

PP₃₃₃对怀山药试管苗生长及生理特性的影响

洪森荣^{1,2}, 李明军^{1*}

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453002; 2. 上饶师范学院生命科学系, 江西 上饶 334001)

摘要: 研究了 PP₃₃₃ 对怀山药试管苗生长及一些生理指标的影响, 结果表明, 一定浓度范围内的 PP₃₃₃ 可使植株矮小, 茎粗壮, 根数和根长增加, 同时也可使试管苗叶片中叶绿素和可溶性蛋白含量、POD 活力提高。因此, 适宜浓度的 PP₃₃₃ 可以改变怀山药试管苗的生理特性, 达到培育壮苗的目的。其中, 铁棍山药和太谷山药的最佳 PP₃₃₃ 浓度为 8 mg/L, 47 号山药、沙滩圆、济宁牛腿米、肿脖温 and 栗川野山药为 5 mg/L, B 号山药为 2.5 mg/L。

关键词: 怀山药; PP₃₃₃; 试管苗; 形态; 生理特性

中图分类号: S632.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2006)03-0080-05

Effects of PP₃₃₃ on the Morphological and Physiological Characteristics of *Dioscorea opposita* Thunb Plantlets

HONG Sen-rong^{1,2}, LI Ming-jun^{1*}

(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxing 453002, China;

2. Life Science Department, Shangrao Normal College, Shangrao 334001, China)

Abstract: The effects of PP₃₃₃ on the morphological and physiological characteristics of *Dioscorea opposita* Thunb plantlets were investigated by single factor design, Coomassie Brilliant Blue G-250 colorimetry, Guaiacol method and alcohol-acetone distill method. The results were as follows: PP₃₃₃ in a given concentration range could make the plantlets dwarf and robust, the number and length of roots increase; at the same time, PP₃₃₃ also increased the content of soluble protein and chlorophyll, and POD activity of the leaves. It could be concluded that the suitable concentration of PP₃₃₃ can improve the physiological characteristics of *Dioscorea opposita* Thunb plantlet; the suitable concentrations of PP₃₃₃ for different cultivars are the followings: 8 mg/L for Tiegun and Taig, 5 mg/L for No. 47, Shatanyuan, Jiningniutuimi, wild Zhongbowen and wild Luanchuan, 2.5 mg/L for No. B.

Key words: *Dioscorea opposita* Thunb; PP₃₃₃; Plantlet; Morphology; Physiological characteristics

收稿日期: 2005-10-31

基金项目: 河南省重点科技攻关项目(0123030900, 0324420016)

作者简介: 洪森荣(1974-), 男, 江西永新人, 讲师, 主要从事细胞生物学和植物生物技术方面的研究。

通讯作者: 李明军(1962-), 男, 河南温县人, 教授, 主要从事植物生理学和植物生物技术方面的研究。

核期前增施肥水对提高品质有很重要的作用。

参考文献:

- [1] 邓月娥, 张传来, 牛立元, 等. 桃果实发育过程中主要营养成分的动态变化及其系统分析方法研究[J]. 果树科学, 1998, 15(1): 48-52.
- [2] 许晖, 王飞, 郝文红. 甜樱桃果实发育及其营养成分的

变化[J]. 果树科学, 1992, 9(4): 334-338.

- [3] 高丽萍, 陶汉之, 夏涛, 等. 猕猴桃果实发育期营养成分的变化[J]. 果树科学, 1994, 11(3): 181-182.
- [4] 杨勇丽, 崔成东, 周恩. 黑醋栗果实成熟过程中主要营养成分变化规律研究[J]. 园艺学报, 1994, 21(1): 21-25.
- [5] 甘林, 谢永红, 吴正琴. 嘉平大枣果实发育过程中糖、酸及维生素C含量的变化[J]. 园艺学报, 2000, 27(5): 317-320.

