

花卉 克隆与栽培

齐树亭 江 莎 编著



中国农业科学技术出版社

花卉克隆与栽培

齐树亭 江 莎 编著

中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

花卉克隆与栽培/齐树亭, 江莎编著. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.1

ISBN 7-80167-610-6

I. 花… II. ①齐…②江… III. 花卉—观赏园艺
IV. S68

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 126313 号

责任编辑
电 话
出版发行
经 销
印 刷
开 本
印 数
版 次
定 价

鱼淑胜 李 芸

(010) 62145303

中国农业科学技术出版社 邮编: 100081

新华书店北京发行所

北京奥隆印刷厂

850mm×1168mm 1/32 印张: 6

1~6 000 册 字数: 142 千字

2004 年 1 月第 1 版, 2004 年 1 月第 1 次印刷

12.00 元

前 言

中国人民自古以来就有着爱花、养花的传统习惯，我国更是一个资源丰富、品种繁多的花卉大国。长期以来，由于受花卉品种生物特性的限制，一些名贵优良的花卉品种繁殖缓慢、品质下降、性能退化，甚至有些名贵品种已濒临灭绝。对此，广大科技人员和花卉苗木爱好者付出了极大的努力，特别是20世纪80年代以来，随着植物克隆技术的火热发展，给我国花卉的发展注入了莫大的生机。

近20多年来，我国广大科技工作者在花卉克隆方面做了大量卓有成效的工作，不仅推动了我国花卉业的飞速发展，也给花卉的生产者们带来了丰厚的利润。同时，把我们伟大的祖国打扮得更加绚丽多彩！

为了拉近花卉克隆和花卉生产者、花卉爱好者的距离，使植物克隆这一高新技术更好地为花卉生产服务，我和南开大学的江莎博士对多年来的资料进行了认真梳理，对几十年的实践经验进行了必要的回顾和总结；在此基础上编著了这本《花卉克隆与栽培》。本书立足于花卉的克隆与栽培相结合，力图解决花卉克隆与栽培之间脱节的问题。全书深入浅出、言简意赅、通俗易懂、可操作性强，使人一看就懂，一学就会。希望能为我国花卉业的繁荣和发展有所贡献。

在本书的编辑、资料整理和多年的实验工作中，得到了中国农业大学、中国农业科学院、南开大学、华中农业大学、北方园艺公司、绿萌园艺公司的大力支持和协助；得到了曹孜义教授、程广友博士、徐晔春先生、苏艳霞、齐立学以及我和江莎老师的同事、助手的大力支持、帮助和指导，并吸取了书后“参考文献”中列举的许多作者的科研成果，在此谨致以诚挚的谢意！

鉴于编著者的学识和水平有限，错误和不足之处在所难免，恳请广大读者批评指正。

齐树亭

2003年11月于天津

目 录

第一章 绪论	(1)
第一节 花卉克隆的概念	(1)
第二节 花卉克隆的意义	(1)
第三节 花卉克隆的机理	(3)
第四节 花卉克隆的历史及现状	(3)
第二章 花卉克隆的设施、设备与技术	(5)
第一节 实验室的结构	(5)
第二节 仪器设备	(7)
第三节 培养用具	(9)
第四节 药品与试剂	(10)
第五节 操作技术	(14)
第三章 培养基及其制备	(18)
第一节 培养基的主要成分	(18)
第二节 培养基的选择	(29)
第三节 培养基的配制	(42)
第四节 培养基的分装、灭菌和保存	(46)
第四章 花卉克隆的程序	(53)
第一节 外植体的选择及处理	(53)
第二节 表面消毒及无菌操作	(55)
第三节 花卉克隆苗的培养	(58)
第四节 克隆苗的驯化和移栽	(60)
第五章 花卉克隆方案的制定	(63)

