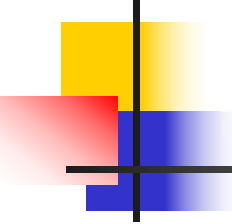
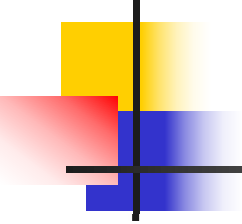


植物愈伤组织培养



主要内容

- 一、愈伤组织的形成
- 二、愈伤组织的继代培养
- 三、愈伤组织的形态发生
- 四、愈伤组织培养的应用



■ 愈伤组织？

原是指植物在受伤之后于伤口表面形成的一团薄壁细胞。

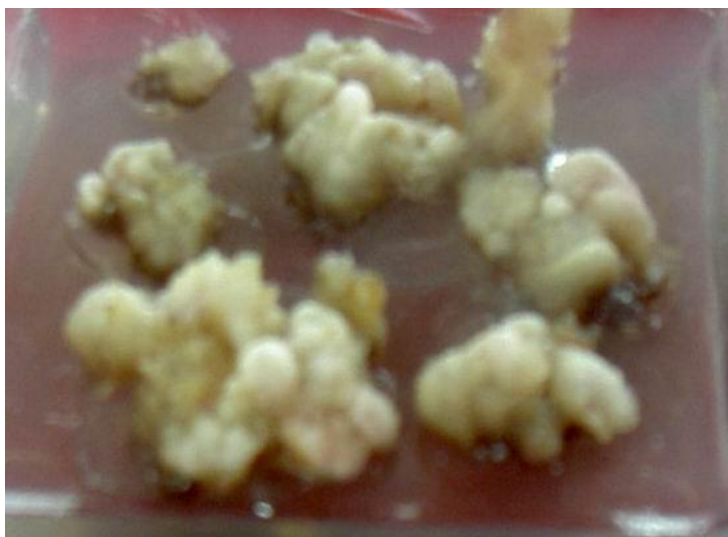
在组织培养中，则指在人工培养基上由外植体组织的增生细胞产生的一团不定形的疏松排列的薄壁细胞。



