

普通高等教育“十二五”规划教材

# 植物组织培养

PLANT TISSUE CULTURE

李胜 杨宁 主编



中国林业出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

# 植物组织培养

李 胜 杨 宁 主编

中国林业出版社

## 内容简介

本教材按照组织培养的设施设备—组织培养理论—组织培养的应用框架编排,内容包括:绪论,植物组织培养室的设计与培养基制备,外植体的选择、灭菌、接种与培养,植物组织培养原理,离体培养中的遗传与变异,植物组织器官培养,体细胞杂交,植物转基因受体系统建立、植物离体资源的种质保存,植物细胞器官培养与次生代谢产物生产。本教材注重现代植物组织培养的发展趋势,理论联系生产实践,并考虑相关专业的教学特点,内容翔实,重点突出,脉络清晰,图文并茂,编排合理。各章前有本章提要,后有小结、复习思考题、参考文献以及推荐阅读书目,书末附有植物组织培养常用的培养基配方,方便学习查阅。

本教材适合高等院校生物科学、生物技术、农学、林学、园艺、中草药等专业使用,也可作为相关领域研究生和科研人员的参考书。

### 图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养/李胜,杨宁主编. —北京:中国林业出版社,2015.7

国家林业局普通高等教育“十二五”规划教材

ISBN 978-7-5038-8059-9

I. ①植… II. ①李… ②…杨 III. ①植物组织—组织培养—高等学校—教材 IV. ①Q943.1

中国版本图书馆CIP数据核字(2015)第155474号

## 中国林业出版社教育出版分社

策划编辑:康红梅 田苗

责任编辑:田苗

电话:83143551 83143557

传真:83143516

出版发行 中国林业出版社(100009 北京西城区德内大街刘海胡同7号)

E-mail: jiaocai-public@163.com 电话:(010) 83143500

网站: <http://lycb.forestry.gov.cn>

经 销 新华书店

印 刷 中国农业出版社印刷厂

版 次 2015年7月第1版

印 次 2015年7月第1次印刷

开 本 850mm×1168mm 1/16

印 张 21.5

字 数 480千字

定 价 43.00元

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有 侵权必究

# 《植物组织培养》

## 编写人员

---

主 编 李 胜 杨 宁  
副 主 编 赵 露 马绍英 张庆霞  
编写人员 (按姓氏拼音排序)

李 胜 (甘肃农业大学)

栗孟飞 (甘肃农业大学)

马绍英 (甘肃农业大学)

毛 娟 (甘肃农业大学)

夏润玺 (沈阳农业大学)

杨 宁 (西北师范大学)

张 真 (甘肃农业大学)

张春梅 (河西学院)

张庆霞 (陇东学院)

赵 露 (吉林农业大学)



# 前 言

植物组织培养自提出以来,已经历了100多年的发展,尤其是近50多年来,植物组织培养得到了迅速发展,并相继建立了一批企业,活跃在农业、林业、工业和医药业等行业,产生了巨大的经济效益和社会效益,成为当代生物科学中最有生命力的学科之一,也是现代生物技术和现代农业技术的组成部分。

我国是一个人口大国,目前从事植物组织培养的人数和实验室总面积,均居世界第一。近年来我国试管繁殖已进入成熟阶段,诞生了数百个植物组织培养企业,随着全球经济一体化以及我国加入世界贸易组织,我国植物组织培养技术必须与国际接轨,才能体现其时代的特点与要求。

我们在多年从事植物组织培养本科生与研究生教学的基础上,组织这方面的专家与学者,立足于植物组织培养的理论基础,结合植物组织培养与其他相关学科的交叉应用与研究,以及编者的多年研究,提出植物组织培养的编写任务,以便为相关专业本科生与研究生的植物组织培养教学提供更为适用的教材,同时也可作为相关领域科研人员的参考用书。

