

# Research Progress on Plant Tissue Culture System of Saving Energy and Reducing Consumption

Guoshu Li<sup>1,2</sup>, Chengdong Xu<sup>1,2</sup>, Bo Wang<sup>1</sup>, Tianxing Li<sup>1</sup>, Xiaohua Liang<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Normal University, Chuxiong

<sup>2</sup>Institute for Bio-Resources Research and Development of Central Yunnan Plateau, Chuxiong

Email: [hsxlgs@cxtc.edu.cn](mailto:hsxlgs@cxtc.edu.cn)

Received: Mar. 4<sup>th</sup>, 2014; revised: Apr. 2<sup>nd</sup>, 2014; accepted: Apr. 12<sup>th</sup>, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

Plant tissue culture technology has been widely used in agriculture, medicine and chemical industry, etc. But there exist large investment, a large amount of energy consumption, need of a large number of technical personnel for aseptic operation, such as the status quo. This paper comprehensively introduces the measures to reduce the production cost, save energy and reduce consumption during the whole process of plant tissue culture, which include explant disinfection, alternative and recycling of media supports, application of antibacterial agent and bacteriostasis on the inhibition of media and cultures pollution, using natural light and greenhouse temperature instead of fluorescent lamps. Perspectives to further reduce the costs and simplify the production processes are also put forward in this paper.

## Keywords

Saving Energy and Reducing Consumption, Sterile, The Research Progress, Plant Tissue Culture

---

# 植物组织培养节能降耗研究进展

李国树<sup>1,2</sup>, 徐成东<sup>1,2</sup>, 王 波<sup>1</sup>, 李天星<sup>1</sup>, 梁晓华<sup>1</sup>

<sup>1</sup>楚雄师范学院化学与生命科学系, 楚雄

<sup>2</sup>滇中高原生物资源开发与利用研究所, 楚雄

Email: [hsxlgs@cxtc.edu.cn](mailto:hsxlgs@cxtc.edu.cn)

收稿日期：2014年3月4日；修回日期：2014年4月2日；录用日期：2014年4月12日

## 摘要

植物组织培养已广泛应用于农业、林业、医药、化工等领域，在组培中存在经费投入多、能源消耗量大、无菌操作需要大量技术人员等现状。本文综述了组培环节中外植体消毒、培养基支撑物替代与循环利用、应用抗菌剂和抑菌剂抑制培养基及培养物污染、采用自然光照和大棚温度来代替组培日光灯光照等方面降低植物组织培养生产成本、节能降耗的研究进展，并提出进一步降低组培成本、简化生产工艺的发展方向。

## 关键词

节能降耗，无菌，研究进展，植物组织培养

## 1. 引言

植物组织培养技术自 20 世纪 30 年代初期建立以来，已被广泛应用于植物的离体快速繁殖、无病毒苗木培育、植物品种改良、基因工程、细胞工程、种质资源保存、次生代谢产物生产、人工种子等现代生物学领域，构成了基因工程、细胞工程、发酵工程等生物高技术领域的基础，对现代农业、林业、医药、化工等领域产生了深刻的影响。

植物组织培养必须在无菌状态下操作，要求外植体表面无菌、培养基需要高压蒸气灭菌消毒、培养瓶及接种工具均需要无菌、培养环境相对无菌，这样做既消耗大量的电能和时间，还需要大量的人力、物力。在培养物的诱导和增殖中，接种或转种都要求在无菌超净工作台内进行，从而伴随着组培转接次数多、周期长、消耗物力和人力、污染严重等现状。因此，无菌环境、操作、培养成为植物组织培养投资大、成本高、大量消耗能源和人力的根本原因。

国内外研究人员针对当前植物组培中存在的问题，从植物组织培养环节入手，进行了大量关于植物组织培养节能降耗技术和方法的研究，并取得一定的进展。本文主要阐述了近几年来国内外关于植物组织培养节能降耗的研究进展，并提出了进一步降低组培成本、简化生产工艺的建议。

