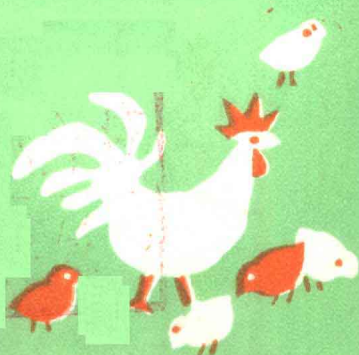
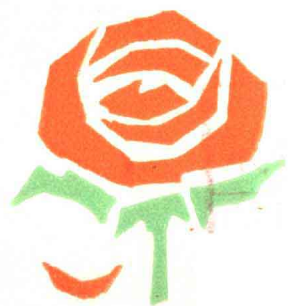




花卉快速育苗新技术

花卉组织培养

农牧渔业部教育司主编

裘文达 编

农业出版社

农村职业技术教育读本

花卉快速育苗新技术

花卉组织培养

农牧渔业部教育司 主编

袁文达 编

农村职业技术教育读本
花卉快速育苗新技术

农牧渔业部教育司 主编

裘文达 编

* * *

责任编辑 梁汝珪

农业出版社出版发行 (北京朝阳区东直门内大街)

农业出版社印刷厂印刷

787×1092毫米 32开本 2.5印张 51千字
1987年8月第1版 1987年8月北京第1次印刷

印数 1—21,100册 定价 0.51元

ISBN 7-109-00095-8/S·68

统一书号 16144·3354

出版说明

为了促进农村经济向专业化、商品化和现代化转变，加速产业结构的调整、满足广大农民对实用技术的迫切需要，农牧渔业部教育司在《全国统编农民职业技术教育教材》的系列中，增编了一套普及读本，供农村开展实用技术培训以及专业户和农民自学选用。

这套普及读本，紧密结合当前农村商品生产的实际，以种植业、养殖业、加工业为主，选题广泛，按专题分册。它的特点，具有实用性强，效果明显，操作方法简便易行，容易学习掌握，且能收到良好效果。

丛书内容或文字，若有欠妥之处，恳切希望读者提出意见，以便进一步修订完善。

一九八五年十二月

目 录

一、组织培养在花卉上的应用	1
1. 组织培养可分哪几类	1
2. 组织培养在花卉上有何应用价值	2
3. 组织培养可分为哪几个阶段	3
4. 花卉组织培养繁殖有哪几条途径	4
5. 组织培养为什么可得到无病毒苗	5
6. 无病毒苗怎样鉴定	7
7. 组织培养生产应用如何简化技术	8
二、实验室及设备要求	9
1. 组织培养对实验室有什么要求	9
2. 化学实验室怎样安排使用	9
3. 无菌室怎样安排使用	10
4. 培养室怎样安排使用	12
5. 组织培养常用的玻璃器皿有哪些	13
6. 组织培养常用的器械用具有哪些	14
7. 组织培养常用的仪器设备有哪些	15
8. 玻璃器皿如何洗涤	16
三、培养基	18
1. 常用的培养基有哪些	18
2. 培养基的主要成分有哪些	21
3. 为什么要配母液, 如何配制	22
4. 培养基怎样配制	24
5. 培养基怎样消毒保存	25

6. 生长调节物质如何使用	26
7. 主要生长调节物质ppm和M怎样换算	27
四、接种培养及移栽技术	29
1. 组织培养中如何取材	29
2. 接种材料如何消毒	30
3. 材料如何分离接种	31
4. 用具及工作服等如何消毒	32
5. 如何防止污染	32
6. 培养室如何管理	33
7. 如何防止材料变褐	34
8. 木本花卉怎样培养	34
9. 茎尖微芽嫁接如何进行	35
10. 移栽时应注意哪些问题	36
11. 移栽前如何培养管理	37
五、花卉组织培养技术	38
1. 兰花怎样培养	38
2. 菊花怎样培养	39
3. 非洲菊怎样培养	40
4. 香石竹怎样培养	42
5. 大花萱草怎样培养	42
6. 玉簪怎样培养	43
7. 水仙怎样培养	44
8. 唐菖蒲怎样培养	45
9. 郁金香怎样培养	46
10. 百合怎样培养	48
11. 仙客来怎样培养	48
12. 矮牵牛怎样培养	49
13. 非洲紫罗兰怎样培养	50
14. 大岩桐怎样培养	51
15. 花叶芋怎样培养	52

