

文章编号: 1001-1498(2001)02-0131-10

吲哚乙酸处理桉树插条后氧化酶活性及同工酶变化与生根关系的比较研究

李明¹, 黄卓烈¹, 谭绍满², 林韶湘¹, 龙腾³, 林海球³

(1. 华南农业大学 生物技术学院, 广东 广州 510642; 2. 华南农业大学 林学院, 广东 广州 510642;

3. 国家林业局 雷州林业科学研究所, 广东 湛江 524348)

摘要: 尾叶桉 MLA 无性系(简称 MLA)为难生根植物, 尾叶桉 U₆ 无性系(简称 U₆)和刚果 12 号桉 W₅ 无性系(简称 W₅)为易生根植物。MLA 的插条内的 POD、IAO 活性较 U₆、W₅ 的高, 而 PPO 活性比 U₆、W₅ 的低。用 IAA 处理桉树的插条后, 在扦插生根的不同阶段, 插条内的 POD、PPO、IAO 活性呈现规律性的变化。蛋白质含量呈上升趋势。POD、PPO 同工酶谱带也随生根的进程出现增多现象。本文讨论了 3 种氧化酶与桉树插条生根的关系。

关键词: 过氧化物酶; 多酚氧化酶; 吲哚乙酸氧化酶; 桉树; 扦插生根

中图分类号: S718.43

文献标识码: A

高等植物的过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、吲哚乙酸氧化酶(IAO)对生长、发育起重要的作用。关于 POD、PPO、IAO 与植物生根关系的研究已有一些报道, 但说法各异。在玉米(*Zea mays* L.)根形成期间, IAO 和 POD 活性下降^[1]。黑松(*Pinus thunbergii* Parl.) 苗的胚用吲哚乙酸(IAA)处理后, 随着生根进程 POD 和 IAO 活性升高^[2]。菜豆胚根的生长与 POD、IAO 活性都有密切的联系^[3]。用阿魏酸处理玉米苗时, 根的伸长速度减小, POD 和 IAO 活性上升, 而 PPO 活性减小^[4]。可见, 在根的起源与生长过程中, 氧化酶的活性发生一定的变化。POD 是与生根有关的重要酶类, 其同工酶谱变化可作为生根的生化指标之一^[5]。而 IAO 具有 POD 特性, 具有分解 IAA 的功能。人们发现用 IAA 处理既能促进 POD 活性, 又能促进 PPO 活性。显然生根与这两种酶有密切的关系。

桉树(*Eucalyptus* SPP.)是我国重要的用材树种, 但用桉树枝条进行扦插一般难以生根。国内外对桉树扦插生根的生理学和生物化学的研究不多。有关 POD、PPO 和 IAO 活性变化与桉树插条不定根发生的关系的研究在国内外还未进行过。针对这种情况, 本试验利用 IAA 处理不同桉树后, 在扦插过程中, 测定了插条内 POD、PPO 和 IAO 的活性及其同工酶的变化, 揭示了这些酶与桉树扦插生根的关系, 为桉树生产和更深一步研究其扦插生根机理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试材料及其处理

供试桉树树种为尾叶桉(*Eucalyptus urophylla* S. T. Blade)的 MLA 无性系(以下简称为

收稿日期: 2000-02-21; 修回日期: 2000-05-22

基金项目: 广东省重点项目(99M04201G)和雷州林业局资助项目的一部分

作者简介: 李明(1963-), 女, 黑龙江五常人, 现为甘肃中医学院讲师, 硕士

MLA)与U₆无性系(以下简称为U₆),刚果12号桉(*Eucalyptus* ABL. 12)W₅无性系(以下简称为W₅)。其中MLA是难生根无性系,而U₆和W₅是相对容易生根的无性系^[6]。扦插基质是用细河沙和红心土(1:1)混合,在烘箱中以100℃高温消毒30 min,取出待其冷却后,每100 g基质内拌以0.05 g百菌清。处理后晾24 h。母株为栽培于田间8~10个月的桉树组培苗。分别从这些母株上剪取插条。插条长8~10 cm,保留顶端1~2对小叶。将插条浸入0.1%的KMnO₄溶液中10 min作表面消毒。用0.1%的IAA浸其基部1 min,然后将处理好的插条的基部插入已消毒的育苗基质上,深度为4~6 cm。插后基质保持湿润,用薄膜覆盖保湿。空气湿度控制在85%以上,叶面有雾化水滴。控制温度,高于30℃时撤去薄膜。每周喷施百菌清(0.05%)一次防病。扦插后定期采集插条的茎样进行各项指标的测定。试验处理均重复3次。由于桉树插条在不用激素处理时不能成活,本试验所设的不用IAA处理的对照组插条在插后3~5 d即死亡,因此,本试验无法具有完整的空白对照。

