



高职高专“十二五”规划教材

★ 农林牧渔系列

植物组织培养

ZHIWU ZUZHI
PEIYANG

黄晓梅 主编



化学工业出版社



高职高专“十二五”规划教材

★ 农林牧渔系列

植物组织培养

ZHIWU ZUZHI
PEIYANG

黄晓梅 主编



化学工业出版社

· 北京 ·

本教材以组培苗的生产、经营、管理过程为导向,重新序化了教学内容,构建了完整的学习过程,即完整的生产过程,实现了知识体系的重构。教材学习内容和职业技能等级证书紧密结合,有利于提高学生的综合应用能力和可持续发展能力。本教材包括概述和七个项目(植物组织培养室的设计、建造及管理,培养基的配制及灭菌,无菌操作技术,试管苗的驯化移栽,植物脱毒技术,植物快繁技术,组培苗工厂化生产的经营与管理)。每个项目包含必备知识和工作任务两部分。学生通过学习,可以独立完成组培室的设计与预算工作,组培苗的快繁及脱毒,能够开发新的培养基配方,完成组培苗的推广与销售工作。

本教材可供高职高专院校园艺、园林、设施农业、生物技术及应用、农学等专业学生使用,也可作为从事组织培养苗木生产的企业员工培训用书,还可供从事植物组织培养的技术人员、研究人员和经营管理者参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养/黄晓梅主编. —北京:化学工业出版社,
2011.3

高职高专“十二五”规划教材
ISBN 978-7-122-10415-1

I. 植… II. 黄… III. 植物-组织培养-高等学校:技术
学院-教材 IV. Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 009153 号

责任编辑:李植峰
责任校对:周梦华

文字编辑:张林爽
装帧设计:史利平

出版发行:化学工业出版社(北京市东城区青年湖南街 13 号 邮政编码 100011)
印 装:北京云浩印刷有限责任公司
787mm×1092mm 1/16 印张 10 $\frac{1}{4}$ 字数 252 千字 2011 年 3 月北京第 1 版第 1 次印刷

购书咨询:010-64518888(传真:010-64519686) 售后服务:010-64518899
网 址: <http://www.cip.com.cn>
凡购买本书,如有缺损质量问题,本社销售中心负责调换。

定 价:22.00 元

版权所有 违者必究

《植物组织培养》编写人员

主 编 黄晓梅

副 主 编 张 爽 李春艳 陈广玉

参编人员 (按姓名汉语拼音排列)

陈广玉 (黑龙江农业职业技术学院)

黄晓梅 (黑龙江农业职业技术学院)

李春艳 (辽宁农业职业技术学院)

吕 爽 (黑龙江生物科技职业学院)

张红梅 (商丘职业技术学院)

张 爽 (黑龙江农业职业技术学院)

主 审 张丙秀 (东北农业大学)

前 言

随着社会的不断进步和发展,植物组织培养已渗透到生物学科各个领域,成为生物工程技术中的一个重要组成部分。为植物快繁、植物脱毒、种质保存以及基因库建立等方面开辟了新途径。它广泛应用于农业、林业、工业和医药业,成为当今生物科学中重点领域之一,尤其是快繁技术和无毒苗培育技术,在现代农业发展中发挥着重要作用。

本教材是根据教育部《关于全国提高高等职业教育教学质量的若干意见》的精神和要求编写的,充分体现了高等职业教育的人才培养目标,体现了职业教育特色。按照“工学交替”人才培养模式,基于工作过程为导向,以工作任务为驱动的“教、学、做相结合”,“理论与实践一体化,课程与岗位一体化,教学与生产一体化,学校与企业一体化,学生与员工一体化,学习与工作一体化,学习与研究一体化”,在多年深化教学改革和精品课申报的基础上开发了本教材。

本教材以组培苗的生产、经营、管理过程为导向,重新序化了教学内容,构建了完整的学习过程即完整的生产过程,实现了知识体系的重构。教材学习内容和职业技能等级证书紧密结合,利于提高学生的综合应用能力,利于培养学生的可持续发展能力。本教材包括概述和七个项目植物组织培养室的设计、建造及管理,培养基的配制及灭菌,无菌操作技术,试管苗的驯化移栽,植物脱毒技术,植物快繁技术,组培苗工厂化生产的经营与管理。每个项目包含必备知识和工作任务两部分。学生通过对本教材的学习,完全可以独立完成组培室的设计与预算工作、组培苗的快繁及脱毒,能够开发新的培养基配方,能够完成组培苗的推广与销售工作。本书最终由黄晓梅统稿,张丙秀审稿。

