YUANYIZHIWUDEQIGUANYU ZUZHIPEIYANG

园艺植物的器官与组织培养

[日] 加古义治 主编
王玉瑛 关贵武 方允贵 吕录天 译
王海廷 校审

YZWQO
YZZPY·

河南科学技术出版社

内 容 提 要

该书是一本系统论述园艺植物的器官与组织培养的专著。为日译本。全书比较详尽地介绍了培养基的成分和配制、植物材料的处理和病毒病种类的鉴定、主要花卉类和果蔬类植物器官的组织培养方法等。基础理论与实际应用密切结合。可供园林工作者、农业科技人员及有关大专院校师生学习参考。

园艺植物的器官与组织培养

〔日〕加古雾治　主编

王玉瑛　关贵武　方允贵　县景天译

王海廷　校审

责任编辑　史治亚

河南科学技术出版社出版

河南新乡市印刷厂印刷

河南省新华书店发行

787×1092毫米　32开本9.625印张　187千字

1987年 2月第1版　1987年 3月第1次印刷

印数1—4,300册

统一书号13245.64　定价1.80元

译 者 的 话

本书系园艺植物器官和组织培养的专著，由日本名古屋大学农学系教授加古舜治主编，各章分别由京都大学、北海道大学、农林水产省植物病毒研究所和宫城、静冈、爱知各县农业试验场或原种苗中心的学者、专家共十四位所撰写。

全书分为“基础编”和“应用编”两大部分。在基础编中，阐述了组织培养法的发展和应用过程的概况、组织培养的基础、设备及器材、培养基的成分和调制，以及植物材料的处理和病毒病的种类、鉴定方法等最基础的问题。在应用编里对几种果蔬类植物及花卉类植物的器官和组织的培养，提出了比较详尽的培养方法和实践经验。

象这样将基础理论和实际应用两方面比较系统而全面地论述植物的器官和组织培养的专著，目前在国内尚缺。本书虽然讲的是园艺植物的培养，但基础理论的掌握和培养技术的学习，无疑对其它作物的无菌化育种和新栽培技术的探索也会有参考和指导意义。为此，我们把它翻译出来，供农业科技人员和有关院校师生以及园艺工作者参考。

本书在王海廷教授的组织领导下，由王玉璞、关贵武、方允贵、吕录天共同翻译的，最后由王海廷统一校阅。在翻译本书的过程中，得到哈尔滨师范大学生物系资料室的同志和其它有关专业同志的大力支持和帮助，在此一并致谢。限于译者的水平，译文中的缺点和错误，希望读者批评指正。

序　言

近年来，组织培养法应用在园艺植物方面的研究论文和资料显著增加，不断地积累着新的见解和方法。一方面，组织培养法在应用上的意义受到了重视。例如，兰草的营养繁殖、石竹的罹病品种的无病化、百合的种间杂交育种等，作为农业技术之一而直接被人们采用了。另一方面，在今天园艺生产的领域内，以节省劳力为目的的设备机械化，以园艺植物品种多样化为目的的环境调节以及改变作物性质的化学调节等都是值得特别重视的技术环节。组织培养技术也同样，从迄今所取得的成绩来看，它的意义和价值已广为人们所认识。可以预见，它对今后园艺的发展也一定会作出很大贡献的。

综上所述，本书即是着眼于实际技术的普及和发展而编写的。"基础编"是以组织培养在园艺领域里应用的一般基础知识和技术而做为中心，而"实际编"则较详尽地叙述了关于主要作物的各论部分。由于考虑到本书的编写目的及受篇幅所限，不得不将一些与本书有关的重要内容予以割爱，这一点做为编者也是感到美中不足的。可是，通过本书，如能唤起读者的兴趣和关注的话，即便是对于组织培养法能有些许的帮助，做为笔者及编者也是深感欣慰的。此外，不论

