



高职高专“十一五”规划教材

★ 农林牧渔系列

植物组培快繁技术

ZHIWU ZUPEI
KUAIFAN JISHU

邱运亮 段鹏慧 赵华 主编



化学工业出版社



高职高专“十一五”规划教材

★ 农林牧渔系列

植物组培快繁技术

ZHIWU ZUPEI
KUAIFAN JISHU

邱运亮 段鹏慧 赵华 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是高职高专“十一五”规划教材★农林牧渔系列之一。全书共九章。其主要内容有：组培快繁实验室、培养基及其配制、无菌技术、外植体的初代培养、继代增殖培养、生根与移栽、脱毒技术、组培苗工厂化生产、植物组培快繁技术实例。章前设有知识目标和技能目标，章后设有相应的技能训练项目，以突出其职业技能训练和生产应用。41个植物组培快繁技术实例，分别介绍了林木与园林树木、药用植物、果蔬、花卉和一些经济作物的组培快繁技术。教材内容由浅入深、简明扼要、实用性强。

本书可作为高职高专园林、园艺、生物、林学等相关专业的教材，也可供从事植物组培快繁技术的工作人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

植物组培快繁技术/邱运亮,段鹏慧,赵华主编. —北京:
化学工业出版社, 2010.2

高职高专“十一五”规划教材★农林牧渔系列

ISBN 978-7-122-07548-2

I. 植… II. ①邱…②段…③赵…, III. ①植物-组织培养-
高等学校: 技术学院-教材②植物-繁殖-高等学校: 技术学院-
教材 IV. Q94

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 004622 号

责任编辑: 李植峰 梁静丽 郭庆睿
责任校对: 战河红

装帧设计: 史利平

出版发行: 化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011)

印刷: 北京云浩印刷有限责任公司

装订: 三河市前程装订厂

787mm×1092mm 1/16 印张11 $\frac{3}{4}$ 字数288千字 2010年2月北京第1版第1次印刷

购书咨询: 010-64518888(传真: 010-64519686) 售后服务: 010-64518899

网 址: <http://www.cip.com.cn>

凡购买本书, 如有缺损质量问题, 本社销售中心负责调换。

定 价: 24.00 元

版权所有 违者必究

“高职高专‘十一五’规划教材★农林牧渔系列” 建设委员会成员名单

主任委员 介晓磊

副主任委员 温景文 陈明达 林洪金 江世宏 荆宇 张晓根
窦铁生 何华西 田应华 吴健 马继权 张震云

委员 (按姓名汉语拼音排列)

边静玮	陈桂银	陈宏智	陈明达	陈涛	邓灶福	窦铁生	甘勇辉	高婕	耿明杰
官麟丰	谷凤柱	郭桂义	郭永胜	郭振升	郭正富	何华西	胡繁荣	胡克伟	胡孔峰
胡天正	黄绿荷	江世宏	姜文联	姜小文	蒋艾青	介晓磊	金伊洙	荆宇	李纯
李光武	李彦军	梁学勇	梁运霞	林伯全	林洪金	刘俊栋	刘莉	刘蕊	刘淑春
刘万平	刘晓娜	刘新社	刘奕清	刘政平	卢颖	马继权	倪海星	欧阳素贞	潘开宇
潘自舒	彭宏	彭小燕	邱运亮	任平	商世能	史延平	苏允平	陶正平	田应华
王存兴	王宏	王秋梅	王水琦	王晓典	王秀娟	王燕丽	温景文	吴昌标	吴健
吴郁魂	吴云辉	武模戈	肖卫苹	肖文左	解相林	谢利娟	谢拥军	徐苏凌	徐作仁
许开录	闫慎飞	颜世发	燕智文	杨玉珍	尹秀玲	于文越	张德炎	张海松	张晓根
张玉廷	张震云	张志轩	赵晨霞	赵华	赵先明	赵勇军	郑继昌	周晓舟	朱学文

“高职高专‘十一五’规划教材★农林牧渔系列” 编审委员会成员名单

主任委员 蒋锦标

副主任委员 杨宝进 张慎举 黄瑞 杨廷桂 胡虹文 张守润
宋连喜 薛瑞辰 王德芝 王学民 张桂臣

委员 (按姓名汉语拼音排列)

