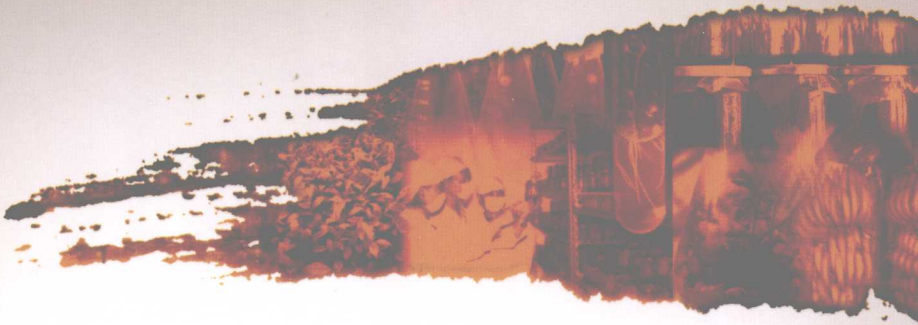




滇 | 西 | 学 | 术 | 文 | 丛

植物组织培养 技术研究

◎李福元 徐 玲 著◎

 云南大学出版社
Yunnan University Press

植物组织培养 技术研究

滇 | 西 | 学 | 术 | 文 | 丛

◎李福元 徐 玲 著◎

云南大学出版社
Yunnan University Press



图书在版编目 (CIP) 数据

植物组织培养技术研究/李福元, 徐玲著. —昆明: 云南大学出版社, 2008

(滇西学术文丛)

ISBN 978 - 7 - 81112 - 557 - 3

I. 植… II. ①李…②徐… III. 植物—组织培养—研究
IV. Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2008) 第 182856 号

植物组织培养技术研究

李福元 徐 玲 著

组稿编辑: 徐 曼

责任编辑: 徐 曼 朱光辉

封面设计: 刘 雨

出版发行: 云南大学出版社

印 装: 云南国浩印刷有限公司

开 本: 850mm × 1168mm 1/32

印 张: 4.875

字 数: 122 千

版 次: 2008 年 12 月第 1 版

印 次: 2008 年 12 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978 - 7 - 81112 - 557 - 3

定 价: 14.00 元

地 址: 昆明市翠湖北路 2 号云南大学英华园内 (邮编: 650091)

发行电话: 0871 - 5033244 5031071

网 址: www.ynup.com

E-mail: market@ynup.com

“滇西学术文丛”总序

蒋永文

保山师范高等专科学校地处气候宜人、风景秀丽、历史悠久的滇西重镇保山，是一所建校近30年，主要为拥有1100万人口的滇西7个州市培养中小学师资的地方师范院校。长期以来，在艰苦的条件下，学校为该区域培养了上万名中小学教师和各行业建设者，为祖国西部边疆少数民族地区的教育发展作出了应有的贡献。

大学肩负着创造知识和传播知识的重任。学术是支撑大学的精髓，学科是构筑大学的基石，学者是大学精神的化身。教学与科研相统一是大学的基本理念。科研和教学是彼此促进的，在教学中，可以激发灵感，开阔思路，发现研究课题。而研究成果又可以丰富教学内容，促进教学质量的提高，二者相得益彰。为了给滇西地区提供更好的高等教育资源，保山师专必须建立一支热爱教育事业，业务过硬，高水平、高质量的教师队伍，为此，学校以重点学科建设为龙头，以形成科研特色、增强科研实力、提高效益为目标。学校近几年采取

了资助科研立项、奖励科研成果、出版学术论文集等措施来不断提高广大教师的教学水平和科研水平，已收到了较好的效果。为了更好地为广大教师提供出版学术论著的园地，学校决定从 2007 年起出版“滇西学术文丛”，出版学术水平较高的著作。相信“滇西学术文丛”的出版，一定会对保山师范高等专科学校科学研究的深入，以及学科建设和学科带头人、骨干教师的培养产生积极的影响。

辽阔的天空，允许大鹏展翅高飞，也允许小鸟上下蓬蒿；广袤的大地，允许参天大树生长，也允许无名小草成长。我们是小鸟，我们是小草，这套丛书，远非成熟完美，作者水平也还需要不断提高。我们期待着批评和指教。我们会做得越来越好。

