

# 杂交榛不同枝段绿枝扦插生根特性及 相关氧化酶活性变化

勒栋梁<sup>1,2</sup>, 董凤祥<sup>2</sup>, 李宝<sup>1\*</sup>, 王贵禧<sup>2\*</sup>

(1. 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

2 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

**摘要:** 采用简单重复扦插试验, 设置发育枝上、中、下段和萌蘖上段浸蘸  $1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA, 清水处理为对照, 3次重复, 研究了杂交榛绿枝不同枝段生根特性和生根指标差异及扦插后不同时期、不同枝段皮部的过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和吲哚乙酸氧化酶(IAAO)的活性变化。结果表明: 杂交榛子绿枝扦插以表皮生根为主, 不同枝段部位在生根时期和生根指标上存在差异; 幼嫩的上段插穗从扦插至生根只需 13 d 而中段和下段分别需要 19、22 d 发育枝上、中、下段和萌蘖上段经  $1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA 处理的生根率、根数、根长显著高于对照, 发育枝上段生根最好, 萌蘖上段、发育枝中段和下段生根能力依次降低。扦插后 POD 活性呈上升趋势, 至第 1 根出现期达到最大(峰值), 处理和对照间、不同枝段间在峰值处存在差异, 发育枝上、中、下段 POD 活性在峰值处的大小与其扦插生根率呈极显著正相关; PPO 活性在扦插生根过程中呈现一定的双峰特性, 扦插时至愈伤形成期 PPO 活性有一个增高期, 诱导期至第 1 根形成期 PPO 活性第 2 次快速提高, 至第 1 根形成期 PPO 活性达到最大值, 之后有所下降; IAAO 在愈伤形成期和第 1 根形成期之间的表皮瘤状突起形成期(诱导期)达到最大。

**关键词:** 杂交榛子; 绿枝扦插; 生根特性; IAAO; PPO; POD

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

## The Characteristics of Rooting and Change of Oxidases in Different Portions of Softwood Cuttings of Hybrid Hazelnut

LE Dong-liang<sup>1,2</sup>, DONG Feng-xiang<sup>2</sup>, LI Bao<sup>1\*</sup>, WANG Gui-xi<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

2 Research Institute of Forestry CAF, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

**Abstract** The rooting parameters of shoot parts of hybrid hazelnut (*Corylus heterophylla* × *C. avellana* 'Dawei') were investigated and the activities of IAA oxidase (IAAO), polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) in phloem at various rooting phase in different shoot parts were measured in a simple random replication experiment. The growing shoot were cut into three sections: top part, middle part and bottom part, then treated with IBA at a concentration of  $1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  with a water dipping as control. The root formation position was primarily at the phloem. Rooting timing of different shoot parts was different: younger terminal portions needed 13 d to form adventitious root, middle portions and basal portions needed 19 d and 22 d, respectively. The current season's growth treated with IBA at a concentration of  $1\ 500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  rooted well, the rooting percentage, root numbers and

收稿日期: 2009-01-16

基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划“高产优质大枣、榛子新品种选育”(2006BAD01A1701), 国家林业局 948 项目“榛子特异性状育种材料及微繁技术引进”(2008-04-08)

作者简介: 勒栋梁(1982-), 男, 江西九江人, 从事果树生理研究方向。

\* 通讯作者

the length of root were significantly greater than that of the control ones. The terminal portions from the growing shoot rooted best, while the rooting ability of suckers terminal portions, middle portions and basal portions from the growing shoot were in the order of greatness to smallness. After treatment arrangement, the activity of POD showed an increasing pattern, with a peak at the formation of the first regeneration root. Between the treatments and the controls, different shoot parts expressed the related peaks, and magnitude of peaks was significantly positive correlated with the rooting percentage. During the cutting duration, the activity of PPO showed a double peak pattern, with the first increase at the time from starting to callus formation, and the second one from the induction phase to the first regeneration root forming, and the highest peak at root formation. Afterwards, the peak became lower. During rooting process, there were differences between the different shoot parts, and between the treatments and the controls, the activity of PPO had a difference. The activity of IAAO reached to peak at the induction phase between the callus formation time and the first regeneration root formation.

