

文章编号: 1001-411X(2000)04-0047-04

# 墨兰组织培养中原球茎的形态解剖研究

祝建<sup>1</sup>, 张军<sup>1</sup>, 石红军<sup>1</sup>, 谢良生<sup>2</sup>, 李开良<sup>1</sup>, 赵勇峰<sup>1</sup>

(1 同济大学医学院生物教研室, 上海 200331; 2 深圳市城市管理办公室城市绿化管理处, 广东 深圳 518028)

**摘要:** 通过对墨兰(*Cymbidium sinense*)组织培养中原球茎外部形态、内部结构的观察研究, 发现墨兰茎尖组织培养中产生的原球茎和丛生型原球茎虽外形差别较大, 但内部结构都具有根的典型特征。芽的分生组织可以在原球茎表层、丛生型原球茎或其顶端发生。芽的顶端分生组织与随后产生的根的顶端分生组织共同构成胚状结构, 其形态与种子胚相似。由于墨兰组培中先后产生的原球茎和丛生型原球茎其内部结构都属典型的根结构, 故称之为原球茎值得商榷。此外, 芽的幼叶中具有含大量草酸钙针晶的异细胞。

**关键词:** 墨兰; 原球茎; 形态发生

**中图分类号:** Q944.5

**文献标识码:** A

自 1960 年 Morel 开创兰花快速组织培养技术以来, 兰花快速繁殖尤其在中国兰的组培方法上已有了许多突破<sup>[1,2]</sup>。随着对兰花快速繁殖、组织培养研究的进一步深入, 对各类兰花组织培养方法的改进, 从而对中国兰快速无性繁殖系的种源——原球茎或类原球茎的性质和生长、发育规律均有了进一步的了解。但由于诸多研究的侧重点不同, 因此对原球茎的结构、生长发育规律以及性质存在有不同的看法<sup>[3,4]</sup>。本文通过对墨兰原球茎的发生、发育及其内部结构的观察, 进一步阐明了墨兰原球茎的形态结构和发生、发育规律, 并对原球茎的形态本质有了新认识, 其目的是为中国兰花的快速繁殖提供一些理论和实践依据。

## 1 材料与方法

本实验采用墨兰(*Cymbidium sinense*)组织培养中的原球茎和丛生型原球茎为材料(包括大小球状突起的原球茎、白色和绿色的丛生型原球茎以及由它们长出的不定芽、不定根)。从培养瓶中直接取材, 切割成 2 mm×3 mm 小块, FAA 液固定 3 h, 然后进行脱水、包埋和石蜡切片,  $\delta=8\sim12\mu\text{m}$ , 番红-固绿染色制成永久切片。Olympus 光学显微镜观察并照相。另外, 取不同发育阶段的原球茎、丛生型原球茎及新芽, 用 Olympus 体视显微镜观察和照相。

## 2 结果

在墨兰茎尖培养过程中, 茎尖组织表面最初可见许多白色、半透明的球状突起——原球茎。随着球

状突起的进一步发育和增大, 其颜色逐渐转变为浅绿色、绿色,  $d$  为 6~20 mm。一些突起呈圆球状(图 1), 其中一些可发育形成芽和幼苗(图 2)。原球茎顶端可继续发育、伸长、分支形成圆柱形的丛生型原球茎。实体镜下可见单个圆柱形的原球茎明显分节, 但节间较短, 约为 4~6 mm(图 3), 其节部可以形成新的突起, 直接产生芽, 或继续伸长形成根状茎的分支。圆柱型原球茎及其分支可继续发育、伸长, 或者顶端分化形成芽(图 4、5)。

原球茎的内部结构由外到内分为 3 部分: 表皮、皮层和中柱(图 6)。表皮由单层细胞构成, 细胞呈长方形, 排列整齐而致密, 无胞间隙, 起保护作用。皮层由 12~14 层细胞组成, 细胞排列疏松, 胞间隙明显。细胞壁薄, 细胞内分布有大量的淀粉颗粒。内皮层细胞结构典型, 具凯氏点(图 7)。中柱由中柱鞘、木质部和韧皮部组成。中柱鞘紧邻内皮层, 由 1 层薄壁细胞组成, 排列紧密, 无胞间隙, 具有潜在的分裂能力。木质部与韧皮部相间排列, 木质部束状呈星芒状放射排列, 具 5~6 束, 韧皮部分布于木质部束之间。

