

PP₃₃₃对怀地黄试管苗形态及生理特性的影响

李明军, 徐 鑫, 张晓丽, 杜 琳

(河南师范大学 生命科学院, 河南 新乡 453007)

摘 要: 研究 PP₃₃₃对怀地黄试管苗生长及一些生理指标的影响。通过单因子实验、比色法和愈创木酚法探讨 PP₃₃₃对试管苗的影响。结果表明,不同浓度 PP₃₃₃均促进试管苗芽的萌发,使根系粗壮,根数增加,低浓度 PP₃₃₃(0.01、0.05 mg·L⁻¹)促进试管苗茎的伸长生长,高浓度(0.1、2 mg·L⁻¹)抑制茎、叶生长,PP₃₃₃浓度为 2 mg·L⁻¹时壮苗效果最佳。PP₃₃₃处理使试管苗生长中期叶片可溶性蛋白含量、POD 活力提高。适宜浓度的 PP₃₃₃可以改变试管苗的生理特性,达到培育壮苗的目的。

关键词: 怀地黄; PP₃₃₃; 试管苗; 形态; 生理指标

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)02-0250-05

Effects of PP₃₃₃ on morphological and physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets

LI Ming-Jun, XU Xin, ZHANG Xiao-Li, DU Lin

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: The effects of PP₃₃₃ on form and physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets were studied. The effect of PP₃₃₃ were explored by single factor design, colorimetry and Guaiacol process. The results showed that different concentration of PP₃₃₃ could improve the buds pullulation, increase the numbers of adventitious roots and make them stronger. Lower concentrations of PP₃₃₃(0.01, 0.05 mg·L⁻¹) accelerated the extension of stems but higher concentrations (0.1, 2 mg·L⁻¹) inhibited the upgrowth of stems and leaves. PP₃₃₃ (2 mg·L⁻¹) was suitable to produce strong plantlets. PP₃₃₃ also increased content of soluble protein and activity of POD in leaves during middle time of upgrowth. Suitable concentration of PP₃₃₃ can improve the physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets to produce strong ones.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch; PP₃₃₃; plantlet; morphological; physiological indexes

怀地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)是玄参科多年生草本植物,是我国著名的“四大怀药”之一,其块茎含有地黄多糖、梓醇等药用成分,有补血滋阴、生精益髓、强心、降压、降血糖等功效(侯士良等,1994),因其品质好、药效高而畅销国内外。

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,它属于含氮杂环化合物中的三唑类化合物,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

收稿日期: 2005-05-23 修回日期: 2006-01-10

基金项目: 河南省重点科技攻关项目(0423032100)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Henan (0423032100)]

作者简介: 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的教学和研究, E-mail: limingjun2002@263.net

缓植物生长、抑制茎枝伸长,使茎秆粗壮,促进分蘖、根系发达、成花和座果,增强抗旱及抗旱性,提高耐盐性和延缓植物衰老等多种效应。PP₃₃₃应用于植物组织培养,在控制试管苗健壮生长,提高移栽成活率等方面具有明显效果(陈龙清等,2000;窦敏等,2003)。90年代中期我们开始对怀地黄的愈伤组织诱导、分化和再生植株的生长调控、快繁进行了研究,但在研究中发现怀地黄试管苗细弱,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,我们将 PP₃₃₃应用到怀地黄的组培中并取得了良好的作用效应。本文报道的是 PP₃₃₃对怀地黄试管苗生长发育和一些生理指标的影响。

1 材料与方法

以本组培研究室的怀地黄优良品种“9302”的无菌试管苗为材料。以 MS 为基本培养基并附加不同浓度的 PP₃₃₃ (0、0.01、0.05、0.1、2.0 mg · L⁻¹),蔗糖浓度均为 3%,琼脂浓度为 0.6%,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 · cm⁻² 的压力下灭菌 20 min。

在超净工作台上,把无菌试管苗切成 2 cm 左右带 2~3 片叶的小段,随机接种在各种培养基上,每个试管中接一段,每种培养基接种 30 管,培养条件为 25 ± 2 °C,每天光照 14 h,光照强度 2 000 μmol · m⁻² · s⁻¹。

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,最后测根冠比(鲜重)。茎长、根长用直尺测量,根冠比用快速称重法测定。每 5 d 测量叶片生理指标,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 比色法测定,可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法,POD 活力测定采用愈创木酚一过氧化氢法。