**Key words** *Corylus heterophylla* × *Corylus avellana*; softwood cuttings; rooting; IAA oxidase; Polyphenoloxidase; Peroxidase

榛子是重要的木本油料树种, 是世界六大干坚果之一(腰果、杏仁、核桃、栗子、榛子、阿月浑子)<sup>[1]</sup>, 世界主要栽培品种来自欧洲榛(*Corylus avellana* L.)。目前, 我国推广的榛为平榛(*C. heterophylla* Fisch.)优良单株与欧洲榛混合花粉的杂交品种(品系)<sup>[2-3]</sup>, 称为平欧杂种榛(*C. heterophylla* × *C. avellana*), 生产上也叫杂交榛子或大果榛子, 具有坚果大、抗寒性强的特点, 在我国东北地区已大量发展, 并在华北、西北地区广泛试种。当前, 国内外生产上使用的杂交榛子苗主要是压条繁殖, 少量使用分株繁殖; 此法简便易行, 但存在繁殖系数低、繁殖速度慢、苗木不整齐的缺点, 不能很好的解决市场对杂交榛子苗的需求, 且欧洲榛的硬枝扦插结果也表明其生根效果并不理想<sup>[4]</sup>。绿枝扦插繁殖快、占地少、效率高、成本低、简便易行, 被广泛应用于观赏植物及一些果树的繁殖, 如黄杨<sup>[5]</sup>、小檗<sup>[6]</sup>、澳洲坚果<sup>[7]</sup>、葡萄<sup>[8]</sup>等。

1973年, Paglietta<sup>[9]</sup>将欧洲榛母体枝条经黄化处理置于碳酸水中观察到生根; 后来有关学者在生长调节剂种类、处理方法、枝条采集时间、采集前处理和环境条件控制等因素对榛子绿枝扦插的影响上进行了研究<sup>[10-15]</sup>, 但绿枝扦插技术尚未应用于榛子繁殖。有研究表明, 过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)和吲哚乙酸氧化酶(IAAO)与植物离体生根有密切关系; 植物内过氧化物酶以多种异构体形式存在, 并且参与了某些植物生理过程, 包括生长素分解和细胞壁合成<sup>[16]</sup>, 过氧化物酶被认为是离体生根的标志<sup>[17]</sup>。PPO的一个重要作用是在植物衰老和受伤时起作用<sup>[18-19]</sup>, 且PPO被认为是“生根素”的一部分<sup>[20]</sup>, PPO影响细胞分裂、分化及根原基的

形成和生长<sup>[21-23]</sup>, 与扦插不定根的发生和发展有密切关系。有研究认为, IAAO对小豆不定根形成是必需的<sup>[24]</sup>, IAAO还与杨树插穗生根过程有关, 并且有可能通过IAA的分解来影响根的形成<sup>[25]</sup>。

扈红军等<sup>[23]</sup>对榛子绿枝扦插生根相关特性进行了研究, 但对杂交榛不同枝段绿枝扦插生根差异以及针对杂交榛子不同枝段绿枝扦插后相关氧化酶活性变化的研究尚未见报道。本研究以杂交榛子嫩枝为材料, 在前期进行的不同枝段、不同生长素浓度处理和不同品种(品系)对杂交榛绿枝扦插生根影响的基础上, 在迷雾条件下进行扦插, 研究不同枝段部位生根特性和生根指标差异及扦插后不同枝段皮部的氧化酶(IAAO、PPO、POD)活性变化, 为榛子扦插机理和繁殖技术提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选用3年生杂交榛子品种‘达维’(*C. heterophylla* × *C. avellana*, ‘Dawei’), 该品种由辽宁省经济林研究所选育, 原代号84-254。2007年7月下旬在北京市昌平区大东流苗圃进行扦插。

### 1.2 扦插棚的建立

扦插棚为钢架结构, 顶部拱形, 长约14 m, 宽约2.5 m, 高约1.5 m, 使用PVC膜覆盖, 棚上搭建遮阳网。插床底部铺卵石, 上层均匀覆盖一层厚约10 cm的细河沙; 插床中间用砖铺一条宽约40 cm的过道, 过道上平衡放置3台离心式加湿器(SLX3.5型, 北京翰宁绿环空气技术有限公司提供), 该加湿器自带温湿度感应器, 可感应棚内空气的温湿度, 在设定的感应温度和湿度范围内自动启动。

### 1.3 试验设置

设置 4 种枝段部位, 1 种激素处理, 清水处理为对照。4 种枝段部位分别为: 发育枝上段 (Terminal T)、中段 (Middle M)、下段 (Basal B) 和萌蘖上段 (Sucker Terminal ST); 激素为吲哚-3-丁酸 (IBA), 其浓度为:  $1\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  (该浓度在先期试验的基础上确定)。每种枝段部位安排 1 个处理和 1 个对照, 共 8 个处理, 每处理 3 次重复, 每次重复 50 个插穗。