艾国良	白彩霞	白迎春	白永莉	白远国	柏玉平	毕玉霞	边传周	卜春华	曹晶
曹宗波	陈传印	陈杭芳	陈金雄	陈环	陈盛彬	陈现臣	程冉	褚秀玲	崔爱萍
丁玉玲	董义超	董曾施	段鹏慧	范洲衡	方希修	付美云	高凯	高梅	高志花
弓建国	顾成柏	顾洪娟	关小变	韩建强	韩守学	何海健	何英俊	胡凤新	胡虹文
胡辉	胡石柳	黄瑞	黄修奇	吉梅	纪守国	纪瑛	蒋锦标	鞠志新	李碧全
李刚	李继连	李军	李雷斌	李林春	梁本学	梁称福	梁俊荣	林新	林仲桂
刘革利	刘广文	刘丽云	刘贤忠	刘欣	刘振华	刘振湘	刘宗亮	柳遵新	龙冰雁
罗玲	潘琦	潘一展	邱深本	任国栋	阮国荣	申庆全	石冬梅	史兴山	史雅静
宋连喜	孙克威	孙雄华	孙志浩	唐建勋	唐晓玲	陶令霞	田伟	田政字	田文儒
汪玉琳	王爱华	王朝霞	王大来	王道国	王德芝	王立军	王立军	王孟琢	王双山
王铁岗	王文焕	王新军	王运海	王学民	王艳立	王云惠	王中瑞	吴俊建	吴琼峰
吴占福	吴中军	肖尚修	熊学敏	徐公志	徐占云	许美解	薛瑞	羊建	杨宝进
杨平科	杨廷桂	杨卫琼	杨元根	杨志玲	杨治春	姚志刚	易怀	张希	于承庆
于显威	袁亚芳	曾饶琼	曾元欣	战忠	张新明	张桂荣	张怀	张希	张庆霞
张慎举	张守润	张响	张	张	张	张	张	张	郑翠芝
周显忠	朱雅安	卓开荣							

“高职高专‘十一五’规划教材★农林牧渔系列”建设单位

(按汉语拼音排列)

- | | | |
|-----------------|---------------|----------------|
| 安阳工学院 | 河西学院 | 青海畜牧兽医职业技术学院 |
| 保定职业技术学院 | 黑龙江农业工程职业学院 | 曲靖职业技术学院 |
| 北京城市学院 | 黑龙江农业经济职业学院 | 日照职业技术学院 |
| 北京林业大学 | 黑龙江农业职业技术学院 | 三门峡职业技术学院 |
| 北京农业职业学院 | 黑龙江生物科技职业学院 | 山东科技职业学院 |
| 本钢工学院 | 黑龙江畜牧兽医职业学院 | 山东理工职业学院 |
| 滨州职业学院 | 呼和浩特职业学院 | 山东省贸易职工大学 |
| 长治学院 | 湖北生物科技职业学院 | 山东省农业管理干部学院 |
| 长治职业技术学院 | 湖南怀化职业技术学院 | 山西林业职业技术学院 |
| 常德职业技术学院 | 湖南环境生物职业技术学院 | 商洛学院 |
| 成都农业科技职业学院 | 湖南生物机电职业技术学院 | 商丘师范学院 |
| 成都市农林科学院园艺研究所 | 吉林农业科技学院 | 商丘职业技术学院 |
| 重庆三峡职业学院 | 集宁师范高等专科学校 | 深圳职业技术学院 |
| 重庆水利电力职业技术学院 | 济宁市高新技术开发区农业局 | 沈阳农业大学 |
| 重庆文理学院 | 济宁市教育局 | 沈阳农业大学高等职业技术学院 |
| 德州职业技术学院 | 济宁职业技术学院 | 苏州农业职业技术学院 |
| 福建农业职业技术学院 | 嘉兴职业技术学院 | 温州科技职业学院 |
| 抚顺师范高等专科学校 | 江苏联合职业技术学院 | 乌兰察布职业学院 |
| 甘肃农业职业技术学院 | 江苏农林职业技术学院 | 厦门海洋职业技术学院 |
| 广东科贸职业学院 | 江苏畜牧兽医职业技术学院 | 仙桃职业技术学院 |
| 广东农工商职业技术学院 | 金华职业技术学院 | 咸宁学院 |
| 广西百色市水产畜牧兽医局 | 晋中职业技术学院 | 咸宁职业技术学院 |
| 广西大学 | 荆楚理工学院 | 信阳农业高等专科学校 |
| 广西职业技术学院 | 荆州职业技术学院 | 延安职业技术学院 |
| 广州城市职业学院 | 景德镇高等专科学校 | 杨凌职业技术学院 |
| 海南大学应用科技学院 | 丽水学院 | 宜宾职业技术学院 |
| 海南师范大学 | 丽水职业技术学院 | 永州职业技术学院 |
| 海南职业技术学院 | 辽东学院 | 玉溪农业职业技术学院 |
| 杭州万向职业技术学院 | 辽宁科技学院 | 岳阳职业技术学院 |
| 河北北方学院 | 辽宁农业职业技术学院 | 云南农业职业技术学院 |
| 河北工程大学 | 辽宁医学院高等职业技术学院 | 云南热带作物职业学院 |
| 河北交通职业技术学院 | 辽宁职业学院 | 云南省曲靖农业学校 |
| 河北科技师范学院 | 聊城大学 | 云南省思茅农业学校 |
| 河北省现代农业高等职业技术学院 | 聊城职业技术学院 | 张家口教育学院 |
| 河南科技大学林业职业学院 | 眉山职业技术学院 | 漳州职业技术学院 |
| 河南农业大学 | 南充职业技术学院 | 郑州牧业工程高等专科学校 |
| 河南农业职业学院 | 盘锦职业技术学院 | 郑州师范高等专科学校 |
| | 濮阳职业技术学院 | 中国农业大学 |
| | 青岛农业大学 | |

《植物组培快繁技术》编写人员

主 编 邱运亮 (湖南环境生物职业技术学院)

段鹏慧 (山西林业职业技术学院)

赵 华 (金华职业技术学院)

副主编 鞠志新 (吉林农业科技学院)

