

国家示范性高职院校建设项目成果工学结合课程教材

林木组织培养技术

LINMU ZUZH I PEIYANG JISHU

主编 张彩霞



西北农林科技大学出版社

国家示范性高职院校建设项目成果工学结合课程教材

林木组织培养技术

主 编 张彩霞

西北农林科技大学出版社

内 容 提 要

本书分五个模块介绍了林木组织培养的基本理论知识和技能。主要包括绪论、实验室及基本操作技术、组培快繁技术、脱毒苗的生产、林木组织培养的各种方法、组织培养在生产中的应用等。教材中既引用了科技理论的最新成果,又贴近实际,突出了技术应用性。具有较强的针对性、适应性和可操作性,为学生就业、创业打好基础。

全书结构精炼、内容新颖、信息量大,理论和实践一体化,可作为全国高等职业技术学院、高等农林专科、职业中专学校的林业技术、园艺、园林、生物技术等专业的教学和相关层次培训教材使用,也可供从事植物组织培养工作的技术工作者、研究人员和经营管理人员参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

林木组织培养技术 / 张彩霞主编. —杨凌: 西北农林科技大学出版社, 2010.3

ISBN 978 - 7 - 81092 - 589 - 1

国家示范性高职院校建设项目成果工学结合课程教材

I. ①林… II. ①张… III. ①林木—组织培养—高等学校:技术学校—教材
IV. ①S722.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2009)第 041408 号

林木组织培养技术

张彩霞 主编

出版发行	西北农林科技大学出版社	
地 址	陕西杨凌杨武路 3 号	邮 编 712100
电 话	总编室:029 - 87093105	发行部: 87093302
电子邮箱	press0809@163.com	
印 刷	西安华新彩印有限责任公司	
版 次	2010 年 6 月第 1 版	
印 次	2010 年 6 月第 1 次	
开 本	787 mm × 1092 mm 1/16	
印 张	18.5	
字 数	420 千字	

ISBN 978 - 7 - 81092 - 589 - 1

定价:30.00 元

(本书如有印装质量问题,请与本社联系)

《林木组织培养技术》编审人员

主 编:张彩霞

副主编:张振刚

编 者(按姓氏笔画排序):

文金花(甘肃林业职业技术学院)

刘玉英(重庆市农业科学院)

汤春梅(甘肃林业职业技术学院)

张振刚(甘肃林业职业技术学院)

张继东(甘肃林业职业技术学院)

张彩霞(甘肃林业职业技术学院)

周璐琼(甘肃林业职业技术学院)

审 稿:张金林(兰州大学)

前 言

当前世界上正在蓬勃发展的生物工程技术给农林业生产带来了巨大的变化,它已在优良品种选育、优良品种快速繁殖、种质资源保存等方面发挥了巨大的作用。而组织培养技术则是生物工程技术的一个极其重要的环节,已经渗透到现代生物科学各个领域,它的发展极大地促进了细胞学、生物遗传学、植物生理学、生物化学以及病理学等基础学科的发展,而且加速和推动了农林业生产和生物制药等各个领域的技术创新。尤其是快速繁殖技术和无病毒苗的培育技术,在农林生产中具有重大的实践意义,已逐步走向产业化应用的发展道路。

本教材根据“教育部关于全面提高高等职业教育质量若干意见(教高[2006]16号)和高等学校教学质量和教学改革工程”的精神和要求进行编写的。在编写过程中,以培养学生职业能力为核心,以高等职业教育的能力领域和岗位技能为依据,以适应社会经济发展为目标,以工作过程导向为主线,创新“教、学、做”一体化的“任务驱动”模式,突出实践技能。

本教材编写具体分工如下:绪论由文金花执笔;林木组织培养实验室及基本操作、试管苗快速繁殖技术由张彩霞执笔;脱毒苗木的培育、组培快繁在林木生产上的应用由张振刚执笔;林木组织培养的各种方法由汤春梅执笔;药用植物的组培快繁由周路琼执笔;果树的脱毒与组培快繁由张继东执笔;观赏植物的组培快繁由刘玉英执笔。全书最后由张彩霞统稿,兰州大学张金林副教授审稿。

本教材在编写的过程中,得到了许多同行和朋友的大力支持和帮助,在此表示衷心的感谢。同时,本教材也引用了同行许多资料和图片,在此一并表示感谢!

