



教育部职业教育与成人教育司推荐教材  
五年制高等职业教育园林专业教学用书

# 植物组织培养技术

彭星元 主编



高等教育出版社

教育部职业教育与成人教育司推荐教材  
五年制高等职业教育园林专业教学用书

# 植物组织培养技术

|     |     |     |    |
|-----|-----|-----|----|
|     |     | 彭星元 | 主编 |
| 刘 芳 | 阮淑明 | 丁雪珍 | 参编 |
|     | 曹春英 | 李娘辉 | 主审 |

高等教育出版社

## 内容提要

本书是教育部推荐使用的教材,是依据《2003—2007 年教育振兴行动计划》和教育部《关于制定〈2004—2007 年职业教育教材开发编写计划〉的通知》精神组织编写的。

本书内容包括绪论、实验室仪器设备和使用方法、植物组织培养工厂的设计、组织培养基本技术、植物快速繁殖技术、无病毒苗的培养、花药和花粉培养、细胞培养、原生质体培养和体细胞杂交、种质保存,以及常见园林植物的快速繁殖方法、实验与实训等。通过本书,可了解植物组织培养工厂的流程设计,熟悉组织培养实验室设备和使用方法,掌握植物组织培养的基本技术、快速繁殖与脱毒技术,以及南北方常见实用品种的组织培养技术。

本书适合高等、中等职业技术院校、大专函授、成人高校农林类专业使用,也是从事植物组织培养工作的人员职业培训教材和自学用书。

## 图书在版编目(CIP)数据

植物组织培养技术 / 彭星元主编. —北京:高等教育出版社, 2006. 1

ISBN 7-04-017990-3

I. 植... II. 彭... III. 植物-组织培养-高等学校-教材 IV. Q943.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 144564 号

|      |     |      |     |      |     |      |    |
|------|-----|------|-----|------|-----|------|----|
| 策划编辑 | 薛尧  | 责任编辑 | 张晓晶 | 封面设计 | 王凌波 | 责任绘图 | 朱静 |
| 版式设计 | 马静如 | 责任校对 | 金辉  | 责任印制 | 杨明  |      |    |

出版发行 高等教育出版社  
社 址 北京市西城区德外大街 4 号  
邮政编码 100011  
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司  
印 刷 唐山市润丰印务有限公司

开 本 787×1092 1/16  
印 张 11.5  
字 数 270 000

购书热线 010-58581118  
免费咨询 800-810-0598  
网 址 <http://www.hep.edu.cn>  
<http://www.hep.com.cn>  
网上订购 <http://www.landaco.com>  
<http://www.landaco.com.cn>  
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 2006 年 1 月第 1 版  
印 次 2006 年 1 月第 1 次印刷  
定 价 15.00 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 17990-00

## 出版说明

随着我国社会经济、科技文化的不断发展,人们对社会的物质和精神需求愈来愈高,提倡人与自然的和谐统一,建立人与自然相融合的人居环境已成为人们的共识和发展趋势,这一趋势也促使园林建设事业蓬勃发展。园林建设事业的发展,需要大量面向城镇园林建设第一线,从事融园林艺术、园林环境改造为一体的园林设计、施工、养护管理的应用型专门人才。

为此,我社根据教育部《关于制定〈2004—2007年职业教育教材开发编写计划〉的通知》的精神,在国家林业局人事教育司教育处的指导下,依托林业行业教学指导委员会成立了“以就业为导向的园林专业核心课程设置及教学指导方案”课题组,由禹天安、贺建伟任组长,课题组成员有:关继东、陈岭伟、罗镭、刘永齐、周业生、向民、郑金兴、周兴元、薛尧。该课题深入探讨了新形势下园林专业毕业生的岗位对课程建设和教材建设的要求,制定了相应的五年制高等职业教育园林专业教学方案(含教学计划),并已通过教育部立项审定。该方案也可作为中等职业学校制定园林专业教学方案时参考。本专业教学方案可从以下网址下载:<http://sv.hep.com.cn>,供开设园林专业的职业院校参考。

在此基础上,我社组织编写了17种园林专业核心课程教材,分别是:《植物及生态基础》、《园林美术》、《园林植物》、《园林制图》、《园林设计基础》、《园林计算机制图》、《园林测量》、《园林植物病虫害防治》、《园林植物栽培养护》、《园林绿地规划设计》、《园林工程》、《园林工程招投标与预决算》、《花卉装饰技术》、《花卉生产技术》、《苗木生产技术》、《草坪建植与养护》、《植物组织培养技术》。