幼嫩的丛生型原球茎呈白色, 较细,  $d$  约 3~5 mm; 较成熟的呈绿色, 较粗,  $d$  约 4~7 mm。圆柱形丛生型原球茎在横切面呈根的结构特征, 从外向内各层依次为: 表皮、皮层和中柱。表皮由单层细胞构成, 胞体小, 长方形, 外壁较厚, 细胞排列紧密, 无胞间隙。皮层由 12~14 层细胞组成。外皮层细胞较小, 位于皮层最外方, 排列紧密。中皮层细胞较大, 排列疏松, 胞间隙明显, 细胞壁薄, 细胞内有大量淀粉颗粒。内皮层细胞较小, 排列紧密, 细胞壁可见到加厚

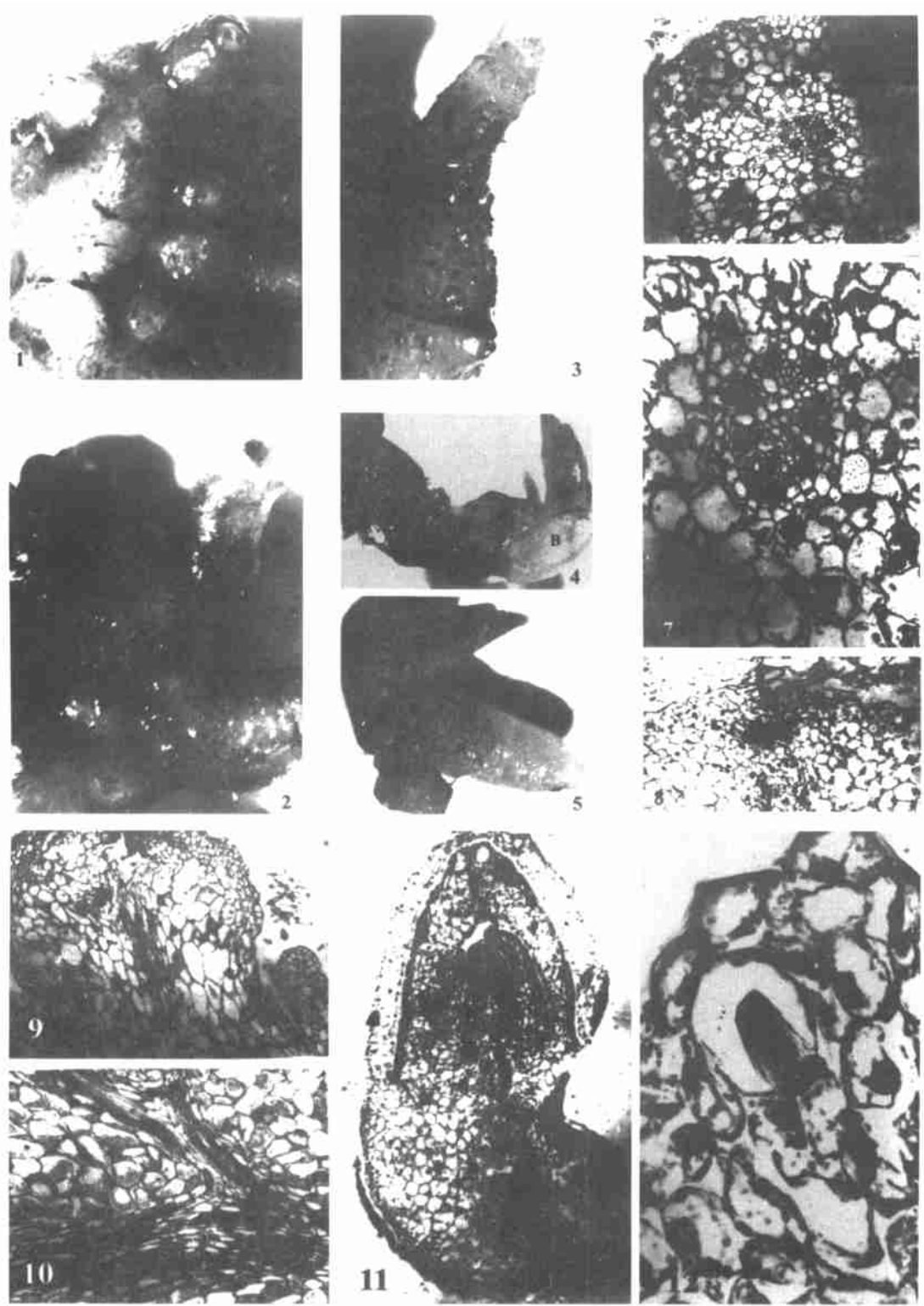


图 1 原球茎(箭头示伸长的原球茎)×13; 图 2 示原球茎所形成的芽(B)×13; 图 3 示丛生型原球茎, 顶端继续营养生长×16; 图 4 丛生型原球茎顶端形成芽×17; 图 5 示新苗(芽-左面突起, 幼根-半透明状的圆柱形突起)×17; 图 6 原球茎横切面×165; 图 7 原球茎横切面示中柱(箭头示内皮层凯氏点)×1050; 图 8 示皮层分生组织×200; 图 9 示通向原球茎内部的维管组织×240; 图 10 丛生型原球茎纵切面示维管组织及其分支×280; 图 11 芽的纵切面(箭头示根的分生组织)×96; 图 12 芽的纵切面示幼叶中的异型含晶细胞×1120 B-bud, R-root

Fig. 1 Protocorm (arrow showing a elongated protocorm) × 13; Fig. 2 Showing the bud of protocorm (B) × 13; Fig. 3 Showing the rosette protocorm and its apical vegetative growth × 16; Fig. 4 The bud formed by apical of rosette protocorm × 17; Fig. 5 New young plant (Bud-left protuberance, young root-translucent columna protuberance) × 17. Fig. 6 Transverse section of protocorm × 165; Fig. 7 Showing the vascular cylinder in transverse section of protocorm (arrow showing