16. 倒挂金钟怎样培养	53
17. 秋海棠怎样培养	54
18. 牡丹怎样培养	55
19. 月季怎样培养	56
20. 杜鹃怎样培养	57
21. 变叶木怎样培养	58
22. 瑞香怎样培养	59
六、附几种瓜果组织培养方法	60
1. 草莓怎样培养	60
2. 无籽西瓜怎样培养	61
3. 葡萄怎样培养	62
4. 山楂怎样培养	63
附录 1 主要花卉组织培养简表	64
附录 2 组织培养专门名词简解	68
附录 3 缩写代号	72

一、组织培养在花卉上的应用

1. 组织培养可分哪几类？

组织培养全称是植物细胞、组织和器官的培养，又称微体繁殖、快速繁殖。是人工分离植物体的一部分，在人工控制条件下培养，在短期内得到完整植株的技术。它是二次世界大战后迅速发展起来的一种批量工厂化方法生产花卉苗木的新技术。它只要几毫米甚至更小的材料，经过几个月至一年的培养，就可繁殖得到几万、几十万甚至更多的花木。

组织培养根据培养的部位不同可以分为以下几类：

(1) 植株培养 即完整植株的培养。一些珍贵花卉材料，可以在试管条件下，精心管理，加速生长繁殖。

(2) 胚胎培养 包括成熟胚、幼胚、胚珠、子房、胚乳培养及试管受精等。这在培育花卉新品种上有重要价值。

(3) 器官培养 可以分离茎尖、根尖、叶片、叶原基、子叶、花瓣、雄蕊、果实等培养，使其发育成为完整植株。这在花卉组织培养快速繁殖上是应用最多的一类。

(4) 组织或愈伤组织培养 是分离植物体的分生组织，形成层、木质部、韧皮部、表皮组织、薄壁组织来培养，或采用从植物器官培养产生的愈伤组织来培养，通过诱导分化产生植株。

(5) 细胞或原生质体培养 由愈伤组织等进行液体振荡培养所得到的，能保持较好分散性的离体细胞或很小细胞

团的液体培养，或用酶及物理方法除去细胞壁的原生质体培养。皆可通过培养，分化产生植株。这在细胞水平育种及体细胞杂交育种上有重大意义和价值。

2. 组织培养在花卉上有何应用价值？

在花卉生产上最早应用组织培养的是兰花的培养。六十年代初法国用兰花茎尖培养，一个月就可繁殖得到4株，取出后分别接种到新的培养基培养，再经一个月则成16株，这样经一年繁殖可得到400万株。以后兰花的组织培养很快就被生产应用。在美国、欧洲及东南亚等许多国家和地区广泛进行，成为闻名于世的“兰花工业”。

现在世界上有成百家公司在进行兰花、非洲菊、百合、花烛、非洲紫罗兰、矮牵牛、大岩桐等几十种花卉的组织培养生产。因花卉市场瞬息万变，每年流行的种类、品种皆在变化，大规模的生产盈利，就只有通过组织培养，才能使一些流行花卉，在一年甚至更短时间内大量生产，供应市场。据统计1983年全世界组织培养生产的苗木达6000万株，其中大多为花卉。

我国花卉的组织培养工作，从七十年代才开始发展，虽然时间很短，但进展十分迅速，全国已有近百个单位在开展花卉组织培养工作，培养的花卉也有几十种。近年特别在兰花、菊花、月季、香石竹、非洲菊、大花萱草、玉簪、非洲紫罗兰、花叶芋、牡丹、矮牵牛等花卉的培养上，短期内加快了名贵品种的繁殖，满足了市场要求，并取得一定的经济效益。相信在“七·五”期间，随着组织培养技术水平的提高，配套设施的完善，定能发挥更大的作用，创造更大的效益。

组织培养在花卉育种和脱毒培育无病毒苗上的价值，是

更为深远，这有赖于科研和教学部门更好发挥作用，源源不断地为生产部门提供新的优良品种花卉种苗。

3. 组织培养可分为哪几个阶段？

组织培养大量繁殖可分为以下四个阶段：

第一阶段是为获得无菌外植体，进行初代培养，建立起无菌培养体系。所以控制达到无菌条件，以利于植物材料的生长，并获得愈伤组织或各种器官，是整个培养工作十分重要的一步。

第二阶段主要是进行增殖，不断分化产生新的植株，或直接产生不定芽及胚状体。也可根据需要反复进行继代培养，以达到大量繁殖的目的。

第三阶段是将产生的植株转移进行生根培养，准备移栽入土。可转入生根培养基培养，也可直接切取进行扦插生根，并逐渐进行锻炼，增加光照强度，培养植株的抗性，以提高植株的移栽适应能力。

