

茶树扦插生根过程中 3 种氧化酶活性及多酚含量变化研究

陈启文, 周月琴, 韩艳娜, 李叶云, 江昌俊*

(安徽农业大学教育部/农业部茶叶生物化学与生物技术重点开放实验室, 合肥 230036)

摘要: 对 3 个国家茶树品种扦插生根情况以及扦插过程中 3 种氧化酶活性和茶多酚含量变化进行研究。结果表明, 不同品种间扦插繁育能力存在差异, 扦插成活率排序为: 皖茶 91>舒茶早>石佛翠。在扦插过程中, PPO 活性均呈上升→下降→上升趋势, 扦插 15 d 时达到高峰且皖茶 91 高于舒茶早和石佛翠; POD 活性与扦插生根呈负相关, 除石佛翠呈上升趋势外, 其他 2 个品种均先降后升; IAAO 活性除石佛翠基本无变化外, 其他 2 个品种均呈上升→下降→上升趋势, 皖茶 91 变化幅度比舒茶早大; 这 3 种氧化酶与茶树扦插成活率具有明显的相关性。插穗叶片中茶多酚含量的增加也有利于插穗成活率的提高。

关键词: 茶树; 扦插生根; 多酚氧化酶 (PPO); 过氧化物酶 (POD); 吲哚乙酸氧化酶 (IAAO); 茶多酚
中图分类号: S571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-352X (2013)06-0908-04

Changes of three oxidase activities and polyphenol content in tea cuttings in the process of rooting

CHEN Qi-wen, ZHOU Yue-qing, HAN Yan-na, LI Ye-yun, JIANG Chang-jun

(Key Laboratory of Tea Biochemistry and Biotechnology, Ministry of Education, Ministry of Agriculture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036)

Abstract: The capacity of rooting and the changes of three oxidase activities and polyphenol content were studied in tea cuttings of three national cultivars during rooting. The results indicated that the survival rate was *Camellia sinensis* cv. *Wancha 91* > *Camellia sinensis* cv. *Shuchazao* > *Camellia sinensis* cv. *Shifocui*. The PPO activity showed the trend of “increase-decrease-increase”, and reached the maximum after 15 days; the PPO activity of *Camellia sinensis* cv. *Wancha 91* was higher than that of *Camellia sinensis* cv. *Shuchazao* and *Camellia sinensis* cv. *Shifocui*. The POD activities of *Camellia sinensis* cv. *Wancha 91* and *Camellia sinensis* cv. *Shuchazao* presented a process of “decrease-increase”, while the activity of *Camellia sinensis* cv. *Shifocui* kept increasing, exhibiting a negative correlation with the rooting rate. The IAAO activities of *Camellia sinensis* cv. *Shifocui* was slightly changed during rooting, while the other two varieties showed a process of “increase-decrease-increase”; the IAAO activity of *Camellia sinensis* cv. *Wancha 91* had larger change ranges than that of *Camellia sinensis* cv. *Shuchazao*. These three oxidases were closely related to the rooting of tea cuttings. The increase of polyphenol content in tea cuttings can also improve its survival rate.

Key words: *Camellia sinensis*; rooting of cuttings; polyphenol oxidase; peroxidase; indoleacetic acid oxidase; tea polyphenol

我国是世界上最大的产茶国, 茶叶在国民经济中占有重大比例, 但无性系良种茶园所占的比率仍然较低, 影响茶园单产水平。目前, 短穗扦插是茶树育苗的主要方式, 具有保持母本的特征特性、母穗用量省、品种纯度高、繁殖系数大等优点^[1]。我