由于时间仓促,编者水平有限,书中难免有错误及不当之处,恳请同行及读者批评指正,以便修改。

编者

2009年7月

目 录

绪论

模块一 林木组织培养实验室及基本操作

项目一 林木组织培养实验室及培养环境

- 任务一 实验室的规划设计
- 任务二 培养条件的调控

项目二 基本操作

- 任务一 器具洗涤
- 任务二 灭菌技术
- 任务三 无菌操作技术

项目三 培养基的制备

- 任务一 培养基成分及配方筛选
- 任务二 母液的配制
- 任务三 培养基的制备

模块二 试管苗快速繁殖技术

项目一 初代培养物的建立

- 任务一 外植体的选择
- 任务二 外植体的灭菌和接种
- 任务三 外植体的启动培养

项目二 试管苗的增殖与继代培养

- 任务一 试管苗的增殖
- 任务二 试管苗的继代培养

项目三 试管苗的生根与驯化移栽

- 任务一 试管苗的生根培养
- 任务二 试管苗的驯化与移栽

项目四 组培快繁的商业化应用

- 任务一 商业化生产的规划设计及经营管理
- 任务二 常见问题的控制

模块三 脱毒苗木的培育

项目一 脱毒方法

- 任务一 茎尖培养脱毒
- 任务二 热处理脱毒
- 任务三 其他脱毒方法

项目二 脱毒苗的鉴定

- 任务一 指示植物法
- 任务二 其他鉴定方法

模块四 林木组织培养的各种方法

项目一 愈伤组织培养

项目二 营养器官培养

- 任务一 根培养
- 任务二 茎段培养
- 任务三 叶培养

项目三 胚胎培养

- 任务一 胚培养和胚乳培养
- 任务二 胚珠培养和子房培养

项目四 花粉与花药培养

- 任务一 花粉和花药培养
- 任务二 单倍体植株的染色体加倍

项目五 细胞与原生质体培养

- 任务一 细胞培养
- 任务二 原生质体培养和体细胞杂交

模块五 组织培养技术在生产上的应用

项目一 组培快繁在林木生产上的应用

- 任务一 桉树的组培快繁
- 任务二 几种杨属植物的组培快繁
- 任务三 针叶树类的组培快繁
- 任务四 油棕的组培快繁
- 任务五 文冠果的组培快繁

项目二 果树的脱毒与组培快繁

- 任务一 葡萄的脱毒与组培快繁

任务二 苹果的脱毒与组培快繁

任务三 草莓的脱毒与组培快繁

任务四 樱桃的脱毒与组培快繁

任务五 香蕉的脱毒与组培快繁

项目三 组培快繁在药用植物生产上的应用

任务一 浙贝母的组培快繁

任务二 半夏的组培快繁

任务三 枸杞的组培快繁

任务四 丹参的组培快繁

项目四 组培快繁在观赏植物生产上的应用

任务一 菊花的组培快繁

任务二 香石竹的组培快繁

任务三 百合的组培快繁

任务四 兰科植物的组培快繁

任务五 月季的组培快繁

附 录

一 培养物的异常表现、可能原因及改进措施

二 常见英文缩写与词义

三 植物生长调节物质溶液的配制

四 常用计量单位及其换算

主要参考文献

绪论

一、植物组织培养的概念和类型

(一) 植物组织培养的概念

植物组织培养技术是指在无菌条件下,将离体的植物器官(根、茎、叶、花、果实等)、组织(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,培养在人工配置的培养基上,在人工控制的环境条件下,使其长成完整植株的过程。由于培养的是脱离植物母体的培养物,所以也称为离体培养。

植物组织培养概念中所提到的无菌是指培养器皿、器械、培养基和培养材料等处于无真菌、细菌和病毒等微生物的状态,以保证培养材料在培养器皿中正常生长和发育。人工控制的环境条件是指对光照、温度、湿度、气体等进行人工控制,以满足植物培养材料在离体条件下的正常生长和发育。植物组织培养中,使用的各种器官、组织和细胞统称为外植体。

(二) 植物组织培养的类型

植物组织培养按培养对象可分为植株培养、器官培养、组织培养、细胞培养和原生质体培养等。

1. 植株培养

是对完整植株材料的培养,如幼苗及较大植株的培养。

2. 器官培养

即离体器官的培养。根据作物和需要的不同,可以分离茎尖、茎段、根尖、叶片、叶原基、子叶、花瓣、雄蕊、雌蕊、胚珠、胚、子房、果实等外植体的培养。

3. 组织或愈伤组织培养

为狭义的组织培养,是对植物体的各部分组织进行培养,如茎尖分生组织、形成层、木质部、韧皮部、表皮组织、胚乳组织和薄壁组织等等;或对由植物器官培养产生的愈伤组织进行培养,二者均通过再分化诱导形成植株。愈伤组织是指外植体因受伤或在离体培养时,其未分化的细胞和已分化的细胞进行活跃的分裂增殖而形成的一种无特定结构和功能的组织。

