

植 ◆ 物 ◆ 细 ◆ 胞 ◆ 工 ◆ 程

**主编：潘瑞炽**

编者：施和平  
李玲  
王小菁

# 植物细胞工程

ZHIWU XIBAO GONGCHENG



广东高等教育出版社

# 植物细胞工程

主编 潘瑞炽  
编者 施和平  
李玲  
王小菁

广东高等教育出版社  
· 广州 ·

## 图书在版编目 (CIP) 数据

植物细胞工程 / 潘瑞炽主编. — 广州: 广东高等教育出版社, 2006. 2  
ISBN 7 - 5361 - 3263 - 8

I. 植… II. 潘… III. 植物 - 细胞工程 - 高等学校 - 教材 IV. Q943

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 127714 号

## 内 容 提 要

本书在《植物组织培养》基础上补充、修订而成。新书系统地介绍了植物细胞工程的基本理论, 内容包括细胞和组织培养的基本技术、细胞培养、原生质体培养、人工种子、超低温保存、生殖细胞培养、药用植物细胞的大量培养、植物细胞的遗传转化等。本书共分十三章, 七个实验指导, 并附有植物生长调节剂的配制和浓度的换算法等。本书系统性强, 文句通顺, 简单扼要, 适合生物科学各专业作教材使用。

广东高等教育出版社出版发行

地址: 广州市天河区林和西横路

邮政编码: 510500 电话: (020)87554153

江门市新教彩印有限公司印刷

2006 年 2 月第 1 版 2006 年 2 月第 1 次印刷

开本: 787 mm × 960 mm 1/16 印张: 11.50 字数: 210 千字

印数: 0 001 ~ 5 000 册

定价: 15.00 元

## 前 言

植物细胞工程是一种利用离体植物培养细胞进行遗传操作，实现植物品种改良的生物技术。高等植物是多细胞的有机体，无法在整体水平上进行遗传操作，只有通过离体培养细胞或小块的组织，才能生长、分化和发育，成为完整植株，才可能使细胞上的遗传物质传递到植物体，实现植物的品种改良，因此植物细胞工程是建立在植物离体组织培养上的一种生物工程技术。

几十年来，我国植物细胞工程基础理论研究愈加深入，实践应用范围也愈益广泛。例如，花粉、花药单倍体培育出烟草、水稻、小麦、大麦、油菜、甘蔗等作物的新品种、新品系，推广种植面积逾 100 万公顷，脱除病毒快速繁殖的主要作物有香蕉、马铃薯、甘蔗、木薯、葡萄、花卉和观赏植物，利用组织培养技术来加速药用植物（如人参、紫草、贝母、三分三、甘草等）细胞的繁殖，然后在发酵罐中大量培养，取得有效的次生药用物质。

植物组织培养是在人工控制环境的条件下，在人工配制的培养基中将离体的植物细胞、组织或器官进行培养的技术。它的实践性很强，是植物细胞工程中的一种重要手段。近 10 年来国内各大学先后开设植物细胞工程课程（其中包括植物组织培养的技术），立足于改良品种，有理论又有实践，内容更加全面而且深入，能更好地培养高质量的人才。因此本书在《植物组织培养》的基础上，改编为《植物细胞工程》。具体变化是：改写“绪论”、“生殖细胞培养”、“细胞培养”，增加“常用药用植物细胞的大量培养”、“植物细胞的遗传转化”等章。在实验指导方面，则增写“根癌农杆菌介导的烟草叶圆片转化法”和“黄瓜毛状根的诱导、培养及其冠瘿碱检测”两个实验，共七个实验，供老师们选用。每个实验约需 2~3 学时，个别实验需较长时间，内容较深，教师可灵活掌握。

由于本书是由《植物组织培养》一书改编的，因此，搁置第六章后，本书就是大专院校植物细胞工程课程的教材；如果搁置第十章、第十三章和第八章部分内容，也可作为植物组织培养课程之教材；当然也可供农业科研人员参考用。

