

刘国娟,刘殿红,王 闯,等.  $GA_3$  对柱型和普通型苹果组培苗生长和生理的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):35-38.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.008

# $GA_3$ 对柱型和普通型苹果组培苗生长和生理的影响

刘国娟,刘殿红,王 闯,刘 敏,徐 宁,孙晓慧

(聊城职业技术学院,山东聊城 252000)

**摘要:**以不同浓度的  $GA_3$  对柱型苹果和普通型苹果组培苗进行处理,测定其叶片中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和  $\alpha$ -淀粉酶的含量。结果表明,外源  $GA_3$  对苹果新梢的伸长具有促进作用,柱型苹果新梢增长量小于普通型苹果,柱型苹果富士×特拉蒙对  $GA_3$  的敏感性相对较弱。普通型苹果新梢对  $GA_3$  反应的最佳浓度为 2.0 mg/L,富士×特拉蒙苹果新梢对  $GA_3$  反应的最佳浓度为 4.0 mg/L。外源  $GA_3$  能明显促进柱型苹果富士×特拉蒙和普通型苹果节间  $\alpha$ -淀粉酶和 POD 活性的提高,但抑制 SOD 活性。不同浓度  $GA_3$  处理 16 d 后,1.0 mg/L  $GA_3$  处理时富士×特拉蒙和普通型苹果 POD 活性均达到最大值,2.0 mg/L 时  $\alpha$ -淀粉酶活性达到最大值。

**关键词:**苹果;赤霉素;SOD;POD; $\alpha$ -淀粉酶

**中图分类号:** S661.104 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)03-0035-03

苹果(*Malus pumila* Mill)属蔷薇科、仁果亚科苹果属,原产欧洲、亚洲,已成为世界四大水果之一<sup>[1]</sup>。苹果的生态适应性强,风味独特,耐贮藏,且供应周期长<sup>[2]</sup>。我国是世界第一大苹果生产国,主要集中在渤海湾、西北黄土高原、黄河故道和西南冷凉高地四大产区。苹果产业的发展状况对果区经济振兴、市场供应和出口创汇影响巨大,在我国水果业中占最重要的地位<sup>[3]</sup>。柱型苹果是一种新的苹果品种类型,这类苹果因其株形类似直立的支柱,而称为柱型苹果(columnar apple),又称芭蕾苹果(ballerina apple)<sup>[4-5]</sup>,这类苹果品种在田间表现出树体极紧凑、萌芽率极高和节间短而粗的特点,非常适于设施内高密度栽培<sup>[6]</sup>。

$GA_3$  作为植物内源激素,可促进植物细胞伸长、茎伸长、叶片扩大,加速生长和发育,使作物提早成熟,并增加产量或改进品质<sup>[7]</sup>;能打破休眠,促进发芽;减少器官脱落,提高果实的结实率或形成无籽果实等<sup>[8]</sup>。 $GA_3$  最显著的效应是促进茎的节间伸长,而且效果比生长素更为显著,但节间数不改变,节间长度的增加是由于细胞伸长和细胞分裂的结果。

对  $GA_3$  的生理学研究发现,它主要通过增强淀粉酶 mRNA 合成、膜透性和膜结合的多聚核糖体增生,促进淀粉酶的合成;以及通过抑制 IAA 氧化酶或过氧化酶的活性,促进生长素的生物合成来调节生长素的水平,从而对植物的生长起促进作用<sup>[9-10]</sup>。细胞壁的松弛是细胞伸长所必需的,一般认为细胞壁的松弛是酶促反应过程。在植物细胞壁的松弛及其他一些需要细胞伸长的发育过程中,ROS(reactive oxygen species)发挥着决定性的作用,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)等是能够分解 ROS 的重要抗氧化酶,是植物体内氧化还原反应动态平衡的指示剂<sup>[11]</sup>,许多初级和次级代谢

发挥着重要的生理作用,例如清除  $H_2O_2$  参与木质化发育过程等<sup>[12]</sup>。

本试验采用柱型苹果富士×特拉蒙、普通型苹果嘎拉施加不同浓度外源  $GA_3$  处理的组培苗为试材,柱型苹果富士×特拉蒙、普通型苹果嘎拉为对照,研究了柱型苹果、普通型苹果组培苗施加外源  $GA_3$  后,苹果幼苗中 SOD、POD 和  $\alpha$ -淀粉酶含量的变化,初步探讨了柱型苹果和普通型苹果叶片中氧化酶与外源  $GA_3$  的关系,旨在揭示叶片内各种酶与  $GA_3$  的关系,以及  $GA_3$  浓度与苹果组培苗生长势的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

