

# ZT、ABA等内源物质与杉木树龄 及其组培复壮的关系\*

费学谦 阙国宁 周立红

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

**摘要** 对不同树龄的杉木嫩梢及其培养体中ABA、ZT和单宁含量的变化作了分析测定。结果表明:在不同季节ABA和单宁的含量均和树龄呈正相关。三种年龄杉木的嫩梢中ABA含量的年变化趋势基本相同,均以抽梢旺季较低,盛夏季节较高。根据ABA水平,组培材料的采集应在春梢生长旺季进行。

采自2、10年生母本的外植体材料,经初代培养后,ZT含量均有明显上升。但在2年生母本培养体中尤为明显。与此同时ABA含量却大幅度下降。经4次继代培养后两种材料中ZT含量均有所下降,且差异缩小。ABA含量却出现回升。它们的消长与嫩梢增殖能力有关。

**关键词** 杉木 组织培养 ZT ABA

树木营养繁殖的能力与细胞和组织的成熟度呈负相关,而同一个体不同器官和组织乃至细胞间都存在着生理成熟度的差异。利用这种差异,通过组织培养的手段,可以诱发和选择幼年性,达到复壮的目的<sup>[1,2]</sup>。这种成熟度的不同及其转化过程往往涉及到体内生物物质的变化。一般认为衰老是植物体内或器官内激素调控作用发生变化的结果<sup>[3]</sup>。为此,本文研究了母本年龄及其外植体继代培养次数与内源ZT、ABA含量变化的关系;ABA和单宁含量在不同年龄杉木嫩梢中的年周期变化,其目的是对不同年龄母本外植体在组培形态发生过程中的特异性以及为杉木组培采取原始外植体的最佳时期提供若干生化分析依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料和培养

分别选2年生和10年生本地杉木实生植株,于五月初剪取当年生嫩梢,长5cm左右,按阙国宁的方法<sup>[1]</sup>进行组织培养,每3个月进行继代培养1次。分别取经初代培养3个月及继代培养4次的嫩梢作各项测定。母本树嫩梢测定样采自2、10年生及20年生以上杉木,采集方法与组培材料同。

### 1.2 ZT和ABA测定

参考丁静<sup>[4]</sup>、袁朝兴<sup>[5]</sup>等人的方法提取、分离,用高压液相色谱仪定量。

ZT 40g材料→甲醇提取→石油醚萃取→PVP吸附→乙酸乙酯萃取→正丁醇萃取→Sephadex LH-20柱→Sep-pak C<sub>18</sub>柱→HPLC。

本文于1991年6月26日收到。

\*本研究内容为中国林业科学研究院科学基金课题的一部分。

ABA 15 g 材料→甲醇提取→PVP吸附→乙酸乙酯萃取→TLC→HPLC。

TLC条件 用硅胶GF<sub>254</sub> 铺板,105℃活化。展开剂为异丙醇:正丁醇:氨水:水(2:6:1:2)。

HPLC条件 用Waters 244型高压液相色谱仪。ZT和ABA测定均使用μ Bondapak C<sub>18</sub> 柱。流动相为甲醇:乙晴:水(2:2:6), pH 3.10, 流速1.0 ml/min。用441型紫外检测器, 波长254 nm。用730数据处理机面积归一法定量<sup>[6]</sup>。

1.3 单宁测定

取鲜样 2 g, 用80%甲醇提取后再用福林-丹尼斯试剂比色测定其含量<sup>[7]</sup>。

2 结果和讨论

2.1 不同年龄杉木嫩梢中 ABA 和单宁含量的年周期变化

2、10年生及20年生以上杉木当年生新梢中ABA含量的变化趋势基本相同。均在梢生长旺盛的五月和九月下降, 在休眠状态或生长缓慢的季节上升。其最高值出现在春秋2次生长高峰之间的七月。此时正值刚刚进入高温、干旱、梢生长停止的时期。考虑到ABA作为生长抑制物质对形态发生和生长的负效应, 组培材料的采集应在ABA水平较低的生长旺季进行。由于在秋梢生长阶段成年树嫩梢中ABA含量仍处在较高的水平, 而母本树又往往树龄较大, 所以采集工作最好在春梢生长旺季进行, 这时不同年龄的母本中ABA含量均在较低水平。除了ABA与梢生长的关系外, 最引人注目的是不管在什么季节, 其含量总是和树龄呈正相关(图1)。2年生与20年生以上的杉木相比, 在不同季节, 后者的ABA含量比前者高出2成至5.6倍不等。尽管差异幅度随季节变化, 差异本身实际上却反映了成熟度的不同。已有实验证明, ABA和植物衰老有关, 其作用可能是抑制了RNA的合成, 进而抑制了蛋白质的合成<sup>[8]</sup>。

