

研究生教学用书

教育部学位管理与研究生教育司推荐

# 园艺植物生物技术

*Biotechnology in  
Horticultural Plants*

林顺权 主编 雷建军 何业华 副主编

高等教育出版社

**研究生教学用书**

教育部学位管理与研究生教育司推荐

# 园艺植物生物技术

## Biotechnology in Horticultural Plants

林顺权 主编

雷建军 何业华 副主编

高等教育出版社

## 内 容 提 要

《园艺植物生物技术》努力反映园艺植物这类独具特色(常规无性繁殖和遗传杂合性强)的作物种类生物技术的基本理论和基本技术,同时尽量介绍新领域和前沿性问题。全书内容大致由四部分组成:绪论、细胞工程、基因工程和其他(分子标记和生物反应器)。除绪论外的其他各部分基本上按照原理—方法与技术—应用这样的统一体例展开介绍。每章后面均附小结和思考题。

本书的主要对象是园艺学硕士生。“细胞工程”部分可作为本科生的教材。对于在本科阶段未曾完整修读过“植物离体(组织)培养”的硕士生而言,细胞工程部分是后两部分的必要基础和铺垫。此外,本教材可作为林学、农学、中医药学等专业的参考教材,也可供有关科技人员学习参阅。

## 图书在版编目(CIP)数据

园艺植物生物技术/林顺权主编. —北京:高等教育出版社,2005.5

ISBN 7-04-017144-9

I. 园... II. 林... III. 园林植物-生物技术-高等学校-教材 IV. S68

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 027631 号

策划编辑	林 琳	责任编辑	张晓晶	封面设计	李卫青
责任绘图	朱 静	版式设计	史新薇	责任校对	胡晓琪
责任印制	陈伟光				

---

出版发行	高等教育出版社	购书热线	010-58581118
社 址	北京市西城区德外大街4号	免费咨询	800-810-0598
邮政编码	100011	网 址	<a href="http://www.hep.edu.cn">http://www.hep.edu.cn</a>
总 机	010-58581000		<a href="http://www.hep.com.cn">http://www.hep.com.cn</a>
		网上订购	<a href="http://www.landaco.com">http://www.landaco.com</a>
			<a href="http://www.landaco.com.cn">http://www.landaco.com.cn</a>
经 销	北京蓝色畅想图书发行有限公司		
排 版	高等教育出版社照排中心		
印 刷	北京市白帆印务有限公司		
开 本	787×960 1/16	版 次	2005年5月第1版
印 张	24.25	印 次	2005年5月第1次印刷
字 数	410 000	定 价	38.10元

---

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 17144-00

**主 编:**林顺权

**副主编:**雷建军、何业华

**编 者**(以姓氏笔画为序)以及编写的章目

刘成明(第二、十三章)

李建国(第六章)

何业华(第八、十一章)

陆旺金(第九章)

范燕萍(第三章)

林顺权(绪论、第一、十四章)

胡开林(第四章)

胡桂兵(第十二章)

程玉瑾(第五章)

雷建军(第七、十章)

# 前 言

在生物技术发展日新月异的今天,园艺植物作为一类独具特色的作物种类,其生物技术的研究和生产也正在突飞猛进!

国内外有关园艺植物生物技术的文献浩如烟海,新技术新方法层出不穷,应用性成果加速积累,以至于教材跟不上实践的发展,满足不了教学的需要。迄今,国内尚没有园艺植物生物技术方面的教材,国外的 *Bio-technology of Horticultural Crops* (India: Naga Prokash, 2001) 主要以“各论”形式介绍若干种重要园艺植物的生物技术进展,尚没有提供较完整的教材内容体系。

我们华南农业大学园艺生物技术研究所的教师们,在研究生教学中,深切地体会到没有合适教材给师生们带来的麻烦。因此我们于2001年开始组织编写此教材,参加编写的都是多年从事园艺生物技术教学和研究的教师,并依据各自专长分别担任相关章节的编写,教材编写完成后曾先后两次在校内使用。

2003年秋,适逢教育部研究生工作办公室公开遴选第六批“研究生教学用书”,我们递交了出版立项申请。承蒙评审专家们的厚爱,本书得以入选。编者珍惜这个难得的机会,又同心协力对书稿作了一次认真的修改。

在本书即将付梓之际,我们深感自己有限的见解,在广阔的园艺生物技术知识海洋里,不啻为沧海一粟。本书一定还有不少需要改进的地方。我们诚挚地欢迎读者提出批评意见。

本书参考了大量文献,很多文献都是园艺生物技术上的重要进展。但是,由于本书是一本教科书,篇幅所限,无法一一列出原始参考文献,只能列出个别经典性的论文、重要参考书和其他一些论文。在此向有关作者表示谢意和歉意。借此机会,也向高等教育出版社研究生分社诸位同仁、责任编辑张晓晶、责任绘图朱静表示感谢!

