

玉米幼穗两种愈伤组织的比较研究

李效宇 卢龙斗 张根发

(河南师范大学生物系, 新乡 453002)

摘要 本文应用显微、超微及电泳方法, 通过对玉米幼穗两种不同愈伤组织的比较观察, 研究了两种愈伤组织在形态结构和同工酶方面的差异, 结果表明, 胚性愈伤组织不仅具有明显的胚性结构, 而且比非胚性愈伤组织具有较强的生长能力、胚胎发生能力和相对较高的同工酶活性。同时本文还对植物体细胞胚胎发生的机理及研究该机理的方法进行了初步探讨。

关键词 玉米; 胚性愈伤组织; 超微结构; 同工酶

Studies on the histocytological structure and isoenzymes of calli derived from young inflorescences of maize

Li Xiaoyu Lu Lungdou Zhang Genfa

(Biology Department of Henan Normal University, Xinxiang 453002)

Abstract Differences between the embryogenic callus and the nonembryogenic callus in the histocytological structure and isoenzyme were comparatively studied with the methods of microscope, electron microscope and electrophoresis. Results showed that the embryogenic callus had greater capabilities of growth and embryogenesis and higher activity of isoenzyme than the nonembryogenic callus. The mechanism of plant somatic embryogenesis was also simply discussed in this paper.

Key words Maize; embryogenic callus; ultrastructure; isoenzyme

由于胚性愈伤组织能够较长期保持其胚性并易于继代培养, 从而成为无性悬浮系建立和原生质体培养的材料来源, 这对于禾谷类作物的遗传育种和基因工程的研究具有一定的应用价值。玉米胚性愈伤组织早已在组织培养中获得并受到研究者的重视。刘纪华等^[1]对玉米胚性愈伤组织的诱导、继代培养及形态特点进行了研究, 但在超微结构和同工酶方面的研究工作则未见报道。本实验从组织细胞显微结构、超微结构及同工酶等方面对玉米幼穗两种不同类型的愈伤组织进行了比较研究, 探讨了胚性愈伤组织的形态和生理特征。

1 材料和方法

1.1 供试材料

实验用愈伤组织是由玉米幼穗(发育阶段处于小穗分化期)在 MS 培养基附加不同激素和有机物质诱导形成的,同时还进行了近 1 年的转代培养。

1.2 组织细胞学观察

愈伤组织固定于 FAA 固定液中,常规石蜡切片法制片,切片厚 $8 \sim 10 \mu\text{m}$,海氏苏木精染色。

1.3 扫描电镜样品制作

取继代中的两种愈伤组织,分别切割成 $1 \sim 1.5 \text{ mm}^3$ 小块,2.5%戊二醛固定,酒精系列脱水醋酸异戊酯置换,临界点干燥,真空喷金,扫描电镜下观察、拍照。

1.4 透射电镜样品制作

常规透射电镜样品制作方法制样^[2, 4],超薄切片厚 500~700 埃,醋酸铀和柠檬酸铅双染色,观察拍照。

1.5 同工酶电泳方法

采用聚丙烯酰胺凝胶,垂直平板电泳方法分析两种愈伤组织的酯酶同工酶和过氧化物酶同工酶的谱带^[2, 5, 7];酯酶染色采用乙酸- α 萘酯和 Fast blue B salt,过氧化物酶采用联苯胺染色^[3]。

2 结果和讨论

2.1 两种愈伤组织的显微结构差异

组织细胞学切片观察表明,胚性愈伤组织表层分化出胚状体(图版 I, 1);而非胚性愈伤组织有内生不定根的分化,但未发现有胚状体的分化(图版 I, 2)。

2.2 超微结构的差异

在扫描电镜观察中发现,两种愈伤组织表面结构差异较大。胚性愈伤组织表面具有明显的胚性结构(球形结构),为发育中的早期球形胚(图版 I, 3);而非胚性愈伤组织表面平坦,无突起的胚性结构(图版 I, 4)。

