

木质素含量对四倍体刺槐嫩枝 插穗扦插生根的影响

权金娥^{1,2}, 张春霞¹, 张晓鹏¹, 朱海兰¹, 张 胜¹, 赵 忠^{1,2*}

(1 西北农林科技大学 西部环境与生态教育部重点实验室, 陕西杨陵 712100; 2 西北农林科技大学 黄土高原水土流失和旱地农业国家重点实验室, 陕西杨陵 712100)

摘 要:以四倍体刺槐 1 年生嫩枝插条为试验材料, 分析插穗木质素含量与其横截面剪切强度、相关酶活性和激素关系, 并探究不同木质素含量的插穗扦插生根性状的效应, 为四倍体刺槐扦插选择合适插穗提供理论参考。结果表明: (1) 插穗的木质素含量与其横截面剪切强度呈极显著正相关关系(相关系数为 0.99), 根据剪切强度可以间接地估算其木质素含量。(2) 插穗的木质素含量与其 POD 和 PPO 活性呈极显著正相关关系(POD 相关系数为 0.98, PPO 相关系数为 0.92), 也与激素 ABA 含量呈极显著的正相关关系(相关系数为 0.97), 而同 IAA、IBA 呈不显著的相关性, 根据 POD 和 PPO 活性以及激素 ABA 含量对生根的影响可以推测木质素含量对生根有一定的影响。(3) 不同木质素含量的插穗生根性状差异显著, 木质素含量为 19.47% 时插穗生根能力最强, 其插穗生根率为 60.39%, 平均每株生根量为 9.70 个, 根长为 4.85 cm; 木质素含量为 10.60% 时插穗生根能力最差。(4) 生根性状最佳时的木质素含量为 19.47%, 其对应的剪切强度范围为 40~50 kg。

关键词: 四倍体刺槐; 嫩枝插穗; 横截面剪切强度; 木质素含量; 生根率

中图分类号: Q945.3

文献标志码: A

Effect of Cuttings with Different Lignin Contents on Cutting Rooting of Tetraploid *Robinia pseudoacacia*

QUAN Jin'e^{1,2}, ZHANG Chunxia¹, ZHANG Xiaopeng¹, ZHU Hailan¹,
ZHANG Sheng¹, ZHAO Zhong^{1,2*}

(1 Key Laboratory of Environment and Ecology in Western China of Ministry of Education, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: We measured the lignin content and cross-sectional shear strength of 1-year-old softwood cuttings of Tetraploid *Robinia pseudoacacia* in order to investigate the relationship between lignin content and cross-sectional shear force, and the effects of different lignin contents in cuttings on rooting. The results showed: (1) A positive correlation was found between the lignin content of cuttings and their cross-sectional shear force, thus, the lignin content might be inferred based on its shear force. (2) The lignin content of cuttings between POD and PPO enzyme activity were significantly positive correlation (correlation coefficient of POD and PPO were 0.98 and 0.92, respectively); and the lignin content of cuttings with ABA hormone content significantly positive correlation (correlation coefficient was 0.97); however, the lignin content of cuttings with IAA and IBA on significantly positive correlation; according to the influence of POD enzyme activity of roots can speculate that the lignin content has a certain effect on rooting. (3) The lignin content

收稿日期: 2014-04-06; 修改稿收到日期: 2014-05-16

基金项目: 国家自然科学基金(30972352); 水土保持研究所创新专项(A315021398)

作者简介: 权金娥(1983—), 女, 在读博士研究生, 主要从事森林培育理论与技术研究。E-mail: quanjine@gmail.com

* 通信作者: 赵 忠, 教授, 博士生导师, 主要从事森林培育理论与技术研究。E-mail: zhaozh@nswsuaf.edu.cn

of cuttings and POD enzyme activity was significantly positive correlation (correlation coefficient of 0.98). According to the influence of POD enzyme activity of roots can speculate that the lignin content has a certain effect on rooting. (4) The optimum rooting ability appeared in cuttings containing 19.47% lignin content, and their shear force ranged from 40 to 50 kg. This study will provide a theoretical basis for selecting appropriate cuttings of Tetraploid *R. pseudoacacia* in rooting experiment.

Key words: Tetraploid *Robinia pseudoacacia*; softwood cuttings; cross-sectional shear force; lignin content; rooting rate

四倍体刺槐 (Tetraploid *Robinia pseudoacacia*, TRP) 是由二倍体刺槐 (Diploid *R. pseudoacacia*, DRP) 体细胞加倍而育成的刺槐优良无性系, 具有适应性强, 耐干旱、瘠薄和盐碱等优点, 是防风固沙、水土保持、改良土壤的优良生态造林树种。适宜在中国西北黄土高原地区栽种。但其为难生根树种, 因此, 为了提高其扦插成活率, 插穗生根机理就成为重要的研究方向之一。目前, 对四倍体刺槐插穗生根机理的研究主要包括生理生化机理^[1]、解剖结构^[2]、差异蛋白^[3]和分子机理^[4]等。然而, 四倍体刺槐插穗的木质素含量对其生根的效应还不清楚。