### 1.4 扦插

1.4.1 插穗准备 扦插当天, 上午 10 时前从榛子园采集无病虫害、长约 50 cm、剪口处直径 0.5~0.6 cm、整齐一致的杂交榛品种‘达维’发育枝和基部萌蘖嫩绿枝条。每条发育枝平均剪成 3 个插段: 上段、中段、下段, 每段长约 15 cm; 上段剪去靠下方 2 个叶片, 中段和下段留上部 2 个半叶, 萌蘖上段按上述方法剪取梢段。

1.4.2 扦插及扦插后管理 在控温、控湿棚内, 按简单随机重复实验, 在沙床上扦插。插穗基部 5 cm 浸蘸激素 5 s 后扦插, 株行距  $5.5\ \text{cm} \times 5.5\ \text{cm}$ , 扦插深度 4~5 cm。扦插后晴朗的正午棚内下层温度控制在  $35\ ^\circ\text{C}$  以下, 棚内空气相对湿度维持在 90% 以上, 间隔 1 周使用甲基托布津粉剂 800 倍液进行棚内消毒, 采用人工方法除灭肉眼可见的食叶类害虫。

### 1.5 生根相关氧化酶活性测定

将插穗生根过程划分为 5 个时期: (1) 扦插起始期, 即扦插当天; (2) 愈伤形成期, 肉眼可见愈伤组织形成的初始时间, 上、中、下段分别在扦插后第 5、7、9 天; (3) 皮部瘤状突起形成期 (诱导期), 肉眼可见皮部形成瘤状突起的时间, 上、中、下段分别在扦插后第 9、13、16 天; (4) 第 1 根形成期, 根刚出现的时间, 上、中、下段分别在扦插后第 13、19、22 天; (5) 根生长期, 指激素处理的各不同枝段插穗生根率增长后达到稳定的时期, 上、中、下段分别在扦插后第 17、25、28 天。在上述 5 个时期分别取样, 每次每处理取 5 条插穗, 3 次重复。将所取插穗皮部取下, 置研钵中加液氮快速研成粉末装袋, 超低温冰箱 ( $-80\ ^\circ\text{C}$ ) 保存, 用于测定酶活性变化。

PPO 活性测定参照 Galeazzi 等<sup>[26]</sup>的方法, 并加以改进: 将 0.1 mL 粗酶提取液加入 3 mL  $0.1\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的邻苯二酚溶液 (用  $0.2\ \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{pH} = 6.4$  的磷酸缓冲液配成) 中; 反应温度为  $25\ ^\circ\text{C}$ , 加酶液后 5 s 开始扫描 20 s 内 398 nm 处的吸光值变化。IAAO 和 POD 测定参考张志良等<sup>[27]</sup>的方法, POD 以每克鲜质量每分

钟改变 1 个 OD 值为 1 个酶活性单位 ( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ ); PPO 以每克鲜质量每分钟光密度变化 0.01 为一个酶活性单位 ( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ ); IAAO 以每克鲜质量在 1 h 内分解破坏 IAA 的 mg 数表示一个酶活性单位 ( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ )。

### 1.6 生根情况调查

扦插后 60 d 对取样剩余的插穗 (30 个) 进行生根情况调查, 包括: 生根率、生根数量、生根长度和生根类型等。调查以不伤根为原则, 用手将插穗从沙床中刨出, 带回实验室计算生根率、生根数量, 使用普通直尺测量生根长度。生根类型调查时, 随机选取各枝段生根后插穗各 10 个, 共 40 个, 调查根发生部位并拍照。

不定根形成期调查: 伴随取样对插穗外部形态变化, 如愈伤的形成, 根的发生等情况进行观察并拍照。

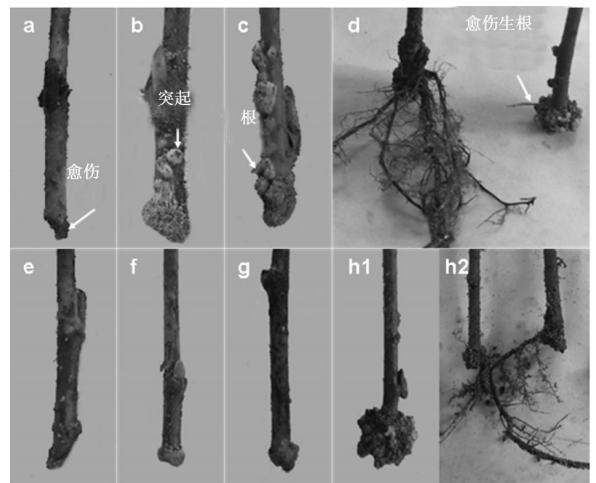
### 1.7 数据处理

使用 SPSS13.0 对数据进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同枝段插穗的生根时间

发育枝上段和基部萌条上段: 处理和对照的插穗均在扦插后第 5 天出现愈伤组织 (剪口形成层); 经  $1\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 处理的插穗, 第 9 天蘸药部位表皮有瘤状突起, 第 13 天有根从突起处形成, 而对照未发现有上述变化。在扦插后 60 d 进行生根情况调查时发现, 对照每重复的 30 个插穗中只有 2~5 个插穗有根形成, 不生根插穗中有少数基部发黑腐烂, 其余部分除剪口处愈伤膨大外无其它变化。



