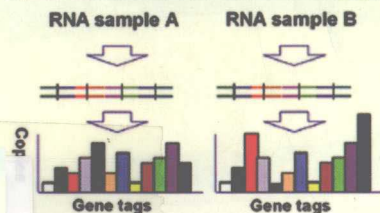
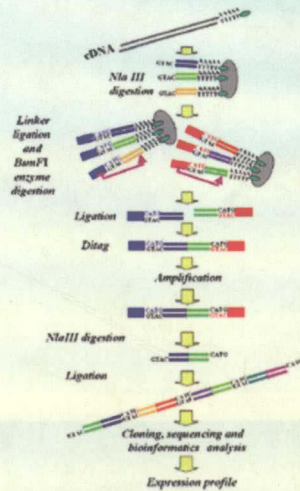
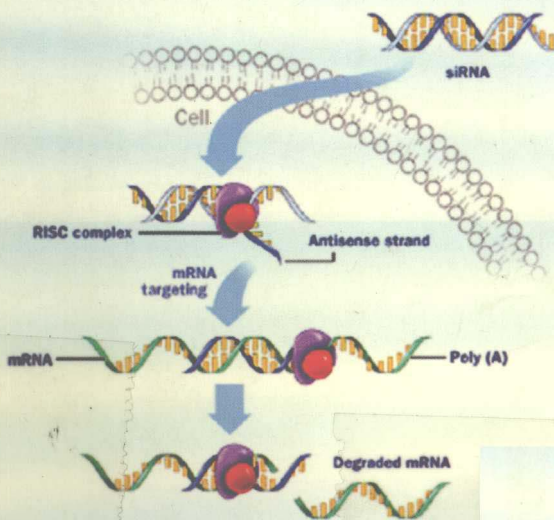




全国高等农林院校“十一五”规划教材

植物生物技术

朱延明 主编



中国农业出版社

全国高等农林院校“十一五”规划教材

植物生物技术

朱延明 主编

Q943

Z894

中国农业出版社

郑 重 声 明

中国农业出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话：(010) 65005894, 59194974, 59194971

传 真：(010) 65005926

E - mail：wlxyaya@sohu.com

通信地址：北京市朝阳区农展馆北路2号中国农业出版社教材出版中心

邮 编：100125

购书请拨打电话：(010) 59194972, 59195117, 59195127

数码防伪说明：

本图书采用出版物数码防伪系统，用户购书后刮开封底防伪密码涂层，将16位防伪密码发送短信至106695881280，免费查询所购图书真伪，同时您将有机会参加鼓励使用正版图书的抽奖活动，赢取各类奖项，详情请查询中国扫黄打非网 (<http://www.shdf.gov.cn>)。

短信反盗版举报：编辑短信“JB, 图书名称, 出版社, 购买地点”发送至10669588128

短信防伪客服电话：(010) 58582300/58582301

主 编 朱延明 (东北农业大学)

副主编 王 罡 (天津大学)

胡尚连 (西南科技大学)

编 者 (按姓氏笔画排序)

王 罡 (天津大学)

王傲雪 (东北农业大学)

朱延明 (东北农业大学)

李海英 (黑龙江大学)

陈丽静 (沈阳农业大学)

陈喜文 (南开大学)

胡尚连 (西南科技大学)

柏 锡 (东北农业大学)

洪亚辉 (湖南农业大学)

徐香玲 (哈尔滨师范大学)

主 审 王兴智 (东北师范大学)

前 言

21 世纪是生命科学的世纪，以现代分子生物学和基因工程为核心内容的生物技术，将对人类社会的发展产生深远影响，彻底改变种植业、养殖业以及加工业的生产模式，大大提高生产效率，对解决人类面临的食物危机、能源危机、资源匮乏问题等将发挥巨大的作用。现代生物技术被世界各国视为高新技术并作为优先发展领域。我国政府在《国家中长期科学和技术发展规划纲要》中把现代生物技术列为重点领域和优先主题，在“前沿技术”中排在首位。并把“转基因生物新品种培育”作为国家 16 个重大专项之一。有理由相信，现代生物技术必将引领传统农业向分子农业迅速过渡。

