http://xuebao.jxau.edu.cn E – mail: ndxb7775@ sina.com

四倍体刺槐插条不定根 发生的营养物质变化

王小玲1 赵 忠2* 高 柱1

(1. 江西省科学院 生物资源研究所 江西 南昌 330029; 2. 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 杨凌 712100)

摘要: 取四倍体刺槐 3 年生采穗圃中 1 年生硬枝和半木质化嫩枝枝条为试材,研究硬枝和嫩枝插条不定根发生过程中可溶性蛋白、可溶性糖、淀粉和植物总氮含量及 C/N 比值的变化规律,为四倍体刺槐扦插生根的化学调控提供参考依据。结果表明: (1) 不定根形成过程中,对照插穗可溶性蛋白含量持续下降; 经 IBA 处理的插穗可溶性蛋白含量先降低后升高,且经 IBA 处理的硬枝插穗可溶性蛋白含量显著高于对照。(2) 插穗可溶性糖含量先升高后降低; 经 IBA 处理的插穗可溶性糖含量明显高于对照,且可溶性糖含量达到高峰的时间较对照提前 5 d。(3) 经 IBA 处理的插穗淀粉含量下降的速度大于对照,且经 IBA 处理的硬枝插穗和对照之间差异水平显著。(4) 植物总氮对四倍体刺槐扦插生根的影响作用较小。(5) 四倍体刺槐扦插,插穗 C/N 比值越高,生根能力越强。

关键词: 四倍体刺槐; 硬枝插穗; 嫩枝插穗; 营养物质

中图分类号: S792.27 文献标志码: A 文章编号: 1000 - 2286(2012) 04 - 0724 - 06

Changes of Nutrients in Adventitious Root Formation of Tetraploid *Robinia pseudoacacia* Cuttings

WANG Xiao-ling 1 , ZHAO Zhong 2* , GAO Zhu 1

(1. Institute of Biological Resources, Jiangxi Academy of Sciences, Nanchang 330029, China; 2. Key Laboratory of Environment and Ecology in Western China of Ministry of Education, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Annual hardwood and softwood cuttings in 3-year-old cutting orchard of tetraploid *Robinia pseudoacacia* were taken as materials in this experiment. The changes of soluble protein content, soluble sugar content, starch content, total nitrogen content and C/N ratio were studied to provide reference for chemical control of the cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*. The result showed that: (1) the soluble protein content of control cuttings kept declining during rooting process. The soluble protein content of IBA-treated cuttings decreased firstly, and then increased. The soluble protein content of hardwood cuttings pretreated with IBA was significant higher than that of the control. (2) However, the soluble sugar contents of both hardwood and softwood cuttings showed a trend of increasing firstly, and then decreasing. The soluble sugar content of IBA-treated cuttings was higher than that of the control, but showed no significant difference. The highest soluble sugar content of IBA-treated cuttings appeared five days earier than that of the control. (3) The IBA-

收稿日期: 2011 - 12 - 17 修回日期: 2012 - 05 - 16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30972352) 和江西省科学院省级重点实验室开放基金资助

作者简介: 王小玲(1979—) ,女 博士 ,主要从事森林培育理论与技术研究 ,E - mail: wangxiaoling1979@126. com; * 通讯作者: 赵忠 博士 教授 博导 ,主要从事森林培育理论与技术研究 ,E - mail: zhaozh@ nwsauf. edu. cn。

treated cuttings had a larger speed to degrade starch than the control. At the same time, the cuttings pretreated with IBA showed significant difference. (4) There was little relationship between total nitrogen and the rooting of the cuttings. (5) A positive relationship was detected between C/N ratio and the rooting percentage of tetraploid *Robinia pseudoacacia* cuttings.

Key words: tetraploid Robinia pseudoacacia; hardwood cutting; softwood cutting; nutrients

用生长健壮和成熟度高的插穗进行扦插比生长较弱和成熟度低的插穗容易生根。这与插条内积累的营养物质有关^[1]。插条不定根的形成过程需要消耗体内储藏的大量营养物质。碳水化合物和氮素化合物既是插穗不定根形成和生长所不可缺少的,也是在不定根形成之前维持其生命活动的重要能源。导致有些植物或未成熟的枝条生根困难的原因正是插穗组织内碳水化合物储藏不足^[2] 碳水化合物能够相互转化和再利用的主要形式是可溶性糖。插穗内可溶性糖含量直接反映了体内能量物质的供给与转化情况。

