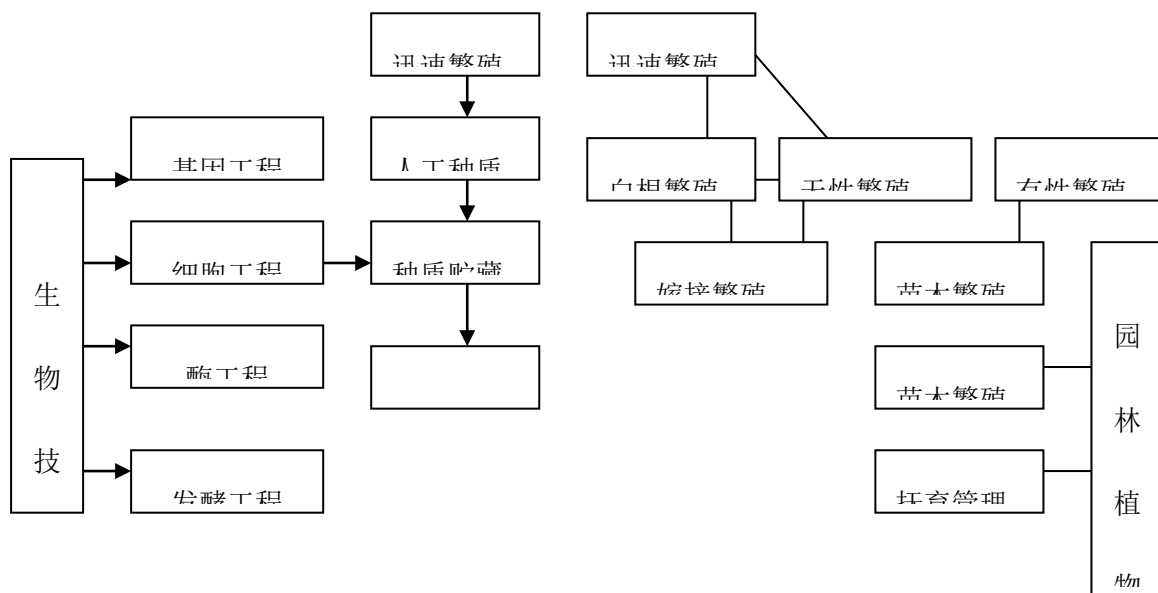


园林植物快繁技术

引言

1. 课程的性质和地位

园林抗物快繁技术是林业及园林高新技术管理专业必考的重要专业课程，是一门实践性，综合性很强的技术学科。与植物生理学、园林植物栽培学、苗圃学、市场学、管理学等学科有着亲密的关系；与此同步，它也有自身学科的性质，特点，内容及其内在构造，如园林植物快繁的基本概念，基本理论，基本技术构成和应用领域等一系列内容。因此，在学习本课程时要注意力量放在基础知识的学习和应用上，紧密联络实际和有关学科的基础知识，掌握对的分析问题，处理问题的措施。



本课程和其他课程的关系

2. 使用教材

(1) 指定教材

(2). 参照书籍

陈正峰 木本植物组织极其应用 高等教育出版社 1986

曹孜义 刘国民主编 实用植物组织培养技术教程

甘肃科学技术出版社 2023

2. 教材体系

根据教材内在的构造和便于学员学习的需要，本教材分为六部分：

绪论

第一章 离体培养的基本操作措施

第二章到第五章 根据外植体差异而划分的离体培养技术体系

第六章到第九章 离体培养的基本概论和原理

第十章到第二十五章 各论部分

重要简介某些有代表性的园艺植物种类离体培养，连同书本附表作为资料供学员参照

绪 论

通过本部分学习，理解植物离体培养学的产生与发展，理解其与其他学科和园艺（园林植物）生产的关系，掌握植物离体培养学的含义。

一、园艺植物离体培养学的基本含义

1. 植物离体培养

指通过无菌操作，使植物体的各类构造材料（外植体）接种于人工配制的培养基上，在人工控制的环境条件下，进行离体培养的一套技术与措施，一般称之为植物组织培养式植物的细胞与组织培养。