## 2. 外植体表面消毒处理的节能降耗研究进展

外植体是指用于植物组织培养的接种材料，它包括植物的各个器官、组织、细胞和原生质体等。进行植物组织培养时，所采用的外植体一般都是从自然界或室内采集的植物器官和组织，携带有各种微生物，这些外界杂菌一旦进入培养容器或培养室内，造成培养基和培养材料污染、霉变和死亡，无法再进行植物组织培养，因此，必须对外植体进行严格的表面消毒灭菌处理。

目前，对外植体进行消毒灭菌的方法主要采用升汞、次氯酸钠、次氯酸钙、硝酸银、溴水、 $H_2O_2$  等消毒剂，这些消毒液要么含有毒性较大的汞离子、银离子、氯离子，要么含有较高浓度的氯离子、溴离子，容易对外植体产生药害，尤其是对氯离子敏感的植物更为明显，并且，使用这些消毒剂既对人体健康造成影响，也会对周围环境造成危害。国内学者和研究人员都在积极研究改变外植体消毒灭菌的方法。印度 Singh, V. 等[1]和黄甫幼丽等[2]结合高温对微生物具有致死作用原理，采用热击法、碱酒精燃烧法对外植体进行表面消毒处理。结果表明：外植体浸染率仅为 3%~5%，比传统的化学消毒液处理效果好，同时改变外植体的消毒法后，不仅可以避免汞离子、银离子、氯离子对外植体、操作人员及环境造成的影

响,而且达到更好的消毒效果,同时还节约了大量的灭菌水和灭菌器皿,节省了大量灭菌水、灭菌器皿的灭菌时间和能源。

### 3. 降低植物组培成本的研究进展

#### 3.1. 改良培养基,降低组织成本方面

培养基(Medium)指由人工配制而成,含有大量元素、微量元素、糖、氨基酸、维生素、植物激素与水等基质,供给植物体、植物器官、微生物和动物组织、器官生长发育的物质。植物组织培养多用固体培养基,在固体培养基中,使用琼脂、卡那胶、塑胶等凝胶类物质作为支撑材料,它具有操作简单、支撑效果好、容易观察等现状,但它与培养材料的接触面积小、各种营养物质扩散慢、培养基不能循环利用,导致大量未被植物吸收利用的营养物质流失、废弃,加大了组培能耗和环境污染,也增加了成本。

近年来,国内外学者积极改良、探索降低成本培养基成本的研究。在培养基的水和碳源替代方面运用自来水代替蒸馏水、用食用白砂糖代替分析纯蔗糖进行铁皮石斛壮苗培养[3];采用市售白糖代替分析纯蔗糖(化学纯蔗糖的价格是普通白糖的5倍)、用凉开水代替蒸馏水等[4][5]。这些研究表明:代替后外植体的萌芽生长率没有影响,生根培养中苗木的生根率、苗木鲜重、干重、苗木数量、移栽成活率等均无显著差别,但是经过白糖代替蔗糖、用凉开水代替蒸馏水后,节约了能源、简化了生产工艺、降低了生产成本,每瓶培养基的价格减少到0.20元。

#### 3.2. 改良培养基支撑体,实现支撑体循环利用的研究

在培养基的支撑体替代方面:利用蛭石为支撑体较凝胶剂,组培物的玻璃化现象减少、猕猴桃组培苗生根早、移栽成活率提高[6][7];利用岩棉块作为培养基支持培养蝴蝶兰时,组织培养苗根系发育,减少根系间相互缠绕,有利于栽植成活[8]。陈青瑛[9]等的研究证实棉籽壳和珍珠岩替代凝胶剂用于葡萄生根培养中,同样也取得较好的效果,提高了生根率,获得了高质量的试管苗。

