

光质和 2,4-D 对 47 号怀山药叶片愈伤组织诱导形成的影响

郭君丽¹, 王俊甫², 蒋福稳³, 李明军¹

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2. 新乡学院 生命科学与技术系, 河南 新乡 453003; 3. 新乡市农科院, 河南 新乡 453007)

摘要:以山药叶片为试材,研究了光质和 2,4-D 组合对怀山药叶片愈伤组织诱导的影响。结果表明:在红光下,2,4-D 的浓度为 2 mg/L 时,47 号怀山药叶片出愈量最大,出愈率最高;蓝光有利于愈伤组织中可溶性蛋白的形成。

关键词:怀山药;叶片;光质;脱分化;可溶性蛋白

中图分类号:S 632.103.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)15-0174-03

怀山药(*Dioscorea opposita* Thunb.)为薯蓣科薯蓣属的一种根茎作物,又名薯蓣,全国大部分地区均有分布,但以产于河南焦作的温县、武陟、博爱、沁阳一带的为最佳,因此地在清朝时为怀庆府所辖,故被称为怀山药,它是我国著名的“四大怀药”之一。它以根状茎入药,具有健脾、补肺、固肾、益精之功效,主治肺虚咳嗽、脾虚、腹泻、糖尿病、遗精尿频、赤白带下等症,因其药用价值高,故其产品畅销国内外。

光作为一个重要的环境因子,对植物生长发育有广泛的调节作用。光质即不同波长的光谱成分,对植物细胞分裂和器官分化起着非常重要的作用^[1]。据报道不同的光质对植物生长的影响显著不同^[2-4]。因此,国内外已有一些科学家尝试利用不同的光质来提高组织培养效果^[5-7]。该试验研究了光质对怀山药愈伤组织形成的影响,以期优化其愈伤组织形成的最佳条件,为其再分化奠定良好的物质基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

47 号山药叶片取自河南师范大学生命科学学院研究室培养的试管苗。

1.2 试验方法

试验材料的消毒与接种:在超净工作台上取出叶片,将其切成 0.5 cm×0.5 cm 切块,接种在诱导愈伤组织的不同培养基上。培养基制作:以 MS 为基本培养基,附加 2 mg/L(以下单位同)的 6-BA 和 0、0.2、2.0、4.0、8.0

mg/L 的 2,4-D,3% 的蔗糖,4.35% 的琼脂,pH 5.8~6.2,121℃ 灭菌 20 min。无菌培养:将切块接种在上述 5 种培养基上,每瓶 5 块,共 150 瓶,分为 6 组,置蓝光、绿光、黄光、红光、白光及黑暗下培养,温度(25±2)℃,光照时间 14 h/d,各种荧光灯的技术参数见表 1。

表 1 各种荧光灯的主要技术参数

项目	黑暗	蓝光	绿光	黄光	红光	白光
波长范围/nm	—	410~555	470~600	520~680	610~690	410~690
波长峰值/nm	—	450	546	570	662	—
功率/W	—	40	40	40	40	40

1.3 项目测定

称取 0.50 g 不同光质条件下(2,4-D 的浓度为 2 mg/L)诱导的愈伤组织,加入 1.50 mL 的磷酸缓冲液(pH 7.0),冰浴中研磨。12 000 r/min 离心 15 min,取上清液备用。用考马斯亮蓝 G-250 比色法测定可溶性蛋白含量。

1.4 数据分析

接种后,每天观察并记录愈伤组织的形成,并以 30 d 为标准,统计其出愈率。出愈率(%)=(形成愈伤组织的切块数/接种的切块数)×100%。

2 结果与分析

2.1 光质与 2,4-D 组合对 47 号怀山药叶片出愈率和出愈量的影响

由表 2 可知,同一光质条件下,随 2,4-D 浓度的增加,出愈率均出现“先增后减”的趋势,并且都在 2.0 mg/L 时达到 100% 的出愈率。说明 2,4-D 浓度过高或过低均不利于 47 号怀山药叶片出愈率的提高,在 2,4-D 的最佳浓度(2 mg/L)时,光质对 47 号怀山药叶片出愈量的影响不大。由表 3 可知,同一光质条件下,随 2,4-D 浓度的增加,出愈量也出现“先增后减”的趋势,说明同一 2,4-D

第一作者简介:郭君丽(1973-),女,河南舞阳人,硕士,讲师,研究方向为生物技术。

基金项目:河南师范大学青年科学基金资助项目(2011QK18)。

收稿日期:2012-05-07

浓度条件下,2,4-D 浓度过高或过低均也不利于 47 号怀山药叶片出愈量的增高,相对来说,红光下 47 号怀山药叶片出愈量较大。所以从出愈量来说红光和 2,4-D 2.0 mg/L 更有利于 47 号怀山药叶片出愈量的提高。

