



高等职业教育园林园艺类“十二五”规划教材

GAODENG ZHIYE JIAOYU YUANLIN YUANYILEI SHIERWU GUIHUA JIAOCAI

植物组织培养技术

ZHIWU ZUZHI PEIYANG JISHU



刘弘◎主编



赠电子课件



机械工业出版社
CHINA MACHINE PRESS

高等职业教育园林园艺类“十二五”规划教材

植物组织培养技术

主 编 刘 弘
副主编 梁小敏 王宏国
参 编 王秋竹 韩亚超 张 静
主 审 宋 明 汤清林



机械工业出版社

本书内容体系构建上根据植物组织培养完整工作过程和工厂化育苗生产、管理、经营等环节,以项目及其典型工作任务导向组织教学,突出高职教材的科学性、针对性、实践性、应用性及创新性。本书主要介绍植物组织培养实验室设计及常用设备的使用与维护、植物组织培养基本操作、植物脱毒、植物种质资源离体保存、植物组培苗工厂化生产与管理,常见植物组织培养。

本书可作为高职院校园林、园艺、农学、植物保护、生物技术等相关专业的教材,也可作为成人职业培训以及从事植物组织培养脱毒与快繁工作人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养技术/刘弘主编. —北京:机械工业出版社, 2012. 3
高等职业教育园林园艺类“十二五”规划教材
ISBN 978-7-111-36784-0

I. ①植… II. ①刘… III. ①植物组织—组织培养—
高等职业教育—教材 IV. ①Q943.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2011)第280083号

机械工业出版社(北京市百万庄大街22号 邮政编码100037)
策划编辑:王靖辉 责任编辑:王靖辉
版式设计:张世琴 责任校对:吴美英
封面设计:马精明 责任印制:李妍
北京富生印刷厂印刷
2012年2月第1版第1次印刷
184mm×260mm·15.75印张·387千字
0001—3000册
标准书号:ISBN 978-7-111-36784-0
定价:30.00元

凡购本书,如有缺页、倒页、脱页,由本社发行部调换

电话服务

网络服务

社服务中心:(010)88361066

门户网:<http://www.cmpbook.com>

销售一部:(010)68326294

教材网:<http://www.cmpedu.com>

销售二部:(010)88379649

读者购书热线:(010)88379203

封面无防伪标均为盗版

前言

植物组织培养是近代生物科学发展起来的一门新技术,现已渗透到生物科学的各个领域,成为生物工程技术中的一个重要组成部分和基础研究手段之一,为快速繁殖作物优良品种、培育无毒苗木、植物工厂化生产、种质资源保存和基因库建立等方面开辟了新途径,广泛应用于农业、林业、医药业,显示出强大的技术优势,产生了巨大的经济效益和社会效益。随着植物组织培养技术在生产上的广泛运用,社会对掌握植物组织培养技术人才的需求量也在不断增加。因此,近年来在各高职院校的生物技术及应用、园林、园艺、设施农业、农学、植物保护等专业普遍开设了植物组织培养这门操作性很强的实用技术课程。

本书编写力求针对高职教育特色,符合高职院校人才培养目标要求,突出能力培养,强调理论与实践、科学性与实用性有机结合。在教材体系构建上,根据植物组织培养完整工作过程和工厂化育苗生产、管理、经营等环节,以项目及其典型工作任务导向组织教学。在教材内容选择上,围绕高职院校毕业生应职岗位(群)对知识、能力和素质的要求,并参照国家植物组织培养工职业资格标准,以植物组织培养快速繁殖、脱毒苗生产为主线,突出植物组织培养技术应用,素材选择贴近生产实际,并反映植物组织培养技术的发展方向和行业中应用的新技术、新方法、新材料,同时也适合目前高职院校的教学条件和人才培养要求。在教材编写体例上,以项目教学为载体,提出学习目标,组织教学、实训及技能考核,实行教、学、做一体化,突出能力培养,强化技能训练,也有利于教学实施。并且,增加了知识链接,拓展学习空间,丰富学习内容,引导和培养学生继续学习的意识和兴趣。本书内容丰富,图文并茂,技术方法详细具体,实用性强。

本书由重庆三峡职业学院刘弘任主编,由江西农业工程职业学院梁小敏、滨州学院王宏国任副主编,具体编写分工如下:植物组织培养概述、项目1、项目2、附录由刘弘编写;项目3、项目6的工作任务3由梁小敏编写;项目4、项目6的工作任务5由王宏国编写;项目6的工作任务2、工作任务4由吉林农业科技学院王秋竹编写;项目5由阜阳职业技术学院韩亚超编写;项目6的工作任务1由东营职业学院张静编写。全书由刘弘统稿,西南大学宋明、汤清林任主审。