特拉蒙×富士柱型苹果和普通型苹果嘎拉。

### 1.2 方法

**1.2.1 MS 培养基的配制** 配制 1 L MS 培养基:100 mL 大量元素(10 倍液)+10 mL 微量元素(10 倍液)+10 mL 铁盐(100 倍液)+10 mL 有机物(100 倍液)+10 mL  $CaCl_2$ (100 倍液)+1 mL NAA(1 mg/L)+1 mL 6-BA(0.1 mg/L)置容量瓶中,再加入 7 g 琼脂,30 g 蔗糖,溶解混匀,先加热沸腾,再定容至 1 L,用 0.5 mol/L NaOH 调 pH 值至 5.8~6.2 之间,121 ℃下大三角瓶内高压蒸汽灭菌 15 min。

**1.2.2 培养基分装** 按试验要求每次吸取 75、150、300、600、1 200  $\mu$ L 母液于 1 L MS 液态固体培养基中,即可配成含 0.5、1.0、2.0、4.0、8.0 mg/L  $GA_3$  的 MS 培养基。每 1 L MS 培养基可分装 20 瓶。

**1.2.3 培养观察和取样** 接种完毕后将组培瓶置于 26~28 ℃ 的恒温培养箱中,光照条件下培养,观察记录苹果幼苗发芽情况、生长状况。

### 1.3 测定方法

SOD 测定采用氮蓝四唑法,依据 SOD 抑制 NBT(氮蓝四唑)在光下的还原程度来确定 SOD 活性的大小,活性单位以抑制 NBT 光化还原的 50% 为 1 个酶活性单位(U)<sup>[13]</sup>。POD

收稿日期:2016-08-23

基金项目:山东省星火计划(编号:2013XH14015)。

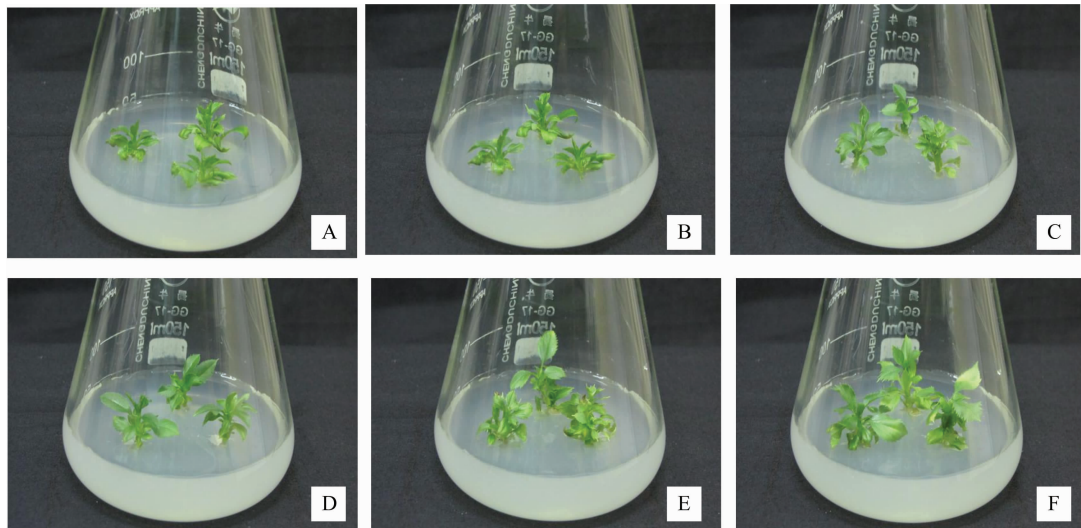
作者简介:刘国娟(1987—),女,山东聊城人,硕士,助教,主要从事园艺植物栽培等研究。E-mail:liuguojuan0814@126.com。

测定采用愈创木酚法<sup>[13]</sup>;参考李合生的 $\alpha$ -淀粉酶活性测定方法<sup>[13]</sup>测定 $\alpha$ -淀粉酶的活性。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源 $\text{GA}_3$ 对柱型苹果和普通型苹果表型的影响

