

植物组织培养技术应用研究进展

张东旭<sup>1</sup>, 周增产<sup>1</sup>, 卜云龙<sup>1</sup>, 张洁<sup>2</sup>, 张晓文<sup>3</sup>, 张成波<sup>4</sup>

(1. 北京京鹏环球科技股份有限公司 园艺事业部 北京 100094 2. 河北农业大学 生命科学院, 河北 保定 071000;  
3. 北京市农业机械研究所 科研中心 北京 100096; 4. 中国农业科学院 北京 100081)

**摘要:** 文章对植物组织培养技术在育种、工厂化育苗、种质资源保存、次生代谢物生产、光自养型培养以及高新技术在组培生产上的应用等方面的发展现状进行了简要的概述。  
**关键词:** 植物组织培养技术; 育种; 转基因; 光自养组培技术; LED  
**中图分类号:** Q 943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)06-0209-05

自德国植物生理学家 *Haberlandt* 提出细胞全能性理论以来, 在无数科学家的努力下, 植物组织培养经过近百年的发展历程后, 该技术日趋完善和成熟<sup>[1]</sup>。随着科学技术的不断发展, 研究领域的不断拓展与深入, 植物组织培养技术的应用也越发的广泛。在生物研究方面, 已由最初的无性快繁逐步渗透到植物生理学、病理学、遗传学、育种学以及生物化学等各个研究领域, 成为生物学科中重要研究技术和手段; 在工厂化育苗方面,

产生巨大的经济及社会价值; 同时植物组织培养技术的发展也促进设施农业、食品、工业、医药业等领域发展现就植物组织培养技术应用研究进展作一简单综述。

1 在植物育种上的应用

植物组织培养技术对培育优良作物品种开辟了全新的途径。目前, 国内外已把植物组织培养普遍应用于作物育种, 并在单倍体育种、胚胎育种、细胞融合育种、细胞突变育种、基因工程育种等方面取得了较大进展<sup>[2]</sup>。

1.1 单倍体培养育种

通过对植物的花药、花粉、未受精的子房或胚珠进行组织培养获得单倍体(其中以花药和花粉培养应用最为广泛), 单倍体在培养过程中利用秋水仙素处理, 可使

第一作者简介: 张东旭(1980-), 男, 河北张家口人, 硕士, 现主要从事细胞工程、园艺、植物工厂及设施农业方面的生产与研究工作。  
Email: zhangdongxu8010@163.com.  
收稿日期: 2011-01-17

[40] 陈立松, 刘星辉. 水分胁迫对荔枝叶片超微结构的影响[J]. 福建农业大学学报, 2001, 30(2): 171-174.  
[41] 史兰波, 李云荫. 水分胁迫对冬小麦幼苗几种生理指标和叶绿体超微结构的影响(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1990(2): 28-31.  
[42] Bussis D, Heineke D. Aechmation of potato plants to polyethylene glycol-induced water deficit II contents and subcelualr distribution of organic solutes [J]. Journal of Experimental Botany, 1998(49): 1361-1370.  
[43] Butler R D, Simon E W. Ultrastructural aspects of senescence in plants.

Strehler R Led Advances on Gerontological Research[ M]. London: Academic Press, 1971; 73-129.  
[44] 李晶, 马书荣, 阎秀峰, 等. 干旱胁迫对红松幼苗针叶超微结构的影响[J]. 木本植物研究, 2000(3): 324-328.  
[45] 吴凯, 周晓阳. 环境胁迫对植物超微结构的影响[J]. 山东林业科技, 2007(3): 80-84.  
[46] 沈嘉. 人工模拟干旱胁迫对赤霞珠幼苗叶片及根系超微结构的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009.