植物生物技术是现代生物技术的重要组成部分，是以植物组织培养和细胞工程为基础，以基因工程为核心，以生物信息学为高通量分析手段的综合性学科领域。植物生物技术已成为生物学、生物技术、生物工程、农学、园艺等专业的必修课或选修课。

本教材的具体编写分工如下：绪论由王罡编写，第一章和第四章由徐香玲编写，第二章和第六章由胡尚连编写，第三章和第五章由陈丽静编写，第七章和第十三章由洪亚辉编写，第八章、第十一章和第十四章由朱延明编写，第九章和第十章由王傲雪编写，第十二章由柏锡编写，第十五章由李海英编写，第十六章由陈喜文编写。才华老师参与了第一章、第三章、第四章和第十一章的大部分编写工作；纪巍老师参加了第十五章的大部分编写工作；李勇老师参加了第十二章的编写工作。另外，葛瑛博士、高鹏博士、杨靓博士、王希博士、王臻昱博士、化焯博士、束永俊博士、陈秀华博士以及孙晓丽硕士、罗晓硕士、李昆仑硕士、刘晓菲硕士、樊超硕士、韩瑞硕士等人参与了本教材的编写工作。在此，对为本教材的编写付出辛勤劳动的各位一并表示诚挚的感谢。

由于编写者水平有限，教材中难免存在缺点和错误，请各位读者批评指正。

编 者

2009 年 6 月

目 录

前言

绪论	1
第一节 植物生物技术概述	1
一、生物技术的产生	1
二、植物生物技术的发展	2
三、植物生物技术展望	6
四、学习方法	8
第二节 植物生物技术的基本原理	8
一、植物细胞全能性与细胞分化	8
二、植物离体条件下的器官发生与调控	9
三、植物体细胞胚胎发生与调控	10
四、植物重组 DNA 技术	10
小结	11
复习思考题	12
主要参考文献	12

第一篇 植物组织培养

第一章 实验室及基本操作技术	13
第一节 实验室	13
一、准备室	13
二、无菌操作室	13
三、培养室	13
四、分子生物学操作室	14
五、仪器室	14
第二节 常用仪器设备和器具	14
一、仪器设备	14
二、玻璃器皿和器械用具	18
第三节 洗涤、灭菌和无菌操作技术	20
一、器皿的洗涤	20

二、灭菌	21
三、无菌操作技术	22
第四节 植物材料的消毒	23
一、常用消毒剂的种类	23
二、植物材料的消毒	24
第五节 培养基	24
一、常用培养基的主要特性与分类	24
二、培养基组成	26
三、培养基制备	31
四、培养基的筛选与优化	34
本章小结	35
复习思考题	35
主要参考文献	36
第二章 愈伤组织培养	37
第一节 愈伤组织的诱导和继代	37
一、愈伤组织的诱导和形成特点	37
二、继代培养与植株再生	40
第二节 愈伤组织的形态建成与调控	41
一、愈伤组织形态建成的方式	42
二、愈伤组织形态建成的生理生化基础	43
三、愈伤组织诱导、增殖及形态建成调控	45
第三节 体细胞胚胎建成与人工种子	52
一、体细胞胚胎建成的特征	52
二、体细胞胚胎发生的基因调控	61
三、体细胞转变为胚性细胞的机制	62
四、人工种子	64
本章小结	69
复习思考题	69
主要参考文献	69
第三章 茎尖培养与离体快速繁殖	71
第一节 茎尖培养概述	71
第二节 茎尖培养方法	71
一、茎尖分离	71
二、茎尖培养	72
三、植株驯化与移栽	73
第三节 影响茎尖培养的因素	73
一、基因型	73

