

电热温床处理无花果硬枝扦插生根的植物激素水平分析

李金平¹ 柴丽娟¹ 董元元² 张文¹ 马会勤^{1*}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193;

2. 北京市顺义区果树产业学会, 北京 101300)

摘要 为探寻电热温床催根的生理和分子生物学机制,以无花果一年生枝为材料,筛选与电热温床处理促生根效果近似的吲哚丁酸(IBA)处理条件,比较插条生根过程中主要内源激素水平的变化。结果表明:500 mg/L IBA 浸泡插条基部与 2 h 与 28 ℃ 电热温床处理 12 d 的促生根效果相似。插条基部组织激素水平测定显示,IBA 和电热温床处理均能在处理开始后 0~10 d 快速而显著地提高样品中吲哚丁酸(IAA)和玉米素(ZR)的浓度;与 IBA 处理相比,电热温床处理显著提高了早期样品中的脱落酸(ABA)浓度;不同处理和对照样品中的赤霉素(GA)含量在 0~10 d 差别不大,后期以 IBA 处理的样品中的 GA 含量最高。研究结果显示在启动硬枝扦插生根的激素响应模式上,电热温床和 IBA 处理既有共同点,又存在独特性。

关键词 无花果;硬枝扦插;内源激素;生根

中图分类号 S 615

文章编号 1007-4333(2014)04-0081-05

文献标志码 A

Change of endogenous plant hormone levels in fig hardwood cuttings during rooting process induced by electric hotbed

LI Jin-ping¹, CHAI Li-juan¹, DONG Yuan-yuan², ZHANG Wen¹, MA Hui-qin^{1*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Beijing Shunyi Fruit Industry Association, Beijing 101300, China)

Abstract Hardwood cutting is one of the most important materials in vegetative propagation of fruit and forest trees. Electric hotbed treatment is a widely used method in prompting adventitious root formation of the hardwood cuttings. However, the mechanism of this process is not yet well elucidated physiologically and molecular biologically. In the present study, we recruited hotbed and IBA treatment conditions which could lead to the similar rooting results of one year old fig (*Ficus carica* L.) hardwood cuttings and compared the hormone levels during the rooting process. The results demonstrated: eminent and comparable rooting results were gained from treating the cuttings 12 days on hotbed and soaking the lower end of the cuttings in 500 mg/L IBA for 2 hours. Plant hormone assay showed that IAA and zeatin level in the lower end tissue of the cuttings were significantly up-regulated in hotbed and IBA treatments; samples of hotbed treated cuttings were of remarkable higher abscisic acid content than that of IBA treatment in the early stage of the rooting process; there was no significant difference on gibberellin level between the two treatments during 0 - 10 DAT, while in the late stage of the process samples from IBA treatment has the highest gibberellin level. Our study revealed that hotbed and IBA treatment caused many in common in the plant hormone response model in cuttings, at the same time hotbed treatment has its uniqueness. The results lay grounds for further mechanism study on hotbed treatment led rooting response of fig cuttings.

Key words figs (*Ficus carica* L.); hardwood cuttings; endogenous hormones; rooting

收稿日期: 2013-11-10

基金项目: 北京市教育委员会共建项目专项资助

第一作者: 李金平, 硕士研究生, E-mail: lijinpings20070795@163.com

通讯作者: 马会勤, 教授, 主要从事葡萄与无花果研究, E-mail: hqma@cau.edu.cn

无花果(*Ficus carica* L.)属桑科(Moraceae)无花果属(*Ficus*),亚热带落叶灌木或小乔木,原产于地中海沿岸,因其花隐生于囊状花托内,为隐头花序,故名无花果。无花果在我国主要栽培地区为新疆、山东、江苏、浙江和四川等地,全国无花果种植面积2003年已超过3 500 hm²[1]。因无花果具有滋补、保健功效,被誉为“21世纪人类健康的守护神”[2],鲜食无花果也是国际上新兴的超级水果之一,鲜食无花果越来越受到消费者的重视,拉动了在全国各地的栽培推广。