1.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离POD和PPO同工酶

同工酶提取液是Tris-Gly缓冲液(0.1 mol·L⁻¹, pH 8.3),内含0.2 g·L⁻¹的二巯基苏糖醇和200 g·L⁻¹的蔗糖。POD同工酶的提取、电泳分离和染色方法见李明等^[7]所述。PPO同工酶的提取、电泳分离和染色用李明等^[6]所述的方法。染色后用日本产CS-930型凝胶薄层扫描仪扫描。

1.3 酶活性和蛋白质含量的测定方法

POD活性测定用李明等^[7]的方法。酶活力以“ $\Delta OD_{580} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ (蛋白质)”表示。PPO和IAAO活性测定用李明等^[6]所述的方法。PPO活性以“ $\Delta OD_{525} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ (蛋白质)”表示。IAAO活性以每毫克蛋白质在1 h内分解破坏1 μg IAA的酶量($\mu\text{g}(\text{IAA}) \cdot \text{mg}^{-1}$ (蛋白质)·h⁻¹)表示。可溶性蛋白质含量的测定采用Bradford^[8]的方法。

2 结果与分析

2.1 3种桉树插条中POD、PPO、IAAO活性比较

表1结果表明,难生根植物MLA插条内的POD、IAAO活性较易生根植物U₆、W₅的高,而MLA的PPO活性却比U₆、W₅的低。

表1 3种桉树插条茎的POD、PPO、IAAO活性

桉树无性系	POD 活性/ ($\Delta OD_{580} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)	PPO 活性/ ($\Delta OD_{525} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$)	IAAO 活性/ ($\mu\text{g}(\text{IAA}) \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)
MLA	7.808 a	3.862 b	4.952 a
U ₆	5.916 b	6.314 a	2.065 c
W ₅	4.819 c	6.562 a	2.794 b

注:测定时间为5月份,数字是3次重复的平均值。纵行数据的末尾的字母是邓肯氏新复极差检验结果,具有相同字母表示差异不显著,具有不同字母表示差异显著($P=0.05$)。

2.2 IAA处理MLA插条生根期间的POD、PPO、IAAO活性及可溶性蛋白质含量比较

当用IAA处理MLA的插条后,在扦插生根过程中,POD、PPO、IAAO活性随生根进程而不同。在不同时期中3种酶活性都呈现一定的规律性变化(表2)。在愈伤组织诱导期(插后0~20 d),3种酶活性都上升;在不定根形成期(插后20~25 d),除PPO活性继续上升外,POD、IAAO活性明显下降;在新根伸长阶段(插后25~35 d),POD、IAAO活性又上升,PPO活性却趋于下降,但下降不多。将表2数据进行相关性分析的结果(表5)可见,在扦插生根期间,各酶活性的变化与处理的时间呈正相关。显著性测验结果,3种酶的相关系数都极显著,说明在MLA生根期间,不定根的发生与发展与3种酶的活性有着密切的联系。在MLA中,由于POD、PPO和IAAO的决定系数分别是0.822 7、0.847 3和0.883 9,说明根的发生与发展

与 3 种酶紧密联系的可能性分别达到 82.27%、84.73% 和 88.39%。在生根过程中,可溶性蛋白质含量随着生根的进程而也呈上升趋势,与 POD、IAAO 活性变化规律相似(表 2)。

表 2 IAA 处理 MLA 插条生根期间的 POD、PPO、IAAO 活性变化

项 目	扦插后天数 / d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
POD 活性/ $(\Delta OD_{580} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	7.11	7.53	8.20	8.77	10.61	9.21	9.82	11.01
PPO 活性/ $(\Delta OD_{525} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	2.32	2.68	3.43	4.67	6.82	7.68	7.31	6.80
IAAO 活性/ $(\mu\text{g}(\text{IAA}) \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	3.41	3.92	4.88	7.44	8.62	7.98	8.60	9.34
蛋白质含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	5.21	5.36	5.90	6.56	7.20	8.01	8.53	8.62

