

广东省植物生理学会
第六届 广东省植物学会 青年学术研讨会
中国科学院华南植物研究所

论文汇编

2000 年 1 月 广州华南植物园

广东省植物生理学会主办
广东省植物学会、中国科学院华南植物研究所协办

目录

一、植物生理学和生物技术

- 果用香蕉的薄片培养及其器官发生的研究-----黄霞等 (1)
- PRELIMINARY RESEARCH ON TISSUE CULTURE AND CRYOPRE-
SERVATION OF MANGO-----Xiao Jie-Ning (2)
- 高渗处理促进果用香蕉薄层培养愈伤组织发生及植株再生---王鸿鹤等 (3)
- 桉树混合菌根研究-----陈应龙等 (5)
- 名贵菌根食用菌—黑孢块菌研究进展及其栽培技术-----陈应龙等 (6)
- 多效唑在桉树试管苗培养中的应用-----谢耀坚 (7)
- 捕蝇草的组织培养和快速繁殖-----曾宋君等 (8)
- 树兰属植物的胚培养和快速繁殖研究-----曾宋君等 (9)
- 深山含笑的组织培养和快速繁殖-----曾宋君等 (9)
- 玉米幼胚愈伤组织的诱导继代和植株再生的研究-----彭光天等 (10)
- RAPD 引物选择的初步探讨-----刘小坤等 (10)
- 一步法提取植物 DNA 用于大规模 RAPD 分析-----张明永等 (11)
- IDENTIFICATION OF A RICE CDNA ENCODING THE ACYL-COA-
BINDING PROTEIN (ACBP) -----Zhang Ming-Yong (13)
- 应用 RAPD 技术鉴定辣椒种子纯度的研究-----王颖等 (14)
- 转基因植物体内基因表达的稳定性-----刘慧丽等 (15)
- 外源几丁质酶基因转化水稻获得转基因植株的研究-----陈金婷等 (15)
- 木薯不同基因型外植体内源激素含量与体胚发生的关系研究---祝骥等 (16)
- 水稻优良新质源雄性不育系的选育-----范树国等 (17)
- 湘早糯 1 号抗冷性的差异显示分析-----毛兴学等 (18)
- 低磷胁迫下烟草根中草酸含量的变化及其形成机理研究---戴修纯等 (19)
- 烟草中草酸的转运与分布-----刘小琥等 (19)
- 大豆内源草酸积累与其耐低磷胁迫的关系研究-----徐锐等 (20)
- 油菜细胞质雄性不育系及其保持系花蕾发育过程中的多胺代谢-----
-----田长恩等 (21)
- 茉莉酸甲酯对烟草幼苗的一些抗病性相关指标的影响-----宾金华等 (22)
- 光照和黑暗下豇豆幼叶离体叶圆片多胺氧化酶的活性变化---何生根等 (24)

Ca ²⁺ ·CaM 信使系统与水稻幼苗抗逆性研究初报-----	宗会等	(25)
STUDY ON THE ULTRAWEAK BIOPHOTON EMISSION OF DIFFERENT		
CROP VARIETIES-----	Li De-Hong	(26)
白菜叶绿体的超弱发光研究-----	李德红等	(27)
水稻离体育性变异研究-----	范树国等	(28)
植物对 UV-B 和 SO ₂ 作用的生理生化响应-----	孙振令等	(28)
植物蛋白质可逆磷酸化在抗病信号转导中的研究-----	文彬	(29)
植物中单线态氧的检测方法 —— RNO 脱色反应-----	徐志防	(29)
芥蓝光合特性的研究-----	杨运英等	(30)
香蕉采后无公害防腐保鲜技术及其机理的研究-----	王华等	(31)
冷击处理对香蕉贮藏效果的影响-----	段学武等	(33)
穴盘育苗与青花菜幼苗素质的关系-----	杨 遵等	(33)
水稻、玉米和狼尾草花粉低温贮藏期间激素和维生素含量及呼吸速率 的变化-----	王金祥等	(35)
月季切花衰老过程中多胺与膜脂过氧化的关系-----	阳成伟等	(35)
超干处理改变种子水分吸收等温曲线-----	伍贤瑞等	(36)
INDUCTION OF SEVERAL PATHOGENESIS-RELATED PROTEINS IN		
LITCHI AFTER INOCULATED WITH <i>PERONOPHYTHORA LITCHI</i>		
-----	Qu Hong-Xia	(37)
植物生长调节剂对毛叶枣砧木种子萌发及幼苗生长的作用-----	刘顺枝	(37)
优康唑对柚树苗生长和一些生理特性的影响-----	聂磊等	(38)
黄皮胚轴的脱水敏感性与脱水耐性诱导-----	黄雪梅等	(39)
豇豆种子萌发和幼苗生长初期多胺氧化酶活性的变化动态---	何生根等	(40)

二、植物系统演化学及引种驯化

PRELIMINARY STUDY OF THE SEED ANATOMY OF ZINGIBERACEAE		
-----	Liao Jing-Ping	(41)
大鹤望兰花部维管束系统的解剖学研究-----	唐源江等	(42)
八角目的系统发育分析-----	郝 刚	(43)
粤西地区香蕉品种使用情况调查及种质资源简介-----	文尚华等	(43)
ROC16、ROC20、ROC22 甘蔗良种组培苗繁育初报-----	文尚华等	(45)
漫话姜目植物-----	吴梅等	(46)
国兰、洋兰与中国兰花-----	彭 晓 明	(48)