Research Progress on Effect of Drought Stress on the Physiological Property and Microstructure in Grapevine

CHEN Li, AI Jun, WANG Zhen-xing, ZHAO Ying

(Institute of Special Wild Economic Animal and Plant Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Jilin, Jilin 132109)

**Abstract:** The effects of drought stress on physiological process contended osmotic factors, activity of defense enzyme and photosynthesis and microstructure of grapevine were summarized. At the same time, the review showed the shortcoming of nowadays research and the direction for the future in order to provide theoretical basis on developing water-saving irrigation agriculture and breeding drought-resistance varieties.  
**Key words:** grapevine, drought-stress; physiological property; microstructure

染色体加倍,成为纯合二倍体植株,这种培养技术在育种上的应用称为单倍体育种。研究表明,常规育种一般需要8~10 a或更长的时间,而通过单倍体进行育种一般只需要4~5 a的时间,单倍体育种具有程序简单、育种周期短、基因型一次纯合等优点<sup>[2]</sup>,单倍体育种是常规育种程序和方法的重大改革,尤其在林业等生长周期长的物种中效果更为显著<sup>[3]</sup>。因此,单倍体育种在国际上引起了很大的重视,各国纷纷开展单倍体育种方面的研究工作。自1964年Guha等获得世界上第一株曼陀罗的花药单倍体植株以来,已有农作物如水稻、小麦、玉米、高粱等;经济作物如大豆、橡胶、烟草、油菜等;园艺作物如苹果、葡萄、辣椒、黄瓜、油菜以及许多药用植物如枸杞、人参、地黄、平贝母等获得单倍体植株,目前已有300多种植物花药培养获得成功。1974年,我国科学家利用单倍体培育出世界上第一个作物新品种——烟草单育1号,随后又育成水稻“中华8号”、小麦“京华1号”等作物新品种<sup>[4]</sup>。现在已经培育出水稻新品种15个、小麦新品种6个。在林业育种方面我国学者在单倍体培养方面也做了大量研究,已有20~30种树木获得了花粉植株,并初选出了一些优良的杨树、橡胶等花粉植株品系<sup>[3]</sup>。我国在花药培养及单倍体育种方面总体上处于世界前列,由朱至清等研制的N6培养基广泛应用于禾本科植物的花药和花粉培养,已成为国内外花培的通用培养基<sup>[5-6]</sup>。

### 1.2 胚胎培养育种

植物的胚(包括成熟胚和幼胚)、胚珠、子房和胚乳的离体培养技术统称为胚胎培养,其应用领域主要包括胚胎发育机理、克服杂交不亲和、胚胎拯救、克服自交不亲和、克服珠心胚的干扰、打破种子休眠、获得体细胞胚和人工种子等方面,因此在农作物、园艺作物、林木和药用植物上有着广泛应用<sup>[7-10]</sup>。

在克服杂交不亲和、克服自交不亲和方面主要通过植物离体受精来实现,在广义上通过离体柱头授粉、离体子房授粉、离体胚珠授粉、离体精细胞和卵细胞融合等均称做植物离体受精(*in vitro* Fertilization, IVF)。但严格意义上的离体受精或试管受精是20世纪90年代精、卵离体融合成功<sup>[11]</sup>。该技术不仅可以克服植物授粉不亲和问题,还可以进行胚胎、种子和果实发育机理等基础研究。人工分离的精细胞和卵细胞融合后进行合子胚培养,已在玉米、药用牡丹、罂粟、烟草等植物上获得成功<sup>[12]</sup>。植物离体受精技术是植物细胞工程中的重要实验技术,为研究植物胚胎发育机理提供了新的实验系统,为开发新的植物转基因途径提供了可能<sup>[13]</sup>。

胚培养在打破种子休眠应用较为广泛,种子休眠的原因很多,利用组织培养方式打破种子休眠一般有种胚发育不全或种子含抑制物抑制种胚发芽2种情况,如胚乳发育尚不完全的兰科种子可以通过组织培养的方式

获得再生植株<sup>[14-15]</sup>,而鸢尾属、蔷薇科、野麦等植物可以通过组织培养的方式打破抑制物对种子发芽的影响<sup>[2]</sup>。另外,胚培养还可以应用于胚胎拯救。