注: 数字为 3 次重复的平均值,测定时间 3 月中旬~ 4 月下旬。

2.3 IAA 处理 U₆ 插条生根期间的 POD、PPO、IAAO 活性及可溶性蛋白质含量比较

用 IAA 处理 U₆ 的插条后,各种酶活性的变化见表 3。结果表明,扦插后 U₆ 的 POD、PPO、IAAO 活性随生根进程而变化。POD、IAAO 活性变化趋势与 MLA 相似,在根的愈伤组织诱导期,随生根天数增加而上升;在不定根形成期,酶活性下降;至根伸长期,酶活性又呈上升趋势。PPO 活性则随生根的进程呈现上升趋势。与表 2 结果比较,U₆ 的 PPO 活性在生根各阶段都比 MLA 的高。相关性分析结果(表 5)表明,U₆ 的生根过程与各氧化酶的活性呈正相关,说明 POD、PPO、IAAO 参与了不定根的发生与发展。表 5 还示出了 POD、PPO 和 IAAO 的决定系数分别是 0.886 4、0.933 2 和 0.658 3,这也就说明了 POD、PPO 和 IAAO 参与不定根的发生和发展的可能性分别为 88.64%、93.32% 和 65.83%。

表 3 IAA 处理 U₆ 插条生根期间的 POD、PPO、IAAO 活性变化

项 目	扦插后天数 / d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
POD 活性/ $(\Delta OD_{580} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	4.56	4.81	5.92	8.32	7.60	8.17	8.63	9.57
PPO 活性/ $(\Delta OD_{525} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	4.33	4.77	5.34	7.20	9.21	9.37	9.89	10.22
IAAO 活性/ $(\mu\text{g}(\text{IAA}) \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	2.87	3.45	4.28	6.80	5.79	5.68	5.87	6.35
蛋白质含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	8.19	8.35	8.96	10.26	12.02	12.36	12.51	12.96

注: 数字为 3 次重复的平均值,测定时间 3 月中旬~ 4 月下旬。

2.4 IAA 处理 W₅ 插条生根期间的 POD、PPO、IAAO 活性及可溶性蛋白质含量比较

用 IAA 处理 W₅ 插条的酶活性变化见表 4。结果表明,W₅ 的 POD、PPO、IAAO 活性变化趋势与 U₆ 的基本一致。说明易生根植物在 IAA 处理后生根期间的 POD、PPO、IAAO 变化趋势一致。将各个酶活性变化进行相关性分析,结果见表 5。各酶活性的变化与生根进程呈正相关,说明 W₅ 插条的不定根的发生和发展与 POD、PPO、IAAO 有着非常密切的关系。从表 6 可见,POD、PPO 和 IAAO 的决定系数分别是 0.846 9、0.976 9、0.929 1,说明在 W₅ 中,POD、PPO、IAAO 参与不定根的发生分别有 84.69%、97.69% 和 92.91% 的可能性。

表 4 IAA 处理 W₅ 生根期间的 POD、PPO、IAAO 活性

项 目	扦插后天数 / d							
	0	5	10	15	20	25	30	35
POD 活性/ $(\Delta OD_{580} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	4.36	4.84	5.70	7.29	6.11	6.70	7.50	8.69
PPO 活性/ $(\Delta OD_{525} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1})$	4.50	4.97	5.88	7.49	8.97	9.46	10.20	10.93
IAAO 活性/ $(\mu\text{g}(\text{IAA}) \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1})$	2.00	2.45	3.28	5.10	4.86	4.99	5.86	6.77
蛋白质含量/ $(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1})$	8.33	8.49	9.21	10.67	11.88	12.00	12.34	13.68

注: 数字为 3 次重复的平均值,测定时间 3 月中旬~ 4 月下旬。

表5 IAA处理后各树种各氧化酶活性变化相关性及其显著性测验

树种	酶类	相关系数	决定系数	标准误	<i>t</i>	<i>P</i> _{0.05}	<i>P</i> _{0.01}
MLA	POD	0.907 0	0.822 7	0.171 9	5.276**	2.365	3.499
	PPO	0.920 5	0.847 3	0.159 5	5.771**	2.365	3.499
	IAAO	0.940 2	0.883 9	0.139 1	6.759**	2.365	3.499
U ₆	POD	0.941 5	0.886 4	0.137 6	6.843**	2.365	3.499
	PPO	0.966 0	0.933 2	0.105 5	9.156**	2.365	3.499
	IAAO	0.811 4	0.658 3	0.177 2	4.579**	2.365	3.499
W ₅	POD	0.920 3	0.846 9	0.159 7	5.763**	2.365	3.499
	PPO	0.988 4	0.976 9	0.062 0	15.942**	2.365	3.499
	IAAO	0.963 9	0.929 1	0.108 7	8.868**	2.365	3.499

2.5.3 3种桉树扦插生根期间POD、PPO、IAAO的活性变化比较

为了便于比较难生根的MLA与容易生根的U₆与W₅插条在扦插生根期间的POD、PPO、IAAO的活性变化规律,将表2~4所列的数据按照不同树种之间整理成以下各项,以便更容易说明其中的关系。