书中疏漏及不当之处,恳请专家和读者给予批评指正,以便修订。

编者

2011年1月

目 录

概述	1	子任务 1-3 茎段初代培养	74
一、植物组织培养基本概念	1	子任务 1-4 离体叶的培养	75
二、植物组织培养的理论基础	2	子任务 1-5 胚初代培养	76
三、植物组织培养的途径和类型	3	子任务 1-6 花药初代培养	77
四、植物组织培养的意义	4	任务 2 继代培养	79
项目一 植物组织培养室的设计、建造及管理	6	子任务 2-1 愈伤组织继代培养	79
必备知识	6	子任务 2-2 瓶苗继代培养	79
一、实验室的设计原则与总体要求	6	任务 3 生根培养	80
二、实验室的基本组成	7	项目四 试管苗的驯化移栽	83
三、主要用具及仪器设备	10	必备知识	83
四、实验室的管理	13	一、试管苗的特点	83
课后作业	14	二、试管苗驯化移栽的目的	83
工作任务 植物组织培养实验室规划设计与预算	14	三、驯化移栽的设施与设备	84
项目二 培养基的配制及灭菌	17	四、驯化移栽	86
必备知识	17	课后作业	88
一、培养基的主要成分	17	工作任务 试管苗的驯化移栽	88
二、培养基的 pH 值	22	项目五 植物脱毒技术	91
三、常用培养基的种类、配方及特点	22	必备知识	91
四、培养基的配制和保存	24	一、植物病毒概述	91
课后作业	26	二、植物脱毒的意义及应用前景	98
工作任务	26	三、植物脱毒的途径及机理	98
任务 1 MS 培养基母液的配制与保存	26	四、植物脱毒技术流程	100
任务 2 常用激素母液的配制与保存	27	五、植物脱毒苗的鉴定	102
任务 3 MS 固体培养基的配制与灭菌	27	六、脱毒苗的快繁及保存	106
任务 4 培养基配方的设计	28	课后作业	107
项目三 无菌操作技术	30	工作任务 植物脱毒技术	107
必备知识	30	项目六 植物快繁技术	110
一、外植体的选择	30	工作任务	110
二、外植体的处理与消毒	31	任务 1 蝴蝶兰的组培与快繁技术	110
三、外植体接种	32	任务 2 菊花的组织培养	111
四、外植体培养	32	任务 3 非洲菊的组培快繁技术	112
课后作业	70	任务 4 大花蕙兰的组培快繁技术	113
工作任务	71	任务 5 卡特兰的组培快繁技术	114
任务 1 初代培养	71	任务 6 文心兰的组培快繁技术	115
子任务 1-1 离体根的初代培养	71	任务 7 君子兰的组培快繁技术	117
子任务 1-2 马铃薯茎尖初代培养	72	任务 8 花叶芋的组培快繁技术	118
		任务 9 矮牵牛的组培快繁技术	119
		任务 10 彩叶草的组培快繁技术	119

任务 11	百合的组培快繁技术·····	120
任务 12	观赏凤梨的组培快繁技术·····	121
任务 13	香石竹的组培快繁技术·····	123
任务 14	红掌的组培快繁技术·····	123
任务 15	玫瑰的组培快繁技术·····	124
任务 16	大岩桐的组培快繁技术·····	125
任务 17	杜鹃花的组培快繁技术·····	126
任务 18	彩色马蹄莲的组培快繁技术·····	127
任务 19	鸟巢蕨的组培快繁技术·····	128
任务 20	一品红的组培快繁技术·····	129
任务 21	平榛的组培快繁技术·····	130
任务 22	毛白杨树的组培快繁技术·····	131
任务 23	香樟的组培快繁技术·····	132
任务 24	东北红豆杉的组培快繁技术·····	133
任务 25	芦荟的组培快繁技术·····	134
任务 26	驱蚊草的组培快繁技术·····	135
任务 27	灯盏花的组培快繁技术·····	136
任务 28	刺五加的组培快繁技术·····	137
任务 29	半夏的组培快繁技术·····	138
任务 30	罗汉果的组培快繁技术·····	138

任务 31	甘草的组培快繁技术·····	140
任务 32	桔梗的组培快繁技术·····	140
任务 33	黄芩的组培快繁技术·····	141
任务 34	牛蒡的组培快繁技术·····	142

项目七 组培苗工厂化生产的经营与

管理	·····	144
----	-------	-----

必备知识	·····	144
------	-------	-----

一、组培苗商品化工厂规划与设计	·····	144
-----------------	-------	-----

二、植物组织培养工厂化生产设施及设备	·····	144
--------------------	-------	-----

三、工厂化生产规模与生产计划制定	·····	148
------------------	-------	-----

四、成本核算与效益分析	·····	153
-------------	-------	-----

五、降低成本提高效益的措施	·····	154
---------------	-------	-----

课后作业	·····	155
------	-------	-----

工作任务	·····	155
------	-------	-----

任务 1 组培苗工厂化生产厂房设计	·····	155
-------------------	-------	-----

任务 2 组培苗工厂化生产计划的制定与成本核算	·····	156
-------------------------	-------	-----

参考文献	·····	158
------	-------	-----

概 述

知识目标：掌握植物组织培养的基本概念、植物组织培养的理论基础、植物组织培养的途径和类型以及植物组织培养的意义。

植物组织培养是现代生物技术的基础和重要组成部分，也是植物生物技术中应用最广泛的技术，并且逐渐形成产业化，为种苗快繁、脱毒苗培育、突变筛选培育、植物工厂化生产、种质保存和植物基因库建立等方面开辟了新途径，并广泛应用于工、农、林、医等领域，取得了显著的成效。

