

文章编号: 1000-5692(2007)03-0284-06

珍珠黄杨春季扦插生根性状差异及内源激素变化

黄焱¹, 季孔庶¹, 方彦², 翟锦如³

(1. 南京林业大学 国家林业局林木遗传和基因工程重点实验室, 江苏 南京 210037; 2. 南京森林公安高等专科学校 科技处, 江苏 南京 210046; 3. 好雨园景有限公司, 江苏 如皋 226553)

摘要: 为了研究珍珠黄杨 *Buxus sinica* var. *parvifolia* 扦插生根的相关机制, 通过酶联免疫吸附分析(ELISA)技术对春季扦插生根过程中各品种的吲哚乙酸(IAA), 脱落酸(ABA), 异戊烯基核苷(GPA)和赤霉素(GA₄)质量分数作进程研究, 并对其生根性状结果作统计分析。研究发现: 在愈合组织产生前后及根突出表皮时, IAA、ABA 和 GA₄ 质量分数的变化曲线在不同品种处理之间存在差异, 3 号和 5 号品种在 ABT6 处理后扦插生根能力有了提高。结果表明, 易生根品种的激素质量分数在生根关键时期更利于插穗愈合组织的产生以及根原基的形成与分化。图 4 表 2 参 18

关键词: 植物学; 珍珠黄杨; 品种; 内源激素; 扦插; 愈合组织

中图分类号: S718.43 **文献标志码:** A

珍珠黄杨 *Buxus sinica* var. *parvifolia* 是黄杨 *B. sinica* 的变种, 自然分布于安徽大别山、天柱山、黄山、清凉峰, 福建武夷山, 江西三清山, 湖北神农架和广东石坑峒, 生于海拔 1 000 m 以上的地区。该变种具有叶片细密, 枝干苍劲, 变色耐阴, 小中见大, 自然成型, 生长慢, 树型紧凑等诸多特点, 是制作盆景, 点缀山石, 建造袖珍园林的极好材料, 属具较高应用和观赏价值的优美观赏树种。目前大部分产区靠挖野生苗移植来满足盆景客户的需要, 导致了大量野生资源的破坏, 并且仍远远无法满足市场需要。而当前关于该树种的研究仅涉及生长特性及苗圃扦插繁殖等内容^[1-5]。已有的报道显示, 可能是高山引种, 造成扦插成活率不尽如人意。为此, 作者开展了该树种的扦插繁殖系列试验, 旨在了解珍珠黄杨扦插生根的相关机制, 以便为保护种质, 加快优良种质的无性繁殖, 并应用于生产提供依据。

1 材料和方法

试验所用插穗由江苏好雨园景有限公司苗圃提供。2005 年 4 月上旬在新梢生长前, 对 5 个珍珠黄杨品种(0~4 号)和 2 个黄杨品种(5 号和 6 号)的枝条分别剪取穗条。穗条长 3 cm 左右, 一般为 3~4 节, 保留顶端 1~2 轮叶。0 号(珍珠黄杨 0, 普通型); 1 号(珍珠黄杨 1)树势中等, 秋季徒长枝明显, 树冠外围部分叶的叶缘中上部为淡黄色; 2 号(珍珠黄杨 2)树势较弱, 分枝角度大, 分枝部位近地; 3 号(珍珠黄杨 3)树势较弱, 叶纤小; 4 号(珍珠黄杨 4)树势中等, 叶背浅绿带红晕, 1 年生枝红棕

收稿日期: 2006-10-13; 修回日期: 2006-12-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070633)

作者简介: 黄焱, 博士研究生, 从事园林植物遗传育种研究。E-mail: hyprc@163.com。通信作者: 季孔庶, 教授, 博士, 从事林木及园林植物遗传育种研究。E-mail: ksji@njfu.edu.cn

色; 5 号(黄杨品种), 叶纤小, 节间较短; 6 号(黄杨品种), 叶较大, 节间较长。有关珍珠黄杨各品种形态特征详细描述及相关引种驯化背景请参看文献[6]。

试验设计采取随机区组设计, 每个品种选取 60 根大小一致的插条进行扦插, 其中 30 根在 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ABT6 号中浸泡(ABT 处理在图和表中的代号为 T), 另 30 根未采取促根处理作为对照(对照处理在图表中的代号为 ck)。基质为蛭石:珍珠岩 = 1:1 (体积比), 每小区 10 个插条, 3 次重复, 随机排列, 插条间距 10 cm。采用全光照自动间隙喷雾(每隔 15 min, 连续喷 3 min), 以保持适宜湿度。生根性状调查统计于 2005 年 10 月 15 日进行, 调查穗条的 6 个生根性状指标: 不定根数、侧根数、最长不定根长、最长不定根直径和根总长, 并统计生根率。