2.5.1 IAA处理3种桉树生根期间POD的活性变化比较 将表2~4中的POD活性变化数据进行方差分析,结果列于表6。分析结果表明,在供试验的3个无性系中,扦插生根期间POD活性变化较大。在试验期间,处理后各天数间酶活性变化差异极显著。在难生根的MLA与容易生根的U₆和W₅之间,POD活性高低有极显著的差异,MLA的POD活性明显比U₆和W₅的高。这从一个侧面揭示了难生根树种与容易生根树种间的重要区别。

表6 用IAA处理后各树种在生根期间体内POD活性变化的方差分析比较

变异来源	<i>FD</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>F</i> _{0.05}	<i>F</i> _{0.01}
不同天数间	7	48.097	6.871	21.339**	2.77	4.28
不同树种间	2	29.178	14.589	45.307**	3.74	6.51
误差	14	4.512	0.322			
总变异	23	81.787				

2.5.2 IAA处理后各桉树插条生根期间PPO活性变化方差分析比较 将表2~4中各树种的PPO活性数据进行方差分析,结果见表7。由结果可见,各树种在发根的不同时期PPO活性差异极显著。在难生根的MLA和容易生根的U₆和W₅中PPO活性差异极显著,U₆和W₅的PPO活性非常显著地高于MLA。这从另一侧面揭示了难生根树种与容易生根树种的重要区别。

表7 用IAA处理后各树种体内PPO活性变化的方差分析比较

变异来源	<i>FD</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>F</i> _{0.05}	<i>F</i> _{0.01}
不同天数间	7	115.896	16.557	111.12**	2.77	4.28
不同树种间	2	32.461	16.231	108.93**	3.74	6.51
误差	14	2.086	0.149			
总变异	23	150.443				

2.5.3 IAA处理后桉树插条生根期间IAAO活性变化的方差分析比较 将表2~4中各树种插条在发根期间的IAAO活性数据进行方差分析,结果列于表8。由数据可见,各种桉树插条在不同的生根时期IAAO活性有极显著的差异。在发根的各个时期,不同树种插条的IAAO活性高低又有极显著的差异,MLA的IAAO活性要比U₆和W₅的高得多。这又从第三个侧面揭示了难生根树种与容易生根树种不定根发生和发展的重要区别。

表 8 用 IAA 处理后各种桉树体内 IAAO 活性变化的方差分析比较

变异来源	FD	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
不同天数间	7	66.326	9.475	22.94**	2.77	4.28
不同桉树间	2	23.395	11.698	28.32**	3.74	6.51
误差	14	5.776	0.413			
总变异	23	95.497				

2.6 IAA 处理桉树插条在扦插期间 POD 同工酶图谱变化分析

2.6.1 MLA 的 POD 同工酶图谱变化分析 当用 IAA 处理 MLA 的插条后, 在其扦插生根期间, 体内的 POD 同工酶发生了变化。由图 1 同工酶图谱可知, 在处理当天, 插条茎内有 5 条 POD 同工酶谱带, 其中有 2 条弱带。到扦插后第 5 d 时, 原来的 2 条弱带加强。到扦插后第 20 d 时, 在 M 区新增一条弱的谱带, 至 30 d 这谱带仍然存在。

