

扫描电镜下柑桔胚状体和 不定芽的形态差异

MORPHOLOGICAL DIFFERENCES BETWEEN EMBRYO AND ADVENTITIOUS BUD UNDER SEM

张菊英 高峰 张进仁 陈善春

(中国农业科学院柑桔研究所)

Zhang Juying Gao Feng Zhang Jinren Cheng Shanchun

(Citrus Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences)

摘要 扫描电镜观察结果表明, 胚状体和不定芽在发育过程和表皮形态均存在非常明显的差异。其中, 不定芽与愈伤组织间具环状节是它们间最显著的形态差异之一。

关键词 柑桔; 胚状体; 不定芽; 扫描电镜; 形态差异

Key words Citrus; Embryo; Adventitious bud; SEM; Morphological differences

植物组织培养中, 愈伤组织的再分化(即形态发生)方式主要有两种: 一种是体细胞胚胎发生, 即通过与合子胚大致相似的胚胎发生过程, 形成具有两极性的胚状体, 进而发育成完整植株; 另一种是器官发生, 即产生单极性的不定芽而形成植株。两种方式相比, 由于前者所形成的胚状体具有数量多、速度快、结构完整及单细胞起源等优点, 而使其受到普遍重视, 并已取得相当大的进展^[1]。然而, 胚状体的发生早期与不定芽常常难以区分, 因此就产生了判断胚状体的标准问题。我们在进行柑桔胚珠愈伤组织形态发生的扫描电镜观察过程中, 对胚状体和不定芽的形态特征作了比较观察, 并提出了在扫描电镜下鉴别胚状体和不定芽的形态依据。

1 材料和方法

供试品种为椪柑(Citrus reticulata Blanco)。取花后7~8周的幼果, 70%酒精表面消毒后, 切开幼果, 将胚珠接种于含有500 mg/L酪蛋白水解物(CH)的MT培养基上。以后每隔1~2月继代培养一次。培养条件为28±2℃、每日光照16 h(约2 000 lux)。

扫描电镜制样材料为经过3次继代培养的愈伤组织。样品经5%戊二醛(0.1 mol/L磷酸缓冲液、pH7.2)前固定8 h及1%锇酸后固定6 h, 磷酸缓冲液冲洗3次, 30%至100%系列酒精逐级脱水, 乙酸正戊酯置换2次, CO₂临界点干燥, 离子溅射镀金, 最后用JSM-20T扫描电镜在19 KV加速电压下进行观察和摄影。

2 结果

观察结果表明, 在扫描电镜下胚状体(图版1~3)和不定芽(图版4~6)的形态差异非常明显: 1、胚状体具有两极性, 尤其表现在后期胚芽和胚根的不同步分化; 而不定芽是单极性的, 只有芽原基。2、胚状体具有完整的皮层包裹, 与母体愈伤组织无维管组织联系,

容易与其脱离,而不定芽始终与母体愈伤组织紧密相连。3、胚状体需经历类似合子胚的发育过程,即球形、心形、鱼雷形和子叶形4个阶段;不定芽不经历此过程,而是在顶端分化出数个叶原基并包裹中心,形成锥形茎尖。4、除个别阶段的胚状体出现少量表皮毛(1~2根)外,大部分阶段的胚状体表皮非常光洁平整,细胞排列整齐紧密;而不定芽表皮比较粗糙并且始终有大量密集的表皮毛。5、不定芽与愈伤组织间具有一个凸出的环状节;而胚状体不具此结构。