第四阶段是试管苗的移栽培养驯化锻炼。应从温度、湿度、光照、营养等方面的条件掌握上，逐渐改变，使其提高对外界条件的适应能力，而健壮生长。

以球根花卉为例，简介如下：

第一阶段：无菌培养的建立。

外植体——选取鳞茎、球茎、叶、花蕾等。

消毒——从土中取的外植体可采取几种消毒剂并用，地上部器官则用一般的70%酒精和10%漂白粉过滤液消毒。

培养基——MS (1962)、 $\frac{1}{2}$ MS、Heller (1953)、LS (1965)、White (1963)、Nitsch 等。加有机物（维生素类、氨基酸类等），加植物激素（生长素、细胞分裂素等），加蔗糖2—5%和琼脂0.5—0.8%。

培养环境——黑暗或光照条件，25℃左右

第二阶段：增殖。

增殖方法——外植体 $\begin{cases} \nearrow \text{不定芽（珠芽）} \\ \searrow \text{愈伤组织} \end{cases} \rightarrow \text{再分化}$

第一种方法培养基及环境条件几乎无变化；第二种方法则需调整第一阶段的培养基。

低温处理——芽形成 $\rightarrow$ 子球形成（郁金香）

第三阶段：试材硬化及打破休眠。

外植体培养产生的新植株的分离；促进发根（改变激素的种类和浓度）；增加光照（提高耐旱性和抗病性）；温度处理（打破新生球根的休眠）。

第四阶段：上盆锻炼。

上盆用土壤种类的选择；上盆的适宜温度；水分管理；施肥。

4. 花卉组织培养繁殖有哪几条途径？

组织培养已在许多花木的繁殖上得到广泛应用，其主要通过以下五种途径（图1）：

（1）器官型

从离体培养的茎尖、花芽、叶片、花丝、花托、鳞片等组织上，直接产生不定芽，往往也同时形成少量愈伤组织。其中从侧芽分化、增殖的有菊花、松叶菊、倒挂金

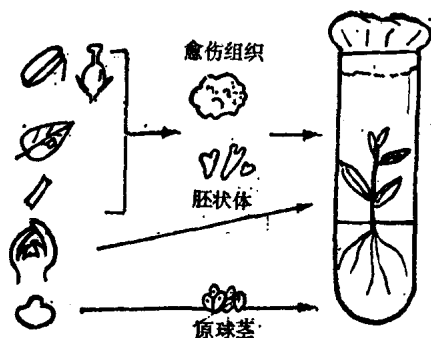


图1 组织培养成苗途径

钟、留兰香等。从芽和叶的周围分化出芽的有罗汉果、凤梨、豌豆等。从鳞片分化芽或小鳞茎的有风信子、麝香、百合、水仙。黄金瓜则从萌发种子的顶芽及腋芽产生丛生芽。

(2) 器官发生型 由茎、叶等外植体先诱导产生愈伤组织,再从愈伤组织中诱导分化出不定芽和根形成再生植株。大多数愈伤组织需转移到低生长素含量、高细胞分裂素浓度的培养基才会分化产生不定芽。如杜鹃、非洲紫罗兰和球根海棠等的叶片培养,菊花舌状花花瓣培养等皆属这种类型。

(3) 胚胎发生型 叶片、愈伤组织等外植体通过培养,分化产生出胚状体,经球形期、心形期、鱼雷期和子叶期,发育再生成植株。这在茶花、菊花、君子兰等植物的培养中皆可见到,它有繁殖数量大,遗传性稳定等优点。

(4) 原球茎型 外植体培养,经过原球茎途径分化形成植株。大部分兰花的培养属于这一类型。茎尖或侧芽培养,可直接产生新的原球茎,将其分切成数块再培养,又可产生新的原球茎。

(5) 短枝扦插型 将已发育或除去顶芽后萌发的腋芽,连同短枝,表面灭菌后在无菌条件下培养,使其生长,并诱导长根,则在短期内可得到植株,有利于花卉名贵品种的繁殖。

5. 组织培养为什么可得到无病毒苗?

