

文章编号: 1001-1498(2000) 05-0493-08

难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

李明¹, 黄卓烈¹, 谭绍满¹, 莫晓勇², 林海球², 龙腾²

(1 华南农业大学, 广东 广州 510642; 2. 国家林业局 雷州林业科学研究所, 广东 湛江 524348)

摘要: 尾叶桉的 MLA 无性系(简称 MLA)是难生根无性系,尾叶桉的 U₆ 无性系(简称 U₆)、刚果 12 号桉 W₅ 无性系(简称 W₅) 为易生根无性系。MLA 各器官的多酚氧化酶(PPO)活性比 U₆、W₅ 的低,而 MLA 各器官的吲哚乙酸氧化酶(IAAO)活性比 U₆、W₅ 的高。各树种的 PPO 活性、IAAO 活性及 PPO 同工酶均具有器官的特异性。讨论了 PPO 和 IAAO 与不定根的发生和发展的关系。

关键词: 桉树无性系; 多酚氧化酶; 吲哚乙酸氧化酶; 扦插生根

中图分类号: S718.43; Q946 **文献标识码:** A

多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、吲哚乙酸氧化酶(indoacetic acid oxidase, IAAO)普遍存在于高等植物中,在植物的生长、发育中起重要的作用。PPO 是一种含铜的酶,能催化各种酚类氧化。IAAO 能降解吲哚乙酸(IAA),调节植物体内的 IAA 水平,从而影响植物的生长发育。据研究,植物体内的 PPO 活性与植物的不定根的形成有着非常密切的联系。Kieliszewska-Rokicha^[1]的研究指出,黑松(*Pinus thunbergii* Parl)在生根过程中,IAAO 的活性升高。Bagatharia 等^[2]的研究指出,在菜豆(*Phaseolus* sp.)的胚根生长过程中,体内的 IAAO 活性的变化与根的生长有着密切的联系。Devi 等^[3]在用阿魏酸处理玉米(*Zea mays* L.)苗时发现,随着根的伸长速度减小,体内 IAAO 活性上升,而 PPO 活性下降。Bhattacharya 等、Frenkel 等、Al Barazi 等^[4-6]人的研究指出,PPO 的存在对不定根的形成是十分重要的。Haissig^[7]和 Bouillenne 等^[8]的研究结果都表明,PPO 与植物根的形成有着非常密切的联系。

桉树(*Eucalyptus* spp.)是我国南方的重要经济树种,有极大的开发价值。由于桉树是异花授粉植物,其有性繁殖的后代变异太大,难以保持原种的优良性状,因而在生产上往往采用无性繁殖。但利用桉树枝条进行扦插繁殖时,其插条难以生根。对于桉树的扦插生根机理国内外研究甚少,而对于 PPO 和 IAAO 与桉树不定根形成的关系的研究就更少。本试验通过测定难生根桉树的 PPO、IAAO 活性及 PPO 同工酶在不同器官中的分布情况,以揭示难生根树种的 PPO、IAAO 与生根能力大小的内在联系,以便为桉树的扦插生产实践提供部分理论依据。

收稿日期: 1999-07-15; 修回日期: 1999-11-12

基金项目: 广东省重点攻关项目(99M04201G)及广东省林业厅和雷州林业局资助项目(950023)的一部分

作者简介: 李明(1963-),女,黑龙江五常人,现为甘肃中医学院讲师。

1 材料与amp;方法

1.1 供试材料

本试验的供试桉树树种为尾叶桉(*Eucalyptus urophylla* S. T. Blade) MLA 无性系(以下简称 MLA)、尾叶桉 U₆ 无性系(以下简称 U₆)、刚果 12 号桉(*Eucalyptus* ABL. 12) W₅ 无性系(以下简称 W₅)。供试材料均由国家林业局雷州林业科学研究所提供。

