

梨不同嫁接组合嫁接愈合过程中生理动态变化研究

孙华丽, 宋健坤, 李鼎立, 王然

(青岛农业大学 园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘要:以亲和性不同的2种嫁接组合‘鸭梨/豆梨’、‘OHF51/豆梨’为试材,研究了嫁接口部位在嫁接愈合过程中其多酚氧化酶(PPO)活性、苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性、酚类物质含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、木质素含量等指标的变化情况,以期探究梨嫁接亲和的机理。结果表明:2个嫁接组合的PPO、PAL活性变化趋势基本一致,嫁接亲和性较好的‘鸭梨/豆梨’组合的PPO和PAL活性最高峰值均高于亲和性较差的‘OHF51/豆梨’组合;2个组合的多酚含量相近,且变化趋势基本相同,在愈合过程中总体呈下降趋势;‘鸭梨/豆梨’组合的可溶性糖含量在愈合过程前期高于‘OHF51/豆梨’组合,但后期下降较快;2个组合的可溶性蛋白含量的变化趋势基本一致,总体呈现先升高后降低的过程,嫁接愈合后期基本恢复到初始水平;‘鸭梨/豆梨’组合木质素含量在嫁接愈合初期是逐渐升高的,后期下降后上升。而‘OHF51/豆梨’嫁接组合在嫁接前期木质素含量一直呈下降趋势,后期木质素含量逐渐升高。

关键词:梨; 嫁接亲和性; 愈合过程; 生理动态变化

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2013)16—0025—05

梨砧木的嫁接亲和性是衡量梨砧木好坏的重要指标,也是生产上影响梨砧木推广使用的限制因子之一。梨嫁接亲和性受到遗传、解剖结构、生长特性、生理生化、环境条件等多种因素的影响,是一个非常复杂的生物学过程,因此,嫁接亲和性的机理研究一直难以解决,是嫁接领域研究的难点^[1]。梨嫁接亲和性与嫁接愈合过程密切相关,嫁接亲和性好的组合通常愈合良好,恢复生长迅速,而嫁接不亲和的组合则成活困难,因此,对砧穗嫁接愈合过程机制的研究可以进一步加深人们对嫁接亲和性机理的认识。目前对梨嫁接亲和机制的研究主要集中在形态解剖学、生理生化机制等方面。如Francescato等^[2]对41个5 a生西洋梨和桲砧穗组合从干周和外部形态等方面进行嫁接亲和性评价。Espen等^[3]以榅桲(EMC)作砧木,分别嫁接西洋梨品种‘Butirra Hardy’(BH)和‘Bosc’(B),对其节间结构的差异进行了比较研究,发现与亲和的组合BH/EMC、B/B、BH/BH相比,不亲和的组合B/EMC节间融合缓慢,同化产物山梨醇转运速度降低,韧皮部连通延迟,结合部导管分子的分化明显落后于其它组合,这可能与参与导管形成的

细胞程序化死亡过程不活跃有关。Gulen等^[4]研究了嫁接亲和与不亲和的西洋梨/榅桲组合的过氧化物同工酶谱,发现了有些特殊谱带与亲和性密切相关,可以作为筛选砧穗亲和组合的标记。Musacchi等^[5]则发现类黄酮类物质如儿茶素和表儿茶素含量的升高可以作为西洋梨与榅桲不亲和的一个标志。Musacchi等^[6]发明了一种通过离体茎段嫁接研究不亲和性的方法,用这种方法将“哈代”和“博斯克”2个品种分别嫁接在榅桲MC和OHF40上,通过对亲和与不亲和组合在嫁接后2、4、8、15和30 d的解剖观察,发现亲和的组合嫁接口愈伤组织生长旺盛。Musacchi等^[7]比较了嫁接在砧木BA29和OHF333上西洋梨品种中过氧化物酶、多酚氧化酶和IAA氧化酶的活性差异,发现不亲和组合中过氧化物酶的活性有明显的升高。因国外梨生产上以种植西洋梨为主,榅桲是西洋梨的主要砧木,目前有关梨嫁接亲和性的研究多集中在西洋梨与榅桲之间,国内的相关报道很少。豆梨是我国梨栽培的主要砧木之一,该研究通过对以豆梨为砧木的不同砧穗组合嫁接愈合过程中的生理指标的动态变化进行研究,初步探讨梨嫁接亲和性机理,以期为梨砧穗嫁接亲和性的早期预测和砧木选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为亲和性不同的2个嫁接组合,分别为‘鸭梨/豆梨’、‘OHF51/豆梨’。2012年3月中下旬,在

