

高压静电场对蟆叶秋海棠愈伤组织生长的效应

Effect of High Voltage Electrostatic Field (HVEF) on Callus Growth of *Begonia rex*

石贵玉 邓欢爱 周巧劲

Shi Guiyu Deng Huan'ai Zhou Qiaojin

(广西师范大学 桂林市育才路 3号 541004)

(Guangxi Normal University, 3 Yucaifu, Guilin, Guangxi, 541004, China)

摘要 用+ 1.0 kV/cm场强高压静电处理蟆叶秋海棠愈伤组织 30 min, 处理组愈伤组织生长速率达 90.7 mg/d, 比对照组高 23%, 超氧化物歧化酶 (SOD)活性、蛋白质及可溶性糖含量分别为 179.0 u/g° FW, 14.4 mg/g° FW, 49.0 mg/g° DW, 分别比对照增加 10.6%、10.8%、7.7%。过氧化物酶 (POD) 和吲哚乙酸 (IAA) 氧化酶活性分别为 58.0 O.D 470/min° g FW, 163.8 μg/g° h FW, 分别比对照下降 12.7%和 23.3%。

关键词 蟆叶秋海棠 愈伤组织 生长 静电场

中图分类号 Q 947.8; S 685.991

Abstract The callus of *Begonia rex* with 30 bottles per treatment was treated at the high voltage electrostatic field (HVEF) at+ 1.0 kV/cm for 30 min. The treated callus were cultured at 28°C chamber temperature with 10 h of light, 1 800 lx to 2 000 lx of illumination each day for 30 days. The results released that the callus growth in treat group was up to 90.7 mg/d, and 23% higher than the control. The activity of SOD, contents of protein and soluble sugar in the treated group were 179.0 u/g° FW, 14.4 mg/g° FW, 49.0 mg/g° DW respectively, and 10.6%, 10.8%, 7.7% higher than the control respectively. The activities of peroxidase and IAA oxidase were 58.0 O.D 470/min° g FW, 163.8 μg/g° h FW respectively, and 12.7%, 23.3% respectively lower than the control.

Key words *Begonia rex*, callus, growth, electrostatic field

在地球表面存在的自然界静电场已成为植物生长发育不可缺少的条件。近年来,国内外许多研究者在静电生物效应方面做了大量的工作。研究认为,适宜强度的静电场可促进种子萌发和提高种子活力,对果蔬有良好保鲜效果,促进植物细胞生长和提高产量^[1],对细胞的分裂和分化也有明显的促进作用^[2]。但静电对细胞生长和分化影响的研究尚为数不多,且涉及的材料较少。本实验以蟆叶秋海棠愈伤组织为试材,以了解静电场对愈伤组织所产生的生物效应,为研究静电促进植物生长和细胞分裂提供理论依据

1 材料与方法

1.1 材料

以蟆叶秋海棠 (*Begonia rex*)为材料。取蟆叶秋海棠的新生叶片,肥皂水洗后用自来水冲洗干净,70%酒精浸泡 2 s,用 0.1%升汞浸泡 5 min,最后用无菌水冲洗 5遍,在超净工作台上切除叶片边缘后再

切割成 10 mm²~ 15 mm²,接种于培养基上。基本培养基为 MS,附加生长素 NAA 0.2 mg/L,细胞分裂素 6 BA 2 mg/L,培养 15 d~ 20 d,形成愈伤组织后,转入附加 NAA 1 mg/L, BA 2 mg/L的 MS培养基上,进行愈伤组织扩大继代培养。处理前将材料再继代培养 10 d后,随机取样进行处理:(1)静电处理,强度+ 1.0 kV/cm,时间 30 min;(2)对照 每处理 30瓶。培养室温度 28°C,每天光照 10 h,光照度为 1 800 lx~ 2 000 lx。处理后培养 30 d,分别测定下述指标,试验重复 3次

1.2 方法

愈伤组织增长量:在超净工作台用电子天平称量静电处理培养前后的蟆叶秋海棠愈伤组织鲜重。

SOD活性测定:按 Giannoplitia 和 Ries 的方法^[3],以每单位时间内抑制光还原 50%的氮蓝四唑 (NBT) 为一个酶活性单位 (U)。

POD活性的测定:愈伤木酚显色法,7230型分

表 1 HVEF对蟆叶秋海棠愈伤组织生长速率的影响
Table 1 Effect of HVEF on callus growth of *Begonia rex*

