



文冠果新梢发育过程酚类物质及 相关酶活性变化特性

梁 芳, 卫旭芳, 郝莎莎, 侯智霞 *

(北京林业大学 林学院, 北京 100083)

摘要: 以文冠果新梢为试验材料, 通过分析文冠果新梢生长发育过程中的茎尖、茎段、叶片的多酚、类黄酮、单宁及相关酶(苯丙氨酸解氨酶、多酚氧化酶)活性, 研究了文冠果新梢枝条发育过程中不同部位酚类物质的积累规律及相关酶活性的变化规律。结果显示:(1)文冠果新梢生长期(4~9月)随着季节的变化, 多酚、类黄酮、单宁等酚类物质含量总体上呈现上升趋势, 新梢同一时期不同部位的多酚、类黄酮、单宁等酚类物质含量的分布情况相似, 皆为:叶>茎尖>茎段。(2)文冠果不同发育时期的茎叶苯丙氨酸解氨酶活性大小为:新梢幼嫩茎段及相应叶片>半木质化茎段及相应叶片>木质化茎段及相应叶片;新梢叶片的多酚氧化酶活性显著高于茎段, 茎尖的最低;文冠果叶片有着极强的抗氧化能力, 对1,1-二苯基-2-三硝基基苯肼自由基(DPPH⁺)的清除率最高可达98.13%。(3)在4月29日前后, 文冠果新梢各部位多酚、类黄酮和单宁含量上升趋势有显著差异, 各部位苯丙氨酸解氨酶活性最低, 而多酚氧化酶活性最高, 木质化程度不同的茎段DPPH⁺清除率均降至最低, 表明4月29日是文冠果新梢生长期的一个重要过渡生长阶段。(4)文冠果的新梢多酚、类黄酮、单宁之间呈极显著正相关关系;多酚、类黄酮、单宁与DPPH⁺清除率存在极显著正相关关系, 与多酚氧化酶活性呈显著正相关关系, 与苯丙氨酸解氨酶活性之间相关性不显著。研究表明, 酚类物质含量是影响文冠果无性繁殖的主要因素, 酚类物质含量越低, 文冠果的扦插、嫁接、组培的成活率越高;新梢多酚、类黄酮、单宁等酚类物质含量在生长初期最低, 后随着新梢的生长呈现显著上升趋势;文冠果无性繁殖最好在新梢生长初期进行, 最佳时间为4~5月中旬。

关键词: 文冠果; 新梢; 器官; 酚类物质; 动态变化

中图分类号: Q945.3; S718.43

文献标志码: A

The Variation Characteristics of Phenolics Compound Content and Related Enzyme Activities during Development of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge Shoots

LIANG Fang, WEI Xufang, HAO Shasha, HOU Zhixia *

(College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: This paper is to study the regulation of accumulation of phenolics compound and the dynamic change law of related enzyme activities in different parts of shoots during development of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge. We analyzed the content of polyphenols, flavonoids, tannins and the activities of related enzymes (phenylalanine ammonialyase polyphenol oxidase) in shoot tips, stems and leaves during the shoots' growth and development of *X. sorbifolia* by using shoots. The results showed that: (1) the contents of

收稿日期:2016-11-08; 修改稿收到日期:2017-03-09

基金项目:国家国际科技合作专项(2014DFA31140)

作者简介:梁 芳(1991—),女,在读硕士研究生,主要从事经济林研究。E-mail:773763491@qq.com

* 通信作者:侯智霞,副教授,硕士生导师,主要从事经济林研究。E-mail:hzxn2004@163.com

polyphenols, flavonoids and tannins presented a rising tendency with seasons in development of *X. sorbifolia* shoots; the contents of polyphenols, flavonoids and tannin were showing the following tendency: leaf > stem tip > stem. (2) The PAL activity of the development of *X. sorbifolia* new shoots is; young stem segments and corresponding leaves > the semi-lignified stem segments and corresponding leaves > the lignified stems and corresponding leaves. The PPO activity of leaves was significantly higher than that of stem segments, and the PPO activity of stem apex was the lowest. Leaves of *X. sorbifolia* had a strong antioxidant capacity; the highest scavenging rate of DPPH[•] was 98.13%. (3) Before and after April 29th, there was a significant difference in the rising trend of polyphenols, flavonoids and tannins contents; PAL activity of all organs was the lowest and PPO activity was the highest; the DPPH[•] scavenging rate of stem segments with different degrees of lignification was reduced to the lowest; therefore, April 29th was an important transitional growth stage of the shoot growth period. (4) Correlation analysis of *X. sorbifolia* new shoots revealed that there was a significant positive correlation between the contents of polyphenols, flavonoids and tannins; there was also a significant positive correlation between the contents of polyphenols, flavonoids, tannins and the scavenging capacities of DPPH[•]; there was also a positive correlation between the contents of polyphenols, flavonoids, tannins and PPO activity; however, there was not a positive correlation between the contents of polyphenols, flavonoids, tannins and PAL activity. The study suggests that the content of phenolics compound is the main factor affecting the vegetative propagation of *X. sorbifolia*; the lower the content of phenolics compound is, the higher the survival rate of cuttings, grafting and tissue culture. The content of phenolics compound such as polyphenols, flavonoids, and tannins is the lowest at the early stage of shoot growth, but the content of phenolics compound such as polyphenols, flavonoids and tannins increase significantly with the growth of new shoots. The vegetative propagation of *X. sorbifolia* is most suitable in the initial stage of shoots growth which the best time is from April to mid-May.