余慧琳 (商丘职业技术学院)

卢 娟 (沈阳农业大学高等职业技术学院)

参编人员 (按姓名汉语拼音排列)

陈立德 (邵阳学院)

段鹏慧 (山西林业职业技术学院)

范 适 (湖南环境生物职业技术学院)

范淑芳 (荆楚理工学院)

何艳东 (辽宁农业职业技术学院)

黄芳薇 (海南职业技术学院)

黄 靖 (福建农业职业技术学院)

黄绿荷 (永州职业技术学院)

江克清 (福建农业职业技术学院)

鞠志新 (吉林农业科技学院)

卢 娟 (沈阳农业大学高等职业技术学院)

邱运亮 (湖南环境生物职业技术学院)

王洪习 (濮阳职业技术学院)

杨贵兰 (长治职业技术学院)

叶添谋 (韶关学院)

余慧琳 (商丘职业技术学院)

张朝阳 (长沙环境保护职业技术学院)

赵 华 (金华职业技术学院)

赵 军 (宜宾科技学院)

序

当今,我国高等职业教育作为高等教育的一个类型,已经进入到以加强内涵建设,全面提高人才培养质量为主旋律的发展新阶段。各高职高专院校针对区域经济社会的发展与行业进步,积极开展新一轮的教育教学改革。以服务为宗旨,以就业为导向,在人才培养质量工程建设的各个侧面加大投入,不断改革、创新和实践。尤其是在课程体系与教学内容改革上,许多学校都非常关注利用校内、校外两种资源,积极推动校企合作与工学结合,如邀请行业企业参与制定培养方案,按职业要求设置课程体系;校企合作共同开发课程;根据工作过程设计课程内容和改革教学方式;教学过程突出实践性,加大生产性实训比例等,这些工作主动适应了新形势下高素质技能型人才培养的需要,是落实科学发展观、努力办人民满意的高等职业教育的主要举措。教材建设是课程建设的重要内容,也是教学改革的重要物化成果。教育部《关于全面提高高等职业教育教学质量的若干意见》(教高[2006]16号)指出“课程建设与改革是提高教学质量的核心,也是教学改革的重点和难点”,明确要求要“加强教材建设,重点建设好3000种左右国家规划教材,与行业企业共同开发紧密结合生产实际的实训教材,并确保优质教材进课堂”。目前,在农林牧渔类高职院校中,教材建设还存在一些问题,如行业变革较大与课程内容老化的矛盾、能力本位教育与学科型教材供应的矛盾、教学改革加快推进与教材建设严重滞后的矛盾、教材需求多样化与教材供应形式单一的矛盾等。随着经济发展、科技进步和行业对人才培养要求的不断提高,组织编写一批真正遵循职业教育规律和行业生产经营规律、适应职业岗位群的职业能力要求和高素质技能型人才培养的要求、具有创新性和普适性的教材将具有十分重要的意义。

化学工业出版社为中央级综合科技出版社,是国家规划教材的重要出版基地,为我国高等教育的发展做出了积极贡献,曾被新闻出版总署领导评价为“导向正确、管理规范、特色鲜明、效益良好的模范出版社”,2008年荣获首届中国出版政府奖——先进出版单位奖。近年来,化学工业出版社密切关注我国农林牧渔类职业教育的改革和发展,积极开拓教材的出版工作,2007年底,在原“教育部高等学校高职高专农林牧渔类专业教学指导委员会”有关专家的指导下,化学工业出版社邀请了全国100余所开设农林牧渔类专业的高职高专院校的骨干教师,共同研讨高等职业教育新阶段教学改革中相关专业教材的建设工作,并邀请相关行业企业作为教材建设单位参与建设,共同开发教材。为做好系列教材的组织建设与指导服务工作,化学工业出版社聘请有关专家组建了“高职高专‘十一

五’规划教材★农林牧渔系列建设委员会”和“高职高专‘十一五’规划教材★农林牧渔系列编审委员会”，拟在“十一五”期间组织相关院校的一线教师和相关企业的技术人员，在深入调研、整体规划的基础上，编写出版一套适应农林牧渔类相关专业教育的基础课、专业课及相关外延课程教材——“高职高专‘十一五’规划教材★农林牧渔系列”。该套教材将涉及种植、园林园艺、畜牧、兽医、水产、宠物等专业，于2008~2009年陆续出版。

该套教材的建设贯彻了以职业岗位能力培养为中心，以素质教育、创新教育为基础的教育理念，理论知识“必需”、“够用”和“管用”，以常规技术为基础，关键技术为重点，先进技术为导向。此套教材汇集众多农林牧渔类高职院校教师的教学经验和教改成果，又得到了相关行业企业专家的指导和积极参与，相信它的出版不仅能较好地满足高职高专农林牧渔类专业的教学需求，而且对促进高职高专专业建设、课程建设与改革、提高教学质量也将起到积极的推动作用。希望有关教师和行业企业技术人员，积极关注并参与教材建设。毕竟，为高职高专农林牧渔类专业教育教学服务，共同开发、建设出一套优质教材是我们共同的责任和义务。