哪方面的问题，如蒙各位读者给予批评指正，也实感荣幸。

最后，在对给予我们多方面指导的园艺学会的各位先辈深表谢意的同时，还要向给予我们大力支持的诚文堂新光社的诸君，特别是负责的羽根井良江君，表示谢意。

此为试读，需要完整PDF请访问：www.erton

目　录

序言……（1）

I 基础编

第一章　组织培养及其在园艺上的应用……（1）
一、组织培养……（1）
二、组织培养的研究经过……（3）
三、组织培养在园艺上的应用……（5）
第二章　培养的基础与设备、器材……（17）
一、培养的基础……（17）
二、房间和设备……（19）
三、器材……（23）
第三章　培养基……（33）
一、培养基成分……（33）
二、培养基的配合……（38）
第四章　植物材料……（46）
一、分离前的栽培管理……（46）
二、植物的形态和发育……（47）
三、材料的消毒和分离……（63）

第五章　病毒病及其鉴定方法……（ 67 ）
一、无病毒单株育成的现状……（ 67 ）
二、母株病毒的鉴定……（ 70 ）
三、母株的热处理……（ 78 ）
四、培养株病毒的鉴定……（ 82 ）

Ⅱ 实际编

第一章　菊茎尖组织培养法及其效果……（ 90 ）
一、培养方法……（ 90 ）
二、有关茎尖培养的一些问题……（ 92 ）
三、无病毒植株的鉴定……（ 97 ）
四、茎尖组织培养株的防除效果……（ 99 ）
五、菊花花瓣、茎、叶的培养
和植物体的再生……（ 104 ）
第二章　石竹无病苗的育成……（ 108 ）
一、以HB培养基育成单一幼苗 ……（ 109 ）
二、以MS或White培养基育成多芽体
和微型繁殖……（ 128 ）
三、石竹无菌培养的最近动态……（ 132 ）
第三章　草莓无病毒单株的育成……（ 139 ）
一、草莓的病毒病……（ 139 ）
二、草莓无病毒单株的育成法……（ 139 ）
三、草莓无病毒单株的育成和增殖过程……（ 141 ）
四、生长点培养的顺序……（ 142 ）

五、花药培养过程……（147）
六、驯化和上钵……（153）
七、草莓病毒的种类与鉴定……（155）
八、无病毒苗的增殖……（159）
第四章　宿根草及花木类无毒单株的生产……（161）
一、培养过程……（161）
二、不同用途的培养基的种类……（165）
三、各种植物的实例……（167）
第五章　兰科植物……（176）
一、兰科植物的组织培养和目的……（176）
二、茎尖的采取和培养……（178）
三、上钵……（188）
四、有关问题……（189）
五、日出兰类（C·BC·LC·SC·BLC·SLC·pot·etc）……（192）
六、蝴蝶兰……（202）
七、石斛……（208）
八、兰花……（211）
九、其他属……（215）
十、通过花梗腋芽、叶、根的培养……（223）
第六章　球根花卉的组织培养繁殖法……（227）
一、石蒜科……（230）
二、鸢尾科……（234）
三、百合科……（238）

四、缨草科……（250）
五、菊科……（250）
第七章　百合的胚培养及其在育种上的应用……（252）
一、杂交不亲和性及其打破……（252）
二、杂交胚的发育……（255）
三、蒴果的采收和胚的摘出……（257）
四、胚培养……（259）
五、上钵……（266）
第八章　兰草种子形成过程和发芽的关系……（268）
一、材料与方法……（269）
二、结果和分析……（270）
第九章　东方系兰花的无菌培养……（278）
一、基础问题……（279）
二、无菌发芽……（284）
三、茎尖培养……（287）
四、繁殖和器官分化……（290）
附录：培养基的种类和组成……（293）