Key words: *Xanthoceras sorbifolia* Bunge; shoots; organs; phenolics compound; dynamic change

文冠果(*Xanthoceras sorbifolia* Bunge)属于无患子科(Sapindaceae)文冠果属(*Xanthoceras*),落叶灌木或小乔木^[1],自然分布广泛,栽培历史悠久,具有极强的抗寒、抗旱能力^[2]及其它逆境适应性,是干旱、半干旱地区重要的经济树种^[3],同时作为中国特有的木本油料植物^[4],也是中国北方山区发展最有前景的生物能源植物。文冠果由野生到人工栽培历史不长,还保留着许多野生性状,主要以实生繁殖方式育苗和造林。而文冠果实生苗的性状分离严重,致使在栽培中单株的生长及结实量等关键性状差别很大^[5],规范化的栽培方式对文冠果无性系的要求非常迫切。然而文冠果无性繁殖技术尚未取得实质性进展,扦插生根率低,嫁接存在嫁接不亲和及变异等问题^[6],组织培养技术亦停留在试验阶段,因此建立优树无性繁殖体系是解决当前栽培问题的一个重要步骤。无性繁殖实用技术迄今虽已进行了大量的研究,但仍未解决困扰文冠果无性繁殖的技术瓶颈,究其原因,当前对于文冠果树体各部位本身在生长发育过程中的发育特征及生理生化特性仍知之甚少。因此,深入了解文冠果树体自身的发育规律及生理状态对无性繁殖技术有重要的理论和实践意义。

酚类物质是一类广泛存在于高、低等植物中具有多方面生理作用的次生代谢物,几乎遍及植物生长发育的每一过程,涉及许多重要代谢反应。它常与某些植物激素相互作用,也能单独发生作用^[7],并且影响多酚氧化酶和苯丙酸解氨酶等相关酶活性^[8]。刘卫东等^[9]在对赤桉和直干桉扦插过程中体内生根抑制物质的研究时,具体地探讨了酚类、单宁类水溶物和总酸度等与不定根发生的关系,并发现酚类和单宁类物质是抑制赤桉不定根发生的主要物质。史俊燕等^[10]研究表明酚类物质含量是影响核桃嫁接成活的主导因子,酚类物质含量越高,嫁接成活率越低;Pina 等^[11]研究表明杏表现不亲和的嫁接组织中有大量酚类物质的积累。姚洪军等^[12]对阿月浑子、枣树和红地球葡萄的研究结果表明酚类物质含量与褐变呈正相关性,酚类物质含量较高,相应的外植体材料也较容易发生褐变。可见,酚类物质对植物扦插、嫁接、组培等无性繁殖的成活率有重要影响。

酚类、鞣质类、单宁类以及其他一些物化结构和性质相近或有关的物质是扦插生根的主要抑制物质^[13],刘玉民等^[14]研究表明马尾松插穗在扦插生

根过程中内源黄酮类物质含量发生规律性变化;蒲光兰等^[15]研究发现多酚和单宁是影响核桃嫁接成活的主要因子;魏芳等^[16]研究指出酚类物质的含量与阿月浑子组培褐化有一定的正相关关系。这些研究表明多酚、类黄酮、单宁等酚类物质可能是影响无性繁殖的因素。另外,在果树等木本植物组织培养及扦插苗中酚类物质常常是影响分化或部位发生的因素。程广友等^[17]研究表明紫杉枝条不同部位插穗生根率有差异。魏芳等^[16]研究表明阿月浑子酚类物质的含量因器官的不同而不同,其中叶片中酚类物质含量最高,茎段次之,种子最少;不同季节,酚的含量也会不同。Balakrishnamurthy 等^[18]研究表明扦插容易生根的嫩枝条木质化程度较低含有酚类物质少。由此可知树体不同时期不同部位酚类物质含量是不同的,对无性繁殖的影响有显著差异。在组织培养中不同外植体不同部位在培养时诱导分化能力是不同的^[19],外植体材料的取材时间、部位、大小等与褐化均有密切关系^[20]。目前关于文冠果新梢发育过程中不同部位酚类化合物含量动态变化的研究尚未见报道。因此本试验对文冠果新梢的取材时期及取材部位做了详细划分,研究文冠果树体生长期新梢枝条发育过程中不同部位酚类化合物及相关酶活性的积累规律,试图找出影响文冠果无性繁殖的主要因素,为了解文冠果新梢发育过程中不同部位的生理生化特性提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为文冠果新梢,采自北京市昌平苗圃5年

表1 文冠果新梢样品类型及取样情况

Table 1 The sample types and sampling situation of *X. sorbifolia* new shoots

样品类型 Sample type	样品采集时间(月/日)Sample collection time (Month/Day)									
	4/15	4/22	4/29	5/7	5/14	5/21	6/21	7/23	8/20	9/19
茎尖 Shoot tip	+	+	+							
嫩茎 Tender stems	+	+	+	+						
半木茎 Semi-wood stems		+	+	+	+					
木茎 Wood stems			+	+	+	+	+	+	+	+
嫩叶 Tender leaves	+	+	+	+						
半木叶 Semi-wood leaves		+	+	+	+					
木叶 Wood leaves		+	+	+	+	+	+	+	+	+

注:表中“+”代表该时期下能取到的样品。茎尖为新梢茎尖生长点向下1.5 cm以内;嫩茎为幼嫩茎段;半木茎为半木质化茎段;木茎为木质化茎段;嫩叶为幼嫩茎段对应的叶片;半木叶为半木质化茎段对应的叶片;木叶为木质化茎段对应的叶片

Note: The meaning of “+” in Table 1 is the sample that can be obtained in this period. Shoot tips stand for shoot tip growth point down less than 1.5 cm; Tender stems mean young stem segments; Semi-wood stems mean semi-lignified stem segments; Wood stems mean lignified stems; Tender leaves mean young stem segments corresponding to the leaves; Semi-wood leaves mean semi-lignified stem segments corresponding to leaves; Wood leaves mean the lignified stem segments corresponding to the leaves