上述教材已通过教育部教材审定委员会所聘请专家的审定,是教育部职业教育与成人教育司推荐的教学用书,将于2005年7月至2006年1月陆续出版。

本套教材的编写特色是:

1. 教材体系体现职业教育特色 本套教材体系设置以“夯实基础,贴近岗位”为原则,贯穿职业教育“以就业为导向”的特色。新教材中,新设《植物及生态基础》,加强了生态知识和植物生理知识的学习;新设《园林设计基础》,重在培养学生对园林美的欣赏及表达。此外,《园林美术》、《园林植物》、《园林制图》、《园林植物病虫害防治》较以往教材更注重为专业课服务的实用性。专业课程教材《园林植物栽培养护》、《园林绿地规划设计》、《园林工程》、《园林工程招投标与预决算》、《花卉装饰技术》、《花卉生产技术》、《苗木生产技术》等,其教学内容紧密结合相关岗位的国家职业资格标准要求,融入职业道德准则和职业规范,着重培养学生的职业能力和职业责任。

2. 教材体例实用性强,方便教学 专业课程教材体例突破了以往惯常使用的学科型教材体例,以工作过程为主线,由浅入深,强调操作技能。为帮助学生轻松掌握课程内容,多数教材在每学完一处或几处知识技能点后,设置随堂练习题、及时巩固所学知识、技能,在记忆和体验的基础上提高技能。每章后设有复习题,可帮助学生掌握本章学习的重点、难点。

3. 选择编写人员时注重行业经验 本系列教材编写人员,尤其是主编,大都是双师型,具有丰富的生产实践和教学实践经验,且都有编写教材的经历,使教材内容与生产实际紧密联系。

4. 教材形式多样,媒介立体化 版式设计清新,多数教材配图较多,适于阅读。《园林设计基础》、《园林美术》及《花卉装饰技术》为彩色版。《园林植物》、《园林计算机制图》、《园林植物病虫害防治》等教材配有多媒体教学课件。

本套教材的出版工作得到了国家林业局职业教育研究中心、广东省林业学校、宁波城市职业技术学院、福建林业职业技术学院、广西生态工程职业技术学院、山西林业职业技术学院、河南科技大学林业职业学院、江苏农林职业技术学院、苏州农业职业技术学院、南京森林公安高等专科学校、上海城市管理职业技术学院、云南林业职业技术学院、江西环境工程职业学院、甘肃林业职业技术学院、安徽林业职业技术学院、辽宁林业职业技术学院、山东潍坊职业学院、山东城市建设职业技术学院、天津财经大学艺术学院等单位的大力支持,并推荐了大量优秀作者,在此深表感谢!

以上教材既适合高职院校园林类专业选用,也适合中职学校园林、园艺专业更新教材时选用,使教学更贴近就业需要。欢迎各地在使用本系列教材过程中提出意见和建议,我们将认真听取,并及时调整、修订。

高等教育出版社

2005年3月

# 前 言

21 世纪是生命科学的世纪。生命科学必将在我国得到进一步发展和广泛的运用。植物组织培养技术的研究与应用是生命科学的重要组成部分,从建立之日起就在生命科学,特别是植物科学的研究与应用领域中发挥了极其重要的作用。近 20 多年来,我国植物组织培养在全国各地广泛开展,在农业生产和林业生产上取得了巨大的成就。在全国农林类院校开设植物组织培养技术课程,将充分满足农林业广大技术人员及从业人员掌握植物组织培养高新技术的客观需要,也是提高园林、种植专业职业技术教育的现代科技水平,实现专业现代化建设的重要标志。

植物组织培养技术不仅具有遗传性状相对稳定、增殖快、繁殖系数大、产量高、品质好以及生产周期短等特点,而且受气候、季节影响较小,又便于操作,可节省大量人力、物力,已成为生物科学中重要的研究技术和手段之一,推广应用前景广阔。

《植物组织培养技术》是在当前积极推动高等职业教育改革与发展的大背景下,根据教育部提出的“编写出版一批有特色的高职专业核心课程教材”的工作目标和国家林业局人教司、高等教育出版社的要求编写的。本教材依据园林、种植类职业院校学生的培养目标和要求,将理论知识和实践技能连成一体,突出技能化内容,积极培养学生的实际动手能力。

为了更进一步地认识组织培养的规律,更好地发挥它的作用,我们是在广泛调查研究、参阅大量文献资料的基础上,运用最新的科研成果,结合我国植物组织培养工作的实际,进行分析、归纳和消化吸收而编写的。主要目的有两个:一是对自己的工作进行一次总结整理;二是希望通过这本书让更多的人了解植物组织培养的基本理论,掌握培养技术,服务祖国蓬勃发展的园林绿化事业。

