



苏泽彬,周秉超,许雪峰,韩振海,邱昌朋. 激素不同配比及光质差异对苹果砧木木质化茎段扦插生根的影响[J]. 中国农业大学学报,2024,29(11):1-11.
SU Zebin, ZHOU Bingchao, XU Xuefeng, HAN Zhenhai, QIU Changpeng. Effects of different hormone ratios and varied light qualities on rooting of apple rootstock woody stem cuttings[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(11): 1-11.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.11.01

激素不同配比及光质差异对苹果砧木木质化茎段扦插生根的影响

苏泽彬 周秉超 许雪峰 韩振海 邱昌朋*

(中国农业大学 园艺学院/北京市果树逆境生理与分子生物学重点实验室,北京 100193)

摘要 为探究不同激素配比和红蓝光处理对木质化茎段扦插生根的影响及生根机理,以苹果砧木木质化茎段为材料,对插穗进行激素不同配比及红蓝光处理,测定可溶性糖、可溶性淀粉和可溶性蛋白含量等生理指标,并于扦插后第4天进行转录组测序,对差异表达基因进行GO富集分析和KEGG通路分析,采用qRT-PCR对基因表达水平进行定量分析验证。结果表明:1)在所有处理中,3 000 mg/L 萘乙酸(NAA)显著提高了苹果木质化茎段扦插生根率($P<0.05$)。相较于红光处理,红蓝光和蓝光处理显著提高了苹果砧木木质化茎段扦插的生根率($P<0.05$)。蓝光处理下插穗的根尖数和根总长明显高于其他处理。2)插穗在3 000 mg/L NAA处理后第8天可溶性糖含量显著增加($P<0.05$);可溶性淀粉含量在第4天下降,但在第16天显著高于对照(CK, $P<0.05$);可溶性蛋白含量在第4天低于CK,在第16天升高且显著高于CK($P<0.05$)。3)转录组测序获得了与生根相关的9个KEGG通路和1 543个差异表达基因,进一步筛选到与生根过程密切相关的2个基因家族SAURs和BAMs的5个基因。其中,*MdSAUR51*、*MdSAUR50*及*MdSAUR12*与生长素信号应答相关;*MdBAM2*与*MdBAM1*通过抑制淀粉水解,可能调控插穗中淀粉积累,进而影响不定根形成。研究结果为提高工厂化育苗效率以及后续生根机理研究提供了科学依据。

关键词 生长素; 苗木扩繁; 硬枝扦插; 生根生理机制; 生根相关基因

中图分类号 S661.1

文章编号 1007-4333(2024)11-0001-11

文献标志码 A

Effects of different hormone ratios and varied light qualities on rooting of apple rootstock woody stem cuttings

SU Zebin, ZHOU Bingchao, XU Xuefeng, HAN Zhenhai, QIU Changpeng*

(College of Horticulture/Key Laboratory of Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Trees in Beijing Municipality, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract To investigate the effects of different hormone ratios and treatment with red and blue light on the rooting of woody stem cuttings and the rooting mechanism, apple rootstock woody stems were used as the materials, and the cuttings were treated with different ratios of hormones and treatment with red and blue light to determine the physiological indexes such as the content of soluble sugar, soluble starch and soluble protein. Transcriptome sequencing was carried out on the 4th day after the cuttings were taken. Go enrichment analysis and KEGG pathway analysis were performed on differentially expressed genes. qRT-PCR was used to quantitatively analyze and verify gene expression levels. The results showed that: 1) Among all treatments, 3 000 mg/L naphthalene acetic acid (NAA) significantly increased the rooting rate of

收稿日期: 2024-05-14

基金项目: 国家重点研发计划项目(2019YFD1000103); 国家自然科学基金项目(31801810); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(2024TC146); 北京市教委高精尖学科建设项目(PXM2019_014207_000032)

第一作者: 苏泽彬(ORCID:0009-0007-7212-7675), 硕士研究生, E-mail: szebin2022@163.com

通讯作者: 邱昌朋(ORCID:0000-0003-1922-7865), 副教授, 主要从事果树良种繁育与高效栽培研究, E-mail: changpengqiu@163.com

apple woody stem cuttings ($P<0.05$). Compared with the red light treatment, the red and blue light treatment and blue light treatment significantly increased the rooting rate of apple rootstock woody stem cuttings ($P<0.05$). The number of root tips and total root length of cuttings were significantly higher in the blue light treatment than in the other treatments. 2) The soluble sugar content of cuttings increased significantly on the 8th day after NAA treatment ($P<0.05$). The soluble starch content declined on the 4th day, but was significantly higher than CK on the 16th day ($P<0.05$). The soluble protein content was lower than CK on the 4th day, and increased significantly on the 16th day ($P<0.05$). 3) Transcriptome sequencing obtained 9 KEGG pathways and 1 543 differentially expressed genes related to rooting, and further screened 5 genes from 2 gene families, SAURs and BAMs closely related to the rooting process. Among them, *MdSAUR51*, *MdSAUR50* and *MdSAUR12* were associated with growth hormone signalling response; *MdBAM2* and *MdBAM1* may regulate starch accumulation in cuttings by inhibiting starch hydrolysis, thereby affecting adventitious root formation. This study provides a scientific basis for improving the efficiency of factory nursery and subsequent rooting mechanism research.

