

## 金桔组织培养中愈伤组织和芽形成的组织细胞学观察

林 荣 邹琦丽

(广西植物研究所)

**摘 要** 用金桔茎段为外植体, 培养在附加1.0毫克/升BA和0.1毫克/升IBA的MS培养基上, 诱导愈伤组织和芽形成。观察了愈伤组织和芽形成过程中的组织细胞学变化。培养一周后, 在茎组织切口两端开始膨大, 细胞增大和开始分裂。培养两周后, 开始形成瘤状愈伤组织。在愈伤组织中有形成层状分生组织、维管组织结节和分生细胞团。培养四周后, 表层的分生细胞团分化形成大量芽原基, 同时愈伤组织深层也出现分生细胞团。带节茎段可从切口两端的愈伤组织分化形成芽, 亦可从叶腋的潜伏芽直接形成芽。

**关键词** 金桔; 组织培养; 愈伤组织; 芽形成; 组织细胞学

金桔 *Fortunella margarita* (Lour.) Swingle 是柑桔类的优良品种之一。为了迅速繁殖大量苗木, 企图通过组织培养诱导出苗。植物组织培养在生产应用上有广阔的前途, 但必须深入了解其形态发生的基本规律。植物组织培养中有关形态发生的研究已有许多报道<sup>[1-3]</sup>。作者已报道了金桔组织培养中激素及有机附加成份对培养组织的增殖和器官分化的影响<sup>[4]</sup>。本文报道金桔组织培养中愈伤组织和芽形成的组织细胞学的观察结果。

### 材 料 和 方 法

材料采用广西阳朔县产的金桔, 种子经表面消毒培养成无菌苗, 当苗长高约10厘米时, 采取嫩茎切成长约0.5厘米的小段, 分为节间和带节茎段两种分别培养在附加1.0毫克/升BA和0.1毫克/升IBA的MS培养基上。接种后培养于 $25 \pm 2$  °C, 每天用日光灯照光9—10小时, 光照强度约2000勒克司。

培养一周后开始取样, 以后每隔一周取样一次, 直到两个月, 并在培养前取样作比较。材料用FAA固定液固定。石蜡制片法制片。切片厚度为10 $\mu$ 。切片用铁矾——苏木精染色, 光学树脂胶封片。

### 结 果 和 讨 论

在本试验中作为培养材料的金桔茎组织结构疏松, 在纵剖面可见到髓部薄壁细胞的细胞间隙大, 细胞多呈长方形, 在木质部和韧皮部之间有形成层细胞。带节茎段纵切面可见叶腋有潜伏芽的芽原基(图版I: 6)。

#### (一) 愈伤组织的形成:

王秀琴同志参加部分工作。

金桔的离体茎组织在 MS + BA 1.0毫克/升 + IBA 0.1毫克/升培养基上, 愈伤组织的诱导率达100%。愈伤组织发生在茎段两端的切口上。培养一周后, 肉眼可见到茎段两端的切口开始膨大, 组织切片观察表明, 切口表面的细胞增大和开始分裂, 起动部位是髓部、韧皮部和木质部的薄壁细胞(图版 I: 4)。培养两周后, 茎组织渐转黄色, 由于细胞不断增殖, 两端的切口明显增大, 通过脱分化长出结构致密的黄白色愈伤组织并有瘤状突起(图版 I: 1)。以后芽就从瘤状突起长出。在我们的实验中发现没有附加激素的 MS 基本培养基中, 茎段两端的切口仅形成少量的愈伤组织; 而在有激素的培养基中, 则形成大量的愈伤组织。近年来, 在植物组织培养中已逐步明确, 创伤刺激仅是促使细胞增殖的原因之一, 从完整植株分离的外植体, 由于不再受到完整植株对其组织的控制, 以及供给外植体以合适的营养及植物生长调节物质, 可能是导致细胞增殖的决定因素<sup>[5]</sup>。

## (二) 组织分化和芽形成

培养三周后, 愈伤组织出现组织分化。细胞分裂后出现一个所谓愈伤形成层。愈伤形成层向内外不断分化出薄壁细胞, 部分薄壁细胞再次分化, 形成分生细胞、分生细胞团、形成层状分生组织、鸟巢状维管组织结节, 还有大量的薄壁组织和输导组织(图版 I: 2)。实验结果也说明了 Gautheret 指出分生组织结节的形成是愈伤组织培养中常见的现象<sup>[6]</sup>。分生组织结节可以成为愈伤组织的生长中心<sup>[7]</sup>。