1.2 研究方法

1.2.1 不同桉树的扦插生根难易的比较试验 本试验用的扦插基质是用黄心土和泥炭土混合, 体积比为 2 : 1, 用 0.1% 的 KMnO₄ 消毒。以各种供试树种在大田栽培 8~9 个月的组培苗的萌芽条嫩梢作插条。插条长 8~12 cm, 保留 2 对健康叶片。将剪取后的插条立即浸入水中保湿, 分别用 0.1% 的吲哚丁酸(IBA) 溶液浸其基部 2 cm, 浸泡 1 min。然后将处理好的插条直接插于已消毒的育苗基质上, 深度为 2~3 cm。插条随采随处理随扦插。遮荫棚内相对湿度保持在 85%~95%。插后一周内频繁喷雾, 保持插条叶面常有水珠, 一周后逐渐减少喷雾次数, 延长每次喷雾相隔时间。每隔 10 d 喷 500 倍的百菌清或敌克松杀菌剂一次, 以预防病害的发生。插后 20 d 开始调查, 统计生根数和根长度。

1.2.2 聚丙烯酰胺凝胶电泳法分离 PPO 同工酶 酶的提取使用 0.1 mol · L⁻¹ 的 Tris-Gly 缓冲液(pH 8.3)。内含 0.2 g · L⁻¹ 的二巯基苏糖醇, 蔗糖 200 g · L⁻¹。取样时分别以未经 IBA 处理过的插条的根(新根、老根混合)、茎上部(0~3 节)、茎中部(3~6 节)、茎下部(6~10 节)、叶(叶肉组织) 作为测定位点。将样品用自来水冲洗后再用蒸馏水冲洗, 然后用滤纸吸干, 称质量。称取根样品 0.5 g 加酶提取液 3 mL; 茎(上段) 1 g 加酶提取液 3.5 mL; 茎(中段) 1 g 加酶提取液 4 mL; 茎(下段) 1 g 加酶提取液 4.5 mL; 叶 1 g 加酶提取液 3 mL; 分别将样品置研钵中于冰浴上研磨, 匀浆于 4~5 mL 离心 15 min(10 000 r · min⁻¹), 取上清液作为电泳样品液。

PPO 同工酶电泳 试验采用聚丙烯酰胺不连续凝胶缓冲系统垂直板电泳。分离胶浓度为 7.5%, 浓缩胶浓度 3%, 电极缓冲液为 0.005 mol · L⁻¹ 的 Tris-Gly(pH 8.3) 溶液。每样品孔点样 30 μL。以 0.05% 溴酚蓝为前沿指示剂。电泳开始 30 min, 溴酚蓝前沿在浓缩胶位置时, 用 100 V 电压, 当溴酚蓝前沿进入分离胶时, 改用 150 V 恒压。在 4℃ 电泳 5 h。每个样品重复分析 3 次。

同工酶检测 PPO 显色液为 A 液: 取 2 g 对苯二胺加入预热的 18 mL 醋酸中溶解。B 液: 取 1% 的间苯二酚 1.5 mL, 2% 的 H₂O₂ 0.3 mL, 加双蒸 H₂O 60 mL。临用前, 取 1 mL A 液混于 B 液中, 摇匀。电泳结束后取下凝胶板, 放入 PPO 显色液中染色。在室温下显色 2 h。显色完毕后, 用蒸馏水冲洗, 然后拍照, 并用日本产的 CS-930 型凝胶薄层扫描仪在 580 nm 下扫描同工酶峰。

1.2.3 多酚氧化酶活性测定 取样品 1 g, 加不溶性聚乙烯吡咯烷酮(PVP) 0.1 g(事先用蒸馏水浸洗, 再过滤以除去杂质), 磷酸缓冲液(0.1 mol · L⁻¹, pH 6.5) 5 mL, 在冰浴下研磨成匀浆, 用 4 层纱布过滤, 得滤液。滤液中加入硫酸铵至 30% 饱和度, 离心除去沉淀。上清液再加硫酸铵至 60% 饱和度, 离心收集沉淀。将所得沉淀溶于少量 0.01 mol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液(pH 6.5) 中, 用以测定 PPO 活性。PPO 活性测定根据 Archer 等^[9] 的方法进行修改。酶反应体系包括 2 mL 磷酸缓冲液(0.1 mol · L⁻¹, pH 6.0), 1 mL 儿茶酚(0.1 mol · L⁻¹), 0.1 mL 酶

