

杨秀莲,冯 洁,王良桂. 朱砂丹桂扦插技术及生根过程中生理生化分析[J]. 江苏农业科学,2015,43(3):155-158.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.03.050

朱砂丹桂扦插技术及生根过程中生理生化分析

杨秀莲,冯 洁,王良桂

(南京林业大学风景园林学院,江苏南京 210037)

摘要:研究了激素种类、激素浓度、扦插基质对朱砂丹桂扦插生根的影响,找出了其生根最优组合,即 100 mg/L ABT 生根粉+珍珠岩+蛭石,并初步确定朱砂丹桂生根类型属皮部生根型。试验结果还表明,在生根过程中,可溶性糖含量与淀粉含量在不定根生出之前变化趋势呈负相关;可溶性蛋白在不定根形成之前持续下降,后上升;总氮值在不定根形成期下降,后上升;C/N 在不定根伸长之前持续下降,后上升;POD 活性在根原基诱导期及不定根伸长期分别出现高峰。

关键词:朱砂丹桂;扦插生根;营养物质;变化

中图分类号: Q945.52 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)03-0155-04

桂花是我国十大传统名花之一,属于木樨科常绿小乔木,是一种绿化、美化、香化三者密切结合的优良园林树种^[1]。朱砂丹桂(*Osmanthus fragrans* ‘Zhusha Dangui’)是丹桂的一种,其主干挺拔秀丽,枝叶婆婆多姿,清香四溢,花瓣橙红色,花量大,花色艳丽,观赏效果极佳,是优良的园林绿化和庭院观赏树种^[2]。此外,朱砂丹桂食用、药用、经济价值也很高。近年来,市场需求不断提高,据调查,干径 8 cm 以上的丹桂稀缺,每株单价在 2 000 元以上,干径 3 cm 以上的植株每株也值数百至上千元。

桂花传统繁育多用嫁接、压条等方法,但是嫁接和压条会

导致母树受损严重,成本高且繁殖量少,影响了桂花产业的发展。因而在生产上,以扦插繁殖最为普遍,但不同的品种有不同的扦插生根能力,有的品种扦插生根率高达 90% 以上,而有的却非常低。朱砂丹桂属扦插较难生根的树种,扦插成活率很低。因此,在本试验中研究了外源激素和扦插基质对插穗生根的影响,并试图了解其生根机理,旨在找出最佳的扦插配方和提高扦插生根率,为进一步加大朱砂丹桂的开发与推广奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与场地

试验材料为朱砂丹桂,树龄 30 年,生长在南京林业大学园林实训中心内,试验在该实训中心的温室内进行。

1.2 试验设计与方法

1.2.1 生根观察与最优化试验 6 月初,在清晨温度较低时采集植物外围的 1 年生健康枝条,将采下的枝条放在清水中,插穗长度为 8~10 cm,保留 1~2 片叶子。插穗上切口为平

龄段的平邑甜茶砧木进行高位嫁接。

参考文献:

- [1]董绍珍,俞 宏. 苹果属植物与无融合生殖[J]. 果树科学,1987,4(4):27-29.
- [2]郝荣庭,韩其谦. 主要果树砧木[M]. 北京:中国林业出版社,1998.
- [3]郑州果树所. 果树砧木论文集[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1985.
- [4]谷守浩,王光金. 平邑甜茶简介[J]. 落叶果树,1989(增刊1):130-131.
- [5]赵晓光. 平邑甜茶在苹果砧木育种及栽培中的价值[J]. 安徽农业科学,2005,33(2):265-265.
- [6]肖 宏,毛志泉,于明革,等. 连作土与灭菌土对平邑甜茶幼苗生长发育的影响[J]. 果树学报,2004,21(4):370-372.
- [7]李向宏,丛日春. 平邑甜茶高接宁丰苹果试验[J]. 北方果树,1999(2):15.

