



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



植物组织培养教程

● 李浚明 主编

● 农学·园艺·植保·生物工程

植

北京农业大学出版社

全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定

植物组织培养教程

李浚明 编译

韩碧文 主审

农学 园艺 植保
生物工程专业用

北京农业大学出版社

(京) 第164号

全国高等农业院校教材
植物组织培养教程

李浚明 编译

责任编辑 吴肖菊

*

北京农业大学出版社出版

(北京市海淀区圆明园西路2号)

北京昌平华生印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行

*

850×1168毫米 32开本 12.375印张 306千字

1992年5月第1版 1992年5月第1次印刷

印数: 1—5000

ISBN 7-81002-324-1/S·325

定 价: 3.85元

内 容 简 介

本书是以一本外国教材为蓝本经增补删改而成的植物组织培养教科书，全书共分16章，除介绍了植物组织培养所需的基本设备和各项基本技术之外，对诸如细胞全能性、长期培养物形态发生潜力丧失的原因、以及体细胞遗传学等基本理论亦有较为详尽的叙述。此外，为方便读者的实验操作，书中还包括多篇附录，如常用化合物分子量及细胞筛孔径与目换算表等。本书不但可作为大学生的基本教材，同时，也可作为研究生及具有中等以上文化程度的实际工作者的参考书。

编译者的话

组织培养是植物生物技术的主要分支之一，80年代，国内外出版了大量的有关书籍，只是其中多数都是学术会议文集，或是由不同作者分别撰写的综述汇编，适合作教材者为数极少，唯独两位印度学者S.S.Bhojwani和M.K.Razdan所著“Plant Tissue Culture: Theory and Practice”一书(Elsevier, 1983)则完全是出于教学需要编写的，内容全面，编排系统，既讲方法，又讲原理，因此在该书问世后不久，同样是出于教学需要，我们就将它全部译成了中文，遗憾的是当时没能找到出版的机会。

若干年过去了，在此期间植物组织培养的某些领域又有了重要进展，因此在此次出版之前，我们对原书的一些章节做了若干增补和删改，如第一章“绪论”是由编译者重新编写的，第二章和第三章则根据我国有关实验室的设备现状和实际工作需要做了少量变动，如删掉了对手套箱的介绍，增补了对一些化学药品溶剂的介绍等，第六章增加了“人工种子”一节，第七章增加了我国近几年来发表的几种培养基配方等，第九章增加了体细胞遗传学内容，第十二章关于禾谷类植物原生质体培养一节和第十三章关于电融合及外源DNA摄入两节重写，资料增补到1990年。此外，对若干章的附录也做了一些删减或补充，如在第十二章中增加了细胞筛孔径与“目”换算表及离心机转数与离心力的列线图等等。

在本书出版准备过程中，编译者得到了北京农业大学外国农业教材中心朱涓副主任的支持和帮助，得到了本实验室研究生张

宏同志和助理实验师田慧琴同志的多方协助，在本书完稿之后，又承韩碧文教授在百忙中惠予审阅并提出宝贵的修改意见，编译者谨向他们致以由衷的谢意。

最后，编译者诚恳地期待着专家和读者对本编译本的疵漏之处的批评指正。

李浚明

1991年2月

目 录

1 绪论	1
1.1 植物组织培养的一般概念	1
1.2 植物组织培养的发展简史	4
1.2.1 探索阶段(本世纪初至30年代中)	4
1.2.2 奠基阶段(30年代中至50年代末)	5
1.2.3 迅速发展阶段(60年代至现在)	8
1.3 组织培养与农业的关系.....	10
2 实验室的基本设备和一般技术	12
2.1 引言	12
2.2 设备	12
2.2.1 培养基室	12
2.2.2 培养容器	13
2.2.3 培养室	14
2.3 技术	16
2.3.1 玻璃器皿和塑料器皿的清洗	16
2.3.2 灭菌	16
附录2.I 植物组织无菌培养的一般步骤	22
附录2.II 组织培养工作所需的各种用具	23
3 培养基	26
3.1 引言	26
3.2 培养基成分	27