Keywords auxin; seedling propagation; hardwood cutting; rooting physiological mechanism; rooting-related genes

扦插是植物无性扩繁的重要方式,不定根(ARs)的形成在扦插扩繁中发挥着重要作用^[1]。因此,提高ARs的形成效率对本园艺作物无性扩繁,尤其对于难生根植物苹果^[2](*Malus domestica*)的砧木工厂化育苗具有重要意义。

环境湿度、激素处理和光质调节是影响扦插成功的重要因素。已有研究表明插穗在空气湿度90%以上时能够保持较好的生长状态^[3]。在扦插过程中,通常使用吲哚丁酸(3-Indolebutyric acid, IBA)、萘乙酸(1-Naphthaleneacetic acid, NAA)等人工合成的激素类似物处理插穗基部^[4];研究发现500 mg/L的IBA可以显著提高苹果嫩枝扦插的生根率^[5]。此外,木质化茎段扦插的插穗叶片通过光合作用积累碳源,为生根提供能量物质;并且光质可以调节光合作用^[6],进一步影响生根效果。已有研究发现蓝光可以增加气孔导度,有助于增加光合效率^[7];蓝光条件下罗勒的生根速度比自然光快3倍^[8];锦紫苏在红光下ARs的数目显著升高^[9]。因此,激素和光质对扦插生根均具有重要的调控作用。

植物组织扦插ARs形成过程中,插穗储存养分对生根的促进作用^[10]及其分子机理已有相关研究。木质化茎段扦插插穗较粗,可为ARs形成储藏更多养分。在营养物质中,可溶性糖是ARs形成过程中的主要碳源^[11],淀粉则是通过分解转化成可溶性糖发挥作用^[12]。与此同时,可溶性蛋白也发挥着不可或缺的作用。许晓岗^[13]研究发现,垂丝海棠和楸子当年生枝扦插过程中,4月初扦插比3月初扦插的插穗可溶性蛋白含量提前10 d达到峰值,且插穗切口

愈合更早。另一方面,ARs形成的分子机制也日益受到研究者的关注^[14]。例如在苹果中,SH40嫩枝扦插ARs的形成受*ARRO-1*、*ARF7*和*ARF19*基因调控^[15];拟南芥*SAUR41*的特异性表达对细胞扩增和根分生组织形态有不同的调控作用^[16]。

关于苹果砧木的木质化茎段扦插的最适激素浓度及光质要求鲜有报道。因此,为探究不同激素配比和红蓝光处理对木质化茎段扦插生根的影响,获得较高的ARs形成率。本研究拟以苹果砧木为研究对象,设计不同激素配比和光质处理,并测定插穗中储藏养分的含量,采用转录组测序和表达量分析验证方法初步挖掘木质化茎段扦插生根的相关基因,以期苹果砧木生根及其生根机理的深入研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于2023年7—10月在中国农业大学西校区进行。以苹果砧木GM256与M9杂交后代的优系DG1178为材料,采穗母株定植于中国农业大学河北涿州试验站(39.29°N, 115.58°E),树龄为4年。该试验站属于暖温带大陆性季风气候,年平均降雨量为554.14 mm,降雨主要集中于6—9月,年平均气温为11.6℃。

1.2 试验方法

1.2.1 扦插方法及激素配比处理

用消毒后的果枝剪从母株上剪下生长健壮、芽体饱满的已木质化带叶一年生枝条,后插入经过

1 000 倍液多菌灵(江苏蓝丰生物化工股份有限公司,中国)灭菌的 V(蛭石):V(珍珠岩)=1:1 的基质中。试验在气、水循环扦插培养架中进行,该培养架参照专利 CN113197092A^[17] 搭建,控制环境温度为 26 ℃ 左右,湿度为 90% 以上。采用 0、1 500、

3 000 mg/L IBA(Sigma,美国)和 0、1 500、3 000 mg/L NAA(Sigma,美国)进行组合,共 8 个处理,以清水处理为对照(CK),各处理情况见表 1。采用完全随机试验设计,每个处理 3 次重复,于扦插后 50 d 调查生根率并进行统计分析。

表 1 不同处理的激素配比

Table 1 Hormone ratios of different treatments

编号 Labeling	具体处理 Specific treatment	编号 Labeling	具体处理 Specific treatment
CK	0 mg/L IBA+0 mg/L NAA	T5	1 500 mg/L IBA+1 500 mg/L NAA
T1	1 500 mg/L IBA+0 mg/L NAA	T6	1 500 mg/L IBA+3 000 mg/L NAA
T2	3 000 mg/L IBA+0 mg/L NAA	T7	3 000 mg/L IBA+1 500 mg/L NAA
T3	0 mg/L IBA+1 500 mg/L NAA	T8	3 000 mg/L IBA+3 000 mg/L NAA
T4	0 mg/L IBA+3 000 mg/L NAA		

1.2.2 插穗生根过程中的光质处理

使用青岛索广电器有限公司生产的商用植物生长灯,插穗叶片处光合光子通量密度(Photosynthetic Photon Flux Density, PPFD)为 110 $\mu\text{mol}/(\text{cm}^2\cdot\text{s})$,以红光、蓝光、红蓝光(红光:蓝光=5:1)为处理,采用完全随机试验设计,每个处理 3 次重复,于扦插后 50 d 调查生根率并进行统计。