#### 2.1.1 外源 $\text{GA}_3$ 对柱型苹果富士×特拉蒙组培苗表型的影

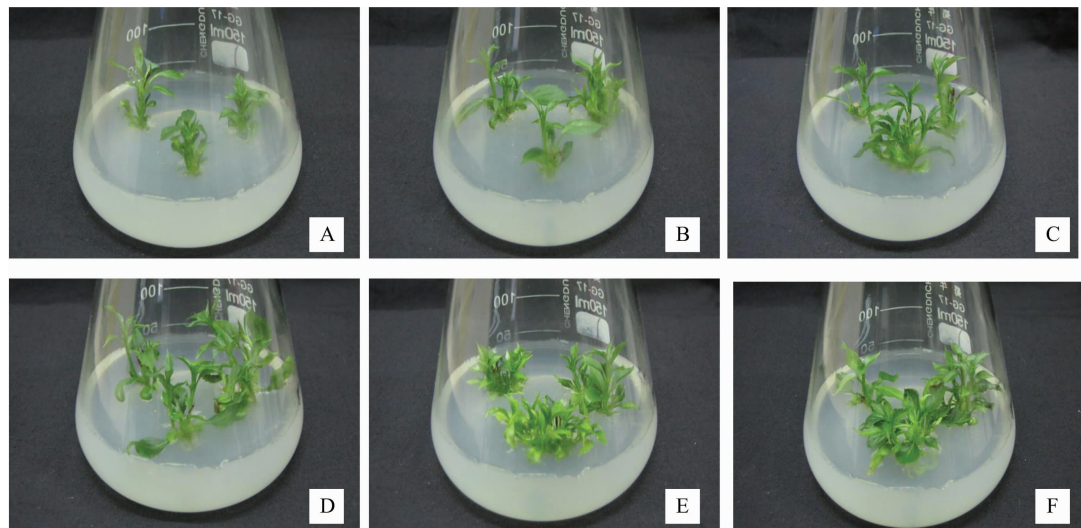


A~F依次为添加0、0.5、1、2、4、8 mg/L  $\text{GA}_3$  条件下柱型苹果富士×特拉蒙新梢生长情况  
图1 不同浓度  $\text{GA}_3$  处理对柱型苹果富士×特拉蒙新梢生长的影响

2.1.2 外源  $\text{GA}_3$  对普通型苹果嘎啦组培苗表型的影响 普通型苹果嘎啦组培苗添加不同浓度的  $\text{GA}_3$  培养 16 d 后,在一定浓度范围内显著促进苹果组培苗生长,当超出一定浓度范围,则抑制其新梢的生长(图 2)。当  $\text{GA}_3$  的浓度为 0 ~ 2 mg/L 时,处理均能促进普通型苹果新梢的生长。随着  $\text{GA}_3$

响 柱型苹果富士×特拉蒙组培苗在不同浓度的  $\text{GA}_3$  上培养 16 d 后,其组培苗新梢生长状态存在差异(图 1)。 $\text{GA}_3$  在一定浓度内,均能促进苹果组培苗新梢的生长,当  $\text{GA}_3$  的浓度为 0 ~ 4 mg/L 时,均能促进富士×特拉蒙新梢的生长。当  $\text{GA}_3$  浓度为 8 mg/L 时,苹果组培苗新梢的生长受到明显的抑制(图 1~F),植株株高明显变矮,节间变短,但分枝数量明显增多。

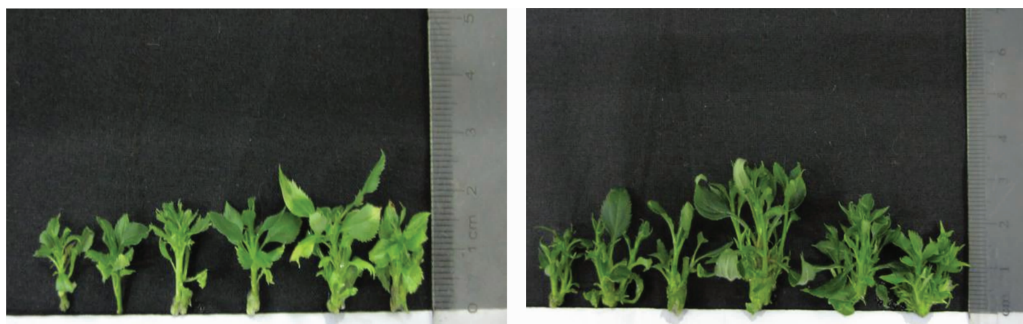
浓度的增加,促进分枝,但抑制节间伸长(图 2~E)。当  $\text{GA}_3$  浓度为 8 mg/L 时,苹果组培苗新梢的生长受到明显的抑制(图 2~F)。同时,植株株高明显变矮,节间变短,但分枝数量明显增多,表现为簇生状态。



