

高乌头愈伤组织抗褐变剂的筛选

廖天江, 张 继

(西北师范大学生命科学学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:研究了8种药剂对高乌头愈伤组织的抗褐变影响, 结果表明: 活性炭($800 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)和水解乳蛋白($750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)2种药剂的抗褐变效果最好。

关键词:高乌头; 组织培养; 抗氧化褐变

[中图分类号]S432.1

[文献标识码]A

[文章编号]1003-6180(2007)04-0031-02

在高乌头(*Aconitum Sinomontanum*)愈伤组织的诱导及传代培养过程中, 常常发生培养细胞褐变现象, 轻者影响细胞生长和繁殖, 重者导致细胞死亡. 如何减轻或控制褐变的发生和发展, 是高乌头组织培养中重要的研究内容^[1,2]. 由于高乌头培养细胞发生褐变的原因复杂, 因此, 要防止褐变发生, 减轻褐变危害, 除了要选择合适的外植体、培养基和适宜的激素组合外, 添加抗褐变剂是方便有效的常规手段. 本研究选用了8种化学药剂对高乌头细胞进行抗褐变研究, 取得了较好的效果.

1 材料和方法

1.1 材料来源

甘南野生高乌头植株上切取顶芽接种到培养基上 $\text{MS}+2,4\text{-D } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行愈伤组织的诱导, 诱导出的愈伤组织作为筛选抗褐变剂的材料.

1.2 抗褐变剂

硫代硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) ($0.1\sim 3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、活性炭(AC) ($0.5\sim 3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、维生素 C(Vc) ($50\sim 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、柠檬酸(Cit) ($100\sim 300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、植酸(PA) ($50\sim 2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、半胱氨酸(Cys) ($2\sim 10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)、水解乳蛋白(LH) ($300\sim 900 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、脱落酸(ABA) ($3\sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$).

1.3 处理

AC, Cit, Cys, LH 与培养基一起高压灭菌, 其余4种药剂经过抽滤除菌后加入到培养基中. 每种药剂均设5种浓度, 每种浓度3次重复, 不加药剂的培养基作对照. 接种细胞在不添加8种药剂的MS培养基上培养, 接种时的细胞鲜重为 0.2 g , pH 值 5.5, 培养温度 (22 ± 1) $^\circ\text{C}$, 暗光, 培养 30 d 后取样分析.

1.4 褐变等级的划分标准

1级 轻度褐变, 基本上黄白色;

2级 褐变, 黄褐色;

3级 较严重褐变, 褐色;

4级 严重褐变, 黑褐色.

1.5 鲜重比计算

细胞取样后, 用吸水纸吸干水分, 然后称重, 鲜重比为该实验组的细胞鲜重与对照组的细胞鲜重之比.

2 结果与讨论

2.1 8种药剂抗褐变效果的比较

多酚氧化酶是植物组织培养过程中直接产生褐变的氧化还原酶类, 它使植物组织细胞中含有的单宁及酚类物质氧化成醌类, 从而产生酶促褐变, 醌类累积的结果抑制了细胞中多种酶的活性, 使细胞生长受到抑制^[3]. 由于多酚氧化酶是一种含铜离子的蛋白质, 因此, 寻找良好的抗褐变剂起码应该从三个方面着手: ①用 Cu^{++} 离子络合掉使酶失活的物质. ②加入与酶蛋白和底物的结合部位能够结合的酶抑制剂, 从而抑制醌类的产生. ③加入能减少酚类或使醌类还原的物质. 由于不同物种的多酚氧化酶存在着性质上的差异, 适宜不同植物的抗褐变剂也会有所不同^[4,5].

本次试验采用了8种药剂, 以 AC($1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), LH($750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 PA($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 3种药剂抗褐变效果较好, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 和 Cit 效果最差, 褐变等级为4级, 而较高浓度 Vc($300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、低浓度的 Cys($2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 ABA($300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 抗褐变效果一般. 所以, 选择 AC, LH 和 PA 三种抗褐变剂做进一步的抗褐变试验.

2.2 AC, LH 和 PA 三种抗褐变剂不同浓度对细胞生长的影响

AC, LH 和 PA 三种抗褐变剂的不同浓度的作用效果见表 1.