扦插是果树和林木树种常用的无性繁殖方式,具有繁殖效率高、成苗快、成本便宜等优势。为提高硬枝扦插的生根率和成活率,生产中主要通过吲哚丁酸(IBA)和电热温床处理等方式来促进插条的生根。IBA处理作为促进扦插生根的常用方法,常通过溶液浸泡或高浓度速蘸的方法实施,其作用机理研究较为深入,包括不同激素之间的串活和相互作用[3],以及生长素诱导的早期响应基因的表达[4-5]。电热温床通常采用25~28℃对硬枝插条的基部进行2周左右的热处理,起到促进扦插生根的作用。不同的果树和林木树种对电热温床和IBA等生根激素的响应不同,无花果为较易扦插生根的树种,但不同的品种类型也存在差异。

目前围绕内源激素与扦插生根的关系,已有大量的研究工作[5-6],但对电热温床促进无花果扦插生根的研究均侧重于实际运用,鲜有作用机理解析,关于电热温床处理生根过程中的内源激素变化研究也尚属空白。本研究以无花果一年生枝为扦插试材,优化筛选了与电热温床催根效果相似的IBA处理条件,并在此基础上分别对电热温床和IBA处理的无花果插条基部在扦插生根过程中吲哚丁酸(IAA)、玉米素(ZR)、脱落酸(ABA)和赤霉素(GA)的含量变化进行了测定分析,旨在为探讨电热温床促进无花果硬枝扦插的生根机制提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试无花果品种为布兰瑞克(*F. carica* L. cv. Branswick),选取发育充实的一年生枝,剪成15 cm左右、带2~3个芽的插条,上端距芽约2 cm平剪,下端剪成45°~50°斜面。按照生产中常规方式,将剪好的插条用800倍的多菌灵溶液进行2 h杀菌处理。

1.2 方法

试验分2年进行。2012年3月进行电热温床催根处理和IBA处理条件的筛选。在此基础上,于2013年3月进行内源激素变化的测定分析。

2012年3月,分别用电热温床催根和不同浓度IBA溶液处理里无花果插条,并以清水处理作对照,总共11个处理。电热温床催根处理按照前人[1]文献设置温度为28℃,基质为蛭石,插条绑成10根一捆,插入电热温床约10 cm,环境气温约为8~17℃,插条经电热温床催根12 d;IBA处理分别采用100和500 mg/L的IBA溶液处理插条基部2 min、2 h和12 h,用1 000 mg/L的IBA溶液处理插条基部2 s、2 min和12 min;清水处理2 h作对照。每处理30个插条,3次重复,随机区组排列。处理结束后插条扦插于营养钵中,基质草炭:蛭石质量比为2:1。营养钵中基质夜温约为12.7℃,日温约为20.2℃,日常浇水管理。处理开始后45 d统计插条的生根率、平均生根数和平均根长。

2013年3月,按照优选的催根方案,设3个处理,分别为用500 mg/L浓度的IBA溶液处理插条基部2 h,用电热温床(28℃)催根处理(HT)12 d,并以清水处理作对照,处理结束后插条扦插于营养钵中,基质与2012年相同,每个处理300个插条。从处理开始起0~45 d,每5 d取样1次。剥取距插条基部1~4 cm范围内的枝皮,充分剪碎、混匀,保存于-20℃低温冰箱中备用。每次取样每个处理取30根插条的混合材料,每个混合材料取3组样分别测定内源激素含量。内源激素的测定采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)[7]。

生根期间,结合取样观察统计愈伤组织开始发生的时期、不定根产生的时期和不定根大量产生时期。试验数据采用DPS软件和Origin进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对无花果扦插生根的影响

为了研究电热温床催根的生理机制,在与IBA处理进行内源激素水平比较之前,需要筛选合适的IBA处理条件,以便获得与电热温床处理相似的实际催根效果,从而为相关的生理比较奠定基础。不同IBA浓度和处理时间的组合表明,1 000 mg/L处理12 min的插条生根效果极显著低于对照和其他处理,说明这个浓度时间组合已经超过了促进生根的适宜范围,对‘布兰瑞克’的扦插生根产生了抑制作用;在