松脆愈伤组织

致密愈伤组织





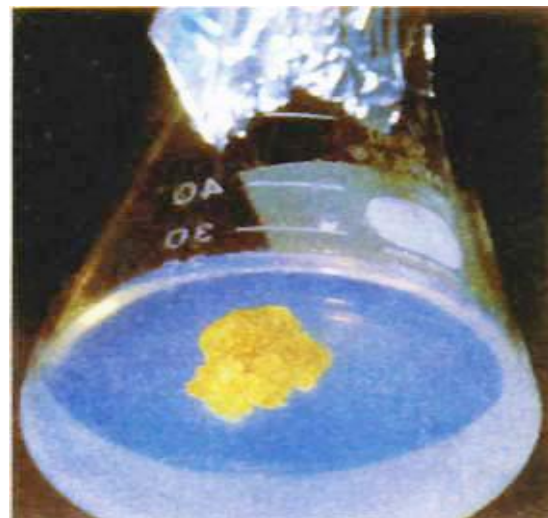
魔芋愈伤组织（无胚性）

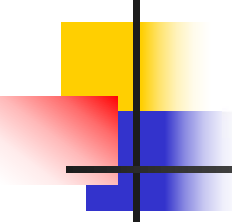
有胚性

原生质体愈伤组织



胡萝卜愈伤组织





一、愈伤组织形成的过程

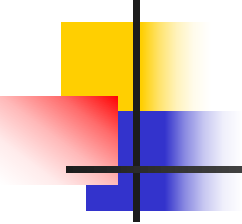
- 外植体中已分化的活细胞，脱分化形成愈伤组织大致可分为三个时期：

愈伤组织形成

诱导期

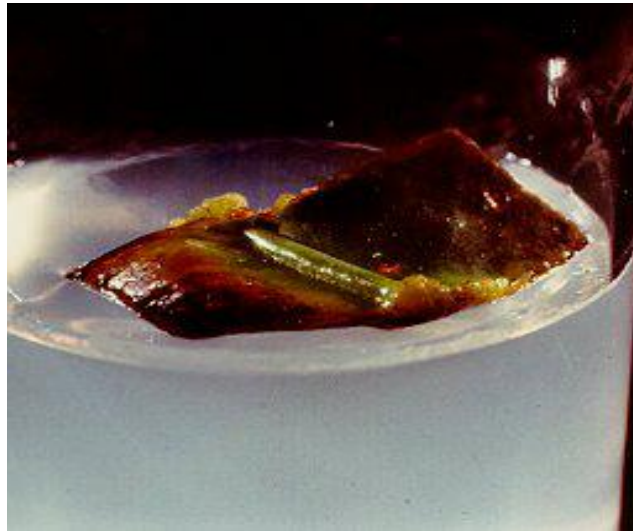
分裂期

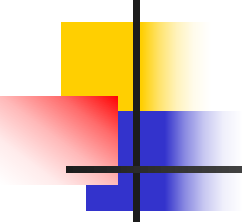
形成期



■ 诱导期:

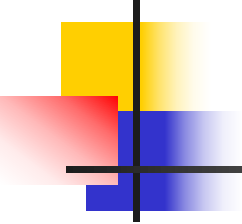
是外植体细胞进行分裂的准备时期，也是愈伤组织形成起点。诱导期一般一至数天。





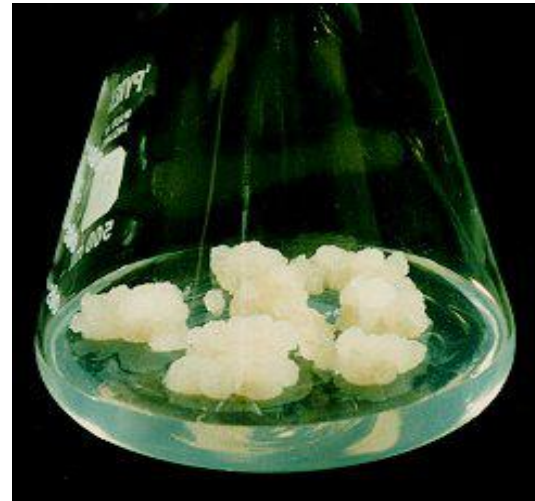
■ 诱导期的细胞内发生的变化

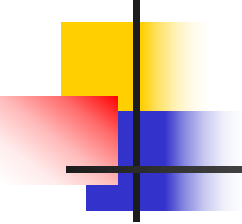
- 气体交换增加，如氧气的吸收增加
- **RNA**含量增加（增加到**30%**）
- 蛋白质质量增加（每个细胞的总增加量为**200%**）
- 酶活性增强



■ 分裂期:

指外植体细胞经诱导脱分化，不断分裂、增生子细胞的过程。



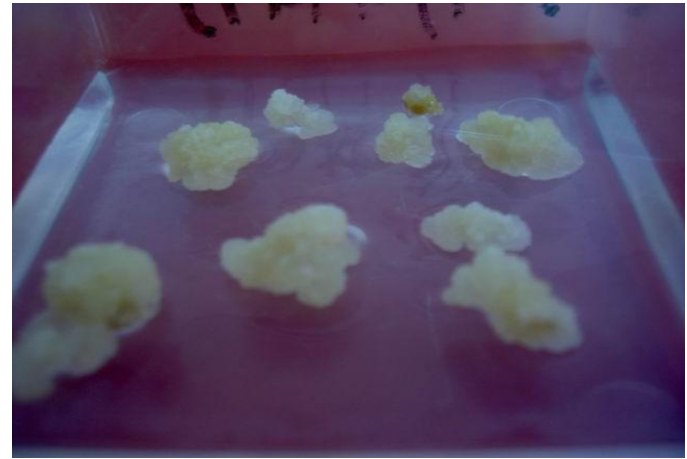


■ 分裂期细胞的主要表现

- 1. 细胞的数目迅速增加。
- 2. 每个细胞平均鲜重下降。
- 3. 细胞体积小，内无液泡。
- 4. 细胞的核和核仁增大到最大。
- 5. 细胞中RNA含量减少，而DNA含量保持不变。
- 6. 随着细胞不断分裂和生长，细胞总干重、蛋白质和核酸量大大增加，新细胞壁合成极快。