4. 细胞培养

是对由愈伤组织等进行液体振荡培养所得到的能保持较好分散性的离体单细胞或花粉单细胞或很小的细胞团的培养。

5. 原生质体培养

是用酶及物理方法除去细胞壁的原生质体的培养。

(三) 植物组织培养的特点

组织培养是20世纪发展起来的一门技术,由于科学技术的进步,尤其是外源激素的应

用,使组织培养不仅从理论上为相关学科提出了可靠的实验证据,而且一跃成为一种大规模、批量工厂化生产种苗的新方法,并在生产上越来越得到广泛的应用。植物组织培养之所以发展如此快,应用的范围如此广泛,是由于其具备以下几个特点:

1. 培养条件可以人为控制

组织培养采用的植物材料完全是在人为提供的培养基质和小气候环境条件下进行生长,摆脱了大自然中四季、昼夜的变化以及灾害性气候的不利影响,且条件均一,对植物生长极为有利,便于稳定地进行周年培养生产。

2. 生长周期短,繁殖率高

植物组织培养由于可人为控制培养条件,根据不同植物不同部位的不同要求而提供不同的培养条件,因此生长快,往往1个月左右为一个周期。所以,虽然植物组织培养需一定设备及能源消耗,但由于植物材料能按几何级数繁殖生产,故总体来说成本低廉,且能及时提供规格一致的优质种苗或脱病毒种苗。

3. 管理方便,利于工厂化生产和自动化控制

植物组织培养是在一定的场所和环境下,人为提供一定的温度、光照、湿度、营养、激素等条件,极利于高度集约化的高密度工厂化生产也利于自动化控制生产。与盆栽、田间栽培等相比省去了中耕除草、浇水施肥、防治病虫害等一系列繁杂劳动,可以大大节省人力、物力及田间种植所需要的土地。

二、植物组织培养的生理依据

(一) 植物细胞的全能性

所谓植物细胞的全能性,就是指植物的每个细胞都具有该植物的全部遗传信息和发育成完整植株的能力。

一切植物都是由细胞构成的。在植物的生长发育中,一个受精卵可以成为具有完整形态和结构机能的植株,这就是全能性,就是该受精卵具有该物种全部遗传信息的表现。同样,植物的体细胞是从合子的有丝分裂产生的,也具有全能性,具备着遗传信息的传递、转录和翻译的能力。在一个完整的植株上某部分的体细胞只表现一定的形态,承受一定的功能,这是由于它们受到具体器官或组织所在环境的束缚,而其遗传潜力并没有丧失。一旦它脱离原来所在的器官或组织,成为离体状态,在一定的营养、激素和外界条件的作用下,就可能表现出全能性而生长发育成完整的植株。

植物组织培养的历史就是植物细胞全能性理论提出、证明和得到广泛应用的历史。

(二) 植物细胞的再生性

在植物中很多是靠种子生长来产生完整的植株,但也有不少可通过根、茎、叶等器官再生而成为完整的植株,这种特性叫细胞的再生性。从植株分离出根、茎、叶的一部分器官,其切口处组织是受到了损伤,但这些受伤的部位往往会产生新的器官,长出不定芽和不定根,人们利用这一特点来进行营养繁殖。新器官产生的原因是由于受伤的组织产生了创伤激素,促进了周围组织的生长而形成愈伤组织,凭借内源激素和储藏营养的作用,于是就产生了新的器官。

为什么在自然条件下,一些植物的营养器官和细胞难以再生呢?

这主要是由于内源激素调整缓慢或不完全,外界条件不易控制等因素所致。在人工控制的条件下,通过对培养基的调整,特别是对激素成分的调整,就有可能顺利地再生。

(三) 植物激素在细胞分化中的作用

植物生长调节物质对愈伤组织诱导、器官分化及植株再生具有重要的作用,是培养基中的关键物质。植物生长调节物质主要有生长素和细胞分裂素。

1. 生长素

它作为组织培养中外源激素的重要来源,对外植体的生长是十分重要的。常用的生长素有吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)、萘乙酸(NAA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)等。IAA的活力较低,可能是最弱的激素,对器官形成的副作用小。高温高压时易被细胞中的IAA分解酶降解,遇光也易分解。NAA在组织培养中的起动力要比IAA高3.7倍,且由于它可人工大量生产,在高温高压下也比较稳定,不易被破坏、分解,所以在组织培养中使用十分广泛。2,4-D在组织培养中的起动力要比IAA高10倍以上,特别在促进愈伤组织的形成上活力最高,但它强烈抑制芽的形成,影响器官的发育。生长素对生根有作用,对愈伤组织的产生和再分化有诱导作用,还能促进细胞的分裂、分化和新陈代谢。

