



高职高专“十二五”规划教材

植物组织培养

ZHI WU ZU ZHI
PEI YANG

主编 周鑫



航空工业出版社

高职高专“十二五”规划教材

植物组织培养

主 编 周 鑫

航空工业出版社

北 京

内 容 提 要

本教材按照植物组织培养育苗的生产过程将教学内容分为六个项目：植物组织培养工厂（实验室）建立、植物组织培养基本操作、离体培养体系建立、脱毒苗培育、植物组织培养工厂化育苗，以及植物组织培养育苗生产管理。通过这些项目将植物组织培养的理论知识和操作技能有机地结合在一起，从而达到教、学、做一体化的教学目的，使学生充分享受学中做、做中学的乐趣。

本教材紧密结合生产工作岗位的需求，强调操作性、实践性和应用性，旨在培养从事植物组织培养岗位所需的设计能力、分析能力、解决问题能力以及操作技能等。

本教材可供高职高专院校园林技术、园艺技术、农艺技术、生物技术、林业技术以及农学等相关专业的学生使用，也可作为从事组培生产的企业员工培训用书，还可供从事植物组织培养的研究人员和经营管理者参考使用。

图书在版编目（C I P）数据

植物组织培养 / 周鑫主编. -- 北京：航空工业出版社，2012.9

ISBN 978-7-5165-0085-9

I. ①植… II. ①周… III. ①植物组织—组织培养
IV. ①Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 228402 号

植物组织培养 Zhiwu Zuzhi Peiyang

航空工业出版社出版发行

（北京市安定门外小关东里 14 号 100029）

发行部电话：010-64815615 010-64978486

北京忠信印刷有限责任公司印刷

全国各地新华书店经售

2012 年 9 月第 1 版

2012 年 9 月第 1 次印刷

开本：787×1092

1/16

印张：11.75

字数：293 千字

印数：1—3000

定价：29.80 元

编写说明

目前,高等职业教育发展速度极快。高职高专教材作为体现高职高专教育特色的知识载体和教学的基本工具,其教材质量直接关系到高职高专教育能否为一线岗位培养符合要求的高素质技能型专门人才。

为加强园林类专业建设,黑龙江省高职高专教育园林类专业教学指导委员会于2011年5月启动“黑龙江省高职高专园林专业‘十二五’规划教材”建设工作。本套教材由黑龙江省高职高专教育园林类专业教学指导委员会的10所会员单位院校共同参加编写,首批计划编写的教材共计12本,预计在2012年底前出版发行。

本套教材具有以下特点:

1. 教材编写模式充分体现工学结合的原则,实现学习与工作的整合,理论与实践的整合,专业能力、方法能力和社会能力的整合,教材按照基于工作过程开发的课程体系及内容进行编写,便于行动导向教学的实施。
2. 本教材针对黑龙江省生境条件的特殊性进行编写,突出地域性,更具针对性,更加适合本地院校的园林专业使用。
3. 本教材在编写的过程中,遵照新规范、新规程、新标准,吸取大量新理论、新技术、新工艺、新设备,以适应高级技术人才的培养,充分体现了新的教学改革成果。

本套教材的作者队伍是由具有多年教学经验、实践经验,同时具有多部图书编写经验的一线教师及相关行业专家、企业技术人员组成的,教材在编写的过程中也得到有关专家的精心指导。我们衷心希望本套教材能给广大师生耳目一新的感觉,真正成为学生在学习过程中理想的参考书。

