

钱迎倩论文集

李振声题



钱迎倩论文集

《钱迎倩论文集》编辑委员会 主编

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书汇集了已故植物学家钱迎倩先生及其与同事或学生合作发表的学术论文和科普文章等 86 篇。其中生物技术与生物工程研究方面的论文 29 篇, 生物安全与分子生态学研究方面的论文 24 篇, 生物多样性保护研究方面的论文 12 篇, 科学普及与考察见闻方面的文章 21 篇。本书比较全面地反映了钱迎倩先生的学术成就, 特别是对中国植物科学发展的贡献。本书还收录了钱先生不同时期工作和生活的珍贵照片。附录的 5 篇文章较全面地总结了钱迎倩先生的科学人生。

本书可供从事植物科学和生物多样性保护方面的研究人员和相关专业的师生参考。

图书在版编目(CIP)数据

钱迎倩论文集/《钱迎倩论文集》编辑委员会主编. —北京: 科学出版社, 2011
ISBN 978-7-03-030973-0

I. ①钱… II. ①钱… III. ①生物学—文集 IV. ①Q-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 080854 号

责任编辑: 王 静 马 俊/责任校对: 张凤琴

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 北京美光制版有限公司

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京佳信达欣艺术印刷有限公司 印刷

科学出版社编务公司排版制作

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 5 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2011 年 5 月第一次印刷 印张: 41 1/2 插页: 8

印数: 1—800 字数: 972 000

定价: 168.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

序 言

钱迎倩先生 1954 年毕业于复旦大学，后又到南京大学读研究生，1957 年毕业。自 1959 年起在中国科学院植物研究所工作，1987 年起在中国科学院生物科学与生物技术局工作，1993 年起调到广西壮族自治区科学院工作，1994 年底又回到植物研究所工作直至 1999 年退休。从研究生毕业到退休的 42 年间，钱迎倩先生在科学研究和科技领导工作中都作出了出色的贡献。

他在原生质体培养和细胞融合研究领域做出了不少开创性的工作。他不仅成功地对大豆和烟草原生质体进行了分离和纯化，而且将这两种不同科植物的原生质体进行了融合，得到了异科原生质体融合后的异核体。他所带领的研究组率先在国际上成功地获得了攻关多年未能突破的玉米原生质体再生植株，成为当年该学科领域的重大新闻，受到了国内外同行的好评。在后来的水稻原生质体的游离和培养、美味猕猴桃原生质体再生植株和无性系变异以及多种植物原生质体的超低温保存上都获得不少重要的研究成果。

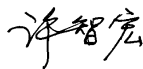
在科技领导方面，他历任植物研究所植物细胞学研究室副主任、主任，植物研究所副所长、所长。1987 年 2 月任中国科学院生物科学与生物技术局局长，1993 年 2 月至 1994 年 12 月任广西壮族自治区科学院院长。在任所长期间，他充分发挥老一辈科学家在学科建设方面的作用，鼓励研究人员开展国际前沿和与国民经济密切相关的研究课题；落实党和国家的知识分子政策，采取多种措施调动职工积极性；为适应研究所领导体制改革的要求，积极探索所长负责制条件下的研究所运行机制改革；恢复和健全学位工作制度，选送青年研究人员出国深造，以加强研究所的队伍建设。在任局长期间，他十分关注前沿学科领域动向，积极推动中国科学院生物多样性、全球变化、细胞分子进化以及系统生物学等领域的研究。同时，在当时科研经费困难的情况下，关心和支持分类区系研究、“三志”编研、标本馆和植物园建设等基础性工作。他还积极支持华西亚高山植物园和神农架生物多样性定位研究站的建立和发展。钱迎倩先生是个有强烈社会责任感的人，退休以后以极大的热情投入到科学普及工作中，2000 年 9 月至 2008 年 5 月期间，作为中国科学院科学家演讲团成员，他走遍了全国 10 个省、2 个直辖市，演讲 320 场，听众达 8 万多人，他的演讲受到各地听众的广泛好评。他所在的老科学家科普演讲团获得由中宣部、教育部、科技部等部委颁发的“第二届中国青少年社会教育银杏奖”。从上可见，钱先生无论在研究上、管理上，还是社会事业上，都为我们树立了良好的榜样。