the Caspian dots in endodermis) × 1050; Fig. 8 Showing the meristem in cortex × 200; Fig. 9 Showing the branch of vascular tissue in protocorm × 240; Fig. 10 Showing the vascular tissue in rosette protocorm × 288; Fig. 11 Longitudinal section of bud (arrow showing the meristem of root) × 96; Fig. 12 Raphid idioblast in young leaf × 1120; B-bud, R-root

的凯氏点, 中央为中柱, 由中柱鞘、木质部和韧皮部组成。中柱鞘紧邻内皮层, 由1~2层薄壁细胞组成, 排列紧密, 无胞间隙。中柱的木质部与韧皮部相间排列, 木质部呈星芒状, 韧皮部插入其间, 约5~6束。近表皮的皮层中还可见到成团的体积较小、细胞核大、细胞质深的分生组织(图8)。纵切面上可见到维管组织分支。原球茎中心维管组织与其侧面球状突起的维管组织相互连接(图9、10)。

组织培养中的芽可由原球茎、丛生型原球茎或顶端形成, 由多层幼叶包裹着生长点构成, 在芽顶端相对的另一极可产生一大一小2条根。从纵切面上, 可以观察到芽的顶端分生组织、叶原基及腋芽, 而与芽的顶端分生组织相对的另一极形成根的分生组织, 类似双子叶植物的种子胚结构(图11)。在芽的顶端和根部之间有维管组织的分化。以后, 茎尖向上生长分化为茎叶部分, 而根部突起向下生长形成椭圆形的凸起, 最后形成根。芽顶端分生组织下有2束维管组织与原球茎相连, 通过其提供养分供芽的生长发育。芽的顶端分生组织结构与史密斯<sup>[9]</sup> 1924年所提出的原套-原体学说相一致。原套位于最外层, 由1层排列紧密并与内层细胞呈垂直排列的细胞组成, 此层细胞只进行垂周分裂, 因而只能增大顶端分生组织的表面积, 以后原套分裂形成表皮层。原体是由原套下排列不整齐、细胞核大、细胞质深的多层细胞组成, 此部分细胞可以向各个方向分裂, 能增大顶端分生组织的体积, 使茎尖增大。顶端分生组织的两侧交互产生叶原基进而分化形成幼叶, 其叶腋处的腋芽可分化形成侧枝。根部分生组织是由1团细胞核大、细胞质深、排列不整齐的细胞组成, 以后这团分生组织发育分化形成根端, 如图11所示。