a e 扦插后 7 天; b f 扦插后 13 天; c g 扦插后 19 天; d h1 h2 扦插后 60 天; d 示愈伤生根 (右) 和表皮生根 (左)

图 1 中段插穗 IBA  $1\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理 (a, b, c, d) 和对照 (e, f, g, h1, h2) 扦插生根动态

发育枝中段: 在扦插后第 7 天, 处理和对照的插穗剪口形成层有愈伤形成 (图 1a e); 第 13 天, 处理的插穗蘸激素部位表皮有瘤状突起形成 (图 1b), 第 19 天有根从突起处生成 (图 1c), 突起部位膨大扩散, 黄白色; 而对照则未发现有上述变化 (图 1f g), 至生根情况调查时, 对照每重复的 30 个插穗中分别只有 2、3、3 个插穗有根形成 (图 1h2), 其余除剪口处愈伤膨大或发黑外无其它变化 (图 1h1); 处理的未生根插穗, 除剪口处愈伤膨大外, 亦无其它变化。

发育枝下段: 在扦插后第 9 天, 处理和对照的插穗剪口形成层有愈伤形成; 第 16 天, 处理的插穗蘸激素部位表皮有瘤状突起形成, 第 22 天有根从突起处生成, 突起部位膨大扩散, 黄白色, 对照未发现有此变化, 至生根情况调查时, 对照每重复的 30 个插穗中分别只有 1、2、3 个插穗有根形成, 其余除剪口处愈伤膨大或发黑外无其它变化; 处理的未生根插穗, 除剪口处愈伤膨大外, 亦无其它变化 (表 1)。

表 1 不同枝段插穗扦插后不定根形成时期

插穗部位	IBA 浓度 / ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	愈伤组织形 成时间 /d	瘤状突起形 成时间 /d	第 1 条根形 成时间 /d
上段	1 500	5	9	13
	0 (CK)	5	-	-
中段	1500	7	13	19
	0 (CK)	7	-	-
下段	1 500	9	16	22
	0 (CK)	9	-	-
萌蘖上段	1 500	5	9	13
	0 (CK)	5	-	-

从不同枝段插穗扦插后不定根形成时间来看: 上段最容易形成愈伤组织, 生根时间短; 下段形成愈伤组织和生根的时间都长; 发育枝和萌蘖枝上段在 不定根形成时间上没有差异。

在调查生根类型的 40 个插穗中, 除中段 (图 1d) 和下段各有 1 个插穗为愈伤生根外, 其余全部为表皮生根, 说明杂交榛子扦插以表皮生根为主。值得注意的是发育枝上段和萌蘖上段未见愈伤生根的类型。

## 2.2 不同枝段插穗的生根率

扦插 60 d 后进行生根情况调查, 8 个处理组合的生根情况见表 2。由表 2 看出: 各枝段浸蘸  $1\ 500\ \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 处理在生根率、生根数量、生根长度等指标均显著高于对照。

IBA 处理的不同枝段插穗在生根率、生根数量等指标均为上段 > 萌蘖上段 > 中段 > 下段, 且均差异显著; 生根长度则为下段 > 中段 > 萌蘖上段 > 上段。对照各枝段插穗的生根率、生根数量为上段 > 萌蘖上段 > 中段 > 下段, 生根长度为下段 > 中段 > 萌蘖上段 > 上段。总体来看, 上段插穗容易生根, 可能原因是上段插穗更加幼嫩, 脱分化和再分化能力更强, 代谢更加旺盛, 促根物质形成也多, 更容易诱导形成根原基, 且新形成的幼根更容易穿破表皮形成不定根; 下段插穗的平均根长较长, 可能与其营养物质积累较多和成根数量少有关, 即一旦幼根形成并穿破表皮, 下段插穗有更充足的养分供应较少的不定根生长。值得注意的是, 发育枝上段插穗比萌蘖上段插穗生根情况好, 这可能和插穗营养状况以及扦插后相关促根物质的差异有关。