印象中，我第一次认识钱迎倩先生是在“文革”结束后不久，上海植生所成立细胞生理研究室，罗士韦先生带我和几位同事到植物所访问吴素萱先生和细胞室。随后，1978 年夏，我俩一起参加由胡含先生带队的中国科学院代表团参加在加拿大卡尔加里召开的国际植物组织培养会议。以后，由于我们在同一研究领域工作，后他又调院里工作，接

触颇多。他去广西参加组建广西科学院的工作并担任首任院长时，我已到院里担任副院长，期间到广西去看过他，也为他的开拓精神所感动。钱迎倩先生在做人方面给我留下了极其深刻的印象，可以简单地概括为正直、谦和、大度、关爱、担当。这是我三十多年来与他相处的切身体会。

钱迎倩先生离开我们一年了，他的音容笑貌不时浮现在我的脑海中。他的一生几乎全部奉献给了中国科学院的生命科学事业，不仅为我们留下了具有标志性的研究成果和科学事业发展的成就，更为我们，特别是年青一代，留下了宝贵的精神财富。他将永远活在我们的心里。值此《钱迎倩论文集》即将出版之际，谨以此文寄托对钱先生的敬佩和怀念之情。最后，感谢编辑小组同仁们的善意和辛苦。

是为序。



2011年4月20日

—••••—
一生经历
—••••—

孩提时代和青年求学



幼儿钱迎倩



1947年，省立上海中学初三16班毕业照(后二排右一)



儿童钱迎倩(右一)与哥哥钱岳倩



1953年，复旦大学大学实习



1954年，复旦大学生物系低等植物专业组同学合影



大学时代钱迎倩



1959年，与妻子陈灵芝的结婚照(上海)



1960年，与妻子陈灵芝的婚后合影(北京)



1982年，与加拿大植物生物技术研究国际同行合影



1978年，与吴素萱教授，同事周云罗、蔡起贵(从左至右)在实验室



1983年，参加全国植物细胞融合工作会议(二排右四)



1	2
3	
4	

1. 1991年，参加第二届猕猴桃国际研讨会(新西兰)
2. 1992年，参加濒危动植物种国际贸易公约缔约方大会(CITES, 日本京都)
3. 1995年，参加印度-马来半岛生物多样性保护会议(泰国)
4. 2005年，参加生物安全国际研讨会(中国南京，一排右三)



所长工作



1983年，为汤佩松先生80寿辰祝寿



1983年，春节看望研究所老领导杨森同志



1983年，接待来访外宾



1985年，参加植物学会秘书长会议
(重庆，照片为钱迎倩先生笔迹)



1984年，接待国家领导人陈幕华视察中科院植物所植物园



1989年，参加昆明动物所建所30周年纪念活动



1990年，参加昆明动物所细胞与分子进化开放实验室论证会



1990年，在西双版纳植物园调研（中间为时任副院长李振声，左一为时任院办公厅主任栾中新）



1994年，与中科院生物局王贵海(左一)、孟广震(右一)副局长合影



1990年，参加中国科学院生物学部常委会(后排右四)