本书在编写过程中得到了各参编院校的大力支持,在此表示诚挚的感谢。

由于编者水平有限,编写时间仓促,本书难免会有疏漏错误、尚存不足之处,恳请广大读者、同行与专家给予批评指正,以便加以修正完善。

编者

目 录

前言

植物组织培养概述 1

知识小结 9

复习思考题 10

项目1 植物组织培养实验室 设计及常用设备的使 用与维护 11

工作任务1 植物组织培养
实验室设计 11

工作任务2 实验室常用设备的使用
与维护 15

实训1-1 植物组织培养实验室参观
及常用仪器设备的使用 ... 18

实训1-2 器皿及用具的洗涤与
环境消毒 19

知识小结 23

复习思考题 24

项目2 植物组织培养基本操作 25

工作任务1 培养基的制备 25

实训2-1 培养基母液的配制与
保存 32

实训2-2 固体培养基的配制与
灭菌 34

工作任务2 初代培养 38

实训2-3 菊花初代培养 54

工作任务3 继代扩繁 57

实训2-4 试管苗的继代增殖
扩繁 61

工作任务4 生根培养与驯化移栽 64

实训2-5 试管苗的生根培养 68

实训2-6 试管苗的驯化与移栽 71

知识小结 75

复习思考题 77

项目3 植物脱毒 79

工作任务1 植物脱毒处理 79

工作任务2 脱毒苗鉴定与保存 86

实训3-1 香石竹热处理与茎尖
培养脱毒 90

实训3-2 草莓花药培养脱毒 93

实训3-3 脱毒苗的指示植物
鉴定 95

实训3-4 脱毒苗的酶联免疫
吸附法检测 97

知识小结 99

复习思考题 100

项目4 植物种质资源离体保存 101

工作任务1 限制生长保存 102

工作任务2 超低温保存 104

实训4-1 柑橘、葡萄试管苗的
生长抑制剂保存 108

实训4-2 大蒜茎尖玻璃化法
超低温保存 109

知识小结 112

复习思考题 112

项目5 植物组培苗工厂化生产 与管理 113

工作任务1 植物组培苗生产工厂的
设计 113

工作任务2 植物组培苗工厂化
生产 116

工作任务3 植物组培苗的质量鉴定
与运输 123



工作任务4 植物组培苗生产成本 核算与效益分析	125	实训6-6 大蒜脱毒与快繁	211
实训5-1 植物组织培养育苗工厂 规划设计	127	工作任务5 药用植物离体培养	213
实训5-2 植物组培苗生产成本 核算与效益分析	129	实训6-7 人参愈伤组织的诱导 与培养	231
知识小结	131	实训6-8 人参悬浮细胞系建立	233
复习思考题	132	实训6-9 人参皂苷的含量分析与 分离纯化	234
项目6 常见植物组织培养	133	知识小结	237
工作任务1 观赏花卉脱毒与快繁	133	复习思考题	237
实训6-1 蝴蝶兰组培快繁	146	附录	239
实训6-2 铁线蕨组培快繁	148	附录A 植物组织培养常见缩写词 ...	239
工作任务2 园林树木组培快繁	151	附录B 植物组织培养常用基本培养 基配方	240
实训6-3 红叶石楠组培快繁	167	附录C 常用有机物质的分子量及 浓度换算表	241
工作任务3 果树脱毒与快繁	169	附录D 常用无机物质的分子量及 浓度换算表	242
实训6-4 柑橘茎尖微嫁接脱毒	192	参考文献	243
工作任务4 蔬菜脱毒与快繁	194		
实训6-5 番茄离体根培养	209		

植物组织培养概述



学习目标

知识目标：

- 掌握植物组织培养的基本概念，理解细胞全能性理论。
- 了解植物组织培养的类型及特点
- 了解植物组织培养技术的发展及应用。

20 世纪初，在植物细胞全能性理论的指导下，特别是植物生长调节剂的应用，使植物离体培养材料的生长和发育得以有效调控，也促使了植物组织培养研究领域的形成和发展。20 世纪 60 年代以后，植物组织培养技术研究发展迅速，并逐渐进入大规模的应用阶段。现在，植物组织培养已成为生物学科研究的重要技术手段，并在农业、林业、工业、医药等行业中被广泛应用，产生了巨大的经济效益和社会效益。

0.1 植物组织培养的基本概念及理论依据

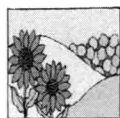
0.1.1 植物组织培养的基本概念

植物组织培养是指在无菌和人工控制的环境条件下，利用适当的培养基，对离体的植物器官、组织、细胞或原生质体等进行培养，使其生长、分化并再生成完整植株的技术。由于植物组织培养中的培养材料脱离了植物母体，所以又称为植物离体培养。凡是用于离体培养的植物器官、组织、细胞或原生质体统称为外植体。

0.1.2 植物组织培养的理论依据

植物组织培养技术是建立于细胞全能性学说的理论基础上，经过科学家们 100 多年的研究与实践，逐步发展形成一套较为完整的技术体系。植物细胞全能性是指植物体的每一个具有完整细胞核的活细胞，都具有该种植物所特有的全部遗传信息，在适当的条件下具有发育成为完整植株的潜在能力。