表1 3种抗褐变剂不同浓度的抗褐变效果比较

抗褐变剂	浓度/(mg·L ⁻¹)	鲜重比	褐变等级
AC	500	1.07	4
	800	1.37	1
	1000	1.19	2
	3000	1.09	3
LH	450	1.38	2
	750	1.42	1
	900	1.38	2
PA	50	1.07	2
	100	1.11	1
	1000	1.12	2
	2000	0.76	3
对照		1.00	2

AC是一种吸附特性较强的无机吸附剂,能吸附各种微量物质和微小颗粒,粉末状的AC与颗粒状的AC相比其吸附性能更佳,因而常用来防止组织培养中细胞褐变的发生和发展^[6,7]。5种AC浓度中,800 mg·L⁻¹的处理抗褐变效果最好,此浓度下的鲜重比最大;从外观看愈伤组织呈现黄白色,生长旺盛。浓度过大(大于4 000 mg·L⁻¹),

吸附培养基中的生长调节物质和营养物质过多,导致愈伤组织生长受到影响,褐变也严重一些。

LH含有氨基酸等多种蛋白水解产物,为弱酸性营养物质,LH竞争性地抑制了酶与底物的结合,其抗褐变效应随浓度递增^[8],但对细胞增殖效果不很显著,抗褐变作用还未见报道。

PA属于金属离子螯合剂,可将多酚氧化酶中的Cu⁺⁺离子螯合而使酶失活。植酸浓度以低浓度(100~500 mg·L⁻¹)为宜,浓度过高(>1 000 mg·L⁻¹),鲜重比较低,褐变也较为严重^[9]。

本次试验为8种抗褐变剂的单因子试验,AC(800 mg·L⁻¹),LH(750 mg·L⁻¹)2种药剂适宜作高乌头细胞的抗褐变剂,PA(100 mg·L⁻¹)有较好的抗褐变效果,但鲜重比较低,Vc和Cys等药剂的效果不佳。培养条件如温度、光照对褐变均有影响,温度太高、光照太强均可以加速愈伤组织的褐变。

参考文献

[1] 翟素萍. 组织培养法快速繁殖川乌头种苗[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(4).
 [2] 于灵敏、徐秀泉. 不同理化因子对黄花乌头花药愈伤组织诱导的影响[J]. 暨南大学学报:自然科学版, 2003, 24(3).
 [3] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
 [4] 陈葆荣, 谢岳峰, 张端品, 等. 植酸在水稻细胞培养中的促进作用[J]. 实验生物学报, 1996, 29(4): 331-336.
 [5] 徐振彪, 傅作申, 原亚萍, 等. 植物组织培养过程中的褐变现象[J]. 国外农学—杂粮作物, 1997(1): 55-56.
 [6] 刘用生, 李友勇. 植物组织培养中AC的作用[J]. 植物生理学通讯, 1994, 30(3): 214-217.
 [7] 王东霞, 李长杰. 如何对抗植物组培的组织褐变[J]. 中国花卉盆景, 2002, 29(2): 17.
 [8][9] 叶梅. 植物组织褐变的研究进展[J]. 重庆工商大学学报:自然科学版, 2005, 22(4).

编辑: 琳莉

黄瓜的生物学研究

杨虹, 崔启微

(哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要: 对黄瓜的胚胎学、细胞学、育种学方面的成果进行了综述, 旨在全面揭示黄瓜生物学研究的进展。

关键词: 黄瓜; 发育; 性器官

[中图分类号] S642.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1003-6180(2007)04-0032-02

黄瓜(*Cucumis sativus* L.)是葫芦科中重要的蔬菜植物,它具有芳香的气味和较高的食用价值,且在生理上为雌雄同株异花,因此,成为研究植物性别分化、离体培养等方面重要的实验材料。本文对黄瓜的胚胎学、细胞学、育种学三个方面的研究成果进行综述,旨在全面揭示黄瓜生物学研究进展。

1 黄瓜的胚胎学研究进展

黄瓜的小孢子母细胞的减数分裂和胞质分裂

是同时发生的。小孢子经减数分裂产生营养细胞和生殖细胞,生殖细胞有丝分裂则产生两个雄配子即精细胞。在小孢子母细胞减数分裂过程中,四分体是四分同裂的。如果没有发生变异,那么正常的花粉粒为2细胞型。黄瓜具倒生的胚珠,双珠被,厚珠心。其珠孔由内珠被形成。胚珠发生孢原分裂形成周缘细胞与造胞细胞,随着珠心表皮的分裂和再分裂形成多层周缘层,狭长的珠心喙在珠孔中延伸。造胞细胞发育为大孢子母细胞,大孢子母细胞发生减数分裂,线形四分体合点端的大