局长工作和院长工作



1993年，考察广西山口红树林保护区



1990年，参加中国动物志第三届编委会



1994年，与妻子和中科院生物局同事合影



1996年，考察广西科学院植物所



2005年，为小学生讲科普知识



2007年，科普演讲



2007年，山东诸城与学生合影

同学师长情



1987年，与妻子、同事和博士研究生合影



1995年，与博士研究生恽锐(左一)和魏伟(右一)于昆明



1991年，与妻子、同事和研究生共渡元旦新年



2005年，复旦大学百年校庆期间看望谈家桢教授



1990年，与妈妈、妹妹合影



1992年，与妻子陈灵芝、女儿钱云杉、儿子钱雪松合影



1992年，60寿辰纪念



2009年，钱迎倩夫妇金婚纪念日合影



2002年，70寿辰纪念



2008年，与哥哥钱岳倩合影



2008年春节，与全家和哥哥家人的全家福

目 录

生物技术与生物工程研究

玉米花粉的人工萌发	3
钱迎倩 吴素萱	
小黑麦叶片细胞全能性的探讨	4
钱迎倩 周云罗 马诚 蔡起贵	
小黑麦幼叶外植体的植株再生	5
钱迎倩 周云罗 蔡起贵	
Chromosomal and Isozyme Studies of <i>Nicotiana tabacum</i> - <i>Glycine max</i> Hybrid Cell Lines	9
Y. C. Chien K. N. Kao L. R. Wetter	
Effects of osmolality, cytokinin, and organic acids on pollen callus formation in <i>Triticale</i> anthers	16
Y. C. Chien, K. N. Kao	
植物原生质体的应用	21
钱迎倩	
Advances in Actinidia Research in China	30
Qian Ying-qian Yu Dong-ping	
植物细胞工程进展	36
钱迎倩 邹吉涛 张士波 王铁邦	
植物细胞、组织与器官的培养	54
胡玉熹 钱迎倩	
烟草(<i>Nicotiana tabacum</i>)原生质体再生成植株及影响植株分化的某些因素	60
蔡起贵 钱迎倩 周云罗 吴素萱	
水稻(<i>Oryza sativa</i> L.)原生质体分离与培养的进一步研究	71
蔡起贵 钱迎倩 周云罗 吴素萱	
从大蒜贮藏叶诱导愈伤组织及植株再生	78
周云罗 钱迎倩 蔡起贵 吴素萱	
龙胆叶肉原生质体再生愈伤组织的研究	82
周云罗 钱迎倩 蔡起贵 张治国 严霄	
离体条件下条叶龙胆花芽的形成和开花条件的研究	86
周云罗 钱迎倩 母锡金 蔡起贵	

香石竹原生质体再生的研究	90
邹吉涛 钱迎倩	
不同外植体来源和培养条件对拟似棉植株再生的影响	93
谭晓连 钱迎倩	
Factors Influencing Isolation, Division and Plant Regeneration in Maize (<i>Zea mays</i> L.)	
Protoplast Culture	98
Zhang Shi-Bo Guo Zhong-Shen Qian Ying-Qian Qu Gui-Ping Cai Qi-Gui Zhou Yun-Luo	
小偃麦原生质体培养及植株再生	106
王铁邦 钱迎倩 李集临 屈贵平 蔡起贵	
植物原生质体的研究在中国科学院的发展	114
袁萍 钱迎倩	
美味猕猴桃原生质体再生植株无性系变异的研究	118
蔡起贵 钱迎倩 柯善强 何子灿 姜荣锡 周云罗 叶亚平 洪树荣 黄仁煌	
小麦抗寒力诱导过程中特异性蛋白质的合成	125
潘杰 简令成 钱迎倩	
毛花猕猴桃愈伤组织诱导与植株再生	137
张远记 钱迎倩	
毛花猕猴桃原生质体再生植株	143
张远记 母锡金 蔡起贵 周云罗 钱迎倩	
美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研究 I. 体细胞染色体数目的变化	149
何子灿 蔡起贵 柯善强 钱迎倩 徐立铭	
美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研究 II. 性别性状变异和小孢子发生及其发育命运	154
何子灿 蔡起贵 钱迎倩 黄宏文	
美味猕猴桃原生质体再生植株细胞遗传学研究 III. 母株减数分裂前期 I 染色体配对的光镜观察	165
何子灿 蔡起贵 钱迎倩 黄宏文 侯云甫	
软枣猕猴桃试管苗叶片和茎段的愈伤组织诱导及植株再生	171
张远记 钱迎倩	
Somaclonal Variation in Chromosome Number and Nuclei Number of Regenerated Plants	
From Protoplasts of <i>Actinidia Eriantha</i>	176
Zhang Yuan ji Qian Ying qian Cai Qi gui Mu Xi jin Wei Xiao ping Zhou Yun luo	
Plant regeneration from <i>in vitro</i> -cultured seedling leaf protoplasts of <i>Actinidia eriantha</i>	
Benth	182
Y. J. Zhang Y. Q. Qian X. J. Mu Q. G. Cai Y. L. Zhou X. P. Wei	