表 2 扦插 60 d 后不同处理的生根率、平均根数、平均根长

项目	枝段部位	生根率 /%	平均根数 / (条 · 插穗 <sup>-1</sup> )	平均根长 /cm
IBA 浓度 $1\ 500 / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	上段	93.61 ± 0.16 a	17.22 ± 0.78 a	5.27 ± 0.07 d
	中段	60.06 ± 0.16 c	8.39 ± 0.24 c	7.54 ± 0.12 a
	下段	48.88 ± 0.09 d	3.39 ± 0.20 d	7.58 ± 0.18 a
	萌蘖上段	82.41 ± 0.15 b	10.89 ± 0.59 b	6.26 ± 0.11 b
	CK	11.88 ± 0.22 e	3.39 ± 0.31 d	4.01 ± 0.03 f
CK	中段	8.82 ± 0.04 e	1.67 ± 0.29 e	4.49 ± 0.23 e
	下段	6.39 ± 0.16 e	1.61 ± 0.20 e	5.72 ± 0.08 c
	萌蘖上段	9.83 ± 0.11 e	2.83 ± 0.25 de	4.11 ± 0.03 f

注: 数值均为 3 次重复的平均值 ± 标准误差; 不同小写字母表示各处理间在  $P < 0.05$  时有显著性差异。

## 2.3 杂交榛绿枝扦插生根过程中 POD、PPO 和 IAAO 活性变化

由图 2(a) 可见: 杂交榛绿枝扦插生根过程中, 各处理前期 POD 活性呈上升趋势, 至第 1 根出现期活性达到最大, 之后有所下降; 各枝段经  $1\ 500\ \text{mg} \cdot$

$\text{L}^{-1}$  IBA 处理的 POD 峰值均极显著高于对照, 说明 IBA 处理有效提高了插穗的 POD 活性; 发育枝上、中、下段处理和对照的峰值依次降低。将这些峰值与对应的处理和对照的生根率做相关性分析, 显示峰值的大小与生根率呈极显著正相关, 皮尔森相关

系数达 0.984。前已述及,发育枝不同枝段生根率存在差异,且上段 > 中段 > 下段,由此进一步推测,IBA 通过影响扦插生根过程中某一关键时期(本试验中为第 1 根出现期)的 POD 含量对杂交榛绿枝扦插生根起作用。类似地,发育枝上段和萌蘖上段插穗之间的生根率差异,在此表现为峰值大小的差异,这也进一步说明 POD 对杂交榛绿枝扦插生根存在影响。值得注意的是,经 IBA 处理的发育枝上段和萌蘖上段在愈伤形成期 POD 活性分别有一个小高峰和肩峰。

由图 2(b)可见:在扦插生根过程中,PPO 活性呈现一定的双峰特性,该特性在发育枝中段和下段更明显。总体而言,随着时间的推移,扦插至愈伤形成期 PPO 活性有一个快速增高期,且中段和下段 PPO 活性大于上段,推测这一时期的 PPO 活性变化和剪口创伤及插穗成熟度有关,当植物受到创伤时,PPO 将多酚类物质氧化成醌类物质,以保护伤口;另一方面插穗成熟度高,剪口大,其酚类物质的含量和对 PPO 的需求也越多。愈伤形成期至诱导期,PPO 呈一定的上升趋势或略有下降,推测这一时期由于愈伤的形成,伤口得到愈合,因此 PPO 活性维持在一定水平或有所下降。诱导期至第 1 根形成期,PPO 活性第 2 次快速提高,至第 1 根形成期 PPO 活性达到最大值,中段和上段增加趋势更明显,推测这一时期 PPO 可能参与了根原基和根的形成过程。与 POD 活性的变化类似,各枝段部位经 IBA 处理的 PPO 活性在峰值处大于对照,且其差异均达到显著水平,说明 IBA 对提高 PPO 活性有显著的效果。