生的文冠果结果树,取材于2016年4月15日萌芽抽梢起,至2016年9月19日主要生长期结束(开始落叶)止。4月15日~5月21日为新梢速生期,每周取1次样品;5月中旬速生期结束,顶芽逐渐形成,从5月21日开始每月取1次样品。每次取样随机选取长势一致无病虫害的文冠果植株5株为一个小区,每株树选取东南西北四个方向外围健壮新梢5~10条,混合为一份样品,3次重复。取样时间为上午10:00左右,样品迅速放入冰盒带回实验室。

根据文冠果新梢枝条的发育程度不同,将新梢样品分为茎尖(新梢茎尖生长点向下1.5 cm以内)、幼嫩茎段(茎尖下组织幼嫩未木质化的茎段)及其相对应的叶片(幼嫩叶片)、半木质化茎段(幼嫩茎段下柔韧性好的茎段)及其相对应的叶片(半木质化茎段对应的叶片)、木质化茎段(半木质化茎段下的茎段)及其相对应的叶片(木质化茎段对应的叶片)7个部位,取每个部位的材料为一份样品,每份样品鲜重约30 g,经液氮速冻,放置-80 ℃的超低温冰箱保存待测。枝条不同发育时期取样类型有所不同,具体样品情况详见表1。

1.2 研究方法

将新鲜样品于液氮下研磨粉碎备用。取样品0.5 g,加入5 mL含2% HCl的甲醇,超声浸提1 h,5 000 r/min离心20 min,取上清液。储存于0~4 ℃冰箱中,备用。多酚含量的测定采用Folin-Ciocalteu试剂法,参考Bonilla等^[21]的方法,类黄酮含量测定参照Wolfe等^[22]的方法,单宁含量测定参考张丹等^[23]的方法,总酚提取物的抗氧化能力评估采用清除1,1-二苯基-2-三硝基苯肼(DPPH⁺)法^[24]。

苯丙氨酸解氨酶活性(PAL)和多酚氧化酶活性(PPO)的测定,参考汤绍虎等主编的《植物生理学实验教程》^[25]。

1.3 数据处理

采用SPSS19.0对数据进行相关性分析、方差分析和差异显著性检验,Excel 2013进行数据统计和作图。

2 结果与分析

2.1 新梢发育过程中不同部位酚类物质含量变化特性

2.1.1 多酚含量 图1显示,在整个生长期,文冠果叶片的多酚含量显著高于茎段,茎尖多酚含量介于两者之间。幼嫩新梢(4月15日)的嫩茎多酚含量较低($1.73 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其嫩叶和茎尖的多酚含量分别是嫩茎的5.59倍和3.97倍。随着新梢生长发育,各部位的多酚含量大幅度提升,至顶芽逐渐形成时(5月7日),嫩茎多酚含量($10.14 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)较生长初期(4月15日)提升了5.86倍,显著高于同时期的半木质化茎段和木质化茎段,可能与采样时的区分精度有关,顶芽形成之后,没有单采“茎尖”样本,幼嫩茎段样品包含顶芽,推测顶芽内应该含有较高的多酚含量,致使嫩茎多酚含量显著高于半木质化茎段和木质化茎段;而在此期间,幼嫩叶片(至4月29日)的多酚含量($14.51 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)为生长初期(4月15日)嫩叶的1.51倍,茎尖(4月29日)多酚含量与嫩叶大致相同(可能与此时的茎尖取样有关),约为同时期嫩茎的4.22倍。而此时期之后,枝条基本处于木质化程度逐渐加深的状态,叶片的多

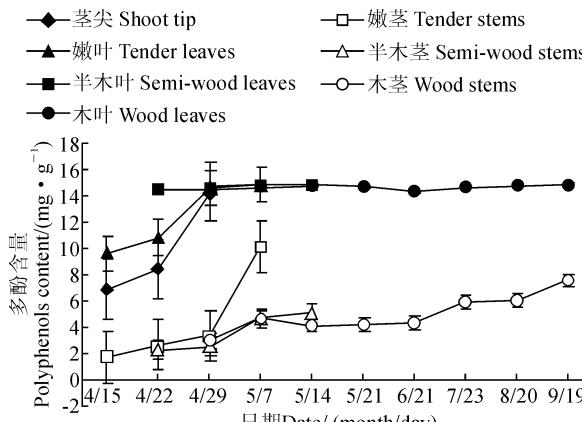


图1 新梢生长期不同部位多酚含量的变化特性

Fig. 1 The variation characteristics of polyphenol content in different parts of new shoots during the growing stages

酚含量基本稳定,而茎段的多酚含量在6月中旬之前基本稳定,之后又有较大幅度的提升,至9月中旬较生长初期(4月15日)嫩茎提高了4.39倍,半木质化的茎段和叶片多酚含量相对稳定。文冠果枝条多酚含量总的变化趋势为由低到高,前期变化明显,顶芽形成后(5月7日后)各个部位的多酚含量变化趋于平稳。

2.1.2 类黄酮含量 本研究的生长期,文冠果叶片的类黄酮含量显著高于茎段,茎尖类黄酮含量介于两者之间(图2)。幼嫩新梢嫩茎(4月15日)的类黄酮含量较低($1.20 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),其嫩叶和茎尖的类黄酮含量分别是嫩茎的3.69和3.27倍。4月15日到4月29日,新梢各部位类黄酮的含量基本稳定。随着新梢生长发育,至5月7日顶芽逐渐形成,此时新梢各部位类黄酮含量显著提升,嫩茎类黄酮含量($4.07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)较生长初期(4月15日)提升了3.39倍,而该时期不同部位的叶片之间含量差异比较小,叶片类黄酮含量($9.28 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)是嫩茎含量的2.28倍。顶芽形成之后,枝条处于木质化程度逐渐加深阶段,木质化茎段的类黄酮含量呈逐渐上升趋势,至9月中旬达到最高,此时其类黄酮含量较生长初期(4月15日)的嫩茎提高了6.26倍;木质化茎段对应叶片的类黄酮含量于7月23日后显著大幅上升,并于9月中旬达到最高,此时较生长初期(4月15日)的嫩茎提高了19.40倍。