1.2.3 根系指标、生理指标测定与转录组测序

进一步使用激素配比试验中筛选得到的最优激素浓度处理插穗,以清水处理为对照,对 2 个处理下插穗生根过程中的生理指标进行测定;并对扦插苗进行表型观察,每个处理 3 次重复,测定指标如下:

1)生根率及根系指标。于扦插后第 50 天进行观测,生根率计算公式如下:

$$\text{生根率} = \text{生根插穗数} / \text{插穗总数} \times 100\%$$

在试验过程中采用相机拍照,并将插穗照片使用 WinRHIZO 软件(Regent Instrument Inc.,魁北克,加拿大)进行采集分析,记录根总长、生根数、根表面积、根体积及根平均直径等根系指标。

2)生理指标。可溶性糖、可溶性淀粉含量采用蒽酮比色法进行测定^[18],可溶性蛋白含量使用可溶性蛋白试剂盒(G0507F)(苏州格锐思生物科技有限公司,中国)进行测定。测定时间为扦插第 0、4、8 和 16 天。

3)转录组测序。于扦插后第 4 天,对 CK 和 3 000 mg/L NAA 处理的插穗基部进行取样,由安诺优达基因科技(北京)有限公司进行转录组测序。

1.3 统计分析

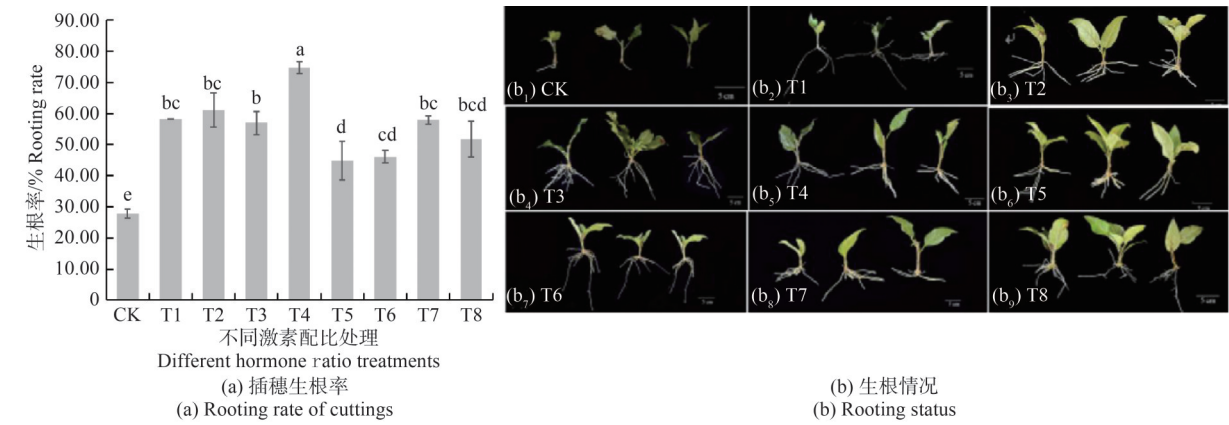
利用 Excel 2016 整理试验数据和作图,使用 IBM SPSS Statistics 26.0 对试验数据进行统计分析,运用 Origin 2022 进行作图。

2 结果与分析

2.1 激素差异比对苹果砧木生根的影响

探究不同激素配比处理对苹果砧木木质化茎段插穗生根率的影响(图 1(a))及生根情况(图 1(b))。IBA 单独处理的 T1 和 T2 生根率无显著差异。用 NAA 单独处理插穗基部后,3 000 mg/L NAA(T4)生根率达到了 74.74%,显著高于其他处理($P<0.05$)。在 IBA 和 NAA 混合处理中,当 IBA 为 1 500 mg/L 时,将 NAA 浓度从 1 500 提高到 3 000 mg/L 后,对生根率并未造成显著影响;当 IBA 浓度为 3 000 mg/L,将 NAA 浓度从 1 500 提高到 3 000 mg/L 后,插穗的生根率降低。

不同激素比对苹果砧木生根根系的影响结果见表 2。与其他处理相比,3 000 mg/L IBA 处理下(T2)根尖数最多,根表面积和根体积最大,均显著高于 CK($P<0.05$);T3 的根总长最长,显著高于 CK($P<0.05$);T7 的根平均直径数值最大,达到了 0.32 mm,且显著高于 CK($P<0.05$)。



不同字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$),相同字母表示差异不显著($P>0.05$)。图中处理所代表的含义见表1。下同。
Different letters indicate significant difference between different treatments ($P<0.05$), and the same letters indicate non-significant differences ($P>0.05$). The meaning represented by the treatment in the figure is shown in Table 1. The same below.