所以综合 47 号怀山药叶片的出愈率和出愈量,红光下,2,4-D 的浓度为 2.0 mg/L 时更有利于愈伤组织诱导的形成。

表 2 光质与 2,4-D 组合对 47 号怀山药叶片出愈率的影响

2,4-D 浓度 /mg · L ⁻¹	黑暗	蓝光	绿光	黄光	红光	白光
0	32	0	0	0	32	0
0.2	88	76	88	80	88	64
2.0	100	100	100	100	100	100
4.0	80	84	92	84	96	96
8.0	60	64	64	76	68	52

表 3 光质与 2,4-D 组合对 47 号怀山药叶片出愈量的影响

2,4-D 浓度 /mg · L ⁻¹	黑暗	蓝光	绿光	黄光	红光	白光
0	+	—	—	—	++	—
0.2	++	++	++	++	++++	++
2.0	++	++	++	++++	+++++	++++
4.0	++	++	++++	++++	++++	++
8.0	+	+	+	++	++	+

注: + 的多少代表出愈量, + 较少, ++ 少, +++ 多, ++++ 较多, +++++ 最多, — 表示无愈伤组织。

2.2 光质对 47 号怀山药叶片愈伤组织中可溶性蛋白含量的影响

将 47 号怀山药叶片接种在 MS+6-BA 2.0 mg/L+2,4-D 2.0 mg/L 的培养基上,放置到红光下培养 25 d 时,取其愈伤组织进行可溶性蛋白含量的测定。由图 1 可以看出,蓝光下愈伤组织中的可溶性蛋白含量最高,其次为黄光、红光、绿光、白光,而黑暗下的含量最低。说明蓝光促进 47 号怀山药叶片愈伤组织中的可溶性蛋白的含量,而黑暗则起抑制作用。

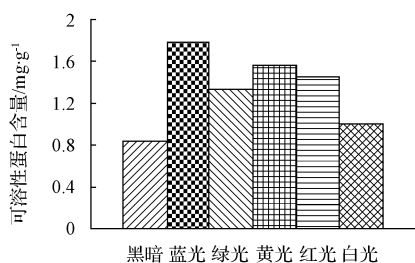


图 1 光质对 47 号怀山药叶片愈伤组织中可溶性蛋白含量的影响

3 结论与讨论

光质是组织培养过程中重要的外部影响因素,光质

主要通过 2 种途径影响植物的生长,一是通过色素系统进行光合作用,二是通过光受体接受光信号引起一系列生理生化反应。在组织培养中,植物组织和细胞的能量主要来自培养基中的蔗糖,光质的作用主要是作为光信号来调节植物的生长、分化和代谢。不同光质条件下,植物愈伤组织的形成及分化存在一定的差异^[8-10]。在该试验中,红光下 47 号怀山药叶片的愈伤组织的生长最好,说明不同种类的植物对光质的反应不同,Drum-Herrel 报道,即使同一植物不同发育年龄或状态,不同组织或器官对同一光质的反应也不尽相同,表现出光质生物学反应的复杂性。

光质不仅影响体外形态发生的表达,而且也影响其生理生化特性的变化。光谱显示促进蛋白质含量增加的最有效波长为 460 nm 和 370 nm 附近^[11],此为蓝光有利于蛋白质含量的提高提供了理论依据。根据诸多报道认为其原因有二:一是蓝光促进了蛋白质的合成;二是蓝光阻止了蛋白质的丧失^[12]。在该试验中,蓝光下 47 号怀山药叶片愈伤组织中的蛋白质含量明显高于其它几种光质,据此推测这将为愈伤组织的再分化奠定一定的物质基础。

参考文献

- [1] 林小苹. 光质对植物离体培养的影响[J]. 亚热带农业研究, 2008, 4(1): 73-79.
- [2] Moe R, Morgan L, Grindal G. Growth and plant morphology of *Cucumis sativus* and *Fuchsia hybrid* are influenced by light quality during the photoperiod and by temperature alternations[J]. Acta Horticulturae, 2002, 580: 229-234.
- [3] Escobar M A, Franklin K A, Svensson A S, et al. Light regulation of the Arabidopsis respiratory chain multiple discrete photoreceptor responses contribute to induction of type II NAD(P)H dehydrogenase genes[J]. Plant Physiology, 2004, 136: 2710-2721.
- [4] 诸葛强. 组培新技术及其在校树快繁中的应用[J]. 林业科技开发, 2003, 17(6): 37-38.
- [5] Jao R C, Fang W. An adjustable light source for photo-phyto related research and young plant production[J]. Applied Engineering in Agriculture, 2003, 19(5): 601-608.
- [6] Jao R C, Lai C C, Fang W. Effects of red light on the growth of *Zantedeschia* plantlets *in vitro* and tuber formation using light-emitting diodes[J]. Hort Sci, 2005, 40(2): 436-438.
- [7] 杨长娟. LED 不同光质对洋桔梗组培苗增殖的影响[J]. 北方园艺, 2011(18): 154-156.
- [8] Wang Y L. Effects of light on maca callus growth, shoot induction and its survival rate[J]. Guihaia, 2007, 27(6): 932-936.
- [9] 张真. 不同光质对葡萄愈伤组织增殖和白藜芦醇含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(1): 106-108.
- [10] 刘浩. LED 不同光质对萝卜愈伤组织诱导、增殖和萝卜硫素含量的影响[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(4): 347-350.
- [11] 李韶山, 潘瑞炽. 植物的蓝光效应[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(4): 248-252.
- [12] 李韶山, 潘瑞炽. 蓝光对水稻幼苗碳水化合物和蛋白质代谢的调节[J]. 植物生理学报, 1995, 21(1): 22-28.