本教材概述了植物组织培养的发展历史,每一发展阶段研究形成新的理论与原理;列举了成熟技术在目前农业及相关产业中的应用实例,介绍了植物细胞培养及植株再生技术在农作物品种选育、次生代谢产物生产和基因转化中的应用原理。重点介绍了植物组织培养的原理,植物组织器官和细胞培养,植物转基因受体系统及其建立。本教材由李胜、杨宁主编,具体编写分工如下:绪论,李胜;第1章,夏润玺;第2章,张春梅;第3章,马绍英、李胜;第4章,赵露;第5章,张庆霞;第6章,毛娟、李胜;第7章,杨宁;第8章,栗孟飞、李胜;第9章,张真、李胜。

本教材在编写过程中得到有关研究单位和大专院校专家、教务部门的支持。另外,编写过程中参考和引用了国内外大专院校教材,得到了出版社的领导和编辑的大力支持,在此一并表示感谢。

本教材在编辑出版中,因编者水平有限、时间仓促,错误之处在所难免,敬请批评指正。

编 者

2015年1月

· i ·



# 目 录

## 前 言

第0章 绪论 .....	(1)
0.1 植物组织培养的定义和目的 .....	(1)
0.2 植物组织培养发展简史 .....	(1)
0.2.1 国外植物组织培养发展简史 .....	(1)
0.2.2 我国植物组织培养发展简史 .....	(3)
0.3 植物组织培养的研究动向 .....	(4)
0.4 植物组织培养的特点 .....	(7)
0.5 我国规模化、企业化组织培养的现状 .....	(7)
小结 .....	(9)
复习思考题 .....	(9)
参考文献 .....	(9)
推荐阅读书目 .....	(9)
第1章 组织培养室的设计与培养基制备 .....	(10)
1.1 组织培养室的设计 .....	(10)
1.1.1 组织培养室的设计要求 .....	(10)
1.1.2 组织培养室的组成与布局 .....	(11)
1.2 仪器设备和器具 .....	(13)
1.2.1 基本仪器设备 .....	(13)
1.2.2 常用器皿与器械 .....	(18)
1.3 清洗和灭菌 .....	(20)
1.3.1 清洗 .....	(20)
1.3.2 消毒和灭菌 .....	(22)

1.4 培养基的组成和配制 .....	(27)
1.4.1 培养基的成分 .....	(27)
1.4.2 培养基的种类 .....	(31)
1.4.3 培养基母液的配制 .....	(33)
1.4.4 培养基的配制 .....	(35)
小结 .....	(35)
复习思考题 .....	(36)
参考文献 .....	(36)
推荐阅读书目 .....	(36)
<b>第2章 外植体的选择、灭菌、接种与培养 .....</b>	<b>(37)</b>
2.1 外植体的选择与灭菌 .....	(37)
2.1.1 外植体的类型 .....	(37)
2.1.2 选择外植体时应该遵循的原则 .....	(38)
2.1.3 外植体、接种器具及接种空间的灭菌 .....	(38)
2.2 外植体的接种与培养 .....	(43)
2.2.1 外植体的接种 .....	(43)
2.2.2 外植体的培养和驯化 .....	(44)
2.2.3 外植体的成苗途径 .....	(45)
2.2.4 培养条件 .....	(46)
2.3 外植体培养过程中污染的发生及其防治 .....	(48)
2.3.1 外植体污染的原因 .....	(48)
2.3.2 污染的防治 .....	(49)
小结 .....	(51)
复习思考题 .....	(51)
参考文献 .....	(51)
推荐阅读书目 .....	(52)
<b>第3章 植物组织培养原理 .....</b>	<b>(53)</b>
3.1 植物细胞全能性 .....	(53)
3.1.1 植物细胞全能性 .....	(53)
3.1.2 决定作用与形态发生感受态 .....	(55)
3.2 植物试管苗的生根 .....	(60)
3.2.1 生根机理的研究 .....	(60)
3.2.2 培养基成分及 pH 对试管苗生根的影响 .....	(62)
3.2.3 培养微环境对试管苗生根的影响 .....	(68)