本书绪论和第七章由潘瑞炽执笔，第一、二、三、四、十三章由施和平执笔，第五、六、九、十章由李玲执笔，第八章由李玲和王小菁执笔，第十一、第十二章由王小菁执笔，全书由潘瑞炽统稿。

本书这样编排，既可作为植物细胞工程教材，又可兼作植物组织培养教材，以适应不同专业的需求。这种尝试，是否恰当，请读者评论。

潘瑞炽

2005年12月

# 目 录

绪 论 .....	(1)
一、植物细胞工程的概念和内容 .....	(1)
二、植物细胞工程的理论基础 .....	(1)
三、植物细胞工程的发展历史 .....	(4)
四、植物细胞工程的应用 .....	(6)
<b>第一章 实验室设备和一般技术 .....</b>	<b>(8)</b>
第一节 实验室设计 .....	(8)
第二节 常用设备和器材 .....	(11)
第三节 玻璃器皿的选择与清洗 .....	(14)
<b>第二章 培养基及其配制 .....</b>	<b>(18)</b>
第一节 培养基的成分 .....	(18)
第二节 培养基的配制 .....	(22)
第三节 常用培养基的配方及其特点 .....	(26)
<b>第三章 外植体的选择和灭菌 .....</b>	<b>(31)</b>
第一节 外植体的选择 .....	(31)
第二节 外植体的灭菌方法 .....	(33)
第三节 污染原因和预防措施 .....	(36)
<b>第四章 外植体的接种和培养 .....</b>	<b>(37)</b>
第一节 外植体的接种 .....	(37)
第二节 培养方法 .....	(38)
第三节 培养条件 .....	(40)
第四节 外植体褐变及其防止 .....	(42)
第五节 试管植物的玻璃化现象及其预防措施 .....	(44)
<b>第五章 愈伤组织的培养 .....</b>	<b>(47)</b>
第一节 愈伤组织的诱导和分化 .....	(47)
第二节 愈伤组织中的形态发生 .....	(50)
第三节 人工种子 .....	(57)
<b>第六章 营养器官培养 .....</b>	<b>(60)</b>
第一节 根的培养 .....	(60)

第二节	茎的培养 .....	(62)
第三节	叶的培养 .....	(64)
<b>第七章</b>	<b>植物快速繁殖和脱毒 .....</b>	<b>(67)</b>
第一节	植物快速繁殖的途径和方法 .....	(67)
第二节	继代培养 .....	(68)
第三节	快速繁殖中茎尖培养脱毒 .....	(70)
第四节	其他途径脱毒 .....	(75)
第五节	脱毒苗的鉴定 .....	(76)
第六节	脱毒后防病毒再感染 .....	(78)
<b>第八章</b>	<b>生殖细胞培养 .....</b>	<b>(80)</b>
第一节	花药和花粉培养 .....	(80)
第二节	子房胚珠的培养 .....	(86)
第三节	离体受精 .....	(89)
第四节	胚培养 .....	(91)
第五节	胚乳培养 .....	(93)
<b>第九章</b>	<b>细胞培养 .....</b>	<b>(96)</b>
第一节	单细胞的分离 .....	(96)
第二节	细胞悬浮培养 .....	(97)
第三节	单细胞培养 .....	(99)
<b>第十章</b>	<b>常用药用植物细胞的大量培养 .....</b>	<b>(104)</b>
第一节	药用植物细胞大量培养途径 .....	(104)
第二节	影响药用植物细胞大量培养的因素 .....	(108)
第三节	常用药用植物细胞大量培养实例 .....	(112)
<b>第十一章</b>	<b>原生质体培养和体细胞杂交 .....</b>	<b>(114)</b>
第一节	原生质体培养 .....	(114)
第二节	原生质体融合 .....	(121)
第三节	以原生质体为材料的基础理论研究 .....	(125)
<b>第十二章</b>	<b>种质保存 .....</b>	<b>(127)</b>
第一节	常温保存 .....	(127)
第二节	常低温和低温保存 .....	(128)
第三节	超低温保存 .....	(128)
<b>第十三章</b>	<b>植物细胞的遗传转化 .....</b>	<b>(132)</b>
第一节	根癌农杆菌介导的遗传转化 .....	(132)
第二节	发根农杆菌介导的遗传转化 .....	(141)