本书适用于农林类高等职业技术教育和中等职业技术教育(农林类高职院校和中专学校),也可作为专业技术人员培训和乡镇干部参考使用。

本书由广东省林业学校彭星元主编,并负责编写绪论,第 3 章第 4、5 节,第 4、5、9 章,第 10 章 1 至 5 节,实验与实训,附录及对有关图片进行拍摄和组织;第 1 章,第 3 章 1、2、3、6 节,第 10 章 6、7、8 节由云南林业职业技术学院刘芳编写;第 2、6、7、8 章由福建林业职业技术学院阮淑明编写;第 10 章 9、10、11 节由山东潍坊职业学院丁雪珍编写。

本书已通过教育部职业教育教材审定委员会所聘请专家的审定。主审为山东潍坊职业学院曹春英教授和华南师范大学生命科学学院李娘辉副教授。两位专家认真审阅了本书稿,提出了不少建设性意见,我们已按照专家意见进行了修改。在此,对两位专家表示诚挚的谢意!

本书在编写过程中得到许多热心朋友和同志的帮助和支持,谨致谢忱。书中引用了不少科研成果和文献资料,对这些文献的作者表示深切的谢意。

彭星元

2005 年 11 月于广州

E-mail: gdlxpxy@163.com

## 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、植物组织培养的含义       | (1)  |
| 二、植物组织培养的历史概况     | (1)  |
| 三、植物组织培养的基本原理     | (3)  |
| 四、植物组织培养的意义和作用    | (5)  |
| 复习与思考             | (8)  |
| 第1章 实验室仪器设备和使用方法  | (9)  |
| 1.1 实验室设计         | (9)  |
| 一、通用实验室           | (9)  |
| 二、材料培养室           | (10) |
| 1.2 玻璃器皿的选择与清洗    | (12) |
| 一、玻璃器皿的选择         | (12) |
| 二、玻璃器皿的清洗         | (14) |
| 1.3 常用仪器、设备及其使用方法 | (14) |
| 一、超净工作台           | (14) |
| 二、高压蒸汽灭菌锅         | (15) |
| 三、接种工具            | (15) |
| 四、培养设备            | (16) |
| 五、化学实验及分析设备       | (17) |
| 六、培养物细胞学观察设备      | (18) |
| 复习与思考             | (19) |
| 实验与实训             | (19) |
| 第2章 植物组织培养工厂的设计   | (20) |
| 2.1 厂房和场地         | (20) |
| 一、选择厂址            | (20) |
| 二、厂房的规划           | (20) |
| 2.2 设备和器具         | (25) |
| 一、超净工作台           | (25) |
| 二、高压蒸汽灭菌锅         | (26) |
| 三、培养棚架            | (26) |
| 四、照明光源            | (26) |
| 复习与思考             | (26) |
| 实验与实训             | (26) |
| 第3章 植物组织培养基本技术    | (27) |

|                           |             |
|---------------------------|-------------|
| 3.1 培养基及其配制 .....         | (27)        |
| 一、培养基的成分 .....            | (27)        |
| 二、常用培养基的配方及其特点 .....      | (30)        |
| 三、培养基的配制 .....            | (31)        |
| 3.2 外植体的选择和灭菌 .....       | (35)        |
| 一、外植体的选择 .....            | (35)        |
| 二、外植体的灭菌方法 .....          | (36)        |
| 三、污染原因和预防措施 .....         | (38)        |
| 3.3 外植体的接种和培养 .....       | (38)        |
| 一、外植体的接种 .....            | (38)        |
| 二、培养方法 .....              | (39)        |
| 三、培养条件 .....              | (40)        |
| 四、外植体褐变及其预防措施 .....       | (41)        |
| 五、试管植物的玻璃化现象及其预防措施 .....  | (43)        |
| 3.4 愈伤组织培养 .....          | (44)        |
| 一、愈伤组织的概念与形态 .....        | (44)        |
| 二、愈伤组织的诱导和分化 .....        | (45)        |
| 3.5 器官培养 .....            | (49)        |
| 一、根的培养 .....              | (49)        |
| 二、茎段培养 .....              | (51)        |
| 三、叶的培养 .....              | (51)        |
| 3.6 组培苗的驯化与移栽 .....       | (52)        |
| 一、组培苗的驯化(炼苗) .....        | (52)        |
| 二、组培苗移栽技术 .....           | (53)        |
| 复习与思考 .....               | (55)        |
| 实验与实训 .....               | (55)        |
| <b>第4章 植物快速繁殖技术</b> ..... | <b>(56)</b> |
| 4.1 植物快速繁殖技术概述 .....      | (56)        |
| 一、组培快繁方式的优势 .....         | (56)        |
| 二、组培快繁的实质 .....           | (56)        |
| 三、组培快繁的途径和方法 .....        | (57)        |
| 四、外植体材料的选择和处理 .....       | (58)        |
| 五、实现组培快繁的一般方式 .....       | (58)        |
| 六、组培快繁的对象植物 .....         | (59)        |
| 4.2 继代培养 .....            | (59)        |
| 一、驯化现象 .....              | (59)        |
| 二、衰退现象 .....              | (60)        |
| 4.3 茎培养快速繁殖方法 .....       | (60)        |
| 一、茎尖培养快速繁殖方法 .....        | (60)        |
| 二、茎段培养快速繁殖方法 .....        | (61)        |