第一节 怎样制定花卉克隆生产方案	(63)
第二节 花卉克隆成本核算及方法	(65)
第三节 花卉克隆的效益分析	(67)
第四节 花卉克隆中的注意事项	(68)
第六章 花卉的克隆与栽培技术	(72)
第一节 中国十大名花的克隆与栽培	(72)
一、牡丹 (<i>Paeonia suffruticosa</i>)	(72)
二、月季 (<i>Rosa chinensis</i>)	(76)
三、梅花 (<i>Prunus mume</i>)	(81)
四、菊花 (<i>Dendranthema morifolium</i>)	(85)
五、杜鹃 (<i>Rhododendron simsii</i>)	(88)
六、兰花 (<i>Cymbidium goeringii</i>)	(93)
七、山茶花 (<i>Camellia japonica</i>)	(95)
八、荷花 (<i>Nelumbo nucifera</i>)	(98)
九、桂花 (<i>Osmanthus fragrans</i>)	(103)
十、水仙 (<i>Narcissus tazetta</i> var. <i>chinensis</i>)	(106)
第二节 30种名优花卉的克隆与栽培	(110)
1. 大花蕙兰 (<i>C. faberi</i>)	(110)
2. 蝴蝶兰 (<i>Phalaenopsis gigantea</i>)	(112)
3. 文心兰 (<i>Oncidium</i>)	(113)
4. 大丽花 (<i>Dahlia pinnata</i>)	(115)
5. 非洲菊 (<i>Gerbera jamesonii</i>)	(117)
6. 万寿菊 (<i>Tagetes erecta</i>)	(119)
7. 郁金香 (<i>Tulipa gesneriana</i>)	(120)
8. 百合 (<i>Lilium</i>)	(122)
9. 风信子 (<i>Hyacinthus orientalis</i>)	(124)
10. 绿巨人 (<i>S. kochii</i>)	(125)

11. 马蹄莲 (<i>Zantedeschia aethiopica</i>)	(127)
12. 花叶芋 (<i>Caladium</i>)	(128)
13. 君子兰 (<i>Clivia miniata</i>)	(130)
14. 朱顶红 (<i>Amaryllis vittata</i>)	(132)
15. 康乃馨 (<i>Dianthus caryophyllus</i>)	(133)
16. 满天星 (<i>Gypsophila elegans</i>)	(135)
17. 非洲紫罗兰 (<i>Saintpaulia ionatha</i>)	(137)
18. 大岩桐 (<i>Sinningia speciosa</i>)	(139)
19. 鹤望兰 (<i>Strelitzia reginae</i>)	(141)
20. 矮牵牛 (<i>Petunia hybrida</i>)	(143)
21. 紫薇 (<i>Lagerstroemia indica</i>)	(145)
22. 榆叶梅 (<i>Prunus triloba</i>)	(146)
23. 唐菖蒲 (<i>Gladiolus hybridus</i>)	(148)
24. 金鱼草 (<i>Antirrhinum majus</i>)	(149)
25. 一串红 (<i>Salvia splendens</i>)	(151)
26. 长寿花 (<i>Varcissus jonquilla</i>)	(153)
27. 一品红 (<i>Euphorbia pulcherrima</i>)	(154)
28. 长春花 (<i>Catharanthus roseus</i>)	(156)
29. 天竺葵 (<i>Pelargonium hortorum</i>)	(158)
30. 仙客来 (<i>Cyclamen persicum</i>)	(160)
第三节 86 种常见花卉的克隆技术	(162)
附录 1 世界各国国花一览	(168)
附录 2 中国城市市花一览	(171)
附录 3 名优花卉的自然开花期	(174)
附录 4 常用生长调节剂摩尔质量与毫克/升的换算	(176)
附录 5 本书及常见的英文缩写词意	(177)
参 考 文 献	(178)

第一章 绪 论

第一节 花卉克隆的概念

花，即为种子植物的生殖器官。由花托、花萼、花冠、雌蕊群和雄蕊群组成；卉是草的总称；花卉是指可供观赏的花草。克隆（cloning）一词源于希腊语中的 clonos，意思是嫩枝经插条生成幼苗。英文 clone 就引用了这个意思，而克隆则是英文 clone 的音译，意译时用作名词为无性繁殖系，即单个细胞无性繁殖的细胞群体；用作动词即形成无性繁殖系的过程或方法。花卉克隆是指在无菌条件下，将离体的花卉器官（根、茎、叶、花、果实、种子等）、组织（形成层、花药组织、胚乳、皮层等）、细胞（体细胞、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，使其长成完整的花卉植株。

第二节 花卉克隆的意义

1. 珍稀品种的商品化生产

按照传统的眼光，一提到珍稀花卉品种就和价格昂贵联系在一起，可自从有了克隆技术这个概念就得到了改变。不论花卉品种珍贵到什么程度，我们只要有一个活细胞的资源，在短时间内就可以组织大规模商业化生产。繁荣我国的花卉市场，平抑市场名贵花卉品种价格，让珍稀花卉品种走进寻常百姓的家庭。

