

所, 法国有皮革技术中心, 意大利有一所大学和研究所, 希腊有二个学会, 日本有一所大学三个研究所, 罗马尼亚, 南斯拉夫, 南非、东非、阿根廷, 印度等都有有关的大学和研究所专门从事单宁类的研究和利用; 上述各国也都出版了专门论述单宁类的研究和利用的期刊和出版物。在我国也有三所有关学院及研究所从事与单宁类有关的研究工作。

顺便指出, 植物次生物质的利用使有限的植物资源得到综合利用, 可以扩大植物资源的经济效益和社会效益, 也是我国极为重视的研究课题。

292226

美登木的茎段离体培养^{*}

程治英 王锦亮 马晓青

美登木 (*Maytenus hookeri*) 是分布在云南南部及西南部热带河谷和山地的一种野生植物。由于它含有美登素类大环化合物, 具有较高的抗癌活性, 受到国内外的重视。近几年由于大量采集, 使有限的野生资源日趋减少。为扩大药源, 本所进行了有性和无性繁殖、栽培试验。种子繁殖因空壳率高而使萌发率降低 (17.9%); 无性繁殖生根慢 (要50—90天) 且受时间限制 (3—5月适合), 本试验主要在于探索美登木离体茎段培养形成试管植株所需的主要条件, 直接利用组织培养的手段建立无性繁殖系, 为保存、发展和利用野生药用植物资源提供新的、不受时间限制的快速繁殖技术。

材 料 和 方 法

材料采用本地野生美登木未完全木质化茎段去叶用95%酒精浸泡5秒钟, 再用0.1%升汞消毒10分钟, 经无菌水冲洗干净后切成1cm长, 切段接种在MS琼脂培养基上, 诱导丛芽产生附加KT、BA、2, 4—D、IAA和NAA, 而根据需要配合使用。诱导生根降低MS无机盐浓度为1/8MS, 降低蔗糖浓度为2%, 附加生长素 (NAA和IAA), 培养基PH5.8, 15磅/时²灭菌20分钟。室温 (22±6℃) 静置培养。光照2000lux, 每天照光10小时。

试 验 结 果 与 讨 论

1、愈伤组织诱导及丛芽分化

1) 不同激素组合对茎段愈伤组织诱导和丛芽分化的影响

外植体接种在附加不同激素组合的MS培养基上, 一般3—27天在茎段切口处及表皮组织进行脱分化生长出白色愈伤组织, 后来逐渐变为淡绿色, 同时接种17—20天后从腋芽的基部分化出丛芽, 这些过程明显地受激素种类和浓度的影响 (表一)。从表一可

^{*}蒙桂英 刘道华 赵存芳参加了部分试验工作, 夏聚康摄制照片

表一 不同激素组合对离体茎段愈伤组织诱导和丛芽分化的影响

激素组合 (mg/l)	接种茎段 总数	形成愈伤 组织茎段数	诱导率 (%)	形成丛芽 的茎段数	分化率 (%)
BA ₂ IAA _{0.2}	220	187	85	37	16.8
BA ₂ NAA _{0.2}	70	42	60	7	2.8
BA ₂ 2,4-D _{0.2}	218	57	26.1	47	21.6
BA ₂ IAA ₁	88	2	2.3	7	8.0
BA ₂ 2,4-D ₁	88	22	25.0	2	2.3
KT ₂ IAA _{0.2}	40	23	57.5	0	0
KT ₂ NAA _{0.2}	40	25	62.5	0	0

可以看出BA₂ IAA_{0.2} mg/l组合有利愈伤组织诱导。对丛芽分化最有利的培养基为BA₂ 2,4-D_{0.2} mg/l组合。KT不利丛芽分化,BA为分化丛芽所必须。在细胞分裂素相同,生长素量也相同,但种类不同时,丛芽分化率也不相同。2,4-D优于IAA, NAA较差。在细胞分裂素相同的情况下,提高生长素的浓度,丛芽分化率降低。这与文献资料提出的芽和根的形成主要受生长素和激动素两类物质之间相互作用的调节的概念相一致。

2) 温度对茎段愈伤组织诱导和丛芽分化的影响。

接种在MS BA₂ IAA_{0.2} mg/l培养基上的外殖体,愈伤组织的诱导和分化还受培养温度的制约。如接种材料培养在19℃的条件下,茎段愈伤组织的诱导率为61.8%,丛芽的分化率为35.7%;而在温度是25℃的时诱导率为69%,而丛芽的分化率仅有7.5%。由此可以看出:愈伤组织的诱导率在一定范围内随着温度的升高而增加,而丛芽的分化率正好相反,随着温度的降低而增高。