国选育的一些优良品种存在扦插生根难, 出圃率低等问题, 严重阻碍了无性系良种的繁育与推广。

扦插苗生根是一个复杂的生理过程, 插穗生根率和成活率与植物内影响扦插生根的内在的因素有关, 也受外界环境条件的影响。内在因素包括酶活

收稿日期: 2013-04-23

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划课题 (2011BAD01B01) 资助。

作者简介: 陈启文, 男, 硕士研究生。E-mail: chqw1919@163.com

* 通信作者: 江昌俊, 男, 教授, 博士生导师。E-mail: jiangcj@ahau.edu.cn

性、碳氮营养、内源激素等方面。外在因素包括环境条件和促根物质。多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD)、吲哚乙酸氧化酶 (IAAO) 是目前公认的和扦插生根关系最为密切的几种酶^[2]。这 3 种酶普遍存在于高等植物当中, 与植物的生长、发育有着密切的关系。酚类物质对植物不定根的发生有重大作用^[3-4], 茶树富含多酚, 研究茶多酚与茶树扦插生根的相关性, 对研究茶树扦插繁殖机理有着重大意义。

本试验对 3 个品种茶树扦插生根过程中多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD)、吲哚乙酸氧化酶 (IAAO) 及茶多酚含量进行动态跟踪分析, 研究这些指标与扦插生根的关系, 旨在为茶树扦插繁殖机理研究提供理论依据, 对茶树良种繁育有着重要的理论指导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

选取石佛翠 (采自安徽省岳西县) 和舒茶早、皖茶 91 (采自于安徽农业大学大杨店农业园) 3 个国家级无性系良种为试验材料。选择当年生半木质化健壮的枝条剪取插穗。2011 年 9 月 30 日在安徽农业大学大杨店试验圃中 (设置 3 个重复, 每个重复 100 根插穗) 扦插, 常规管理。每隔 15 d 随机抽取 10 根插穗观察生根的情况, 并采样测定叶片多酚氧化酶 (PPO)、过氧化物酶 (POD)、吲哚乙酸氧化酶 (IAAO) 活性和茶多酚含量。60 d 时统计成活

率, 随机抽取 30 根插穗, 调查愈伤率、生根率及生根长度。

1.2 试验方法

PPO 活性测定参考张正竹^[5]的方法, 以每克样品每分钟 (ΔA_{460}) 增加 0.01 为 1 个酶活力单位, 即 (0.01 $\Delta A/g \cdot min$)。POD 和 IAAO 活性测定参考刘萍等^[6]的方法, POD 活性以每分钟内吸光度变化 (ΔA_{470}) 0.01 为 1 个酶活力单位。IAAO 活性以每毫升酶液每小时分解破坏 IAA 的量 (μg) 表示酶活力大小。茶多酚含量测定采用福林酚比色法^[5], 于 765 nm 测定吸光度值。

2 结果与分析

2.1 3 个品种茶树生根情况比较

据观察, 皖茶 91 扦插 15 d 后部分插穗开始长出愈伤, 30 d 时长出大量愈伤组织, 部分插穗开始长根, 45 d 时大量生根; 舒茶早 30 d 时有愈伤组织生成, 45 d 时开始长根; 石佛翠愈伤组织生成时间和发根时间均比舒茶早晚 15 d。60 d 时, 皖茶 91 大量生根, 愈伤生成率和成活率均高于 80%, 不定根数量和长度均高于舒茶早和石佛翠; 舒茶早只有不到 50% 的插穗茎基部出现愈伤, 并且只有 37.3% 的插穗长出了不定根, 不定根也较短; 石佛翠扦插发根能力最弱, 发根率不到 10%, 分别比皖茶 91 和舒茶早低 56.6% 和 29%, 插穗死亡率超过了 50%。3 个品种茶树扦插发根率排序为皖茶 91 > 舒茶早 > 石佛翠 (表 1)。

表 1 3 个品种茶树扦插 60 d 发根情况比较

Table 1 Comparison of the rooting rates of the cuttings among three tea varieties

茶树品种 Cultivar	愈伤率/% Healing rate	生根率/% Rooting rate	平均根长/cm Average length of root	成活率/% Survival rate
皖茶 91 Wancha 91	80.6	65.3	1.1	86.7
舒茶早 Shuchazao	46.2	37.3	0.5	62.7
石佛翠 Shifoucui	13.3	8.7	0.2	48.0