液,以煮过失活酶液为对照。反应体系加入酶液后,于 37 ℃ 保温 10 min,迅速放入冰浴中,立即加入 2 mL 20% 的三氯乙酸,10 000 r · min⁻¹ 离心 15 min,收集上清液,并适当地稀释。于 525 nm 波长下测定其吸光度,并计算酶活性。以每毫克蛋白质每分钟改变一个 OD₅₂₅ 单位为一个酶活力单位。

1.2.4 吲哚乙酸氧化酶活性的测定 称取 1 g 样品,加 20 mmol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液 (pH 6.0) 5 mL,加少量石英砂,置冰浴中研磨成匀浆,再按 100 mg 鲜质量材料加 1 mL 提取液的比例,用磷酸缓冲液稀释之,离心 (10 000 r · min⁻¹) 15 min,取上清液测定 IAAO 活性。IAAO 活性测定根据张志良^[10] 的方法进行修改。以每毫克蛋白质在 1 h 内分解破坏 IAA 的微克数表示酶活力大小。

1.2.5 可溶性蛋白质含量的测定 采用 Bradford^[11] 的方法测定。

2 结果与分析

2.1 3种桉树扦插生根能力比较

本试验于 1998 年 11 月进行,试验结果 (表 1) 表明,尾叶桉 MLA 无性系的扦插发根能力最低,而尾叶桉 U₆ 无性系和刚果 12 号桉 W₅ 无性系的扦插发根能力较高,分别为 89.33% 和 90.00%,比 MLA 高出 219.0% 和 221.4%。由此结果得出,MLA 是较难生根的树种,U₆ 和 W₅ 是较易生根树种。

表 1 3种桉树无性系扦插生根能力比较

树 种	平均发根率/ %	平均根长/ (cm · 株 ⁻¹)
MLA	28.00 b	11.20 a
U ₆	89.33 a	3.84 b
W ₅	90.00 a	3.78 b

注:表中数据为 3 次重复的平均值,每重复用插条 50 枝。纵行数据的末尾的字母是邓肯氏新复极差检验结果,具有相同字母表示差异不显著,具有不同字母表示差异显著 ($P = 0.05$)。

2.2 3种桉树无性系不同器官的 PPO 活性比较

表 2 结果表明,各植物不同器官的 PPO 活性各异。同一树种中,插条茎的上、中、下各段的 PPO 活性依次增高,即随着组织成熟度的增强,PPO 活性也升高。这在 3 种桉树中均相同。难生根的 MLA 各器官中以根的 PPO 活性为最强,茎上部的 PPO 活性为最弱。而在容易生根的 U₆ 和 W₅ 中,则以叶片的 PPO 活性为最强。在 3 种桉树中,难生根的 MLA 各器官的 PPO 活性都比易生根的 U₆ 和 W₅ 的低。其中叶的差异较大,U₆ 和 W₅ 叶的 PPO 活性分别比难生根的 MLA 叶的 PPO 活性高 151.1% 和 127.1%。对茎的上中下混合样品的数据进行邓肯氏新复极差检验结果,难生根的 MLA 茎内 PPO 活性显著地低于容易生根的 U₆ 和 W₅ 的 PPO 活性。

表 2 3种桉树不同器官多酚氧化酶活性

u · min⁻¹ · mg⁻¹

树 种	根	叶	茎(上)	茎(中)	茎(下)	茎(上中下混合)
MLA	5.87 ± 0.05	4.08 ± 0.04	3.87 ± 0.03	4.11 ± 0.05	4.80 ± 0.02	3.86 ± 0.04 b
U ₆	7.02 ± 0.02	10.25 ± 0.03	5.02 ± 0.02	5.32 ± 0.07	6.77 ± 0.04	6.31 ± 0.03 a
W ₅	7.86 ± 0.04	9.27 ± 0.02	5.88 ± 0.09	6.04 ± 0.04	6.68 ± 0.03	6.56 ± 0.03 a