木质素是维管植物细胞壁的重要组成部分, 在维持细胞壁的结构完整性及树干的强度和硬度方面起着关键性作用^[5]。此外, 木质素还具有重要的生物学功能, 包括水分运输, 防止细胞壁透水 and 保护植物免受病原体感染, 在维持植物正常生长等方面发挥着巨大的作用^[6]。木质化是植物细胞分化过程中木质素在细胞壁积累的结果^[7], 已有研究表明插穗生根的难易与物种的特性以及所选枝条的木质化程度密切相关。周元等发现, 西蒙得木 (*Simmondsia chinensis*) 和大叶冬青 (*Ilex latifolia*) 当年生半木质化插穗易于生根, 而充分木质化的老枝插穗虽能生根, 但生根率低^[8-10]。枝条由上而下成熟度逐渐加深, 上部较嫩, 下部较老, 生理机能亦较衰退, 所以生根能力有所差异^[9]。然而这些研究局限在感性认识上, 实际应用受到很大的限制。此外, 插穗硬度与其木质素含量间的定量关系及不同木质素含量的插穗生根能力的差异研究尚未见报道。目前对木质化的研究多集中于植物木质素合成相关酶活性方面, 而与生根相关的过氧化物酶 (POD) 和多酚氧化酶 (PPO) 是木质素合成关键酶^[11-14], 可能与不同木质素含量的插穗生根能力有一定的关系, 也有部分文献报道激素含量对植物组织木质素含量有调控作用, 如与生根相关的 IAA、IBA 和 ABA 可以加速或延缓植物组织木质化^[15-17]。

因此, 本研究以四倍体刺槐 1 年生嫩枝插穗为试验材料, 通过测定插穗木质素含量及其横截面剪

切强度, 结合扦插育苗试验来探讨插穗木质素含量与横截面剪切强度关系, 以及通过插穗剪切强度 (木质素含量) 变化对生根相关的氧化酶活性以及激素含量影响解释其对插穗扦插生根率的影响。以期生产中可以根据横截面剪切强度来判断四倍体刺槐嫩枝插穗的潜在的生根能力, 提高扦插的目的性和有效性, 并为四倍体刺槐扦插时合适插穗简便选择提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验地概况

试验地点设在陕西杨凌西北农林科技大学林学院教学试验苗圃 (108°07'E, 34°12'N)。最高海拔 530.1 m, 最低海拔 403.2 m。年均积温 4 811 °C, 年均气温 12.9 °C, 极端最低气温 -19.4 °C, 极端最高气温 42 °C。年均降水量 660 mm, 无霜期 220 d 以上, 年均日照时数 2 163.8 h, 年均辐射总量 114.8 kJ·m⁻², 属于暖温带半湿润大陆性季风气候。

1.2 供试材料、处理和样品采集

供试材料来自苗圃内 3 年生四倍体刺槐根繁苗萌条的当年生嫩枝插条。从母树基部剪取上年平茬切口下方萌生的直径为 0.8~1.2 cm 的当年生枝条, 插穗长 12~15 cm, 上切口平剪, 下端距芽约 1 cm 处剪成 45°切口。

依据嫩枝横切面的剪切强度, 将插穗分为 7 组 ($S_1 \sim S_7$)。将剪好的每组插穗每 50 根为 1 捆, 先将其基部在 800 倍液多菌灵中浸泡 2 min, 根据前期试验结果, 选用生根率最高的 1 400 mg/L IBA, 浸泡处理插穗 6 h。以上试验采用随机区组设计, 每组 3 次重复, 每重复 50 根插穗, 共 1 050 根。

扦插前分别采取不同剪切强度组的插穗, 每组随机取 6 根, 烘干后粉碎, 用以木质素含量; 同样随机再取 6 根, 清水冲洗干净, 迅速剥取插穗基部 1 cm 范围内的皮层, 液氮冷冻后于超低温冰箱保存用以氧化酶活性及激素含量测定。

1.3 扦插及插后管理

试验采用全光照喷雾扦插育苗法。扦插前 3 d

用 800 倍多菌灵对育苗池进行消毒。扦插深度 7~8 cm,密度为 400 根·m⁻²。扦插后,每天 8:00~18:00,利用定时器控制喷水时间及间隔,间隔 7 min 喷雾 1 次保证叶片上有水珠为宜,为了防止高温蒸发叶片亏水萎蔫脱落,在 12:00~15:00 用遮阳网进行遮阳。随着愈伤组织形成后逐渐减少喷水量和延长间隔时间,间隔 30 min 喷雾 1 次,阴天减少喷雾次数,插壤湿度保持在 80%左右。

1.4 测定项目与方法

1.4.1 剪切强度 在插穗制作时,用 SY-S03A 茎秆剪切强度测定仪(石家庄世亚科技有限公司)剪切并测定剪切强度,根据剪切强度把不同木质化程度的插穗归入 7 个组(S₁~S₇)。S₁~S₇ 组剪强度范围分别依次为 10~20 kg、20~30 kg、30~40 kg、40~50 kg、50~60 kg、60~70 kg 和 70~80 kg。为保证试验准确性,每次都在 2 个刺之间位置进行剪切并测定剪切强度。总体来说,从枝条上部到下部其剪切强度逐渐均匀递增。

1.4.2 木质素含量 分别采用 Klason 法和紫外分光光度法^[10]测定每组中的插穗木质素含量,每组测定 3 次重复,取平均值。

总木质素(%) = 酸不溶性木质素(%) + 酸溶性木质素(%)

1.4.3 氧化酶活性测定 POD 和 PPO 酶提取详见王小玲等^[1]的方法。POD 活性测定采用愈创木酚染色法;PPO 活性测定采用邻苯二酚法,每个样品重复 3 次。

1.4.4 内源激素含量测定 植物内源激素提取参照王小玲等的方法^[12]。间接酶联免疫吸附法(ELISA)测定 IAA、ABA 和 IBA 含量。采用美国 BioTek 公司生产的 ELx800TM 通用酶标仪测定样品中各激素含量,每个样品重复 3 次。