图1 不同激素配比处理对苹果砧木木质化茎段插穗生根率及生根情况的影响

Fig. 1 Effects of different hormone ratio treatments on the rooting rate of apple rootstocks woody stem cuttings and the rooting status

表2 不同激素配比对苹果砧木生根根系的影响

Table 2 Effects of different hormone ratio on rooting of apple rootstocks roots

处理 Treatment	根尖数 Root tips number	根总长/cm Total root length	根表面积/cm ² Root surface area	根体积/cm ³ Root volume	根平均直径/mm Average root diameter
CK	3.17±0.79c	3.86±1.60c	1.97±0.82d	0.09±0.38c	0.16±0.01c
T1	21.00±3.61abc	47.34±7.36abc	31.05±3.76cd	2.21±0.32bc	0.22±0.02bc
T2	45.83±8.16a	77.17±13.45ab	64.66±9.20a	5.75±0.90a	0.28±0.02ab
T3	34.83±7.40ab	79.03±14.57a	62.07±10.42ab	5.21±0.77ab	0.26±0.01abc
T4	24.50±4.32abc	36.97±5.71abc	33.37±6.73bc	3.17±0.97abc	0.28±0.03ab
T5	41.33±6.95ab	38.58±3.05ab	34.30±1.42bc	3.05±0.35abc	0.29±0.03ab
T6	37.00±10.11ab	53.63±14.08ab	38.42±8.34abc	3.06±0.62abc	0.27±0.02ab
T7	16.17±2.15bc	42.85±5.68bc	41.00±4.47abc	4.39±0.87ab	0.32±0.03a
T8	21.83±5.46abc	39.59±5.57abc	30.71±4.96cd	2.72±0.67abc	0.25±0.02abc

注: 同列数据不同字母表示差异显著($P<0.05$), 相同字母表示差异不显著($P>0.05$)。表中处理所代表的含义见表1。表3和4同。
Note: Within the same column, different letters represent significant differences ($P<0.05$), while the same letters represent no significant differences ($P>0.05$). The meaning represented by the treatment in the table is shown in Table 1. The same as Table 3 and Table 4.

2.2 光质差异对苹果砧木生根的影响

探究不同光质对苹果木质化茎段插穗生根率的影响(图2(a))及生根情况(图2(b))。在光质试验中,蓝光处理下苹果木质化茎段插穗的生根率达到74.53%;蓝光与红蓝光处理相比,插穗的生根率差异不显著,但二者均显著高于红光($P<0.05$)。

不同光质对苹果砧木生根根系的影响见表3。蓝光处理下插穗根尖数为100.83,根总长为

56.84 cm,均显著高于红光和红蓝光($P<0.05$);与红蓝光相比,蓝光处理下插穗的根表面积差异并不显著,但两者均显著高于红光处理($P<0.05$);红蓝光处理下插穗的根体积显著高于其他2个处理($P<0.05$);与红光和红蓝光相比,蓝光处理显著降低了生根苗根系的根平均直径($P<0.05$)。

2.3 苹果砧木生根生理机理

不同时期扦插苗的外部形态见图3。使用筛选

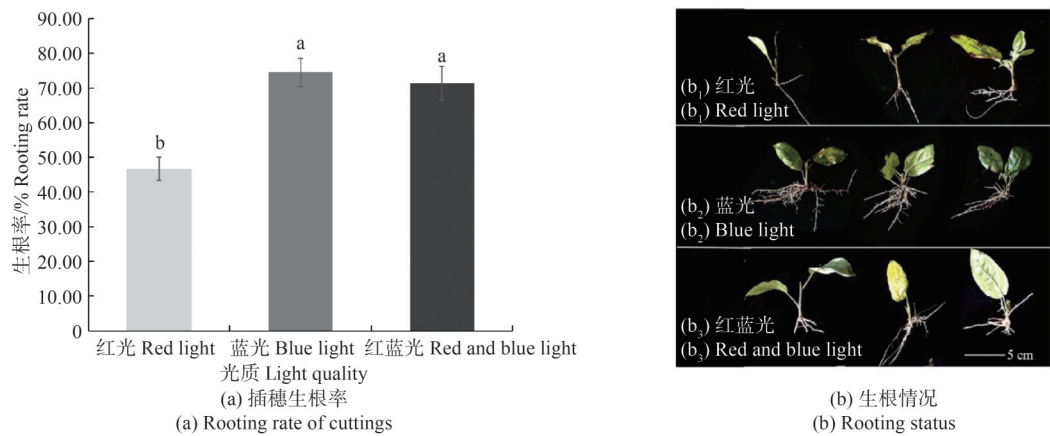


图 2 不同光质下对苹果砧木木质化茎段扦插生根率及生根情况的影响

Fig. 2 Effects of different light qualities treatments on the rooting rate of apple rootstocks woody stem cuttings and the rooting status

表 3 不同光质对苹果砧木生根根系的影响

Table 3 Effects of different light quality on rooting of apple rootstocks roots

光质 Light quality	根尖数 Root tips number	根总长/cm Total root length	根表面积/cm ² Root surface area	根体积/cm ³ Root volume	根平均直径/mm Average root diameter
红光 Red light	34.83±6.17b	29.09±4.77b	8.12±2.81b	0.21±0.03b	0.21±0.02a
蓝光 Blue light	100.83±3.82a	56.84±5.38a	13.26±3.37a	0.25±0.03b	0.07±0.01c
红蓝光 Red and blue light	28.17±2.52b	36.81±4.28b	15.70±3.89a	0.82±0.24a	0.14±0.02b