2.6.2 U₆ 的 POD 同工酶变化图谱分析 由图 2 结果可见, 在用 IAA 处理插条后当天, U₆ 插条茎内表现出 4 条 POD 酶带。在扦插后第 20 d 时, 在 M 区新增两条谱带, 至第 30 d 时, 这两条带仍存在。

图 1 IAA 处理 MLA 插条后生根期间的 POD 同工酶变化图谱

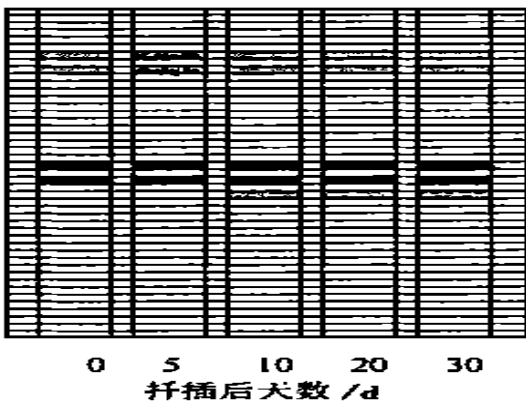


图 3 IAA 处理 W₅ 插条后生根期间的 POD 同工酶图谱

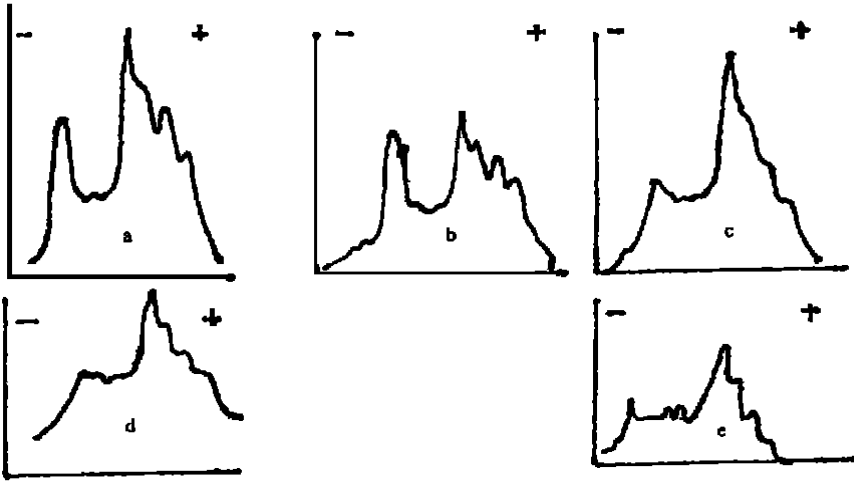
图 2 IAA 处理 U₆ 插条后生根期间的 POD 同工酶图谱

2.6.3 W₅ 的 POD 同工酶谱变化分析 从图 3 试验结果可以看出, W₅ 插条经 IAA 处理后当天, 插条茎内有 4 条 POD 酶谱带。到第 10 d 时, 在 M 区出现一条新谱带, 一直保持至第 30 d 幼根伸长期。

2.7 IAA 处理 3 种桉树在扦插生根期间 PPO 同工酶的变化

2.7.1 MLA 插条 PPO 同工酶的变化 当用 IAA 处理 MLA 插条后, 在生根期间, 体内的 PPO 同工酶有改变(图 4)。在处理第 1 d 时, 扫描图上有 5 个酶峰。到第 5 d 时便可看到 6 个酶峰。进入第 30 d 的幼根

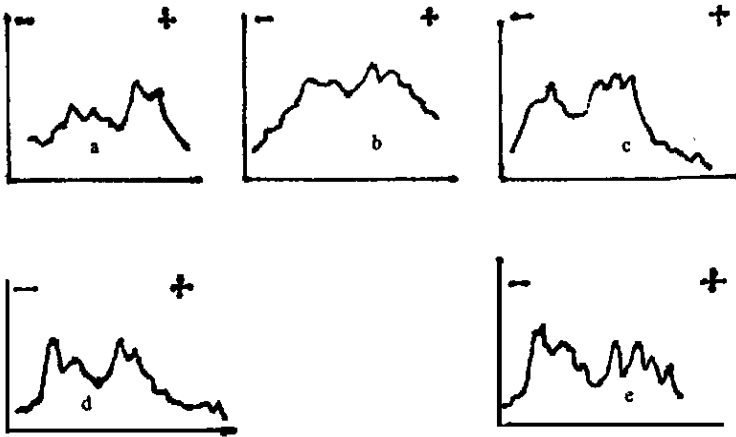
伸长期还可见到7个酶峰(见图4e)。



各小图的纵坐标: 580nm 相对光吸收 横坐标: 相对迁移距离
 a 扦插第1 d; b 扦插后第5 d; c 扦插后第10 d; d 扦插后第20 d; e 扦插后第30 d

图4 IAA 处理MLA 插条后生根期间PPO 同工酶变化

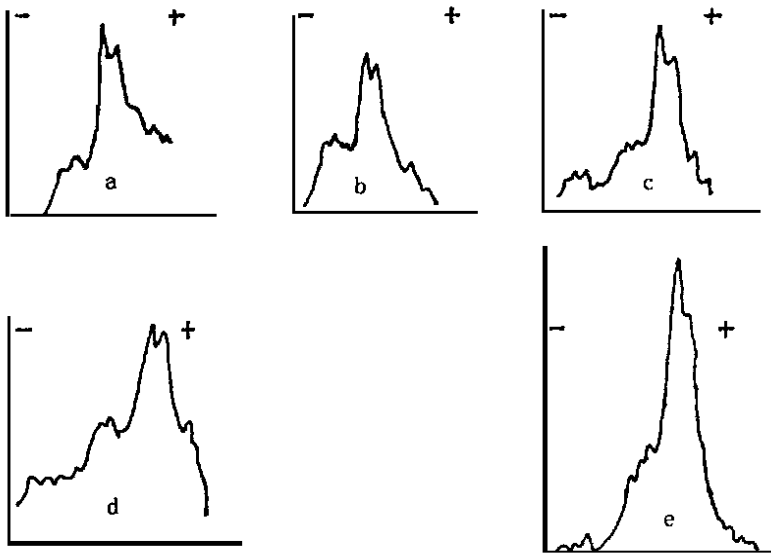
2.7.2 U₆ 插条 PPO 同工酶的变化 IAA 处理的U₆ 插条在生根期间, 体内的PPO 同工酶也有所改变(图5)。扦插第1 d 有6个峰, 第5 d 时可见8个酶峰, 第20 d 时酶峰数减至6个。至30 d 时, 又增为8个。