各处理组合中,500 mg/L IBA 浸泡 2 h 和电热温床 (28 ℃) 催根处理后的插条生根效果最佳,生根率分别为 97.78% 和 95.56%, 极显著高于其他处理,2 个处理的插条的平均总根长(平均生根数×平均根长)

也与其他处理达到极显著水平差异,分别为 199.53 和 202.64 cm。说明 28 ℃ 电热温床催根和 500 mg/L IBA 浸泡 2 h 处理对促进‘布兰瑞克’扦插生根的效果最佳,并且最终效果具有较好的可比性(表 1)。

表 1 不同处理对无花果硬枝扦插生根的影响

Table 1 Effects of different treatments on the rooting of Fig hardwood cuttings

处理 Treatment	时间 Time	生根率/% Rooting rate	平均生根数/条 Average number of root	平均根长/cm Average length of root
100 mg/L	2 min	58.89±1.11 fG	5.23±0.89 fE	5.00±0.16 bB
	2 h	68.89±2.22 eF	13.23±1.78 eD	4.72±0.27 bcdBC
	12 h	91.11±1.11 bBC	26.57±1.71 cdC	5.05±0.18 bB
	2 min	77.78±1.11 dE	23.43±2.47 dC	4.85±0.04B bcBC
500 mg/L	2 h	97.78±1.11 aA	45.87±1.66 aA	4.35±0.16 deCDE
	12 h	86.67±1.92 cCD	30.23±2.28 bcBC	4.68±0.23 bcdBCD
	2 s	87.78±1.11 bcCD	27.80±2.11 cdBC	4.46±0.12 cdeBCD
1 000 mg/L	2 min	84.44±1.11 cD	29.20±2.65 bcBC	4.11±0.11 efDE
	12 min	52.22±2.22 gH	7.57±1.53 fDE	3.78±0.03 fE
HT(28 ℃)	12 d	95.56±1.92 aAB	34.00±1.83 bB	5.96±0.12 aA
CK	2 h	57.78±1.92 fGH	5.53±0.95 fE	4.82±0.08 bcBC

注:同列数据后不同小写字母表示 0.05 差异水平显著;大写字母表示 0.01 差异水平显著。

Note: Capital and small letters mean significances at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

2.2 无花果插条生根过程中的形态变化

分阶段取样观察的结果表明,‘布兰瑞克’插条不定根的形成时间因处理而异,IBA 处理和对照插条的生根时间节点无差异,插条扦插后 15 d 剪口出现愈伤组织,25 d 时产生不定根,30 d 时大量产生不定根;而经 28 ℃ 电热温床催根处理的插条 10 d 时剪口已大量出现愈伤组织,15 d 时产生不定根,25 d 时大量产生不定根,均早于对照和 IBA 处理(图 1)。

2.3 不同处理对无花果插条中内源激素含量的影响

2.3.1 IAA

IAA 是一种生长素,其时空分布影响着侧根是否产生和产生的具体位置^[8-9]。本试验结果表明,经电热温床和 IBA 处理的插条基部组织中 IAA 的含量一直显著高于对照,到处理后 45 d,这种差异才消失(图 2)。经电热温床处理的插条材料中的 IAA 含量上升快,在 5 d 时分别比 IBA 处理和对照样品高 13.9% 和 30.6%,最高含量和次高含量出现的时间也较 IBA 处理和对照提前,这与催根处理插条的愈伤组织形成和不定根产生早于 IBA 处理和对照的观察结果相一致。处理后 10 d,电热温床和 IBA 处理的插条中的 IAA 含量水平接近,而处理后 15 d,电热温床处理的材料中