花卉中的兰花、菊花、香石竹、水仙、郁金香、唐菖蒲等。不少种类是采用植株的一部分,进行无性繁殖的,这样病毒就随母体逐代传递危害,造成花叶、植株变矮、花朵变少变小、生长畸形等症状,草莓和葡萄还使含糖量降低,通常在花卉上危害的病毒不下几十种。病毒病严重的威胁花卉

生产，可一直没找到什么药剂及其它可以防治的措施。

根据病毒在植株上分布不均一的特点，即老叶片及成熟的组织和器官中病毒含量较高，而幼嫩的及未成熟的组织和器官中病毒含量较低，生长点则几乎不含或含病毒很少。在五十年代就发现采用组织培养的方法，分离患病植株 0.1—1 毫米大小的茎尖，经培养可以得到无病毒株（图 2）。为此至今已有兰花、

菊花、香石竹、水仙、唐菖蒲、天竺葵、矮牵牛、百合等十几种花卉植物的脱毒培养得到应用。分离茎尖大小，因花卉种类而异，

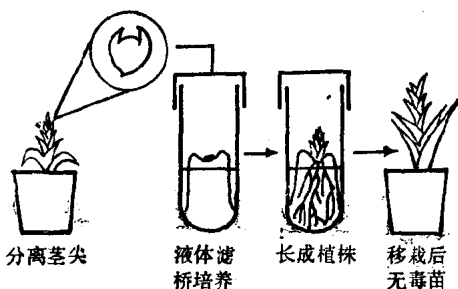


图 2 茎尖培养得到病毒植株

如大丽花为除掉花叶病毒，分离 0.6—1.0 毫米大小的茎尖即可；矮牵牛为除掉烟草花叶病毒，需分离 0.1—0.3 毫米大小的茎尖。通常茎尖越小，去病毒的效果越好，但培养的成活率也降低；茎尖大了，成活率高，但不易去除病毒。一般是取 0.2—0.5 毫米大小，带 1—2 个叶原基的茎尖作为培养材料。由于分离材料较小，故分离操作应在双筒解剖镜下进行，同时也应有良好的分离工具。除此通过植物各部位器官和组织的培养，去分化诱导产生愈伤组织，然后从愈伤组织再分化产生芽，长成小植株，也往往可得到无病毒苗。

经培养得到的是否为无病毒花卉，应用指示植物法等经过鉴定确认，无病毒苗也应种在隔离网室中避免再度感染，培育无病毒苗时，所用之土壤、花盆、用具及其它物品也必

须进行消毒，繁殖应选气候凉爽、病虫害少处进行。组织培养得到的无病毒花卉，一般可增产20—50%，菊花、香石竹等切花，花数增加，花朵增大，花色鲜艳，一级品率提高。

6. 无病毒苗怎样鉴定？

在通过组织培养培育无病毒苗中得到的花卉试管苗，必须经过严格的鉴定，证实确为无病毒苗，这样才可以提供给生产应用。常用的鉴定方法有指示植物法、抗血清鉴定法和电子显微镜检查法等。

指示植物法是利用病毒在其它植物上产生的枯斑作为鉴别病毒种类的标准。这种专门选用以产生局部病斑的寄主即为指示植物。接种时从被鉴定植物取1—3克幼叶，在研钵中加10毫升水及少量磷酸缓冲液（pH7.0），研碎后用两层纱布滤去渣滓，再在汁液中加入少量的500—600目金刚砂作为指示植物叶片的摩擦剂，使叶面造成小的伤口，而不破坏表面细胞，以后用棉花球蘸取汁液在叶面上轻轻涂抹2—3次进行接种，后用清水冲洗叶面，也可用手指涂抹、纱布垫、玻璃抹刀、塑料海绵、塑料刷子及喷枪等来接种，接种工作应在防蚜温室中进行，保持温度在15—25℃，接种后2—6日叶片上如无症状出现，就说明得到的确为无病毒苗；若见到症状出现，则表示病毒尚无脱除。

抗血清鉴定法是利用各种病毒产生的抗血清其具各自的特异性，因此用已知病毒的抗血清可以来鉴定未知病毒的种类，这样使抗血清在病毒的鉴定中成为一种高度专化性的试剂。由于其具特异性高，测定速度快（几小时甚至几分钟可完成），方法简便，所以成为植物病毒鉴定中最有用的方法之一。病毒的抗血清鉴定，主要根据沉淀反应的原理，具体测定可采用沉淀反应、凝集反应、免疫扩散、免疫电泳、萤

光抗体技术和酶联免疫吸附试验等多种方法。

电子显微镜检查法，与指示植物法和抗血清法不同，可以直接观察，检查出有无病毒存在，并可得知有关病毒颗粒的大小、形状和结构，由于这些特征相当稳定，故对病毒鉴定是很重要的，但限于条件设备，不可能广泛应用。