所有数据统计均利用 SPSS V11.5 统计分析实用软件包来进行方差分析。由于数据不符合正态分布及方差齐性要求, 均进行数据转换, 其中不定根数、侧根数、最长不定根直径和生根率用 $\lg x$ 转换; 最长不定根长和根总长用 \sqrt{x} 转换。

插穗测定内源激素方法参照文献[7]。每隔 6 d 从不同继代母株上取 3 个插条, 观察生根情况, 并取穗条 0.5 g (由于穗条很小且材料有限, 所以未对皮部和叶片分别取样), 投入放有 3 mL 预冷的 $800 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 甲醇[含 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 2, 6-二叔丁基对甲基苯酚(2, 6-di-tert-butyl-4-methyl phenol)] 的离心管中, 封口, 立即置于 $-20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存。温度降至 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下时, 用镊子从离心管中取出样品, 加少量石英砂, 分次倒入样品保存液, 在冰浴条件下研磨成匀浆, 再用 2 mL 提取液分次将研钵冲洗干净, 一并转入 10 mL 离心管中, 摇匀后放置于 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下提取 4 h, 10 000 转离心 10 min, 取上清液。上清液过 C-18 固相萃取柱, 过柱后的样品用氮气吹干, 用酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定吲哚乙酸(IAA)、脱落酸(ABA)、异戊烯基核苷(iPA)和赤霉素 4 (GA_4)等 4 种内源激素的质量分数。

2 结果与分析

2.1 生根变化过程及生根性状观测

2.1.1 生根过程观察 春季的气温($15 \sim 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$)对于珍珠黄杨扦插生根来说还是偏低。根据历年生产经验, 珍珠黄杨最适宜扦插温度应在 $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上。形态观察表明, 一些品种在施用 ABT6 号之后, 愈合组织形成时间加快和提前, 生根提前。如 3 号和 5 号于 5 月 14 日已有相当愈合组织产生, 至 6 月 4 日已有部分不定根开始突出表皮。而其他品种大多数在 6 月 4 日至 6 月 11 日才出现部分愈合组织。

2.1.2 扦插生根性状调查 珍珠黄杨和黄杨各品种间生根性状差异较大。促根处理后, 尽管生根率并没有提高甚至略有下降, 但侧根数和根总长等性状则有较为明显的提高, 且各品种对促根处理效果差异较大(表 1)。各品种间的侧根数差异极显著($P < 0.01$), 最长不定根长和根总长差异显著($P < 0.05$, 表 2)。

2.2 不同品种扦插生根过程中内源激素质量分数的变化情况

2.2.1 IAA 质量分数变化 尽管各品种在生根率和生根时间上有一定差异, 其 IAA 变化规律整体上比较相似(图 1)。促根处理和对照的愈合组织均在其 IAA 质量分数到达顶峰后的下一个采样时间观察到。促根处理后各生根指标显著提高的 3 号品种其 IAA 起始水平要显著高于其他各品种, 是其他的 2~3 倍。各品种在扦插的最初 42 d 左右都呈现快速下降趋势, 至第 49 天以后其 IAA 质量分数都显著上升。但生根时间提前、根系发育良好的 3 号和 5 号品种经促根处理后, 在 21 d 左右就开始有明显的上升过程, 第 28 天即达到高峰, 分别为 603.81 和 $768.67 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。此后开始不断下降, 而此时正是这 2 个品种愈合组织的形成高峰期。并且这 2 个品种在第 49~56 天又产生一个高峰, 根据形态观察发现, 这时开始有不定根突出表皮。生根性状良好的匍匐低矮的 2 号品种的 IAA 质量分数的变化幅度始终比较平缓。

2.2.2 ABA 质量分数变化 在扦插前期, 各品种促根处理的 ABA 质量分数都呈现波动状下降趋势(图 2), 但促根处理后生根性状大幅优于对照的 3 号品种, 其处理和对照都先呈缓慢上升, 至第 35 天随其他品种开始一起下降。其中生根性状良好、匍匐低矮的 2 号品种起始质量分数远低于其他各品种, 只有 $1/2$ 左右。至第 42~49 天左右各品种 ABA 质量分数降至最低点, 而此时正是各品种产生愈