■ 分裂期愈伤组织的共同特征：

细胞分裂快，结构疏松，缺少有组织的结构，维持其不分化的状态，颜色浅而透明。



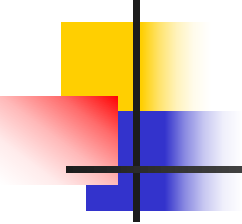
- **形成期：**

是指外植体细胞经过诱导期和分裂期后形成了无序结构的愈伤组织。

- **特点：**

细胞的数目、大小相对稳定；

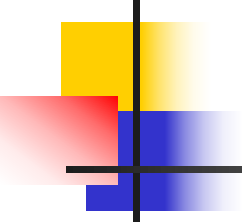
细胞分裂由原来局限在组织外缘的平周分裂转为组织内部较深层局部细胞的分裂。



■ 优良的愈伤组织

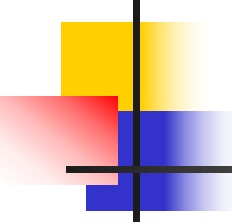
通常必须具备以下**4**个特性中的**2—3**个特性：

- 1、**高度的胚性或再分化能力，以便从这些愈伤组织和到再生植株
- 2、**容易散碎，以便使用这些愈伤组织建立优良的悬浮系，并且在需要时能从中分离出全能性原生质体。
- 3、**旺盛的自我增殖能力，以便使用这些愈伤组织建立大规模的愈伤组织无性系。
- 4、**经过长期继代保存而不丧失胚性，以便有可能对它们进行各种遗传操作。



■ 小结

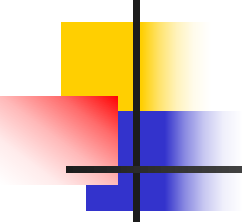
- **（1）** 以上对愈伤组织形成过程的划分并不具有严格的意义，分裂期和形成期往往可以出现在同一块组织上。
- **（2）** 细胞脱分化的结果大多数情况下是形成愈伤组织，但绝不意味所有的细胞脱分化的结果都必然形成愈伤组织，
- **（3）** 有些外植体的细胞脱分化后可直接分化为胚性细胞而形成体细胞胚



二、愈伤组织的继代培养

1、**定义：**愈伤组织在培养基上生长一段时间以后，由于营养物质枯竭，水分散失，次生代谢产物的积累，原有的培养基已不适宜愈伤组织的生长，必须转移到新鲜培养基上培养，这个过程叫做愈伤组织的**继代培养**。