注:测定时间为 5 月,数字是 3 次重复的平均值。表中字母为邓肯氏新复极差检验结果,字母相同表示差异不显著,字母不同表示差异显著 ($P = 0.05$)。

2.3 3种桉树无性系不同器官 IAAO 活性比较

表 3 显示了各种桉树无性系不同器官的 IAAO 活性。结果表明,不同器官的 IAAO 活性不同。在同一树种茎的上、中、下各段的 IAAO 活性依次增高。IAAO 活性与 PPO 活性分布相似,随着组织成熟度升高而增强。各树种的 IAAO 活性以根部最高,而以茎尖的为最低。难生

根的 MLA 各器官的 IAAO 活性均比容易生根的 U_6 和 W_5 的高。叶是酶活性相差较明显的器官, MLA 叶的 IAAO 活性分别比易生根植物 U_6 和 W_5 叶的 IAAO 活性高 57.7% 和 33.4%。对茎的上中下混合样品的数据进行邓肯氏新复极差检验结果, MLA 茎内的 IAAO 活性显著地高于 U_6 和 W_5 的 IAAO 活性。

由此可见, PPO、IAAO 两种酶活性在桉树根、茎、叶不同器官是不同的, 且都随着器官的成熟度升高而增加, 难生根树种 MLA 的 IAAO 活性较易生根树种 U_6 和 W_5 的高, 而 MLA 的 PPO 活性则较易生根树种 U_6 和 W_5 的低。

表 3 3 种桉树无性系不同器官 IAAO 活性比较

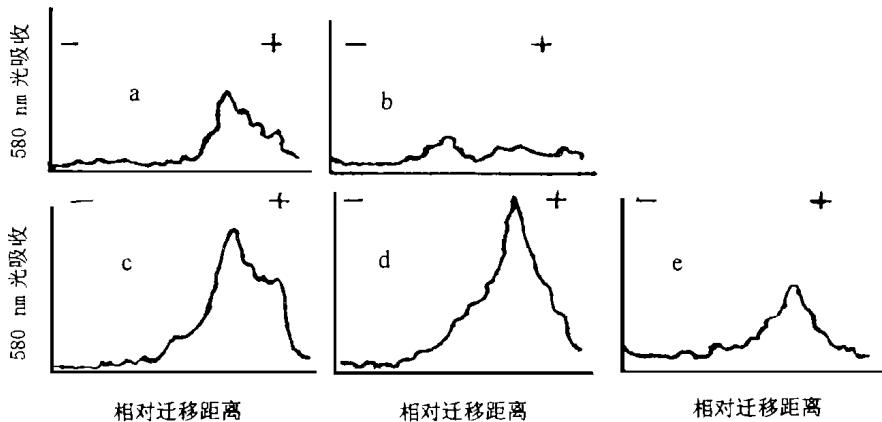
$\mu\text{g} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$

树 种	根	叶	茎(上)	茎(中)	茎(下)	茎(上中下混合)
MLA	5.87 ± 0.08	5.02 ± 0.06	3.80 ± 0.02	4.02 ± 0.04	4.87 ± 0.09	4.95 ± 0.04 a
U_6	4.92 ± 0.07	3.18 ± 0.05	2.88 ± 0.04	3.21 ± 0.05	4.32 ± 0.07	2.07 ± 0.05 c
W_5	4.69 ± 0.04	3.76 ± 0.03	2.56 ± 0.03	2.88 ± 0.04	3.32 ± 0.05	2.79 ± 0.05 b

注: 取样部位同上, 测定时间为 5 月, 数字是 3 次重复的平均值。表中字母为邓肯氏新复极差检验结果, 字母相同表示差异不显著, 字母不同表示差异显著 ($P = 0.05$)。