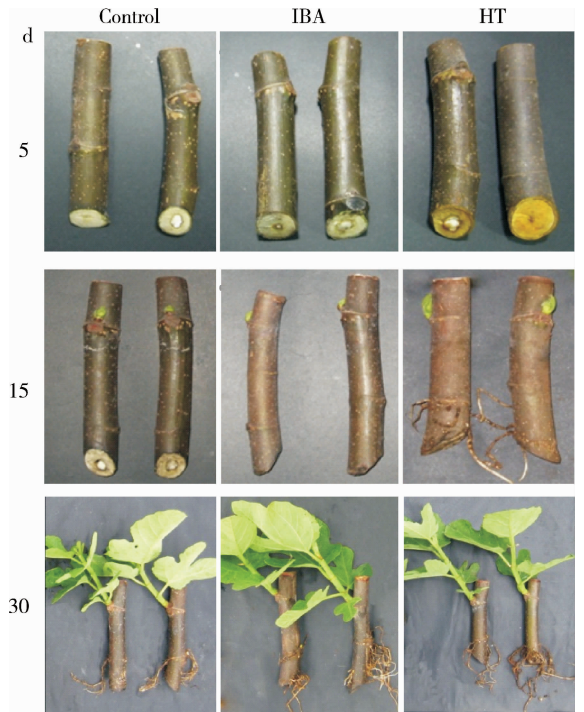
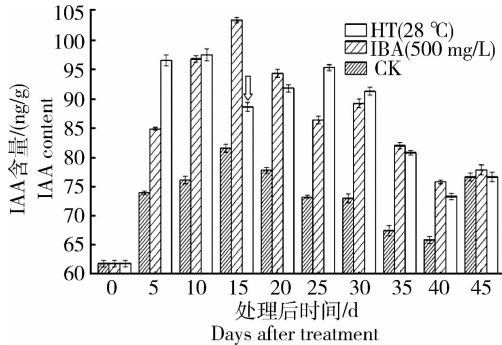


图 1 电热温床和 IBA 处理对无花果硬枝扦插生根过程的影响

Fig. 1 Effect of hotbed and IBA on the rooting process of Fig hardwood cuttings

IAA 的含量明显低于 10 和 15 d 的经 IBA 处理的材料,这可能是由于电热温床催根于 12 d 结束,插条移入营养钵后,由于插条所处温度的变化造成 IAA 浓度的降低。整体上,电热温床处理和 IBA 处理对启动插条组织中的 IAA 含量的提升具有相似的作用。



箭头所示为插条经电热温床(28 °C)催根 12 d 后扦插至营养钵后第一次取样时间。下图同。

Arrow indicates the first sampling date after cuttings moved out hotbed. The same as below.

图 2 电热温床和 IBA 处理对无花果硬枝扦插生根过程中生长素含量的影响

Fig. 2 Changes of auxin content in fig cuttings treated with hotbed and IBA

2.3.2 玉米素

本研究结果表明,无花果硬枝插条生根过程中 ZR 的含量变化呈现一个类似双峰的过程(图 3)。经电热温床处理的插条组织中的 ZR 含量上升快,在 5 d 的材料中的浓度较 IBA 处理和对照分别提高 23.7% 和 41.1%,最高含量出现在处理后 30 d,较 IBA 处理和对照提前 5 d。处理开始后 10 d,电热温床处理的插条中的 ZR 含量水平和对照接近,显著低于 IBA 处理,而处理开始后 15 d,电热温床处理的插条移入营养钵后,ZR 的含量明显上升,和经 IBA

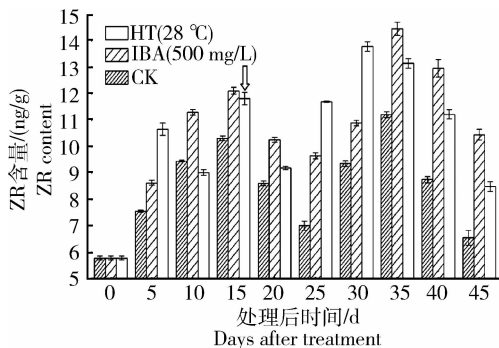


图 3 电热温床和 IBA 处理对无花果硬枝扦插生根过程中玉米素含量的影响

Fig. 3 Changes of ZR content in fig cuttings treated with hotbed and IBA

处理的插条水平接近。整体上,不同处理的无花果插条中 ZR 含量水平均在愈伤组织形成期和不定根诱导期下降,在根系生长期上升。

2.3.3 脱落酸

结果表明,经 IBA 处理的插条基部组织中的 ABA 含量在整个生根过程中一直显著低于对照,IBA 处理明显抑制了无花果插条基部组织中的 ABA 浓度(图 4)。电热温床处理的插条材料中的 ABA 含量在 5 d 时比 IBA 处理和对照分别高 18.1% 和 8.7%。处理后 10 d,电热温床处理的材料中 ABA 的含量和对照材料相近,处理后 15 d,ABA 含量下降至接近 IBA 处理的水平。对照中的 ABA 在整个生根过程中都处于较高的水平。

