

一种更适合培养的番茄叶肉原生质体

杨华杰 吴定华

(华南农业大学园艺系, 广州, 510642)

A KIND OF MORE SUITABLE MESOPHYLL PROTOPLAST FOR CULTURING OF TOMATO SPECIES

Yang Huajie Wu Dinghua

(Dept. of Horticultural, South China Agr. Univ. Guangzhou, 510642)

关键词 叶肉原生质体;原生质体产量

Key words mesophyll protoplasts;? protoplast yield

中图分类号 Q 343. 9

在番茄叶肉原生质体培养的研究中,常观察到酶解后获得的原生质体悬浮液在离心之后,上清液的液面总有一层淡绿色物质。经镜检,发现其中含有大量比较透明的叶肉原生质体,其所含叶绿体较少。用等渗液 CPW9(甘露醇 9%、CPW 盐、pH 5.8)冲洗时以 500 r/min 离心 10 min 不能将其下沉,用 CPW6 也是如此,以 CPW4 洗涤时只能令其部分沉淀,这表明其比重比较小。而以 Rinse 液(2% KCl CPW 盐、pH 5.8)洗涤,离心(500 r/min)3 min,收集到大量较透明的原生质体[简称为(上)原生质体]而按常规方法,酶解后获得的原生质体悬浮液经离心取其沉淀,采用界面法纯化,所收集的原生质体呈浓绿色,富含叶绿体,以 CPW6 能很好地将其洗涤、离心收集[简称为(下)原生质体]。试验表明,(上)、(下)原生质体具有不同特性。

1 (上)、(下)原生质体渗透压适应能力的差异

(上)原生质体用 Rinse 液洗涤两次后,以 0.1% 的伊文思兰(Evans)染色检测,活力在 95% 左右,在以后培养中得到细胞克隆。而(下)原生质体以 Rinse 液洗涤后,出现许多叶绿体小粒,经检测,大部分原生质体失活,在培养初期原生质体就解体、消失,可知培养前其细胞膜已受损。所以,(上)原生质体的渗透压适应能力优于(下)原生质体。

2 (上)原生质体具有相当的产量

以 1.0% 纤维素酶“Onozaka”R-10、0.5% 果胶酶 Pectinase 的酶液处理 3~4 周龄的“红玫瑰”番茄无菌苗叶片,在 27℃ 下黑暗处理 14~16 h,获得(上)、(下)原生质体,产量分别为 4.3×10^6 和 4.5×10^6 个/g;当以秘鲁番茄为材料,(上)、(下)原生质体产量分别为 2.64×10^5 和 4.37×10^5 个/g。这表明(上)原生质体具有相当的产量并非个别现象。

3 (上)、(下)原生质体对初培养密度要求不同

(上)原生质体培养所要求的密度范围较(下)原生质体宽。以 D₂ 液体浅层法培养“红玫瑰”番茄叶肉原生质体的试验中,在 $1 \times 10^4 \sim 4 \times 10^6$ 个/L 初培养密度范围内,(上)原生质体皆可形成细胞克隆,但在

1996-11-25 收稿 杨华杰,男,26岁,硕士,现在广州市白云区种子中心工作

4×10⁸个 /L 培养密度下 ,未见植板率提高 ,反而破碎更多 ,褐化现象提早和加重 ,在 2×10⁸个 /L 培养密度下 , (上)原生质体植板率提高 ,重演性较好。而 (下)原生质体在 4×10⁸个 /L 的密度下培养 ,初期便出现大量细胞集聚、粘连 ,褐化十分严重 ,没有观察到细胞分裂 ;在 1×10⁸和 2×10⁸个 /L 密度下 , (下)原生质体皆有细胞克隆形成 ,且以 1×10⁸个 /L 密度下的重演性相对较好。

4 (上)、(下)原生质体培养效果不同

以 3~ 4 周龄的“红玫瑰”番茄无菌苗的叶片为试材 ,在 D 液体浅层培养中 , (上)原生质体皆浮在培养液上部 , 3~ 4 d 后多数细胞膨大、拉长 ,细胞之间轻微集聚 , 21 d 后细胞克隆数量较多 ,一个月左右出现少数愈伤组织 ,植板率达 0. 093%。 (下)原生质体培养初期 ,多数原生质体浮在培养液上部 , 24 h 内便有集聚现象 ,以后集聚现象日益严重 ,培养 3~ 4 d 只有少数原生质体膨大、拉长 ,其绿色变淡 , 7 d 左右见到细胞初分裂相 , 14 d 后细胞集聚、粘连成团状和片状 ,其中为数不多的细胞团也褐化 ;同时 ,有些 (下)原生质体沉于皿底 ,原有的亮绿色转为不健康的暗绿色 ,未观察到生长和分裂相 , 10 d 左右完全褐化。采用 (下)原生质体培养未能获得愈伤组织。

作者自采用 (上)原生质体后 ,培养效果较好 ,分裂频率提高 ,褐化现象减轻 ,获得了少量微愈伤组织 ,且试验的重演性提高。

(上接 12 页)

表 5 五爪金龙水抽提液的抑制作用

受体植物		相 对 抑 制 率						综合抑制率
		萌 发		根 长		芽 长		
		茎	叶	茎	叶	茎	叶	
玉 米		18. 9	46. 0	38. 9	66. 4	33. 1	43. 6	41. 2
水 稻		27. 1	60. 1	89. 1	71. 0	51. 0	59. 2	59. 6
小 麦		100. 0	75. 4	98. 8	21. 1	97. 4	19. 7	68. 7
黄 瓜		60. 8	61. 2	57. 8	56. 3	37. 3	25. 3	49. 8
番 茄		100. 0	100. 0	100. 0	100. 0	100. 0	100. 0	100. 0
三裂叶薯		100. 0	51. 1	100. 0	84. 6	100. 0	90. 8	87. 8

3 讨论

本研究揭示了五爪金龙水抽提液对 6 种植物的种子萌发及幼苗生长具有一定的化感作用 ,并且水抽提液对受体植物的作用表现出在高浓度下的抑制和低浓度下的促进 ,这一特征与植物生长调节剂的作用特征极为相似。

参 考 文 献

曾任森,骆世明. 1993. 香茅、胜红蓟和三叶鬼针草植物化感作用研究. 华南农业大学学报, 14(4): 8~ 14

Menges R M. 1988. Allelopathic effects of Palmer Amaranth (*Amaranthus pahmeri*) on seedling growth. Weed Sci, 36 325~ 328