

葡萄柚不同砧木嫁接亲和性与保护酶活性相关性分析

严 毅^{1,2}, 张 南 新¹, 何 承 忠¹, 李 贤 忠¹

(1. 西南林业大学 林学院, 云南 昆明 650224; 2. 昆明市海口林场, 云南 昆明 650114)

摘 要:以“哈路比”为接穗, 分别嫁接在“曼赛龙”柚、美国酸橙、当地酸柚、枳壳砧木上, 对不同砧木与葡萄柚品种嫁接愈合过程亲和性与保护酶活性的相关性及其嫁接愈合过程中保护酶活性变化规律与嫁接成活的关系进行分析。结果表明:“哈路比”与 4 种砧木嫁接愈合过程中 3 种保护酶活性大小变化趋势为:愈合部>接穗>砧木;愈合部酶活较高的组合, 其嫁接成活率也相应较高;相关性分析表明, 愈合部保护酶活性大小与嫁接成活率一样均可作为嫁接亲和性的判定指标;综合多项指标发现, 葡萄柚“哈路比”与“曼赛龙”柚嫁接亲和性最高, 与美国酸橙和枳壳亲和性一般, 与当地酸柚亲和性最差。

关键词:葡萄柚; 砧木; 嫁接; 亲和性; 保护酶活性

中图分类号:S 666.304⁺.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0008-04

砧穗间能够获得最大亲和力的配置就是最佳砧穗组合, 在植物嫁接过程中, 嫁接亲和力是嫁接繁殖能否成功的最基本条件, 而影响嫁接亲和力的因素很多, 国内外对嫁接亲和性机理的研究主要有 2 种观点:肖桂山等^[1]研究认为, 嫁接亲和性取决于接穗与砧木细胞间的相互识别作用, 陈红等^[2]则认为, 接穗与砧木生理生化的相互作用影响嫁接亲和性。抗氧化酶活性的变化可以反映由于机械损伤产生的活性氧平衡状态^[3-4], 植物体内活性氧的生成与清除主要是通过 SOD、POD 和 CAT 保护酶系统达到动态平衡的, 植物处于逆境时, 保护酶活性将发生变化, 使自由基维持在一个低水平, 从而防止自由基伤害。

西南林业大学于 2002 年初从美国引进 9 个葡萄柚品种接穗嫁接在版纳州普文林场, 经过多年果实品质测定研究表明, 4 号“哈路比”(Hudson)品质最优^[5-6]。但最适砧木选配始终是葡萄柚研究领域的一大瓶颈, 仅仅从嫁接成活率、嫁接后树的生长发育状况调查、果实品质测定等来判定最适砧穗选配, 对于周期长的多年生果树存在严重滞后性^[7], 如若能建立嫁接成活率与生理生化指标筛选体系, 无疑对缩短多年生果树早期砧穗选配具有

重要意义。该试验以葡萄柚“哈路比”(Hudson)为接穗, 分别嫁接在“曼赛龙”柚(*Citrus grandis* var *mansailong*, ML)、美国酸橙(*C. aurantium* Linn, MC), 当地酸柚(*C. grandis aurantium*, BY)、枳壳 [*Poncirus trifoliata* (Linn.) Raf., ZK]砧木上, 分析了不同砧木与葡萄柚品种嫁接成活率及嫁接愈合过程中保护酶活性的变化规律, 探讨了嫁接成活率与生理酶的关联性, 以建立葡萄柚早期砧、穗筛选生理生化体系, 为葡萄柚嫁接砧、穗早期选配提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

嫁接试验于云南省西双版纳州普文镇试验林场进行。取葡萄柚“哈路比”母树树冠上部外围 1 a 生健壮枝条上饱满芽作为接芽, 采用带木质部“T”字形芽接法, 分别嫁接在 2 a 生营养袋苗“曼赛龙”柚、美国酸橙、当地酸柚、枳壳 4 种砧木上。

1.2 试验方法

1.2.1 砧、穗愈伤组织诱导 于 2011 年 9 月 8 日进行愈合前愈伤诱导, 分别在 4 种砧木和接穗品种中选择 2 株树体健康、长势良好的树, 在东、南、西、北 4 个不同方位选择健壮的 1 a 生枝条, 在其 10 cm 处, 剪成 1~2 cm 长的斜口, 用塑料薄膜包扎好。

1.2.2 结合部愈伤诱导 于 2011 年 9 月 8 日将葡萄柚分别嫁接在“曼赛龙”柚(ML)、美国酸橙(MC)、当地酸柚(BY)和枳壳(ZK)上, 每个砧木品种为 1 个处理, 共 4 个处理, 每个组合嫁接 60 个芽, 设 3 次重复。

