

植物生长抑制剂对淮山药组培苗生长的影响*

丰锋 叶春海 郭锦云 李发钦

摘要 以淮山药茎段为材料,以 MS 为基本培养基,在(25±1)℃,光照强度 24~30μmol/m²·s,光照时间 10h/d 条件下研究多效唑、矮壮素、缩节胺、丁酰肼 4 种植物生长抑制剂对淮山药组培苗生长的影响。结果表明,多效唑 0.75mg/L、矮壮素 1.00mg/L、缩节胺 3.00mg/L、丁酰肼 6.00mg/L 能提高淮山药不定芽增殖率、植株矮化和更健壮。MS + NAA 0.04mg/L + KT 2.5mg/L + Ad 5mg/L + PVP 300mg/L 与矮壮素 1.00mg/L 结合增殖效果较好,增殖率为 2.31。

关键词 淮山药;组织培养;植物生长抑制剂

淮山药(*Dioscorea alata* Linn.)为薯蓣科薯蓣属的一种缠绕草本肉质块茎植物^[1],是我国著名的“四大淮药”之一^[2],以块茎和零余子入药,具有健脾、补肺、益肾的功能,主治肺虚咳嗽、脾虚腹泻、糖尿病等症,久服则耳聪目明,轻身不饥延年^[3]。其产品畅销国内外^[1]。

多效唑(P₃₃₃)是一种植物生长抑制剂,通过阻碍贝壳杉烯向异贝壳杉烯酸的氧化,抑制生物体内赤霉素的生物合成,从而抑制植物的生长^[4],抑制茎枝的伸长,促进分蘖,增强抗旱及抗寒性,提高耐盐性和延缓植物衰老,形态效应持续时间较长^[5,6]。矮壮素(CCC)是赤霉素的拮抗剂,可抑制生物体内赤霉素的生物合成,控制植株徒长。在适当浓度下,使植株节间缩短、粗壮,根系发达,抗倒伏,叶色加深,叶片增厚,叶绿素含量增多,还能提高某些作物的抗寒、抗旱、抗盐、抗药害能力,从而改善品质,增加产量^[7]。缩节胺(DPC),又名“助壮素”、“调节啶”,能抑制细胞和节间伸长,控制茎秆徒长,使植株矮壮,增强叶绿素合成,叶色变深,增强光合作用,促进根系活力,提高抗逆能力,减少花果脱落,提早成熟^[8]。丁酰肼(B₉),是一种生长抑制剂,可以抑制内源激素赤霉素的生物合成,赤霉素含量减少,营养生长受抑,从而抑制新枝徒长、缩短节间,使叶片

浓绿、小而肥厚,植株紧凑粗壮,根系发达等^[9,10]。

利用植物组织培养技术既可达到快繁的目的,又可使优良品种的优良性状得以保持,而且繁殖系数较高,能在短时间内得到大量优质组培苗,运用组织培养技术繁殖淮山药能解决市场对淮山药苗要求质量上乘和供求量不断增大的问题。植物组织培养技术在淮山药中应用已有研究^[11,12],但试验发现,淮山药组培苗比较高,茎比较细小,叶薄,不利于移栽。在组织培养中使用植物生长抑制剂可以起到壮苗生根,增加不定芽诱导率的作用^[13]。

1 材料与方 法

1.1 材 料

材料为淮山药组培苗。多效唑(P₃₃₃)、缩节胺(DPC)和丁酰肼(B₉)由厦门星隆达(Sanland)化学试剂有限公司生产,有效成分分别为 95%、98% 和 99%;矮壮素(CCC)由星隆达化学试剂有限公司生产,有效成分为 98%。

1.2 试 验 方 法

1.2.1 试 验 材 料 的 培 养

切取淮山药无菌带叶茎段,高约 1.5~2.5cm,每一茎段带叶腋,接种于 MS + NAA 0.02mg/L + Ad 5mg/L + KT 2.5mg/L + PVP 300mg/L,蔗糖 30g/L,琼脂 4.5g/L 的固体培养基中,在(25±1)℃,光照强度 24~30μmol/m²·s,光照时间 10h/d(培养条件下同),培养 10d。

1.2.2 单 一 植 物 生 长 抑 制 剂 处 理 对 组 培 苗 的 影 响

取上述方法培养的无菌淮山药材料,接种于 MS + NAA 0.02mg/L + Ad 5mg/L + KT 2.5mg/L + PVP 300mg/L 培养基中,分别附加不同浓度的植物生长抑制剂:P₃₃₃ 0.75mg/L、1.50mg/L、3.00mg/L 和 6.00mg/L;CCC 1.00mg/L、3.00mg/L、6.00mg/L 和 9.00mg/L;DPC 1.00mg/L、3.00mg/L、6.00mg/L 和 9.00mg/L;B₉ 1.00mg/L、3.00mg/L、6.00mg/L 和 9.00mg/L。培养 20d 后统计不定芽增殖率、矮化率和茎粗。用单因素随机区组方差分析方法计算水平间差异显著性,再用 Duncans 进行多重比较。