第一作者简介:孙华丽(1986-),女,硕士研究生,研究方向为梨树砧木育种。

责任作者:王然(1960-),女,博士,教授,研究方向为梨树育种。
E-mail:quauwr@126.com

基金项目:国家现代梨产业技术体系资助项目(nycytx-29-06)。

收稿日期:2013-04-08

青岛农业大学温室大棚的营养钵内定植2 a 生的豆梨实生苗砧，在田间取3 a 生的鸭梨和OHF51枝条作为接穗，分别嫁接在豆梨砧木上，采用切腹接枝接，每个嫁接接穗上带1~2个芽，每个组合嫁接150株左右。

1.2 试验方法

从嫁接后6 d开始取样，取样部位为嫁接口上下1.5 cm左右茎段，用冰桶带回实验室，剪碎，用液氮冷冻，保存，-70℃超低温冰箱中备用。每个组合每次随机采样3株，重复3次，以后每隔1个星期取样1次，共取样8次，直到嫁接口已经完全愈合。每处理重复3次，液氮速冻研磨，离心，提取上清液，最后于紫外分光光度计下测定各指标的吸光值。

1.3 项目测定

多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定采用比色法^[8]；酚类物质含量测定采用Folin-ciocalteus法^[9]；可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法^[10]；可溶性蛋白质含量测定采用考马斯亮蓝G-250染色法^[10]；木质素含量测定采用比色法^[11]。

1.4 数据分析

采用Microsoft Excel软件进行数据处理和绘图，用DPS软件进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 2种嫁接组合成活率的比较

嫁接成活率在一定程度上反映了嫁接亲和性的高低，由表1可以看出，‘鸭梨/豆梨’组合的嫁接成活率较高，为93.8%，而‘OHF51/豆梨’组合的嫁接成活率较低，为87.5%，说明‘鸭梨/豆梨’组合的嫁接亲和性要高于‘OHF51/豆梨’组合，田间调查结果也显示3 a 生的‘鸭梨/豆梨’组合嫁接口平滑，砧穗粗度基本一致，而‘OHF51/豆梨’组合嫁接口下周长要小于嫁接口上周长，表现出明显的“小脚”现象。

表1 不同砧穗组合嫁接成活率

Table 1 Survival rate of different graft and rootstock combinations

嫁接组合 Grafting combination	成活率 Survival rate/%
‘鸭梨/豆梨’	93.8
‘OHF51/豆梨’	87.5

2.2 2种嫁接组合酶活性变化

2.2.1 2种嫁接组合多酚氧化酶(PPO)活性变化 PPO是植物体内重要的保护酶，能催化多酚类物质氧化形成醌，而醌参与保护植物免受进一步的伤害，暴露的细胞常常呈现较高的PPO活性。由图1可以看出，总体上‘鸭梨/豆梨’嫁接口与‘OHF51/豆梨’嫁接口的PPO活性变化趋势基本一致。在嫁接愈合前期PPO活性变化比较平缓，从嫁接后的35 d开始PPO活性开始迅速增高，其最高峰出现在嫁接后的49 d，随后下降。在这一

过程中‘鸭梨/豆梨’组合PPO活性的增长幅度较大，在最高峰时，其PPO活性明显高于‘OHF51/豆梨’组合。说明嫁接后期，PPO活性的增高有利于植物自我保护能力的加强，清除酚类物质在植物体内的毒害，对细胞活动是有利的。

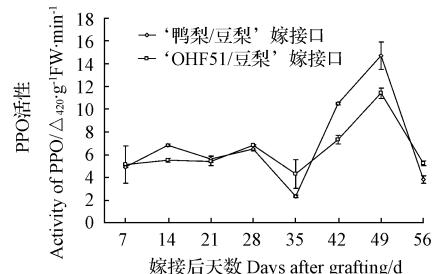


图1 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中PPO活性变化

Fig. 1 PPO activity changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

2.2.2 2种嫁接组合苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性变化

PAL位于苯丙酸途径的入口，参与愈伤组织细胞分化、木质素合成及管状分子的分化。由图2可以看出，2种嫁接组合的PAL活性总的变化趋势基本一致，呈现出先降低，再逐渐升高，而后下降的趋势。‘鸭梨/豆梨’组合PAL的最高峰出现在嫁接后的49 d，而‘OHF51/豆梨’组合最高峰出现在嫁接后的28 d。嫁接前35 d 2种嫁接组合的嫁接口的PAL活性平均值分别为57.1、56.6 U·g⁻¹·h⁻¹，差异不明显。但在嫁接后期‘鸭梨/豆梨’组合嫁接口的PAL活性一直高于‘OHF51/豆梨’组合。

