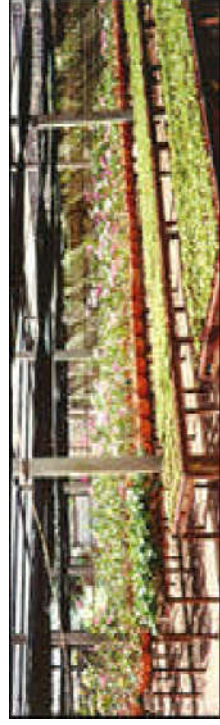


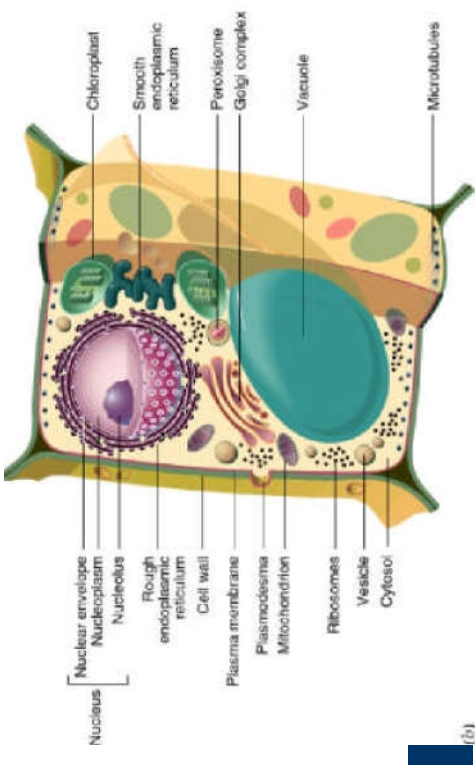
第二章 植物组织培养基础




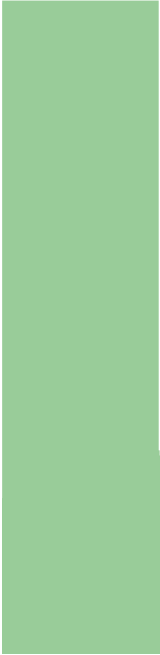
第一节. 植物组织培养的原理



一、细胞全能性



- **定义：植物的每个细胞都具有该植物的全部遗传信息和发育成完整植株的能力。**
- **根据细胞理论，细胞是生物有机体的基本结构单位，特别是植物细胞又是在生理上、发育上具有潜在全能性较强的单位。**