本书内容大致由四部分组成:绪论、细胞工程、基因工程、其他(分子标记和生物反应器)。本书的主要对象是园艺学硕士生。细胞工程部分可作为本科生的教材,但对于在本科阶段未曾完整修读过“植物离体(组织)培养”的硕士生而言,细胞工程部分是后两部分的必要基础和铺垫。教师在使用本教材时可根据学生的实际情况选

择、安排讲授内容。此外,“园艺植物生物技术”作为一门实践性较强的课程,我们正在组织编写与本书配套的实验指导书,后者将以何种形式出版尚未定。敬请垂注。

编 者

2004 年秋 于广州五山

# 郑重声明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》，其行为人将承担相应的民事责任和行政责任，构成犯罪的，将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序，保护读者的合法权益，避免读者误用盗版书造成不良后果，我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为，希望及时举报，本社将奖励举报有功人员。

**反盗版举报电话：**(010) 58581897/58581896/58581879

**传 真：**(010) 82086060

**E - mail：**dd@hep.com.cn

**通信地址：**北京市西城区德外大街4号

高等教育出版社打击盗版办公室

**邮 编：**100011

**购书请拨打电话：**(010)58581118

# 目 录

绪论 .....	1
一、园艺植物生物技术的含义和内容 .....	1
二、植物生物技术的发展简史 .....	3
三、园艺生物技术的应用 .....	21
小结 .....	23
思考题 .....	23
<b>第一章 细胞工程原理 .....</b>	<b>24</b>
<b>第一节 细胞全能性 .....</b>	<b>24</b>
一、细胞全能性概念的发展 .....	24
二、植物活细胞具有生命特征属性 .....	25
三、细胞在合适的离体培养条件下可以展现该物种的生命特征属性 .....	28
<b>第二节 培养细胞的营养及代谢 .....</b>	<b>29</b>
一、培养细胞的营养和初级代谢 .....	29
二、次级代谢 .....	30
<b>第三节 脱分化与再分化 .....</b>	<b>33</b>
一、脱分化 .....	33
二、细胞分化和组织分化 .....	36
三、器官分化和植株形成 .....	39
四、体细胞胚胎发生 .....	41
<b>第四节 培养细胞的遗传变异 .....</b>	<b>43</b>
一、培养细胞变异增多现象及其利用价值 .....	43
二、变异增多的原因 .....	44
三、培养细胞变异的遗传机制 .....	46
小结 .....	47
思考题 .....	48
<b>第二章 离体培养基本技术 .....</b>	<b>49</b>
<b>第一节 外植体的类型及其选择与处理 .....</b>	<b>49</b>
一、外植体的类型及选择依据 .....	49
二、外植体的预处理及灭菌 .....	54
三、褐变的防止 .....	55
<b>第二节 培养基及其配制 .....</b>	<b>58</b>
一、培养基的种类及组成 .....	58



二、几类常用培养基的特性·····	65
三、培养基的配制·····	66
第三节  无菌技术·····	71
一、接种室(无菌操作室)和培养室·····	72
二、超净工作台·····	72
三、试材和器具的灭菌·····	73
四、无菌操作要点·····	75
第四节  培养条件的影响·····	76
一、光照·····	76
二、温度·····	77
三、湿度·····	78
四、培养基的 pH·····	79
五、氧和其他气体·····	79
小结·····	80
思考题·····	80
<b>第三章  细胞培养</b> ·····	<b>81</b>
第一节  悬浮培养·····	81
一、悬浮培养的基本特点及起始悬浮液的制备·····	82
二、悬浮培养的种类和方法·····	83
三、悬浮培养的培养基·····	86
四、悬浮培养细胞的同步化·····	86
第二节  固定化细胞培养·····	87
一、固定化细胞培养的特点·····	87
二、植物细胞的固定化方法·····	88
三、固定化细胞培养系统·····	89
第三节  单细胞培养·····	91
一、植物单细胞培养的意义·····	91
二、单离细胞的方法·····	92
三、单细胞培养方法·····	93
四、单细胞培养的程序·····	94
五、影响培养细胞生长的因素·····	95
小结·····	97
思考题·····	98
<b>第四章  原生质体技术</b> ·····	<b>99</b>
第一节  原生质体分离·····	99
一、游离原生质体的植物供试材料·····	99
二、酶混合液·····	100
三、分离原生质体的操作程序·····	101