植物红桑色素特性的研究-----	周晓凤等	(50)
红背桂红色素的稳定性研究-----	朱志凯等	(51)
华南杜鹃花的引种栽培-----	许明英	(52)
红晕渐露的粉花玉叶金花-----	王少平	(54)
印度檀香引种试验研究进展-----	陈福莲	(55)
绿化树种的采种育苗及幼苗形态观察小檗科植物 RAPD 分析的植物 系统学意义-----	王艇等	(56)

三、植物生态学和生物多样性

广东省“生物多样性”现状与生物多样性的保护-----	王瑞江	(57)
浅谈“克生物质”的作用-----	廖建良	(59)
狗牙根草坪冬季补播一年生黑麦草的可行性研究-----	席嘉宾等	(61)
广东热带沿海侵蚀台地的生态公益林及其效益-----	任海等	(62)

THE EFFECT OF THE SOIL AND WATER CONSERVATION FOREST IN TROPICAL COASTAL ERODED LAND IN GUANGDONG

-----	Ren Hai	(63)
地统计学方法在森林生态学中的应用-----	李跃林等	(64)
森林土壤碳循环研究进展-----	李跃林	(65)
植物的光合行为和叶绿素荧光-----	阳成伟等	(66)

四、管理与教学

浅谈我国观赏植物生产及经营上存在问题-----	李恒光	(67)
苗圃管理工作体会-----	李德	(69)
加强实践性教学环节培养复合应用型人才-----	廖朝晖	(71)
开展校园植物调查活动方案-----	孔庆敏	(73)
植物教学开展“素质教育”的几种媒介-----	许良政	(74)
植物教学中的辩证唯物主义教育-----	许良政	(77)
师范生实践性环节教改的探讨-----	陈健辉	(79)

后记-----		(82)
---------	--	------

果用香蕉的薄片培养及其器官发生的研究

黄霞 黄学林 王鸿鹤 李筱菊

(中山大学生命科学学院, 广州市新港西路 135 号 510275)

香蕉是最重要的热带水果,也是华南地区第一大宗水果,具有重要的经济价值。目前,培育优质香蕉竞争国际市场是香蕉产区的一项重大课题。而培育优质香蕉用传统的育种方法是无能为力的,利用组织培养结合基因工程技术可望实现这一目的。一直以来,国内外学者都在努力建立适合于香蕉基因转化的再生体系。但果用香蕉适合基因转化的再生体系仍不完善,重复性极差。最近,Okole 首次报道通过薄片培养,分别获得了'Horn' plantain(AAB)、'Cachaco'(ABB)和'Williams'(AAA)的再生植株。这一再生体系在香蕉基因转化方面具很大的应用潜力。因此我们选用华南地区的主要果用香蕉栽培品种之一——广东 2 号(*Musa AAA Giant Cavendish*)作为试验材料,进行薄片培养,成功地通过直接和间接器官发生获得了再生植株。

研究发现,该再生途径受许多因素的影响,如:激素的种类和浓度,活性炭的含量,外植体供体植株的培养代数和外植体的取材位置、维生素的添加、琼脂粉的含量、氮源、碳源和光照等。

我们通过正交试验和单因子试验确定了薄片培养的最佳培养条件。

试验表明,将广东 2 号香蕉无菌试管苗的茎段切成 1mm 左右厚的薄片作为外植体,在直接器官发生培养基(主要成分为 MSm (MS modified)+BAP 10 $\mu\text{mol/L}$ +IAA 1 $\mu\text{mol/L}$ +KT 50 $\mu\text{mol/L}$)上,可直接诱导出芽,继续培养会诱导出根;而在愈伤组织诱导培养基(主要成分为 B₅m (B₅ modified)+dicamba 10 $\mu\text{mol/L}$ +IAA 1 $\mu\text{mol/L}$ +2,4-D 0.7 $\mu\text{mol/L}$ +NAA 0.5 $\mu\text{mol/L}$ +BAP 4.4 $\mu\text{mol/L}$ +0.1%活性炭)上,黑暗培养,则会诱导出无色的愈伤组织。愈伤组织在继代培养基(主要成分为 B₅m+dicamba 5 $\mu\text{mol/L}$ +IAA 1 $\mu\text{mol/L}$ +2,4-D 0.4 $\mu\text{mol/L}$ +BAP 22 $\mu\text{mol/L}$ +KNO₃ 500mg/L+维生素 B₁ 40mg/L+0.05%活性炭)上迅速增殖。当愈伤组织转移至分化培养基(主要成分为 1/2MSm+BAP 1 $\mu\text{mol/L}$ +IAA 0.5 $\mu\text{mol/L}$ +0.1%活性炭)上,则会分化出芽和根。从薄片直接诱导出的芽和从愈伤组织诱导出的芽在成苗培养基(主要成分为 MSm+BAP 1 $\mu\text{mol/L}$ +NAA 1 $\mu\text{mol/L}$ +KT 4.6 $\mu\text{mol/L}$)上即可长成完整的小植株。

关键词 香蕉 薄片培养 器官发生 再生植株

PRELIMINARY RESEARCH ON TISSUE CULTURE AND CRYOPRESERVATION OF MANGO

Xiao Jie-Ning; Liang Jie-Mei; Huang Xue-Lin

(Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou, 510275, China)

Mango is a typical recalcitrant species that is very sensitive to desiccation. Mango embryos desiccated to 12% moisture content can survive, but cannot survived after liquid nitrogen treatment. Cryopreservation of mango germplasm via embryonic axes is not successful. Thus, Alternative methods and new explants beside embryonic axes should be developed.