四倍体刺槐具有较强的适应性、广泛的用途及较快的生长速度,被誉为西北地区生态环境建设的优良树种,将成为普通刺槐的替代品种。四倍体刺槐属于扦插难生根树种,国内虽已有报道解决了扦插成活率低的问题^[3-5],但由于缺乏对插条不定根发生调控机理的研究,其快速育苗技术仍不成熟。为此,本课题组在四倍体刺槐生根过程中插穗氧化酶活性^[6]和內源激素含量^[7]变化研究的基础上,进一步分析了插穗可溶性蛋白质、可溶性糖、淀粉、总氮含量消长及其相互比例动态变化规律,以期为四倍体刺槐扦插生根的化学调控提供参考依据。

1 试验地概况

试验地点设在陕西杨凌的西北农林科技大学林学院教学试验苗圃 .该圃地位于 $108\,^\circ07\,^\circ$ E $34\,^\circ12\,^\circ$ N。最高海拔 $530.1\,^\circ$ m 最低海拔 $403.2\,^\circ$ m。年均积温 $4\,^\circ$ 811 $^\circ$ C 年均气温 $12.9\,^\circ$ C 极端最低气温 $-19.4\,^\circ$ C 极端最高气温 $42\,^\circ$ C。年均降水量 $660\,^\circ$ mm 无霜期 $220\,^\circ$ d 以上 年均日照时数 $2\,^\circ$ 163.8 h 年均辐射总量 $114.8\,^\circ$ kJ/m² 属于暖温带半湿润大陆性季风气候。

2 材料与方法

2.1 试验材料

四倍体刺槐硬枝扦插 ,从 3 a 生母树剪取当年生枝条制穗 ,插穗直径为 $10\sim12~mm$,长度为 $12\sim15~cm$,剪好的插穗 50 根为一捆捆扎。先用 5 g/L 多菌灵溶液浸泡 3 min ,然后用 IBA1 000 mg/L 溶液浸泡 6 h 后 ,分 3 个小区扦插。扦插深度 8 cm .密度 400 根/m²。IBA 溶液处理前随机取 5 根插穗 ,为第 0 天样品; 扦插后 ,第 15 20 25 30 35 天分别取样。

四倍体刺槐嫩枝扦插 从 3 a 生母树剪取当年生半木质化嫩枝插条制穗 ,每个插穗顶端留一对复叶 ,每个复叶留两片单叶 插穗直径为 $8\sim10$ mm ,长度为 $10\sim12$ cm ,剪好的插穗 30 根为一捆捆扎。先用 5 g/L 多菌灵溶液浸泡 3 min ,然后用 IBA1 400 mg/L 溶液浸泡 4 h 后 ,分 3 个小区扦插。扦插深度 5 cm .密度以两插穗叶片不重叠为原则。IBA 溶液处理前随机取 5 根插穗 ,为第 0 天样品; 扦插后 ,第 5 , 10 ,15 20 25 天分别取样。

以上试验 均以清水浸泡四倍体刺槐硬枝和嫩枝插穗基部为对照(CK)。浸泡和取样时间与 IBA 溶液处理的插穗相同。扦插后 在规定的取样时间,每次每区随机抽取 9 根插穗 清水冲洗干净 迅速剥取插穗基部 1~cm 范围内的皮层 混合后分为 3~dm 液氮冷冻后于超低温冰箱保存。

2.2 测定方法

- (1) 可溶性蛋白质测定: 采用考马斯亮蓝 G 250 染色法(Coomassie brilliant blue G 250) ,于 595 nm 测定其吸光值 单位: mg/g。
 - (2) 可溶性糖和淀粉测定: 采用蒽酮比色法 ,于 620 nm 测定其吸光值 ,单位: mg/g。
 - (3) 植物总氮测定: 采用 GB 7886—87 中的蒸馏法 全自动凯氏定氮仪测总氮含量 单位: %。

2.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 16.0 统计分析软件系统进行处理分析。

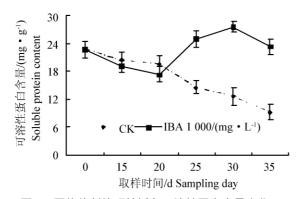


图 1 四倍体刺槐硬枝插条可溶性蛋白含量变化

Fig. 1 Changes of soluble protein content on hardwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