3.2.4 外植体类型与生根的关系 .....	(70)
3.3 植物试管苗玻璃化及其防治 .....	(71)
3.3.1 试管苗玻璃化现象发生的普遍性 .....	(72)
3.3.2 玻璃化苗的形态解剖学特征 .....	(74)
3.3.3 玻璃化苗的生理生化特点 .....	(74)
3.3.4 影响玻璃化苗发生的因素 .....	(75)
3.3.5 玻璃化苗发生的机理 .....	(78)
3.3.6 玻璃化苗的综合防治 .....	(79)
3.4 植物病毒的脱除及鉴定 .....	(80)
3.4.1 病毒的概念 .....	(80)
3.4.2 病毒的危害及防治研究 .....	(80)
3.4.3 脱病毒的方法 .....	(81)
3.4.4 无病毒植物的鉴定 .....	(92)
3.5 植物试管苗的移栽 .....	(97)
3.5.1 试管苗移栽后易于死亡的原因 .....	(97)
3.5.2 提高试管苗移栽成活率的技术和措施 .....	(102)
小结 .....	(105)
复习思考题 .....	(105)
参考文献 .....	(106)
推荐阅读书目 .....	(107)
<b>第4章 离体培养中的遗传与变异 .....</b>	<b>(108)</b>
4.1 离体培养中的遗传与变异 .....	(108)
4.1.1 植株在自然生长状态下的染色体变异 .....	(108)
4.1.2 植物在离体培养条件下的染色体变异 .....	(109)
4.1.3 影响无性系变异的因素 .....	(110)
4.1.4 染色体变异与再生植株发生 .....	(113)
4.2 体细胞变异的细胞学与分子遗传学机制 .....	(114)
4.2.1 体细胞无性系变异的细胞学机制 .....	(114)
4.2.2 体细胞无性系变异的分子遗传学机制 .....	(115)
4.3 体细胞无性系变异的诱导与选择 .....	(118)
4.3.1 体细胞无性系变异的诱导 .....	(118)
4.3.2 体细胞无性系变异的筛选 .....	(120)
4.3.3 体细胞无性系变异的应用 .....	(123)
小结 .....	(125)
复习思考题 .....	(125)



参考文献 .....	(126)
推荐阅读书目 .....	(126)
<b>第5章 植物组织器官培养 .....</b>	<b>(127)</b>
5.1 植物组织器官离体培养的途径与方法 .....	(127)
5.1.1 植物组织器官离体培养的再生途径 .....	(127)
5.1.2 植物组织器官离体培养的方法 .....	(128)
5.1.3 植物组织培养的增殖及计算 .....	(130)
5.2 愈伤组织培养 .....	(131)
5.2.1 愈伤组织的形成和增殖 .....	(131)
5.2.2 影响愈伤组织培养的因子 .....	(132)
5.2.3 愈伤组织的再分化 .....	(134)
5.2.4 愈伤组织培养的应用 .....	(140)
5.2.5 操作实例 .....	(141)
5.3 植物营养器官培养 .....	(143)
5.3.1 植物根段培养 .....	(143)
5.3.2 植物茎段培养 .....	(145)
5.3.3 植物叶培养 .....	(146)
5.4 植物繁殖器官培养 .....	(147)
5.4.1 植物花器官培养 .....	(147)
5.4.2 植物幼果培养 .....	(147)
5.4.3 植物种子培养 .....	(148)
5.5 花药培养 .....	(148)
5.5.1 花药培养的程序 .....	(148)
5.5.2 花粉植株的诱导和发育途径 .....	(149)
5.5.3 游离小孢子(花粉)培养 .....	(151)
5.5.4 影响花粉培养的因子 .....	(153)
5.5.5 花粉植株的遗传鉴定与染色体加倍 .....	(159)
5.5.6 花药培养的应用 .....	(161)
5.5.7 操作实例 .....	(162)
5.6 胚乳培养 .....	(163)
5.6.1 胚乳培养的程序 .....	(164)
5.6.2 胚乳愈伤组织诱导和建立 .....	(164)
5.6.3 影响胚乳培养的因素 .....	(165)
5.6.4 胚乳植株再生方式 .....	(166)
5.6.5 胚乳培养中的组织学和细胞学观察 .....	(167)