- 在植物的生长发育中，从一个**受精卵**产生具有完整形态和结构机能的植株，这是**全能性**，是该受精卵具有该物种全部遗传信息的表现。

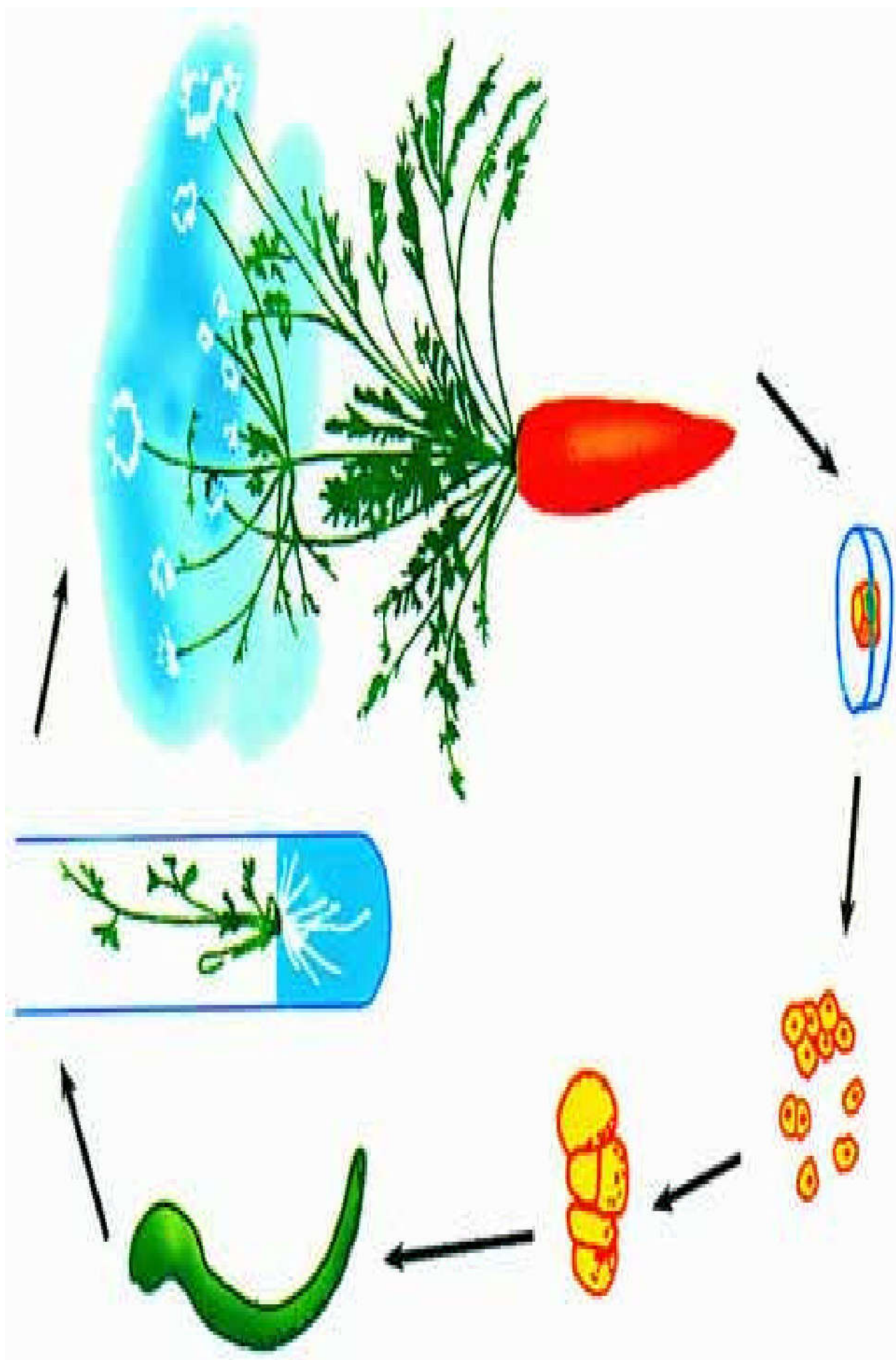
- 植物的**体细胞**，也是从合子的有丝分裂产生的，也具全能性，具备着遗传信息的传递、转录和翻译的能力。



- 在一个完整的植株上某部分的体细胞只表现**一定的形态**，承受一定功能，这是由于它们受到**自身遗传物质**所决定以及具体器官或组织所在**环境的束缚**，但其**遗传潜力**并没有丧失。