|                            |             |
|----------------------------|-------------|
| 4.4 种子培养繁殖方法 .....         | (63)        |
| 一、种子培养方法 .....             | (64)        |
| 二、种子培养繁殖实例 .....           | (64)        |
| 4.5 叶外植体培养繁殖方法 .....       | (65)        |
| 一、叶外植体的培养繁殖步骤 .....        | (65)        |
| 二、以叶片为外植体的繁殖实例 .....       | (65)        |
| 4.6 其他外植体材料培养繁殖方法 .....    | (66)        |
| 一、根外植体的培养繁殖方法 .....        | (66)        |
| 二、花外植体的培养繁殖方法 .....        | (67)        |
| 三、果实外植体的繁殖培养技术 .....       | (67)        |
| 复习与思考 .....                | (68)        |
| 实验与实训 .....                | (68)        |
| <b>第5章 无病毒苗的培养 .....</b>   | <b>(69)</b> |
| 5.1 无病毒苗培养的意义 .....        | (69)        |
| 一、病毒在植物上的危害 .....          | (69)        |
| 二、脱毒的重要性 .....             | (70)        |
| 三、无病毒苗培育的意义 .....          | (70)        |
| 5.2 植物病毒病和无病毒种苗的生产原理 ..... | (71)        |
| 一、病毒和植物病毒病 .....           | (71)        |
| 二、植物的繁殖方式和病毒病 .....        | (71)        |
| 三、无病毒种苗的生产 .....           | (71)        |
| 5.3 茎尖培养脱毒技术 .....         | (73)        |
| 一、理论依据 .....               | (73)        |
| 二、脱毒方法 .....               | (74)        |
| 三、茎尖培养脱毒的主要技术环节 .....      | (75)        |
| 四、脱毒植物移植 .....             | (75)        |
| 五、无病毒植株的鉴定和无病毒植株的繁殖 .....  | (75)        |
| 5.4 无病毒植物的鉴定 .....         | (75)        |
| 一、目测症状法 .....              | (76)        |
| 二、指示植物法 .....              | (76)        |
| 三、血清学鉴定法 .....             | (76)        |
| 四、电子显微镜鉴定法 .....           | (76)        |
| 五、酶联免疫吸附法 .....            | (77)        |
| 六、免疫吸附电泳法 .....            | (77)        |
| 5.5 无病毒植物的利用 .....         | (77)        |
| 一、无病毒苗的隔离保存 .....          | (77)        |
| 二、无病毒植物的利用 .....           | (77)        |
| 三、无病毒植物的效果 .....           | (77)        |
| 复习与思考 .....                | (78)        |
| 实验与实训 .....                | (78)        |