在植物有性繁殖过程中，一个受精卵经过一系列的细胞分裂和分化形成各种组织、器官，进而发育成为具有完整形态、结构和机能的植株，表明受精卵具有该物种的全部遗传信息。由合子分裂产生的体细胞同样具备了全能性。在自然状态下，完整植株不同部位的特化



细胞只表现出一定的形态和生理功能,构成植物体的组织或器官的一部分,是因为细胞在植物体内所处的部位及生理条件不同,其分化过程中遗传信息的表达受到调控的缘故。但是,植株各部位已经分化的成熟细胞其遗传全能性的潜力并没有丧失,一旦它们脱离原来所在的器官或组织,不再受到原植株的控制,在一定的营养、生长调节物质和外界条件的作用下,就可能恢复其全能性,细胞开始分裂增殖、产生愈伤组织,继而分化出器官,并再生形成完整的植株。

在植物组织培养过程中,离体的组织或器官在能促进细胞增殖的培养基里进行细胞分裂,形成一种高度液泡化的无一定形态、结构的薄壁细胞团,称为愈伤组织。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称为脱分化。将脱分化形成的无定形结构的愈伤组织再转移到分化培养基里,又会重新分化出根、茎、叶,从而长成完整的植株,这个过程称为再分化。植物组织培养植株再生过程如图 0-1 所示。

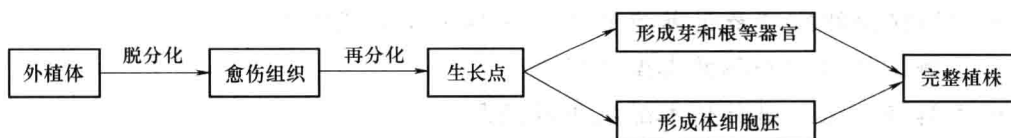


图 0-1 植物组织培养植株再生过程示意图

自然条件下许多植物能表现出再生作用,在植物根、茎、叶等器官上某处组织受到一定损伤后,则在受伤部位往往会产生新的器官,长出不定芽和不定根,进而形成新的完整植株。人们利用植物的这种再生能力进行无性繁殖,并结合应用生根激素,使原来扦插不易成活的植物种类也可以达到成苗的目的。植物之所以能产生不定器官,是由于受伤组织产生了创伤激素,由此促进愈伤组织的形成,并凭借内源激素和贮藏营养的作用又产生出新的器官。植物组织培养技术使植物的再生作用在更大的范围内表现出来。在自然条件下有些植物的营养器官和细胞再生比较困难,主要是由于其内源激素调整缓慢或不完全,以及外界条件不易控制等因素所致。而植物组织培养技术通过对培养基的调整,特别是对其中激素成分的调整,并在人工控制的培养条件下,顺利地再生出新的植株。

0.2 植物组织培养的类型及特点

0.2.1 植物组织培养的类型

根据外植体的来源及培养阶段,可将植物组织培养划分为以下几种类型。

1. 按外植体的来源划分

(1) 植株培养 对具有完整植株形态的幼苗进行无菌培养的方法称为植株培养。一般多以种子为材料,以无菌播种诱导种子萌发成苗。

(2) 胚胎培养 对植物成熟或未成熟胚以及具胚器官进行离体培养的方法称为胚胎培养。胚胎培养常用的材料有幼胚、成熟胚、胚乳、胚珠、子房等。

(3) 器官培养 对植物体各种器官及器官原基进行离体培养的方法称为器官培养。植物器官培养材料有根(根尖、根段)、茎(茎尖、茎段)、叶(叶原基、叶片、叶柄、子



叶)、花(花瓣、雄蕊)、果实、种子等。

(4) 组织培养 对植物体的各部位组织或已诱导的愈伤组织进行离体培养的方法称为组织培养。常用的植物组织培养材料有分生组织、形成层、表皮、皮层、薄壁细胞、髓部、木质部等组织。

(5) 细胞培养 对植物的单个细胞或较小的细胞团进行离体培养的方法称为细胞培养。常用的细胞培养材料有性细胞、叶肉细胞、根尖细胞、韧皮部细胞等。

(6) 原生质体培养 对除去细胞壁的原生质体进行离体培养的方法称为原生质体培养。

2. 按培养阶段划分

(1) 初代培养 初代培养是指将从植物体上所分离的外植体进行最初几代的培养阶段,也称为启动培养。其目的是建立无菌培养物,诱导腋芽或顶芽萌发,或产生不定芽、愈伤组织等。

(2) 继代培养 继代培养是指将初代培养诱导产生的培养物重新分割,转移到新鲜培养基上继续培养的过程。其目的是使培养物得到大量繁殖,也称为增殖培养。

(3) 生根培养 生根培养是指诱导无根组培苗产生根,形成完整植株的过程。其目的是提高组培苗移栽后的成活率。

0.2.2 植物组织培养的特点

植物组织培养技术是采用微生物学的试验手段来操作植物离体的器官、组织、细胞及原生质体。随着其技术研究的发展,尤其是外源激素的应用,使植物组织培养不仅从理论上为相关学科提出了可靠的试验证据,而且一跃成为一种大规模、批量工厂化生产种苗的新方法,并在生产上得到广泛应用。植物组织培养之所以发展迅速、应用广泛,是由于具备以下几个特点:

1. 培养材料经济,来源广泛

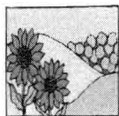
由于植物细胞具有全能性,通过组织培养手段能使单个细胞、小块组织、茎尖或茎段等离体材料经培养获得再生植株。在生产实践中,以茎尖、茎段、根、叶、子叶、下胚轴、花瓣等器官及组织作为外植体,只需几毫米或甚至不到1mm大小的材料,在细胞及原生质体培养时,所需材料更小。因此,由于取材少,培养效果好,植物组织培养对于新品种的推广和良种复壮更新,尤其是对于一些繁殖系数低、不能用种子繁殖的“名、优、特、新、奇”作物品种的保存、利用与开发都有很高的应用价值和重大的实践意义。

2. 培养条件可人为控制,便于周年生产

植物组织培养中的培养材料完全是在人为提供的培养基质和小气候环境条件下生长的,不受大自然中四季、昼夜气候变化及灾害性气候等外界不利因素的影响,且条件均一,对植物生长极为有利,便于稳定地进行周年生产。

3. 生长周期短,繁殖速度快

植物组织培养由于人为控制培养条件,可根据不同植物、不同部位材料的不同要求而提供不同的培养条件,满足其快速生长的要求,缩短培养周期。一般20~30d即可完成一个繁殖周期,每一繁殖周期可增殖几倍到几十倍,甚至上百倍,培养材料能以几何级数增加。因此,植物组织培养在良种苗木及优质脱毒种苗的快速繁殖方面是其他方法无可比拟的。一些濒危植物及珍稀材料,依靠常规的无性繁殖方法,需要几年或几十年才能繁殖出为数不多的



苗木，而用植物组织培养方法可在1~2年内生产上百万株整齐一致的优质种苗。如取非洲紫罗兰的1枚叶片培养，经3个月培养就可得到5千多株苗。

4. 管理方便，可实现工厂化生产

植物组织培养过程是在人为的提供一定温度、光照、湿度、营养和植物生长调节剂等条件下进行的，极利于高度集约化的工厂化生产，便于标准化管理和自动化控制。与田间栽培、盆栽等相比，省去了中耕除草、浇水施肥、病虫害防治等一系列繁杂劳动，节省人力、物力，有效地提高了生产率。

0.3 植物组织培养的发展

植物细胞组织培养的研究开始于1902年德国植物生理学家 Haberlandt，至今已有100多年的历史。其发展过程大致可分为以下三个阶段：

0.3.1 探索阶段（20世纪初至30年代中期）

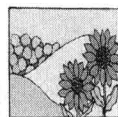
在 Schwann 和 Schleiden 创立的细胞学说基础上，1902年德国植物生理学家 Haberlandt 提出了细胞全能性理论，认为高等植物的器官和组织可以不断分割，直至单个细胞，这种单个细胞是具有潜在全能性的功能单位，即植物细胞具有全能性。为了证实这一观点，他在加入了蔗糖的 Knop 培养液中培养小野芝麻和凤眼兰的栅栏组织以及虎眼万年青等植物叶片的表皮细胞。由于选择的试验材料高度分化和培养基过于简单，他只观察到细胞的生长、细胞壁的加厚，而未观察到细胞的分裂。然而，作为植物细胞组织培养的开创者，Haberlandt 的贡献不仅在于首次进行了离体细胞培养的试验，而且在1902年发表的“植物离体细胞培养试验”报告中还提出了胚囊液在细胞培养中的作用和看护培养法等科学预见。

1904年 Hanning 在无机盐和蔗糖溶液中对萝卜和辣根菜的胚进行培养，结果发现离体胚可以充分发育成熟，并萌发形成小苗。1922年，Haberlandt 的学生 Kotte 和美国的 Robins 分别报道离体培养根尖获得某些成功，这是有关根培养的最早试验。Laibach 将由亚麻种间杂交形成的幼胚在人工培养基上培养至成熟，从而证明了胚培养在植物远缘杂交中利用的可能性。

在 Haberlandt 试验之后的30多年中，人们对植物组织培养的各个方面进行了大量的探索性研究，但由于对影响植物组织和细胞增殖及形态发生能力的因素尚未研究清楚，除了在胚和根的离体培养方面取得了一些结果外，其他方面没有大的进展。