2. 离体培养技术体系

胚胎培养及以胚胎为基础的培养技术

器官及器官原基培养

组织培养

细胞培养

原生质培养及以原生质体为基础的培养技术

3. 离体培养的应用

多种的繁育与脱毒

种质资源的贮存

细胞次生代谢物质的生产

细胞工程和基因工程的生物技术育种

遗传学和生物学基础的研究

二、园艺植物离体培养学的形成与发展

（一）、植物离体培养的渊源及其初期的实践

1923年、Haber

landt提出了细胞全能性的观点，并初次进行植物细胞培养试验。

（二）、植物离体培养基本技术体系的形成

1934年White初次建立了番茄的无性繁殖系

1937年White发现B族微生物素和吲保乙酸对离体培养的作用

1934—1939年White等人初步建立起植物离体培养的基本措施

1943年White刊登了第一部植物离体培养专著《植物组织培养手册》又重新提出了细胞全能性。

1957年skaog建立了器官分化的激素配比模式。

1953年Muir报道了细胞悬浮培养法。

（三） 园林植物离体培养学科的建立

1、完善离体培养技术、探索理论基础

1964—1966年诱杀未成熟花粉形成单位体植株。

1960年分离番茄动根原生质体获得成功，

1978年首先获得了体细胞杂种——“potamato”。

植物细胞全能性为基因转化提供以便。

2、开拓应用研究

生产上应用最广泛，最成功的领域是离体迅速繁殖。

三、植物离体培养学与园艺科学的关系

(一)、离体培养与园艺植物良种繁育学

(二)、离体培养与园艺植物育种学

(三)、离体培养与园艺植物基础学科

第一章 离体培养的基本操作措施

通过学习，理解和掌握离体培养的基本操作措施包括：一般的材料选用、无菌技术、培养基配置和环境条件调控为园林植物快繁技术打下基础。

第一节 外植体的选择与处理

外植体

植物离体培养中的多种接种材料，包括植物体各个器官、组织、细胞和原生质体等。

(一) 外植体的选择

1、选择优良的种质

重要的园艺植物

选用性优良的种质先特殊的基因型

要有明确目的

具有一定的代表性

2、选择建壮的植株

生长建壮的无病虫害的植株

正常的器官和组织

数年生植物应从成年树上取材

3、选择外植体的大小

对植体太大易污染 太小多形成愈伤组织

外植体大小在0.5——1.0cm。

4、选用对植体的时期

一般按照植物生长的最适时期取材

含酚类物特多的植物，应在酚类物含量低的季节取材

从种苗圃推算苗期，增殖代数等因数，确定选用外植体的合适时期。

5、选择细胞[培养材料

一般根据细胞培养的目的 选择细胞培养材料

多数采用茎类分生组织和胚胎培养的愈伤组织作为细胞培养的起始材料。

为了生产次生代谢产物，则选用某次生物质含量高的特定器官或组织。

（二）、培养材料的处理

1、母株的预处理

促使母株的生长带谢活跃

以便取材 轻易灭菌 减少污染率

2、外植体休眠期的处理

一般采用低温或者赤霉药剂进行处理，

3、外植体的灭菌

进行严格的灭菌 林料来源 取材部位 取材季节

第 二 节 培养茎的制备

一、 培养茎的种类及构成

1. 培养茎

外植体生长的营养物质，一般有两个水平，一是基本培养茎

包括大量元素和微量元素，维生素和氨基酸，尚有糖和水。

二是完全培养茎，即在基本培养的基础上，根据多种不一样

试验规定，附加某些物质，如多种植物生长调整剂以及其他

的复杂有机附加物，外植体生长的营养物质。

基本培养茎

大量元素+微量元素+维生素+氨基酸+糖+水

完全培养茎

基本培养基+植物生长调整剂（有机附加物）

2. 固体培养基和液体培养基的比较

固体培养基

设备简朴 使用以便 充足运用培养容器中的养分

易造成自我毒害

液体培养基

需要一定的设备 有助于外植株的生长

防止上述固体培养基的缺陷

3. 常见培养基配方（参见教材附录2）

一、 配制培养基的准备工作

（一）、器皿和用品的准备

重要器具：烧杯、容量瓶、移液管、滴管、试管

器具的准备： 清洁  烘干

（二）、水和药物

水原则上用纯水，一般用蒸馏水即可

化学药物用分析，纯或化学纯

（三）、储备液的配制

1. 储备液的类型

大量元素 扩大10—50倍

微量元素 扩大100倍

铁盐 扩大100倍 ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{—EDTA}$)

植物生长调整剂 0.5mg/ml

2.储备液的配制

分别称量 溶解 混合 储存

三、配制培养基的措施

少许蒸馏水溶解蔗糖倒入1000ml容量瓶

吸取多种储备液放入容量瓶

定容

转移到大烧杯与琼脂加热溶解

PH调整

分袋

灭菌

保留备用

第一节 无菌技术

(一)、无菌室

无菌室的构成：包括无菌操作室和无菌培养室

无菌室的规定：墙壁光滑 地面平坦 门窗密闭

无菌室的灭菌：2%新洁尔灭擦洗 75%乙醇喷雾

紫外线照射： 定期使用甲醛和高锰酸钾熏蒸

（二）、试材和器具的灭菌

1. 培养基的灭菌

采用高温高压灭菌锅

工作压力为 $1.1\text{kg}/\text{cm}^2$ (120°C) 保质15—20min

注意排尽冷空气

灭菌完毕 冷却 备用

2. 特殊药物的灭菌

高温下易分解和变质的药物

过滤除菌：溶液通过孔径为 $0.20\text{—}0.45\mu\text{m}$ 的过滤网

抽滤除菌：用真空泵产生抽力，使溶液通过过滤网

3. 器皿（具）灭菌

常用干热灭菌法

工作条件为 $160^\circ\text{C}/\text{hr}$

注意用牛皮纸等包扎好器皿（具）

4. 外植体的灭菌

- (1) 75%乙醇 润浸和杀菌作用 30s
- (2) 氯化汞 浓度为0.1% 5—10min, 无菌水冲洗3—5次
- (3) 次氯酸钠 浓度2—10% 15—30min , 无菌水冲洗3—5次