2.1.3 单宁含量 文冠果新梢不同部位单宁的含量表现为叶片显著高于茎段,茎尖介于两者之间(图3)。其中,对于幼嫩新梢(4月15日)而言,嫩茎单宁含量较低($0.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$),嫩叶和茎尖的单宁含量

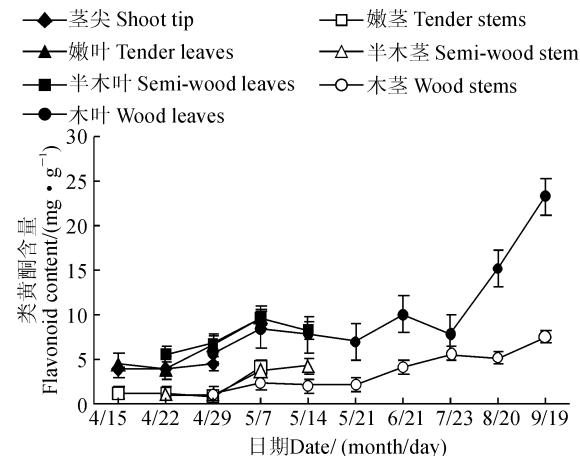


图2 新梢生长期不同部位类黄酮含量的变化特性

Fig. 2 The variation characteristics of flavonoid content in different parts of new shoots during the growing stages

分别是嫩茎段的4.96和2.29倍。随着新梢生长发育,至5月7日顶芽逐渐形成时,嫩茎的单宁含量达到 $3.50 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,而该时期不同部位的叶片之间单宁含量差异比较小,约是嫩茎含量的4.38倍。此时期之后至5月21日,木质化茎段及相应叶片的单宁基本稳定,随后含量迅速提升,至8月20日木质化部位的叶片单宁含量达到峰值,是生长初期(4月15日)嫩茎的51.33倍;至9月中旬木质化茎段单宁含量达到最高($13.38 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)是初期(4月15日)嫩茎的31.12倍。

2.2 新梢发育过程不同部位相关酶活性的变化特性

2.2.1 苯丙氨酸解氨酶活性 整个研究期间的不同部位的测定结果显示,文冠果新梢幼嫩茎段及相应叶片的PAL活性大于同期半木质化茎段及相应叶片,也大于同期木质化茎段及相应叶片(图4),说

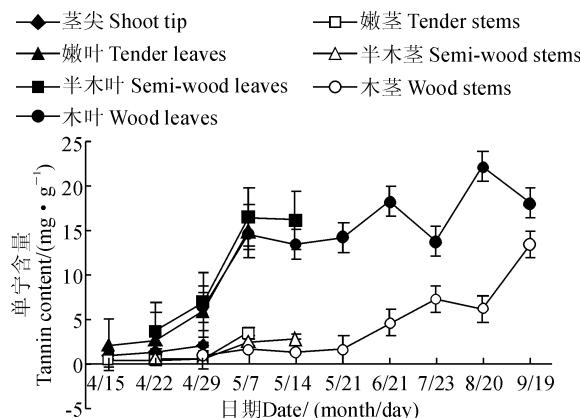


图3 新梢生长期不同部位单宁含量的变化特性

Fig. 3 The variation characteristics of tannin content in different parts of new shoots during the growing stages

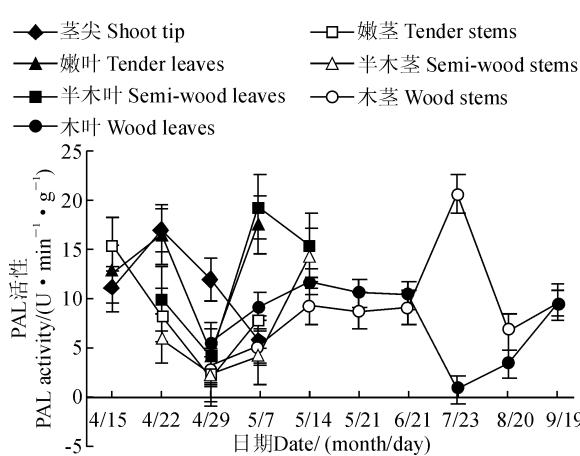


图4 新梢生长期不同部位PAL活性的变化特性

Fig. 4 The variation characteristics of PAL activity in different parts of new shoots during the growing stages

明随着新梢的发育木质化程度加深,其PAL活性降低。其中,在4月29日,新梢各部位PAL活性都降至最低,又以嫩茎的PAL活性最低($2.03 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)。在6月21日前,叶片的PAL活性大于茎段,其后正相反。同期内发育程度不同的茎段之间PAL活性状态相似。

2.2.2 多酚氧化酶活性 整个研究期间,文冠果新梢叶片的PPO活性显著高于茎段,茎尖的PPO活性比两者都低(图5)。其中,幼嫩新梢(4月15日)茎尖的PPO活性($0.12 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)最低,嫩叶和嫩茎的PPO活性分别是茎尖的2.21倍和1.51倍。随着新梢生长发育,到4月29日时,新梢茎尖和叶片PPO活性显著升高,并以嫩叶PPO活性($0.61 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$)最高;在5月21日到8月20日期间,枝条木质化程度逐渐加深,该阶段木质化茎

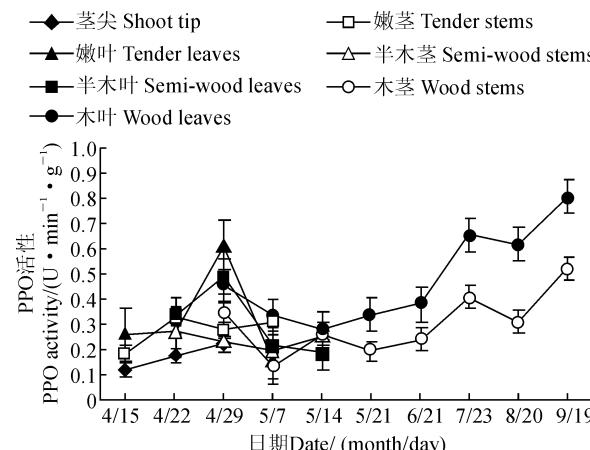


图5 新梢生长期不同部位PPO活性的变化特性

Fig. 5 The variation characteristics of PPO activity in different parts of new shoots during the growing stages