1.2.3 植 物 生 长 抑 制 剂 与 激 素 结 合 处 理 对 组 培 苗 的 影 响

取生长相对一致的无菌淮山药苗,不用切段,接

丰锋,副教授,广东海洋大学农学院,524088,广州

叶春海,郭锦云,通讯地址同第 1 作者

李发钦,广东廉江市平坦农技站

*基金项目:广东省科技厅农业攻关项目(2006B202010022);广东省农业厅农业科技项目(B05083)

收稿日期:2006-10-19;修回日期:2007-03-30

种子以 MS 为基本培养基,采用 $L_9(3^4)$ 正交方案设计的培养基,因素水平分别为: NAA 0mg/L、0.02mg/L 和 0.04mg/L; KT 1.00mg/L、2.50mg/L 和 5.00mg/L; Ad 5mg/L、10mg/L 和 15mg/L; PVP 0mg/L、150mg/L 和 300mg/L; 琼脂 4.5g/L,蔗糖 30g/L,矮壮素 1mg/L 的固体培养基中,培养 20d。以 MS + NAA 0.02mg/L + KT 2.5mg/L + Ad 5mg/L + PVP 300mg/L 为对照。

2 结果分析

2.1 单一植物生长抑制剂对组培苗生长的影响

不同抑制剂对准山药生长的影响见表 1。

表 1 植物生长抑制剂不同浓度对准山药组培苗生长的影响

生长抑制剂种类	浓度 (mg/L)	增殖率	Duncans 检验	矮化率 (%)	Duncans 检验	茎粗 (cm)	Duncans 检验
多效唑 (P ₃₃₃)	0.75	2.57	a	63.3	b	0.123	c
	1.50	2.14	b	74.7	ab	0.128	c
	3.00	1.81	c	87.2	a	0.137	b
	6.00	1.44	d	85.4	a	0.167	a
矮壮素 (CCC)	1.00	3.31	a	53.7	b	0.160	c
	3.00	2.94	b	57.9	ab	0.163	bc
	6.00	2.22	c	68.5	a	0.187	a
缩节胺 (DPC)	9.00	1.80	d	69.9	a	0.171	b
	1.00	1.94	c	58.4	a	0.143	b
	3.00	2.54	a	63.7	a	0.142	b
丁酰肼 (B ₉)	6.00	2.4	b	55.4	a	0.153	a
	9.00	1.92	c	71.8	a	0.137	b
	1.00	1.96	c	39.3	b	0.159	a
CK	3.00	1.89	c	60.0	a	0.131	b
	6.00	2.53	a	66.4	a	0.147	a
	9.00	2.16	b	70.0	a	0.147	a
0.00	1.40	d	0	c	0.113	d	

注:1 Duncans 检验标注不同小写字母的,表示该性状在 $\alpha=0.05$ 水平上差异显著。

①P₃₃₃ 为 0.75mg/L 时,增殖率最高(2.57),试验浓度范围内随处理浓度的增加,增殖率逐渐降低,除 P₃₃₃ 浓度在 6.00mg/L 外,其余处理增殖率均显著高于对照。与对照相比,随处理浓度的增加,矮化率

增高,P₃₃₃ 浓度在 3.00mg/L 处理的矮化率最高(87.2%)。随处理浓度的增加,植株茎粗相应增加,P₃₃₃ 浓度在 6.00mg/L 时,平均茎粗最大(0.167cm),所有处理茎粗均显著高于对照。综上,P₃₃₃ 浓度在 0.75mg/L 对准山药组培苗增殖最好,叶深绿色,植株比较健壮。

②用矮壮素(CCC)1.00mg/L 处理淮山药增殖率最高(3.31),试验浓度范围内随处理浓度增加增殖率降低,除 CCC 浓度在 9.00mg/L 外,其余浓度处理增殖率均显著高于对照。矮化效果随处理浓度的增加矮化率增高,CCC 浓度 9.00mg/L 处理时矮化率最高(69.9%),但与 CCC 浓度 3.00mg/L、6.00mg/L 处理的矮化率差异不显著。茎粗以 CCC 浓度 6.00mg/L 处理最粗(0.187cm),显著高于其他处理。综上,CCC 1.00mg/L 有利于淮山药组培苗的生长,增殖率高,叶色深,叶厚而有光泽,植株健壮。