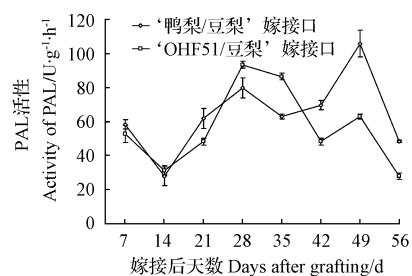


图2 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中PAL活性变化

Fig. 2 PAL activity changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

2.3 2种嫁接组合多酚类物质含量比较

多酚类物质能使愈伤组织对生长促进类物质无反应和降低维管束的分化^[12]。从图3可以看出，2种组合嫁接口的多酚含量变化趋势基本一致，总体呈下降趋势，2种组合的酚类物质含量差异不显著。在嫁接愈合前期，‘鸭梨/豆梨’组合的酚类物质含量略高于‘OHF51/豆梨’组合，而在愈合的后期‘鸭梨/豆梨’组合的酚类物质含量又略低于‘OHF51/豆梨’组合，且下降明显。在嫁接49 d后，‘鸭梨/豆梨’组合嫁接口的多酚

含量呈下降趋势,而‘OHF51/豆梨’组合的多酚含量呈上升趋势。多酚物质含量的下降说明嫁接口愈合良好,过多的酚类物质会使嫁接口形成隔离层,不利于嫁接口的愈合。

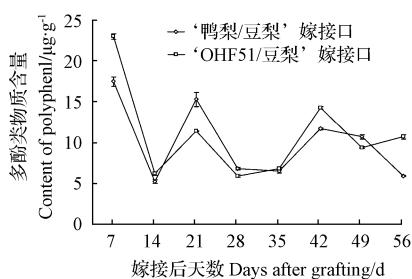


图3 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中多酚类物质含量变化

Fig. 3 Polyphenol content changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

2.4 2种嫁接组合可溶性糖含量比较

可溶性糖作为重要的渗透调节物质,在植物抗逆过程中,可以保持原生质体与环境的渗透平衡,以防止由于原生质体的水分散失而造成的原生质发生不可逆转的凝胶化。从图4可以看出,‘鸭梨/豆梨’组合在嫁接愈合的前35 d,可溶性糖含量变化比较平缓,波动幅度不大,从35 d以后迅速升高,42 d时达到最高值,而后又下降;而‘OHF51/豆梨’组合的可溶性糖含量呈先缓慢下降,再逐渐上升的趋势,最高值出现在嫁接愈合后的56 d。在愈合的大部分时期,‘鸭梨/豆梨’组合的可溶性糖含量都要高于‘OHF51/豆梨’组合。表明嫁接体的可溶性糖含量在嫁接口愈合过程中可能起重要作用。

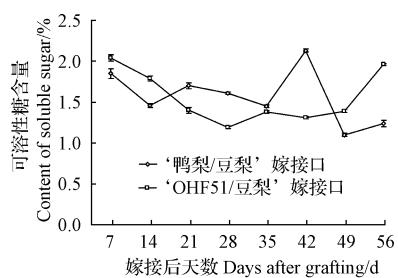


图4 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中可溶性糖含量变化

Fig. 4 Soluble sugar content changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

2.5 2种嫁接组合可溶性蛋白含量比较

由图5可以看出,2种组合可溶性蛋白含量的变化趋势基本一致,总体呈现升高、下降、再升高、再下降的过程,在整个嫁接体愈合过程中出现2次高峰,第1次小高峰出现在嫁接后21 d,而后在嫁接后35 d出现另外1次高峰,在嫁接体愈合的后期,可溶性蛋白的含量迅速下降,基本恢复到正常水平。在嫁接口愈合的整个期间,2个组合的可溶性蛋白含量差异不大,在前期‘鸭梨/豆梨’组合要略高于‘OHF51/豆梨’组合,而在后期,