0.3.2 奠基阶段（20世纪30年代末期至50年代中期）

1934年，美国植物生理学家 White 利用无机盐、蔗糖和酵母提取液组成的培养基进行番茄根离体培养，建立了第一个活跃生长的无性系，使根的离体培养试验获得了真正的成功。1937年，White 又以小麦根尖为材料，研究了光照、温度、培养基组成等各种培养条件对生长的影响，发现了B族维生素对离体根生长的作用，并用吡哆醇、硫胺素、烟酸3种B族维生素取代酵母提取液，建立了第一个由已知化合物组成的培养基，该培养基后来被定名为 White 培养基。在这个人工合成培养基上，他将1934年建立起来的根培养物一直保存到1968年他逝世前不久，共继代培养了1600多代。



与此同时,法国的 Gautherer 在研究山毛柳和黑杨等植物的形成层组织培养试验中,提出了 B 族维生素和生长素对组织培养的重要意义,并于 1939 年连续培养胡萝卜根形成层获得首次成功。同年, Nobecourt 也由胡萝卜建立了与上述类似的连续生长的组织培养物。White 于 1943 年出版了《植物组织培养手册》专著,使植物组织培养开始成为一门新兴的学科。White、Gautheret 和 Nobecourt 三位科学家被誉为植物组织培养学科的奠基人。

1948 年美国学者 Skoog 和我国学者崔激在烟草茎切段和髓培养以及器官形成的研究中发现,腺嘌呤或腺苷不仅能促进愈伤组织的生长,而且可以解除培养基中生长素 (IAA) 对芽形成的抑制作用,诱导芽的形成,从而认识到腺嘌呤与生长素的比例是控制芽和根形成的重要条件。

1952 年, Morel 和 Martin 首次通过茎尖分生组织的离体培养,从已受病毒侵染的大丽花中首次获得脱毒植株。1953 年, Muir 将万寿菊和烟草的愈伤组织转移到液体培养基中,放在摇床上振荡,获得由单细胞和细胞团组成的悬浮培养物,并成功进行继代培养。1955 年, Miller 发现了激动素 (kinetin), 同时发现激动素的活性比腺嘌呤高 3 万倍。1957 年, Skoog 和 Miller 提出通过改变细胞分裂素与生长素的比率,调节植物的器官形成。1958 年,英国学者 Steward 等报道以胡萝卜根韧皮部细胞为材料培养,形成了体细胞胚,并使其发育成完整植株,如图 0-2 所示,也证实了 Haberlandt 的细胞全能性理论。

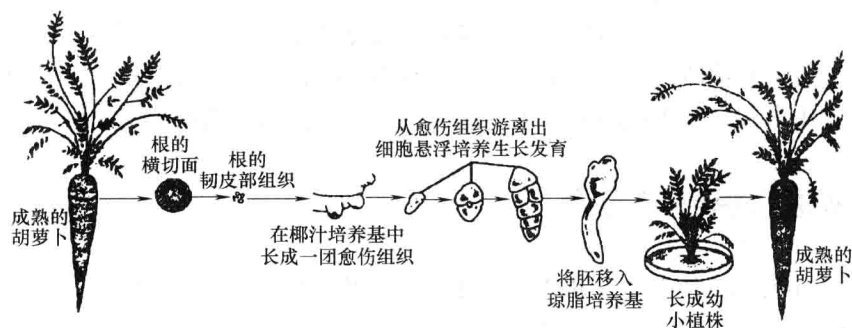


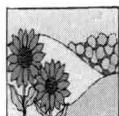
图 0-2 胡萝卜单细胞发育成植株示意图

在这一发展阶段,通过对培养基成分和培养条件的广泛研究,特别是对 B 族维生素、生长素和细胞分裂素作用的研究,确立了植物组织培养的技术体系,并首次用试验证实了细胞全能性,为以后的快速发展奠定了基础。

0.3.3 迅速发展阶段 (20 世纪 60 年代至今)

20 世纪 60 年代以后,植物组织培养进入了迅速发展时期,研究工作更加深入,从大量的物种诱导获得再生植株,形成了一套成熟的理论体系和技术方法,并开始大规模的生产应用。

1960 年, Cocking 用真菌纤维素酶分离番茄原生质体获得成功,开创了植物原生质体培养和体细胞杂交的研究工作。1960 年, Kanta 在植物试管受精研究中首次获得成功。同年, Morel 利用茎尖培养方法,脱去兰花病毒,且繁殖系数极高。这一技术导致了欧洲、美洲和



东南亚许多国家兰花产业的兴起。

1962 年, Murashige 和 Skoog 发表了适用于烟草愈伤组织快速生长的改良培养基, 即现在广泛使用的 MS 培养基。

1964 年, 印度 Guha 等成功地由毛叶曼陀罗花药培养获得单倍体植株, 这一发现掀起了采用单倍体育种技术来加速常规杂交育种速度的热潮。1967 年, Bourgin 和 Nitsch 通过花药培养获得了烟草的单倍体植株。