二、外植体大小	73
三、培养基成分	74
四、培养条件	74
五、其他因素	75
第四节 脱毒苗的培育	75
一、植物病毒及其传播方式	75
二、茎尖培养的脱毒机理	75
三、茎尖培养脱毒方法	76
四、脱毒效果检测	77
第五节 植物离体快速繁殖	80
一、植物离体快速繁殖的器官形成方式	80
二、植物离体快速繁殖程序	81
三、影响植物离体快速繁殖的因素	84
四、植物离体快速繁殖的应用	85
本章小结	86
复习思考题	86
主要参考文献	86
第四章 植物胚胎培养及离体受精	88
第一节 植物胚培养	88
一、胚培养的意义	88
二、胚培养的方法	90
三、胚生长的方式和植株再生途径	91
四、影响胚培养的因素	91
五、胚培养实例	94
第二节 胚乳培养	95
一、胚乳培养的意义	96
二、胚乳培养的方法	97
三、植株的再生	98
四、胚乳培养的主要影响因素	98
五、胚乳培养实例——阳桃胚乳培养	100
第三节 胚珠培养	101
一、胚珠培养的意义	102
二、胚珠培养的方法	102
三、植株的再生	103
四、影响胚珠培养的因素	104
五、胚珠培养实例	104
第四节 子房培养	105
一、子房培养的方法	105

二、子房的发育	105
三、影响子房培养的主要因素	106
四、子房培养实例	106
第五节 植物离体受精	106
一、植物离体受精的意义	107
二、离体授粉的类型	108
三、离体受精的方法	109
四、影响离体授粉和受精后结实的因素	109
本章小结	111
复习思考题	112
主要参考文献	112

第二篇 植物细胞工程

第五章 植物细胞培养	114
第一节 植物单细胞培养	114
一、植物单细胞培养的意义	114
二、单细胞培养方法	114
三、影响单细胞培养的主要因素	117
第二节 植物细胞悬浮培养	119
一、植物细胞悬浮培养的特点和意义	119
二、细胞悬浮培养的一般程序	120
三、悬浮培养细胞的生长与测定	124
四、悬浮培养细胞的同步化	125
本章小结	126
复习思考题	127
主要参考文献	127
第六章 植物体细胞无性系变异	128
第一节 体细胞无性系变异的来源与特征	128
一、体细胞无性系变异的概念与应用	128
二、体细胞无性系变异的来源及影响变异的主要因素	130
三、体细胞无性系变异的特征	131
第二节 植物体细胞无性系变异机理	132
一、体细胞无性系细胞水平的变异	132
二、分子水平的变异	135
第三节 细胞突变体诱导和筛选	138
一、细胞突变体筛选的意义	138

目 录

二、细胞突变体筛选的原理	139
三、细胞突变体的筛选与利用	140
四、细胞突变体的鉴定	143
本章小结	143
复习思考题	144
主要参考文献	144
第七章 植物花粉和花药培养	146
第一节 花粉培养	146
一、花粉培养的意义	146
二、花粉小孢子发育途径	146
三、花粉分离方法	147
四、花粉培养的方法	148
五、花粉植株形态发生方式	148
六、花粉植株的再生与驯化移栽	149
七、影响花粉培养的主要因素	149
第二节 花药培养	151
一、花药培养的意义	151
二、花药的采集和处理	151
三、花药培养	152
四、影响花药培养效率的因素	153
五、花药单倍体植株的再生与鉴定	153
六、单倍体植株的染色体加倍	154
本章小结	154
复习思考题	155
主要参考文献	155
第八章 植物原生质体培养及细胞融合	156
第一节 植物原生质体分离	156
一、原生质体分离	156
二、原生质体纯化	160
三、原生质体活力测定	161
四、影响原生质体数量和活力的因素	161
第二节 植物原生质体培养	162
一、原生质体培养方法	162
二、影响原生质体培养的因素	163
三、原生质体再生	165
第三节 植物细胞融合	166
一、原生质体融合	166

