



SHIYONG ZHIWU ZUZHIPEIYANG
JISHU JIAOCHENG

实用植物组织 培养技术教程

CAO ZIYI LIU GUOMIN ZHUBIAN

曹孜义 刘国民 主编



甘肃科学技术出版社

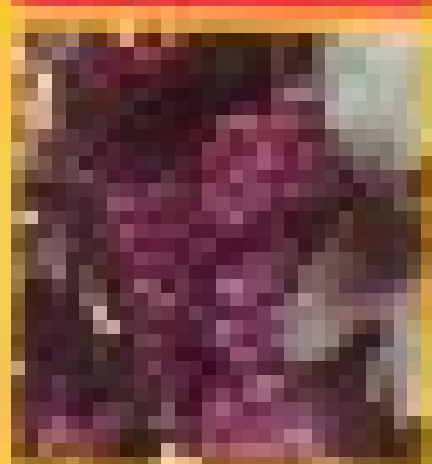


SHIYONG ZHIWU ZUZHIFEIXANG
JINSHI JIAOXUECANG

实用植物组织 培养技术教程

主编 李国杰 副主编 王德明 王德明

ISBN 7-03-014444-4



高等教育出版社

实用植物组织培养技术教程

曹孜义 刘国民 主编

甘肃科学技术出版社

实用植物组织培养技术教程

曹孜义 刘国民 主编

甘肃科学技术出版社出版发行
(兰州第一新村 81 号)

兰州八一印刷厂印刷

开本 787×1092/16 印张 21.5 字数 520 000

1996 年 11 月第 1 版 1996 年 11 月第 1 次印刷
印数 1—3 000

ISBN 7-5424-0610-8/S·148 定 价:20.00 元

序

植物组织培养在过去的近 40 年中已取得了长足的进步,至今已成为生物工程的一个重要组成部分。在植物组织培养的各种技术中,目前应用最多的是脱毒快繁技术。我国的科技工作者在这方面进行了大量卓有成效的研究工作,在马铃薯、甘蔗、多种果树(葡萄、香蕉、苹果等),林木(桉树、杨树等),蔬菜和花卉植物上均获得了成功,其中不少已应用于农业生产,形成了一定的规模,如南方香蕉试管苗的生产即是一例。试管苗快繁技术虽然已成为一种实用技术,但如何进行商品化生产,在我国也仍有不少值得探讨的问题,需要一个积累经验的过程。甘肃农业大学曹孜义教授组织国内一批从事这方面研究工作的专家,编写《实用植物组织培养技术教程》一书,系统介绍了试管苗快繁技术的原理和技术,无疑将有助于促进我国植物组织培养的研究,对于试管苗的商品化生产,形成产业也将起到推动作用,为此希望此书不仅仅是一本很好的教材,同时也能为正在从事这方面研究开发的同行提供一本很好的参考书。

许智宏

一九九六年十月于北京

前言

近 30 多年以来,植物组织培养技术得到了迅速发展,已渗透到生物学科各个领域,成为生物学的重要研究技术和手段。并广泛应用于农业、林业、工业和医药业,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一门学科。

1960 年,Morel 用兰花茎尖离体培养脱病毒植株后,国际上相继建立了兰花工业,在兰花试管快繁高效益的刺激下,观赏植物、果树和园艺植物、药用和工业原料、农林植物、稀有濒危植物的试管快繁和脱病毒技术的研究和应用取得了很大进展。国内外先后建立了商业性试验室、家庭作坊、私人试管苗工厂等试管苗产业,这是植物组织培养应用最大、最有成效的一个方面。现在世界上和我国各地均在开展植物组织培养的研究和应用,其中大部分是研究植株再生及离体快繁的。据有关专家预测,在今后 10 年里,世界上试管快速繁殖和脱病毒苗木产值将以每年 7%~8% 的速度递增。一些国家和地区观赏植物、无性繁殖的果树和作物的 40%~80%,甚至全部种苗和种薯是由微繁殖提供。近年来,一些国际、国内植物生物技术会议也常有这方面的报道,认为该项技术较成熟,设备较简单且经济效益十分可观,是发展中国家发展农林生产的一项重要技术手段。

