

翅果油树茎段愈伤组织和芽发生的组织学研究^{*}

陈 惠 白新生

(山西师范大学生物系, 临汾 041004)

摘 要 本文对翅果油树大宫灯型茎段培养在 MS 附加 6-BA 较高、NAA 较低浓度的培养基上培养 0~30 d 的组织学变化进行了研究。创伤对其愈伤组织的形成有明显的刺激作用, 培养 3~4 d 切口处的皮层细胞、形成层细胞、韧皮部薄壁细胞以及髓组织细胞, 甚至表皮细胞均脱分化开始分裂; 培养 8~11 d, 切口明显膨大, 起源于髓及维管组织周围薄壁细胞的愈伤组织突起大; 培养 12~20 d 愈伤组织块中出现了分生组织和维管组织结节; 培养 21~30 d, 愈伤组织表层和近表层细胞分化出芽原基, 但与维管组织结节无直接联系。

关键词 翅果油树; 茎段; 愈伤组织; 不定芽; 组织学研究

Histological studies on the callus formation and buds morphogenesis of stem segments in *Elaeagnus mollis*

Chen Hui Bai Xinsheng

(Biology Department, Shanxi Teacher's University, Linfen 041004)

Abstract In this paper, the histological studies of *Elaeagnus mollis* (Da Gong Deng) stem segments cultured on MS with higher BA and lower NAA from 0 to 30 days were researched. We found that the wound had obvious stimulation to callus formation. After 3 or 4 days culture, cortical cells, vascular cambium parenchyma cells of phloem, pith and epiderms at cuts all dedifferentiated and began division. When it was cultured for 8~11 days, cuts expanded obviously, larger emergences were formed on the surface of callus which come from pith and parenchyma cells of vascular. When the culture continued for 12~20 days, generating tissue and vascular nodules appeared. The differentiation of culture lasted 21~30 day's the buds on the surface of callus appeared, bud primordia was developed from the surface or near surface cells in the callus but had nothing to do with vascular nodules.

Key words *Elaeagnus mollis*; stem segment; callus; adventitious buds; histological study

翅果油树 (*Elaeagnus mollis* Diels) 是一种新兴的油料树种和药用植物, 属国家二级保护植

^{*} 1997-04-02 收稿

第一作者简介: 陈 惠, 女, 1964 年出生, 硕士, 副教授, 从事植物生理学教学与科研工作。

物^[1, 2]。关于其组织培养我们已对其三个生态型中的大宫灯和长果型的茎段、茎节、叶片等三种外植体进行过培养, 三种外植体均能分化出不定芽^[3]。本次对大宫灯型茎段在 MS 附加 6-BA 较高和 NAA 较低浓度的培养基上培养 0~30 d 过程中的组织学变化进行研究, 为其不定芽发生提供进一步的理论依据。

1 材料与方 法

1993、1994 年 5 月从山西省翼城县甘泉林场采回翅果油树大宫灯型当年生嫩枝约 15 cm 长, 取嫩枝中间段将其切成 0.8~1 cm 长的小段接种在 MS 附加 6-BA 较高 NAA 较低浓度的培养基上。培养温度 25 ℃左右, 光照 10~12 h, 光照强度 1 000~2 000 lx。

组织学观察, 在培养的 0~30 d 中, 每隔 2~3 d 用 FAA 固定液固定一次, 酒精系列脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度 10~12 μm, 番红-固绿对染或海登汉氏苏木精染色, 光学树脂封片, Olympus 显微镜下摄片。

2 观察结果

2.1 正常茎段横切结构

正常大宫灯茎段横切(图版 I: 1)依次可见: 最外为表皮层, 其上具有多细胞构成的表皮毛; 表皮层以内为厚角组织和薄壁细胞构成的皮层, 其内为韧皮部、形成层、木质部和髓。

2.2 愈伤组织的发生

创伤对大宫灯茎段愈伤组织的形成有明显的刺激作用, 切口处比远离切口处变化早, 所形成的愈伤组织量多。培养的 3~4 d, 切口处表皮细胞已排列不整齐; 厚角组织细胞逐渐脱分化向薄壁细胞转变, 皮层细胞体积开始增大, 形成层细胞多进行不规则分裂, 韧皮部细胞也开始分裂(平周或垂周), 木质部薄壁细胞也进行分裂但不明显, 髓部细胞逐渐脱分化为更大的薄壁细胞(图版 I: 2)。而远离切口处还处于相对静止状态。培养的 8~11 d, 随着各组织细胞不断分裂在切口处逐渐形成愈伤组织。有些茎段在远离切口处的局部区域从表皮到髓各种组织中的薄壁细胞, 及厚角组织均有脱分化现象; 如图版 I: 3 所示为培养 10 d 远离切口处横切, 茎各处细胞起分裂不均, 右侧尚处于相对静止状态, 左侧各组织细胞分裂后细胞层数及体积均增加, 说明茎各处受激素刺激不同, 此外远离切口处细胞起分裂后仅处于如图版 I: 3 之状态不会进一步形成愈伤组织, 外观上使茎膨大。而切口处变化最大如图版 I: 4 为培养 11 d 的茎纵切, 切口处髓部和维管组织上方附近起源的愈伤组织突起大, 起源于皮层和表皮的愈伤组织突起小, 由此说明维管组织对营养的转运可以促进细胞分裂。另外, 表皮毛细胞已脱分化为染色很深的细胞, 覆盖在愈伤组织表面。