外植体在同一培养基上培养四周, 表层的分生细胞团进一步分化形成芽原基, 此时从愈伤组织表层长出大量不定芽, 同时在组织深层也出现分生细胞团。经镜检观察发现, 分生细胞团也可进一步分化为维管组织结节, 这与油橄榄组织培养中组织分化的情况相似<sup>[1]</sup>。在愈伤组织表面有苗端分生组织发生时, 其内方有一维管组织结节, 它的形成层状细胞向外延伸与苗端分化组织相连接。当芽原基形成时, 维管组织结节成为开放型的(图版 I: 3), 其维管组织与外植体的维管组织相连通, 这些说明芽的再生与维管组织结节有关。

在带节茎段培养中, 芽的形成有两个途径。一是由两端切口通过脱分化形成愈伤组织再分化形成芽, 培养所需时间较长, 约经四、五周才开始形成芽; 另一是从茎段叶腋内的潜伏芽长出苗, 培养一周后, 经切片观察叶腋的潜伏芽已开始萌动(图版 I: 5), 培养两周后, 肉眼即可见到长出的小芽, 培养四周已长成苗。而此时在切口两端的愈伤组织才开始形成芽原基。采用带节茎段培养形成苗快, 这主要因为外植体不再受整体植株对它的制约, 又经合适的培养与植物生长调节物质的诱导, 才导致外植体上的潜伏芽迅速伸展的。带节茎段上潜伏芽形成的苗, 不但其培养时间短, 苗健壮, 且可保持品种的遗传特性。因此, 采用带节茎段作外植体进行良种快速繁殖的方法是值得重视的。

## 参 考 文 献

- [1] 王凯基等, 1979: 油橄榄组织培养的细胞组织学研究 I, I. 植物学报, 21(2): 127—133, 21(3): 225—228.
- [2] 王凯基等, 1981: 几种木本组织培养的愈伤组织形成和器官再生. 植物学报, 23(2): 97—103.
- [3] 许智宏等, 1980: 烟草叶组织培养中愈伤组织和芽形成的细胞学观察. 植物学报, 22(1): 1—5.
- [4] 林荣等, 1982: 金桔组织培养的初步研究. 广西植物, 2(1): 11—13.
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室编译: 1978: 植物组织和细胞培养. 上海科学技术出版社.

- [6] Gautheret, R. J. 1959: La culture des tissus vegetaux. Techniques et Realisations. Masson, Paris.
- [7] Yeoman, M. M., A. F. Dyer and A.I. Robertson, 1965: Growth and differentiation of plant tissue culture. I. Changes accompanying the growth of explants from *Helianthus tuberosus* tubers. *Ann. Bot.*, 29: 265—276.

## HISTOCYTOLOGICAL OBSERVATIONS ON CALLUS AND BUD FORMATION IN CULTURE OF *FORTUNELLA MARGARITA*

Lin Rong and Zou Qi-1i  
(Guangxi Institute of Botany)

**Abstract** The stem explants of *Fortunella margarita* were cultured on MS basal medium supplemented with 1.0 mg/l BA and 0.1mg/l IBA for induction of callus and bud formation. Histocytological observations on callus and bud formation were carried out. After two weeks of culture, the callus of nodules were formed. The cambium-like meristems, vascular nodules and meristematic cellular masses were existed in callus. After four weeks of culture, the formation of bud primordia were differentiated from the superficial meristemoids; in the same time, the meristematic cellular masses were developed from the deep regions within the callus. The buds were developed from the calluses of both the cut ends of the stem with node and also from the consealed bud in the leaf axil.