介晓磊

2008年10月

前言

植物组织培养技术是自德国植物生理学家 Haberlandt (1902) 提出细胞全能性理论以来, 经过无数科学家 100 余年的科研与实践, 才逐步发展形成的一套较为完整的技术体系, 现已成为生物工程的重要组成部分。其应用前景广阔, 这已为近年来日益增多的生产应用实践所证实。在植物组织培养的各种技术中, 其中组培快繁是目前应用最多、最广泛和最有成效的一种实用技术, 如桉树、兰花、香蕉、甘蔗、葡萄、草莓等已进行工厂化大规模商品化生产, 并产生了巨大的经济效益。

基于植物组织培养技术迅速发展及应用范围的不断扩大, 根据花卉企业、果蔬生产基地、种苗公司等企业的需要, 各高职高专院校的园林、园艺、林学、农学等专业均开设了植物组织培养课程, 主要讲授植物组培快繁技术。

为了提高教学质量, 满足行业的需求, 为生产一线培养高素质技能型人才, 我们十几所院校的教师根据多年来的组培教学经验和科研实践, 共同组织编写了《植物组培快繁技术》一书, 侧重试管苗的快速繁殖, 旨在介绍利用组织培养技术, 快速繁殖“名、优、特、新、稀”等植物品种的方法和技术, 力求言简意赅, 可操作性强。

本书绪论、第一章至第八章扼要地介绍植物组培快繁技术的形成及基本理论, 详细叙述了组培快繁的各种技术、实验方法、技能操作和组培快繁过程中应注意的问题及解决的措施; 第九章植物组培快繁技术实例, 重点介绍利用组培技术快速繁殖林木、园林树木、果蔬、花卉和药用植物及一些经济作物的方法、步骤和技术要点, 可操作性强, 有较强的实用价值。

本书可作为高职高专院校园林、园艺、林学、农学、生物技术等专业的植物组培快繁技术教材, 也可供从事植物组培快繁技术的工作人员及科研人员参考。

本书在编写过程中, 首先由邱运亮教授拟订出编写提纲及内容框架, 经广泛征求各位参编老师的意见后, 在达成共识的基础上着手编写。参加本书编写的有湖南环境生物职业技术学院、山西林业职业技术学院、金华职业技术学院、商丘职业技术学院、沈阳农业大学高等职业技术学院、吉林农业科技学

院、濮阳职业技术学院、永州职业技术学院、福建农业职业技术学院、宜宾职业技术学院、荆楚理工学院、长沙环境保护职业技术学院、长治职业技术学院、邵阳学院、韶关学院、海南职业技术学院、辽宁农业职业技术学院等 17 所高校的 19 位教师。编写的初稿由邱运亮、段鹏慧、赵华、鞠志新等同志分别进行适当修改补充，最后由邱运亮同志统稿。

本书的编写得到了化学工业出版社和参编院校领导的大力支持和指导，同时参考了相关教学科研人员的文献资料和研究成果，在此谨表示衷心的感谢！

由于编者水平有限，经验不足，时间也仓促，书中难免有遗漏之处，恳请科教界前辈、同仁和广大读者批评指正，以便今后修改和补充。

编 者

2010 年 1 月

目 录

绪论	001
一、植物组培快繁技术的概念	001
二、植物组培快繁的理论依据	002
三、植物组培快繁体系的形成	002
四、植物组培快繁的培养程序	004
五、植物组培快繁技术的应用	004
第一章 植物组培快繁实验室	007
第一节 组培快繁实验室的设置	007
一、实验室的设置要求	007
二、实验室的组成	008
第二节 植物组培快繁常用仪器设备	010
一、电子分析天平和托盘天平	010
二、高压灭菌锅	012
三、烘箱	012
四、酸度计	012
五、超净工作台	013
六、光照培养箱	013
七、电蒸馏水器	013
八、其他仪器设备	014
第三节 必要的器皿及器械	014
一、玻璃器皿	014
二、金属器械	015
【本章小结】	016
【思考题】	016
[技能训练 1-1] 参观植物组培快繁实训室	016
第二章 培养基及其配制	018
第一节 培养基的种类	018
第二节 培养基的成分及作用	019
一、无机营养物	019
二、有机营养成分	019
三、植物生长调节物质	020
四、琼脂	021
五、活性炭	021
第三节 常用培养基的配方及其特点	021
一、几种常用培养基的配方	021
二、几种常用培养基的特点	025
第四节 培养基的选择	026
第五节 培养基的配制	027
一、母液的配制和保存	027
二、培养基配制程序	029
【本章小结】	030
【思考题】	030
[技能训练 2-1] MS 培养基母液的配制	030
[技能训练 2-2] 固体培养基的配制	032
第三章 无菌技术	034
第一节 无菌室的灭菌	034
第二节 外植体、培养基和器具的灭菌	034
一、培养基的灭菌	034
二、特殊药品的灭菌	035
三、器皿(具)灭菌	036
四、外植体的灭菌(消毒)	037
第三节 洗涤技术	039
第四节 无菌操作技术	040
一、检验无菌室空气污染状况	041
二、无菌操作方法及要求	041