愈伤组织号 Callus no.	对照 Control				HVEF			
	0 d重 Weight at 0 day (mg)	30 d重 Weight at 30 day (mg)	增加值 Increment (mg)	生长速度 Growth rate (mg/d)	0 d重 Weight at 0 day (mg)	30 d重 Weight at 30 day (mg)	增加值 Increment (mg)	生长速度 Growth rate (mg/d)
1	1.54	4.47	2.94		1.39	4.88	3.49	
2	1.01	2.47	1.46		1.48	3.73	2.25	
3	1.45	4.12	2.67		1.80	5.05	3.25	
4	0.82	3.64	2.82		1.21	4.20	2.99	
5	1.33	2.13	0.80		1.30	2.92	1.62	
6	1.94	4.50	2.56		0.84	3.56	2.72	
平均 Mean	1.35	3.56	2.21	73.7	1.34	4.06	2.72	90.7

光光度计测定,记录单位时间内 O. D值 (470 nm) 的变化,以每克鲜重单位时间内 O. D值的变化表示酶活性^[4]。

吲哚乙酸 (IAA) 氧化酶活性测定: 参照文献 [4] 用比色法测定。

蛋白质含量测定: 用 Folin 酚法测定^[4]。

可溶性糖含量测定: 参照文献 [5] 的方法,以蒽酮法进行测定。

2 结果

2.1 静电对蟆叶秋海棠愈伤组织生长的影响

蟆叶秋海棠愈伤组织用+ 1.0 kV/cm 场强的高压静电处理后,其鲜重的增加明显高于对照组 (表 1),处理组生长速率为 90.7 mg/d,对照组仅为 73.7 mg/d,静电处理比对照的生长速率高 23%,方差分析结果表明两者差异显著 ($P < 0.01$)。实验结果表明静电处理可促进愈伤组织细胞的分裂和生长,这与赵剑^[2]用 1.5 kV/cm~ 0.5 kV/cm 高压静电场处理显著促进苜蓿愈伤组织的分裂增殖的结果相似。

2.2 静电对愈伤组织中 POD 和 IAA 氧化酶活性的影响

从表 2 可见,蟆叶秋海棠愈伤组织经静电处理后,细胞内过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性均比对照低,两者分别低 12.7% 和 23.3%,说明 HVEF 处理有降低 POD 和 IAA 氧化酶活性的作用。而 POD 和 IAA 氧化酶活性的降低,有利于细胞内 IAA 含量的提高,最终影响细胞的生长。这与静电处理提高愈伤组织生长率的结果相一致。

2.3 HVEF 对愈伤组织中 SOD 活性的影响

蟆叶秋海棠愈伤组织经静电处理后,SOD 活性

高于对照 (表 2),说明静电处理有提高愈伤组织细胞中 SOD 活性的作用。也就是说,高压静电对 SOD 活性的促进作用可能有利于细胞抗伤害和抗衰老能力的提高。在愈伤组织培养过程中,常看到愈伤组织褐化而影响愈伤组织生长的现象。实验中我们亦观察到蟆叶秋海棠愈伤组织培养至 15 d~ 18 d 时,部分愈伤组织变褐色,但静电处理组产生褐色较少,细胞生长较旺盛,也许与 SOD 活性的提高有关。

表 2 HVEF 对蟆叶秋海棠愈伤组织中某些酶活性的影响

Table 2 Effect of HVEF on activity of some enzymes in *Begonia rex* callus

处理 Treatm ent	IAA 氧化酶 IAA-oxidase (lytic IAA $\mu\text{g/g} \cdot \text{h FW}$)	过氧化物酶 Peroxidase (O. D 470/ $\text{min} \cdot \text{g FW}$)	SOD ($\mu\text{g} \cdot \text{FW}$)
对照 Control	213.6	66.4	161.9
HVEF	163.8	58.0	179.0

2.4 HVEF 对愈伤组织中蛋白质和糖含量的影响

培养 30 d 后,分析蟆叶秋海棠愈伤组织中的蛋白质和糖含量,结果 (表 3) 表明静电处理的愈伤组织内蛋白质和糖含量均高于对照,但两者差异不大。说明静电处理在一定程度上有提高愈伤组织细胞中蛋白质和糖含量的作用。有研究表明,培养细胞可溶性蛋白质含量随细胞生长、分裂和分化而发生一定的变化,蛋白质含量的增加,与指数生长期细胞的分裂有关^[6]。糖作为细胞分裂生长的能源底物,其含量高低与细胞生长也有关。本试验的结果亦说明这一点。

3 讨论

高压静电可促进愈伤组织的分裂和生长,诱导愈伤组织形成,这在苜蓿叶片愈伤组织上已得到证

实^[7],本实验以蝶叶秋海棠愈伤组织为材料,所得到的结果亦证明了这一点。外加静电场诱导愈伤组织形成的机理,目前有不同的见解,如静电场增加膜电位影响 ATP合成;加强膜对元素的主动吸收,提高代谢水平;促进细胞有丝分裂,提高分裂中期指数等^[1],但均无定论。

