

## 不同苗龄接穗的西瓜嫁接体愈合过程中的3种酶活性变化

张红梅<sup>1</sup> 黄丹枫<sup>1,\*</sup> 丁明<sup>1</sup> 薛万新<sup>2</sup>

<sup>1</sup>上海交通大学农业与生物学院, 上海 201101; <sup>2</sup>上海种业集团, 上海 200233

**提要** 用贴接法嫁接西瓜品种早佳(8424)和砧木葫芦品种将军的结果表明: 接穗苗龄越大, 嫁接成活率越低。多酚氧化酶(PPO)活性嫁接初期较高, 以后变化平稳; 大苗龄接穗嫁接体的PPO活性较高。嫁接初期过氧化物酶(POD)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性升高, 以后呈下降趋势, 木质素合成和维管组织分化阶段再度升高。

**关键词** 西瓜; 接穗苗龄; 嫁接体; 多酚氧化酶; 过氧化物酶; 苯丙氨酸解氨酶

## Changes in Three Enzyme Activities in the Process of Watermelon Seedlings Grafted with Different Ages of Scion

ZHANG Hong-Mei<sup>1</sup>, HUANG Dan-Feng<sup>1,\*</sup>, DING Ming<sup>1</sup>, XUE Wan-Xin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 201101, China; <sup>2</sup>Shanghai Seed Industry Group, Shanghai 200233, China

**Abstract** The seedlings of watermelon (*Citrullus lanatus*) variety Zaojia (8424) with different ages were grafted on the gourd (*Lagenaria siceraria*) variety Jiangjun by the close-joining method. The results showed that the elder the scion became, the lower the survival rate of grafting was. Polyphenol oxidase (PPO) activity was higher in the early days of grafting. The elder scions had higher PPO activity. Peroxidase (POD) and phenylalanine ammonia lyase (PAL) activities increased primarily, then decreased gradually, and increased again during the synthesis of lignin and vascular tissue differentiation.

**Key words** watermelon (*Citrullus lanatus*); scion ages; grafted plants; polyphenol oxidase; peroxidase; phenylalanine ammonia lyase

我们以往的工作表明, 嫁接苗可提高西瓜的抗枯萎病能力、耐盐性和抗逆性<sup>[1, 2]</sup>。另外, 蔬菜生产中使用的自动嫁接机已使嫁接操作变得简单易行, 从而促进了蔬菜嫁接栽培技术的普及, 这对蔬菜瓜果生产机械化、标准化水平和稳产高产无疑是有利的<sup>[3]</sup>。嫁接机对砧木和接穗的素质要求较高, 接穗苗龄对自动化嫁接操作、嫁接愈合过程和嫁接成苗率都有较大的影响, 多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)在嫁接愈合过程中作用很大。张蜀秋等<sup>[4]</sup>认为PPO活性与隔离层的形成有关, POD在贯穿砧木和接穗的维管束分化过程中参与木质素合成<sup>[5]</sup>, PAL活性与木质素合成和管状分子形成有着紧密联系<sup>[6]</sup>。本文分析不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中PPO、POD、PAL活性的变化, 以期能为嫁接亲和性机制的研究和机械嫁接育苗中选择适宜的嫁接接穗苗龄提供参考。

## 材料与方法

试验在上海交通大学农业与生物学院人工气候室中进行。采用葫芦(*Lagenaria siceraria*)品种将军为砧木, 西瓜(*Citrullus lanatus*)品种早佳(8424)为接穗。砧木和接穗分别播于72孔穴盘和128孔穴盘中。基质体积比为泥炭:珍珠岩:蛭石=2:2:1。子叶出土后每天早晨7:00浇营养液。营养液是荷兰Hydro Agriculture Rotterdam B.V.公司生产的Kaistalon育苗专用肥料, 其中氮、磷、钾、镁的比例为18:18:18:3。

试验设计5个接穗苗龄, 分别为播种后5、7、10、13和18 d, 生长形态分为: 子叶微展、子叶平展、第一片真叶显露、一叶一心、两叶一心五级。5个嫁接组合从接穗最小苗龄到最大

收稿 2004-08-13 修定 2004-12-08

资助 上海市科技兴农重点攻关项目(农科攻字2002第4-3-4号)。

\*通讯作者(E-mail: hdf@sjtu.edu.cn, Tel: 021-64787808)。

苗龄依次编号为: A、B、C、D、E, 嫁接采用贴接法<sup>[7]</sup>。分别在嫁接后第2、4、6、8、10天取嫁接接合部位, 测定各项指标, 每个处理取3株为1次重复, 共重复3次。