1970 年, Carlson 通过离体培养筛选得到生化突变体。同年, Power 首次成功实现原生质体融合。1971 年, Takebe 等首次由烟草原生质体获得了再生植株, 这一成功促进了体细胞杂交技术的发展, 同时也为外源基因的导入提供了理想的受体材料。1972 年, Carlson 等利用硝酸钠进行了两个烟草物种之间原生质体融合, 获得了第一个体细胞种间杂种植株。1974 年, Kao 等建立了原生质体的高 Ca^{2+} 、高 pH 的 PEG 融合法, 将植物体细胞杂交技术推向新阶段。1978 年, Melchers 等将番茄与马铃薯进行体细胞杂交获得成功。

1978 年, Murashige 提出了“人工种子”的概念, 之后的几年在世界各国掀起“人工种子”的开发热潮。

随着分子遗传学和植物基因工程的迅速发展, 以植物组织培养为基础的植物基因转化技术得到广泛应用, 并取得了丰硕成果。自 1983 年 Zambryski 等采用根癌农杆菌介导转化烟草, 获得了首例转基因植物以来, 利用该技术在水稻、玉米、小麦、大麦等主要农作物上取得了突破进展。迄今为止, 通过农杆菌介导将外源基因导入植物已育成了一批抗病、抗虫、抗除草剂、抗逆境及优质的转基因植物, 其中有的开始在生产上大面积推广使用。转基因技术的发展和运用表明植物组织培养技术的研究已开始深入到细胞和分子水平。

0.4 植物组织培养的应用

植物组织培养现已发展成为生物科学的一个广阔领域, 不仅在生物学科基础理论的研究上占有重要地位, 其应用也越来越广泛。

0.4.1 植物离体快速繁殖

植物离体快速繁殖是植物组织培养在生产上应用最广泛、产生较大经济效益的一项技术。离体快繁的突出特点就是繁殖速度快, 而且材料来源一致, 遗传背景相同, 不受季节和地区等的限制, 可周年生产, 繁殖系数高, 苗木整齐一致。对于新育成和引进品种、珍稀品种、濒危植物、脱毒苗、基因工程植物等, 通过离体快繁可以比常规繁殖方法快数万倍乃至数百万倍的速度进行扩大增殖, 且及时提供大量优质种苗。目前, 离体快繁方法已在观赏植物、园艺作物、经济林木及许多无性繁殖作物上广泛应用, 世界上已建成许多年产百万苗木的组织培养工厂, 已形成一种产业, 组培苗市场已国际化。

植物离体快繁技术在我国也到了广泛的应用, 到目前为止已报道有上千种植物的快速繁殖获得成功, 包括观赏植物、蔬菜、果树、大田作物及其他经济作物。其中, 香蕉、甘蔗、桉树、葡萄、苹果、马铃薯、甘薯、草莓、兰花、安祖花、马蹄莲、非洲菊、芦荟等植物已进入工厂化生产。



0.4.2 植物脱毒苗培育

许多作物在生长过程中都会遭受到多种病毒的侵染，特别是无性繁殖植物，如马铃薯、甘薯、草莓、大蒜等，病毒易潜伏于营养繁殖器官，因此在植株体内逐代积累，造成严重的品种退化，产量降低，品质变劣，对生产造成极大损失。如草莓中分布广、造成严重经济损失的病毒主要有4种：草莓斑驳病毒（SMV）、草莓皱缩病毒（SCV）、草莓镶嵌病毒（SVBV）和草莓轻型黄边病毒（SMYEV）；而侵染大蒜和马铃薯的病毒有10种以上。早在1943年White就发现植物生长点附近的病毒浓度很低，甚至无病毒，利用茎尖分生组织培养可脱去病毒，从而获得脱毒苗。脱毒苗恢复了原有品种优良种性，生长势明显增强，整齐一致。如脱毒后的马铃薯、甘薯、甘蔗、香蕉等植物可大幅度提高产量，改善品质，最高可增产300%，平均增产也在30%以上；兰花、水仙、大丽花等观赏植物脱毒后植株生长势强、产花量上升、花朵变大、色泽鲜艳。目前，利用茎尖脱毒方法生产无毒种苗已在许多果树（如苹果、葡萄、柑橘、菠萝、香蕉、草莓等）、蔬菜（如马铃薯、甘薯、大蒜、洋葱等）、花卉（如兰花、菊花、唐菖蒲、百合、康乃馨等）上大规模应用。

0.4.3 植物新品种选育

植物组织培养技术为植物育种提供了更多的手段和方法，目前已在植物育种上得到普遍应用，在单倍体育种、胚培养、细胞融合、离体选择突变体、植物基因工程等方面均取得显著成就。

1. 单倍体育种

自从Guha（1964）等获得第一株花粉单倍体植株以来，目前世界上已有300多种植物成功地获得了花粉植株。通过花药或花粉离体培养获得单倍体植株，然后通过秋水仙素处理使其染色体加倍，可以迅速使其后代基因型纯合，加速育种进程，比常规育种大大地缩短了育种年限。通过花药培养，1974年我国科学家用单倍体育种方法育成世界上第一个作物新品种——烟草品种单育1号，之后又育成水稻“中花8号”、小麦“京花1号”、油菜H165和H166等一批优良品种，并在生产上大面积推广种植。

