

# 杏香兔耳风组培苗根系发育解剖学研究

于 宏,戴小英,江香梅\*

(江西省林业科学院 省植物生物技术重点实验室,江西南昌 330032)

**摘 要:**以杏香兔耳风组培生根苗同一个无性系的不同分株为试验材料,在生根培养过程中,采取每天取样的方法对组培苗不定根的发育进行系统的显微观测和分析。结果表明:杏香兔耳风组培苗根系产生的根原基源于髓射线分生细胞,根系发育过程可大致分为髓射线分生细胞分化、根原基产生和不定根形成3个阶段;完成根系发育所需的时间大约为13d。本研究可为杏香兔耳风组培生根培养条件的优化提供参考依据。

**关键词:**杏香兔耳风;组织培养;根原基;不定根;解剖学

**分类号:**Q813.12:S567.239

**文献标识码:**A

**文章编号:**1006-2505(2008)06-0025-03

杏香兔耳风 *Ainsliaea fragrans* Champ 为菊科兔耳风属植物,天然分布于长江以南丘陵、山地阴湿林下<sup>[1-2]</sup>。全草入药,能清肺解毒,消积散结,用于治疗上呼吸道感染、肺结核咳血等,外用可医治中耳炎及毒蛇咬伤等<sup>[3-7]</sup>,药用价值高。但该植物的原料药材至今为止仍以野生资源为主,过渡采集已使野生资源无法实现世代更替而导致资源锐减。采用组培快繁技术是一条快捷有效的繁殖途径。本研究对杏香兔耳风组培苗不定根发育过程进行了较系统的显微观测和分析,基本摸清了组培苗根系的着生部位、生根方式、发育过程和时间等,可为杏香兔耳风组培生根培养条件的优化提供依据。

## 1 试验材料与方法

### 1.1 试验材料及取样方法

试验材料取自本实验室杏香兔耳风组培试验苗。从生根培养第二天开始,每天采集同一个无性系不同分株的基部约7mm的茎段作为观测材料,样品采集后放入FAA固定液中,直到用肉眼看见根长出为止才停止取样。

### 1.2 试验仪器及试剂

试验用仪器主要有Motic BA400摄影显微镜、解剖镜、切片刀、烘箱、恒温箱、水浴锅、染色篮、小蜡台、包埋盒及生物样品制备的有关仪器设备。

所用试剂主要有纯二甲苯、铁矾苏木精、无水乙醇、石蜡、甲醛。配制方法如下:

洗液:重铬酸钾20g+蒸馏水100mL+浓硫酸100mL。

FAA固定液:70%乙醇90mL+冰醋酸5mL+福尔马林5mL。

染色剂:铁矾苏木精。

展片剂:3~4%甲醛溶液。

粘片剂:明胶1g+蒸馏水100mL+石炭酸2g+甘油15mL。

封藏剂:加拿大树胶溶于二甲苯中。

### 1.3 解剖方法及步骤

采用石蜡切片法进行。其步骤包括:

染色:将试验材料从FAA固定液中取出,用铁矾苏木精染色6天后放入70%酒精中待用。

脱水:将试验材料从固定液中取出,放入30%乙醇中浸泡2h,50%乙醇中浸泡2h,70%乙醇中浸泡2h,95%乙醇中浸泡2h,100%乙醇中浸泡2h(中间换一次)。

透明:从100%乙醇中取出试验材料,放入1/2(100%酒精+二甲苯)中浸泡2h,再放入100%二甲苯中2h(中间换一次)。

透蜡:试验材料透明后放入二甲苯和已溶的石蜡各半的溶液中38℃恒温透蜡36h,58℃~60℃恒温熔蜡1h,将试验材料取出后放入已熔好的纯蜡中,换纯蜡3次,1h换一次,最后一次包埋。

包埋、切片:将试验材料切成厚度为14μm的切片,在解剖镜下镜检后,放入甲醛中展片、上片,再在38℃恒温箱中烘干存放2天。

封片:将石蜡切片放入纯二甲苯中20min进行脱蜡,再用加拿大中性树胶封片。

拍照:Motic BA400摄影显微镜观察并拍照。

## 2 试验结果与分析

### 2.1 杏香兔耳风不定根形成过程

通过连续解剖观察发现,杏香兔耳风组培苗生根过程可大致分为3个阶段,即髓射线分生细胞分裂活动活跃阶段、根原基产生阶段和不定根形成阶段。

杏香兔耳风无根植株插入生根培养基培养后的第3天,茎内有少数维管射线细胞从形成层交叉处向韧皮部方向加

收稿日期:2008-10-10

基金项目:江西省财政厅重大科研及成果推广专项“杏香兔耳风等森林中药材GAP种植技术及产业化开发”的研究内容。

作者简介:于宏,女,硕士,工程师,从事植物组培繁育及解剖学等研究。

\*通讯作者

宽成多列,射线加宽处呈楔形,与其它未加宽的射线有明显区别(见图1箭头所示)。这一阶段即为髓射线分生细胞分裂活动活跃阶段。



图1 髓射线细胞加宽成楔形



图2 恢复分生能力的髓射线薄壁细胞团(生根培养第5天)

