

## 植物细胞生长与培养液电导率 及过氧化物酶活性的关系

李新明 侯嵩生 陈士云 杨茂忠 张传海

(中国科学院武汉植物研究所, 武汉 430074)

通过植物细胞大量培养技术生产次生代谢物已有成功进行工业化生产的先例<sup>[1]</sup>。我们在九连小檗 (*Berberis julianae* Schneid) 悬浮培养细胞生理生化特性的研究中, 发现细胞生长与培养液过氧化物酶活性呈平行的关系, 与培养液电导率呈相反的镜像关系<sup>[2]</sup>。由此认为可以通过检测过氧化物酶活性及电导率了解细胞的生长状况, 并有可能作为细胞生物量变化的指标而得到应用。为了证实这一想法是否具有普遍性, 对本实验室另外几种植物细胞进行了研究。

### 材料与 方法

#### (一)材料

甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*)、水飞蓟 (*Silybum merianum*)、中国萝芙木 (*Rauwolfia verticillate*) 愈伤组织均为本实验室诱导、保存。

#### (二)细胞培养方法

甘草的基本培养基为6,7-V<sup>[3]</sup>, 附加2,4-D 1mg/L, NAA 2mg/L, BA 0.1mg/L, 水解乳蛋白1g/L, 蔗糖30g/L。

水飞蓟的基本培养基为B5, 附加2,4-D 1mg/L, KT 0.1mg/L, 蔗糖30g/L。

中国萝芙木的基本培养基为MS, 附加2,4-D 1mg/L, KT 0.1mg/L, 蔗糖30g/L。

挑取分散性好的愈伤组织于上述培养基中进行悬浮培养, 经几次继代培养后的细胞作为种子接种到250ml三角瓶中, 每瓶盛培养基50ml, 每种植物细胞接种量一定。定期取样测定, 每次测定结果为三次重复实验的平均值。培养温度 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ ,

摇床转速110r/min, 无光照培养。

#### (三)测定方法

1. 细胞干重: 减压抽干取细胞, 置60℃烘箱中烘至恒重。

2. 电导率: 采用DDS-11A型电导率仪(天津第二分析仪器厂生产)测定。

3. 过氧化物酶活性: 参照 Evans 等的方法<sup>[4]</sup>加以修改。滤液与愈创木酚-过氧化氢试剂在30℃水浴中保温5min, 在7520型分光光度计(上海第二分析仪器厂)于470nm波长处测定吸光值, 酶活性表示方法:  $\Delta A/\text{mg蛋白质}/\text{min}$ 。

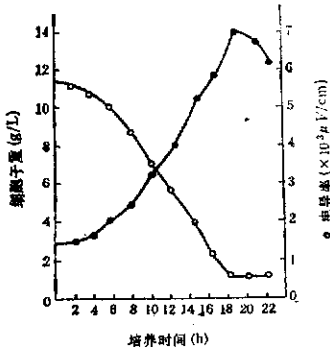
### 结果与 讨论

#### (一)细胞生长与培养液电导率变化的关系

图1, 2, 3分别表示甘草、水飞蓟和中国萝芙木悬浮培养细胞生长与培养液电导率变化之间的关系。由此可见随着培养时间的延续, 细胞干重逐渐增加, 电导率相应降低。当细胞生长达到高峰时, 电导率也降至低谷; 细胞生长处于静止期后, 电导率不再下降。因此细胞生长的曲线与电导率的变化曲线呈相反的镜像关系。说明通过培养液电导率的变化, 可以反映细胞的生长状况。这种方法对植物细胞的大规模培养特别适用, 因为通过插入反应器中的电导电极所记录的曲线, 可以推测细胞的生长情况, 不需从反应器中取样。不仅简便, 且减少污染机会, 还可随时反映细胞的生长状况, 有利于培养过程的监测与控制。

图4以悬浮培养的甘草细胞为例表示细胞干

本文于1991年10月23日收到。



悬浮培养的甘草细胞生长与电导率的关系

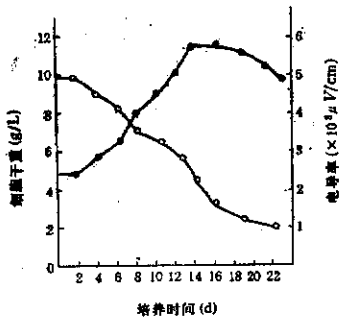


图 2 悬浮培养的水飞蓟细胞生长与电导率的关系

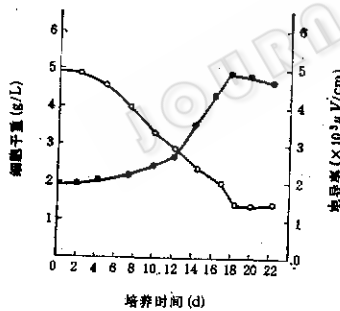


图 3 悬浮培养的中国罗美木细胞生长与电导率的关系

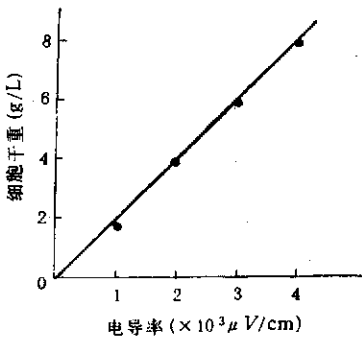


图 4 悬浮培养的甘草细胞生长与电导率之间的相关性

重的增加与培养液电导率的降低之间的相关性。可以看出电导率每下降一个单位，细胞干重就增加 2 克，两者之间的相关系数为 2.0。根据 Taya 等<sup>[5]</sup>的经验公式，甘草细胞的生长状况可由下式得到：