1.4.5 生根性状 从扦插后第 5 天起,每隔 1 d 在每组中随机选取 2 株,观察记录插穗距基部 2 cm 的形态变化。第 40 天调查小区插穗生根情况,首先从砂床取出每组所有插穗进行生根率统计(生根率(%) = (生根插穗数/供试插穗总数) × 100%),再用 Epson Perfection 4990 photo 根系扫描仪(日本,长野,爱普生有限公司)测定根长度、根直径及生根量。

1.5 数据分析

试验数据采用 Microsoft Excel 2007 程序进行数据整理,然后通过 Origin 8 软件画图。利用 SPSS 20.0 软件进行 Pearson 相关系数的统计计算,方差分析进行显著性检验。不同木质素含量插穗的生根

性状的统计分析采用 Duncan 多重比较进行检验,试验结果以 Mean±SE 形式表示。

2 结果与分析

2.1 不同剪切强度插穗木质素含量及相关性分析

图 1 显示,四倍体刺槐插穗剪切强度范围在 10~20 kg 时的木质素含量最低(12.60%),而插穗剪切强度范围在 70~80 kg 时的木质素含量最高(25.11%),表现出随剪切强度增加而升高的趋势,但插穗木质素含量增加的幅度小于剪切强度,表明木质素积累速度比较慢。进一步分析表明插穗不同试验组木质素含量差异均达显著水平($P < 0.05$);插穗木质素含量与其剪切强度呈现很强的正相关性($r = 0.99$)。由于剪切强度是插穗上一个点位置的剪切强度,而木质素含量是一个线段插穗的木质素含量。因此,本研究选取插穗两端的剪切强度值都位于每组的剪切强度范围内的插穗进行测定其木质素含量,然后利用每个组的剪切强度平均值(x)与木质素含量(y)进行线性分析,建立剪切强度与木质素含量之间的线性模型。经 Excel 2007 数据分析处理,当剪切力在 10~100 kg 的条件下,其线性模型为: $y = 0.22x + 9.74$,其中,公式中 y 为木质素含量 × 100, x 为插穗两端剪切强度的平均值。由于公式推导原数据可知,插穗长短是影响线性模型准确性的最重要因素。当插穗长度较短时,线性模型准确程度超高。

2.2 不同剪切强度插穗的氧化酶活性及其与木质素含量相关性分析

在本实验条件下,四倍体刺槐插穗 POD 活性表

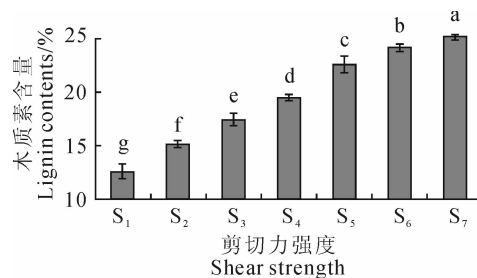


图 1. 不同剪切强度插穗的木质素含量

S₁. 10~20 kg; S₂. 20~30 kg; S₃. 30~40 kg; S₄. 40~50 kg; S₅. 50~60 kg; S₆. 60~70 kg; S₇. 70~80 kg; 不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著差异;下同

Fig. 1 The Lignin contents in cuttings with different shear strengths

The different normal letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below

现出随其剪切强度增加而增强的趋势(图 2,A)。插穗不同试验组木质素含量相比,除 M_4 和 M_5 组差异不显著外,其它试验组均达到显著水平($P < 0.05$)。其中,插穗剪切强度(木质素含量)在 10~20 kg(12.60)时的插穗 POD 活性最低($121.347 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$),而插穗剪切强度(木质素含量)在 70~80 kg(25.11)时的插穗 POD 活性最高($230.539 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$),活性增加了将近 1 倍。从变化幅度上看,插穗 POD 活性增加幅度低于剪切强度变化的幅度,即 POD 活性变化速率低于剪切强度变化速率;另经分析,插穗 POD 活性和其剪切强度有着紧密的正相关性,其相关系数为 0.98。

图 2,B 显示,四倍体刺槐随着剪切强度(木质素含量)增加,插穗 PPO 活性的变化规律与 POD 活性的变化趋势相同,也在升高;除 $M_4 \sim M_7$ 与 $M_1 \sim M_2$ 组差异不显著外,其它试验组差异均达显著水平。其中,插穗剪切强度(木质素含量)在 10~20 kg(12.60)时的插穗 PPO 活性最低($6.45 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$),而插穗剪切强度在 70~80 kg(25.11)时插穗 PPO 活性最高($8.08 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$),活性增加量小。从变化幅度看,插穗 PPO 活性变化幅度低于剪切强度的变化幅度,即 PPO 活性变化速率低于剪切强度变