胚乳培养的主要目的是获得具有利用价值的三倍体植株,再经过染色体加倍获得六倍体,从而育出多倍体新品种。目前有40多种植物的胚乳培养达到了不同程度的细胞分化或器官分化,不少植物已获得了再生植株。我国在马铃薯、小麦、水稻、苹果、桃、猕猴桃等10多种植物上得到了胚乳再生植株<sup>[2,6,16]</sup>。同时,胚乳培养产生的混倍体,可用于染色体工程方面的研究。

### 1.3 细胞融合培养育种

细胞融合所使用的材料一般是指利用除去植物细胞壁的裸露细胞即原生质体,通过原生质体融合,可克服种、属以上植物有性杂交不亲和性障碍,为广泛重组遗传物质开辟了新途径。同时,因去壁后的原生质体消除了核酶等对外源DNA的破坏,为携带外源遗传物质的大分子渗入细胞创造条件<sup>[2]</sup>。另外,在有些没有有性生殖能力或其有性生殖能力很低(如香蕉、木薯、马铃薯、甘蔗等)的植物作物改良中,体细胞杂交具有不可取代的重要性。从1960年Cocking采用酶解法分离原生质体获得成功,科学家们在细胞融合方面做了大量的研究工作<sup>[8]</sup>,1972年,Carlson采用聚乙二醇的方法促使两种原生质体融合,培育出第一株烟草体细胞种间杂种,使细胞融合技术产生了一个崭新的飞跃。在我国1972年开始原生质体培养和体细胞杂交的研究,迄今为止,我国科学家首先获得原生质体再生植株已有50多种,并得到多种植物的细胞杂种。通过大量的研究认为叶肉组织分离的原生质体较好,遗传性较为一致。在原生质体融合方面主要有物理(如电融合)、化学(如高PH-高钙、聚乙二醇)、生物(如仙台病毒)等融合方式<sup>[2,19]</sup>。

### 1.4 细胞突变体育种

在研究中发现,通过愈伤组织获得的再生植株中常出现基因型变异。这是因为无论是愈伤组织还是细胞培养,培养细胞均处在不断分生状态,容易受培养条件和外界环境(如物理因素、化学物质等)的影响而产生诱变。起初人们认为这种变异是有害的,直到1996年Heinz在甘蔗的再生植株中观察到许多有益的突变体,特别是抗病性方面有明显提高,此后人们才逐步认识到变异体在品种改良上有利用价值。朱至清等研究认为应用在细胞水平上进行突变体选择的技术,可以在一定程度上使高等植物的育种程序微生物化,从而大大提高选择效率,节省时间和土地面积,并且不受季节的限制<sup>[20]</sup>。利用这一特点结合人工诱变方法包括物理诱变( $\gamma$ 射线、X射线、电子束、离子束、激光、紫外线等)、化学诱变(甲基磺酸乙酯、秋水仙素、叠氮化钠、平阳霉素、52BU、EB等)和生物诱变(转座子插入突变、跳跃基因

等)获得了一大批植物新品种和新材料<sup>[7]</sup>。目前,这种方法已筛选出抗病、抗盐、高赖氨酸、高蛋白、矮秆高产的植物突变体<sup>[8]</sup>。

### 1.5 基因工程育种

通过基因枪或农杆菌进行植物基因工程育种的关键环节之一是建立一个高效的组织培养再生体系。植物遗传转化的理想受体系统应具有高效稳定的再生能力,研究认为用于基因转化的受体系统,应具有80%~90%的再生频率,且每个外植体必须具有能再生的丛生芽,其芽数量越多越好<sup>[21]</sup>。目前,用于遗传转化的受体主要有二种途径,一是外植体在激素的诱导下产生愈伤组织后再培养成体细胞胚即体细胞胚发生途径,二是诱导外植体产生单极性不定芽后再培养生成完整的再生植株即器官发生途径<sup>[22]</sup>。目前,与组培技术结合的转基因的方法主要有农杆菌介导、基因枪2种方法<sup>[23]</sup>。