2 结果

2.1 PP₃₃₃对怀地黄试管苗生长的影响

2.1.1 对茎生长的影响 连续观察表明,低浓度(0.01、0.05 mg · L⁻¹)PP₃₃₃处理的试管苗茎生长速率开始时较慢以后加快,茎增长量显著高于对照,试管苗叶片大但叶色较浅,茎较细;高浓度 PP₃₃₃(0.1、2 mg · L⁻¹)处理的试管苗茎增长量低于对照,PP₃₃₃浓度为 2 mg · L⁻¹时,试管苗茎粗壮,叶肥厚深绿,壮苗效果最佳(图版 I :1,表 1)。

2.1.2 对芽分化的影响 添加 PP₃₃₃可以促进腋芽的萌发,与对照相比,不同浓度 PP₃₃₃处理的试管苗腋芽萌发数量均增加(表 1)。

2.1.3 对生根的影响 与对照相比,不同浓度 PP₃₃₃处理的试管苗比对照晚 3 d 生根,培养的前 15 d 生根少,以后生根的条数迅速增加,根粗壮且侧根较多,呈浅黄褐色,根长与 PP₃₃₃浓度呈负相关(图版 I :2,表 1)。在 0.01~2 mg · L⁻¹之间,PP₃₃₃浓度与根数呈抛物线型关系,PP₃₃₃ 0.1 mg · L⁻¹时,根数最多,达 80.4,约为对照的 2 倍(表 1)。

2.1.4 对根冠比的影响 各种浓度(0.01~2.0 mg · L⁻¹)的 PP₃₃₃均能显著增加根冠比,其中以 0.05 mg · L⁻¹的处理根冠比最大(表 1)。

表 1 PP₃₃₃对怀地黄试管苗形态的影响(培养 25 d)
Table 1 Effect of PP₃₃₃ on form of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets

PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ Concentration (mg · L ⁻¹)	茎增长量(cm) (%) Increment of stem growth	芽数(%) Number of bud	根数(%) Number of root	根长(cm) (%) Length of root	根鲜重/冠鲜重(%) Fresh weight of root to fresh weight of shoot ratio
0.0	3.7 (100.0)	0.6 (100.0)	41.0 (100.0)	6.5 (100.0)	0.170 (100.0)
0.01	5.1 (139.7)	1.2 (200.0)	54.0 (131.7)	6.0 (92.3)	0.247 (145.3)
0.05	5.0 (137.0)	0.8 (133.3)	59.6 (145.4)	5.0 (76.9)	0.365 (214.7)
0.1	3.5 (95.9)	1.2 (200.0)	80.4 (196.1)	4.2 (64.6)	0.280 (164.7)
2.0	2.2 (60.3)	1.0 (166.7)	43.6 (106.3)	3.8 (58.5)	0.296 (174.1)

注:表 1 中的根为不定根。 Note: Roots in table 1 are all adventitious.

2.2 PP₃₃₃对怀地黄试管苗叶片生理指标的影响

2.2.1 可溶性蛋白含量的变化 不同浓度 PP₃₃₃处理的怀地黄试管苗叶片中可溶性蛋白含量均呈先下降再上升又下降的趋势,与对照相比从培养 7 d 开

始可溶性蛋白含量维持较高水平(图 1)。

2.2.2 POD 活力的变化 不同处理怀地黄试管苗叶片 POD 活力变化均呈先降后升再降的趋势(图 2)。低浓度(0.05 mg · L⁻¹)PP₃₃₃处理 0~15 d POD

活力高于对照,高浓度 PP_{333} ($2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 培养 5~10 d POD 活力上升快,出现的高峰显著高于对照,之

后又迅速下降。

2.2.3 可溶性糖含量的变化 叶片中可溶性糖含量



PP_{333} 0 0.01 0.05 0.1 2 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)



PP_{333} 0 0.01 0.05 0.1 2 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)

图版 I PP_{333} 对怀地黄试管苗茎、叶 (1) 及根 (2) 生长的影响 (培养 25 d)
Plate I Effect of PP_{333} concentration on stem, leaf (1) and root (2) of plantlet of *Rehmannia glutinosa* Libosch (25 days after isolation)