四、花粉原生质体的分离 .....	103
第二节 原生质体培养 .....	104
一、培养基 .....	104
二、培养方法 .....	104
三、原生质体的分裂与增殖 .....	105
四、植株再生 .....	105
第三节 原生质体融合 .....	106
一、聚乙二醇(PEG)结合高 pH、高钙离子诱导融合法 .....	106
二、电融合 .....	107
三、非对称融合 .....	108
四、原生质体融合体的发育及杂种细胞的选择 .....	109
五、体细胞杂种植株的再生及鉴定 .....	110
小结 .....	111
思考题 .....	111
<b>第五章 生殖细胞工程 .....</b>	<b>112</b>
第一节 花药与花粉培养 .....	112
一、花药培养 .....	113
二、花粉培养 .....	114
三、离体培养下雄核发育的途径 .....	115
四、影响雄核发育的因素 .....	116
第二节 未授粉胚珠和子房培养 .....	120
一、未授粉胚珠培养 .....	120
二、未授粉子房培养 .....	121
第三节 离体受精 .....	122
一、离体子房授粉 .....	122
二、胚珠试管授粉 .....	122
三、影响离体受精的因素 .....	123
四、离体受精的研究进展和概念变化 .....	124
第四节 杂种胚挽救 .....	124
一、成熟胚的培养 .....	124
二、原胚培养 .....	125
第五节 胚乳培养 .....	126
一、胚乳培养 .....	127
二、胚乳再生植株的染色体倍性 .....	129
小结 .....	130
思考题 .....	130
<b>第六章 离体繁殖 .....</b>	<b>131</b>
第一节 离体繁殖 .....	132

一、离体繁殖特点及其应用 .....	132
二、离体繁殖再生植株途径 .....	133
三、离体繁殖技术体系及其影响因素 .....	135
四、试管育苗商业性生产需要估算的参数 .....	139
第二节 人工种子的研制 .....	141
一、人工种子的优点和局限性 .....	141
二、人工种子的结构 .....	143
三、人工种子的制作 .....	143
第三节 培育无病毒苗 .....	149
一、病毒病的为害及培育无病毒苗的应用 .....	149
二、脱除病毒的方法 .....	150
三、脱毒苗的鉴定 .....	153
四、无病毒良种的保存和应用 .....	156
小结 .....	157
思考题 .....	158
<b>第七章 种质离体保存和细胞工程育种 .....</b>	<b>159</b>
第一节 种质离体保存 .....	159
一、常温限制生长保存 .....	159
二、中低温调控生长保存 .....	161
三、超低温“长期”保存法 .....	162
第二节 细胞工程在园艺植物品种改良上的应用 .....	166
一、获得无性系变异 .....	166
二、获得体细胞杂种 .....	168
三、挽救杂种胚 .....	169
四、快速纯化亲本 .....	170
五、保存珍贵的育种材料 .....	170
小结 .....	171
思考题 .....	171
<b>第八章 基因工程的分子生物学基础 .....</b>	<b>172</b>
第一节 基因与基因组 .....	172
一、基因概念的形成与发展 .....	172
二、核酸的结构与性质 .....	173
三、真核生物的基因组 .....	181
第二节 真核基因的结构与类型 .....	182
一、基因转录有关的结构 .....	182
二、基因的不同区域及其作用 .....	186
三、基因的命名 .....	189
四、植物基因的基本类型 .....	189

第三节 基因的表达与调控	190
一、基因的表达	190
二、原核生物和真核生物基因表达调控的差别	193
三、真核生物基因表达调控的基本方式	195
小结	200
思考题	201
<b>第九章 基因工程基本技术</b>	<b>202</b>
第一节 核酸分离	202
一、DNA 的分离	202
二、RNA 的分离	204
三、DNA 及 RNA 含量测定、纯度及质量的评定	206
第二节 分子杂交	206
一、分子杂交的基本理论	206
二、用于核酸杂交的膜	207
三、探针的种类及制备	208
四、DNA 和 RNA 电泳及其从凝胶向滤膜的转移	209
五、分子杂交基本步骤	211
六、地高辛标记的探针 Southern 和 Northern 杂交方法	214
七、Western 杂交	215
第三节 PCR 技术	215
一、PCR 的基本原理及影响因素	215
二、RT-PCR 技术	220
三、PCR 技术的其他应用	221
小结	222
思考题	222
<b>第十章 基因分离与克隆</b>	<b>223</b>
第一节 基因克隆策略与载体	223
一、基因克隆策略	223
二、基因克隆载体	223
第二节 基因分离	233
一、目的基因的获得	233
二、重组体 DNA 分子的构建	239
三、重组体分子导入受体细胞	247
四、重组体分子的筛选	249
小结	252
思考题	252
<b>第十一章 遗传转化</b>	<b>253</b>
第一节 植物基因工程载体及其构建	253