自从1983年首次获得转基因植物以来,目前已有35科120多种植物转基因获得成功,用于商业化种植作物的主要有大豆、玉米、棉花、油菜、马铃薯、西葫芦、木瓜等。近年来,转基因植物在全球的种植面积增长迅速,2008年种植面积为1.25亿hm<sup>2</sup>,是推行商业化种植初期的74倍,目前,种植转基因作物的国家增长到25个,是至1996年推行商业化种植的4~5倍<sup>[24-25]</sup>。

### 2 种质资源保存

种质是指亲代通过生殖细胞或体细胞传递给子代的遗传物质。目前,保存植物种质资源的主要手段是建立田间种质基因库和种子库。但这种方法需大量的土地和人力资源,生产成本低,易遭受各种自然灾害的侵袭,同时有许多植物种质(如脐橙、香蕉等)是不产生种子即不能用种子进行贮藏。随着植物组织与细胞培养技术的发展,为人们寻求种质保存提供了新途径。利用组织培养技术保存种质具有体积小、占用空间小、增殖率高、保存数量多、培养条件可控、不受环境条件的影响、避免病虫害的再度侵染、节省土地和人力资源、有利于国际间种质交流及濒危物种的抢救和快繁等诸多优点。种质保存有常温下、常低温、低温、超低温多种保存形式。超低温保存也叫冷冻保存,主要是指在液氮(-196℃)的超低温下使细胞代谢和生长基本处于停止的状态,降低甚至完全抑制保存材料基因变异的可能性,能够做到长期地、稳定地保存植物种质资源。从1975年Henshaw和Morel首次提出离体保存植物种质(conservation in vitro)的策略以来,运用组织培养技术保存种质已在1000多种植物种和品种上得到应用,并取得良好的效果<sup>[26]</sup>。

### 3 植物次生代谢产物生产

植物几乎能生产人类所需要的一切天然有机化合物。植物的次生代谢产物种类很多,包括酚类、黄酮类、

香豆素、甾体类、酶制品、木质素、生物碱、有机酸、糖苷、萜类、皂苷和多炔类、天然色素等。每一大类的化合物都有数百种乃至数千种<sup>[27-29]</sup>,它们一直是工业、农业、医药、食品等领域原料的重要来源。长期以来,为了获取这些产物,人们大量采挖资源植物,造成许多稀有野生资源植物的短缺,甚至威胁到物种生存。利用生物反应器培养植物器官或细胞来生产次生代谢物,是提高生产效率、增加产量、解决需求不断增加与资源日益减少的有效途径。

### 4 工厂化植物快繁及脱毒方面的应用

组织培养技术有几乎不受地理环境和季节的限制、遗传背景一致、生长周期短、成本低等诸多优点。同时,结合茎尖培养方法可以去除植物病毒,使植物复壮、提高质量和产量,所以,离体快繁和植物脱毒是目前植物组织培养应用最广泛的一个方面,尤其在兰花<sup>[14]</sup>、名贵树种<sup>[30-32]</sup>、马铃薯、草莓<sup>[1]</sup>等无性繁殖为主的植物显的更是尤为重要。据估计,目前全球有关生物技术产业的年交易额约为1500亿美元,其中50%~60%与农业有关。植物组培苗的贸易额约占总额的10%,即150亿美元,并以每年15%速度递增。

