

文章编号: 1001-411X(2001)03-0040-03

难易生根桉树茎解剖结构和多酚类物质分布的组织化学比较

张少翔¹, 丘醒球¹, 黄卓烈¹, 谭绍满²

(1 华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学林学院, 广东 广州 510642)

摘要: 各种桉树扦插生根能力不同; 通过对刚果 12 号桉 W5 无性系, 尾叶桉 MLA 无性系, 窿缘桉, 柠檬桉插条茎解剖结构和其内含物多酚物质分布研究发现, 桉树的射线相对较发达, 木射线木质化程度相对较低及多酚物质含量多, 分布广, 较易产生诱导根原基。

关键词: 桉树; 插条生根; 射线; 多酚物质

中图分类号: Q944

文献标识码: A

桉树是华南地区主要造林树种之一, 具有速生丰产特性及较高的经济价值。因其有性繁殖后代分化严重, 优良性状难以保留, 故生产上常用无性繁殖方法育苗造林。其中扦插方法因其成本低, 操作简单而广泛使用。从解剖学研究方面看, 桉树扦插能否成活关键在于插条不定根是否容易形成。研究工作发现, 整个桉属树种插条内均无原生的根原基, 因而在自然条件下大多数桉树扦插成活率很低, 需要在外界物理或化学条件刺激下, 通过诱导, 插条产生诱导根原基, 才能扦插繁殖成活^[1]。

不同桉树幼茎插条在相同环境条件下生产诱导根原基能力不同, 这和不同树种插条茎组织结构上的差异有关, 也和插条茎组织细胞内多酚物质及多酚氧化酶分布和含量多少有关^[2]。易生根的刚果 12 号桉 W5 无性系 (*Eucalyptus* ABL 12 W5) (以下简称 W5) 插条的皮层、韧皮薄壁细胞、形成层、射线等均可诱导产生根原基, 发根率达到 90%; 尾叶桉 (*E. woophylla* S. T. Blake) MLA 无性系 (以下简称 MLA) 只观察到由韧皮射线分化产生出的根原基, 发根率不到 28%^[3]; 窿缘桉 (*E. exserta* F. V. Muell) 和柠檬桉 (*E. Citriodora* Hook) 经过多次试验均未扦插成活, 也未发现诱导根原基产生。为此笔者对上述 4 种桉树幼茎插条进行了横切面解剖结构研究和多酚物质及多酚氧化酶组织化学定位研究, 以期找出窿缘桉、柠檬桉插条难生根的原因, 为生产上扦插育苗提供解剖学上的理论依据。

1 材料和方法

刚果 12 号桉 W5 无性系、尾叶桉 MLA 无性系取

自雷州林业局林科所苗圃。窿缘桉和柠檬桉取自华南农业大学林学院苗圃, 苗龄 60 d。每株自距地面 15 cm 处起取样茎 2 段, 每段长 0.5 cm, 一段用滑走切片机制片 30 μ m 厚, 分别用 20 g/L 的三氯化铁的 φ 为 95% 乙醇溶液和苯胺碘酸钾混合液 (0.5 mL 苯胺、20 mL 0.5 mol/L KIO_3 和蒸留水 5 mL 混合) 染色; 另一段按常规石蜡切片法制片, F A A (福尔马林: 冰醋酸: 酒精 = 18:1:1) 固定 48 h, φ 为 70% 酒精番红溶液 (内含 10 g/L 的苯胺) 整染, 叔丁醇乙醇混合液逐级脱水透明, 按常规石蜡切片法制片, 厚度 12 μ m。用 Olympus BH-2 型显微镜观察并摄影。

2 结果与分析

2.1 4 种桉树解剖相同的部分

试验结果表明, 4 种桉树均已产生次生结构, 表皮或表皮与皮层之间均有分泌结构, 维管束为双韧异型维管束, 木质部较发达。射线不发达, 都为单列, 且有不同程度木质化。

