

光对绿豆下胚轴原生质体细胞壁再生 和细胞分裂的影响

梁玉玲* 朱宝成¹ 周毓君¹ 梁伯璠¹ 李庆余¹ 童哲²

(¹河北大学生物系, 河北保定, 071002; ²中国科学院植物研究所, 北京, 100093)

The Effect of Irradiation of different qualities on Cell Wall Regeneration and the First Division of the Protoplasts from Hypocotyl of *Phaseolus radiatus*

Liang Yuling* Zhu Baocheng¹ Zhou Yujun¹ Liang Bofan¹ Li Qingyu¹ Tong Zhe²

(¹ Department of Biology, Hebei University, Baoding 071002; ² Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

童哲等发现光可促进白芥愈伤组织的生长和器官分化。在细胞水平上研究发现红光能引起黄化小麦、燕麦叶肉原生质体膨大。王小菁等发现红光抑制双子叶植物绿豆下胚轴切段伸长, 但能引起黄化绿豆幼苗下胚轴原生质体的膨大。我们以绿豆幼苗下胚轴原生质体为材料, 研究红、白、蓝光在细胞壁再生和细胞分裂中的作用。

1 材料与方 法

1.1 光源装置 以20 W×3 荧光灯为光源, 经红、蓝色滤光片(德国罗姆和哈斯 RöHM & HAAS 公司生产)而获得红光和蓝光, 光辐照度为2 W/m², 光谱见童哲(植物生理学通讯, 1989(2): 28~31)。白光以高压碘钨灯为光源, 光强为40 W/m²。

1.2 材料培养 绿豆(*Phaseolus radiatus*)种子经75%乙醇和0.1%升汞消毒, 无菌水冲洗3遍, 播于铺有滤纸的三角瓶中, 保持合适水分, 22±1℃培养箱中培养48 h。

1.3 原生质体制备 选下胚轴长2~2.5 cm的绿豆幼苗, 从弯钩下3 mm处, 向下切取0.5 cm的胚轴, 切成薄片, 置于以含9%甘露醇的CPW(CPW-9 M)溶液配制的酶液中(2%纤维素酶, 1%离析酶, 0.5%半纤维素酶, ONOZUKA R-10)。在回旋式摇床上(70 r/m), 25℃下酶解10 h, 用脱脂棉过滤酶解液, 滤液以500 r/min离心6 min, 弃去上清液, 以CPW-10 M溶液离心洗涤两次, 再用原生质体培养液 I (MS+NAA 0.1 mg/l+BA 0.5 mg/l+蔗糖 0.5 mol/l+葡萄糖 0.1 mol/l, pH 5.8)洗涤1次获具活性的原生质体。最后用原生质体培养液 II (蔗糖 0.45 mol/l, 葡萄糖 0.05 mol/l, 其它同上), 调整原生质体浓度在1~5×10⁵个/ml

*工作单位: 保定师范专科学校, 生物系, 071051

收稿日期: 1995-09-05, 收到修改稿日期: 1996-02-27

范围,置于细胞培养瓶,每瓶1.0 ml,浅层培养。

1.4 光照处理 将培养瓶中的原生质体分别置于红、白、蓝光下,光照8 h或12h处理后,移至黑暗中25℃下培养。

1.5 原生质体细胞壁再生测定 分别取培养12、24、36 h的原生质体培养液1滴,加1滴0.1%荧光增白剂(0.5 mol/l甘露醇溶液配制),静置10 min后,荧光显微镜观察细胞壁再生情况,每次计数不少于200个。

1.6 细胞第一次分裂的观察 从培养第3天起,每2天取样一次,显微镜下观察细胞第一次分裂情况,每次计数不少于1000个。

2 结果与分析

2.1 光对原生质体细胞壁再生的影响 各处理的原生质体,从光照开始培养6 h,细胞壁均开始再生,培养36 h后所有处理的原生质体均再生细胞壁。但由表1可见,照射8 h和12 h后,原生质体细胞壁再生率均表现为红光效果最大,白光次之,蓝光最小。与暗培养相比,8 h红光和白光对绿豆下胚轴原生质体的细胞壁的再生表现出促进作用,而蓝光作用不明显。但照光12 h后,细胞壁再生率均较8 h的低。说明时间延长,光对细胞壁再生又表现出一种抑制作用,其抑制效应以蓝光最强,白光次之,红光较弱。

表1 光对绿豆原生质体细胞壁再生和第一次分裂的影响
Table 1 Effect of Irradiations of different qualities on Cell Wall Regeneration and first division of the protoplasts of *Phaseolus radiatus*

照射时数 Time of irradiation (h)	光色 Quality of irradiation	原生质体细胞壁的再生率(%) Rate of cell wall regeneration of the protoplasts				原生质体第一次分裂率(%) Rate of first division of the protoplasts			
		12 h		24 h		3 d		5 d	
		12 h	24 h	36 h	Total	3 d	5 d	7 d	Total
0	黑暗 Dark	68.60±3.32	79.90±0.14	100	248.50	3.85±0.07	4.44±0.52	4.16±0.08	12.45
	红 Red	79.50±2.83	86.75±1.77	100	266.25	4.30±0.28	6.20±0.28	7.60±0.51	18.10
8	白 White	72.30±3.11	81.25±1.77	100	253.35	3.90±0.71	5.45±0.21	5.45±0.35	13.99
	蓝 Blue	71.90±1.98	80.75±2.47	100	252.65	3.75±0.38	5.10±0.14	4.30±0.14	13.15
12	红 Red	63.50±0.71	82.75±2.07	100	246.25	3.50±0.14	6.85±0.21	6.20±0.28	16.55
	白 White	58.60±0.85	80.50±0.71	100	239.10	3.35±0.17	5.40±0.14	5.55±0.78	14.30
	蓝 Blue	47.00±1.41	71.20±0.42	100	218.20	3.60±0.57	4.65±0.21	4.33±0.10	12.58

2.2 光对细胞第一次分裂的影响 不同处理的原生质体,由照光开始培养12 h后均开始出现第一次分裂。由表1可见,红光和白光照射8 h和12 h后,在培养第5 d和第7 d分裂率均明显高于对照组,而蓝光处理则接近对照组。红光和白光对绿豆下胚轴细胞第一次分裂有明显促进作用,而蓝光的促进作用较小或不明显。