- 一旦脱离原来所在的器官或组织，成为**离体状态**时，在一定的**营养、激素和外界条件**的作用下，就可能表现出**全能性**，而生长发育成完整的植株。

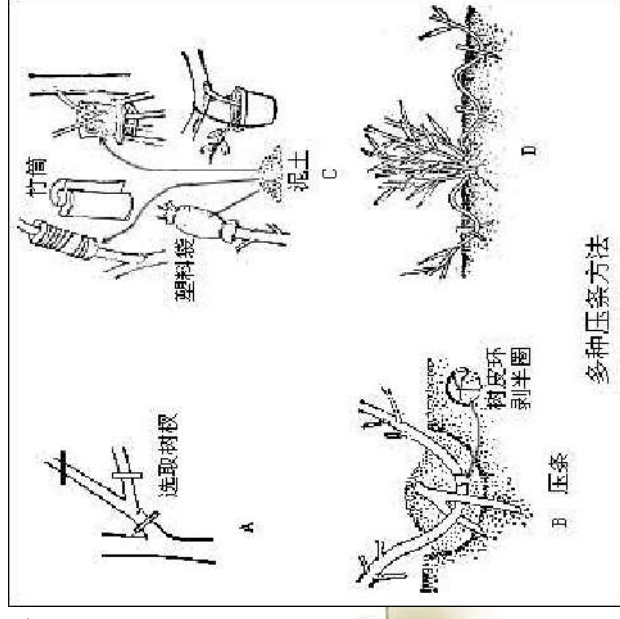
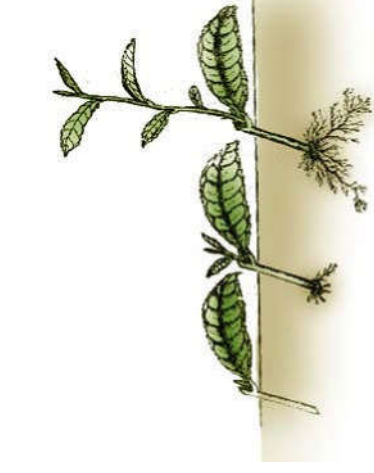
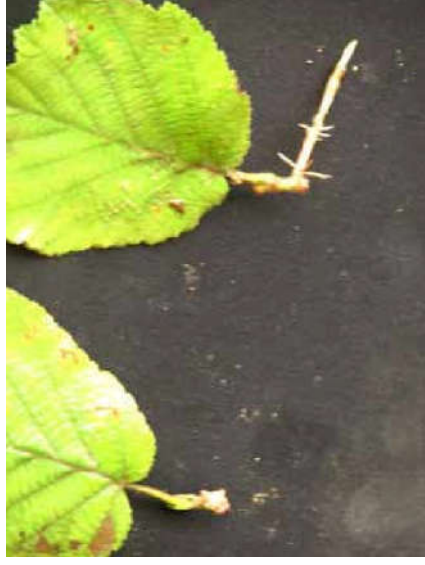
植物体细胞培养产生完整植株示意图



二、植物的再生作用

- 从植物分离出根、茎、叶等一部分器官，在切口处组织受到了损伤，但这些受伤的部位往往会产生新的器官，长出不定芽和不定根，从而成为新的完整的植株。

再生作用很早就用于无性繁殖



- **为什么会再生?**

组织受伤后产生创伤激素，促进周围组织生长而产生愈伤组织，在内源激素和贮存营养作用下会产生新器官。



- 组培技术使植物再生的**范围**大大扩大：种类、部位。
- 自然条件下再生较为**困难**：内源激素不全，外界条件不易控制。
- 组培条件下较为**容易**：激素调整，环境条件控制。



第二节 愈合组织的形成和形态发生

一、愈伤组织的概念



- 植物受创伤后，在伤面新生的组织就是愈伤组织。其原因是由于受创伤的刺激后，伤面附近的生活组织恢复了分裂机能，加速增生而将伤面愈合。
- 在植物组织培养中的愈伤组织是指植物细胞在组织培养过程中形成的无一定结构的组织团块，在适宜的条件下，愈伤组织可再分化，形成芽、根，再生成植株。



(a)

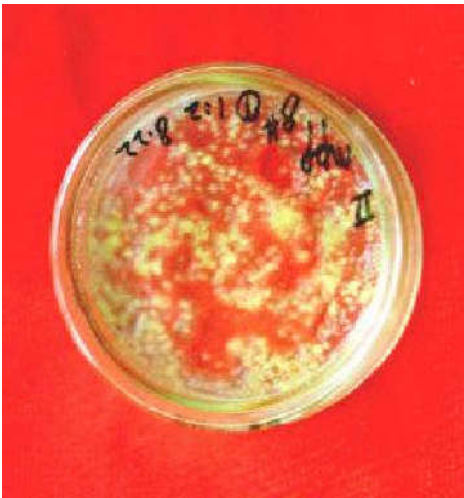


(b)



(c)