In recent year, emphasis of germplasm cryopreservation has shifted to the storage of shoot apices, somatic embryos and young plantlets. Up to now, over 50 species in germplasm cryopreservation were successful by using bud or shoot tip as initial materials. Thus, shoot tips from mature trees or young seedlings will be used as the explants in this study for mango regeneration and cryopreservation. However, the shoot tips from the mature trees were very difficult to use as the materials for plant regeneration and germplasm cryopreservation because they were seriously contaminated problems. The contamination problems of the shoot tip from young seedlings could handle by pre- spraying fungicide sporgon before 7 days samples collected. The cultured explants were easy to survive in MS medium without addition of plant growth regulators. However, they grew very slowly and were difficult to have multiplying bud. The kinds of the explants were used as possible as we can during different seasons included apical tip, young leaves, cotyledon, young shoot section, floral axes, young fruit, root tip and nodal section. All kind of mango explant except the young shoot section did not shown any plant regeneration capability under our experimental conditions in which over 100 combination of medium component was designated. The young shoot section with a small part of the cotyledon was cut from between the cotyledon and stem of plantlet that was cultured for 7 or 10 days by using excised embryo axes. One or more than one buds could be regenerated from the young shoot section. After precultured in RIM (root induction medium) with 5mg/L IBA, the regenerated buds and the young shoot section with the regenerated buds were induced to rooting in auxin-free RIM medium under dark condition for 3 or 5 days, and then transferred to the fresh auxin-free RIM. On the other hand, many roots could be induced directly from the surface of cotyledon section after cultured one week or two weeks in the mediums, and changing concentration of the plant growth

regulators couldn't effect the rooting situation of the cotyledon section.

TTC test was used for rapid estimation on viability of the shoot tips from the seedling in the pods in each step pretreatment before cryopreservation. The pretreated temperature strongly influenced the viability of the shoot tip. The shoot tips were viable when they were pretreated at 4℃ and successively with 0.1, 0.3 and 0.5M sucrose respectively for 5 h, 5h and 14h, but they were lost viability during the pretreatment at room temperature(30℃). The sucrose pretreated viable shoot tips were treated with PVS2 and then immersed in LN for 1 h. After rapidly warmed in a water bath at 25℃ and cultured in regeneration medium for 3 days, the shoot tips were darken, and died. Actually, PVS2 treatment already caused the viable shoot tips to be seriously damaged. A new pretreated technology for cryopreservation of mango shoot tip should be developed.

Key Word: Mango Tissue culture Cryopreservation

高渗处理促进果用香蕉薄层培养愈伤组织发生及植株再生

王鸿鹤

黄学林

(中山大学 生命科学学院 510275 广州)

香蕉(*Musa spp.*)是世界著名的水果,也是我省最大宗的水果,具有重要的经济价值。自1974年利用香蕉茎尖分生组织培养生产、繁殖试管苗成功以来,香蕉工厂化育苗已普遍在生产上得到了应用。但在香蕉的生产实践中出现了许多严重问题,如易带病毒、抗性差、不耐储运等,致使栽培蕉生产常常遭受巨大损失。人们急需抗病、抗寒、耐贮耐运或者具有独特风味的新品种。但是,栽培香蕉多为单性三倍体(AAA, AAB, ABB),具有高度不育性,传统的育种方法难于改良这些香蕉品种。利用基因工程技术可望解决上述问题,例如运用反义RNA技术阻断乙烯生物合成途径以解决商品香蕉在上市前过度成熟的问题,将各种抗病虫害和改良果质、风味的目的基因导入香蕉,将会简化育种手段,极大地缩短育种时间,从而促使香蕉(*Musa spp.*)品质的优化和多样化等。但是,基因工程新技术的运用,首先取决于能否建立适合于基因转化及其植株再生的有效体系。虽然香蕉组培苗广为推行,但是适用于基因转化的再生体系尚未建立起来。只有依赖于可靠、高效的植株再生体系,转基因香蕉的研究才具有更广泛的实用

价值。

近年来,通过愈伤组织或原生质体培养获得再生植株的研究在非果用香蕉上已取得了一些进展,有的甚至成功地转化了外源基因 (*Musa* cv. buggoe ABB gorup)。基因型为 ABB 的煮食香蕉 (*Musa* cv. Canlaba; *Musa* cv. Bluggoe; *Musa* cv. Raja), 结实香蕉 (*Musa* cv. acuminata AA group) 以及番禺香蕉和越南香蕉等已获得了再生植株,但是在基因型为 AAA 的果用香蕉中这一植株再生方法却难以成功。