三、无菌操作程序	042	【思考题】	042
【本章小结】	042	[技能训练 3-1] 外植体的灭菌与接种	043
第四章 外植体的初代培养	045		
第一节 初代培养的概念及关键技术		二、茎、芽的培养	049
要求	045	三、叶的培养	050
第二节 外植体的选择及接种	046	第四节 初代培养应注意的问题	051
一、外植体的类型	046	一、菌类污染	051
二、外植体的选择条件	046	二、褐变现象	053
三、外植体的接种	047	【本章小结】	054
第三节 营养器官的初代培养	048	【思考题】	055
一、根的培养	048	[技能训练 4-1] × × 植物的初代培养	055
第五章 继代增殖培养	057		
第一节 试管苗的繁殖	057	一、玻璃化现象	061
一、试管苗快速繁殖的类型	057	二、驯化现象	062
二、提高增殖率的方法	058	三、分化再生能力衰退现象	063
三、转接操作的技术要求	059	【本章小结】	065
四、继代培养计划的制定	060	【思考题】	065
第二节 继代增殖培养应注意的问题	061	[技能训练 5-1] 组培苗转瓶技术操作	065
第六章 试管苗的生根与移栽	067		
第一节 试管苗的生根	067	二、提高移栽成活率的技术和措施	075
一、试管内生根	067	【本章小结】	078
二、试管外生根	071	【思考题】	079
第二节 试管苗的移栽技术	074	[技能训练 6-1] 试管苗的生根培养	079
一、试管苗移栽难以成活的原因	074	[技能训练 6-2] 试管苗的驯化和移栽	080
第七章 植物脱毒技术	082		
第一节 植物脱毒的意义	082	三、抗血清鉴定法	091
第二节 植物脱毒的方法	083	四、免疫电镜吸附鉴定法	092
一、热处理脱毒	083	五、酶联免疫吸附鉴定法	092
二、微茎尖脱毒培养	085	六、脱毒苗农艺性状的鉴定	092
三、微体嫁接脱毒	088	第四节 无病毒苗的保存与繁殖应用	093
四、其他脱毒方法	089	一、无病毒原种的保存	093
第三节 脱毒苗的鉴定	089	二、无病毒原种的应用	093
一、直接观察鉴定法	089	【本章小结】	094
二、指示植物鉴定法(生物学鉴定法)	089	【思考题】	094
第八章 组培苗工厂化生产	095		
第一节 快繁工厂化生产的主要设施和设备	095	第三节 快繁工厂化生产技术	098
一、组培快繁常用设施和设备	095	一、品种选育和母株培育	098
二、保护栽培设施	096	二、离体快繁组培基本苗	098
三、试管苗移栽设施和设备	096	三、组培苗的移栽驯化	098
第二节 快繁工厂化生产的工艺流程	097	四、苗木传送和运输	103
		五、苗木质量检测	104

第四节 快繁工厂化生产机构设置及 各部门岗位职责	104	三、生根诱导	108
一、生产部	105	四、生产计划	108
二、质量检验部	106	第六节 组培苗的生产成本与经济效益	
三、技术开发部	106	概算	110
四、市场营销部	107	一、直接生产成本	110
五、物资供应与后勤保障部	107	二、固定资产(厂房、设备及设备 维修等)折旧	110
第五节 组培快繁的影响因素及生产 计划	107	三、市场营销和经营管理开支	110
一、培养基的需要量	107	四、组培苗的增值	111
二、继代增殖系数和继代周期	107	【本章小结】	111
		【思考题】	112
第九章 植物组培快繁技术实例	113		
第一节 林木及园林树木组培快繁技术	113	十八、马蹄莲的组培快繁技术	146
一、桉树的组培快繁技术	113	十九、满天星的组培快繁技术	147
二、杨属植物的组培快繁技术	117	第三节 药用植物组培快繁技术	148
三、翅荚木的组培快繁技术	120	一、库拉索芦荟的组培快繁技术	148
四、樱花的组培快繁技术	121	二、人参的组培快繁技术	149
五、紫叶石楠的组培快繁技术	122	三、怀山药的组培快繁技术	151
第二节 花卉组培快繁技术	123	四、台湾金线莲的组培快繁技术	152
一、非洲紫罗兰的组培快繁技术	123	五、金银花的组培快繁技术	153
二、蝴蝶兰的组培快繁技术	124	六、罗汉果的组培快繁技术	153
三、大花蕙兰的组培快繁技术	126	七、丹参的组培快繁技术	154
四、红掌的组培快繁技术	127	第四节 果蔬组培快繁技术	155
五、球根秋海棠的组培快繁技术	129	一、火龙果的组培快繁技术	155
六、“金娃娃”萱草的组培快繁技术	130	二、金柑的组培快繁技术	157
七、八仙花的组培快繁技术	131	三、食用仙人掌的组培快繁技术	158
八、重瓣矮牵牛的组培快繁技术	132	四、茄子的组织培养技术	159
九、墨兰的组培快繁技术	133	五、木枣的组培快繁技术	160
十、非洲菊的组培快繁技术	134	六、美国叶用莴苣的组培快繁技术	161
十一、百合的组培快繁技术	135	第五节 经济作物组培快繁技术	162
十二、香石竹的组培快繁技术	137	一、甜瓜的组培快繁技术	162
十三、月季的组培快繁技术	139	二、马铃薯的脱毒快繁技术	163
十四、牡丹的组培快繁技术	140	三、油菜的组织培养和试管内开花	166
十五、铺地锦的组培快繁技术	142	四、食用甘蔗的脱毒和组培快繁技术	167
十六、龟背竹的组培快繁技术	142	【本章小结】	169
十七、杜鹃的组培快繁技术	144	【思考题】	169
附录	170		
附录 1 培养物的不良表现、可能原因及 改进措施	170	附录 4 常用术语中英文对照	173
附录 2 常用植物生长激素浓度单位 换算表	171	附录 5 蒸汽压力与蒸汽温度对应表	174
附录 3 常用英文缩略语	171	附录 6 酒精稀释, 稀酸稀碱的配制方法	174
		附录 7 常用生长调节物质、维生素、 糖类的主要功能	174
参考文献	175		