5.6.6 胚乳培养的应用 .....	(168)
5.6.7 操作实例 .....	(169)
5.7 胚培养 .....	(169)
5.7.1 胚培养的种类 .....	(170)
5.7.2 胚培养的主要技术 .....	(170)
5.7.3 影响胚培养的因素 .....	(170)
5.7.4 早熟萌发 .....	(172)
5.7.5 胚培养的成苗途径 .....	(173)
5.7.6 胚培养的应用 .....	(175)
5.7.7 操作实例 .....	(177)
5.8 离体无性快繁 .....	(177)
5.8.1 离体无性快繁的优点 .....	(178)
5.8.2 离体无性快繁的途径和方法 .....	(178)
5.8.3 离体无性快繁的操作程序 .....	(181)
5.8.4 实例操作 .....	(185)
小结 .....	(186)
复习思考题 .....	(186)
参考文献 .....	(187)
推荐阅读书目 .....	(187)
<b>第6章 体细胞杂交 .....</b>	<b>(188)</b>
6.1 体细胞杂交概述 .....	(188)
6.1.1 植物体细胞杂交的历史与现状 .....	(190)
6.1.2 植物体细胞杂交的重要性和局限性 .....	(193)
6.1.3 体细胞杂交的步骤 .....	(194)
6.2 原生质体分离 .....	(196)
6.2.1 材料准备 .....	(196)
6.2.2 细胞壁的解除 .....	(199)
6.2.3 原生质体纯化 .....	(203)
6.2.4 原生质体活力检测 .....	(204)
6.2.5 原生质体培养 .....	(205)
6.3 原生质体的融合和融合细胞再生 .....	(208)
6.3.1 原生质体的融合类型 .....	(208)
6.3.2 原生质体的融合方法 .....	(210)
6.3.3 影响体细胞杂交的因素 .....	(212)
6.3.4 融合细胞再生 .....	(212)

6.4 杂种细胞的选择和体细胞杂种鉴定 .....	(213)
6.4.1 体细胞融合产物的类型 .....	(213)
6.4.2 融合产物细胞学 .....	(214)
6.4.3 杂种细胞的选择系统 .....	(216)
6.4.4 体细胞杂种的鉴定 .....	(217)
6.4.5 体细胞杂种的遗传特性 .....	(219)
6.5 体细胞杂交技术的应用 .....	(220)
6.5.1 创造新遗传变异 .....	(220)
6.5.2 用于 CMS 性状研究 .....	(222)
6.5.3 用于定向转移胞质基因控制性状及核质互作研究 .....	(222)
小结 .....	(223)
复习思考题 .....	(223)
参考文献 .....	(224)
推荐阅读书目 .....	(226)
<b>第7章 植物转基因受体系统建立 .....</b>	<b>(227)</b>
7.1 植物基因遗传转化概述 .....	(227)
7.1.1 植物基因工程概述 .....	(227)
7.1.2 植物基因遗传转化技术 .....	(239)
7.1.3 农杆菌介导的植物基因转化 .....	(241)
7.2 植物转基因受体系统的条件 .....	(252)
7.2.1 高效稳定的再生能力 .....	(253)
7.2.2 稳定的遗传特性 .....	(254)
7.2.3 稳定的外植体来源 .....	(254)
7.2.4 对选择压力的敏感性 .....	(255)
7.2.5 对农杆菌侵染的敏感性 .....	(256)
7.3 植物基因转化受体系统的类型及其特性 .....	(258)
7.3.1 愈伤组织再生系统 .....	(258)
7.3.2 直接分化再生系统 .....	(259)
7.3.3 原生质体再生系统 .....	(260)
7.3.4 胚状体再生系统 .....	(260)
7.3.5 生殖细胞受体系统 .....	(261)
7.4 植物基因转化受体系统的建立程序 .....	(262)
7.4.1 高频再生系统的建立 .....	(262)
7.4.2 抗生素的敏感性试验 .....	(266)
7.4.3 农杆菌的敏感性试验及菌种的选择 .....	(267)