生物安全与分子生态学研究

生物技术与生物多样性的保护和持续利用·····	191
钱迎倩	
生物技术与生物安全·····	200
钱迎倩 马克平	
生物安全的现状与对策·····	211
钱迎倩 马克平 魏伟 裴克全	
转基因植物的生态风险评价·····	217
钱迎倩 田彦 魏伟	
经遗传修饰生物体的研究进展及其释放后对环境的影响·····	228
钱迎倩 马克平	
转基因作物的利弊分析·····	240
钱迎倩	
转基因作物在生产中的应用及某些潜在问题·····	247
钱迎倩 魏伟 田彦 马克平	
终止子技术与生物安全·····	257
钱迎倩 马克平 桑卫国 魏伟	
转基因作物对生物多样性的影响·····	262
钱迎倩 魏伟 桑卫国 马克平	
对生物安全问题的思考·····	270
钱迎倩 魏伟 马克平	
墨西哥发生基因污染事件的新动态·····	275
钱迎倩 魏伟 马克平	
害虫对转基因 Bt 作物的抗性及其管理对策·····	280
魏伟 钱迎倩 马克平	
转基因作物与其野生亲缘种间的基因流·····	299
魏伟 钱迎倩 马克平	
遗传修饰生物体(GMOs)生态风险的监测·····	308
魏伟 钱迎倩 马克平 桑卫国	
转基因食品安全性评价的研究进展·····	317
魏伟 钱迎倩 马克平 裴克全 桑卫国	
生物技术与生物多样性·····	325
魏伟 钱迎倩	
转 Bt 基因棉花生态风险评价的研究进展·····	345
魏伟 裴克全 桑卫国 钱迎倩 马克平	

基因工程树的现状、生态风险与对策	353
沈孝宙 钱迎倩 张树庸	
盐渍条件下野大豆群体的遗传分化和生理适应：同工酶和随机扩增多态 DNA 研究	363
王洪新 胡志昂 钟敏 陆文静 魏伟 恽锐 钱迎倩	
北京东灵山辽东栎种群 DNA 多样性的研究	373
恽锐 钟敏 王洪新 魏伟 胡志昂 钱迎倩	
蒙古栎、辽东栎的遗传分化：从形态到 DNA	381
恽锐 王洪新 胡志昂 钟敏 魏伟 钱迎倩	
野大豆群体 DNA 随机扩增产物的限制性内切酶消化	388
魏伟 钟敏 王洪新 恽锐 胡志昂 钱迎倩	
毛乌素沙地柠条群体分子生态学初步研究：RAPD 证据	394
魏伟 王洪新 胡志昂 钟敏 恽锐 钱迎倩	
检测植物 DNA 扩增多态性方法的比较和改进	403
胡志昂 恽锐 钟敏 董夫贵 王洪新 钱迎倩	

生物多样性保护研究

生物多样性的保护和永续利用	411
钱迎倩	
历史的责任：保护生物多样性	416
钱迎倩	
我国生物多样性保护与持续利用中存在的问题及对策	419
钱迎倩 马克平 王晨	
生物技术与生物安全	428
钱迎倩 马克平	
生物多样性研究的几个国际热点	439
钱迎倩 马克平	
生物多样性的几个问题	445
钱迎倩	
生物多样性的几个问题(续)	461
钱迎倩	
《生物多样性公约》的起草过程与主要内容	479
马克平 钱迎倩	
生物多样性研究的现状与发展趋势	485
马克平 钱迎倩 王晨	