一、植物组织培养基本概念

1. 植物组织培养

广义的植物组织培养就是指在无菌条件下，将离体的植物器官（如根、茎、叶、茎尖、花、果等）、组织（如形成层、表皮、皮层、髓部细胞、胚乳等）、细胞（如大孢子、小孢子及体细胞）、愈伤组织以及原生质体，在人工控制的环境里培养，使其再生形成完整的植株。狭义的植物组织培养是指在无菌条件下利用人工培养基对植物组织或器官的培养，使其再生为完整植株。组织培养也称离体培养。

2. 外植体

从植物体上切取分离下来进行无菌培养的部分称外植体。

3. 接种

在无菌条件下将外植体插到培养基上的过程。

4. 继代培养

植物的组织、器官或细胞在培养基（或培养液）上生长一段时间以后转移到新的培养基上继续培养的过程。

5. 植物细胞的分化

所谓细胞分化就是由于细胞的分工而导致的细胞结构和功能的改变，或发育方式改变的过程。

6. 植物细胞的脱分化

细胞分化使植物细胞成为结构和功能特征特异的成熟细胞，这些成熟细胞即使已经高度成熟和分化，也还有恢复到分生状态的能力。一个成熟细胞转变为分生组织状态或胚性细胞状态的过程就是细胞脱分化。

7. 愈伤组织

在人工培养基上由外植体长出来的一团无序生长的薄壁细胞，是脱分化后的细胞，经过细胞分裂，产生的无组织结构、无明显极性、松散的细胞团称为愈伤组织。愈伤组织细胞大而不规则，高度液泡化，没有次生细胞壁和胞间连丝。

2 植物组织培养

8. 植物细胞再分化

细胞再分化是指脱分化后的分生细胞（愈伤组织）在特定的条件（离体培养）下，重新恢复细胞分化能力，并经历器官发生形成单极性的芽或根，或经历胚胎发生形成双极性的胚状体，进一步发育成完整植物体，这一过程称为细胞再分化。

9. 植物细胞的全能性

植物细胞的全能性是指植物体内任何具有完整的细胞核的细胞都包含着该物种的全部遗传信息（即一套完整的基因组），并具有发育成完整植株的能力。

10. 脱毒

脱毒指去除植物体内病毒，获得无病毒植株。茎尖脱毒法，是利用病毒在植株体内分布不平衡的特点，在茎尖生长点处切取 0.1~0.2mm，经组织培养、病毒鉴定，生产脱病毒植株的方法。

二、植物组织培养的理论基础

离体培养的植物器官、组织或细胞之所以经培养能够再生出完整植株，其原因在于植物细胞具有全能性。植物细胞的全能性是指植物体内任何具有完整的细胞核的细胞都拥有形成一个完整植株所必需的全部遗传信息（即一套完整的基因组），并具有发育成完整植株的能力。受精卵或高度分化的植物细胞仍然具有形成完整生物体的能力。

高度分化的植物体细胞具有全能性，植物细胞在离体的情况下，在一定的营养物质、激素和其他适宜的外界条件下，才能表现其全能性。

植物体是从受精卵经过有丝分裂和分化产生的。受精卵具有本种植物所特有的全部遗传信息。因此，植物体内的每一个体细胞也都具有和受精卵完全一样的 DNA。当这些细胞在植物体内的时候，由于受到所在器官和组织环境的束缚，其分化受到各方面的调控，某些基因受到控制或阻遏，致使其所具有的遗传信息得不到全部表达，仅仅表现一定的形态与生理功能。可是它们的遗传潜力并没有丧失，当脱离了原来器官组织的束缚，成为游离状态，在一定的营养条件和植物激素的诱导下，细胞的全能性就能表现出来。于是就像一个受精卵那样，由单个细胞形成愈伤组织然后成为胚状体，再进而长成一棵完整的植株。所以离体培养的理论基础是由于植物细胞具有全能性。

要实现植物细胞的全能性，必须具备的条件：一是体细胞与完整植株分离，脱离完整植株的控制；二是创造理想的适于细胞生长和分化的环境，包括营养、激素、光照、温度、氧气、湿度等因子。植物的离体组织、器官、细胞或原生质体在无菌、适宜的人工培养基和培养条件下培养，满足了细胞全能性表达的条件，才能使离体培养材料发育成完整植株。