2. 保持母本的优良性状

花卉克隆属于无性繁殖，可以保持母本的优良性状，避免有性繁殖而导致的品种退化。克隆苗没有童年期，具有明显的早产性，可以使花卉花朵变大，提早开花，提前上市，无疑会给生产者带来巨额利润。

3. 避免病害，培育无毒苗

采用埋条、扦插、嫁接、分株等营养器官繁殖的花卉，都有可能携带一种或多种病毒，对花卉的生长和产品质量都会产生不良影响。尤其是多代繁殖以后，导致病毒积累，危害加重，使花卉的观赏性逐年下降。而克隆苗则不然，可以利用微茎尖培养，获得无毒苗，使植株生长强劲，抗逆能力增强，花朵变大，色泽鲜艳，产量提高。

4. 有利于培养新品种

在花卉克隆时，便于安排各种理化诱变因子，克服不亲和性和杂交胚的早期败育，利用花药、花粉培育单倍体植株，便于体细胞融合，远缘杂交等培育新品种。此外，花卉在克隆过程中容易发生芽变现象，例如花色变异、花期变异、叶色变异、花的大小变异、染色体数量变异等而产生有特殊观赏价值的新品种。

5. 便于种质资源的保存

种质资源是培育新品种的主要亲本来源之一，而保存种质资源是育种和有关科研单位必须做的一项十分重要的基础工作。过去传统的保存方法，需要大量的实验地、昂贵的维持费和巨大的工作量。据载，要保存 800 个葡萄的品种种质，需占地 15 亩和昂贵的维持费，如利用试管组培保存，每个品种重复 6 次，只需几平方米的场所即可。

第三节 花卉克隆的机理

植物细胞只要具有一个完整的膜系统和一个有生命力的细胞核，就具有恢复到分生状态和能产生一个完整植株的能力，包括已经高度成熟和分化的细胞。一个植物细胞能产生一个完整植株的固有能称之为细胞的全能性 (totipotency)。用来进行花卉克隆的所有器官、组织、细胞等植物材料统称为外植体 (explant)。一个外植体通常包含着各种不同类型的细胞，即每个细胞具有明确的分工，也就是处于分化状态。一个成熟 (分化状态) 的细胞转变为分生状态并生成一团无序的愈伤组织 (高度液泡化，呈无定形态的薄壁细胞 callus) 的现象叫做脱分化 (dedifferentiation)。由愈伤组织再形成植株器官或完整植株的过程称为再分化 (redifferentiation)。

一个已分化细胞要表现其全能性，首先要经过脱分化过程，然后再经过再分化过程。在这些过程中激素的作用是不可缺少的。常用的激素类型有细胞分裂素和细胞生长素两大类，细胞分裂素浓度高时，诱导芽的分化，细胞生长素浓度高时，诱导愈伤组织和根的形成。

细胞的全能性是指植物细胞具有全套遗传信息，不管是性细胞还是体细胞，在特定条件下仍能进行表达，而产生一个独立完整的个体。植物细胞的全能性是花卉克隆再生完整植株的理论基础。

第四节 花卉克隆的历史及现状

目前，花卉克隆开展得红红火火，但其发展历史只不过一个

世纪的时间。20 世纪初，在 Schleiden 和 Schwann 细胞学说的推动下，德国植物生理学家 Haberlandt 提出了高等植物可以不断分割，直至分到单个细胞的观点。他在加入了蔗糖的 Knop 溶液中培养单个离体细胞，供试材料是凤眼兰的栅栏组织和虎眼万年青属植物的表皮细胞等。遗憾的是他只看到了细胞的生长，而没有看到细胞的分裂。

自 Haberlandt 的实验以后，美国的 Robbins、德国的 Kotte、Laibach (1925, 1929 年)、Khite (1934 年)、White 和 Gautheret (1934—1939 年)、Nobecourt (1939 年)、Overbeek (1941 年) Skoog (1944 年) 都有过类似的逐步成熟、逐渐成功的实验报道。