A~F依次为添加 0、0.5、1、2、4、8 mg/L  $\text{GA}_3$  条件下普通型苹果“嘎啦”新梢生长情况  
图2 不同浓度  $\text{GA}_3$  处理对普通型苹果嘎啦新梢生长的影响

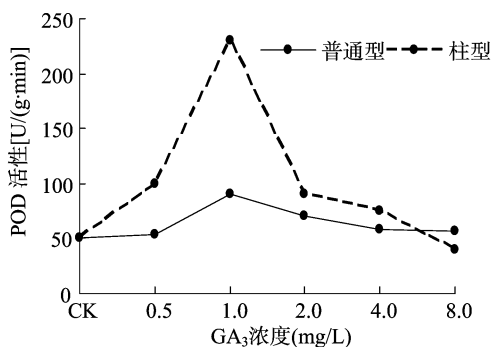
2.1.3 外源  $\text{GA}_3$  对柱型和普通型苹果新梢生长影响的比较 不同浓度的  $\text{GA}_3$  处理能明显促进柱型苹果富士×特拉蒙和普通型苹果嘎啦新梢的生长,其新梢增长量均高于对照(图 3)。但处理 16 d 后,柱型苹果对  $\text{GA}_3$  产生的反应较慢,其新梢生长增加量不明显(图 3~A);而普通型苹果对  $\text{GA}_3$

反应非常敏感,产生的反应非常快,新梢生长增加量很明显(图 3~B)。二者不同之处还在于,当  $\text{GA}_3$  浓度为 4.0 mg/L 时,富士×特拉蒙的新梢增长量最大,说明富士×特拉蒙新梢生长的  $\text{GA}_3$  最敏感浓度为 4.0 mg/L;相对而言,普通型苹果嘎啦新梢生长的  $\text{GA}_3$  最敏感浓度为 2.0 mg/L。

图3 不同浓度  $GA_3$  处理对富士×特拉蒙(A)和普通型苹果嘎啦(B)的影响

## 2.2 $GA_3$ 对苹果组培苗 SOD 和 POD 酶活性的影响

2.2.1  $GA_3$  对柱型苹果和普通型苹果组培苗 SOD 和 POD 酶活性的影响  $GA_3$  处理 16 d 后,POD 活性的变化比较明显(图 4)。富士×特拉蒙苹果组培苗节间的 POD 含量明显提高。在 0~2.0 mg/L 浓度范围内,随着  $GA_3$  浓度的增加,POD 活性随着  $GA_3$  浓度的提高而增加,当  $GA_3$  浓度为 1.0 mg/L 时,POD 活性达到最高,当其超过 2.0 mg/L 时,POD 活性开始下降,但是仍旧高于对照的 POD 活性。而普通型苹果嘎啦的 POD 活性变化并不明显, $GA_3$  浓度在 0~1.0 mg/L 浓度范围内,随浓度的增加而提高,1.0 mg/L 浓度时,POD 活性达到最大值,超过 1.0 mg/L 逐渐呈下降趋势, $GA_3$  浓度 8.0 mg/L