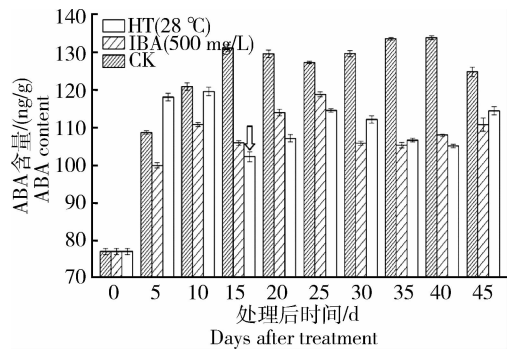


图 4 电热温床和 IBA 处理对无花果硬枝扦插生根过程中 ABA 含量的影响

Fig. 4 Changes of ABA content in fig cuttings treated with hotbed and IBA

2.3.4 赤霉素

本研究结果表明,经电热温床和 IBA 处理的插条材料中,GA 含量在处理 10~30 d 显著低于对照,而后期显著高于对照(图 5)。经电热温床处理

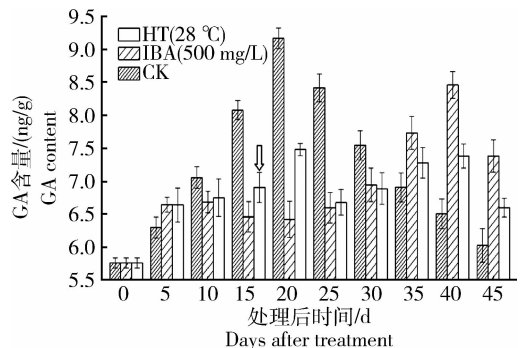


图 5 电热温床和 IBA 处理对无花果硬枝扦插生根过程中 GA 含量的影响

Fig. 5 Changes of GA content in fig cuttings treated with hotbed and IBA

的插条材料中的 GA 含量在 5 d 和 IBA 处理的插条相当,含量高于对照 6.7%。后期电热温床处理和 IBA 处理的材料中的 GA 含量显著高于对照,可能与新根生长过程中合成的 GA 有关。

3 讨论

果树和林木树种电热温床催根育苗常用的温度为 22~28 °C,处于植物的生理耐受范围。电热温床处理时对硬枝插条的基部进行加温,而插条上部的芽处于较低的环境温度,保持不萌发的状态,通过促进插条先生根、再长芽,提高育苗的成活率和育苗质量。用 IBA 处理插条的基部,改变局部的激素平衡,可以促进不定根的发生^[10]。生产上有时采用 IBA 处理后再上电热温床,以提高硬枝扦插的成活率^[11-12]。本研究预试验结果发现单一的电热温床处理,对布兰瑞克无花果硬枝插条的促生根效果与优化的 IBA 处理几乎相同,IBA 与电热温床叠加处理与单一处理相比结果无显著差异。