3.2.1 无机营养成分	27
3.2.2 有机营养成分	33
3.2.3 生长激素	34
3.2.4 琼脂	35
3.2.5 pH	37
3.3 培养基的选择	37
3.4 培养基的制备	40
附录3. I 植物组织培养基常用化合物分子量	43
附录3. II 原子量	46
4 细胞培养	48
4.1 引言	48
4.2 单细胞的分离	48
4.2.1 由完整的植物器官分离单细胞	48
4.2.2 由培养组织中分离单细胞	50
4.3 悬浮培养	51
4.3.1 一般技术	51
4.3.2 细胞悬浮培养的培养基	55
4.3.3 培养基的振荡	55
4.3.4 悬浮培养细胞的同步化	57
4.3.5 悬浮培养中细胞生长的计量	58
4.3.6 培养细胞活力的测定	59
4.4 单细胞培养	60
4.4.1 单细胞培养方法	61
4.4.2 影响单细胞培养的因素	66
4.5 细胞培养的应用	70
4.5.1 突变体选择	70
4.5.2 工业应用	73
4.5.3 诱导多倍性	75
附录4. I 由篱天剑叶片分离叶肉细胞的机械方法	75

附录4. II 酶解法分离烟草叶肉细胞的程序	76
5 细胞的全能性与器官发生	77
5.1 引言	77
5.2 细胞分化	78
5.2.1 影响维管组织分化过程的因子	79
5.2.2 细胞分裂对木质部分化的必要性	82
5.3 器官分化	84
5.3.1 影响茎芽分化的因素	85
5.3.2 茎芽分化的解剖学和细胞学	90
5.3.3 表皮细胞的全能性	92
5.3.4 冠瘿瘤细胞的全能性	95
6 体细胞胚胎发生	97
6.1 引言	97
6.2 体细胞胚胎发生的例证	98
6.3 影响体细胞胚胎发生的因子	101
6.3.1 生长调节物质	101
6.3.2 氮源	104
6.3.3 其他因子	105
6.4 体细胞胚胎发生的解剖学和细胞学	105
6.5 体细胞胚的成熟过程	107
6.6 体细胞胚与合子胚的比较	108
6.7 由单细胞到植株	109
6.8 长期培养物形态发生潜力的丧失	109
6.8.1 遗传说	110
6.8.2 生理说	110
6.8.3 竞争说	111
6.9 细胞全能性的实际应用	111

6.9.1 细胞全能性的应用	111
6.9.2 人工种子	112
6.10 结束语	114
附录6.I 诱导体细胞胚胎发生的实验程序	115
7 单倍体的产生	118
7.1 引言	118
7.2 花药培养技术	119
7.3 影响雄核发育的因子	120
7.3.1 营养需要	120
7.3.2 药壁因子	125
7.3.3 花粉发育时期	126
7.3.4 温度和光照	126
7.3.5 供体植株的生理状态	128
7.4 雄核发育单倍体的个体发生过程	129
7.4.1 花粉单倍体的诱导	130
7.4.2 雄核发育早期过程的4种途径	131
7.4.3 雄核发育晚期过程的差异	133
7.5 禾谷类植物花药培养中白化苗的形成	135
7.6 离体小孢子和花粉培养	135
7.7 通过远缘杂交产生单倍体	139
7.8 单倍体植株的二倍化	140
7.9 在高等植物中单倍性的意义	142
7.9.1 概述	142
7.9.2 单倍体在作物改良中应用的实例	143
7.10 结束语	144
附录7.I 烟草花药培养实验程序	146
8 三倍体的产生	148
8.1 引言	148