2.2 各树种解剖结构显著差异部分比较

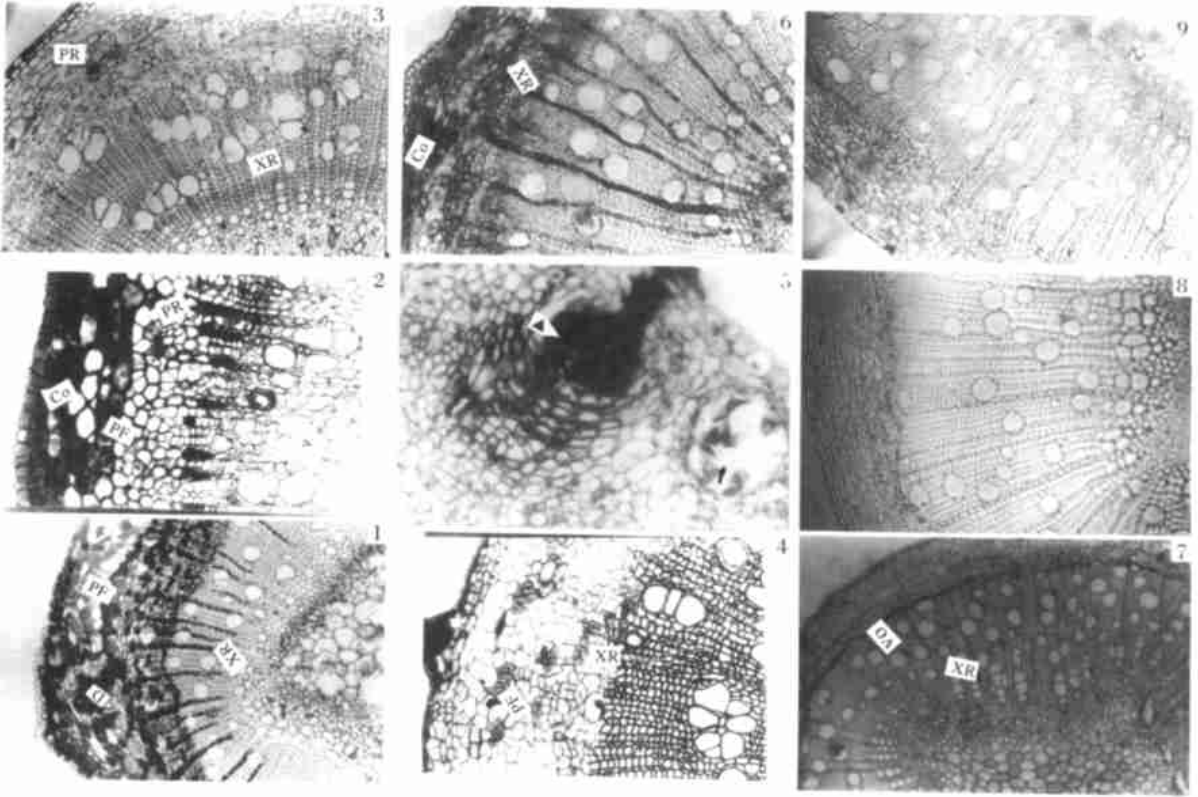
W5、MLA、窿缘桉在表皮和皮层之间的分泌结构为分泌腔, 分泌腔内为多酚物质; 柠檬桉表皮上有分泌腺毛, 分泌物为柠檬油类物质。每 20 株材料中平均每个横切面上分泌腔数目 W5 为 3 个、MLA 为 4 个、窿缘桉为 2 个, 差异明显。

4 种桉树射线发育程度和数量存在较大差异。横切面上, W5、MLA 从韧皮部至皮层射线细胞体积逐渐增大, 射线细胞体积显著膨大, 细胞内含物丰

富,有分裂细胞团在皮层形成,射线细胞内含物丰富;柠檬桉和窿缘桉维管射线没有上述特征,且木质化程度明显高于前2种桉树,韧皮射线也不明显.射线数目上,W5每横切面平均71条,尾叶桉MLA平均70条,柠檬桉39条,窿缘桉40条,射线数目前2种明显多于后2种.

