

DOI:10.12403/j.1001-1498.20230362

不同外源物质对蒙古栎插穗生根及基部生理生化的影响

钟明霞¹, 艾万峰², 袁欣¹, 黄一鹤¹,
魏俊¹, 王玉涛¹, 陆秀君^{1*}

(1. 沈阳农业大学林学院, 辽宁 沈阳, 100866; 2. 沈阳农业大学园艺学院, 辽宁 沈阳, 100866)

摘要: [目的] 扦插是苗木良种繁育的一种重要途径, 适宜外源物质的应用能促进插穗生根。蒙古栎扦插生根困难, 探究不同浓度外源物质及其组合应用对蒙古栎嫩枝扦插生根的影响, 为蒙古栎规模化扦插育苗提供技术支持。[方法] 采用速蘸法或浸泡法, 使用不同浓度吲哚丁酸钾 (IBA-K)、生根粉 (ABT₁)、K599 发根农杆菌、丙环唑 (PCZ) 及其组合应用处理插穗, 测定插穗生根率、愈伤率、生根数、根长、营养物质含量、酶活性和内源激素含量变化等。[结果] 不同外源物质单独处理时, K599 发根农杆菌 ($OD_{600} = 0.8$) 浸泡 30 min 后插穗生根率最高, 可达 24.71%。50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 浸泡 2 h 后插穗根部愈伤率最高, 达 43.62%。其它外源物质单独处理时, 插穗生根效果差。不同外源物质组合应用时, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 浸泡 2 h 结合 K599 发根农杆菌 ($OD_{600} = 0.8$) 浸泡 30 min 可显著提高蒙古栎插穗生根, 生根率可达 36.37%, 愈伤率达 51.14%, 平均生根数及根长分别为 2.25 和 5.72 cm。此外, 研究结果表明, PCZ 能够加快插穗生根过程中可溶性糖和蛋白消耗, 促进过氧化物酶 (POD) 和多酚氧化酶 (PPO) 活性, 提高不定根诱导期 IAA 含量, 增加 IAA/ABA 和 IAA/ZR 比值。[结论] PCZ 结合发根农杆菌 K599 组合应用能够显著提高蒙古栎嫩枝扦插生根率。营养物质 (可溶性糖、蛋白) 消耗慢、抗氧化酶 (PPO、POD) 活性弱、IAA 含量低可能是蒙古栎扦插生根难的主要原因, 而 PCZ 对此具有重要抑制作用, 可在蒙古栎等扦插难生根物种中发挥重要作用。

关键词: 扦插; 发根农杆菌; 丙环唑; 生根机理

中图分类号: S723.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2024)x-0001-09

蒙古栎 (*Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.) 为壳斗科 (Fagaceae) 栎属落叶乔木, 广泛分布于我国东北和华北地区, 是落叶栎类中最耐寒和耐旱树种, 具有较高的生态和经济价值^[1]。生产中, 蒙古栎多以种子进行播种繁殖, 致使优良性状不能稳定遗传, 林分质量得不到保证, 无法形成高经济价值林木, 进而影响蒙古栎开发利用和产业化进程^[2]。

无性繁殖是树木良种规模化推广的重要途径, 其中扦插应用最广泛。插穗能否生根是决定扦插成

功的关键。栎树插穗内含有大量酚类等阻碍生根的物质, 属于极难生根树种^[3]。植物生长调节剂能显著促进栎树插穗生根。例如: 栓皮栎 (*Quercus variabilis* Blume) 插穗经 1 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA 速蘸处理后, 生根率可达 34.07%, 比对照组提高 5.2 倍^[4]; 北美红栎 (*Quercus rubra* L.) 插穗经 400 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABT₁ 浸泡 6 h 后, 生根率从 0 提高到 16.7%^[5]; 苏玛栎 (*Quercus shumardii*) 插穗在 0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 IBA 溶液中浸泡 1 h, 生根率可达 24.2%^[6]。

收稿日期: 2023-09-12 修回日期: 2023-03-18

基金项目: 十四五国家重点研发计划子课题: 蒙古栎抗逆专适良种选育 (No.2021YFD2200302-3)

* 通讯作者: 陆秀君, 博士, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 森林培育。电话: 13840282737。Email: lxjsyau@syau.edu.cn

除植物生长调节剂,其它外源物质近些年被证明在促进插穗生根中发挥重要作用,但对栎树扦插效果及机制不清楚。发根农杆菌可诱导毛状根形成,利用该特性可促进苹果、大叶金叶槲、亚美马褂木等多种植物插穗生根^[7]。亚美马褂木 (*Liriodendron sino-americanum*) 插穗经 A4 发根农杆菌菌液 ($OD_{600} = 0.5$) 处理后,生根率可提高 43.4%。糠锻 (*Tilia mandschurica* Rupr.er Maxim.) 插穗经 30 148 发根农杆菌 ($OD_{600} = 1.0$) 结合 IBA 浸泡处理,生根率可达 88.9%^[8]。

丙环唑 (PCZ) 是油菜素甾醇合成抑制剂,参与植物激素信号调控。有研究表明,PCZ 参与毛竹根基因表达调控,从而影响细胞壁、过氧化氢代谢分解和生长素相关基因表达^[9]。基于烟草和棉花幼苗相关研究发现,适宜浓度 PCZ 可促进根径生长^[10]和侧根数增多,并提高生根过程中的相关酶活性^[11]。然而,PCZ 是否能够促进植物插穗生根未知。