绪 论

一、植物组培快繁技术的概念

植物组培快繁技术就是利用植物组织培养技术,快速繁殖“名、优、特、新、稀”等植物品种,使其在短时间内繁衍大量植株的一套技术与方法,又叫植物离体快繁技术或试管快繁技术。而植物组织培养(plant tissue culture)是指在无菌条件下,将植物的任何器官、组织、细胞或原生质体,培养在人工配制的培养基上,并给予适当的培养条件,使其生长分化形成完整植株的过程。人们把从活体植株上切取下来以进行培养的那一部分,如植物组织或器官叫外植体(explant)。根据所培养的外植体不同,植物组织培养可分为:①器官培养,指以植物的根、茎、叶、花、果等器官为外植体的离体培养技术;②组织培养,指以分离出植物各部位的组织(如分生组织、形成层、木质部、韧皮部、表皮等),或已诱导的愈伤组织为外植体的离体培养技术,这是狭义的组织培养;③胚胎培养,指以胚株中分离出来的成熟或未成熟胚为外植体的离体培养技术;④细胞培养,指以单个的游离细胞(如用果胶酶从组织中分离的体细胞,或花粉细胞、卵细胞)为外植体的离体培养技术;⑤原生质体培养,指以除去细胞壁的原生质体为外植体的离体培养技术。由于所培养的外植体均脱离了植物本身的母体,在试管内进行培养,故叫离体培养(culture *in vitro*)或试管培养(in test-tube culture)。根据植物组织培养过程,将从植物体(母体)上分离下来的那一部分所进行的第一次培养,称为初代培养(primary culture);而将初代培养物转移到新的培养基中进行继续培养,以扩大繁殖,则称为继代培养(subculture)或增殖培养。继代增殖培养是植物组培快繁的关键,它决定该技术能否应用于生产。

由于植物组培快繁技术及其理论研究的不断深入,其已成为生物工程中的重要组成部分,是当前植物细胞工程中应用最广泛、最有成效的方法之一。植物组培快繁具备以下特点。

(1) 取材少,培养物经济 因为植物每个细胞都具有发育形成完整植株的潜在能力,故单个细胞、小块组织或器官的一部分,经适当培养就可再生完整植株,在植物组培快繁中只需取10mm左右或几毫米甚至不到1mm大小的材料作为外植体,如非洲紫罗兰取1个叶片,经过3个月左右的培养就可获得5000株苗。

(2) 培养条件可人为控制 在植物组培快繁中,培养物完全是在人为提供的培养基及小气候环境条件下进行培养的,摆脱了大自然中四季及昼夜变化,更不会受灾害性气候等不利因素的影响,且条件均一,对植物生长发育有利,便于稳定地进行周年性生产。

(3) 生长周期短,繁殖率高 由于植物组培可人为控制培养条件,根据不同植物、不同离体部位的不同要求而提供不同的培养条件,因此其生长繁殖快,往往1~2个月即为一生长周期。每年以千百万的速度繁殖其后代,比常规繁殖方法快万倍到数十万倍。所以,虽然植物组培快繁需要一定的设备及能源消耗,但由于其培养物能按几何级数大量繁殖,其生产成本低廉,利于工厂化大规模生产,并能及时提供规格整齐一致的优质、无病毒植物种苗。

(4) 管理方便, 有利自动化控制 植物组培快繁是在一定的培养场所环境下, 人为提供适宜的温度、光照、湿度、营养、激素等条件, 进行高度集约化的高密度科学培养生产, 与盆栽、田间栽培等相比较, 省去了中耕除草、浇水施肥、防治病虫等一系列繁杂劳动, 可以大大节省人力、物力及田间种植所需要的土地, 且有利于进行自动化大规模控制生产。

学习植物组培快繁原理和技术, 就是为了掌握这一门实用技术; 以植物组织培养的理论作指导, 运用其技术快速繁殖“名、优、特、新”等品种和珍稀濒危植物, 培育无病毒植株, 加速育种进程, 保存种质资源及次生代谢物的生产, 提高植物生产技术水平, 满足人们的需求, 为人类造福, 为发展我国经济建设、加速农林科学现代化服务。

二、植物组培快繁的理论依据

植物组培快繁技术是建立于植物细胞全能性学说的理论基础上, 经过科学家们 100 余年的科研与实践, 逐步发展形成一套较为完整的技术体系。所谓细胞全能性, (totipotency), 就是指任何具有完整的细胞核的植物细胞, 都拥有一个完整植株所必需的全部遗传信息, 这些信息在特定的环境条件下可进行表达, 形成完整植株。简言之, 植物体的每个细胞, 都具有发育成为完整植株的潜在能力。

