗传基础	197
9.1.1	染色体数目变异	198
9.1.2	染色体结构变异	200
9.1.3	基因突变	200
9.1.4	DNA 扩增	200
9.1.5	转座子激活	200
9.1.6	DNA 甲基化	201
9.1.7	细胞质基因组的改变	201
9.2	影响体细胞无性系变异的因素	201
9.2.1	基因型	201
9.2.2	外植体	201
9.2.3	培养基	201
9.2.4	继代培养时间	202
9.2.5	温度	202
9.2.6	组织原有的倍数性	202
9.3	花粉植株中的倍数性变异	202
9.4	嵌合性	203
9.5	植株再生的遗传调控	203
9.6	后生变异	204
9.7	体细胞无性系变异的应用	204
9.7.1	为体细胞杂交提供选择标记	204
9.7.2	遗传代谢研究	205

9.7.3 作物遗传改良 205

9.8 体细胞突变体的筛选方法 207

9.8.1 直接选择法 207

9.8.2 间接选择法 207

9.8.3 选择程序 208

9.8.4 体细胞突变体筛选的特点 208

复习题 208

10 植物离体繁殖技术 209

10.1 果树离体繁殖技术 209

10.1.1 苹果离体繁殖技术 209

10.1.2 香蕉离体繁殖技术 211

10.1.3 枣离体繁殖技术 214

10.1.4 柿离体繁殖技术 216

10.1.5 葡萄离体繁殖技术 217

10.2 蔬菜离体繁殖技术 219

10.2.1 大白菜离体繁殖技术 219

10.2.2 石刁柏离体繁殖技术 221

10.2.3 无籽西瓜离体繁殖技术 222

10.2.4 大蒜离体繁殖技术 223

10.2.5 甘蓝离体繁殖技术 226

10.3 观赏植物离体繁殖技术 227

10.3.1 月季离体繁殖技术 227

10.3.2 兰花离体繁殖技术 230

10.3.3 杜鹃离体繁殖技术 233

10.3.4 康乃馨离体繁殖技术 234

10.3.5 唐菖蒲离体繁殖技术 236

10.4 林木离体繁殖技术 237

10.4.1 毛白杨离体繁殖技术 237

10.4.2 雪松离体繁殖技术 238

10.4.3 泡桐离体繁殖技术 239

10.4.4 杉木离体繁殖技术 240

10.4.5 翅荚木离体繁殖技术 241

10.5 药用植物离体繁殖技术 242

10.5.1 芦荟离体繁殖技术 242

10.5.2 水母雪莲离体繁殖技术 243

10.5.3 苦丁茶离体繁殖技术 244

10.5.4 宁夏枸杞离体繁殖技术 245

10.5.5 党参离体繁殖技术 246

复习题 247

11 种质离体保存	248
11.1 超低温保存.....	248
11.1.1 植物超低温保存的概念及意义.....	248
11.1.2 超低温保存的原理.....	249
11.1.3 超低温保存主要设备和基本操作程序.....	250
11.1.4 超低温保存材料的类型.....	250
11.1.5 超低温保存的方法与技术	252
11.1.6 冻后细胞活力、存活率及遗传性检测	258
11.1.7 提高冷冻后细胞或组织存活率的方法.....	261
11.2 低温保存.....	267
11.2.1 低温保存概况.....	267
11.2.2 低温保存方法与技术.....	267
11.2.3 低温保存的主要影响因素.....	271
11.2.4 存活率及遗传稳定性的鉴定.....	272
11.2.5 低温保存与超低温保存的比较.....	272
复习题.....	273
12 植物遗传转化	274
12.1 农杆菌介导法.....	274
12.1.1 转化原理.....	275
12.1.2 遗传转化的基本程序.....	278
12.1.3 转化方法.....	279
12.1.4 优缺点分析.....	281
12.2 基因枪法.....	281
12.2.1 原理.....	282
12.2.2 基本程序.....	282
12.2.3 转化方法.....	282
12.2.4 优缺点分析.....	283
12.3 植株原位真空渗入法.....	284
12.3.1 原理.....	284
12.3.2 基本程序.....	284
12.3.3 转化方法.....	285
12.3.4 优缺点分析.....	287
12.4 其他较常用的转化方法.....	287
12.4.1 电击法.....	287
12.4.2 聚乙二醇法.....	288
12.4.3 花粉管通道法.....	289
12.4.4 显微注射法.....	290
12.4.5 激光微束穿孔转化法.....	291
12.4.6 脂质体介导转化法.....	292
12.4.7 生殖细胞浸泡转化法.....	293

12.5	转基因植物鉴定	293
12.5.1	分子检测	293
12.5.2	生物学性状鉴定	297
12.6	转基因植物的安全性评价	297
12.6.1	对转基因技术进行安全性评价的必要性	298
12.6.2	转基因植物的环境安全性评价	298
12.6.3	对人类健康的安全性评价	301
	复习题	304
13	植物次生代谢产物生产	305
13.1	植物次生代谢产物的主要类型	305
13.1.1	酚类化合物	305
13.1.2	萜类化合物	306
13.1.3	含氮化合物	306
13.1.4	其他	306
13.2	植物次生代谢产物的生物合成途径	306
13.2.1	次生代谢产物生物合成的基本途径	307
13.2.2	生物碱的生物合成	307
13.2.3	香豆素的生物合成	308
13.2.4	黄酮类的生物合成	308
13.2.5	蒽醌类的生物合成	308
13.3	细胞系的筛选	308
13.3.1	高产培养系的筛选策略	309
13.3.2	高产细胞系培养	310
13.3.3	高产细胞系的筛选方法	311
13.3.4	诱变处理在高产细胞系筛选上的应用	314
13.3.5	高产细胞系的稳定性及保存	315
13.4	植物次生代谢产物的提取与分离纯化	315
13.4.1	细胞破碎	316
13.4.2	提取	316
13.4.3	沉淀分离	316
13.4.4	层析分离	317
13.4.5	萃取分离	317
13.4.6	结晶	317
13.4.7	浓缩与干燥	317
13.5	植物生物反应器	318
13.5.1	机械搅拌式反应器	318
13.5.2	气升式反应器	318
13.5.3	鼓泡式反应器	319
13.5.4	填充床式反应器	319
13.5.5	流化床式反应器	319

13.5.6 膜反应器.....	320
复习题.....	321
附表.....	322
附表1 植物细胞组织培养常用缩写词	322
附表2 植物细胞组织培养基常用化合物分子质量	323
附表3 主要元素原子质量	325
参考文献.....	326