第三节 基因枪转化法·····	(146)
附录一 实验指导·····	(152)
实验1 培养基母液的配制·····	(152)
实验2 MS培养基的配制与灭菌·····	(154)
实验3 外植体的消毒及其愈伤组织的诱导·····	(156)
实验4 愈伤组织的器官分化·····	(158)
实验5 植物茎尖快速繁殖·····	(160)
实验6 根癌农杆菌介导的烟草叶圆片转化法·····	(161)
实验7 黄瓜毛状根的诱导、培养及其冠瘿碱检测·····	(166)
附录二 植物生长调节物质溶液的配制·····	(170)
附录三 摩尔浓度和 ppm 浓度的换算·····	(172)
主要参考文献·····	(174)



# 绪 论

## 一、植物细胞工程的概念和内容

### (一) 植物细胞工程的概念

植物细胞工程 (plant cell engineering) 是指在植物细胞水平上进行的遗传操作。具体说, 植物细胞工程就是应用植物细胞生物学和分子生物学的理论和技术, 在细胞水平上离体培养或遗传操作, 以达到快速繁殖、改良品种或生产更多更好的植物产品的工程学科。

### (二) 植物细胞工程的内容

植物细胞工程就是研究植物器官、组织、细胞在离体培养时需要的有机营养、无机营养、植物激素、温度、湿度、光照等环境条件以及发育阶段和基因等的遗传操作。

具体来说, 植物细胞工程的内容可分为: (1) 器官培养 (organ culture), 它是指对根、茎、叶、花、果实以及各部的原基 (芽原基、根原基) 的培养; (2) 胚胎培养 (embryo culture), 它是指对胚珠、幼胚、成熟胚的培养, 也包括胚乳的离体培养; (3) 组织培养 (tissue culture), 它是指对植物各部分的组织如茎尖、根尖、髓部、形成层和叶肉等的离体培养; (4) 原生质体培养 (protoplast culture), 它是指除去细胞壁, 只培养裸露的原生质体。

从上述内容延伸出的项目还有: 植物脱毒培养、突变体筛选、细胞杂交、超低温冷冻贮藏和人工种子等。

## 二、植物细胞工程的理论基础

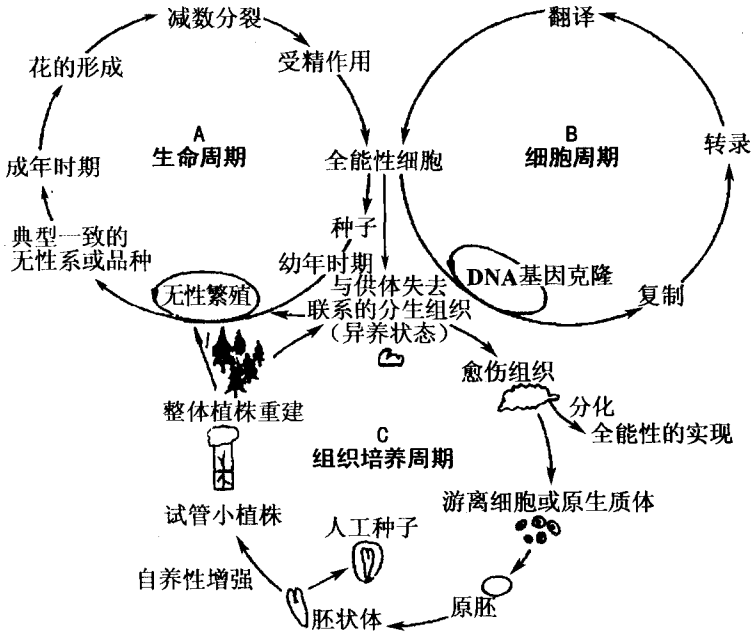
### (一) 细胞全能性

细胞全能性是在细胞学说和组织培养实践的基础上建立起来的。1938年法国植物学家施莱登 (Matthias Jacob Schleiden) 总结前人的研究结果, 提出: “一切植物, 如果它们不是单细胞的话, 都完全是由细胞集合而成的, 细胞是植物构造的基本单位。”与此同时, 法国动物学家施旺 (Theodor Schwann) 在动物学领域提出了相似的观点。他们的观点形成了作为19世纪三大发现之一的细胞学说。这一学说的基本论点是: 细胞是生物结构、功能和发育的基本单位。