那么在完整植株中, 根、茎、叶、花等器官的细胞全能性为何不能表达出来呢? 譬如说叶片在其植株中就不能产生出完整植株来。可见细胞全能性只是一种可能性, 要把这种可能性变为现实性必须满足以下两个条件: 一是必须使这一部分细胞处于离体的条件下, 也就是把这些细胞从植物母体其余部分的抑制性影响下解脱出来, 从而解除母体其余部分对它的束缚控制; 二是要给予它们适当的刺激, 即给予它们适宜的营养物质, 并使它们受到一定激素的刺激作用。可见, 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。

植物细胞只要具有一个完整的膜系统和一个具有生命力的核, 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, 当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, 继而形成一种高度液泡化的呈无定形态的薄壁细胞, 则为愈伤组织 (callus)。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则为脱分化 (differentiation)。将脱分化形成的无定形的愈伤组织再转移到分化培养基上进行培养, 又会重新分化出根、茎、叶, 从而长成完整小植株, 这个过程则称为再分化 (redifferentiation)。

其过程如图 0-1 所示。

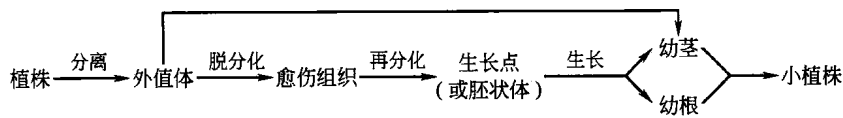


图 0-1 植物组织培养过程

三、植物组培快繁体系的形成

1902 年, 在德国植物学家 Schleiden 和动物学家 Schwann (1839) 所发展起来的细胞学说的推动下, 德国植物生理学家 Haberlandt 提出了高等植物的器官和组织可以不断地分割, 直至分到单个细胞的观点, 这单个细胞是具有潜在的全能性功能单位。为了论证这一观点, 他首次进行了高等植物细胞的离体培养实验, 选用小野芝麻和凤眼兰的栅栏组织和虎眼万年

青属植物的表皮等细胞进行培养,限于当时的技术水平和设备条件,培养虽没有成功,但却对植物组织培养的发展起到了先导作用。1922年, Haberlandt 的学生 Kotte 和美国的 Robbins 分别获得植物离体根尖培养的某些成功,其根能在培养基中生长很长的一段时间,并能进行继代培养。1934年,美国的 White 由番茄根建立了第一个活跃生长的无性系,从而使得根的离体培养实验首次获得了成功。1934年,法国 Gautheret 报道了培养山毛榉·黑杨的形成层时,可以连续几个月增长;随后,1937~1938年在培养柳树的培养基中,加入吲哚乙酸 (IAA) 和 B 族维生素等生长因素,结果使得柳树形成层的生长大为增加。与此同时,法国的 Nobecourt 培养胡萝卜根和马铃薯的块茎薄壁组织时,也成功获得细胞增殖。Gautheret 以胡萝卜根作为外植体来培养,也得到成功。1939年,White 报道烟草种间杂种幼茎切段原形成层组织的培养,也成功获得继代培养。由于 White、Gautheret 和 Nobecourt 等科学家杰出的工作和发现,初步建立起了植物组织培养的基本方法,成为以后进行各种植物组培快繁的基本技术。因此,White、Gautheret 和 Nobecourt 一起被誉为世界植物组织培养的奠基人;而 White 被誉为“植物组织培养之父”。

1944年,美国的 Skoog 用烟草愈伤组织研究器官发生,他观察到生长素对根的促进作用,同时对芽的形成也有抑制作用,而这种抑制作用可部分地为有机磷酸盐和蔗糖所克服。1948年, Skoog 和崔徽在烟草茎切段和髓的培养及其器官形成的研究中,发现腺嘌呤或腺苷可以解除培养基中生长素 IAA 对芽的抑制作用,而使烟草茎段诱导形成芽,从而确定了腺嘌呤/生长素的比例是控制芽和根形成的主要因素之一。1955年, Miller 和 Skoog 在鲱鱼精子提取物中发现激动素,它能促进芽的形成,效果比腺嘌呤增强约 3 万倍。1957年, Skoog 和他的同事又发现了生长素与激动素不同配比对植物生长和分化的作用,即激动素/生长素的比例高,则形成芽,而比例低则形成根。在植物离体培养中,从此建立起了器官分化的激素配比模式。这一规律的发现,不仅在植物离体培养中具有极其重要意义,而且揭示了植物生长发育生理学中的一个奥秘。