在芽的幼叶中具有许多含晶的异细胞(图12), 其结晶物主要是由草酸钙所形成的针晶。

### 3 讨论

墨兰组培苗的发生、发育遵循以下途径: 茎尖-原球茎-丛生型原球茎-增殖(包括形成新植株及建立无性繁殖系)。通过实验观察发现, 原球茎可向2个方向分化: 有些可直接分化出芽、根, 进而形成苗; 另一些可伸长、分支形成圆柱状丛生型原球茎, 它们具有明显的节、顶芽、腋芽等特征。以上二者的内部结构特征相似, 内皮层有明显的凯氏带加厚、中柱鞘及韧皮部、木质部相间排列的特征。

王熊等<sup>[2]</sup>认为丛生型原球茎是分生活跃的分生组织。笔者在实验中观察到从原球茎到丛生型原球茎的形成其皮层细胞并未明显增多, 从切片只可观

察到一些由近表皮的皮层细胞脱分化所形成的分生组织。所以, 笔者认为原球茎和丛生型原球茎是一种营养繁殖器官, 其近表皮的薄壁组织在一定条件下可以脱分化形成分生组织, 而本身并不是一种活跃的分生组织。它与兰花种子萌发时所形成的原球茎(由胚性细胞组成)不同。

通常认为原球茎和丛生型原球茎是一种类似茎的器官或者是根状茎<sup>[6]</sup>。需要指出的是, 原球茎和圆柱状丛生型原球茎都具有典型的双子叶植物根的结构。而丛生型原球茎却具有地下茎的外部形态, 这就使得笔者对原球茎和丛生型原球茎的性质产生了疑问。是否地下茎也会产生类似根的结构? 或者在组培条件下, 原球茎和丛生型原球茎的内部结构发生了一些变化? 这种外部似茎, 内部似根的现象与墨兰原球茎和丛生型原球茎的生长以及芽的分化究竟有何内在联系, 还需要进一步实验和探讨。

虽然原球茎也可直接形成苗, 但其营养繁殖主要是靠丛生型原球茎来实现的。组织培养中所形成的丛生型原球茎有别于自然条件下墨兰的根状茎, 前者增殖快, 出芽多, 在兰花的快速繁殖中具有重要的意义。而后者增殖缓慢, 出芽少, 俗称为“龙根”, 是自然条件下兰花的营养繁殖器官。墨兰的原球茎和丛生型原球茎发育形成说明虽然组织培养可以打破或中断植物或其器官发育中的一些过程从而达到快速繁殖的目的, 但还是遵循其自然状态下生长发育的遗传规律。因此, 在进行兰花快速繁殖的研究时, 必须对兰花组培中所产生器官的性质充分了解, 才能有的放矢地进行人工快速繁殖, 这不仅在理论上而且在实践中都有重要意义。虽然原球茎和以后形成的丛生型原球茎都可分化出芽, 但原球茎形成的芽通常较少。而丛生型原球茎可以通过其伸长、分支大量地繁殖, 产生大量的芽, 进而形成大量的幼苗。通过对原球茎和丛生型原球茎的认识可以根据其内部结构和外部形态, 有针对性地进行切割和激素水平的调控等手段来促进丛生型原球茎的增殖、分化、发芽, 使得墨兰可以进行人工大量繁殖。因此笔者认为, 原球茎的发生和丛生型原球茎的生长调控是墨兰快速繁殖的关键之一。

墨兰组织培养中产生的芽与种子产生的芽相似。在芽的纵切面中看到的芽顶端和基部根的分生组织与兰花种子的胚很相似。但前者为营养繁殖的产物, 而后者为有性繁殖的产物(种子胚)。从这一点也说明组织培养中所产生的器官, 同样遵循着墨兰自然条件下发生、发育的遗传规律。

参考文献:

[ 1 ] 王 熊, 陈季楚, 刘桂云, 等. 建兰和秋兰原球茎的发生及其无性系的建立[ J ]. 植物生理学报, 1981, 7: 203—207.

[ 2 ] 王 熊, 吴敦肃. 建兰类原球茎体生长、发育过程中扫描电镜观察[ J ]. 植物生理学报, 1991, 17(2): 192—196.

[ 3 ] 王 熊. 地生兰(*Cymbidium*)个体发生途径研究[ J ]. 植物生理学报, 1990, 16(3): 264—270.

[ 4 ] 卢思聪. 中国兰与洋兰[ M ]. 北京: 金盾出版社, 1997. 3.

[ 5 ] SCHMIDT A. Histologische studien an phanerogamen vegetationapunken[ J ]. Bot Arch, 1924, 8: 345—404.

[ 6 ] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[ M ]. 北京: 中国林业出版社, 1991. 99.

Study on the Anatomy of Protocorm of *Cymbidium sinense*

ZHU Jian<sup>1</sup>, ZHANG Jun<sup>1</sup>, SHI Hong-jun<sup>1</sup>, XIE Liang-sheng<sup>2</sup>, LI Kai-liang<sup>1</sup>, ZHAO Yong-feng<sup>1</sup>

(1 Dept. of Biology, Medical College, Tongji Univ., Shanghai 200331, China;  
2 City Afforest Dept., City Administrative Office, Shenzhen 518028, China)

**Abstract:** The observation on the structure of protocorm of *Cymbidium sinense* shows that inner structures of protocorm and rosette protocorm are similar although their outer forms are different. Buds occur on the protocorm and node and end of rosette protocorm. Embryoid-like structure is formed by shoot apical meristem and root apical meristem and it is similar with seed embryo. According to development and structure, protocorm and rosette protocorm is considered as a vegetative propagational organ. In addition, the large crystal cells can be observed in the leaf primordia of *Cymbidium sinense*.

**Key words:** *Cymbidium sinense*; protocorm; morphogenesis

【责任编辑 柴 焰】

(上接第 11 页)

[ 6 ] 贾祖璋, 贾祖珊. 中国植物图鉴[ M ]. 北京: 中华书局, 1955. 1—243.

[ 7 ] 陈焕镛. 海南植物志: 第 2 卷[ M ]. 北京: 科学出版社, 1965. 57—465.

[ 8 ] 广东省植物研究所. 海南植物志: 第 4 卷[ M ]. 北京: 科学出版社, 1977. 1—488.

[ 9 ] 中国科学院药物研究所. 中药志: 第 I ~ III 册[ M ]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 1—706.

[ 10 ] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[ M ]. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 1—300.

[ 11 ] 江苏新医学院. 中药大辞典: 上、下册[ M ]. 上海: 上海科技出版社, 1979. 1—2730.

[ 12 ] 成都中医学院. 中药学[ M ]. 上海: 上海科技出版社, 1978. 33—267.

The Classification and Utilization of Wild Vegetables Resources in Guangdong

GUAN Pei-cong, LIU Hou-cheng, LUO Guan-ying  
(Dept. of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Primary investigation showed that there were 144 species wild vegetables (not including edible wild fungi, pteridophyte and phycophyte) in Guangdong province, these resources distributed in 54 families, including annual, biennial and perennial herb, shrub and arbor, terrestrial and hydrophilous plant. The wild vegetables were classified according to plant taxonomy. The growth period, edible organ and medicine effectiveness of 144 species wild vegetables in Guangdong province and their classification were studied. Some species which can be exploited in the near future were recommended.

**Key words:** wild vegetable; plant classification; growth period; edible organ; medicine effectiveness

【责任编辑 柴 焰】