3) 芽的增殖

我们整个试验的材料来自一块茎段,此茎段经过三个月的培养得46个芽。以后就是快速繁殖,每隔15—20天用BA₂ 2,4-D_{0.2} mg/l培养基继代一次,现已继代两年多,其分化芽的能力仍然强。据初步统计每瓶有芽151个。

另外在试验中还观察到接种在MS 2,4-D 6 mg/l培养基上的外殖体,有一块分化出单苗,此苗在试管内形成了三个花蕾,当转入MS BA₂ IAA_{0.2} mg/l的培养基上时,开放出三朵白花,后慢慢变为淡绿色,并形成果实,这一现象为今后研究美登木的开花生理提供了线索。

2、根的诱导

组织培养形成的丛生小苗在原培养基上不能形成根,必须切下高2—3 cm的无根苗,插入生根培养基诱导生根。生根受生长素的量和无机盐浓度的影响。在合适培养基

上, 14天能生根, 生根率最高可达94.4%。

1) NAA和IAA的量对生根的影响

无根小苗插入 1/2 MS琼脂培养基, 糖浓度降为 2%。生根率高低受生长素量的影响 (表二)。可以看出: 1/2 MS+NAA0.2+IAA0.2mg/l 的培养基最佳。NAA和IAA的量过高 (大于0.2mg/l时) 对生根有抑制作用, 并且随着生长素的增加而抑制作用更明显。生长素的量小于0.2mg/l时, 生根率稍有降低, 并且生根所需时间延长了几乎一倍 (25天), 这可能是不定根的形成需要一定的外源生长素的量, 当量达不到时, 它就用延长时间来吸收积累生长素, 当达到量时就形成不定根。另外从表二可以看出NAA与IAA配合使用时对诱导生根有增效作用, 单独使用时生根率较低。

表二、生长素的量对生根的影响

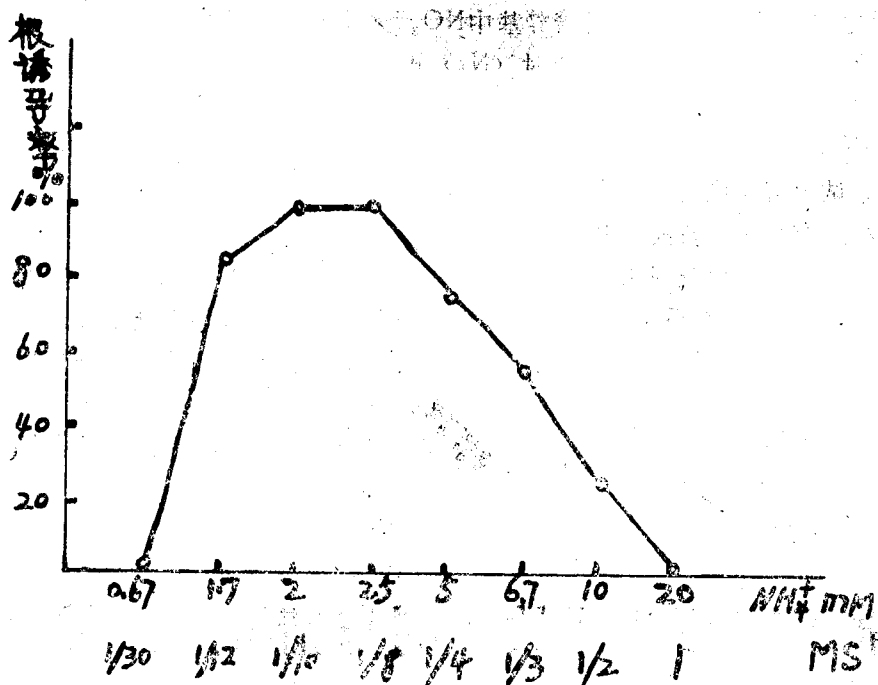
培养基 (mg/l)	无根苗数	生根数	生根率%
1/2MS+NAA0.1+IAA0.1	16	12	75.0
1/2MS+NAA0.2+IAA0.1	18	17	94.4
1/2MS+0.2	36	29	80.6
1/2MS+IAA0.2	3	2	66.7
1/2MS+NAA0.3+IAA0.3	30	23	76.7
1/2MS+NAA0.5+IAA0.5	12	8	66.7
1/2MS+NAA1+IAA1	43	24	55.8

2) 无机盐的总浓度和铵离子浓度对诱导生根的影响。

为了满足培养材料分化根的营养和生理的需求, 调整基本培养基中合适的无机养份的量, 特别是铵离子浓度是重要的。在培养基中附加NAA、IAA各0.1mg/l的条件下, 用MS、1/2 MS、1/3 MS、1/4 MS、1/8 MS、1/10MS、1/12MS和1/30MS (它们的 NH_4^+ 浓度分别为20、10、6.7、5、2.5、2、1.7和0.67MM) 来做诱导无根苗生根的试验, 结果见图一。由图可知: 1/8 MS——1/10MS的无机盐浓度即铵离子浓度 2 MM左右时对生根有利。