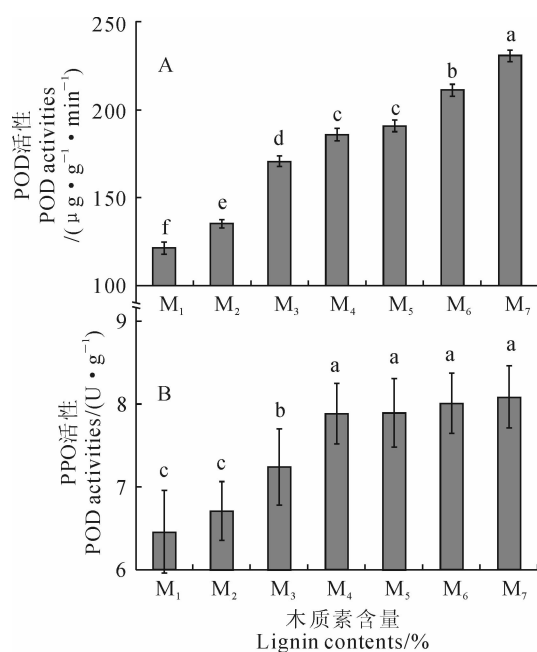


图 2 不同剪切强度插穗的 POD 和 PPO 活性
 $M_1 \sim M_7$ 代表不同剪切强度范围内的木质素含量;下同
 Fig. 2 The POD and PPO activities in cuttings
 with different shear strengths

$M_1 \sim M_7$ represent the lignin content of different
 shear strengths within the scope; The same as below

化速率。另外,插穗 PPO 活性和其剪切强度(木质素含量)有着紧密的正相关性,其相关系数为 0.92。

2.3 不同剪切强度插穗的激素含量及其与木质素含量的相关性分析

图 3,A 显示,不同剪切强度(不同木质素含量)插穗 IAA 含量大小为 M_4 ($32.22 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_5$ ($32.38 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_3$ ($33.03 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_2$ ($34.78 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_6$ ($34.83 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_1$ ($35.38 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$) $< M_7$ ($36.03 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$),不同木质素含量插穗之间相比差异均不显著($P > 0.05$)。随不同剪切强度(不同木质素含量)递增,插穗 IAA 含量变化趋势先降低后增高, M_1 到 M_4 逐渐下降,之后缓慢上升;且在剪切强度(木质素含量) M_4 为 40~50 kg(19.47)时 IAA 含量到达最低,分别比 M_7 的 IAA 降低了 $3.79 \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$,其中 M_5 次之, M_7 最高。从变化幅度上看,插穗 IAA 含量变化幅度低于剪切强度变化的幅度,即 IAA 含量变化速率低于剪切强度变化速率。另经分析,插穗 IAA 含量和其剪切强度几乎无相关性,其相关系数为 -0.01。

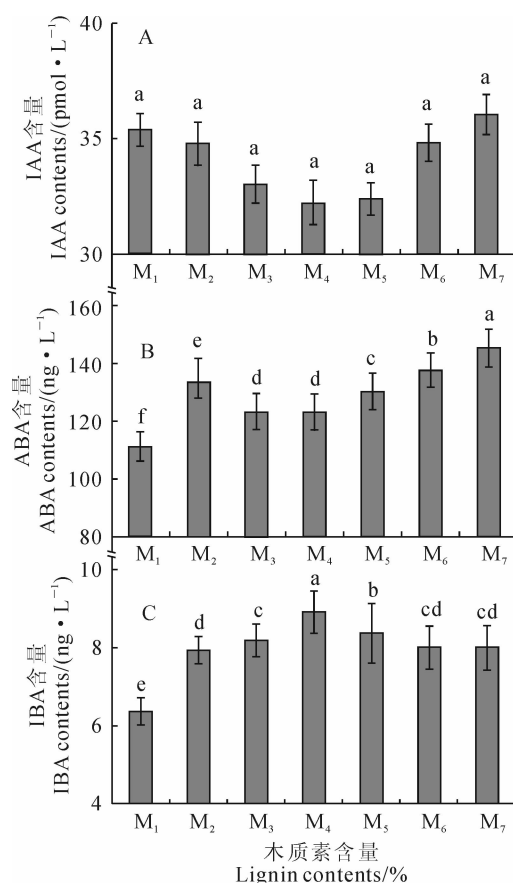


图 3 不同剪切强度插穗的 IAA、ABA 和 IBA 含量
 Fig. 3 The IAA, ABA and IBA contents in
 cuttings with different shear strengths

同时,随着剪切强度(木质素含量)增加,四倍体刺槐嫩枝插穗的内源 ABA 含量缓慢增高,插穗 ABA 含量的变化规律与 PPO 和 POD 活性的变化趋势相同(图 3,B);除 M_3 与 M_4 组差异不显著外,其余组间均达到显著水平($P<0.05$)。其中,插穗剪切强度(木质素含量)在 10~20 kg(12.60)时的插穗 ABA 含量最低($111.23\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$),而插穗剪切强度(木质素含量)在 70~80 kg(25.11)时的插穗 ABA 含量最高($145.27\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$),活性增加量小。从变化幅度上看,插穗 ABA 含量增加幅度低于剪切强度变化的幅度,即 ABA 含量变化速率低于剪切强度变化速率。另经分析,插穗 ABA 含量和其剪切强度(木质素含量)有着紧密的正相关性,其相关系数为 0.97。

另外,研究发现(图 3,C),四倍体刺槐嫩枝插穗随着剪切强度(木质素含量)增加,IBA 含量变化较为复杂,呈现波浪式变化; $M_1\sim M_4$ 之间,IBA 含量逐渐增高; $M_4\sim M_6$ 之间逐渐下降, $M_6\sim M_7$ 之间保持平稳,即 IBA 含量 $M_4(8.91\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})>M_5(8.37\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})>M_3(8.18\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})>M_6=M_7(8.00\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})>M_2(7.94\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})>M_1(6.37\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1})$;除 M_2 、 M_3 与 M_6 和 M_7 外,其余组间均达到显著水平。且在剪切强度(木质素含量) S_4 为 40~50 kg(19.47)时 IBA 含量达到最高,分别比 S_1 的 IBA 增加了 $2.54\text{ ng}\cdot\text{L}^{-1}$,其中 M_5 次之, M_1 最低。从变化幅度上看,插穗 IBA 含量变化幅度低于剪切强度变化的幅度,即 IBA 含量变化速率低于剪切强度变化速率。另经分析,插穗 IBA 含量和其剪切强度有着较弱的正相关性,其相关系数为 0.56。

