

谷子幼穗培养体细胞胚胎发生的组织学研究

张树录 郑国锴

(兰州大学细胞生物学研究室, 730000)

HISTOLOGICAL STUDY ON SOMATIC EMBRYOGENESIS FROM CULTURED YOUNG INFLORESCENCES OF *SETARIA ITALICA*

Zhang Shu-lu and Zheng Guo-chang

(Cell Biology Laboratory, Lanzhou University, 730000)

关键词 谷子;幼穗培养;体细胞胚胎发生;植株再生;组织学

Key words Histology; Plant regeneration; *Setaria italica*; Somatic embryogenesis; Young inflorescence culture

谷子幼穗培养再生植株^[2,4]及体细胞胚胎发生^[5]国内已有简报。我们在进行谷子幼穗培养高频率诱导胚性愈伤组织及再生植株的同时,利用组织学、解剖学及扫描电镜方法观察到了谷子幼穗培养中的体细胞胚胎发生,为进一步开展谷子原生质体培养及其抗性突变育种奠定了基础。本文着重报道谷子幼穗培养中体细胞胚胎发生的组织学观察结果。

材料与方 法

供试植物为甘肃等地栽培的谷子(*Setaria italica*)三个品种:“陇谷3号”、“陇谷4号”和“九谷”,由甘肃省农科院粮作所提供。外植体取自幼穗长约10mm的大田生长谷子苗端,经95%酒精和0.1% HgCl₂表面灭菌后,剥去外层叶片,取出幼穗,切成3—5mm长片段,接种到N₆基本培养基附加400mg/l水解乳蛋白、0.5mg/l ZT和不同浓度的2,4-D及蔗糖的愈伤组织诱导培养基上。在培养40天后,将产生的胚性愈伤组织转移到附加0.5mg/l BA和0.2mg/l NAA的MS基本培养基上诱导植株再生。所有培养基均加0.6%琼脂固化,pH值为5.8。培养室温度为25±2℃,每天光照10小时,光强为1500lx。(愈伤组织诱导)或2500lx。(植株再生)。

组织学连续石蜡切片显微观察,采用不同时间的培养幼穗及其胚性愈伤组织,用卡诺氏液(3:1)固定,酒精脱水,石蜡包埋,9—10μm厚连续切片,1%番红水溶液和0.1%固

绿(配在 95% 酒精中)对染,中性树胶封片, Olympus 显微镜观察、拍照。

结 果

(一) 体细胞胚的起始

谷子穗为总状圆锥花序。切片观察发现, 培养的谷子幼穗处于穗三级分枝系统分化期刚刚结束(图版 I, 1)。在幼穗各分枝表面可以看到, 表皮细胞体积比较小, 排列整齐, 呈一排细胞, 细胞核及核仁染色比较深; 表皮以内的皮层细胞体积比较大, 排列不规则, 染色后很少看到细胞核及核仁(图版 I, 2)。约在培养的 4 天左右, 可以看到表皮细胞向外延伸, 横向或纵向分裂为 2—3 个细胞(图版 I, 3、4)。它们进一步分裂和发育, 约在培养的第 7 天可见皮层表面覆盖一层几个细胞厚的、相互比较独立的原胚性细胞团(图版 I, 5)。由它们可以独立地形成体细胞胚。

(二) 体细胞胚的形成

由表皮细胞分裂产生的由几个细胞组成的原胚性结构经过不断的分裂, 约在培养的第 12 天形成了发育程度不同(即非同步发育)的早期原胚结构(图版 I, 6)。此时, 它们多数仍较紧密地附着在皮层组织上, 胚柄不很明显。也有些原胚性结构(接近球形期)附着程度比较差, 易于脱落。约在培养的两个星期左右, 在幼穗表皮处形成明显的球形或似球形体细胞胚, 它们具有明显的胚柄状结构(图版 I, 7)。此时, 用肉眼也可以明显地看到由不同发育程度体细胞胚组成的白色、紧密、颗粒状胚性愈伤组织(图版 I, 8)。

(三) 体细胞胚的发育

在体细胞胚进一步发育过程中, 球形体细胞胚顶端一侧细胞迅速分裂, 局部向外延伸, 形成盾片分化的特征性体细胞胚并分化出盾片(图版 I, 9、10)。而后, 在分化盾片相对的另一侧的胚部分分化出原始胚芽鞘和胚芽(图版 I, 11), 并进一步发育成具有胚芽鞘、胚芽、胚根端和盾片等结构的完整体细胞胚(图版 I, 12)。

