

多效唑对脱毒怀地黄光合生理和抗性生理的影响

陈明霞^{1,2}, 赵喜亭^{1,2}, 李明军^{1,2}, 王冠峰¹, 李敬敬^{1,3}, 李向武¹

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007; 2. 河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心, 河南 新乡 453007;

3. 河南省平顶山理工学校, 河南 平顶山 467091)

摘要:以脱毒怀地黄为试材,对多效唑不同喷施浓度处理下脱毒怀地黄叶片光合色素含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性、相对电导率(REC)等的变化进行了研究。结果表明:多效唑不同喷施浓度处理的脱毒怀地黄叶片光合色素含量,SOD、POD、CAT 活性均高于对照,而 REC 均低于对照;脱毒怀地黄叶片光合色素含量,SOD、POD、CAT 活性均随多效唑浓度的增加而逐渐提高,浓度为 200 mg/L 时效果最好;REC 随多效唑处理浓度的增加逐渐减小。

关键词:脱毒怀地黄;多效唑;光合生理;抗性生理

中图分类号:S 567. 23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)22—0158—04

怀地黄 (*Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* (Chan et Seih) Hsiao) 属玄参科地黄属多年生草本植物^[1],是我国著名的“四大怀药”之一。因主产于河南焦作市的修武、武陟、温县、孟县、博爱等地(古怀庆府)一带,习称“怀地黄”。怀地黄块根肥厚,肉质,呈块状、圆柱状或纺锤状,以块根入药,为我国传统大宗中药材。怀地黄在明、清时代被列为进贡皇帝的贡品,素有“怀参”之称^[2]。

多效唑(Paclobutrazol, PP₃₃₃)是一类常用的植物生长延缓剂。它能够延缓植物的生长,抑制茎枝伸长,使茎秆粗壮。此外,还可增加叶片叶绿素、蛋白质、核酸的含量,提高光合速率和抗氧化酶的活性,增强植物的抗寒性和抗旱性^[3-5]。多效唑在许多作物上已有应用^[6-9],但在怀地黄生产应用上尚鲜见报道。现对 PP₃₃₃ 不同喷施浓度处理后的脱毒怀地黄光合色素含量、过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性和相对电导率(Relative conductivity, REC)等生理指标的变化进行研究,以期对脱毒怀地黄的生产实

践提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为“河南省高校道地中药材保育及利用工程技术研究中心”继代培养的怀地黄脱毒试管苗“85-5”。

1.2 试验方法

试验于 2012 年在河南省温县赵堡镇实验基地进行。将怀地黄脱毒试管苗经快繁生根、移栽驯化后移栽入大田。用 0(对照)、100、200、400 mg/L 4 个浓度的 PP₃₃₃ 在怀地黄脱毒苗块茎膨大期进行处理,于 7、8、9 月测定光合色素含量、POD 活性、SOD 活性、CAT 活性和 REC 等生理指标。每处理 3 次重复。在怀地黄全生长期进行常规的浇水、施肥和病虫害防治与管理。

2 结果与分析

2.1 PP₃₃₃ 对脱毒怀地黄光合色素含量的影响

由表 1 可以看出,7—9 月,随着生长进程的推进,清水喷施的脱毒怀地黄叶绿素总含量、叶绿素 a/叶绿素 b 的比值呈现逐渐增加的变化趋势,类胡萝卜素含量呈现先下降后上升的变化趋势。脱毒怀地黄经 PP₃₃₃ 处理后,叶绿素总含量、类胡萝卜素含量及叶绿素 a/叶绿素 b 的比值与对照相比均有所提高。随着 PP₃₃₃ 处理浓度的增加,叶绿素总含量、叶绿素 a/叶绿素 b 的比值及类胡萝卜素含量在 7、9 月呈现先升高后降低的变化趋势。7 月,PP₃₃₃ 浓度为 200 mg/L 时叶绿素 a/b、类胡萝卜素含量有最大值,分别为 2.99、0.36 mg/g FW,PP₃₃₃ 浓度为 100 mg/L 时叶绿素总含量有最大值,为 2.17 mg/g FW;9 月 PP₃₃₃ 浓度为 100 mg/L 时有最大值,分别为 2.33、2.97、0.40 mg/g FW;8 月,叶绿素总含量呈

第一作者简介:陈明霞(1973-),女,河南南阳人,博士,副教授,现主要从事植物组织培养教学及药用植物生物技术应用等研究工作。E-mail:chenmx1973@gmail.com.