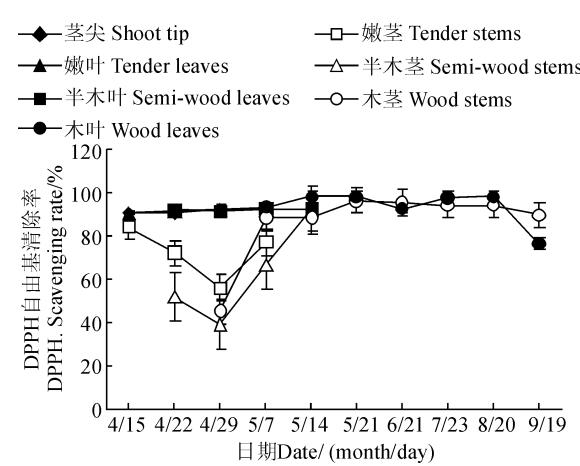


图6 新梢生长期不同部位抗氧化能力的变化特性

Fig. 6 The variation characteristics of antioxidant capacity in different parts of new shoots during the growing stages

表 2 文冠果新梢多酚、类黄酮、单宁、PAL、PPO、DPPH 自由基清除率的 Pearson 相关性

Table 2 Pearson correlation among polyphenols, flavonoids, tannins, PAL, PPO and DPPH in new shoots

指标 Index	多酚 Polyphenols	类黄酮 Flavonoids	单宁 Tannins	PPO	PAL
类黄酮 Flavonoids	0.687**	1			
单宁 Tannins	0.667**	0.877**	1		
PPO	0.206*	0.651**	0.467**	1	
PAL	0.138	0.108	0.112	-0.116	1
DPPH ·	0.589**	0.381**	0.408**	-0.005	0.399**

注: ** 和 * 分别表示在 0.01 水平(双侧)和 0.05 水平(双侧)上显著相关

Note: ** and * indicate significantly correlated at 0.01 level (both sides) and 0.05 level (bilateral), respectively

段及其叶片 PPO 活性大幅度增加。另外,在研究期间,幼嫩部分和半木质化部分(茎段和叶片)的 PPO 活性较为相似,与木质化部分有显著差异。

2.3 新梢发育过程不同部位抗氧化能力的变化特征

文冠果新梢不同部位 DPPH 自由基清除率测定结果(图 6)显示,整个研究期间新梢的茎尖和叶片抗氧化能力变化较为平稳,且其 DPPH 自由基清除率较高(平均在 92.09%)。在 4 月 15 日至 5 月 14 日之间,茎段抗氧化能力变化幅度较大,并在 4 月 29 日时达到最低,此时又以半木质化茎段 DPPH 自由基清除率(38.93%)最低,幼嫩茎段与木质化茎段分别是其 1.44 倍和 1.15 倍。5 月 14 日后,木质化茎段抗氧化能力基本稳定,其 DPPH 自由基清除率维持在 92.91% 左右。

2.4 新梢发育过程酚类物质含量、相关酶活性及抗氧化性之间的相关性

文冠果新梢酚类物质含量、相关酶活性及抗氧化性之间的相关性(表 2)分析表明,多酚、类黄酮、单宁 3 种酚类物质含量之间呈极显著正相关性;多酚、类黄酮、单宁含量均与清除 DPPH 自由基的能力极显著正相关,与 PAL 活性之间相关性不显著,而与 PPO 活性呈显著或极显著正相关。

3 讨 论

文冠果新梢各部位多酚、类黄酮、单宁等酚类物质含量在生长初期(4 月 15 日)都很低,随着新梢的生长均呈现上升趋势。半木质化茎段对应的叶片和木质化茎段对应的叶片多酚含量在新梢的生长过程中始终稳定在 $14.05 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右且无显著差异性变化。新梢同一时期不同部位的多酚、类黄酮、单宁等酚类物质含量的分布趋势相似,皆是叶 > 茎尖 > 茎段,这与谢久祥等^[26]对油松不同部位多酚与单宁

的含量比较研究结果类似。在 7 月 23 日,木质化茎段对应叶的单宁的含量显著降低,可能是该时期处于结果盛期,果树大量结果导致叶片单宁含量降低。有研究表明,植物叶片可能是次生代谢产物的主要产生器官^[27-28],金则新等^[29]研究表明青钱柳次生代谢产物主要由叶片产生,李钧敏等^[30]也报道长叶榧叶片中的次生代谢产物含量显著高于其他营养器官,本研究对文冠果新梢不同部位多酚、类黄酮、单宁的测定表明,3 种酚类物质含量均是叶片含量最高,其他部位含量显著低于叶片。