小结 .....	(267)
复习思考题 .....	(267)
参考文献 .....	(268)
推荐阅读书目 .....	(269)
<b>第8章 植物离体资源的种质保存 .....</b>	<b>(270)</b>
8.1 种质保存体系与材料类型 .....	(270)
8.1.1 种质保存体系 .....	(270)
8.1.2 种质资源保存的材料类型 .....	(271)
8.2 常温保存技术 .....	(272)
8.2.1 降低培养基中的营养水平 .....	(272)
8.2.2 培养基中添加植物生长调节物质 .....	(273)
8.2.3 提高渗透压 .....	(274)
8.2.4 降低培养环境中氧气浓度或培养基中氧分压 .....	(275)
8.2.5 胶囊化或脱水 .....	(275)
8.3 低温保存技术 .....	(275)
8.3.1 低温保存的基本原理 .....	(275)
8.3.2 低温保存的基本程序 .....	(275)
8.4 超低温保存技术 .....	(276)
8.4.1 超低温保存的原理 .....	(277)
8.4.2 植物适应低温与低温伤害 .....	(277)
8.4.3 超低温保存植物种质的常用方法 .....	(279)
8.5 种质保存过程中的遗传变异及其检测技术 .....	(287)
8.5.1 离体保存中变异产生的因素 .....	(287)
8.5.2 离体保存中遗传变异的检测技术 .....	(287)
小结 .....	(289)
复习思考题 .....	(289)
参考文献 .....	(289)
推荐阅读书目 .....	(291)
<b>第9章 植物细胞器官培养与次生代谢产物生产 .....</b>	<b>(292)</b>
9.1 概述 .....	(292)
9.1.1 次生代谢产物 .....	(292)
9.1.2 植物细胞培养 .....	(293)
9.1.3 利用植物组织培养技术生产次生代谢产物的历史与现状 .....	(294)
9.2 植物单细胞培养技术 .....	(295)

9.2.1	单细胞分离 .....	(295)
9.2.2	单细胞培养技术 .....	(296)
9.3	植物细胞的大规模培养 .....	(298)
9.3.1	植物细胞悬浮培养 .....	(298)
9.3.2	植物细胞固定化培养 .....	(301)
9.3.3	植物细胞生物反应器 .....	(301)
9.4	植物细胞培养的次生代谢产物生产 .....	(304)
9.4.1	植物细胞大规模培养生产次生代谢物的基本程序 .....	(304)
9.4.2	影响植物组织和细胞培养中次生代谢产物积累的因素 .....	(305)
9.4.3	提高次生代谢产物产量的途径 .....	(307)
9.5	植物器官培养的次生代谢产物生产 .....	(311)
9.5.1	毛状根培养 .....	(311)
9.5.2	冠瘿组织培养 .....	(313)
9.6	规模化培养植物细胞的次生代谢产物生产实例 .....	(314)
9.6.1	人参细胞悬浮培养及工业化生产人参皂苷 .....	(314)
9.6.2	紫草的细胞培养与工业化生产紫草素 .....	(314)
	小结 .....	(317)
	复习思考题 .....	(317)
	参考文献 .....	(317)
	推荐阅读书目 .....	(319)
附录	植物组织培养常用培养基配方 .....	(320)

植物组织培养提出于 20 世纪初, 经过 100 多年的发展, 目前已作为生物技术的基础, 不仅应用于科学研究, 而且广泛地应用于农业中的无病毒优良种苗繁殖、林业中的种苗快繁、轻工业中的植物源物质生产、医药产业中的植物源药物原料生产。在 21 世纪的生物技术时代, 植物组织培养必将在生物技术研究与产业开发中发挥越来越重要的作用。