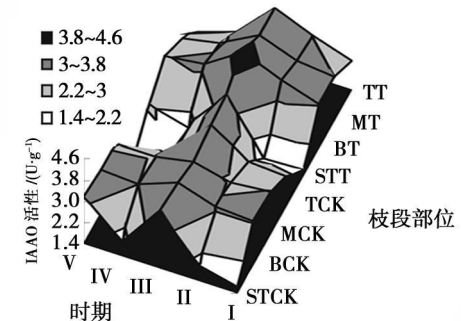
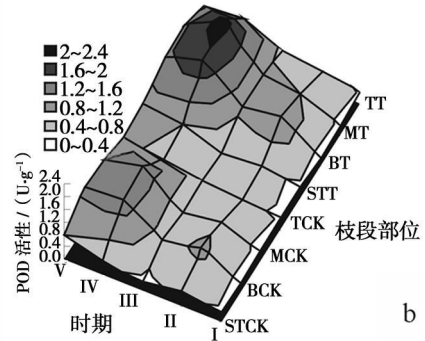
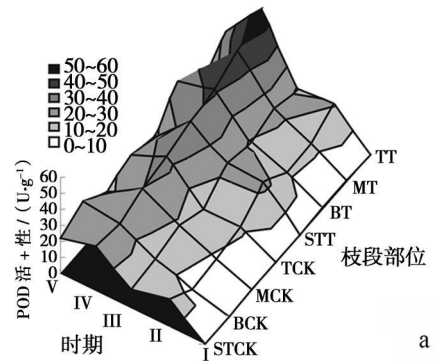
由图 2(c)可见:各处理组合的 IAAO 活性前期升高,均在诱导期达到最大,之后渐次下降。峰值处发育枝下段的 IAAO 活性最高,中段次之,上段最低。各枝段处理和对照在 IAAO 峰值处的差异均不显著,说明 IBA 对 IAAO 活性并无显著影响。

### 3 结论与讨论

#### 3.1 杂交榛绿枝扦插生根特性以及 IBA 和不同枝段部位对扦插生根的影响

生根特性:杂交榛子绿枝扦插以表皮生根为主,与杨青珍等<sup>[28]</sup>和扈红军等<sup>[23]</sup>的结果一致。杂交榛子不同枝段插穗生根时期有差异,幼嫩的上段插穗从扦插至生根只需 13 d 而中段和下段则分别需要 19 d 和 22 d。

IBA 对扦插生根的影响:IBA 处理能显著提高



I: 扦插起始期; II: 愈伤组织形成期; III: 诱导期;  
IV: 第 1 根形成期; V: 根生长期

TT: 上段 1 500 mg·L<sup>-1</sup> IBA 处理; MT: 中段 1 500 mg·L<sup>-1</sup> IBA 处理; BT: 下段 1 500 mg·L<sup>-1</sup> IBA 处理;

S1T: 萌蘖上段 1 500 mg·L<sup>-1</sup> IBA 处理; TCK: 上段清水对照;

MCK: 中段清水对照; BCK: 下段清水对照; STCK: 萌蘖上段清水对照。

图 2 杂交榛不同枝段绿枝扦插生根过程中 POD(a)、PPO(b)和 IAAO(c)的活性变化

杂交榛子各枝段插穗生根率、生根数量、生根长度等指标,如上段插穗经 IBA 处理生根率达到 93.61%,显著高于清水对照的 11.88%,这与 Eric isli 等<sup>[11]</sup>、K antarc i 等<sup>[13]</sup>和王申芳等<sup>[15]</sup>报道的生长素处理能提高榛子的扦插生根率的结果一致。

不同枝段部位生根差异:不同枝段生根指标存在差异,如 IBA 处理的中段插穗生根率(60.06%)显著高于下段插穗(48.88%),这表明,同一季节采

集的枝条其幼嫩程度(木质化程度)或内源物质(碳水化合物,蛋白质,激素等)含量的变化及差异可能对杂交榛绿枝扦插生根存在影响,还有待进一步研究。

### 3.2 杂交榛绿枝扦插后 POD、PPO、IAO 活性的变化

Tonon 等<sup>[29]</sup>在垂枝狭叶白蜡(*Fraxinus angustifolia*)组培试验中,加入  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IBA 只能使生根率从 76% 提高到 88%, 而不使用 IBA, 单独加入腐胺、亚精胺、环己胺或氨基胍等均能使生根率提高到 100%, 混合使用则抑制生根。在诱导生根阶段, 内源游离态的 IAA 和腐胺浓度会有一段上升期, 而在根出现阶段则 POD 活性升高, 多胺浓度降低, 这些变化与生根过程相关, 并不依赖于外源 IBA, 因为外源 IBA 的应用会提高插穗内 IAA 的数量却不影响生根, 也不影响多胺和过氧化物酶的变化方式。POD 含量在杂交榛子扦插后的波动表明, POD 与榛子扦插生根密切相关, 而处理和对照间扦插后 POD 的波动规律相似, 说明这些变化可能与扦插生根相关, 并不依赖外源 IBA。扦插后, 处理和对照之间 POD 含量的差异可能是 IBA 作用的结果。宋金耀等<sup>[31]</sup>研究认为, 毛白杨嵌合体扦插后 POD 活性有 2 个峰出现, 认为 POD 出现第 1 个峰时参与根的诱导, 第 2 个峰在第 1 根形成前。本研究中, IBA 处理的杂交榛上段插穗 POD 有 2 个峰出现, 基部萌条上段有 1 个在第 1 根出现时的 POD 高峰和 1 个在愈伤形成时的肩峰, 中段和下段都只在根出现时有 1 个高峰。扈红军等<sup>[23]</sup>认为, POD 活性只在愈伤形成时有 1 个峰值。另外, 研究发现, 发育枝上、中、下段第 1 根形成期 POD 活性与生根率存在极显著的正相关, 相关系数为 0.984 且 IBA 处理的 POD 活性和生根率高于清水对照, 由此推测 IBA 通过提高 POD 活性对扦插生根起作用, 其作用机理有待进一步研究。