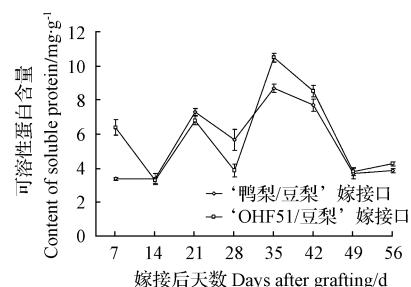


图5 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中可溶性蛋白含量变化

Fig. 5 Soluble protein content changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

‘鸭梨/豆梨’组合又略低于‘OHF51/豆梨’组合。

2.6 2种嫁接组合木质素含量比较

木质素是维管束的主要成分,而嫁接体的发育是一个以维管束功能恢复为主的砧木和接穗间结构和功能重构贯通的过程,因此木质素在此过程中起到决定性作用。由图6可以看出,在愈合的初期,‘鸭梨/豆梨’组合的木质素含量逐渐升高,在嫁接后的35 d出现下降,42 d的时候又开始逐渐上升;而‘OHF51/豆梨’组合的木质素含量在嫁接前35 d都是逐渐下降的,从35 d以后才逐步升高。说明‘鸭梨/豆梨’组合嫁接口木质素的合成和积累要早于‘OHF51/豆梨’组合。

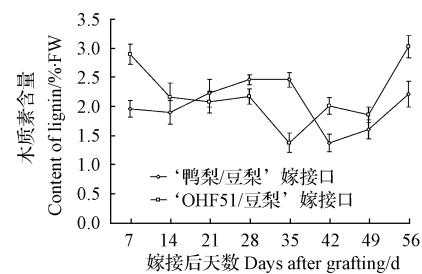


图6 2种嫁接组合嫁接口愈合过程中木质素含量变化

Fig. 6 Lignin content changes of 2 graft combinations during the grafted healing process

3 结论与讨论

嫁接体的愈合过程是一个复杂的动态变化过程,其实质是砧穗愈伤组织的产生、对接、愈合、维管束鞘的形成与分化,砧、穗结合成一体的整体过程^[13],在这个过程中各种生理指标都会发生变化。砧穗的愈合过程与砧穗之间的亲和性密切相关。亲和性的判断标准有很多,杨世杰等^[14]认为嫁接成活率在很大程度上反映了嫁接亲和性,在该试验中‘鸭梨/豆梨’组合的成活率明显要高于‘OHF51/豆梨’组合,说明‘鸭梨/豆梨’组合的亲和性要好于‘OHF51/豆梨’,这与在田间的观察结果也基本一致。

PPO 和 PAL 都是与嫁接愈合有关的重要酶类。PPO 除了能催化多酚类物质氧化形成醌,参与植物的保

护外,还是细胞中线粒体外末端氧化酶之一,参与呼吸及细胞壁木质素合成。PAL 位于苯丙酸途径的入口,是苯丙氨酸代谢途径的关键酶和限速酶,其主要分布于近表皮的细胞和维管组织中,参与愈伤组织细胞分化、木质素合成及管状分子的分化。在该试验中,这 2 种酶在嫁接口愈合期间都有一个上升的过程,这与西瓜嫁接体发育的酶活性变化趋势基本一致^[15]。该试验还发现嫁接亲和性较好的‘鸭梨/豆梨’组合这 2 种酶的最高峰值上都要高于亲和性较差的‘OHF51/豆梨’组合,说明这 2 种酶在嫁接愈合过程中发挥了重要作用,在亲和性较好的组合其酶活性也较高。

植物体内的多酚物质是受生物和非生物胁迫如紫外线辐照、高光、低温、创伤、营养不良、病原体侵袭等诱导而产生的,用以适应外界环境^[16]。酚类物质通过促进和抑制生长素的运输,影响着接穗与砧木的生长素水平,表现为嫁接亲和力受到影响。该试验中 2 个组合中的多酚在嫁接愈合过程中都总体呈现下降趋势,其变化趋势基本相同,含量也相差不大。说明其含量变化与嫁接亲和性的关系不大。这与郭大勇等^[17]在板栗嫁接上的研究结果一致,其认为日本栗嫁接在板栗上亲和力低,与酚类物质含量无直接相关,而与砧穗酚类物质的含量差异相关。