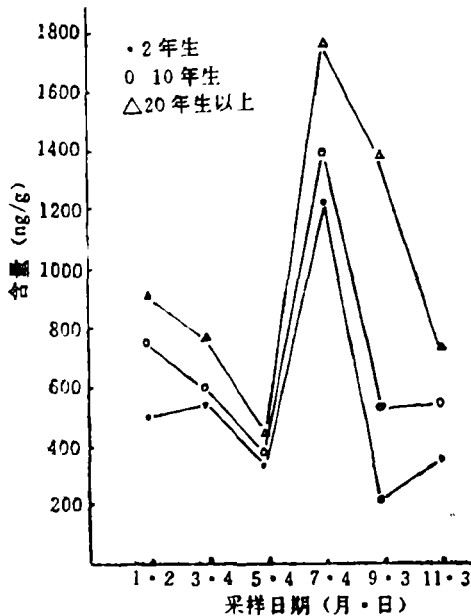


图1 不同年龄杉木嫩梢中ABA含量的年周期变化

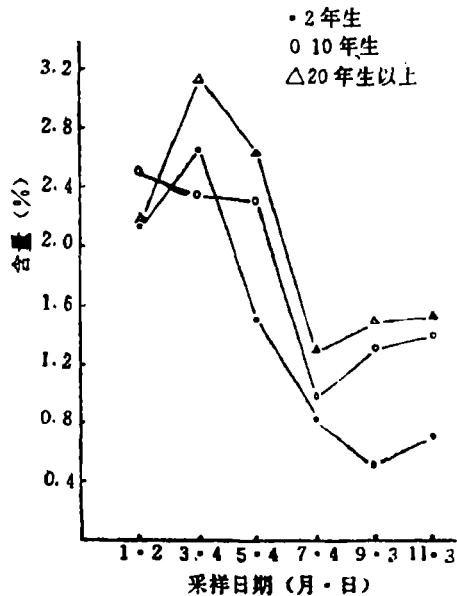


图2 不同年龄杉木嫩梢中单宁含量的年周期变化

单宁属于一类复杂的酚类化合物, 它的季节变化趋势与 ABA 不同, 看不出它的含量变化与梢生长的关系。但它的含量在不同季节基本上也是 20 年生以上 > 10 年生 > 1 ~ 2 年生 (图 2)。有报道说这类物质随着树木的成熟和衰老, 往往沉积在心材中<sup>[9]</sup>。在这里试材虽然是新梢, 但它的含量基本上也反映了杉木植株的成熟度。尚不知它仅仅是一种代谢产物还是在生理上起抑制作用的物质。然而作为酚类物质, 对组培效率会有一定影响。

## 2.2 组培过程中 ZT、ABA 和单宁含量的变化

从表 1 可以看出, ZT、ABA 和单宁含量在培养过程中发生了明显变化。我们选取了 1990 年 5 月 4 日采集的样品作为母本材料, 经过 3 个月初代培养, 不同年龄的原始外植体材料中 ZT 含量均大量增加, 其中 2 年生幼龄材料增加尤为明显。它比其母本材料增加了 1.9 倍。这反映出幼龄植株材料的生理活动旺盛, 且使得 10 年生和 2 年生材料间 ZT 含量的差异从原来的 8 成增加到 2.6 倍。与此同时, 两种材料中 ABA 含量急骤下降, 10 年生材料下降了 4.7 倍, 而 2 年生材料培养体中测不到 ABA。但经过 4 次继代培养后 ABA 含量有较大增加,

表 1 组培前后 ZT、ABA 和单宁含量的差异

项 目	母 本 材 料		初 代 培 养 材 料		继 代 培 养 材 料	
	10 年生	2 年生	10 年生	2 年生	10 年生	2 年生
ZT(ng/g)	160.0	290.0	237.6	851.5	150.3	172.0
ABA(ng/g)	375.3	336.3	65.6	0	262.4	164.0
单宁(%)	2.33	1.41	1.07	0.55	0.47	0.45