1.2.3 样品采集方法 嫁接后的第 15 天, 接口已能完全愈合^[8], 将砧、穗愈伤和嫁接愈合部愈伤, 距愈伤部

第一作者简介:严毅(1986-), 女, 四川西昌人, 硕士, 研究方向为果树生物技术。E-mail: yanyik@yeah.net。

责任作者:李贤忠(1963-), 男, 河南人, 教授, 现从事经济林和果树引种及高效栽培技术研究工作。

基金项目:国家林业局葡萄柚推广资助项目(2010-2012 [2010]47号); 西南林业大学云南省重点学科资助项目[xkz200906]。

收稿日期:2012-03-20

5 cm处剪下,每个组合取3个处理单株,按不同处理入袋,放入液氮中速冻后带回实验室,用小刀将愈伤组织轻轻刮下,在-80℃冰箱中保存备用。

1.3 项目测定

保护酶活性测定于西南林业大学林学院生理实验室进行。称取葡萄柚愈伤组织0.1 g,放入研钵中,加入适量液氮和石英砂进行研磨,待材料研细后加入2 mL磷酸缓冲液(0.1 mol/L pH 6.0)研磨成匀浆,转入离心管,再分别用1 mL磷酸缓冲液冲洗研钵2次,合并液体,以10 000 r/min冷冻离心15 min,上清液即为酶粗提液,4℃冰箱储存备用。POD酶活性测定采用愈创木酚法^[9],470 nm下测定吸光度值,酶活性大小以1 min吸光度变化值表示;SOD酶活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法^[10],560 nm下测定吸光度值,酶活性值以1 g鲜重酶单位表示;CAT酶活性测定采用H₂O₂法^[11],240 nm下测定吸光度值,酶活性以1 g鲜重叶片1 min内吸光度的降低值表示。

1.4 数据分析

试验数据采用SPSS 16.0进行方差分析及相关性分析,制图采用Microsoft Excel 2007软件进行。

2 结果与分析

2.1 葡萄柚不同砧木嫁接对成活率的影响

由图1可知,采用不同砧木嫁接30 d后葡萄柚成活率差异明显,除美国酸橙砧和枳壳砧成活率之间差异不显著外,其它组合差异均达极显著。其中以“曼赛龙”柚砧组合嫁接成活率最高,达95.45%;其次为枳壳砧组合和美国酸橙砧组合;当地酸柚砧组合嫁接成活率最低,仅为43.48%,比“曼赛龙”柚砧组合少54.44%。方差分析和多重比较显示,“曼赛龙”柚砧组合嫁接成活率与其它组合差异达极显著($P<0.01$),枳壳砧组合与美国酸橙砧组合嫁接成活率差异不显著($P>0.05$)。若不考虑后期不亲和性,认为“哈路比”与“曼赛龙”柚嫁接亲和性最高,其次为枳壳和美国酸橙,当地酸柚最差。

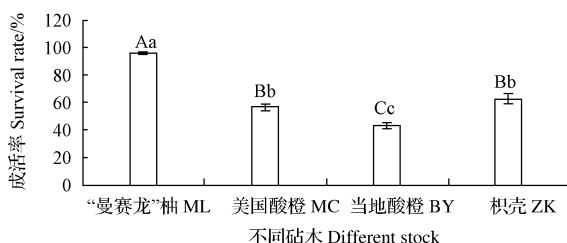


图1 葡萄柚不同砧木嫁接成活率比较

Fig. 1 Compare on different rootstocks on the survival rate of grapefruit

2.2 不同砧木嫁接 POD 酶活性变化规律

由图2可知,除当地酸橙(BY)外,POD活性总体趋势为愈合部>接穗>砧木,且砧木POD活性越高,嫁接

愈合时愈合部位酶活性也较高,说明不同砧木机械损伤后,POD活性同步升高。不同砧木愈合部位酶活性大小依次为“曼赛龙”柚砧(988.4300 U·g⁻¹·min⁻¹)>枳壳砧(855.1990 U·g⁻¹·min⁻¹)>美国酸橙砧(833.3071 U·g⁻¹·min⁻¹)>当地酸柚砧(598.5547 U·g⁻¹·min⁻¹),其大小正好与嫁接成活率大小一致。为进一步分析差异性,将愈合部位POD活性进行方差分析,结果表明,葡萄柚不同砧木嫁接愈合部位POD活性存在差异,其中“曼赛龙”柚砧、枳壳砧、美国酸橙砧与当地酸柚砧之间差异显著($P<0.05$),而“曼赛龙”柚砧、枳壳砧、美国酸橙砧之间差异不显著($P>0.05$)。因此,从POD活性上认为“曼赛龙”柚、枳壳、美国酸橙为“哈路比”优选砧木,而当地酸橙亲和性较差。