1943年,White研究发现植物生长点附近的细胞组织植物病毒浓度很低甚至没有,1952年,Morel和Martin从感染病毒的大丽花植株的茎尖分生组织培养出无病毒植株。1960年,Morel又利用茎尖培养获得无病毒的观赏兰花,建立了通过原球茎继代培养周年生产兰花试管苗的方法。随着组培技术的日臻完善,20世纪60年代初,欧洲兴起了兰花的工厂化和商品化生产,即所谓的“兰花工业”。从此,在世界范围内掀起采用离体快繁及脱毒育苗的高潮<sup>[4,18]</sup>,全世界组培苗的年产量从1985年的1.3亿株猛增到1991年的5.13亿株,现在已超过10亿株。由于组培苗越来越多地被生产者所接受,导致了组培新公司的诞生就像它们繁殖的植株数量一样以指数增长。据不完全统计,美国具有组培公司250家,荷兰有70多家。在我国,离体快繁育苗技术的开发应用起步于20世纪80年代初。如华乐种苗有限公司,年生产能力在500万株以上兰花克隆苗,主要出口日本、美国、荷兰、德国等,北京杉友兰业生物科技有限公司,年生产能力为350万株兰花克隆苗,连云港振兴恒巨生物科技有限公司,年生产蝴蝶兰克隆苗3000万株,产品远销欧洲、美洲、亚洲等十多个国家和地区。据不完全统计植物快繁涉及观赏植物、蔬菜、果树、药材等300种以上,其中观赏园艺植物约200种,约占60%。在脱毒方面,如通过脱毒的马铃薯、甘蔗、甘薯、大蒜、草莓、香蕉平均可以增产30%以上,兰花、水仙、康乃馨、大丽花通过脱毒后植株生长势强、花色艳丽、花朵大、产量高<sup>[2,4]</sup>。

### 5 光自养组培技术在工厂化种苗生产中的应用

光自养组培(Photoautotrophic micropropagation)技

术又称无糖培养微繁 (Sugar-free micropropagation) 技术, 是由日本千叶大学设施园艺与环境控制专家古在丰树教授在 20 世纪 80 年代末提出的。一般认为在植物组织培养过程中的外植体是以培养基中添加的糖作为主要碳源进行生长, 糖被看作是植物组织培养中必不可少的物质。古在丰树教授试验发现即使只有米粒大小的叶片都具有一定的光合能力, 在强光照和高  $\text{CO}_2$  浓度下, 小植株完全能够进行光自养生长, 提出了用  $\text{CO}_2$  代替培养基中的糖作为植物组培苗碳源的光自养微繁理论<sup>[33-34]</sup>。随后, 国内外学者对光自养组培容器规格<sup>[35-38]</sup>、环境调控<sup>[39-45]</sup>、光照强度和  $\text{CO}_2$  浓度与生长相关性<sup>[46-48]</sup>、培养支撑材料<sup>[49-52]</sup>、有益微生物<sup>[49, 53-54]</sup> 等方面进行了大量、系统的研究。通过对以上各因素的研究表明光自养组培具有生长速度快、生长发育均匀、生长周期短、减少组培苗生理、形态上的异常、减少污染、促进光合成与植物生根、减少激素和生长调节剂的应用、简化组培生产工艺流程、可使技术和设备高度集成等诸多优点。有关研究表明因光自养组培大幅度降低了植物组培过程中的微生物污染率, 同时提高了植株的生根率、成苗率和种苗质量, 使得种苗驯化期间的成活率大幅度上升, 与传统的组织培养技术相比, 种苗生产综合成本平均降 30%<sup>[49]</sup>。

## 6 植物组织培养技术与其它高新技术结合的探索

植物组织工厂化生产中采用的人工光源存在光效低、发热量大、能耗大等缺点, 能耗成本一般占其运行费用的 40%~50%<sup>[55]</sup>。因此, 应用新型节能光源、减少能耗一直是植物组培研究的一大热点。随着光伏技术的发展, 带动了高亮度红光、蓝光与远红光发光二极管 (light-emitting diode, LED) 的诞生, 研究表明 LED 具有光电转换效率高、寿命长、耗能低、波长固定、光量可调、发热低等优点, 使其在农业领域中的应用成为可能。近年来, 利用红光 LED<sup>[56]</sup>、蓝光 LED<sup>[57]</sup> 及二者不同比例<sup>[58]</sup> 的组合对组培苗的生长做了大量的研究。一般的研究表明红光 LED 有助于叶片生长, 蓝光 LED 有助于叶绿体、植株的发育, 不同的红蓝组合下的光照对植物的生长影响不同<sup>[54]</sup>。