黑龙江省高职高专教育园林类专业
教学指导委员会

2012年6月

黑龙江省高职高专园林类专业“十二五”规划教材

编审委员会

- | | | |
|-----|-----|-------------------|
| 主 任 | 杨晓明 | 黑龙江省教育厅高教处 |
| | 张化疆 | 黑龙江生态工程职业学院 |
| 副主任 | 李长海 | 黑龙江省森林植物园 |
| | 张树宝 | 黑龙江林业职业技术学院 |
| | 王文焕 | 黑龙江职业学院 |
| | 刘恒学 | 黑龙江生物科技职业学院 |
| | 王洪军 | 黑龙江生态工程职业学院 |
| 委 员 | 祝长龙 | 哈尔滨市城绿办绿化处 |
| | 王秀娟 | 黑龙江农业工程职业学院 |
| | 刘学义 | 哈尔滨市第三苗圃 |
| | 张清友 | 黑龙江农业职业技术学院 |
| | 徐俊延 | 黑龙江农垦科技职业技术学院 |
| | 杜兴臣 | 黑龙江农业经济职业学院 |
| | 赵科研 | 伊春职业学院 |
| | 秦 荣 | 大兴安岭职业学院 |
| | 苏艳霞 | 黑龙江省苏萌园林科技开发有限公司 |
| | 赵 越 | 太阳岛风景区资产运营有限公司 |
| | 潘丽萍 | 黑龙江博艺诚信园林绿化有限责任公司 |
| | 郑宝仁 | 黑龙江生态工程职业学院 |



植物组织培养是一项新兴技术，经过各国科学家的辛勤探索，不但促进了植物遗传、生理生化、病理学等基础理论的深入研究，而且在农业、林业、医药等行业的生产实践中得到广泛应用，并创造了巨大的经济效益和社会价值。

许多生物技术公司开始利用植物组织培养技术进行植物快速繁殖和脱毒苗培育，需要大量的专业人才。在此背景下，许多院校开始开设植物组织培养课程，培养符合植物组织培养生产和管理的高技能应用型人才。

本教材紧密结合生产实际，采用项目教学法编排教材内容，强调专业能力的培养，符合职业教育人才的培养目标。

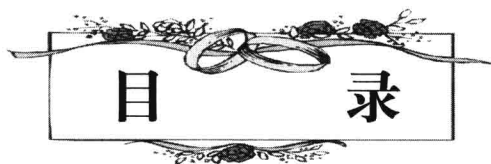
本教材由周鑫任主编，曹天旭、郑永娟任副主编，编写分工如下：

周鑫（黑龙江林业职业技术学院）负责编写项目一和项目二中的任务一、二；王姝（黑龙江职业学院）负责编写项目四以及项目二中的任务三、四、五；郑永娟（黑龙江农垦科技职业学院）负责编写项目三以及项目五中的任务一、二；曹天旭（黑龙江农业经济职业学院）负责编写项目五中的任务三、四、五、六、七；杨杰（山东莱阳泰瑞兰业有限公司）负责编写项目五中的任务八；朱立明（黑龙江林业职业技术学院）负责编写项目六。全书由周鑫负责统稿、定稿，由宋洪文（黑龙江林业职业技术学院）副教授和胡金全（台州乾元生物科技有限公司）技术总监负责审稿。

在此，特别感谢宋洪文副教授和胡金全技术总监。宋洪文副教授以严谨的治学态度对全书进行了系统地审阅并提出了宝贵的修改意见，胡金全技术总监根据多年的生产实践经验，在本教材的编写初期提出了许多合理化建议，最后又认真审阅并提出修改意见。

本教材在编写过程中力求完美和达到职业教育人才培养目标的要求，但限于编者的知识水平，书中难免有不妥之处，恳请同行和广大读者批评指正，以便修订。

编者
2012年9月



项目一 植物组织培养工厂(实验室)建立	1
任务一 植物组织培养工厂(实验室)的设计	1
任务二 植物组织培养常用仪器设备及使用	10
项目二 植物组织培养基本操作	19
任务一 无菌室灭菌	19
任务二 灭菌效果检验	24
任务三 培养基母液的配制	27
任务四 培养基的配制	36
任务五 培养基灭菌	45
项目三 离体培养体系建立	49
任务一 外植体选择与消毒	49
任务二 无菌接种	56
任务三 初代培养	62
任务四 继代培养与生根培养	74
任务五 组培苗的驯化与移栽	81
项目四 脱毒苗培育	86
任务一 脱毒苗生产	86
任务二 脱毒苗鉴定	92
项目五 植物组织培养工厂化育苗	98
任务一 秋海棠组织培养	98
任务二 重瓣大岩桐组织培养	105
任务三 月季组织培养	111
任务四 蝴蝶兰组织培养	116
任务五 唐菖蒲组织培养	124
任务六 郁金香组织培养	132
任务七 菊花组织培养	141
任务八 马铃薯脱毒苗生产	149
项目六 植物组织培养育苗生产管理	156
任务一 工厂化育苗生产计划制定	156
任务二 工厂化育苗生产管理	163
附 录	175
参考文献	178