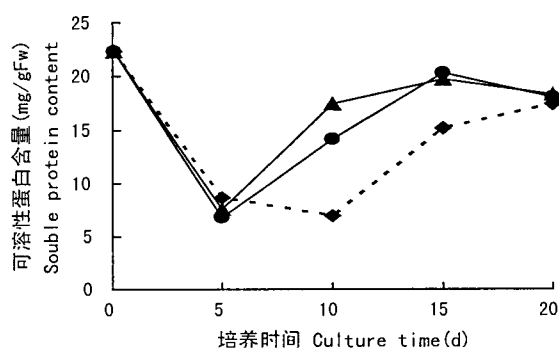


图 1 PP₃₃₃ 对怀地黄试管苗叶片可溶性蛋白含量的影响
Fig. 1 Effect of PP₃₃₃ on the content of soluble protein in leaves of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets

◆ CK; ▲ PP₃₃₃ 0.05 mg·L⁻¹; ● PP₃₃₃ 2.0 mg·L⁻¹ (下同, The same below).

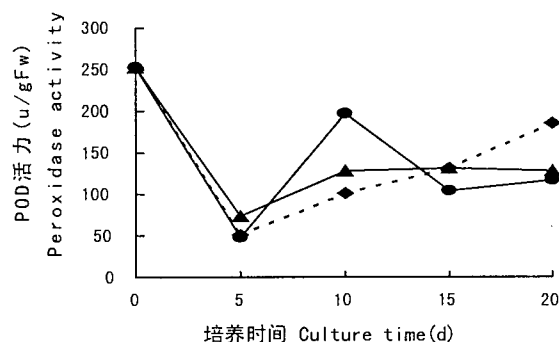


图 2 PP₃₃₃ 对怀地黄试管苗叶片 POD 活力的影响
Fig. 2 Effect of PP₃₃₃ on the activity of POD in leaves of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets

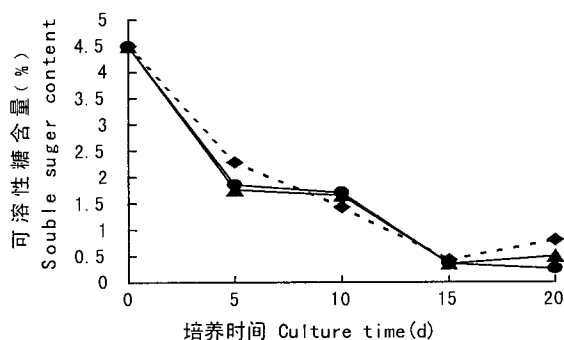


图 3 PP₃₃₃ 对怀地黄试管苗叶片可溶性糖含量的影响
Fig. 3 Effect of PP₃₃₃ on the content of soluble sugar in leaves of *Rehmannia glutinosa* Libosch plantlets
呈逐渐下降趋势。培养 10 d 左右可溶性糖含量高于对照, 其它均低于对照(图 3)。

3 讨论

PP₃₃₃ 是一种植物生长延缓剂, 在 GA 的生物合成中可以通过阻止贝壳杉烯氧化为贝壳杉烯酸而抑制 GA 的生物合成, 从而延缓植物的生长(李明军, 1995; Rademacher, 2000)。在生产中利用 PP₃₃₃ 抑制植株徒长、培育壮苗, 效果十分明显。本试验结果表明, PP₃₃₃ 促进了怀地黄试管苗腋芽的萌发, 使根系粗壮, 高浓度的 PP₃₃₃ 抑制试管苗茎伸长, 低浓度 PP₃₃₃ 促进试管苗茎伸长, 这与 PP₃₃₃ 在怀山药上的应用效果(李明军, 2004)是一致的。

可溶性蛋白可以生动地反映出植物体的代谢强度, 它不仅积极参与新器官的建成, 而且有相当一部分就是直接调控各种生化反应的酶。PP₃₃₃ 处理可以提高山楂叶片可溶性蛋白含量(杨晓玲等, 1994)。本试验也发现使用 PP₃₃₃ 可提高怀地黄试管苗生长中期叶片可溶性蛋白含量, 这有利于各项代谢活动的进行, 使植株生长健壮, 抗逆性提高。

我们的研究表明, PP₃₃₃ 处理后降低了怀地黄叶片中可溶性糖的含量, 这一结果与 Wang 等(1985)在苹果上的实验结果一致。这可能是 PP₃₃₃ 促进光合产物向根部运转, 从而降低叶片可溶性糖含量的缘故。