值得一提的是北京市农业机械研究所及京鹏环球科技股份有限公司联合打造的中国首个规模最大、设备最先进、种类最齐全的植物工厂, 已成功的将 LED、光伏太阳能、地热能整合到植物工厂中, 起到了很好的示范作用。随着科学技术的不断发展, 国家低碳、节能环保理念的不断提倡, 更多新型、可再生能源如太阳能、风能、潮汐能、地源热能等将应用到植物组织工厂化生产当中<sup>[55]</sup>。

## 参考文献

[1] 盛玉婷. 植物组织培养技术及应用进展[J]. 安徽农学通报, 2008, 14(9): 45-47.

- [2] 周维燕. 植物细胞工程原理与技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 23-38.
- [3] 马和平, 臧建成, 李毅等. 生物技术在林木育种中的应用[J]. 河北林果研究, 2005, 20(4): 343-345.
- [4] 李永文, 刘新波. 植物组培技术[M]. 北京: 北京大学出版社, 2007: 5-8.
- [5] 赤玉华. 我国植物组织培养的发展现状与前景展望[J]. 江苏农业科学, 2008(4): 20-23.
- [6] Kranz E, Kumlehn J. Angiosperm fertilization Embryo and Endosperm Development in vitro.[J]. Plant Science, 1998, 142: 183-197.
- [7] Liu S M, Sykes S R, Clingleffer P R. Improved in Ovulo Embryo Culture for Stenospermocarpic Grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. Australia Journal of Agricultural Research, 2003(54): 869-876.
- [8] 王玉柱, 孙浩元, 杨丽. 核果类果树胚培养研究进展与育种成效[J]. 果树学报, 2004, 21(4): 59-63.
- [9] 李桂英, 王琳倩, 施巾帼. 辐射花粉促进普通小麦与窄颖赖草属间杂交的研究[J]. 核农学报, 1999, 13(6): 325-329.
- [10] Chu Chih Ching. Contributions of Chinese Botanists to Plant Tissue Culture in the 20th Century[J]. 植物学报, 2002, 44(2): 1075-1084.
- [11] 杨弘远, 周娣. 被子植物离体受精与合子培养研究进展[J]. 植物学报, 1998, 40(2): 95-101.
- [12] 胡适宜. 谈谈有花植物的离体受精[J]. 大自然, 2007(4): 4-6.
- [13] 牟春红, 王彬, 谢兆辉等. 植物孤雌生殖的诱导及其在育种中的应用[J]. 中国农业科学, 2002, 35(11): 1319-1324.
- [14] 张东旭, 张洁, 张学兵等. 蝴蝶兰组织培养研究进展[J]. 现代农业科技, 2009(15): 191-193.
- [15] 董国兴. 蝴蝶兰[M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 69-80.
- [16] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1991.
- [17] 汪勋清, 刘录祥. 植物细胞工程研究应用与展望[J]. 核农学报, 2008, 22(5): 635-639.
- [18] 李永欣, 王义强. 植物组织培养的应用研究概述[J]. 江苏林业科技, 2005, 32(3): 44-46.
- [19] 李志勇. 细胞工程[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 161-185.
- [20] 朱至清. 体细胞无性系变异与植物改良[J]. 植物学通报, 1991, (增刊): 1-8.
- [21] 陈宏. 基因工程原理与应用[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 256-258.
- [22] 张洁, 张东旭, 商蕾. 转基因技术在大豆育种上的应用与研究[J]. 华北农学报, 2008, 23: 133-138.
- [23] 张东旭. 大豆胚尖再生体系的建立及 E-2 基因遗传转化[D]. 石家庄: 河北农业大学, 2008.
- [24] 王琴芳, 薛爱红, 黄大防. 转基因植物产业化现状与发展趋势[J]. 中国农业科技导报, 2000, 2(2): 33-36.
- [25] Clive Jame. 2008 年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2009, 29(3): 1-10.
- [26] 马慧, 张立军, 阮燕桦, 崔振海. 植物组织培养技术的现状与发展趋势[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(6): 1602-1604.
- [27] Funk C, Brodelius P E. Phenylpropanoid Metabolism In Suspension Cultures of *Vanilla Pkinifolia* And Metabolic Inhibitors[J]. Plant Physical, 1990, 94: 95-101.
- [28] Di menburg H, Knorr D. Generation of Colors And Flavors In Plant Cell And Tissue Culture[J]. Cnt. Rev. Plant Sc, 1996, 15(2): 141-168.
- [29] 秦海林, 李志宏, 王鹏等. 中药玉珠中新的此生代谢产物[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1): 42-44.
- [30] 罗士韦, 许智宏. 经济植物组织培养[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 108-111.
- [31] 谢耀坚. 桉树组织培养研究进展[J]. 世界林业研究, 2000, 13(6):