项目一 植物组织培养工厂（实验室）建立

【学习目标】

- 掌握植物组织培养的概念、原理、特点与类型。
- 了解植物组织培养工厂（实验室）的组成。
- 能够进行植物组织培养工厂（实验室）的布局设计。
- 掌握植物组织培养常用仪器设备的使用方法。

任务一 植物组织培养工厂（实验室）的设计

【任务目标】

1. 掌握植物组织培养的理论基础。
2. 能够进行植物组织培养工厂（实验室）的设计与规划。
3. 了解植物组织培养的类型。

【任务设置】

博大生物技术公司将要建设年产组培花卉 50 万株的植物组织培养中心，现邀请园林专业的学生为其选择厂址与设计布局。

【相关知识】

一、植物组织培养的理论基础

历经一个世纪的发展，植物组织培养已成为一门重要的学科和一项重要的技术手段，它广泛地应用于农业、林业和医药等行业。了解植物组织培养的相关理论，不仅可以使我们更好地理解这项技术，而且还能利用它为我们创造更大的经济价值和社会效益。

（一）植物组织培养的概念

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，对植物体的部分材料进行培养，使其生长、分化并再生为完整植株的技术。由于培养材料脱离了植物母体，培养在试管或其他容器中，所以又称为植物离体培养或试管培养。

目前，可供组织培养的植物材料有完整植株、器官、组织、胚胎、细胞和原生质体等。因此，植物组织培养的概念又可分为广义和狭义两个方面。其中，广义的植物组织培养是指对植物的完整植株、器官、组织、胚胎、细胞以及原生质体进行培养的技术；而狭义的植物组织培养仅是指对植物的组织及产生的愈伤组织进行培养的技术。



(二) 植物组织培养的原理

植物组织培养是以植物学、植物生理学、遗传学等为理论指导的科学,其中,细胞全能性是重要的理论基础。

1. 植物细胞全能性

植物细胞全能性是指每个具有完整细胞核的植物细胞,都具有该种植物的全部遗传信息和产生完整植株的能力。可见,细胞不仅是植物有机体的形态结构单位,还是具有潜在生殖能力的生理功能单位。

自然状态下,分化了的雌、雄配子经过受精作用形成受精卵,受精卵经过一系列的分裂形成具有分化能力的细胞团,细胞团再次发生分化,形成各种组织、器官,最后发育成具有完整形态、结构和功能的植株。同样,植物的体细胞由合子的有丝分裂产生,因而也具有全能性。

虽然植物体的每个活细胞都保持着潜在的全能性,但由于受到生活环境的束缚,却只表现出特定的形态结构及生理功能。一旦这些细胞脱离所在的器官或组织,成为离体状态,不再受到植株的控制,此时给予一定的人工培养条件,它们就能够重新开始分裂增殖,产生愈伤组织,继而分化出组织、器官,形成新的完整植株。

2. 植物细胞全能性的实现

在多数情况下,一个成熟的植物细胞要表现它的全能性,需经历脱分化和再分化两个阶段。脱分化是指已经分化成熟的植物组织或器官,其组成细胞重新恢复分生能力,形成愈伤组织的过程。再分化是指由脱分化形成的愈伤组织进一步形成完整植株的过程。愈伤组织是一团无定形、高度液泡化、具有分生能力却无特定功能的薄壁组织。也有一些植物直接由分生组织产生芽,而不需经历愈伤组织的中间形式。