收稿日期:2014-04-21

基金项目:国家林业局公益性行业专项(编号:201204607)

作者简介:杨秀莲(1970—),女,博士,副教授,研究方向为园林植物栽培和应用。E-mail:yangxl339@sina.com。

通信作者:王良桂,教授,博士生导师,研究方向为园林植物栽培和应用。E-mail:wlg@njfu.com.cn。

14 年生分别高出 5.36、4.60、5.08 t/hm²;15 年生分别高出 4.86、4.58、6.43 t/hm²。

3 年生平邑甜茶高位嫁接丽嘎啦苹果,同样也没有大小脚现象,并且产量稳定,进入结果期后产量逐年上升,但与同龄的对照树山丁子低位嫁接的丽嘎啦树体相比,穗砧比和产量性状差异极显著($P < 0.01$),山丁子低位嫁接的丽嘎啦树体表现小脚现象。4、5、6 年生的丽嘎啦/甜茶苹果平均产量比低位嫁接的同龄丽嘎啦/山丁子分别要高出 2.10、4.44、6.63 t/hm²。

2 年生平邑甜茶高位嫁接 3 年生 7 个富士系苹果新品系及对照表现大脚现象,品系之间的穗砧比表现差异不显著;而 2 年生平邑甜茶高位嫁接 4 年生 56 个富士系苹果品系,小脚现象比较明显,且个别品系之间的穗砧比差异极显著。

本研究表明,用平邑甜茶高位嫁接方法快速建富士系苹果园,建议选用砧龄大一些的如 5 年生平邑甜茶砧木进行高位嫁接建园,效果比较理想,其他品种可酌情考虑应用不同年

口,下端口斜切且尽量靠近叶节处。扦插前把插穗下端对齐捆好,插穗下端在提前配好的生长调节剂中速蘸 30 s 后扦插。插床用大号周转箱(长 58 cm、宽 36 cm、高 18 cm),底部均匀打孔,以利于排水,扦插前 2 d 将基质装入容器内,用 0.5% 的高锰酸钾进行淋灌消毒。

扦插完毕后,周转箱上盖遮阴网,定期喷水,保持适宜扦插生根的温度与湿度。

(1)生根类型的观察:以 ABT(250 mg/L)处理插穗为对象,以清水作为对照处理。扦插后,每天观察插条愈伤组织形成和不定根出现的情况,至切口愈合,长出新根为止,记录每次观察的结果。每次随机抽取各处理 5 株,3 次重复。

(2)生根率最优组合试验:采用 $L_9(3^3)$ 正交设计,试验因素和水平见表 1,共 9 个处理,每处理 60 株插穗,3 次重复。生根结束后,对生根性状的 5 个指标生根率、愈伤组织形成率、存活率、最长根长、根系效果指数进行测定,其中,根系效果指数 = 平均根长 × 根系数量 / 总插条数。

表 1 嫩枝扦插正交试验因素和水平

水平	A:生长调节剂 种类	B:生长调节剂 浓度(mg/L)	基质类型
1	IAA	100	珍珠岩 1: 泥炭 1
2	ABT 生根粉	250	珍珠岩 1: 蛭石 1
3	NAA	500	珍珠岩 1: 蛭石 1: 泥炭 1

1.2.2 生根过程中韧皮部营养物质及 POD 活性变化测定
选用珍珠岩 + 蛭石为基质,250 mg/L ABT 生根粉处理插穗,进行扦插,每个处理 50 根,重复 3 次,以清水作对照。每隔一定的时间随机选取 18 ~ 20 根插穗,将所取材料用蒸馏水冲洗擦干后,置于冰盒内带回实验室,剥取插穗基部 2 cm 区域内的韧皮部,将其剪碎,置于超低温冰箱中保存备用。

采用考马斯亮蓝 G - 250 染色法^[3]测定可溶性蛋白含量;采用蒽酮比色法测定可溶性糖含量^[4]和淀粉含量^[5];用

愈创木酚法^[6]测定过氧化物酶(POD)活性;采用 $H_2SO_4 - H_2O_2$ 消煮法^[7]测定全氮含量。

试验数据处理:用 Excel 软件绘制图表,SPSS 17.0 软件进行方差分析和多重对比。

2 结果与分析

2.1 生根类型观察结果

在 5 ~ 26 d,处理的插穗切口开始有白色絮状愈伤组织产生,此期为愈伤组织诱导期。在 27 ~ 42 d,处理的插穗切口开始出现白色突起,此期为根原基诱导期,而对照的插穗此时才出现愈伤组织、无白色突起产生。在 42 ~ 57 d,大部分处理插穗已有不定根产生,此期为不定根形成期,而对照插穗中仅有小部分产生不定根。在 57 ~ 64 d,有少数侧根形成,这个时期为不定根伸长期。64 d 后,根成型,生根基本结束。

对照组的生根时间比处理组平均晚 12 d 左右。此外,从插穗生根部位和生根时间看,其根原基发生在插穗的皮孔下部,与愈伤组织无关,因此朱砂丹桂是典型的皮部生根型植物。