2. 细胞分裂素

常用的有玉米素(ZT)、6-苄基腺嘌呤(BA)、激动素(KT)。细胞分裂素不仅能促进细胞分裂,诱导细胞扩大,解除顶端优势,促进侧芽生长,而且还有减少叶绿素的分解,延缓叶片衰老的作用。但是,细胞分裂素对根的生长一般起抑制作用。

三、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,但它的整个历史可以追溯至19世纪末和20世纪初。

20世纪初,在schleiden和schwann所发展起来的细胞学说的推动下,1902年德国植物学家Haberlandt提出了高等植物的器官和组织为许多细胞组成的观点,以及植物细胞全能性的理论,即植物的体细胞,在适当的条件下,具有不断分裂和繁殖,发育成完整植株的潜在能力。他首次发表了植物离体细胞培养实验的报告。1912年,Haberlandt的学生Kotte和美国的Robins在根尖培养中获得了组织培养的成功。Kotte采用了无机盐、葡萄糖、蛋白胨、天冬酰胺,及添加各种氨基酸的培养基。Robins用含无机盐、加葡萄糖或果糖的琼脂培养基,培养了长度为1.45~3.75 cm的豌豆、玉米和棉花的茎尖,形成了一些缺绿的茎和根。

自Haberlandt的实验之后,直到1934年美国的White由番茄根建立了第一个活跃生长的无性繁殖系,并反复转移到新鲜培养基中继代培养,使根的离体培养实验获得了真正的成功,并在以后28年间培养了1600代。这之后,White又以小麦根尖为材料,研究了光、温度、通气、pH、培养基组成等各种培养条件对生长的影响,并于1937年建立了第一个组织培养的综合培养基,其成分均为已知化合物,包括3种B族维生素,即吡哆醇、硫胺素和烟酸,该培养基后来被定名为White培养基。与此同时,Gautheret(1934)在研究

山毛柳和黑杨等形成层的组织培养实验中,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。同年,White 由烟草种间杂种的瘤组织,Nobecourt 由胡萝卜均建立了与上述类似的连续生长的组织培养物。因此,Gautherer,White 和 Nobecourt 一起被誉为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。后来,White 于 1943 年发表了《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。

20 世纪 40 年代美国人 Skoog 和我国植物生理学家崔徵,在烟草茎切段和髓培养以及器官形成的研究中发现,腺嘌呤或腺苷可以解除培养基中生长素(IAA)对芽形成的抑制作用,而能诱导形成芽,从而明确了腺嘌呤与生长素的比例是控制芽和根形成的主要条件之一。即这一比例高时,产生芽;这一比例低时,则形成根;相等则不分化。在寻找促进细胞分裂的物质过程中,Miller 等人于 1956 年发现了激动素。不久即知道激动素可以代替腺嘌呤促进发芽,并且效果可增加 3 万倍。结果上述控制器官分化的激素模式变为激动素与生长素的比例关系。这方面的成功发现,有力地推动了植物组织培养的发展。

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无病毒植株。1935 ~ 1945 年 Muir 把单细胞放在一张铺在愈伤组织上面的滤纸上培养,使细胞发生了分裂,即实施了看护接种技术,使单细胞培养获得初步成功。

1960 年,Cocking 等人用真菌纤维素酶分离植物原生质体获得成功。1971 年,Takebe 等在烟草上首次由原生质体获得了再生植株,这不仅在理论上证明了无壁的原生质体同样具有全能性,而且在实践上为外源基因的导入提供了理想的受体材料。80 年代中期以来,对禾谷类作物的原生质体培养也相继告捷,在这方面中国学者作出了重要贡献。

1962 年印度 Guha 等人成功地在毛叶曼陀罗花药培养中,由花粉诱导得到单倍体植株,这促进了花药和花粉培养的研究。以后相继在烟草、水稻、小麦、玉米、番茄、辣椒、草莓、苹果等多种植物获得成功,其数目达到 160 多种,其中烟草、水稻和小麦等的花药育种培养在中国取得了引人注目的成就。1960 年,Motel 提出了一个离体无性繁殖兰花的方法,其繁殖系数极高。由于这一方法有很大的应用价值,很快被兰花生产者所采用,迅速建立起兰花工业。