我们利用甘露醇高渗处理在果用香蕉上获得了具有分化能力的愈伤组织,并得到了再生小植株。实验材料为香蕉试管苗,从根部向上将茎段切成厚 1mm 左右的薄片作为外植体。分别研究了甘露醇处理浓度、最佳处理时期、外植体取材部位及品种等对愈伤组织形成及器官分化的影响。

研究表明:适当浓度的甘露醇 (0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0M) 处理后,将外植体保持在含有高浓度的细胞分裂素的培养基上,能够促进香蕉薄片外植体的愈伤组织发生,得到的愈伤组织质地致密,颜色有白色和淡绿色等,甘露醇处理浓度过高对外植体有伤害作用;将外植体预培养九天之后再行甘露醇处理,外植体对高渗条件产生一定的耐受性,得到愈伤组织的处理浓度有所提高;外植体的取材部位对愈伤组织的发生也有一定的影响,越靠近分生组织,愈伤组织的诱导率越高,靠近根部或靠近叶片,诱导率都有所下降;不同品种形成愈伤组织的能力也有所不同,以 Williams 最高,广东 2 号次之,巴西最差。

得到的愈伤组织在含高浓度的细胞分裂素的培养基上能够不断的增殖,继代 3-5 次之后 (3-4 个月左右),有一些愈伤组织变成颗粒状,表面变得光滑,质地更加致密。这样的愈伤组织是具有分化能力的,在这些颗粒的表面会形成一个个圆锥形的突起,逐渐分化成芽点。将分化出的不定芽转移到低细胞分裂素的培养基上,不定芽能够慢慢的长大,形成小植株。

关键词: 果用香蕉 愈伤组织诱导 植株再生 高渗处理

桉树混合菌根研究*

陈应龙¹, 弓明钦¹, 王凤珍¹, 陈羽¹,

Brundrett M², Dell B³, Malajczuk N³

(中国林科院热带林业研究所 广州 510520;

澳大利亚联邦科工组织林业研究所, 西澳州 6014;

澳大利亚麦道克大学生物学院, 西澳州 6150)

调查和研究表明, 桉树是菌根营养型树种, 适宜的菌根真菌, 对提高桉树人工林生产力、涵养水源和土壤营养、维持资源多样性和生态功能, 有着重要的作用。桉属树种不仅可以与担子菌或子囊菌形成外生菌根(ECM), 也可以与内囊霉科真菌形成泡囊-丛枝状菌根, 即 VA 菌根, 而且在一定的条件下能同时与这两种类型的菌根菌形成混合菌根。近年来, 我们在对桉树外生菌根系统研究的基础上, 先后开展了桉树混合菌根资源调查、人工合成、接种效应、营养生理等方面的研究工作。本文综合报道这一研究成果。

1、桉树人工林菌根菌资源多样性 对我国南方部分地区桉树人工林菌根真菌资源和菌根类型进行了调查, 证实了桉树根系能形成 3 种类型的菌根。调查发现林分年龄大小对菌根形成及菌根类型有一定的影响; 在同一根系上 VAM 与 ECM 菌间表现出竞争性作用关系。在菌根菌资源方面, 调查发现 VAM 菌 28 种, 隶属 4 个属, 其中以球囊霉属真菌最多, 约占 64%; ECM 菌 23 种, 隶属 15 个属。这一结果表明我国桉树人工林具有一定数量的菌根菌资源, 但与桉树原产地的澳大利亚等相比, ECM 菌种类较少。

2、桉树混合菌根人工合成 在温室和苗圃接种试验的基础上, 对尾叶桉、蓝桉混合菌根人工合成及其接种技术进行了研究。混合菌根真菌组合分别有: PG[彩色豆马勃(*Pisolithus tinctorius*)X 苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium*)], LG[蜡蘑菌(*Laccaria lateritia*)X 球囊霉菌(*Glomus* sp.)], LA[蜡蘑菌(*Laccaria lateritia*)X 光壁无梗囊霉(*Acaulospora laevis*)], LS[蜡蘑菌(*Laccaria lateritia*)X 美丽盾巨囊霉(*Scutellospora calospora*)]. 在此基础上, 分析了菌根菌间在菌根合成上的相互关系。

3、桉树混合菌根营养生理 研究了尾叶桉苗期混合接种 ECM 菌彩色豆马勃和 VAM 菌苏格兰球囊霉对宿主营养生理的影响。在矿质营养方面, 混合菌根不仅显著促进了苗木对 N、P、K 和 B 的吸收, 而且影响了矿质元素在植株体内的运输和分配。在生理方面, 混合菌根提高了苗木根系酸性磷酸酶的活性、根系活力、根系植物生长激素 (IPA、ABA)、氨基酸及可溶性

* 本文为中澳合作 ACIAR9425 项目“中国桉树人工林的外生菌根菌”、国家自然科学基金基金“杉木、桉树人工林长期生产力保持机制研究”和国际科学基金 (IFS/3894) “澳大利亚 ECM 菌在中国桉树人工林中的竞争性持续性研究”的内容之一。