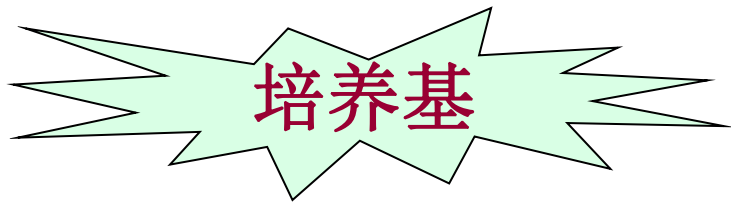
一般4-6周继代一次



■ 2、愈伤组织培养的调控因素



外植体

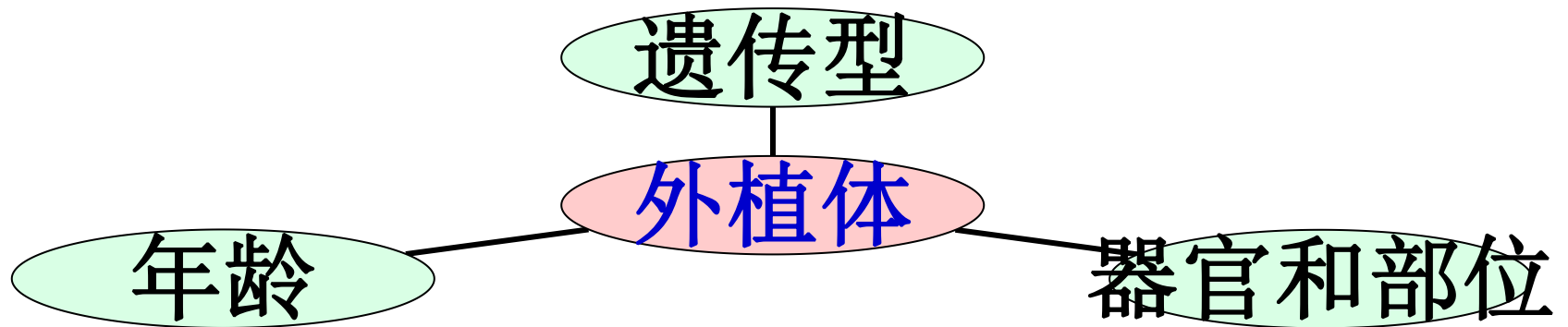


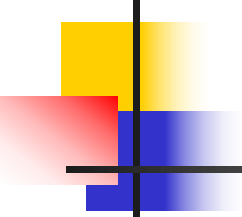
培养基



培养环境

- **(1) 材料本身**

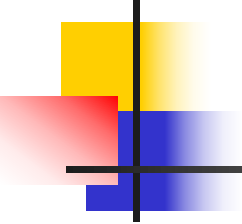




(2) 培养基

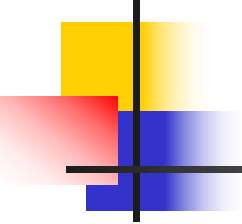
A. 无机营养

- 在植物组织培养中与整体植物一样，细胞的生长也要求满足植物生长的必要元素。



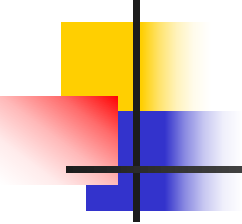
■ B、有机成份

- 培养基中加入糖、各类B族维生素、肌醇和甘氨酸等，可满足愈伤组织生长和分化的要求。
- 各种氨基酸和嘌呤、嘧啶类物质，可促进器官分化。
- 水解酪蛋白中含有一种多种氨基酸，助于器官分化
- 酰胺类往往有促进器官形成的作用。



■ C. 植物生长调节物质

- 一般使用的浓度为 $0.1-10\text{mg} / \text{L}$
- 使用植物生长调节剂时，要注意种类和浓度，特别是生长素和细胞分裂素的比值。



■ 植物生长调节物质配比模式

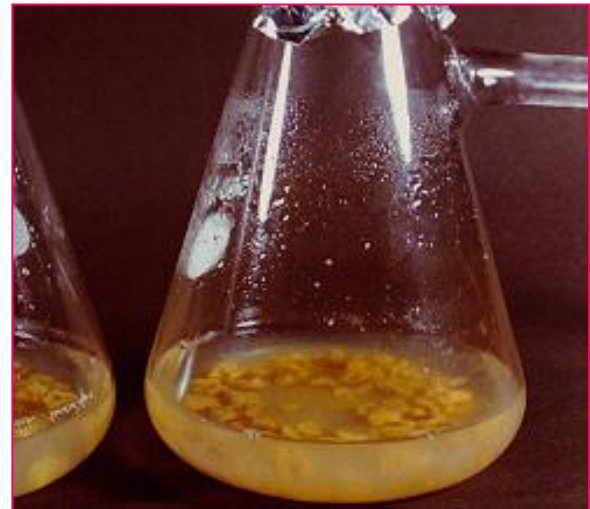


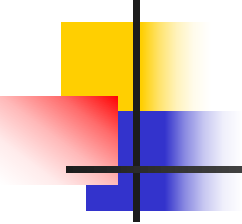
■ E、培养方式:

固体培养

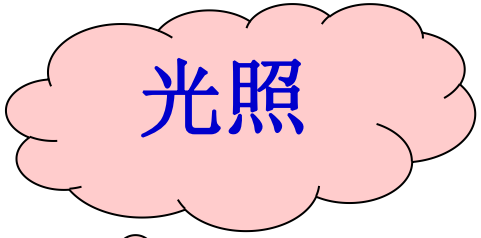


液体培养





■ (3) 培养条件



光照

光强、光照时间、光质



温度

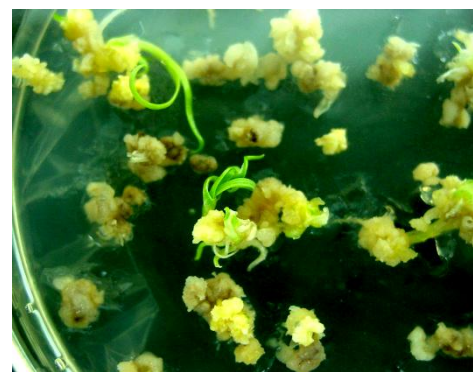
24-28℃

三、愈伤组织形态的发生

- **形态建成**：外植体细胞在适宜的培养条件下发生脱分化、再分化，产生芽和根，或者形成胚状体，发育成苗或完整植株。



魔芋胚状体

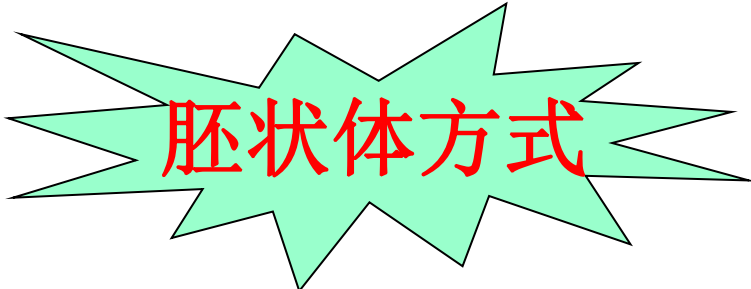


小麦愈伤组织

- 愈伤组织形态发生的方式（**2种**）

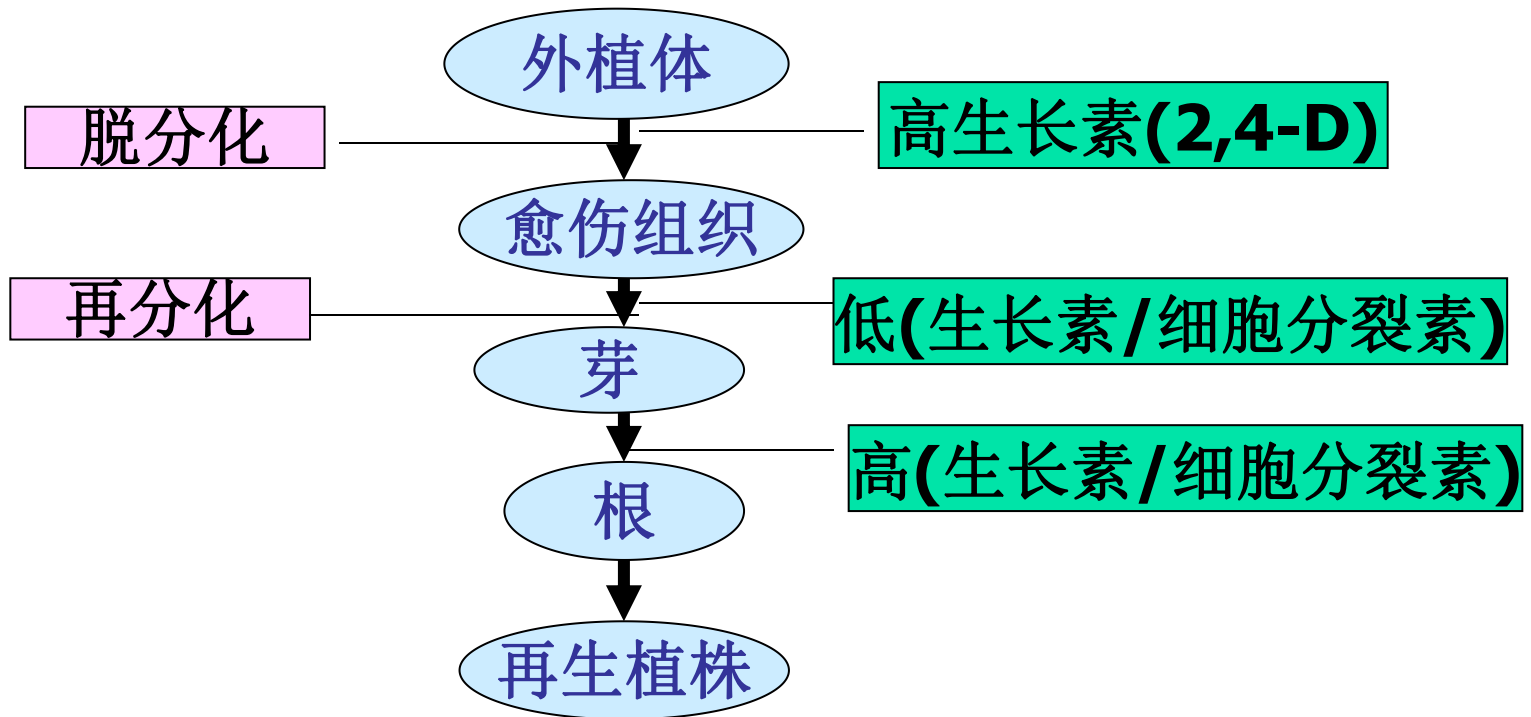


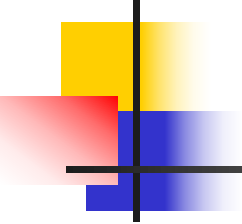
不定芽方式



胚状体方式

■ (一)、不定芽方式

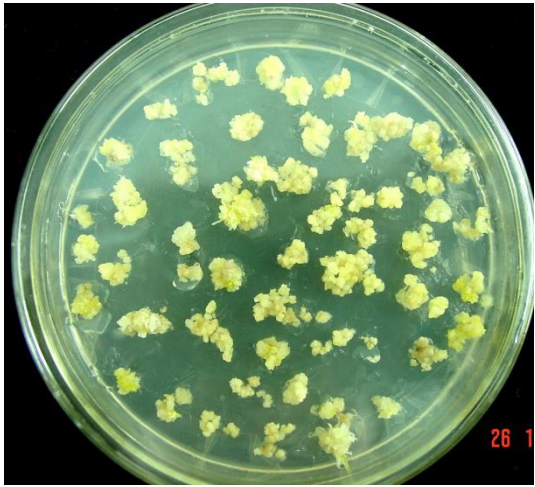




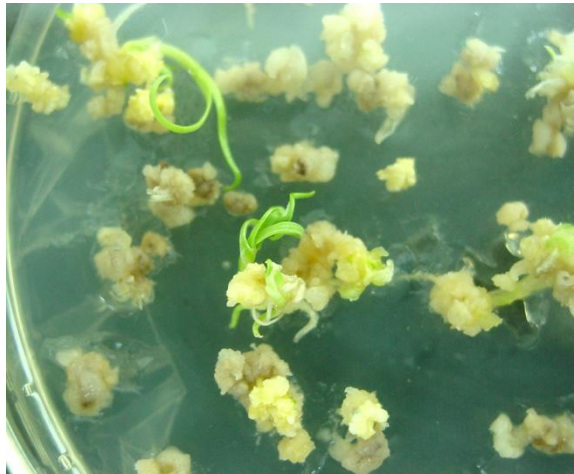
■ 愈伤组织的器官发生顺序的4种情况：