2.4 MLA 各器官的 PPO 同工酶图谱的分析

从图 1 可知, MLA 各器官的 PPO 同工酶的酶峰数不同。根的酶峰数与叶的明显不同。茎上、茎中、茎下部的酶峰数也有差异。由此可见, MLA 各器官的 PPO 同工酶存在器官的特异性。



a. 根 b. 叶 c. 茎下 d. 茎中 e. 茎上

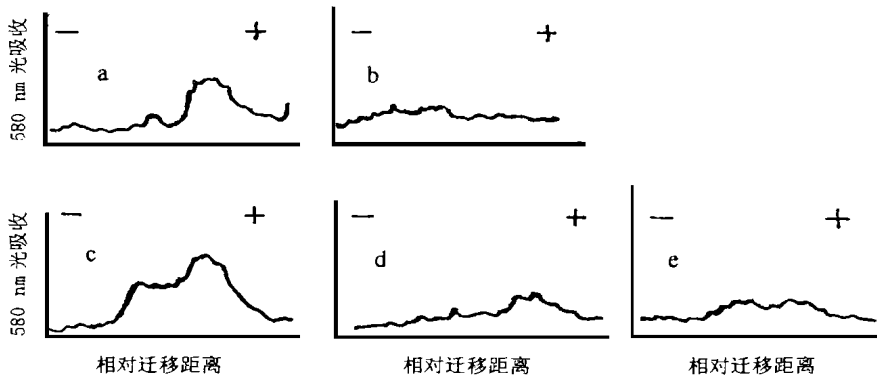
图 1 MLA 各器官的 PPO 同工酶图谱

2.5 U_6 各器官的 PPO 同工酶图谱分析

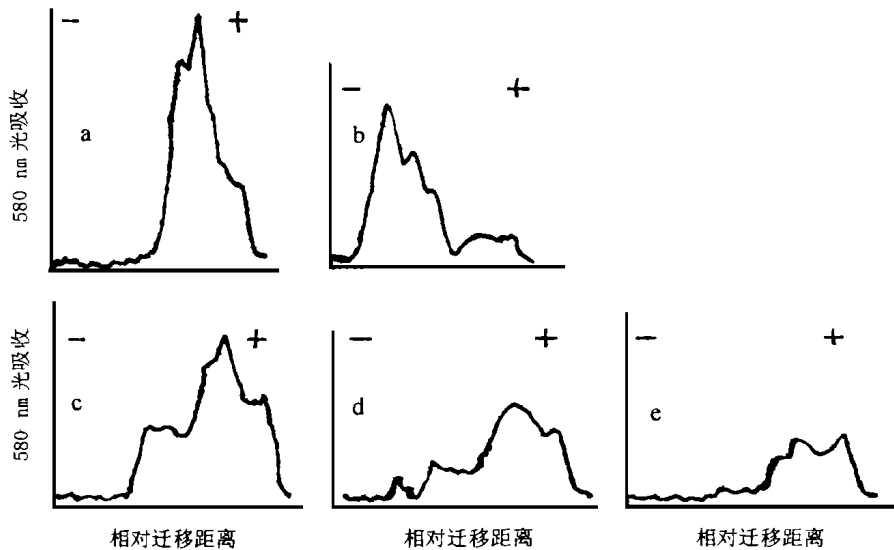
由同工酶扫描图 2 中可看出, U_6 各器官的 PPO 同工酶扫描峰数不同。根、叶、茎上、茎中、茎下部的 PPO 同工酶扫描峰数差异较大。可见, 在 U_6 中, 各器官的 PPO 同工酶也表现出明显的器官特异性。

2.6 W_5 各器官的 PPO 同工酶图谱分析

从图 3 中可看出, W_5 各器官的 PPO 同工酶扫描峰数也不同。根、叶、茎上、茎中、茎下部的 PPO 同工酶扫描峰数也有明显的差异。也表现出明显的器官特异性。