|                               |       |
|-------------------------------|-------|
| <b>第6章 花药和花粉培养</b> .....      | (79)  |
| 6.1 花药培养与单倍体育种 .....          | (79)  |
| 一、单倍体育种概念 .....               | (79)  |
| 二、单倍体育种优点 .....               | (79)  |
| 6.2 花药培养技术 .....              | (80)  |
| 一、培养方法 .....                  | (80)  |
| 二、影响花药诱导频率的因素 .....           | (82)  |
| 三、花粉植株的诱导途径 .....             | (83)  |
| 6.3 单倍体植株的二倍化 .....           | (84)  |
| 复习与思考 .....                   | (85)  |
| 实验与实训 .....                   | (85)  |
| <b>第7章 细胞培养</b> .....         | (86)  |
| 7.1 单细胞的分离 .....              | (86)  |
| 一、单细胞分离的方法 .....              | (86)  |
| 二、从愈伤组织分离单细胞 .....            | (87)  |
| 7.2 细胞悬浮培养 .....              | (87)  |
| 一、培养类型 .....                  | (87)  |
| 二、悬浮培养条件 .....                | (87)  |
| 三、植物组织与细胞培养中的次生代谢产物 .....     | (88)  |
| 7.3 单细胞培养 .....               | (89)  |
| 一、单细胞培养方法 .....               | (89)  |
| 二、影响单细胞培养的因子 .....            | (91)  |
| 复习与思考 .....                   | (93)  |
| 实验与实训 .....                   | (93)  |
| <b>第8章 原生质体培养和体细胞杂交</b> ..... | (94)  |
| 8.1 原生质体培养 .....              | (94)  |
| 一、设备与用具 .....                 | (94)  |
| 二、化学试剂 .....                  | (95)  |
| 三、酶类 .....                    | (95)  |
| 四、原生质体的分离与纯化 .....            | (96)  |
| 五、原生质体培养 .....                | (99)  |
| 8.2 原生质体融合 .....              | (102) |
| 一、细胞融合的方法 .....               | (102) |
| 二、细胞融合的程序 .....               | (103) |
| 复习与思考 .....                   | (105) |
| 实验与实训 .....                   | (105) |
| <b>第9章 种质保存</b> .....         | (106) |
| 9.1 常温保存 .....                | (107) |
| 9.2 低温保存 .....                | (107) |
| 一、类别及意义 .....                 | (107) |

|                           |       |
|---------------------------|-------|
| 二、保存方法 .....              | (108) |
| 9.3 超低温保存 .....           | (108) |
| 一、超低温保存过程 .....           | (108) |
| 二、超低温保存操作 .....           | (110) |
| 三、常用超低温冷冻保存物质 .....       | (111) |
| 复习与思考 .....               | (112) |
| 实验与实训 .....               | (112) |
| 第10章 常见园林植物的快速繁殖方法 .....  | (113) |
| 10.1 兰花的快速繁殖 .....        | (113) |
| 一、兰花一般的培养繁殖方法 .....       | (113) |
| 二、几种主要兰花的组织培养繁殖方法 .....   | (116) |
| 10.2 中国水仙的快速繁殖 .....      | (119) |
| 一、培养材料的低温预处理 .....        | (119) |
| 二、不同部位的外植体对小鳞茎形成的影响 ..... | (119) |
| 三、影响小鳞茎再生的因素 .....        | (120) |
| 四、生长素对生根的影响 .....         | (121) |
| 10.3 郁金香的快速繁殖 .....       | (122) |
| 一、外植体选用 .....             | (122) |
| 二、培养基及成苗途径 .....          | (122) |
| 10.4 香蕉的快速繁殖 .....        | (123) |
| 一、外植体的选取与处理 .....         | (123) |
| 二、无性繁殖系的建立和保持 .....       | (124) |
| 三、培养基及培养条件 .....          | (124) |
| 四、遗传变异程度的控制 .....         | (124) |
| 五、组培苗的移栽 .....            | (125) |
| 六、采用花序轴作为外植体材料的培养方法 ..... | (125) |
| 七、组培苗的生产能力 .....          | (125) |
| 10.5 马铃薯的快速繁殖 .....       | (125) |
| 一、外植体材料的选取 .....          | (126) |
| 二、外植体材料的灭菌 .....          | (126) |
| 三、初代培养 .....              | (126) |
| 四、继代增殖培养 .....            | (126) |
| 五、芽苗生根与移栽 .....           | (126) |
| 10.6 满天星的快速繁殖 .....       | (126) |
| 一、有效的培养方法 .....           | (127) |
| 二、调控技术 .....              | (127) |
| 三、出瓶苗的过渡管理 .....          | (128) |
| 10.7 百合的快速繁殖 .....        | (128) |
| 一、外植体及其发生途径 .....         | (128) |
| 二、各种外植体的启动培养 .....        | (129) |
| 三、继代、生根培养与驯化移栽 .....      | (130) |