### 0.1 植物组织培养的定义和目的

植物组织培养 (plant tissue culture) 是指在无菌条件下, 将离体的植物器官 (根、茎、叶、花、果实、种子等)、组织 (如形成层、花药组织、胚乳、皮层等)、细胞 (体细胞和生殖细胞) 以及原生质体, 培养在人工配制的培养基上, 给予适当的培养条件, 使其长成完整植株的过程。因用于培养的是脱离母体的培养物, 所以也称离体培养。根据培养对象的不同又可分为植物培养、胚培养、器官培养、细胞培养、原生质体培养等。用于离体培养的植物体或一部分器官、组织、细胞、细胞器叫作外植体 (explant)。将其置于人工控制条件下, 使其按照人们的意愿去分化或产生人们所需的部分或产物, 来满足人们的需要, 达到人们的意愿, 为人类造福, 是植物组织培养的最终目的。我们学习植物组织培养就是为了掌握这门科学技术, 为生产实践服务, 为发展我国经济建设服务。

### 0.2 植物组织培养发展简史

#### 0.2.1 国外植物组织培养发展简史

国外植物组织培养史从发展进程上大致分为 3 个阶段。

##### (1) 萌芽阶段 (20 世纪初至 30 年代中期)

在 Schleiden 和 Schwann 创立的细胞学基础上, 1902 年德国植物生理学家 Haberlandt 提出, 人们可以培养植物的体细胞成为人工胚。当时他培养了小野芝麻、凤眼兰的叶肉组织, 万年青属植物的表皮细胞等。限于当时的技术水平, 培养未能成功。但它对植物组织培养的发展起了先导作用, 在技术上也是一个良好开端。

1922 年, Haberlandt 的学生 Kotte 和美国的 Robbins, 采用无机盐、葡萄糖和各种氨基酸培养豌豆和玉米的茎尖, 结果形成缺绿的叶和根, 能进行有限的生长。

1925年, Laibach 将亚麻种间杂交不能成活的胚取出培养, 使杂种胚成熟, 继而萌发。

### (2) 奠基阶段 (20 世纪 30 年代末至 50 年代中期)

1934年, 美国植物生理学家 White 培养番茄的根, 建立了活跃生长的无性繁殖系, 并能进行继代培养, 在以后的 28 年间转接培养 1600 代仍能生长。利用根系培养物, 研究了光、温、pH 和培养基组成对根生长的影响。1937年, 他们首先配制成综合培养基, 发现了 B 族维生素对离体根生长有重要作用。同年, 法国的 Cautheret、Nobecourt 培养块根和树木形成层使其生长。White、Cautheret 和 Nobecourt 确立的植物组织培养的基本方法, 成为以后各种植物组织培养的技术基础。1941年, Van Overbeek 等在基本培养基上附加椰乳 (CM), 使曼陀罗的心形胚离体培养成熟。1943年, White 提出了“植物细胞全能性”学说, 并出版了《植物组织培养》手册, 使植物组织培养开始成为一门新兴学科。

1948年, Skoog 和我国学者崔微在烟草茎切段和髓培养以及器官形成研究中, 发现嘌呤或腺苷可以解除 IAA 对芽形成的抑制, 并诱导成芽, 从而确定嘌呤与 IAA 的比例是控制根和芽形成的条件。1955年, Miller 等发现的激动素, 它比嘌呤活力高 3 万倍, 细胞分裂素与生长素的比值成为控制器官发育的模式, 促进了植物组织培养的发展。

### (3) 蓬勃发展阶段 (20 世纪 50 年代末至今)

近几十年植物组织培养得到了迅速的发展, 并广泛应用于生物学和农业科学, 在生产上发挥了重要作用。

1958年, 英国学者 Steward 在美国将胡萝卜髓细胞培养成为一个完整的植株。这是人类第一次实现了人工体细胞胚, 使 Haberlandt 的愿望得以实现, 也证明了植物细胞的全能性。这是植物组织培养的第一大突破, 它对植物组织和细胞培养产生了重大而深远的影响。

1960年, 英国学者 Cocking 用酶法分离原生质体成功, 开创了植物原生质体培养和体细胞杂交的研究, 这是植物组织培养的第二大突破。

同年, Morel 培养兰花的茎尖, 可以脱除病毒并能快速繁殖兰花。其后, 国际上逐渐形成了兰花工业。在兰花工业高效益的刺激下, 植物离体微繁技术和脱毒技术得到了迅速发展, 实现了试管苗产业化, 取得了巨大的经济效益和社会效益。