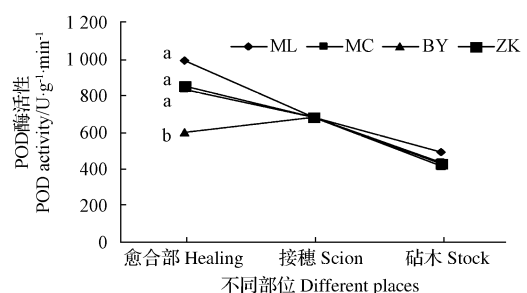


图2 葡萄柚不同砧木嫁接愈合过程 POD 酶活性变化

Fig. 2 Different rootstocks on the healing process of POD activity changes in grapefruit

2.3 不同砧木嫁接 SOD 酶活性变化规律

由图3可知,除“曼赛龙”柚(ML)砧组合嫁接愈合过程中SOD活性大小为愈合部位SOD酶活性>砧木>接穗外,其它组合SOD活性同样遵循愈合部位>接穗>砧木;而不同嫁接组合愈合部位SOD活性大小与砧木SOD活性大小顺序一致,SOD活性同样同步增加,而且增加幅度越大,嫁接成活率也越高。方差分析表明,葡萄柚嫁接时不同砧木其愈合部位SOD酶活性有差异,“曼赛龙”柚砧组合与其它组合差异显著($P<0.05$),美国酸橙砧组合、枳壳砧组合和当地酸柚砧组合之间差异不显著($P>0.05$)。从SOD活性变化规律上,认为“曼赛龙”柚砧组合较其它3个组合较好。

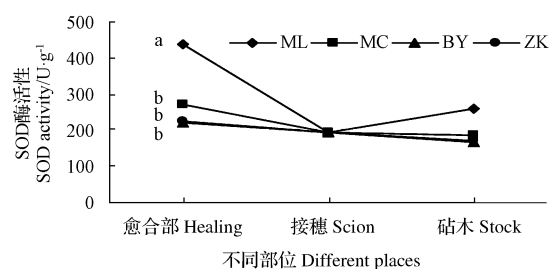


图3 葡萄柚不同砧木嫁接愈合过程 SOD 酶活性变化

Fig. 3 Changes of SOD activity of different rootstocks on the healing process of grapefruit

2.4 不同砧木嫁接 CAT 酶活性变化规律

由图 4 可知,葡萄柚不同砧木嫁接愈合过程 CAT 酶活性变化较一致,除美国酸橙(MC)外,总体趋势为愈合部位 CAT 酶活性较接穗和砧木愈合组织酶活性高;且愈合部酶活性高与嫁接成活率高相吻合,表现为嫁接成活率高的嫁接组合其愈合部 CAT 酶活性也高,即“曼赛龙”柚>枳壳>美国酸橙>当地酸柚,可见愈合部 CAT 酶活性大小与嫁接成活率之间的密切联系;方差分析表明,葡萄柚不同砧木嫁接愈合部 CAT 酶活性差异达显著水平($P<0.05$),说明不同砧木与葡萄柚嫁接时对 CAT 酶影响较大。从 CAT 酶活性水平看出“曼赛龙”柚较其它 3 种砧木更优。

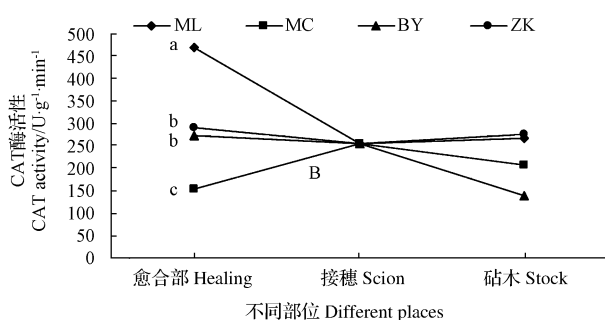


图 4 葡萄柚不同砧木嫁接愈合过程 CAT 酶活性变化

Fig. 4 Changes of CAT activity different rootstocks on the healing process of grapefruit

2.5 不同酶的活性与嫁接成活率相关性分析

由表 1 可知,葡萄柚不同砧穗组合嫁接成活率与 POD、SOD 活性之间呈正相关,相关系数均达 0.81 以上;决定系数依次为 0.81188、0.87240、0.66100,说明此 3 种酶活性大小与嫁接成活率之间的相关程度分别高达 81.12%、87.24%、66.10%。由此证明,愈合部保护酶活性大小可以作为嫁接亲和性的判定因素。

表 1 不同砧木嫁接愈合部酶活性与成活率相关性分析

Table 1 Analysis on the correlation between enzymatic activity and survival rate

指标 Index	相关系数 Correlation coefficient	决定系数 Coefficient of determination	Sig.	F
POD	0.901	0.81188	0.014	6.721*
SOD	0.934	0.87240	0.008	8.142**
CAT	0.813	0.66100	0.000	163.324**

3 讨论与结论

众多学者认为嫁接亲和性是嫁接繁殖能否成功的最基本条件,反之嫁接成活率在很大程度上反映了嫁接的亲合性^[12]。该试验葡萄柚“哈路比”与 4 种砧木嫁接时,嫁接成活率大小依次为“曼赛龙”柚砧>枳壳砧>美国酸橙砧>当地酸柚砧,认为葡萄柚“哈路比”与“曼赛龙”柚嫁接亲和性最高,与美国酸橙和枳壳亲和性一般,

与当地酸柚最差。

植物对逆境的反应是一个复杂的响应机制。正常情况下,植物细胞内自由基的产生与清除处于一种动态平衡,一旦这种平衡被打破,自由基便会积累,当自由基积累到一定程度时,膜内拟脂双分子层中含有的不饱和脂肪酸,易于被自由基氧化分解而造成膜结构的破坏,进而对植物造成伤害^[13]。而植物在处于逆境时并不总是处于被伤害状态,主要通过 POD、SOD 和 CAT 三者协同作用,使自由基维持在一个低水平,从而防止自由基伤害,使需氧生物得以生存^[11]。该试验结果表明,葡萄柚在嫁接愈合过程中,保护酶活性起到了应有的保护作用,表现为愈合部愈合组织酶活性较嫁接愈合前砧、穗愈合组织酶活性高,即愈合部>接穗>砧木;这与苏媛^[14]在黄瓜嫁接研究中结果一致;而愈合部位较高酶活性正好与保护酶在嫁接愈合过程中的系列作用相吻合^[15];就愈合部位酶活性大小与成活率之间的细微关系也可以看出,愈合部酶活较高的组合,其嫁接成活率也相应较高。

从嫁接成活率与愈合部 POD、SOD、CAT 酶活性相关程度达 81.12%、87.24%、66.10%可知,愈合部保护酶活性大小与嫁接成活率一样均可作为嫁接亲和性的判定指标。

参考文献

- [1] 肖桂山,杨世杰. 黄瓜同种异体嫁接组合形成过程中特异蛋白质的产生[J]. 农业生物技术学报,1995,3(2):32-37.
- [2] 陈红,王永清,袁媛,等. 茄子/番茄嫁接体发育过程中的蛋白质含量 POD、CAT 和 SOD 活性及其同工酶研究[J]. 四川农业大学学报,2006,24(2):144-147.
- [3] 张建瑛,杨玲,沈海龙,等. 花椒体细胞发生过程中抗氧化酶活性的变化[J]. 植物生理学通讯,2007,43(2):264-268.
- [4] 刘艳,黄卫东,战吉成,等. 机械伤害和外源茉莉酸诱导豌豆幼苗 H_2O_2 系统性产生[J]. 中国科学(C 辑),2004,34(6):501-509.
- [5] 李贤忠,刘惠民,姜超强,等. 引进葡萄柚营养状况与果实品质的相关性[J]. 经济林研究,2008,26(2):17-22.
- [6] 姜超强,刘惠民. 云南引进葡萄柚品种果实品质评价[J]. 西南林学院学报,2007,27(1):30-32.
- [7] 孟瑜,何承忠,李贾林,等. 葡萄柚 4 种备选砧木遗传关系的 SSR 分析[J]. 中国果树,2009(5):18-21.
- [8] 王瑶,刘惠民,何承忠,等. 葡萄柚不同品种砧穗愈合进程初步观测[J]. 西南林学院学报,2007,27(1):41-44.
- [9] 张治安. 植物生理学实验技术[M]. 长春:吉林大学出版社,2008.
- [10] 刘萍. 植物生理学实验技术[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [11] 朱丽丽. 柑橘应答低温胁迫的生理生化变化[D]. 武汉:华中农业大学,2008.
- [12] 杨世杰,卢善发. 植物嫁接基础理论研究(上)[J]. 生物学通报,1995,30(9):10-12.
- [13] 余叔文,汤章成. 植物生理与分子生物学[M]. 北京:科学出版社,1998:770-778.
- [14] 苏媛,郭金妹,胡彦青,等. 黄瓜嫁接苗愈合过程的解剖观察及过氧化物同工酶分析[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(3):343-347.
- [15] Yan Y, Gao Z, He C Z, et al. Advances in activity of related enzymes during graft healing process of *Citrus paradisi* Macf [J]. Advances Science & Technology, 2011,12(10):1472-1476.