怀山药(*Dioscorea opposita* Thunb) 又名薯蓣, 是薯蓣科薯蓣属多年生缠绕性藤本植物, 主产于河南省焦作市的温县、武陟、沁阳等地(古怀庆府所辖), 药食兼优。入药, 具有健脾、补脾、固肾、益精、助五脏、强筋骨、益气力之功效^[1]; 食用, 营养价值高, 为滋补佳品, 故素有“怀参”之称, 其产品不仅畅销国内各地, 还远销港澳地区和东南亚以及欧美等地。

PP₃₃₃是英国帝国化学公司(ICI)于20世纪70年代末推出的一种高效低毒的植物生长延缓剂, 国内称其为多效唑(Multi-effect Triazole, MET), 又名氯丁唑, 在农作物、果树、花卉、蔬菜中广泛应用, 具有延缓植物生长、抑制茎枝伸长, 使茎秆粗壮, 促进分蘖、根系发达、成花和坐果, 增强抗寒及抗旱性, 提高耐盐性和延缓植物衰老等多种效应^[2]。PP₃₃₃应用于植物组织培养, 在控制试管苗生长, 提高移栽成活率等方面具有明显效果^[3,4]。20世纪90年代中期, 我们开始对怀山药的愈伤组织诱导、分化和再生植株的生长调控、快繁进行研究, 但在研究中发现怀山药试管苗细弱, 移栽成活率较低, 严重影响了优良品种试管苗的迅速推广应用。为了培育壮苗, 提高移栽成活率, 将PP₃₃₃应用到怀山药种质资源的组培中并取得了良好的效果。本试验研究的是PP₃₃₃对怀山药种质资源试管苗生长发育和一些生理指标的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验材料为河南师范大学“四大怀药”组织培养室继代培养的怀山药无菌苗, 共有8个品种, 分别为铁棍山药(道地的怀山药)、47号山药(铁棍山药和滑县山药的杂交种)、B号山药、太谷山药、沙滩圆、济宁牛腿米、肿脖温和栾川野山药。

1.2 试验方法

以MS为基本培养基并附加2 mg/L KT、0.02 mg/L NAA 和 0(ck), 0.1, 0.5, 1, 2, 2.5, 5, 8, 10 mg/L PP₃₃₃。培养基中蔗糖浓度均为3%, 琼脂浓度为0.6%, 调pH值为5.8~6.2, 培养容器为2.5 cm×20 cm的大试管, 每个试管中装20 ml培养基, 加盖封口膜, 在1.1 kg/cm²的压力下灭菌20 min。

在超净工作台上, 把无菌试管苗切成1.5 cm左右带2~3片叶的小段, 随机接种在各种培养基上, 每个试管中接1段, 每种培养基接种30管, 培养条件为(25±2)℃, 每天光照14 h, 光照强度为2 000 lx。

培养期间观测记录培养材料的茎长、芽数、根长、根数等形态变化。60 d后统计各山药品种试管苗的各项形态指标并测定其叶片的生理生化指标, 可溶性蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝G-250比色法^[5]; 过氧化物酶(POD)活力的测定采用愈创木酚一过氧化氢法^[6]; 叶绿素含量的测定采用无水乙醇一丙酮提取法^[7]。

2 结果与分析

2.1 PP₃₃₃对怀山药试管苗生长的影响

从图1、图2、图3和图4可知, PP₃₃₃处理后, 怀山药试管苗的株高受到严重抑制, 浓度越高, 抑制效果越明显; 但PP₃₃₃可以促进茎粗的增加, 两者呈正比例关系; 同时PP₃₃₃还可使山药试管苗的根数增加, 并且根长也随PP₃₃₃浓度增加而增长, 但达到一定浓度时, 则根数开始减少, 根变短。各怀山药品种处理的最佳PP₃₃₃浓度各不相同, 铁棍山药和太谷山药为8 mg/L, 47号山药、沙滩圆、济宁牛腿米、肿脖温和栾川野山药为5 mg/L, B号山药为2.5 mg/L。当PP₃₃₃浓度超过各品种的最佳浓度, 则怀山药试管苗将出现叶片枯黄植株死亡现象。