而 ZT 含量均有下降。与初代培养材料相比, 这两种不同龄级的培养体之间 ZT 含量的差异明显缩小, 2 年生材料比 10 年生材料只高出 1.4 成。就组培过程中嫩梢增殖情况看, 2 年生母本外植体初代培养时的嫩梢数及茁壮度明显优于 10 年生外植体, 继代培养后增殖能力均下降, 但趋于接近<sup>[1]</sup>。从这里可以发现, ZT 含量的消长与嫩梢增殖能力的变化基本上是平行的, 而 ABA 与之呈负相关。这说明了 ZT 在诱发嫩梢形态发生与增殖方面所起的重要作用。也从内源激素含量的变化上证实了继代培养对来自成龄母本外植体所起的相对恢复动态的作用, 国内外在研究叶片衰老的激素控制时也有类似的结论<sup>[10,11]</sup>。J. B. Zaerr<sup>[2]</sup> 等人认为在组织培养中使用的 BA 类人工激素在组织中可能引起象 ZT 这样的天然激素产生, 从而通过一个天然激素体系, 诱导了器官发生。

单宁含量在组织培养过程中降幅很大。4 次继代培养后两种材料中趋于基本一致, 但和嫩梢增殖能力似乎关系不大, 至少在多次继代培养后已对嫩梢增殖数没有大的影响。

以上结果表明, ZT 和 ABA 对于培养体的嫩梢增殖能力起着重要作用, 通过在特殊环境中的培养, 它们在培养体中的含量及其调节能力发生了变化, 使培养体的幼态性状得到了诱导, 增殖能力增强; 而在长期继代培养后又向负调节方向发展, 表现为嫩梢增殖量和壮梢的减少。这可能涉及到在培养体的作用下, 培养基中的调节物质、培养成份的变化及外植体母本中固有物质的消失等因素, 并不是简单地等同于野外植株的成熟或老化。

## 参 考 文 献

1. 阙国宁. 杉木组培嫩梢增殖与复壮的关系. 林业科学研究, 1989, 2(6): 546~551.
2. (美) Bonga J M, Durzan D J. (阙国宁, 郭达初, 李金田等译). 树木组 织培养. 北京: 中国林业出版社,

- 1988, 208~210, 524~539.
3. Beevers, L. Senescence. In: Varner J E (Ed). Plant Biochemistry. New York, Academic Press, 1976, 771~792.
  4. 丁静, 沈镇德. 棉株伤流液中的细胞分裂素类物质. 植物生理学报, 1985, 11(3), 249~259.
  5. 袁朝兴, 沈镇德, 商慧琛. PVP, C<sub>18</sub>-柱和 Sephadex LH-20 在激素纯化中的应用. 植物生理学通讯, 1988, (6), 55~58.
  6. 王文芝. 分析化学. 1984, 12(6), 531.
  7. 翟永信. 现代食品分析手册. 北京, 北京大学出版社, 1988, 729~730.
  8. Wilkins M B. Advanced plant physiology. London, Pilmn Publishing Limited, 1984, 477~482.
  9. Kramer P J, Kozlowski T T. Physiology of woody plants. New York, Academic Press, 1979, 602~606.
  10. Dörffling K. Recent advances in abscisic acid research. In: Kaldewey H, Vandar Y (Ed): Hormonal regulation in plant growth and development. Weinheim, Verlag Chemie GmbH, 1972, 281~296.
  11. 卢敏华, 徐玛娣, 沈镇德, 等. 叶片的衰老和气孔关闭. 植物生理学报, 1983, 9(1), 61~67.

*Relationship between Endogenous ZT, ABA and Age  
of Chinese Fir as well as It's Rejuvenation by  
Tissue Culture*

Fei Xueqian Que Cuoning Zhou Lihong

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

**Abstract** The change on contents of ZT, ABA and tannin in shoot of material trees and their cultures in Chinese Fir (*Cunninghamia lanceolata*) were analyzed. Results show: the contents of ABA and tanin were both positively correlated to tree age at all seasons. Yearly fluctuation of ABA content showed almost identical in shoots from 2, 10 and over 20-year-old material trees, which was the highest in peak periods of shoot growing and the lowest in midsummer. According to ABA level, The peak period in spring was the best time for collecting materials for culture in vitro.

ZT content had a marked rise while ABA level dropped dramatically in explants both from 2-and-10-year-old material trees after 3-month original culture. Such changes were more striking in explant from 2-year-old material. After four successive subculture lasted for one year, the ZT content declined, but their difference was reduced between cultures from trees at different ages. At the same time ABA content increased again. The changes of their contents affected the capacity of shoot multiplication during culture in vitro.

**Key words** *Cunninghamia lanceolata* tissue culture ZT ABA