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。试管繁殖虽取得了一定成绩,但经济效益还不很高,发展不够平衡。究其原因:一是缺乏技术人才方面的培养;二是钻研不深,经营和管理不善所致。因此,急需培养这方面的高级技术人才和管理人才。同时在改革开放的大好形势下,多数科技工作者要面向国民经济建设主战场,从事开发和经营,解决生产中的实际问题。综合性大学、农林院校、师范院校、农林职业教育学院相继成立了生物技术专业或开设植物组织培养技术课程,培养高级技术人才。为满足这些专业的要求,以及相关专业和课程的需要,也为了满足科技工作者从事开发和经营,我们邀请了全国直接从事这方面研究和开发的专家、教授撰稿,出版了这本教程。

本教程广泛收集国内外能规模化和商业化生产或将要商业化生产的植物种类。开始介绍植物组织培养和微型繁殖简史及国内外发展概况。其后介绍植物组织培养的基本原理、方法和设备等,直到植物茎尖脱毒、离体快繁,规模化、商业化生产及管理,成本核算及效益,工厂化生产管理,离体快繁中应注意的问题及其应用和发展前景等等。可作为综合性大学、农业院校、师范院校、农林职业技术学校等生物技术专业或相关课程的教材,它也可供从事农林生产的科技工作者参考。本教材编写过程中得到有关研究单位和大专院校,特别是甘肃农业大学校系领导和植物生理生化教研室的大力支持,在此一并致谢。

本书编辑因时间仓促,错误之处在所难免,敬请批评指正。

曹孜义

1996 年 5 月

目 录

第一章 绪论及国内外微繁概况	1
第一节 绪 论	1
第二节 离体快繁的意义及国内外微繁概况.....	4
第二章 植物组织培养的基本知识及操作	9
第一节 植物组织培养的原理及特点.....	9
第二节 植物组织培养商业性实验室的研究和生产设备	15
第三节 培养基及其制备	21
第四节 培养材料及消毒	38
第五节 材料的初代培养	42
第六节 试管苗的增殖与继代培养	46
第七节 试管苗的生根和移栽	51
第八节 植物组织培养商业性生产应注意的问题	60
第三章 果树试管快繁及脱毒	63
第一节 仁果类的脱毒及试管快繁	63
第二节 浆果类的脱毒及试管快繁	82
第三节 核果类的脱毒及试管快繁	99
第四节 干果类的脱毒及试管快繁.....	109
第五节 热带水果的脱毒及试管快繁.....	119
第四章 观赏植物试管快繁	142
第一节 观赏植物试管快繁概况.....	142
第二节 兰科植物的组织培养.....	145
第三节 球根花卉试管快繁.....	160
第四节 宿根花卉试管快繁.....	167
第五节 观叶植物试管快繁.....	174
第六节 木本观赏植物试管快繁.....	176
第七节 草花试管快繁.....	182
第八节 其它花卉试管快繁.....	184
第五章 林木组织培养及试管快繁	189
第一节 林木试管快繁概况.....	189
第二节 桉树属的组织培养及试管快繁.....	195
第三节 杨树属的组织培养及试管快繁.....	201
第四节 针叶树类的试管快繁.....	206
第五节 其他几种重要经济树种的试管快繁.....	213
第六章 药用植物离体培养与试管快繁	225