脱分化过程中,细胞常以无规则方式进行分裂,形成一大团薄壁组织,即愈伤组织,但愈伤组织并不继续分化成器官。只有在适当的培养条件诱导下,愈伤组织才会进行再分化,形成器官,并进一步发育为完整植株。再分化过程有器官发生型和体细胞胚发生型两种发育途径。

(1) 器官发生型

器官发生型是指由愈伤组织再分化形成根、芽等器官,然后再形成完整植株的过程。根和芽是在愈伤组织的不同部位分别独立形成的,形成的时间也可能不一致。它们均为单极性结构,体内各有维管束与愈伤组织相连,但在不定根和不定芽之间并没有共同的维管束将二者连在一起。多数植物是先形成芽,待芽伸长后再在基部长出根,进而形成完整的植株。

(2) 体细胞胚发生型

体细胞胚发生型是指由愈伤组织的细胞不经过有性生殖而直接再分化产生类似胚的结构,然后再由胚结构发育成完整植株的过程。体细胞胚具有双极性,即苗端和根端,其发育过程与受精卵发育成胚的过程极为相似,在适宜的条件下可先后经过原胚、球形胚、心形胚、鱼雷形胚和子叶胚等五个时期,最后发育成完整植株。

通过脱分化和再分化两个阶段,细胞的全能性得以表达。当然,不同的植物、组织、器官和细胞间全能性的表达难易程度会有所不同,这关键在于细胞所处的生长环境和生理发育状态。因此,植物组织培养的主要工作就是设计和筛选合适的培养基,为植物创造适宜的培养条



件，使其快速、高效、安全地完成脱分化和再分化过程。

（三）植物组织培养的特点

植物组织培养是在人工控制的环境条件下进行的，与自然状态下生长的植物相比，具有以下四个特点。

1. 人为控制培养条件，实现周年生产

用于组织培养的植物材料是在人为提供的环境条件下生长的，因此它摆脱了自然中季节变化、昼夜变化及灾害性气候等不利因素的影响，而且人为培养条件比较均一，对植物生长极为有利，所以，可极大地满足植物周年生产的需求。

2. 生长周期短，繁殖速度快

植物组织培养可根据不同植物、不同器官、不同组织的不同要求而提供不同的培养条件，进而满足其快速生长的要求，缩短培养周期。一般来说，植物材料经历 20~30d 就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。可见，植物组织培养的快速繁殖特性是其他繁殖方法无可比拟的。

3. 管理方便，实现工厂化生产

植物组织培养是在人为提供温度、光照、湿度、营养和生长调节剂等条件下进行的，与传统育苗相比，既不受自然界中病虫害、杂草等危害，也省去了中耕除草、浇水施肥、病虫害防治等劳动，还节省了人力、物力及土地，从而实现了微型化、精细化、标准化和自动化的工厂化生产。

4. 培养材料来源广泛，用材较省

依据植物细胞全能性原理，无论是单个细胞、小块组织、茎尖、茎段还是子叶、花瓣，均可再生形成完整植株，而且用量极省，大到几厘米，小到几毫米，甚至更少。这无论是对新品种的推广，还是良种的更新复壮，都具有重大的实践意义。

二、植物组织培养工厂（实验室）的布局设计

植物组织培养工厂（实验室）是为更好地实施植物组织培养技术而人为创造的环境场所，对其进行布局设计，需考虑设计原则、环境要求和空间布局等三个方面。

（一）设计原则

植物组织培养工厂（实验室）的设计原则，大体分为四个方面：

第一，根据培养目的、培养规模、资金能力以及现有条件等来确定工厂（实验室）的大小，体现适用性原则。

第二，根据生产工艺流程和操作步骤来确定工厂（实验室）的布局，体现合理性原则。

第三，杜绝污染，体现环保性原则。

第四，降低成本，体现经济实用性原则。



(二) 环境要求

植物组织培养工厂(实验室)应选择在空气清新、光线充足、通风良好、环境清洁、水电齐备、交通便利的地方。要避免各种污染源,以利于组织培养的顺利进行,同时竭力降低培养过程的污染率。也可因地制宜地利用现有房舍,按照无菌要求和生产工艺流程进行改造。