一、植物基因工程载体种类及命名规则 .....	254
二、根癌农杆菌 Ti 质粒的结构与功能 .....	255
三、Ti 质粒基因转化的原理 .....	257
四、Ti 质粒的改造与载体构建 .....	259
五、植物遗传转化中常用的选择标记及报告基因 .....	263
第二节 植物遗传转化方法和技术 .....	268
一、载体转化 .....	268
二、直接转化 .....	270
三、利用种质系统转化 .....	272
第三节 转化体的筛选与检测 .....	273
一、转化体的选择和筛选 .....	273
二、转化体的检测 .....	273
三、转基因植物研究中存在的问题 .....	276
小结 .....	278
思考题 .....	278
<b>第十二章 基因工程在园艺植物遗传改良中的应用 .....</b>	<b>280</b>
第一节 应用基因工程改良园艺植物的性状 .....	280
一、抗病性状 .....	280
二、抗虫性状 .....	281
三、抗逆性状 .....	282
四、抗除草剂性状 .....	282
五、延缓果实成熟 .....	283
六、促进生根 .....	284
七、培育雄性不育系 .....	284
八、改变花色 .....	285
九、改变花形 .....	285
十、改变花香 .....	286
十一、改良其他性状 .....	286
第二节 存在的问题和展望 .....	286
一、转基因植物的安全性评价和环境释放问题 .....	286
二、转基因植物的安全性问题 .....	287
三、知识产权与商品化发展问题 .....	289
四、未来展望 .....	289
小结 .....	290
思考题 .....	290
<b>第十三章 分子标记技术 .....</b>	<b>291</b>
第一节 分子标记概述 .....	291
一、多态性与分子标记 .....	291

二、分子标记的性质与种类 .....	291
三、分子标记技术的优越性及其作用 .....	293
四、分子标记的选择 .....	295
第二节 常用分子标记的种类、原理及实验技术 .....	297
一、RAPD 标记 .....	298
二、RFLP 标记 .....	301
三、SSR .....	304
四、AFLP .....	310
五、SNP(基于单个核苷酸多态性的 DNA 标记) .....	316
第三节 分子标记数据的处理与分析 .....	317
一、数据的获得 .....	317
二、统计学处理 .....	317
三、表征分析与系统发育分析 .....	320
第四节 分子标记的应用 .....	325
一、品种鉴别与分类 .....	325
二、遗传多样性检测 .....	326
三、亲缘关系及系谱分析 .....	326
四、分子遗传图谱构建和基因定位 .....	327
五、辅助育种(早期预选、聚合育种) .....	329
六、特殊种质的鉴定 .....	331
小结 .....	332
思考题 .....	333
<b>第十四章 利用生物反应器生产有用物质 .....</b>	<b>334</b>
第一节 培养细胞生物反应器 .....	334
一、培养细胞生物反应器的优缺点 .....	334
二、一般生产程序 .....	335
三、提高生产率的技术措施 .....	336
四、次生代谢物的主要类型和获得有用物质的实例 .....	340
第二节 酶生物反应器 .....	343
一、园艺植物中自然酶的开发和作用 .....	343
二、固定化技术 .....	343
三、酶反应器 .....	344
第三节 转基因植物生物反应器 .....	346
一、概述 .....	346
二、研究和生产的一般程序 .....	347
三、几种主要转基因植物疫苗的研究概况 .....	348
四、转基因植物疫苗中存在的问题及相应对策 .....	352
第四节 其他生物反应器 .....	355

---

一、根系生物反应器 .....	355
二、叶绿体转化系统 .....	358
小结 .....	358
思考题 .....	359
<b>附录 常用基本培养基配方 .....</b>	<b>360</b>
<b>主要参考文献 .....</b>	<b>364</b>

# 绪 论

## 一、园艺植物生物技术的含义和内容

园艺植物生物技术(biotechnology in horticultural plants)是园艺学和生物技术的交叉技术学科,是以园艺植物为材料,利用生物技术,创造或改良种质或生产生物制品的一门技术。它也是生物技术的一个分支。