二、体细胞杂种选择	169
本章小结	171
复习思考题	171
主要参考文献	171

第三篇 植物基因工程

第九章 植物基因工程发展概况	173
第一节 植物基因工程的建立与发展	173
一、植物基因工程技术的产生	173
二、植物基因工程的应用	174
第二节 转基因植物的商业化	177
一、转基因植物技术田间试验情况	177
二、转基因植物商业化现状	178
三、转基因植物商业化存在的问题	179
本章小结	180
复习思考题	181
主要参考文献	181
第十章 植物基因分离与克隆	182
第一节 植物基因的结构和功能	182
一、植物基因的结构和特点	182
二、植物基因的表达与调控	184
三、植物基因的分类和功能	185
第二节 植物基因的分离与克隆	185
一、利用基因已知序列或已知部分序列克隆基因	186
二、利用基因的表达差异克隆基因	189
三、利用基因的功能或所控制的性状克隆基因	196
四、利用组学方法克隆基因	199
本章小结	203
复习思考题	203
主要参考文献	203
第十一章 植物的遗传转化	205
第一节 植物表达载体构建	205
一、Ti质粒载体及其构建	205
二、病毒转化载体的结构及构建	213

三、植物表达载体的改进及优化策略	216
第二节 植物遗传转化方法	221
一、载体转化系统(农杆菌 Ti 质粒介导的遗传转化)	222
二、直接转化法	226
三、种质系统介导基因转化	228
四、植物遗传转化系统的选择策略	229
第三节 目的基因的表达	230
一、基因瞬时表达和稳定表达	231
二、植物转基因的沉默及控制	231
第四节 转基因植株的检测及遗传稳定性分析	234
一、转基因植株的分子生物学检测	235
二、转基因植株的目的性状检测	238
三、转基因植株的遗传稳定性分析	239
第五节 非目的基因清除技术	240
一、共转化	240
二、位点特异性重组	240
三、转座子	241
本章小结	242
复习思考题	242
主要参考文献	242
第十二章 生物信息学在植物基因工程中的应用	244
第一节 生物分子数据库	244
一、基因和基因组数据库	245
二、蛋白质数据库	247
三、功能数据库	249
四、其他数据库资源	250
第二节 基因克隆中的生物信息学方法	250
一、电子克隆	250
二、引物设计	254
三、序列同源性分析	257
四、基因完整性分析	263
五、基因结构域分析	265
六、启动子分析	266
第三节 基因芯片数据分析	270
一、基因芯片技术简介	270
二、数据的标准化	271
三、差异基因筛选	272
四、数据聚类分析	273

五、生物学注释分析	275
六、基因芯片数据分析流程	275
本章小结	278
复习思考题	279
主要参考文献	279
第十三章 转基因植物的安全性	281
第一节 转基因植物食品的安全性评价	281
一、转基因植物食品的安全性	281
二、转基因植物食品安全性评价的原则	282
三、转基因食品安全性评价的内容	282
四、全球对转基因食品的认识	283
五、转基因植物的安全性管理	283
第二节 转基因植物生态环境的安全性评价	285
一、转基因植物的潜在风险	285
二、转基因植物的环境安全性评价方法	286
三、转基因产品安全性评价实例	287
第三节 转基因农产品的检测	289
一、样本采集	289
二、样品制备	290
三、定性 PCR 的检测方法	291
四、半定量和定量 PCR 检测方法	292
五、免疫学检测方法	294
六、选择性遗传标记为基础的检测方法	295
本章小结	296
复习思考题	296
主要参考文献	296

第四篇 植物分子标记及其辅助育种

第十四章 植物遗传标记和分子遗传图谱构建	298
第一节 遗传标记	298
一、形态标记	298
二、细胞学标记	299
三、生化标记	300
四、分子标记	300
第二节 分子标记技术	302
一、RFLP 标记	302