|                                                                 |       |
|-----------------------------------------------------------------|-------|
| 四、存在问题 .....                                                    | (130) |
| 10.8 桉树的快速繁殖 .....                                              | (130) |
| 一、无菌材料的建立 .....                                                 | (131) |
| 二、继代增殖 .....                                                    | (131) |
| 三、生根培养 .....                                                    | (131) |
| 10.9 菊花的快速繁殖 .....                                              | (131) |
| 一、有效的培养方法 .....                                                 | (132) |
| 二、培养条件 .....                                                    | (133) |
| 三、试管苗的驯化和移栽 .....                                               | (133) |
| 10.10 非洲菊的快速繁殖 .....                                            | (133) |
| 一、有效的培养方法 .....                                                 | (134) |
| 二、培养条件 .....                                                    | (134) |
| 三、试管苗的驯化和移栽 .....                                               | (134) |
| 10.11 葡萄的快速繁殖 .....                                             | (135) |
| 一、葡萄快速繁殖技术 .....                                                | (135) |
| 二、葡萄脱毒技术 .....                                                  | (136) |
| 复习与思考 .....                                                     | (136) |
| 实验与实训 .....                                                     | (137) |
| 实验实训1 玻璃器皿的选择与清洗 .....                                          | (137) |
| 实验实训2 托盘天平的使用 .....                                             | (138) |
| 实验实训3 显微镜的结构和使用 .....                                           | (139) |
| 实验实训4 植物组织培养工厂模拟设计与筹建 .....                                     | (141) |
| 实验实训5 外植体的选择与灭菌 .....                                           | (141) |
| 实验实训6 接种操作技术 .....                                              | (142) |
| 实验实训7 培养基配制技术 .....                                             | (144) |
| 实验实训8 植物组织培养技术 .....                                            | (144) |
| 实验实训9 植物茎尖培养再生植株技术 .....                                        | (145) |
| 实验实训10 种子培养繁殖技术(兰花的种子培养) .....                                  | (146) |
| 实验实训11 脱毒快繁植物遗传稳定性鉴定 .....                                      | (147) |
| 实验实训12 植物茎尖胚状体诱导快繁技术 .....                                      | (149) |
| 实验实训13 小麦花药培养技术 .....                                           | (149) |
| 实验实训14 烟草花药培养技术 .....                                           | (150) |
| 实验实训15 愈伤组织分离单细胞技术 .....                                        | (151) |
| 实验实训16 烟草原生质体培养 .....                                           | (151) |
| 实验实训17 大豆-烟草体细胞杂交 .....                                         | (152) |
| 实验实训18 茎尖的超低温保存——豌豆茎尖分生组织的超低温保存 .....                           | (155) |
| 实验实训19 培养细胞——悬浮培养细胞和愈伤组织的超低温保存:水稻和甘蔗<br>悬浮培养细胞和愈伤组织的超低温保存 ..... | (156) |
| 附录 .....                                                        | (157) |

|                             |       |
|-----------------------------|-------|
| 一、几种常用培养基中各种无机离子浓度的比较 ..... | (157) |
| 二、其他几种常用培养基成分表 .....        | (157) |
| 三、植物生长调节物质溶液的配制 .....       | (164) |
| 主要参考文献 .....                | (168) |

# 绪 论

## 一、植物组织培养的含义

植物组织培养 (plant tissue culture) 是指植物的任何器官、组织或细胞, 在人工预知的控制条件下, 放在含有营养物质和植物生长调节物质等的培养基中, 使其生长、分化, 形成完整植株的过程。通过对各种植物材料的无菌培养, 人们研究了愈伤组织诱导、器官分化和在离体培养条件下培养材料 (外植体) 的生长发育规律, 以及影响这些过程的各种因素。植物胚胎组织培养不仅可以克服有性杂交, 尤其是远缘杂交不育, 而且可以解决某些早熟植物如早熟桃、早熟葡萄等由于果实发育时间短, 种胚发育不完全而播种不能萌发的问题; 植物茎尖培养被广泛用来快速繁殖优良品种和新品种; 植物茎尖分生组织培养用来生产无病毒苗木; 胚乳培养可培育三倍体及多倍体植株; 花粉和花药培养可获得单倍体植株, 可以作为单倍体育种材料; 试管受精及试管微芽嫁接技术也得到发展。此外, 人们还试图应用细胞融合技术创造新的品种, 利用组织培养技术建立植物基因库, 在生物合成及次生物质生产方面的研究也越来越多。近百年来, 经过各国科学家的不断探索, 无论是植物的器官、组织和细胞的培养, 还是原生质体的分离、融合和培养均取得了显著的成效。

这项技术已在科学研究和生产上开辟了令人振奋的多个新领域, 成为举世瞩目的生物技术之一。在发展和应用这一技术上, 各国都竞相投资, 已在快速繁殖、去除病毒、加速育种进程、次生代谢产物生产和种质资源的保存等各方面取得了巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