责任作者:李明军(1962-),男,河南温县人,博士,教授,现主要从事植物生理学教学及植物生物技术应用等研究工作。E-mail:limingjun2002@263.net.

基金项目:国家农业成果转化资助项目(2009GB2D000226);河南省教育厅科技研究重点资助项目(13A180521);河南师范大学博士启动基金资助项目(01046500020);河南师范大学大学生创新创业资助项目(20120257)。

收稿日期:2014—07—16

现先升高后降低的变化趋势,PP₃₃₃浓度为200 mg/L时有最大值,为2.60 mg/g FW;叶绿素a/叶绿素b的比值和类胡萝卜素含量呈现逐渐增加的变化趋势。

方差分析表明,7月,除PP₃₃₃浓度为400 mg/L外,叶绿素总含量和类胡萝卜素含量的各处理与对照均有显著性差异;各浓度处理叶绿素a/叶绿素b的比值均比

对照高,但与对照均没有达到差异显著性;8月,各处理的叶绿素总含量和类胡萝卜素含量与对照均达到显著性差异,但叶绿素a/叶绿素b的比值间无明显差异;9月,处理后的怀地黄脱毒苗叶绿素总含量、类胡萝卜素含量及叶绿素a/叶绿素b的比值与对照则没有显著性差异。

表1 PP₃₃₃对脱毒怀地黄叶片中光合色素含量的影响

Table 1 Effect of PP₃₃₃ on content of photosynthetic pigments of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis*. plantlet

测定月份 Measure time/月	PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ concentration/(mg · L ⁻¹)	叶绿素总含量 The total content of chlorophyll/(mg · g ⁻¹ FW)	叶绿素 a/叶绿素 b Chl a/b	类胡萝卜素含量 Carotenoids content/(mg · g ⁻¹ FW)
7	0	1.80±0.07c	2.80±0.01b	0.30±0.01b
	100	2.17±0.09a	2.93±0.04ab	0.36±0.00a
	200	2.00±0.12ab	2.99±0.01ab	0.36±0.01a
	400	1.90±0.06bc	2.88±0.01b	0.32±0.00b
8	0	1.89±0.05d	2.82±0.01b	0.29±0.02b
	100	2.40±0.11c	2.89±0.08ab	0.38±0.02a
	200	2.60±0.24ab	2.93±0.16ab	0.38±0.02a
	400	2.47±0.04c	3.00±0.03a	0.40±0.03a
9	0	2.22±0.07a	2.91±0.06a	0.38±0.02a
	100	2.33±0.08a	2.97±0.04a	0.40±0.02a
	200	2.30±0.12a	2.96±0.08a	0.39±0.01a
	400	2.16±0.11a	2.94±0.07a	0.39±0.02a

2.2 PP₃₃₃对脱毒怀地黄抗氧化酶活性的影响

2.2.1 PP₃₃₃对脱毒怀地黄CAT活性的影响 由表2可知,7—9月,随生长进程的推进,清水喷施的怀地黄脱毒苗CAT活性先降低后升高,经PP₃₃₃处理后CAT活性均比对照有所提高。同一生长时期,随着PP₃₃₃处理浓度的增加CAT活性呈现先增加后降低的变化趋势。7—9月,不同的月份CAT活性达到峰值的处理有所不同,7月PP₃₃₃400 mg/L处理有最大值,为152.22 U · g⁻¹ · min⁻¹;8、9月PP₃₃₃200 mg/L处理有最大值,分别为146.11、179.67 U · g⁻¹ · min⁻¹。方差分析表明,7月除了PP₃₃₃100 mg/L外,其它处理与对照均有显著性差异,8、9月各处理的CAT活性与对照均有显著性差异。

表2 PP₃₃₃对脱毒怀地黄叶片CAT活性的影响

Table 2 Effect of PP₃₃₃ on CAT activity of

Rehmannia glutinosa f. *hueichingensis*. plantlet

PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ concentration /(mg · L ⁻¹)	CAT活性 CAT activity/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹) 7月 July	8月 August	9月 September
0	62.89±9.72d	53.33±7.64d	71.11±3.47d
100	85.00±6.01cd	127.22±6.94b	116.67±9.28bc
200	106.78±6.67c	146.11±9.77a	179.67±8.65a
400	152.22±3.85b	105.00±3.33c	110.56±6.94c

