

高压静电对烟草愈伤组织生长 和根分化的效应

石贵玉¹, 周巧劲¹, 郭平生², 刘 灵¹

(1. 广西师范大学生物系, 广西桂林 541004; 2. 广西师范大学物理系, 广西桂林 541004)

摘 要: 用场强+1.0 KV/cm 高压静电(HVEF)处理烟草愈伤组织 30 min, 处理组愈伤组织生长量达 10.64 g, 比对照组高 8.0%, 根分化率达 70.6%, 比对照组高 95%。超氧化物歧化酶(SOD)活性、蛋白质含量分别为 356.3 U/g·FW、11.07 mg/g·FW, 分别比对照增加 10.5%、23.5%。过氧化物酶(POD)和吲哚乙酸(IAA)氧化酶活性处理组分别为 56.3 OD470/min·g·FW、87.1 μ g/g·h·FW, 分别比对照下降 26.1%、8.7%。结果表明, 高压静电处理可促进烟草愈伤组织细胞生长和根的分化, 这与 HVEF 影响体内 SOD、POD 和 IAA 氧化酶活性以及蛋白质含量的变化相关。

关键词: 高压静电场; 烟草愈伤组织; 生长; 根分化

中图分类号: Q947.8; S685.991 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2002)04-0364-04

The effect of high voltage electrostatic field (HVEF) on growth and root differentiation of *Nicotiana tabacum* L. callus

SHI Gui-yu¹, ZHOU Qiao-jing¹, GUO Ping-sheng², LIU Ling¹

(1. Guangxi Normal University, Department of Biology, Guilin 541004, China; 2. Guangxi Normal University, Department of Physics, Guilin 541004, China)

Abstract: The Callus of *Nicotiana tabacum* L. with 30 bottles per treatment was treated by the high voltage electrostatic field(HVEF) at +1.0/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 40 days. The results showed that the callus growth in treated group was 10.64 g, which was 8.0% higher than that of control. The root differentiation rate was 70.6%, which was 95% higher than that of control. The activity of SOD, content of protein in the treated group were 356.3 U/g·FW and 11.07 mg/g·FW respectively, which were 10.5% and 23.5% higher than those of control respectively. The activities of peroxidase and IAA oxidase were 56.3 OD470/min·gFW, 87.1 μ g/h·gFW respectively, which were 26.1%, and 8.7% respectively lower than those control. According to the results we could concluded that HVEF promoted the growth and the root differentiation of *Nicotiana tabacum* L. callus. This result may be caused by the effects of HVEF on the activities SOD and POD and IAAoxidase, and the content of protein in *Nicotiana tabacum* L. callus.

收稿日期: 2001-08-30

作者简介: 石贵玉(1953-), 男, 广西百色人, 教授, 从事植物生理学教学与科研。

Key words: high voltage electrostatic field; *Nicotiana tabacum* L. callus; growth; root of differentiation

自然界中的一切物体都处于静电场的作用之下, 静电场对生物体的生命活动具有重要的影响。研究表明, 在大气静电场外再加上适当的人工静电场, 可加速植物的新陈代谢, 促进植物的生长和提高产量⁽¹⁾, 对细胞的分裂和分化也有明显的促进作用^(2,3)。但目前关于高压静电场对细胞生长和分化的研究尚不深入, 且涉及的材料不多。本文以烟草愈伤组织为材料, 就高压静电处理对愈伤组织细胞生长量、根分化率、某些酶活性和蛋白质的含量等生理生化指标的影响进行了研究, 为阐述静电场对植物生长影响的生物效应机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为烟草(*Nicotiana tabacum* L.)。取烟草的顶芽和腋芽, 自来水冲洗, 洗衣粉水浸泡 5 min 后用自来水冲洗干净, 70% 酒精浸泡 2 s, 用 0.1% 升汞浸泡 10 min, 最后用无菌水冲洗 3 遍, 在静化工作台上将材料剪碎, 接种于培养基上。基本培养基为 MS, 附加 6-BA 1 mg/L, NAA 0.1 mg/L, 蔗糖 4%。培养 15~20 d, 形成愈伤组织后, 进行愈伤组织扩大继代培养, 培养基同前。继代培养 7 d 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, 光照强度 1 800~2 000 lx。处理后培养 40 d, 分别测定生理生化指标, 试验重复 3 次。

1.2 方法

愈伤组织生长量: 在静化工作台中用电子天平称量静电处理培养前后的烟草愈伤组织鲜重。

POD 活性测定: 愈伤木酚法显色, 7230 分光光度计测定, 记录单位时间 O. D 值(470 nm) 的变化, 以每 g 鲜重单位时间内 O. D 值的变化表示酶活性⁽⁴⁾。

SOD 活性测定: 按 Giannopolitia 和 Ries 的方法⁽⁵⁾, 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)。

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⁽⁴⁾: 用 Folin 酚法测定。

2 结果

2.1 静电场对烟草愈伤组织生长的影响

表 1 表明, 烟草愈伤组织经强度 +1.0 kV/cm 的高压静电处理培养 40 d 后, 愈伤组织生长量高于对照组。对照生长量为 9.85 g, 静电为 10.64 g, 静电处理比对照高 8.0%, 方差分析结果表明两者差异显著($P < 0.01$)。表明高压静电具有促进烟草愈伤组织细胞的分裂和生长的作用。这一结果与我们在银杏、蝶叶秋海棠愈伤组织⁽³⁾以及赵剑在苜蓿愈伤组织的研究结果相一致⁽⁶⁾。

2.2 静电场对烟草愈伤组织诱导生根的影响

烟草愈伤组织经高压静电处理, 培养 25 d 左右开始观察到有根产生, 而对照则在 28 d 左右才产生。表 2 是愈伤组织培养 40 d 后, 统计的生根情况。表 2 表明, 对照的根分化率为 36.2%, 静电处理为 70.6%, 静电处理比对照高 95%。结果表明高压静电处理有促进烟草愈伤组织分化根的作用。

2.3 高压静电对愈伤组织中 SOD、POD 和 IAA 氧化酶活性的影响

烟草愈伤组织用高压静电处理后, SOD 活性比对照高 10.5%, POD 和 IAA 氧化酶活性均低于对照组(表 3), 两者比对照组低 26.1% 和 8.7%。SOD 和 POD 用方差分析表明对照和处理两者差异显著($P < 0.01$), 说明 HVEF 处理有降低烟草愈伤组织中 POD 和 IAA 氧化酶活性和提高 SOD 活性的作用。

2.4 高压静电对烟草愈伤组织中蛋白质含量的影响

烟草愈伤组织用 HVEF 处理后培养 40 d, 分析愈伤组织中蛋白质含量。结果(表 3)表明静电处理的愈伤组织蛋白质含量是 11.07 mg/g·FW, 对照是 8.96 mg/g·FW, 静电处理比对照高 23.5%, 方差分析表明两者差异显著, 说明 HVEF 处理有提高烟草愈伤组织蛋白质含量的作用。施华中等人研究指出, 细胞蛋白质含量的增加, 与培养细胞的分裂生长有关⁽⁷⁾, 本试验的结果亦证明了这一点。

3 讨论

赵剑和马福荣报道, 静电处理可促进苜蓿愈伤

组织细胞的分裂和生长^[5]。我们在银杏、蝶叶秋海棠愈伤组织上的研究工作证实了这个观点^[3]。这次用烟草为材料,再次证实高压静电处理利于细胞的分

裂和生长而促使愈伤组织生长量提高的论点。同时静电处理还利于愈伤组织分化根,但根分化的机理还有待研究。

表 1 HVEF 对烟草愈伤组织生长的影响

Table 1 Effects of HVEF on callus growth of *Nicotiana tabacum* L.

愈伤组织号 Callus No.	对照 Control			高压静电 HVEF		
	0 天重 Weight in the 0th day(g)	40 天重 Weight in the 40th day (g)	增加值 Increment(g)	0 天重 Weight in the 0th day(g)	40 天重 Weight in the 40th day(g)	增加值 Increment(g)
1	1.14	5.52	4.38	1.54	6.87	5.33
2	1.91	9.05	7.14	1.76	10.50	8.74
3	1.89	10.57	8.68	2.02	10.95	8.93
4	1.42	16.04	14.62	1.44	18.51	17.01
5	1.26	12.88	11.62	1.22	13.70	12.48
6	2.46	12.92	10.46	1.50	12.92	11.42
7	1.73	11.13	9.40	1.72	11.21	9.49
8	1.70	11.99	10.29	2.44	13.79	11.35
9	1.67	8.37	6.70	1.33	8.33	7.04
10	2.01	11.13	9.12	1.74	11.92	10.18
11	2.45	12.05	9.60	1.85	12.14	10.29
12	1.87	14.11	12.24	1.55	13.88	12.33
13	2.18	10.72	8.54	2.03	13.33	11.30
14	2.04	7.76	5.72	1.69	9.85	8.16
15	1.53	13.62	12.09	1.50	12.15	10.65
16	2.39	4.06	11.67	1.74	13.15	11.41
17	2.24	14.88	12.60	1.79	14.45	13.66
18	1.47	13.82	12.35	2.33	14.98	12.65
平均 Mean	1.85	11.70	9.85	1.73	12.37	10.64*

* Significant test at 0.05

表 2 HVEF 对烟草愈伤组织根分化的影响

Table 2 Effects of HVEF on callus of root differentiation

批数 The batch number	对照 Control			高压静电 HVEF		
	接种数(瓶) Seedling number (bottle)	长根数(瓶) Root number of growth(bottle)	根分化(%) Differentia- tion root(%)	接种数(瓶) Seedling number (bottle)	长根数(瓶) Root number of growth(bottle)	根分化(%) Differentia- tion root(%)
1	10	4	40.0	10	7	70.0
2	10	4	40.7	9	6	66.7
3	7	2	28.6	8	6	75.0
平均 Mean	—	—	36.2	—	—	70.6

表 3 HVEF 对烟草愈伤组织某些酶活性和蛋白质含量的影响

Table 3 Effects of HVEF on activity of some enzymes and the content of protein in callus

处理 Treatment	SOD (U/g·FW)	过氧化物酶 Peroxidase (O. D470/min. g·FW)	IAA 氧化酶 IAA-oxidase (lytic IAA μ g/g. h. FW)	蛋白质 Protein(mg/g·FW)
对照 Control	322.4(100)	76.2(100)	95.4(100)	8.96(100)
高压静电 HVEF	356.3*(110.5)	56.3*(73.9)	87.1(91.3)	11.07(123.5)*

* Significant test at 0.05

细胞的分裂和生长与细胞的生长素(IAA)含量高低有关,细胞内生长素含量高,细胞分裂生长快,反之生长慢。朱晓红、袁朝兴的研究认为,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^[8,9]。高压静电促进愈伤组织

生长的可能原因之一是降低了 IAA 氧化酶和 POD 的活性,使体内保持较高水平的 IAA 含量,从而促进细胞分裂和生长。

赵洁的研究表明,SOD 活性和愈伤组织生长率呈正相关^[10];王冬梅等人的实验也反映 SOD 活性的提高,对促进细胞的分裂、分化起着重要的作用^[11]。高压静电促进愈伤组织生长的另一原因可能是促进 SOD 活性,从而有利于细胞的分裂和分化。

参考文献:

- [1] 张振球. 静电生物效应[M]. 北京: 万国学术出版社, 1989. 1-5.
- [2] 赵 剑, 马福荣. 静电场在组织培养过程中的生物学效应[J]. 静电, 1995, (4): 38-39.
- [3] 石贵玉, 周巧劲, 张振球. 高压静电场对银杏愈伤组织生长的影响[J]. 生物物理学报, 1999, 15(3): 547-550.
- [4] 张志良. 植物生理学实验指导(二版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 1990.
- [5] Giannopolitia C N, Riess S K. Superoxide Dismutasts I. occurrence in higher plants [J]. *plant physiol.* 1977, 59: 315.
- [6] 赵 剑, 马福荣. 高压静电场对苜蓿叶片愈伤组织诱导的影响[J]. 生物物理学报, 1996, 12(3): 518-520.
- [7] 施华中, 程林展. 绞股蓝细胞培养及其某些生理生化特性[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 97-100.
- [8] 朱晓红, 显 祖. 花药中生长素的积累与过氧化物酶活性的关系[J]. 植物生理学通讯. 1996, 32(4): 254-257.
- [9] 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活性的影响[J]. 植物生理学报 1990, 16(2): 179-180.
- [10] 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[J]. 武汉植物学报, 1994, 12(3): 251-257.
- [11] 王冬梅, 黄京林, 黄上志. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(5): 373-377.
- [35] 贾建航, 王 斌. 植物抗病基因克隆研究进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(1): 21-26.
- [36] 李汝刚, 范云六. 植物抗菌物病害的遗传工程研究进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(2): 9-13.
- [37] 邓兵兵, 熊凌霜. 外源蛋白在芽孢杆菌中分泌表达的研究进展[J]. 生物工程进展, 2000, 20(5): 62-66.
- [38] von Heijne G. Analysis of the distribution of charged residues in the N-terminal region of signal sequences: implications for protein export in prokaryotic and eukaryotic cells [J]. *EMBO J.* 1984. 3: 2 315-2 318.
- [39] Broglie K E, Chet I, Holliday M, *et al.* Transgenic plants with enhanced resistance to the fungal pathogen *Rhizoctonia solani* [J]. *Science.* 1991. 254: 1 194-1 197.

(上接第 363 页 Continue from page 363)