研究发现,在葡萄、杜鹃、铁皮石斛的组织培养中用河沙、珍珠岩、树皮屑等多孔培支撑体取代琼脂等凝胶剂利于改善组培苗根际环境,促进组培苗的分化、生根及生长。这主要是由于河沙、珍珠岩、树皮屑等培养基支持体具有高孔隙度、高气体扩散性和高含氧量,能够克服培养基中植物生长所需的营养元素的移动性差、不能循环利用等特点,有利于组培苗的生长,提高移栽成活率,并且河沙、珍珠岩、树皮屑等培养基支持体本身价格低廉,可多次重复利用,从而达到降低成本的目的。

#### 3.3. 应用低成本材料替换培养设备方面的研究

就培养器皿而言,三角瓶、试管、组培玻璃瓶等是植物组织培养中必不可少的培养器具,尤其是三角瓶和试管,它瓶壁薄、容易破损;口径小、难以清洗,同时,三角瓶的加工成本高(三角瓶的价格是普通玻璃瓶的10倍)。已有研究表明:可以用普通果酱瓶代替三角瓶[10],用新的简易塑料瓶代替三角瓶,降低培养器皿成本[11]。

#### 3.4. 改善培养环境,降低组培成本的研究

植物组织培养是在无菌和人工控制的环境条件下,给予适宜的温度、光照、通气等培养条件,使外植体等材料进行诱导、分化、增殖,发育成完整植株。因此,培养瓶及培养室的环境条件对植物组织培养成功与否有着重要影响。由于传统的组培为了阻止微生物侵入,要求培养容器体积小、密封性好,对环境因子的测量和调控十分困难,导致植物繁殖周期不稳定、组培苗之间的生长差异大、驯化阶段苗的成活率低,不利于自动化控制操作和组培苗生产的规模化生产。

### 3.4.1. 应用新型光源，减少电能消耗，降低成本、提高效益研究

光照是植物组织培养中必不可少的重要因素之一，光照长短、光质、光周期对植物的生长、形态建成、光合作用、新陈代谢及基因表达均有调控作用。传统的组织培养光源灯采用日光灯、钨灯等，存在电能消耗大、发热量大、光照不均匀、灯管使用寿命短等缺点。日本 Tanaka 等[12]较早地利用 LED 作为兰花组培苗光源，发现红光可促进大花蕙兰试管苗叶片的生长；Le Van 等人[13]研究表明在红蓝光比例为 3:1 时，植物愈伤组织的生长效果最佳，100% 的红光对愈伤组织的诱导率最高。Anzelika 等[14]在对葡萄的组织培养中发现光谱中的蓝光成分阻止试管苗的伸长，但能促进叶的形成和各种光合色素的合成。已有研究表明，利用 LED 作为光源可以显著改善植物试管苗的生长状况和提高其品质[15]-[17]，日本的田中道男等运用阴极荧光灯(CCFL)作为文心兰试管苗光源，结果表明其地上部干、鲜重和试管苗的高度都有显著提高。目前 LED 光照系统是组织培养中最有效的人工照明光源[18] [19]，而 CCFL 等新型光源是未来发展的主要方向[20]-[23]。

### 3.4.2. 用自然温度和太阳辐射光光照代替日光灯的研究

植物组织培养中温度和光照是影响植物生长和发育重要因素之一，传统植物组织培养中，要求温度为 25℃~28℃，光照强度为 1000~5000 lx。每天光照 10~16 小时，植物组织培养室环境调控温度和光照所需要消耗的电能较大，何川生等[24]进行烟草组织培养研究发现夏秋季节在普通实验室中，以自然温度和太阳辐射光照代替日光灯进行固体培养，实验前后的差异不明显；在夏秋季节采用自然光源代替人工辅助光照是可行的[25]-[27]；另外课题组成员也曾经尝试过：待铁皮石斛、葡萄试管苗完成生根后，转移到简易的塑料大棚中，利用自然温度和太阳辐射光同样可以完成组培苗的生长、生根及炼苗过程，并且还有利于组培苗的移栽成活。因此，利用自然温度和太阳辐射光光照代替日光灯，可以减少能源消耗，降低了成本。