- （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）先长芽，后长根（多数情况）；
- （3）先长根，再从根的基部长芽。这种情况较难诱导芽的形成，尤其对于单子叶植物；
- （4）先在愈伤组织的邻近不同部位分别形成芽和根，然后两者结合起来形成一株植株。

■ 如小麦愈伤组织的形态发生



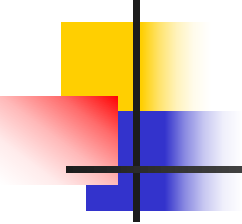
愈伤组织



芽分
化



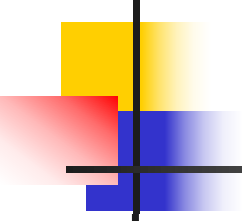
试管苗



■ （二）、胚状体方式

在组织培养条件下胚状体的发育过程是：细胞经脱分化后，发生持续细胞分裂增殖，并依次经过原胚期、球形胚期、心形胚期、鱼雷形胚期和子叶期，进而成为成熟的有机体。

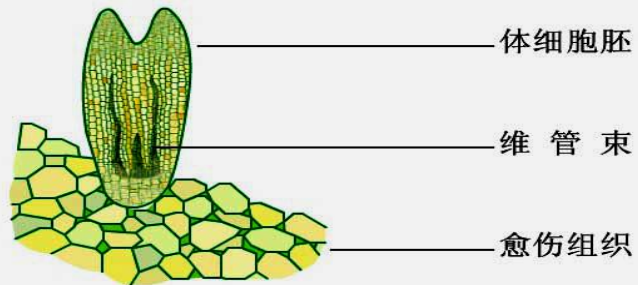
胚状体是双极性的、有共同的维管束贯穿两极，可脱离愈伤组织在无激素培养基上独立萌发。



■ 胚状体发生途径与器官发生途径形成植株的区别:

- ①胚状体具有两极性，即有茎端和根端。
- ②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。
- ③胚状体维管组织的分布是独立的“Y”字形。