(四) 体细胞胚的再生和成熟

当把由不同发育程度体细胞胚组成的胚性愈伤组织继代在含有 0.5mg/l 2, 4-D 的 MS 培养基上后, 半个月左右又可以再生原有形态的胚性愈伤组织, 并能保持多代。而胚性愈伤组织转移到含有 0.5mg/l BA 和 0.2mg/l NAA 的 MS 再生培养基上时, 高频率地再生了完整植株(图版 I, 13)。但是, 也发现有部分无根苗形成。

讨 论

近几年来, 禾谷类作物组织培养已经表明, 体细胞胚胎发生是禾谷类作物组织及原生质体培养中比较有效而普遍的途径^[5,6]。因此, 如何证明并高频率地诱导体细胞胚胎发生已成为禾谷类作物组织和原生质体培养及其育种研究中十分重要的课题。本试验中, 谷子体细胞胚起源于幼穗表皮单个细胞, 为进一步的谷子原生质体培养及其抗性选育奠定了基础。

由谷子体细胞胚胎发生的组织学观察说明, 谷子离体体细胞胚的发生和发育与合子胚非常相似, 它也经历了与合子胚十分相似的几个发育阶段。类似结果在其它禾谷类作物如稗草^[4]、甘蔗^[7]已有报道。

此外,试验中还发现,体细胞胚起源于刚刚完成三级分枝系统分化即将进入小穗分化期的幼穗表皮细胞,这不仅进一步说明体细胞胚可以起源于外植体表面已分化的细胞,同时可能与谷子幼穗培养高频率(偶尔可达100%)大量产生胚性愈伤组织有关。

参 考 文 献

- [1] 王大元、孔焱, 1984: 从稗草花序培养诱导的体细胞胚胎发生和植株再生。实验生物学报, 17: 271—279。
 [2] 许智宏、高明星、卫志明, 1983: 谷子和狗尾草的幼穗培养。植物生理学通讯, (5): 40。
 [3] 张树录, 1985: 禾本科植物组织培养中的体细胞胚胎发生。植物生理学通讯, (6): 15—20。
 [4] 张树录、郑国辑, 1986: 九谷幼穗培养及其植株再生。植物生理学通讯, (3): 43—44。
 [5] 夏镇澳、宋永根, 1984: 谷子幼穗培养的体细胞胚胎发生和植株再生。科学通报, (13): 封底。
 [6] Haccius, B., 1978: Question of unicellular origin of non-zygotic embryos in callus cultures. *Phytomorphology*, 28: 74—81。
 [7] Ho Wai-jane and I. K. Vasil, 1983: Somatic embryogenesis in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) I. The morphology and physiology of callus formation and the ontogeny of somatic embryos. *Protoplasma*, 118: 169—180。

图 版 说 明

1. 培养幼穗的纵切面, 示分枝结构。×66 2. 培养幼穗的表皮(E)和皮层(C)细胞。×335 3. 2细胞原胚。×1200 4. 3细胞原胚。×1200 5. 皮层(C)外几个细胞的原胚覆盖层。×262 6. 生长着的原胚性结构。×121 7. 具有明显胚柄(Su)结构的球形体细胞胚。×107 8. 培养幼穗产生的胚性愈伤组织。×15 9—10. 盾片(Sc)结构的分化。×132, ×66 11. 胚芽(Pl)、胚芽鞘(Cl)和胚根(Ra)的形成。×53 12. 具有盾片(Sc)、胚芽鞘(Cl)、胚芽(Pl)、胚根鞘(Cr)和胚根(Ra)结构的完整体细胞胚。×73 13. 从体细胞胚再生的小植株。

Explanation of plate

Fig. 1. Longitudinal section of cultured young inflorescence to show the branches. ×36 Fig. 2. Epidermal (E) and cortical (C) cells of cultured young inflorescences. ×335 Fig. 3. Two-cellular proembryo. ×1200 Fig. 4. Three-cellular proembryo. ×1200 Fig. 5. A coat of proembryos containing several cells outside the cortex (C). ×262 Fig. 6. Growing proembryos. ×121 Fig. 7. Globular somatic embryo with obvious suspensor (Su). ×107 Fig. 8. Embryogenic callus from cultured young inflorescences. ×15 Fig. 9, 10. Differentiation of scutellum (Sc). 9. ×132; 10. ×66 Fig. 11. Formations of plumule (Pl), coleoptile (Cl) and radicle (Ra) of somatic embryo. ×53 Fig. 12. Intact somatic embryo with scutellum (Sc), coleoptile (Cl), plumule (Pl), coleorhiza (Cr) and radicle (Ra). ×73 Fig. 13. Plantlets regenerated from somatic embryos.

Zhang Shu-lu et al.: Histology of Somatic Embryogenesis from Cultured
Young Inflorescences of *Setaria italica* Plate I