## 4. 改变植物组织培养物生长环境方面的研究

传统的植物组织培养通常采用容积较小的培养容器以降低培养基中糖引起的污染，属于严格的封闭式培养，容器中的空气流动性差，相对湿度高，CO<sub>2</sub> 浓度低。因而造成灭菌成本偏高、培养基易污染、外界环境调控难度大等缺点。开放组织培养技术是在外加抗菌剂的条件下，使植物组织培养脱离严格无菌的操作环境，不需高压灭菌和超净工作台，使用抑菌剂抑制培养基中微生物繁殖和污染，在自然光的温室里就可以快速繁育出合格、健壮的植物组培苗。在自然开放的有菌环境中进行，恰好弥补了这些不足。王赵玉、赵青华等[28] [29]采用开放式组培技术，在培养基中添加抑菌剂，克服了非灭菌条件下魔芋组织培养污染问题，有效地简化了实验步骤，降低了生产成本。崔刚、张薪薪等[30]-[34]用开放式组织培养技术进行葡萄外植体组培的试验，结果表明：采取开放式组织培养技术能获得数量较多、质量较高的萌发腋芽，获得外植体的成功率为 97.7%。

## 5. 发展方向

### 5.1. 创新外植体消毒处理方法研究

在外植体处理时，按照常规外植体采集、修整处理后，结合污染外植体的微生物多为单细胞生物、表面积大、新陈代谢率高、繁殖快等特点，采用紫外线、超声波、碱酒精燃烧等常规的外植体消毒方法处理；同时探索利用青霉素、庆大霉素、氯霉素等抗生素和黄连、大蒜、板蓝根等植物杀菌素来抑制或直接杀灭外植体表面微生物，研制外植体处理的新型抗菌消毒剂，综合创新外植体进行表面消毒处理新方法，既能解决目前外植体处理必须依赖于难以清洗、易造成外植体药害或褐变；又对人体健康和周围环境造成危害的化学消毒剂进行制约，能够提高外植体消毒后的存活率、降低污染率和褐变率、节省外



植体用量。节约了大量无菌水、灭菌器皿，同时节省处理时间，可大幅度地降低能源消耗和人力资源。常规外植体处理需要采集 - 修整 - 自来水漂洗 - 移入超净工作台 - 化学消毒剂处理 - 无菌水多次冲洗等多个环节步骤。完成创新外植体消毒处理研究后，若以每一试验材料消毒时间按 5 秒钟计算，120 个试验材料的消毒时间仅需 10 分钟，比用常规消毒方法时间节省 5 倍以上、还可以免除无菌水多次冲洗等环节，节省大量的无菌水。

## 5.2. 改良培养基支撑物、实现废弃支撑物的循环利用

培养基内含有植物生长发育的各种营养物质，植物组织培养多采用的固体培养基中还含有大量凝胶类物质作为支撑材料。因此，深入研究培养物的生理特性，系统研究培养基中的营养元素与支撑材料的透气性、保水性和保肥性的关系，采用价格低廉、具有高孔隙度、高含氧量的河沙、树皮、秸秆、锯木屑等废弃物或可循环利用固体材料等替代琼脂、卡那胶、塑胶等凝胶类物质作为支撑材料，改善组培物的水分、氧气和养分供给等环境条件，解决常规固体培养基中营养元素移动性差、不能循环利用、大量排除富集养分和琼脂等废弃物的缺点，同时实现培养基支撑材料的多次重复利用，从而达到降低成本的目的。