德国植物学家 Haberlandt 在1902年根据细胞学说, 大胆地提出, 作为高等

植物的器官和组织基本单位的细胞有可能在离体培养条件下实现分裂分化，乃至形成胚胎和植株。虽然他的细胞实验未获得成功，但他的见解却是有创见性的。1943年美国 P. R. White 正式提出植物细胞具有全能性 (totipotency) 学说，即每个植物细胞都是具有该植物的全部遗传信息，在合适的培养条件下有发育成完整的植物个体的能力。1958年 F. C. Steward 等对胡萝卜细胞进行悬浮培养，经由单细胞再生成植株，首次证实了植物细胞的全能性。以后植物细胞的全能性不仅在体细胞，而且在生殖细胞（花粉）、原生质体和融合细胞上都得到了证实。但是细胞全能性往往会因体外培养条件不合适或因继代培养时间过长、细胞年龄过大等原因而难以表达甚至逐渐丧失。

植物细胞全能性是通过生命周期、细胞周期和组织培养周期来实现的（图绪-1）。图中 A 循环表示生命周期，包括孢子体和配子体的世代交替来实现细胞全能性；B 循环表示细胞周期，即细胞所决定的核质周期，由于核质相互作用，DNA 复制、转录 mRNA 并翻译为蛋白质，使细胞全能性得以形成和保持；C 循环是组织培养周期，表示组织和细胞与供体失去联系，在离体条件下，靠人工合成培养基中的养分，通过细胞脱分化、分裂、再分化来实现全能性。



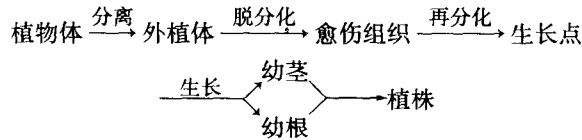
图绪-1 植物细胞全能性的实现

## (二) 细胞分化、脱分化和再分化

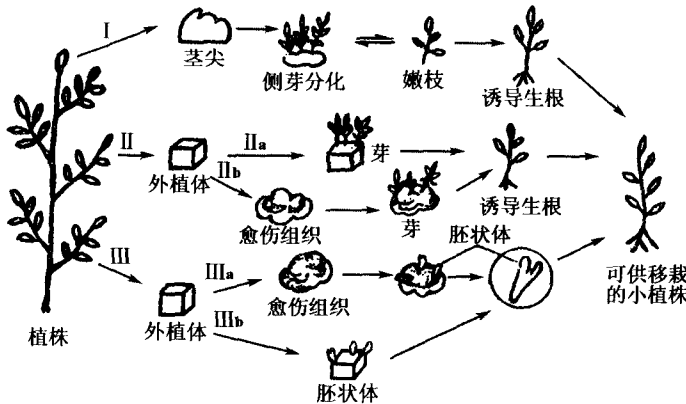
要使细胞全能性表达出来，形成完整植株，除了生长以外，还要经过分化、脱分化等过程。受精卵经过细胞分裂和分化，引起极性的形成（根端和茎端），最后发育成种子。种子萌发后，长根、长叶、开花结实，形成完整植株。完整植株每个活细胞虽都保持着潜在的全能性，但受到所在环境的束缚而相对稳定。植株体内的这种分化（differentiation）是正常的分化。

当将离体组织或器官放在培养基上进行离体培养（in vitro culture）时，这些离体组织或器官就会进行细胞分裂，形成一种高度液泡化的呈无定形的薄壁细胞，称为愈伤组织（callus）。有高度分化能力的植物组织或器官产生愈伤组织的过程，就称为植物细胞的脱分化（dedifferentiation）。