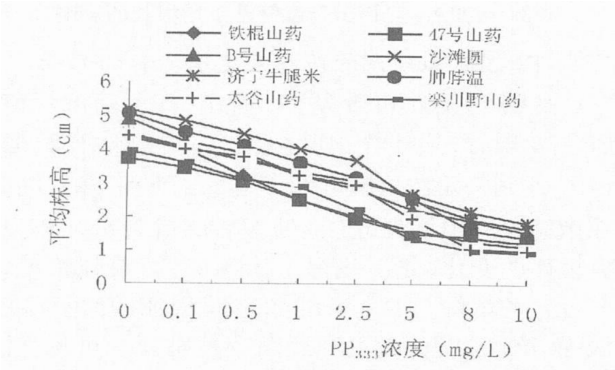


图1 PP₃₃₃对怀山药试管苗平均株高的影响

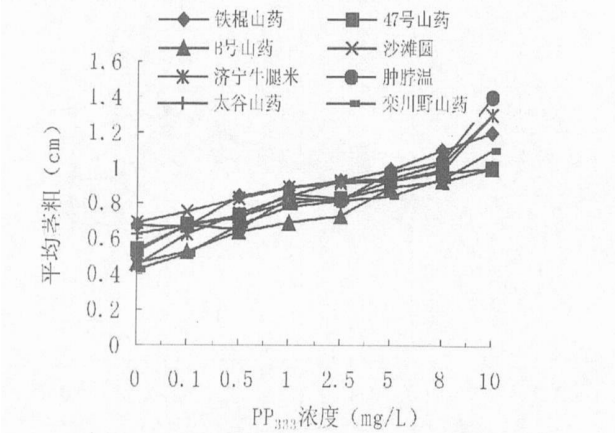


图2 PP₃₃₃对怀山药试管苗平均茎粗的影响

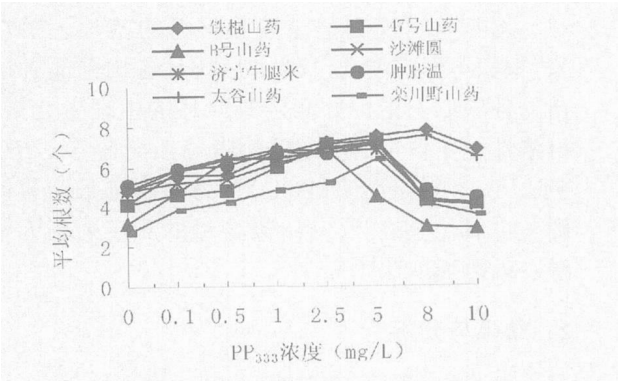


图 3 PP₃₃₃对怀山药试管苗平均根数的影响

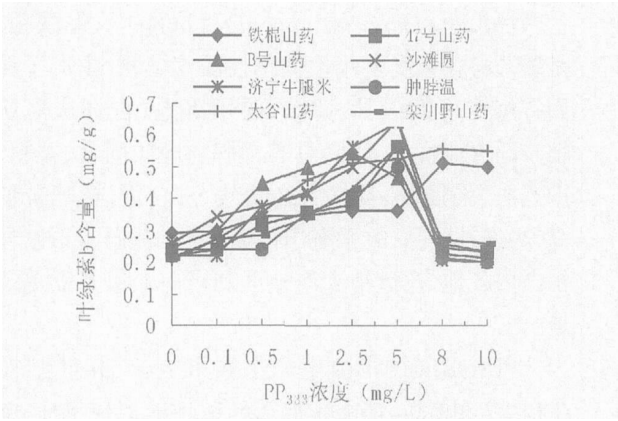


图 6 PP₃₃₃对怀山药试管苗叶片叶绿素 b 的影响

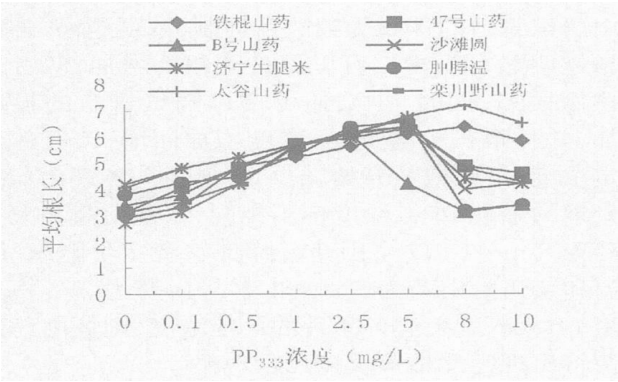


