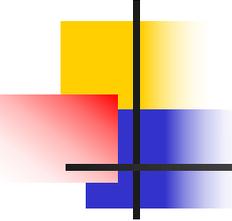


# 植物材料

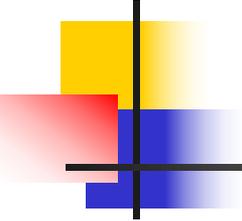
---



# 主要内容

---

- 植物材料特点
- 外植体选择
- 无菌材料的获取

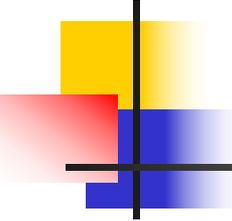


---

- 何谓外植体？

是指用于无菌培养的离体植物材料。  
即泛指第一次接种所用的植物组织、器官等一切材料。

选择合适的植物材料是进行组织培养关键的一步。



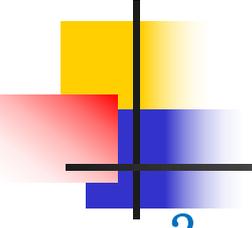
# 一、植物材料特点

---

## ■ 1、植物的幼年期和成年期特点

植物在其生长发育过程中都要经过**幼年期**和**成年期**两大阶段。**幼年期**是植物早期生长阶段，大多数植物都要经过幼年期的营养生长才可以使植物过渡到成年期。

木本植物**幼年**和**成年**区别除了开花外，还有其它形态和生理特征差异：幼年期生长快、呼吸强、核酸代谢和蛋白质合成快；成年期代谢和生理活动较慢、光合速率和呼吸速率下降。



## ■ 2、外植体的成熟度直接影响离体组织的培养

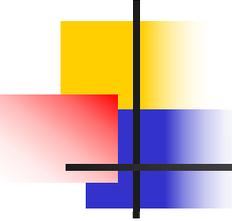
一般情况下，取植物幼年部位的外植物体要比成年部位的外植物体容易组织培养成功，那么如何获得成熟组织培养的成功呢？

**(1) 外植体小型化** 因为离体培养的细胞需要中断和邻近细胞的有机联系才可体现其细胞全能性。

**(2) 离体培养物的连续继代** 采用短的继代培养周期，经过连续的多次切割培养会使培养物复壮（幼化）程度大大提高。

**(3) 添加植物生长调节物质**，如BA、NAA等可以促进外植体的复壮

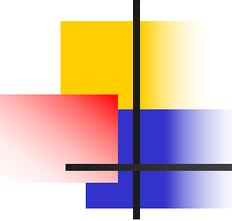
。



## 2、外植体的种类

---

- **(1) 带芽的外植体：**包括顶芽、腋芽、根茎连接处的萌蘖。  
带芽外植体适合植物的离体快速繁殖。
- **(2) 胚：**指自然状态和试管中精卵融合受精后形成的各时期的胚。
- **(3) 分化的器官组织**    **二倍体组织**
- **(4) 花粉及雌配子体中的单倍体细胞**（只有体细胞中一半的染色体）



## 二、外植体的选择

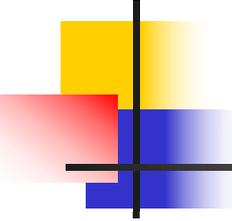
---

外植体的选择是进行组织培养建立无菌体系以及植株再生的关键一步。

**理论上：**植物细胞的全能性，即植物的任何器官和组织都可以作外植体，都具备重新形成植物的能力。

**事实上：**在同一植物的各个不同部位的组织、器官中，或不同植物的同一器官、组织中，其形态发生的能力是不一样的，以至于“全能性”不能表达。

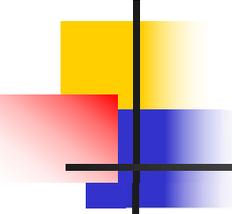
**那么外植体选择受到哪些因素的影响呢？？？**



# 外植体的选择基本要求

---

- (1) 植物的种质选择** 选生产上或研究上意义比较大的种质 → **选择具有良好表型的植物，如抗逆性强、品质好等。**
- (2) 外植体的增殖能力** 外植体必须有良好的增殖能力，并且在培养基中继续筛选增殖能力最强的材料。
- (3) 外植体的大小** 茎顶或茎段**0.5-1.0cm**，叶片**0.5-1.0cm**见方，茎尖、胚、胚乳等则按组织或器官**单位切离**即可，用于脱毒培养的茎尖一般**0.2-0.5cm**。