2007 年 5 月

前 言

植物组织培养技术研究，是建立在细胞全能性学说基础之上的又一新兴研究领域，它的研究历史到 2002 年才满 100 年。但为了验证细胞全能性的存在，全世界的相关科学家相继进行了近 50 年的攻关，才证明了细胞全能性的存在。其所进行的研究工作涉及生物学、物理学、化学、医学及实验科学等领域的知识，是多学科相互渗透、相互融合，共同攻关的结果。植物组织培养技术研究，从一开始就形成了全世界共同关注、共同参与、互相促进的开放式研究新格局，不管谁的研究成果都包含着前辈和同时代人的研究成果。所以，发表研究成果是和同行共享研究成果的义不容辞的责任。

植物组织培养技术研究的主要研究内容为：（1）前 50 年的主要任务是证明细胞全能性的存在；（2）后 50 年是全面证实细胞全能性的存在和个别物种进入生产应用；（3）第三个 50 年将会研究出更多物种的组培技术和把更多物种的组培技术应用于生产。

本书作者是 1985 年才开始从事植物组织培养技术研究工作的，研究的物种包括云南茶花、云南茶叶、云南兰花、蓝桉类、魔芋、芦荟、金线莲、大青树、香蕉、甘蔗、山葵、金花茶等。本书将主要介绍云南茶叶中的国家级良种“云抗 10 号”茶叶的组织培养快速繁殖研究成果，蓝桉、直杆蓝桉组织培养快速繁殖研究成果和香蕉、甘蔗、山葵等合计 5 个物种的组培技术研究成果。

研究工作的主要方向是结合当地的产业和当地特有的珍稀物种，研究的核心技术是能够应用于产业化的技术。

通过 20 多年的组培技术研究工作实践，作者发现了令组培界值得探讨的一个现象，那就是云南省的保山很适合组培技术的研究工作，很适合组培苗的生长。其原因找到了五条：一是无工业污染，空气和水清新；二是无砂尘，这个地方 95% 是山，山以种树种草为主；三是四季如春，最高温 28℃，最低温 0℃，年均温 15℃，培养室夏秋季多数物种不要降温，冬春季适当加温；四是光照充足，一年中只有 7、8、9 三个月是雨季，并且经常是一阵雨一阵阳光，很少有几天不见太阳的情况，所以我们的组培苗生产已经不用人工光照，实现了自然光照；五是湿度低，多数时间在 60% 以下，只有 7、8、9 三个月会超过 60%，对防止污染有利。由于有了好的生态环境，就容易产生新的组培技术研究成果，在产业化方面可以大幅降低生产成本，提高效益。

组培技术研究是永无止境的，它包括三个方面的含意：一是同一物种的组培技术存在着不断深化不断提高的必要性和可能性；二是不同物种的组培技术就像大海一样深广；三是不同用途的组培技术同样广阔。每一个人的研究工作只能控制在一个很窄的范围（如一个物种的某个方面），而且要用很长时间才会有所成就。所以，组培技术研究工作是一项十分艰辛的工作，每一个人的成就也是微不足道的。组培技术的大量获得，主要靠所有参加组培技术研究工作的科技工作者的各自努力，把各自获得的各方面知识和技术像涓涓细流一样汇集成河，直至成为大海。本书的出版就是和同行一起做这一工作。

我们的研究工作，无论在研究条件、工作环境，还是个人天赋方面，与同行相比，都差距甚远，研究成果水平不高也是自然的，特别是写文章的水平与研究成果的水平又相差一大截。所以，若本书难以满足读者的需要，在此仅表歉意，并渴望赐教。

我们在从事植物组织培养技术研究工作中，得到了老师的教导，领导的关心，同事的支持，还有那些把组培研究成果写成书或文章的作者给我们提供了参考和借鉴，在此一并致谢！特别需要感谢的是学校领导和学术委员会，以及学校学术出版基金的资助，此书才得以出版。

目 录

几种典型植物的组织培养技术

——云南大叶茶篇	(3)
云抗 10 号大叶茶的组织培养快速繁殖研究	(3)
——蓝桉篇	(12)
蓝桉和直杆蓝桉的组织培养快速繁殖研究	(12)
蓝桉纸浆材良种组培苗繁殖技术研究	(24)
蓝桉、直杆蓝桉工厂化组培育苗研究	(30)
蓝桉和直杆蓝桉的组织培养技术研究进展	(51)
蓝桉的栽培与利用综述	(57)
——香蕉篇	(75)
香蕉组培苗应用研究	(75)
——甘蔗篇	(84)
甘蔗良种组培育苗及示范种植技术研究	(84)
保山地区甘蔗品种现状和良种组培苗的应用前景	(90)
应用组培快繁技术是加快甘蔗良种推广的有效手段	(99)

——山葵篇	(108)
山葵优株组培技术研究	(108)

植物组织培养技术的产业化思考

植物组织培养技术研究成果的产业化	(129)
保山师专植物组培技术研究与应用概述	(133)
利用组培技术加快保山热作发展的思考	(139)