植物激素在植物细胞重编程、细胞增殖发育和器官发生中具有关键作用。本研究结果表明,无花果硬枝插条对电热温床和 IBA 处理具有明显的早期特异性响应。生长素在决定最终根系结构的信号体系中处于核心位置,形成局部适宜的高生长素浓度有利于根原基的形成^[13-14]。电热温床处理开始后第 5 天,插条基部组织中的 IAA 迅速提高,浓度的增加显著快于 IBA 处理。属于细胞分裂素类的玉米素也是促进根原基生长发育的植物内源激素^[15-16],电热温床处理的材料中玉米素含量在 5 d 也显著高于 IBA 处理。ABA 和 GA 被认为具有抑制侧根发生的作用^[11,17],电热温床处理的插条材料中的 ABA 含量在 5 和 10 d 显著高于 IBA 处理,也明显高于对照,这可能是由于 28 °C 电热温床条件对插条基部产生了更大的胁迫,与该处理插条剪口处褐变最明显相一致(图 1)。电热温床和 IBA 处理的插条基部组织中的 GA 含量在前期处于相对稳定的水平,而对照材料中的 GA 含量出现明显的增加。综合主要植物激素的早期变化特征,电热温床处理对无花果插条基部组织中植物内源激素含量的特异性影响是电热温床催根效果得以实现的生理基础。

为了解析电热温床催根的深层机理,特别是适宜的温度处理如何特异地影响了生根相关激素合成、代谢与信号转导途径,如何调控关键基因和蛋白质的表达、激素之间的串联(Crosstalk),可以在本

试验的研究基础上,加入难生根的品种作对比,并进一步提早处理后的采样时间(处理后 2 d 开始采样)、缩短采样时间间隔,深入研究易生根品种和难生根品种的基因表达和激素调控差异。

参 考 文 献

- [1] 曹尚银. 无花果栽培技术[M]. 北京: 金盾出版社, 2009
- [2] 乔洪明. 无花果: 人类健康的守护神[M]. 济南: 山东大学出版社, 2011
- [3] Mutui T M, Mibus H, Serek M. The influence of plant growth regulators and storage on root induction and growth in *Pelargonium zonale* cuttings[J]. *Plant Growth Regul*, 2010, 61: 185-193
- [4] 冯健. 日本落叶松: 长白落叶松无性系间生根差异的分子机制[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2008
- [5] Sedira M, Welander M, Geier T. Influence of IBA and aphidicolin on DNA synthesis and adventitious root regeneration from *Malus 'Jork 9'* stem discs[J]. *Plant Cell Rep*, 2007, 26: 539-545
- [6] Nag S, Saka K, Choudhuri M A. Role of auxin and polyamines in adventitious root formation in relation to changes in compounds involved in rooting[J]. *Plant Growth Regul*, 2001, 20: 182-194
- [7] 何钟佩. 农作物化学控制实验指导[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 60-68
- [8] Laskowski M. Lateral root initiation is a probabilistic event whose frequency is set by fluctuating levels of auxin response[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(9): 2609-2617
- [9] Overvoorde P, Fukaki H, Beeckman T. Auxin control of root development[J]. *Perspectives in Biology*, 2010, 2(6): 117-121
- [10] Gou J, Strauss S H, Tsai C J, et al. Gibberellins regulate lateral root formation in *populus* through interactions with auxin and other hormones[J]. *Plant Cell*, 2010, 22: 623-639
- [11] 张继东. 甜樱桃砧木 ZY-1 电热温床硬枝扦插育苗技术[J]. *黑龙江农业科学*, 2012(11): 156-158
- [12] 庞世伟. 石榴快速扦插育苗技术[J]. *甘肃农业科技*, 2012(2): 60-61
- [13] Blakesley D, Chaldecott M A. The role of endogenous auxin in root initiation[J]. *Plant Growth Regul*, 1993, 13: 77-84
- [14] Yoo B S, Kim J Y, Kim C, et al. Analysis of endogenous hormones associated with hardly rooting rhododendron species[J]. *The Journal of the Korean Society of International Agriculture*, 2008, 20(2): 107-112
- [15] 许晓岗, 丁俊刚, 童丽丽. 激素对橘子插条内源激素含量和可溶性蛋白组成的影响[J]. *南京林业大学学报*, 2009, 33(2): 60-64
- [16] 李朝婵, 赵云龙, 陈训, 等. 长蕊杜鹃扦插内源激素变化及解剖结构观察[J]. *林业科学研究*, 2012, 25(3): 360-365
- [17] Duan L, Dietrich D, Ng C H, et al. Endodermal ABA signaling promotes lateral root quiescence during salt stress in *Arabidopsis* seedlings[J]. *Plant Cell*, 2013, 25: 324-341