14-19.

- [32] 白美发. 桃树的组培快繁试验[J]. 落叶果树, 2004, 36(3): 7-8.
- [33] Kozai T, Iwanami Y. Effects of CO<sub>2</sub> Enrichment and Sucrose Concentration under High Photon Fluxes on Plantlet Growth of Carnation[J]. Japan Soc. Hort. Sci., 1988, 57(2): 279-278.
- [34] Kozai T, Koyoma Y, Watanabe I. Multiplication of potato Plantlets in vitro with sugar-free medium under high photosynthetic photon flux[J]. Acta Horticulturae, 1988, 230: 121-127.
- [35] Fujiwara K, Kozai T, Watanabe I. Development of a Photoautotrophic Tissue Culture System for Shoots and/or plantlets at Rooting and Acclimatization Stages[J]. Acta. Hort., 1988, 230: 152-158.
- [36] Kubota G, Kozai T. Growth and Net Photosynthetic Rate of Solanum Tuberosum in vitro under Forced Ventilation[J]. HortScience, 1992, 27: 1312-1314.
- [37] Heo J, Kozai T. Forced Ventilation Micropropagation System for Enhancing Photosynthesis, Growth and Development of Sweet Potato Plantlets[J]. Environ. Cont. Biol, 1999, 37: 83-92.
- [38] Xiao Y, Zhou J, Kozai T. Practical sugar-free Micropropagation System using Large Vessels with Forced Ventilation. In: Kubota G, Chun Ceds. Transplant Production in the 21st Century. Dordrecht[J]. Kluwer Academic Publishers, 2000: 266-273.
- [39] Michio K, Masakatsu O, Michiko A. The effect of Carbon Dioxide Enrichment, Natural Ventilation, and Light Intensity on Growth, Photosynthesis and Transpiration of Cauliflower Plantlets Cultured in vitro Photoautotrophically and Photonixotrophically[J]. Amer. Hort. Sci., 1998, 123(2): 176-181.
- [40] Kozai T, Chieri B R J. Environmental Control for the Large Scale Production of Plant Through in vitro Techniques[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1997, 51: 49-56.
- [41] Hayashi M, Kozai T. Development of a Facility for Accelerating the Acclimatization of Tissue Cultured Plantlets and the Performance of Test Cultivation[J]. Belgium; Symp. Florizel on Plant Micropropagation in Hort. Ind, 1987: 123-134.
- [42] Kitaya Y, Sakami K, Kozai T. Development of Photoautotrophic Plant Tissue Culture System Using CO<sub>2</sub> from Shiitake Mushroom[J]. Acta Horticulturae, 1995, 393: 195-202.
- [43] 刘再亮. 密闭式人工光组培室的环境控制与洁净技术的研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2004: 51.
- [44] 徐志刚. 组培微环境与规模化育苗设施环境调控的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2002: 128.
- [45] 丁永前, 丁为民, 崔瑾等. 组培环境 CO<sub>2</sub> 增施监控系统的设计与试

验[J]. 农业工程学报, 2002, 18(1): 96-98.