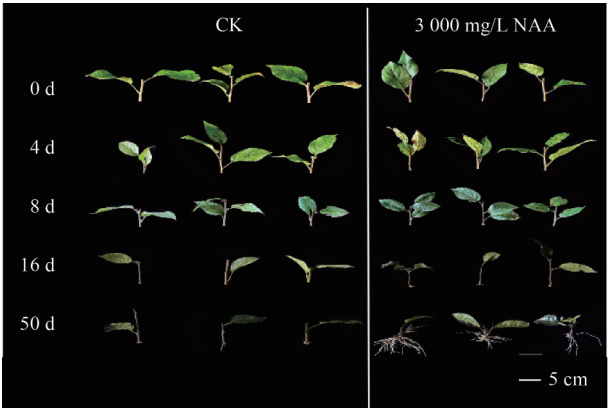


图 3 不同时期扦插苗的外部形态

Fig. 3 External morphology of cuttings in different periods

得到的最佳激素浓度处理(3 000 mg/L NAA)和清水处理插穗。第 8 天时,3 000 mg/L NAA 处理和 CK 插穗基部开始膨大,均有愈伤组织形成;在第 16 天时,3 000 mg/L NAA 处理的插穗基部已有 ARs 形成,而 CK 无 ARs 形成。

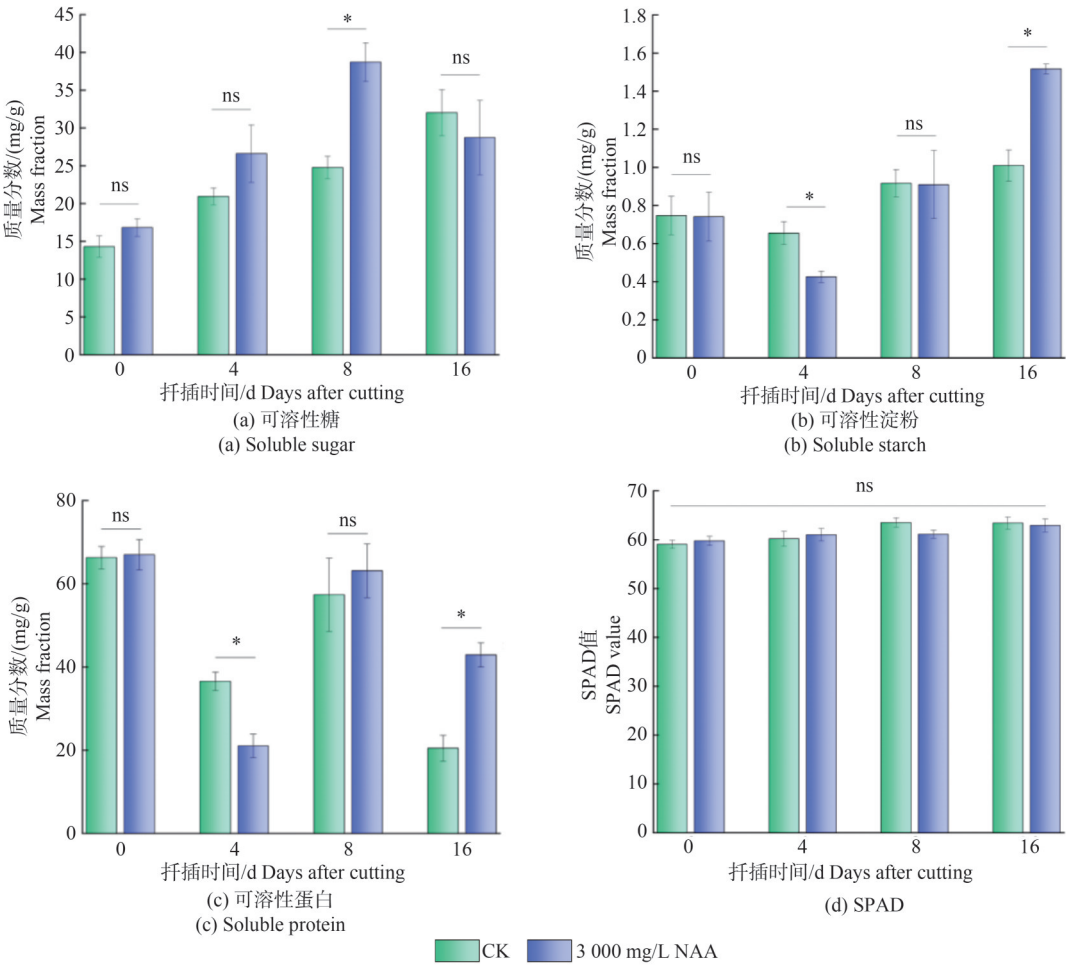
NAA 对苹果砧木扦插苗不同时期生理指标的影响见图 4。从 0 到第 8 天,3 000 mg/L NAA 处理的插穗基部可溶性糖含量升高,在第 16 天可溶性糖

含量下降,总体呈现先上升后下降的趋势,而 CK 处理呈上升趋势(图 4(a))。在第 4 天时,3 000 mg/L NAA 处理的插穗基部可溶性淀粉含量显著低于 CK($P<0.05$);第 16 天时,NAA 处理后的可溶性淀粉含量升高;2 个处理均呈现先降后升的规律(图 4(b))。在第 4 天时,3 000 mg/L NAA 处理的插穗基部可溶性蛋白含量显著低于 CK,而第 16 天 NAA 处理显著高于 CK($P<0.05$)(图 4(c))。4 个时间点的 SPAD 值差异均不显著(图 4(d))。

NAA 对苹果砧木生根根系的影响见表 4。在扦插后第 50 天,3 000 mg/L NAA 处理后扦插生根率达 80.63%,显著高于 CK 处理($P<0.05$)。3 000 mg/L NAA 显著提高了插穗的根尖数($P<0.05$)。3 000 mg/L NAA 处理的根总长显著高于 CK($P<0.05$)。3 000 mg/L NAA 处理后的根表面积为 37.10 cm²,根体积为 2.78 cm³,均显著高于 CK($P<0.05$)。3 000 mg/L NAA 处理显著提高了根平均直径($P<0.05$)。

2.4 苹果砧木生根分子机理

为进一步探究苹果砧木扦插生根的分子机理,



*表示不同处理间差异显著($P<0.05$),ns表示不具有显著差异($P>0.05$)。图6同。

*Indicated significant difference between different treatments($P<0.05$), and ns indicates no significant difference($P>0.05$). The same as Figure 6.