# 外植体的选择基本要求

## (4) 外植体的年龄和着生部位

- 外植体的幼化程度和植物年龄和着生部位关系密切，一般来源于幼年植物的外植体要比来源于成年树的外植体容易培养。
- 对于同一株植物从幼年到成年转变是由基部向顶部转变的，木本植物基部通常是幼年期，顶部是成年期，中部则是中间类型。（见下图）
- 外植体的部位效应不仅适合成年树，同样适合幼年树。

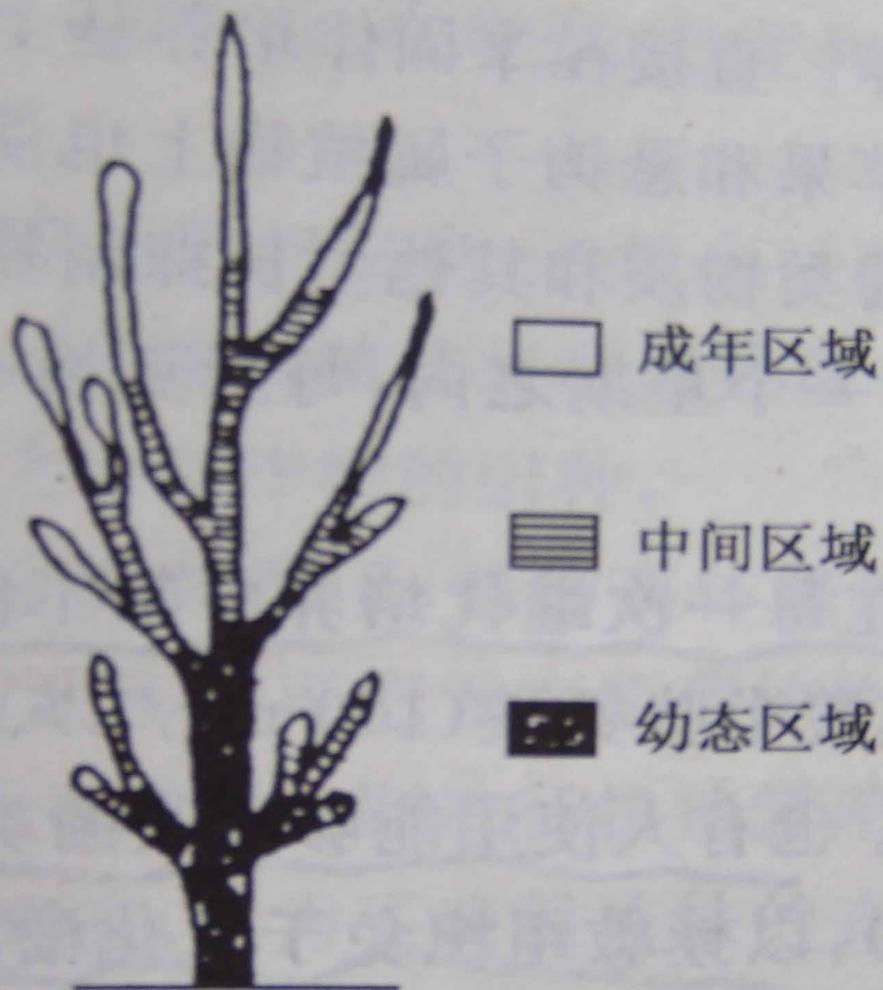
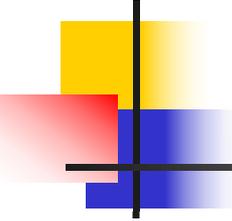


图 14.9 树木幼态梯度模式图(引自 Leopold, 1975)



# 外植体的选择基本要求

---

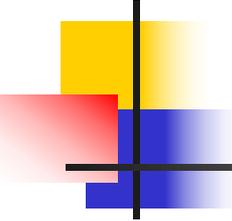
## ■ (5) 取外植体的**季节和时间**

一般处于生长季，较幼嫩的外植体培养容易。

春夏季取材灭菌容易，秋冬季取材难以成活，雨季湿热季节取材不易成功。

## ■ (6) 木本材料的**特殊性**

木本植物是一个高度分化的多年生植物，开展组织培养难度增大，具体表现为：**纯系比较难获得；年龄效应明显；位置效应明显；多年田间生长，杂菌感染严重；木本植物材料经常出现深休眠。**

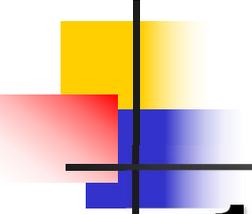


### 三、无菌材料的获取

---

- 在植物组织培养的过程中，造成污染的原因很多，其中外植体带菌是培养过程中污染的主要原因之一。建立无菌外植体，获得无菌培养材料（初代培养）是植物组织培养成败的第一步。