a. 根 b. 叶 c. 茎下 d. 茎中 e. 茎上

图 2 U₆ 各器官的 PPO 同工酶扫描峰图

a. 根 b. 叶 c. 茎下 d. 茎中 e. 茎上

图 3 W₅ 各器官的 PPO 同工酶扫描峰图

3 讨 论

PPO、IAAO 是普遍存在于植物体内的两种酶。在许多植物体内的分布和活性高低随器官组织的不同而不同。本试验结果证实了这个观点。通过测定 MLA、U₆ 和 W₅ 根、茎、叶的 PPO、IAAO 的活性,发现在不同器官内这两种酶的活性均不同。这可能与不同器官的生理功能和代谢方式不同有关。这两种酶在植物体内参与多种生理反应,故在不同的植物器官中表现不同的活性。本试验结果还表明,在植物茎的不同部位这两种酶也呈现不同的活性,都随着茎的成熟度的提高而上升。Gonzalez 等^[12]研究表明在榛子子叶的组织培养中,木质部的形成与 PPO 活性增加相联系,这两种酶被用作木质素合成的标志。Srivastara 等^[13]发现,IAAO、PPO 两种酶之间具有密切的关系。本试验的研究结果表明,难生根的 MLA 各器官的 IAAO 活性均比易

生根的高,在叶中表现得更为明显。嫩枝扦插带有叶子,而叶是制造营养的器官,同时又能合成生长素等激素。已知 IAA 的一个非常重要的生理功能就是促进不定根的形成。体内的 IAAO 可以氧化 IAA^[14~18]。难生根植物叶的 IAAO 活性高,降解 IAA 的作用强,IAA 被破坏较多,向下输送的 IAA 含量就很少,对诱导生根不利。反之,易生根植物叶中 IAAO 活性低,其降解 IAA 能力较低,而输送到茎基部的 IAA 就较多,对诱导根原基的形成有利。从本试验结果可得出,根据植物叶的 IAAO 活性高低也许可作为判定植物生根难易的指标之一。当然,不能只简单根据植物叶的 IAAO 活性高低作为判定植物生根的难易,因为生根还受植物体内生长素之间的相对比例^[19]、生长抑制剂的存在与否^[20]等因素的综合影响。IAA 的存在对不定根的起源和生长是无可否定的。因此,任何影响 IAA 含量变化的因素的存在势必影响不定根的发生与发展。因而 IAAO 活性高低直接影响不定根的形成是顺理成章的。

据认为, PPO 的存在对不定根的形成又是十分重要的。在体内, 酚类物质对不定根的起源和发育起着极其重要的作用^[21,22]。用外源的酚类化合物处理菜豆的插条后大幅度提高了插条的发根量^[23]。PPO 的一个重要作用是催化酚类物质与 IAA 缩合而形成一种“IAA-酚酸复合物”^[7,8], 这种复合物是一种生根的辅助因子, 具有促进不定根形成的活性^[24]。有证据表明, 高浓度的酚类物质可以在枝条内积累, 从而形成促进生根的物质, 促进愈伤组织的分化^[22]。有人认为, 难生根的枝条与容易生根的枝条之间有一个重要的差别就是其体内酚类物质的含量不同, 难生根的枝条含有较少的酚类物质, 容易生根的枝条则含有较多的酚类物质^[25]。在不定根形成时, 体内的酚类物质含量就会下降, 据认为这是由于酚类物质在 PPO 的作用下转变的结果。酚类物质被 PPO 作用后的产物就能促进不定根的形成^[23]。Foong 等^[26]发现, 在易生根的 *Rhododendron ponticum* 体内的 PPO 活性就较高, 而在难生根的 *R. Jan Dekens* 中 PPO 活性就要低得多。本试验的结果表明, 难生根的 MLA 插条内 PPO 活性较低, 因而可能催化形成的“IAA-酚酸复合物”较少, 导致对生根不利。而 U₆ 和 W₅ 体内的 PPO 活性较高, 可能其合成的这种复合物较多, 因而就能较大幅度地提高扦插生根率。可见本试验结果与上述观点是相符的。这也说明 PPO 在生根中确有可能主要起着催化这种复合物形成的作用。试验结果证明, PPO 的活性的高低确实与不定根的发生有关。Bhattacharya^[27] 就曾经证明 PPO 催化生长素代谢, 促进不定根的起源与发育。Molnar 等^[28] 曾经发现, 在 *Hydrangea macrophylla* 的茎组织产生不定根时, 体内的 PPO 活性剧烈地上升。Habaguchi^[29] 用胡萝卜的愈伤组织进行培养时, 伴随着根点的出现, PPO 活性也急剧上升。Upadhyaya 等^[30] 用多效唑处理菜豆的插条时, 发现在其生根量大大升高的同时, 体内的 PPO 活性也大幅度上升。在本试验中, 利用桉树插条作为研究材料, 不仅成功地进一步证实前人用其它植物研究所得的理论, 而且为揭示桉树的扦插生根机理提供了新的论据。