表 3 HVEF对愈伤组织中蛋白质和糖含量的影响

Table 3 Effect of HVEF on contents of protein and suger in *Begonia res callus*

处理 Treatment	蛋白质 Protein (mg/g° FW)	可溶性糖 Soluble sugar (mg/g° DW)
对照 Control	13.0	45.5
HVEF	14.4	49.0

本实验结果表明,蝶叶秋海棠愈伤组织经高压静电处理后,SOD、POD和 IAA 氧化酶活性显著与对照不同(表 2),说明了高压静电促进愈伤组织的形成(表 1),与提高 SOD活性和降低 POD及 IAA氧化酶活性相关。根据实验结果,我们认为高压静电场诱导愈伤组织形成的机理,还可从如下两方面加以解释:

(1) SOD是造成植物多种伤害的活性氧的一种有效清除剂,其活性大小不仅与植物抗病、抗逆境胁迫、抗衰老等有关,也与细胞分裂和分化有一定的关系^[8-10]。赵洁等的实验亦说明 SOD活性和愈伤组织生长率呈正相关^[11]。蝶叶秋海棠愈伤组织与其他植物愈伤组织一样经多次继代培养后,愈伤组织易老化和产生褐化,从而影响愈伤组织的生长。本实验结果说明,高压静电处理提高了愈伤组织中 SOD活性,有效地消除引起衰老的因子活性氧(O_2^-),从而延缓愈伤组织的衰老,保持了愈伤组织较强的生长率。不少实验表明,植物组织及细胞培养中,酚类物质的产生和积累是不利于培养的重要因素之一^[12],本实验亦看到这个结果。高压静电提高愈伤组织中 SOD活性,促进愈伤组织生长的另一原因,可能是促进 SOD活性,有利于细胞抗伤害能力的提高,有效地阻抑酚类物质的形成和减少伤害作用,但酚类产生和 SOD的关系还有待进一步研究。

(2) 生长素 (IAA) 是细胞分裂生长必需的物质, IAA 含量的高低与愈伤组织形成快慢有关。植物体内 IAA 分解主要由 IAA氧化酶和过氧化物酶调节, IAA氧化酶和过氧化物酶活性愈高,体内 IAA含量

愈少,生长受抑制的程度愈大^[13,14]。实验结果表明,高压静电处理愈伤组织后,降低了 IAA氧化酶和过氧化物酶的活性,从而影响体内 IAA的水平,最终影响细胞的生长。另外,静电处理提高愈伤组织蛋白质和糖的含量,可能也是促进愈伤组织形成的因素之一。

致谢

张振球、邓智年、李庆华、黄燕参加部分测试工作,特此感谢。

参考文献

- 张振球. 静电生物效应. 北京: 万国学术出版社, 1989. 1~5.
- 赵剑, 马福荣, 杨文杰. 静电场在组织培养过程中的生物学效应. 静电, 1995, (4): 38~39.
- Giannopolitia C N, Ries S K. Superoxide dismutasts I occurrence in higher plant. *Physiol*, 1977, 59: 315.
- 张志良. 植物生理学实验指导. 第 2版. 北京: 高等教育出版社, 1990. 154.
- 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985. 138.
- 施华中, 程井辰. 绞股蓝细胞培养及其某些生理生化特性. *植物生理学通讯*, 1991, 27 (2): 97~100.
- 赵剑, 马福荣. 高压静电场对苜蓿叶片愈伤组织诱导的影响. *生物物理学报*, 1996, 12 (3): 518~520.
- 王建华, 刘鸿先, 徐同. 超氧化物歧化酶 (SOD) 在植物逆境和衰老生理中的作用. *植物生理学通讯*, 1989, (1): 1~7.
- 齐放军, 贾敬芬, 王金生等. 植物防御反应与原生质体培养技术的改进. *植物生理学通讯*, 1996, 32(6): 401~405.
- 王冬梅, 黄学林, 黄上志. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用机制. *植物生理学通讯*, 1996, 32(5): 373~377.
- 赵洁, 程井辰. 光因子对石刁柏愈伤组织生长过程中蛋白质含量及酶活性变化影响. *武汉植物学报*, 1994, 12 (3): 251~257.
- 卫志明, 许智宏. 大豆原生质体培养和植株再生. *植物学报*, 1990, 32 (8): 582~588.
- 朱晓红, 曹显祖. 花药中生长素的积累与过氧化物酶活性的关系. *植物生理学通讯*, 1996, 32 (4): 254~257.
- 袁朝兴, 丁静. 水分胁迫对棉花叶片中 IAA含量、IAA氧化酶和过氧化物酶的活性的影响. *植物生理学报*, 1990, 16 (2): 179~180.

(责任编辑: 蒋汉明)