可溶性糖是光合作用的直接产物,也是植物体内多糖、蛋白质、脂肪等大分子化合物合成的物质基础,是碳水化合物代谢和暂时贮藏的主要形式,在植物碳代谢中占有重要位置。该试验中可溶性糖的含量有一个先下降后上升的趋势,这与核桃子苗砧嫁接体的研究结果一致^[18],而与油茶芽苗砧嫁接体的结果不同^[13],这可能与嫁接前的处理有关。该试验嫁接愈合过程中‘鸭梨/豆梨’组合的可溶性糖含量高于‘OHF51/豆梨’组合,且最高峰也比‘OHF51/豆梨’组合出现的早,说明‘鸭梨/豆梨’组合嫁接体愈合开始较早,生理活动也较旺盛。

该试验中可溶性蛋白的变化趋势总体呈现先升高后降低的过程,这与陈红等^[19]在番茄与茄子嫁接初期可溶性蛋白含量的变化基本一致。可溶性蛋白的积累与细胞的分裂活动有关,嫁接口的愈合需要更多的营养物质和能量,蛋白质在生命活动极为旺盛的嫁接口附近积蓄越多,越能增进嫁接后细胞分裂和愈伤组织的形成。

木质素在嫁接愈合过程中发挥重要作用,是嫁接口维管组织分化的前提。该试验中‘鸭梨/豆梨’组合木质素含量在嫁接愈合初期是逐渐升高的,这与西瓜嫁接体木质素的变化趋势一致^[15],说明嫁接口愈合良好,细胞分裂分化正常;而‘OHF51/豆梨’嫁接组合在嫁接前期木质素含量一直呈下降趋势,这可能与嫁接口愈合不

良,细胞发育迟缓有关,后期随着嫁接口的逐渐愈合,木质素含量也开始逐渐升高。

参考文献

- [1] 罗正荣,李春根,蔡李鸿.嫁接及其在植物繁殖和改良中的作用[J].植物生理学通讯,1996,32(1):59-63.
- [2] Francescatto P, Pazzin D, Gazolla Neto A, et al. Evaluation of graft compatibility between quince rootstocks and pear scions[J]. Acta Horticulturae, 2010,872:253-260.
- [3] Espen L, Cocucci M, Sacchi G A. Differentiation and functional connection of vascular elements in compatible and incompatible pear/quince inter-node micrografts[J]. Tree Physiology,2005,25:1419-1425.
- [4] Gulen H, Arora R, Kuden A, et al. Peroxidase isozyme profiles in compatible and incompatible pear-quince graft combinations[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science,2002,127(2):152-157.
- [5] Musacchi S, Pagliuca G, Kindt M, et al. Flavonoids as markers for pear-quince graft incompatibility[J]. Journal of Applied Botany,2000,74:206-211.
- [6] Musacchi S, Ganino T, Grassi S, et al. Grafting in vitro shoots on acclimating plants: morphological and anatomical aspects of compatible and incompatible pear/quince combinations[J]. Acta Horticulturae,2004,658(2):559-563.
- [7] Musacchi S, Masia A, Fachinello J. Variation of some enzymatic activities in relationship to scion/stock compatibility in pear/quince combinations[J]. Acta Horticulturae,2002,596:389-392.
- [8] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [9] 李静,聂继云,李海飞,等.林酚法测定水果及其制品中总多酚含量的条件[J].果树学报,2008,25(1):126-131.
- [10] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [11] Sancho M A, Forchets M, Pliego, et al. Peroxidase activity and isoenzymes in the culture medium of NaCl adapted tomato suspension cell[J]. Plant Cell Tissue Organ Culture,1996,44:161-167.
- [12] Nakashima J, Washington T, Cheng G, et al. Immunocyto-chemical localization of phenylalanine ammonialyase and cinnamyl alcohol dehydrogenase in differentiating tracheary elements derived from Zinnia mesophyll cells[J]. Plant Cell Physiology,1997,38(2):113-123.
- [13] 冯金玲,杨志坚,陈辉,等.油茶芽苗砧嫁接体的亲和性生理[J].福建农林大学学报(自然科学版),2011,40(1):24-30.
- [14] 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.
- [15] 杨冬冬,黄丹枫.西瓜嫁接体发育中木质素合成及代谢相关酶活性的变化[J].西北植物学报,2006,26(2):290-294.
- [16] Xu G Q, Zhang Z H, Guo A Q, et al. Progress on the stress-resistant ecological function of plant polyphenols[J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin,2011,31(2):423-430.
- [17] 郭大勇,谭琪,夏仁学.日本栗/板栗酚类物质含量与嫁接亲和力关系研究[J].华中农业大学学报,2004,23(3):341-343.
- [18] 周华,董凤祥,曹炎生,等.核桃子苗砧嫁接及相关生理指标的研究[J].林业科学研究,2007,20(1):53-57.
- [19] 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.

