

全磷和缺磷条件下甘蔗叶悬浮细胞主要生长指标的比较

李 红, 邝炎华, 彭新湘

(华南农业大学 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 研究了以甘蔗基因型 US 66-56-9 的心叶为材料, 对甘蔗愈伤组织进行诱导和建立甘蔗叶片悬浮细胞系, 并对悬浮细胞进行全磷和缺磷处理, 然后对二者的生长曲线、细胞含水率及培养基 pH 等变化进行了比较。结果表明: 与全磷条件相比, 缺磷胁迫抑制细胞的生长, 导致细胞含水率较高, 使培养基的 pH 值在生长过程中基本保持酸性状态。

关键词: 全磷; 缺磷; 甘蔗; 悬浮细胞; 生长指标

中图分类号: Q 552 2

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2003)01-0084-02

本试验选取甘蔗基因型 US66-56-9 作为组培材料, 在建立好甘蔗悬浮细胞的基础上, 进行全磷(1P)和缺磷(OP)处理, 比较其相关的生长指标, 如细胞鲜质量、细胞干质量、细胞含水率及培养基 pH 等的变化, 从而为进一步研究在缺磷条件下, 甘蔗悬浮细胞相关酶和其他生理生化特性提供基础。

1 材料与方法

以甘蔗基因型 US66-56-9 为材料, 甘蔗愈伤组织诱导和悬浮细胞系的建立参考 Murashige 等^[1], 颜秋生等^[2]和陈彪等^[3]的方法。愈伤组织诱导培养基: MS 基本培养基+3 mg/L 2, 4-D +30 g/L 蔗糖+50 mg/L 酪蛋白+100 mL/L 椰子汁+6 g/L 琼脂。液体培养基: MS 基本培养基+3 mg/L 2, 4-D +30 g/L 蔗糖+50 mg/L 酪蛋白+50 mL/L 椰子汁。悬浮培养条件: 接种量为细胞干质量 2 g/L, 温度 25 ℃, 全天光照, 光照度 1 200 lx, 摇床转速为 120 r/min。甘蔗愈伤组织诱导率的计算根据以下公式: 愈伤组织诱导率=(胚性愈伤组织块数/有效外植体总数)×100%。

缺磷处理的培养基中不加 KH_2PO_4 , 其余的培养条件与全磷处理(即同上)的相同。测定甘蔗悬浮细胞量, 即将细胞用多倍体积蒸馏水充分洗涤, 抽干水分, 称其鲜质量, 然后在 60 ℃烘箱内烘干至恒质量, 干燥器中冷却后称其细胞干质量。培养基的 pH 值用 pH 计测定。根据以上得出的鲜质量和干质量的数据, 按以下公式计算细胞含水率: 细胞含水率=[(细胞鲜质量-细胞干质量)/细胞鲜质量]×100%。

2 结果与分析

甘蔗 US66-56-9 叶愈伤组织的诱导率较高

(86.32%), 可作为较好的组培材料进行下一步的研究。植物细胞悬浮培养过程的生长曲线通常呈 S 型, 可分为迟滞期、对数生长期、线性生长期、减速生长期和静止期等 5 个阶段。在全磷(1P)条件下, 甘蔗悬浮细胞的生长曲线呈 S 型, 对数生长期为第 6~8 d, 第 9 d 后细胞干质量逐渐下降; 而在缺磷(OP)条件下, 甘蔗悬浮细胞的生长虽然也呈上升趋势, 但速度缓慢。相比 1P 条件下的最大细胞量而言, OP 条件下的最大细胞量只有其 1/2(图 1)。磷在植物细胞代谢中起着重要作用, 它是核酸、生物膜及核苷酸的组成成分, 磷还参与体内的物质运输及光能转变为化学能的过程。因此当植物细胞缺磷时, 细胞的分裂和增殖受到较大程度的抑制, 而受影响程度的大小因植物或品种的不同表现出差异。以甘蔗为研究对象的试验结果表明: 与全磷对照相比, 缺磷条件对甘蔗悬浮细胞的生长有较为显著的抑制作用。

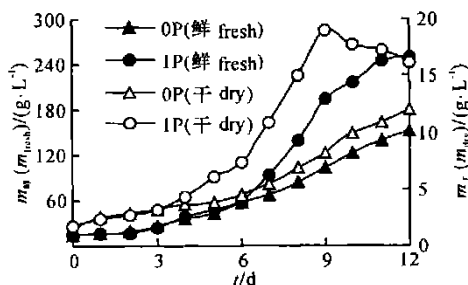


图1 甘蔗悬浮细胞的细胞鲜质量($m_{\text{鲜}}$)和干质量($m_{\text{干}}$)与培养时间(t)的函数

Fig. 1 Function between culture time and fresh mass (m_{fresh})/ dry mass (m_{dry}) of suspension cell of sugarcane

将细胞转入全磷和缺磷的新鲜培养基后, 甘蔗悬浮细胞含水率即开始迅速下降, 直至第 3 d 细胞含

水率才上升. 但全磷条件下的细胞含水率较 0P 条件的低(图 2). 图 1、2 的结果表明: 与全磷对照相比, 缺磷条件下的甘蔗悬浮细胞在整个生长过程中的细胞干质量较少, 而细胞含水率较高. 原因可能是缺磷条件影响甘蔗悬浮细胞的代谢等方面, 从而影响细胞的正常生长, 或者是由于培养基中缺磷导致细胞生长环境的缓冲能力显著降低, 从而影响细胞对培养基中各种营养成分的吸收和细胞的正常生长.