系统学与生物多样性	492	王晨 钱迎倩 马克平
生物多样性科学前沿	498	陈灵芝 钱迎倩
生物多样性保护及其研究进展	508	马克平 钱迎倩

科学普及与考察见闻

这已经不是幻想——介绍植物体细胞杂交	517	钱迎倩
植物组织培养的培养基	520	钱迎倩
植物细胞——植物细胞的基本结构	526	朱至清 钱迎倩
植物细胞——细胞核	531	钱迎倩
保护地球的生物多样性	536	钱迎倩
从湟鱼陈尸论青海省的环境	539	钱迎倩
试谈基础教育	542	钱迎倩
“转基因热”背后的冷思考	544	钱迎倩
防治外来物种入侵北京	551	钱迎倩
第四届国际植物组织、细胞培养会议简介	554	钱迎倩
加拿大纪行	559	钱迎倩
澳大利亚的试管苗工厂化生产	563	钱迎倩
新西兰猕猴桃见闻——科研、生产及经营管理	567	钱迎倩 母锡金
第二届国际猕猴桃会议	572	钱迎倩 母锡金

印度、泰国和越南生物多样性保护的管理	575
	钱迎倩 季维智
印度、泰国和越南生物多样性概况	583
	季维智 钱迎倩
怀念我们的老师吴素萱教授	592
	简令成 蔡起贵 钱迎倩
怀念吴素萱老师	596
	钱迎倩
从几点感想谈科普	598
	钱迎倩
我国面临严峻的资源环境的挑战	606
	钱迎倩
拯救生物多样性就是拯救人类自己	616
	钱迎倩

附 录

钱迎倩年谱	637
鞠躬尽瘁 死而后已——纪念为我国植物科学发展奉献毕生精力的钱迎倩先生	640
把握全局，尽心竭力，推动生物科学健康发展——纪念钱迎倩局长辞世一周年	644
青海湖边我的心在流血	649
	阮帆
In Remembrance: Professor Qian Ying-Qian(1932—2010)	652
	Jitao Zou Wei Wei Keping Ma
编后记	655

生物技术与生物工程研究

玉米花粉的人工萌发

钱迎倩 吴素萱

(中国科学院植物研究所)

为了解决植物杂交育种、遗传学、生理学及细胞学上的问题，很多学者对花粉进行了研究。人工萌发对研究花粉的问题提供有利的条件，但是不同植物的花粉要求在适宜的环境条件下才能正常萌发和生长。禾本科植物的花粉一般在人工萌发条件下得到的结果都是不够理想的。对玉米花粉的人工萌发，则不易掌握其要求的湿度，一般培养基的湿度较高，花粉容易破裂，较低则不易萌发。除 Kubo(1958)的工作报导外，玉米正常萌发的萌发率都在 30%以下。据 Kubo 的报导，在十月份玉米萌发率可达到 100%。但在我国北方十月份已不是玉米正常的生长季节。我们在 7 月份，亦即玉米盛花期进行了玉米人工萌发的实验。

实验材料是玉米品种华 53 自交系。所用的培养基是 2%琼脂、10%~20%明胶、15%~20%蔗糖的混合胶体，其中尤以 2%琼脂、15%明胶、15%蔗糖的浓度为佳。取混合胶体一滴(约 0.1ml)用玻璃棒均匀地涂在载玻片上(约占面积 24mm × 24mm)。在室温(28°~29℃)下播种花粉，然后将载玻片放在直径为 12cm 并具有湿润滤纸的培养皿内。每培养皿内以 1.3ml 的水润湿滤纸。

玉米花粉萌发率的高低及花粉管生长的长度除决定于适宜的培养基外，还决定于载玻片上所涂培养基的厚度以及花粉采得后插入培养基的时间及密度。Gotch(1931)在播入培养基前将花粉暴露在空气中一个半小时。Conger(1953)认为鸭跖草花粉在播种前必须不能潮湿。他将收集的花粉保存在干燥器内。我们对放在干燥器内及暴露在空气中的花粉作了对比实验。早晨 9 时采集花粉，在一般情况下不管暴露在空气中或放在干燥器中 1~2h 后播种，都可得到满意的结果。其中尤以放在干燥器中的结果较佳。播种的密度过低一般花粉不能萌发，甚至破裂了。即使花粉能够萌发，花粉管亦生长不良。密度过高花粉亦不易萌发，花粉管生长不正常。一般在 $\times 10 \times 10$ 的视野内均匀地播入 150~180 粒花粉则可得良好的结果。