2.2 丹桂扦插生根最优组合试验结果

从表 2 可以看出,各处理间扦插效果差异显著,其中,愈伤组织形成率为 11.67% ~ 71.67%,4 号组合最高且与其他处理差异极显著,排序为 4 号 > 2 号 > 3 号 > 1 号 > 6 号 > 9 号 > (5 号、8 号) > 7 号。插穗存活率为 6.67% ~ 68.33%,4 号最高,其次是 3 号,但二者之间差异不显著,排序为 4 号 > 3 号 > 2 号 > 1 号 > 6 号 > 9 号 > 8 号 > (5 号、7 号)。生根率为 10% ~ 65%,4 号生根率最高且与其他处理差异极显著,排序为 4 号 > 3 号 > 1 号 > 9 号 > 6 号 > (2 号、5 号) > 8 号 > 7 号。根系效果指数为 0.31 ~ 1.44,4 号最高,与 1 号差异不显著,排序为 4 号 > 1 号 > 5 号 > 3 号 > 2 号 > 6 号 > 9 号 > 8 号 > 7 号。最长根长在 2.43 ~ 9.03 cm 间,4 号最高,与 1 号差异不显著,排序为 4 号 > 1 号 > 3 号 > 6 号 > 5 号 > 2 号 > 9 号 > 8 号 > 7 号。

表 2 扦插生根性状试验结果

编号	组合	愈伤组织形成率 (%)	插条存活率 (%)	生根率 (%)	根系效果指数	最长根长 (cm)
1	A ₁ B ₁ C ₁	40.00Cd	40.00C	38.33C	1.36Ab	8.72A
2	A ₁ B ₂ C ₂	56.67Bb	55.00B	13.33E	0.93Bcd	4.67BCd
3	A ₁ B ₃ C ₃	50.00Bc	61.67AB	48.33B	1.09ABc	5.73B
4	A ₂ B ₁ C ₂	71.67Aa	68.33A	65.00A	1.44A	9.03A
5	A ₂ B ₂ C ₃	13.34Ef	6.67E	13.33E	1.13BCd	4.80BC
6	A ₂ B ₃ C ₁	38.34Cd	28.34D	26.67D	0.91BCd	5.57BC
7	A ₃ B ₁ C ₃	11.67Ef	6.67E	10.00E	0.31Df	2.43Cd
8	A ₃ B ₂ C ₁	13.34Ef	10.00E	11.67E	0.49CDdf	3.20BCd
9	A ₃ B ₃ C ₂	28.34De	25.00D	28.33D	0.67BCD	3.60BCd

注:各数值均指试验的 3 个重复的平均值。同列数据后不同大、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著。

根据生根性状方差分析得知,正交试验的 9 个处理对生根性状的 5 个指标均有显著差异。由上述分析综合可知:在朱砂丹桂的夏季嫩枝扦插中,4 号处理(100 mg/L ABT、珍珠岩 + 蛭石)的几个指标均比其他 8 个处理高,愈伤组织形成率达到 71.67%、插穗存活率达到 68.33%、生根率达到 65.00%、根系效果指数为 1.44、最长根长为 9.03 cm。而 7 号处理(100 mg/L NAA、珍珠岩 + 蛭石 + 泥炭土)的生根指标

相对较低,愈伤组织形成率仅为 11.67%、插穗存活率为 6.67%、生根率为 10.00%、根系效果指数为 0.31、最长根长为 2.43 cm。

2.3 插条皮部营养物质变化及 POD 活性变化

2.3.1 插条皮部营养物质的变化

2.3.1.1 可溶性糖含量的变化 糖类物质是植物体内主要的营养储藏和运输形式,有研究表明,插穗生根与插穗内营养

物质有关,可溶性糖是插穗生根和生存所必需的主要营养物质^[8]。图 1 表明,朱砂丹桂插穗内可溶性糖含量的变化趋势是上升—下降—上升—下降,有较大波动。综合生根过程观察分析,250 mg/L ABT 生根粉处理过的插穗,初期由于淀粉类物质生物降解,含糖量有轻微上升,16~30 d 内,愈伤组织形成需要消耗营养,造成插穗内可溶性糖含量下降。扦插 30 d 后,可溶性糖含量达到最低,此后愈伤组织形成而使淀粉酶活性增强,促进淀粉水解,可溶性糖含量开始升高。57 d 后可溶性糖含量下降,此时是不定根伸长期,可溶性糖大量消耗。此外,处理与对照差别不大,可见 250 mg/L ABT 生根粉对插穗内部可溶性糖变化影响不大,这与前人研究结果不同,可能是由于试验材料的差异所致。