培养时间增加到第5天时,维管束中形成层那部分的髓射线细胞脱分化,恢复分生能力,细胞开始平周分裂,形成一团细胞核大、排列紧密、与周围细胞有明显区别的薄壁细胞团(见图2箭头所示)。通过连续7天的切片观察发现,恢复分生能力的薄壁细胞团从其先端(近皮层的一端)分化出细胞核大、细胞质浓、染色较深的一群分生细胞,这就是初期的根原基(见图3箭头所示)。这一阶段可称为根原基产生阶段。

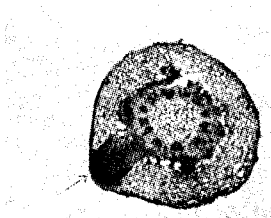


图3 根原基产生,并从中分化出维管束与其两侧茎维管束相连(生根培养第7天)

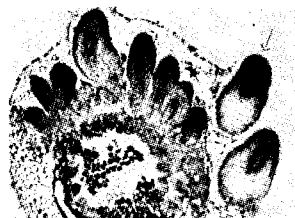


图4 不定根突破皮层和表皮(生根培养第9天)

位于根原基最先端的几层细胞像根冠一样在外层起保护作用。随着培养时间的增加,根原基细胞不断分裂,随后又逐渐伸长。培养7天后,为根原基发育的高峰时期,根原基分化出的维管束与其两侧茎维管束相连(图3)。培养9天后,根原基进一步分化,突破其皮层细胞和表皮,形成幼根(见图4箭头所示)。继续培养到第13天时,根系沿茎基周围分化出10条左右、长约1cm的不定根。至此,再生植株基本形成(图5)。

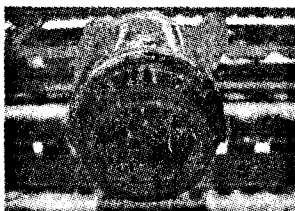


图5 生根培养13天的杏香兔耳风组培苗根系

## 2.2 杏香兔耳风组培苗根系着生部位和着生方式

从上述杏香兔耳风组培苗不定根形成过程的显微观测结果不难发现,组培苗根系发育的根原基来源于髓射线分生细胞。进一步观测还发现,生根培养过程中无根基基部形成的愈伤组织内并未发现有根原基形成。这从另一方面支持上述结果,即杏香兔耳风组培苗根系源于髓射线细胞。

前已述及,杏香兔耳风组培苗根系沿茎基周围长出,且根原基分化出的维管束与其两侧茎维管束相连,从而使不定根不仅数量多,且根系着生牢固,不易从基部折断。这可能是组培苗移栽成活率高的一个重要原因。

## 2.3 杏香兔耳风组培苗根系发育时间

杏香兔耳风无根植株生根培养13天即长成长约1cm的完整根系,完成根系发育和植株再生的整个过程。这一观测结果可为杏香兔耳风组培规模化生产提供成本核算的重要依据。

## 3 小结与讨论

植物不定根可以从木质部、韧皮部、形成层、皮层薄壁细胞、髓射线细胞、髓以及愈伤组织中产生<sup>[8-17]</sup>。本试验通过系统观察,发现杏香兔耳风组培苗不定根原基源于髓射线细胞,形成完整根系的发育时间约为13天。