8.2 愈伤组织的形成	149
8.2.1 外植体	149
8.2.2 培养基	150
8.2.3 物理因子	152
8.3 愈伤组织的组织学和细胞学	153
8.4 器官发生	154
8.4.1 影响茎芽分化的因素	155
8.4.2 茎芽的个体发生过程	160
8.5 胚乳培养的应用	161
8.6 结束语	162
9 细胞遗传学研究	163
9.1 引言	163
9.2 培养细胞的一般特征	165
9.3 核变异的起源	166
9.3.1 初生愈伤组织	166
9.3.2 建成愈伤组织	167
9.4 影响离体培养细胞核型变异的因子	171
9.4.1 培养基	171
9.4.2 组织原有的倍数性	173
9.5 核型变化和形态发生	173
9.6 花粉植株中的倍数性变异	175
9.7 嵌合性	178
9.8 植株再生的遗传控制	179
9.9 组织培养诱发变异的实际应用	180
9.9.1 在再生植株中对变异体的选择	181
9.9.2 在细胞水平上对变异体的选择	185
9.10 离体入选的变异性状在再生植株中的表达和遗传	188
9.10.1 变异体和突变体	189

9.10.2 后生遗传和遗传	189
9.11 结束语	190
10 离体授粉	192
10.1 引言	192
10.2 术语释义	194
10.3 离体授粉的方法	194
10.4 胚珠和子房培养	196
10.4.1 胚珠培养	196
10.4.2 子房培养	200
10.5 离体授粉中影响结实的因子	201
10.5.1 外植体	201
10.5.2 培养基	202
10.5.3 培养条件	205
10.5.4 基因型	206
10.6 离体授粉的应用	206
10.7 结束语	207
11 合子胚培养	209
11.1 引言	209
11.2 合子胚培养方法	210
11.2.1 植物材料	212
11.2.2 消毒方法	213
11.2.3 胚的剥离	213
11.2.4 胚乳看护培养	217
11.3 对培养基和培养条件的要求	219
11.3.1 无机盐	222
11.3.2 碳水化合物和培养基的渗透压	224
11.3.3 氨基酸和维生素	225
11.3.4 天然的植物浸提物	226

11.3.5	生长调节物质	228
11.3.6	培养基的pH	228
11.3.7	培养条件	229
11.4	胚柄在胚培养中的作用	229
11.5	早熟萌发	231
11.6	胚分化不全的种子在培养中的形态发生	234
11.7	显微手术实验	236
11.8	寄生性被子植物胚和种子的培养	240
11.9	胚愈伤组织的形态发生潜力	241
11.10	实际应用	242
11.10.1	获得稀有杂种	242
11.10.2	单倍体的产生	245
11.10.3	缩短育种周期	246
11.10.4	种子生活力的快速测定	246
11.10.5	稀有植物的繁殖	246
11.11	结束语	247
12	原生质体的分离和培养	248
12.1	引言	248
12.2	原生质体的分离	249
12.2.1	影响原生质体产量和活力的因子	250
12.2.2	原生质体的净化	256
12.2.3	原生质体活力的测定	257
12.3	原生质体培养	257
12.3.1	细胞壁的形成	259
12.3.2	细胞分裂和愈伤组织的形成	260
12.3.3	禾谷类植物原生质体培养	267
12.3.4	植株再生	270
附录12. I	用一步法制备烟草叶肉原生质体	271

附录12.Ⅱ	细胞筛孔径(μm)与目换算表	272
附录12.Ⅲ	离心机转数与离心力的列线图	273
附录12.Ⅳ	用血球计数板计数原生质体的方法	274
13	体细胞杂交	276
13.1	引言	276
13.2	原生质体融合	277
13.2.1	自发融合	277
13.2.2	诱发融合	277
13.2.3	化学诱导融合的机制	281
13.2.4	融合产物的细胞学	283
13.3	杂种细胞的选择系统	285
13.4	体细胞杂种植株的核型	291
13.5	细胞质杂种	292
13.6	体细胞杂种和胞质杂种的鉴定方法	295
13.7	通过原生质体摄入细胞器、微生物和DNA进行细胞 胞的遗传饰变	295
13.7.1	叶绿体移植	296
13.7.2	核移植	298
13.7.3	微生物移植	298
13.7.4	外源 DNA 的摄入	299
13.7.5	离体原生质体的其他用途	301
13.8	结束语	301
附录13.Ⅰ	高pH-高浓度 Ca^{2+} 诱导原生质体融合的实验 程序	302
附录13.Ⅱ	P E G 诱导原生质体融合的实验程序	303
14.	植物脱毒技术	305
14.1	引言	305

