

徐式近,徐忠传,蔡平,等.磁处理对菊花组培苗增殖及生理生化的影响[J].江苏农业科学,2014,42(11):80-82.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.025

磁处理对菊花组培苗增殖及生理生化的影响

徐式近²,徐忠传¹,蔡平²,黄溶¹

(1.常熟理工学院生物与食品工程学院,江苏常熟 215500; 2.苏州大学金螳螂建筑与城市环境学院,江苏苏州 215123)

摘要:以切花菊品种优香组培苗为试验材料,用 4 种磁感应强度(6、12、18、24 mT)和 4 种磁处理时间(2.5、5、10、20 h)的组合进行磁处理,测定磁处理后组培苗的繁殖系数、可溶性糖含量、相对电导率以及 POD、SOD、CAT 活性等指标。结果发现,12 mT/10 h 处理下组培苗繁殖系数最高,12 mT/5 h 处理下组培苗可溶性糖含量最高,18 mT/20 h 处理下组培苗相对电导率最低,24 mT/2.5 h 处理下组培苗 CAT 活性最低,18 mT/10 h 处理下 SOD 活性最低,12 mT/2.5 h 处理下 POD 活性最低。以上结果表明,磁处理对菊花组培苗繁殖系数及生理生化具有不同程度的影响,这为今后将磁处理应用在菊花乃至其他观赏植物组织培养方面提供理论的参考。

关键词:菊花;组培苗;磁处理;增殖;生理生化

中图分类号: S682.1⁺10.4⁺3

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2014)11-0080-03

生物磁学是近几十年发展起来的一门研究磁性、磁场与生物特性和生命活动之间相互联系及相互影响的边缘学科,目前已在医疗、工业、农业和环保等方面得到广泛的应用^[1]。植物组织培养几乎涉及植物生物技术的所有内容,广泛应用于细胞、分子生物学等研究领域^[2]。然而,生物磁学在植物组织培养中的应用相对较少,到目前为止仅有磁处理黄精^[3]、菊花^[4]、乌药^[5]、滨梅^[6]等组培苗以及拟南芥^[7]、变叶木^[8]、马尾松^[9]等愈伤组织的报道,已有结果均表明合适的磁处理对植物组培苗或愈伤组织的生长有促进作用。但这些报道多数只局限于磁处理对组培苗或愈伤组织外部形态的影响,而尚未涉及到内部生理生化的影响。本试验以切花菊品种优香(*Chrysanthemum morifolium*)为材料,用 4 种磁感应强度(6、12、18、24 mT)和 4 种磁处理时间(2.5、5、10、20 h)的组合进行磁处理,探讨磁处理对菊花组培苗增殖及生理生化的影响,为磁处理在菊花组织培养方面的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

切花菊优香原始组培苗由张家港骏马农林科技有限公司提供,在常熟理工学院生物与食品工程学院植物生物技术实验室扩繁。试验所用的试剂均为分析纯,CAT、SOD、POD 试剂盒均购自南京建成科技有限公司。

1.2 组培方法

选择生长健壮且一致的组培苗,在超净工作台中剪取长 0.5 cm 左右带 1 个节的茎段,剪掉叶片,留一点叶柄以免损伤叶腋,形态学上端朝上垂直插入分化培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂中,每

瓶接种 4~5 个茎段。接种完后先在光照培养箱中培养 3 d,选取无污染的组培苗进行磁处理。培养温度为 25±2℃,日光灯光源,光照度为 21~24 μmol/(m²·s),光照周期为 12 h/d^[10]。

1.3 磁处理方法

将无污染的菊花组培苗的培养瓶放在 4 种磁感应强度 A(6 mT)、B(12 mT)、C(18 mT)、D(24 mT)的磁处理装置上进行磁处理,设置处理时间为 1(2.5 h)、2(5 h)、3(10 h)、4(20 h),采用完全随机区组试验设计,共得到 16 个磁处理组合,无磁处理为对照组 CK。每组处理为 3 瓶,重复 3 次。处理后均放在光照培养箱中培养,条件同“1.2”节,42 d 后统计测定各项指标^[3-5]。

1.4 指标测定方法

1.4.1 繁殖系数统计 统计 0.5 cm 以上的生长正常的不定芽个数(不包括玻璃化芽),再计算繁殖系数:繁殖系数=分化出的不定芽个数/分化出不定芽的外植体个数^[10]。

1.4.2 相对电导率测定 用电导仪测定。称取 0.3 g 不定芽,剪碎后置于试管中,加入 15 mL 蒸馏水浸提 2 h,摇匀,用电导仪测定电导率 R_1 ,沸水浴 15 min,静止冷却至室温,测电导率 R_2 ,最后计算相对电导率:相对电导率=初电导率/终电导率×100%^[11-12]。

1.4.3 可溶性糖含量测定 用蒽酮法测定^[13]。精确称取 0.1 g 不定芽,剪碎后置于试管中,加入 5 mL 蒸馏水,加盖沸水浴 30 min,提取液过滤入 50 mL 容量瓶中定容备用。每个样品取 1 mL 加等体积蒸馏水、0.5 mL 蒽酮乙酸乙酯与 5 mL 浓硫酸于试管中,充分混匀,1 min 后水浴冷却,用紫外-可见分光光度计测 630 nm 处的吸光度 $D_{630\text{nm}}$,参照蔗糖标准曲线计算可溶性糖含量,蔗糖标准曲线线性回归方程为: $y=0.123x-0.1248$, $r=0.9998$,可溶性糖含量=(标准曲线查得的糖量×提取液总体积)/(植物质量×测量用提取液的体积×106)×100%。

1.4.5 POD、SOD、CAT 活性测定 提取液制备:称取 1.0 g 不定芽,剪碎后加入预冷的研钵,加 2 mL 预冷的磷酸缓冲液

收稿日期:2014-02-07

作者简介:徐式近(1988—),女,浙江绍兴人,硕士,研究方向为园林植物与观赏园艺。E-mail:845497128@qq.com。

通信作者:徐忠传,男,安徽歙县人,博士,教授,从事植物生物技术方面的教学与科研工作。E-mail:xuzc18@cslg.edu.cn。

(0.05 mol/L, pH 值 7.8), 研磨后用 6 mL 磷酸缓冲液冲洗于离心管中, 6 000 r/min 离心 10 min, 上清液倒入 50 mL 容量瓶定容备用。取上述酶提取液, 均按照试剂盒说明书的步骤进行测定。

2 结果与分析

磁处理后将组培苗培养 42 d, 统计测定各项生理生化指标, 计算平均值, 得到的平均值再计算相对指数: 相对指数 = (处理组平均值 - 对照组平均值) / 对照组平均值 × 100%。如果相对指数为正值, 则表示磁处理后该指标比对照组增加; 如果为负值, 则表示磁处理后该指标比对照组减少。

2.1 磁处理对菊花组培苗繁殖系数的影响

如图 1 所示, 磁处理对菊花组培苗繁殖系数有影响。在 16 个磁处理组合中, 有 11 个处理组合的繁殖系数比对照组高, 表明多数磁处理条件能促进菊花组培苗不定芽的分化; 其中繁殖系数比对照高 20% 以上磁处理组合有 A2、A3、A4、B1、B3, 其中 B3 最高, 达 60%, 即 12 mT/10 h 是最有利于菊花组培苗不定芽的分化。当磁感应强度一定时, 随着磁处理时间的增加, 繁殖系数基本呈现先增加后减少的趋势; 当磁处理时间一定时, 随着磁感应强度的增加, 繁殖系数基本呈现先增加后减少或减少的趋势。

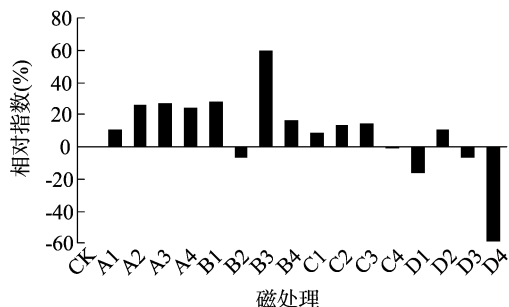


图1 不同磁处理条件对菊花组培苗繁殖系数的影响

2.2 磁处理对菊花组培苗可溶性糖含量的影响

如图 2 所示, 磁处理对菊花组培苗可溶性糖含量有影响。在 16 个磁处理组合中, 有 9 个处理组合的可溶性糖含量比对照组高, 其中 B2 处理组合比对照组高 13%, 而 A1、A3、B1、B3、C1、C2、C3、C4 处理组合比对照组增加幅度在 5% 以下, 表明这些磁处理虽能在不同程度上促进菊花组培苗可溶性糖的合成, 但多数情况下促进效果不明显。因此, B2 处理 12 mT/5 h 是最有利于菊花组培苗可溶性糖的合成。磁感应强度一定时, 随着磁处理时间的增加, 可溶性糖含量的变化没有明显的规律; 当磁处理时间一定时, 随着磁感应强度的增加, 可溶性糖含量基本呈现先增加后减少的趋势。

2.3 磁处理对菊花组培苗相对电导率的影响

如图 3 所示, 所有处理组的相对电导率均比对照组低, 表明所有处理组的细胞膜透性均比对照组小, 其中相对电导率比对照组低 20% 以上的磁处理组合有 A2、A3、B1、B3、C1、C2、C3、C4、D2, 其中最低为 C4, 达 34%, 即 18 mT/20 h 是最能保护细胞膜不受损害。当磁感应强度一定时, 随着磁处理时间的增加, 相对电导率的变化没有明显的规律; 当磁处理时间一定时, 随着磁感应强度的增加, 相对电导率基本呈现先增加后减少再增加的趋势。

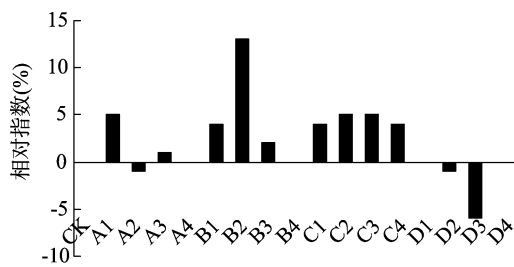


图2 不同磁处理条件对菊花组培苗可溶性糖含量的影响

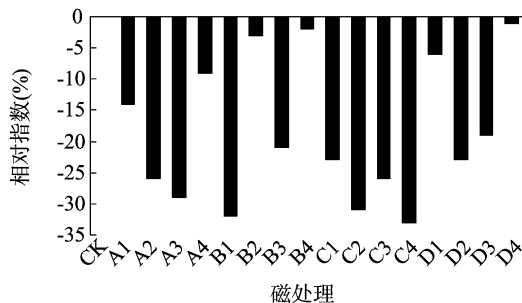


图3 不同磁处理条件对菊花组培苗相对电导率含量的影响

2.4 磁处理对菊花组培苗抗氧化酶活性的影响

2.4.1 磁处理对菊花组培苗 CAT 活性的影响 如图 4 所示, 磁处理对菊花组培苗 CAT 活性有影响。在 16 个处理组合中有 12 个处理的 CAT 活性比对照组低, 表明这些磁处理条件能抑制 CAT 活性, 其中 CAT 活性比对照组低 20% 以上的组合有 A1、A2、B2、C4、D1, 最低为 D1, 达 30%, 即 24 mT/2.5 h 最能抑制 CAT 活性。磁处理对菊花组培苗 CAT 活性影响没有明显的规律。

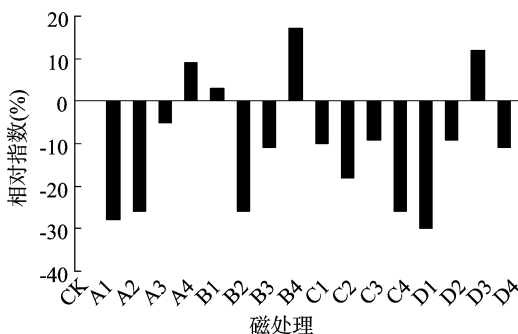


图4 不同磁处理条件对菊花组培苗CAT活性的影响

2.4.2 磁处理对菊花组培苗 SOD 活性的影响 如图 5 所示, 磁处理对菊花组培苗 SOD 活性有影响。在 16 个处理组合中有 15 个处理组合的 SOD 活性比对照组低, 表明这些磁处理条件抑制 SOD 活性, 其中 SOD 活性比对照组低 20% 以上组合有 B4、C3、C4、D2、D3, 最低为 C3, 达 30%, 即 18 mT/10 h 是最能抑制 SOD 活性。磁感应强度介于 6 ~ 12 mT 时, 随着磁处理时间的增加 SOD 活性呈现先增加后减少的趋势; 当磁感应强度介于 18 ~ 24 mT 时, 随着磁处理时间的增加 SOD 活性呈现先减少后增加的趋势; 然而当磁处理时间一定时, 随着磁感应强度的增加, SOD 活性变化没有明显的规律。

2.4.3 磁处理对菊花组培苗 POD 活性的影响 如图 6 所示, 磁处理对菊花组培苗 POD 活性有影响。在 16 个处理组

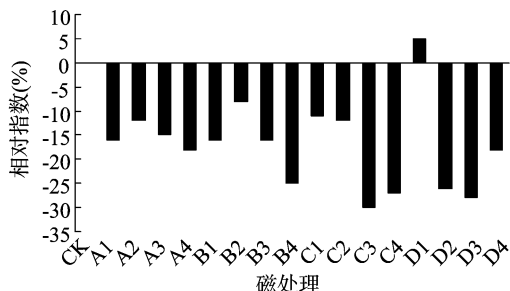


图5 不同磁处理条件对菊花组培苗SOD活性的影响

合中有 11 个处理组合的 POD 活性均比对照组低,表明这些磁处理条件抑制 POD 活性,其中 POD 活性比对照组低 20% 以上的只有 B1,即 12 mT/2.5 h 最能抑制 POD 活性。当磁感应强度介于 6 ~ 24 mT 时,随着磁处理时间的增加,POD 活性基本呈现先减少后增加再减少的趋势;当磁感应强度介于 12 ~ 18 mT 时,随着磁处理时间的增加,POD 活性基本呈现先增加后减少再增加的趋势;当磁处理时间介于 2.5 ~ 10 h 时,随着磁感应强度的增加,POD 活性呈现先减少后增加的趋势;当磁处理时间介于 5 ~ 20 h 时,随着磁感应强度的增加,POD 活性呈现先增加后减少的趋势。

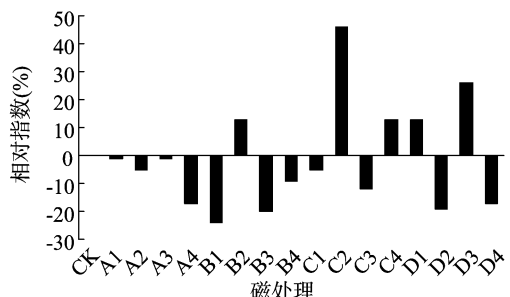


图6 不同磁处理条件对菊花组培苗POD活性的影响

3 讨论

一些研究表明,磁处理能在不同程度上对植物组培苗或愈伤组织的生长有促进作用,如徐忠传等发现合适的磁处理条件能够促进菊花和乌药不定芽的产生^[4-5],闫道良等研究表明^[6]合适的磁处理条件能够促进滨梅不定芽的增殖,梁华等研究表明,磁处理能够促进黄精根茎的增殖^[3]。本试验研究表明,合适的磁处理条件能够促进菊花不定芽的产生,与上述研究结果一致。可溶性糖含量的高低与新陈代谢的快慢有密切的关系。梁华等研究表明,磁场处理后黄精组培苗的可溶性糖和蛋白质的含量都有增加的趋势,只是增加的趋势各不相同^[3]。本试验中,合适的磁处理条件能增加菊花组培苗可溶性糖的含量,与梁华的研究结果一致,表明合适的磁处理条件能促进菊花组培苗的新陈代谢。

磁场作为一种胁迫因子,对细胞膜会产生一定程度的损伤,导致相对电导率增加^[9]。本试验中,磁处理菊花组培苗后相对电导率均下降,原因可能是磁处理后经过 42 d 的培养,细胞膜的损伤已经恢复,而且细胞膜的稳定性比对照组更

好。磁处理可影响含有重要金属的酶,从而改变这些酶的活性、结构和功能,进一步影响到这些酶所参与的一系列生理生化反应,使植物表现出磁效应^[14]。许多研究表明,合适的磁处理能够提高抗氧化酶活性,从而减缓脂质过氧化,延缓植物衰老、提高植物抗性等^[1,3,9]。在本试验中大部分磁处理组合抑制了抗氧化酶活性,与很多研究结果^[1,3,9]相反。原因可能是磁处理后组培苗经过 42 d 的培养,磁处理对抗氧化酶活性的影响已经恢复,组培苗的生理状态相对稳定,各方面代谢调整到较好状态,因此植物体内的氧自由基含量较少且稳定,自由基及其衍生物对植物体构不成伤害或伤害很小,此时保护酶活性较小^[15]。

综上所述,合适的磁处理条件对多种植物组培苗的生长有促进作用,在此基础上,可进一步研究磁处理对组培苗抗性的影响。作为一种物理技术,磁处理具有绿色、环保、方便、廉价等特点,因此在观赏植物组织培养中的应用前景广阔。然而合适的磁处理条件因植物种类、植物生理状态、培养环境等因素的不同而不同,因此需要根据实际情况进行试验。

参考文献:

- [1] 曹 宏,赵国林,张承烈. 生物磁学在农作物生产中的应用[J]. 植物生理学通讯,1999,35(2):163-168.
- [2] 吕 毅,商 澎. 不同磁场环境和培养基对拟南芥种子诱导愈伤组织的影响[J]. 核农学报,2012,26(5):723-728.
- [3] 梁 华. 磁场处理对黄精组培苗影响的研究[D]. 合肥:安徽农业大学,2007.
- [4] 徐忠传,施佳宏,金 波,等. 磁处理对菊花组培苗生长的影响研究[C]. 第三届全国植物组培,2007:55-58.
- [5] 徐忠传,周静亚. 磁场对乌药试管苗生长的生物学效应研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(23):10013-10015.
- [6] 闫道良,钦 佩,吴卫国,等. 磁处理对滨梅组培苗增殖及再生的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2007,31(3):99-102.
- [7] 吕 毅,商 澎. 不同磁场环境和培养基对拟南芥种子诱导愈伤组织的影响[J]. 核农学报,2012,26(5):723-728.
- [8] 吴玉荷. 磁场对变叶木愈伤组织培养的效应[J]. 深圳大学学报:理工版,2002,19(1):67-71.
- [9] 梁 军,宁少华,王振朝,等. 脉冲磁场对马尾松愈伤组织生长和生理生化特性的影响[J]. 林业科学研究,2008,21(6):818-824.
- [10] 徐式近,徐忠传. 不同菊花品种高效直接再生体系的构建[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):52-54,100.
- [11] 侯福林. 植物生理学实验教程[M]. 北京:科学出版社,2004.
- [12] 陈爱葵,韩瑞宏,李东洋,等. 植物叶片相对电导率测定方法比较研究[J]. 广东教育学院学报,2010,30(5):88-91.
- [13] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006.
- [14] 王红梅. 磁场对绿豆芽长及超氧化物歧化酶的实验研究[J]. 实验技术与管理,2011,28(3):63-65,72.
- [15] 王成霞,董晓颖,李培环,等. 桃叶片 POD、SOD、CAT 活性与树体矮化和生长的关系[J]. 中国农学通报,2007,23(6):353-357.