(三) 空间布局

一般来说,用于科研和小规模生产的植物组织培养场所,常称为实验室;而进行大规模工厂化生产的植物组织培养场所,称为组培工厂或组培中心。不论是实验室还是组培工厂,其建造要求和空间布局基本一致,只是规模大小不同而已。

依据生产工艺流程,如图 1-1-1 所示,组培工厂可设置洗涤室、药品室、天平室、培养基配制室、灭菌室、接种室、培养室、炼苗室、观察室、贮藏室等。而实验室由于较小,可把相近的工作室合并,如将药品室、天平室、培养基配制室合并为准备室等,但接种室、培养室和炼苗室都必须单独设置。这样的空间布局能够形成连续的生产作业线,避免某些环节倒排、增加工作量或引起混乱。此外,消防设施和其他的必要安全设施也是不可或缺的。

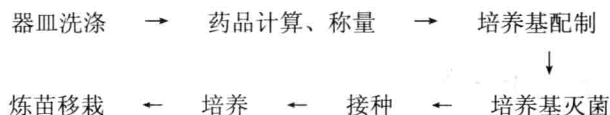


图 1-1-1 植物组织培养的生产工艺流程

1. 洗涤室

洗涤室的作用是清洗、干燥各种实验器皿以及对培养材料进行必要的预处理等。室内应建有大型水槽和浸泡池。一般水槽采用水泥浇筑,并在表面镶嵌白色瓷砖,下面铺设胶板以防止碰坏实验器皿。同时,室内还要备有放置晾干实验器皿的晾干架、运输实验器皿的周转箱或小推车等。此外,洗涤室的地面要做防滑处理,并保证排水通畅,墙壁还要耐湿、防潮。

2. 药品室

药品室是存放各种药品试剂的场所。室内要求干燥、通风,避免阳光直射,同时配有药品柜、冰箱等设备。各种药品试剂要分门别类地存放于药品柜或冰箱中。比如,有毒类药品(如升汞)应单独密封保存,并设专人管理;无机盐类药品(如 CaCl_2) 性质较为稳定,可在室温下保存;植物生长调节剂(如 IAA)应置于 4°C 冰箱中保存。

3. 天平室

天平室是称量各种化学药品的场所。室内要求干燥、密闭、无阳光直射,有固定的称量平台,安放普通天平和万分之一分析天平(电子天平),并配有电源插座。天平室最好与培养基配制室相邻,这样方便配制母液和培养基。当房间较少时,天平室可以与药品室合二为一。



4. 培养基配制室

培养基配制室是配制培养基母液、植物生长调节剂原液以及培养基的场所。在允许的情况下,配制室面积宜大不宜小,而且室内应具备大型实验台,配有电炉、铝锅、量具、三角瓶和酸度计等。若空间有限,配制室也可与药品室、天平室合并在一起。

5. 灭菌室

灭菌室顾名思义就是对培养基、实验器皿进行灭菌以及制备无菌水的场所。室内要求电源、供水、排水和通风设施齐全,配有烘箱、灭菌锅以及存放器皿、培养基的架子和橱柜。灭菌室应毗邻接种室,这样可有效避免因培养基长距离搬运而增加污染几率。

6. 接种室

接种室也称无菌室,是将植物材料接种到培养基上进行培养的无菌场所。其室内的无菌程度决定着组织培养的成功与否。在允许的情况下,接种室面积宜小不宜大,一般 $5\sim 7\text{m}^2$ 即可。接种室的天花板及四周墙壁要光滑平整,地面平坦无缝,这样便于清洁和消毒。最好安装滑动门,以减少开关门时空气的流动。在适当位置安装 $1\sim 2$ 盏紫外线灯,用以辐射灭菌。室内还应配有超净工作台、小推车、器械支架、酒精灯、镊子、解剖刀、手术剪、解剖针等。