## 二、植物组织培养的历史概况

1838—1839 年, M. Schleiden 和 T. Schwann 提出了细胞学说。在此学说的基础上, 1902 年, Haberlandt 发表了植物细胞培养的第一篇论文, 认为在某种情况下, 采用培养基培养植物的方法, 可以培养单个细胞或“人工胚”, 提出植物细胞具有全能性的设想, 即单个细胞经人工培养, 通过细胞分裂而恢复成完整植株, 并具有原植物的全部遗传性。他采用组织培养技术, 从单子叶植物叶的栅栏组织、表皮、毛、髓等分离出细胞并进行培养, 未能诱导培养细胞分裂。到 1904 年, Hanning 首次进行胚胎培养获得了成功, 他培养萝卜和辣根的胚, 发现在离体培养条件下胚胎可以充分发育, 并提早萌发而形成小苗。1933 年, 我国李继侗在培养银杏胚胎时, 发现 3 mm 大小的胚可以正常生长, 并且发现培养基中加入银杏提取液能促进离体胚的生长。这一发现为后人使用植物的胚乳汁液、幼嫩种子及果实提取液等天然物质促进培养物生长具有启示作用。1934 年, White 进行番茄根尖组织培养获得成功, 同年, Gautheret 在形成层中发现了生长素 IAA 对愈伤组织或外植体的生长有显著的促进效果。1937 年, White 发现了 B 族维生素对离体根培养的重要作用。1937—1938 年, Nobecourt 培养胡萝卜根, 并使细胞增

殖。1941年, Overbeek 用椰乳使曼陀罗的心形期幼胚在离体培养的条件下达到成熟, 随后椰乳在植物组织培养中的应用愈来愈广泛。1943年, White 重新提出了植物细胞全能性学说, 并撰写了《植物组织手册》一书。1949年, Camus 将植物的芽嫁接在培养的组织上, 结果诱导分化出维管组织, 开创了试管嫁接技术的先河。以后又有很多人对控制维管分化的因素进行了研究。1951年, Nitsch 对番茄、草莓、蚕豆等的花进行培养, 促进了对植物花器、子房、胚、胚珠及幼小果实的培养研究。1952年, Steward 等对培养中的胡萝卜根外植体的生长进行定量分析。1953年, Muir 发明了用摇床振荡的液体培养, 将万寿菊外植体的愈伤组织进行液体振荡培养, 得到了由单细胞及细胞聚集组成的细胞悬浮液, 并通过继代培养来增殖。1956年, Steward 等人用胡萝卜作材料进行组织培养, 诱导分化小植株。1959年, Melchers 和 Bergmann 培养金鱼草单倍体幼苗的组织, 在几次继代培养中, 组织能保持单倍体倍性, 但以后倍性会增加, 这一发现对研究染色体的变异很有意义。1959年, 德国 Gautheret 撰写了《植物组织培养: 原理和实践》, 这是一本全面论述植物组织培养的专著。1960年, G. Morel 采用兰属的植物茎尖进行培养, 实现了去病毒和快速繁殖两个目的。1960年, E. C. Cocking 采用纤维素酶、果胶酶等酶制剂分离番茄幼根, 获得大量健康的原生质体。1971年, L. Takebe 等首次使烟草原生质体通过细胞壁再生、细胞分裂等过程再生出了完整的植株, 确证了原生质体的全能性。1972年, P. S. Carlson 等完成了粉蓝烟草和长花烟草的原生质体融合, 实现了体细胞杂交。1962年, K. Kanta 完善了试管内传粉授精技术, 可克服发生在花粉与柱头间的两性不亲和现象。1962年, Murashige 和 Skoog 发表了促进烟草组织快速生长的培养基成分, 这就是目前非常流行、卓有成效的 MS 培养基。

1964年, 印度德里大学的 S. Guha 和 S. C. Maheshwari 培养南洋金花未成熟花药时, 发现了大量胚状体形成的小植株, 证明源于花粉粒, 是单倍体植株。后来这一发现掀起了采用单倍体育种技术以加快常规杂交育种工作速度的热潮, 取得了一批有实用价值的育种成果。我国在这方面居世界领先地位, 有 24 种以上的花粉植株是我国学者首先完成的。据 Maheshwari 的统计, 已有 23 科 52 属 160 多种植物得到了花粉植株。现在, 我国在原生质体培养、体细胞杂交、突变体筛选、去除病毒、次生代谢物发酵生产及人工包装超级种子等方面都有了进步。这些发展基本上与国际潮流相吻合。在这一领域里, 我国的研究成果正跻身于世界先进行列。