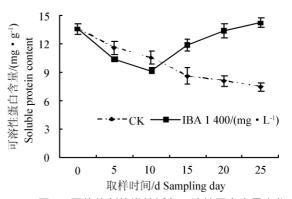


图 2 四倍体刺槐嫩枝插条可溶性蛋白含量变化 Fig. 2 Changes of soluble protein content on softwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

3 结果与分析

3.1 四倍体刺槐插条可溶性蛋白含量变化

四倍体刺槐硬枝扦插(图 1) 经 IBA 处理的插穗可溶性蛋白含量第 0—20 天从 22.70 mg/g 下降至 17.32 mg/g 第 20 天后开始缓慢上升,并在第 30 天时达到了高峰 27.61 mg/g ,之后又缓慢下降。对照插穗可溶性蛋白含量扦插后持续下降,其中第 0—20 天可溶性蛋白含量下降速度没有 IBA 处理明显,仅从 22.70 mg/g 下降至 19.54 mg/g;第 20—35 天可溶性蛋白含量从 19.54 mg/g 急剧下降至 9.20 mg/g。方差分析表明 经 IBA 处理的硬枝插穗可溶性蛋白含量随生根进程呈显著上升趋势(F=5.266 P=0.0447)。说明生长调节物质 IBA 对四倍体刺槐硬枝插穗的促根作用与可溶性蛋白含量显著相关。

四倍体刺槐嫩枝扦插(图 2) 经 IBA 处理的插穗可溶性蛋白含量呈现先下降后上升的趋势; 扦插后第 0—10 天,可溶性蛋白含量从 13.54 mg/g 减少至 9.17 mg/g; 第 10—25 天,可溶性蛋白含量迅速增加。对照插穗可溶性蛋白含量变化趋势与硬枝扦插对照插穗可溶性蛋白含量的变化趋势相同,即为逐渐降低。方差分析显示, IBA 处理的嫩枝插穗与对照可溶性蛋白含量的差异不显著。表明生长调节剂 IBA 对四倍体刺槐嫩枝插穗可溶性蛋白含量的影响小于硬枝。

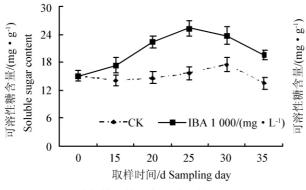


图 3 四倍体刺槐硬枝插条可溶性糖含量变化

Fig. 3 Changes of soluble sugar content on hardwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

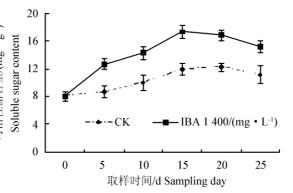
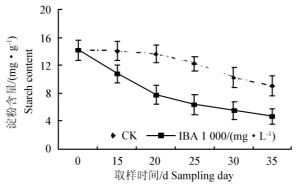


图 4 四倍体刺槐嫩枝插条可溶性糖含量变化

Fig. 4 Changes of soluble sugar content on softwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

3.2 四倍体刺槐插条可溶性糖含量变化

四倍体刺槐硬枝(图3)和嫩枝(图4)扦插,插穗可溶性糖含量都是先升高后降低;经IBA处理的插穗可溶性糖含量明显高于对照,且扦插过程中可溶性糖含量达到高峰的时间较对照提前5d。四倍体刺槐硬枝扦插(图3) 经IBA处理的插穗可溶性糖含量在第0—15天变化较小;第15—25天可溶性糖含量急剧增加,由17.39 mg/g增加到22.45 mg/g,第25天时达到峰值,之后可溶性糖含量逐渐减少。对照插穗可溶性糖含量与IBA处理的插穗变化趋势基本相同,但对照插穗可溶性糖含量在扦插后第0—30天缓慢增加,仅由15.15 mg/g增加到17.51 mg/g 其峰值出现的时间推至第30天,变化幅度小。



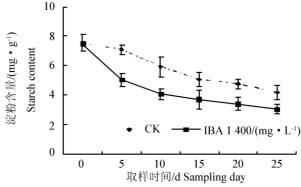


图 5 四倍体刺槐硬枝插条淀粉含量变化

Fig. 5 Changes of starch content on hardwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

图 6 四倍体刺槐嫩枝插条淀粉含量变化

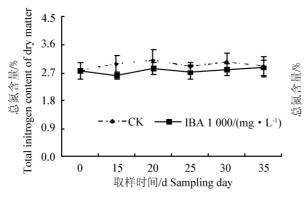
Fig. 6 Changes of starch content on softwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