2.2.2 PP₃₃₃对脱毒怀地黄POD活性的影响 由表3可知,7—9月,怀地黄脱毒苗对照的POD活性呈现先增加后降低的变化趋势,同一生长时期各处理的POD活性均比对照高。随着怀地黄的生长,处理PP₃₃₃100 mg/L、200 mg/L在7—9月时POD活性逐渐增加,

处理PP₃₃₃400 mg/L时则先增加后降低。随着处理浓度的增加,7、8、9月POD活性呈现先增加后降低的变化趋势。不同月份POD活性达到最大值的处理不同,7、8、9月PP₃₃₃200 mg/L处理最大值分别为28.33、40.00、48.33 U · g⁻¹ · min⁻¹。方差分析表明,7月,各处理的POD活性与对照均有显著性差异;8月PP₃₃₃200 mg/L与对照有显著性差异;9月,除PP₃₃₃400 mg/L处理外,其它处理与对照均有显著性差异。

表3 PP₃₃₃对脱毒怀地黄叶片POD活性的影响

Table 3 Effect of PP₃₃₃ on POD activity of

Rehmannia glutinosa f. *hueichingensis*. plantlet

PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ concentration /(mg · L ⁻¹)	POD活性 POD activity/(U · g ⁻¹ · min ⁻¹) 7月 July	8月 August	9月 September
0	18.50±1.73b	31.17±1.26b	19.17±2.89c
100	26.00±1.32a	32.50±2.50b	47.50±4.33a
200	28.33±3.82a	40.00±2.50a	48.33±3.82a
400	23.33±2.89a	30.67±0.76b	24.50±0.87bc

2.2.3 PP₃₃₃对脱毒怀地黄SOD活性的影响 由表4可知,随着怀地黄的生长,7—9月怀地黄脱毒苗对照的SOD活性都呈现先增加后降低的变化趋势,同一生长时期各处理的SOD活性均比对照高。7、8、9月随着处理浓度的增加,SOD活性呈现先增加后降低的变化趋势。7、8、9月在处理PP₃₃₃200 mg/L有最大值,分别为133.33、155.08、154.76 U/g。方差分析表明,SOD活性7、9月各处理与对照均有显著性差异,8月处理PP₃₃₃200 mg/L与对照有显著性差异,其它则没有显著性差异。

表 4 PP₃₃₃ 对脱毒怀地黄叶片 SOD 活性的影响Table 4 Effect of PP₃₃₃ on SOD activity of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* plantlet

PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ concentration /(mg · L ⁻¹)	SOD 活性 SOD activity/(U · g ⁻¹) 7 月 July	8 月 August	9 月 September
0	97.85 ± 7.76d	140.00 ± 8.20b	117.95 ± 1.67d
100	123.95 ± 4.10b	152.37 ± 6.93ab	131.12 ± 5.03c
200	133.33 ± 3.90a	155.08 ± 0.44a	154.76 ± 2.74a
400	114.79 ± 4.30c	142.88 ± 10.32ab	140.06 ± 8.57bc

2.3 PP₃₃₃ 对脱毒怀地黄叶片浸出液相对电导率(REC)的影响

由表 5 可知,7—9 月,怀地黄脱毒苗叶片的 REC 呈现先降低后升高的变化趋势,且各处理的 REC 均比对照低。7—9 月随着处理浓度的增加,REC 呈现逐渐降低的变化趋势。方差分析表明,7 月,处理 PP₃₃₃ 200、400 mg/L 与对照均有显著性差异;8、9 月,只有处理 PP₃₃₃ 400 mg/L 与对照有显著性差异,其它处理与对照则没有显著性差异。

表 5 PP₃₃₃ 对脱毒怀地黄叶片浸出液相对电导率(REC)的影响Table 5 Effect of PP₃₃₃ on relatively conductivity rate of *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* plantlet

PP ₃₃₃ 浓度 PP ₃₃₃ concentration /(mg · L ⁻¹)	相对电导率 Relatively conductivity rate/% 7 月 July	8 月 August	9 月 September
0	0.84 ± 0.01a	0.78 ± 0.03a	0.93 ± 0.01a
100	0.81 ± 0.02ab	0.76 ± 0.06ab	0.90 ± 0.06a
200	0.79 ± 0.01bc	0.74 ± 0.06ab	0.90 ± 0.00ab
400	0.66 ± 0.03d	0.63 ± 0.08c	0.81 ± 0.10b