③缩节胺(DPC)各处理浓度增殖率均显著高于对照,以 DPC 3.00mg/L 处理增殖率最高(2.54),茎粗(0.153cm)也显著高于其他处理。矮化率与对照差异显著,处理浓度间无显著差异。DPC 3.00mg/L 处理苗叶片大而厚,叶色深且有光泽,茎较粗壮。

④丁酰肼(B₉)B₉6.00mg/L 增殖率最高(2.53),显著高于其他各处理。矮化率以 B₉9.00mg/L 最高(70%),但与 B₉3.00mg/L、B₉6.00mg/L 差异不显著。茎粗以 B₉1.00mg/L 最粗(0.159cm),但与 B₉6.00mg/L、B₉9.00mg/L 差异不显著。结合植株生长情况,B₉6.00mg/L 处理淮山药试管苗生长最好。

综上,4种植物生长抑制剂在一定浓度范围内都能显著的提高增殖率,使淮山药苗矮化和生长健壮。综合比较各指标并结合植株生长情况,CCC 1.00mg/L 处理能提高淮山药增殖率,叶色深绿,叶厚而有光泽,植株健壮,生长不会被完全抑制。P₃₃₃ 6.00mg/L 处理较差,叶片变黄或变红,很薄,有的还出现皱缩现象。

表 2 3 种激素和 PVP 不同水平处理对准山药增殖和矮化影响的极差分析及差异检验结果

各因素水平	NAA		KT		Ad		PVP	
	增殖率	矮化率(%)	增殖率	矮化率(%)	增殖率	矮化率(%)	增殖率	矮化率(%)
T ₁	1.37C	73.5A	1.52B	65.4A	1.76A	75.8A	1.65A	36.1B
T ₂	1.48B	43.4B	1.73A	47.3B	1.61A	42.1B	1.61A	78.6A
T ₃	2.08A	37.8B	1.69A	42.5B	1.48B	36.4B	1.67A	39.1B
极差	0.71	35.7	0.21	22.9	0.18	39.4	0.06	42.5

注:1. T₁、T₂、T₃ 分别为各因素逐步递增的 3 个水平。 2. 大写字母表示该性状在 0.01 水平上差异极显著。

2.2 生长抑制剂与激素结合对准山药生长的影响

培养基中附加 CCC 1.00mg/L 条件下研究激素与 PVP 组合对准山药增殖和矮化效果的影响,极差

分析及差异检验结果见表 2。NAA 对增殖率影响的极差最大,其次是 KT、Ad。除 PVP 不同水平间和区组间差异不显著外,NAA、KT、Ad 各处理水平间增

殖率存在极显著差异。矮化率各处理水平间差异都极显著,试验浓度范围内 NAA、KT、Ad 浓度越低矮化的效果越显著。

表3 3种激素和PVP不同水平处理对淮山药增殖和矮化影响的差异检验结果

因素组合				不定芽增殖					
NAA (mg/L)	KT (mg/L)	Ad (mg/L)	PVP (mg/L)	增殖 率	秩 序	Duncans 检验	矮化率 (%)	秩 序	Duncans 检验
0.04	2.5	5.0	300	2.31	1	A	58.0	3	B
0.04	5.0	10.0	0	1.94	2	B	43.0	9	C
0.04	1.0	15.0	150	1.75	4	C	45.1	8	BC
0.02	5.0	5.0	150	1.61	5	D	71.6	2	A
0.00	2.5	10.0	150	1.47	6	E	72.6	1	A
0.02	1.0	10.0	300	1.44	7	E	45.3	7	BC
0.02	2.5	15.0	0	1.41	8	E	48.3	6	BC
0.00	1.0	5.0	0	1.36	9	EF	48.8	4	BC
0.00	5.0	15.0	300	1.28	10	F	47.6	5	BC
CK				1.82	3	C	0		

对各处理组合的增殖率和矮化率进行 Duncans 多重分析,结果见表3。在附加 CCC 1.00mg/L 条件下,组合 MS + NAA 0.04mg/L + KT 2.5mg/L + Ad 5mg/L + PVP 300mg/L 最有利于不定芽的增殖,增殖率为 2.31,同时 NAA 较高(0.04mg/L)的组合有利于不定芽的增殖。

3 结论与讨论

淮山药对加有植物生长抑制剂的培养基敏感,经过适当浓度的抑制剂处理的淮山药组培苗,增殖率显著提高,矮化效果显著,植株健壮,叶厚色深,个别浓度对促进淮山药组培苗生根有显著的效果。