图 4 PP₃₃₃对怀山药试管苗平均根长的影响

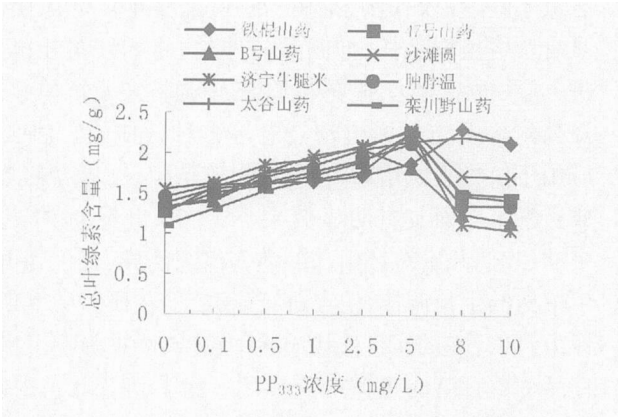


图 7 PP₃₃₃对怀山药试管苗叶片总叶绿素的影响

2.2 PP₃₃₃对山药试管苗叶片生理指标的影响

从图 5、图 6 和图 7 可以看出，怀山药试管苗经 PP₃₃₃处理后，其叶片中叶绿素含量显著增加，但当 PP₃₃₃达到一定浓度时叶绿素含量开始下降。同时，在试验过程中发现，PP₃₃₃处理后的试管苗叶色呈现规律的变化，先由浅绿变为深绿，至最佳浓度时，叶色转为浓绿，PP₃₃₃浓度如继续增加，叶色又变为浅绿，浓度过大，叶色则逐渐变黄枯死。可见，叶绿素含量变化与试管苗的叶色变化相一致。