1964年, 印度学者 Guha 和 Maheshwari 成功地从曼陀罗花药培养获得花粉单倍体植株, 从而促进了植物花药单倍体育种技术的发展, 这是植物组织培养的第三大突破。

植物组织培养自 1958 年以来得到了迅速发展, 在现代科学技术中得到实际应用, 也是现代科学相互渗透、相互促进和发展的结果。

20 世纪 60 年代初, 世界上只有十多个国家的少数实验室从事植物组织培养; 到了 70 年代已发展到很多国家和实验室, 到 90 年代已遍及世界各国。不论是发达国家还是发展中国家, 几乎所有大学、研究机构、农林单位都有人从事这方面的研究和应用 (罗士韦, 1978; 许智宏, 1991、1994)。据 Kee-Youep Paek 等报道, 韩国 1993 年

有组培室和商业性组培室 192 个，总面积  $14 \times 10^4 \text{m}^2$ ，每年生产试管苗 2000 万株，仅 1991 年一年发表该方面的论文就超过 1000 篇。

基于植物组织培养的迅速发展，1973 年在英国成立了国际植物组织培养协会 (IAPTC)，现更名为国际植物组织培养与生物技术联合会 (IAPTCB)，至今已召开过十多次国际会议，论文和人数逐渐增加。有关这方面的专著或丛书出版越来越多。如印度学者 Bajaj 主编的《农业生物技术》(*Biotechnology in Agriculture and Forestry*) 丛书已出版 30 多卷，《植物细胞培养手册》(*Handbook of Plant Cell Culture*) 已出版 6 卷，国际专业杂志《植物细胞、组织和器官培养》(*Plant Cell, Tissue and Organ Culture*) 也已出版 70 多卷。国际植物组织培养与生物技术联合会办的《植物离体细胞与发育生物学》(*Plant in vitro Cellular Developmental Biology*) 杂志发行了 50 卷。日本学者 Kozai. T 等系统研究和收集了植物微繁殖中的环境因素及其调控，1994 年出版了《Collected Papers on Environmental Control in Micropropagation》专集。George 主编的《Plant Propagation by Tissue Culture》1995 年已再版发行，仅参考文献就引用了 4100 余篇。Roberta H. Smith 编著的《Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments》第 2 版 2000 年出版。联合国粮食及农业组织每年都在德国汉诺威大学举办为期 3 个月的国际植物组织培养技术培训班，为发展中国家培养技术人才。

### 0.2.2 我国植物组织培养发展简史

1931 年李继侗培养银杏的胚，1935—1942 年罗宗洛进行了玉米根尖离体培养，其后，罗士韦进行了植物幼胚、根尖、茎尖和愈伤组织的培养。20 世纪 70 年代以来，我国开展植物花药培养单倍体育种，特别是在全国科学大会以后，我国在植物组织培养方面进行了大量研究，取得了一系列举世瞩目的成就。不少研究成果已走在世界前列。我国植物组织培养技术普及程度及技术水平均居世界领先地位（周永春，1990）。在植物组织培养和应用方面已有多项成果获得国家和省、部、厅局级科技成果奖。科技界第一个万元户就是从事植物组织培养的专业人员——‘京花一号’小麦育成者胡道芬。中国科学院北京植物所朱至清创制的  $N_6$  培养基获国家发明二等奖。国家“六五”至“十二五”都把生物技术列入国家级或省部级重点攻关项目。部分省市还列有生物技术专项，作为生物技术的重要组成部分的植物组织培养在完成攻关任务上，做出了应有的贡献。