图4 外源  $GA_3$  对富士×特拉蒙和普通型苹果嘎啦节间 SOD 和 POD 活性的影响

## 2.3 $GA_3$ 对柱型苹果和普通型苹果组培苗 $\alpha$ -淀粉酶活性的影响

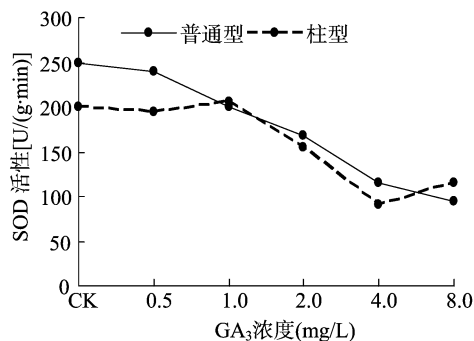
试验结果(图 5)表明, $GA_3$  处理 16 d 后,柱型苹果和普通型苹果  $\alpha$ -淀粉酶活性有明显的变化,不管是富士×特拉蒙还是嘎啦苹果组培苗节间的  $\alpha$ -淀粉酶都受  $GA_3$  的诱导。在 0~2.0 mg/L 浓度范围内,随着  $GA_3$  浓度的增加,富士×特拉蒙  $\alpha$ -淀粉酶活力呈现下降趋势,随后加强,浓度增至 2.0 mg/L 时, $\alpha$ -淀粉酶活性达到最大,随着浓度的再次增加, $\alpha$ -淀粉酶活性迅速下降,与普通型苹果相比,柱型苹果变化很明显,说明 2.0 mg/L 是  $GA_3$  促进柱型苹果  $\alpha$ -淀粉酶活性的最佳反应浓度,普通型苹果的变化则不那么明显,在 0.5 mg/L 时  $\alpha$ -淀粉酶活性达到最大,随着浓度的不断增加, $\alpha$ -淀粉酶活性不断下降。但在 0~2.0 mg/L 浓度范围内,普通型苹果的  $\alpha$ -淀粉酶活性要大于柱型苹果,说明普通型苹果初期受  $GA_3$  影响较大。

## 3 讨论

### 3.1 $GA_3$ 与 SOD 和 POD 的关系

时 POD 活性降至最低。说明外源  $GA_3$  可以促进普通型苹果组培苗节间的 POD 活性,但富士×特拉蒙的 POD 活性明显高于普通型苹果,说明 POD 活性与树体矮化程度呈正相关。

此外, $GA_3$  处理 16 d 后,随着  $GA_3$  浓度的增加,富士×特拉蒙组培苗的 SOD 活性明显下降。在 0~2.0 mg/L 浓度范围内,随着  $GA_3$  浓度的增加,SOD 活性变化不明显,当浓度为 1.0 mg/L 时,SOD 活性达到最大。 $GA_3$  浓度超过 1.0 mg/L 时,其 SOD 活性明显下降,在 4.0 mg/L 时,SOD 活性降至最低,说明外源  $GA_3$  抑制柱型苹果组培苗节间 SOD 的活性,普通型苹果与柱型苹果节间 SOD 活性大体一致,都是呈下降趋势,但是普通型苹果的 SOD 活性略高于柱型苹果。

图5 外源  $GA_3$  对柱型苹果和普通型苹果组培苗节间  $\alpha$ -淀粉酶活性的影响

对柱型苹果的研究集中在相关酶活性和内源激素水平的测定上,本研究发现具有矮化生长特性的柱型苹果富士×特拉蒙 POD、SOD 酶活性与生长势密切相关,柱型苹果叶片内的 POD、SOD 酶活性显著高于普通型苹果。外源  $GA_3$  处理后,不管是柱型苹果富士×特拉蒙还是普通型苹果嘎啦,其 SOD 活性呈现下降趋势,而 POD 活性则呈上升趋势,这也证明了,POD 活性与树体矮化程度呈显著正相关,酶活性越高,

曹 薇,杨志民,庄黎丽,等. 高羊茅 *FaHsfC1b* 启动子克隆及外源激素处理下 *FaHsfC1b* 的表达分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):38-44.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.009

# 高羊茅 *FaHsfC1b* 启动子克隆及外源激素处理下 *FaHsfC1b* 的表达分析

曹 薇,杨志民,庄黎丽,王 剑,孙 岩

(南京农业大学草业学院,江苏南京 210095)

**摘要:**从高羊茅品种凌志中克隆得到 *FaHsfC1b* 启动子序列 1 657 bp。通过生物信息学分析软件对其顺式作用元件进行了初步分析,结果显示启动子序列中不仅包含启动子必备的核心元件:多个 TATA-box 以及多个 CAAT-box,还包含多种防御胁迫元件(冷、盐、干旱、病虫害相关元件)、激素响应元件、光信号元件、组织特异性元件、特殊物质响应元件等。根据启动子中激素响应元件,使用外源激素 ABA (100  $\mu\text{mol/L}$ )、GA (90 mg/L)、IAA (60 mg/L)、SA (0.5 mmol/L)、ZT(0.5 mg/L)处理高羊茅,在 24 h 内 *FaHsfC1b* 表达量都有上调。推测该启动子序列调控 *FaHsfC1b* 表达并通过激素介导对高羊茅抗逆性产生影响。