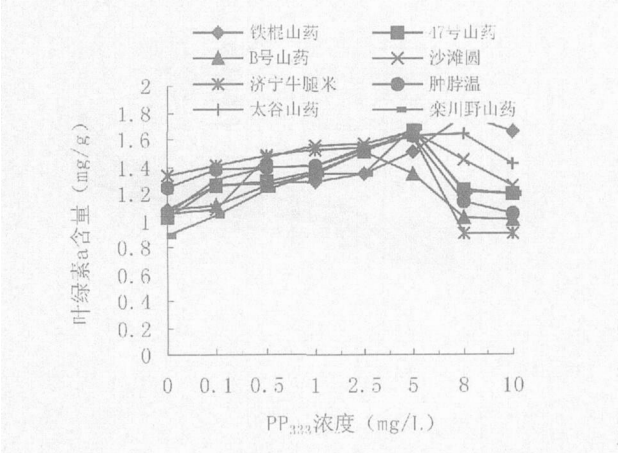


图 5 PP₃₃₃对怀山药试管苗叶片叶绿素 a 的影响

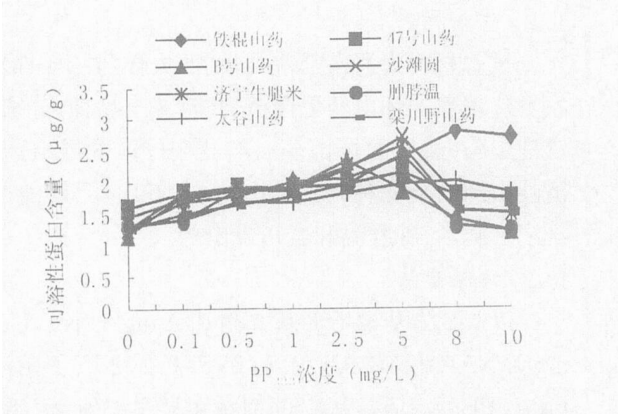


图 8 PP₃₃₃对怀山药试管苗叶片可溶性蛋白含量的影响

从图 8 可以看出，怀山药试管苗经 PP₃₃₃处理后，其可溶性蛋白含量随浓度增加而增加。除铁棍山药和太谷山药外，其余品种均在 PP₃₃₃达到一定浓度时可溶性蛋白含量开始下降。

从以上生理指标的变化可以看出，各怀山药品种处理的最佳 PP₃₃₃浓度各不相同，铁棍山药和太谷山药为 8 mg/L，47 号山药、沙滩圆、济宁牛腿米、肿

腺温和栾川野山药为 5 mg/L, B 号山药为 2.5 mg/L, 这一点与 PP₃₃₃对怀山药种质资源试管苗的形态变化规律一致。

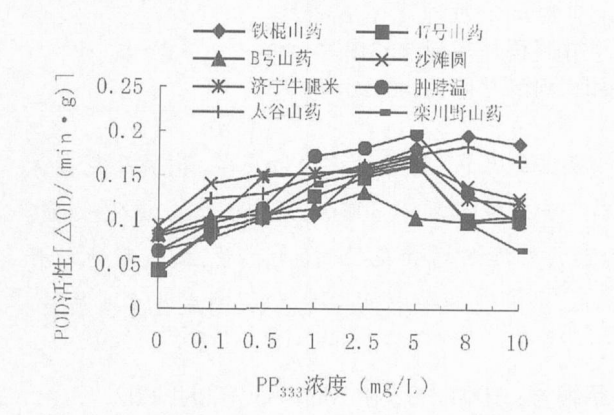


图 9 PP₃₃₃对怀山药试管苗叶片 POD 活性的影响

3 结论与讨论

PP₃₃₃属于含氮杂环化合物中的三唑类化合物,含氮杂环化合物的共同特性是杂环上含有 SP²—杂化氮的化合物,氮分子周围有 1 对孤电子对,这个孤电子对可以与植物体中单加氧酶内的 Cy tP₄₅₀相互作用,作为第 6 配位体结合到 Cy tP₄₅₀的正铁血红素的铁上,替代催化反应需要的氧,因此,单加氧酶就失活。贝壳杉烯氧化为贝壳杉烯酸的过程是由微粒体膜上的含有 Cy tP₄₅₀的氧化酶(单加氧酶)催化的。多效唑的靶酶就是贝壳杉烯氧化酶,主要通过阻止从内—贝壳杉烯(ent—kaurene)到内—贝壳杉烯酸(ent—kaurenoic acid)的转化而抑制 GA 的生物合成^[8]。

试验证明,多效唑可以抑制怀山药试管苗的纵向生长,促进其横向生长,而且随着浓度的增大,其抑制效果更加显著,同时多效唑还可促进试管苗生根和根的生长,但浓度的增大也对试管苗本身造成毒害,当多效唑浓度达到了 5~10 mg/L 时,试管苗开始出现叶片枯黄死亡、生根数减少等现象。这与 PP₃₃₃对其他植物如马铃薯^[9]、啤酒花^[10]的效果一致。据报道,多效唑导致植株茎秆矮化和叶片变小的原因主要是由于细胞变短,而不是多效唑抑制细胞分裂引起的细胞数量的减少;多效唑能使叶片增厚,茎秆和根系增粗,主要是多效唑促进细胞分裂,使细胞排列层次增多,而不是细胞体积增大^[11]。