1973 年 Carlson 等通过两个烟草物种之间原生质体融合,获得了第一个体细胞杂种,Cocking 等倡导的原生质体培养和体细胞杂交,研究得到了迅速发展,已经能使矮牵牛和烟草属的杂种细胞增殖分化生成杂种植株。

在整个组织培养发展的历史中,我国学者做出多方面的贡献,除了前述的崔徵的工作以外,还有 1993 年李继侗等关于玉米等植物离体根尖培养的工作,以及罗士韦关于幼胚和茎尖培养,李正理关于离体胚培养、王伏雄等关于幼胚培养的工作。

四、植物组织培养与农林业生产的关系

植物组织培养成为生物科学的一个广阔领域,除了在基础理论的研究上占有重要地位,在农林业生产中也得到越来越广泛的应用。

1. 快速繁殖优良种苗

用组织培养的方法进行快速繁殖是生产上最有潜力的应用,包括花卉和观赏植物,其次是蔬菜、果树、大田作物及其他经济作物。快繁技术不受季节等条件的限制,生长周期短,而且能使不能或很难繁殖的植物进行增殖。

快速繁殖可用下列手段进行:通过茎尖、茎段、鳞茎盘等产生大量腋芽;通过根、叶等器官直接诱导产生不定芽;通过愈伤组织培养诱导产生不定芽。试管快速繁殖应用在下列研究中:(1)繁殖杂交育种中得到的少量杂交种,以及保存自交系、不育系等。(2)繁殖脱毒培养得到的少量无病毒苗。(3)繁殖生产上急需的或种源较少的种苗。

由于组织培养周期短,增殖率高及能全年生产等特点,加上培养材料和试管苗的小型化,这就可使有限的空间培养出大量的植物,在短期内培养出大量的幼苗。

组织培养突出的优点是“快”,通过这一方法在较短时期内迅速扩大植物的数量,以一个茎尖或一小块叶片为基数,经组织培养一年内可增殖到 10 000 ~ 100 000 株。

2. 无病毒苗的培养

几乎所有植物都遭受到病毒病不同程度的危害,有的种类甚至同时受到数种病毒病的危害,尤其是很多园艺植物靠无性方法来增殖,若蒙受病毒病,代代相传,越染越重。自从 Morel (1952)发现采用微茎尖培养的方法可得到无病毒苗后,微茎尖培养就成为解决病毒病危害的重要途径之一。若再与热处理相结合,则可提高脱毒培养的效果。对于木本植物,茎尖培养得到的植株难以发根生长,则可采用茎尖微体嫁接的方法来培育无病毒苗。

组织培养无病毒苗的方法已在很多作物的常规生产上得到应用,如马铃薯,甘薯,草莓,苹果,香石竹,菊花等。已有不少地区建立了无病毒苗的生产中心,这对于无病毒苗的培养、鉴定、繁殖、保存、利用和研究,形成了一个规范的系统程序,从而达到了保持园艺植物的优良种性和经济性状的目的。

3. 在育种上的应用

植物组织培养技术为育种提供了许多手段和方法,使育种工作在新的条件下更有效地进行。如用花药培养单倍体植株;用原生质体进行体细胞杂交和基因转移;用子房、胚和胚珠完成胚的试管发育和试管受精等;种质资源的保存等等。

胚培养技术很早就有利用,在种属间远缘杂交的情况下,由于生理代谢等方面的原因,杂种胚常常停止发育,因此不能得到杂种植物,通过胚培养就可保证远缘杂交的顺利进行。到 20 世纪 50 年代在实践上的应用就更多了,在桃、柑橘、菜豆、南瓜、百合、鸢尾等等许多园艺植物远缘杂交育种上都得到了应用。大白菜 × 甘蓝的远缘杂交种“白兰”,就是通过杂种胚的培养而得到的。对早期发育幼胚因太小难培养的种类,还可采用胚珠和子房培养来获得成功,利用胚珠和子房培养也可进行试管受精,以克服柱头或花柱对受精的障碍,使花粉管直接进入胚珠而受精。