本实验按上述条件进行人工萌发，萌发率最高可达到 91.5%。花粉管长度在四个半小时内最长为 1600 μ m，平均长度为 1352 μ m。在其中能观察到动态的精子，这一点可说明花粉管的萌发是正常的。

小黑麦叶片细胞全能性的探讨

钱迎倩 周云罗 马诚 蔡起贵

(中国科学院植物研究所)

由于对禾谷类叶片细胞及原生质体培养的失败，有人怀疑禾谷类叶片细胞是否具有全能性。我们用小黑麦幼叶作材料，对此课题进行了探讨。取 4cm 左右的第一片无菌幼叶，从基部 3mm 以上开始，每隔 3mm 切断，叶段顺序在附加有 2mg/L 2, 4-D, 500mg/L 水解乳蛋白及 1000mg/L 酵母提取物的 MS 基本培养(简称 MS-a)上进行暗培养，4、5d 后，开始有愈伤组织出现，基部 3mm 往上到 12mm 的各切段可诱导出大量愈伤组织，频率分别为 96%、79%及 45%。个别情况下 15~18mm 的切段也有愈伤组织，培养 12d 后逐步分化出大量的根。出现愈伤组织 10d 后的材料，当转移到 1200Lux 光照下培养，50 天左右在原培养基(MS-a)上分化了苗。已获 8 棵形态正常的小植株，并已种入土壤中。在幼叶上用墨水作标记实验，证明即使 3~6mm 的叶段在今后分化了叶鞘的成熟叶子上，这部位还是处于叶片的位置。用第一片幼叶在各种不同培养基，不同光照及萌发条件下作了诱导愈伤组织及分化的实验。结果说明小黑麦幼叶愈伤组织的诱导对培养基及外界条件的要求并不苛刻。但愈伤组织的质地及分化机能各异，在 PRL-4 培养基上，色白、质松，在原有培养基上不易分化，而在 MS-a 及 MS-P 培养基上，色淡黄、质致密，易分化大量根，光照对愈伤组织的诱导稍有抑制作用，用不同组合的生长素和细胞分裂素作了分化苗的实验，在具 0.04mg/L NAA, 0.5mg/L GA₃ 及 2mg/L 6BA 的 MS 分化培养基上得一棵绿苗，在 0.2mg/L 玉米素, 0.2mg/L 2, 4-D, 0.5mg/L GA₃ 及 3.5mg/L IAA 培养基上得多棵形态不正常的白苗。用第二片幼叶做实验，说明只在叶子基部 3mm 向上到 12mm 处可诱导出愈伤组织及分化根。并对幼叶分上(18mm 以上的幼叶，不能诱导出愈伤组织)、中(12~15mm，能诱导愈伤组织，但量少，不易长大)，下(3~12mm 叶段，可大量诱导出愈伤组织)，三部分用聚丙烯酰胺凝胶电泳进行可溶性蛋白的分析表明。上部只有 2、4、7 三条带明显，6 带隐约可见，中部比下部少 1、5 两条带，下部共有 12 条带，量比中部带要多。实验证明：小黑麦幼叶下部细胞具全能性。

小黑麦幼叶外植体的植株再生

钱迎倩 周云罗 蔡起贵

(中国科学院植物研究所)

通过细胞诱变及细胞杂交等遗传操作的途径，改良谷物的性状是国际上普遍关注的一个重要研究课题，其中从原生质体起源的细胞能够再生植株又是高等植物遗传操作的先决条件。但是禾谷类作物的原生质体培养当前存在很多困难，培养成植株的例子还很少。主要原因是叶肉原生质体再生细胞后未能进行有规则连续分裂，因此，曾有人提出过禾谷类叶细胞是否有全能性的问题^[1,2]。