2.4 不同剪切强度(木质素含量)插穗的生根状况比较

不同剪切强度插穗生根性状的变化统计分析结

果显示(表 1),插穗生根率、生根量和根长的变化均达到显著水平($P<0.05$),而其根直径差异不显著($P>0.05$)。其中,不同剪切强度的插穗生根率的变化差异最大,达到极显著差异水平($P<0.01$),并随剪切强度增加表现出先增加后降低的趋势,且以 S_4 组生根率最高(60.39%), S_1 组生根率最低(12.89%), S_4 组生根率是 S_1 组的 4.69 倍; S_4 和 S_1 组插穗对应的木质素含量分别为 19.47% 和 12.60%(本实验最低值),而本试验中最高木质素含量 S_7 组的生根率为 30.97%,且 S_4 组插穗生根率与 S_1 、 S_7 组差异均极显著($P<0.01$)。可见,剪切力强度(木质素含量)过高或者过低都不利于四倍体刺槐插穗生根,本实验中以剪切强度 40~50 kg(木质素含量 19.47%)的插穗生根率最高。

不同剪切强度的插穗生根后根直径差异不显著,最小根直径是 S_1 组,大小为 1.42 mm,最大根直径为 S_6 组,大小为 1.71 mm,两者相差很小,但总的趋势木质素含量高的根直径略高于木质素含量低的。不同剪切强度的插穗生根量和根长差异显著:插穗生根量最高是 S_4 组的 9.70,最低是 S_1 组的 4.90,对应的木质素含量分别为 19.47% 和 12.60%。这个结果与生根率的变化趋势是一致的。 S_3 、 S_4 和 S_5 等 3 个组间生根量没有显著差异,而这 3 个组分别与 S_1 和 S_7 组差异显著。 S_2 和 S_6 与其它各组差异均不显著。另外,最长根长是 S_5 组的 5.56 cm,最小根长是 S_1 组的 2.19 cm。 S_3 、 S_4 、 S_5 和 S_6 等组间根长没有显著差异,这 4 组分别与 S_1 和 S_2 组差异显著。

进一步分析发现: S_4 组的生根率和生根量均高于其它组,有的达到极显著水平和显著水平;其根长和根直径也较高。木质素含量低的 S_1 和 S_2 组各生根性状均低,其中,生根率达到极显著水平,生根量和根长达到显著水平,尤其是 S_1 组。木质素含量高

表 1 不同木质素含量插穗的生根性状的统计分析

Table 1 The rooting statistical analysis of cutting traits in different lignin contents of cuttings

组别 Group	生根率 Rooting rate/%	根直径 Diameter of root/mm	生根量 No. of roots	根长 Length of root/cm
S_1	$12.89\pm0.70\text{dB}$	1.42 ± 0.32	$4.90\pm0.46\text{b}$	$2.19\pm0.41\text{b}$
S_2	$35.54\pm0.63\text{c}$	1.47 ± 0.12	$6.90\pm0.79\text{ab}$	$2.56\pm0.31\text{b}$
S_3	$51.67\pm0.80\text{ab}$	1.61 ± 0.29	$8.35\pm0.69\text{a}$	$4.75\pm0.47\text{a}$
S_4	$60.39\pm1.29\text{aA}$	1.63 ± 0.17	$9.70\pm0.43\text{a}$	$4.85\pm0.48\text{a}$
S_5	$44.30\pm0.63\text{bc}$	1.70 ± 0.39	$9.25\pm0.79\text{a}$	$5.56\pm0.30\text{a}$
S_6	$38.74\pm0.28\text{bc}$	1.71 ± 0.26	$7.00\pm0.50\text{ab}$	$4.37\pm0.27\text{a}$
S_7	$30.97\pm0.80\text{cB}$	1.67 ± 0.15	$8.25\pm0.37\text{a}$	$3.85\pm0.15\text{ab}$

注:表中数值为平均值±标准误;同列中不同小写和大写字母分别表示处理间在 0.05 和 0.01 水平存在显著性差异。

Notes: Estimates are given as mean±SE. Values with different normal and capital letters within the same column indicate significant difference among groups at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

表 2 木质素含量、氧化酶活性和激素含量与生根性状相关关系

Table 2 The statistical correlations of lignin content,oxidase activities and hormone contents with rooting

指标 Characteristic	木质素含量 Lignin content/%	生根率 Rooting rate/%	根直径 Diameter of root/mm	生根量 No. of roots	根长 Root length/cm
木质素含量 Lignin content %		0.32	0.93 **	0.56	0.65
POD 活性 POD activities	0.98 **	0.38	0.92 **	0.62	0.66
PPO 活性 PPO activities	0.92 **	0.03	0.75 *	0.35	0.36
IAA 含量 IAA contents	-0.01	-0.82 *	-0.33	-0.71	-0.75 *
ABA 含量 ABA contents	0.97 **	0.17	0.86 **	0.43	0.52
IBA 含量 IBA contents	0.56	0.93 **	0.69	0.93 **	0.78 *

注: ** . 表示达极显著水平($P<0.01$); * . 表示达显著水平($P<0.05$)。
Notes: ** . Correlation is highly significant at the 0.01 level; * . Correlation is significant at the 0.05 level.

