

文章编号: 1008-3464 (2001) 03-0231-02

## 土沉香成熟胚的组织培养及植株再生

兰芹英, 方春妍, 何惠英, 程治英

(中国科学院 西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303)

**摘要:** 本文研究了土沉香成熟胚的不同器官的分化力。结果表明: 土沉香胚轴接种在  $MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.01 \text{ mg/L}$  和  $1/2MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.01 \text{ mg/L}$  培养基上, 愈伤组织诱导率分别为 80.00% 和 83.33%。2, 4-D  $2 \text{ mg/L}$  加  $BA 0.5 \sim 2 \text{ mg/L}$  和 ZT  $1 \text{ mg/L}$  加  $IAA 0.1 \text{ mg/L}$  有利于子叶诱导愈伤组织, 诱导率为 100%。 $1/2MS + BA 2 \text{ mg/L} + NAA 0.5 \text{ mg/L} + \text{蔗糖 } 3\%$  有利丛芽的诱导, 但苗易玻璃化。而  $1/2MS + KT 2 \text{ mg/L} + IAA 0.02 \text{ mg/L}$  对侧芽的诱导和生长较有利。幼苗用  $1000 \text{ mg/L}$  的 NAA 浸泡 20 min, 生根率达 85%。

**关键词:** 土沉香; 组织培养; 植株再生

**中图分类号:** Q945 **文献标识码:** A

## Mature embryo culture and plantlet regeneration of the *Aquilaria sinensis*

LAN Qin-ying, FANG Chun-yan, HE Hui-ying, CHEN Zhi-ying

(Xishungbanna Tropical Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303)

**Abstract:** Plumular axis of *Aquilaria sinensis* were cultured on four media with different PGR (Plant Growth Regulators). It is found that the  $MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.01 \text{ mg/L}$  and  $1/2MS + BA 0.1 \text{ mg/L} + NAA 0.01 \text{ mg/L}$  media were good for the induction callus. The higher induction frequency for the sprouts when the stem segments were cultured in the  $1/2MS + BA 2 \text{ mg/L} + NAA 0.5 \text{ mg/L} + \text{sucrose } 3\%$ , but the vitrification shoots were caused easy by this medium. The sprouts growth better in  $1/2MS + KT 2 \text{ mg/L} + IAA 0.02 \text{ mg/L}$ . It is benefit for the rooting when seeding soaking in  $NAA 1000 \text{ mg/L}$ .

**Key words:** *Aquilaria sinensis*; tissue culture; plantlet regeneration

土沉香 [*Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg], 又称白木香, 为瑞香科沉香属植物, 是一种热带亚热带常绿乔木。该属有 15 种, 我国有 2 种。土沉香是我国特有的药用植物, 也是我国生产沉香的唯一植物资源, 被列为国家三级保护植物<sup>[1]</sup>。沉香树干可分泌出一种能制取名贵中药的物质——沉香, 沉香是我国、日本、印度以及其他东南亚国家的传统名贵药材和名贵的天然香料<sup>[2]</sup>, 其性辛、微温、无毒, 有降气、纳贤、平肝、镇静、止痛等多种功能。其种子含油率高, 可用于制皂、鞣革、润滑油。树皮含强韧纤维, 色白而细, 为人造棉和打字蜡纸原料<sup>[3]</sup>。土沉香主产广东、海南、广西, 福建也有少量分布。但由于生境的破坏和人们掠夺式的采掘, 致使这一树种濒临灭绝<sup>[3]</sup>。因此对其进行离体培养和保存研究具有重要的意义。国外未见有关土沉香组织培养的报道, 国内叶勤法等<sup>[1]</sup>用当年生嫩枝的叶片和茎段诱导愈伤组织, 并分化出丛芽。本文介绍了土沉香种子胚轴和子叶的愈伤组织诱导率、分化及幼苗的生长。

**收稿日期:** 2000-10-30

**基金项目:** 中国科学院植物园工委会资助项目 (980302)

**作者简介:** 兰芹英 (1966-), 女, 云南腾冲人, 中国科学院西双版纳热带植物园实验师。

## 1 材料与方法

材料取自中国科学院西双版纳热带植物园药用植物区栽培十多年的成年树种子。种子剥去外壳,用75% C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH 浸泡 1 min 然后用 0.1% 的 HgCl<sub>2</sub> 灭菌 5 min, 再用无菌水冲洗 3~4 次, 分 2 组处理接种在不同的培养基中。第 1 组: 胚轴; 第 2 组: 子叶。每个处理的外植体数为 20~42。基本培养基为 MS 和 1/2MS (大量元素减半), 不同培养阶段添加不同的植物激素。所有培养基均含 3% 的蔗糖和 0.8% 的琼脂条, pH 5.8±0.1, 培养温度 26±2℃, 每天光照 10 h, 光照强度 2 000 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 胚轴和子叶愈伤组织的诱导和分化