蒙古栎为扦插极难生根树种,目前尚未有成熟扦插技术报道,插穗生根机理不明确。探明植物扦插生根调控机理是提高植物插穗生根率的关键。在扦插生根过程中,营养物质、内源激素和酶的动态变化发挥重要调控作用^[12]。本研究以蒙古栎当年生健壮嫩枝为扦插材料,使用不同浓度 ABT₁、IBA-K、K599 发根农杆菌、PCZ 及其组合处理,通过比较插穗的生根率、愈伤率、不定根数、根长等生长指标,探究蒙古栎扦插最适外源物质及浓度,揭示蒙古栎插穗难生根机理,为蒙古栎规模化扦插育苗提供理论与技术指导。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验材料采自辽宁省沈阳市高坎镇沈阳农业大学实验基地。插穗选取当年生长势良好、整齐一致、无病虫害嫩枝。插穗修剪成长 10~12 cm,保留 2 片平切口叶。扦插基质选用蛭石和珍珠岩 (1:1)。插床使用塑料大棚覆盖,外加 70% 透光率遮阳网。棚内相对湿度在扦插前期控制在 70%~90%,生根后适当减小,温度控制在 20~30 ℃。

K599 发根农杆菌培养:用接种环蘸取少量甘油菌,在含 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素的 TY 平板上连续划动,重复操作 2~3 次。平板于 28 ℃ 倒置培养

2~3 d。挑取单菌落至 1.5 mL 含有链霉素抗性的 LB 液体培养基中,28 ℃,200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇菌 12~24 h。取 1 mL 菌液加入到 50 mL 含有 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 链霉素抗性的 LB 液体培养基中,28 ℃,200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 摇床震荡培养 5~6 h (OD_{600} 约为 0.4)、7~8 h (OD_{600} 约为 0.8)、9 h (OD_{600} 约为 1.2)。

1.2 试验方法

1.2.1 不同外源物质处理蒙古栎插穗 使用不同浓度 IBA-K (A1: 1 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、A2: 3 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、A3: 4 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、ABT₁ (B1: 1 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、B2: 3 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、B3: 4 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、K599 发根农杆菌 (C1: $OD_{600} = 0.4$ 、C2: $OD_{600} = 0.8$ 、C3: $OD_{600} = 1.2$)、PCZ (D1: 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、D2: 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理插穗,以清水 (CK1) 和 LB 液体培养基 (CK2) 分别为对照。IBA-K、ABT₁ 和清水处理采用速蘸法、K599 菌液和 LB 液体培养基处理采用浸泡法 (30 min)、PCZ 处理也采用浸泡法 (2 h)。每处理包括 30 根插穗,各处理 3 次重复。

1.2.2 不同外源物质组合处理蒙古栎插穗 以试验 1.2.1 结果中植物生长调节剂 (IBA-K 或 ABT₁)、发根农杆菌 K599 及 PCZ 各外源物质的最佳浓度进行组合处理,其中植物生长调节剂 (IBA-K、ABT₁) 对蒙古栎插穗生根率影响没有显著差异 (表 2)。由此使用 IBA-K (4 000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、发根农杆菌 K599 ($OD_{600} = 0.8$)、PCZ (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 组合处理插穗。组合应用时,外源物质按表 1 顺序依次处理插穗。插穗在 K599 菌液与 PCZ 中采用浸泡法,分别浸泡 30 min 和 2 h,IBA-K 中采用速蘸法。每处理包括 30 根插穗,各处理 3 次重复。

1.2.3 PCZ 处理后插穗生理生化变化 试验使用 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 浸泡 2 h 的插穗为处理组、清水浸泡 2 h 的为对照组。每处理 300 个插穗,3 次重复。基于蒙古栎插穗生根特点,扦插过程中每 10 d 进行一次取样,共取 7 次。每次取样时将穗条附着基质清洗干净,擦干后快速取下基部 2~3 cm 韧皮部,剪碎混匀后液氮速冻,并于 -80 ℃ 保存。

生根过程各时期韧皮部可溶性糖含量、淀粉含量、过氧化物酶 (POD) 和吡哆乙酸氧化酶 (IAAO) 活性测定参照张志良^[13]等人的方法。蛋白质含量测定参照李合生^[14]的方法。多酚氧化酶

表 1 不同外源物质组合应用

Table 1 - Combined application of different exogenous substances

组合处理 Combination treatment	组合处理中外源物质及浓度 Exogenous substances and concentrations in combination treatment
E1	K599 ($OD_{600} = 0.8$) + IBA-K (4 000 mg·L ⁻¹)
E2	PCZ (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + K599 ($OD_{600} = 0.8$)
E3	PCZ (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + K599 ($OD_{600} = 0.8$) + IBA-K (4 000 mg·L ⁻¹)
E4	PCZ (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + IBA-K (4 000 mg·L ⁻¹)
E5	PCZ (50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) + IBA-K (4 000 mg·L ⁻¹) + K599 ($OD_{600} = 0.8$)

注: 各组合处理按表中书写顺序依次处理插穗。例如: E1 (插穗先在浓度为0.8的发根农杆菌 K599中浸泡30 min, 接着在4 000 mg·L⁻¹ IBA-K中速蘸)

Notes: Each combination processing according to the table in the order of writing processing cuttings. For example: E1 (the cuttings were soaked for 30 min in *Agrobacterium rhizogenes* K599 at a concentration of 0.8, followed by dipping at a medium speed of 4 000 mg·L⁻¹ IBA-K)

表 2 不同外源物质对蒙古栎扦插生根的影响

Table 2 Effects of different exogenous substances on the rooting of *Quercus mongolica* cuttings