第一节	药用植物组织培养的意义及研究进展	225
第二节	苦丁茶的试管快繁	228
第三节	芦荟的试管快繁	230
第四节	枸杞的组织培养及试管快繁	232
第五节	人参组织和细胞培养及在药物生产上的应用	238
第六节	其它几种重要药用植物的试管快繁	242
第七章	农作物试管快繁和脱毒	247
第一节	马铃薯脱毒及试管快繁	247
第二节	甘薯的试管快繁及脱毒	259
第三节	良种甘蔗的离体快速繁殖	265
第四节	其他经济作物、工业原料及杀虫植物等的试管快繁	271
第八章	蔬菜组织培养及试管快繁	283
第一节	蔬菜组织培养及微繁的意义	283
第二节	石刁柏组织培养及试管快繁	283
第三节	大蒜的脱毒及试管快繁	287
第四节	其他蔬菜的组织培养及试管快繁	291
第九章	试管苗商业化生产及经营	293
第一节	试管苗商业化生产的工艺流程	293
第二节	试管快繁的成本	296
第三节	降低成本、提高效益的措施	300
第四节	试管苗生产的经营及管理	304
第十章	植物组织培养的其他应用及前景	306
第一节	植物组织培养与育种	306
第二节	植物组织培养与种质保存	313
第三节	植物组织培养与次生代谢	318
参考文献		319

第一章 绪论及国内外微繁概况

第一节 绪论

一、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,培养在人工配制的培养基上,给予适当的培养条件,使其长成完整的植株,统称为植物组织培养。由于培养的是脱离植物母体的培养物,在试管内培养,所以也叫离体培养(Culture in vitro)或试管培养(In test-tube culture)。根据被切除的植物体来源不同和培养对象不同又可分为:培养幼苗或较大的植物体,叫植物培养;培养成熟以及未成熟的离体胚,叫胚胎培养;培养植物的根尖、茎尖、叶片、茎段、花器各部分、果实叫器官培养;培养分散的细胞或小的细胞团称细胞培养;培养去除细胞壁、裸露的原生质体叫原生质体培养。一般讲培养什么器官叫什么培养。还可根据培养目的来分:有试管嫁接、试管受精、试管加倍、试管育种等等。依据培养方法来分又有平板培养、微室培养、悬浮培养、单细胞培养等。培养植物体或一部分器官、组织、细胞、细胞器,在人工控制条件下,使其按照人们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,为人类造福。我们学习植物组织培养原理和技术就是为了掌握这门学科,为生产实践服务,为发展我国经济建设和实现四个现代化服务。

二、植物组织培养发展简史及当前研究动向

(一)植物组织培养发展简史:

1. 萌芽阶段(本世纪初至 30 年代中):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,限于当时的技术和水平,培养未能成功。但它对植物组织培养发展起了先导作用,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,能进行有限地生长。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(30 年代末到 50 年代中) 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 1 600 代仍能生长。利用根系培养物,研究了光、温、pH、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的重要性。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

第一章 绪论及国内外微繁概况

第一节 绪论

一、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,培养在人工配制的培养基上,给予适当的培养条件,使其长成完整的植株,统称为植物组织培养。由于培养的是脱离植物母体的培养物,在试管内培养,所以也叫离体培养(Culture in vitro)或试管培养(In test-tube culture)。根据被切除的植物体来源不同和培养对象不同又可分为:培养幼苗或较大的植物体,叫植物培养;培养成熟以及未成熟的离体胚,叫胚胎培养;培养植物的根尖、茎尖、叶片、茎段、花器各部分、果实叫器官培养;培养分散的细胞或小的细胞团称细胞培养;培养去除细胞壁、裸露的原生质体叫原生质体培养。一般讲培养什么器官叫什么培养。还可根据培养目的来分:有试管嫁接、试管受精、试管加倍、试管育种等等。依据培养方法来分又有平板培养、微室培养、悬浮培养、单细胞培养等。培养植物体或一部分器官、组织、细胞、细胞器,在人工控制条件下,使其按照人们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,为人类造福。我们学习植物组织培养原理和技术就是为了掌握这门学科,为生产实践服务,为发展我国经济建设和实现四个现代化服务。