各小图的纵坐标: 580 nm 相对光吸收 横坐标: 相对迁移距离
 a 扦插第1 d; b 扦插后第5 d; c 扦插后第10 d; d 扦插后第20 d; e 扦插后第30 d

图5 IAA 处理U₆ 插条后生根期间PPO 同工酶变化

2.7.3 W₅ 插条 PPO 同工酶的变化 IAA 处理的W₅ 插条在生根期间体内的PPO 同工酶也有变化(图6)。扦插第1天有7个酶峰, 第10 d 峰数为9个, 一直保持至30 d, 但10、20、30 d 的酶峰均不同(见图6 c、d、e)。



各小图的纵坐标: 580 nm 相对光吸收 横坐标: 相对迁移距离
a 扦插第 1 d; b 扦插后第 5 d; c 扦插后第 10 d; d 扦插后第 20 d; e 扦插后第 30 d

图 6 IAA 处理 W_5 插条后生根期间 PPO 同工酶变化

3 讨 论

POD、PPO、IAAO 的分布和活性高低随器官组织的不同而异^[9]。这 3 种酶在植物体内参与多种生理反应。POD 参与木质素形成, 是木质素合成的主导酶。在榛子 (*Corylus heterophylla* Fisch.) 子叶的组织培养中, 木质素的形成与 POD 和 PPO 活性增加相联系^[10]。POD、IAAO、PPO 3 种酶之间具有密切的关系。研究^[11]表明, POD 的多种同工酶中具有不同的性质, 或具有 IAAO 活性, 或具有 PPO 的活性, 而植物体内 IAAO 也具有 POD 的性质^[12]。可见这 3 种酶具有许多共同的特征。

本实验的研究结果表明, 难生根的 MLA 的 POD、IAAO 的活性比易生根的 U_6 、 W_5 的高。已知 IAA 的一个非常重要的生理功能就是促进不定根的形成。体内的 IAAO 可以氧化 IAA; 而 POD 也能氧化 IAA^[13]。难生根植物的 POD、IAAO 活性高, 降解 IAA 的作用强, IAA 被破坏较多, 向下输送的 IAA 含量很少, 对诱导生根不利。反之, 易生根植物 POD 活性低, 其降解 IAA 能力较低, 而输送到茎基部的 IAA 就较多, 对诱导根原基的形成有利。因此从某方面来说, POD 活性高低可作为判定植物生根难易的指标之一。当然, 不能简单地只根据植物的 POD 活性高低就判定植物生根的难易, 因为生根还受体内激素之间的相对比例^[14]、生根抑制剂的存在与否^[15]等因素的综合影响。IAA 的存在对不定根的起源和生长是无可否定的。因此, 任何影响 IAA 含量变化的因素存在势必影响不定根的发生与发展。因而 POD、IAAO 等酶活性高低直接影响不定根的形成是顺理成章的。

本实验结果又表明, 难生根的植物的 PPO 活性比易生根植物的低。据报道, PPO 的存在对不定根的形成是十分重要的^[16]。在体内, 酚类物质对不定根的起源和发育起着极其重要的作用^[17]。PPO 的一个重要作用是催化酚类物质与 IAA 缩合而形成一种“IAA-酚酸复合