2.2 茶树扦插生根过程中 3 种氧化酶活性动态变化

2.2.1 多酚氧化酶活性变化 试验表明, 扦插生根过程中, PPO 活性均呈上升→下降→上升的趋势 (图 1)。15 d 时, 酶活性上升到最高值, 15~45 d 活性急剧下降, 45~60 d 上升, 恢复至扦插前水平。扦插前各品种间 PPO 活性无明显差异, 15 d 时皖茶 91 PPO 活性比舒茶早和石佛翠高 40%, 30 d 后皖茶 91 PPO 活性比舒茶早和石佛翠稍低, 但差异不显著。这表明扦插 30 d 内, PPO 活性高低影响着茶树扦插成活率, 二者呈一定正相关。

高等植物中普遍存在多酚氧化酶 (PPO), 茶树

中也大量存在, 这种酶不仅在植物的生长、发育中起重要作用, 而且对植物的器官形态建成也起到非常重要的作用^[7]。PPO 能催化生长素的代谢, 促进不定根的起源与发育^[8]。PPO 还能催化 IAA 与酚类物质形成生根促进物质^[9]。PPO 出现高峰时, 合成了大量的促生根物质, 有助于生根; 皖茶 91 PPO 活性较高, 合成的促生根物质也较多, 促进了插穗愈伤组织的生长; 而舒茶早和石佛翠 PPO 活性比皖茶 91 低, 合成的促生根物质也较少, 不足以诱导插穗产生愈伤组织, 插穗切口愈合延迟, 并大量死亡。

2.2.2 过氧化物酶活性变化 皖茶 91 POD 活性呈

下降→上升的趋势, 30 d 时达到最低; 舒茶早 POD 活性变化规律与皖茶 91 相似, 但在整个生根过程中都高于皖茶 91。而石佛翠 POD 活性在扦插后明显上升, 且高于其他 2 个品种。扦插生根过程中 POD 活性高低表现为: 皖茶 91<舒茶早<石佛翠(图 2), 差异达到极显著水平($F=14.86, P=0.002$)。扦插后插穗叶片中 POD 活性高低也影响着茶树扦插成活率, 二者呈显著负相关。

POD 与植物的光合作用、呼吸作用及生长素的代谢等都有密切联系, 植物体内的 IAA 可以氧化 IAA, 而 POD 也能氧化 IAA^[2]。石佛翠、舒茶早 POD 活性较高, 降解 IAA 的作用强, 向茎基部输送 IAA 的量较少, 对诱导根原基不利。反之, 易生根品种皖茶 91 的 POD 活性低, 其降解 IAA 能力较弱, 输送到茎基部的 IAA 就较多, 对诱导根原基有利。所以皖茶 91 比舒茶早和石佛翠提早愈合生根, 成活率也较高。

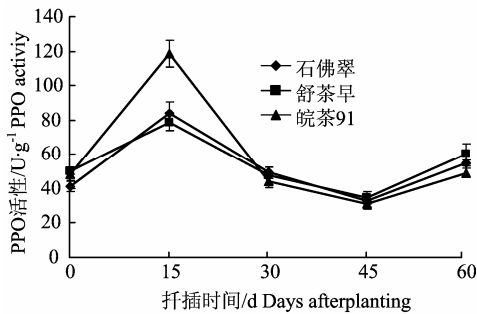


图 1 扦插生根过程中多酚氧化酶活性变化

Figure 1 The changes of PPO activity in cuttings of three tea varieties during rooting

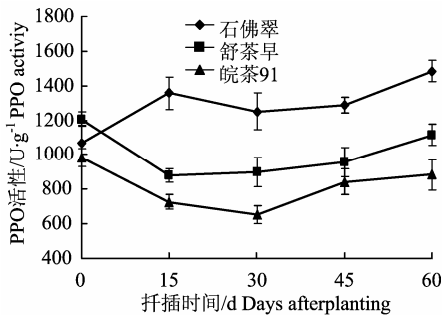


图 2 扦插生根过程中过氧化物酶活性变化

Figure 2 The changes of POD activity in cuttings of three tea varieties during rooting