二、植物组织培养发展简史及当前研究动向

(一)植物组织培养发展简史:

1. 萌芽阶段(本世纪初至 30 年代中): 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,限于当时的技术和水平,培养未能成功。但它对植物组织培养发展起了先导作用,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,能进行有限地生长。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(30 年代末到 50 年代中) 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 1 600 代仍能生长。利用根系培养物,研究了光、温、pH、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的重要性。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 Overbeek 等在基本培养基上附加椰乳(CM),使曼陀罗的心形期的胚离体培养能成熟。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 和我国学者崔滋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/IAA 比例是根和芽形成的控制条件。1955年 Miller 等发现了激动素,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(50 年代末至今):一般讲近几十年植物组织培养得到了迅速的发展,已广泛应用于生物学和农业科学,在生产上发挥了很大作用,即指这一阶段。

1958 年英国人 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 的愿望实现了,也证明了植物细胞的全能性。这是植物组织培养的第一个突破,它对植物组织和细胞培养产生了深远的影响。

1960 年英国人 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工作,这是植物组织培养的第二个突破。

1960 年 Morel 培养兰花的茎尖,可以脱除病毒并能快速繁殖兰花。其后国际上相继建立了兰花工业,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 Guha 和 Mabeshwari 成功地从曼陀罗花药培养成花粉单倍体植株,从而促进了植物花药单倍体育种技术的发展。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、相互促进的结果。

60 年代初,世界上只有十多个国家少数实验室从事植物组织培养;到 70 年代已发展到众多国家和实验室;到 90 年代已基本遍及世界各国,不论是发达国家还是发展中国家,几乎所有大学、研究机构、农林单位差不多都有人在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 年全国有组培室和商业性组培室 192 个,总面积 14 万平方米,每年生产试管苗 2 000 万株,仅 1991 年 1 年发表此方面的文章就超过 1 000 篇。

60 年代由于植物组织培养的迅速发展,于 1973 年在英国成立了国际植物组织培养协会(IAPTC),至今已召开过八次国际会议,论文和人数一期比一期增加。有关方面专著或丛书出版较多。如印度学者 Bajaj 主编的《农林生物技术》丛书(Biotechnology in Agriculture and Forstry)已出版 30 多卷。《植物细胞培养手册》(Handbook of Plant Cell Culture)也已出版 6 卷。国际《植物细胞、组织和器官培养》专业杂志(Plant Cell, Tissue and Organ Culture)也发行了 35 卷。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 4 100 余篇。

我国植物组织培养研究工作开展也较早。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。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来,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、委、厅局级科技成果奖。中科院植物研究所朱至

清创制的 N6 培养基获国家发明二等奖。国家“六五”、“七五”、“八五”和“九五”都把生物技术列为国家重点攻关项目。

70 年代以来,我国学者结合自己的工作 and 国内外进展出版了不少专著和译著。《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);《园艺植物组织培养》(裴文达,1986);《木本植物组织培养及其应用》(陈正华主编,1986),1991 年该书被国外全部翻译成英文以《Handbook of Plant Cell Culture》Vo. 6 木本植物组培专集形式出版;《植物生物技术》(陈维伦、陶国清等编著,1987);《果树组织培养》(陈振光,1987);《经济植物组织培养》(罗士韦,许智宏主编,1988);《植物组织培养手册》(颜昌敬,1989);《植物组织培养及其应用丛书》(陈正华主编,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);《农作物组织培养》(颜昌敬,1992);《观赏植物组织培养》(谭文澄,1992);《植物组织培养技术教程》(李浚明,1992)。我国《植物生理学通讯》杂志开辟有植物组织培养简报专栏,每期均有近 10 篇文章和简报发表。现今我国综合大学、师范院校生物系、农林院校有关专业都开设植物组织培养课,培养这方面的专门技术人才。