本试验的结果还表明了同一植物不同器官的 PPO 同工酶谱不同, 同一器官不同树种的 PPO 同工酶谱也不同。说明 PPO 同工酶不但在同一树种中存在器官的特异性, 而且在不同植物的同一器官中也存在特异性。同工酶在更精细程度上调节代谢类型, 由此控制分化与形态构成。

参考文献:

- [1] Kieliszewska-Rokicka B. Effect of treating scots pine (*Pinus sylvestris* L.) seedlings with phytohormone on the growth of the root system and on the peroxidase and IAA oxidase enzyme activities in roots [J]. Arboretum-Kornckie, 1989, 32: 207 ~ 219.
- [2] Bagatharia S B, Chanda S V. Changes in peroxidase and IAA oxidase activities during cell elongation in *Phaseolus hypocotyls* [J]. Acta Physiol Plant, 1998, 20(1): 9 ~ 13.
- [3] Devi S R, Prasad M N V. Ferulic acid mediated changes in oxidative enzymes of maize seedlings implication in growth [J]. Biol Plant, 1996, 38(3): 387 ~ 395.
- [4] Bhattacharya N C, Kumar A. Physiological and biological studies associated with adventitious root formation in *Phaseolus mungo* L. in relation to auxin-phenol synergism [J]. Biochem Physiol Pflanz, 1980, 175: 421 ~ 435.
- [5] Frenkel C, Hess C E. Isozymic changes in relation to root initiation in mung bean [J]. Can J Bot, 1973, 52: 295 ~ 297.
- [6] Al Barazi Z, Schwabe W W. The possible involvement of polyphenol-oxidase and the auxin-oxidase system in root formation and development in cuttings of *Pistacia vera* [J]. J Hort Sci, 1984, 59(3): 453 ~ 461.
- [7] Haissig 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.
- [8] Bouillenne R, Bouillenne-Walrand M. Auxines et bouturages [C]. Proc 14 Int Hort Cong, 1955.
- [9] Archer M C, Palmer, J K. An experiment in enzyme characterization: Bona polyphenol oxidase [J]. Biochem Educ, 1975, 3(3): 50 ~ 52.
- [10] 张志良. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1987.
- [11] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. Anal Biochem, 1977, 72(2): 248 ~ 254.
- [12] Gonzalez A, Tames S R, Rodriguez R. Ethylene in relation to protein, peroxidase and polyphenol oxidase activities during rooting in hazelnut cotyledons [J]. Physiol Plant, 1991, 83: 611 ~ 620.
- [13] Srivastava O P, Van Huystee R B. An interrelationship among peroxidase, IAA oxidase and polyphenol oxidase from peanut cell [J]. Can J Bot, 1977, 55: 2630 ~ 2635.
- [14] Barm an T E. Enzyme handbook. V. 1 [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1969.
- [15] Gaspar T. Rooting and flowering, two antagonistic phenomena from a normal point of view [A]. In: Jeffcoat B, ed. Aspects and Prospects of Plant Growth Regulators [C]. Brit, 1980. 34 ~ 49.
- [16] Gaspar T, Penel C, Thorpe J, et al. Peroxidase [M]. Universite' de Geneve' Centre de Botanique, Geneve. 1982.
- [17] Gebhardt K. Activation of indole-3-acetic acid oxidase from horseradish and prunus by phenols and hydrogen peroxide [J]. Plant Growth Regul, 1982, 1(2): 73 ~ 84.
- [18] Haissig B E. Metabolic processes in adventitious rooting of cuttings [A]. In: Jackson M B, ed. New Root Formation in Plant and Cuttings [C]. Lancaster: Martinus Nijhoff, 1986. 141 ~ 189.
- [19] 郑均宝, 刘玉军, 裴保华, 等. 几种木本植物插穗生根与内源 IAA、ABA 的关系 [J]. 植物生理学报, 1991, 17(3): 313 ~ 316.
- [20] 黄卓烈, 林韶湘, 谭绍满, 等. 桉树体内的生根抑制物质研究综述 [J]. 林业科学研究, 1994, 7(3): 319 ~ 323.
- [21] Basu R N, Mandal K, Punjabi B. Propagation of tropical and subtropical horticultural crops [A]. In: Bose R K, Mitra S K, ed. Sadhu M K. Naya Prakash [M]. India, 1986. 87.
- [22] Balakrishnamurthy G, Madhava Rao V N. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rose bourboniana* Desp) [J]. Curr Sci, 1988, 57(17): 960 ~ 962.
- [23] Poapst P A, Durkee A B. Root differentiating properties of some simple aromatic substances of the apple and pear fruit [J]. J Hort Sci, 1967, 42: 429 ~ 438.
- [24] Bassuk N L, Hunter L D, Howard B H. The apparent of polyphenol oxidase and phloridzin in the production of apple rooting cofactors [J]. J Hort Sci, 1981, 56(4): 313 ~ 322.
- [25] Hartman T, Kester D E. Plant propagation—principle and practices [M]. 3rd ed. New Delhi: Prentice Hall of India