4种桉树横切面比较,W5韧皮纤维最发达,有3

个纤维细胞厚度(21.6~28.3 μm),且连接成环状,分布在韧皮部最外层.窿缘桉次发达,有2~3个纤维细胞厚度(20.5~28.0 μm),几乎连接成环状.柠檬桉有2~3个纤维细胞厚度(16.5~20.6 μm),成束状,不连接成环状.MLA韧皮纤维最不发达,只有成束纤维零星分布,韧皮纤维厚度为16.5~26.0 μm.(图1—1、2、3、4、5).



Co. 皮层 cortex; D. 皮层分裂细胞团 the division cell group in cortex; PF. 韧皮纤维 phloem file; PR. 韧皮射线 phloemray; VC. 维管形成层 vascular cambia; XR. 木射线 xylem ray

1. 刚果12号桉W5横切面(19×)示射线、皮层分裂细胞团、韧皮纤维; 2. 尾叶桉MLA横切面(38×)示韧皮射线、皮层、韧皮纤维; 3. 窿缘桉横切面(38×)示韧皮纤维和木射线; 4. 柠檬桉横切面(38×)示韧皮纤维、射线和腺毛基部; 5. 尾叶桉MLA横切面(50×)示已形成的分泌腔(→)和正在形成的分泌腔(▲); 6. 刚果12号桉W5横切面(25×)示射线及皮层内多酚物质; 7. 尾叶桉MLA横切面(25×)示射线及形成层内多酚物质; 8. 柠檬桉横切面(25×)示较少多酚物质分布; 9. 窿缘桉横切面(25×)示较少多酚物质分布

1. The cross section of *Eucalyptus* ABL no. 12 W5 clone stem, indicating the rays, the division cell groups of cortex, and the phloem fibers(19×); 2. The cross section of *Eucalyptus urophylla* MLA clone stem, indicating the phloem rays, cortex, and phloem fibers (38×); 3. The cross section of *Eucalyptus exserta* stem, indicating phloem fibers and xylem rays (38×); 4. The cross section of *Eucalyptus citriodora* stem, indicating the phloem fibers, rays and the base of glandular hair (38×); 5. The cross section of *Eucalyptus urophylla* MLA clone stem, indicating the formed secretory cavities(→) and forming secretory cavities (▲) (50×); 6. The cross section of *Eucalyptus* ABL no. 12 W5 clone stem, indicating rays, and polyphenol substances in cortex(25×); 7. The cross section of *Eucalyptus urophylla* MLA clone stem, indicating rays, and polyphenol substances in cambium (25×); 8. The cross section of *Eucalyptus citriodora* stem, indicating less polyphenol substances (66x); 9. The cross section of *Eucalyptus exserta* stem, indicating less polyphenol substances(25×).

图1 刚果12号桉W5、尾叶桉MLA、窿缘桉、柠檬桉插条茎解剖结构及内含物多酚物质分布

Fig. 1 The stem anatomy and phenol substances distribution of *Eucalyptus* ABL No. 12 W5

E. urophylla MLA, *E. exserta* and *E. citriodora*

2.3 多酚物质和多酚氧化酶在4种桉树茎内组织化学研究

组织化学研究结果表明,在W5中,多酚物质主

要分布在射线细胞、韧皮薄壁细胞和部分皮层细胞内.在MLA中,多酚物质主要分布在形成层、部分射线细胞和少量皮层细胞内.在柠檬桉和窿缘桉中,多

酚物质在少量韧皮薄壁细胞、射线细胞和皮层细胞内分布。多酚物质含量, W5 和 MLA 明显多于柠檬桉和窿缘桉。其中 W5 射线内的多酚物质含量明显多于其他 3 个树种。研究结果表明, 多酚氧化酶的分布与多酚物质分布相似(图 1—6、7、8、9)。