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。

(二)当前植物组织培养的研究动向

1. 脱毒及离体快繁:这是目前植物组织培养应用最多、最广泛和最有效的一个方面。主要进行茎尖培养以脱除病毒。对于脱毒苗、新育成、新引进、稀缺良种、优良单株、濒危植物和基因工程植株等都可通过离体快速繁殖,同时可不受地区、气候的影响,比常规方法快数万倍到数百万倍的速度扩大繁殖,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 1 000 亿个小苗,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苗木的工厂和数 10 万苗木的商业性实验室及组培作坊。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种薯已在马铃薯生产国广泛应用,根本上解决了马铃薯品种的退化问题。现今观赏植物、园艺作物、经济林木、无性繁殖作物等部分或大部分用离体快繁提供苗木。试管苗已出现在国际市场上并产业化。

2. 花药培养和细胞育种:自从 Guha 和 Maheshwari 首次从植物花药培养出花粉植株以来,目前世界上已有 260 多种植物成功地获得了花粉植株。通过花药培养,以加速后代纯合、快速组合多种性状、缩短育种进程、简化选育程序已育成一大批高产优质品种在生产中得到应用。仅我国在水稻上选育的品种就达 60 多个,小麦 20 多个,推广面积已达数百万亩(胡含,1990)。又如通过体细胞无性系变异、突变体选育,已培育出有利用价值的特殊品种或材料(赵成章,1990)。其他如胚培养技术等,可拯救杂种胚,获得一些有用的材料或品系,已取得了明显效果。如此种种,都表明植物组织培养应用于育种实践会建立起新的育种系统,加速植物育种的进程。

3. 原生质体培养和细胞杂交:自 Cocking 用酶法脱除植物细胞壁以来,至今已有 250 多种高等植物原生质体培养再生植株,对于实现远缘细胞杂交和外源基因导入奠定了基础。1972 年 Carlson 首先报道了属间体细胞杂交成功,到目前已有数十种属间体细胞杂种和几例科间体细胞杂交成功的报道。但直到目前这些杂种尚无实际应用价值,有待努力。

4. 次生代谢产物的生产:利用植物组织或细胞大规模培养,以合成人类需要的天然有机物,已取得令人振奋的进展。培养植物细胞像培养微生物那样大量生产微生物所不能合成的产物,如药用植物中的有效成分,香料植物中的香精,以及工业生产中需要的一些次生代谢产物和初生代谢产物,有些已投入工业化生产,预计今后将有更大的发展。

5. 植物种质资源的保存和交换:植物资源及其保存有两大难题,一是遗传资源日趋枯竭,造成有益基因的丧失;二是常规田间保存耗资巨大,且往往达不到万无一失的目的。利用植物组织和细胞低温离体保存种质,可大大节约人力、物力和土地,同时也便于种质交换和转移,防止病虫害的人为传播。

植物细胞和组织培养技术是生物技术的重要组成部分,基因工程、遗传转化都必须反应到整株水平才能利用。故这些研究也必须与植物细胞和组织培养相结合才能展现宏伟的前途。

植物组织和细胞培养,又给遗传学、细胞学、植物生理生化、病理学等研究提供了条件和方

法。

总之,植物组织培养是一门年轻而富有生命力的科学,它已取得了举世瞩目的进展,相信,今后会对生物学、遗传学、植物育种学,以及农业、工业生产带来巨大的影响。

第二节 离体快繁的意义及国内外微繁概况

一、植物离体快繁的意义

植物离体快繁又叫微型繁殖(Micropropagation)或试管繁殖,它是把植物材料放在试管内,给予人工培养基和合适培养条件,达到高速增殖,属离体无性繁殖。它的特点是“快速繁殖”,每年以千百万倍的速度繁殖其后代,比常规繁殖方法快万倍到数10万倍。它有以下几个方面的应用:

- (1)良种快繁:新育成的、新引进的、新发现的稀缺良种的快繁;
- (2)少量脱毒良种苗的快繁和无病毒苗的大量快繁;
- (3)特殊育种材料的快繁;
- (4)制种材料的快速繁殖;
- (5)基因工程植株的快繁;
- (6)自然和人工诱变有用突变体的快繁;
- (7)离体保存种质的快繁;
- (8)濒危植物的离体快繁;

二、国内外发展概况

(一) 世界微繁概况

精确统计世界各国植物微繁单位和微繁数量十分困难,一是植物微繁带有商业性质,从事者不愿公开。二是范围广、分布多、难以收集。三是所收集资料也不统一,造成总结困难。最近 Debergh 和 Zimmerman 主编的《Micropropagation》一书,对世界各国情况做了大致介绍,加上

我们收集到的一些资料做一归纳,对世界植物组织培养实验室数量和微繁类型、植株数量现状,有了一个大致了解,结果见表 1-2-1 至 1-2-8

表 1-2-1: 欧洲微繁情况(1988 年)

国家	实验室数量	数量($\times 10^6$)
荷兰	67	61.5
法国	22	40.5
意大利	32	29.9
比利时	16	23.9
英国	18	21.0
西德+东德	21+19	11.5+44.0
西班牙	27	7.4
爱尔兰	4.3	
芬兰	4	3.8
瑞士	4	3.0
丹麦	9	2.3
希腊	4	1.8
瑞典	4	0.6
挪威	2	0.2
葡萄牙	5	0.0
波兰	120	15.0
保加利亚	1.4	
匈牙利	119~132	60.0
前苏联	39	
合计	535~548	527.3

(Pierik, 1991; Hempel 和 Debergh, 1991)

美洲

表 1-2-3 北美的微繁情况

时间	类型	数量($\times 10^6$)
1985	观赏植物	32.5
1984	果树	1.2
	蔬菜很少	

(Zimmerman 和 Barnhill, 1991)

表 1-2-2: 西欧 15 个国家的微繁情况(1988)

类型	植株数量
1. 盆花	92 337 417
2. 切花	37 840 557
3. 果树	19 427 600
4. 观赏球根类	13 161 960
5. 小果树	9 351 525
6. 兰花	5 287 990
7. 观赏树木/灌木	3 889 290
8. 一年生花园草本	2 976 050
9. 农作物	2 415 500
10. 各种观赏植物	1 943 528
11. 蔬菜	1 377 825
12. 树木(森林)	1 289 500
13. 草本	30 000
14. 其它	21 132 000
合计	212 460 742

(Pierik, 1991)

表 1-2-4 澳大利亚和新西兰的微繁情况

国家	实验室数量	年生产数量($\times 10^6$)
澳大利亚		
+	84	20.87~27.44
新西兰		

(Barlass, 1991)

表 1-2-5 拉丁美洲和加勒比海

国家实验室数量

国家	数量
阿根廷	20
玻利维亚	2
巴巴多斯	1
巴西	22
智利	6
哥伦比亚	7
哥斯达黎加	5
古巴	1
多米尼加	1
厄瓜多尔	4
瓜德罗普	1
危地马拉	2
洪都拉斯	1
墨西哥	8
巴拿马	1
秘鲁	6
多米尼加共和国	1
萨尔瓦多	1
特立尼达和多巴哥	1
委内瑞拉	3
合 计	94

(Harndro 和 Chaverra, 1991)

亚洲

表 1-2-7 1988 年亚洲一些国家商业
实验室数量及生产情况

国家	商业实验室 数量	生产数量 (百万)
不丹	1	0.1~0.2
印度	4	4.0~5.0
印度尼西亚	8	3.0~6.0
日本(本土)	30	(10)
(冲绳)	3	0.5~1
韩国(1993 年)*	190	11.01
马来西亚	8	6~8
尼泊尔	1	0.1~0.5
菲律宾	2	0.5~1.0
新加坡	4	3~4
斯里兰卡	1	2~4
中国台湾	(5)	1~2
泰国	18	35
合 计	105(145)	65.2~86.7 (平均=76)