### 参考文献:

- [1] 李以镔.江西野生观赏植物[M].北京:中国林业出版社,1995.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志·第七十九卷[M].北京:科学出版社,1996:31-33.
- [3] 胡昌奇,王朴,姚辉农.杏香兔耳风的化学成分研究(I)[J].中草药,1983,14(11):486.
- [4] 中华本草编委会.中华本草·第7册[M].上海:上海科技出版社,1999:641.
- [5] 江西省卫生厅.江西省中药材标准(1996年版)[M].南昌:江西科学技术出版社,1997:122.
- [6] 宋友昕,吕武清.高效液相色谱法测定杏香兔耳风药材中绿原酸含量[J].江西中医学院学报,2005,17(2):36-37.
- [7] 蒋俊毅,曹凯,吴德康,等.紫外分光光度法测定杏香兔耳制剂中总黄酮含量[J].时珍国医国药,2005,16(3):178-179.
- [8] 曹慧娟.植物学[M].北京:中国林业出版社,1981.
- [9] Beck, C.B., R. Schmid and G. W. Rothwell. Stellar morphology and the primary vascular system of seed plants. Bot [M]. Rev, 1982, 48: 691-816.
- [10] 刘捷平.植物形态解剖学[M].北京:北京师范学院出版社,1991:148.
- [11] Fahn A. Secretory Tissues in Plants [M]. London: Academic Press, 1979, 223-243.
- [12] De Bary A. Comparative Anatomy of the Vegetative Organs of the Phanerogams and Ferns [M]. Oxford: Clarendon Press, 1984.
- [13] 黎明,和严然.珍贵树种鹅掌楸营养器官解剖学研究[J].河南科学,1993,11(1):69,3.
- [14] 张友民,王立军,贾伟平,等.笃斯越橘营养器官初生结构的解剖学研究[J].吉林农业大学学报,1993,15(3):39.
- [15] 许晓岗,汤庚国,童丽丽.海棠果插穗扦插生根过程解剖学观察[J].南京林业大学学报/自然科学版,2006,30(4):79.
- [16] Esau K. Plant Anatomy [M]. Beijing: Science Press, 1962: 239.
- [17] 瑞君,黄爱仑,孙坤,等.当归茎、叶发育解剖学研究[J].西北师范大学学报/自然科学版,2001,37(1):75.

# Anatomy on Roots Development for Tissue Cultural Plantlets of *Ainsliaea fragrans*

YU Hong, DAI Xiaoying, JIANG Xiangmei\*

(Jiangxi Provincial Bio-tech Key Lab for Plant, Jiangxi Academy  
of Forestry, Nanchang Jiangxi 330032, China)

**Abstract:** Taking different plants of the same clones of tissue culturerooted seedlings of *Ainsliaea fragrans* as test materials. With continuous collecting material a time for each day, the root development process in vitro was observed and analyzed systematically by micro-anatomizing in *Ainsliaea fragrans* in this paper. The results showed that the primordial for the adventitious root in vitro was originated in the pith ray cells, the development process of the adventitious root could be divided into three stages, just as the pith ray meristematic cells differentiation stage, the primordial root formation stage and the adventitious root formation stage; it needed about 13 days for a cycle. This research can provide a foundation for optimizing the rooting culture conditions in vitro of *A. fragrans*.

**Key words:** *Ainsliaea fragrans*; Tissue culture; Primordial rooting; Adventitious root; Anatomy

(上接第 24 页)

[3] 中华本草编委会.中华本草·第 7 册[M].上海:上海科技出版社, 1999:641.

[4] 江西省卫生厅.江西省中药材标准 1996 年版[M].南昌:江西科学技术出版社,1997:122.

[5] 宋友昕,吕武清.高效液相色谱法测定杏香兔耳风药材中绿原酸含

量[J].江西中医学院学报,2005,17(2):36-37.

[6] 蒋俊毅,曹凯,吴德康,等.紫外分光光度法测定杏香兔耳制剂中总黄酮含量[J].时珍国医国药,2005,16(3):178-179.

[7] 江香梅,戴小英,黄丽莉.杏香兔耳风组培快繁技术[J].江西林业科技,2006(5):24-26.

# Construction on Efficient Regeneration System with Explants of *Ainsliaea fragrans* Leaves

DAI Xiaoying, YU Hong, JIANG Xiangmei\*

(Jiangxi Provincial Bio-tech Key Lab for Plant, Jiangxi Academy  
of Forestry, Nanchang Jiangxi 330032, China)

**Abstract:** With leave and petioles as explants, the regeneration system for the buds inducing in *Ainsliaea fragrans* was constructed in this paper. The tested results demonstrated that the optimization medium for the buds inducing from leave was MS+6-BA2.0mg/L(the same as follows)+NAA0.2+2,4-D0.1+Sugar 40g/L, the buds inducing medium from petioles was 6-BA2.0+NAA0.5+Sugar30g/L, which was the ideal conditions of constructing efficient tissue regeneration system with leaf explants.

**Key words:** *Ainsliaea fragrans*; Leaf; Petiole; Explant; Tissue culture