酚类化合物种类繁多,是重要的次生代谢物,主要由类黄酮、酚酸和单宁等 3 类物质构成^[31]。酚类化合物主要由莽草酸途径合成,莽草酸途径的主要产物羟基是肉桂酸,它以脂的形态积累,并作为其他酚类代谢物的前体,因此多酚、类黄酮、单宁可能来自于一个共同的前体物质,由此可见,多酚、类黄酮、单宁在生物合成、运输、积累等方面有一定的相关性,同时又受到多种环境因素的影响而存在着相对的独立性^[32]。苯丙氨酸解氨酶是一个可用于酚类合成的限速酶,主要催化由苯丙氨酸到各种酚类的第一步反应,为多种酚类及类黄酮提供前体物质^[33];植物的酚类化合物是通过多条途径合成的,其中以莽草酸途径为主,莽草酸生物合成最初的底物是 4-磷酸赤藓糖(E4P)和磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)结合,经过几个步骤形成重要的中间产物莽草酸,莽草酸再与 PEP 作用,脱去 Pi,形成分支酸,以后的去向有两个:一个走向色氨酸,另一个经过阿罗酸再形成苯丙氨酸和酪氨酸;然而本研究结果显示多酚、类黄酮、单宁与苯丙氨酸解氨酶相关性不显著,可能的原因是莽草酸途径中形成分支酸后的走向是色氨酸,没有经过苯丙氨酸。多酚氧化酶是酚类化合物氧化过程中的关键酶^[34],本研究结果显示多酚、类黄酮、单宁与多酚氧化酶活性呈显著正相关

性,因此多酚氧化酶活性的动态变化与酚类物质含量的增减相吻合;正常情况下,多酚氧化酶和底物是分隔开的,当细胞受破坏或组织衰老时,多酚氧化酶和底物(酚)接触,发生反应,将酚氧化成醌,醌对苗木生长有抑制作用,由此可以推测文冠果组织培养困难,可能是外植体使得多酚与多酚氧化酶发生反应产生了醌。本试验相关性分析显示,多酚、类黄酮、单宁与 DPPH 自由基清除率存在极显著的正相关性,这与夏乐晗等^[35]研究的杏果实发育过程中类黄酮、多酚含量与清除 DPPH 自由基的能力存在极显著的相关关系相一致,这也与孙玉霞等^[36]报道的葡萄枝条提取物的抗氧化活性与其总酚、总黄酮和单宁的含量呈正相关性相一致,说明多酚、类黄酮、单宁等酚类化合物对文冠果新梢抗氧化活性的发挥起着极其重要的作用。

扦插插穗的木化程度高低是限制插穗生根的因素之一^[37]，朱晓慧等^[38]研究表明酚类物质的大量累积不利于无刺花椒嫁接植株的愈合，王勇等^[39]认为外植体培养中所看到的褐变和死亡现象是酚类物质氧化的结果，这种现象的发生与外植体组织中的酚类物质多少和多酚氧化酶活性强弱有直接关系。莫保儒等^[40]对文冠果不同器官的扦插繁殖进行了

研究,结果表明嫩枝扦插成活率显著高于硬枝扦插。硬枝扦插主要采用1年生或木质化的枝条作插穗进行扦插,嫩枝插条是在生长期中用半木质化的枝条进行扦插育苗^[41]。另外,常月梅等^[42]研究嫁接时间间隔和嫁接方法(春季带木质芽接、夏季T形芽接、秋季带木质芽接和春季插皮接)对文冠果嫁接成活质量的影响,结果表明3~4月带木质芽接成活率最高。王非等^[43]研究了取材时期对文冠果组织培养外植体生长的影响,发现5月份取材的顶芽萌发率和生长最好,6月次之,7月份最差,因6、7月份进行研究的材料都是半木质化的茎段。本研究结果显示文冠果硬枝的多酚、类黄酮、单宁含量显著高于嫩枝;春季多酚、类黄酮、单宁含量显著低于夏季和秋季;4月份文冠果多酚、类黄酮、单宁含量显著低于5月和6月份。王非等^[43]用的试验材料采集于哈尔滨,本试验材料采集于北京,由于地域温差,北京文冠果的新梢萌动生长比哈尔滨早1个月。由此可知,文冠果的扦插、嫁接、组培材料中酚类物质含量越低,成活率越高;建议文冠果无性繁殖在新梢生长初期进行,最佳时间为4~5月中旬。可见,酚类物质含量是影响文冠果无性繁殖的主要因素。

参考文献：

- [1] 谢志玉, 张文辉, 刘新成. 干旱胁迫对文冠果幼苗生长和生理生化特征的影响[J]. 西北植物学报, 2010, **30**(5): 948-954.
XIE Z Y, ZHANG W H, LIU C X. Growth and physiological characteristics of *Xanthoceras sorbifolia* seedlings under soil drought stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2010, **30**(5): 948-954.

[2] 刘淑明, 孙丙寅, 贺安乾, 等. 西部地区文冠果种群种子特征及主要化学成分的地理变化[J]. 林业科学, 2012, **48**(4): 43-48.
LIU S M, SUN B Y, HE A Q, et al. Geographical change of seed characteristic and the main chemical composition of *Xanthoceras sorbifolia* population in the west of China[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, **48**(4): 43-48.

[3] 严婷, 郭军战, 徐龙光. 文冠果优良单株开花生物学特性研究[J]. 北方园艺, 2014, (5): 58-62.
YAN T, GUO J Z, XU L G. Study on the biological characteristics of flowering in fine plant of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Northern Horticulture*, 2014, (5): 58-62.

[4] 卞洪香, 侯新村, 刘巧哲. 木本能源植物文冠果的表型多样性研究[J]. 林业科学研究, 2007, **20**(3): 350-355.
MOU H X, HOU X C, LIU Q Z. Study on the phenotype diversity of woody energy plant *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Chinese Journal of Forest Sciences*, 2007, **20**(3): 350-355.

[5] 高述民, 马凯, 杜希华, 等. 文冠果研究进展[J]. 植物学通报, 2002, **19**(3): 296-301.
GAO S M, MA K, DU X H. Advances in research on *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2002, **19**(3): 296-301.

[6] 宋群雁, 殷奎德, 刘希全, 等. 文冠果无性繁殖技术的研究进展[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2011, **23**(6): 8-11.
SONG Q Y, YIN K D, LIU X Q, et al. Research progress on asexual propagation technology of *Xanthoceras sorbifolia* Bunge[J]. *Journal of Heilongjiang August*, 2011, **23**(6): 8-11.