19 世纪 30 年代，德国植物学家施莱登（M. J. Schleiden）和德国动物学家施旺（T. Schwann）创立了细胞学说，根据这一学说，如果给细胞提供和生物体内一样的条件，每个细胞都应该能够独立生活。1902 年，德国植物学家哈伯兰特（Haberlandt）预言植物细胞的“全能性”。为了证实这个预言，他用高等植物的叶肉细胞、髓细胞、腺毛、雄蕊毛、气孔保卫细胞、表皮细胞等多种细胞放置在自制的培养基中，但是没有成功。1937 年，美国科学家怀特（White）配制出了植物怀特培养基，培养番茄根尖切段，长出了愈伤组织。以后许多科学家为证实这一论断做了不懈的努力。1958 年，美国植物学家斯图尔德（F. C. Steward）等人，用胡萝卜韧皮部的细胞进行培养，终于得到了完整植株，并且这一植株能够开花结实，证实了哈伯兰特在五十年前关于细胞全能性的预言；1964 年，Cuba

和 Mabesbwari 利用毛叶曼陀罗的花药培育出单倍体植株；1969 年 Nitch 将烟草的单个单倍体孢子培养成了完整的单倍体植株；1970 年 Steward 用悬浮培养的胡萝卜单个细胞培养成了可育的植株。至此，经过科学家们五十余年的不断试验，植物分化细胞的全能性得到了充分论证，建立在此基础上的组织培养技术也得到了迅速发展。

三、植物组织培养的途径和类型

（一）植物组织培养途径

利用组织培养进行无性繁殖大体可经过下列五种途径。

1. 器官型

由离体的茎尖、花芽、花丝、花托、鳞片等组织上直接产生小植株。往往在形成小苗（芽）的同时或之前也形成少量的愈伤组织。如以侧芽分化和增殖的有菊花、倒挂金钟；以芽和叶的周围分化出芽的有罗汉果、凤梨等；以鳞片分化芽或小鳞茎的有风信子、百合、水仙等；也有由萌发种子的顶芽及腋芽产生丛生芽的如黄金瓜等。

2. 器官发生型

由外植体（茎、叶、愈伤组织等）先诱导愈伤组织，再从愈伤组织中分化出不定芽和根，形成再生植株。外植体在培养基上逐渐长大，形成愈伤组织，移入分化培养基，愈伤组织由疏松变成硬结从中分化出芽。

3. 胚胎发生型

外植体（叶、愈伤组织等）通过培养分化出胚状体，经球形期、心形期、鱼雷期和子叶期发育成再生植株。如胡萝卜体细胞培养、油茶和茶叶的子叶培养经胚状体途径形成再生植株；烟草花药培养通过胚状体发育形成单倍体植物。

4. 原球茎

外植体经原球茎途径分化形成植株。大部分兰花培养属于这一类。兰花的茎尖、侧芽可直接分化出原球茎，形成桑果状的圆球突起，将其切成数块经培养又可产生新的原球茎，由原球茎萌发出小植株，因此这种方法繁殖系数很高。原球茎最初是种子发芽过程中的一种形态学构造，种子萌发初期并不出根，只是胚逐渐膨大，以后种皮的一端破裂，胀大的胚呈球状。原球茎即为缩短的、呈珠粒状的、由胚性细胞组成的嫩茎器官。

5. 无菌短枝扦插

用已发育或去除顶芽后萌发的腋芽，连同短枝进行消毒，在无菌条件下培养，使其生长并诱导生根，在较短时间内即可获得植株，尤其对繁殖珍贵的优良树种或花卉品种是较为简单的方法。

（二）植物组织培养类型

因划分依据不同，植物组织培养的类型有多种。

1. 按所用培养基类型划分

（1）固体培养 即将植物材料接种在加有凝固剂（如琼脂）的培养基中进行培养的方法称为固体培养。固体培养因其操作简便，成本较低，在生产中应用较为普遍。

（2）液体培养 即将植物材料置于不加凝固剂的培养基中进行培养的过程称为液体培养。液体培养又可分为静止培养、旋转培养、纸桥培养、振荡培养。

2. 按培养的外植体划分

（1）植株培养 对幼苗及较大的植株培养，包括扦插苗培养、种子苗培养。目的是提供

4 植物组织培养

适合接种的外植体或用于研究植物在某些培养基上的反应。

(2) 胚胎培养 包括胚乳培养、胚珠培养、胚培养、未成熟的种胚培养，目的是克服败育以及用于三倍体育种。

(3) 器官培养 用根尖、根段、茎尖、茎段、叶片、鳞片、球根、花器官各部分以及未成熟的果实等进行培养。因此也可分别称根系培养、叶片培养、茎段培养、花器培养、果实培养、种子培养等，快速繁殖通常采用这种类型。