生物技术(biotechnology)是以生命科学为基础,利用生物体系和工程原理生产生物制品和创造新物种的综合性科学技术(百科全书生物卷,1991)。1973年发明的DNA重组技术标志着现代生物技术的诞生。现代生物技术包括众多领域,通常包括细胞工程(cell engineering)、基因工程(genetic engineering)、酶工程(enzyme engineering)和发酵工程(fermentation engineering)四大领域。此外,还有一些相对新的领域,例如:染色体工程、蛋白质工程、生化工程(biochemistry engineering)等。目前,我国生物工程学会和微生物学会下均设有细胞工程、基因工程、酶工程、发酵工程和生化工程五个专业委员会。酶工程、发酵工程(也称微生物工程)和生化工程三者的相互联系较为紧密。在生物技术中,以酶为催化剂的酶促反应,其工业过程即为酶工程;以细胞为催化剂者,常称发酵,相应的工业过程为发酵工程(顾其丰,1997)。而生化工程是解决酶工程和发酵工程(甚至细胞工程)产业化过程中生物的遗传特性、代谢特性和工程水平的传递特性耦合在一起所形成的特殊问题,称为生物技术的下游工程(顾其丰,1997;欧阳藩,1998)。

生物技术还可依研究材料的不同而分为植物生物技术、动物生物技术和微生物生物技术。

植物生物技术是以植物离体培养和分子生物学为基础技术,所形成的以细胞工程和基因工程为主体、酶工程和生化工程等领域也有不同程度发展的技术科学。

植物离体培养(*in vitro culture*)是指通过无菌操作,把植物细胞或其他类型的外植体(explant)接种于人工配制的培养基(medium)上,给予人工控制的环境条件,使培养或操作对象表现生长发育等生命活动。离体培养是植物生物技术尤其是细胞工程的基础技术。借助离体培养技术,人们证明了每一个植物活细胞都具有再生成完整植株的能力,建立了细



胞全能性的概念。植物细胞全能性概念的建立使植物离体培养的不同研究领域都有了一个共同的理论基础,即不管培养或操作的对象是胚胎、器官、组织还是细胞,由于起决定性作用的是细胞的全能性,所以,所有的离体培养或操作的内容均归入植物细胞工程。也就是说,虽然有时培养的直接对象不是细胞,而是其他对象,例如器官或组织,但研究的目的是为了细胞全能性向操作者所期望的方向表达。

植物细胞工程(plant cell engineering)目前尚无明确、统一的定义。在本书中,植物细胞工程的含义是指:通过细胞培养、融合等细胞水平的操作,以及包含有多细胞的植物结构的离体培养或操作,实现以细胞全能性为基础的改良品种或生产生物产品的目的。

植物基因工程(plant genetic engineering)是指通过重组 DNA 技术,获得转基因再生植物,从而定向地改变植物性状,使之更符合人类的要求。

园艺植物生物技术是植物生物技术的一个分支。在植物生物技术中,园艺植物生物技术的发展特别活跃而富有特色。这与园艺植物的某些特点有关。

园艺植物包括果树、蔬菜、茶树和观赏植物等。这些植物具有如下特点:①多数园艺植物常规上是采用无性繁殖的,再生性强,但易积累病毒,因此脱毒与快繁的研究特别活跃,也特别有效;②大多数园艺植物杂合性强,不易获得纯系,采用常规育种方法改良品种的速度慢,效果差,因此应特别借重生物技术;③比较而言,园艺植物是集约栽培的农作物,单位面积的生产效益较高,有较高的研究和应用价值。另一方面,不少园艺植物的童期长,遗传背景复杂不清,是导致其分子生物学基础研究较薄弱的原因之一。

同其他所有的技术学科一样,园艺植物生物技术也包括原理、研究方法和应用三大部分。

园艺植物生物技术的基本原理是细胞全能性。细胞全能性的展现基于两个基本事实,一是每一个植物活细胞都具有该物种的全套遗传信息,二是活细胞具有新陈代谢能力、脱分化和再分化以及遗传变异的潜能。对于基因工程而言,虽然其基本原理也包括在上述之中,但必须涉及分子生物学的基本轮廓。

园艺植物生物技术的方法技术除了离体培养基本技术外,还涉及体细胞和生殖细胞的培养和操作、原生质体技术、基因操作技术和分子标记技术等。

园艺植物生物技术的应用领域相当广泛,将在本绪论的第三部分中详述。