为了进一步证实铵离子 (NH_4^+) 浓度对生根起着主要作用, 我们补做了一组试验, 将无机盐浓度调整为 1/8 MS, 其他附加成分也一致, 仅改变 NH_4^+ 浓度使之 20、10、5和2.5MM。30天后统计生根率, 结果见表三。

由此可以看出: 仍然是铵离子浓度2.5MM对生根有利, 高浓度的铵离子 (20MM) 对生根有抑制作用。这个结果与Bilkeg Cocking (1981)、朱至清等 (1975) 和 Gamborg的相似。Katunuma等 (1966) 曾指出: 高浓度铵离子抑制三羧酸循环的酶系统, 使植物细胞不能同化铵离子, 造成细胞的铵中毒, 从而抑制了细胞的分化, 另外



图一、无机盐和NH₄⁺浓度对诱导生根的影响

铵离子浓度低 ($<0.7\text{mM}$) 也不利根的分化, 这可能因为根的分化需要一定浓度的铵, 不能满足它就不利形态发生。

表 3: 铵离子浓度对生根的影响

铵离子浓度 (mM)	接 无 根 苗 数	生 根 苗 数	生 根 率 %
20mM	15	0	0
10	14	0	0
5	12	1	8.3
2.5	17	13	76.5

另外我们用N₀培养基做了诱导生根的试验。也证实了无机盐浓度和铵离子浓度影响生根, 在附加植物生长素相同的情况下, N₀ (NH₄⁺的量为5.8), 生根率为30%, 1/2 N₀ (NH₄⁺的量为2.9) 22.2%生根, 1/3 N₀ (NH₄⁺的量为1.9) 12.9%生根, 1/4 N₀ (NH₄⁺量为1.45) 3.6%生根, 1/8 N₀ (NH₄⁺量为0.7mM) 生根率为

零。MS培养基 NH_4^+ 浓度以2 mM左右时较适合生根，而 N_6 培养基以 NH_4^+ 浓度为5.8 mM左右合适，这很可能是培养基中 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 也影响根的形态发生。当他们的比值为2 : 1时 (MS) 比6 : 1时 (N_6) 更有利生根。另外根诱导率高低似乎与培养基中的总氮量无关。根据以上试验结果，我们选最佳因子配合使用即：1 / 8 或 1 / 10 MS附加NAA和IAA各0.2 mg / l，18天左右生根，生根率达83%。(平均值)。

三、试管苗的移栽

待小苗有2—7条根，根长1—2 cm时，便可移植。但组织培养分化的试管苗，处于营养充足、光照较弱和湿度较大的玻璃瓶内。移前必行锻炼，首先加强光照(4000 lux) 1周，然后揭开试管塞2—4天继续强光锻炼，便可移出，取苗时不要伤根和叶，洗净粘附在根部琼脂，立即栽植在盆和塑料袋中，基质用腐殖土和沙(3 : 1)，移出的小苗开始避免阳光直接照射，以后逐步加强光照，要注意控制水份，待小苗出新叶时可移入田间。据初步统计移植成活率最高达79%。移入田间苗生长良好。

292628

细毛芳樟叶片的解剖与精油含量的关系

左辞秋 程必强

细毛芳樟 (*Cinnamomum tenuipilum* Kosterm.) 属樟科樟属植物，是一种有发展价值的木本香料，生于热带低、中山沟谷或山坡密林中。云南热带植物所在勐仑地区引种后，在年平均温度21.6℃，年降雨量为1500 mm的地区，生长发育良好，能开花结果，枝叶繁茂。其叶油的主要成分为芳樟醇(97.51%)，是重要的香料之一，多用于高级化妆品及化工原料。而精油随叶片的生长期的不同而改变，嫩叶含精油1.83%，新叶含精油1.75%，老叶含精油1.59%，为了探讨叶片不同生长期与含精油的关系，我们一方面在叶片的不同生长期测定其含油量，一方面企图通过不同生长期进行叶片解剖，观察其结构上的变化，观察油细胞在叶片上的部位、形状、大小与含油量的关系，给生产精油提供理论依据。

一、材料与方法

材料采自中国科学院云南热带植物所内栽培植株，固定一株十年生植株，定期进行观察，当叶片在不同生长期(刚抽叶，即叶片为红色时定为嫩叶，当叶片为浅绿色，其叶片基本上定型时为新叶，当叶片为深绿色时为老叶)，分别采集嫩叶、新叶、老叶，取叶片中脉的基部，分别固定于FAA液中，然后制作石蜡切片，二重染色，制成永久切片，观察油细胞的部位、形状、大小与密度。另外取新鲜叶片进行临时切片加以对照，观察生活的油细胞的情况。