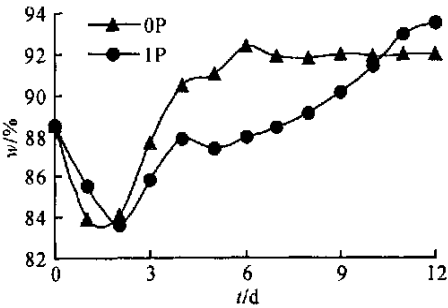


图 2 甘蔗悬浮细胞含水率(w)与培养时间(t)的函数
Fig. 2 Function between culture time (t) and water content rate (w) of suspension cell of sugarcane

在全磷和缺磷条件下, 甘蔗悬浮细胞在生长过程中培养基 pH 值的变化具有以下共同之处: 将细胞转入新鲜培养基后, 培养基 pH 值在第 1 d 就由 5.8 陡然下降到 4.0 左右, 之后随着细胞的生长逐渐上升. 不同之处在于: 在全磷条件下, 培养基 pH 值在对数生长期回升较快, 基本上恢复到 5.6 左右; 而在缺磷条件下, 培养基 pH 值在细胞的整个生长过程中回升缓慢, 最大值也未能超过 5.0(图 3). 一般认为, 植物细胞培养前期 pH 值的下降主要与植物细胞快速吸收培养基中的 NH_4^+ 或代谢产生的有机酸有关, 其结果直接为细胞中某些酸性水解酶水解蔗糖提供了适宜的环境条件. 而后随着 NO_3^- 逐渐消耗, 培养基的 pH 值则逐渐升高. 而在缺磷条件下, 由于培养基中缺磷导致细胞生长环境的缓冲能力显著降低, 从而影响细胞对培养基中各种营养成分的正常吸收和细胞的正常生长, 所以

与全磷对照相比, 在缺磷条件下, 甘蔗悬浮细胞在生长过程中培养基 pH 值的变化较为平缓, 且基本上保持较为酸性的状态.

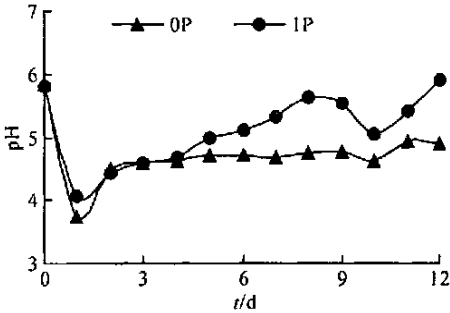


图 3 甘蔗悬浮细胞培养基的 pH 值与培养时间(t)的函数
Fig. 3 Function between culture time (t) and medium pH of suspension cell of sugarcane

3 结论

研究结果表明: 甘蔗愈伤组织的诱导率较高: 86.32%, 可作为较好的组培材料进行下一步的研究; 与全磷对照相比, 缺磷条件对于甘蔗悬浮细胞的生长有较显著的抑制作用; 在缺磷条件下, 甘蔗悬浮细胞含水率较高, 培养基 pH 值的变化较为平缓, 且基本上保持较为酸性的状态. 以上结果将为进一步研究缺磷条件下甘蔗悬浮细胞的相关酶变化及其他生理生化变化提供基础.

参考文献:

[1] MURASHIGE T, SKOOG F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. *Physiol Plant*. 1962, 15: 473—497.
[2] 颜秋生, 张雪琴, 陈正华. 甘蔗原生质体的器官分化 [J]. *科学通报*, 1985, 30: 301—303.
[3] 陈彪, 陈伟栋, 梁钾贤, 等. 利用聚乙炔吡咯烷酮防止甘蔗组织培养接种物褐变的研究 [J]. *华南农业大学学报*, 1999, 20(3): 63—66.

Comparison of the Major Growth Indexes of Sugarcane Leave Suspension Cell Under Phosphate Sufficiency and Deficiency

LI Hong, KUANG Yan-hua, PENG Xin-xiang
(College of Life Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The genotype US66—56—9 of sugarcane leave was used as the material and to induce and to establish suspension cell culture system. Under the condition of phosphate sufficiency and deficiency, the comparison was made in terms of the changes of growth curves, cell water content rates and medium pH values of suspension cell, respectively. The results were followed: compared with the condition of phosphate sufficiency, phosphate deficiency inhibited cell growth, kept cell water content rate higher, maintained pH value of medium with acidic throughout cell growth.

Key words: phosphate sufficiency; phosphate deficiency; sugarcane; suspension cell culture; growth index

【责任编辑 柴 焰】