多糖的含量。菌根营养生理的这些变化,在一定程度上反映了菌根的接种效应。

4、桉树混合菌根接种效应 苗期接种研究表明,混合菌根能促进苗木生长和生物量的积累。以蓝桉为例,接种16周时,与对照苗相比,接种苗高生长量最大增幅为28.86% (蜡蘑菌 × 美丽盾巨囊霉);地上部分和地下部分平均干重最大增幅分别为129.93% (蜡蘑菌 × 美丽盾巨囊霉)和119.93% (蜡蘑菌 × 土壤菌剂)。桉树对不同菌根菌及其组合的菌根依赖性表现出很大的差异,对混合接种的真菌组合有相对高的菌根依赖性。

关键词: 桉树 外生菌根 VA菌根 混合菌根 营养生理 接种效应

名贵菌根食用菌—黑孢块菌研究进展及其栽培技术

陈应龙, 弓明钦, 王凤珍, 陈羽

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州510520)

块菌是一种名贵菌根食用菌,具有较高的营养价值和商业价值。被誉为林中“黑钻石”的黑孢块菌(*Tuber melanosporum* Vittad.),是其中最昂贵的一种(国际市场价在2000美元/kg以上),为西欧许多国家最喜爱的食品之一。黑孢块菌原产于法国、意大利和西班牙,在保加利亚、葡萄牙、克罗地亚等国家的部分地区(北纬40°~47°)也有分布。我国虽然陆续发现了十多种块菌,如中国块菌(*T. sinense* K. Tao et Liu)、印度块菌(*T. indicum* Cooke et Mass)、太原块菌(*T. taiyuanse* Liu)、巨孢块菌(*T. gigantosporum* Y. Wang)、波氏块菌(*T. borchii* Vitt)、臭块菌(*L. fortidum* Vitt)、光果块菌(*T. nitidum* Vitt)、短毛块菌(*T. puherulum* Berk. & Broome)、歇尔氏块菌(*T. shearii* Harkn)、凹陷块菌(*T. excavatum*)、夏块菌(*T. aestivum* Vitt),等,但目前尚未发现有黑孢块菌的分布。近年来,由于块菌自然产量减少,市场价格不断上涨,人们对块菌栽培技术的研究倍受关注。但由于黑孢块菌是一种共生菌,通常与栎、栲、松、榛、雪松、欧洲铁木等属的树木根系形成菌根,因此黑孢块菌的栽培方法有别于腐生型食用菌,在人工栽培上有一定的困难。法国(Agro-Truffle),意大利(Urbani),新西兰(Invermay Agricultural Centre),澳大利亚(CSIRO, Tasmania)等,先后开展了黑孢块菌的栽培研究工作,取得突破性进展,其中,法国最早实现了块菌商业化生产,从而开创了菌根食用菌半人工模拟合成和商业化生产的先河。我国野生菌资源十分丰富,块菌、松茸、干巴菌、美味牛肝等,都是名贵菌根食用菌,具有广阔的开发前景,黑孢块

菌在林地中的栽培经验值得我们学习和借鉴。本文对国际上黑孢块菌研究进展情况进行综述,从黑孢块菌分类鉴定、形态结构、营养生理、及栽培技术等方面进行报道,并就其在我国引种栽培的可行性及其发展前景进行了讨论。在本文写作之时,南半球又传来喜讯:新西兰伊沃梅农业中心建立在北岛东海岸的 Gisborne 半公顷黑孢块菌种植园,在 1997 年首次收获了 9kg、1998 年收获了 10kg 黑孢块菌的基础上,到今年 9 月份前又生产出 45kg;澳大利亚联邦科工组织在塔斯马尼亚块菌接种林地今年也收集到黑孢块菌,这是此项研究开展 5 年来首次生产出块菌子实体。这些研究成果,极大地鼓舞着我国科学工作者,我相信这颗林中“黑钻石”也一定能在我国发出灿烂的光芒。

关键词: 黑孢块菌 研究进展 栽培技术

多效唑在桉树试管苗培养中的应用

谢耀坚

(国家林业局桉树研究开发中心 湛江 524022)

多效唑 (paclobutrazol), 英文简称为 PP333, 是一种植物生长延缓剂。PP333 广泛应用于果树、蔬菜和大田作物, 减少营养生长, 使植株矮化, 株型紧凑, 增加花芽数, 提高座果率, 增加产量^[1]。

近年来, PP333 亦被广泛应用于组织培养和试管苗生产中, 如水稻^{[2][3]}、小麦^[4]、大麦^[5]、玉米^[6]、南瓜^[7]等作物中均有报道。桉树是一种热带和南亚热带著名的速生树种, 组培技术已被广泛应用于桉树优良无性系的生产中。由于桉树主产区 (如湛江) 气候温暖, 试管苗生长快, 常出现苗长势嫩弱, 抗逆性较差, 生根不良等现象, 且继代周期短, 常为 2-3 周, 超过 3 周, 苗生长变弱, 出现苗尖萎焉等症状。生产淡季时, 频繁的继代消耗较多的人力和物力, 造成浪费。针对生产中存在的诸多问题, 我们将多效唑应用于桉树的试管苗培养中, 取得了较好的实验结果。

捕蝇草的组织培养和快速繁殖

曾宋君 彭晓明 张京丽 赵逢畔

(中国科学院华南植物研究所华南植物园 广州 510520)

1. 植物名称 捕蝇草 (*Dionaea muscipula* Ellis) (茅膏菜科)
2. 材料类别 子叶、叶片
3. 培养条件 种子培养基: (1)MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.1. 愈伤组织与不定芽诱导培养基: (2)MS+2, 4-D 0.5+6-BA 0.5; (3)MS+6-BA 0.5; (4)MS+6-BA 1.0; (5)MS+6-BA 2.0. 生根培养基: (6)MS+NAA 0.5; (7)MS; (8)1/2MS+NAA 0.5; (9)1/2MS. 以上培养基均加0.7%琼脂, 3%蔗糖, pH 5.8. 培养温度23-27℃, 光照10-12h·d⁻¹, 光照度2000lx.