图4 NAA对苹果砧木扦插苗不同时期生理指标的影响

Fig. 4 Effects of NAA on physiological indexes of apple rootstock cuttings at different periods

表4 NAA对苹果砧木生根根系的影响

Table 4 Effect of NAA on rooting of apple rootstock roots

处理	生根率/%	根尖数	根总长/cm	根表面积/cm ²	根体积/cm ³	根平均直径/mm
Treatment	Rooting rate	Root tips number	Total root length	Root surface area	Root volume	Average root diameter
CK	31.21±2.69b	3.17±0.48b	2.05±1.13b	0.67±0.37b	0.02±0.01b	0.11±0.01b
3 000 mg/L NAA	80.63±1.41a	30.33±5.49a	58.05±7.86a	37.10±6.69a	2.78±1.07a	0.21±0.02a

对CK和3 000 mg/L NAA处理的插穗在扦插第4天时进行了转录组分析(图5)。在GO富集的3个大类中,生物过程(Biological process,BP)被注释的基因数目最多,为3 104个;其中有几个关键的生物学通路,包括对刺激(Response to stimulus)、代谢过程(Metabolic process)、发育过程(Developmental process)、细胞活动(Cellular process)以及生物学调控(Biological regulation)等,

主要生物学功能均为相关基因发挥作用;在生物过程中,细胞活动(Cellular process)富集的基因数目最多,达755个。分子功能(Molecular function,MF)中富集基因数目最多的2个途径为结合(Binding)与催化活动(Catalytic activity)通路。在细胞组分(Cellular component,CC)中,细胞结构组件(Cellular anatomical entity)被注释到的基因数目最多,包含的基因数目达1 085个(图5(a))。



两处理间共筛选到 1 543 个差异表达基因 (DEGs), 其中上调表达基因 622 个, 下调表达基因 921 个。由 GO 富集分析可见 (图 5(b)), 在 BP 中, 脱落酸响应 (GO:0009737) 差异表达基因数最多, 为 59 个, 其次碳水化合物代谢过程 (GO:0005975) 差异表达基因数目为 48 个, 缺水响应 (GO:0009414) 通路富集的差异表达基因数为 43 个; 在 CC 方面, 差异表达基因主要富集在细胞外 (GO:0005576) 和质外体 (GO:0048046), 分别为 104 和 58 个; 在 MF 方面, DNA 结合转录因子活性 (GO:0003700) 富集的差异表达基因数目最多, 为 119 个。

对 2 个处理之间的 DEGs 进行 KEGG 通路分析 (图 5(c)), 有 149 个差异表达基因富集在前 9 个通路中, 这些通路主要为植物激素信号转导 (Plant hormone signal transduction)、MAPK 信号通路-植物 (MAPK signaling pathway-plant)、苯丙素生物合成 (Phenylpropanoid biosynthesis)、戊糖和葡萄糖醛酸互换 (Pentose and glucuronate interconversions)、DNA 复制 (DNA replication)、类胡萝卜素生物合成

(Carotenoid biosynthesis)、光合作用-天线蛋白 (Photosynthesis-antenna proteins) 等; 其中有 45 个基因富集在植物激素信号转导途径上, 数目最多。

通过差异表达基因分析, 在扦插第 4 天时, 选出与生长素信号应答相关的 3 个上调表达基因和与淀粉分解相关的 2 个下调表达基因, 采用 qRT-PCR 对 4 个时间点的基因表达水平进行定量分析 (图 6)。3 000 mg/L NAA 处理下, *MdSAUR51* 在第 4 天时相对表达量显著上调 ($P < 0.05$) (图 6(a)); 第 4 和 8 天时, *MdSAUR50* 在 3 000 mg/L NAA 处理下表达量均显著上调 ($P < 0.05$) (图 6(b)); 在 3 000 mg/L NAA 处理下, 在第 4 和 16 天时 *MdSAUR12* 的相对表达量显著上调, 而在第 8 天时表达量显著下调 ($P < 0.05$) (图 6(c))。第 4 天时, 在 3 000 mg/L NAA 处理后插穗中 *MdBAM2* 的相对表达量显著下调 ($P < 0.05$) (图 6(d)); 在第 4 和 8 天时, 与 CK 相比, *MdBAM1* 在 3 000 mg/L NAA 处理后插穗中的相对表达量显著下调 ($P < 0.05$) (图 6(e))。

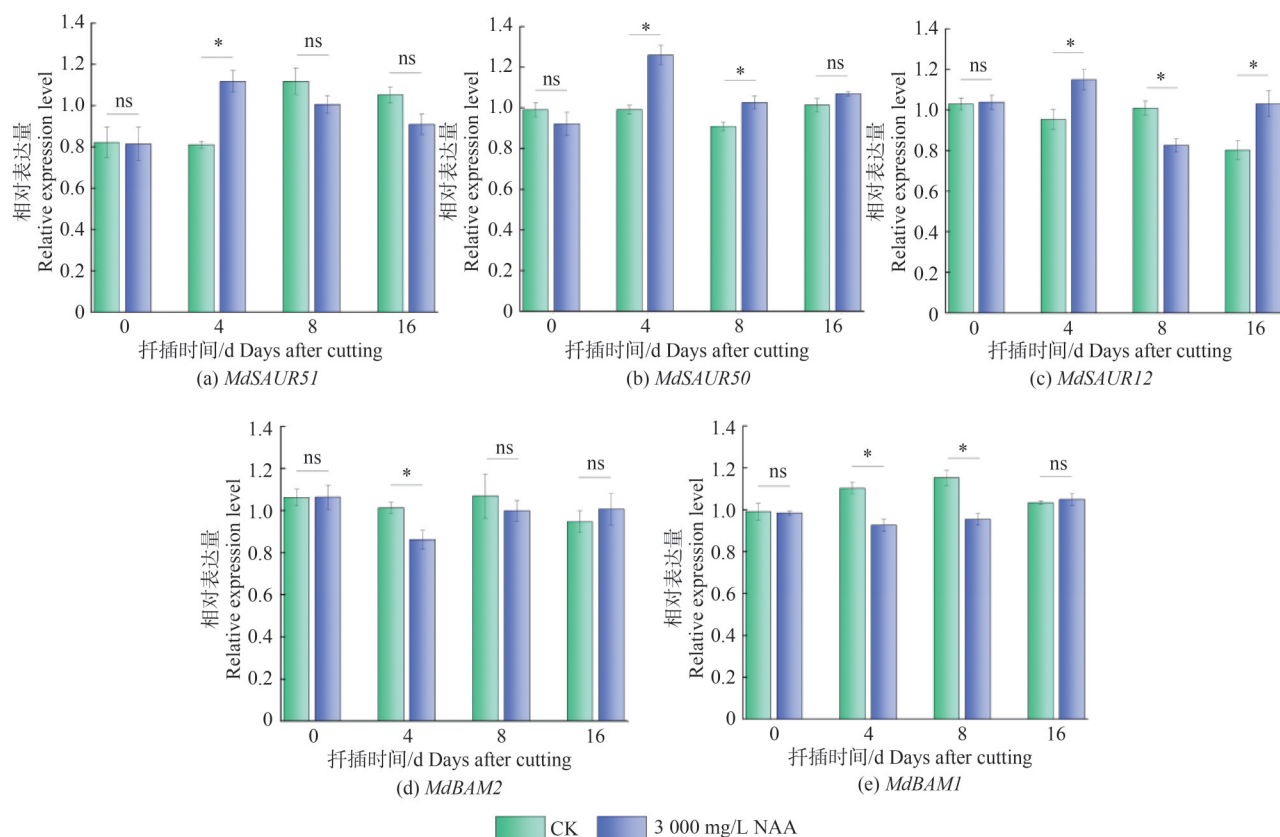


图 6 与苹果砧木插穗生根相关的候选基因相对表达量

Fig. 6 Relative expression levels of candidate genes associated with rooting of apple rootstock cuttings

3 讨 论

根原基的形成过程复杂,激素^[19]和光^[20]在其中起着重要的调控作用。苹果难生根株系经过 3 000 mg/L IBA 处理生根效果较好,易生根株系在 1 000 mg/L IBA 处理后生根率更高^[21];已有研究发现 500 mg/L IBA 和 1 000 mg/L IBA 处理显著高于 1 500 mg/L IBA 处理的生根率^[5];张广仁等^[22]以‘辽砧 2 号’为材料进行扦插发现,1 000 mg/L IBA 和 100 mg/L NAA 组合处理生根效果优于 IBA 或 NAA 单独处理。本研究发现 3 000 mg/L NAA 单独处理下苹果砧木优系 DG1178 生根效果较好。在光质促进 ARs 形成的过程中,650~660 nm 的红光可促进葡萄 ARs 的形成^[23];在葡萄离体培养中,蓝光抑制了葡萄根系的发育^[24]。然而本研究在蓝光处理下插穗的根尖数和根总长显著提高,说明蓝光照射更适用于 DG1178 木质化茎段扦插扩繁。

插穗中的营养物质为 ARs 形成提供物质基础^[25],其中营养物质主要有糖、淀粉以及蛋白质等。研究发现 ARs 形成需要大量的糖^[26];可溶性糖在生根过程中存在明显的累积现象,经过生长素诱导后,可溶性糖提前达到峰值,进而产生 ARs^[27]。本研究中 NAA 处理能够使可溶性糖更快积累,从而较早形成 ARs,这与前人研究结果一致。魏树强^[28]在杂交鹅掌楸扦插过程中发现韧皮部的可溶性淀粉含量先减少后增加。结合本研究推测是因为激素处理导致大量可溶性淀粉被消耗转化为可溶性糖,促进了插穗 ARs 形成和根系伸长;另外,插穗叶片合成的光合产物被运送到插穗基部,使可溶性淀粉开始大量积累。同时,可溶性蛋白在 ARs 发育过程中扮演着重要的角色^[29]。张紫璇^[30]发现在花椒扦插过程中,可溶性蛋白含量先下降后上升再下降,推测第一次下降是因为可溶性蛋白被用于愈伤组织诱导,而第二次下降是因为可溶性蛋白被根系生长所消耗。这与本研究结果一致,说明可溶性蛋白可能被用于 ARs 形成。