📌 圖 5-4 文心蘭的(a)根、(b)莖與(c)葉等培植體經誘導後形成癒傷組織



脱分化与再分化

- 在植物体内各种植物细胞都处于分化状态。



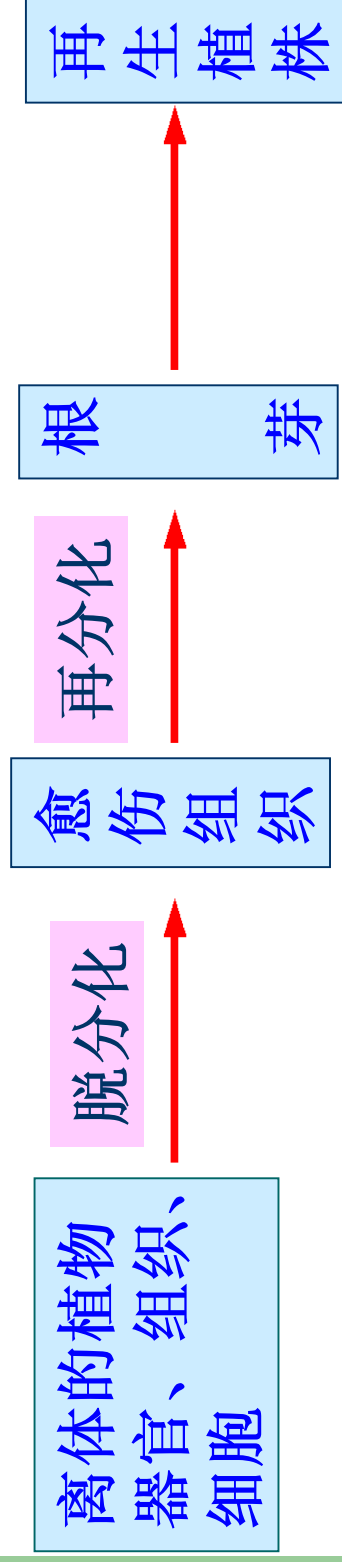


- **脱分化:** 植物体上已分化的细胞和组织, 在培养条件下失去特有的结构和功能变为具有未分化细胞特性的过程。

- **再分化:** 已经脱分化的细胞在一定条件下, 又可经过愈伤组织或胚状体, 再分化出根和芽, 形成完整植株。

- 组织培养的过程，就是植物细胞的脱分化和再分化的过程。

- 这一过程又是在细胞全能性的基础上进行的，是细胞全能性发挥作用的结果。



二、愈合组织的形成

(一) 诱导期

- 在**刺激因素**和**激素**的诱导作用下使处于静止状态的细胞准备进行分裂的时期。
- 诱导期**时间长短**与种类和生理状态及外部条件有关。1天与几天不等。

诱导期细胞特点:

- 脱离和培养后的几秒钟内，细胞的**气体交换**迅速增加。
- **多聚核糖体**的不断增加，到有丝分裂前，每个细胞中的**RNA含量**增加到30%。
- 在诱导期内，**蛋白质**也发生周期性积累，每个分裂细胞的总增加量约为200%。
- **酶活力**也有变化，在DNA复制前，DNA聚合酶活力增加；在分裂前，与代谢有关的酶类，如己糖激酶和一些脱氢酶的活力增加。

诱导的影响因素

- 机械损伤能诱导细胞开始分裂。
- 外源生长物质对诱导细胞开始分裂效果最好。最常用的有2, 4-D、NAA、IAA和细胞分裂素等。
- CO₂对诱导分化有抑制作用，因此，增加可利用的氧和迅速除去释放的CO₂，有利于细胞分裂。

(二) 分裂期

- 细胞通过一分为二的分裂，不断增生子细胞的过程。
- 外植体的细胞一旦经过诱导，其**外层细胞**开始发生细胞分裂，使细胞脱分化。

分裂期细胞特点

- 细胞的数目迅速增加。
- 每个细胞平均鲜重下降。
- 细胞体积小，内无液泡。
- 细胞的核和核仁增大到最大。
- 细胞中RNA含量减少，而DNA含量保持不变。
- 组织的总干重、蛋白质和核酸含量大大增加，新细胞壁的合成极快。

(三) 分化期

- 分化期是指停止分裂的细胞发生生理代谢变化而形成不同形态和功能的细胞。
- 细胞内开始发生一系列的形态和生理变化，导致细胞在形态和生理功能上的分化，出现形态和功能各异的细胞。