(三) 无菌操作

1. 无菌操作前10min先使超净工作台处在工作状态。
2. 穿戴好工作衣帽后, 用70%酒精擦拭双手个工作台面。操作期间, 也应在擦拭多次。
3. 拔塞前, 要用火焰灼热瓶口, 用硫酸纸等做瓶盖的, 应在火焰附近打开盖子。
4. 操作时, 试管口应略略向下, 防止尘埃杀菌落入管内, 又便于操作。

第四节 环境条件的操作

(一) 光照

1. 光照时间: 12—16hr
2. 光照强度: 1000—5000/x
3. 光照长短(光源): 日光灯

(二) 温度

一般控制在 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 恒温条件下培养

（三）湿度

瓶内一般可到达100%，防止环境湿度过小，防止瓶内失水

（四）气体

防止培养室内存在有氨气体

第二章 胚胎培养和离体受精

通过学习，理解胚珠和子房培养，离体受精的胚胎培养技术，理解和掌握胚培养，胚乳培养的胚胎培养技术。

第一节 离体胚培养

（一）胚培养的意义

1. 促使发育不良或中途败育的胚发育成熟

分离发育不良的种子或即将败育前的种胚进行培养，促使胚继续发育至成熟，使杂交育种或远缘杂交获得成功，尤其对于败育胚进行初期离体培养，在遗传和育种上均具有重要意义。

2. 打破休眠期增进胚萌发

对于有休眠期的种子，可通过胚培养。促使休眠种子提早萌发成苗，缩短育种周期或加速繁育良种。

3. 克服多胚品种珠心胚的干扰

具有多胚发育受阻，其珠心胚可以侵入胚囊，使合子胚发育受阻影响杂交育种工作。运用胚胎培养技术，初期分离合子胚培养，排除珠心胚干扰，获得杂种胚。

4. 迅速繁殖良种胚末

5. 诱导胚性愈伤组织

离体胚培养的发展途径：

按正常胚胎发育途径形成植株

合子 → 球形胚 → 心形胚 → 鱼雷形胚 → 子叶形胚 → 再生植株

胚胎脱分化形成愈伤组织

胚“初期萌发”

成熟胚的培养：材料的消毒与接种，培养茎，种胚培养的外界条件

原胚培养：

基本培养茎：MS改良White培养茎；培养茎的渗透应用蔗糖调整，用量在8—10%

生长调整：及其他附加物的影响

生长调整：种类、浓度、比例

附加物：天然提取物

第二节 胚乳培养

一、胚乳培养的用途

1. 诱导分化植株，证明细胞全能性的理论。
2. 研究胚与胚乳的相生关系，胚乳组织的功能。
3. 再生的植株多为三倍体，有也许产生无籽果实。
4. 育种和性状遗传规律研究。

二、胚乳培养材料的选择：细胞型期

三、胚乳愈伤组织的诱导

四、器官分化再生植株

五、胚乳再生植株的染色体胚性

第三章 器官和组织培养

器官培养：是植株物某一器官的所有或部分或器官原基的培养

组织培养：

广义：多种类型外植株的培养。

狭义：多种器官组织，以及其培养产生的愈伤组织的培养

第一节 茎尖培养

茎尖培养：此概念应注意茎尖的含义。

一、 建立无菌材料

二、 茎尖的发育方向及调整

1. 腋芽萌芽
2. 脱分化后产生胚状体
3. 脱分化后直接产生不定器官
4. 脱分化形成愈伤组织

三、 生根成苗及移栽

增进生根的措施：①减少基本培养培养基无机茎
浓度 ②调整生长素浓度 ③添加吸附剂
④减少琼脂用量

第一节 固相化细胞培养

固相化细胞：把细胞固定在一惰性基质，如琼脂、藻酸盐、纤维或膜上面或里面、细胞不能运动，而营养液可以在细胞间流动，供应其营养。

一、固相化细胞培养的特点

二、固相化细胞系统

第三节 单细胞培养

单细胞培养：也称单细胞克隆技术，它不是指培养的只有单个细胞，而是指接种的细胞群体中，不存在悬浮培养中所也许存在的小细胞团。而是纯碎的单细胞。个单离细胞不仅仅只是在增殖阶段，它可被诱导再分化，形成完整植株。

一、单离细胞的措施

二、单离细胞培养技术措施

三、培养细胞的密度及生活率的测定

第五章 原生质培养与融合

第一节 原生质体分离

一、用以游离原生质的材料来源

二、酶混合液

三、游离原生质体的一般技术程序

四、花粉原生质体的分离

第二节 原生质体培养

一、培养茎

二、培养措施

三、原生质体的培养成果及其观测

第二节 原生质体融合：

原生质体融合：也称体细胞杂交，就是使分离下来的不一样亲本的原生质体之间在人工控制的条件下，象形细胞受精作用那样及相融合为一体。

无机盐诱导融合

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。
。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/068046131046006101>