第一章 组织培养及其在园艺上的应用

一、组织培养

首先，要提到的是关于组织培养的定义及其内容问题。以高等植物为对象的组织培养的定义是：将植物体的一部分，从母体分离出来，在无菌的适宜条件下培养而使之生育的技术。在植物组织培养研究的初期就建立了很大功绩的White(1936)，为此定义的提倡者。

进行组织培养时，将植物体的各部分分离出来，以此做为培养材料，这部分培养材料就称为“外植体”。这种外植体依其来源于植物体的不同部分，可以把组织培养划分为以下五个方面：

第一，植物体培养或整体培养：培养一个植物具备完全形态的，例如实生苗。

第二，胚的培养：将胚珠内的胚摘出而进行的培养。

第三，器官培养：茎尖、根尖、叶片、花器全部、萼片、

花瓣、雄蕊、胚珠、子房及果实等的培养。

第四，组织培养、愈伤组织培养：将器官的一部分，即组织分离而进行的培养。组织培养的例子：茎尖分生组织（又称茎尖生长点。实际上只分离这部分是困难的，培养也不是很容易的。因而采用含有1～2枚叶原基的组织片使之相当于这个部分。另外，如第三项那样的茎尖培养，采用含有数枚叶原基的组织片，这时切片大，培养比较容易）、形成层、木质部及韧皮部组织、表皮组织、胚乳组织和柔软组织等。

第五，细胞培养：通过愈伤组织的液体振荡培养法而获得游离细胞（群）的培养，或将植物体细胞的细胞壁通过酶而加以消化，使各个细胞的原生质体形成游离状态，再进行培养。

另外，试管内受精法等，也有不符合这种区分法的培养，看来组织培养法的最初定义用于过去的任何场合，只能是总称。至于运用上述第四项狭义概念的组织培养，使用严密用语是必要的，但一般在日本还不大被使用。

从培养的一系列过程来看，最初外植体的培养称为"初代培养"。再培养的或从初代培养新生长形成的组织和器官称为"培养体"。把初代培养所获得的培养体，移植到新的培养环境，这种移植操作经过多次反复的培养称为"继代培养"。进而继代培养，比如，从初代培养的培养体的移植算起，根据移植的次数也可称为第1、2次……培养。

关于组织培养法在园艺方面的应用，Murashige（1974a,b），根据培养的目的，把一系列的培养过程用阶段（或梯级）

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertong

加以区分，以Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ，三个阶段来表示。这样各个阶段的培养目的明确，应用也比较方便(参考第二章)。

二、组织培养的研究经过

组织培养法在基础研究领域方面，经过什么样的过程而发展起来的呢？从大体上看，可以认为器官和组织，是由比较大的材料培养，向着细胞和原生质体等比较小的材料培养发展的。

初期阶段组织培养的研究，着眼于以方法本身的确定为目的。但这种方法还未能确定下来。1902年，Haberlandt提出了极为重要的"全能性"假说，认为具有生命力的植物的体细胞，即使是单独状态，如果置于适当条件下，使最小单位的生命力进行分裂和增殖，这个体细胞也具有发育成一个植物体的潜在能力。Haberlandt欲从实验上证明这种假说，采取了细胞培养法做为研究手段。他利用各种植物，从叶的栅状组织、表皮、茸毛及花蕊等分离出来的细胞，把它们进行了培养，但结果都未能诱起培养细胞的分裂。

初期组织培养的成功是1922年由Haberlandt一派的Kotte和美国的Robbins的研究而获得的。他们虽然做了个别的研究，但都实行根尖器官的培养，成功地诱起了根的生长。在培养基成分中加进蔗糖和无机盐等，采用了液体培养。可是，把培养的根部切断，移植于新的培养基继续进行继代培养时，根的生长率就逐渐降低了(Robbins等1923，