表 1-2-6 非洲国家组织培养现状

国家	实验室数量	生产数量(百万)
博茨瓦纳	1	
布隆迪	2	
喀麦隆	1	
佛得角	1	
刚果	1	
科特迪瓦	1	
埃及	7	1.2
加蓬	1	
加纳	3	
肯尼亚	3	0.05
马达加斯加	1	
摩洛哥	4	0.04
尼日利亚	5	0.09
塞内加尔	1	
苏丹	1	
斯威士兰	1	
多哥	1	
突尼斯	3	
乌干达	1	
赞比亚	1	
津巴布韦	2	0.01
合 计	42	1.39

(Havak, 1991)

表 1-2-8 一些亚洲国家组织培养生产的
主要苗木(1987~1988 年)

主要苗木	数量 (百万)	%	未来趋势
观叶植物	7.0	9	中速增长
兰花	44.0	60	停滞/缓慢增长
热带花卉	忽略	忽略	缓慢增长
温带花卉	13	17	中速增长
果树	5	8	显著增长
调味品	1.0	1	中速增长
农作物	4.0	5	缓慢增长
森林	忽略	忽略	中速增长
合 计	74.0	100	

(Gavinlertana 和 Prutpougse, 1991)

* (Keep-Yoeup Paek 等, 1993)

从欧洲 20 个国家所收集到的 628~642 个植物组织培养室。通过微繁,1989 年生产的各类苗木 2.5 亿株,主要繁殖的是花卉和果树(表 1-2-1,1-2-2)。微繁数量最大的国家是荷兰,其次是法国、意大利、比利时和英国。

美洲各国,主要是美国有 100 多个微繁实验室,一年生产 1.57 亿株(表 1-2-1,1-2-2)。南美洲国家有 94 个商业性实验室,一年生产各类植物试管苗,创产值 8 100 万美元,主要从事香蕉、草莓、马铃薯脱毒种苗种薯的生产。其次为观赏植物(表 1-2-3,1-2-5)。

亚洲一些国家有商业性实验室 275 个,一年生产试管苗 6 500~9 000 万株,主要是兰花、观叶植物和温带花卉,其次是果树和无性繁殖农作物。最多的是韩国、日本,其次为印度尼西亚、马来西亚、印度(表 1-2-7,1-2-8)。

大洋洲中仅统计了澳大利亚和新西兰,有 84 个商业性实验室。年产 2 000 万试管苗,主要是果树、无性繁殖的农作物、林木和观赏植物(表 1-2-4)。

在不发达非洲地区,统计了 23 个非洲国家,计有 42 个商业性组织培养室,其中有 80% 是研究微型繁殖,生产了 1.4×10^6 株试管苗。主要是无性繁殖农作物、马铃薯、木薯、甘蔗,其次为香蕉。

纵观世界五大洲,在发达国家建立的植物组织培养实验室较多,其中大部分是从事商业性快繁的,而且主要进行快繁的是盆花、切花、兰花等观赏植物,其次是果树。而发展中国家大部分从事育种研究,少量繁殖无性繁殖的农作物。发达国家今后植物组织培养实验室数量将会减少,而规模将会扩大,试管苗将会逐年增高,预计将以每年 7%~8% 速度增加。而发展中国家将日趋扩大,并把它看作是发展农业生产的一个重要手段,将以更快的速度发展。

(二)国内组织培养及微繁概况

我国是一个人口大国,也是一个发展中国家。党和国家十分重视发展农业生产,也把生物技术列入“八大”高新技术。目前从事植物组织培养人员和实验室面积居世界第一。估计全国有 2 500~3 000 个单位和个人在从事植物组织培养工作,人数约 1.5~2 万人,其中大部分是研究植株再生和繁殖的或与育种相结合,相当部分是进行开发利用和从事商业性生产。