1976.

- [26] Foong T W, Barnes M F. The levels of reserve metabolites and oxidative enzymes in the cuttings of easy-to-root and difficult-to-root rhododendrons [J]. *Biochem Physiol Pflanzen*, 1981, 176: 206 ~ 216.
- [27] Bhattacharya N C. Enzyme activities during adventitious rooting [A]. In: Davis T D, Haissig B E, Sankhla N, eds. *Adventitious Root Formation on Cutting*. Dioscorides: Portland, 1989. 88 ~ 101.
- [28] Molnar J M, La Croix L J. Studies of the rooting of cuttings of *Hydrangea macrophylla*: enzyme changes [J]. *Can J Bot*, 1972, 50: 315 ~ 322.
- [29] Habaguchi K. Alterations in polyphenol oxidase activity during organ redifferentiation from carrot calluses cultured *in vitro* [J]. *Plant Cell Physiol*, 1977, 18: 181 ~ 189.
- [30] Upadhyaya A, Davis T D, Sankhla N. Some biochemical changes associated with paclobutrazol-induced adventitious root formation on bean hypocotyl cuttings [J]. *Ann Bot*, 1986, 57: 309 ~ 315.

Comparison on the Activities and Isoenzymes of Polyphenol Oxidase and Indoleacetic Acid Oxidase of Difficult- and Easy-to-root *Eucalyptus* Species

LI Ming¹, HUANG Zhuo-lie¹, TAN Shao-man¹, MO Xiao-yong²,
LIN Hai-qiu², LONG Teng²

(1. South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China;

2. Leizhou Forestry Institute of State Forestry Administration, Zhanjiang 524348, Guangdong, China)

Abstract: *Eucalyptus urophylla* MLA clone (MLA) was difficult-to-root species. *Eucalyptus urophylla* U6 clone (U6) and *Eucalyptus* ABL-12 W5 clone (W5) were relatively easy-to-root species. The activities of polyphenol oxidase (PPO) in MLA is lower than that of U6 and W5, but the activity of indoleacetic acid oxidase (IAAO) in MLA was higher than that of U6 and W5. The activities of PPO and IAAO and the isoenzymes of PPO in every species had their specificity in every organ. The relationship between the formation and development of adventitious roots and PPO and IAAO was discussed.

Key words: *Eucalyptus* clone; polyphenol oxidase; indoleacetic acid oxidase; rooting of cuttings