若空间允许,接种室外可设缓冲室,面积以 $2\sim 3\text{m}^2$ 为宜,以供操作人员更换工作服、鞋、帽之用,这样能够减少因人员流动而引入杂菌。缓冲室与接种室之间可用玻璃墙隔开,以满足教学和参观之需。

7. 培养室

培养室是离体植物材料生长的场所。室内应保持清洁,具备光照、控温和定时设备。其中,光照强度一般保持在 $1000\sim 5000\text{lx}$,温度一般保持在 $25\pm 2^\circ\text{C}$,光照时间一般保持在 $8\sim 16\text{h/d}$,也可根据不同要求灵活控制。由于培养室用电调节温度和补充光照,耗电量较大,因此为了节省能源,降低成本,可将培养室选在南面,两面采光,加大窗户,充分利用自然光照,并采用双层玻璃以增强隔热和防尘效果。此外,培养室内还应配有培养架、加湿器、摇床等设备。若条件允许,可将一个大的培养室分隔成多个小的培养室,这样不仅容易控制温度、光照等环境条件,也容易消毒和保持清洁。

8. 炼苗室

炼苗室是对组培苗进行炼苗和移栽的场所。室内应具有控温、保湿、遮阴设施,一般要求温度控制在 $15\sim 25^\circ\text{C}$,相对空气湿度控制在70%以上,而光照则根据实际需要进行调控。室内还要配有弥雾装置、遮阳网、防虫网、移植床、营养钵及移栽基质等。

9. 观察室

观察室是对培养物的生长情况及实验结果进行观察和记录的场所。室内应安静、干燥、清洁和明亮,要求有固定的台面,保证仪器不振动、不受潮,并放置显微镜、解剖镜、照相机等仪器。



10. 贮藏室

贮藏室的作用是存放暂时不用的实验器皿、用具等。贮藏室最好设在楼房低层的通风背阴处，这样便于物品搬运。

【任务实施】

- 一、参观校内的植物组织培养实验室。
- 二、对厂址选择进行可行性调研，然后根据调研结果做出结论，填写表 1-1-1。
- 三、根据生产工艺流程设计厂房布局方案。

表 1-1-1 厂址选择的可行性调研报告

调研项目	实际情况	结论
周围环境	(提示：周围有哪些工厂、居民点，是否有垃圾场等污染源，特别是上风口是否有污染源等)	
生产用水	(提示：水质、供水量等)	
生产用电	(提示：电力供应是否充足，是否有动力电等)	
交通保障	(提示：厂址附近的交通情况，是否有公路，公路离主干线的距离等)	

【任务考核】

表 1-1-2 博大生物技术公司组培中心设计考核标准

项目	要求	分值	得分	教师评语
厂址选择可行性报告	调研内容详实，结论言之有理	50 分		
厂房布局设计方案	工作方便，省时省工，无环节倒排现象	50 分		

【知识拓展】

一、植物组织培养的发展

植物组织培养技术的蓬勃发展只是近 50 年的事情，但它的研究可追溯到 1665 年英国物理学家 Hooke 第一次发现并命名细胞，自此拉开了植物组织培养科学发展的序幕。



(一) 探索阶段

1665 年英国物理学家 Hooke 用自制的显微镜观察软木(砾树皮)的结构,发现并命名了细胞。1838~1839 年德国植物学家 Schleiden 和动物学家 Schwann 提出了细胞学说,他们认为细胞是生物体的基本结构单位,如果具有存在于有机体内一样的条件时,每个细胞应该可以独立生活和发展。这一论点是当时植物组织培养技术研究的思想萌芽。

1902 年德国植物学家 Haberlandt 提出细胞全能性理论,他认为高等植物的组织和器官可以被不断地分割直至单个细胞,而单个细胞还能重新形成一个完整的个体。鉴于 Haberlandt 对植物组织培养研究作出的贡献,他被后来的学者们誉为植物组织培养之父。