合组织的准备阶段; 而对于生根提前的3号和5号品种, 正好处于愈合组织大量产生与开始有不定根突出表皮2个阶段之间。第49天之后, 各品种的ABA质量分数都开始有一个平稳上升的过程。在开始产生愈合组织时, 即第63天左右, 大部分品种ABA质量分数开始呈现下降趋势, 但进一步变化趋势还须作深入分析。

表1 珍珠黄杨不同品种插穗生根性状平均值

Table 1 Means of cuttage rooting characteristics among different cultivars of *Buxus sinica* var. *parvifolia*

| 组别 | 不定根数/条 | 侧根数/条 | 最长不定根长/cm | 最长不定根直径/mm | 根总长/cm | 生根率/% |
|----|--------|-------|-----------|------------|--------|-------|
| 0T | 1.30 | 4.67 | 4.30 | 0.45 | 7.86 | 60 |
| 0k | 1.33 | 4.77 | 3.81 | 0.42 | 6.30 | 63 |
| 1T | 0.97 | 0.93 | 2.32 | 0.23 | 4.64 | 37 |
| 1k | 0.97 | 1.23 | 1.74 | 0.22 | 3.10 | 37 |
| 2T | 2.70 | 6.67 | 3.62 | 0.39 | 11.26 | 63 |
| 2k | 2.90 | 8.50 | 4.52 | 0.45 | 12.05 | 70 |
| 3T | 5.77 | 13.77 | 10.69 | 0.95 | 26.01 | 47 |
| 3k | 1.43 | 4.30 | 4.01 | 0.36 | 6.72 | 63 |
| 4T | 2.20 | 4.52 | 2.98 | 0.33 | 8.89 | 53 |
| 4k | 1.83 | 6.73 | 3.43 | 0.37 | 6.49 | 60 |
| 5T | 3.23 | 27.13 | 12.04 | 0.59 | 34.52 | 77 |
| 5k | 2.70 | 25.93 | 12.63 | 0.69 | 27.01 | 87 |
| 6T | 1.73 | 15.13 | 6.42 | 0.50 | 15.92 | 57 |
| 6k | 1.43 | 15.10 | 9.45 | 0.62 | 15.15 | 80 |

表2 珍珠黄杨不同品种生根性状的方差分析

Table 2 Variance analysis of cuttage rooting characteristics among different cultivars of *Buxus sinica* var. *parvifolia*

| 项目 | 不定根数 | 侧根数 | 最长不定根长 | 最长不定根直径 | 根总长 | 生根率 |
|----------|-------|---------|--------|---------|---------|-------|
| S_{St} | 1.557 | 4.629 | 19.829 | 0.879 | 54.882 | 0.585 |
| S_{Se} | 2.227 | 2.653 | 18.909 | 1.524 | 47.911 | 0.695 |
| S_{Sr} | 3.805 | 7.283 | 38.738 | 2.403 | 102.793 | 1.280 |
| F | 1.525 | 3.758** | 2.259* | 1.242 | 2.467* | 1.813 |

说明: $F(13, 28)_{0.05}=2.09$, $F(13, 28)_{0.01}=2.86$.

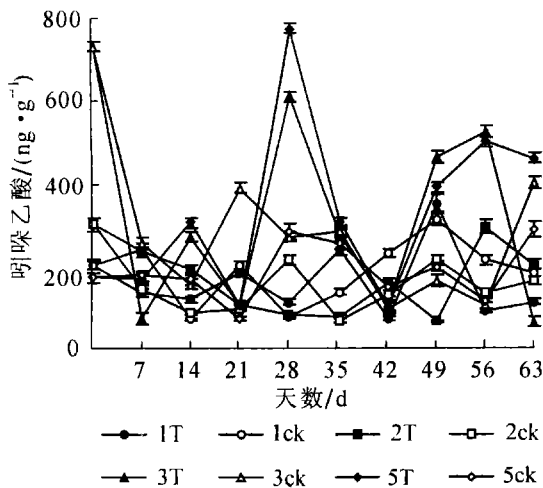


图1 不同品种生根过程中 IAA 质量分数变化

Figure 1 Changes of IAA contents in cutting among different cultivars during the process of rooting