“红露”苹果品种特性及果实生长动态观察

张振英, 宋来庆, 于青, 刘美英, 赵玲玲, 姜中武

(烟台市农业科学研究院, 山东 烟台 265500)

摘要:以“红露”苹果为试材,调查和记录了其在烟台地区的品种特性,并对果实的生长发育动态进行了观察。结果表明:“红露”苹果在烟台采收时果实可溶性固形物含量为13.5%,果肉去皮硬度为8.16 kg/cm²,汁丰脆甜。在烟台地区“红露”果实发育前期,纵径长度大于横径长度,为“红露”果实细胞旺盛分裂期。6月以后果实细胞进入膨大期,横径增长速度大于纵径,果形指数逐步下降,7月份以后果形指数趋于稳定。

关键词:“红露”苹果;纵横径;生长动态;果形指数;动态观察

中图分类号:S 661.1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)16-0029-04

“红露”苹果是韩国育成的中熟品种^[1-2],具有早果、丰产、色艳、果个大、极耐贮运和抗逆性强等特性,发展

第一作者简介:张振英(1962-),女,本科,农艺师,现主要从事果树育种和栽培技术等研究工作。E-mail:ytgsbjb@163.com。

责任作者:姜中武(1960-),男,博士,研究员,硕士生导师,现主要从事果树育种和栽培技术等研究工作。E-mail:jiangzhongwu@163.com。

基金项目:国家现代苹果产业技术体系专项经费资助项目(CARS-28)。

收稿日期:2013-04-15

前景良好^[3-4];不同砧树高位嫁接“红露”品种对果实的香气成分的具体种类有较显著影响^[5]。“红露”苹果属短枝型品种,采前无落果现象,适时采收可以减轻苦痘病的发生^[6]。“红露”叶片较大,但属于不抗旱类型的品种^[7]。生产上发现,无袋栽培比有袋栽培果实着色更好。对“红露”果实生长动态目前尚鲜见研究,该试验调查和记录了其在烟台地区的品种特性,并对果实的生长发育动态进行了观察。

Study on the Physiological Dynamic Change of Different Graft Combinations in Pear During the Grafted Healing Process

SUN Hua-li, SONG Jian-kun, LI Ding-li, WANG Ran

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking two different graft combinations of ‘Yali/P. calleryana Dcne’ and ‘OHF51/P. calleryana Dcne’ as materials, the physiological dynamic change including polyphenol oxidase (PPO) and phenylalanine ammonialyase (PAL) activity, polyphenol, soluble sugar, soluble protein and lignin content during graft healing process were studied, in order to explore the mechanism of graft compatibility. The results showed that the change trend of activity of PPO and PAL were basically the same. The highest peak value of PPO activity and PAL in ‘Yali/P. calleryana Dcne’ combination with a good affinity were higher than that in ‘OHF51/P. calleryana Dcne’ combination with a poor affinity; the polyphenol content in two combinations showed declining trend on the whole with a similar change curve and there was no sensible difference in content between two combinations; the soluble sugar content in ‘Yali/P. calleryana Dcne’ combination was higher than that in ‘OHF51/P. calleryana Dcne’ combination during most of the period, but declined rapidly at the late stage; the change trend of soluble protein content in two combinations was basically the same and showed the process of first increased and then decreased, at the late stage of healing process, recovered to the normal level; the lignin content in ‘Yali/P. calleryana Dcne’ combination was gradually increased at early stage of graft healing process, while in ‘OHF51/P. calleryana Dcne’ combination, the lignin content had been declining at first stage, then gradually increased at late stage.

Key words: pear; graft compatibility; healing process; physiological dynamic change