

刺梨花药愈伤组织培养过程中生理生化特性研究

陈 红, 张 绿 萍

(贵州大学 喀斯特山地果树资源研究所, 贵州 贵阳 550025)

摘 要:在刺梨花药愈伤组织增殖过程中,在 0~5 d,愈伤组织干重、可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质、核酸的含量增加缓慢;5~15 d,愈伤组织干重、可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质、核酸的含量迅速增加,在 20 d,可溶性糖、可溶性蛋白质、核酸的含量达到最高;5 d 以后,它们的含量逐渐减少。结果表明:4 种重要物质的变化趋势和愈伤组织生长周期曲线基本一致,因此,刺梨花药愈伤组织培养最佳的继代周期为 20~25 d。

关键词:刺梨;花药;愈伤组织;可溶性糖;可溶性淀粉;可溶性蛋白质;核酸

中图分类号:S 662.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)08-0047-02

刺梨(*Rose roxburghii* Tratt cv.)属蔷薇科(Rosaceae)蔷薇属(*Rose*)多年生落叶小灌木,是我国特有新水果,素有“维生素 C 之王”的美誉^[1],具有很高的营养价值和药用价值。在刺梨花药培养过程中,由于刺梨单宁物质含量高^[2],所诱导出的愈伤组织极易发生褐变死亡,严重影响到刺梨花药愈伤组织的保存和进一步的分化研究。为此,试验通过对培养过程中刺梨花药愈伤组织的可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质、DNA、RNA 的代谢动态的研究,以确定保持愈伤组织活力和愈伤组织继代的最佳时期。

1 材料与方法

1.1 试验材料

贵农 5 号刺梨花药愈伤组织。

1.2 试验方法

自接种后,每隔 5 d 取样一次,测定花药愈伤组织可溶性糖、可溶性淀粉、可溶性蛋白质、核酸的含量,并绘制生长曲线。可溶性糖含量的测定用蒽酮比色法^[3];可溶性淀粉含量的测定用碘显色法^[4];可溶性蛋白质的测定用考马斯亮蓝法^[3];DNA 和 RNA 的测定用紫外分光光度法^[5]。

2 结果与分析

2.1 刺梨花药愈伤组织细胞生长周期

由图 1 可见,在刺梨花药愈伤组织增殖过程中,其

干重的变化按“S”型进行增殖生长。分析得知,刺梨花药愈伤组织的生长周期约为 30 d,且明显分为 3 个时期。在 0~5 d,愈伤组织干重增加甚微,这可能是因为愈伤组织适应新环境的结果,此时期应为细胞生长的延滞期;在培养过程的 5~25 d,细胞干重迅速增加,这是愈伤组织适应新环境后而进入细胞分裂和生长的加速阶段,此时期为细胞生长的指数生长期;25~40 d,细胞干重增长逐渐缓慢,这一现象可能与培养基营养的损耗和细胞代谢的减缓有关,这一时期为细胞生长的减缓期。

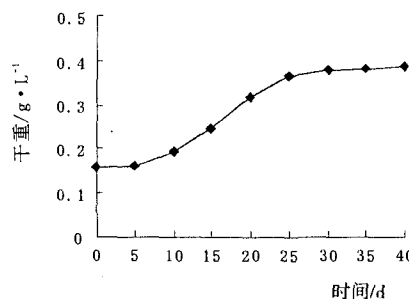


图 1 刺梨花药愈伤组织细胞培养过程中干重的变化

2.2 可溶性糖和可溶性淀粉含量的变化

由图 2 可见,在 0~5 d,愈伤组织内可溶性糖和可溶性淀粉的含量均增加缓慢。在 5~15 d,可溶性糖快速积累,培养 15 d 达到峰值,这可能是由于愈伤组织适应环境后大量吸收培养基糖分用于生长发育的代谢,以糖分的吸收为主。15~30 d,可溶性糖又迅速下降。30~40 d,可溶性糖的下降趋势变缓。可溶性淀粉含量的变化趋势总体上与可溶性糖一致,但可溶性淀粉在第 20 d 时达到峰值,5~20 d,合成代谢比较活跃,以积累为主。20~30 d,被迅速分解利用。

第一作者简介:陈红(1975-),男,重庆潼南人,博士,副教授,现主要从事园艺植物遗传育种与生物技术研究工作。E-mail:chenh96@yahoo.com.cn。

基金项目:贵州省科学技术基金资助项目(黔科合 J 字[2007]2054 号);贵州省省长基金资助项目。

收稿日期:2008-02-20

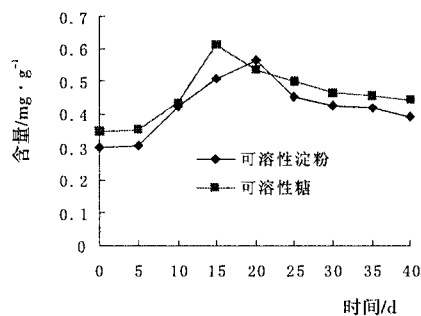


图2 刺梨花药愈伤组织增殖过程中可溶性糖和可溶性淀粉含量的变化

2.3 核酸和可溶性蛋白质含量的变化

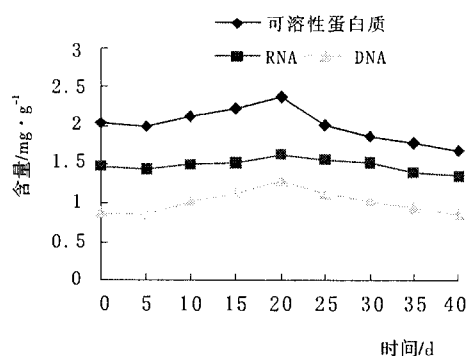


图3 刺梨花药愈伤组织增殖过程中可溶性蛋白质和核酸含量的变化

核酸是遗传信息的携带者,是指导愈伤组织分裂增殖的基础,决定蛋白质的表达,而蛋白质是组成其结构、完成一定功能的物质基础。由图3可见,刺梨花药愈伤组织在培养初期(0~5 d),DNA和可溶性蛋白质的含量缓慢增加,RNA的含量甚至有所下降。这可能是由于愈伤组织生长尚处于适应期,细胞的合成能力和代谢能力较弱所致。在5~20 d,DNA、RNA和可溶性蛋白质

的含量均大幅度增加,在20 d达到峰值。20 d以后,DNA、RNA和可溶性蛋白质的含量均呈下降趋势。

3 结论与讨论

在刺梨花药愈伤组织增殖培养过程中,其干重的变化按“S”型进行增殖生长,这可能与封闭培养系统中有限的营养物质有关。可溶性糖的含量与可溶性淀粉变化趋势一致,均先增后降。这可能是因为先期愈伤组织尚处于适应期。培养15 d可溶性糖达到峰值,20 d可溶性淀粉达到峰值,可能是由于愈伤组织适应环境后大量吸收培养基糖分用于生长发育的代谢,后期愈伤组织生长缓慢,培养基养分耗尽,可溶性淀粉被分解利用。

可溶性蛋白质和核酸含量变化趋势也先增后降:0~5 d缓慢增加,5~20 d快速增加,20~40 d下降趋势逐渐平缓,说明刺梨花药愈伤组织增殖过程中,环境适应期为0~5 d,其细胞的合成能力和代谢能力较弱;而指数生长期为5~20 d,细胞的合成能力和代谢能力较为旺盛,细胞的分裂增殖速度加快;细胞生长减缓期为25~35 d,愈伤组织的生长环境的营养成分被耗竭,细胞内或培养基内有害成分的积累而逐渐引起愈伤组织生长趋缓,细胞开始老化,合成与代谢能力下降。

综上所述,在刺梨花药愈伤组织继代培养中,自接种后,0~5 d愈伤组织的生长速度比较缓慢,5~20 d为快速生长期,25 d后其生长速度又逐渐减慢。据此,刺梨花药愈伤组织的最佳继代周期为20~25 d。

参考文献

- [1] 方修贵. 刺梨的营养价值及其开发利用[J]. 食品工业科技, 2004, 25(1): 137-138.
- [2] 赵转地, 张爱华, 洪峰. 刺梨及其产品的营养及保健药用价值研究进展[J]. 环境与职业医学, 2007, 24(1): 82-84.
- [3] 许昌杰, 陈文俊. 淀粉含量测定的一种简便方法—碘显色法[J]. 生物技术, 1998, 8(2): 41-43.
- [4] 张志良, 翟伟著. 植物生理学实验指导[M]. 3版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 158-159.
- [5] 杨茜, 栗淑媛. 两种方法对螺旋藻DNA和RNA含量的测定[J]. 内蒙古农业大学学报, 2004, 25(3): 6-8.

Study on the Physiological-Biochemical Characteristics of Anther Callus from *Rose roxburghii* Tratt cv.

CHEN Hong, ZHANG Lv-ping

(Research Institute for Fruit Resources of Karst Mountain Region of Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

Abstract: In the progress of anther callus growth from *Rose roxburghii* Tratt cv., during 0~5 d of cell growth, the dried weight of callus, the content of soluble sugar, soluble starch, soluble protein and nucleic acid increased slowly. During 5~15 d of cell growth, the dried weight of callus, the content of soluble sugar, soluble starch, soluble protein and nucleic acid ascended quickly, at 20 d, the content of soluble sugar, soluble protein and nucleic reached to the peak. After 25 d, Their concent decreased gradually. The change trend of the four substance was consistent with the curve of callus growth cycle, which showed the best subculture cycle of anther callus culture of the *Rose roxburghii* Tratt cv. was 20~25d.

Key words: *Rose roxburghii* Tratt cv.; Anther; Callus; Soluble sugar; Soluble starch; Soluble protein; Nucleic acid