4. 生长与分化情况

4.1 愈伤组织与不定芽诱导 将捕蝇草的种子经常规消毒后接种到培养基(1)、(7)中, 在25℃左右的温度下, 在培养基(1)中30d左右可萌发, 培养基(7)中萌发速度略慢, 40d左右芽长1-2cm, 这时剪取子叶接种到培养基(2)、(5)中; 或以栽培一年的植株的幼叶为外植体用水洗净, 先用75%的酒精浸泡5s, 再用0.1%的升汞溶液消毒8min, 无菌水冲洗6-7次后接种到与子叶培养相同的培养基中。子叶与叶片30d左右在此二种培养基上均有愈伤组织或同时有不定芽产生: 一般先出现少量愈伤组织团, 然后产生大量丛生芽, 其中(5)中丛生芽多但较纤细, 培养基(2)中有较多的愈伤组织与较多的丛生芽同时产生。

4.2 不定芽增殖与快速繁殖 将所得到的愈伤与丛生芽转移到新鲜配制的原培养基上, 在培养基(2)中愈伤组织增殖并形成丛生芽; 在其它培养基上分化成丛生芽。丛生芽在培养基(2)中, 芽在增殖的同时形成少量愈伤, 在培养基(3)、(5)中进行不定芽的增殖, 其中以(5)的速度最快, 30d左右芽的繁殖速度可达到5-8倍, 但芽较纤细; 以壮苗为目的时一般采用(3)、(4)培养基, 30d左右芽的繁殖速度可达4-6倍, 芽也较粗壮。

4.3 生根与移栽 将继代培养基中的丛生芽切割后接种到培养基(6)-(9)中, 小芽生根均较迅速, 但培养基(8)的效果最好, 30d左右有4-5条生根, 根长2-3cm。移栽时, 打开瓶塞, 在室温下练苗3-5d后取出小苗, 洗去根部琼脂种植于经过灭菌的珍珠岩、河沙、泥炭土等量混和的基质中, 保持一定湿度, 成活率可达95%以上。

5. 意义与进展 捕蝇草是华南植物园近年从国外引进的多年生食虫花卉, 它的株型小巧玲珑, 株高约4-8cm, 适合盆栽, 叶柄呈宽叶片状, 叶柄上着生的两片叶瓣成展开的贝壳状, 叶片边缘着生许多棘突, 小昆虫触动叶片时, 叶片能迅速闭合, 棘突象蝇夹子相互交错, 防止捕捉到的小昆虫逃走, 叶片同时产生分泌液消化吸收, 无需施肥, 趣味性极高, 深受人们

的喜爱。它的常规繁殖一般采用叶插与分株进行,繁殖速度慢,通过组织培养已获得了大量的试管苗。捕蝇草的组织培养国内外尚未见报道。

树兰属植物的胚培养和快速繁殖研究

曾宋君 彭晓明 黄向力 张京丽 赵逢畔

(中国科学院华南植物研究所华南植物园 广州 510520)

对树兰属植物扇贝兰(*Epidendrum cochleatum* L.)和树兰(*E. radicans* Paron)的胚培养和快速繁殖进行了研究。结果表明:扇贝兰和树兰在种子基本成熟时胚的萌发率和成苗率最高,萌发期与成苗期最短;胚萌发的最适培养基为N₆;在培养基中加入10%的椰子汁能提高萌发率与成苗率,加入绿豆芽汁能促进胚的萌发,加入香蕉汁、苹果汁、胡萝卜汁能促进成苗,1%的活性炭有利于根的形成。继代培养与生根时扇贝兰与树兰的最适培养基不同,扇贝兰继代培养时以VW培养基附加6-BA 0.5 mg/L效果好,在生根培养时以N₆培养基附加10%的香蕉汁的效果好;树兰继代培养时在MS培养基附加6-BA 0.5 mg/L时效果好,在生根培养时以1/2MS培养基附加NAA 0.2 mg/L和10%的香蕉时效果最好。种子萌发与生根壮苗时蔗糖浓度以2%最佳,继代培养时以3%最佳。对两种树兰试管苗的规模化生产成本的降低进行了探讨。

深山含笑的组织培养和快速繁殖

曾宋君 吴七根 彭晓明 曾庆文

(中国科学院华南植物研究所华南植物园 广州 510520)