扦插过程中 IBA 处理的硬枝插穗可溶性糖含量与对照之间差异水平极显著(F = 10.538 P = 0.008 8)。

四倍体刺槐嫩枝扦插前,插穗可溶性糖含量仅为硬枝插穗的 53.20% (图 4)。经 IBA 处理的嫩枝插穗可溶性糖含量在第 15 天达到高峰,比扦插前增加了 114.89%,实际观察发现,此时期为不定根大量形成期。对照插穗可溶性糖含量则在第 20 天达到高峰,比扦插前增加了 51.99%。 IBA 处理的嫩枝插穗可溶性糖含量与对照之间差异水平显著 (F=5.714 P=0.037 9)。

3.3 四倍体刺槐插条淀粉含量变化

植物组织自身储藏的淀粉只有转化为总糖才可供植物生长利用。因此植物生长发育过程也是淀粉消耗的过程。四倍体刺槐硬枝(图5)和嫩枝(图6)扦插后。插穗组织内储藏的淀粉不断转化为生根所需的营养物质。淀粉含量下降。不定根形成过程中。经 IBA 处理的硬枝插穗淀粉含量下降速度显著大于对照(F=5.375 P=0.042 9);经 IBA 处理的嫩枝插穗淀粉含量下降的速度虽然大于对照。但两者之间差异不显著。由此可见,扦插过程 生长调节剂 IBA 对硬枝插穗淀粉含量的影响作用大于嫩枝插穗。



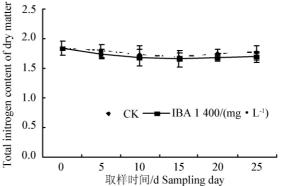


图 7 四倍体刺槐硬枝插条总氮含量变化

Fig. 7 Changes of total nitrogen content on hardwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

图 8 四倍体刺槐嫩枝插条总氮含量变化

Fig. 8 Changes of total nitrogen content on softwood cuttings of tetraploid *Robinia pseudoacacia*

3.4 四倍体刺槐插条植物总氮含量变化

四倍体刺槐硬枝扦插不定根发生过程中插穗植物总氮含量呈波浪式变化,变幅为 2.76% ~ 3.09% (图 7); 经 IBA 处理的硬枝插穗植物总氮含量略低于对照,两处理间插穗植物总氮含量的变化差异不显著。四倍体刺槐嫩枝扦插插穗植物总氮含量的变化情况较硬枝插穗略有不同(图 8)。嫩枝插穗植物总氮含量随着生根进程呈现明显下降趋势; 扦插第 0—15 天, IBA 处理和对照插穗植物总氮含量从开始的 1.84% 分别下降至 1.66% 和 1.68% ,第 15 天同时达到谷值,分别比扦插前降低了 9.78% 和 8.70%; 第 15—25 天,插穗植物总氮含量略有上升, IBA 处理插穗植物总氮含量上升比较缓慢,此时 IBA 处理和对照插穗植物总氮含量仍明显低于扦插前插穗植物总氮含量。因此,四倍体刺槐扦插不定根发生过程中,插穗植物总氮含量低时促进生根。

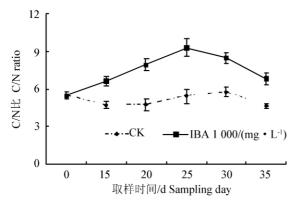


图 9 四倍体刺槐硬枝插条 C/N 比值变化

Fig. 9 Changes of C/N ratio on hardwood cuttings

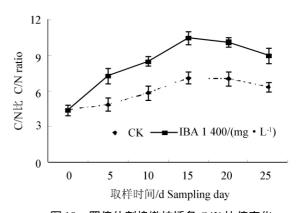


图 10 四倍体刺槐嫩枝插条 C/N 比值变化 Fig. 10 Changes of C/N ratio on softwood cuttings

3.5 四倍体刺槐插条 C/N 比变化

有资料显示,可用碳水化合物与总氮的比值(C/N 比)来表示扦插生根能力,C/N 比与生根率呈正相关。以上研究表明,可溶性糖是影响四倍体刺槐插条不定根发生的重要碳水化合物,于是本研究对不同时期四倍体刺槐插穗内可溶性糖含量和植物总氮含量的比值进行了计算分析。