此外,多效唑处理还可增加植物叶绿素、蛋白质及核酸的含量,促进次生根分化,增强根部吸收能力^[12]。在本试验中,经生理生化指标测定,怀山药

试管苗经 PP₃₃₃处理后,其叶片中叶绿素和可溶性蛋白含量增加,POD 活性升高,但当 PP₃₃₃浓度继续增大时,则会造成叶绿素和可溶性蛋白含量下降、POD 活性降低。这和多效唑对圆叶决明^[13]、苹果^[14]和盾叶薯蓣^[15]的作用效果是一致的。叶绿素是植物进行光合作用原初反应的光能“捕获器”,同时又在光能传递与转换中起着重要作用。其含量的多少将直接影响光合作用进行的快慢。在一定范围内,叶绿素含量越多,光合越强。光合作用的提高则又会加速糖类的合成,糖是维持生命活动的主要能源,其含量的增加必然会促进植物的生长发育。在可溶性蛋白质中,对光合作用过程有重要贡献的二氧化碳固定酶(RuBP 羧化酶)占可溶性蛋白质的 50%,随着叶片的老化这种对光合作用有重要贡献的酶迅速被分解,它是老化过程中叶片光合作用机能迅速减退的重要原因,因而,可溶性蛋白质含量变化也是反映叶片功能及衰老的可靠性指标之一,所以可溶性蛋白含量的增加必将使试管苗的代谢加强,生长更加健壮。POD 是植物膜脂过氧化酶促防御系统的重要保护酶,在植物抵抗伤害、阻止衰老的过程中,可能起着防止、中断或终止膜脂过氧化对细胞膜系统损伤的酶性保护作用^[16],因此可以认为,PP₃₃₃处理后,怀山药试管苗维持较高水平的叶绿素和可溶性蛋白含量以及 POD 活性,有利于抑止衰老,延缓枯黄。但卢敏等^[17]研究发现,PP₃₃₃处理虽然抑制了植株地上部生长,增强了生根力,但却降低了小麦的过氧化物酶活性,原因是 PP₃₃₃具有促下控上的作用^[18],使 P_{ro} 含量升高,POD 活性降低,根系活力增强,从而也提高植株抗性,延迟衰老;蔡永萍等^[19]也发现,随着番茄叶片的衰老,POD 活性逐渐增加,而 PP₃₃₃处理后则能显著降低叶片衰老过程中的 POD 活性。所以,PP₃₃₃的作用机理还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 聂桂花. 怀山药的研究进展[J]. 中草药, 1993, 24(3): 158—160.
[2] 李明军. 多效唑——一种优良植物生长调节剂[J]. 植物学通报, 1995, 12(2): 27—31.
[3] 陈龙清, 张雨琴, 袁芳亭. PP₃₃₃及矮壮素对地被菊试管苗生根的影响[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(5): 425—427.
[4] 窦敏, 陈兆益. PP₃₃₃在粉蕉试管苗生产中的应用初探[J]. 中国南方果树, 2003, 32(5): 31.
[5] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein—dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248—254.

露地牡丹花期调控研究初探

侯小改^{1,2}, 刘改秀³, 段春燕², 刘素云², 吕静霞², 戴攀峰²
(1. 北京林业大学, 北京 100083; 2. 河南科技大学, 河南 洛阳 471003;
3. 中国洛阳国家牡丹基因库, 河南 洛阳 471006)

摘要: 研究了多效唑和赤霉素及去叶处理对露地牡丹“国庆节”期间开花的着花量、花径及花期等的影响, 结果表明: 用多效唑和去叶做前处理效果好, 多效唑浓度以 300 mg/L 或 150 mg/L 为宜。8 月上旬进行多效唑和去叶处理, 8 月下旬进行赤霉素处理对增加花径, 提高花量, 促进露地牡丹“国庆节”开花有益。在品种选择上, 应选择重瓣性低、易开花的早中花品种, 以提高成花率及质量。