- [46] Lakso A N, Reisch B I, Mortensen J, et al. Carbon Dioxide Enrichment for Stimulation of Growth of in vitro Propagated Grapevines after Transfer from Culture[J]. Amer. Soc. Hort. Sci., 1986, 111(4): 634-638.
- [47] Desjardins Y, Lafoxe F, Lussier G, et al. Effect of CO<sub>2</sub> Enrichment and High Photosynthetic Photon flux on the Development of Autotrophy and Growth of Tissue Cultured Strawberry Raspberry and Asparagus Plants[J]. Acta Hort, 1988, 230: 45-53.
- [48] Nguyen Q T, Kozai T, Heo J, et al. Photoautotrophic Growth Response of in vitro Cultured Coffee Plantlets to Ventilation Methods and Photosynthetic Photon Fluxes under Carbon Dioxide Enriched Condition[J]. Plant Cell Tiss. Org., 2001, 66(3): 217-225.
- [49] 肖玉兰. 植物无糖微繁快繁工厂化生产技术[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003: 176.
- [50] 蔡能, 易自力, 李祥. 改善植物大规模组织培养条件的研究进展[J]. 植物学通报, 2003, 20(6): 745-751.
- [51] 曲英华, 胡秀婵, 吴毅明. 植物组织培养新技术: 光独立培养法[J]. 农业工程学报, 2001, 17(6): 90-93.
- [52] 徐志刚, 丁为民, 丁永前等. 规模化组培育苗设施环境与控制的研究进展[J]. 农业机械学报, 2002(1): 106-110.
- [53] Budi S W, Cordier C, Trouvelot A, et al. Arbuscular mycorrhiza as a way of promoting sustainable growth of micropropagated plants[J]. Acta Horticulturae, 1998, 457: 71-77.
- [54] Cassells A C, Mark G L, Periappuram C. Establishment of arbuscular-mycorrhizal fungi in autotrophic strawberry cultures in vitro[J]. Comparison with inoculation of microplants in vivo. Agronomie, 1996(16): 625-632.
- [55] 杨其长. LED 在农业与生物产业的应用与前景展望[J]. 中国农业科技导报, 2008, 10(6): 42-47.
- [56] Tanaka T, Watanabe A, Amano H, et al. P-type conduction in Mg-doped GaN and Al<sub>0.08</sub>Ga<sub>0.92</sub>N grown by metalorganic vapor phase epitaxy[J]. Appl. Phys. Lett, 1994, 65: 593-594.
- [57] Puspita R P, Kataoka I, Mochioka R. Effect of red and blue light emitting diodes on growth and morphogenesis of grape[J]. Plant Cell Tiss. Organ Cult, 2008, 92: 147-153.
- [58] Nhut D T, Takamura T, Watanabe H, et al. Efficiency of a novel culture system by using light-emitting diode (LED) on in vitro and subsequent growth of micropropagated banana plantlets[J]. ISHS Acta Horticulture, 2003, 616: 121-127.

(注: 本文作者还有蔡伟健、康静、肖政, 单位同第一作者。)

## Research Progress on Plant Tissue Culture Technology

ZHANG Dong-xu<sup>1</sup>, ZHOU Zeng-zhan<sup>1</sup>, BU Yun-long<sup>1</sup>, ZHANG Jie<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-wen<sup>3</sup>, ZHANG Cheng-bo<sup>4</sup>,  
CAI Wei-jian<sup>1</sup>, KANG Jing<sup>1</sup>, XIAO Zheng<sup>1</sup>

(1. Business Department of Horticulture, Beijing Kingpeng International High Technology Corporation, Beijing 100094; 2. College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000; 3. Scientific Research Centre, Beijing Agricultural Machinery Institute, Beijing 100096; 4. Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

**Abstract:** The development current situation of plant tissue culture technology in breeding, industrial propagation, germplasm conservation, production of secondary metabolites, photoautotrophic tissue culture techniques and the application of high technology in tissue culture production etc were summarized in this paper.

**Key words:** plant tissue culture technology; breeding; transgenic; photoautotrophic tissue culture techniques; LED