1924)。其后1934年，White成功地得到了没有使这种生长降低的继代培养，显示出根尖无限生长的可能性。他又用小麦的根尖，就光、温度、通气、pH及培养基组成等各种培养条件系统地做了探讨(1932，1933)。同时，通过烟草幼茎的前形成层的组织培养形成愈伤组织，它的继代培养也成功了(1939)。形成层的培养，Gautheret(1934，1935)和Nobécourt(1937，1939)也在研究，他们给小麦培养基添加了有利于愈伤组织和培养体的生长物质，显示出明显的促进效果。本世纪三十年代的后半期，发表组织培养成功的研究报告越来越多，自此组织培养法的基础大体确定下来了。至1943年，White就著成了《A hand book of plant tissue culture》即《植物组织培养手册》著作。

然而，由于那时的技术水平所限，由愈伤组织经过继代培养的愈伤组织，其大小是有一定限度的。愈伤组织小就不能生长，并导致继代培养不稳定。因此，把幼小组织培育到何种程度，将取决于细胞培养实验技术。此外，细胞培养的成功，又为证明植物细胞的全能性提供了不可缺少的技术。这种细胞培养的研究，在第二次世界大战后有很大发展。

到了五十年代中期，把愈伤组织放在液体培养基中振荡或作旋转培养时，明确了细胞游离后，由单细胞群和少数细胞形成了细胞群(Muir等1954，Steward等1955，Reirert 1956)。Reinert(1956)观察到了用这种培养法能使单细胞分裂的情形。进一步又证明了游离细胞，在液体培养下不单纯是无方向性的细胞分裂，而且在胚的发生或形态的形成

上，都是按照一定的分化方向进行细胞分裂的，把它们移植到琼脂固体培养基进行培养时，也能发育成一个植物体，从而证明了植物细胞的全能性。Steward等(1958)以胡萝卜为材料进行研究就是一个很著名的例证。

这种游离细胞的培养成功，证明了细胞的全能性，从细胞的研究进一步推向原生质体的培养方向发展。Cocking (1960)利用根尖细胞，以酶分解细胞壁的方法获得了原生质体。这种原生质体不仅能使细胞壁再生，而且能使细胞分裂；在种属完全不同的两个原生质体之间，也显示出能够诱起细胞融合(Power和Cocking 1970，1971)。其后细胞融合的研究进展很快，一直发展到今天。

以上所述，均系组织培养发展的概况。随着组织培养研究的发展，人们对植物生理学和形态学，以至细胞生理学也都增长了很多见解。同时，在这些研究领域里，组织培养法作为重要的研究手段之一而被利用起来了。特别是五十年代Skoog一派，从组织培养的研究中，发现了新的植物生长调节物质（植物激素）之一的细胞分裂素。

三、组织培养在园艺上的应用

现在，园艺植物的组织培养法，在实际中广为应用的主要方面有：①新品种和营养系的快速繁殖；②以病毒为主的无病植物的再生，或者是无病植物的育成。但从今后新的应用方面来看，可以预料到在育种上的应用。

（一）繁殖

1.栽培植物和繁殖技术

栽培植物的繁殖和育种是分不开的，这是栽培植物所具有的特性之一。大约在一万多年前的新石器时代，人类就有种田和培养野生植物“确保粮食”的智慧了。人类通过野生植物的栽培，改变它的野生性状从而产生新类型。栽培植物是在人的管理下而产生的。选择过程虽然是在人们无意当中进行的(田中1975)，但结果却选出了具有符合人们意向和利益的性状。通过这样的选择确定了栽培种，例如，稻子、大麦和番茄等。由于异品种间或异种属间的杂交，染色体数目发生变化，遂产生了在野生植物中所见不到的新的栽培植物。例如，小麦、玉米、烟草、梨、草莓、蔷薇及兰草等。杂交品种显示出杂种优势的特性，一般对病害等抗性较强。另外，成为选择和杂交的对象，做为使它向栽培植物发展的典型的特性之一，可列举畸形的例子。畸形在自然界里适应性和发生频率都极低，一旦离开人类的管理就很容易消失。例如，结球甘蓝、花椰菜、孢子甘蓝及矮生品种、重瓣性品种、无籽果实等。这样，通过人类的植物栽培就必然把育种和栽培品种化联系在一起了。可以认为主要栽培植物的改良，在近代的科学时代以前就有相当的发展了。