3 讨论

PP₃₃₃ 可以通过提高植物叶绿素含量、类胡萝卜素含量、叶绿素 a/b 比值等进而促进植物提高光合效率。该研究表明,PP₃₃₃ 喷施处理后,脱毒怀地黄的叶绿素总含量、类胡萝卜素含量、叶绿素 a/叶绿素 b 比值均高于对照。PP₃₃₃ 处理后在 8 月各处理的叶绿素总含量等指标与对照达到显著性差异,叶绿素含量的提高有利于怀地黄脱毒苗进行光合作用,将 CO₂ 转化成有机物进行积累,这与前人在其它植物上的研究结果是一致的^[10-12]。

SOD、POD、CAT 活性在植物体内抗氧化防御机制中起着至关重要的作用^[13-15]。SOD 和 POD 能够清除植物细胞内的活性氧自由基,CAT 能有效清除植物体内多余的 H₂O₂。该试验结果表明,用 PP₃₃₃ 处理脱毒怀地黄,各处理的 CAT 活性均高于对照,低浓度的 PP₃₃₃ 表现出诱导 CAT 活性的增加,高浓度的 PP₃₃₃ 也提高了 CAT 活性,但效果没有较低浓度的处理显著。怀地黄脱毒苗维持较高的 CAT 活性有利于植株及时清除体内的有害物质,减小对细胞的伤害。这与前人的研究结果是

一致的^[16-17]。该研究还表明,PP₃₃₃ 处理后脱毒怀地黄的 POD、SOD 活性均高于对照,且随着处理浓度的增加,POD、SOD 活性表现出先增加后降低的变化趋势,较高浓度(400 mg/L)的 PP₃₃₃ 在 8 月对怀地黄脱毒苗的 POD 活性表现出一定的抑制作用,此时,SOD 活性和对照相比差异不明显。高浓度 PP₃₃₃ 处理在 7、9 月对植株的 POD 活性提高的效果不如中低浓度效果明显(100、200 mg/L),这可能是较高浓度的 PP₃₃₃ 处理超过了最适浓度,反而抑制了酶基因的表达,促使酶活性降低。但是,总体来看,经 PP₃₃₃ 处理后怀地黄脱毒苗的 POD、SOD 活性均有所提高,POD、SOD 活性的提高能够有效阻止高浓度氧的积累,防止膜脂过氧化,延缓植物衰老,这可以有效减缓膜脂过氧化,减轻细胞结构的损伤^[18]。

细胞膜通透性的变化反映了外部不良环境对植物的伤害程度,细胞膜结构和功能首先受到伤害,导致膜通透性增大,电解质外渗率增大,因此电解质外渗率的大小反映了膜受伤害的程度。该试验研究结果表明,经 PP₃₃₃ 处理后的怀地黄脱毒苗叶片中的 REC 均低于对照,且随着处理浓度的增加,REC 逐渐减小。这与前人的结果是一致的^[19-20]。其原因可能是 PP₃₃₃ 干扰了植物体内甾醇类物质的合成,从而改变细胞膜内各种甾醇的比例或改变了膜蛋白的组成。以上这些因素可能都影响了细胞膜透性,从而使植物叶片中的 REC 下降。

(该文作者还有刘新鑫,单位为河南师范大学生命科学学院。)

参考文献

- [1] 陈明霞,李敬敬,李明军,等. 肥力水平对脱毒怀地黄农艺性状和产量及品质的影响[J]. 北方园艺,2013(1):174-177.
- [2] 高晓山.“四大怀药”考按[J]. 河南中医,1994,14(3):42-43.
- [3] Chutichudet B, Chutichudet P, Chanaboon T. Effect of chemical paclobutrazol on growth, yield and quality of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) Harlim cultivar in northeast Thailand[J]. Pakis-tan Journal of Biological Sciences, 2007, 10(3):433-438.
- [4] Hajihashemi S, Kiarostami K, Saboori A, et al. Exogenously applied paclobutrazol modulates growth in saltstressed wheatplants[J]. Plant Growth Regulation, 2007, 53(2):117-128.
- [5] 曾旭,张怀琼,罗培高,等. 多效唑对小麦叶片衰老及产量的影响[J]. 华北农学报,2007,22(2):136-140.
- [6] 李高峰,王贤荣,郑鹏,等. B9 与 PP₃₃₃ 复合制剂对牡丹生长与开花的影响[J]. 林业科技开发,2008,22(1):56-58.
- [7] 谭乾开,黎华寿,陈健章,等. 多效唑(PP₃₃₃)对花生农艺性状及产量的影响[J]. 中国农学通报,2010,26(8):132-136.
- [8] 王晓艳,孙继,唐筱春,等. 植物生长调节剂 PP₃₃₃ 对冬榨菜生长的影响[J]. 浙江农业科学,2011(4):767-768.
- [9] 凌征柱,赵维和,覃文流,等. 多效唑对法菲亚生长发育和药材产量的影响[J]. 时珍国医国药,2012,21(4):992-993.
- [10] 张美善,张治安,徐克章. B9 和 PP₃₃₃ 对人参生长和叶片光合特性的影响[J]. 植物生理学通讯,2003,39(5):455-457.
- [11] 吕双庆,李生秀. 多效唑对旱地小麦一些生理、生育特性及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(1):92-98.