花药、花粉的培养在苹果、柑橘、葡萄、草莓、石刁柏、甜椒、甘蓝、天竺葵等约 20 种园艺植物得到了单倍体植株。在常规育种中为得到纯系材料要经多代自交,而单倍体育种,经染色体加倍后可以迅速获得纯合的二倍体,大大缩短了育种的世代和年限。

利用组织培养可以进行突变体的筛选。突变的产生因部位而异,茎尖遗传性比较稳定,根、茎、叶乃至愈伤组织和细胞的培养则变异率就较大。培养基的激素也会诱导变

异,因浓度而不同。此外还有采用紫外线、X 射线、 γ 射线对材料进行照射,来诱发突变的产生。在组织培养中产生多倍体、混倍体现象比较多,产生的变异为育种提供了材料,可以根据需要进行筛选。利用组织培养,采用与微生物筛选相似的技术,在细胞水平上进行突变体的筛选更加富有成效。

原生质体培养和体细胞杂交技术的开发,在育种上展现了一幅崭新的前景。已有多种植物的经原生质体培养得到再生植物,有些植物得到体细胞杂种,这无论在理论和实践上都有重要价值。随着这方面工作的深入,水平的提高,原生质体培养一定會在育种上产生深远的影响。

4. 工厂化育苗

近年来,组培苗工厂化生产已作为一种新兴技术和生产手段,在园艺植物的生产领域蓬勃发展。

组培苗工厂化生产,是以植物组织培养为基础,在含有植物生长发育必需物质的人工合成培养基上,并附加一定量的生长调节物质,把脱离于完整植株的本来已经分化的植物器官或细胞,接种在不同的培养基上,在一定的温度、光照、湿度及 pH、值条件下,利用细胞的全能性以及原有的遗传基础,促使细胞重新分裂、分化长成新的组织、器官或不定芽。最后长成和母株同样的小植物体。例如非洲紫罗兰组培苗的工厂化生产,就是取样品株一定部位的叶片为材料,消毒后切成一定大小的块,接种在适宜的培养基上,在培养室内培养,两个月左右在切口处产生不定芽,这些不定芽再切割后又形成新的不定芽,如此继续,即可获得批量的幼小植株,按需要量生产与样品株完全相同的苗子。

工厂化生产组培苗,是按一定工艺流程规范化程序化生产的,具有繁殖速度快、整齐、一致、无虫少病、生长周期短、遗传性稳定的特点,可以加速产品的发展,尽快获得繁殖无性系。特别是对一些繁殖系数低、杂合的材料有性繁殖优良性状易分离、或从杂合的遗传群体中筛选出表现型优异的植株,需要保持其优良遗传性,有更重要的作用。组培苗的无毒生产,可减少病害传播,更符合国际植物检疫标准的要求,扩大产品的流通渠道,增加产品市场的销售能力,同时减少了气候条件对幼苗繁殖的影响,缓和了淡、旺季供需矛盾。

世界上一些先进国家园艺植物组织培养技术的迅速发展从 60 年代就已经开始,并随着生长、分化规律性探索逐步深化,到了 70 年代仅花卉业就已在兰花、百合、非洲菊、大岩桐、菊花、香石竹、矮牵牛等二十几种花卉幼苗生产上建立起大规模试管苗商品化生产,到 1984 年世界花卉幼苗产业的生产总值已达二十亿美元,其中美国花卉幼苗市场总值为六亿多美元,日本三友种苗公司有 60% 的幼苗靠组织培养技术繁殖。1985 年仅兰花一项,在美国注册的公司就有 100 余家,年销售额在一亿美元以上。由于组织培养技术的应用,加快了花卉新品种的推广。以前靠常规方法推广一个新品种要几年甚至十多年,而现在快的只要 1~2 年就可在世界范围内达到普及和应用。

我国采用快速繁殖技术,也使优良品种达到迅速的推广和应用。如广东切花菊“黄秀风”的应用,使菊花变大,长势加强,花色鲜艳,抗病力增强,打开了进入香港市场的渠道,使三十多种观叶植物的推广很快遍及全国,丰富了人们的生活;并将自然界的几百个野生金钱莲品种繁种驯化,培养了一批园林垂直绿化的材料,促进了园林业的发展。

植物组织培养也存有一定的困难,首先是繁殖效率与商品需要量的矛盾,有些作物

由于繁殖方法尚未解决,因而无法满足生产的需要,其次是在培养过程中如何减少变异株的发生。更重要的是应降低组培苗工厂化生产的成本,只有降低成本,才能更好地投产应用。总之,随着组织培养这一技术的发展及各种培养方法的广泛应用,使这一技术在遗传育种、品种繁育等方面表现出了巨大的潜力,特别是生物工程和工厂化育苗实施以后,它将以新兴产业的面目在技术革命中发挥重大作用。