$$\Delta x = 2 \cdot \Delta k$$

式中  $\Delta x$  为细胞干重，2 为细胞干重与电导率的相关系数， $\Delta k$  为电导率。

Hahlbrock 等<sup>[6]</sup>发现电导率的降低主要是

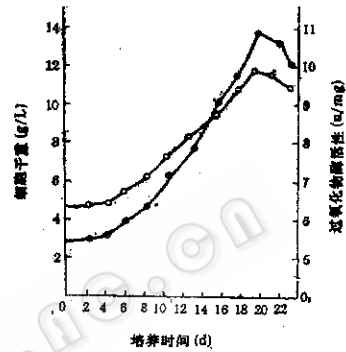


图 5 悬浮培养的甘草细胞生长与过氧化物酶活性的关系

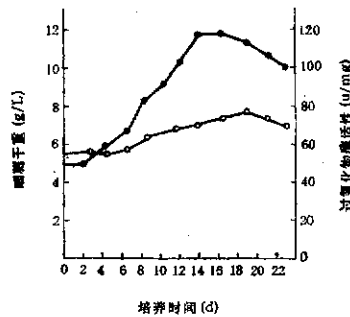


图 6 悬浮培养的水飞蓟细胞生长与过氧化物酶活性的关系

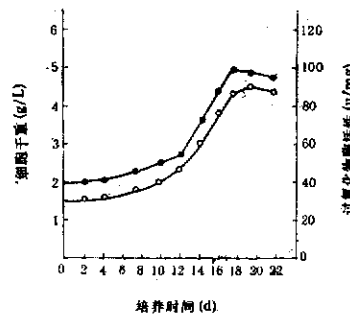


图 7 悬浮培养的中国罗美木细胞生长与过氧化物酶活性的关系

因为培养液中硝酸盐的吸收, Taya等<sup>[5]</sup>认为培养液pH值的变化(4.5—7.0)以及糖浓度的变化(0—1%)对电导率的影响甚微。因此对任何一种植物培养细胞而言, 只要培养基的成分确定, 细胞的生长就可以从上述的经验公式求得。

## (二)细胞生长与培养液过氧化物酶活性的关系

图5, 6, 7表明: 悬浮培养的三种植物细

胞生长与培养液过氧化物酶活性之间呈平行的关系。生长迅速的细胞(如甘草), 过氧化物酶的比活较高; 而生长较缓慢的水飞蓟、中国罗芙木细胞其过氧化物酶的比活则较低。这与悬浮培养九连小檗细胞的研究结果是一致的<sup>[7]</sup>, 因此通过培养液中过氧化物酶活性的变化, 也可以了解细胞的生长状况。

## 参 考 文 献

- [1] Curtin, M.H.: *Bio/technology*, 1:649, 1983.
- [2] 侯嵩生等: 武汉植物学研究, 6:129—132, 1988.
- [3] Veliky, I.A.: *Can.J.Microbiol.*, 16:223—226, 1970.
- [4] Evans, J.J.: *Phytochemistry*, 4:499—503, 1965.
- [5] Taya, M. et al.: *Enzyme Microb. Technol.*, 11:170—176, 1989.
- [6] Hahlbrock, K. et al.: *Planta(Berl.)*, 118:75—84, 1974.
- [7] 侯嵩生等: 武汉植物学研究, 6:391—394, 1988.
- [8] Wetter, L. and Dyck, J.: In "Handbook of Plant Cell Culture" Vol.1, (eds. Evans D.A. et al) Macmillan Publ. Co., New York, pp. 607—628, 1983.
- [9] Deloire, A. and Hebant, C.: *Ann. Bot.*, 49:887—891, 1982.
- [10] Mader, M. et al.: *Plant Physiology*, 70:1128—1131, 1982.
- [11] 徐竹筠: 植物生理学报, 10:373—380, 1984.
- [12] Ishida, A. et al.: *Plant Cell Reports*, 4:54—67, 1985.

## Correlation Between Plant Cell Growth and Changes of Conductivity and Peroxidase Activity

Li Xinmin Hou Songsheng Chen Shiyun

Yang Maozhong Zhang Chuanhai

(Wuhan Institute of Botany, Academia Sinica, Wuhan 430074)

Suspension cultured cells of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch, *Silybum merianum* (L.) Gaertn and *Rauwolfia verticillate* (Lour) Baill were used to study the correlation between cell growth and changes of conductivity and peroxidase activity in cultured media. The results show that cell growth is inversely correlated with conductivity and directly proportional to peroxidase activity. By this method, it is possible to estimate the cell growth in situ during the growth phase for various plant cells in large-scale cultures.

**Key words** Plant cell growth; conductivity; peroxidase activity