从计算结果可以看出,四倍体刺槐插条不定根发生过程中,无论硬枝(图9)还是嫩枝(图10)插穗,IBA 处理和对照插穗的 C/N 比值和变化趋势均与其插穗内可溶性糖含量的变化趋势相同,即插穗内可溶性糖含量高。C/N 比值就高;插穗内可溶性糖含量呈递增趋势。C/N 比也表现出递增趋势;反之亦然。

4 讨论与结论

- (1) 可溶性蛋白虽然只占蛋白质的一部分,但是植物不定根形成过程能吸收利用的主要是可溶性蛋白质,它能够构成细胞膜系统,并发挥着运输协调、免疫保护和控制生长分化等功能。本研究中,愈伤组织诱导过程插穗要进行细胞分裂,使 DNA 快速复制,呼吸作用加强,消耗大量可溶性蛋白致使其含量下降; IBA 处理的插穗可溶性蛋白含量下降速度较对照明显,可能是 IBA 激活了薄壁细胞的分裂作用所致。不定根形成期,经 IBA 处理的硬枝插穗开始展叶,嫩枝插穗老叶脱落,新叶长出,光合作用增强,蛋白质的合成和积累增加; 另外,生长调节剂 IBA 消除了对基因的抑制,促进 mRNA 合成,进而转录、翻译。合成蛋白质^[8],蛋白质含量增加,为细胞的生长提供了物质基础。不定根表达期,IBA 处理的硬枝插穗可溶性蛋白含量逐渐下降,而嫩枝插穗仍然上升,表明硬枝插穗内蛋白质的合成量较不定根表达所消耗的量要少,而嫩枝插穗内蛋白质的合成量足以满足不定根表达所消耗的量,这种差异性也可能是嫩枝扦插时,环境温度高,光照强所致。此结果与大叶相思^[9]、樱桃^[10]和李树等^[11]的研究结论一致。
- (2) 可溶性糖是插穗体内碳水化合物相互利用的主要形式^[12] ,是插穗体内能量储藏和新陈代谢的基本物质 其含量的变化与光合作用密切相关 ,其含量的高低对碳水化合物的合成、运输和利用有重要的影响^[13]。四倍体刺槐扦插愈伤组织诱导期 ,插穗经剪切受伤后 ,呼吸作用增强 ,插穗内储藏的淀粉转化为可溶性糖的速度较消耗的速度大 ,可溶性糖含量增加。不定根形成期 ,插穗长出新叶 ,并自我调适 ,逐渐恢复光合能力 ,同化产物得以运输和积累 ,可溶性糖含量继续增加 ,直到达到高峰以满足不定根的形成需要。大量新根产生后 ,促使插穗呼吸作用再次增强 ,可溶性糖的利用加快 ,淀粉转化、光合作用合成和不定根从土壤中吸收可溶性糖的速度较呼吸作用和其它代谢活动消耗的速度小 ,插穗可溶性糖含量减少。四倍体刺槐插穗可溶性糖的这种变化趋势 ,与徐丽萍^[14]、姚国明^[15]和王关林等^[10]报道的不定根形成是可溶性糖的积累过程 ,不定根表达是可溶性糖的大量消耗过程的结论一致。另外 ,蒙椴^[16]和马尾松^[17]扦插过程中 ,生长调节剂可显著提高插穗内可溶性糖含量 ,说明生长调节剂能明显加快插穗基部可溶性糖的积累 ,促进不定根形成 ,也支持了本研究结果。
- (3) 淀粉含量属于数量性状,受遗传基因和环境多因素控制^[18],适宜的生长温度,有利于插穗体内淀粉酶活力增强,加快储藏淀粉向可溶性糖的转化速度。四倍体刺槐扦插不定根形成过程中,经 IBA 处理的插穗淀粉水解的速度较对照快,表明生长调节剂 IBA 在扦插过程中能促使插穗淀粉向可溶性糖

转化。可溶性糖是对插穗不定根的发生起直接生理效应的碳水化合物 淀粉只有转化为可溶性糖才对不定根的形成起作用 因此插条内淀粉含量越高 转化成为可溶性糖就越低 生根率下降 这也是插穗内淀粉含量与生根率呈负相关的原因所在。