处理 Treatment	生根率 Rooting rate/%	愈伤率 Callus rate/%	不定根数 Root number	平均根长 Average root/cm	根系效果指数 Root index
A1	3.33 ± 0 dD	16.75 ± 1.95 cBC	2.33 ± 0.33 abAB	8.15 ± 1.35 aA	0.66 ± 0.21 cCD
A2	0 dD	7.79 ± 1.12 deCD	0 cC	0 cB	0 dD
A3	0 dD	0 eD	0 cC	0 cB	0 dD
B1	0 dD	4.45 ± 1.11 eD	0 cC	0 cB	0 dD
B2	1.11 ± 1.11 dD	14.50 ± 1.12 cdBC	0.33 ± 0.33 cC	1.90 ± 1.9 bcB	0.06 ± 0.06 dD
B3	2.22 ± 1.11 dD	16.75 ± 1.95 cBC	1.33 ± 0.88 bcBC	5.28 ± 2.76 abAB	0.32 ± 0.19 cdD
C1	14.50 ± 2.24 bB	36.39 ± 3.14 bA	1.80 ± 0.12 bABC	5.24 ± 0.18 abAB	1.35 ± 0.19 bB
C2	24.71 ± 2.29 aA	37.56 ± 2.07 bA	3.07 ± 0.13 aA	6.08 ± 0.05 abAB	4.57 ± 0.23 aA
C3	7.79 ± 1.12 cC	22.43 ± 3.01 cB	1.23 ± 0.23 bcBC	4.73 ± 0.23 abAB	0.47 ± 0.15 cdD
D1	1.11 ± 1.11 dD	20.14 ± 1.96 cB	0.33 ± 0.33 cC	0.27 ± 0.27 cB	0.01 ± 0.01 dD
D2	12.25 ± 1.12 bB	43.62 ± 2.47 aA	1.72 ± 0.03 bABC	4.91 ± 0.10 abAB	1.04 ± 0.09 bBC
CK1	0 dD	7.79 ± 2.95 deCD	0 cC	0 cB	0 dD
CK2	0 dD	1.11 ± 1.11 eD	0 cC	0 cB	0 dD

注: 数据为平均值 ± 标准差, 同一列不同大写字母表示不同处理间差异极显著 ($p < 0.01$), 不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($p < 0.05$)。下同

Notes: The data were showed by mean ± SD. Different capital letters in the same column indicate highly significant differences ($p < 0.01$), different capital letters indicate significant differences ($p < 0.05$). The same below

(PPO) 活性测定参照李忠光等^[15]的方法。吲哚乙酸 (IAA)、脱落酸 (ABA)、赤霉素 (GA_3) 和玉米素核苷 (ZR) 含量, 均采用酶联免疫法 (ELISA) 测定, 酶联免疫法 (ELISA) 试剂盒购自武汉纯度生物科技有限公司。每测定包括 3 次重复。

使用 SPSS 26.0 进行单因素方差和多重比较分析, 分析前对百分率数值进行反正弦转换 (\sin^{-1})。数据可视化使用 Origin 2021 和 R 进行。

2 结果与分析

2.1 不同外源物质对蒙古栎扦插生根的影响

不同外源物质及浓度对蒙古栎扦插生根率、愈伤率等具有极显著影响 (表 2)。其中, 植物生长调节剂 IBA-K 和 ABT_1 处理后对插穗生根率没有显

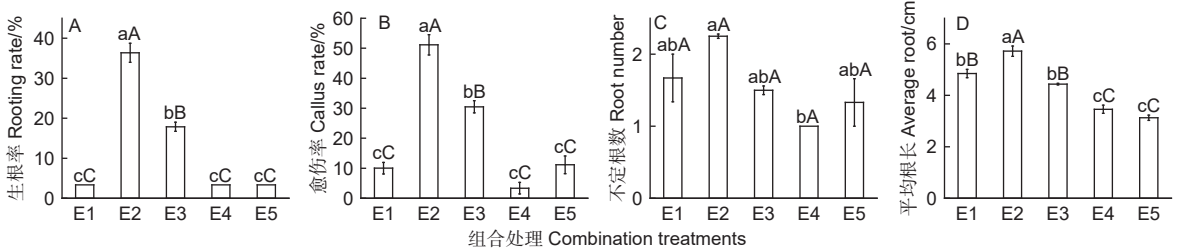
著促进作用。对于 K599 发根农杆菌, 随菌液浓度升高, 插穗生根率、不定根数先升高后降低。菌液浓度 (OD_{600}) 为 0.8 (C2) 时插穗生根率、根系效果指数等最高, 生根率达到 24.71%, 根系效果指数为 4.57。此外, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 处理 (D2) 也能显著促进插穗生根, 生根率达 12.25%, 愈伤率和不定根数等均高于 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 (D1)。

2.2 不同外源物质组合应用对蒙古栎扦插生根的影响

不同外源物质组合应用对蒙古栎插穗生根、愈伤形成和根长具有极显著影响 (图 1)。不同组合处理, 插穗生根率和愈伤率变化较一致 (图 1A、B)。各组合处理间插穗不定根数变化不显著 (图 1C), 但组合应用中含有 IBA-K 时 (E1、E3~E5), 不

定根数降低。此外, PCZ 与 IBA-K 组合处理后 (E4、E5), 插穗平均根长均较低 (图 1D)。不同外源物质组合处理间, $50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 结合 K599 发根农杆菌 ($OD_{600} = 0.8$) 处理 (E2) 能明

显促进插穗根系生长 (图 2A、B), 生根率可达 36.67%, 并显著高于两种外源物质单独处理时的生根率 (图 3)。

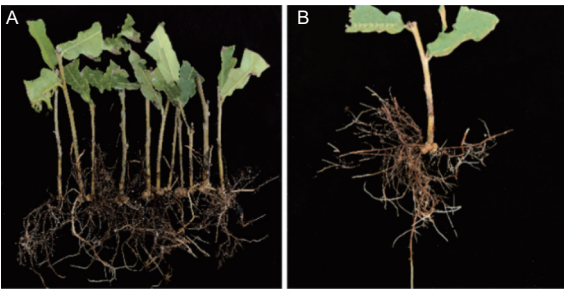


注: 此图说明蒙古栎插穗在不同组合处理后的生根率 (图 1A)、愈伤率 (图 1B)、不定根数 (图 1C) 和平均根长 (图 1D), 图中 E1~E5 组合处理见表 1

Notes: This figure illustrates the rooting rate (Fig. 1A), callus rate (Fig. 1B), indefinite root number (Fig. 1C), and average root length (Fig. 1D) of *Quercus mongolica* cuttings treated with different combinations. The E1~E5 combination treatment is shown in Table 1

图 1 不同外源物质组合应用对蒙古栎扦插生根的影响

Fig. 1 Effects of different exogenous substances combinations on the rooting of *Quercus mongolica* cuttings



注: 图 A: E2 处理后的多株插穗; 图 B: E2 处理后的单株插穗

Notes: Fig. A: multi-plant cuttings with E2; Fig. B: single cuttings treated by E2

图 2 采用 E2 (PCZ + K599) 组合处理后蒙古栎插穗形态

Fig. 2 Cuttings morphology of *Quercus mongolica* after application of E2 (PCZ + K599) combination

2.3 PCZ 对蒙古栎插穗生根过程生理生化变化的

影响

蒙古栎嫩枝扦插生根约需 50 d (图 4)。0~40 d, 插穗基部形成愈伤组织 (图 4A), 且愈伤组织不断生长 (图 4B); 50 d, 不定根形成 (图 4C); 60 d, 不定根伸长生长 (图 4D)。

PCZ ($50 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 处理能显著提高不定根诱导时期插穗营养物质积累, 尤其淀粉 (图 5)。相较对照, PCZ 处理后插穗各营养物质含量变化呈波动趋势。初期 (0~10 d), 插穗可溶性糖和蛋白等分解加快, 在 10~40 d 内, 快速上升后逐渐下降, 直至不定根出现 (40~50 d), 不定根出现可能与营养物质供给有关。扦插后期, PCZ 处理后营养物质快速积累, 此原因可能与叶片光合作用合成的营养物质多于消耗的营养物质有关。此

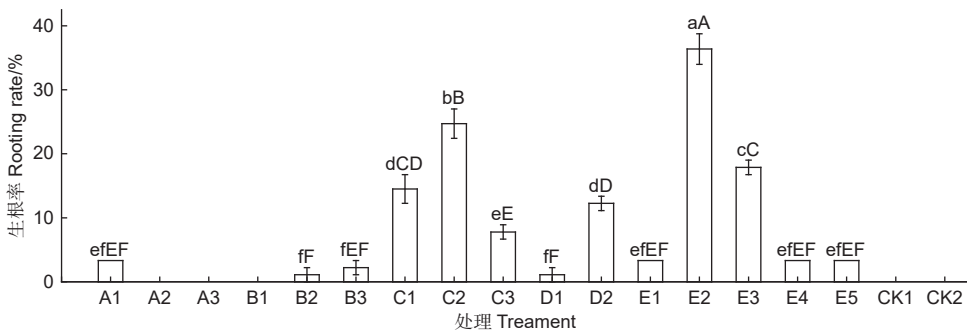


图 3 不同外源物质单独及组合应用对蒙古栎扦插生根率的影响

Fig. 3 Effects of different exogenous substances on rooting rate of cuttings of *Quercus mongolica* by single and combined application

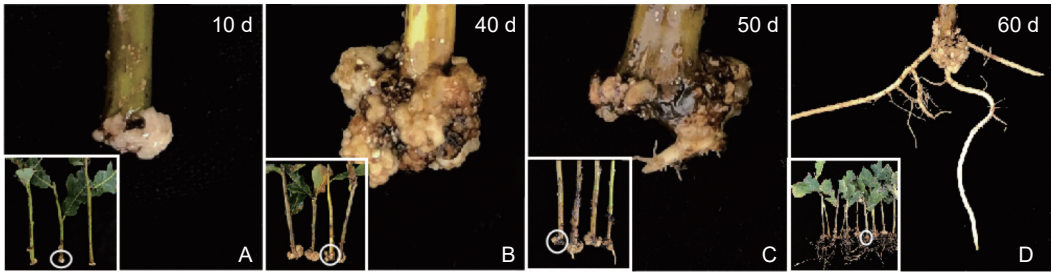


图 4 PCZ 处理后蒙古栎插穗在生根期间的外部形态

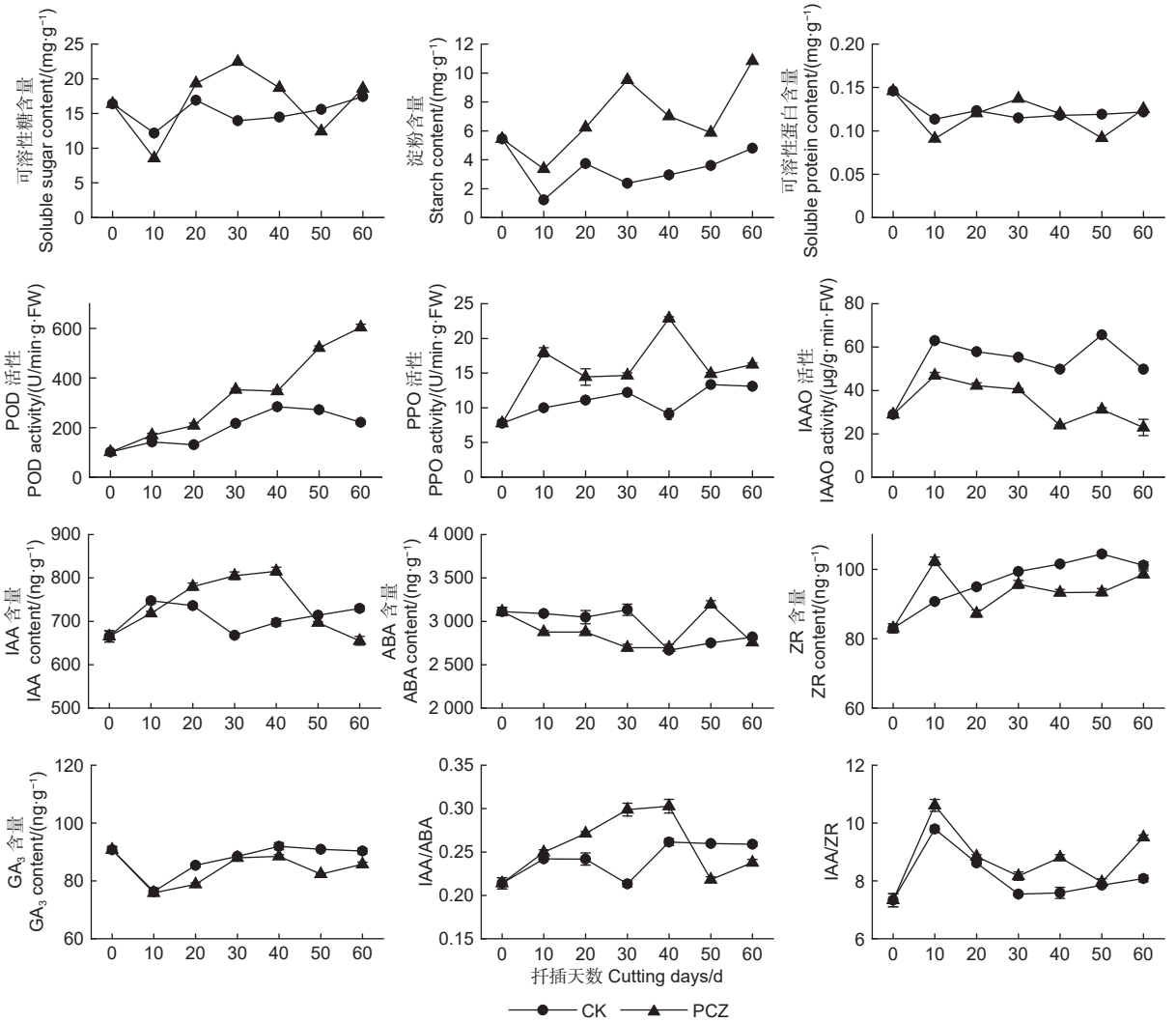
Fig. 4 External morphology of *Quercus mongolica* cuttings during rooting after PCZ treatment

图 5 PCZ 处理后蒙古栎插穗在生根期间的内源物质变化

Fig. 5 - Changes in endogenous substances during rooting of *Quercus mongolica* cuttings treated with PCZ

外, 在生根过程中, PCZ 处理后各时期插穗淀粉含量均显著高于对照组。

PCZ 处理促进 POD、PPO 活性提高, 抑制 IAAO 活性 (图 5)。PCZ 处理后插穗 POD 和 PPO 活性始终高于对照。扦插后期 (40 d 后), PCZ 处理的插穗 POD 活性急剧增加。相比对照,

PCZ 处理后插穗 PPO 活性变化波动剧烈。处理组和对照组的 IAAO 活性变化趋势相似, PCZ 处理后插穗的 IAAO 活性始终低于对照。初期 (0~10 d), IAAO 活性升高, 随后在不定根诱导时期 (10~40 d), IAAO 活性总体呈下降趋势, 促进插穗不定根形成。

PCZ 处理后插穗 IAA 含量上升, ABA、 GA_3 和 ZR 含量降低, IAA/ABA 或 IAA/ZR 比值增大 (图 5)。插穗生根前 (0~40 d), PCZ 处理后插穗 IAA 含量持续上升至峰值, 不定根形成和生长期 (40~60 d), IAA 含量迅速下降。PCZ 和对照处理后插穗 ABA 总体含量呈现下降趋势, 0~40 d 内对照组的 ABA 含量始终高于处理组, 而后处理组的 ABA 含量迅速上升至最大值又下降。对照组和处理组的 ZR 含量变化规律相似, 处理组 ZR 总体含量低于对照组。扦插初期 (0~10 d), ZR 含量急剧下降, 而后插穗自身开始合成 ZR, 使其含量上升。0~10 d, 处理组的 GA_3 含量迅速上升至峰值, 促进愈伤组织形成, 而后急剧下降, 且含量始终低于对照组含量。PCZ 处理后插穗 IAA/ABA 值呈升高-降低-升高趋势, 0~40 d, 比值逐渐升高至峰值, 促进插穗根原基形成。PCZ 处理后插穗 IAA/ZR 值始终高于对照组, 并在愈伤组织开始形成 (0~10 d) 和不定根伸长生长期 (50~60 d) 快速升高。

3 讨论

发根农杆菌 Ri 质粒上 T-DNA 片段插入宿主基因组后能诱导植物生成毛状根^[16]。此外, 发根农杆菌能够提高插条生根期 IAA/ABA 比值和插穗基部可溶性糖及全氮含量, 促进扦插生根^[7]。然而, 不同菌株及浓度诱导植物愈伤组织和毛状根的效果不同。在研究木豆高效转基因系统时发现, 菌株 K599 相较于其它菌株诱导愈伤和毛状根的作用最显著, 并在多种草本、灌木和木本植物上成功应用。此外, 研究还发现不同菌液浓度诱导效果不同^[17]。适宜的菌株及浓度对提高植物生根率尤为关键。本研究发现, 使用 OD_{600} 值为 0.8 的 K599 发根农杆菌, 对蒙古栎扦插生根促进效果最显著, 生根率和愈伤率分别为 24.71% 和 37.56%。

PCZ 是一类油菜素内酯 (BR) 合成抑制剂。研究表明, 低浓度 BR 可以加速生长素极性运输, 诱导侧根发生^[18], 调控细胞扩增和伸长从而促进根长^[19]。PCZ 能够降低植物内源性 BR 含量, 从而调控根生长。50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 处理蒙古栎插穗, 愈伤率达 43.62%, 但生根率仅为 12.25%, 其原因可能是: PCZ 促进基部愈伤组织分裂能力, 使插穗长时期停留在愈伤组织生长过程, 插穗出现假

活现象。PCZ 结合 K599 发根农杆菌处理后, 插穗不定根显著增加, 生根率达 36.67%。

插穗基部作为一个有效的养分库, 具有充足的营养物质才能形成根原基并快速生根^[20]。PCZ 通过提高插穗内营养物质 (可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白) 代谢, 在根诱导关键期时增加营养物质积累, 促进插穗生根。在秤锤树 (*Sinojackia xylocarpa* Hu) 扦插研究中发现, 生根过程需要消耗插穗内部大量糖和蛋白^[21], 这与本研究结果相似。郝海坤等在红锥 (*Castanopsis hystrix* Hook. f. & Thomson ex A. DC.) 嫩枝扦插试验中发现生根区高的可溶性蛋白积累促进生根^[22]。蒙古栎插穗扦插生根率低可能是因为营养物质 (可溶性糖、蛋白) 含量不能满足不定根形成和伸长。

PCZ 处理促进 POD、PPO 活性提高, 抑制 IAAO 活性。POD 能够氧化内源 IAA 并促进酚类物质合成木质素, 有利于根原基伸长和根木质化, 被认为是一种生根潜力指标, 如 POD 活性较高的胡杨 (*Populus euphratica* Oliv.) 插穗具有较强的生根能力^[23]。本研究中, PCZ 处理后, 插穗不定根形成时 POD 活性显著上升 (图 5)。植物生根能力与 PPO 活性呈正相关, 这与 PPO 能催化酚类物质与 IAA 结合, 形成一种生根辅助因子“IAA-酚酸复合物”, 从而诱导根原基的生长发育^[24]。本研究发现 PCZ 处理后的插穗在扦插初期和不定根诱导关键时期 PPO 活性急剧上升, 促进愈伤组织和根原基形成。楸树 (*Catalpa bungei* C. A. Mey.)^[25] 和牡丹‘凤丹白’ (*Paeonia ostii* ‘Feng Dan White’)^[26] PPO 活性在不定根发生脱分化期和诱导期逐渐升高并达到峰值, 继而促进根形成和发育, 这同本研究结果相似。同蒙古栎, 欧榛 (*Corylus avellana* L.)^[27] 和含笑‘香妃’ (*Miche-liafigo* ‘Xiangfei’)^[28] 在扦插生根进程中均发现 IAAO 含量高不利于扦插生根, 这可能与 IAAO 可抑制 IAA 含量, 低浓度 IAA 不利于生根。

PCZ 处理显著促进插穗内 IAA 含量积累, 抑制 ABA、 GA_3 和 ZR 合成, 并在一定程度上提高 IAA/ABA 或 IAA/ZR 比值。IAA 参与调节植物根原基诱导、愈伤组织形成与不定根发育生长每个阶段。尚文倩^[26] 和 ALMEIDA^[29] 等通过免疫组织定位法对牡丹‘凤丹白’不定根发生过程中的内源 IAA 进行定位, 发现根原基是 IAA 分布的中心, 在

诱导根原基时开始积累, 在根原基开始发育时达到最大值, 因此在根原基积累足够量的 IAA 是不定根形成的重要基础。这与本试验中发现 IAA 含量在不定根形成前达到峰值, 利于生根的结论一致。ABA 对不定根发生具有抑制作用, 而低浓度细胞分裂素促进不定根发生。内源 ABA 含量高的毛白杨 (*Populus tomentosa* Carrière) 插穗生根能力低^[30], 低浓度 ZR 有利于裸花紫株 (*Callicarpa nudiflora* Hook. et Arn.) 插穗不定根生长和伸长^[31], 此结论与本研究结果较一致。然而, 有研究发现在蓝莓 (*Vaccinium corymbosum*)^[32] 扦插时, 较高浓度细胞分裂素利于细胞分裂分化, 促进根原基分化和根形成。目前, 关于赤霉素类 (GAs) 对本植物插穗不定根发生的作用仍存在较大争议。大量研究表明内源 GA 抑制不定根发生, 这可能与 GA 在扦插起始期阻碍插穗基部细胞分裂有关^[33]。内源 GA₃ 含量与山杏 (*Armeniaca sibirica* L.) 插穗的生根率呈负相关^[34]。植物的生理效应往往不是由某种激素的绝对含量决定, 而是各种激素相互协同作用。IAA/ABA 或 IAA/ZR 比值增大, 会促进愈伤组织形成和根原基发育^[35]。王清民等^[36]和董胜君等^[34]分别在核桃 (*Juglans regia* L.) 和山杏的生根研究中发现: IAA/ABA 比值在根诱导期达到峰值, 并推测高 IAA/ABA 有利于根原基形成。

4 结论

开展外源物质对蒙古栎扦插生根及生根机理研究尤为重要。采用不同外源物质及组合应用处理蒙古栎插穗发现, 不同外源物质及组合应用对蒙古栎扦插生根具有显著影响, 其中单独使用 K599 发根农杆菌 ($OD_{600} = 0.8$) 浸泡 30 min 后插穗生根率为 24.71%, 与 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ 组合处理对蒙古栎扦插苗生根率、愈伤率等促进作用最显著, 生根率可达 36.67%。PCZ 处理后蒙古栎插穗内源性物质发生显著变化, 并发现提高插穗内可溶性糖、蛋白、IAA 含量和抗氧化酶 (PPO、POD) 活性有助于蒙古栎扦插生根。本研究主要探究促进蒙古栎扦插生根的外源物质种类及浓度, 下一步可以结合防褐化和黄化处理等技术进行研究, 有助于完善蒙古栎规模化扦插育苗体系。

参考文献:

- [1] 刘 剑, 张 骁, 刘彦珍. 长白山区天然柞树林分生长模型的研究[J]. 林业科技通讯, 2019 (10): 3-5.
- [2] 陆文海, 王政强, 唐圆梦, 等. 蒙古栎国内相关研究进展[J]. 绿色科技, 2021, 23 (15): 131-133 + 191.
- [3] 张 杰, 李健康, 段安安, 等. 不同质量浓度 NAA、IBA 对栓皮栎、蒙古栎黄化嫩枝扦插生根的影响[J]. 北京林业大学学报, 2019, 41 (7): 128-138.
- [4] 杨庆春. 栓皮栎嫩枝扦插关键技术及生根机理研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2017.
- [5] 丁 彤. 北美红栎无性繁殖体系的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2012.
- [6] 吕秀立, 杨 芳, 施季森, 等. 苏玛栎无性繁殖试验[J]. 上海交通大学学报(农业科学版), 2013, 31 (3): 58-62.
- [7] 屈林丰. 生根剂与发根农杆菌对亚美马褂木扦插生根的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2017.
- [8] 张 芹, 李保会, 朵建国, 等. IBA 和发根农杆菌对糠椴嫩枝扦插的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34 (1): 201-204.
- [9] ZHANG Z, YANG X L, CHEN L, et al. Physiological and transcriptomic analyses of brassinosteroid function in *moso bamboo* (*Phyllostachys edulis*) seedlings[J]. *Planta*, 2020, 252(2): 27.
- [10] 梁 栋, 刘光亮, 石 屹, 等. 油菜素内酯对烟草幼苗根系构型的影响及调控机制[J]. 河南农业科学, 2022, 51 (8): 37-44.
- [11] 蒋家珍, 姜世聚, 邱立红, 等. 油菜素内酯与丙环唑互作对棉苗病害的影响及机理研究[J]. 湖南农业科学, 2004 (5): 49-51.
- [12] 李焕勇, 刘 涛, 张华新, 等. 植物扦插生根机理研究进展[J]. 世界林业研究, 2014, 27 (1): 23-28.
- [13] 张志良, 翟伟菁, 李小方. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009.
- [14] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2012.
- [15] 李忠光, 龚 明. 植物多酚氧化酶活性测定方法的改进[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2005, 25 (1): 44-45.
- [16] CHANDRA S. Natural plant genetic engineer *Agrobacterium rhizogenes*: role of T-DNA in plant secondary metabolism[J]. *Biotechnol letters*, 2012, 34(3): 407-415.
- [17] MENG D, YANG Q, DONG B Y, et al. Development of an efficient root transgenic system for pigeon pea and its application to other important economically plants[J]. *Plant biotechnology journal*, 2019, 17(9): 1804-1813.
- [18] GUPTA A, SINGH M, LAXMI A. Interaction between glucose and brassinosteroid during the regulation of lateral root development in *Arabidopsis*[J]. *Plant physiology*, 2015, 168(1): 307-320.
- [19] Wei Z Y, Li J. Brassinosteroids regulate root growth, development, and symbiosis[J]. *Molecular Plant*, 2016, 9(1): 86-100.
- [20] 韩 伟, 王 鹏, 冯忠良, 等. 扦插生根过程中贴梗海棠插穗生理生化指标的变化[J]. 山东农业科学, 2009, 41 (3): 28-30.
- [21] 徐丽萍, 上官新晨, 喻方圆. 秤锤树嫩枝扦插过程中营养物质含量的变化[J]. 江西农业大学学报, 2012, 34 (1): 50-53.

- [22] 郝海坤, 王旭军, 曹艳云, 等. 红锥嫩枝扦插生根过程中营养物质的变化[J]. 湖北农业科学, 2015, 54 (19): 4749-4752.
- [23] 燕雪蒙. 胡杨等三种杨树生根期间内源激素及酶活性变化分析[D]. 西宁: 青海大学, 2013.
- [24] BASSUK L N, HUNTER D L, HOWARD H B. The apparent involvement of polyphenol oxidase and phloridzin in the production of apple rooting cofactors[J]. Journal of Horticultural Science, 1981, 56(4): 313-322.
- [25] 王改萍, 王晓聪, 章 雷, 等. 楸树扦插过程中插穗内含物变化分析[J]. 浙江农林大学学报, 2021, 38 (2): 296-303.
- [26] 尚文倩, 王 政, 何松林, 等. 牡丹试管苗生根过程中内源IAA及相关酶活性的变化[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49 (2): 129-136.
- [27] 扈红军, 曹帮华, 尹伟伦, 等. 不同处理对欧榛硬枝扦插生根的影响及生根过程中相关氧化酶活性的变化[J]. 林业科学, 2007, 43 (2): 70-75.
- [28] 郑巧巧, 兰思仁, 刘雪蝶, 等. 生长调节剂对‘香妃’含笑扦插生根及相关酶活性的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2020, 40 (5): 67-76.
- [29] de ALMEIDA M R, de BASTIANI D, GAETA M L, *et al.* Comparative transcriptional analysis provides new insights into the molecular basis of adventitious rooting recalcitrance in *Eucalyptus*[J]. Plant Science, 2015, 239: 155-165.
- [30] 郑均宝, 裴保华, 耿桂荣. 毛白杨插穗生根的研究[J]. 东北林业大学学报, 1988, 16 (6): 34-41.
- [31] 张金浩. 裸花紫珠扦插繁殖技术及生根机理研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [32] 王雪娇. 蓝莓组培苗扦插繁殖技术与生根机理的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2016.
- [33] BRIAN W P, HEMMING G H, LOWE D. Inhibition of rooting of cuttings by gibberellic acid[J]. Annals of Botany, 1960, 24(4): 407-419.
- [34] 董胜君, 刘明国, 戴 菲, 等. 山杏嫩枝扦插生根过程中插穗内源激素含量的变化[J]. 经济林研究, 2013, 31 (4): 108-114.
- [35] 郭英超, 杜克久, 贾 哲. 兴安圆柏扦插生根过程中相关内源激素特征分析[J]. 中国农学通报, 2012, 28 (1): 44-48.
- [36] 王清民, 彭伟秀, 张俊佩, 等. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及激素调控研究[J]. 园艺学报, 2006, 33 (2): 255-259.

Effects of Different Exogenous Substances on Rooting, Basal Physiology and Biochemistry of *Quercus mongolica* Cuttings

ZHONG Ming-xia¹, AI Wan-feng², YUAN Xin¹, HUANG Yi-he¹,
WEI Jun¹, WANG Yu-tao¹, LU Xiu-jun¹

(1. College of Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China; 2. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China)

Abstract: [Objective] Cutting propagation is an important way to propagate excellent seedlings, and the application of suitable exogenous substances can promote rooting of cuttings. The rooting of *Quercus mongolica* cuttings is difficult. Exploring the effects of different concentrations of exogenous substances and their combine applications on the rooting of *Quercus mongolica* softwood cuttings can provide technical support for large-scale propagation by cutting propagation. [Method] Using rapid dipping or soaking methods, different concentrations of indole butyrate potassium (IBA-K), rooting powder (ABT₁), K599 *Agrobacterium rhizogenes*, propiconazole (PCZ), and their combination were used to treat cuttings. The rooting rate, callus rate, rooting number, root length, nutrient content, enzyme activity, and changes in endogenous hormone content of cuttings were measured. [Result] When different exogenous substances were used separately, the rooting rate of K599 *Agrobacterium rhizogenes* ($OD_{600} = 0.8$) was the highest after soaking for 30 minutes, reaching 24.71%. After soaking in 50 μM PCZ for 2 hours, the root callus rate of cuttings was the highest, reaching 43.62%. For other exogenous substances alone, the rooting effect of cuttings was poor. When different combinations of exogenous substances were used, 50 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PCZ soaking for 2 hours combined with K599 *Agrobacterium rhizogenes* ($OD_{600} = 0.8$) soaking for 30 minutes significantly improved the rooting rate of *Quercus mongolica* cuttings, reaching 36.37% for rooting and 51.14% for callus. The average number of roots and root length were 2.25 and 5.72 cm, respectively. In addition, the results indicated that the use of PCZ can accelerate the consumption of soluble sugars and proteins during the rooting process of cuttings, promote the activities of peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO), increase the content of IAA during the induction period of adventitious roots, and increase the IAA/ABA and IAA/ZR ratios. [Conclusion] The combined application of PCZ and *Agrobacterium rhizogenes* K599 can significantly improve the rooting rate of *Quercus mongolica* softwood cuttings. Slow consumption of nutrients (soluble sugars, proteins), weak activity of antioxidant enzymes (PPO, POD), and low content of IAA may be the reasons of the difficulty in rooting of *Quercus mongolica* cuttings. PCZ has an important inhibitory effect on this, and can play an important role in difficult rooting species such as *Quercus mongolica* cuttings.

Keywords: cutting propagation; *Agrobacterium rhizogenes*; propiconazole; rooting mechanism

(责任编辑: 张 研)