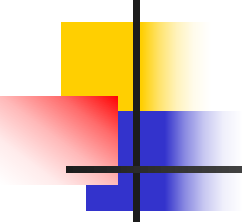
体细胞胚发生与器官发生



体细胞胚的发生

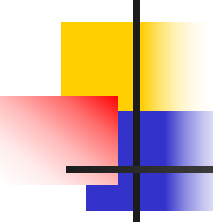


器官发生



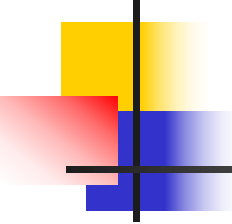
胚状体方式比不定芽方式有更多的优点：

- 胚状体产生的数量比不定芽多；
- 胚状体可以制成人工种子，便于运输和保存；
- 胚状体的有性后代遗传性更接近母体植株。



四、愈伤组织的应用

- 1、** 加快了园艺植物新品种和良种繁育速度；
- 2、** 培育无病毒苗木；
- 3、** 获得倍性不同的植株；
- 4、** 克服远缘杂交困难；
- 5、** 利于种质资源长期保存和远距离运输；
- 6、** 提供育种中间材料；
- 7、** 诱发和离体筛选突变体；
- 8、** 制造人工种子。



思考题

- 1、愈伤组织培养对外植体有何要求？**
- 2、简述愈伤组织形成的过程。**
- 3、优良的愈伤组织有何特点？**
- 4、愈伤组织的形态发生有哪两种情况？
比较它们形成完整植株的异同。**
- 5、为了促使愈伤组织再分化，应怎样调整生长素和细胞分裂素的比例。**