20 世纪 70 年代以来，我国学者结合自己的工作和国内外研究进展出版了不少专译著。如《植物组织和细胞培养》（上海植物生理研究所细胞室编译，1978），《植物单倍体育种技术资料集》（中科院植物所编译，1973），《植物组织培养及其在生物技术上的应用》（夏镇澳等译，1983），《木本植物组织培养及其应用》（陈正华，1986；1991 年被译成英文，以《Handbook of Plant Cell Culture》第 6 卷木本植物组培专集形式出版）；《药用植物组织培养》（谢启昆，1986），《植物生物技术》（陈维伦、陶国清等，1987），《经济植物组织培养》（罗士韦、许智宏，1988），《植物组织培养及其应用丛书》（陈正华，1989—1990），《植物细胞工程与育种》（胡含、王恒之，1990），《植物生物技术与作物改良》（孙敬三、陈维伦 1990）；《植物组织培养技术》



(曹孜义、齐玉枢, 1990), 《高等植物离体培养的形态建成及其调控》(黄学林、李筱菊, 1995), 《园艺植物离体培养学》(陈振光, 1997), 《实用植物组织培养技术教程》(曹孜义、刘国民, 1996; 2001年修订), 《果树花卉无毒苗快繁技术》(曹孜义, 1998), 《植物组织培养技术》(李宝平、茹文明, 2000), 《林果花菜组织培养快速育苗技术》(李云, 2001), 《热带亚热带植物微繁殖》(郑成木、刘进平, 2001), 《现代植物组织培养技术》(曹孜义、李胜等, 2003), 《植物组织培养原理与技术》(李胜、李唯, 2008)等。为使我国植物组织培养技术企业化和持续发展, 2000年12月4~6日, 曹孜义发起并在兰州主持召开了“全国植物组织培养效益与前景高级学术研讨会”(以下简称兰州组培会), 目前已举办了5期。为提高我国植物组织培养技术人才和管理人才的水平, 2001年春季, 国家人事部还委托重庆市人事局和重庆大学在重庆举办全国专业技术人员植物组织培养及产业化高研班。

我国《植物生理学通讯》(现更名为《植物生理学报》)杂志设有植物组织培养简报专栏, 每期均有近10篇文章发表。现今我国综合大学、师范院校生命科学院、农林院校的相关专业都开设了“植物组织培养”课程, 培养这方面的专业技术人才。

2000年12月4日, 上海植物生理研究所李文安研究员在兰州植物组织培养效益与前景研讨会上。将我国植物组织培养研究工作分为以下几个时期:

①快速繁殖技术研究和技术准备时期(新中国成立之前—1970);

②植物快速繁殖的起始期, 或称“试管苗”时期(1970—1980);

③植物快速繁殖开始“工厂化生产”时期(1980—1990);

④快速繁殖进入成熟阶段(1990年至今), 又称快速繁殖的工厂化生产时期。

20世纪90年代, 我国主要大城市出现了各种种苗公司。这些种苗公司常处在不稳定的兴衰状态, 大部分经营较好者能持续兴旺, 也有少数部分种苗公司关闭, 当然也有新的公司出现。这些现象说明以生物技术进行种苗生产是可行的, 但又不是十分容易的。限制因素除了有经营管理、生产技术方面的问题, 还有规模生产和市场销路等问题。

我国是世界上从事植物组织培养人数最多、实验室面积最大的国家(陈维伦, 1990), 相信今后在这方面一定会取得更大的成绩。

### 0.3 植物组织培养的研究动向

#### (1) 规模化、企业化的脱毒及离体快繁

这是目前植物组织培养应用最多、最广泛和最有成效的一种模式, 主要进行植物茎尖培养脱除病毒。对于脱毒苗、新育成种、新引进种、稀缺良种、优良单株、濒危植物和基因工程植株等可通过离体快速繁殖, 同时不受地区、气候的影响, 繁殖速度比常规方法快数万倍到数百万倍, 及时提供大量优质种薯和种苗。有人计算, 一个苹果茎尖, 一年可繁殖 $10^{11}$ 个小苗, 一支试管的优良树种可供数万公顷的土地造林。现今世界上已建成许多年产百万株苗木的工厂和数十万苗木的商业性实验室。一个新育成品种问世后, 两年即可在生产上广泛应用。马铃薯茎尖脱毒、无毒种苗和微型脱毒