的 S_6 和 S_7 组各生根性状也均低,但相对木质素含量低的 S_1 和 S_2 组的略高一些。

2.5 插条木质素含量、氧化酶活性和激素含量与其生根性状的相关分析

相关分析表明(表 2),四倍体刺槐插穗木质素含量与其 POD 和 PPO 活性相关极显著(相关系数分别为 0.98 和 0.92),说明插穗 POD 和 PPO 活性的提高是木质素含量增加的酶学基础;同时,插穗木质素含量和 POD 活性与其生根直径均呈极显著正相关,相关系数分为 0.98 和 0.92,插穗木质素含量与其 PPO 和生根直径分别呈极显著正相关(相关系数分别为 0.92 和 0.75)。激素含量 ABA 与四倍体刺槐插穗木质素含量和生根直径均呈极显著正相关(相关系数为分别为 0.97 和 0.86)。IAA 与四倍体刺槐插穗木质素含量几乎无相关性,但与其插穗生根率和根长均呈显著负相关性(相关系数分别为-0.82 和-0.75)。IBA 含量与四倍体刺槐插穗木质素含量成较弱正相关性(相关系数为 0.56),而与其生根率和生根量均呈极显著正相关(相关系数都为 0.93),与根长呈显著正相关(相关系数为 0.78)。其余相关系数除 IAA 含量为负值外虽未达到显著水平但均为正值。表明插穗 POD、PPO 酶和 ABA、IBA 激素促进木质素含量的增加,以及木质素含量对四倍体刺槐插穗生根有一定的促进作用。

3 讨 论

3.1 插穗木质素含量对其剪切强度的影响

木质素是植物细胞壁的主要成分之一,它可以提高细胞壁的强度和增加树木茎的木质化程度,从而提高树木茎的机械强度作用,其含量与茎的刚性密切相关^[12-14]。茎秆木质素含量的增加可显著提高其机械强度,增加茎秆抗压和抗倒伏能力^[18]。目前,关于木质素含量与茎秆硬度之间的关系研究主

要集中在木质素含量对小麦的抗倒伏影响分析上。研究表明,小麦(*Triticum aestivum* L.)倒伏的发生是由茎秆中木质素缺乏造成的,茎秆木质素含量越高品种抗倒伏能力越强,不易发生倒伏^[19]。陈晓光等^[20]研究分析表明,茎秆木质素含量与茎秆抗折力呈显著正相关($r=0.86,P<0.05$)。木质化是指细胞壁由于细胞产生的木质素(苯基丙烷的衍生物单位构成的聚合物)的沉积而变得坚硬牢固,增加了植物支持重力的能力,树干内部的木质细胞即是由于木质化的结果。因此插穗的木质化程度越高其木质素含量也就越高,相应剪切插穗所需要的力就越大,即剪切强度越大。本研究表明,在林木上插穗木质素含量直接决定林木的木质化程度,与插穗剪切强度呈极显著正相关,相关系数为 0.98;这一研究结果同罗自生对竹笋研究结果一致^[15]。所以可以用剪切强度间接地代表插穗的木质化含量或木质化程度。

3.2 插穗木质素含量对生根相关的氧化酶活性及激素含量的影响

POD 和 PPO 是与扦插不定根形成和生长有密切关系的 2 种酶^[1,12]。陈晓亚研究认为,木质素含量对李树硬枝插穗 POD 和 PPO 活性的影响较大,木质素为植物次生代谢的产物,属酚类化合物,是构成细胞壁次生结构的主要成分^[17]。PPO 通过参与酚类物质(如绿原酸、香豆素等)的氧化过程促进木质素的合成^[21-22];而 POD 则在木质素生物合成的最后一步中通过催化 H_2O_2 分解而使木质素单体发生聚合反应形成木质素^[23]。席巧芳认为 PPO、POD 2 种酶活性都能促进木质素的合成,提高组织的木质化程度^[24]。本试验也发现,PPO 和 POD 活性随木质素含量的升高而升高,说明四倍体刺槐木质素的合成的重要原因之一是组织的 PPO 和 POD 活性提高之故,且四倍体刺槐木质素含量对生根有一定

的影响。

木质化对植物的生长、发育、抗病及环境适应性方面有重要的生理作用,植物的生长发育与内源激素水平有密切关系,但四倍体刺槐的木质化与内源激素的关系至今未见报道。本研究发现,随着木质素含量的增加,IAA 先降低后增高且之间几乎无相关性,ABA 缓慢增加(之间极显著相关)和 IBA 先增高后下降(之间极显著相关)。本研究与罗自生研究竹笋采收后木质素含量增加 IAA 含量逐渐下降的结论不同,与姜微波等^[16]发现外源 ABA 处理因提高了豌豆苗木质化相关酶的活性而促进了它的木质化结论一致,与李伟等^[25-26]研究发现外源激素 IBA 处理可抑制绿芦笋木质化相关酶的活性而延缓它的木质化结论一致。因此激素含量可以调控插穗木质素的合成量,并且通过改变插穗激素含量,进而影响木质素含量,来促进四倍体刺槐的生根率。