灵武长枣光合作用研究初报

曹 兵¹, 江 莉¹, 李银娣¹, 孙永胜², 苏伟东³

(1. 宁夏大学 农学院, 宁夏 银川 750021; 2. 灵武市林业局, 宁夏 灵武 751400; 3. 灵武市果业开发有限责任公司, 宁夏 灵武 751400)

摘 要:选择灵武长枣 7 a 生幼龄植株和 12 a 生成年植株为研究对象, 采用 CARIS-1 型便携光合测定系统, 测定不同月份灵武长枣幼龄、成年植株光合作用, 研究灵武长枣光合作用的季节变化规律。结果表明: 在整个生长季节内, 灵武长枣的光合作用呈现出明显的月份变化规律, 且幼龄株、成年株的光合作用特性不一; 成年植株的净光合速率(Pn)呈单峰型曲线变化, 最高值出现在夏季 8 月份($12 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$), 而幼龄植株的净光合速率呈双峰型曲线变化, 最高值分别出现在 6 和 8 月份(分别为 7.8 和 $13.9 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$); 气孔导度、蒸腾速率随月份的变化规律与净光合速率的变化规律相同, 但幼株的气孔导度、蒸腾速率明显大于成年植株。成株和幼株水分利用效率的月份变化趋势相似, 5 月最大, 6 月份下降到最低值, 后略有上升。幼株、成株的胞间二氧化碳浓度值在 5~9 月维持在 $150 \sim 250 \mu\text{mol}/\text{mol}$ 。因此, 灵武长枣的光合作用高峰期在 6、8 月, 幼株的光合能力强于成株。

关键词:灵武长枣; 光合作用; 净光合速率; 水分利用效率

中图分类号:S 665.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)11-0011-04

绿色植物通过光合作用将无机物转变为有机物, 将光能转变为化学能, 固定大气中的 CO_2 , 释放 O_2 , 是干物

质生产和积累的重要生理活动, 它直接关系到植物的生长与发育, 对保持自然界的生态平衡、减缓全球气候变化等有着极其重要的意义^[1-3]。光合作用是一个复杂的生物物理化学过程, 受诸多外界环境条件和内部因素的影响^[4-5], 不同种植物、同种植物的不同品种及不同地理起源、同一植物的不同生长发育阶段或生境不同等, 其光合特性均有明显差异^[6-9]。系统测定栽培植物的光合

第一作者简介:曹兵(1970-), 男, 教授, 现主要从事森林培育学及树木栽培生理与城市林业方面的教学与研究工作。

基金项目:宁夏自然科学基金资助项目(NZ0702); 宁夏科技攻关国际合作资助项目; 宁夏留学人员创新创业资助项目。

收稿日期:2012-03-19

Analysis on the Correlation Between the Grafting Affine of Different Stock and Protection of Enzyme Activity in Grapefruit

YAN Yi^{1,2}, ZHANG Nan-xin¹, HE Cheng-zhong¹, LI Xian-zhong¹

(1. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan 650224; 2. Kunming City Haikou Forestry Farm, Kunming, Yunnan 650114)

Abstract: With 'Hudson' for a scion, grafted onto root stock of *Citrus grandis* var. 'mansailong', *C. aurantium* Linn, *C. grandis aurantium*, *Poncirus trifoliata* (Linn.) Raf respectively, discussed affinity in the process of grafting interspecific of different grapefruit stock and the correlation with protect enzyme activity, the change law of enzyme activity during the healing process of graft and the relationship with survival rate in grafting were studied. The results showed that 'Hudson' with four than the root stock grafting the healing process three protective enzyme activity for healing the change trend of healing of the ministry>scion>stock; The healing the combination of enzymatic activity was higher, the graft survival rate was corresponding higher; The correlation analysis found that healing department protection enzyme activity size and graft survival rate were the same as grafting the judgement of interspecific index; Comprehensive many index think, grapefruit 'Hudson' and *Citrics grandis* var. 'mansailong' grafting affine was highest, the *C. aurantium* Linn and *Poncirus trifoliata* (Linn) Raf. affine was general, *C. grandis aurantium* was the worst.

Key words: grapefruit; stock; graft; affinity; protective enzyme activity