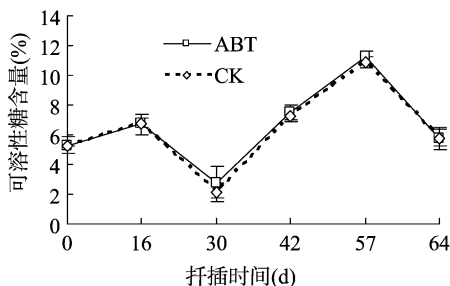


图1 扦插过程中可溶性糖含量的变化

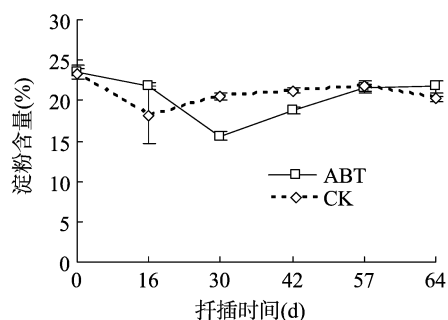


图2 扦插过程中淀粉含量的变化

2.3.1.2 淀粉含量的变化 淀粉是插穗中主要的储藏物质,淀粉通过水解转化为糖类从而供给生根所需的能量,插条内淀粉含量越高,说明转化成可溶性糖就越低^[9]。由图 2 可见,扦插过程中插穗皮部淀粉含量的变化趋势基本是下降—上升。0~30 d,处理插条皮部淀粉含量持续下降,对照则呈现先降后轻微上升的趋势。处理插穗皮部淀粉含量在 30 d 时达到最低,可能是由于愈伤组织形成后,促使淀粉酶活力增强,部分淀粉被分解提供能量。之后含量上升,说明伴随着插穗不定根的形成,不定根开始吸收营养物质,淀粉得到积累。初步推断,250 mg/L ABT 生根粉能促进淀粉转化为可溶性糖的速度。

2.3.1.3 可溶性蛋白含量的变化 蛋白质在生物体内参与构成细胞、调节代谢等多种作用,因此测定可溶性蛋白含量变化也可反映出扦插生根过程中的复杂变化^[10]。由图 3 知,可溶性蛋白是下降—上升—下降的趋势。ABT 生根粉处理的插穗,初始的 0~42 d 内,可溶性蛋白含量下降,蛋白质分解,为愈伤组织的形成提供营养物质。在 42~57 d 内,不定根诱导形成,储存了充足的营养物质,致使可溶性蛋白含量上升。虽然对照的变化趋势与处理的差不多,但是对照较处理更为

和缓。这说明,250 mg/L ABT 生根粉刺激了插条,可能加快了可溶性蛋白运作的速度,从而促进生根。

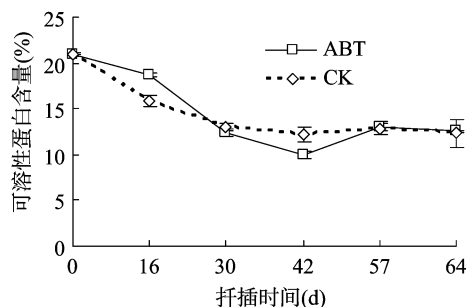


图3 扦插过程中可溶性蛋白含量的变化

2.3.1.4 总氮含量的变化 氮元素也是植物生长的重要元素,与植物根部生长有着密切的关系^[11]。由图 4 可知,总氮含量呈现下降—上升—下降—上升的趋势。在 42 d 不定根形成期,总氮含量达到最低值,可能是低氮的环境更有利于不定根的长出。在愈伤组织形成前期、不定根形成期,处理总氮的含量比对照高,初步推断 250 mg/L ABT 生根粉可能会加速总氮含量的生成。

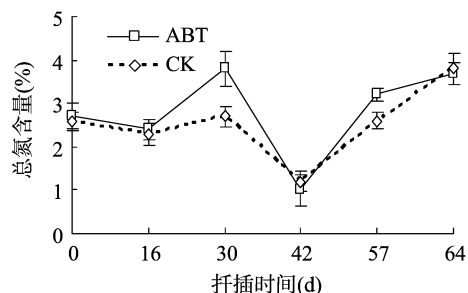


图4 扦插过程中总氮含量的变化

2.3.1.5 碳氮比的变化 碳、氮营养是插穗生根前维持生命和生根所不可缺少的重要能源^[12]。插穗生根与碳水化合物和含氮化合物的比率有关^[13]。由图 5 可知:碳氮比值呈现下降—上升趋势,在愈伤组织和根原基的发育阶段,碳氮比值的下降,可能促进了根原基发端和发育,而在不定根伸长期碳氮比又开始上升。这说明朱砂丹桂不定根的形成产生需要较低的 C/N,直到不定根伸长期才需要较高的 C/N。

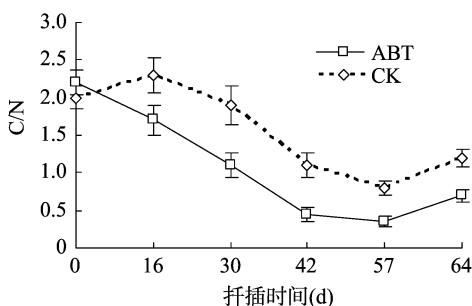


图5 扦插过程中 C/N 的变化

2.3.2 插条皮部内 POD 酶的活性变化 过氧化物酶(POD)是植物体内酶促保护系统(即保护酶系统)的重要组成部分,能消除植物体内的内源 IAA,促使诱导根原基^[14]。POD 活性与愈伤组织形成能力,以及与插穗不定根的诱导均有密切的关系^[14]。图 6 显示了朱砂丹桂嫩枝扦插过程中插穗 POD 活

性的变化,变化趋势为上升—下降—上升—下降。POD 活性在愈伤组织的形成期和不定根伸长期均出现高峰,说明高活性的 POD 有助于消除体内的过氧化氢、酚类物质以及多余的 IAA,从而有利于根原基的诱导。对照中 POD 活性与处理的变化趋势基本相同,但处理的插穗中 POD 活性比对照的高,且两者之间 POD 活性差异较大,相关分析表明,生根率与 POD 活性呈正相关,说明 250 mg/L ABT 生根粉能提高 POD 活性,从而提高生根率。

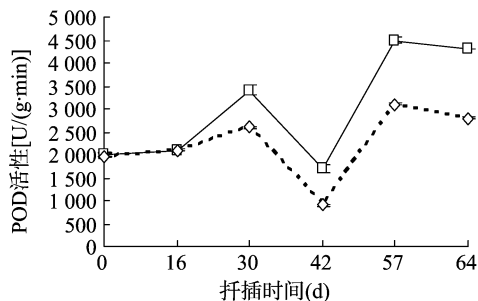


图6 扦插过程中 POD 活性的变化

3 结论与讨论

3.1 朱砂丹桂生根类型与最优组合

本试验表明,朱砂丹桂扦插生根属于皮部生根型。激素的种类与浓度、基质种类对插穗的生根有显著的影响。100 mg/L ABT 生根粉+珍珠岩+蛭石的组合处理效果最佳;而 100 mg/L NAA+珍珠岩+蛭石+泥炭土组合处理效果最差。

3.2 营养物质与生根的关系

插穗生根的过程是在很大程度上受碳水化合物充足供应所控制的过程。本研究中,250 mg/L ABT 生根粉处理的插条中,其可溶性糖含量与淀粉含量在不定根生出之前变化趋势呈负相关,这证明其生根之前,淀粉水解转化为糖类,供给生根所需的能量,而生根后,根能吸收营养物质积累淀粉,淀粉含量呈上升趋势,可溶性糖也呈短暂上升。这与杜仲^[8]、金露梅^[16]的扦插生根过程中的变化基本一致。可溶性蛋白在不定根形成之前不断下降,说明蛋白质分解为愈伤组织的形成提供构成营养,与凹叶厚朴^[17]扦插生根过程中蛋白质的变化曲线一致。总氮值在不定根形成期不断下降,说明低氮更利于生根。不定根的形成产生需要较低的 C/N,直到侧根生长期才需要较高的 C/N,这与落羽杉^[18]扦插生根过程中 C/N 的变化基本一致。但与前人对许多其他植物在这方面的研究结果不尽相同,因此笔者认为,高 C/N 能促进生根这一理论不一定适合所有植物。POD 活性在根原基诱导期及侧根伸出期分别出现高峰,说明生根率与 POD 活性呈正相关,这与前人对欧榛^[19]、马尾松^[20]的扦插研究结果一致。