(4) 愈伤组织培养 从植物的各种器官外植体增殖而形成愈伤组织的培养。

(5) 组织培养 对各种组织进行培养，如分生组织培养、薄壁组织培养等。

(6) 细胞培养 用能保持较好分散性离体细胞或很小的细胞团进行的液体培养。

(7) 原生质体培养 用机械、酸处理或酶溶解等方法去除细胞壁，分离原生质体进行培养。

3. 按培养方法划分

(1) 细胞悬浮培养 即用液体培养基对保持良好的分散状态的单个细胞或小的细胞聚集体在摇床上进行培养的方法，称为细胞悬浮培养。

(2) 单细胞培养 单细胞培养可分为三种，即看护培养、平板培养和微室培养。

4. 按培养过程划分

(1) 初代培养 即将从植物体上分离下来的外植体进行第一次培养叫初代培养或第一代培养或启动培养。

(2) 继代培养 即初代培养以后的某一阶段，将培养物转移到配方相同的新鲜培养基上进行培养称为继代培养。

四、植物组织培养的意义

植物组织培养是 20 世纪初，以植物生理学为基础发展起来的一门新兴技术，这项技术已在科研和生产上得到广泛应用，成为举世瞩目的生物技术之一。组织培养条件可以控制，不受季节限制，因此可以全年连续生产。这对于生产有重要的现实意义。

1. 无性系快速繁殖

利用组织培养技术可以实现优良无性系或单株迅速繁殖推广，并且不改变其遗传性，即保持原有的优良性不变。比如，1 个兰花茎尖经过一年组培繁殖可以获得 400 万株具有相同遗传性的健康植株，这是其他任何方法都难以实现的。又如花叶芋这种植物，常规繁殖每年数量仅能增加几倍到几十倍，组织培养每年可繁殖出几万至数百万倍的小植株。这种繁殖速度对于珍贵、优、新植物品种是非常有价值的。尤其是在市场竞争激烈的今天，在短时间内获得大量商品价格较高的苗木，无疑会给生产者带来巨额利润。

2. 去除病毒、真菌和细菌等病害

采用扦插、分株等营养繁殖的各种植物，都有可能感染一种或数种病毒或类病毒。长期无性繁殖，使病毒积累，危害加重，观赏品质下降：如花变小，色泽暗淡，花量少等。脱去病毒后，植株生长势强，花朵变大，色泽鲜艳，抗逆能力提高，产花数量上升。通常采用茎尖培养去病毒，这是因为在分生区内，细胞不断分裂增生，病毒在植物体内的传播速度没有细胞分裂速度快，所以茎尖分生区内病毒含量极少或不含病毒。切取的茎尖越小脱毒效果越好，然而外植体太小不易成活，太大不能脱毒，因此必须选择大小适宜的外植体，才能达到脱毒的效果。这种方法也同时可以去除植物体内的真菌、细菌和线虫。

3. 培育新品种

花卉等植物在组织培养过程中发生芽变是极其普遍的，包括花色变异、花的大小变异、花期变异、叶色变异、染色体数量变异等，在组织培养过程中，一旦发生芽变，并将其繁殖成完整植株，就可能产生有特殊观赏价值的新品种。

4. 种质资源的保存

利用常规方法保存大量品种资源是一项耗资耗时的巨大工程，又易丢失珍贵的品种资源。而借助试管来保存品种资源，既经济又保险。如将葡萄茎段长成的小植株存放在试管中，温度在 9℃ 以下，植株便停止生长，每年只需转管一次。800 个葡萄品种，每品种 6 个重复，只需一平方米的场所就放下了。

5. 次生代谢物的生产

紫杉醇、黄酮类等具有良好抗癌作用的生物药，通常是从天然或人工栽培的植株上分离提取，提取时常常要破坏植株，而红豆杉和银杏等又都是珍稀的保护植物，因此，紫杉醇和黄酮类的生产受到极大限制。利用细胞培养技术可以大规模商品化生产，再从愈伤组织或细胞中分离提取紫杉醇或黄酮类物质，用这一途径不需要再生植株和栽培过程，提取工艺简单，产量高。在获得大量生物药的同时，又避免了植物资源的破坏。目前，细胞培养技术在世界范围内已广泛用于奇缺药物的生产，并取得了一系列成果。此外，色素、芳香原料等也可以利用细胞悬浮培养来生产。

项目一 植物组织培养室的设计、建造及管理

知识目标：掌握组培室的设计和建造原则以及管理要点。

技能目标：能够独立完成植物组培实验室的设计，并能独立承担植物组织培养实验室的管理任务。

必备知识

一、实验室的设计原则与总体要求

植物组织培养是一项技术性较强的工作。为了确保植物组织培养工作的顺利进行，在进行植物组织培养之前，不论是以实验为目的还是以工厂化生产为目的，首先应对工作中需要哪些最基本的设备条件有较为全面的了解，便于以后工作的开展。

（一）设计原则

- （1）防止污染。控制住污染，就等于组织培养成功了一半。
- （2）按照工艺流程科学设计，经济、实用和高效。
- （3）结构和布局合理，工作方便，节能、安全。
- （4）规划设计与工作目的、规模及当地条件等相适应。

（二）总体要求

（1）实验室选址要求避开污染源，例如最好避免与温室、微生物实验室、昆虫实验室等相邻。水电供应充足，交通运输便利。

（2）保证实验室环境清洁。实验室洁净，可从根本上有效控制污染。这是组织培养工作的最基本要求，否则会使植物组织培养工作遭受不同程度甚至是不可挽回的损失。因此，过道和设备防尘、外来空气的过滤装置等设计是必要的。