物^[18,19],这种复合物是一种生根的辅助因子,具有促进不定根形成的活性^[20]。有证据表明,高浓度的酚类物质在枝条内积累,在多酚氧化酶的作用下形成促根的物质^[17],促进愈伤组织的分化^[21]。有人认为,难生根与易生根的枝条之间有一个重要的差别就是其体内酚类物质的含量不同,难生根的枝条含有较少的酚类物质,容易生根的枝条则含有较多的酚类物质。在不定根形成时,体内的酚类物质含量就会下降,据认为这是由于酚类物质在PPO的作用下转变的结果。酚类物质被PPO作用后的产物就能促进不定根的形成^[22]。在易生根的*Rhododendron ponticum*体内的PPO活性就较高,而在难生根的“*R. Jan Dekens*”中PPO活性就要低得多^[23]。本实验的结果表明,难生根的MLA的PPO活性较低,因而可能催化形成的IAA-酚酸复合物较少,导致对生根不利。而U₆和W₅体内的PPO活性较高,可以推测其合成的这种复合物较多,因而就较大幅度地提高扦插生根率。可见本试验结果支持了上述观点。说明PPO在生根中确有可能主要起着催化这种复合物形成的作用。不少试验结果证明,PPO活性的高低确实与不定根的发生有关。Bhattacharya^[24]就曾证明PPO催化生长素代谢,促进不定根的起源与发育。有人^[25]曾经发现,在*Hydrangen macrophylla*的茎组织产生不定根时,体内的PPO活性剧烈地上升。用胡萝卜的愈伤组织进行培养^[26]时,伴随着根点的出现,PPO活性也急剧上升。用多效唑处理菜豆的插条^[27]时,发现在其生根量增加的同时,体内的PPO活性也大幅度上升。在本试验中,利用前人尚未研究的桉树插条作为研究材料,不仅成功地进一步证实前人的理论,而且为揭示桉树的扦插生根机理提供了新的论据。

IAA能促进体内POD、PPO、IAAO等酶的活性变化,从而促进细胞的脱分化,产生愈伤组织。形成新器官还需一定的营养物质和特定蛋白质的合成过程。有报道指出,IAA对杨树嫩枝插条生根的主要作用是促进生根所需物质的运转。插条氮素代谢的研究指出,用IAA处理的插条使其基部的全氮、蛋白质和氨基酸的含量增加,直到生根后才降下来。本实验用IAA处理插条在扦插生根过程中,3种桉树插条内的可溶性蛋白质是呈上升趋势的。这也是生根所必需的。Grover等^[28]发现,IAA可以促进体内RNA的合成。因此,施用IAA后,可认为是促进了基因的表达,使蛋白质含量升高,从而使有关酶类水平提高。

本实验结果表明,在用IAA处理诱导桉树扦插生根过程中,POD、PPO同工酶谱都有变化。往往出现同工酶谱增多现象,且这种变化往往发生在生根10d以后,即诱导期将结束,新根即将出现这一期间。同工酶是生物机体的天然标记,可以反映出生长发育过程中基因表达的情况。植物生根过程中同工酶的变化,也反映了在器官形成时基因表达的顺序性变化。因此,同工酶可以作为器官形成的生化标志。

参考文献:

- [1] Liu ZH, GerM, Liu ZH, et al. Changes of enzyme activity during pollen gem ination in maize and possible evidence of lignin synthesis [J]. Austr J Plant Physiol, 1997, 24(3): 329~ 335
- [2] Kieliszew ska-Rokicha B. Effect of treating scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings with phytohormone on the growth of the root system and on the peroxidase and IAA oxidase enzyme activities in roots [J]. Arboretum-Kornckie, 1989, 32: 207~ 219
- [3] Bagatharia S B, Chanda S V. Changes in peroxidase and IAA oxidase activities during cell elongation in *Phaseolus hypocytyls* [J]. Acta Physiol Plant, 1998, 20(1): 9~ 13
- [4] Devi S R, Prasad M N V. Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize seedlings implication in growth [J]. Biol Plant, 1996, 38(3): 387~ 395