20 世纪 60 年代, 用组织培养快速繁殖兰花已获得成功, 随后发展成试管兰花工业, 开创了组织培养在生产上的应用。组织培养应用于生产的大量研究在 70 年代中期进入高潮。我国用花药培养育成了第一个烟草品种, 随后又育成了应用于生产的水稻、小麦的新品种。继马铃薯脱毒苗研究成功之后, 草莓、葡萄、大蒜和康乃馨等大量无性繁殖植物的脱毒苗也相继研究成功, 并用于生产。进入 80 年代, 又获得大量经济植物的无性繁殖系。快速繁殖被用于重要的、经济价值高的、名特优作物新品种, 如甘蔗、菠萝、草莓和柑橘等, 有的已进入不同规模的应用阶段, 成为生产实体。

综上所述, 从提出细胞学说开始, 植物组织培养经历了漫长而艰巨的道路。至今, 已建立了一套完整的植物组织培养技术, 并正在向纵深发展: 一是扩大在各种重要经济植物上的研究; 二是加强细胞的生长、生化机制和遗传变异的研究; 三是从细胞和分子水平上, 开拓新的研究内容, 如细胞器移植、DNA 导入、基因工程等。这将使植物组织培养的研究和应用向更新更高的水平发展。

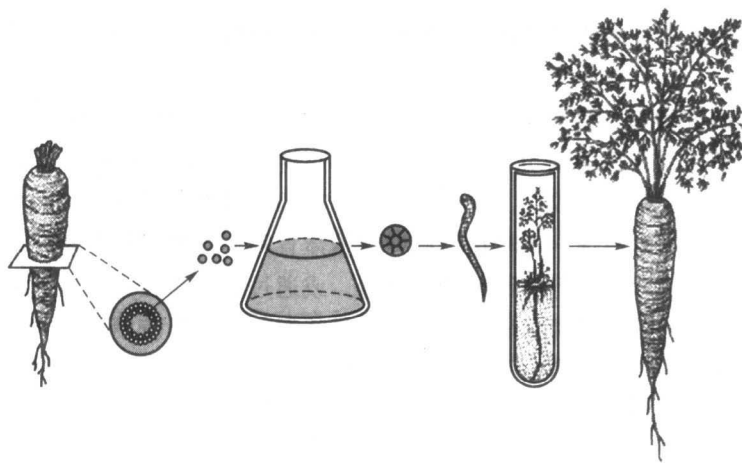
### 三、植物组织培养的基本原理

在开展实际工作, 决定科研生产项目之前, 充分了解植物组织培养的技术特点和对每种技术的应用要求是十分重要的。

#### (一) 植物组织培养的特点

##### 1. 定义和基础理论

植物组织培养技术, 就是将植物组织或细胞培养于含有特定成分的“培养基”上, 使植物组织或细胞按照预先设计的方向生长和发育, 以便取得在通常情况下所不能得到的结果的一种生物技术。植物组织培养的基础理论是植物细胞的全能性理论, 即每个细胞都拥有该物种的所有遗传信息, 并在条件合适的情况下能够发挥该物种的各种功能和具有发育成为一个正常和完整的独立个体的能力。根据这一理论, 组织培养技术通过创造各种合适的培养条件, 促使细胞或组织发挥某一功能(例如合成药物)或生长发育成完整的个体以达到特定的目的(例如快速繁殖植物种苗), 见图绪-1。



图绪-1 植物组织培养过程简图

##### 2. 技术特点

采用植物体的一小部分“组织”或“器官”作为材料进行培养, 以及整个培养过程都要严格地在无菌的条件下进行, 这两个方面构成了组织培养的技术特点。这种从植物体上切取的用来培养的材料, 在组织培养技术中有一个专用术语, 叫做“外植体”。而“组织”和“器官”则是生物学的两个术语。简单地说, 很多相同的细胞聚合在一起形成组织, 例如表皮组织、髓组织等。各种组织聚合在一起并执行一定的功能时则这些组织的聚合体就称为器官。例如叶片, 由上表皮、下表皮、栅栏组织、海绵组织和叶脉复合组织组成, 执行着光合作用和水分平衡的功能。由多种器官构成一个完整个体, 例如, 植物体由根、茎、叶、花和果实构成。组织培养简单地说, 就是将离开母体的植物组织进行培养。因此, 组织培养也称离体培养。在通常情况下, 组织培养也包括细胞、器官以及没有成熟的个体, 如幼胚和种子的无菌培养。

##### 3. 生产特点

组织培养技术和传统的生产方式相比, 具有不占耕地、生产不受季节限制, 而且能够整年