五、林木组织培养的意义与发展现状

1. 林木组织培养的意义

林木与国民经济的许多方面有密切联系。例如,在建筑、家具、农业等行业,木材是必不可少的。木材既是纤维和造纸工业的重要原料,也是农村和山区人民的薪材来源。此外,林木是维持生态平衡、改造沙荒土壤以及都市和居民住宅区的绿化等方面均有重要的作用。林木的组织培养至少在以下四个方面具有重要的意义:

(1)繁殖速度极快。由于林木植物生命周期长,通过种子繁殖往往难以满足生产上对苗木的需求量。扦插繁殖虽然可以在一定程度上加快繁殖速度,但大面积生产难以用这种方法满足苗木需求量。组织培养不受气候因素的影响,可以周年在室内繁殖,而且繁殖速度极快(成功的组织培养技术以每年递增上百万倍的速度繁殖苗木)。所以,在速度上,具有其他方法无法比拟的优点。

(2)能保持优良种性。在自然界,各种林木在遗传上往往是高度杂合的。如果用种子繁殖,则会导致严重的性状分离;而通过组织培养技术获得的各种苗木,在遗传性状上则一般是高度一致的,因为组织培养是一种严格的无性繁殖途径。

(3)组织培养技术在保存和繁育优良突变体或优良杂种一代方面也具有非常重要的意义。一株具有明显优势的林木突变体,或者一个具有明显优势的杂种后代,经过组织培养后即可大面积推广种植。这样,就可以避免年年制种的繁杂手续。

(4)经济效益显著。林木植物的组织培养较之草本植物更具有利用价值,因为一株优良林木苗木定植后,可以生长几十年甚至更长时间,而且单位面积上用苗量不大。所以,单株林木试管苗所得的经济效益就更显著。

2. 林木组织培养研究利用概况

随着植物组织培养研究工作的不断深入和发展,目前已有 1 000 多种植物能离体再生,其中得到完整植株的木本植物(包括果树在内)已有 120 多种(部分离体培养获得再生的木本植物列于表 1),我国海南、广西等省区由多种优良母树获得的试管苗已应用于造林生产实践。Haissing 等(1987)报道,1984 年美国应用离体微繁技术,繁殖火炬松 10 亿株,占全国火炬松造林种苗的 50%。新西兰用组织培养法迅速繁殖辐射松用于造林或作为种子园的优质苗木。特别值得一提的是,近年来对成年或老年树木植株的离体培养取得了很大的进展。Coleman 等(1977)在 4~10 年生的红杉茎尖培养中取得了完整小植株;Baulay 等(1979)用离体培养方法大量繁殖 100 年树龄的红杉的工作也取得了很大进展;Banga(1977)报道了 15~20 年的香脂冷杉离体胚芽的器官发生;Campbell(1976)用 25 年生的白云杉的新生针叶的幼嫩的枝条诱导产生不定芽;Von Arnold 等(1979)从 5~10 年生火炬松针叶诱导出了不定芽。