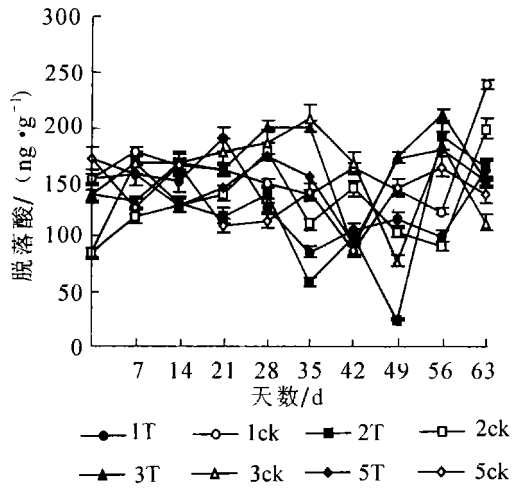


图2 不同品种生根过程中 ABA 质量分数变化

Figure 2 Changes of ABA contents in cutting among different cultivars during the process of rooting

2.2.3 iPA 质量分数变化 生根过程中, 不同品种处理的 iPA 质量分数变化情况比较相似(图 3)。各品种的 iPA 都呈波动状上升。值得注意的是 3 号品种, 促根处理一开始便呈现下降趋势, 从第 7 天开始才呈现波动状上升; 而未处理的则从一开始便急速上升, 至第 14 天便已达最大值, 然后急速下降, 从第 21 天开始呈波动状上升。这或许是 3 号品种在促根处理后生根性状有明显提高的主要原因之一。

2.2.4 GA₄ 质量分数变化 扦插初期, 各品种的 GA₄ 质量分数总体呈波动状态(图 4), 其中生根提前的经促根处理的 3 号和 5 号品种率先在第 21 天, 即愈合组织大量产生时出现明显的高峰, 然后又与其他各品种一样呈现波动状态, 至第 56~63 天, 各品种由于大量愈合组织的出现, 其 GA₄ 质量分数出现一个高峰, 而促根处理的 3 号和 5 号品种由于不定根开始穿出表皮, 出现 GA₄ 质量分数的又一高峰。同时发现黄杨的 GA₄ 起始质量分数要远高于珍珠黄杨的, 而珍珠黄杨起始质量分数最高的 1 号也是几个品种中营养生长最为旺盛的。这与植物矮化和赤霉素密切相关的观点相吻合^[8]。

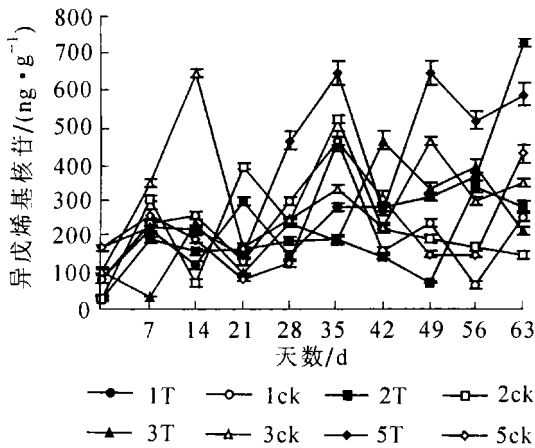


图 3 不同品种生根过程中 iPA 质量分数变化
Figure 3 Changes of iPA contents in cutting among different cultivars during the process of rooting

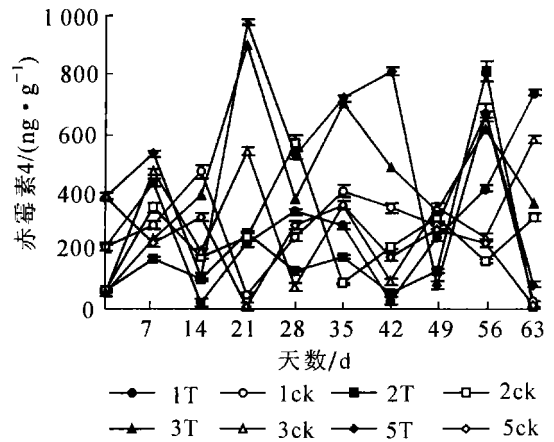


图 4 不同品种生根过程中 GA₄ 质量分数变化
Figure 4 Changes of GA₄ contents in cutting among different cultivars during the process of rooting