7. 组织培养生产应用如何简化技术？

组织培养耗费的设备、材料和能源等较多，虽然与它在短期内大量繁殖得到的效益相比为数甚微，但为增加效益，还应从各方面着手，千方百计降低成本，做到既不影响培养效果，又能达到节约的目的。

配制培养基就不一定要用重蒸馏水和蒸馏水，只要调节一下 pH 值，一般的自来水、井水，对培养材料没毒害的都可应用，只是个别地方水的含钙量高些，应该注意。除去培养基中的有机成分和微量元素，一般生长也正常，这为大量生产推广应用提供了方便。培养基中的蔗糖也可用普通白糖来代替，其效果相似。通常简化培养基，就加大量元素、蔗糖和琼脂。现在甚至有的就用复合肥料配制培养基，这不仅可以降低成本，且工作效率也可大大提高。

培养条件也可以尽量利用自然条件，如在春秋季节气候适宜（15—25℃）的条件下，可以不用能源控温，也完全可以不用灯光照明，在遮荫散射的阳光下，幼苗生长会比室内培养生长的更健壮，表现出叶大、叶色深绿，在这种情况下也可以不加蔗糖，因其自养能力增强，这样的试管苗以后移栽到土壤的成活率也高。

二、实验室及设备要求

1. 组织培养对实验室有什么要求？

花卉组织培养是在严格的无菌条件下培养植物材料的，为配制基质、操作接种及控制一定的条件来培养材料，就对实验室有一定的设计、使用要求。

组织培养实验室的设置无固定不变的格式，各地完全可以根据各自的工作目的、培养规模、既有条件，因地制宜设计安排。总的是要求实验室能承担三大部分的任务：第一是玻璃器皿的洗涤、干燥、保存；药品的保存及称量；培养基的配制、分装及灭菌等化学实验室方面的工作。第二是植物材料的消毒、分离、接种、转移等操作，无菌接种室方面的工作。第三是接种后花卉材料的培养生长，培养室方面的工作。可以根据这些要求，因陋就简设计，来完成这几方面的工作。

具体安排时应从方便工作出发，如洗涤玻璃器皿的场所应在配制培养基的实验室之前，然后再是消毒室、接种室、培养室等，按工作先后顺序设置，这样方便工作，有利提高效率。

2. 化学实验室怎样安排使用？

在花卉组织培养中，所使用器皿的洗涤、干燥、保存，各种药品的保存、称量及培养基的配制、分装、灭菌，以及一些分析测定工作的进行，都离不开化学实验室。

化学实验室大约 15—20 平方米，室内有平面实验台及安放各种药品和玻璃器皿的櫥架、具水源和电源。要求备有各种无机盐、维生素、氨基酸、糖类、琼脂、生长调节物质等各种化学药品。有各种试管、三角瓶、烧杯、量筒、吸管等玻璃器皿。有称量用的普通天平和分析天平。贮藏母液用的冰箱，干燥玻璃器皿用的烘箱及水浴锅、过滤装置、酸度计等。还要有一套蒸馏器，因配制培养基一般要用重蒸馏水，即蒸馏水再蒸馏一次，使水中不含或少含某些离子，以保证培养基中成分的准确、可靠。蒸馏器一般有两种，一种是用蒸馏水重新蒸馏；另一种是自来水连续蒸馏两次。

化学药品和天平一类物品，需要在干燥的环境中保存。为此，有条件时可另单独设置一洗涤消毒室，有 4—5 平方米大小即可，或在屋檐廊下辟一角也可，专管玻璃器皿的洗涤、滤水及培养基的高压灭菌工作。

3. 无菌室怎样安排使用？

无菌室是花卉组织培养中进行植物材料的分离接种及培养体转移的一个重要操作室。由于通常要进行长时间的无菌操作，所以无菌条件的好坏，直接影响到组织培养的成败。

一般要求室内密闭，空气不流动，面积在 5—7 平方米，墙壁应光滑平整，地面平坦无缝，便于进行清洁工作。室内应安装紫外灯，以便灭菌，还要有照明装置及灯座，以备临时增加设备之用。室内有操作台，放置试管、三角瓶、酒精灯、接种工具、离心机等。为避免进出带进杂菌，应在无菌室外再设一预备室，起缓冲作用，预备室中也装有紫外灯，并有衣帽钩，供挂工作服、帽用，另备有拖鞋（图 3）。

使用前一天应用福尔马林及高锰酸钾少量密闭熏蒸（每立方米用 6—10 毫升福尔马林，并加五分之一至十分之一的