3.3 插穗木质素含量对其生根性状的影响

木质素是一种酚类多聚体,是维管植物细胞壁的重要组成成分,具有水分运输和抵抗病菌侵袭等重要生物学功能^[27-28]。小麦根尖细胞的分化^[29]也与木质素代谢相关。另外,葡萄(*Vitis vinifera*)叶片、黄瓜(*Cucumis sativus* Linn.)叶片中木质素含量与抗病都有相关性^[30]。李伟等^[25]在分析桤木(*Alnus cremastogyne* Burk.) 2 个变种的木材化学组成时发现,木质素含量与树干高度呈正相关。本研究中发现木质素含量低的四倍体刺槐插穗的生根性状差于木质素含量高的插穗。当插穗的木质素含量过低时插穗的水分运输和抵抗病菌侵袭能力降低,因而生根率低,生根量少。本试验过程也发现了低木质素含量组的插穗扦插后容易腐烂。因此,插穗基部腐烂和自身营养不足是木质素含量低的组生根率低,生根量少的最主要原因。

随着木质素含量升高,插穗生理机能在慢慢衰退。木质素含量的升高可导致细胞可溶性糖含量的增加及纤维素的糖转化效率的降低,淀粉和蛋白质含量下降,茎的自身营养水平也在降低^[31]。本研究发现与生根相关的氧化酶 PPO、POD 和激素 IAA、

IBA、ABA 氧化酶除 IBA 和 IAA 与木质素含量分别为较弱相关和几乎无相关性外,其他均极显著正相关,而氧化酶 POD、PPO 以及激素 IBA、ABA 对不定根产生有密切关系。Rogers 等^[32]研究发现 POD 酶参与了木质素的合成,氧化物酶的活性与木质素的含量成正比,而 POD 酶活性能抑制不定根形成^[33]。IBA 处理后木质素含量和 POD 酶活性都降低,从而显著增加不定根的产生^[25-26]。在杨树(*Populus*)中,POD 和 PPO 酶随新皮再生过程发生变化并与木质部分化关系密切,它有可能成为木质部分化的潜在标记^[34]。此外,周元等^[8]通过西蒙得木(*Simmondsia chinensis*)扦插繁殖技术研究表明当年生半木质化嫩枝条易于生根,而充分木质化的老枝插穗虽能生根,但效果不理想。丛斌等研究表明木质素含量过高,抑制不定根形成的 POD 和 PPO 酶活性也升高,插穗的生理状态不活跃,这些导致了木质素含量高的插穗生根能力的下降^[7]。枝条的 POD 和 PPO 活性及木质素含量太低或偏高均不利于根的形态发生^[12]。这些研究结果与本试验插穗木质素含量与 POD 酶活性密切相关以及木质素含量与根直径均呈显著正相关的结果是一致的^[7]。然而本研究发现木质素含量、POD 和 PPO 活性与四倍体刺槐生根率相关性不显著,原因可能是随着木质素含量的增加,氧化酶 PPO 和 POD,激素 IAA、ABA 和 IBA,以及插穗本身的营养物质同时共同作用使得生根率提高所致,但其确切机理还有待于作进一步的深入研究。

本研究结果表明,当木质素含量为 19.47% 时,插穗的生根率、生根量、根长和根直径等生根性状最佳。此时的插穗剪切强度范围在 40~50 kg。不同时空试验条件下的结果可能有所变化,但对于四倍体刺槐来说生根性状最佳的插穗剪切强度范围变化不大。总之,这样可以根据相应的剪切强度来判断插穗的木质素含量来选择利于生根的最佳木质素含量插穗进行扦插,使四倍体刺槐无性繁殖从原来的依靠经验的粗放型选择插穗走向依靠科学的精细型选择插穗,从而大大节约生产成本和生产时间。

参考文献:

- [1] WANG X L(王小玲), ZHAO ZH(赵 忠), QUAN J E(权金娥), et al. Rooting and correlative enzyme activities of hardwood cuttings of Tetraploid *Robinia pseudoacacia* [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报), 2011, 31(1): 116-122(in Chinese).
- [2] 权金娥. 四倍体刺槐不定根发生的解剖学研究[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 2010.
- [3] ZHANG SH(张 胜), ZHAO ZH(赵 忠), et al. Establishment and Application of two-dimensional gel electrophoresis for proteome from the phloem of Tetraploid *Robinia pseudoacacia* [J]. *Biotechnology Bulletin* (生物技术通报), 2013, 26(1): 116-122(in Chinese).
- [4] 孟丙南. 四倍体刺槐扦插技术优化及生根机理研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2010.