那么如何获得无菌材料呢？？？



- **1、防治外植体带菌的措施**

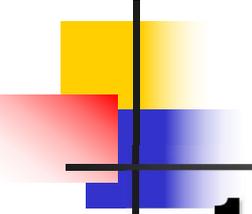
- **(1) 外植体预先培养**

**暗培养**

将室外采来的外植体水洗干净，在室内暗培养，待有黄化新枝长出后，取其作外植体。

**水培**

将室外采来的外植体水洗干净，在室内水培使其抽新枝，取新枝作外植体。



---

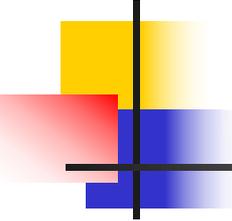
- **1、防治外植体带菌的措施**

- **(2) 避免阴雨天在田间采取外植体。**

一般在晴天下午采集要比早晨采集污染少

- **(3) 对外植体内部有污染的材料**

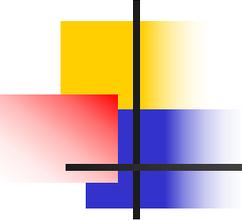
取材料的深层组织（一般是内部组织），可以有效地减少污染。



## 2、外植体体表灭菌的常用化学药品

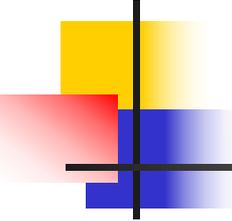
---

- **消毒的目标：**既要消灭材料上的病菌，又不损伤植物材料。
- **要考虑：**
  - **(1)** 药剂对各类菌类的杀灭效果，从中选出最有效的杀菌剂
  - **(2)** 植物材料对杀菌剂的忍耐力

- 
- 
- 因此，不同的植物及不同部位的组织特点不同，所需消毒药剂及浓度也不相同。因此，使用**什么药剂、多大浓度、处理时间**，要根据植物种类和取用的部位进行试验，通常使用的化学药品浓度和效果见下表。

## 常用表面灭菌剂使用浓度及灭菌效果比较

| 灭菌剂  | 使用浓度(%)  | 处理时间<br>(min) | 从外植体去除<br>难易 | 灭菌效果 |
|------|----------|---------------|--------------|------|
| 次氯酸钠 | 9-10     | 5-30          | 容易           | 很好   |
| 次氯酸钙 | 2        | 5-30          | 容易           | 很好   |
| 过氧化氢 | 10-12    | 5-15          | 最易           | 好    |
| 氯化汞  | 0.1-1    | 2-15          | 较难           | 最好   |
| 乙醇   | 70-75    | 0.2-2         | 容易           | 好    |
| 溴水   | 1-2      | 2-10          | 容易           | 很好   |
| 硝酸银  | 1        | 5-30          | 较难           | 好    |
| 抗菌素  | 4-50mg/L | 39-60         | 中等           | 比较好  |
| 漂白粉  | 饱和溶液     | 5-30          | 易            | 很好   |