2. 胚（胚胎）培养

胚（胚胎）培养早在20世纪40年代就开始用于克服远缘杂交中存在的杂交不亲和及杂交植株不孕，采用幼胚（或胚胎、胚珠等）离体培养使自然条件下夭折的幼胚发育成熟，获得杂种后代，从而育成新品种。如苹果与梨的杂交种、大白菜与甘蓝的杂交种、栽培棉与野生棉的杂交种等。目前，胚培养已在50多个科、属中获得成功。

3. 细胞融合

通过原生质体的融合，可以克服远缘杂交的不亲和性，获得体细胞杂种，从而打破物种间生殖隔离，实现其有益基因的交流，改良作物品种，以致创造植物新类型。通过体细胞杂交，目前已育成细胞质雄性不育烟草、细胞质雄性不育水稻、马铃薯栽培种与其野生种的杂种、甘蓝与白菜的杂种、柑橘类杂种等一批新品系和育种新材料。

4. 离体选择突变体

离体培养的细胞处于不断地分裂状态，容易受到培养条件和外界物理、化学等因素的影响而发生变异，从中可以筛选出对人们有用的突变体，进而育成新品种。目前，利用体细胞



无性系变异和细胞诱变已获得一批抗病虫、抗除草剂、耐寒、耐盐、高赖氨酸等突变体，有些已用于生产。

5. 植物基因工程

遗传转化即基因工程方法在分子水平上有针对性地定向重组遗传物质，改良植物性状，培育优质高产作物新品种，解决植物育种中用常规杂交方法所不能解决的问题，为人类开辟了一条高效、诱人的植物育种新途径。自 1996 年转基因植物规模化应用以来，全球转基因植物研究迅速发展，被誉为“人类历史上应用最为迅速的重大技术”。如抗虫棉、抗虫玉米、抗除草剂大豆、抗虫油菜等已大规模商业化生产。植物基因转化的受体除植物原生质体外，愈伤组织、悬浮细胞也都可以作为受体。几乎所有基因工程的研究都离不开应用植物组织培养技术和方法，植物组织培养是植物基因工程必不可少的技术手段。

0.4.4 植物次生代谢产物生产

利用植物组织或细胞的大规模培养，可以高效生产一些天然有机化合物，如蛋白质、糖类、脂肪、药物、香料、生物碱、天然色素以及其他生物活性物质。因此，这一领域引起了人们广泛的兴趣和极大的重视。目前，已经对 400 多种植物进行了研究，从植物培养物中分离到 600 多种次生代谢产物，其中 60 多种在含量上超过或等于其原植物。用植物组织培养生产人工不能合成的药物或有效成分等的研究正在不断深入，有些已开始工业化生产。

0.4.5 植物种质资源离体保存

种质资源是农业生产的基础，常规的植物种质资源种植保存方法耗费人力、物力和土地。1975 年，Henshaw 和 Morel 首次提出了离体保存植物种质资源的策略。目前，已有许多植物在离体条件下，通过抑制生长或超低温贮存的方法，使培养材料能长期保存，并保持其生活力，既可节约大量的人力、物力和土地，还可避免病虫害侵染和外界不利气候等因素的影响，更便于种质资源的交换和转移，对挽救濒危物种、抢救有用基因意义重大。

0.4.6 人工种子生产

人工种子的概念是 1978 年美国生物学家 Murashige 首先提出来的，它是指植物离体培养中产生的胚状体或不定芽，被包裹在含有养分和保护功能的人工胚乳和人工种皮中，形成能发芽出苗的颗粒体。人工种子的意义在于：人工种子结构完整，体积小，便于贮藏与运输，可直接播种或机械化操作；不受季节和环境限制，胚状体或不定芽数量多、繁殖快，利于工厂化生产；利于繁殖生育周期长、不能或不易产生种子的珍稀植物，也可大量繁殖无病毒材料；可在人工种子中加入抗生素、菌肥、农药成分等，提高种子活力和品质；体细胞胚或不定芽由无性繁殖体系产生，可以固定杂种优势。

由于人工种子的独特优点，引起人们极大的关注，其研究方兴未艾。但是，人工种子的研究虽已进行了 20 多年，一些难题还未能很好解决，如人工种皮、防腐、贮藏、运输在体外条件及类似土壤的底物中转化率较低、制作成本高等。所以，目前人工种子的研究仍处于探索阶段。可以相信，随着研究的深入，限制其在商业应用中的问题将逐步得到解决，实现其诱人的应用前景，也必将对作物遗传育种、良种繁育和栽培等起到巨大的推动作用，掀起种子产业的革命。



植物组织培养技术作为生物科学的一项重要技术已成为植物科学研究的常规方法，并推动了植物遗传、生理、生化和病理学研究的发展。总之，植物组织培养是生物工程的基础和关键环节之一，并且它在生产中的实际应用也越来越广泛，发挥着更加重要的作用。