将脱分化形成的愈伤组织转移到适当的培养基上继续培养，这些无定形的愈伤组织又会重新分化出具有根、茎、叶的完整植株。这种从愈伤组织再生出小植株的过程被称为再分化（redifferemtiation）。这样，最后形成完整的植株。



离体器官的分化方式有许多种，图绪-2 是比较典型的三种分化途径：一是由分生组织直接分生芽；二是由分生组织形成愈伤组织，经过分化实现细胞的全能性；三是游离细胞或原生质体形成胚状体，由胚状体直接重建完整植株，或制成人工种子后重建植株（图绪-2）。



图绪-2 植物离体组织或器官分化成植株的途径

### (三) 植物胚状体

植物的胚状体 (embryoid) 是指植物细胞、组织或器官的离体培养中, 起于一个非合子细胞, 并经过胚胎发育过程分化出的类似胚一样的细胞群。现在已知道, 能产生胚状体的植物有 43 科 92 属 117 种, 在维管植物各大类群中均有报道。植物体上具有产生胚状体能力的部位也十分广泛, 如离体培养的根、茎、叶、花芽、花药、幼苗等。胚状体发生初期的细胞分子与合子胚不同, 但分化后的发育过程与合子胚的类似, 即: 球形胚→心形胚→鱼雷形胚→成熟胚。不论是哪一种方式产生的胚状体, 在发生和发育过程中一般是不同步的, 所以在—个材料中同时可以见到各个不同发育时期的胚状体。

胚状体产生的方式有四种: (1) 直接在器官上发生; (2) 培养物先形成愈伤组织, 再由愈伤组织分化成胚状体; (3) 在花药培养中, 由小孢子发育成胚状体; (4) 在单细胞和原生质体培养中, 先由细胞形成一个胚性细胞团, 再由胚性细胞团上的细胞发育成胚状体。

在植物细胞培养中, 诱导胚状体途径再生植株比其他方式有三个显著的优点: (1) 数量多。在细胞、愈伤组织和器官的培养上, 每一个培养物诱导胚状体的数量往往比诱导芽的数量要多得多, 尤其在细胞悬浮培养。(2) 速度快。胚状体从单细胞直接分化成小植株的时间较短。(3) 结构完整。胚状体一旦形成, 一般都可直接萌发, 形成小植株, 因此成苗率高。由于胚状体具有上述优点, 成为优良个体的无性繁殖、快速育苗、无病毒种苗培养等手段, 在农业、林业和园艺工作中显然具有特殊的价值。

## 三、植物细胞工程的发展历史

植物细胞工程的发展历史可以分为下列四个阶段:

### (一) 探索阶段 (1902—1929)

德国植物学家 Haberlandt (1902) 根据细胞学说提出“高等植物的器官和组织可以不断分裂, 直至单个细胞”的观点, 即单细胞具有潜在的全能性的功能。为了证实这个观点, 他用野芝麻、紫鸭跖草等植物分离出叶肉栅栏组织和表皮等, 首次进行高等植物的细胞培养实验。由于当时的技术所限, 结果仅观察到组织和细胞体积的膨大, 而未见到细胞分裂, 但却开辟了植物学的新领域——植物组织和细胞培养。1904 年 Hanning 尝试了萝卜和辣根菜的幼胚在含有糖、无机盐、氨基酸和植物提取物的培养基培养, 幼胚得到充分发育并提早萌发成小苗。这是离体培养的第一个成功例子。

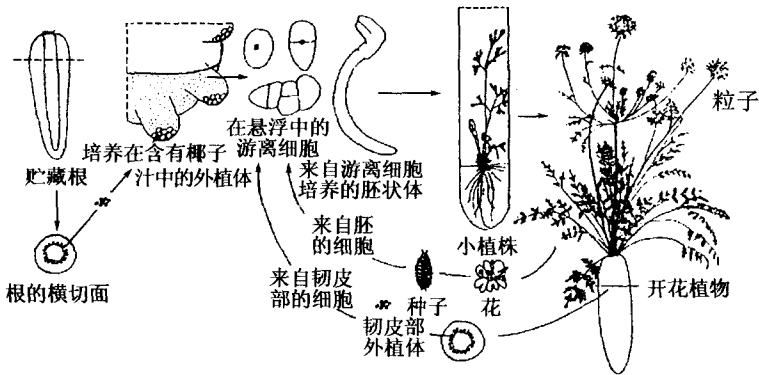
### (二) 技术建立阶段 (1930—1940)