分化期细胞特点

- 细胞分裂部位和方向发生改变。
- 分生组织瘤状结构和维管组织的形成。
- 细胞的体积不再减小。
- 出现了各种类型的细胞。

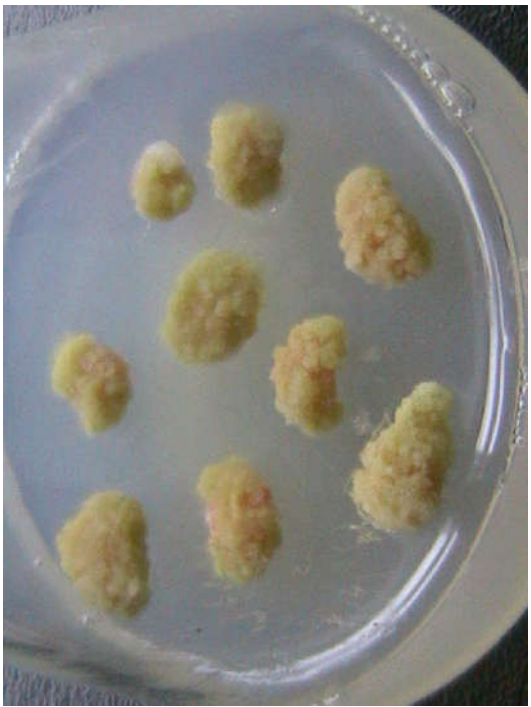
三、愈伤组织的生长和继代



- 愈伤组织的增殖生长只发生在**不与琼脂接触**的表面，而与琼脂接触的一面极少细胞增殖，只是细胞分化形成紧密的组织块。
- 由于愈伤组织的迅速增殖，整个愈伤组织小方块变成了一个**不规则的馒头状**的组织块。

- 愈伤组织继续在原培养基上继续培养，由于其中营养不足或有毒代谢物的积累，会导致愈伤组织块停止生长，直至老化变黑死亡。

- 若要愈伤组织继续生长增殖，必须定期地（如2~4星期）将它们分成小块，接种到新鲜的原培养基上继代培养，愈伤组织可长期保持旺盛的生长。



愈伤组织的质地

- **松脆**：含大量分生组织中心，细胞分裂活跃，是进行悬浮培养的好材料。
- **坚实**：很少分化，大都是高度液泡化的细胞，细胞间被果胶质紧紧粘连。



内部结构不同

- **坚实致密：**组织内无大的细胞间隙，由管状细胞组成微管组织。
- **疏松：**含大量细胞间隙，细胞排列疏松。

四、形态发生方式

1) 胚状体发生途径:

是指在组织培养中起源于一个**非合子细胞**，经过**胚胎发生和胚胎发育**过程（经过原胚、球形胚、心形胚、鱼雷胚和子叶胚5个时期），形成具有**双极性的胚状结构**，而发育成再生植株的途径。