接种胚轴长约 0.1~0.15 cm 培养在 4 组培养基中 (如表 1 所示)。30 d 后观察, 胚轴培养在 1/2MS 和 1/2MS+BA 0.1 mg/L (单位下同)+NAA 0.01 培养基中, 添加植物激素的愈伤组织诱导率高于没有添加植物激素的, 诱导率分别为 83.33% 和 54.17%。同样的 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.01 有利愈伤组织的诱导, 诱导率为 80.00%, 培养在 MS 培养基中的诱导率为 36.11%。愈伤组织转入 MS+ZT 1+NAA 0.1 和 MS+ZT 0.5+NAA 0.1 未诱导出芽。

表 2 结果表明, 2, 4-D 2 加 BA 0.5~2 和 ZT 1 加 IAA 0.1+NAA 0.1+GA 0.2 有利于子叶诱导愈伤组织, 诱导率为 100%。在不含 2, 4-D 2, BA 和 ZT 的培养基中诱导率为 0。

2, 4-D 2+BA 2 和 2, 4-D 2+BA 0.5 的丛芽诱导率为 22.73% 和 18.18%, 其它组合的丛芽诱导率为 0。

### 2.2 无机盐及激素对芽诱导的影响

幼苗茎段转入 1/2MS 或 MS 两种基本培养基中, 添加 BA 1~2 或 KT 1~5, 60 d 后, 幼苗茎段丛芽诱导率为 100%, 繁殖倍数为 1.14~4.78 倍。1/2MS+NAA 0.5 丛芽诱导率较高, 但苗易玻璃化。同样 MS+KT 1~5, 也易产生玻璃苗, 叶片变黄, 脱落。玻璃苗再转入 1/2MS+KT 培养基中也不能恢复正常。在多次实验中发现 BA 比 KT 易产生玻璃苗, 同样 MS 比 1/2MS 易产生玻璃苗。我们在树胡椒的培养中也发现相似的结果, MS 比 B<sub>5</sub> 易产生玻璃苗, BA 比 KT 易产生玻璃苗。目前我们这两个种有类似的反应。具体原因不清楚。1/2MS+KT 2+IAA 0.02 有利于芽的繁殖, 繁殖倍数为 4.78 倍。

### 2.3 根的诱导

将生长健壮长约 5 cm 的幼苗转入以下培养基进行生根培养: (1) 1/2MS+NAA 0.1+IAA 0.1; (2) 1/2MS+NAA 0.1+IAA 0.1+BA 0.1; (3) 1/2MS+NAA 0.1+IAA 0.2+BA 0.2, 1 个月后没有生根, 将没有生根的幼苗用 1 000 mg/L 的 NAA 浸泡 20 min, 插在装有粗砂的盆子里, 用塑料袋或玻璃容器罩上, 保持湿度, 生根率达 85%。

## 参考文献:

- [1] 叶勤法, 戚树源, 林立东. 土沉香愈伤组织培养及植株再生 [J]. 热带亚热带植物学报, 1998, 6 (2): 172~176.
- [2] 戚树源, 陆碧瑶, 朱亮锋, 等. 白木香愈伤组织的化学成分 [J]. 中草药, 1993, 24 (2): 59~74.
- [3] 宋朝枢, 徐荣章, 张清华. 中国珍稀濒危保护植物 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1989.

(责任编辑 梁健)

表 1 胚轴在不同培养基中的愈伤组织诱导率比较

Table 1 Comparison of the callus reduction rate in different base media

| 培养基<br>Medium         | 接种数/段<br>Number of explants | 愈伤组织<br>诱导率/%<br>Callus reduction rate | 长度/cm<br>Length |
|-----------------------|-----------------------------|----------------------------------------|-----------------|
| 1/2MS                 | 21                          | 54.17                                  | 0.40±0.12       |
| 1/2MS+BA 0.1+NAA 0.01 | 42                          | 83.33                                  | 0.42±0.10       |
| MS                    | 35                          | 36.11                                  | 0.28±0.07       |
| MS+BA 0.1+NAA 0.01    | 36                          | 80.00                                  | 0.47±0.19       |

表 2 不同植物激素对子叶愈伤组织的诱导率的影响

Table 2 Effects of different plant hormones on callus reduction rate of cotyledonary

| 培养基<br>Medium                     | 接种数/段<br>Number of explants | 愈伤组织<br>诱导率/%<br>Callus reduction rate | 丛芽诱导率/%<br>Shoots reduction rate |
|-----------------------------------|-----------------------------|----------------------------------------|----------------------------------|
| 1/2MS+2,4-D 2+BA 0.5              | 20                          | 100                                    | 18.18                            |
| 1/2MS+2,4-D 2+BA 2                | 20                          | 100                                    | 22.73                            |
| 1/2MS+IAA 0.2+BA 2                | 20                          | 38.89                                  | 0                                |
| 1/2MS+IAA 1+BA 2                  | 20                          | 11.43                                  | 0                                |
| 1/2MS+IAA 2                       | 20                          | 0                                      | 0                                |
| 1/2MS+IAA 0.1+BA 0.1+BA 1+GA 0.2  | 20                          | 35.71                                  | 0                                |
| 1/2MS+IAA 0.1+NAA 0.1+ZT 1+GA 0.2 | 20                          | 100                                    | 0                                |