扦插后杂交榛插穗内 PPO 活性在不同时期的变化表明, PPO 与杂交榛绿枝扦插生根密切相关。扈红军等<sup>[23]</sup>以欧洲榛为试材, 测定了扦插后 PPO 活性, 认为在根表达期 PPO 活性达到最大值, 与本研究类似; 但 PPO 活性在杂交榛扦插生根过程中有 2 个峰值, 1 个为愈伤形成时的小峰, 另 1 个为第 1 根出现时的高峰, PPO 的一个重要生理功能在于, 当植物受到创伤时其能催化多酚类物质氧化形成醌, 醌的产生, 参与保护植物免受进一步的伤害<sup>[18]</sup>。因此, 推测 PPO 小峰的出现是出于植物自身对插穗剪

口创伤保护的需要。现有研究认为, PPO 参与了“生根素”的合成<sup>[20]</sup>, 从而刺激植物离体材料扦插生根, 杂交榛绿枝扦插 PPO 活性高峰的出现可能与这一过程有关。IBA 处理和对照之间 PPO 活性的差异可能是由于 IBA 作用的结果, 其确切作用机理有待进一步研究, 而枝段之间的差异则可能和枝条的成熟度差异及剪口大小有关。

IAO 在杂交榛绿枝扦插生根的诱导期活性最高, 第 1 根形成时和根生长期 IAO 活性较低。宋金耀等<sup>[30]</sup>认为, 在生根诱导期 IAO 活性高降低了 IAA 浓度, 有利于根的诱导, 而诱导期后 IAO 活性降低, 保护 IAA 免受破坏, 以促进根的萌发和生长。本实验的结论与之一致。杂交榛绿枝扦插处理和对照间 IAAO 含量有相似的变化规律, 且峰值处并无显著差异, 推测 IAAO 活性大小和变化规律可能都不受外源 IBA 的影响, 而只与扦插生根有关。Torh<sup>[25]</sup>测定了黑杨(*Populus nigra* L.)、银白杨(*P. alba* L.)、欧洲山杨(*P. tremula* L.)在扦插生根过程中过氧化物酶和 IAA 氧化酶活性的动态变化, IAAO 在根发生和根原基形成期具有活性, 在未生根的欧洲山杨中则无活性, 由此推测 IAAO 与插穗生根过程有关, 并且有可能通过 IAA 分解来影响根的形成, 即在根形成期, IAA 的氧化产物会促进根形成。

虽然本研究获得了一些成果, 但由于实验本身的局限性, 使实验结论存在一些不足之处, 如生根特性和酶活性变化之间的有机联系研究并不深入。可以考虑从插穗受伤后在特定的扦插条件下的信号传导, 成根基因的激活和表达等方面对处理和对照之间以及不同枝段之间产生的生根特性差异进行更加深入研究。

### 参考文献:

- [1] 联合国粮农组织统计公报. FAO bulletin of statistics [J]. 联合国粮农组织, 2003 4(2): 136-137
- [2] 梁维坚, 董德芬. 大果榛子育种与栽培 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2002: 17-20
- [3] 梁维坚, 解明, 董德芬, 等. 榛子新品种选育研究 [J]. 中国果树, 2000(2): 4-6
- [4] 陆斌, 陈芳, 宁德鲁, 等. 欧洲榛子的扦插繁殖试验 [J]. 云南林业科技, 2003(3): 64-67
- [5] 杜文明, 王慧娟. 大叶黄杨扦插池育苗技术 [J]. 河北林业科技, 2005(6): 41-42
- [6] 温阳, 阎德仁, 白育英, 等. 红叶小檠嫩枝扦插技术研究 [J]. 内蒙古林业科技, 2001(1): 15-16
- [7] Bell H F D. 澳洲坚果扦插繁殖技术 [J]. 云南热作科技, 1998 21