（3）实验室建造时，应采用产生灰尘量最少的建筑材料；墙壁和天花板、地面的交界处宜做成弧形，便于日常清洁；管道要尽量暗装，安排好暗敷管道的走向，便于日后的维修，并能确保在维修时不造成污染；洗手池、下水道的的位置要适宜，不得对培养环境造成污染，下水道开口位置应对实验室的洁净度影响最小，并有避免污染的措施；设置防止昆虫、鸟类、鼠类等动物进入的设施。

（4）接种室、培养室的装修材料还须经得起消毒、清洁和冲洗，并设置能确保与其洁净度相应的控温控湿的设施。

（5）实验室电源应由专业部门设计、安装并经验证合格之后，方可使用。应有备用电源，确保停电或掉电时能继续操作。

（6）实验室必须满足实验准备（器皿的洗涤与存放、培养基制备和无菌操作、用具的灭菌）、无菌操作和控制培养三项基本工作的需要。

（7）实验室各分室的大小、比例要合理。一般要求培养室与其他分室（除驯化室外）的

面积之比为 3 : 2；培养室的有效面积（即培养架所占面积，一般占培养室总面积的 2/3）与生产规模相适应。

(8) 明确实验室的采光、控温方式，应与气候条件相适应。一般采用人工光照和恒温控制，实验室为密封式或半地下式。

二、实验室的基本组成

如图 1-1 所示。

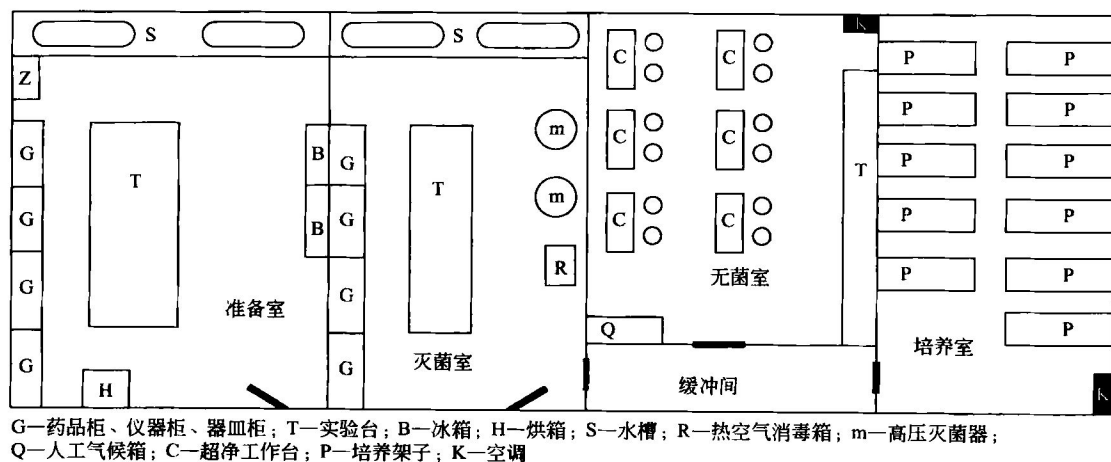


图 1-1 植物组织培养基本实验室

(一) 基本实验室

基本实验室包括准备室、灭菌室、缓冲间、无菌操作室、培养室，是组织培养实验所必须具备的基本条件。如进行工厂化生产，年产组培苗 4 万~20 万，需 3~4 间实验用房，总面积 60 平方米。

1. 准备室

(1) 主要功能 用于玻璃器皿和实验用具的洗涤、干燥和贮存；培养材料的预处理与清洗；组培苗（也称试管苗）的出瓶、清洗与整理，培养基的配制、植物材料的预处理等。

(2) 设计要求 小型实验室面积一般为 10~20m²。要求房间宽敞明亮、通风、干燥、清洁卫生，方便多人同时工作；有电源、自来水和水槽（池），上下水道畅通；地面耐湿、防滑、排水良好，便于清洁。

(3) 仪器与用具配置 工作台、烘箱、晾干架、周转筐（塑料或铁制）、各种规格的毛刷、药品柜、电子分析天平、托盘天平、磁力搅拌器、蒸馏水器、酸度计、恒温水浴锅、电炉（或微波炉、电饭煲、液化气炉灶等）、培养基灌装机、普通冰箱、低温冰箱（低于-20℃）等仪器设备；移液管（或微量移液器）、移液管架、培养瓶（包括试管）、棕色或透明试剂瓶、烧杯（带刻度或不带刻度）、量筒、容量瓶、培养皿、吸管、皮下注射器、打孔器、玻璃棒、标签纸、记号笔、耐高温高压塑料薄膜等封口材料、尼龙绳、脱脂棉、纱布、工作台、蒸馏水桶、医用小推车等用品和用具。此外，配备器械柜和药品柜，分别存放接种用具和分类存放化学试剂。最好配备防尘设备，以减少灰尘污染。