这几年已有少量从禾谷类幼叶诱导得愈伤组织及再生植株的报道^[3-5]。可是对禾谷类叶片细胞全能性的基础研究还是比较缺乏。为此，我们以小黑麦叶片为材料着手开展这方面研究。本文仅报道以小黑麦幼叶诱导出愈伤组织及其植株的再生。

材料与方法

八倍体小黑麦种子由中国农业科学院供给。种子在 0.1% 硫酸十二烷基钠(SLS)溶液中洗涤 10min，用清水冲洗后在无菌条件下浸入 70% 的酒精 15s，再转到 0.1% HgCl_2 溶液中灭菌 10~15min，最后用无菌水冲洗 3 次。灭菌的种子放在无菌培养皿中的湿润滤纸上，25℃ 黑暗条件下萌发。取长 1~4cm 的幼叶作为实验材料。剥去胚芽鞘，取出第一片幼叶。从叶子基部开始顺序每隔 3mm 切下一叶段。由于最基部的 3mm 长的叶段里面包有生长锥及第二片叶的叶原基，所以弃去不用。而取 3mm 以上的 5 个叶段顺序地往下列培养基中 25℃ 黑暗下或光照条件下诱导愈伤组织。培养基的组成是 $\text{MS}^{[6]}$ 基本培养基，并附加水解乳蛋白 500mg/L，酵母提取物 1000mg/L，2, 4-D 2mg/L 及蔗糖 40g/L。

此外，还在幼叶上做了标记实验。采用不同苗龄正常条件下生长的幼苗，分别剥去胚芽鞘。在叶子基部向上 3~6mm 的位置上用碳素墨水作标记，并让其在土壤中继续生长。待第一片叶分化出叶鞘和叶舌后，即可查明所接种的叶段在叶子上所处的位置。

结果与讨论

1. 愈伤组织的诱导

在上述培养条件(见材料与方法)下 3d 左右, 有的叶段开始膨大, 培养 4~5d 后, 就开始有肉眼可见的愈伤组织出现。愈伤组织多数发生在切段向叶基部的一端(图 1a)。但有的愈伤组织也可能在切段向叶尖的一端或在切段的中部产生(图 1b)。

不同的叶段愈伤组织发生的情况是很不一样的。对 24 个幼叶的 120 个叶段进行统计的结果说明从幼叶基部开始到 12~15mm 的切段, 在一定的培养条件下都可以诱导出愈伤组织。其中尤以 3~6、6~9、9~12mm 的三种切段为多。诱导频率分别为 96%、79% 及 45%。在个别的情况下, 培养 15d 左右后, 在 15~18mm 的切段上也可以见到有愈伤组织的发生(表 1)。此外, 当用 1cm 左右的幼叶作材料时, 甚至在叶尖部切段的切口处也诱导出愈伤组织(图 1c), 有关愈伤组织的生长势, 3~12mm 的切段都是比较旺盛的, 其中尤以 6~12mm 的切段为最旺。

表 1 幼叶不同叶段愈伤组织的诱导致*

愈伤组织数 叶段/mm	培养时间 /d	6	9	12	15
3~6		19	23	23	23
6~9		16	17	18	19
9~12		8	11	11	11
12~15		1	5	5	5
15~18		0	0	0	1

* 24 片幼叶各叶段的统计数。叶段是从幼叶基部向上计算。

2. 愈伤组织器官的建成

在小麦幼叶愈伤组织上形成根是很容易的。将叶段接种在上述的培养基上, 即可产生愈伤组织, 随着愈伤组织的长大, 12d 左右开始有根的发生(图 1d)。

在不同叶段的愈伤组织上根的分化与愈伤组织的发生和生长势有密切的联系。表 2 说明在 3~12mm 叶段的愈伤组织上都可有大量根的发生, 而在 12~15mm 叶段上的愈伤组织偶尔也有根的分化。