二、RAPD 标记	303
三、SSR 标记	304
四、AFLP 标记	304
五、SNP 标记	305
六、EST 分子标记	306
第三节 分子遗传图谱的构建	307
一、作图群体的建立	308
二、标记连锁图的构建	309
三、DNA 标记连锁图谱的完善	309
四、比较作图	311
本章小结	312
复习思考题	313
主要参考文献	313
第十五章 植物基因组学研究	315
第一节 植物基因组的结构特点	315
一、重复序列	316
二、单拷贝序列	317
三、细胞器基因组	317
第二节 基因组作图	318
一、物理图谱	318
二、遗传图谱与物理图谱的整合	321
第三节 基因组测序与序列组装	323
一、基因组测序	323
二、序列组装	325
第四节 植物功能基因组学研究方法	327
一、基于基因表达谱的主要研究方法	327
二、基于反向遗传学的常用方法	333
本章小结	336
复习思考题	336
主要参考文献	336
第十六章 分子标记辅助育种	338
第一节 作物育种的基本环节	338
一、遗传变异的发现与创造	338
二、遗传变异的选择和鉴定	338
第二节 分子标记辅助选择	339
一、分子标记辅助选择的遗传学基础	339
二、分子标记辅助选择的优越性	342

三、进行分子标记辅助选择的前提	343
四、影响分子标记辅助选择效率的因素	344
第三节 分子标记辅助选择的策略	346
一、回交育种	346
二、杂交育种	346
三、基因的累加	347
四、高回交世代数量性状位点分析策略	347
第四节 分子标记辅助育种的应用实例	348
一、质量性状的分子标记辅助选择	348
二、分子标记辅助抗性基因的累加或聚合	350
三、数量性状的分子标记辅助选择	352
本章小结	354
复习思考题	355
主要参考文献	355
附录 I 专业术语英汉对照	357
附录 II 常用植物组织培养的培养基配方	364
附录 III 组织培养常用药品浓度换算表	365
附录 IV DNA 浓度和相对分子质量检测用表	373

绪 论

21 世纪是生命科学与生物技术的世纪，生物技术被世界各国视为高新技术并作为优先发展的领域。生物技术已广泛应用于农业、工业、医药卫生、食品、化工、能源等各个领域，对人类社会发展正在产生并且还将产生深远影响。生物技术包括传统生物技术和现代生物技术，传统生物技术包括酱、醋、酒、面包、奶酪、酸奶的生产及其他传统技术，而现代生物技术是指 20 世纪 70 年代发展起来的以植物组织培养为基础，以现代分子生物学和基因工程为核心内容的生物技术。当前所称的生物技术都是指现代生物技术。

第一节 植物生物技术概述

生物技术 (biotechnology)，亦称为生物工程 (bioengineering)，是指以现代生命科学为基础，利用生物的特性与功能，采用先进的工程技术手段，改造或重新设计细胞的遗传物质，获得具有预期性状的新物种、新品系或新材料，为人类生产出所需产品，进行社会生产或社会服务的综合性技术领域。生物技术包括基因工程、细胞工程、酶工程、发酵工程和蛋白质工程，它是多学科综合而成的一门新学科，涉及植物组织培养、分子生物学、遗传学、生物化学、微生物学、细胞生物学、免疫学、育种学等几乎所有与生命科学有关的学科。本书所讲述的内容主要是指以植物为研究对象的现代生物技术。

一、生物技术的产生

生物技术及其产业的发展，为真正实现科技含量高、经济效益好、资源消耗低、环境污染少提供了条件，它将为中国乃至世界解决疾病防治、人口膨胀、食物短缺、能源匮乏、环境污染等一系列问题提供新的途径。

回顾科学发展史，20 世纪 50 年代以前，人类取得的最重要的发现无疑主要集中在物理学及化学研究领域，这一观点可以从历史上我们熟悉的牛顿、居里夫人、门捷列夫、直到爱因斯坦这些举世闻名的科学巨匠们的名字中得到印证。随着 20 世纪后半叶生命科学的飞速发展，生命科学及生物技术世纪的时机已日见成熟，1997 年体细胞克隆羊“多莉”的降生则标志着这一生命科学及生物技术世纪的提前到来。

生物技术的产生离不开生命科学的发展，尤其是遗传学的快速发展。与其他自然科学一样，生命科学与生物技术的发展进程是以加速度进行的。1838 年，M. J. Schleiden 和 T. Schwann 建立了细胞学说，这是生物学界唯一可与进化论相提并论的伟大理论，从此将人类对生命的认识深入到微观世界。1865 年，Mendel 在自然科学研究协会的每月例会上报告并解释了他的豌豆遗传研究，揭示了生物遗传的基本规律，并发现了遗传因子（基因）。1902 年，Haberlandt 根据细胞