- [12] 周凤珏,许鸿源,白坤栋,等. PP₃₃₃ 对木薯生长、光合和蒸腾的影响[J]. 中国农学通报,2004,20(2):17-20.
- [13] 时朝,郑彩霞,徐莎. PP₃₃₃ 对桂花幼树生长及叶片抗氧化酶活性的影响[J]. 北方园艺,2010(12):152-155.
- [14] Jaleel C A, Manivannan P, Omathinayagama G, et al. Responses of antioxidant potentials in *Dioscorea rotundata* Poir. following paclobutrazol drenching [J]. Comptes Rendus Biologies,2007,330(11):798-805.
- [15] Sharma P, Dubey R S. Involvement of oxidativestress and role of antioxidative defense system in growing rice seedlings exposed to toxic concentrations of aluminum [J]. Plant Cell Reports,2007,26(11):2027-2038.
- [16] Liu X L, Zhang S Z, Shan X Q, et al. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate cocontamination [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2007,68(2):305-313.
- [17] 王芳,肖建忠,李志斌,等. PP₃₃₃ 对高山杜鹃叶片生理特性的影响[J]. 河北农业大学学报,2012,33(1):50-53.
- [18] 张燕,李霞,郭绍霞,等. B9 和 PP₃₃₃ 对芍药切花水分和膜脂过氧化的影响[J]. 北方园艺,2007(10):125-127.
- [19] 曹永翔,张喜春,高杰. 外源物质处理对番茄抗冷性的影响[J]. 中国农学通报,2009,25(9):131-135.
- [20] 刘亚丽,刘蕾,王荣峰. STS、PP₃₃₃ 对牡丹切花保鲜及某些生理特性的影响[J]. 吉林农业大学学报,2005,27(3):276-279.

Effect of Different Concentrations of PP₃₃₃ Treatment on Photosynthetic and Resistance Physiology of Virus-free *Rehmannia glutinosa* f. *Hueichingensis* (Chan et Seih) Hsiao Plantlet

CHEN Ming-xia^{1,2}, ZHAO Xi-ting^{1,2}, LI Ming-jun^{1,2}, WANG Guan-feng¹, LI Jing-jing^{1,3}, LI Xiang-wu¹, LIU Xin-xin¹

(1. College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, University of Henan Province, Xinxiang, Henan 453007; 3. Pingdingshan Technology School, Pingdingshan, Henan 467091)

Abstract: Taking *Rehmannia glutinosa* as material, the effect of different concentrations of PP₃₃₃ treatment on photosynthetic pigments, and the activities of superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD) and catalase (CAT), the relative conductivity (REC) of virus-free *Rehmannia glutinosa* were studied. The results showed that the photosynthetic pigment content, the activities of SOD, POD and CAT were higher than control and REC was lower than control under different concentrations of PP₃₃₃ treatment. The photosynthetic pigment content, and the activities of SOD, POD and CAT with multiple effect increased with increasing of the PP₃₃₃ concentration, the effect of the concentration of 200 mg/L was the best. REC decreased with increasing of the PP₃₃₃ concentration.

Keywords: *Rehmannia glutinosa* f. *hueichingensis* (Chan et Seih) Hsiao virus-free plantlets; PP₃₃₃; photosynthetic physiology; resistance physiology

2015《中国农村科技》杂志征订季开始了!《中国农村科技》由中华人民共和国科学技术部主管,中国农村技术开发中心主办,国内外公开发行的行业期刊,大16开,全彩色月刊,定价18元,全年216元。国内刊号为CN11-3491/N;邮发代号:82-653。我们做的不只是一本杂志,我们塑造的是科技创新价值观。

订阅方式,就近邮局(所)订阅,各省、自治区科技厅及直辖市科委订阅。电话:010-68514028,邮箱:zgncjkj2008@163.com.

微信订阅:

