

姚锐,王义强,谭益民,等. 激素处理对北美香柏扦插繁殖及相关氧化酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(11):97-102.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.026

激素处理对北美香柏扦插繁殖 及相关氧化酶活性的影响

姚锐¹,王义强^{1,2},谭益民²,黄瑞春³,米小琴³

(1. 中南林业科技大学生命科学与技术学院,湖南长沙 410004;

2. 中南林业科技大学省部经济林培育与保护重点实验室,湖南长沙 410004; 3. 湘西州生态实验站北美香柏试验基地,湖南吉首 416713)

摘要:为了研究提高北美香柏 Green Giant 扦插生根效果的方法及氧化酶活性对其生根的影响,以半木质化北美香柏 Green Giant 插穗为材料,使用激素 ABT 生根粉、K-IBA(3-吲哚丁酸钾盐)、K-NAA(萘乙酸钾盐)进行处理,激素质量浓度分别设置为 2、6、10 g/L,处理时间分别为 5、15、25 s,采用正交试验设计,寻求插穗最优生根组合。使用 6 g/L K-IBA 处理 Green Giant 插穗 15 s,以清水处理作对照,研究不定根形成过程中过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、吲哚乙酸氧化酶(IAAO)活性的动态变化。扦插繁殖正交试验结果表明,6 g/L K-IBA 处理插穗 5 s,其生根率高达 91.67%,平均生根数为 17.53 条,平均根长达到 5.01 cm;正交试验极差分析及多重比较结果表明,6 g/L K-IBA 处理插穗 15 s 为北美香柏扦插生根最优组合方案。生根过程中氧化酶活性变化分析结果表明,在 POD、PPO 活性峰值和 IAAO 活性谷值时期,伴随不定根起始,说明高活性的 POD、PPO 和低活性的 IAAO 共同促进了不定根的形成。

关键词:北美香柏;扦插;生根;氧化酶活性;3-吲哚丁酸钾盐(K-IBA);萘乙酸钾盐(K-NAA)

中图分类号:S723.1+32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)11-0097-05

北美香柏,别称北部白雪松、侧柏,其枝叶分布紧凑,树冠尖而狭窄,树高 5~15 m,是一种主产于美国北部地区的针叶树种。现代临床医学研究表明,北美香柏乙醇提取物具有抗真菌、抗呼吸道合胞体病毒、抗癌细胞增殖、抑制癌细胞转移、提高人体免疫力等多种药理活性^[1]。此外,北美香柏材质密度低,稳定性强,耐腐蚀,抗白蚁,是制作家具、木瓦、栅栏、桥梁的上等材料^[2]。北美香柏因其潜在的巨大的药用价值和经济价值而受到各界人士的青睐,据林业调查统计,近年来,仅在北美安大略湖、新西兰等地,北美香柏年均采伐量就高达 350 000 m³^[3]。面对北美香柏种质资源日渐匮乏的紧迫局势,提高北美香柏繁殖率尤为重要。

既能保持北美香柏优良遗传特性,又能缩短育苗周期的扦插技术是快速提高北美香柏繁殖率的首选途径。扦插成活率主要由生根率决定,而外源施加植物激素是快速提高生根率的常用手段。关于植物激素在北美香柏扦插育苗上的应用,研究者做过相关试验,表明恰当种类激素和适宜的用量,可显著提高成活率。目前,北美香柏的扦插研究中激素处理多采用低浓度浸泡法,缺少对激素种类、激素质量浓度、激素作用时间 3 因子组合生根效果的筛选,这也可能是导致北美香柏扦插繁殖进展缓慢的原因之一^[4-5]。

植物扦插繁殖技术会受到生根机制理论的制约,因此对

扦插生根机制的深入研究才能更快地提高北美香柏扦插生根率。植物生根是集物质代谢、能量代谢、形态建立为一体的多向发育过程。已有大量研究表明,根原基的发生伴随着氧化酶活性的变化。过氧化物酶(POD)参与生长素(IAA)、酚类的氧化分解以及细胞壁木质素合成等生理过程^[6-8]。有研究发现,生根能力强的葡萄 Ramsey 插穗 POD 活性也较高^[9]。吲哚乙酸氧化酶(IAAO)通常被认为是 POD 的同源异构体,其主要功能是氧化脱羧 IAA^[10]。Güneş 研究发现,在酚类化合物存在时,IAA 氧化产物可促进根原基的形成^[11]。Husen 发现,激素处理插穗 IAAO 活性显著高于未经激素处理插穗^[12]。多酚氧化酶(PPO)是一种广泛分布植物中、催化酚氧化的核编码含铜酶,它直接调节酚类的合成来影响细胞的分裂、分化以及根原基的发育^[13-15]。在葡萄、山茶的不定根诱导期,PPO 活性有上升趋势^[13-14]。易生根的波斯胡桃 Sunland 在不定根发育过程中,显示较高的 PPO 活性^[15]。

本研究采用不同激素处理的正交试验设计,以期找到提高北美香柏 Green Giant 扦插生根效果的最优组合方案。通过测定清水处理和最优组合处理插穗生根不同时期 POD、IAAO、PPO 活性,分析其变化规律,并进行对比分析,从而研究北美香柏扦插生根机制。

1 材料和方法

1.1 材料及处理

2015 年 3 月 8 日于湖南省湘西州森林生态研究试验站北美香柏实验基地采集 2 年生北美香柏 Green Giant 母树上的半木质化、8~10 cm 插穗。采集完成后,将插穗基部靠齐,并用细绳系成捆状,基部朝下放入盛有少量清水的塑料袋中,并置于阴暗处保存。选用 $V_{\text{泥炭土}}:V_{\text{河沙}}=1:1$ 作基质,扦插前

收稿日期:2017-02-27

基金项目:国家林业局“948”项目(编号:2013-4-25)。

作者简介:姚锐(1990—),女,湖北黄冈人,硕士研究生,研究方向为生物化学与分子生物学。E-mail:1569696194@qq.com。

通信作者:王义强,博士,教授,博士生导师,研究方向为林业生物技术、细胞工程。E-mail:wangyiqiang12@163.com。

使用代森锌可湿性粉剂与基质土壤混合,加薄膜覆盖 2~3 d。扦插当天,将基质装入 5 cm×6 cm×7 cm 无纺布棉袋中,并置于 20 孔穴盘上。插前,保留 3~4 张幼嫩叶芽,剪去基部老叶,并用皮筋包扎成 20 株/捆。使用激素溶液处理插穗时,注意确保插穗基部以下 1 cm 处完全浸入溶液中,使用秒表准确记录处理时间,处理完毕后,将插穗置于滤纸上晾干,随后将其轻轻插入基质中。基质土壤购自长沙市红星花卉市场,植物激素购自 Sigma 试剂公司,扦插基地设在中南林业科技大学西苑苗圃温室大棚中。

1.2 试验设计

扦插材料为半木质化的北美香柏 Green Giant 插穗,在前期大量单因素试验基础上,进行激素种类、激素浓度、作用时间的 3 因素 3 水平扦插正交试验,共有 9 种组合处理,每组扦插 20 株插穗,进行 3 次重复试验,共扦插 540 株插穗,扦插基质为泥炭土、河沙,配方为 $V_{\text{泥炭土}}:V_{\text{河沙}}=1:1$,具体方案见表 1。以 6 g/L K-IBA 处理 15 s(正交试验最佳组合),并以清水处理作对照,插后每隔 12 d,对扦插材料进行采集,以测定氧化酶活性。

表 1 北美香柏扦插繁殖正交试验设计

水平	因素		
	A:激素种类	B:激素浓度(g/L)	C:处理时间(s)
1	ABT 生根粉	2	5
2	K-IBA(3-吡啶丁酸钾盐)	6	15
3	K-NAA(萘乙酸钾盐)	10	25

1.3 插后管理

光照管理:采用带有遮阳的塑料棚覆盖的沙床,扦插后,每天 10:00 覆盖遮阳网,17:00 揭开。水分管理:扦插当天,立即对插床灌 1 次透水,在插床上方安装喷雾设施,喷雾频率为 2~3 次/d。夏季高温时期,及时打开棚内风机、湿帘,使插床及周围环境湿度保持在 85% 以上,温度控制在 18~27℃。

1.4 指标测定

生根指标的测定:插后 60 d,统计生根插穗数量、生根数、根长(除去最长根长)。

不同氧化酶活性的测定:插后定期观察插穗基部形态变化,并对插穗进行采集。剪取插穗基部以上 3 cm 韧皮部,用剪刀剪成碎片,放入洁净、干燥的陶瓷研钵内,加入液氮浸没样品,快速转动研棒,至样品呈细粉状,将样品转移至已作标记的离心管中,于 -80℃ 保存。POD 活性测定参考王学奎的方法^[16],IAAO 活性测定参考 Syros 等的方法^[7],PPO 活性测定参考 Kose 等的方法^[9]。

1.5 数据分析

用统计学软件 SPSS 1.7 对生根指标相关数据进行分析,用 Excel 2007 进行图表制作。

2 结果与分析

2.1 北美香柏 Green Giant 生根情况的观察

观察插穗不定根形成情况可知:插后 14 d 左右,部分插穗基部伤口逐渐愈合;插后 24 d 左右,观察到不同处理插穗基部切口愈合处逐渐膨大,形成淡黄色、光滑带光泽的愈伤组织;插后 24~36 d,观察到愈伤组织形成量增多,少数插穗已

有白色、长约 0.4 cm 的不定根从基部长出(图 1-a)。插后 36~48 d,大部分插穗形成不定根;插后 48~60 d,不定根伸长速度加快,部分插穗根系长度达到了 4~5 cm(图 1-b)。图 1-c 为清水处理插穗生根效果。图 1-d 为最佳组合(6 g/L K-IBA,作用时间 15 s)处理下的插穗生根效果。

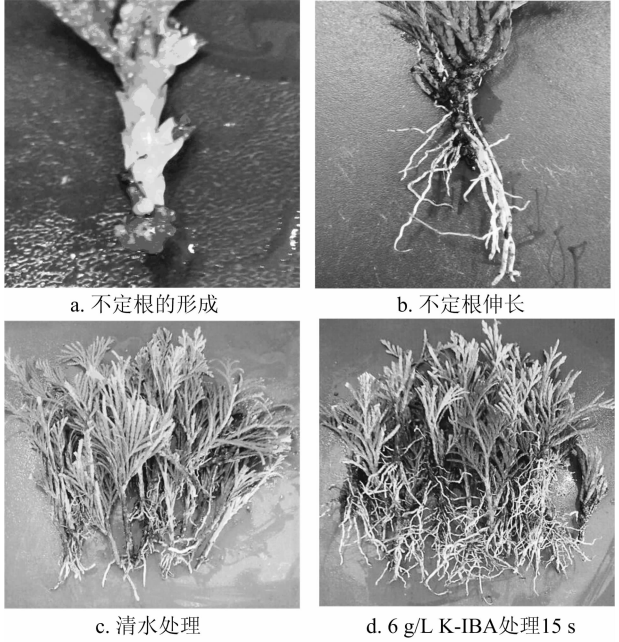


图 1 北美香柏 Green Giant 生根形态观察

2.2 北美香柏 Green Giant 扦插生根最优组合的确定

由表 2 可知:北美香柏 Green Giant 的平均生根率为 65.00%~91.67%($A_3B_3C_1 \sim A_2B_2C_1$ 组合),平均生根数为 11.90~17.53 条($A_3B_1C_3 \sim A_2B_2C_1$ 组合),平均根长为 3.98~5.74 cm($A_3B_3C_1 \sim A_1B_2C_3$ 组合)。即 $A_2B_2C_1$ 组合插穗生根率、平均生根数都最高, $A_1B_2C_3$ 组合插穗的平均根长最长。

表 2 北美香柏扦插繁殖正交试验结果

试验号	因素组合	生根率(%)	平均生根数(条)	平均根长(cm)
1	$A_3B_3C_1$	65.00±5.00d	12.10±1.69c	3.98±0.58c
2	$A_1B_2C_3$	85.00±5.00ab	15.55±1.57ab	5.74±0.30a
3	$A_3B_1C_3$	65.00±5.00d	11.90±0.90c	4.06±0.74bc
4	$A_1B_3C_2$	80.00±5.00bc	13.95±0.81bc	5.02±0.27ab
5	$A_2B_3C_3$	73.33±5.77cd	12.28±1.12c	4.39±0.36bc
6	$A_3B_2C_2$	75.00±5.00c	13.75±0.81bc	4.67±0.70bc
7	$A_2B_2C_1$	91.67±2.89a	17.53±1.35a	5.01±0.50ab
8	$A_2B_1C_2$	90.00±5.00a	16.37±1.00a	5.03±0.14ab
9	$A_1B_1C_1$	78.33±2.89bc	13.18±1.30c	4.89±0.63ab

注:同列数据后不同小写字母表示在 $\alpha=0.05$ 水平差异显著。表 5 同。

由表 3 可知,不同处理对北美香柏 Green Giant 生根率作用效果排序为 A(激素种类)>B(激素浓度)>C(作用时间),当处理组合为 $A_2B_2C_2$ 时,插穗生根率可达到最高值;不同因素对北美香柏 Green Giant 插穗平均生根数影响程度排序为 B(激素浓度)>A(激素种类)>C(作用时间),当处理组合为 $A_2B_2C_2$ 时,插穗平均生根数最多;不同处理对北美香柏 Green Giant 平均根长的作用效果排序为 A(激素种类)>B

(激素浓度) > C(作用时间), 处理组合为 A₁B₂C₂ 时, 插穗平均根长最长。从以上结果可知, 平均生根数、生根率最佳组合一致, 都是 A₂B₂C₂, 但平均根长最佳组合为 A₁B₂C₂, 不同生

根指标最佳组合未保持一致, 因此还须对试验数据进一步分析, 从而找到 Green Giant 插穗生根的最佳组合。

表 3 Green Giant 生根效果的极差分析

类别	生根率(%)			平均生根数(条)			平均根长(cm)		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
k ₁	81.11	77.66	78.33	14.22	13.82	14.27	5.21	4.66	4.63
k ₂	85.00	83.89	81.67	15.39	15.61	14.69	4.81	5.14	4.91
k ₃	68.33	72.78	74.44	12.58	12.78	13.24	4.24	4.46	4.73
R	16.67	11.11	7.23	2.81	2.83	1.45	0.97	0.68	0.28
较优水平	A ₂	B ₂	C ₂	A ₂	B ₂	C ₂	A ₁	B ₂	C ₂
排序	A > B > C			B > A > C			A > B > C		

由表 4 可知, 激素种类、浓度对 Green Giant 插穗所有生根指标的影响都达到了极显著水平, 浸蘸时间仅对生根率有显著影响。由表 5 可知, 对于激素种类而言, 使用 K-IBA, 插穗生根率、平均生根数指标都最佳, ABT 处理下的平均根长最长, 但与 K-IBA 相差不大; 对于激素质量浓度而言, 6 g/L 激素处理下的插穗各生根指标都达到最高值, 10 g/L 激素处理下插穗各生根指标都最低; 对于浸蘸时间而言, 当时间为 15 s 时, 插穗各生根指标都最高。

综上所述, 使用 K-IBA、质量浓度为 6g/L、作用时间为

表 4 Green Giant 生根效果的方差分析结果

因素	生根率		平均生根数		平均根长	
	F 值	P 值	F 值	P 值	F 值	P 值
A(激素种类)	22.956 **	0.000	8.94 **	0.002	8.66 **	0.002
B(激素浓度)	9.35 **	0.001	9.21 **	0.001	4.34 **	0.027
C(作用时间)	3.94 *	0.036	2.48	0.109	0.738	0.491

注: “*” “**” 分别表示影响显著、极显著。

15 s 是 Green Giant 扦插生根最佳组合, 即 A₂B₂C₂。

表 5 Green Giant 生根的多重比较

因素	水平	生根率(%)	平均根长(mm)	平均生根数(条)
激素种类	ABT	81.11 ± 6.01a	5.22 ± 0.54a	14.23 ± 2.59a
	K-IBA	85.00 ± 9.68a	4.81 ± 0.45a	15.39 ± 1.36a
	K-NAA	68.33 ± 6.61b	4.24 ± 0.67b	12.58 ± 4.59b
质量浓度	2 g/L	77.78 ± 12.01b	4.66 ± 0.67ab	13.81 ± 2.20b
	6 g/L	83.89 ± 8.21a	5.14 ± 0.66a	15.61 ± 1.98a
	10 g/L	72.78 ± 7.95b	4.46 ± 0.58c	12.78 ± 1.41b
浸蘸时间	5 s	78.33 ± 12.50ab	4.63 ± 0.69a	14.27 ± 2.79a
	15 s	81.67 ± 7.91a	4.91 ± 0.42a	14.69 ± 1.48a
	25 s	74.44 ± 9.82c	4.73 ± 0.89a	13.24 ± 2.04a

2.3 北美香柏 Green Giant 生根过程中氧化酶活性的变化

2.3.1 POD 活性变化 由图 2 可见, 不同处理的北美香柏 Green Giant 插穗 POD 活性呈“N”字形变化趋势, 试验组插穗 POD 活性于插后 24 d 上升至最高值, 为 521.31 U/(g · min), 是扦插当日的 1.6 倍; 插后 24 ~ 48 d, POD 活性开始下降, 此时观察到插穗基部已有不定根形成; 插后 48 d, 观察到插穗不定根开始伸长, POD 活性又开始升高。清水对照插穗 POD 活性在插后 36 d 内缓慢上升, 并于插后 36 d 达到最高值, 为 352.97 U/(g · min), 较扦插当日提高了 28.1%, 随后 POD 活性有下降趋势, 于插后 48 d 降至 243.25 U/(g · min), 此后 POD 活性又开始上升。在整个生根过程中, 试验组插穗 POD 活性始终高于清水处理插穗, 而试验过程中观察到插穗生根效果明显较差。这可能是因为外源施加 K-IBA 引起了内源生长素含量的升高, 从而引发不定根的起始, 促进根系的伸长^[17]。

2.3.2 PPO 活性变化 由图 3 可知, 不同处理的北美香柏 Green Giant 生根过程中 PPO 活性呈先升高后降低再升高的变化趋势; 6 g/L K-IBA 处理插穗 PPO 活性在插后 0 ~ 24 d

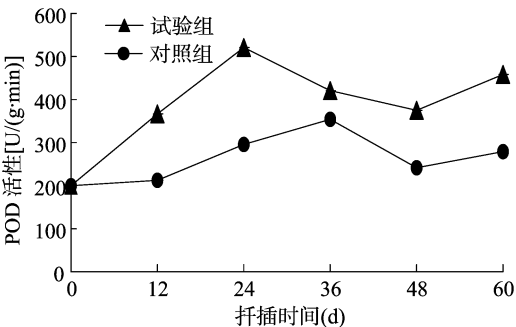


图2 北美香柏 Green Giant 生根期间 POD 活性的变化

内呈上升趋势, 于插后 24 d 达至峰值, 为 183.77 U/(g · min), 在此期间, 插穗愈伤组织大量形成, 高活性的 PPO 加快了插穗酚类物质的氧化, 而氧化态的酚类物质与 IAA 具有一定程度的协同作用, 可有效促进愈伤组织的形成; 插后 24 ~ 48 d, K-IBA 处理插穗 PPO 活性开始不断下降。清水对照插穗 PPO 活性变化与试验组非常相似, 都呈单峰曲线变化, 然而清水对照插穗 PPO 活性于插后 36 d 达到峰值, 为

149.74 U/(g·min), 较试验组整整延后了 12 d。而扦插试验观察到, PPO 峰值正好对应了插穗不定根的起始, 因此 PPO 峰值出现较晚可能是导致插穗不定根形成较慢的重要原因之一。

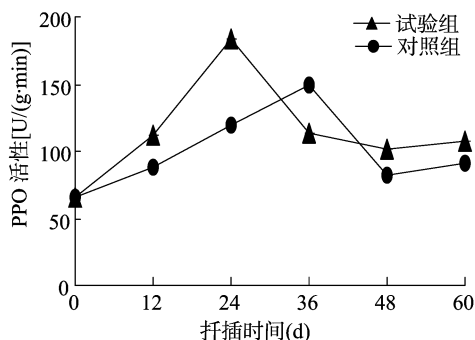


图3 北美香柏 Green Giant 生根期间 PPO 活性的变化

2.3.3 IAAO 活性变化 由图 4 可知, 不同处理的北美香柏 Green Giant 插穗生根过程中, IAAO 活性总体变化趋势相似, 都是扦插初期下降、扦插中期回升、扦插后期再次下降。试验组在插后 0~12 d 内, 多数插穗基部伤口已愈合, 极少数插穗愈合处产生浅黄色、带有光泽愈伤组织, 此时期 IAAO 活性有缓慢下降的趋势; 插后 12 d, 愈伤组织形成量增多, IAAO 活性下降速度加快, 于插后 24 d 达到谷值, 较扦插当天降低了 45.22%; 插后 24~48 d, 插穗不定根开始形成, 并伴随 IAAO 活性的上升; 插后 48~60 d, IAAO 活性开始下降, 插穗根系生长速度加快。清水处理插穗 IAAO 活性在插后 0~36 d 内呈下降趋势, 但整体下降幅度不大, 于插后 36 d 达到谷值, 比扦插当日降低了 19.9%, 但仍然高于试验组; 插后 36~48 d, IAAO 活性快速提高, 插穗不定根形成数量增多; 插后 48~60 d, 随着不定根的伸长, IAAO 活性开始小幅度下降(图 4)。与 POD、PPO 活性变化不同的是, 经过 6 g/L K-IBA 处理后的插穗内 IAAO 活性水平在整个生根周期中均低于清水对照插穗, 说明 K-IBA 对插穗内 IAAO 活性具有一定的抑制性, 使插穗保持相对较低的 IAAO 活性, 进而促进不定根的形成。

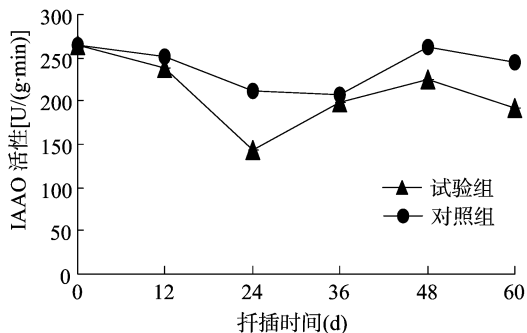


图4 北美香柏 Green Giant 生根期间 IAAO 活性的变化

3 结论与讨论

3.1 不同处理对北美香柏 Green Giant 扦插生根的影响

本试验在大量预试验的基础上选择 3 种不同的激素种类、激素浓度、激素作用时间, 采用正交试验设计, 结果发现, 用 6 g/L K-IBA 处理插穗 5 s, 生根率高达 91.67%, 平均生根数达到 17.53 条/株, 平均根长达 5.01 cm, 这与前人的研究

结果相比, 插穗生根效果有了进一步的提升^[4-5,18]。本研究表明, 使用 K-IBA 插穗生根效果优于 ABT, 但二者之间差异不大, 相对而言, K-NAA 促生根效果最差。大量研究表明, 用一定浓度的 K-IBA 处理插穗都有较好的生根效果, 这是因为与传统植物激素 IAB 相比, K-IBA 水溶性好, 专一性强, 分子结构更稳定, 作用范围广, 既能生根又能壮根, 是提高植物扦插生根率的优良选择。然而有学者发现, 使用 K-IBA、NAA、ABT, 插穗生根效果差异不大, 这说明植物种类不同, 对激素的敏感度也不同, 这可能与其本身物理性质、生理特性、遗传特性有关, 因此在扦插繁殖过程中应针对扦插材料的特性来选择不同类型的外源激素^[19-20]。此外, 激素浓度的选择也很重要, 本研究中, 当激素浓度为 6 g/L 时, 插穗生根率、生根数、根长显著或明显优于 2 g/L 激素处理; 而激素浓度升高到 10 g/L 后, 插穗生根效果与 2 g/L 激素处理的插穗之间相差不大。这说明, 当外源激素浓度大于 10 g/L 时, 北美香柏 Green Giant 插穗生根效果变差, 这与 Singh 等的研究结果^[21-22]相似。外源激素通过调控插穗内源激素水平, 使其在 不定根形成特定时期达到最佳平衡比来促进不定根的形成^[23-24]。当外源激素使用量过少或过多, 会打破内源激素的平衡, 使不同激素间协同作用受到干扰, 不利于插穗生根。正交试验结果显示, 激素作用时间对插穗生根率有极显著影响, 并且当处理时间为 15 s 时, 插穗生根效果最佳。在生产实践中, 大批量插穗往往需要较长时间的处理, 研究插穗生根最佳激素处理时间, 可节约试验时间与生产成本。本正交试验只是对北美香柏 Green Giant 最佳生根效果组合的初步筛选, 因此未来研究工作中还须在小范围内对激素浓度、作用时间进行大量试验, 找出不同处理因素的临界值, 更好地指导北美香柏 Green Giant 的扦插繁殖。

3.2 氧化酶活性对北美香柏 Green Giant 扦插生根的影响

POD 是一组以过氧化氢(H_2O_2)为氧化剂, 催化不同电子供体(酚类化合物、IAA)氧化的血红蛋白。Cho 等研究发现, POD 与植物体内 IAA 的氧化代谢、木质素的合成以及病原体侵入的应激反应相关^[25]。Nag 等研究发现, 外源施用 IBA 的绿豆切片中可见 POD 活性的升高以及 POD 同工酶的高速迁移^[26]。Husen 等认为, POD 活性峰值的出现往往伴随着根原基的起始^[27]。本试验显示, 在愈伤组织形成阶段(0~24 d)、不定根伸长阶段(48~60 d), 北美香柏 Green Giant POD 活性都有上升趋势; 在 不定根形成阶段(24~48 d), POD 活性短暂下降, 这牡丹^[6]、烟树^[28]不定根形成过程中 POD 活性变化规律相似。在愈伤组织形成期, 高活性的 POD 加快了插穗基部切口处薄壁细胞的木质化, 有利于维管束分生组织的形成^[7]。在 不定根形成阶段, POD 活性的短暂降低有利于插穗基部 IAA 的积累, 从而加快细胞分裂与分化, 促进不定根的形成。本研究还发现, K-IBA 处理插穗在整个生根进程中, POD 活性都较高, 这与 Husen 等研究结果^[12,14]一致。总之, K-IBA 的处理, 提高了插穗内 POD 整体活性水平, 这也正是 K-IBA 处理插穗生根效果较好的关键原因。

PPO 主要作用是氧化酚或多酚类物质形成醌。相关研究表明, 在 PPO 的存在下, 酚类可与 IAA 相互协同, 促进不定根的形成^[29]。Ribeiro 等研究发现, 酚类化合物可造成植物根尖坏死以及强烈的侧根分支^[30]。De Klerk 等研究表明, 具有较

强抗氧化作用的间苯三酚可保护 IAA 免于脱羧、氧化,进而促进生根^[31]。由此可见,酚类物质对不定根形成的影响具有两面性,这也暗示在不定根形成过程中 PPO 活性变化规律的复杂性。本试验表明,在北美香柏 Green Giant 愈伤组织形成期,PPO 活性不断上升,高活性的 PPO 一方面加快了酚类物质的氧化分解,减弱酚类对植物的抑生根作用,另一方面增强了酚类与内源 IAA 的协同作用,共同促进愈伤组织的形成,进而引发不定根的起始,而不定根形成后,PPO 活性下降,推测与插穗内低含量的酚类物质有关^[13]。在不定根形成前,K-IBA 处理插穗 PPO 活性上升速度比清水处理插穗快,且 PPO 峰值出现时间较早,而试验观察到 K-IBA 处理插穗生根周期比清水处理插穗提前了 12 d,这说明高活性的 PPO 加快了不定根的形成。

本研究发现,在北美香柏 Green Giant 愈伤组织形成期,IAAO 活性不断下降,低活性的 IAAO 导致插穗内 IAA 含量上升,从而促进愈伤组织快速形成,诱导不定根的起始。在不定根形成期间,IAAO 活性逐渐上升,前期积累过量的 IAA 快速分解,以维持 IAA 平衡比,有利于不定根的形成。随着不定根的不断伸长,IAAO 活性有微弱下降趋势。与 POD、PPO 活性变化规律不同的是,生根效果较好的试验组 IAAO 活性反而更低,这说明 K-IBA 可以通过抑制插穗内 IAAO 活性,来促进插穗生根。与本试验结果不同的是,裸花紫珠扦插试验结果显示,高活性的 IAAO 对其不定根形成有利^[32]。有研究发现,不同年龄母树、不同部位插穗 IAAO 活性也不同^[12,33],这可能是导致不同植物生根过程中 IAAO 活性变化规律不同的的重要原因。

综上所述,高活性的 POD、PPO,低活性的 IAAO 促进了北美香柏 Green Giant 插穗不定根的形成,因此在今后的研究工作中,寻求抑制 IAAO 活性,激活 POD、PPO 活性的方法对于提高北美香柏 Green Giant 扦插繁殖率具有重要意义。

参考文献:

- [1] Alves L D S, Figueirêdo C B M, Silva C C A R, et al. *Thuja occidentalis* L. (Cupressaceae): review of botanical, phytochemical, pharmacological and toxicological aspects [J]. International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 2014, 5(4): 1163 - 1177.
- [2] Taylor A M, Gartner B L, Morrell J J. Heartwood formation and natural durability - a review [J]. Wood and Fiber Science, 2002, 34(4): 587 - 611.
- [3] Larouche C, Ruel J C. Development of northern white - cedar regeneration following partial cutting, with and without deer browsing [J]. Forests, 2015, 6(2): 344 - 359.
- [4] 王 玲, 刘明国, 董胜君. 北美香柏硬枝扦插繁殖技术研究 [J]. 北方园艺, 2011(24): 100 - 102.
- [5] 李 想, 崔文山, 皮 科, 等. 不同激素和基质对北美香柏扦插成活率的影响研究 [J]. 辽宁大学学报 (自然科学版), 2010, 37(1): 79 - 82.
- [6] Fu Z Z, Xu P P, He S L, et al. Dynamic changes in enzyme activities and phenolic content during *in vitro* rooting of tree peony (*Paeonia suffruticosa* Andr.) plantlets [J]. Maejo International Journal of Science and Technology, 2011, 5(2): 252 - 265.
- [7] Syros T, Yupsanis T, Zafiriadis H, et al. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L [J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(1): 69 - 77.
- [8] Hiraga S, Sasaki K H, Ohashi Y, et al. A large family of class III plant peroxidases [J]. Plant and Cell Physiology, 2001, 42(5): 462 - 468.
- [9] Kose C, Erdal S, Kaya O, et al. Comparative evaluation of oxidative enzyme activities during adventitious rooting in the cuttings of grapevine rootstocks [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(4): 738 - 741.
- [10] Pedreira J, Teresa Herrera M, Zarra I A. The overexpression of AtPrx37, an apoplastic peroxidase, reduces growth in *Arabidopsis* [J]. Physiologia Plantarum, 2011, 141(2): 177 - 187.
- [11] Güneş T. Peroxidase and IAA - oxidase activities during rooting in cuttings of three poplar species [J]. Turkish Journal of Botany, 2000, 24(2): 97 - 101.
- [12] Husen A. Changes of soluble sugars and enzymatic activities during adventitious rooting in cuttings of *Grewia optiva* as affected by age of donor plants and auxin treatments [J]. American Journal of Plant Physiology, 2012, 7(1): 1 - 16.
- [13] Somkuwar R G, Bondage D D, Surange M S, et al. Rooting behaviour, polyphenol oxidase activity, and biochemical changes in grape rootstocks at different growth stages [J]. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 2011, 35(3): 281 - 287.
- [14] Rout G R. Effect of auxins on adventitious root development from single node cuttings of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze and associated biochemical changes [J]. Plant Growth Regulation, 2006, 48(2): 111 - 117.
- [15] Cheniany M, Ebrahimzadeh H, Masoudi - Nejad A, et al. Effect of endogenous phenols and some antioxidant enzyme activities on rooting of Persian walnut (*Juglans regia* L.) [J]. African Journal of Plant Science, 2010, 12(4): 479 - 487.
- [16] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 167 - 168.
- [17] Metaxas D J, Syros T D, Yupsanis T, et al. Peroxidases during adventitious rooting in cuttings of *Arbutus unedo* and *Taxus baccata* as affected by plant genotype and growth regulator treatment [J]. Plant Growth Regulation, 2004, 44(3): 257 - 266.
- [18] 王 玲, 董胜君, 刘明国, 等. 北美香柏全光喷雾扦插繁殖技术研究 [J]. 北方园艺, 2010(11): 112 - 115.
- [19] 曾 雯, 邹义萍, 胡曼筠, 等. 不同激素种类及用量对西藏山茉莉扦插生根的影响 [J]. 南方农业学报, 2016, 47(2): 263 - 266.
- [20] 王 瑞, 陈永忠, 罗 健, 等. 油茶扦插育苗试验影响因素分析 [J]. 经济林研究, 2012, 30(2): 78 - 82.
- [21] Singh K K, Rawat V, Rawat J M S, et al. Effect of IBA and NAA concentrations on rooting in stem cuttings of night queen (*Cestrum nocturnum* L.) under sub - tropical valley conditions [J]. Hort Flora Research Spectrum, 2013, 2(1): 81 - 83.
- [22] Akakpo D B, Amissah N, Yeboah J, et al. Effect of indole 3 - butyric acid and media type on adventitious root formation in sheanut tree (*Vitellaria paradoxa* C. F. Gaertn.) stem cuttings [J]. American Journal of Plant Sciences, 2014, 5(3): 313 - 318.
- [23] Osterc G, Štampar F. Differences in endo/exogenous auxin profile in cuttings of different physiological ages [J]. Journal of Plant Physiology, 2011, 168(17): 2088 - 2092.

钱 稷, 张海旺, 邱 葆, 等. 基于电阻抗图谱法测定桃树抗寒性[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(11): 102–104.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.11.027

基于电阻抗图谱法测定桃树抗寒性

钱 稷¹, 张海旺², 邱 葆¹, 陈海江¹

(1. 河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; 2. 辽宁省干旱地区造林研究所, 辽宁朝阳 122000)

摘要:对 3 个桃树品种分别进行冷冻处理, 采用电解质渗透法(EL)、电阻抗图谱法(EIS)进行抗寒性测定及相关分析。结果表明, 2 种方法测定 3 个桃树品种的抗寒性与其生产上表现的抗寒性强弱一致, 并且均随着外界温度的变化而变化。其中 EIS 参数中胞内电阻率(r_i)法测得的抗寒性和 EL 法测得抗寒性的相关性($r=0.890^{**}$)最高, 线性回归方程为 $y=0.8818x-2.2807$ ($r^2=0.8074$)。

关键词:桃树; 电阻抗图谱法; 抗寒性; 电解质渗透法; 抗寒锻炼; 脱锻炼

中图分类号: S662.101 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)11-0102-03

抗寒性是果树栽培与选育中的主要指标, 也是桃树重要的性能指标, 它决定了不同桃树品种适合栽培的区域以及温度要求。在农业生产实践中, 大约需要 10 年时间培育验证不同桃树品种的抗寒性, 长周期会给农民带来较大的经济风险^[1-3]。测定植物抗寒性的方法较多, 但是快速、准确, 又能应用在桃树抗寒性测定的方法鲜有报道。同时应用电阻抗图谱法、电解质渗透法测定桃树的抗寒性, 找出 2 种方法的相关性, 确定电阻抗图谱法和电解质渗透法相关性最优的参数, 以这个参数来快速测定桃树的抗寒性^[4-6]。本研究以抗寒性不同、生产上常见的 3 个桃品种为研究对象, 利用 2 种方法(EIS 和 EL)测定各品种在不同时期枝条抗寒性的变化, 并通过冷冻处理, 利用分布电路元素(distributed circuit element, DCE)模型^[7], 计算不同时期桃树枝条的电阻抗图谱(EIS)参数, 然

后将每个 EIS 参数和电解质渗透率(EL)参数进行相关性分析, 得出最优、最简便、最准确的体现桃树抗寒性的参数, 旨在为抗寒性快速评价提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自河北省辛集市石碑村, 分别为生产上抗寒性较强的桃树品种大久保、抗寒性较弱的桃树品种 21 世纪, 以及抗寒性中等的桃树品种北京 54 号。

2014 年 9 月中旬开始采样, 至第 2 年 5 月中旬结束, 其中抗寒锻炼时间为 2014 年 9 月—2015 年 1 月, 脱锻炼时间为 2015 年 1—5 月。每个品种选长势一致的 3 株植株作为试验对象, 每次采样从每株桃树上选择 30~40 cm 的枝条作为抗寒性测定对象。

1.2 方法

参照张钢等的方法^[8]进行冷冻处理, 温度处理见表 1。

根据 Wilner 测定 EL 的方法^[9], 对每个温度处理设置 4 次重复。参照 Zhang 等的方法^[10]测定 EIS, 每个温度处理设

收稿日期: 2016-09-14

基金项目: 国家桃产业技术体系建设项目(编号: CARS-31-3-02); 河北省科技计划(编号: 15227411、15227529)。

作者简介: 钱 稷(1983—), 男, 河北保定人, 博士研究生, 讲师, 主要从事逆境生理与环境调控研究。E-mail: qianji167@163.com。

[24] Vanstraelen M, Benková E. Hormonal interactions in the regulation of plant development[J]. Annual Review of Cell and Developmental Biology, 2012, 28(1): 463–487.

[25] Cho H Y, Chang C Y, Huang L C, et al. Indole-3-butyric acid suppresses the activity of peroxidase while inducing adventitious roots in *Cinnamomum kanehirae* [J]. Botanical Studies, 2011, 52(2): 153–160.

[26] Nag S, Saha K, Choudhuri M A. Role of auxin and polyamines in adventitious root formation in relation to changes in compounds involved in rooting[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2001, 20(2): 182–194.

[27] Husen A, Pal M. Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. f. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment[J]. New Forests, 2007, 33(3): 309–323.

[28] Ilczuk A, Jacygrad E. The effect of IBA on anatomical changes and antioxidant enzyme activity during the *in vitro* rooting of smoke tree

(*Cotinus coggygria* Scop.) [J]. Scientia Horticulturae, 2016, 210: 268–276.

[29] 周祥明, 刘玉堂, 赵宪争, 等. 合欢硬枝扦插生根解剖及相关酶活性变化研究[J]. 植物研究, 2016, 36(1): 58–61.

[30] Ribeiro R C, Feitoza R B B, Lima H R P, et al. Phytotoxic effects of phenolic compounds on *Calopogonium mucunoides* (Fabaceae) roots [J]. Australian Journal of Botany, 2015, 63(8): 679–686.

[31] De Klerk G J, Guan H Y, Huisman P, et al. Effects of phenolic compounds on adventitious root formation and oxidative decarboxylation of applied indoleacetic acid in *Malus* 'Jork 9' [J]. Plant Growth Regulation, 2011, 63(2): 175–185.

[32] 李晨晨, 周再知, 张金浩, 等. 外源 IBA 对裸花紫珠插穗营养物质含量及抗氧化酶活性的影响[J]. 热带作物学报, 2016, 37(11): 2113–2118.

[33] 郑 科, 郎南军, 曹福亮, 等. 麻疯树枝条扦插生长中多酚氧化酶、过氧化物酶的活性变化[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 177–180.