3 结论与讨论

引种驯化成功后的珍珠黄杨扦插生根时间较长, 与黄杨相比生根能力略弱, 但仍属于较易生根树种, 珍珠黄杨各品种间生根能力也不尽相同。观察发现, 绝大部分穗条的地上部分在扦插第 1 年基本上无芽萌发等生命活动。由此可见, 产生内源激素的主要器官如芽、新叶和节的生命活动相对较弱, 它们对生根内源激素整体变化规律, 尤其是对插穗基部的皮部内源激素变化规律产生影响较小, 因此, 将它用于分析插穗生根过程中的激素变化有独特的优点。对于插穗生根过程而言, 从插后到愈合组织产生是极为关键的时期。笔者的试验共采样 10 次, 历时 63 d, 由于各品种插穗数量有限, 因此采样未能持续到所有品种插穗都生根。但采样的 63 d 时间基本能覆盖珍珠黄杨和黄杨不同品种从插后到愈合组织产生时间段内的变化状况。少数品种由于促根处理导致生根提前, 采样截至时已有不定根穿出表皮。

IAA 质量分数变化曲线大体上符合通常的观点, 即扦插过程中 IAA 变化规律都为脱离母株后下降—形成根原基期间上升—生根后又下降^[9-13]。在研究中笔者发现, 生根能力越强的品种, 在愈合组织及不定根突出表皮阶段, 出现的峰值越高, 高峰持续时间越长。

ABA 的测定结果与其他植物的测定结果^[11, 13, 16]也基本吻合, 即 ABA 质量分数在扦插初期始终处于快速下降过程, 而在根原基形成分化阶段 ABA 质量分数显著升高, 至不定根形成后又开始缓慢下降。不过在笔者的研究中, ABA 质量分数变化曲线波动较大。

iPA 质量分数变化曲线的规律不太明显, 呈波动状上升。而在其他植物的插穗生根过程中, iPA 质量分数变化没有呈现一致规律。在长白落叶松 *Larix olgensis* 扦插生根过程中, 插后 iPA 立即上升并在产生大量愈合组织后开始下降, 在出现根原基后上升并在出现根之后下降^[6]。而在杂交鹅掌楸 *Liriodendron chinense* × *Liriodendron tulipifera* 的扦插试验中, 叶片 iPA 质量分数为先下降后上升, 但皮部 iPA 质量分数一直处于上升趋势^[17]。

GA₄ 结果很好地印证了 GA 对生根有抑制作用这一观点, 即较低水平的 GA₄ 对生根有促进作用。综合本次研究及前人的一些研究结果, 可以发现: GA₄ 质量分数在扦插初期有一个短暂的下降过程, 然后在愈合组织形成和根原基分化时期持续大量增长, 在开始生根后下降, 当大量生根时降至最低值, 以后又逐渐上升并达到最大值。

各品种 IAA 质量分数的起始值虽然有较大差异, 但整个变化规律在扦插过程中基本一致, 不过在愈合组织形成前后, 促根处理过的 3 号和 5 号 IAA 质量分数明显高于其他品种及处理。有报道指出^[18], 不定根形成的初期是细胞脱分化和分裂的时期, 需要较高水平的内源生长素以诱导根原基的形成, 而根原基生长和分化的阶段却被高质量分数的 IAA 所抑制。但也有研究表明^[13], 生根率最高的无性系在扦插前 IAA 质量分数最低, 在扦插过程中也维持低水平状态, 说明 IAA 在扦插过程中对生根不起主要作用, 只是起协同作用, 而 ABA 一直保持低水平。ABA 质量分数曲线变化规律总体上在愈合组织出现前呈现波动下降, 而在愈合组织开始形成的前 10~20 d, ABA 质量分数开始急速上升。不同品种的 iPA 质量分数变化情况比较相似, 没有发现不同品种之间有本质区别。在 GA₄ 质量分数变化曲线中, 促根处理生根性状良好的 3 号和 5 号品种几个高峰值明显大于其他品种, 显然这与其品种较易生根有密切联系。

结合几种内源激素质量分数的变化情况, 得到以下基本结论: 不同品种之间扦插生根能力差异较大, 生长势较弱的 3 号和 5 号品种在促根处理后扦插生根能力有了显著提高, 且 3 号和 5 号品种处理后在生根关键时期(愈合组织产生前后及根突出表皮时)IAA 和 GA₄ 的高质量分数及 ABA 的低质量分数更利于插穗愈合组织的产生以及根原基的形成与分化, 使得生根提前, 根系发育良好; 可以认为愈合组织产生前后及根突出表皮时的内源激素最能本质反映植物之间扦插能力的差异。当然其前期信号诱导和变化曲线经常发生波动等一些问题, 有待结合植物解剖学和分子生物学作进一步分析。

参考文献:

- [1] 王敏珍, 侯丹英. 珍珠黄杨快速繁育[N]. 中国花卉报, 2004-08-10(3).
- [2] 陈华荣, 邱加学, 苏春华. 鱼鳞木繁殖与培育[J]. 安徽林业, 2003(4): 28.
- [3] 石怀绶. 高山侏儒——珍珠黄杨[J]. 中国林业, 2002(3): 27.
- [4] 何家海. 珍珠黄杨繁殖栽培技术[J]. 林业科技通讯, 2000(11): 43.
- [5] 何家海. 珍珠黄杨繁殖栽培[J]. 安徽林业, 1999(5): 22.
- [6] 黄焱, 翟锦如, 季孔庶. 珍珠黄杨优良无性系形态特征分析[J]. 林业科技开发, 2005, 19(3): 43—45.
- [7] 俞良亮. 鹅掌楸扦插繁殖与植物生长物质的关系及苗期生长研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2005.
- [8] 虞慧芳, 曹家树, 王永勤. 植物矮化突变体的激素调控[J]. 生命科学, 2002, 14(2): 85—88, 76.
- [9] 徐继忠, 陈四维. 桃硬枝插条内源激素(ABA, IAA)含量变化对生根的影响[J]. 园艺学报, 1989, 16(4): 275—278.
- [10] BERTHON J Y, MALDINEV R. Endogenous levels of plant hormones during the course of adventitious rooting in cuttings of *Sequoiadendron giganteum* in vitro[J]. *Biochem Physiol Pfl*, 1989, 184: 405—411.
- [11] 詹亚光, 杨传平, 金贞福, 等. 白桦插穗生根的内源激素和营养物质[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(4): 1—4.
- [12] 汪杰. 猕猴桃扦插生根的生理基础及调控机理研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2001.
- [13] 刘桂丰, 杨传平, 曲冠正, 等. 落叶松杂种插穗生根过程中 4 种内源激素的动态变化[J]. 东北林业大学学报, 2001, 29(6): 1—3.
- [14] FORD Y Y, BONHAM E C, CAMERON R W F, *et al.* Adventitious rooting: examining the role of auxin in an easy-and

difficult-to root plant[J]. *Plant Growth Regul.* 2002, **36**: 149—159.

- [15] 王金祥, 潘瑞焱. 绿豆插条生根过程中内源激素含量变化[J]. 植物生理学通讯, 2004, **40**(6): 696—698.
- [16] 刘关君, 李绪尧, 由香玲, 等. 长白落叶松插穗内源激素变化与不定根产生的关系[J]. 东北林业大学学报, 2000, **28**(1): 19—20.
- [17] 张晓平, 方炎明, 黄绍辉. 杂交鹅掌楸扦插过程中的内源激素变化[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2004, **26**(3): 79—82.
- [18] JARVIS B C. Endogenous control of adventitious rooting in non woody cuttings[M] //JACKSON M B. *New Root Formation in Plants and Cuttings*. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1986: 191—223.

Rooting characteristics and endogenous hormone levels in *Buxus sinica* var. *parvifolia* during spring cutting

HUANG Yan¹, JI Kong-shu¹, FANG Yan², ZHAI Jin-ru³

(1. Key Laboratory of Forest Genetics and Gene Engineering of State Administration of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Science and Technology Department, Nanjing Forest Police College, Nanjing 210046, Jiangsu, China; 3. Haoyu Landscape Co., Ltd, Rugao 226553, Jiangsu, China)

Abstract: *Buxus sinica* var. *parvifolia* (littleleaf box) is one of the woody evergreen plant species that has high commercial value in the floriculture market. Efforts to improve propagation success will be essential in development of the species for commercial production and in satisfy the market's needs. The purpose of this research is to study the rooting mechanism of *Buxus sinica* var. *parvifolia* cutting. Seven cultivars were chosen, including five cultivars of littleleaf box and two of *Buxus sinica* (Chinese box) to compare the rooting potential. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) technology was used to measure the levels of indoleacetic acid (IAA), abscisic acid (ABA), isopentenyladenosine (iPA), and gibberellin₄ (GA₄) in the rooting zones, and the rooting characters were also observed in spring stem cutting. The results showed that around the time of callus forming and the root projecting epidermis, the levels of IAA, ABA and GA₄ were different in seven cultivars and in different treatments. And the rooting ability of cultivar No. 3 and No. 5 treated by ABT 6 were improved. The high levels of endogenous hormone in the easy-to-root cultivars' in crucial rooting period was beneficial to callus generation and the root anlage formation and differentiation. [Ch, 4 fig. 2 tab. 18 ref.]

Key words: botany; *Buxus sinica* var. *parvifolia*; cultivar; endogenous hormone; cutting; callus