2. 灭菌室

(1) 主要功能 用于培养基、器皿、工具和其他物品的消毒灭菌。

(2) 设计要求 专用的小灭菌室面积一般为 $5\sim 10\text{m}^2$ 。要求安全、通风、明亮；墙壁和地面防潮、耐高温；配备水源、水槽（池）、电源或煤气加热装置和供排水设施；保证上下水道畅通，通风措施良好。生产规模较小时，可与洗涤室、配制室合并在一起，但灭菌锅的摆放位置要远离天平和冰箱，而且必须设置换气窗或换气扇，以利通风换气。

(3) 仪器与用具配置 压力灭菌锅、干热消毒柜或烘箱、细菌过滤装置、工作台、培养基存放架或橱柜、周转筐、换气扇、医用小推车等。

3. 缓冲间

(1) 主要功能 防止带菌空气直接进入接种室和工作人员进出接种室时带进杂菌。接种人员在缓冲间更衣、换鞋、洗手、戴上口罩后，才能进入接种室。

(2) 设计要求 面积不宜太大，一般 $2\sim 3\text{m}^2$ 。要求空间洁净，墙壁光滑平整，地面平坦无缝，并在缓冲间和接种室之间用玻璃隔离，配置平滑门，以便于观察、参观和减少开关门时的空气扰动。空间安装 $1\sim 2$ 盏紫外光灯，用以接种前的照射灭菌；配备电源、自来水和小洗手池，备有鞋架、拖鞋和衣帽挂钩，分别用于接种前洗手、摆放拖鞋和悬挂已灭过菌的工作服。

(3) 仪器与用具配置 紫外光灯、小洗手池、搁架、鞋架、衣帽钩、拖鞋、工作服、实验帽和口罩等。

4. 接种室

(1) 主要功能 进行植物材料的接种、培养物的转移等无菌操作，因此接种室也称为无菌操作室。其无菌条件的好坏对组织培养的成功与否起着重要作用。

(2) 设计要求 接种室不宜设在易受潮的地方。其大小根据实验需要和环境控制的难易程度而定。在工作方便的前提下，宜小不宜大，小的接种室面积 $5\sim 7\text{m}^2$ 即可。接种室要求密闭、干爽安静、清洁明亮；塑钢板或防菌漆的天花板、塑钢板或白瓷砖的墙面光滑平整，不易积染灰尘；水磨石或水泥地面平坦无缝，便于清洗和灭菌。配备电源和平滑门窗，要求门窗密封性好；在适当的位置吊装紫外光灯，保持环境无菌或低密度有菌状态；安置空调机，实现人工控温，这样可以紧闭门窗，减少与外界空气对流。接种室与培养室通过传递窗相通。最好进出接种室的人流、物流分开。

(3) 仪器与用具配置 超净工作台、空调机、解剖镜、接种器具消毒器（或高温焚化炉）、紫外光灯、酒精灯、广口瓶、三角瓶、搪瓷盘、接种工具、手持喷雾器、工作台、搁架、接种用的小平车、不锈钢长方形饭盒（盛放 $70\%\sim 75\%$ 酒精，用于浸泡接种工具）或医院用消毒盒等。配置污物桶，以便存放接种过程中的废弃物，须每天清洗更换。

5. 培养室

(1) 主要功能 培养离体材料。

(2) 设计要求 培养室的设计应从以下几方面考虑。

① 培养室的大小可根据生产规模和培养架的大小、数目及其他附属设备而定。每个培养室不宜过大，面积 $10\sim 20\text{m}^2$ 即可，以便于对条件的均匀控制。其设计以充分利用空间和节省能源为原则，最好设在向阳面或在建筑的朝阳面设计双层玻璃墙，或加大窗户，以利于接收更多的自然光线，窗的高度比培养架略高为宜。

② 能够控制光照和温度。通常根据培养过程中是否需光，设计成光照培养室和暗培养

室；材料的预培养、热处理脱毒或细胞培养、原生质体培养等在光照培养箱或人工气候箱内进行。采用光照时控器控制光照时间。

采用空调机调控培养室内的温度。培养室面积较小时，采用窗式或柜式的冷暖型空调；培养室面积较大时，最好采用中央空调，以保证培养室内各部位温度相对均衡。

③ 保持整洁，防止微生物感染。要求天花板、墙壁光滑平整、绝热防火，最好用塑钢板或瓷砖装修；地面用水磨石或瓷砖铺设，平坦无缝，方便室内消毒，并有利于反光，提高室内亮度。

④ 摆放培养架，以立体培养为主。培养架要求使用方便、节能、充分利用空间和安全可靠。一般设六层，高度 2m，最下一层距地面 0.2m，最上一层高 1.7m，层间距为 30cm，架宽 0.6m，架长以 40W 日光灯管的长度来决定，每个培养架安装 2~3 盏日光灯，多个培养架共用 1 个光照时控器。安装日光灯时最好选用电子整流器，以降低能耗。架材最好用带孔的新型角钢条，可使搁板上下随机移动。