在多效唑为 2.00mg/L 或 4.00mg/L 的培养基上,淮山药地上部分生长较为旺盛,叶色浓绿,株形紧凑且有较多的腋芽^[9]。但本试验中多效唑 0.75mg/L 时,对淮山药生长影响最好,当浓度为 3.00mg/L 时,淮山药已经出现生长不良的现象,较高的浓度使其叶片向内卷曲和变红变薄,可能与品种有关。杨志民^[14]指出:低浓度的缩节胺对芽的增加有一定的促进作用。试验证明,较低浓度的缩节胺可以提高增殖率,使淮山药苗叶绿、大而厚,茎较粗壮,叶片有光泽。陈扬春^[15]等在小苍兰的试管诱导试验中向培养基中添加矮壮素,对试管苗的矮化有明显效果,矮化率随着浓度提高而提高,说明矮壮素有抑制试管苗生长的作用。但矮壮素也有增加小苍兰茎粗和分化株数多的作用,浓度以 5.00mg/L 和 3.00mg/L 为好。试验发现,矮壮素确实有这样的作用,但在淮山药组培苗上使用以 1.00mg/L 效果最好。王小兰^[16]指出,丁酰肼对甜菜的生长抑制

效果较弱,叶片没有明显的增大和增厚。试验中,淮山药的叶片虽没有显著的增大,但还是有显著的抑制效果,表现为茎段的增粗,显著的矮化和增殖率显著提高。

本试验目的是研究植物生长抑制剂对淮山药组培苗生长的影响,寻找较好的植物生长抑制剂及较好的使用浓度,达到提高增殖率,苗木健壮,提高移栽成活率的目的。结果表明,多效唑 0.75mg/L、矮壮素 1.00mg/L、缩节胺 3.00mg/L 和丁酰肼 6.00mg/L 均能达到此目的,尤以矮壮素 1.00mg/L 对淮山药的增殖、矮化和壮苗效果最好。在矮壮素 1.00mg/L 条件下,在试验浓度范围内,较高浓度的 NAA(0.04mg/L)有利于不定芽的增殖,组合 MS + NAA 0.04mg/L + KT 2.5mg/L + Ad 5mg/L + PVP 300mg/L 增殖率(2.31)最高。

经植物生长抑制剂处理的淮山药组培苗,接入无抑制剂的培养基中时,还有一定抑制的效果,表现为其生长比未经过处理的苗长得慢,叶大而厚,叶色深、苗更健壮,可能是被吸收的植物生长抑制剂会在植物体内保存一定时间,直到被植物体利用,有待进一步的研究。

参考文献

- 1 蔡建荣,曾军,张文榕等. 淮山药茎段组织培养的研究. 湖北农业学报,2002,1:61~62
- 2 姚宗凡,黄英姿. 常用中草药种植技术. 北京:金盾出版社,2001:200~203
- 3 聂桂华,周可范,董秀华. 山药的研究概况. 中草药,1993,24(3):158
- 4 高凤菊,汤忠梅,王晓理等. P₃₃₃ 在植物组织培养上的应用. 农业与技术,2002,4,22(2):66~69
- 5 王军. 多效唑在植物生物技术上的应用. 大理科技,2001,2:34~41
- 6 徐映明. 植物生长调节剂多效唑应用技术. 北京:中国农业出版社,1999:20
- 7 王迪轩,何咏梅. 矮壮素在蔬菜生产上的应用. 蔬菜,2001,2:18
- 8 薛勇. 缩节胺在农作物上的应用. 吉林农业,1997,7:12~13
- 9 朱蕙香,张宗俭,陈虎保. 常用植物生长调节剂应用指南. 北京:化学工业出版社,2002:26~27
- 10 邵莉楣,孟小雄. 植物生长调节剂应用手册. 北京:金盾出版社,2000:109
- 11 HAJIMEA ARAKI, LING SHI and TOSHIRO YAKUWA. Effects of auxin, cytokinin nitrogen concentration on morphogenesis of tissue cultured shoot apex of Chinese yam (*Dioscorea opposita* Thun b). J. Japan. Soc. Hort. Sci. 1992,60(4):851~857
- 12 KOHMURAH, ARAKIH and IMOTOM. Micropropagation of 'Yamato-imo' chinese yam (*Dioscorea opposita*) from mmatureleaves. Plant Cell. Tissue and Organ Culture, 1992,40(3):271~276
- 13 王小菁,李玲. 植物生长调节剂在植物组织培养中的应用. 北京:化学工业出版社,2002:44
- 14 杨志民,李志华,沈益新. 缩节胺矮化高羊茅试验. 草业科学,2004,21(2):75~76
- 15 陈扬春,鲁雪华. 小苍兰试管植株的诱导与快速繁殖的研究. 福建省农科院学报,1986,12,1(2):89~93
- 16 王小兰,李同祥. 生长抑制剂对甜菜种质试管保存的影响效应. 中国糖料,2005,4:23~25