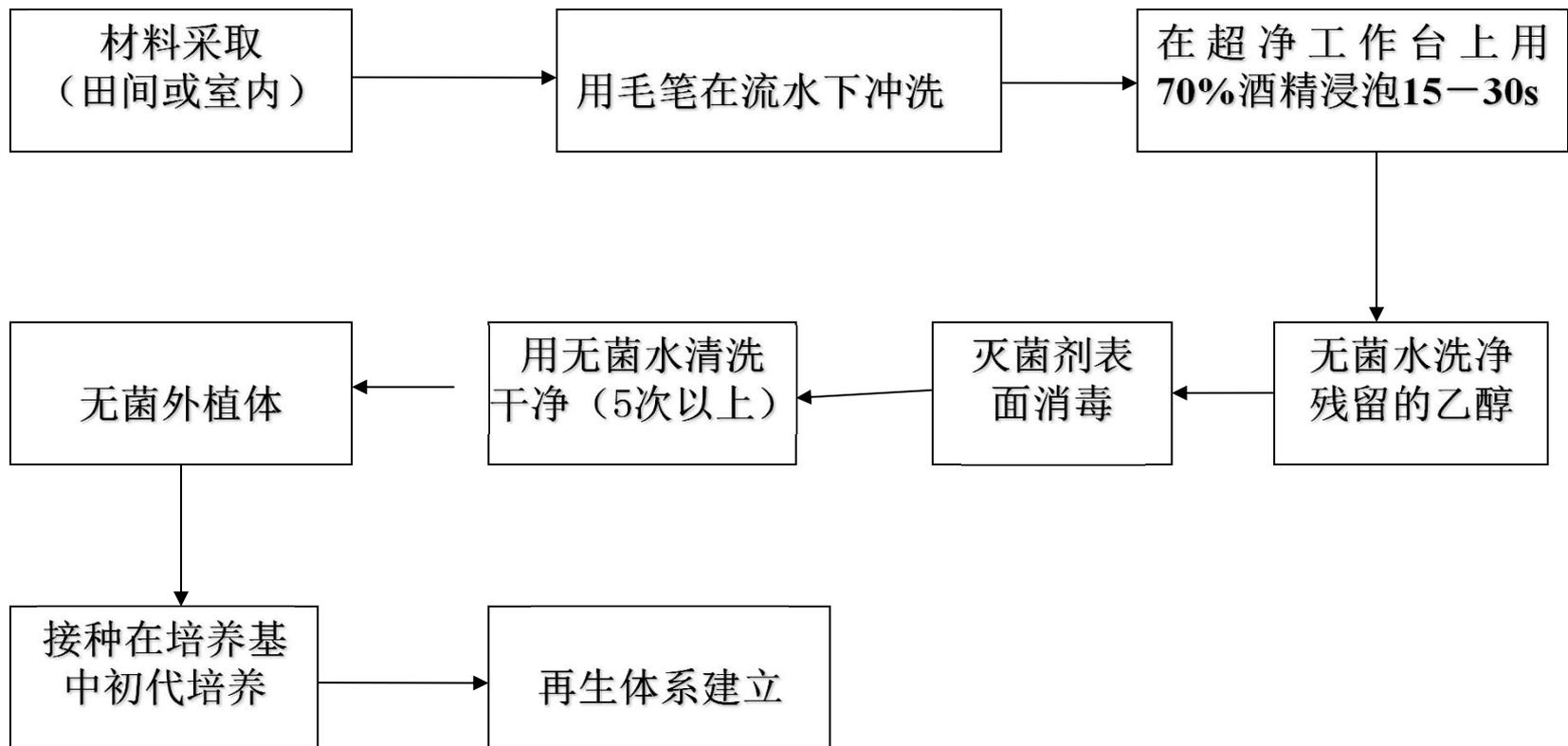


# 3、外植体的灭菌方法

---

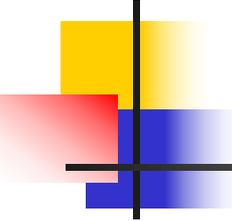
- **(1) 刷洗**
- **(2) 植物材料的体表灭菌**
  - **A、茎尖、茎段以及叶片等材料的灭菌**
  - **B、果实和种子的灭菌**
  - **C、花药灭菌**
  - **D、根和地下器官的灭菌**

# 一般植株外植体表面灭菌基本程序



# 消毒顺序

| 器官类别  | 消毒前  | 消毒   | 消毒后                                      |
|-------|--|--|--|
| 茎尖、茎段 | 自来水冲洗 <b>2h</b> 以上，用洗涤剂初步清洗干净                              | <b>70%酒精0.5-2min</b> 后倒出，再用 <b>0.1-0.2%升汞溶液</b> 浸泡 <b>5-10min</b>                                | 无菌水冲洗 <b>3-5</b> 次，接种培养                  |
| 种子、果实 | 自来水冲洗 <b>10-20min</b> ，然后 <b>45℃</b> 温水浸种 <b>6-24</b> 软化种皮 | <b>70%酒精0.5-5min</b> 后倒出，再用 <b>0.1%-0.2%升汞溶液</b> （添加 <b>1-2</b> 滴吐温）浸泡 <b>5-20min</b>            | 无菌水冲洗 <b>3-5</b> 次，置于发芽床发芽，取幼根或幼芽来获取愈伤组织 |
| 花药、花蕾 |  | <b>70%酒精</b> 处理 <b>6-7min</b> 后倒出，再用 <b>0.2%升汞溶液</b> （添加 <b>1-2</b> 滴吐温）浸泡 <b>8-10min</b>        | 无菌水冲洗 <b>3-5</b> 次，接种培养                  |
| 根、地下茎 | 自来水冲洗，并用软毛刷刷洗，用刀切去操作及污染严重部位，吸水纸吸干                          | <b>70%酒精</b> 处理 <b>0.5-2min</b> 后倒出，再用 <b>0.1%-0.2%升汞溶液</b> （添加 <b>1-2</b> 滴吐温）浸泡 <b>5-10min</b> | 无菌水冲洗 <b>3-5</b> 次，从消毒材料内部取出培养材料         |



# 思考题

---

- **1、外植体的种类。**
- **2、简述获得无菌材料的一般操作过程。**