2.2.3 吲哚乙酸氧化酶活性变化 皖茶 91 IAAO 活性变化呈上升→下降→上升趋势(图 3)。扦插后 15 d 内皖茶 91 IAAO 活性上升, 15~45 d 中皖茶 91 IAAO

活性却一直下降, 45 d 时降至最低, 此后又迅速上升, 60 d 时恢复到 15 d 时的水平。舒茶早 IAAO 活性变化趋势与皖茶 91 相似, 但变化幅度较小。而石佛翠仅在扦插后 15 d 上升了 8.6%, 此后基本保持不变。在整个扦插生根过程中皖茶 91 IAAO 活性变化最为明显, 0~15 d IAAO 活性平均比石佛翠和舒茶早高 17%左右, 30~45 d 低 20%左右。这表明扦插后叶片中 IAAO 活性越高越利于插穗愈伤组织形成, 而在插穗生根过程中 IAAO 活性越低则易于生根, 通过这种动态变化影响着插穗成活率。

IAA 有促进不定根形成的重要功能, IAAO 能分解 IAA。扦插初期皖茶 91 IAAO 活性较高, 有助于降低体内 IAA 水平, 这符合低浓度 IAA 有助于愈伤的诱导^[10-11]。30~45 d IAAO 活性较低, 体内 IAA 含量较高, 有利于不定根的发生。舒茶早和石佛翠 IAAO 活性变化幅度较小, 扦插前期 IAAO 活性较低, IAA 积累不利于愈伤组织生成; 扦插中期 IAAO 活性较高, IAA 过度氧化, 插穗生根延迟。

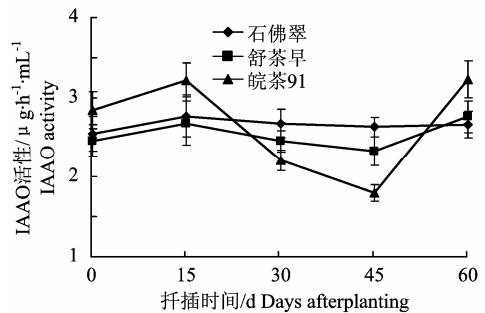


图 3 扦插生根过程中吲哚乙酸氧化酶活性变化

Figure 3 The changes of IAAO activity in cuttings of three tea varieties during rooting

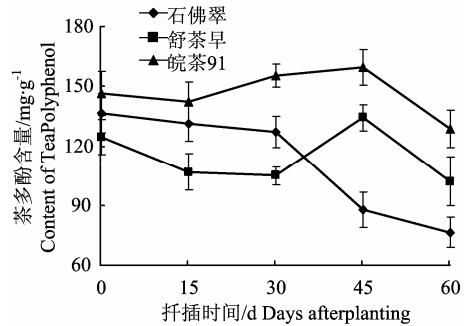


图 4 扦插生根过程中茶多酚含量变化

Figure 4 The changes of tea polyphenol content in cuttings of three tea varieties during rooting

2.3 扦插生根过程中酚类物质含量的动态变化 皖茶 91 茶多酚含量在扦插 15 d 小幅下降后,

15~45 d 则逐渐上升达到最高,比扦插时提高 1.1 倍,而后降低于扦插时水平。舒茶早茶多酚含量变化趋势与皖茶 91 相似。石佛翠茶多酚含量呈下降趋势,60 d 时的含量只有扦插时的 56% (图 4)。在扦插生根期间,皖茶 91 茶多酚含量显著高于舒茶早和石佛翠 ($F=5.958$, $P=0.026$)。扦插后叶片中茶多酚含量增加,并维持一个较高水平有利于插穗成活率的提高。

Haissing^[9]证实 IAA 与酚类物质形成一种“IAA-酚酸复合物”,这种复合物有促进不定根发根的作用。皖茶 91 茶多酚含量较高,形成的复合物较多,其愈伤生成率和成活率也较高,而舒茶早和石佛翠茶多酚含量相对较低,形成的复合物较少,成活率较低。