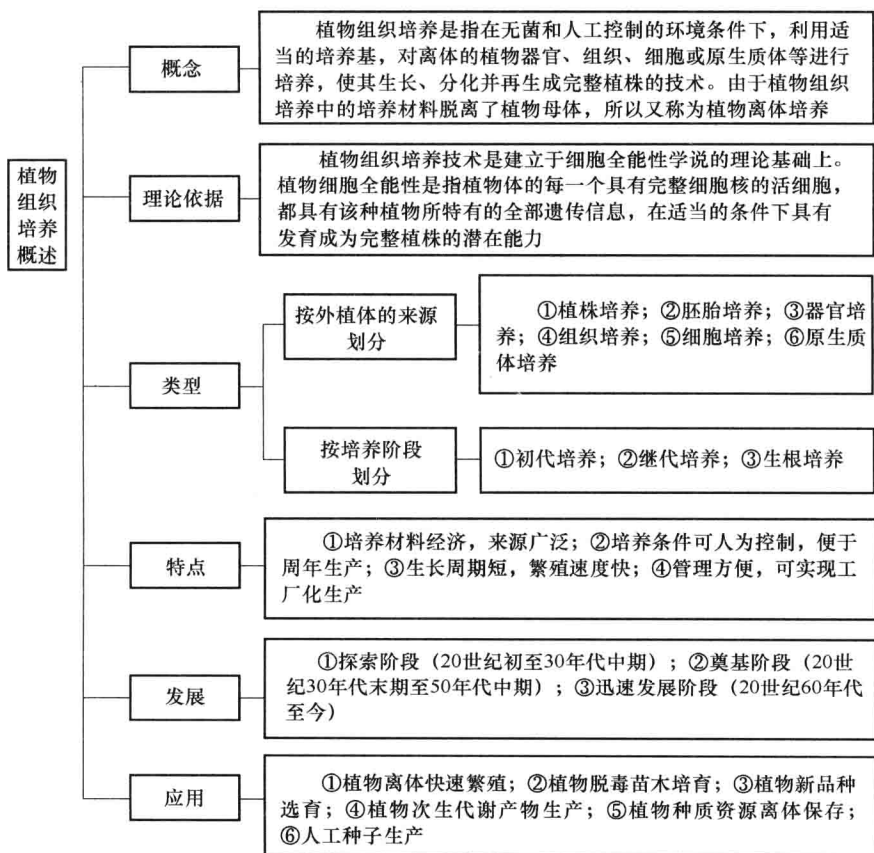
知识链接

中国组培网 (<http://www.zupeil.com/>) 主要板块内容有“组培知识”——介绍植物组织培养基础知识、基本技能及常见植物组织培养方法；“新闻资讯”——报道国际、国内植物组织培养行业动态及技术资讯；“组培商务”——传递行业生产及产品供求、人才招聘等信息；“网上商城”——宣传组培仪器设备、药品及种苗产品信息及采购指南。

中国组培网是中国最专业的组织培养行业门户网站，通过它可以学习植物组织培养知识，提高技术水平，及时了解植物组织培养技术及产业发展信息。



知识小结





复习思考题

1. 名词解释：外植体、愈伤组织、脱分化、再分化。
2. 什么是植物组织培养？主要有哪些培养类型？
3. 什么是细胞全能性？
4. 简述植物组织培养的特点及在农业生产中的应用。

项目1

植物组织培养实验室设计及 常用设备的使用与维护



学习目标

知识目标：

- 熟悉植物组织培养实验室的组成及设备
- 掌握植物组织培养实验室的设计要点
- 熟悉植物组织培养所需的仪器设备

能力目标：

- 能根据要求进行植物组织培养实验室及温室的设计
- 能正确操作使用植物组织培养实验室中各种仪器设备及器械

植物组织培养是通过无菌操作，在人工控制条件下进行培养以获得再生的完整植株或生产具有经济价值的其他产品的技术。要达到无菌操作和无菌培养，就需要人为创造无菌的环境，使用无菌的器皿及器械，同时还需要人工控制的温度、光照、湿度等培养条件。无菌环境和培养条件的创造需要一定的设施及设备。



工作任务1 植物组织培养实验室设计

要完成整个植物组织培养过程，其工作场地主要包括室内实验室及温室两大部分。组培实验室及温室的面积大小和装备程度取决于工作性质、生产规模及经费条件，用于科研和小规模生产的面积较小，进行大规模工厂化生产的面积较大，也常称为“组培工厂”。不论是实验室还是组培工厂，其建造要求、结构和功能基本相同。

1.1.1 植物组织培养实验室的组成及设计

植物组织培养室内实验室通常包括准备室、无菌操作室、培养室等，如图 1-1 所示。

1. 准备室

在准备室主要进行一些常规试验操作，如各种药品的贮备、称量、器皿洗涤、培养基配制、培养基和培养器皿的灭菌、培养材料的预处理等。为了方便管理还可将准备室进行适当