- (4) 同碳水化合物一样 氮素化合物也是不定根发育所不可缺少的营养物质。插穗体内植物总氮含量与生根率的关系有不同报道 ,有研究认为植物总氮含量与茶树扦插生根关系不密切 ,而与含笑密切相关^[8]。IBA 处理对四倍体刺槐插穗植物总氮含量的影响很小 ,与马尾松^[19] 扦插研究结论一致。但也有研究认为植物总氮含量与白皮松扦插生根成正相关 ,说明植物总氮含量对扦插生根的影响较为复杂。因此 ,有关植物总氮含量与不定根形成的关系还有待于进一步研究。
- (5) 许多研究认为 插穗内 C/N 比值是衡量生根能力的良好指标 C/N 比值与其插穗生根率呈正相 关 即不定根形成过程中 插穗 C/N 比值越高 插穗生根力越强 C/N 比值越高 插穗生根力越强 C/N 比值域高 插穗生根力越强 C/N 比值域。 然而 氮素化合物也是扦插生根所必须的营养物质 ,它不仅关系着根原基的形成 ,也促进地下和地上部分的生长。 因此 ,并不是总氮含量无限低 C/N 比值无限高 ,生根能力就越好。 设想是否需要一个最低的氮素临界水平来满足生根的需要 ,或者一个最高的氮素临界水平来促进生根 ,如果低于或高于这一水平就抑制插条生根。

参考文献:

- [1]李云,王宇,田砚亭,等. 枣树嫩枝扦插技术研究现状[J]. 河北林果研究 2000, 15(4): 373-379.
- [2] 敖红 王昆 陈一菱 筹. 长白落叶松插穗内的营养物质及其对扦插生根的影响[J]. 植物研究 2002, 22(3): 301-304.
- [3]杨兴芳 . 曹帮华 . 李寿冰 . 第. 四倍体刺槐硬枝扦插技术研究 [J]. 山东林业科技 . 2007(2):50-51.
- [4]姚占春 朴明花 冯继峰. 饲料型四倍体刺槐嫩枝扦插试验初报[J]. 吉林林业科技 2007 63(6):5-6.
- [5]孟丙南 彭祚登 张中林 等. 四倍体刺槐硬枝沙藏结合生长调节物质处理扦插研究[J]. 黑龙江农业科学 2010(8):85-88.
- [6]王小玲 赵忠 权金娥 等. 外源激素对四倍体刺槐硬枝扦插生根及其关联酶活性的影响 [J]. 西北植物学报 2011~31~(1):116-122.
- [7] Wang X L, Zhao Z. Seasonal variation in rooting of the cuttings from *Tetraploid locust* in relation to nutrients and endogenous plant hormones of the shoot [J]. Turk J Agric For, 2012, 36: 257 266.
- [9] 易敏 黃烈健 陈祖旭 等. 大叶相思扦插繁殖技术研究[J]. 江西农业大学学报 2011 33(1):84 89.
- [10]王关林 ,吴海东 ,苏冬霞 ,等. NAA、IBA 对樱桃砧木插条的生理、生化代谢和生根的影响 [J]. 园艺学报 ,2005 ,32 (4):691-694.
- [11]张义 韩诗曼. 李树嫩枝扦插生根过程的生理变化[J]. 安徽农学通报 2009 ,15(21):136-137.
- [12]陈柔屹 程江 唐祈林 等. 饲草玉米扦插繁殖技术初探[J]. 安徽农业科学 2008 36(33):14479-14481.
- [13]宋柏权 刘丽君 董守坤 等. 大豆不同碳代谢产物含量变化研究[J]. 大豆科学 2009 28(4):654-657.
- [14]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.
- [15]姚国明 何威 周为伟. 豫楸 1 号扦插生根过程中营养物质含量的变化[J]. 河南林业科学 2009 29(3):1-3.
- [16]王文凤 李保会 涨芹 等. IBA 处理对蒙椴嫩枝扦插的影响[J]. 河北农业大学学报 2007 30(5):48-50.
- [17]刘玉民,刘亚敏,冯明, 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.
- [18]曹昌林 董良利 宋旭东 等. 氮磷钾配施对高粱籽粒淀粉含量的影响[J]. 山东农业科学 2010 5:68 70.
- [19] 张忠微 石素霞 涨彦广 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.
- [20] 唐全 曹帮华 刘凤 等. 悬铃木硬枝扦插年龄效应及对 a-NAA 处理的影响 [J]. 西南大学学报: 自然科学版 2009 , 31(3): 94-99.