针对木兰科植物难繁殖的特点,本文以深山含笑(*Michelia maudiae* Dunn)为材料利用组织培养技术探讨其快速繁殖的问题。结果表明:利用休眠芽和实生苗的上胚轴及下胚轴为外植体均能诱导出愈伤组织和不定芽,其中无菌实生苗的上胚轴最易诱导出不定芽,无菌实生苗的下胚轴最易诱导出愈伤组织。外植体在MS+2, 4-D 1.0-2.0 mg/L培养基上只产生愈伤组织,在MS+6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L培养基上产生较多的不定芽和较多的愈伤组织;在MS+2, 4-D 2.0 mg/L+6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L

培养基上易产生愈伤组织和大量的不定芽。愈伤组织在MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基上能产生大量的不定芽,不定芽在此培养基上增殖速度快,增殖速度可达6.30倍。试管内小苗在1/2MS+NAA 0.5 mg/L培养基上生根壮苗效果较好。试管苗移栽成活率为92%。

玉米幼胚愈伤组织的诱导继代和植株再生的研究

彭光天 黄上志 傅家瑞 李华光 钟伟
(中山大学生物科学与技术系 广州 510275)

玉米 (*Zea mays* L.) 自交系英 4 作母本与 Mo17 作父本配制的杂种 F_1 , 授粉后 11-17d 的幼胚接种于各种培养基中。结果发现接种幼胚的大小、基本培养基成分、激素种类和浓度等对胚性愈伤组织的诱导、继代和分化幼苗均有明显的影响。在培养基 H_1 : MS 基本+谷氨酰胺 100mg/L(单位下同) + 脯氨酸 500+水解酪蛋白 500+2, 4-D+ $AgNO_3$ 10+2%蔗糖+0.7%琼脂, pH5.8 中, 13d 的幼胚(大小约 1.4-1.8mm)有最高的胚性愈伤组织诱导率 60.73%。胚性愈伤组织在 N_1 培养基: N_0 基本+谷氨酰胺 100 +脯氨酸 600+水解酪蛋白 400+肌醇 50+2, 4-D+ $AgNO_3$ 10+2%蔗糖+0.7%琼脂, pH5.8 培养基中继代半年后仍有再生能力,但随着继代次数的增多,再生植株中畸形苗频率也升高。胚性愈伤组织在去除 2, 4-D, 加入 2.643mg/LABA 和 1mg/L6-BA 的 N_1 培养基中有较高的成苗率。

RAPD 引物选择的初步探讨

刘小坤 王颖 陈润政
(中山大学 生命科学学院 510275 广州)

随机扩增多态性 DNA (Random Amplified Polymorphic DNA, RAPD) 是 1990 年由美国科学家 J. G. K. Williams 和加利福尼亚生物研究所 J. Welsh 领导的两个小组几乎同时发展起来的一项技术。它是以基因组 DNA 为模板, 以一个随机的寡聚核苷酸序列 (通常为 10 个碱基) 为引物, 通过 PCR 扩增, 产生分子量大小不连续的 DNA 片段, 通过琼脂糖凝胶电泳来检测 DNA 多态性。

我们利用 46 个随机引物对 8 个不同水稻品种进行了多态性检测, 经过统计分析发现, 虽然引物的选择是随机的, 但引物本身的某些特点, 如碱基组成, 碱基分布及其排列顺序均对结果有很大影响, 分析结果如下:

1. G+C 含量对结果的影响: 一般认为 G+C 含量应在 45%—55% 之间, PCR 反应中的复性温度一般是引物的 T_m 值减去 5—10℃, 引物长度小于 20bp 时, 其 T_m 值 = $4 \times (G+C) + 2 \times (A+T)$, 我们选用引物来自上海生工, 发现 G+C 含量较低的 (40%) 引物如 S696 和 S849 对 8 个品种扩增成功率为零。失败率为零的 G+C 含量多为 60%—70%。
2. 碱基随机分布的影响: 我们发现嘌呤和嘧啶不能集中, 尽量分散开, 在成功率 100% 的 10 个引物中, 交错排布的比例较大, 几乎都在 50% 以上, 失败率高的引物碱基交错排布的比例都低于 50%, 另外碱基的连续分布也会使成功率下降, 失败率为 87.5% 的引物 S3 有 5 个碱基 C 相连, 失败率 50% 的引物 S27 中有 3A、3G 相连, 引物 S373 (失败率 50%) 有 2G, 2T, 3C 相连。
3. 引物自身不能有互补序列: 引物若含有互补序列, 会形成发夹形二级结构, 不能正常延伸。如 S373 (失败率 50%) 含有 5'GGTT 和 ACCC3' 互补序列。
4. 多态性高低与引物关系: 扩增成功是多态性的前提, 我们对扩增成功的引物序列与多态性关系作了一些探讨, 发现碱基 T 含量高则多态性低。T 含量低多态性高。这似乎预示着所鉴定水稻品种 DNA 特异带前的基因含碱基 A 少, 多态性高的 S33 (87.5%), S360 (80%), S385 (71.4%), S227 (75%) 都几乎没有碱基 T。

RAPD 是以 PCR 为基础的一种新技术, 在种子纯度检测鉴定方面具有许多优点, 但也存在一些不足, 我们总结出选择引物的一些规律, 利用它就可以大大缩短时间, 降低成本, 为 RAPD 技术的进一步推广创造条件。

关键词 RAPD 引物 多态性

一步法提取植物 DNA 用于大规模 RAPD 分析

张明永 孙彩云 梁承邨

(中国科学院华南植物研究所, 广州 510650)