- [5] DAUWE R, MORREEL K, GOEMINNE G, *et al.* Molecular phenotyping of lignin-modified tobacco reveals associated changes in cell-wall metabolism, primary metabolism, stress metabolism and photorespiration[J]. *The Plant Journal*, 2007, **52**(2): 263–285.
- [6] BOERJAN W, RALPH J, BAUCHER M. Lignin biosynthesis[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2003, **54**(1): 519–546.
- [7] CONG B (丛 斌), YANG M CH (杨茂成), *et al.* Changes in enzymatic activity during the period of cell differentiation of wheat (*Triticum aestivum*) root tip[J]. *Journal of Fudan University* (Nat. Sci. Edi.) (复旦大学学报·自然科学版), 1997, **36**: 550–554 (in Chinese).
- [8] ZHOU Y (周 元). Preliminary study on propagation by cuttings of *Simmondsia chinensis* [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2002, **38**(6): 564–566 (in Chinese).
- [9] HU X ZH (胡心治). Different Cuttings processing of *Camellia oleifera* cutting hair root [J]. *Modern Agricultural Science and Technology* (现代农业科技), 2009, **13**(6): 24–26 (in Chinese).
- [10] ZHU G H (朱国华). Comparison test on shoot cutting of *Ilex latifolia* [J]. *Journal of Zhejiang for Science and Technology* (浙江林业科技), 2004, **24**(4): 21–24 (in Chinese).
- [11] IPEKCI Z, OGRAS T, ALTINKUT A, *et al.* Reduced leaf peroxidase activity is associated with reduced lignin content in transgenic poplar [J]. *Plant Biotechnology*, 1999, **16**(5): 381–388.
- [12] WANG X L (王小玲), ZHAO ZH (赵 忠), *et al.* Effects of planting time on endogenous hormones and oxidase in tetraploid *Robinia pseudoacacia* softwood cuttings [J]. *Journal Beijing Forestry University* (北京林业大学学报), 2011, **33**(6): 102–106 (in Chinese).
- [13] CHAO I L, CHO C L, CHEN L M, *et al.* Effect of indole-3-butyric acid on the endogenous indole-3-acetic acid and lignin contents in soybean hypocotyl during adventitious root formation [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2001, **158**(10): 1 257–1 262.
- [14] 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.
- [15] LUO Z SH (罗自生). The relationship between lignification and endogenous hormone content of excised bamboo shoot [J]. *Scientia Agricultura Sinica* (中国农业科学), 2006, **39**(4): 792–797 (in Chinese).
- [16] JIANG W B (姜微波), LIU Z Y (刘尊英), FENG SH Q (冯双庆), *et al.* Regulations of fiber synthesis in excised pea seedlings by gibberellic acid, ethylene and abscisic acid [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2003, **30**(1): 296–298 (in Chinese).
- [17] 陈晓亚. 植物次生代谢及调控[M]//余叔文, 汤章城. 植物生理与分子生物学(第2版). 北京: 科学出版社, 1998: 390–401.
- [18] LIN S Y, DENCE C W. Methods in lignin chemistry; Springer Series in Wood Science, 1992, **11**(2): 864–865.
- [19] WEI J H (魏建华), SONG Y R (宋艳茹). Lignin biosynthetic pathway and progress in regulation [J]. *Plant Journal* (植物学报), 2001, **43**(8): 771–779 (in Chinese).
- [20] CHEN X G (陈晓光), SHI CH Y (史春余), YIN Y P (尹燕桦), *et al.* Relationship between lignin metabolism and lodging resistance in wheat [J]. *Acta Agronomica Sinica* (作物学报), 2011, **37**(9): 1 616–1 622 (in Chinese).
- [21] XIE B (谢 冰), KOU X H (寇晓虹), LI L (李 磊), *et al.* Regulation different treatments on postharvest lignification and quality changes in asparagus [J]. *Food Science and Technology* (食品科技), 2010, **35**(7): 44–47.
- [22] HE L H (贺立红), CAI M (蔡 马), HE SH G (何生根), *et al.* Effects of relevant enzymes on lignification of arachishypogaea gynophore [J]. *Journal of South China Agricultural University* (华南农业大学学报), 2006, **27**(1): 76–78 (in Chinese).
- [23] ZHANG H Y (张华云), WANG SH G (王善广). Effect of structure POD and PPO of sack for Laiyangshi pear skin [J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 1996, **23**(1): 23–26 (in Chinese).
- [24] XI Y F (席珂芳), LUO Z SH (罗自生), CHENG D (程 度), *et al.* Relationship between lignification of excised bamboo shoot and activities of polyphenol oxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia lyase [J]. *Plant Physiology Communications* (植物生理学通讯), 2001, **37**(4): 294–296 (in Chinese).
- [25] LI W (李 伟), XIONG J (熊 谨), CHEN X Y (陈晓阳). Advances in the research of physiological significances and genetic regulation of lignin metabolism [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.* (西北植物学报), 2003, **23**(4): 675–681 (in Chinese).
- [26] 李 伟. 桉木苗期不同无性系 PAL 和木质素及生长关系的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2001.
- [27] NOVO-UZAL E, POMAR F. Evolutionary history of lignins [J]. *Lignins: Biosynthesis, Biodegradation and Bioengineering*, 2012, **61**(5): 311.
- [28] BAUCHER M, MONTIES B, MONTAGU M V, *et al.* Biosynthesis and genetic engineering of lignin [J]. *Critical Reviews In Plant Sciences*, 1998, **17**(2): 125–197.
- [29] BERRY P, SPINK J, STERLING M, *et al.* Methods for rapidly measuring the lodging resistance of wheat cultivars [J]. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 2003, **189**(6): 390–401.
- [30] WENG J K, CHAPPLE C. The origin and evolution of lignin biosynthesis [J]. *New Phytologist*, 2010, **187**(2): 273–285.
- [31] RAES J, ROHDE A, CHRISTENSEN J H, *et al.* Genome-wide characterization of the lignification toolbox in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiology*, 2003, **133**(3): 1 051–1 071.
- [32] ROGERS LA, DUBOS C, CULLIS IF, *et al.* Light, the circadian clock, and sugar perception in the control of lignin biosynthesis [J]. *Journal of Experimental Botany*, 2005, **56**(16): 1 651–1 663.
- [33] GUO D, CHEN F, INOUE K, *et al.* Downregulation of caffeic acid 3-O-methyltransferase and caffeoyl CoA 3-O-methyltransferase in transgenic alfalfa; impacts on lignin structure and implications for the biosynthesis of G and S lignin [J]. *The Plant Cell*, 2001, **13**(1): 73–88.
- [34] 杨少宗. 杨树茎木质素的 RNAi 调控及糖化特性分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2010.