

2068(14)

265-267

黄槐叶片培养过程中器官发生的研究

冯莉 田兴山 张嘉宝
(河南师范大学生物系, 新乡453002)

Q949.751.9

A

摘要 以黄槐 (*Cassia surattensis* Burm. f.) 幼嫩叶片为材料, 接种于 MS+NAA 1ppm+2,4-D 1ppm+6-BA 2ppm 的培养基上, 诱导形成两种形态的愈伤组织, 即致密愈伤组织与雪花状愈伤组织, 将愈伤组织转移到 MS+NAA 1ppm+6-BA 2ppm 的分化培养基上, 仅致密型愈伤组织经过球状体至不定芽途径形成大量再生植株。扫描电镜及组织细胞学观察表明, 致密愈伤组织表层细胞排列紧密, 有许多分生细胞团, 而雪花状愈伤组织表层细胞薄壁化, 分裂能力很低。球状体起源于致密愈伤组织表层的分生细胞团, 其细胞有极强的分生能力, 顶端可以分化发育成不定芽原基, 最后形成不定芽并发育成小植株。球状体可以看成是具有形成不定芽能力的繁殖单位。

关键词 黄槐; 愈伤组织; 球状体; 器官发生 豆科

STUDIES ON ORGANOGENESIS OF LEAVES CULTURE OF CASSIA SURATTENSIS BURM. F.

Feng Li, Tian Xingshan and Zhang Jiabao
(Biology Department, Henan Normal University, Xinxiang 453002)

Abstract Two kinds of calli (i.e dense callus and snowflaky callus) were produced from immature leaves of *Cassia surattensis* Burm. f. on medium MS+NAA 1ppm+2,4-D 1ppm+6-BA 2ppm. A large number of plantlets were obtained from the redifferentiation of dense callus via globoid and adventitious bud when transfered on medium MS+NAA 1ppm+6-BA 2ppm. With scanning electron microscope and histocytological method [the observation showed that there were a lot of meristematic cell masses in the periphery of dense callus but little in snowflaky callus. The globoid originated from meristematic cell mass on the surface of dense callus, Its top redifferentiated and formed primordium of adventitious bud. Finally, the adventitious bud developed into plantlet. Therefore, the globoid can be considered as a proliferation unit producing adventitious bud.

Key words *Cassia surattensis*. ; callus; globoid; organogenesis

豆科植物组织和细胞培养的研究工作国内外已有不少报道, 但大多数偏重于草本经济作物^[1, 2, 3], 而木本植物通过培养获得再生植株的为数不多^[4, 5, 6], 特别是决明属的组织培养工作报道更少^[1]。黄槐系豆科决明属 (*Cassia*) 多年生木本植物, 全年开花, 花黄色, 我

本文电镜样品的制备和拍照在本系电镜室的同志帮助下进行, 特此致谢。

国南方城市作为庭园栽培植物和行道树观赏极为美观。作者以黄槐为实验材料,通过叶片培养获得再生植株^[7],但对其形态发生的研究还未见报道,本文通过扫描电镜及细胞组织学方法仔细观察了黄槐叶片培养中不定芽的发生和形成过程,为进一步研究黄槐快速繁殖及木本豆科植物形态发生提供参考。

1 材料和方法

黄槐幼嫩叶片取自北京香山植物园温室内栽培植物。叶片培养的方法和条件均同前文^[7]。在培养过程中,定期取样,FAA固定液固定,常规石蜡制片,切片厚 8μ ,钨矾-苏木精染色,固绿复染,VANOX型“万能”光学显微镜观察并摄影记录。用于扫描电镜观察的材料采用戊二醛及锇酸双固定,以后按扫描电镜材料制作程序制样并在扫描电镜下观察照相。

2 观察结果

2.1 愈伤组织的形态特征

叶片接种于MS+NAA 1ppm+2,4-D 1ppm+6-BA 2ppm的诱导培养基,培养20天后,形成两种形态的愈伤组织:A.致密型愈伤组织,表面有许多光滑的球状突起(图版I:1);B.雪花状愈伤组织,表面疏松,呈雪花状(图版I:2)。

通过扫描电镜观察上述两种形态的愈伤组织,可以看出其表面结构亦有很大差异:致密愈伤组织表面细胞圆形,排列紧密(图版I:3);而雪花状愈伤组织表面呈蜂窝状(图版I:4)。组织细胞学观察两种形态的愈伤组织表明:致密愈伤组织表层有很多分生细胞,其细胞质浓,核仁大而明显;分生细胞规则而紧密排列成许多分生细胞团,表现出极强的分生能力(图版I:9)。雪花状愈伤组织表层细胞大,核相对较小,形成类似液泡化的薄壁组织细胞,细胞分生能力较低(图版I:10)。