嫁接成活率的统计: 每个处理留150株进行观察, 每50株为1次重复, 于嫁接后第15天统计嫁接苗的成活率。

酶活性测定: PPO活性测定参照文献8的方法, 以每分钟OD<sub>525</sub>变化0.001为1个酶活力单位; POD活性用愈创木酚法测定<sup>[9]</sup>, 以每分钟OD<sub>470</sub>变化0.01为1个酶活力单位; PAL活性用紫外分光光度法测定<sup>[9]</sup>, 以每小时OD<sub>290</sub>变化0.01为1个酶活力单位。

## 实验结果

### 1 不同苗龄接穗西瓜的嫁接成活率

从图1可以看出, A、B、C 3个处理的嫁接成活率都在90%以上, 三者之间无显著差异。处理D和E的嫁接成活率较低, 分别为83.3%和72%, 说明接穗苗龄太大不宜用于嫁接。

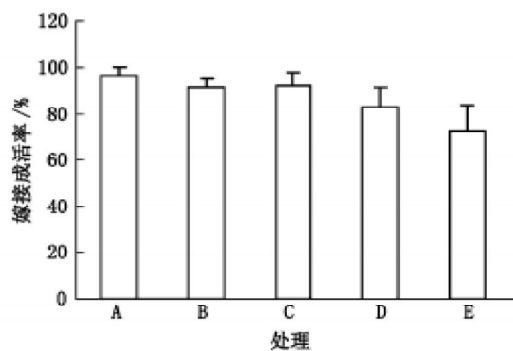


图1 不同苗龄接穗对西瓜嫁接成活率的影响

Fig. 1 Effects of scion with different ages on the survival rate of grafted watermelon seedlings

A~E 分别表示接穗苗龄为5、7、10、13、18 d的嫁接组合。下图同此。

### 2 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的PPO活性变化

如图2所示, PPO活性从嫁接后第2天开始下降, 4 d后上升, 后再下降。第2天PPO活性较高, 这可能与嫁接苗的创伤有关。在整个愈合期内, 处理E的PPO活性显著高于其它处理, 第8天达到高峰, 以后下降。D处理的PPO活性

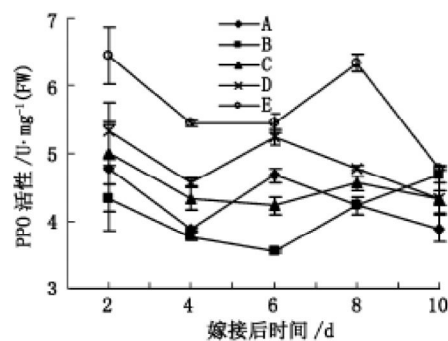


图2 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的PPO活性变化  
Fig. 2 Changes in PPO activities in watermelon seedlings grafted with different ages of scion

也高于A、B、C 3个处理。处理A、B、C的PPO活性较低, 处理间差异不显著。

### 3 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的POD活性变化

由图3可见, 随着嫁接体的形成, POD活性呈升高、下降、又升高的趋势。嫁接后第4天出现一个高峰, 处理B的POD活性最高, 为183.71 U·g<sup>-1</sup>(FW), 与其它处理相比差异显著。嫁接后第6~10天, 各处理的POD活性均有不同程度的增加, 处理C的POD活性高于其它处理。E处理的酶活性在整个愈合期间一直较低。

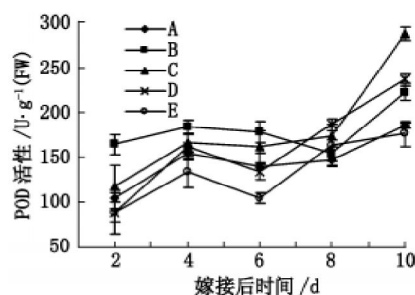


图3 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的POD活性变化  
Fig. 3 Changes in POD activities in watermelon seedlings grafted with different ages of scion

### 4 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的PAL活性变化

图4显示, 随着嫁接体的愈合进程, PAL酶活性的变化趋势与POD相似。嫁接后第4天, 处理D、E的PAL活性较高, 分别为29.02和26.01 U·g<sup>-1</sup>(FW), 显著高于其它处理, 这可能与处理

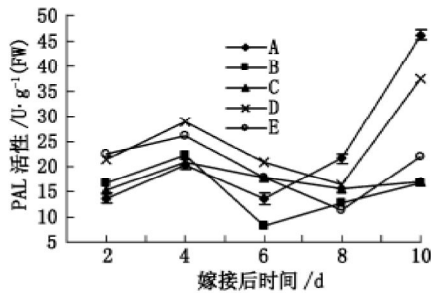


图4 不同苗龄接穗西瓜嫁接体愈合过程中的PAL活性  
Fig. 4 Changes in PAL activity in watermelon seedlings grafted with different ages of scion

D、E 接穗本身的木质化程度有关。在愈合后期, 即嫁接后 8~10 d, 处理 A 的 PAL 活性迅速增加, 高于处理 D、E, 这可能与接合处维管组织形成有关<sup>[6]</sup>。