3 小结与讨论

舒茶早、石佛翠扦插生根率低,与其扦插后愈伤组织形成困难密切相关,在生产中可以采用适当的外源激素加以处理。

扦插后插穗叶片中 POD 活性与茶树扦插生根呈显著负相关。3 个品种中,皖茶 91 的 POD 活性最低,扦插成活率最高;石佛翠 POD 活性最高,扦插成活率却最低。Tohit^[12]研究发现杨树插穗叶片内 POD 活性在生根前均缓慢下降,生根快的品种比生根慢的品种插穗上所有器官内的 POD 活性都要高。这与本试验并不一致,可能是物种差异的缘故。

茶树扦插 30 d 内, PPO 活性高低影响着扦插成活率,二者呈一定正相关;在插穗愈伤组织形成期,IAAO 活性提高有利于愈伤生成,而在插穗生根过程中 IAAO 活性越低则易于发根,通过这种升、降动态的变化影响着插穗成活率。这与光叶楮^[13]、桉树^[14]相似。

叶片中高含量的茶多酚有利于插穗成活。茶多酚含量高的皖茶 91 扦插成活率高。这与 Balakrishnamurthy 等^[15]研究发现易生根杜鹃枝条酚类物质含量较难生根枝条高,结论一致。宋丽红^[13]指出:“在生产中可以适当的添加酚类物质促进生根”。但茶树属高多酚植物,外源酚类物质对茶树的作用机理尚不明确,在生产中添加外源酚促进茶树

生根还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 江昌俊. 茶树育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 204-206.
- [2] 潘键. 三种柃木属植物插生根机理研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2007: 98-99.
- [3] 宋金耀, 何文林, 李松波, 等. 毛白杨嵌合体扦插生根相关理化特性分析[J]. 林业科学, 2001, 37(5): 64-67.
- [4] Calderon-Baltierra X V. Changes in peroxidase activity during root formation in *Eucalyptus globulus* shoots raised in vitro[J]. Plant Perox Newslett, 1994(4): 27-29.
- [5] 张正竹. 茶叶生物化学实验教程[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009: 35-37; 57-58.
- [6] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 123-124; 144-146.
- [7] Gaspar T, Penel C L, Thorpe T, et al. Peroxidase 1970-1980. A survey of their biochemical and physiological roles in higher plants[M]. Genève: Université de Genève, 1982: 25-32.
- [8] Bhattacharya N C. Enzyme activities during adventitious rooting[C]//Davis T D, Haissing B E, Sankhla N. Adventitious root formation on cutting. Dioscorides: Portland, 1989: 88-101.
- [9] Haissing B E. Influence of auxins and synergists on adventitious root primordium in initiation and development [J]. New Zealand J For Sci. 1974(4): 311-323.
- [10] 王顺才, 马锋旺, 梁东, 等. 猕猴桃离体生根期间抗氧化系统的变化[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2005, 33(1): 83-87.
- [11] Galston A W, Bonner J, Baker R S. Flavoprotein and peroxidase as components of the indoleacetic acid oxidase system of peas[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1953, 42(2): 456-470.
- [12] Tohit G. Peroxidase and IAA oxidase activities during rooting in cuttings of three poplar species[J]. Turk J Bot. 2000(24): 97-101.
- [13] 宋丽红, 曹帮华. 光叶楮扦插生根的吲哚乙酸氧化酶、多酚氧化酶、过氧化物酶活性变化研究[J]. 武汉植物学研究, 2005, 23(4): 347-350.
- [14] 李明, 黄卓烈, 谭绍满, 等. 难易生根桉树多酚氧化酶、吲哚乙酸氧化酶活性及其同工酶的比较研究[J]. 林业科学研究, 2000, 13(5): 493-500.
- [15] Balakrishnamurthy G, Madhava Rao V N. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rose bourboniana* Desp)[J]. Curr Sci, 1988, 57(17): 960-962.