几种典型植物的 组织培养技术

——云南大叶茶篇

云抗 10 号大叶茶的组织培养 快速繁殖研究

摘 要：植物组织离体培养，是一门正在崛起的新兴技术。这里介绍的是：利用组培技术对国家级良种——云抗 10 号大叶茶进行研究，其结果对茶叶良种的推广和普及具有重要意义。

关键词：云抗 10 号 大叶茶 组织培养

一、前言

茶叶生产在我国国民经济中占有重要地位。所得优良品种，由于直播，一代比一代退化，致使茶园低产及老化加快，一个新品种还未普及，就已经退化得差不多了。为了解决有性繁殖中的退化问题，人们采用扦插等常规无性系繁殖方法，对老茶园进行改植换种。但常规无性系繁殖方法存在着三个缺陷：一是常规无性繁殖速度慢，一个新育成的无性良种，若将其母树扩大规模到

能满足生产上的需要，至少需要 10 年的时间；二是常规无性系繁殖易使植株体内病毒浓度增高，影响树体的生长和存活，同样会使产量和品质下降；三是在茶树无性繁殖中，由于生殖生长期提前——无童期，营养生长期缩短，影响树势的生长，必然加快茶园老化速度。随着生物技术的成熟和广泛应用，用组织培养技术对优良茶叶品种进行快速繁殖，不但可以加速良种的普及和推广，而且可以克服有性繁殖中的退化和一时种源不足的问题；可以克服常规无性繁殖中病毒浓度增高和推广普及周期过长的问題。对此，我们采用良种茎尖进行快速繁殖研究，还为了克服常规无性系繁殖中童期过短或无童期（茶叶和果树的情况恰恰相反，人们需要果树无童期，希望果树提早结实，而希望茶叶能推迟结果或少结果，这样就能使茶树长出更多的枝叶）的问题，我们又采用了良种茶树成熟种子的胚进行快速繁殖研究，以便保存优良品系和加快推广普及的速度。本文报告云抗 10 号良种茶茎尖、成熟胚培养分化成苗的过程。

二、材料和方法

供试材料于 1991 年 12 月 22 日从昌宁县茶树良种站引进两株云抗 10 号茶叶新品种（参看云南省标准计量局 1987 年发布的地方标准 DB/5300 B35 021 - 87）。1991 年 12 月 24 日摘取茎尖芽孢置于水龙头下冲洗，除去灰尘；10% 的洗衣粉水泡洗 10 分钟；5% 的次氯酸钠溶液泡洗 10 分钟；无菌水冲洗 5 次后用滤纸吸干水分；在显微镜下剥芽，露出成长点，留 2 至 3 个叶原基；再在 75% 的酒精中泡洗 10 秒钟左右，无菌水冲洗后吸干，接种在盛有改良 ER 固体培养基的试管里培养。成熟种子只要取出胚即可。外植体各 17 个，接种在各 17 支试管里。试管放置在 24 小时 $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 的恒温室里培养，光照强度为室内自然光，

约 1000 lx。

培养基采用 ER 培养基，pH 值调到 5.6 ~ 5.8，含糖量分化 4%，生根试验 2%。培养 20 天后芽开始伸长，60 天叶芽丛生苗开始增殖。

云抗 10 号茶组培苗的生根，用 IAA 及 NAA 做不同种类及浓度的生根试验，生根培养基用琼脂固定；还用离地表一米左右的深层造红壤晒干粉碎后作为扦插生根基质，对生根情况进行了观察。

组培苗移栽到造红壤中，其方法是将造红壤晒干粉碎后拌化肥，用 6 厘米 × 10 厘米的塑料营养袋装栽培土，然后把小苗移栽在土里，及时进行浇水保湿。

三、观察和分析

(一) 云抗 10 号茶腋芽的快速繁殖

在用组织培养法快速繁殖云抗 10 号茶叶无性系的实验中，为了获得遗传性状较一致的茶叶组培小苗，并使组培苗能够较多地保持其母树的优良性状，对云抗 10 号茶叶腋芽进行了快速繁殖试验。采集的样是正在抽梢还未进入休眠的芽。当外植体接种在培养基上 20 天后开始伸长，60 天后，在顶芽生长点及其芽基部开始分化出丛生小苗。接种后 2 至 3 周，把外植体及时转移到认为最合适的培养基上，以后每次转管分植需 25 ~ 30 天，每次转接均按不低于 n^3 的分化率增殖。