2.2 球状体的分化和不定芽的发生

将两种形态的愈伤组织都转移到MS+NAA 1ppm+6-BA 2ppm的分化培养基上,培养结果明显不同。致密愈伤组织在培养过程中,表面分化出许多绿色芽点,不久分化形成不定芽;而雪花状愈伤组织在培养过程中逐渐老化。

通过扫描电镜观察致密愈伤组织表面分化不定芽过程,可以看出:最初愈伤组织表面分化产生许多球状体,这些球状体大小不一,或密集或零散地分布于愈伤组织表面,其细胞排列紧密而有规则(图版I:5)。球状体在生长的同时亦进行分化,其表面不均等生长,使顶端向内凹陷,凹陷的四周皱折凸起,形成叶原基,从而使球状体的顶端形成不定芽原基(图版I:6),进一步发育形成不定芽(图版I:7、8)。细胞组织学观察表明:球状体由排列规则而紧密的分生细胞组成,细胞较小,细胞质浓,核大而圆,核仁明显,可以观察到许多有丝分裂相(图版I:11),从球状体分化发育成的不定芽原基上可以清楚地看到叶原基和顶端生长锥(图版I:12);不定芽原基进一步发育成不定芽(图版I:13)。

3 讨论

通过扫描电镜观察,发现不定芽起源于愈伤组织表面的球状体,这与一般组织培养中直

接从外植体或愈伤组织表面形成不定芽的过程稍有不同。这种现象在球茎及鳞茎类植物的组织培养中较常见^[8], 在其它植物的组织培养中报道较少。愈伤组织表面的球状体一方面分化出不定芽, 同时在其周围又可以再分化出小的球状体, 形成不定芽与球状体混合存在的芽团结构, 此阶段愈伤组织具有旺盛的分化潜力, 这就是在培养过程中愈伤组织经过多次继代培养仍保留增殖和器官分化能力的原因。为了大量快速繁殖试管苗, 可将具有芽团阶段的愈伤组织进行分割, 继代培养, 以促进球状体的不断产生和不定芽的形成, 这不失为快速繁殖的一种手段。

在前文^[9]中曾观察到愈伤组织表面及近表层有一些有丝分裂中期和后期相, 而本实验中又观察到球状体细胞主要进行有丝分裂, 根据大多数再生植株的倍性和遗传较稳定的事实, 可以推断球状体是由愈伤组织中少数保持有丝分裂的细胞所产生。

参 考 文 献

- 1 张 谦. 植物生理学通讯, 1986, 5: 66—76
- 2 Hammatt, N. et al.. Cell culture and somatic cell genetics of plants 1986, Vol. 3. pp. 67—95
- 3 吕慧能, 盖钧镒, 马育华. 植物生理学通讯, 1992, (2): 233—234
- 4 Paramitt, K. et al.. Plant cell tissue organ culture, 1983, 2: 49—63
- 5 Yashpal Goyal, R. L. et al.. Plant cell tissue organ culture, 1986, 4: 3—10
- 6 翟应昌. 植物生理学通讯, 1984, (4): 32
- 7 冯 莉, 张嘉宝. 河南师范大学学报(自然版), 1992, (4): 89—94
- 8 崔 激. 桂耀林主编. 经济植物组织培养与快速繁殖. 北京: 农业出版社, 1985
- 9 冯 莉, 张嘉宝. 河南师范大学学报(自然版), 1991, (4): 85—90

图 版 说 明

- 1, 2, 实体解剖镜照片, 示两种形态的愈伤组织。1, 致密型愈伤组织。2, 雪花状愈伤组织。3—8, 扫描电镜照片: 3, 致密型愈伤组织($\times 150$)。4, 雪花状愈伤组织($\times 160$)。5, 致密型愈伤组织表面分化形成的球状体($\times 71.5$)。6, 球状体顶端分化形成不定芽原基($\times 52$)。7、8, 不定芽原基发育成不定芽($\times 84$)。9—13, 组织切片: 9, 致密愈伤组织纵切、示表面的分生细胞团($\times 60$)。10, 雪花状愈伤组织纵切, 示表面细胞结构($\times 50$)。11, 致密愈伤组织表面形成的球状体($\times 60$)。12, 球状体发育成不定芽原基($\times 50$)。13, 不定芽原基发育成不定芽($\times 60$)。