在原来的培养基上, 我们还得到了苗的分化。有一组实验是先把叶段置于黑暗条件下培养, 当愈伤组织出现 10d 左右后, 再把培养物转放到白天为 28℃, 1200 勒克司 10h 光照条件, 晚上为 25℃黑暗条件下培养。愈伤组织上不断地形成大量的根。40d 后将长有大量根的愈伤组织分成若干块, 再移回原来培养基上并在上述光照条件下继续培养。10d 左右出现了苗的分化(图 1e)。目前已得到 8 棵小植株, 这些小植株在形态上基本上是正常的。另外, 愈伤组织上还出现不少具有绿色的小点和小块, 但这些绿色点或绿色

块在很长时间内一直还保持原状，没有见到有苗的分化。在一系列有生长素和细胞分裂素不同组合的分化培养基上我们也试验了苗的分化，结果将另文报道。

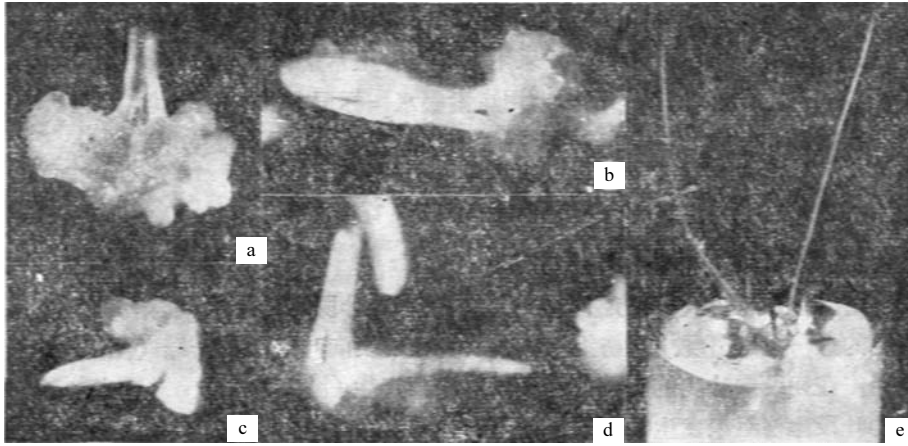


图 1

a. 愈伤组织多数发生在小黑麦幼叶切段的下端切割面上；b. 在叶段的中部也可以有愈伤组织的发生；c. 用 1cm 长的幼叶作材料，由叶尖切段起源的愈伤组织；d. 叶段培养 12d 左右就开始有根的发生；e. 小黑麦幼叶再生的小植株

表 2 不同叶段愈伤组织上根的分化^{*}

分化根的 愈伤组织数 培养时间/d	叶段 /mm	3~6	6~9	9~12	12~15
12		5	8	2	0
15		5	8	5	1

^{*} 24 片幼叶上各叶段的统计数。

3. 幼叶上的标记实验

8 片不同长度的幼叶(图 2, I-VIII), 用炭素墨水在基部向上 3~6mm 位置上作标记, 来鉴定在今后分化出叶鞘的叶子中标记所处的位置, 其中 5 个幼叶长 1~2cm, 另外 3 个幼叶都已分别伸出胚芽鞘 2~4.5cm。最长的一个幼苗作标记时全长已达 7.5cm 左右。作标记后的植株在土壤中自然生长。5d 后, 所有 8 片叶子都已分化出叶鞘和叶舌, 并且第二片叶子已经抽出。图 2 说明当叶子继续长大后, 所有 8 个幼叶上标记的黑点全部位于叶片的部分, 而不在叶鞘上。至于黑点所处的位置, 则随当时作标记时的苗龄而异。作标记时的叶子越小, 今后黑点在叶片上的部位越高, 反之越低。这就证实了在诱导愈伤组织实验时所用的最低的一个叶段, 即 3~6mm 叶段, 已确实是处于叶片部位。实验所得的一切愈伤组织是由叶片来源而不是叶鞘诱导而得。这就是说, 小黑麦幼叶基部 15mm 甚至 18mm 长叶段的细胞确实是具有全能性的。