3.3 ABT 生根粉对营养物质变化的影响

虽然 ABT 生根粉对插穗内部可溶性糖的变化影响不大,但可溶性蛋白、淀粉、总氮、C/N 的含量以及 POD 活性与对照相比均发生了明显的变化:促进可溶性蛋白运作的速度,促进淀粉转化为可溶性糖的速度,加速总氮含量的生成,降低了 C/N。此外,还提高了其 POD 的活性,尤其是在愈伤组织形成期及不定根原基诱导的关键期。有研究证明,这些物质含量的动态变化与插穗生根相关,说明生长调节剂是通过调节

插穗内代谢物质的含量来促进插穗生根^[21]。

本试验中朱砂丹桂嫩枝扦插的生根率还不是很,本研究只是对影响扦插成活率的最佳组合以及相关因素进行了初步试验,要找到朱砂丹桂扦插的最佳时期和配方、高效的育苗途径还有待深入研究。

参考文献:

- [1] 向其柏,刘玉莲. 桂花资源的开发与应用现状及发展趋势[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2004,28(增刊1):104-108.
- [2] 李士保,王长海,蔡凤林,等. 丹桂苗木繁育技术研究[J]. 现代农业科技,2009(22):198,201.
- [3] 赵英永,戴云,崔秀明,等. 考马斯亮蓝 G-250 染色法测定草乌中可溶性蛋白质含量[J]. 云南民族大学学报:自然科学版,2006,15(3):235-237.
- [4] 张志良. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,1990:154-155.
- [5] 黄光文,沈玉平,李常健. 甘薯淀粉含量测定的新方法[J]. 湖南农业科学,2010(17):109-111.
- [6] 李忠光,龚明. 愈创木酚法测定植物过氧化物酶活性的改进[J]. 植物生理学通讯,2008,44(2):323-324.
- [7] 景丽洁,袁东海,王晓栋,等. 水生植物总氮测定中两种消化方法的比较[J]. 环境污染与防治,2005,27(5):392-394.
- [8] Rafiqul Hoque A T M. Rootability of *Dalbergia sissoo* Roxb. cuttings from different clones at two different levels and their primary field growth performance[J]. Dendrobiology,2008,59:9-12.
- [9] 吕明霞. 梅花硬枝扦插繁殖与贮藏养分的关系[J]. 浙江农业科学,2000(4):48-50.
- [10] 徐丽萍,上官新晨,喻方圆. 秤锤树嫩枝扦插过程中营养物质含量的变化[J]. 江西农业大学学报,2012,34(1):50-53.
- [11] 李振坚,陈俊愉,吕英民. 木本观赏植物绿枝扦插生根的研究进展[J]. 北京林业大学学报,2001,23(增刊2):83-85.
- [12] 大山郎雄. 植物扦插理论与技术[M]. 北京:中国林业出版社,1989:89.
- [13] 郭素娟. 林木扦插生根的解剖学及生理学研究进展[J]. 北京林业大学学报,1997,19(4):64-69.
- [14] 原牡丹,侯智霞,翟明普,等. IAA 分解代谢相关酶(IAAO、POD)的研究进展[J]. 中国农学通报,2008,24(8):88-92.
- [15] Calderon Baltierra X V. Changes in peroxidase activity during root formation by *Eucalyptus globules* shoots raised *in vitro* [J]. Plant Perox Newlett,1994(4):27-29.
- [16] 张忠微,石素霞,等. 金露梅嫩枝插穗生根过程中营养物质含量变化研究[J]. 河北农业大学学报,2008,31(4):56-59.
- [17] 马英姿,宋荣,宋庆安,等. 凹叶厚朴扦插繁殖的生根机理研究[J]. 中国农学通报,2012,28(33):112-117.
- [18] 吴落军. 落羽杉的扦插繁殖技术与生根机理研究[D]. 南京:南京林业大学,2007.
- [19] 扈红军,曹帮华,尹伟伦,等. 不同处理对欧榛硬枝扦插生根的影响及生根过程中相关氧化酶活性的变化[J]. 林业科学,2007,43(12):70-75.
- [20] 刘玉民,刘亚敏,马明,等. 马尾松扦插生根过程相关生理生化分析[J]. 林业科学,2010,46(9):28-33.
- [21] 王关林,吴海东,苏冬霞,等. NAA、IBA 对樱桃砧木(*Prunus pseudocerasus* Colt)插条的生理、生化代谢和生根的影响[J]. 园艺学报,2005,32(4):691-694.