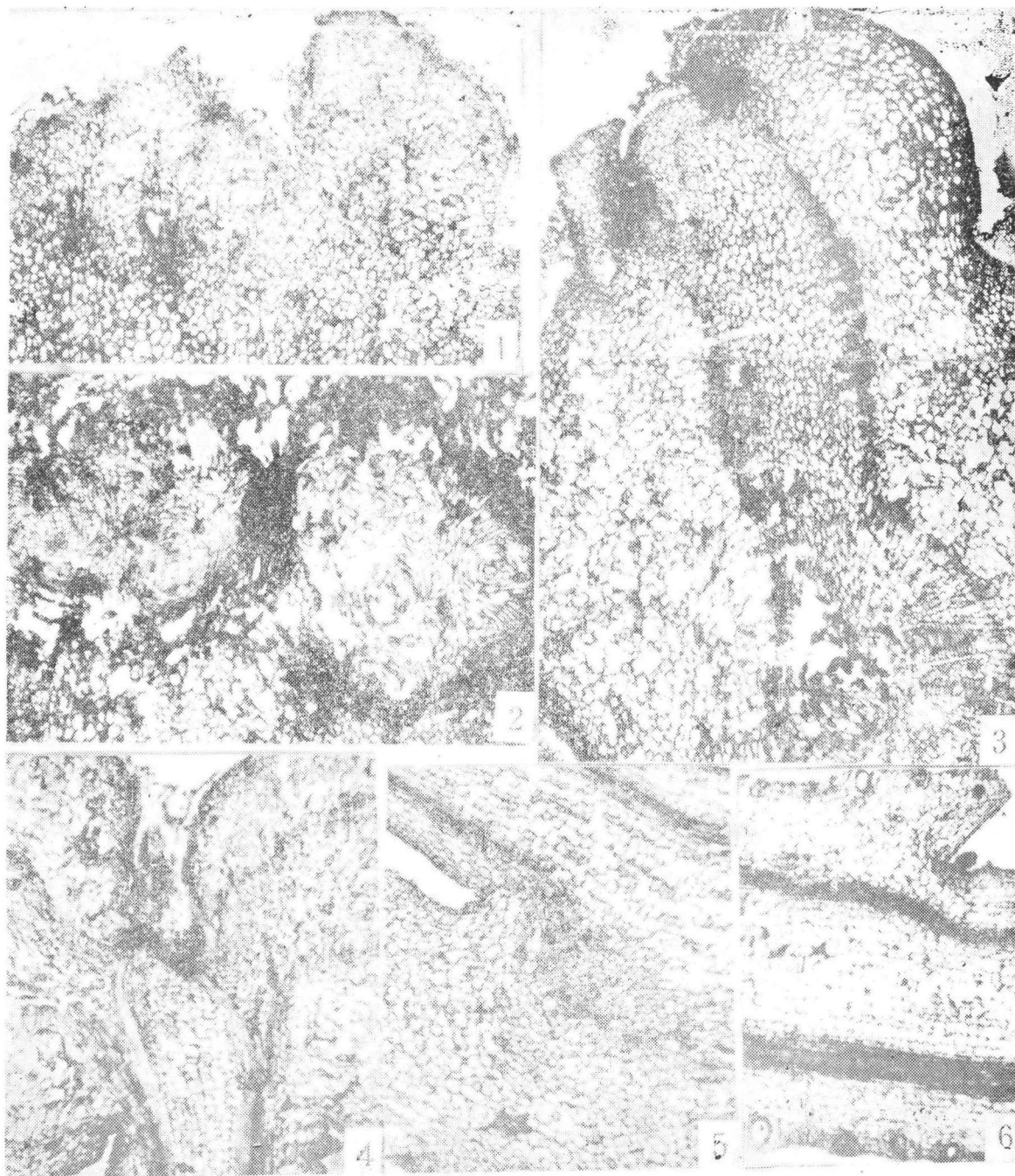
**Key words** *Fortunella margarita*; Tissue culture; Callus; Bud formation; Histocytological observation

林荣等：金桔组织培养中愈伤组织和芽形成的组织细胞学观察

图版 I

Lin Rong et al.: Histocytological observations on callus and bud formation in culture of *Fortunella margarita*

Plate I



1. 愈伤组织和瘤状突起；
2. 鸟巢状维管组织结节；
3. 芽原基与维管组织相连通；
4. 起部位是髓薄壁细胞、韧皮薄壁细胞和木质薄壁细胞；
5. 潜伏腋芽已开始萌动、伸长；
6. 带节茎段纵切面、带潜伏芽。