从超薄切片观察结果来看,胚性愈伤组织中线粒体、内质网等膜系统发达,细胞内含物丰富(图版 I, 5),而非胚性愈伤组织细胞含有较多的小液泡(图版 I, 6),这说明胚性愈伤组织多为胚胎发生期的分生细胞所构成,比非胚性愈伤组织具有较高的代谢活力。

2.3 同工酶的差异

从两种愈伤组织酯酶同工酶带显色情况观察,尽管它们的酶带数量和排列方式相同,但胚性愈伤组织酶带显色较深(图版 I, 7),说明了胚性愈伤组织具有相对较高的酯酶同工酶活性。

过氧化物酶同工酶结果表明,胚性愈伤组织不仅同工酶带显色深、带幅较宽,而且比非胚性愈伤组织多一条显色很深的酶带(图版 I, 8)。

同工酶带的增加和相对活性的加强,表明胚性愈伤组织可能正处于旺盛的胚胎发生期。由于过氧化物酶参与植物体内生长素的代谢和呼吸作用,而酯酶则具有转酯和去毒作用^[6, 8, 9],因而胚性愈伤组织具有较高的同工酶活性并不是偶然的,这说明了其细胞代谢活动很活跃,可能有更多的高分子化合物被合成以供胚胎发生、发育和形态建成所需要,并同时解除一些有毒物质以利于生长和分化。利用电泳方法研究胚性愈伤组织在胚胎发生过程中的蛋白质和酶的变化,以探讨

胚胎发生的机理，将为揭示植物体细胞胚胎发生的分子机理提供一个重要的研究手段。

参 考 文 献

1 刘纪华, 施介村, 郭仲琛. 青饲多秆多穗玉米体细胞胚性愈伤组织的诱导和植株再生的研究. 植物细胞工程应用基础研究新进展. 北京: 学术期刊出版社, 1988. 43~48

2 孙敬三, 钱迎倩. 植物细胞学研究方法. 北京: 科学出版社, 1987. 60~77

3 路铁刚, 王义琛, 郑国. 红豆草体细胞胚胎发生早期过氧化物酶和酯酶同工酶谱的变化. 西北植物学报, 1990, 10 (1): 17~22

4 吴国良. 芦苇胚性愈伤组织的形成及植株的再生. 植物学报, 1987, 29 (4): 361~366

5 李继耕. 栽培玉米起源的同工酶研究. 遗传学报, 1980, 7 (3): 223

6 沈银柱, 周金树, 刘植义等. 玉米花药培养中不同激素对同工酶条带影响的研究. 遗传, 1981, 3 (2): 27~30

7 梅慧生. 植物同工酶研究的某些进展. 植物生理学通讯, 1981, (3): 1~7

8 Coppens L, *et al.* Isoenzyme electrofocusing as a biochemical marker system of embryogenesis and organogenesis in callustissues of *Hor-doum vulgare* L. *J. plant physiol*, 1987, 127: 153~158

9 Evertt N P, *et al.* Biochemical markers of embryogenesis in tissues culture of the maize inbred B73. *Plant Sci*, 1985, 41: 133~140

图 版 说 明

图版 I

- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| 1. 胚性愈伤组织, 示胚状体, ×400; | 5. 胚性愈伤组织透射电镜照片, ×15 000; |
| 2. 非胚性愈伤组织, 示内生不定根, ×400; | 6. 非胚性愈伤组织透射电镜照片, ×15 000; |
| 3. 胚性愈伤组织扫描电镜照片, ×62; | 7. 酯酶同工酶谱; |
| 4. 非胚性愈伤组织扫描电镜照片, ×194; | 8. 过氧化物酶同工酶谱。 |

Explanation of plate

Plate I

- | | |
|--|--------------------------------|
| 1. Embryogenic callus ×400 | 2. Nonembryogenic callus ×400; |
| 3. Scanning electron micrograph of embryogenic callus ×62, | |
| 4. Scanning electron micrograph of nonembryogenic callus ×194 | |
| 5. Transmission electron micrograph of embryogenic callus ×15 000 | |
| 6. Transmission electron micrograph of nonembryogenic callus ×15 000 | |
| 7. Electrophoresis atlas of Esterase | |
| 8. Electrophoresis atlas of Peroxidase | |