PP₃₃₃ 处理可以提高多种植物 POD 活力(卢元芳, 2000; 卢少云等, 2003), 这可能是 PP₃₃₃ 减少了 GA 对 POD 活性抑制造成的(潘瑞炽等, 1995)。POD 参与活性氧代谢和木质素的合成(田国忠等, 2001), 可以延缓叶片衰老, 增强次生壁的木化程度, 加速植物细胞的定型, 它具有 IAA 氧化酶活性(吴明江等, 1994), 通过降低 IAA 含量抑制植物生长。研究发现 POD 可以抑制茎叶生长, 且株高与 POD 活性呈显著负相关(马智宏等, 2000)。本试验结果显示, 高浓度 PP₃₃₃ 可以提高怀地黄试管苗中期叶片中 POD 活力, 从而抑制了茎、叶的生长, 使用低浓度 PP₃₃₃ 后 POD 活力上升慢, 没有抑制茎、叶生长, 其机理有待进一步研究。

参考文献:

- 李明军. 2004. 怀山药组织培养及其应用[M]. 北京: 科学出版社: 114
- 吴明江, 于萍. 1994. 植物过氧化物酶的生理作用[J]. 植物学杂志, 6: 14-16
- 侯士良, 袁秀蓉, 王宪龄, 等. 1994. “四大怀药”的药效学研究

- [J]. 河南中医药学刊, 9(1): 11—13
- 窦敏, 陈兆益. 2003. PP₃₃₃ 在粉蕉试管苗生产中的应用初探 [J]. 中国南方果树, 32(5): 31
- 潘瑞炽, 董愚得. 1995. 植物生理学[M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社: 196
- Chen LQ(陈龙清), Zhang YQ(张雨琴), Yuan FT(袁芳亭). 2000. Effects of PP₃₃₃ and CCC on rooting of tube-plantlet in ground-cover *Chrysanthemum* (PP₃₃₃ 及矮壮素对地被菊试管苗生根的影响) [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 36(5): 425—427
- Li MJ(李明军). 1995. Met—An effective plant growth regulator (多效唑——一种优良植物生长调节剂) [J]. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 12(2): 27—31
- Lu SY(卢少云), Chen SM(陈斯曼), Chen SP(陈斯平), et al. 2003. Effects of ABA, paclobutrazol and uniconazole on the drought resistance of berm udagrass (ABA、多效唑和烯效唑提高狗牙根抗旱性的效应) [J]. *Acta Pratacul Sin* (草业学报), 12(3): 100—104
- Lu YF(卢元芳). 2000. Effect of seed soaking with PP₃₃₃ on seed germination and seedling growth of Qufu fragrant rice (PP₃₃₃ 浸种对曲阜香稻种子萌发与幼苗生长的效应) [J]. *Plant Physiol Commun* (植物生理学通讯), 36(4): 321—322
- Ma ZH(马智宏), Jia RZ(贾瑞智), Guan JF(关军锋). 2000. Effects of PP₃₃₃ on growth and physiology of carnation (PP₃₃₃ 对香石竹生长及生理的影响) [J]. *J Shenyang Agric Univ* (沈阳农业大学学报), 31(6): 570—571
- Rademacher W. 2000. Growth retardants: Effects on gibberellin biosynthesis and other metabolic pathways [J]. *Amu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 51: 501—31
- Tian GZ(田国忠), Li HF(李怀方), Qiu WF(裘维蕃). 2001. Research advances on research of plant Peroxidases (植物过氧化物酶研究进展) [J]. *J Wuhan Bot Res* (武汉植物学研究), 19(4): 332—344
- Wang SY, Byun JK, Steffens GL. 1985. Controlling plant growth via the gibberellin biosynthesis system. II. Biochemical and physiological alterations in apple seedlings [J]. *Physiol Plant*, 63: 163—168, 168—175
- Yang XL(杨晓玲), Xiang DF(项殿芳), Zhang PY(张培玉), et al. 1994. Effects of paclobutrazol on some physiological indices of hawthorn trees (多效唑对山楂树某些生理指标的影响) [J]. *Acta Hort Sin* (园艺学报), 21(3): 297—298

《广西植物》声明

为扩大期刊的影响, 推进科技信息交流的网络化进程, 更好地为广大植物学工作者服务, 本刊已先后入编《中国学术期刊(光盘版)》、万方数据——数字化期刊群、中文科技期刊数据库及台湾中文电子期刊服务——思博网 CEPS 等出版介质。

凡向本刊投稿并被录用的稿件, 将由编辑部统一纳入《中国学术期刊(光盘版)》、万方数据——数字化期刊群等出版介质, 为广大读者提供信息服务。若有不同意的, 请在投稿时予以说明。本刊在付给作者的稿酬中已包含以上各种出版介质的服务报酬, 不再另付。