1952 年，Morel 和 Martin 首次证实，通过茎尖分生组织的离体培养，可以由已受病毒侵染的大丽花中获得无毒植株。1953—1954 年，Muir 选用万寿菊进行单细胞培养获得成功；从而揭示了实现 Haberlandt 培养单细胞这一设想的可能性。1955 年 Miller 发现了细胞分裂素，后来 Murahige 把它广泛地应用到花卉的快速繁殖上。

到 20 世纪 60 年代初期，全世界还只有十几个国家的少数实验室从事这方面的研究，可到了 70 年代就扩展到了地球的各个角落。

我国在新中国建立以前，曾有一些专家学者在国外做过这方面的研究。新中国成立以后，海外学子纷纷回国，带回了国际上当时最新的研究成果，促进了我国花卉克隆事业的发展。1973 年建立了剑兰和秋兰的无性繁殖系并有部分在试管内开花。到了 80 年代及以后时期，花卉的克隆进入了工厂化生产阶段。全国各个大城市纷纷成立了各种花卉园艺公司，开始了大规模克隆名优花卉，供应全国花卉市场的历史进程。

第二章 花卉克隆的设施、设备与技术

第一节 实验室的结构

花卉克隆是在无菌条件下进行的，为了防止杂菌的污染，结构设计必须合理，各个房间合理布局，专房专用，不然在程序转换时很容易造成不必要的污染。按照实际需要应该有准备室、缓冲间、无菌操作室、培养室、驯化室、温室等。其中准备室、缓冲间、无菌操作室和培养室应该是一体的，而且室内必须是相通的（如示意图 2.1）。如果组织规模化生产，还要另有接续的大棚、生产用地等设施。

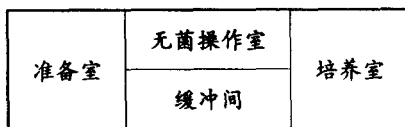


图 2.1 花卉克隆实验室布局示意图

1. 准备室

准备室要求 20 平方米左右，采光、通风条件良好，水源、电源要有保证，上下水设施齐全配套。准备室的任务很繁重，要完成器皿洗涤、培养基配制、分装、包扎、高压灭菌等环节。室内的主要设备有药品储藏设备、高压灭菌设备、加热设备、洗涤设备、称量设备、大型工作台、玻璃器皿以及其他实验用品。

2. 缓冲间

缓冲间的面积要求不严格，一般 3—6 平方米即可。其功能是在这里洗手、更换经过灭菌的工作服、工作帽、拖鞋，戴上口罩等。缓冲间内要安装一个洗手池，上面安装一个小搁架，用来放置烧杯、采回的材料等物。墙上设衣帽钩，门边摆放一小拖鞋架（柜、箱都行）。

3. 无菌操作室

无菌操作室也叫接种室，是进行无菌工作的场所。无菌操作室要精细密封，干爽安静、清洁明亮，面积宜小不宜大，一般在 10—20 平方米即可，要视生产规模和超净工作台的数量而定。室内要安装空调器和紫外灭菌灯，室内温度要求保持在 25—26 摄氏度和无菌（或低度有菌）状态。无菌操作室的窗户要用双层密封玻璃窗，门要安装推拉门，以减少空气的扰动。

无菌操作室是花卉克隆最关键的部位。它关系到克隆物的污染率、接种工作的效率等重要指标。要求地面、墙壁、天花板光洁，不易积染灰尘，易于采取各种消毒和清洁措施。室内除放置无菌操作台、操作工具、消毒药品和有关用品外，其他用品一律不准放入无菌室内。

4. 培养室

培养室的规模差异很大，必须根据培养规模来确定。培养室最应该注意的有两条；一是温度控制，二是防止杂菌污染。

5. 驯化室

当试管苗长出一定量的不定根，根长在 0.5—1 厘米时，应该及时移栽驯化。驯化室除具备温室的条件外，还应该具备清洁无菌的要求。此外，还应该配备空调器、加湿器、恒湿恒温控制仪、喷雾器、光照调节装置、通风装置以及必要的杀虫剂、杀菌剂等。

6. 温室

生产单位为了保证克隆苗的周年生产，必须有足够面积的温室与之配套。温室的种类很多，应该根据当地的环境温度条件采用合适的类型，例如寿光的琴弦式温室、永年式温室、海城式温室等，只要能达到一年四季能正常生产的目的即可。