关键词: 牡丹; 露地栽培; 花期调控

中图分类号: S685.11 文献标识码: A 文章编号: 1004—3268(2006)03—0084—02

牡丹(*Paeonia suffruticosa* Andr.) 为芍药科芍药属名贵的观赏植物和药用植物^[1], 其花朵硕大, 色彩艳丽, 富贵端庄, 芳香溢人, 倍受国人喜爱。但是, 牡丹花期集中, 自然花期短, 如果能在“五一”及“十一”长假期间观赏到大面积盛开的地栽牡丹, 不但能满足市民及游人的愿望, 同时, 也能极大地提高地方经济收入。目前, 采取遮荫等措施基本可以满足“五一”赏花的愿望, 但对于促使牡丹“十一”开花, 研究者较少。虽然也有研究者对秋季大田牡丹催花技术进行了探讨^[2,3], 但由于技术措施不详及开花

质量较差等原因而未大面积推广。鉴此, 2004 年, 对露地牡丹“十一”催花技术进行了探索, 以期掌握露地牡丹“十一”催花技术, 从而实现花期调控的目的。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用材料均为中国洛阳国家牡丹基因库提供的露地栽培牡丹。品种有洛阳红、朱砂垒、似荷莲。每品种 27 株, 分为 5 组(第 1~2 组每品种 9 株; 第 3~5 组每品种 3 株)。

收稿日期: 2005—09—11
基金项目: 河南省科技攻关项目(052403004)
作者简介: 侯小改(1966—), 女, 河南焦作人, 副教授, 在读博士, 主要从事园艺植物生理生态及生物技术研究工作。

[6] 张龙翔, 张庭芳, 李令媛. 生化实验方法和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997. 188—192.

[7] 龚富生, 张嘉宝. 植物生理学实验[M]. 北京: 气象出版社, 1995. 73—76.

[8] Rademacher W. Growth retardants: Effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways[J]. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Bio, 2000, 51: 501—531.

[9] 张志军, 李会珍, 姚宏亮, 等. 多效唑对马铃薯试管苗生长和块茎形成的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(3): 318—322.

[10] 刘彤, 陈芳, 蒋文伟, 等. 多效唑(MET)对啤酒花试管苗生长和移栽的影响[J]. 西北植物学报, 2001, 21(5): 1018—1021.

[11] 刘兆良, 沈岳清, 盛敏智, 等. 多效唑对部分作物植株组织结构的影响[J]. 上海农业学报, 1995, 11(3): 43—47.

[12] 李宗霞, 周燮. 植物激素及其免疫检测[M]. 南京: 南京科学技术出版社, 1996. 80—195.

[13] 方金梅, 黄毅斌, 翁伯奇, 等. 初花期喷施多效唑对圆叶决明植株性状及光合效率的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(2): 131—133.

[14] Wang S Y, Byun J K, Steffens G L. Controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system. II. Biochemical and physiological alterations in apple seedlings[J]. Physiol Plant, 1985, 63: 163—168, 168—175.

[15] 肖春桥, 李家儒, 朱广慧. 多效唑对盾叶薯蓣叶片活性氧代谢与膜脂过氧化反应的影响[J]. 武汉植物学研究, 2003, 21(2): 170—174.

[16] 陈少裕. 膜脂过氧化对植物细胞的伤害[J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(2): 84—90.

[17] 卢敏, 李琳一, 张莹, 等. 多效唑和赤霉素对小麦生物效应的比较研究[J]. 吉林农业大学学报, 1998, 20(1): 40—41, 54.

[18] 施天生, 陆定志. S—3307、PP₃₃₃对水稻幼苗根系和地上部生长影响的比较(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(4): 272—274.

[19] 蔡永萍, 严景华, 张鹤英. PP₃₃₃延缓番茄叶片衰老的生理效应及其与 ABA 的关系[J]. 安徽农业大学学报, 1995, 22(3): 277—281.