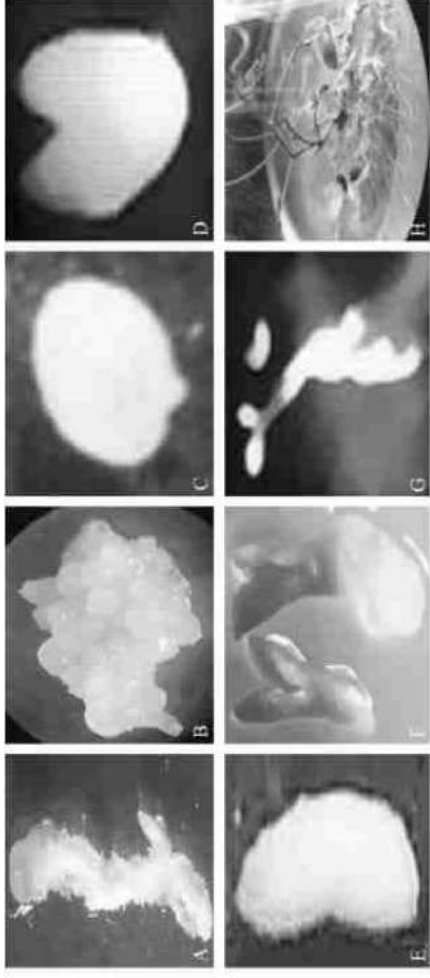
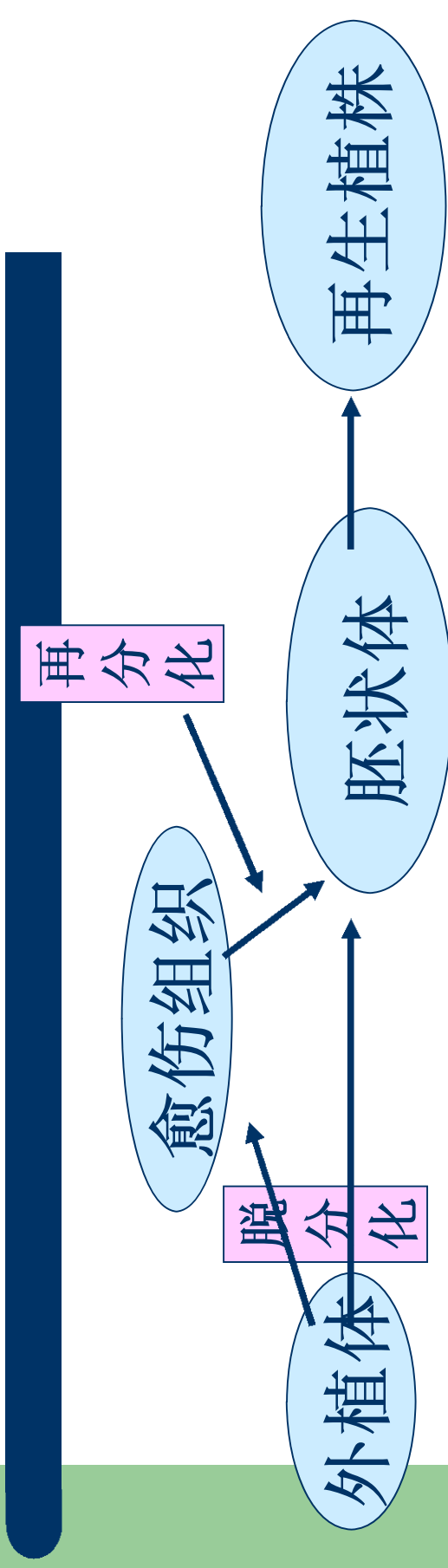
● 胚状体

在体外，由体细胞产生的类似胚胎的结构。亦称体细胞胚或体胚。

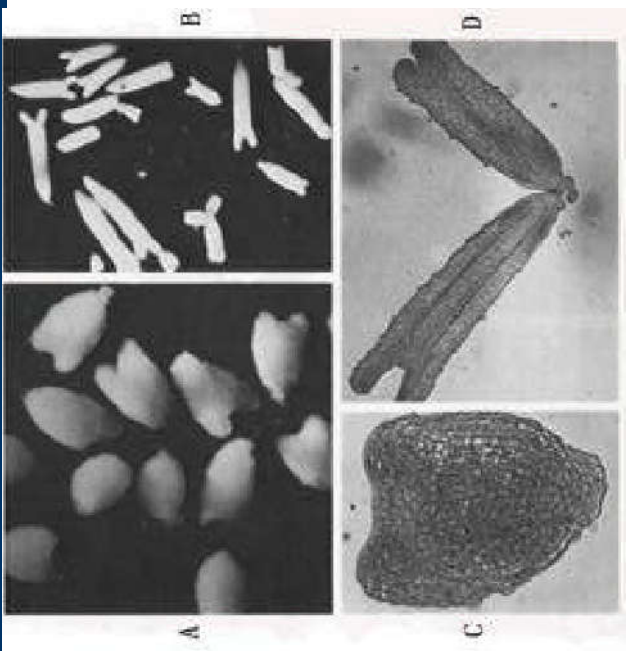
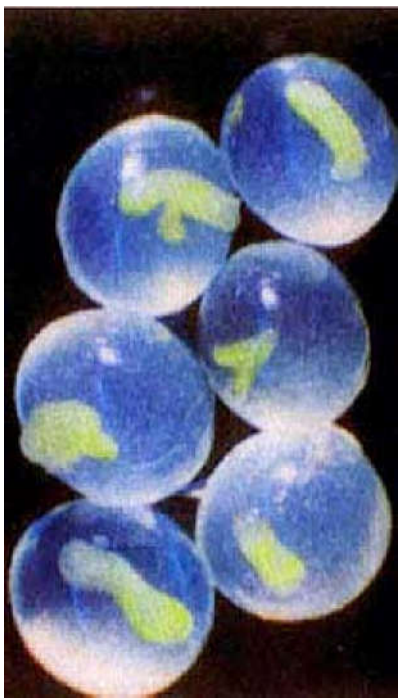