第二节 仪器设备

在花卉克隆过程中，根据所克隆的花卉的种类、生产规模，选择合适的仪器、设备、设施是十分必要的，但要根据实际需要量力而行，在其实用性上下功夫，不要贪大求洋、贪大求全。在研究型的花卉克隆中，往往对仪器设备要求比较严格，而对生产型的花卉克隆来说，对仪器设备的要求相对要粗放一些。因此，管理者应该严格把关。

在花卉克隆中需要的主要仪器设备有：

1. 超净工作台 是一种局部空气净化设备，一般由鼓风、过滤、照明、灭菌和操作台等部分组成。其工作原理是室内空气经预过滤后，由小型离心风机压入静压箱内，再经高效空气过滤器过滤，洁净的空气器形成屏障式气流，不断排除工作区原来的空气，从而形成高洁净的工作环境。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，容易引起堵塞，需要清洗或更换过滤板。超净工作台有单人、双人和三人等规格，一般都体积庞大，购置时应考虑到房门的宽窄和室内空间的大小，以免造成不应有的损失。

2. 空调机 接种室和培养室对温度要求都比较严格，在使用期间一般要求温度恒定在 25 摄氏度左右；所以接种室和培养室都要安装规格适度的壁挂式冷暖空调。

3. 药物天平 感量为 0.1 克, 用来称量琼脂、蔗糖和大量元素。

4. 电子天平 感量为 0.0001 克, 用来称量培养基中的生长调节剂物质和微量元素。

5. 冰箱 保存在常温下易变性或失效的物质, 比如生长调节剂物质、配制的培养基母液等。

6. 干燥箱 烘干洗净后的玻璃器皿, 或用来高温 (160—180 摄氏度) 干燥灭菌。

7. 显微镜 用于细胞或组织生长情况的观察和摄影。

8. 解剖镜 用于茎尖分生组织、胚胎等培养材料的分离, 观察组织的生长情况等。

9. 酸度测定仪或精密 pH 试纸 用于校正培养基及酶制剂的 pH 值。

10. 摇床 在液体培养时, 用于改善通气状况。

11. 高压灭菌锅 主要用于培养基和玻璃器皿器械等物品的高压灭菌。

12. 真空泵 用于过滤灭菌。

13. 恒温水浴 用于溶解琼脂或融化培养基。

14. 电炉 用于加热或蒸汽消毒。

15. 医用小平车 用于运送培养物、培养基和各种器皿用具。

16. 培养架 是花卉克隆的主要设备之一。其规格一般长度为 120—126 厘米 (长度主要取决于 40 瓦日光灯管的总长度), 宽度为 60 厘米, 高度为 200 厘米。其材质为木质、铁质、铝质或不锈钢均可; 如条件允许, 最好是采用不锈钢制品。由于培养架处于光照的原因, 每层的上方都要安装两支 40 瓦的日光灯, 两支灯管的间隔为 30 厘米, 使其照耀的宽幅均

为 30 厘米。

除此以外还应配置控温仪、湿度温度计、温度自动记录仪、最高最低温度计等仪器。在购买蒸馏水不方便的地区还应配备蒸馏水发生器。

第三节 培养用具

1. 三角瓶或烧杯 (100 毫升、250 毫升、500 毫升、1 000 毫升)。
2. 容量瓶 (100 毫升、500 毫升、1 000 毫升)。
3. 量筒 (25 毫升、50 毫升、100 毫升、500 毫升、1 000 毫升)。
4. 刻度移液管 (1 毫升、2 毫升、5 毫升、10 毫升)。
5. 试剂瓶 (棕色、白色) (100 毫升、250 毫升、500 毫升、1 000 毫升)。
6. 培养容器 (各种大小和形状的培养瓶、培养皿、玻璃瓶、试管、三角等)。
7. 塑料桶 用于浸泡待洗的实验室器皿。
8. 铁丝筐 用于盛放洗涤后的小玻璃瓶等器皿。
9. 塑料大桶 用于储存蒸馏水。
10. 各种大小塑料瓶 用于储存和低温冷藏各种溶液。
11. 注射器 用于对溶液进行过滤灭菌。
12. 酒精灯 用以灼烧各种金属用具
13. 手持喷雾器 用以喷洒酒精消毒。
14. 大号钝头镊子 用以进行接种和继代。
15. 尖头镊子 用以撕掉外植体表皮。
16. 解剖针 用以进行解剖。