2.3 愈伤组织的分化

培养的 12~20 d, 愈伤组织表层和近表层细胞逐渐转变为体积小, 核大, 质浓的胚性细胞(图版 I: 5)。在远离表面的愈伤组织中多为薄壁细胞, 其中可见到单个染色深, 核大质浓的胚性细胞, 此类细胞是愈伤组织薄壁细胞脱分化而来, 由它增生的细胞多进行平周分裂, 并作切向伸长, 内部细胞则多向分裂形成多面体细胞, 这样的结构即为分生组织结节, 分生组织节进一步发育, 部分细胞伸长, 壁不同增厚为导管, 这样的结构即为维管组织结节(图略)。这些结构往往不多。

2.4 芽的发生

培养的 21~30 d, 在愈伤组织表面可见到绿色芽点。芽原基是由愈伤组织表层或近表层细胞发育而来, 由表皮毛脱分化而成的着色深的细胞, 不参与芽原基的形成, 其下有些部位的细胞质浓厚, 体积小分裂旺盛的细胞, 一般称为胚性细胞则参与芽原基原套、原体层的分化, 其发育详细过程与杜仲^[4]下胚轴愈伤组织芽原基的分化极为相似。图 7 为培养 30 d 的茎纵切具两个叶原基突起的芽原基其下方没有维管组织结节的存在, 其他不定芽也类似, 故认为大宫灯茎愈伤组织芽的形成与维管组织结节无直接联系。

3 讨 论

翅果油树大宫灯茎段愈伤组织发生其起动分裂的细胞不限于某一组织, 而是切口处所有组织中的活细胞均可参与, 这与王凯基等人^[5]所做的油橄榄茎段切口上的愈伤组织起源于茎各组织的活细胞相似, 但从图片上看还是有区别的, 王凯基等人所示油橄榄, 茎切口愈伤组织的产生比较局限于某一部位活细胞的不断分裂, 而翅果油树的愈伤组织的来源广泛, 几乎所有切口处的活细胞起动分裂后都将参与愈伤组织的形成。另外, 创伤对愈伤组织的形成有刺激作用, 故切口处往往能形成大量愈伤组织, 非切口处, 虽然局部区域的所有活细胞也有脱分化, 使茎稍有膨大, 但不能形成愈伤组织。

关于翅果油树茎段愈伤组织芽原基的分化, 一般限于表面的愈伤组织, 且是由表面的一些染色深, 核大, 质浓的被称作分生细胞团的细胞发育而来, 这一结果也与王凯基等人^[6]结果相同, 故芽的发生是外起源的而不是内起源的, 且芽的发生与维管组织结节无关。愈伤组织内部分化的维管组织结节, 往往就停留在这个阶段不再分化。

参 考 文 献

- 1 中国树木志编委会主编. 中国主要树种造林技术. 北京: 中国林业出版社, 1983. 974
- 2 中国科学院植物研究所《中国植物志》52 卷, 第二分册. 北京: 科学出版社, 1984. 206~230
- 3 陈 惠, 白新生. 翅果油树的组织培养. 见《北方植物学研究》第一集. 天津: 南开大学出版社, 1993. 74~79
- 4 周毓君, 何春民. 杜仲下胚轴愈伤组织的形成和芽的发生. 见《北方植物学研究》第一集. 天津: 南开大学出版社, 1993. 65~68
- 5 王凯基, 张丕方, 倪德祥等. 油橄榄组织培养的细胞组织学研究. I. 愈伤组织的建成. 植物学报, 1979, 21 (2): 127~133
- 6 王凯基, 张丕方, 倪德祥等. 油橄榄组织培养的细胞组织学研究. II. 组织分化和器官发生. 植物学报, 1979, 21 (3): 225~230

图 版 说 明

图 1 翅果油树茎横切 ($\times 75$); 图 2 培养 3 d 切口处茎横切 ($\times 100$); 图 3 培养 10 d 远离切口处横切 ($\times 75$); 图 4 培养 11 d 茎纵切 ($\times 10$) (黑箭头所示为愈伤组织突起, 白箭头所示木质部导管); 图 5 培养 20 d 茎横切 ($\times 150$); 图 6 培养 24 d 茎横切 ($\times 75$); 图 7 培养 30 d 茎横切 ($\times 75$) (箭头所示为芽原基)

Explanation of plate

Fig. 1 Thansection of stem in *Elaeagnus mollis* ($\times 75$); **Fig. 2** Transection of stem at cut, after 3 days culturing ($\times 100$); **Fig. 3** Transection of stem far from cut, after 10 days culturing ($\times 75$); **Fig. 4** Longitudinal section of stem after 11 days culturing (black arrow showing the callus protruding, white arrow showing the vessel element of xylem) ($\times 50$); **Fig. 5** Transection of stem after 20 days culturing ($\times 50$); **Fig. 6** Transection of stem after 24 days culturing ($\times 75$); **Fig. 7** Longitudinal section of stem after 30 days culturing arrow showing the bud primordia ($\times 75$)