1958年,在美国工作的英国人 Steward 等和德国的 Reinert 等分别将培养的胡萝卜根细胞诱导成胚状体,并形成了新植株,从而为细胞全能性的理论提供了有力的实践证据。自 1960 年以来,植物组培快繁技术得到了迅速的发展。可概括为以下三个方面。①原生质体培养取得重大突破,如 Cocking 等人 (1960) 用真菌纤维素酶分离植物原生质体获得成功,大大激发了人们对原生质培养的兴趣。Takebe 等 (1971) 首次获得烟草原生质体再生植株,这不但在理论上证明了除体细胞和生殖细胞以外,无壁的原生质体也同样具有全能性,而且在实践上可以为外源基因的导入提供理想的受体材料。Carlson 等 (1972) 通过两个烟草物种间原生质体的融合,首次获得了第一个体细胞杂种。②花药培养方面取得了显著成绩。Guha 和 Maheshwari (1964) 报道,在南洋金花中通过离体花药培养由小孢子直接发育成胚。Bourgin 和 Nitsch (1967) 通过花药培养获得了完整的烟草植株。③植物组培快繁技术得到了广泛应用。自 Morel (1960) 得到兰花组培苗后,迅速建立起了“兰花工业”。现在很多植物生产中,组培快繁已形成了工厂化大规模生产,许多国家成立了植物组培快繁专业公司。

在植物组培快繁技术的发展历史中,我国学者曾经做出了多方面的贡献。如李继同等 (1933) 进行了银杏胚胎的培养,发现 3mm 以上大小的胚可正常生长,并发现银杏胚乳提取物能促进银杏离体胚的生长,这对以后这方面的研究应用具有启发意义;罗宗洛等 (1935~1942) 进行了玉米等离体根尖的培养;崔徽 (1948) 关于烟草组织培养中器官发生的研究;罗士韦关于幼胚、根尖、茎尖的愈伤组织、植物肿瘤组织及药用植物组织培养及其

生理的研究；李正理等所进行的离体胚培养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。

20 世纪 70 年代以来，我国植物组织培养技术的研究出现了新的局面，取得了很大的成就，如在花药培养和原生质体培养方面，一直处于国际先进水平。植物组培快繁技术的应用更是规模空前，进入 20 世纪 80 年代，不少试验成果得到了广泛的生产应用。如杨树、桉树、甘蔗、香蕉、葡萄、猕猴桃、草莓、苹果、菠萝和花卉及药用植物的组培快繁，产生了显著的经济效益，为农林业生产做出了巨大的贡献。

四、植物组培快繁的培养程序

根据 Murashige (1974) 的研究，将植物组织培养无性系的大量繁殖分为三个阶段。从植物组培快繁技术的实际应用来讲，可分为以下四个阶段。

第一阶段：初代培养，即从植株（母体）上切割下来的那一部分所进行的第一次培养，这一阶段主要为获得无菌苗、嫩茎、丛芽或愈伤组织，从而建立起无菌培养体系。

第二阶段：继代增殖培养，即将初代培养获得的芽、丛芽、嫩茎或胚状体等培养物经切分，反复转移到新的继代培养基上，进行扩大增殖培养，以达到大量繁殖的目的。

第三阶段：生根培养，将增殖培养获得的大量试管嫩茎、丛芽，经切割后扦插在生根培养基上，诱导其生根，从而形成完整的小植株。

第四阶段：炼苗移栽，试管苗经过带瓶强光炼苗、开瓶炼苗等炼苗过程，使试管苗逐步适应瓶外环境条件，然后将试管苗移栽到沙床或营养钵中，置于温室或塑料大棚中，经保湿、控温等进一步炼苗后，使试管苗从“异养”过渡到“自养”，再移栽到苗圃或大田。

植物组培快繁程序可用图 0-2 表示。

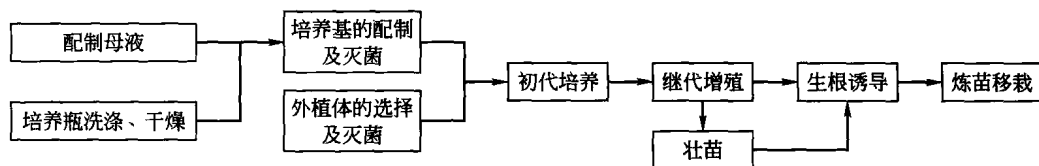


图 0-2 植物组培快繁流程图

五、植物组培快繁技术的应用

植物组培快繁技术，通过无数科学家们长期不断的科研与实践，至今已形成了一套成熟的组培快繁技术方法和理论体系，并有着极其广泛的应用领域，前景广阔，现已为近年来日益增多的应用生产实践所证实。

1. 植物无性系快速繁殖

利用组织培养技术，快速繁殖“名、优、特、新、稀”等品种，使其在短时间内获得大量植株，这是植物组培快繁技术应用于生产的主要的和应用最广泛、成效最大的实例。如兰花的快繁，1960 年 Morel 提出了一个离体无性繁殖兰花的方法，繁殖系数极高。由于这一方法有巨大的实用价值，很快被兰花生产者所采用，迅速建立起“兰花工业”。除兰花外，在其他很多观赏植物、经济作物及药用植物中，微繁也已达到了工厂化的生产规模。

利用组织培养技术繁殖植物，最明显的特点是快速，每年可以数百万倍速度繁殖。例如 Wimber (1963) 应用组织培养的方法，在兰花的快速繁殖中，一个外植体经一周年繁殖获得 400 万个原球茎。据报道，草莓的一个顶芽在一年内可繁殖 10^8 个芽。为了快繁，采用以