3 讨论

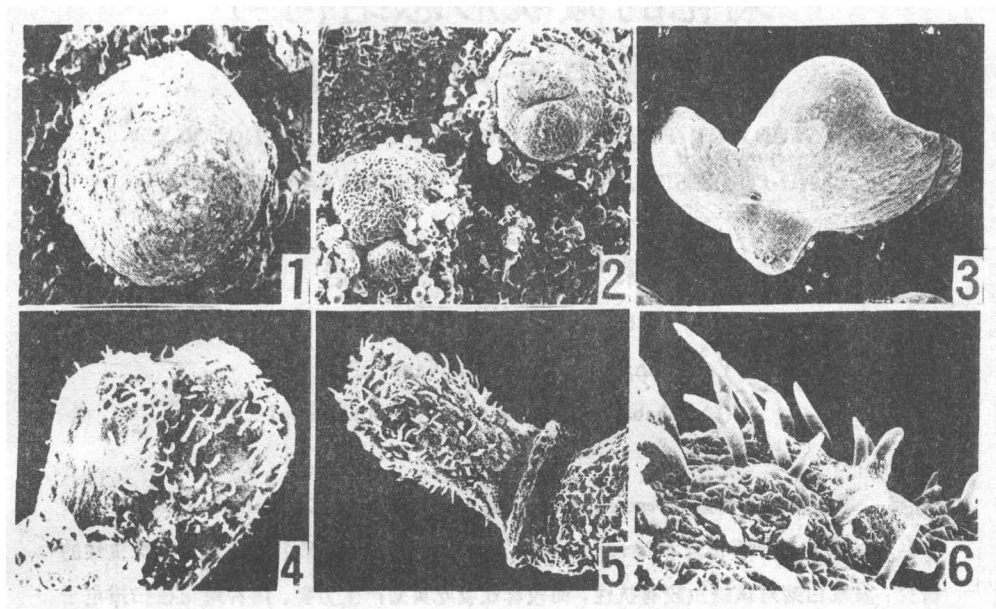
关于胚状体与不定芽的鉴别标准,自70年代初Haccuis^[7]提出判别胚状体的两个重要特征以来,许多学者先后又作了补充。但由于都是基于组织切片和光镜的观察结果,存在试验步骤繁杂、工作量大及分辨率和放大倍率低等不足。因此,对某一具体材料标准往往不易掌握,或者作出错误判断^[8]。

本文利用扫描电镜技术具有分辨率高、放大倍数大、景深长、图象立体感强和制样较简便等优点,首次将此技术应用于双子叶植物胚状体与不定芽形态差异的比较研究。结果表明,在扫描电镜下它们间的形态差异非常明显。除对有无维管组织、原表皮的原生质是否浓厚等的观察不及组织切片法的观察直接外,前人用光镜所观察到的形态差异均能非常清楚地显现。特别值得一提的是,本文首次发现在不定芽与愈伤组织之间存在一个凸出的环状节,而且它是扫描电镜下不定芽与胚状体最明显的形态差异之一。这一发现不仅丰富了它们间的差别依据,而且为研究不定芽的起源奠定了基础。

此外还发现,表皮是否光滑平整、细胞排列是否整齐密集及有无表皮毛等,也是它们之间形态差异的另一明显标志。许多学者在其他植物的胚状体观察中虽未在文中论及,但从他们的图版可以看出,胚状体具有表皮光滑平整、细胞排列整齐紧密、无表皮毛等表皮特征^[4,9]。这些与本文的结果是基本一致。但在非洲紫罗兰中却发现,在胚状体各个历程上,也具有发达的腺毛和毛^[9]。因此,胚状体的表皮特征是否存在物种特异性、能否作为与不定芽间的判别依据?还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 郭仲聚,桂耀林主编.植物体细胞胚胎发生和人工种子.北京:科学出版社,1990
- 2 杨乃博.植物生理学通讯,1983(6):33~37
- 3 张丕方等.植物学报,1982,24(3):282~284
- 4 桂耀林等.植物细胞工程应用基础研究新进展(中科院植物所、兰州大学生物系主编).北京:学术期刊出版社,1989:68~71
- 5 胡自华等.植物体细胞胚胎发生和人工种子(郭仲聚、桂耀林主编).北京:科学出版社,1990:57~62
- 6 林汉章等.福建省农学院学报,1987,2(2):79~80
- 7 Haccuis, B. Bot J, 1971, 91: 309



图版 1 球形胚, 2 球形胚后期和心形胚, 3 子叶胚,
4 不定芽顶端, 5 不定芽, 6 不定芽表皮