## 5.3. 简化组培工艺及操作程序研究

三角瓶、试管、组培玻璃瓶等均是植物组织培养中必不可少的培养器具，但新、旧三角瓶、试管、组培玻璃瓶都需要清洗后才能使用。在清洗三角瓶、试管、组培玻璃瓶时不仅需要大量的洗衣粉、洗洁精、自来水，而且还需要大量的人力和时间。普通情况下，清洗每个三角瓶、组培玻的成本需要 0.05~0.10 元。因此，可进一步研究利用聚丙烯塑料瓶(其成本仅为 0.03~0.07 元)代替培养瓶(一次性塑料饮水杯和食品保鲜膜作为培养容器和封口材料)的组培流程、生产工艺，解决了植物的组织培养过程中，既不需要清洗玻璃培养瓶，节省了清洗培养瓶的水资源，节约了劳动力成本，使培养器具每瓶成本降低 84.3%，达到降低组织培养成本的目的。

## 5.4. 改善培养环境、研制开放式接种工艺流程

植物组织培养是在严格无菌和人工控制的环境条件下进行，如果加大培养基中外加大蒜素、青蒿素、多菌灵、纳米抗菌剂等新型安全、高效、无毒、环保的抗菌剂和抑菌剂研究，探索出既能抑制培养基污染、又不影响植物组织正常生长的植物组织培养抑菌剂，使植物组织培养脱离严格无菌的操作环境，不需高压灭菌和超净工作台，在无防菌、控菌条件的自然光温室里就可以快速繁育出合格、健壮的植物组培苗，彻底实现开放式植物组织培养，突破了组培必须“无菌”的概念。同时，对组织培养条件下植物的生长、形态建成、光合作用、新陈代谢以及基因表达均有调控作用研究，突破了人工光源培养的限制，应用塑料大棚、普通房屋，甚至露天进行组培物的培养，构建的全新组培快繁技术新体系，既可以简化培养工艺流程、又能大幅度降低植物组织培养的能源消耗，全面促进植物组织培养技术的发展。

## 项目基金

云南省植物学重点学科、云南省高校科技创新团队支持计划、楚雄师范学院重点学科建设项目(05YJJSXK03)资助。

## 参考文献 (References)

- [1] Singh, V. (2011) Identification and prevention of bacterial contamination on explant used in plant tissue culture labs. *International Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 3, 160-163.
- [2] 皇甫幼丽 (1985) 果树组织培养消毒新方法. *农业科技通讯*, 12, 16.