[7] 王勇, 吴国良, 李登科, 等. 核桃树体内酚类物质含量的变化[J]. 果树学报, 2003, **20**(4): 325-327.
WANG Y, WU G L, LI D K, et al. Studies on the content of phenols in different parts of walnut tree[J]. *Journal of Fruit Science*, 2003, **20**(4): 325-327.

[8] 胡庆辉, 王程栋, 王树声, 等. NaCl 胁迫下鲜烟叶中多酚物质含量及 PAL 和 PPO 活性变化[J]. 中国烟草科学, 2013, **34**(1): 51-55.
HU Q H, WANG C D, WANG S S, et al. Changes of polyphenol contents, PPO and PAL activities of fresh tobacco leaves under NaCl stress[J]. *Chinese Tobacco Science*, 2013, **34**(1): 51-55.

- (1):51-55.
- [9] 刘卫东,周莹,孙汉州.桉树扦插生根过程中抑制物质的研究[J].经济林研究,1998,16(4):16-19.
LIU W D, ZHOU Y, SUN H Z. Effects of *Eucalyptus* cuttings on the inhibition of rooting process[J]. *Nonwood Forest Research*, 1998,16(4):16-19.
- [10] 史俊燕,樊金拴,严江.酚类物质及其相关酶对核桃嫁接成活的影响[J].西北林学院学报,2005,20(1):80-83.
SHI J Y, FAN J S, YAN J. The effects of polyphenol and relative enzyme on walnut grafting[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2005,20(1):80-83.
- [11] ERREAP, GARAYL, MARNJA. Early detection of graft in compatibility in apricot (*Prunus armeniaca*) using *in vitro* techniques[J]. *Physiologia Plantarum*, 2001, 112 (1): 135-141.
- [12] 姚洪军,罗晓芳.植物组培材料酚类物质 HPLC 特性及其与褐变的关系[J].内蒙古农业大学报,2007,28(2):111-113.
YAO H J, LUO X F. HPLC characteristics of phenol contents extracted from different material of tissue culture and its relativity with browning[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University*, 2007,28(2):111-113.
- [13] 朱鹏,徐建民.桉树扦插繁殖生根内在影响因素研究综述[J].广西林业科学,2007,36(2):71-74.
ZHU P, XU J M. Review on the internal influence factors of adventitious rooting in *Eucalyptus* [J]. *Guangxi Forestry Science*, 2007,36(2):71-74.
- [14] 刘玉民,刘亚敏,马明,等.马尾松扦插生根过程相关生化分析[J].林业科学,2010,46(9):28-32.
LIU Y M, LIU Y M, MA M, et al. Analysis of relevant physiological and biochemical characteristics of *Pinus massoniana* during cuttings rooting[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2010,46(9):28-32.
- [15] 蒲光兰,肖千文,赖腾跃,等.核桃砧木、穗条内含物及其与嫁接成活率的关系[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2016,44(2):79-84.
PU G L, XIAO Q W, LAI T Y, et al. Study on the correlation between the inclusion variations in stock and scion walnut and grafting survival rate[J]. *Journal of Shaanxi Normal University Natural Science Edition*, 2016,44(2):79-84.
- [16] 魏芳,苏淑钗,富丰珍,等.阿月浑子总酚含量与褐变关系研究[J].河北林果研究,2007,22(1):50-53.
WEI F, SU S C, FU F Z, et al. Phenol contents and browning in tissue culture of *Pistacia vera* L. [J]. *Hebei Journal of Forestry and Orchard Research*, 2007,22(1):50-53.
- [17] 程广友.紫杉插穗中生根抑制物的鉴定[J].北华大学学报(自然科学版),2000,1(2):163-166.
CHENG G Y. Identification of rooting inhibitors in *Taxus chinensis*(Pilger) Rehd. [J]. *Journal of Beihua University (Natural Science)*, 2000,1(2):163-166.
- [18] BALAKRISHNAMURTHY G, RAO V N M. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rosa bourboniana* Desp.) [J]. *Curr Sci*, 1988,57(17):960-962.
- [19] 潘佑找,柯尊涛,赵宇瑛.不同外植体对兰州百合组织培养的影响[J].安徽农学通报,2007,13(19):242-245.
PAN Y Z, KE Z T, ZHAO Y Y. The effect of *LiLum davidi* var unicord of tissue culture due to different explants[J]. *Auhui Agricultural Science Bulletin*, 2007,13(19):242-245.
- [20] 黄烈健,王鸿.林木植物组织培养及存在问题的研究进展[J].林业科学研究,2016,29(3):464-470.
HUANG L J, WANG H. Advances in tissue culture techniques of trees and the problems existed [J]. *Forest Research*, 2016,29(3):464-470.
- [21] BONILLA E. Phenolic content and antioxidant capacity of Muscatine grapes[J]. *Journal of Agricultural and food chemistry*, 2003,51(18):5 497-5 503.
- [22] WOLFE, K. WU. Antioxidant activity of apple peels[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2003,51(3): 609-614.
- [23] 张丹,任洁,刘红梅,等.干旱胁迫对红松主要次生代谢产物的含量及其 DPPH 清除能力的影响[J].植物研究,2016,36(4):542-548.
ZHANG D, REN J, LIU H M, et al. Responses of main secondary metabolites and DPPH free radical scavenging activity of the korean pine to drought stress[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2016,36(4):542-548.
- [24] 鲁燕舞,张晓燕,耿殿祥,等.光质对萝卜芽苗菜总酚类物质含量及抗氧化能力的影响[J].园艺学报,2014,41(3): 545-552.
LU Y W, ZHANG X W, GENG D X, et al. Effects of light quality on total phenolic contents and antioxidant activity in radish sprouts[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2014,41(3): 545-552.
- [25] 汤绍虎,罗充.植物生理学实验教程[M].重庆:西南师范大学出版社,2012.
- [26] 谢久祥,林恭华,都玉蓉,等.油松不同部位多酚与单宁的含量比较研究[J].植物研究,2012,32(2):243-247.
XIE J X, LIN G H, DU Y R, et al. Comparison of the contents of total polyphenols and tannins in different parts of *Pinus sinensis* [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2012, 32 (2):243-247.
- [27] 赵则海,于景华,杨逢建,等.人为扰动对乌拉尔甘草不同部位甘草酸与总黄酮含量的影响[J].生态学报,2004,24(12): 2 799-2 803.
ZHAO Z H, YU J H, YANG F J, et al. Influences of artificial disturbance degrees on the contents of Glycyrrhizic acid and flavonoids in different parts of *Glycyrrhiza uralensis*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004,24(12):2 799-2 803.
- [28] 杨蓓芬,金则新,邵红,等.七子花不同器官次生代谢产物含量的分析[J].植物研究,2007,27(2):229-232.
YANG B F, JIN Z X, SHAO H, et al. Analysis of secondary metabolites contents in different organs of *Heptacodium miconioides*[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2007, 27