- (3): 46–48
- [8] 储博彦, 王志彦, 杨 镇, 等. 葡萄嫩枝插穗快速育苗研究 [J]. 河北林业科技, 2000(2): 19–20
- [9] Paglietta R. Filbert (*Corylus avellana*) propagation by cuttings [J]. Plant Propagator 1973, 19(3): 20
- [10] Ponchik G, Howard B H. Chestnut and hazel propagation by leafy summer cuttings [J]. Acta Horticulturae, 1988, 227: 236–241
- [11] Ericisli S, Read P. E. Propagation of hazelnut by softwood and semi-hardwood cuttings under Nebraska conditions [J]. Acta Horticulturae, 2001, 556: 275–279
- [12] Gautam D R, Howard B H. Influence of some pre-conditioning treatments and propagation environments on the rooting of hazelnut leafy stem cuttings [J]. Acta Horticulturae, 1994, 351: 361–369
- [13] Kantarci M, Ayfer M. Propagation of some important Turkish hazelnut varieties by cuttings [J]. Acta Horticulturae, 1994, 351: 353–360
- [14] Piskomik Z, Piskomik M. A simplified method of hazelnut (*Corylus avellana* L.) propagation by cuttings in a 2-year cycle [J]. Forlia Horticulturae, 1990, 2(1): 103–113
- [15] 王申芳, 王 蓬. 欧洲榛子绿枝扦插实验 [J]. 河北林业科技, 2006(3): 15
- [16] Ruichi Pan, Xingshan Tian. Comparative effect of BA, BSA and 5-6-Cl<sub>2</sub>-IAA-Me on the rooting of hypocotyl in mung bean [J]. Plant Growth Regulation, 1999, 27: 91–98
- [17] Gaspar T, Kever C, Hausman J F, et al. Practical uses of peroxidase activity as a predictive marker of rooting performance of micropropagated shoot [J]. Agronomy, 1992, 12: 757–765
- [18] Vaughn K C, Duke S O. Function of polyphenol oxidase in higher plants: review (plastidic enzyme) [J]. Physiologia Plantarum, 1984, 60(1): 106–112
- [19] Vaughn K C, Duke S O, Lax A R. Polyphenol oxidase: The chloroplast oxidase with no established function (protein processing and transport) [J]. Physiologia Plantarum, 1988, 72(3): 659–665
- [20] Hartmann H T, Kester D E, Davies Jr F E. *Plant Propagation—principle and practices* 5<sup>th</sup> edn [M]. Prentice Hall: Englewood Cliffs, New Jersey, 1990
- [21] 黄卓烈, 李 明, 詹福建, 等. 不同生长素处理对桉树无性系插穗氧化酶活性影响的比较研究 [J]. 林业科学, 2002, 38(4): 46–52
- [22] Hayrullah Y, Tuncer T. Polyphenolase activity during rooting in cuttings of grape (*Vitis vinifera* L.) varieties [J]. Turk J Bot, 2003, 27: 495–498
- [23] 扈红军, 曹帮华, 尹伟伦, 等. 榛子嫩枝扦插生根相关氧化酶活性变化及繁殖技术 [J]. 林业科学, 2008, 44(6): 61–65
- [24] Chibbar R N, Gunumurti K, Nanda K K. Changes in BA oxidase activity in rooting hypocotyl cuttings of *Phaseolus mungo* L. [J]. Cellular and Molecular Life Sciences (CMLS) (Historical Archive), 1979, 35(2): 202–203
- [25] Tohit G. Peroxidase and IAA-Oxidase activities during rooting in cuttings of three poplar species [J]. Turk J Bot, 2000, 24: 97–101
- [26] Galeazzi M A M, Sgarbieri V C. Substrate specificity and inhibition of polyphenoloxidase (PPO) from a dwarf variety of banana (*Musa cavendishii* L.) [J]. Journal of Food Science, 1981, 46(5): 1404–1406
- [27] 张志良, 瞿伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2003
- [28] 杨青珍, 王 锋, 李 娟, 等. 榛子绿枝插条的解剖学观察 [J]. 林业科学, 2006, 22(7): 154–156
- [29] Tonon G, Kever C, Gaspar T. Changes in polyanines, auxins and peroxidase activity during in vitro rooting of *Fraxinus angustifolia* shoots: an auxin independent rooting mode [J]. Tree Physiology, 2001, 21: 655–663
- [30] 宋金耀, 何文林, 李松波, 等. 毛白杨嵌合体扦插生根相关性理化特性分析 [J]. 林业科学, 2001, 37(5): 64–67