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,并提前萌发形成小苗,于是他首次获得了胚培养的成功。

1922 年美国 Robbins 和德国 Kotte 报道,在含有无机盐、葡萄糖、多种氨基酸和琼脂的培养基上分别培养豌豆、玉米和棉花的茎尖与根尖,这些离体组织可进行有限的生长,形成缺绿的叶和根,但未发现其细胞有形态发生能力。

1925 年 Laibach 发现由亚麻种间杂交形成的不能成活种子中的胚在人工培养基上可以培养至成熟,这证明胚培养在植物远缘杂交中具有利用的可能性。

在这一阶段,虽然人们进行了大量的探索性试验研究,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探究清楚,故只在胚和根的离体培养方面取得了一些成果。

(二) 奠基阶段

从 20 世纪 30 年代开始,植物组织培养研究逐步得到发展和完善。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培养基对番茄的根进行离体培养,并获得了成功。随后他建立了人工合成的综合培养基,证明了要在培养基中至少补充几种维生素,根尖才能存活和生长。并在以后的 28 年间他将根尖反复转移到新鲜培养基中继代培养了 1600 代。

同年,荷兰植物学家 Went 发现了 IAA。随后不少学者又相继发现了 IBA、NAA 和 2,4-D 等人工合成的植物生长激素类物质。

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根尖生长的影响,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、烟酸等 3 种 B 族维生素取代酵母提取液,重新建立了一个由已知化合物组成的综合培养基,该培养基后来被定名为 White 培养基。

与此同时,法国 Gautherer 在研究山毛柳和黑杨等形成层组织培养实验中,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。Nobecourt 也用胡萝卜建立了与上述类似的连续生长的组织培养物。

1940 年, Van Overbeek 首次把椰汁作为补充成分加入培养基中,使曼陀罗的心形胚能够离体培养至成熟。

1943 年,White 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。而 White、Gautherer 和 Nobecourt 三位科学家被誉为植物组织培养学科的奠基人。我们现在所用的培养方法和培养基,基本上都是由这三位科学家建立的。

1948 年,美国学者 Skoog 和我国学者崔激在烟草茎段和髓培养的研究中发现,腺嘌呤或



腺苷可以解除培养基中生长素对芽形成的抑制作用,从而认识到腺嘌呤与生长素的比例是控制芽和根分化的决定性因素之一,当比例高时,有利于形成芽,而比例低时,则有利于形成根。

1952年,Morel和Martin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,为抢救优良品种开辟了新途径。

1953~1954年,Muir利用振荡培养和机械方法获得了万寿菊和烟草的单细胞,并实施了看护培养,使单细胞培养获得初步成功。

1956年,Miller发现了细胞分裂素,1957年他又和Skoog一起提出了植物生长调节剂能够控制器官形成的理论,指出调节培养基中生长素和细胞分裂素的比例可以控制器官的分化。

1958年,英国学者Steward等以胡萝卜为材料,通过体细胞胚胎发生途径培养获得完整的植株,首次得到了人工体细胞胚,从而证实了Haberlandt的细胞全能性理论。

在这一阶段,通过对培养基成分和培养条件的广泛研究,特别是B族维生素、生长素和细胞分裂素的研究,确立了植物组织培养技术体系,为以后的快速发展奠定了坚实的基础。

(三) 迅速发展阶段

当影响植物细胞分裂和器官形成的机理被揭示后,植物组织培养技术进入了迅速发展阶段,并开始大规模地应用到生产实践中。

1960年,Morel采用兰属植物的茎尖进行培养,实现了脱毒和快繁两个目的。根据Morel的方法,1年内可以由1个兰花茎尖繁殖出400万株具有相同遗传性的健康植株。

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,也就是现在广泛使用的MS培养基。

1964年,印度德里大学Guha和Mahehwari培养南洋金花未成熟的花药时,发现了由大量胚状体形成的小植株,证明小植株起源于花粉,是单倍体植株。

1971年,科学家在烟草上首次由原生质体获得再生植株,这不但在理论上证明了除体细胞和生殖细胞外,无细胞壁的原生质体同样具有全能性,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。