**关键词:**高羊茅;*FaHsfC1b* 基因;启动子;序列分析;激素处理;基因表达

**中图分类号:**S688.401 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)03-0038-06

作为一种多年生冷季型草坪草,高羊茅 (*Festuca arundinacea*) 具有抗病虫害、成坪快、耐修剪等多种优点,因此在我国温带南部和亚热带地区得到了广泛的种植。在温带以北,如北京地区,高羊茅在越冬时遭受冷胁迫,导致其通常活

不过 2 年,被称为“短命草”,而在亚热带地区,夏季高温以及高温带来的缺水也严重影响着高羊茅的生长,提高高羊茅对非生物胁迫的抵抗能力有益于节约草坪管理成本,进一步扩大高羊茅草坪草在我国的使用范围。

植物热激转录因子 (heat stress transcription factors, Hsfs) 是存在于植物细胞内调节热激蛋白表达的一类转录调节基因,在植物热胁迫信号转导和耐热性的产生过程中具有重要作用<sup>[1]</sup>。热激转录因子在结构上可以分为 3 类:A 类、B 类、C 类。A 类热激转录因子是热激基因表达的激活剂,在不同的植物中具有不同的应激反应<sup>[1]</sup>,多项研究表明,此类热激转

收稿日期:2017-05-31

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:31672480)。

作者简介:曹 薇(1991—),女,山西临汾人,硕士研究生,主要从事草坪草分子生物学育种研究。E-mail: baihe.909@foxmail.com。

通信作者:杨志民,教授,主要从事草坪草生理与分子生物学育种研究。Tel: (025)84399712; E-mail: naulyzm@njau.edu.cn。

矮化程度越大<sup>[14]</sup>。

## 3.2 $\text{GA}_3$ 与 $\alpha$ -淀粉酶的关系

$\text{GA}_3$  是诱导多种植物一些组织中  $\alpha$ -淀粉酶的必要条件, $\alpha$ -淀粉酶为淀粉水解过程重要的水解酶,现已用  $\alpha$ -淀粉酶来检测植物组织中  $\text{GA}$  的响应状态<sup>[15]</sup>。本研究发现外源  $\text{GA}_3$  能促进柱型苹果富士  $\times$  特拉蒙和普通型苹果嘎啦  $\alpha$ -淀粉酶的活性,但在测定过程中,柱型苹果和普通型苹果组培苗内  $\alpha$ -淀粉酶不太稳定,很可能因为酶的性质不稳定导致的。

## 参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京:中国统计出版社,2013:451-455.
- [2] 孟艳玲,汪景彦,康国栋,等. 我国苹果生产现状分析[J]. 中国果树,2007(1):43-44.
- [3] 王金政,薛晓敏,路 超. 我国苹果生产现状与发展对策[J]. 山东农业科学,2010(6):117-119.
- [4] 刘国娟,刘殿红,王 闯,等. 柱型和普通型苹果枝条木质部导管分子观察[J]. 江苏农业科学,2016,45(5):214-216.
- [5] 王彩虹,田义柯,戴洪义. 柱型苹果的研究和利用现状[J]. 河北

林果研究,2000,15(2):197-200.

- [6] 高国训,李光晨,袁丽慧. 柱型苹果茎尖培养中嫩茎增殖与植物激素的关系[J]. 天津农业科学,1999,5(2):20-24.
- [7] 刘林德,姚敦义. 植物激素的概念及其新成员[J]. 生物学通报,2002,37(8):18-20.
- [8] 鲜开梅,张永华.  $\text{GA}$  的应用研究进展[J]. 北方园艺,2007(6):74-75.
- [9] 张石城,刘祖祺. 植物化学调控与原理[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
- [10] 张兴春,高峰. 赤霉素对紫心甘薯花青素积累及相关酶基因表达的影响[D]. 广州:华南师范大学,2009.
- [11] 梁美霞,邓子牛,戴洪义. 柱型苹果生长特性的细胞学与分子生物学研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2010:36-38.
- [12] 张志华,刘新彩,王红霞,等. 核桃 IOD 和 POD 酶活性与生长势的关系[J]. 园艺学报,2006,33(2):229-232.
- [13] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [14] 张维强,唐秀芝. 矮生型苹果苗的预选指标[J]. 植物学报,1997,29(4):377-400.
- [15] 王 忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,1999:227-278.