3 讨论

3.1 酚类物质和多酚氧化酶存在对生根难易的影响

根据 Balakrishnamrthy 等^[4]研究, 高浓度的酚类物质在幼嫩枝条内积累, 形成促进生根物质。Hatman 等^[5]研究表明, 难生根的枝条含有较少的酚类物质, 容易生根的枝条则含有较多的多酚物质。Foong 等^[6]发现, 在易生根树种的枝条体内的多酚氧化酶(PPO)活性较高, 在难生根的枝条内 PPO 活性就要低得多。李明等^[2]对桉树的研究也得出了同样结论。本文的研究结果证实了上述理论, 即枝条内多酚物质和 PPO 含量多则不定根易生成, 扦插较易成活。在 4 种桉树中, W5 多酚物质及 PPO 含量最多, 分布范围最广, 因而插条生根率最高, 达 90%; MLA 多酚物质及 PPO 含量及分布范围不及 W5, 生根率大幅下降, 只有 28%; 枝条内多酚物质及 PPO 含量都很低的柠檬桉和窿缘桉生根率为 0。

3.2 髓射线发育不良是桉树难生根又一重要原因

根据顾青虹^[7]、裴保华^[8]、王永利^[9]等人对桑树、杨树插条发根因素研究结果表明, 许多木本植物幼嫩插条根原基普遍由髓射线和形成层交叉处产生, 较老的插条, 则由维管射线产生。易产生原生根原基的树种(如柳树、杨树)一般都有较宽的射线, 苹果枝条不定根也发生在射线加宽的部位^[10]。根据前人研究, 不同苹果树种扦插生根能力不同, 与插条射线发育程度、射线薄壁细胞数目、射线条数以及木射线木质化程度都有密切关系。插条射线相对发达, 单位面积射线条数及木射线木质化程度相对较低, 则较易产生诱导根原基。笔者的研究表明, 桉树插条没有较宽的射线, 绝大多数为单列, 且木射线有不同程度的木质化, 这可能是没有原生根原基的重要原因。4 种桉树中, W5、MLA 射线数目较多, 木射线木质化程度较低, 特别是韧皮射线细胞内含物丰富, 细胞质浓厚, 且射线末端细胞依次膨大明显, 这是其较柠檬桉和窿缘桉易产生诱导根原基的重要原因。刘卫东等^[3]对赤桉和直杆桉的研究也证实了这一观点。

3.3 韧皮纤维在桉树生根中的作用

根据前期工作和刘卫东等^[3]研究成果认为, 桉树生根的难易与茎内出现的韧皮纤维含量和排列有关。越易生根的树种, 茎韧皮部纤维含量越低。而本试验结果则表明二者不一定存在因果关系。4 种桉树中, 最易生根的 W5 茎内韧皮纤维的含量最多, 且排列成环状。MLA 生根能力明显比 W5 差, 茎内韧皮纤维含量最少, 木质化程度也最低。最难生根的树种柠檬桉韧皮纤维在茎内排列也未成环状, 含量也不及 W5 多。因此桉树生根难的原因和韧皮纤维的关系需进一步研究。

3.4 桉树分泌腔和桉树生根的关系

本研究发现, 在上述 4 种桉树中, 相对较易生根的 W5、MLA 幼茎内均有分泌腔, 且腔内主要为多酚类物质。不易生根的窿缘桉幼茎内分泌腔较 W5 和 MLA 都少, 差异明显。柠檬桉无分泌腔, 但有外生分泌腺, 分泌物为柠檬油类物质, 可能对生根有抑制的作用。分泌腔是否和生根有密切关系, 需进一步研究。

参考文献:

- [1] 丘醒球, 余倩珠, 张少翥, 等. 桉树插条生根解剖研究初报[J]. 林业科学研究, 1995, 8(2): 170—177.
- [2] 李明, 黄卓烈, 谭绍满, 等. 难生根桉树过氧化物酶活性及其同工酶多型性比较研究[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(3): 56—59.
- [3] 刘卫东, 万朝琨, 饶龙兵, 等. 桉树扦插生根的解剖学研究[J]. 中南林学院学报, 1998, 17(4): 33—35.
- [4] BALAKRISHNAMURTHY O, MADHAVA R V N. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rosa bourboniana* Desp) [J]. Curr Sci, 1988, 57(17): 960—962.
- [5] HARTMAN T, KESTER D E. Plant propagation-principle and practices, 3rd[M]. New Delhi: Prentice Hall of India, 1976. 47—86.
- [6] FOONG T W, BARNES M F. The levels of reserve metabolites and oxidative enzymes in the cutting of easy-to-root and difficult-to-root rhododendrons[J]. Biochem Physiol, 1981, 176: 206—216.
- [7] 王永利. 树木插条生根解剖学研究[J]. 林业科学通讯, 1989, (4): 9—11.
- [8] 裴保华, 王世绩. 毛白杨根原基的研究[J]. 河北农学报, 1982, 7(1): 72—76.
- [9] 顾青虹. 桑树插条发根因素的探讨[J]. 桑业科学, 1963, 1(1): 2—6.
- [10] 刘捷平. 植物形态解剖学[M]. 北京: 北京师范大学出版社, 1991. 261—272.

(下转第 46 页)

- 子克隆初报[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(4): 93.
- [8] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程原理与技术[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 600-601.
- [9] SAMBROOK J, FRITSCH E F, MANIATIS T. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 金冬雁, 黎孟枫等译, 侯云德等校. 北京: 科学出版社, 1995. 34-75.

Molecular Cloning of APETALA1 Gene from *Zizyphus mauritianan* Lam.

HU Gui-bing^{1,2}, XU Chang-jie¹, CHEN Da-cheng², ZHENG Qi-fa², An Xin-ming¹, ZHANG Shang-long¹

(1 Dept. of Horticulture, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China;

2 Dept. of Horticulture, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: A pair of 23 bp primers, designed according to a conserved sequence of the APETALA1 (AP1) gene which has an important function in floral development, were used to amplify a 648 bp fragment by polymerase chain reaction (PCR). The fragment was cloned into pUCm-T vector, and then sequenced. A fragment in the middle of AP1 homologous gene named ZM-AP1 gene was obtained. The result of sequence analysis indicated that there were two introns of 152 bp and 386 bp in the fragment, and the exons encoded 36 amino acids. The ZM-AP1 gene has been registered in GenBank with the accession number AF356541. After the deduced amino acid sequence of the fragment was submitted to GenBank and blast with AP1 homologous gene of other plants, it was found that the homology reached 66%—88%. This result suggested that ZM-AP1 gene might have the same function as other AP1 homologous gene.

Key words: *Zizyphus mauritianan* lam.; APETALA1 gene; PCR; molecular cloning

【责任编辑 柴焰】

(上接第42页)

The Anatomy of Stem and Histochemistry of Phenol Distribution in Difficult- and Easy-to-Root *Eucalyptus* Species

ZHANG Shao-hong¹, QIU Xing-qiu¹, HUANG Zhuo-lie¹, TAN Shao-man²

(1 College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

2 College of Forestry, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The rooting abilities in different species of *Eucalyptus* are quite different. The stem anatomy and histochemistry of *Eucalyptus* species, i. e. *Eucalyptus* ABL No. 12 W5 clone, *E. urophylla* M1A clone, *E. exserta* and *E. citriodora*, were studied. It was indicated that those stem cuttings of *Eucalyptus* species, which had relatively developed and relatively lignified rays, relatively high content and relatively extensive distribution of phenol substances, were easy to form root primordia and then easy to root.

Key words: *Eucalyptus*; rooting of cuttings; rays; phenol substances

【责任编辑 周志红】