- [3] 刘群, 张治国 (1998) 铁皮石斛试管繁殖降低成本的研究. *中国现代医学杂志*, **6**, 15-17.
- [4] 张春华, 廉美兰, 朴炫春, 等 (2005) 植物组织培养中降低培养基成本的研究. *延边大学农学学报*, **4**, 261-264.
- [5] 马均, 马明东 (2007) 曼地亚红豆杉组培快繁技术的简化. *林业科技*, **6**, 1-2.
- [6] Kirdmanee, C., Kitaya, Y. and Kozai, T. (1995) Effects of CO<sub>2</sub> enrichment and supporting material *in vitro* on photoautotrophic growth of Eucalyptus plantlets *in vitro* and *ex vitro*. *In Vitro Cellular & Development Biology Plant*, **31**, 111-118.
- [7] 王碧琴 (1997) 不同固化物对中华猕猴桃乳试管苗生根的影响. *江西林业科技*, **4**, 12.
- [8] Tanaka, M., Yoneyoma, M. and Minami, T. (1993) Micropropagation of phalaenopsis by using synthetic seeds in film culture vessels. HMSO Publications Centre, Glasgow.
- [9] 陈青瑛, 范国成, 陈景耀 (1997) 植物组织培养节省成本的初步试验. *福建果树*, **1**, 3-7.
- [10] 王玉军 (2000) 简化植物组培快繁技术体系的研究. 硕士学位论文, 山东农业大学, 泰安.
- [11] Sathiyamoorthy, P. and Shanmugasundaram, S. (1996) A low cost culture vessel for *in vitro* culture of plants. *Current Science*, **70**, 18-19.
- [12] Tanaka, M., Takamurai, T. and Watanabe, H., et al. (1998) *In vitro* growth of cymbidium plantlets cultured under super bright red and blue light-emitting diodes (leds). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, **73**, 39-44.
- [13] Huan, Le Van T. and Tanaka, M. (2004) Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in cymbidium orchid. *Environmental Control in Biology*, **42**, 57-64.
- [14] Kurilčik, A., Miklušytė-Čanová, R., Žilevskaitė, S., et al. (2007) *In vitro* cultivation of grape culture under solid-state lighting. *Sodininkystė ir Daržininkystė*, **26**, 235-245.
- [15] 将要卫 (2006) 大花蕙兰、蝴蝶兰试管苗光合自养培养体系初步建立. 河南农业大学, 郑州, 33-42.
- [16] 张婕, 高亦珂, 何琦, 等 (2008) 发光二极管(LED)在菊花组织培养中的应用研究. 中国观赏园艺研究进展, 2008——中国园艺学会观赏园艺专业委员会. 2008年学术年会论文集, 296-299.
- [17] 邱秀茹, 焦学磊, 崔瑾, 等 (2008) 新型光源辐射的不同光质比对菊花组培苗生产的影响. *植物生理学通讯*, **4**, 661-664.
- [18] 崔瑾, 徐志刚, 邱秀茹 (2008) LED在植物设施栽培中的应用和前景. *农业工程学报*, **8**, 249-252.
- [19] 魏灵玲, 杨其长, 刘水丽 (2007) LED在植物工厂中的研究现状与应用前景. *中国农学通报*, **11**, 408-411.
- [20] 李盟, 高亦珂 (2009) 植物组织培养新技术研究进展. *广东农业科学*, **3**, 152-154.
- [21] Andrew, C. and Schuerger, J.T. (2006) Effects of artificial lighting on the detection of plant stress with spectral reflectance remote sensing in bioregenerative life support systems. *International Journal of Astrobiology*, **5**, 151-169.
- [22] 闫新房, 丁林波, 丁义, 等 (2009) LED光源在植物组织培养中的应用. *中国农学通报*, **12**, 42-45.
- [23] 杨其长 (2008) LED在农业与生物产业的应用与前景展望. *中国农业科技导报*, **6**, 42-47.
- [24] 赵根, 潘月, 杨钰, 等 (2013) LED光源在设施园艺生产中的应用与前景. *浙江农业科学*, **9**, 22-25.
- [25] 何川生, 王晓云, 雷永和, 等 (1998) 烟草快速繁殖及培养的研究. *云南农业大学学报*, **4**, 392-395.
- [26] 王玉军 (2000) 简化植物组培快繁技术体系的研究. 硕士学位论文, 山东农业大学, 泰安.
- [27] Kodym, A. and Zapata-Arias, F.J. (2001) Low-cost alternatives for the micro-propagation of banana. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, **66**, 67-71.
- [28] 王赵玉, 张健雄, 户新宇, 等 (2008) 抑菌剂在开放式植物组织培养中的应用研究. *北方园艺*, **12**, 125-127.
- [29] 赵青华, 陈永波, 杨朝柱 (2009) 魔芋开放式组织培养技术初探. *氨基酸和生物资源*, **4**, 79-82.
- [30] 单文修 (2005) 一种非无菌条件下的植物组织培养方法. CN: 1628507A, 中国.
- [31] 李江, 马正炳, 孙仲序, 等 (2003) 植物组织培养的简化. *植物生理学通讯*, **4**, 356-358.
- [32] 崔刚, 单文修, 秦旭, 等 (2004) 葡萄开放式组织培养外植体系的建立. *中国农学通报*, **6**, 36-38.
- [33] 崔刚, 单文修, 秦旭, 等 (2004) 植物开放式组织培养研究初探. *山东农业大学学报: 自然科学版*, **4**, 529-533.
- [34] 张薪薪, 唐金花, 王关林 (2005) 抑菌剂在开放组培中的使用及效果研究. *辽宁师范大学学报: 自然科学版*, **4**, 466-469.