- (2):229-232.
- [29] 金则新,李钧敏,丁军敏.青钱柳不同营养器官次生代谢产物分析[J].安徽农业科学,2007,35(13):3 806-3 807.
- JIN Z X, LI J M, DING J M. Analysis on the secondary metabolites in different nutrient organs of *Cyclocarya paliurus* [J]. *Journal of Anhui Agricultural*, 2007,35(13):3 806-3 807.
- [30] 李钧敏,金则新,周 楠.长叶榧不同营养器官次生代谢产物含量分析[J].福建林业科技,2007,34(1):29-32.
- LI J M, JIN Z X, ZHOU Y. Endangered species long leaf *Torreya jackii* secondary metabolic content analysis [J]. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2007,34(1):29-32.
- [31] BALASUNDRAM N, SUNDARAM K, SAMMAN S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses[J]. *Food Chemistry*, 2006,99(1): 191-203.
- [32] 陈 波,李建辉,金则新,等.濒危植物夏蜡梅叶片酚类化合物含量的动力分析[J].福建林业科技,2008,35(1):77-80.
- CHEN B, LI J H, JIN Z X, et al. The dynamic analysis of the phenolic compound contents in the leaves of the endangered plant *Sinocalycanthus chinensis* [J]. *Journal of Fujian Forestry Science and Technology*, 2008,35(1):77-80.
- [33] AMRITA KUMAR, BRIAN E ELLIS. The phenylalanine ammonia-lyase gene family in raspberry. Structure, expression, and evolution[J]. *Plant Physiology*, 2001,127(1): 230-239.
- [34] 魏海蓉,高东升,李宪利.甜樱桃芽酚类物质含量及相关酶活性变化与自然休眠的关系[J].园艺学报,2005,32(2): 197-201.
- WEI H R, GAO D S, LI X L. The changes of phenolics and related enzymes activity in sweet cherry buds during endodormancy period[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2005,32(2): 197-201.
- [35] 夏乐晗,陈玉玲,冯义彬,等.不同品种杏果实发育过程中类黄酮、总酚和三萜酸含量及抗氧化性研究[J].果树学报,2016,33(4):425-435.
- XIA L H, CHEN Y L, FENG Y B, et al. Changes in flavonoids, total phenolics, triterpenoidic acids and antioxidant capacity during fruit development of different cultivars of apricot[J]. *Journal of Fruit Science*, 2016,33(4):425-435.
- [36] 孙玉霞,蒋锡龙,史红梅,等.葡萄枝条提取物中多酚物质含量及其抗氧化活性的研究[J].中外葡萄与葡萄酒,2013,2(2):12-15.
- SUN Y X, JIANG X L, SHI H M, et al. The content of polyphenol and its antioxidant activity in grapevine cane pruned away in winter [J]. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, 2013,2(2):12-15.
- [37] DAVIS TD, HAISSIG BE, SANKHLA N. Adventitious root Formation in Cuttings(vol. 2)[M]. Oregon: Dioscorides Press, 1988.
- [38] 朱晓慧,杨途熙,魏安智,等.无刺花椒嫁接愈合过程中相关生理指标的变化[J].西北林学院学报,2015,30(2):134-138.
- ZHU X H, YANG T X, WEI A Z, et al. Changes of relative physiological indices involved in the graft union development of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2015,30(2):134-138.
- [39] 王 勇,吴国良,宋玉琴.酚类物质在果树上的生理作用研究进展[J].园艺学进展,2005,7:12-16.
- WANG Y, WU G L, SONG Y Q. Advances in studies of phenolic compounds in fruit trees[J]. *Progress in Horticulture*, 2005,7:12-16.
- [40] 莫保儒,王多锋,戚建莉,等.文冠果不同营养器官扦插繁殖试验研究[J].甘肃林业科技,2014,39(1):18-21.
- MO B R, WANG D F, QI J L, et al. Study on the experiment of cutting propagation in different vegetative organs for *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Journal of Gansu Forestry*, 2014,39(1):18-21.
- [41] 朱庆龙.浅谈林木硬枝扦插及嫩枝扦插育苗技术[J].吉林农业大学学报,2013,(8):73.
- ZHU Q L. On the hardwood cuttings and softwood cuttings seedling technology[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2013,(8):73.
- [42] 常月梅,张彩红.文冠果嫁接繁殖技术[J].经济林研究,2013,31(2):154-156.
- CHANG Y M, ZHANG C H. Grafting technology in *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Nonwood Forest Research*, 2013,31(2):154-156.
- [43] 王 非,孙赟璐,李在善,等.取材时期对文冠果优树芽启动的影响[J].东北林业大学学报,2012,40(4):11-13.
- WANG F, SUN Y L, LI Z S, et al. Effect of collection time of explants on bud sprouting in superior tree of *Xanthoceras sorbifolia* [J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2012,40(4):11-13.

(编辑:裴阿卫)