RAPD 技术已广泛地用于植物的系统演化、种群多样性、群体遗传学及杂种种子纯度的鉴定等工作中^[1], 在这些研究中都需要进行成百上千个样品的 DNA 提取, 以用于以 PCR 技术为基础的分子标记多态性研究。如用传

统的 CTAB 法或 SDS 法进行 DNA 提取,其工作量较大。为尽量简化植物 DNA 的提取,Chunwongse 等用切割开的半粒种子与提取液预培养的方法成功的从水稻和小麦中提取了 DNA 用于 PCR 反应,Gu 等和 Wang 等则用碱溶液法也成功的从植物中提取了植物 DNA 以用于 PCR 反应。本法基于快速节省的原则对碱液法提取植物 DNA 进行一些改进,以用于进行 RAPD 的分析。

DNA 提取方法 取 10-20 mg 幼叶,加 100 μ l 0.5 N NaOH (或附加 0.5-1.5%巯基乙醇)研磨,后取 40 μ l 研磨液加入 200 μ l 100 mM Tris-HCl pH 7.6 缓冲液(或附加 0.5%不溶性聚乙烯吡咯烷酮, PVP)中,8000 $\times$ g 离心 5 min,上清液即可用于 PCR 反应,按通常的 RAPD 反应体系。

用这种方法提取的水稻、玉米、小麦、菜心、花生、香蕉和蕃薯幼叶的 DNA,直接用于 PCR 反应,都可扩增出 RAPD 谱带,并有较好的重复性。表明这种方法用于以上植物的 DNA 提取,做 RAPD 分析是可行的。这比传统的 CTAB 等方法,减少了很多步骤,可大大节省时间。

水稻、玉米、小麦和菜心直接用 0.5 N NaOH 提取放入 100 mM Tris-HCl 中后在 4 $^{\circ}$ C 放置 1 月后仍可用于 PCR 反应。但香蕉、蕃薯则发生褐变,因而在用 0.5 N NaOH 提取这两种植物的 DNA 时,NaOH 提取液中附加 0.5%的巯基乙醇并在起缓冲作用的 Tris-HCl 中附加 0.5%的不溶性 PVP,以与引起褐变的多酚类物质起作用,不溶性 PVP 可在离心中除去,这样提取的香蕉与蕃薯 DNA 放暑后不再发生褐变化,且在 4 $^{\circ}$ C 放暑 1 月后也可用于 PCR 反应。

应用本方法的过程中需要注意以下几个问题: (1)材料应越幼嫩越好,因本法不含 CTAB 或 SDS 这样的细胞膜裂解剂而是靠研磨方法破碎细胞。(2)NaOH 溶液应每周新配。(3)如含酚类物质较多的材料就应附加巯基乙醇或 PVP。(4)此法中失败的通常原因是在提取 DNA 时所用材料太多,因而为控制取材时的均一性可用打孔器取样。

关键词: DNA 提取 RAPD

Identification of a Rice cDNA Encoding the Acyl-CoA-binding Protein (ACBP)

ZHANG Ming-Yong¹, Xu Shi-Xong (S.Y. Zee),²
Mee-Len Chye², Liang Cheng-Ye¹

(1. South China Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou
510650)

(2. Department of Botany, The University of Hong Kong)

Acyl-CoA-binding protein (ACBP) is a kind of small polypeptides of about 10 kD that has been found to bind the long chain acyl-CoAs very strongly, but not free fatty acids or CoAs. ACBP cDNAs have been isolated from animals, yeast, insects and plants. Previous studies have suggested that ACBP-bound acyl-CoAs is protected from the action of thioesterases and act as an acyl-CoA pool former and transporter.

Using homology analysis, a cDNA clone (R1908) of RGP, which was partially sequenced, is potentially a cDNA encoding the acyl-CoA-binding protein of rice. We completely sequenced the cDNA insert by the dideoxy chain termination method. The cDNA contains 578 nucleotides with a poly(A) tail in 3'. A variant poly(A) addition signal, AATAGA, is located 15 nucleotides upstream from the poly(A) tail (Fig.1).

Homology analysis with BLASTN program of NCBI showed the sequence of this rice cDNA has 71%, 76%, 75% and 74% identities with the mRNA for ACBP of *Brassica napus* (X77134), *Ricinus communis* (Y08996), *Fritillaria agrestis* (AF031541) and *Gossypium hirsutum* (U35015) respectively. The results of comparison of the translated nucleotide with proteins by BLASTX program of NCBI showed that this cDNA has high homology with ACBPs from the other sources, it displays 70%--80% identities with the ACBPs from *F. agrestis*, *R. communis*, *G. hirsutum* and *B. napus*. Therefore, the sequence comparisons suggested that clone R1908 might encode a rice ACBP.

Southern blot analysis that only one copy of ACBP gene exists in rice genome. Northern blot analysis of total RNA from roots, leaves, leaf sheaths, shoots, panicles and etiolated seedlings of rice suggested that the rice ACBP gene is expressed in all organs of rice, but the level of ACBP expression in roots of seedlings and leaf sheaths of 50 d plants was higher than in leaves.

Key words: rice acyl-CoA-binding protein cDNA