虽然栽培植物所具有的有用的特性，经历了长期的历史过程保持到今天，并被人们所利用，是由于有了保持这种特性的知识和繁殖技术，以及栽培植物种类的增多。

繁殖栽培植物时，对所要求的条件是要维持并增加有用

的特定的染色体组类型和维持个体数量。繁殖方法大致可分为：有性繁殖(种子繁殖)和无性繁殖(营养繁殖)。前者的繁殖方法是继承了两亲的遗传特性，一般是随着特性的变异，可观察到育种和繁殖的两面性。后者是将具有独特的特性的个体，毫无保留地增殖为新的个体。这种方法中有：插枝、嫁接、分株(分球)和组织培养法等。

2.营养繁殖法的发展

用插枝和嫁接的营养繁殖方法，自古以来就被人们所熟知，一直传播到今天，就是插枝法中最简单的硬枝扦插法。在公元3000年前就有记载，适于用这种方法的果树，即古代埃及的地方代表果树，有葡萄、橄榄及无花果等(Hartman1975)。

从巴布亚新几内亚国一直分布到东南亚的香蕉、面包树甘薯及山药等，自古以来就用为粮食作物。这些作物是用分根、分株及插枝等方法进行营养繁殖的(中尾1966)。

嫁接的技术，中国在公元前1000年，希腊在公元前300～400年就有了。嫁接法比插枝法要求更高的技术。除插枝容易的果树外，多数果树都采用嫁接繁殖的方法，这种繁殖技术，当时是秘传的。可是，在罗马帝国时代(公元前700～公元400年)这种方法也普及了，文艺复兴时代(1300～1500年)世界各地植物传入欧洲，这些植物的一部分用嫁接法来繁殖。英国在十六世纪已巧妙地利用茎的形成层进行切接和舌接的方法。十九世纪有100种以上多变的嫁接法。由于玻璃温室的发展，不仅使用了插枝法，还发现使用了插叶法。本

世纪开始，进行了喷雾繁殖和利用发根促进剂研究。现在的插枝和嫁接技术，就是上述各种技术综合的结果。然而，从1950～1960年，发展了新的营养繁殖法，即组织培养法。这种方法用于营养繁殖有困难的植物，使之能够有效地增殖，同时也可从感染毒的有用品种中把病毒除掉，从六十年代的前半期就已在实践中应用一直发展到今天。

3.通过组织培养法的营养繁殖

分离植物体的一部分，在无菌条件下培养，经过形成愈伤组织或不定芽等过程，从而育成多数新个体，并能进行营养繁殖。这一系列的研究，在基础和应用领域方面，迄今都做了大量工作。营养繁殖的目的是利用组织培养的器官和组织，几乎整个植物体都可利用，如茎尖、节间.叶片、根系、地下茎，球根类的鳞状叶、表皮及形成层等。不仅各种营养器官和组织，就是花梗、花托、萼片、花瓣、花药、花丝及子房等生殖器官，都可以根据营养繁殖的目的而加以利用。其培养方法是：保持其植物所具有的遗传特性；发育是由化学的、物理的培养条件而决定。从可能性来看，所有植物只要能满足其生活条件，利用此法就可繁殖。采用这种方法能够繁殖成功的原因，在于培养体反应的方式和成功率，依据植物和材料来源的不同而异，没有共同的通用方法。有必要探索出适应各自特性的培育方法。目前茎尖在营养繁殖方面是许多植物中最能得到满足的材料来源。

在茎尖培养初期的研究中，采用了食用芦笋（Loo 1945，1946a）、羽扇豆（Ball 1946，1960）、紫丁香

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertong