

磁处理对滨梅组培苗增殖及再生的影响

闫道良¹, 钦佩^{1*}, 吴卫国², 王光¹, 宰学明¹, 孙东林¹

(1. 南京大学盐生植物实验室, 江苏 南京 210093, 2. 南京大学物理学系, 江苏 南京 210093)

摘要:通过外加不同强度的电磁场处理滨梅茎段外植体, 以促进其不定芽的增殖。结果表明: 对滨梅外植体施加强度为 97 kA/m 磁场, 处理 10 min, 可明显地促进不定芽的增殖, 其增殖倍数是对照的 2.3 倍。将经过 97 kA/m 磁处理的外植体接种在培养基 MS+ZT(2 mg/L)+IBA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L) 上, 芽的增殖倍数与幼苗高度、鲜重、干重都优于接种在培养基 MS+ZT(2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L) 和对照的情况, 经 97 kA/m 磁处理的外植体接种于优化生根培养基 1/2MS+NAA(0.1 mg/L)+IBA(0.1 mg/L)+牛血清白蛋白(30 mg/L), 诱导的不定根平均根长(5.39 ± 0.68) cm, 显著高于对照。说明培养基的优化与一定强度的磁场能有效地促进滨梅组培苗的增殖分化与生长。

关键词:磁处理; 滨梅; 组培苗; 增殖再生

中图分类号: S722.3⁺7

文献标识码: A

文章编号: 1000-2006(2007)03-0099-04

Effects of Magnetic Treatment of Beach Plum *in vitro* Subculture Explants on the Regeneration and Growth

YAN Dao-liang¹, QIN Pei^{1*}, WU Wei-guo², WANG Guang¹, ZAI Xue-ming¹, SUN Dong-lin¹

(1. Halophyte Research Lab of Nanjing University, Nanjing 210093, China; 2. Department of Physics of Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The magnetic field is applied as a strength gradient (48~115 kA/m). It is shown that the increase in the field strength stimulates the regeneration and growth in the explants. Effects of a ten-minute treatment of explants with a strength of 97 kA/m on the regeneration and growth are significant, and the number of the sprouts induced is 2.3 times that the number of control group. The fresh weight, dry weight and height of the sprouts, from the explants were treated with a strength of 97 kA/m, in culture medium MS+ZT(2 mg/L)+IBA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L) are more significant than those in MS+ZT(2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L) and control group. It is greatly significant at 0.01 level that the root length of plantlets from explants treated with a strength of 97 kA/m and put into optimized rooting medium 1/2MS+NAA(0.1 mg/L)+IBA(0.1 mg/L)+bovine serum albumin 30 mg/L, compared with the control group. The average root length is (5.39 ± 0.68) cm. It is possible that the optimization of culture medium and treatment of explants with a certain magnetic field strength can increase the number of regeneration sprouts and can promote growth.

Key words: Magnetic treatment; Beach plum; *In vitro* subculture explants; Regeneration and growth

滨梅(*Prunus maritima* Marshall)隶属蔷薇科李属, 原产于美国东北部大西洋沿岸。滨梅具有耐旱、耐贫瘠、耐盐碱的特性, 可用于海岸沙滩的修复和沙丘固定; 果实酸甜可口, 可加工成果冻和果汁等系列产品; 滨梅先叶开花, 白花繁密, 可用于园林观赏绿化, 其低矮的灌木状和多分枝等特性可制作盆

收稿日期: 2006-08-18

修回日期: 2007-03-12

基金项目: 国家林业局“948”创新项目(2005-4-43)

作者简介: 闫道良(1975-), 男, 博士生, 主要从事盐生植物资源开发利用与海滨湿地生态研究。

* 通讯作者(Corresponding Author): 钦佩, 男, 教授, 博士生导师。

景^[1-6]。因此,南京大学盐生植物研究实验室于2001年从美国特拉华大学引进滨梅,以期用于我国的海岸和干旱地区盐碱地的生态修复和为发展适合该地区的果树业提供科学依据。

磁生物学目前在工农业生产中获得了较为广泛的应用,在农业上多利用外磁场作用于农作物的种子和幼苗来促进种子的萌发和作物的生长^[7-9]。关于磁场作用于木本植物很少有报道,而木本植物的组织快繁一直相对难于草本植物。目前,滨梅在国外的研究主要集中在规模化栽培及果实的开发利用上,关于组培快繁还未见报道。笔者在滨梅种子缺乏的情况下,利用有限的滨梅资源,并在前期工作的基础上,针对出现的组培苗增殖倍数低、瘦弱纤细、育苗周期长等缺点,通过调整外源激素及外加磁场对滨梅组培苗增殖分化及生长再生状况作了进一步探索,以期使芽的增殖与生长壮苗同步进行,解决目前苗木短缺的问题,为进一步的研究开发利用及推广栽培滨梅提供足够数量的材料。

1 材料与方 法

1.1 材料选择与培养

选无菌组培苗切成带有1~2个腋芽的茎段为材料,以MS为基本培养基,附加不同的激素和蔗糖(30 g/L)、琼脂粉(4.6 g/L,纯度 $\geq 98.5\%$),其中生根用蔗糖20 g/L。培养基120℃灭菌20 min,灭菌后将pH调至6.2~6.25。培养室温度23~26℃、光强度36~40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照时间13.5 h/d。

1.2 磁场处理

采用恒定电磁场,场强分别设为M1(48 kA/m)、M2(64 kA/m)、M3(80 kA/m)、M4(97 kA/m)、M5(115 kA/m),外植体接种在增殖培养基I(MS+ZT(2 mg/L)+NAA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L)中,每三角瓶接5枚茎段,共30瓶。把接种外植体的瓶子分别置于不同场强的磁场中处理10 min,每处理5个重复,另外一组5个重复设为对照(CK)。把处理过的茎段置于培养室内,50 d后统计增殖芽数。

1.3 增殖培养基的优选

把经过场强为M4(97 kA/m)处理过的外植体转接到培养基I和II(MS+ZT(2 mg/L)+IBA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L))中,两种培养基各接种9瓶,即9个重复,40 d后统计增殖数。

1.4 外植体生长状况的测定

把经过M4(97 kA/m)处理的外植体和未经磁处理的外植体接种在培养基II中,每处理6个重复,每瓶接种5枚茎段,45 d后测定外植体幼苗高度;鲜重采用称重法,外植体幼苗先在110℃杀青10 min再在80℃烘24 h后称干重。

1.5 外植体生根的诱导

切取粗壮的经过M4(97 kA/m)处理的外植体(长6~7 cm)和未经磁处理的外植体接种在前期已优化的生根培养基1/2MS+NAA(0.1 mg/L)+IBA(0.1 mg/L)+牛血清白蛋白(30 mg/L)中,每处理6个重复,每瓶接种5枚茎段,45 d后统计根长及每个外植体的生根数。

2 结果与分析

2.1 磁处理对滨梅茎段腋芽的增殖效应

随着外加磁场强度的增强,芽的增殖倍数增大,当场强为97 kA/m时,每个外植体的平均增殖芽数为17.2,是对照芽平均增殖数(7.40)的2.3倍(表1),说明外加磁场处理对芽的增殖具有较明显的促进效应。当场强为115 kA/m时,芽平均增殖数(14.4)有所下降,但仍是对照的1.9倍。方差分析表明,各处理组间差异极显著($p=0.002<0.01$)。LSD法检验结果表明,M4处理的茎段上芽的增殖效果极显著高于对照和M1处理的茎段,显著高于M2和M3处理。因此,97 kA/m磁场作用于腋芽对其有明显的诱导增殖效应(图1A)。

表1 不同场强的磁处理对滨梅腋芽增殖的影响
Table 1 Effects of magnetic field treatment of explants on regeneration

处理 Treatment	场强 Field intensity/ (kA·m ⁻¹)	增殖数 Multiplication/个					增殖总数 Total multiplica- tion/个	平均增殖数 Mean multiplica- tion/个
		5个重复						
CK	CK	8	9	7	7	6	37	7.40 ± 0.51
M1	48	9	11	7	8	7	42	8.40 ± 0.75
M2	64	14	16	11	7	7	55	11.0 ± 1.82
M3	80	15	18	7	10	8	58	11.6 ± 2.11
M4	97	23	16	15	13	19	86	17.2 ± 1.74
M5	115	11	17	20	12	12	72	14.4 ± 1.75

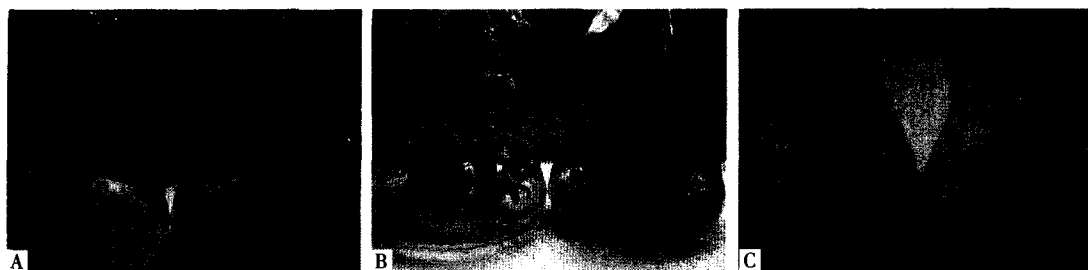


图 1 磁处理对芽增殖生长的影响

Fig. 1 Effects of magnetic field treatment of explants on the regeneration and growth

(A. M4(右)与对照(左); B. M4 处理下附加 NAA(左)或 IBA(右)对腋芽的增殖生长; C. M4(左)与对照(右))

2.2 磁处理后滨梅外植体对 NAA 和 IBA 增殖的响应

2 mg/L ZT 与 0.2 mg/L IBA 的组合对滨梅芽的增殖生长具有良好的协同效应,芽的平均增殖倍数为 (5.24 ± 0.88) ,而 NAA 对芽的平均增殖倍数为 (3.09 ± 0.37) (表 2)。方差分析表明,组间差异显著($p=0.039 < 0.05$)。因此培养基组合 MS+ZT(2 mg/L)+IBA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L)对经过磁处理的芽具有良好的增殖生长效应(图 1B)。

2.3 磁处理对滨梅外植体生长的影响

把经过 M4(97 kA/m)处理的外植体和未经过磁处理的外植体接种在培养基 II 中,45 d 后测定苗高、鲜重和干重,结果见表 3。从表 3 看出,磁场处理可明显地促进苗期长势,苗高、鲜重和干重均比对照增加(图 1C)。方差分析表明,两组幼苗均高差异显著($p=0.025 < 0.05$),鲜重与干重两组差异极显著($p=0.006$ 和 0.005 ,均小于 0.01)。因此,磁场处理在促进幼苗生长的同时也增加了干物质的积累,为下一步的诱导生根提供了物质基础。

2.4 磁处理对滨梅外植体生根的影响

经过场强为 M4(97 kA/m)处理的和未经处理的茎段(CK)在诱导生根培养基上培养 45 d 后,平均生根条数为 (6.50 ± 0.45) ,平均生根长度为 (5.39 ± 0.68) cm,要高于对照(分别为 (5.41 ± 0.40) cm 和 (2.12 ± 0.10) cm)。但方差分析表明,磁处理与对照在平均生根条数之间差异并不显著($p=0.109 > 0.05$),而经过磁处理的外植体在生根培养基上诱导的不定根长度显著大于对照($p=0.001$)(图 2)。

3 讨 论

通过外加一定强度的磁场可提高西红柿、小麦、洋葱等农作物种子的发芽率和促进幼苗的生长^[7-9],但磁场作用于木本植物还鲜有报道。笔者通过不同强度的磁场处理带有腋芽的茎段,与对照相比,在不同程度上提高了腋芽的增殖倍数,经过磁场强度为 97 kA/m 处理的茎段,每个外植体芽平均增殖数是 17.2 个,是对照的 2.3 倍。说明一定强度的磁场可有效地促进腋芽的增殖,从而在短时间内获得大量的材料。适宜的培养基成分特别是植物激素的合理配比是芽增殖分化的基础。试验得出,经过 M4 处理的茎段接种在附加 0.2 mg/L IBA 的培养基中,芽的平均增殖倍数为 (5.24 ± 0.88) ,比接种在附加

表 2 NAA 和 IBA 对芽增殖生长的影响

Table 2 Effects of NAA or IBA on the regeneration of explants treated by magnetic field M4 (97 kA/m)

激素 Horm-one	接种数 Inocul- ability	统计数 Statistical number	增殖倍数 Prolifera- tion multiple	激素 Horm-one	接种数 Inocul- ability	统计数 Statistical number	增殖倍数 Prolifera- tion multiple
NAA	7	21	3.0	IBA	6	54	9.0
	9	18	2.0		6	24	4.0
	10	14	1.4		7	30	4.3
	7	21	3.0		8	50	6.3
	5	18	3.6		7	14	2.0
	6	18	3.0		9	15	1.7
	4	13	3.3		5	22	4.4
	8	25	3.1		6	40	6.7
	5	27	5.4		8	70	8.8

表 3 磁处理对外植体生长的影响

Table 3 Effects of magnetic field (M4) treatment of explants on the growth

处理 Treat- ment	幼苗均高 Height/ cm	鲜重 Weight (FW)/g	干重 Weight (DW)/g	处理 Treat- ment	幼苗均高 Height/ cm	鲜重 Weight (FW)/g	干重 Weight (DW)/g
M4	5.10	0.53	0.09	CK	2.60	0.26	0.04
	4.75	0.49	0.08		3.25	0.24	0.04
	5.20	0.69	0.12		4.38	0.43	0.07
	5.50	0.93	0.16		3.13	0.31	0.05
	4.08	1.26	0.22		2.83	0.37	0.06
	3.00	1.06	0.18		4.00	0.55	0.09

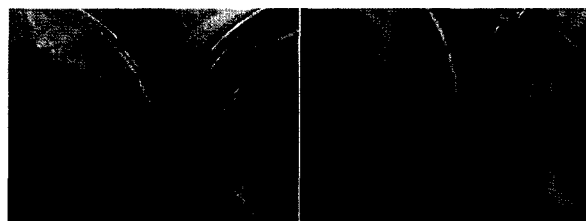


图 2 诱导生根的小苗

Fig. 2 Plantlets of rooting-induced

0.2 mg/L NAA 的培养基中芽的平均增殖倍数(3.09 ± 0.37)显著提高,说明 2 mg/L ZT 与 0.2 mg/L IBA 组合对磁处理后的外植体具有良好的芽分化与增殖效应。但是 0.2 mg/L IBA 所引起的芽增殖效应是其本身对芽的促进作用还是因磁处理后外植体内源激素等因素与外施 IBA 的协同作用,还需进一步研究。培养基 II 可显著促进芽的增殖、生长与干物质积累,幼苗生长健壮,为进一步转入生根提供了大量茁壮的材料。经过 97 kA/m 磁处理的茎段在生根优化培养基 1/2MS+NAA(0.1 mg/L)+IBA(0.1 mg/L)+牛血清白蛋白(30 mg/L)中,外植体诱导生根的长度极显著于对照,其平均根长达到(5.39 ± 0.68)cm,而对照仅为(2.12 ± 0.10)cm,这增加了植物与根生长介质的接触面积,有利于提高对营养元素的吸收。磁场诱导外植体的发根数量与对照相比没有显著差别。因此,经外加 97 kA/m 磁场处理的茎段,接种在优化培养基 MS+ZT(2 mg/L)+IBA(0.2 mg/L)+Vc(30 mg/L)中,能有效地提高滨梅不定芽的增殖倍数、促进芽的茁壮生长。生根培养基的优化与适宜磁场强度的结合,可在短时间内获得大量的优质幼苗。

一定强度的磁场能够影响细胞的分裂、伸长和分化,进而影响植物的生长。Garcia Fernandez 等通过施加不同强度的磁场,得出 200 mT 处理 1 min 和 160 mT 处理 25 min 对刺激洋葱种子的萌发、幼苗的高度和根长都有较好的结果^[9]。De Souza Torres, Angel 等用 120 mT 处理西红柿种子(Vyta) 10 min 和 80 mT 处理 5 min 对播种晚期的西红柿整体生长具有突出的正面作用^[10]。但是关于磁场对植物的生物学效应发生机理还知之甚少。有假设认为,经磁场处理的种子,通过激发蛋白质和酶活性等一系列生化过程,提高了其活力^[11]。Y. Negishi 等人报道,经过低场强磁处理的豌豆(*Pisum sativum* L. var. *Alaska*)幼苗的上胚轴延伸显著高于对照,与上胚轴细胞液渗透压的增大有关^[12]。而更多的研究指出,磁场导致了植物细胞膜一系列电生理如跨膜离子流的变化等行为进而影响细胞生理代谢^[13]。外源磁场对植物细胞超微结构的作用如线粒体嵴数、粗糙内质网和高尔基体的增多为细胞的生理代谢提供了结构基础^[14]。总之,磁场对生物体的磁效应机理非常复杂,它通过直接或间接影响细胞内的生化或微结构的变化而表现植物体的生长效应。可见磁场对植物的影响是在不同水平不同方向上进行的,共同影响着整个生物体的新陈代谢,表现出综合的磁效应。笔者通过对滨梅外植体施加不同强度的恒定磁场处理,促进了芽的增殖分化和植株再生,关于滨梅对磁场的生理响应及磁场作为一种信号及信号传导机制有待于进一步深入探索。

[参 考 文 献]

- [1] Graves. The beach plum, its written record[J]. The National Horticulture Magazine, 1944 (4):73-97.
- [2] Gemma J N, Koske R E. Arbuscular mycorrhizae in sand dune plants of the U S[J]. Journal of Environmental Management, 1997, 50:251-264.
- [3] Uva R H. Growth and yield of beach plum in horticultural, land restoration, and ecological systems[D]. America: Cornell University, 2003.
- [4] Whitlow T H, Uva R H. A new crop for new markets[J]. American Fruit Grower, 2004(4):24.
- [5] Kucinski K J, Eisenmenger W S. Sand dune stabilization on Cape Cod[J]. Economic Geography, 1943, 19(2):206-214.
- [6] Werner D J, Maness E P. Fruit anthocyanins in three sections of *Prunus*[J]. Hortscience, 1989, 24(3):488-489.
- [7] De Souza Torres A, Porras Leon E, Casate Fernandez R. Effect of magnetic treatment of tomato seeds(*Lycopersicon esculentum*) on germination and seedling growth[J]. Investigacion Agraria Produccion Proteccion Vegetales, 1999, 14(3):437-444.
- [8] Socorro A, Carbonell M V. Magnetic treatment of wheat seeds(*Triticum aestivum*) as a growth stimulating technique[J]. Alimentaria, 2002, 39(337):167-170.
- [9] Garcia Fernandez Dagoberto, de Souza Torres Angel, Sueiro Pelegrin Lilita. Effect of magnetic treatment of onion(*Allium cepa*) seeds on the germination and growth of seedlings[J]. Alimentaria, 2002, 39(337):181-186.
- [10] De Souza Torres A, Garcia Fernandez Dagoberto, Sueiro Pelegrin Lilita, et al. Stimulation of the growth and development of tomato plants (Vyta) by late period pre-sowing magnetic treatment[J]. Alimentaria, 2004, 41(351):99-104.
- [11] Jae-Duk Moon, Hwa-Sook Chung. Acceleration of germination of tomato seed by applying AC electric and magnetic fields[J]. Journal of Electrostatics, 2000, 48:103-114.
- [12] Negishi Y, Hashimoto A, Tsushima M, et al. Growth of pea epicotyl in low magnetic field implication for space research[J]. Adv Space Res, 1999, 23:2029-2032.
- [13] Francisco García Reina, Luis Arza Pascual, Livelisse Almanza Fundora. Influence of a stationary magnetic field on water relation in lettuce seeds[J]. Bioelectromagnetics, 2001, 22:596-602.
- [14] 毛 宁, 黄彦彦. 磁生物学效应的研究[J]. 生物学通报, 2000, 35(5):6-9.

(责任编辑 郑瑛琰)