据陈维伦(1990)的统计,我国进行组织培养和试管繁殖的植物种类:木本计有 150 种,花卉 139 种,药用植物 53 种,园艺植物(果树和蔬菜)29 种,草本小果 9 种,谷类和豆类 44 种,其他 16 种,总计 445 种。具有一定规模的大约已有 50~60 余种,年生产种苗种薯在 5 000~8 000 万株。表 1-3-1 是我国部分单位微繁植物种类及数量。

目前,我国从事植物组织培养研究和开发,还未进行详细的调查,故不能进行较准确的统计和分析。根据各地报道和了解,开展最多的省是广东有 200 多个、广西、四川 150 个、江苏、湖南 120 个;山东、河北、辽宁各约 100 个,甘肃 74 个,最少是西藏、青海。从植物种类来看,果树、花卉、林木、无性繁殖作物。从单项植物来看是盆花、其次为切花、香蕉、苹果、枣、马铃薯、甘蔗、葡萄。

我国植物微繁技术虽有一定成效,但发展不大,效益不高,究其原因有:

(1) 市场问题。生产急需的良种,经试管繁殖大量苗木后,销售不出去,故不能大力发展,如一个时期的酿酒葡萄。

(2) 成本问题。试管繁殖成本高,但售价低,无利润可言,而不能大力繁殖,如草莓、杨树等。

表 1-3-1 国内试管规模化和商业化生产的植物种类及数

植 物 种 类	单 位 或 部 门	数量(万株)	时 间	
香 蕉	华 南 植 物 所	1500	1986~1991	
兰 花	兰 州 兰 花 研 究 所	270	1985~1996	
草 莓	北 京 果 林 所 等	300~800	1987	
金 线 莲 (<i>Anoectochinus formosanus</i> L.)	中 国 台 北	600	1988~1993	
枣 苹 果 枣 等	北 京 林 业 大 学 等	300	1990~1995	
鸣 山 大 枣	甘 肃 农 业 大 学 等	30	1990~1995	
苹 果 + 砧 木	兴 城 果 树 所	400	1985~1995	
	河 北 农 业 大 学	300	1987	
甘 蔗	广 西	300	1989	
枸 杞	宁 夏 林 科 所	400	1987~1993	
杨 树	中 国 华 北	100	1990	
木 薯	广 东	80	1993	
山 葡 萄	延 边 农 学 院	60	1989	
欧 洲 樱 桃	山 东 烟 台 微 繁 中 心	50	1983~1993	
珠 美 海 棠 (<i>Malus zumi</i>)	天 津 农 学 院	50	1990~1995	
枇 杷	等	福 建 农 科 院	30	1992
菠 萝	福 建 热 作 所	20	1992	
葡 萄	甘 肃 农 业 大 学	15~20	1985~1995	
月 季	江 苏 林 科 所	4.5	1985	
苧 麻	广 西 农 科 院 等	6.4	1992	
非 洲 菊	上 海 园 林 科 研 所	2	1988	
软 籽 石 榴	杨 其 光 等	2	1991	
唐 菖 蒲	沈 阳 市 园 林 科 研 所	1	1990	
马 铃 薯	中 国	400 *	1990	
甘 薯	山 东 农 科 院 等	30 *	1994	

*: 数量为万亩

(3) 技术问题。有些植物组培试验再生苗成功,生产也非常需要,但不能做到批量生产,如牡丹、大蒜。

(4) 管理问题。试管繁殖技术成熟,市场也好,但管理不善,无效益。

(5) 人员问题。微繁技术要求要有训练有素的技术人员参加,但有些人员素质差,出了问题不能解决,繁殖效率不高或生产低劣苗。

(6) 试验问题。有些植物能大批试管繁殖,但未取得生产应用的许可,不敢大量繁殖,如桃、樱桃品种试管苗。

(曹孜义)