1972年,Carlson等利用硝酸钠进行了两个烟草物种之间的原生质体融合,获得了第一个体细胞种间杂种植株。1974年Kao等人建立了原生质体的高 Ca^{2+} 、高pH的PEG融合法,把植物体细胞杂交技术推向新阶段。

依托植物组织培养技术,分子遗传学和基因工程学也得到了广泛应用。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技术已育成了一大批抗病、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。这表明组织培养技术的研究已开始深入到细胞和分子水平。

植物组织培养技术发展至今,已经建立了一套完整的理论体系和技术体系,并正在向纵深发展:一是扩大在各种重要经济植物上的研究;二是加强生长、生化机理和遗传变异的研究;三是从细胞和分子水平上开拓研究内容,如细胞器移植、DNA导入、基因工程等。

二、植物组织培养的类型

依据不同的标准,可将植物组织培养分为不同的类型。



(一) 依据外植体来源

外植体是指在植物组织培养过程中,从植物母体上取得的用于离体培养的初始材料。

1. 植株培养

植株培养是指对具有完整植株形态的幼苗或较大的植株进行离体培养的方法。

2. 胚胎培养

胚胎培养是指对植物成熟或未成熟的胚进行离体培养的方法。常用的胚胎培养材料有幼胚、成熟胚、胚乳、胚珠、子房等。

3. 器官培养

器官培养是指对植物体各种器官及器官原基进行离体培养的方法。常用的器官培养材料有根(根尖、切段)、茎(茎尖、切段)、叶(叶片、子叶)、花(花瓣、雄蕊)、果实、种子等。

4. 组织培养

组织培养是指对植物体各部位组织或已诱导的愈伤组织进行离体培养的方法。常用的组织材料有分生组织、形成层、表皮、皮层等。

5. 细胞培养

细胞培养是指对植物的单个细胞或较小的细胞团进行离体培养的方法。常用的细胞培养材料有生殖细胞、叶肉细胞、根尖细胞、韧皮部细胞等。

6. 原生质体培养

原生质体培养是指对除去细胞壁的原生质体进行离体培养的方法。

(二) 依据培养过程

1. 初代培养

初代培养是指将植物体上分离下来的外植体进行最初几代培养的过程。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,也称为启动培养。

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。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。



任务二 植物组织培养常用仪器设备及使用

【任务目标】

1. 掌握植物组织培养常用的仪器设备。
2. 能够安全规范操作各种设备仪器。
3. 了解组织培养技术的应用。

【任务设置】

博大生物技术公司的植物组培中心建成后，购买了大批仪器设备，现邀请园林专业的学生协助公司员工一起进行各种仪器设备的调试工作。

【相关知识】

根据各种仪器设备的功能，可将其划分为以下八类。

一、制备培养基设备

（一）天平

天平的作用是称量各种化学药品，可分为两种：一种是分析天平，精确度可达 0.0001g，用于称取各种微量元素、有机物质、植物生长调节剂等用量较少的化学药品；另一种是托盘天平，精确度仅为 0.1g，用于称取各种大量元素、蔗糖、琼脂等用量较多的化学药品。

（二）酸度计

酸度计是用于测定培养基 pH 值的精密仪器，既可在配制培养基时使用，也可在培养过程中用于测定培养基 pH 值的变化。若不做研究，仅用于生产，也可用 pH 为 4~7 的试纸代替。

（三）净水设备

顾名思义，净水设备即为净化水的设备。比如，超纯水机可制备超纯水，用于配制有特殊需要的培养基；蒸馏水器可制备蒸馏水，用于配制母液。

（四）培养基自动定量灌装机

培养基自动定量灌装机主要用于大规模生产中的培养基灌装，若是实验室中的少量培养基，则可直接用烧杯分装。

（五）冰箱

冰箱的作用主要是提供一个恒定低温的环境，可用于培养基母液、植物生长调节剂原液和各种易变质分解的化学药品贮存，还可用于植物材料的低温保存以及低温处理等。