因为云抗 10 号茶腋芽丛生苗的分化不经过愈伤组织阶段，所以能保持母树的遗传性状，所产生的小植株很粗壮。我们使用与此项技术相近似的技术从小牧丹山茶花的叶芽中诱导出大批苗木。几年来的小牧丹山茶试验和云抗 10 号茶的试验证明：通过组织培养诱导云抗 10 号茶腋芽快速增殖是优良茶品种快速繁殖

获得大量健壮小苗的最有效的途径。

(二) 云抗 10 号茶成熟胚培养成苗

接种在 ER 培养基上的云抗 10 号茶成熟胚，经 15 至 20 天培养之后，即开始长出主根和茎，将未污染的小苗下胚轴和根一起切除，把上胚轴及芽一起转入分化培养基进行分化培养。只要分化培养基合适，很快就可以进入分化阶段。成熟胚培养成单个植株所用培养基的范围比较宽，如 MS、Wt、H、ER 等均可。这一事实与《植物组织培养手册》的论述是完全一致的。但要让成熟胚形成的单个植株分化出高效率的丛生芽，其培养基就比较专一了。由于成熟胚来源于不同的种子，在相同培养基中的分化情况差异是非常显著的。从育种的角度讲，这些差异可以给育种提供丰富的原始材料。但从生产的角度考虑，必须筛选出与母树性状完全一致的材料进行快速繁殖，以满足优良品种的迅速推广和普及。这种方法可以应用在叶芽培养比较困难的植物上，用成熟胚培养的云抗 10 号茶通过筛选后的分化成苗过程与叶芽培养成苗过程是一致的。

(三) 云抗 10 号茶组培小苗的生根

胚芽经过分化培养和腋芽分化培养出来的都是无根小苗。为了诱导生根以获得完整植株，进行了下列试验：(1) 在生根培养基中加入了 IAA 4mg/L 的剂量水平，最快的 10 ~ 12 天开始生根，最慢的生根时间是 35 ~ 45 天，可达 100% 的生根；(2) 在生根培养基中加入 NAA 4mg/L，其生根最快的是 12 天、最慢的是 20 天，其生根率也达 100%；(3) 我们还用组培苗进行扦插生根试验，其生根时间需要 40 ~ 45 天，每条根长两厘米以上，数量 2 ~ 4 条，生根率也达 100%。可见，云抗 10 号茶生根是比较容易的，但生根最快的两个剂量水平是 IAA 4mg/L 10 ~ 12 天和 NAA 4mg/L 12 ~ 14 天两个水平。

生根的部分：从云抗 10 号茶组培小苗和节间等部位的生根来看，小苗无论培养在琼脂培养基上或是扦插在造红壤里，节或节间都可以生根，在节间有纵裂现象，而在节和切口上则呈轮状长根，粗细和根毛都无明显差异。在使用不同生根剂时，生根的部位和表现也有不同。用 NAA 生根，愈伤组织生长在离切口 1 ~ 3 毫米以上的地方，长根的地方在愈伤组织上边与愈伤组织紧密相连的略微膨大部分，愈伤组织以下的部分死亡。用 IAA 生根，在切口处略微膨大一点，其根就在膨大处呈轮状长出，剪口新鲜。这里描述的是生根最快，最容易移栽成活的生根剂量水平。最容易移栽成活的生长素品种是 LAA。

生根苗的质量：苗的质量直接影响根的生长，云抗 10 号茶组培苗的生根苗龄一般在 30 ~ 40 天，木质化程度中等的长根最好。

（四）云抗 10 号茶组培苗的移栽

当小苗根长达到 0.5 厘米左右即可进行移栽。组培苗生长在培养室恒温、弱光照及比较稳定的温度的条件下，为了使小苗有一个很快适应外界环境的过程，在移栽时要在温室里精心操作和护理，时间一般需要一星期。

从用温室所做的实验表明：小苗在移栽时，对温度的要求不很严格，16℃ ~ 40℃ 都能成活，对光照的适应范围也较宽，只要在一星期内避免阳光直射即可，这种要求在自然情况下稍加遮阴或移栽后放在第二层台架以下即可解决。但对湿度的要求是严格的，移栽时湿度低于 90%，小苗即卷叶萎蔫，如不及时提高湿度，小苗会在一星期内死亡。因此组培苗移栽成活的关键是湿度。在自然条件下要达到这一湿度必须经常淋水，而淋水太多会出现小苗根部因积水透气不良而变黑死亡，造成大量死苗现象。为了解决这一矛盾，采用离地表一米左右粘度小颗粒状比较好的造红壤晒干粉碎后，直接装入 6 厘米 × 10 厘米的塑料营养袋，