## 讨 论

嫁接成活率在很大程度上反映了嫁接的亲合性<sup>[10]</sup>。从本文结果可知, 接穗从子叶微展到第一片真叶显露都可以进行嫁接, 幼嫩的组织细胞可塑性大, 容易实现脱分化和再分化。从机械嫁接的操作要求和嫁接苗的健壮程度的实验效果综合分析, 接穗过于幼嫩不利于机械操作, 且嫁接后接穗容易徒长, 所以可以认为接穗苗从子叶展平到第一片真叶显露(播种后约 7~10 d)是西瓜机械嫁接的最适宜时期。第一片真叶展平后的接穗嫁接, 成活率迅速下降, 这可能与接穗叶面积大, 易萎蔫失水, 以及接穗茎中空且木质化程度高有关。

嫁接体发育过程中的一些相关酶的活性对嫁接伤口愈合有影响。PPO 是细胞中线粒体外末端氧化酶之一, 参与伤呼吸及细胞壁木质素合成。细胞受伤或受刺激时, 暴露的细胞常常呈现较高的 PPO 活性<sup>[4]</sup>。本文结果表明, 接穗苗龄最大嫁接组合的 PPO 活性最高, 说明接穗的木质化程度高, 砧木与接穗间的隔离层存在时间长, 嫁接面难以融合, 从而影响嫁接成活率。

POD 作为氧化吲哚乙酸的关键酶之一, 在嫁接初期, 可以氧化嫁接面的吲哚乙酸, 调节生长素水平, 维持激素平衡<sup>[5]</sup>。本文嫁接后第 4 天的 POD 活性升高可能与此有关, 砧木和接穗间失去共质体联络, 随着嫁接上产生的隔离, 植物激素运输受阻, 嫁接面激素分布发生变化, 相关的

POD 同工酶快速表达, 在嫁接面局部氧化吲哚乙酸。有实验表明, 在形成贯通接穗和砧木的维管束桥时, 接合部的 POD 活性较高, 说明 POD 在维管组织木质化过程中是重要的<sup>[5,11]</sup>。本文结果与此一致, 在嫁接后 6~10 d, POD 活性较高。E 处理的 POD 活性一直较低, 这可能是其愈合速度慢所致。POD 在嫁接体发育的多个方面发挥作用, 因此进一步分离其相关基因并研究其功能, 将有助于从分子水平揭示嫁接体发育机制。

PAL 是催化苯丙烷类代谢途径第一个反应的酶, 也是这个途径的关键酶和限速酶, 在细胞分化和木质化中也有作用。现已证明, 愈伤组织在分化过程中出现的 PAL 活性高峰与木质素形成及管状分子的分化紧密相连<sup>[6]</sup>。从本文结果看, 随着嫁接体的发育, PAL 酶活性的变化趋势与 POD 大体一致, 说明两者的作用有相似之处, 酶活性升高都可以促进木质素合成和管状分子形成, 因而砧木和接穗间水分和营养物质运输能够顺利进行。不同处理之间, 以处理 D 和 E 的 PAL 酶活性一直较高, 这可能是接穗苗龄大, 本身木质化程度高造成的。

## 参考文献

- 1 刘润秋, 张红梅, 徐敬华等. 砧木对嫁接西瓜生长及品质的影响. 上海交通大学学报(农业科学版), 2003, 21(4): 289~294
- 2 徐敬华, 黄丹枫, 支月娥. PAL 活性与嫁接西瓜枯萎病抗性传递的相关性. 上海交通大学学报(农业科学版), 2004, 22(1): 14~16
- 3 Kurata K. Cultivation of graft vegetables II. Development of grafting robots in Japan. Hortic Sci, 1994, 29(4): 240~244
- 4 张蜀秋, 杨世杰, 马龙彪. 嫁接组合形成过程中两种酶活性的动态变化. 北京农业大学学报, 1990, 16(2): 149~152
- 5 卢善发. 番茄/番茄嫁接体发育过程中的过氧化物酶同工酶. 园艺学报, 2000, 27(5): 340~344
- 6 余沛涛, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶(PAL)在细胞分化中的作用. 植物生理学报, 1986, 12(1): 37~38
- 7 徐丽明, 张铁中, 刘长青. 蔬菜自动嫁接机器人系统—旋转切削机构的设计. 中国农业大学学报, 2000, 5(2): 34~36
- 8 白宝璋, 于漱琦, 田文勋等. 植物生理学(下: 实验教程). 北京: 中国农业科技出版社, 1996. 56~57
- 9 高俊凤. 植物生理学实验技术. 西安: 世界图书出版公司, 2000. 192~193
- 10 杨世杰, 卢善发. 植物嫁接基础理论研究(上). 生物学通报, 1995, 30(9): 10~12
- 11 Fernandez-Garcia N, Carvajal M, Olmos E. Graft union formation in tomato plants: Peroxidase and catalase involvement. Ann Bot, 2004, 93(1): 53~60