- [5] 董建华, 杨华庚, 王秉忠. 橡胶种子不同萌发期几种酶及可溶性蛋白质的变化 [J]. 热带作物学报, 1998, 19(3): 1~ 6
- [6] 李明, 黄卓烈, 谭绍满, 等. 难易生根桉树多酚氧化酶、吲哚乙酸氧化酶活性及其同工酶的比较研究 [J]. 林业科学研究, 2000, 13(5): 493~ 500
- [7] 李明, 黄卓烈, 谭绍满, 等. 难易生根桉树的过氧化物酶活性及其同工酶多型性比较研究 [J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(3): 56~ 59
- [8] Bradford M M. A Rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1977, 72(2): 248~ 254
- [9] 黄卓烈, 潘涛. 几个甘蔗品种的过氧化物酶活性及其同工酶多样性的比较研究 [J]. 华南农业大学学报, 1998, 19(4): 72~ 76
- [10] Gonzalez A, Tames S R, Rodriguez R. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons [J]. Physiol Plant, 1991, 83: 611~ 620
- [11] Shinshi H, Noguchi M. Relationship between peroxidase, IAA oxidase and polyphenol oxidase [J]. Phytochemistry, 1975, 14: 1255~ 1258
- [12] Galston A W, Bonner J, Baker R S. Flavoprotein and peroxidase as components of the indole acetic oxidase system of pea [J]. Archives Biochem Biophys, 1953, 49: 456~ 470
- [13] Gebhardt K. Activation of indole-3-acetic acid oxidase from horseradish and prunus by phenols and hydrogen peroxide [J]. Plant Growth Regul, 1982, 1(2): 73~ 84
- [14] 郑均宝, 刘玉军, 裴保华, 等. 几种木本植物插穗生根与内源 IAA、ABA 的关系 [J]. 植物生理学报, 1991, 17(3): 313~ 316
- [15] 黄卓烈, 林韶湘, 谭绍满, 等. 桉树体内的生根抑制物质研究综述 [J]. 林业科学研究, 1994, 7(3): 319~ 323
- [16] Frenkel C, Hess C E. Isozymic changes in relation to root initiation in mung bean [J]. Can J Bot, 1973, 52: 295~ 297
- [17] Balakrishnamurthy G, Madhava Rao V N. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rosa bourboniana* Desp) [J]. Curr Sci, 1988, 57(17): 960~ 962
- [18] Haissig B E. Influence of auxins and synergists on adventitious root primordium in initiation and development [J]. New Zealand J For Sci, 1974, 4: 311~ 323
- [19] Bouillenne R, Bouillenne-Walrand M. Auxines et bouturages [C]. Proc 14 Int Hort Cong, 1955, 1: 231~ 238
- [20] Bassuk N L, Hunter L D, Howard B H. The apparent of polyphenol oxidase and phloridzin in the production of apple rooting cofactors [J]. J Hort Sci, 1981, 56(4): 313~ 322
- [21] Nanda K K, Bhattacharya N C, Kochhar V K. Biochemical basis of adventitious root formation on etiolated stem segments [J]. New Zealand J For Sci, 1974, 4: 347
- [22] Poapst P A, Durkee A B. Root differentiating properties of some simple aromatic substances of the apple and pear fruit [J]. J Hort Sci, 1967, 42: 429~ 438
- [23] Foong T W, Barnes M F. The levels of reserve metabolites and oxidative enzymes in the cuttings of easy-to-root and difficult-to-root rhododendrons [J]. Biochem Physiol Pflanzen, 1981, 176: 206~ 216
- [24] Bhattacharya N C. Enzyme activities during adventitious rooting [M]. In: Davis T D, Haissig B E, Sankhla N (eds). Adventitious Root Formation on Cutting Dioscorides: Portland, 1989, 88~ 101
- [25] Molnar J M, La Croix L J. Studies of the rooting of cuttings of *Hydrangea macrophylla*: enzyme changes [J]. Can J Bot, 1972, 50: 315~ 322
- [26] Habaguchi K. Alterations in polyphenol oxidase activity during organ redifferentiation from carrot calluses cultured *in vitro* [J]. Plant Cell Physiol, 1977, 18: 181~ 189
- [27] Upadhyaya A, Davis T D, Sankhla N. Some biochemical changes associated with paclobutrazol-induced adventitious root formation on bean hypocotyl cuttings [J]. Ann Bot, 1986, 57: 309~ 315
- [28] Grover A. Stimulation of RNA synthesis by auxin and cAMP in Bengal gram (*Cicer arietinum*) seedlings and probable role of cAMP as secondary messenger in mediating hormone action [J]. Indian J Exp Biol, 1987, 25(5): 333~ 336

Study on the Relationship between the Changes of Activities and Isoenzymes of Oxidases and the Rooting of *Eucalyptus* Cuttings Treated with Indoleacetic Acid

L I M i n g¹, H U A N G Z h u o - l i e¹, T A N S h a o - m a n², L I N S h a o - x i a n g¹,
L O N G T e n g³, L I N H a i - q i u³

1. College of Biotechnology, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China;
2. College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China
3. Leizhou Forestry Institute of National Forestry Bureau, Zhanjiang 524348, Guangdong, China)

Abstract: *Eucalyptus urophylla* MLA clone (MLA) was difficult-to-root species. *E. urophylla* U₆ clone (U₆) and *E. ABL 12 W₅* clone (W₅) were relatively easy-to-root species. The activities of peroxidase (POD) and indoleacetic acid oxidase (IAAO) in MLA were higher than that in U₆ and W₅. But the activity of polyphenol oxidase (PPO) in MLA was lower than that in U₆ and W₅. After the cuttings of *Eucalyptus* were treated with indoleacetic acid (IAA), the activities of POD, PPO and IAAO and the content of protein increased regularly in different stages of rooting. The isoenzymes of POD and PPO increased after treatment with IAA. The relationship between the oxidases and rooting of *Eucalyptus* cuttings was discussed.

Key words: peroxidase; polyphenol oxidase; indoleacetic acid oxidase; *Eucalyptus*; rooting of cuttings