⑤ 能够通风、降湿、散热。培养室的门窗密封性要好，有条件的可用玻璃砖代替窗户，并安装排气扇，以备在湿度高、空调有故障时可以打开排气扇通风排气、散热。南方湿度高的地方可以考虑在培养室内安装除湿机。

⑥ 培养室外应设有缓冲间或走廊。

⑦ 培养室内用电量较大，应设置供电专线和配电设备，并且配电板置于培养室外，保证用电安全和方便控制。

此外，为适应液体培养的需要，在培养室内配备摇床和转床等设备，但要注意在大型摇床下面应有坚实的底座固定，以免摇床移位或因振动大而影响培养车间内的其他静止培养。

(3) 仪器与用具配置 空调机、排气扇、摇床、转床、光照培养箱或人工气候箱、除湿机、光照时控器、干湿温度计、温度自动记录仪及最高最低温度记录仪、培养架、日光灯、工作台、配电盘等。

6. 驯化棚室

(1) 主要功能 进行组培苗的驯化移栽。

(2) 设计要求 组培苗的驯化移栽通常在温室或塑料大棚内进行。其面积大小视生产规模而定。要求环境清洁无菌，具备控温、保湿、遮阴、防虫和采光良好等条件。

(3) 仪器与用具配置 具备弥雾装置、遮阳网、暖气或地热线、移栽床（固定式或活动式）等设施；塑料钵、花盆、穴盘等移栽容器；草炭、沙子等移栽基质。

(二) 辅助实验室

根据研究或生产的需要而配套设置的专门实验室，主要用于细胞学观察和生理生化分析等。

1. 细胞学实验室

功能：用于对培养物的观察分析与培养物的计数，对培养材料进行细胞学鉴定和研究，由制片室和显微观察室组成。制片是获取显微观察数据的基础，应配备有切片机、磨刀机、恒温箱及样品处理和切片染色的设备。应有通风柜和废液处理设施。显微观察室主要有显微镜和图像拍摄、处理设备。

要求：明亮、清洁、干燥，防止潮湿和灰尘污染。

设备：双筒实体显微镜、显微镜、倒置显微镜等。

2. 生化分析实验室

功能：以培养细胞产物为主要目的的实验室，应建立相应的分析化验实验室，随时对培养物成分进行取样检查。大型次生代谢物生产，还需有效分离实验室。

三、主要用具及仪器设备

(一) 仪器设备

1. 超净工作台

超净工作台原用于半导体元件与精密仪器仪表的生产，现已成为植物组织培养中最常用的无菌操作装置。优点是操作方便自如，比较舒适，工作效率高，准备时间短。开机 10 分钟即可操作，可进行长时间使用。在工厂化生产中，接种工作量很大，需要经常、长久地工作，超净台是很理想的设备。超净工作台功率在 145~260W，它装有小型鼓风机，使空气穿过一个前置过滤器，在这里把大部分空气尘埃先过滤掉，然后再使空气穿过一个细致的高效过滤器，它除去了大于 0.3 μ m 的尘埃、细菌和真菌孢子等，最后以较洁净的气流吹到工作台面。超净空气的流速为每分钟 24~30m，这已足够防止附近空气袭扰而引起的污染，这样的流速也不会妨碍采用酒精灯对器械等进行灼烧消毒。在这样的无菌条件下操作，就可以保证无菌材料在转移接种过程中不受污染。超净工作台分水平式和垂直式两种型号。又有单人、双人、三人等类型。

2. 无菌手套箱（接种箱）

接种箱可以自制也可购买，前面有玻璃便于观察，左右两侧各有一孔，孔内有一手套袖，避免污染。两侧有拉门。在投资少的情况下，可以用接种箱来代替超净工作台。接种箱依靠密闭、药剂熏蒸和紫外灯照射来保证内部空间无菌。但操作活动受限制，准备时间长，工作效率低。

3. 空调机

接种室和培养室的室温保证都需要空调机，空调机应安置在室内较高的位置，以便于排热散凉。

4. 除湿机和加湿器

培养室的相对湿度应为 70%~80%，湿度过高易长杂菌，湿度过低培养器皿内的培养基会失水变干，影响培养物的生长。

5. 恒温箱

用于植物材料的培养，可以控制温度、湿度及光照等。有条件的话可选择全自动的人工气候箱。

6. 烘箱

用于干燥洗净的玻璃器皿，也可用于干热灭菌和测定干物重。用于干燥需保持 80~100℃；进行干热灭菌需保持 150℃，达 1~3h；若测定干物重，则温度应控制在 80℃ 烘干至完全干燥为止。

7. 高压灭菌锅

高压灭菌锅是植物组织培养中最基本的设备之一，用于进行培养基和器械用具的灭菌。小规模实验室可选用小型手提式高压灭菌锅。如果是连续的大规模生产，应选用大型立式的或卧式的高压灭菌锅，通常以电作能源。

8. 冰箱

分为普通冰箱和低温冰箱。主要用于贮存母液，各种易变质、易分解的化学药品以及植