植物组织培养基本技术的建立始于 20 世纪 30 年代中期。1934 年美国 White

等利用番茄根尖进行组织培养，首次建立了生长活跃的无性繁殖系。这个无性系一直培养到 20 世纪 60 年代。1934 年 Gautbert 用 Knop 液加葡萄糖、酵母提取液、水解酪蛋白的固体培养基，成功地培养三毛柳和黑杨的形成层。1937 年 White 又发现 B 族维生素和吡啶乙酸对离体根的生长有重要作用，发明了第一个人工合成培养基。1937—1938 年 Nabecourt 培养胡萝卜根的组织，得到愈伤组织并继代培养了几十年。上述几位科学家分别建立了植物组织的连续培养物，使离体的植物组织可以在人工培养基上不断生长，从而奠定了现代组织培养的基础。

### (三) 器官形成和个体发生阶段 (1941—1959)

1941 年 Van Overbeek 等以椰子乳汁作为培养基补加物，促进曼陀罗心形幼胚的发育。1944 年 Van Overbeek 利用烟草愈伤组织研究器官发生，观察到 IAA 对根发生有促进作用，对芽的形成有抑制作用。1946 年罗士韦将菟丝子茎尖培养成功并在试管内开花。1948 年 Skoog 和崔征在烟草切段和髓培养以及器官发生的研究中，发现腺嘌呤或腺苷可以解除培养基中 IAA 对芽的抑制作用，诱导烟草茎段形成芽。IAA 和腺嘌呤的比例是控制芽或根形成的重要条件之一。Skoog 实验室的 Miller 于 1955 年发现腺嘌呤的类似物激动素 (6-咪喃氨基嘌呤) 的诱导细胞增殖和分化的作用，比腺嘌呤强 3 万倍。1958 年 Steward 使悬浮培养的单个胡萝卜根细胞形成胚状体，这一过程与胡萝卜的受精卵形成合子胚的发育极为相似，因而第一次用实验证实了 Harberlandt 提出的植物细胞全能性学说 (图绪-3)



图绪-3 胡萝卜植株生长周期示意图

通过从韧皮部或胚得来的细胞把连续的生长周期连接起来

### (四) 技术迅速发展阶段 (1960—2000)

1960 年，Cocking 用纤维素酶和果胶酶溶解番茄根尖的细胞壁，分离出原生

质体，继续进行培养，可重新长壁、分裂、分化形成根和芽，最终形成新植物体。从此以后，原生质体培养和细胞杂交也获得成功。1964—1966年印度学者 Guha 和 Maheshwari 首次从毛叶曼陀罗花药培养中诱导未成熟花粉形成单倍体植株，从此开创了利用花药培养单倍体植物的新途径。从此不久，烟草和水稻的花药培养也获得成功。由于单倍体加倍后即形成为纯合二倍体，在育种上可以快速获得稳定的后代，因此受到育种家的极大重视。我国学者 1972 年以来，已经在 30 多种经济植物，通过花药培养或花粉培养，获得新品种 20 多个。大量培养药用的次生代谢产物是植物细胞工程另一个重要的领域。我国在 1964 年开始研究人参，1980 年以后相继开展了紫草、三七、红豆杉等植物的大量培养研究，并利用生物反应器进行小试和中试。1973 年在烟草瘤培养物中发现了来源于农杆菌的 Ti 质粒，它可以自发地整合到植物的基因组中去，由此开始了植物重组 DNA 和基因工程的研究。近 20 年来，植物细胞工程技术被广泛用于植物的基因转化，培育新品种。