魔芋胚状体

胚状体发生途径







2) 器官发生途径

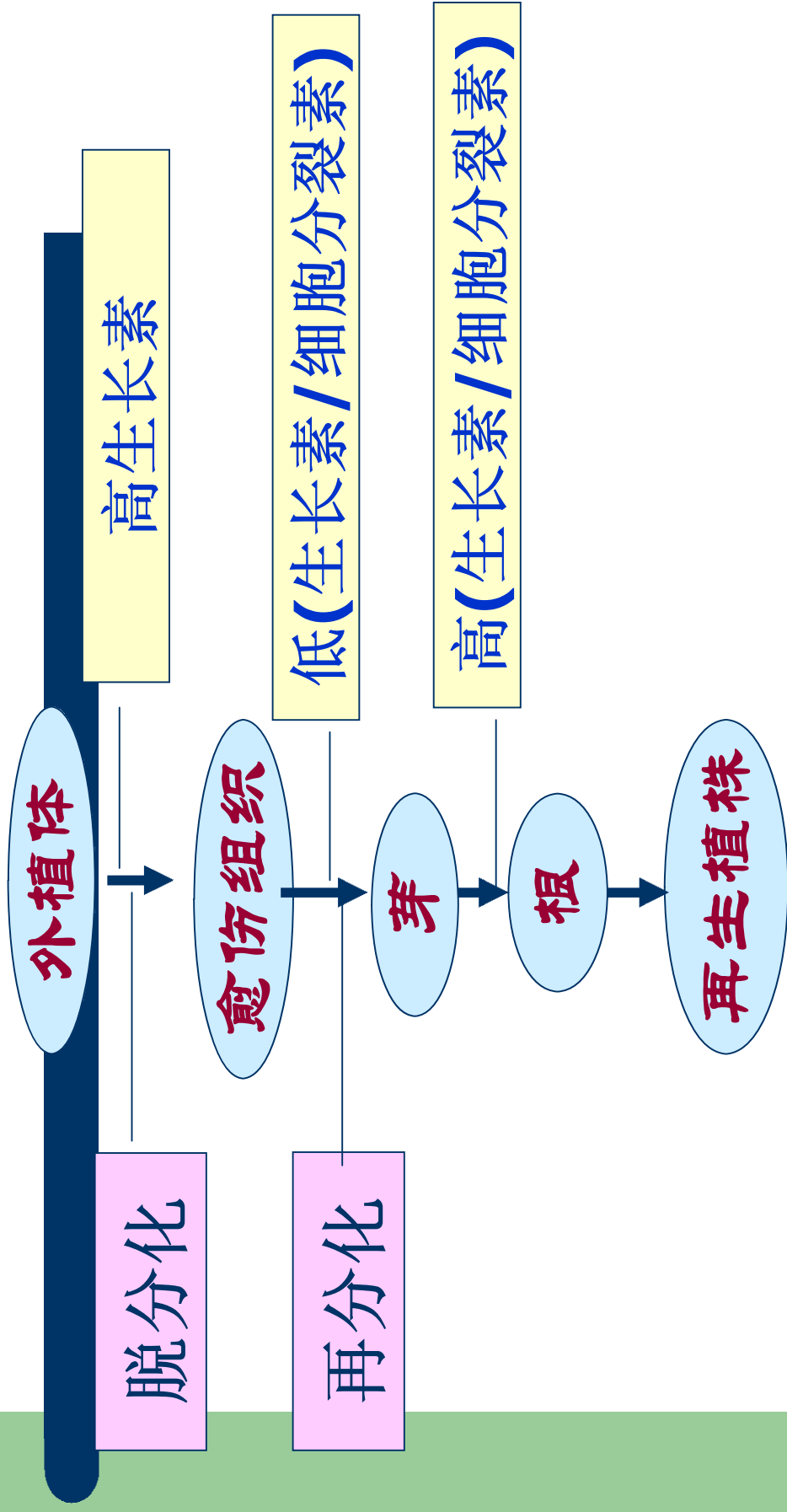
由愈伤组织或外植体诱导形成不定根或不定芽，再获得再生植株的方法。



百合鳞叶培养



器官发生途径

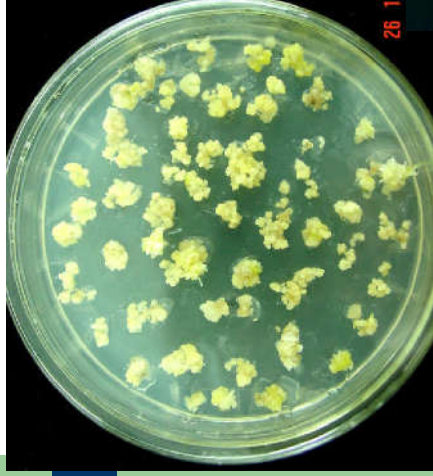


器官发生途径形成植株的几种方式

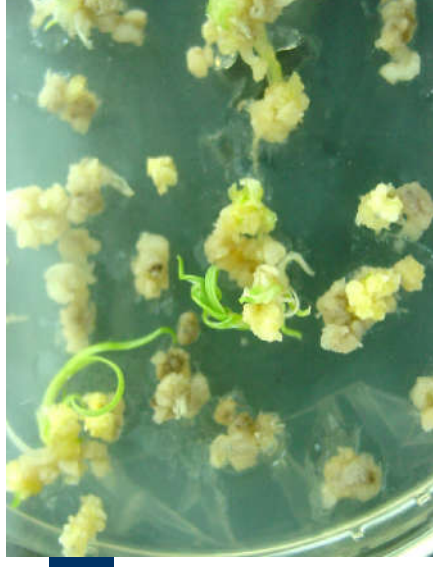
- (1) 愈伤组织仅有根或芽器官的分别形成，即无根的芽或无芽的根；
- (2) 先形成芽，后在其茎的基部长根，多数情况；
- (3) 先长根，再从根的基部长芽。
- (4) 先在愈伤组织的邻近不同部位分别形成芽和根，然后两者结合形成一株小植株。

愈伤组织器官发生途径

小麦



愈伤组织



芽分化



再生苗

胚状体在组织学上具备以下和不定芽不同的三个特征:

- 最根本的特征是具有**两极性**。
- 胚状体的**维管组织**与外植体的维管组织**无解剖结构上**的联系，而不定芽或不定根往往总是与愈伤组织的维管组织相联系。
- 胚状体**维管组织的分布**是独立的**“Y”**字形，而不定芽的维管组织**无此现象**。

五、愈合组织形态发生的调控

(一) 材料本身

- 遗传型
- 器官和部位
- 年龄

(二) 培养基

- 生长激素：生长素/细胞分裂素比例
- 无机营养元素：生根时要求无机离子浓度小些
- 有机成分：氨基酸 嘌呤 酪蛋白
- 物理性质：固、液培养，渗透压

(三) 培养环境条件

- 光照：不仅仅是光合，诱导作用。
- 温度：

小结

- **组培理论基础：细胞全能性与再生作用**
- **愈伤组织概念；脱分化与再分化**
- **愈伤组织形成的几个时期及其特点**
- **愈伤组织的培养和继代**
- **愈伤组织的形态发生方式：胚状体发生途径与器官发生途径**