表 1 离体培养获得再生植株的木本植物

植物名称	外植体来源	作者及发表年份
<i>Acacia koa</i> Gray 柯阿金合欢	茎尖	Skolmen 等,1976
<i>Acer saccharum</i> 糖槭	腋芽	彭德芳,1981
<i>Araucaria cunninghamia</i> Sw 南美杉	茎尖	Haines 等,1977
<i>Azadirachta indica</i> A. Juss 印楝	幼苗	Ranga Swamy 和 Promila,1972
<i>Betula pendula</i> Roth 欧洲白桦	茎段	Huhtinen 等,1974
<i>Broussonetia kazionki</i> Sieb. & Zucc. 葡蛸		罔成美等,1974
<i>Buddleia asiatica</i> Lour. 驳骨丹	茎段	包慈华等,1981
<i>Catalpa bungei</i> C. A. Mey 楸树	休眠芽	朱鹿鸣等,1982
<i>Camellia oleifera</i> Ablel 油茶	子叶胚	闫慕勤等,1980
<i>Carica papaya</i> L. 番木瓜	茎切段茎尖	Yie,1977; DeBrujne 等,1974;
<i>Cedrus deodara</i> (Rox.)G. Don 雪松	实生苗茎段	刘敏等,1983
<i>Cinnamomum alboericeum</i> 银木	茎段	李耿光等,1978
<i>Cinnamomum camphora</i> (L.) Presl 樟树		马守信等,1978
<i>Coffea arabica</i> L. 咖啡		Sharp 等,1973
<i>Corylus avellana</i> L. 欧洲榛	胚轴	Jarvis 等,1978
<i>Cunninghamia lanceolata</i> (Lamb.) Hook 杉木	幼苗茎尖、茎段	阙国宁,1980;1988
<i>Eucalyptus alba</i> Reinw. 白桉	下胚轴	Kitahara 等,1975
<i>E. grandis</i> L. 巨桉	腋芽	Cresswell 和 Nitsch,1975
<i>Gleditsia triacanthos</i> L. 美国皂荚	茎	Rogozinska,1968
<i>Liquidambar styraciflua</i> L. 胶皮糖香树	下胚轴	Sommer 和 Brown,1980
<i>Momordica grosvenori</i> Swingle 罗汉果	叶	林荣等,1981
<i>Olea europaea</i> L. 油橄榄	茎尖,下胚轴	包慈华等,1980
<i>Pachira macrocarpa</i> 瓜栗	下胚轴	程治英等,1980
<i>Paulownia fortunei</i> (Seem)Hems 白花泡桐	节间,节	郭达初等,1981
<i>P. taiwaniana</i> Hu & Chang 台湾泡桐	茎	Fu,1978
<i>Picea glauca</i> (Motnch) Voss 白云杉	下胚轴	Campbell 等,1976
<i>P. sitchensis</i> (Bong.)Carr 北美云杉	胚,针叶,茎尖	Webb & Street,1977
<i>Pinus bungeana</i> Zucc. ex Endl. 白皮松	胚	桂耀林等,1985
<i>P. banksiana</i> Lamb. 短叶松	下胚轴	Campbell & Durzan,1975
<i>P. palustris</i> Mill. 长叶松	胚,子叶	Sommer 等,1978
<i>P. pinaster</i> Ait. 南欧海松	子叶,下胚轴	David 等,1978
<i>P. radiata</i> D. Don 辐射松	子叶,下胚轴	Reilly 等,1977
<i>P. rigida</i> Mill 刚松	子叶	Brown 等,1977
<i>P. sabiniana</i> Dougl 帕里松	子叶	Brown 等,1977
<i>P. taeda</i> L. 火炬松	子叶	Sommer 等,1974

续表

植物名称	外植体来源	作者及发表年份
<i>Pistacia</i> 黄连木属的一种	腋芽	Alderson, 1982
<i>Populus. canescens</i> (Ait.)Smith 银灰杨	茎尖, 茎段	Chalupa, 1974
<i>P. canadensis</i> Moench. 加杨	茎尖	D' Amato, 1974
<i>P. hopeiensis</i> Hu et Chow 河北杨	萌条等	林静芳等, 1980
<i>P. tomentosa</i> Carr. 截叶毛白杨		陕西林科所组培组, 1980
<i>P. nigra</i> cv. Blanc de Garonne 加龙杨	叶(五年树龄)	黄敏仁等, 1980
<i>P. simonii</i> × <i>P. nigra</i> 小黑杨	一年生枝条	张立功等, 1981
<i>Putranjiva roxburghii</i> 核实木	胚乳	Johri 和 Srivastava, 1973
<i>Santalum album</i> L. 檀香	胚乳, 下胚轴	Rao 等, 1980; Lakshmiste 等, 1982
<i>Sequoia sempervirens</i> (D. Don) Endl. 北美红杉	嫩枝, 萌条	Ball, 1978; 包慈华等, 1979
<i>Sequoia dendron giganteum</i> (Lindl.) Buchholz 巨杉	侧枝	郭达初等, 1981
<i>Thuja occidentalis</i> L. 北美崖柏	胚	La Rue, 1936
<i>Thuja plicata</i> D. Don 大侧柏	子叶, 茎尖	Coleman 等, 1977
<i>Tsuga canadensis</i> Carr 加拿大铁杉	胚	La Rue, 1936
<i>Ulmus americana</i> L. 美洲榆	下胚轴	Durzan 等, 1978
<i>U. propinqua</i> Koidz 春榆	茎段	林静芳等, 1981

复习思考题

1. 植物组织培养的概念?
2. 外植体的含义?
3. 根据外植体的不同,植物组织培养可以分为几种? 比较常用的是哪些?
4. 植物组织培养有哪些特点?
5. 你认为植物组织培养技术在目前的农林业生产中有什么价值? 为什么?