#### 四、植物细胞工程的应用

近三四十年来，随着研究的深入，植物细胞基础理论发展迅速，实际应用范围也越来越广。

##### (一) 无性系快速繁殖

植物的快速繁殖，就是应用组织培养和细胞培养技术，快速繁衍珍稀濒危植物，使物种得以保存；以及快速繁殖名优新品种，使其在一定时间内繁衍为一定数量的植株。快速繁殖的植株能保持母本的生物特性和遗传性状，并可在短期内种植于田间。快速繁殖是当前植物细胞工程中应用最广泛，又最有效的方法之一。

我国无性系快速繁殖在 20 世纪 80 年代开始，如上海的康乃馨、北京的切花菊、广州的香蕉、广西的甘蔗等，以后研究越来越多，初步统计仅观赏植物就涉及 182 个种以上，分属 58 科，124 属。试管生产工业化的生产力越来越大，年生产能力多在几十万、几百万甚至千百万株以上。

##### (二) 花药培养和花粉单倍体育种

离体花药—花粉培养的单倍体育种法，与常规方法相比，可以在短时间内得到作物的纯系，从而加快育种过程。我国的花药培养研究开始于 1972 年，研究成果非常丰富。至 2002 年止，已培育出许多烟草、水稻、小麦、玉米和辣椒新品种 28 个，应用于生产，如烟草“单育 1 号”、水稻“单丰 1 号”、水稻“中花 9 号”和小麦“花培 1 号”等。我国科学家设计的花药培养基 N6 和改良 N6 培养基，在国内外被广泛地使用。

### (三) 药用植物的工厂化生产

当前各地采用组织培养来加速药用植物（如人参、紫草、贝母、三分三、甘草、三七、红豆杉、青蒿等）的繁殖生长已获得成功，并投入工厂化生产。我国植物种类繁多，草药的研究和利用具有悠久的历史，但过度采挖使某些药用植物资源遭到严重破坏，因此开展药用植物工厂化生产是很必要的。

### (四) 种质的保存和基因库的建立

种质的保存和基因库的建立 在育种工作中是十分重要的。由于组织培养材料的体积小，利于在低温（如低温冰箱）或超低温（如液态氮）中长期保存。已成功的例子有苹果、草莓、胡萝卜、马铃薯、玉米、水稻、甘蔗、花生等。

### (五) 细胞育种

细胞育种可经过植物细胞融合和细胞转化两条途径进行，细胞融合是两种异源原生质体，在诱导剂诱发下相互接触，从而使膜、胞质和核发生融合，形成杂种细胞，进一步发育成杂种植物体。例如，用白菜型油菜（*Brassica campestris*,  $2n = 20$ ）与甘蓝（*Brassica oleracea*,  $2n = 38$ ）进行体细胞杂交，成功地得到与甘蓝型油菜（*B. napus*,  $2n = 38$ ）十分类似的合成种，大部分可育。细胞转化是指将外源基因通过农杆菌转化法、基因枪转化法（育成品种小麦）和花粉管通道转化法（育成品种抗虫棉）导入植物细胞中，再通过细胞和组织培养，就能获得再生的转基因植株。国内外学者已在这些方面获得成功。

# 第一章 实验室设备和一般技术

植物组织培养是一项要求很高、技术性较强的工作。为了确保组织培养工作的成功，必须有最基本的实验设备条件，并熟练掌握一些与无菌操作有关的操作技术。

## 第一节 实验室设计

植物组织培养的实验室，通常包括通用实验室、接种室、恒温培养室、检查培养情况并做记录的细胞学实验室。此外，工业化生产还需有相应的发酵设备及用于栽培试管苗的专用花房或遮荫棚等。实验室的大小和设置可根据自己的工作性质和规模自行设计，其中最主要的是无菌操作室和恒温培养室。

### 一、通用实验室

通用实验室主要用于植物组织培养所需器具的洗涤、干燥和保存，培养基的配制、分装和灭菌，化学试剂的存放及配制，重蒸馏水的生产，待培养植物材料的预处理及培养物的常规生理生化分析等操作。为了配制各种培养基，室内必须有一个较大的平面工作台及供放置各种培养器具的橱柜。