黄河三角洲耐盐药用植物的资源评价分析

王玉珍

(东营职业学院 农业工程系, 山东 东营 257091)

摘要:采用实地走访、样方调查的方法对黄河三角洲地区益母草、甘草、二色补血草、罗布麻、白刺、柽柳 6 种耐盐药用植物进行了药用成分含量评价。结果表明:6 种耐盐药用植物的药用成分完全符合国家药典规定的标准,适宜在盐碱地开发种植。

关键词:耐盐药用植物;资源评价;成分分析

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)15-0176-05

近几年,随着人们对中医药医疗保健作用认识的不断提升,中医药在世界范围内得到了前所未有的重视,掀起了开发中草药的新热潮,中草药的价格也一路飙升。为此课题组曾对黄河三角洲地区耐盐药用植物资源进行了评价,研究了耐盐药用植物的性状、生态、分布、蕴藏量,分析了药用植物的药用成分,从中草药中提取分离活性成分,研究了其临床疗效,为开发耐盐药用植物提供理论依据。

黄河三角洲具有独特的地理环境和适宜的气候、土壤条件,有较为富集的中草药资源。经过调查,黄河三角洲野生药用植物有 200 多种,总蕴藏量达 2 140 万 kg。在野生药用植物中,属于中医临床常用的有 60 多种。现对其中分布广、数量大、药效高的益母草、甘草、二色补血草、罗布麻、白刺、柽柳 6 种当地药用植物进行评价分析,探讨耐盐药用植物药用价值是否符合国家药典的要求,便于更广泛的开发当地耐盐药用植物资源。

作者简介:王玉珍(1966-),女,山东东营人,硕士,副教授,现主要从事耐盐药用植物的研究与教学工作。

收稿日期:2012-05-08

1 材料与方法

1.1 试验材料

益母草、甘草、二色补血草、罗布麻、白刺、柽柳 6 种野生耐盐药用植物,采自黄河三角洲及周边地区。其中甘草和柽柳分别采集了 5 个具有代表性的样点,分别是垦利和利津县的 5 个乡镇,益母草、二色补血草、罗布麻、白刺分别采集了 10 个样点,几乎涵盖了东营市各个县市,具有一定的代表性。

1.2 试验方法

1.2.1 走访调查 走访黄河三角洲自然保护区,市、县、乡镇各级有关单位和医药公司以及实践经验丰富的药农和药材收购人员,了解野生耐盐药用植物的分布范围、生物学特征、生长特性、生态习性等。

1.2.2 样方调查 根据走访调查获取的药用植物资源分布信息,以乡镇为 1 个调查样地单位,1 个调查样地在距离 30 km 以上的东西分布区内各设置 3 个不同面积的样方,并根据疏密程度(1 m×1 m:密集,2 m×2 m:中密,5 m×5 m:很稀疏,对于更稀疏的采用 GPS 划定较大样方区域面积)调查样方内药用植物数量,测算群落中各植物盖度及生长指标,并至少选择 3 个样方取样,

Effects of Light Quality and 2,4-D Combination on Callus Induction in Leaves of 47 *Dioscorea opposita* Thunb.

GUO Jun-li¹, WANG Jun-fu², JIANG Fu-wen³, LI Ming-jun¹

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. Department of Life Sciences and Technology, Xinxiang University, Xinxiang, Henan 453003; 3. Xinxiang Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang, Henan 453007)

Abstract: Taking the leaves of 47 *Dioscorea opposita* as test materials, the effect of light quality and 2,4-D combination on callus induction were studied. The results showed that under red light and 2,4-D 2 mg/L, the quantity of callus production was most and the rate of callus production was highest; the soluble protein of the callus was favorable increased by blue light.

Key words: *Dioscorea opposita*; leaves; light quality; callus induction; soluble protein