14.2	术语释义	306
14.3	通过热处理消除病毒	307
14.4	通过茎尖培养消除病毒	309
14.4.1	外植体名称	309
14.4.2	方法	309
14.4.3	在茎尖培养中影响脱毒效果的因素	311
14.5	通过愈伤组织培养消除病毒	320
14.6	脱毒效果的检验	321
14.7	无毒原种的保存	322
14.8	脱毒植株的应用	323
14.9	病毒以外病原菌的离体消除方法	323
14.10	通过茎尖培养消除病毒的注意事项	324
14.11	结束语	325
附录14. I	马铃薯脱毒程序	326
15	离体无性繁殖方法	328
15.1	引言	328
15.2	兰花的繁殖	329
15.3	微繁的一般方法	332
15.3.1	培养物的建立	332
15.3.2	茎芽增殖的3种途径	335
15.3.3	离体形成的枝条的生根	341
15.3.4	移栽	342
15.4	影响微繁效果的若干因素	343
15.4.1	培养基	343
15.4.2	光照和温度	347
15.5	木本植物的微繁	347
15.5.1	外植体	348
15.5.2	培养基的褐变	349

15.5.3 间苯三酚 (PG) 的作用	350
15.6 微繁的应用	350
15.7 微繁方法的局限性	351
15.8 结束语	352
附录15. I 卡特兰微繁培养基成分	354
附录15. II 兰花微繁培养基成分	356
附录15. III 应用MS基本培养基进行微繁的一些 栽培植物	358
附录15. IV 杜鹃花微繁培养基成分	364
附录15. V 草莓微繁培养基成分	365
16 种质贮存	366
16.1 引言	366
16.2 冷冻保存	367
16.2.1 植物材料的性质	369
16.2.2 冷冻前的处理	369
16.2.3 冷冻防护剂	369
16.2.4 冷冻	370
16.2.5 贮存	373
16.2.6 解冻	374
16.2.7 重新培养	374
16.2.8 细胞和器官冷冻保存后的存活率	375
16.3 低温贮存	376
16.4 结束语	377
附录16. I 冷冻保存玉米悬浮培养细胞的程序	377

1.1 植物组织培养的一般概念

广义的组织培养，不仅包括在无菌条件下利用人工培养基对植物组织的培养，而且包括对原生质体、悬浮细胞和植物器官的培养。Gamborg曾根据所培养的植物材料的不同，把组织培养分为5种类型，即愈伤组织培养、悬浮细胞培养、器官培养（胚、花药、子房、根和茎的培养等）、茎尖分生组织培养和原生质体培养。其中愈伤组织培养是一种最常见的培养形式。所谓愈伤组织，原是指植物在受伤之后于伤口表面形成的一团薄壁细胞，在组织培养中，则指在人工培养基上由外植体长出来的一团无序生长的薄壁细胞。愈伤组织培养所以是一种最常见的培养形式，是因为除茎尖分生组织培养的一部分器官培养以外，其他几种培养形式最终也都要经历愈伤组织才能产生再生植株，此外，愈伤组织还常常是悬浮培养的细胞和原生质体的来源。

大家知道，植物细胞和动物细胞在结构上有若干区别，同样地，它们在生理特性上也不完全一样。动物细胞的分化一般都是不可逆的，植物细胞则不然，只要具有一个完整的膜系统和一个有生命力的核，即使是已经高度成熟和分化的细胞，也还保持着回复到分生状态的能力。在组织培养中，当我们把分化组织中的不分裂的静止细胞，放在一种能促进细胞增殖的培养基上以后，细胞内就会发生某些变化，从而使细胞进入分裂状态。一个成熟细胞转变为分生状态的过程叫做脱分化。在组织培养中，我们把