### 二、接种室

接种室主要用于植物材料的消毒和接种，培养物的继代转移等等。它应是无尘、无对流空气的非常洁净的实验室。要求进入室内的工作人员的衣物、鞋帽、头发、手和脸都要十分清洁，避免带入杂菌造成污染。如果能换上工作服、工作帽和室内拖鞋，更是理想。

#### (一) 无菌操作室

无菌操作室最好设有内外两间：外间是缓冲间，内间是无菌操作室，缓冲间可使工作人员进入无菌操作室前有一个过渡，以减少将室外杂菌带入无菌操作室。缓冲室中可放置工作服、工作帽、拖鞋等，亦可用紫外灯随时进行灭菌。无菌操作室是无菌操作的重要空间，墙壁和地面要光滑，便于清洗和消毒。除入口和通风口外，均应密封和安装滑门，以减少室内外空气对流，污染室内环境。使



用前先用  $20\text{mL} \cdot \text{L}^{-1}$  新洁尔灭溶液擦洗台面，然后开紫外光灯照射 20 min。同时室内应定期用甲醛和高锰酸钾（每平方米空间需 2 mL 甲醛与过量的高锰酸钾混合）产生的蒸气熏蒸。无菌操作室可同时容纳 2 人以上操作。由于空气不够流畅，长时间工作使人很不舒服，特别是夏天。

### （二）接种箱

在条件较差的情况下，可考虑自制无菌箱来代替无菌操作室。最简单的无菌箱可用木板或有机玻璃制成。假若用木板制作，上面可装配玻璃，以方便操作。左右两侧或在正面开两个圆孔，以便从圆孔口放入用具和培养基及进行操作。两个圆孔口内各安装上一个布制袖罩，避免灰尘和杂菌混入。箱内装有紫外灯，供灭菌用，同时装上日光灯供照明用（图 1-1）。

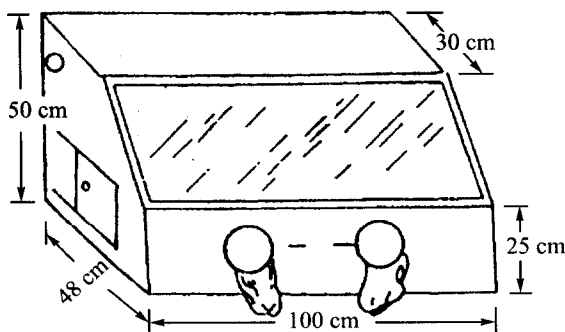


图 1-1 接种箱

### （三）超净工作台

超净工作台一般由鼓风机、滤板、操作台、紫外光灯和照明灯等部分组成。根据风幕形成的方式，可分为垂直式和水平式两种。超净工作台的工作原理主要是：鼓风机送入的空气经过细菌过滤板除去微生物后，再流过工作台面，并在操作人员和操作台之间形成风障，使杂菌不能进入，形成一个无菌的工作面。与接种箱和无菌操作室相比，超净工作台既方便又舒适，无菌效果又好，现已成为被广泛使用的无菌操作装置。超净工作台应放置在空气干燥，地面无灰尘的地方。若使用过久，引起堵塞，需要清洗或更换过滤板。超净工作台有单人、双人及三人式的（见下页图 1-2），一般较宽大，购置和设计房间时应考虑到，以免房门太窄而搬不进去。

## 三、培养室

培养室是培养试管苗的场所，要满足外植体生长所需的温度、光照、湿度和气体等条件。室内主要应有培养架和控制温度和光照的设备。室内温度通常要求在  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$  左右，大都采用空调机来控制。培养室的光源通常采用普通 40 W 的白色日光灯等，每层培养架安放 2~4 支日光灯管，每管相距 20 cm，以满足每层外植体生长需要。有时为了工作方便，可采用自动定时器控制光照时间，以免每天要人工开灯和关灯。日光灯的镇流器散发大量热量，夏天宜安在室外，以减低空调