理论, 提出植物细胞全能性理论, 奠定了植物组织培养的理论基础。1911年, Morgan 提出果蝇的白眼、黄体和小型翅基因都连锁在染色体上, 发现了遗传连锁规律。1944年, Avery、Macleod 和 McCarthy 通过肺炎球菌的转化证实了遗传物质是 DNA, 而不是蛋白质, 从而结束了多年来对遗传物质本质的争论。

进入到 20 世纪的后 50 年中, 生命科学已得到前所未有的发展, 特别是 1953 年, Watson 和 Crick 提出了 DNA 双螺旋模型, 这一发现开辟了分子生物学研究的新纪元。随后, 1958 年 Meselson 和 Stahl 发现了 DNA 的半保留复制。1961 年, Crick、Barnett、Brenner 和 Watts-Tobin 提出遗传的语言由三联体密码组成。Jacob 和 Monod 提出乳糖操纵子模型。1965 年, 中国科学家人工合成结晶牛胰岛素。1970 年, Temin 和 Baltimore 发现了逆转录酶。尤其是在 1973 年, H. Boyer 和 S. Copen 用酶将基因连接到质粒载体上, 建立了 DNA 重组技术。这一工作标志着生物技术中核心技术——基因工程技术的诞生。同时, 也标志着现代生物技术的开始。随后, 基因工程技术得到了快速的发展, 到 1976 年, 出现了第一个遗传工程公司。1981 年, J. D. Kemp 和 T. H. Hall 通过根瘤杆菌质粒将菜豆储藏蛋白基因转移到向日葵中, 创造出了“太阳豆”。从此, 利用基因工程及细胞工程等生物技术手段实现了不同物种间遗传物质的转移, 打破了自然界中生物种属间的障碍, 甚至实现了生物不同界之间的基因转移。在以后的发展过程中, 以基因工程为核心的生物技术日臻成熟, 并逐渐应用到农业、医药、环境等各个领域, 使相关领域的发展进入到一个崭新的历史阶段。

二、植物生物技术的发展

人类社会的发展依赖于科学技术的进步, 在世界农业发展历史上, 每一次技术的进步都极大地促进了生产的发展。在 20 世纪, 农业生产出现了两次被誉为绿色革命的飞跃。第一次绿色革命出现在 20 世纪 50~60 年代, 以矮秆小麦、矮秆水稻为标志的优良品种的推广, 使世界的粮食生产得到了大幅度提高。第二次绿色革命则出现在 20 世纪 70 年代初, 其标志是我国杂交水稻品种培育的成功, 杂交水稻的大面积推广, 使水稻的单产增长了 20%~30%。1973 年重组 DNA 获得成功, 开创了基因工程的新时代, 以此为基础, 植物生物技术作为前途远大的高新技术产业在世界范围内蓬勃兴起, 必将给农业科技等领域带来一场新的革命。

(一) 植物组织及细胞培养

植物组织培养 (plant tissue and cell culture) 是一种利用人工培养基 (液) 使细胞在体外发育和繁殖的技术。除了能够提供大量的植物细胞材料外, 它也是一项克隆植物细胞和个体的实用技术, 同时, 它还是快速繁殖和培育植物新品种的有效途径。

植物组织培养技术理论的出现始于 20 世纪初, 至 60~70 年代日臻成熟, 到 80 年代, 随着主要农作物水稻、玉米及小麦原生质体培养难题的相继攻克, 植物组织培养领域的重点已逐渐转向到应用领域。在植物组织培养技术及其应用方面, 我国始终处于世界先进行列, 在诸多研究领域居于国际领先水平。

植物组织培养技术在农林作物的脱毒快繁、诱发突变、细胞工程和基因工程等方面都发挥重要的作用。对于草莓、马铃薯等植物, 利用茎尖培养手段, 可以在较短的时间内、高效率地获得