SAURs^[31]和BAMs^[32]在植物生长发育中起着重要的调控作用。SAUR 家族成员可以促进或抑制植物细胞伸长参与植物组织分化,同时对植物根系的生长发育具有调节作用。吴康^[33]用 1 mmol/L IAA 处理‘GL-3’盆栽苗后,发现 *MdSAUR6* 在植物体内高度表达,表明外源生长素与 SAUR 基因表

达密切相关。本研究筛选到了 3 个 SAUR 家族基因 *MdSAUR51*、*MdSAUR50* 和 *MdSAUR12*,发现这些基因在苹果 ARs 发育中也发挥着潜在调控作用。 β -淀粉酶(β -amylase, BAM)可以切断多聚糖非还原性末端的糖苷键,使淀粉分解成为麦芽糖。有研究表明, *MdBAM5* 与苹果中淀粉的降解密切相关^[34];Peng 等^[35]通过在柠檬中过表达 *PtrBAM1* 基因,抑制了叶片淀粉降解,从而抑制了可溶性糖含量的积累。本研究通过测定生理指标发现可溶性糖和淀粉是 ARs 形成的重要因素,因此通过调控 BAM 家族的相关基因 *MdBAM2* 和 *MdBAM1* 表达可潜在影响 ARs 的形成。然而, *MdSAUR51*、*MdSAUR50*、*MdSAUR12*、*MdBAM2* 和 *MdBAM1* 基因如何参与 ARs 形成的具体分子机理有待进一步研究。

4 结 论

本研究以苹果砧木为研究对象,研究了不同激素配比和红蓝光处理对木质化茎段扦插生根的影响,并对生根的生理及分子机制进行了初步探究,主要结论如下:

1) 红蓝光、蓝光以及 3 000 mg/L NAA 对苹果木质化茎段扦插生根具有较好的促进效果,蓝光处理可以使扦插苗根系更发达。

2) 3 000 mg/L NAA 条件下,可溶性糖、可溶性淀粉和可溶性蛋白在生根不同阶段进行差异性积累,促进了苹果砧木木质化茎段扦插生根。

3) 获得了与生根相关的 9 个 KEGG 富集通路和 1 543 个差异表达基因,并且筛选得到与带叶木质化茎段扦插不定根形成高度相关的 5 个关键基因,这些基因参与调控了细胞伸长、生长素极性运输和淀粉水解过程。

参考文献 References

- [1] Mao J P, Niu C D, Li K, Fan L, Liu Z M, Li S H, Ma D D, Tahir M M, Xing L B, Zhao C P, Ma J J, An N, Han M Y, Ren X L, Zhang D. Cytokinin-responsive MdTCP17 interacts with MdWOX11 to repress adventitious root primordium formation in apple rootstocks [J]. *The Plant Cell*, 2023, 35(4): 1202-1221
- [2] 张秀美,李宝江,杨锋,伊凯. 苹果砧木绿枝扦插繁殖的研究[J]. 中国果树, 2009(1): 22-25
Zhang X M, Li B J, Yang F, Yi K. Study on reproduction of green wood cutting of apple stock[J]. *China Fruits*, 2009(1): 22-25 (in Chinese)
- [3] 肖祖飞. 童性对苹果砧木绿枝扦插生根的影响[D]. 北京: 中国农业大学,

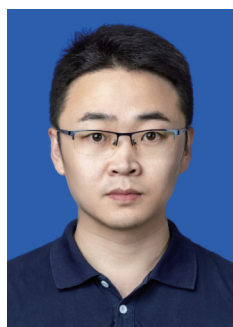
- 2014
- Xiao Z F. Effect of childishness on rooting of apple rootstock by green branch cuttings [D]. Beijing: China Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [4] 杜学梅, 杨廷桢, 高敬东, 王莺, 蔡华成, 李春燕, 王淑婷, 弓桂花. 苹果扦插繁殖生根机理研究进展[J]. 农学学报, 2019, 9(12): 17
- Du X M, Yang T Z, Gao J D, Wang Q, Cai H C, Li C Y, Wang S T, Gong G H. Research progress on rooting mechanism of apple cutting propagation[J]. *Journal of Agronomy*, 2019, 9(12): 17 (in Chinese)
- [5] 张子帆. 苹果砧木(GM256×M9)杂交后代初步评价及优系快繁体系的建立[D]. 北京: 中国农业大学, 2020
- Zhang Z F. Preliminary evaluation of hybrid progeny of apple rootstock (GM256×M9) and establishment of optimal line rapid propagation system [D]. Beijing: China Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [6] 郑洁, 胡美君, 郭延平. 光质对植物光合作用的调控及其机理[J]. 应用生态学报, 2008, 19(7): 1619-1624
- Zheng J, Hu M J, Guo Y P. Regulation of photosynthesis by light quality and its mechanism in plants[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(7): 1619-1624 (in Chinese)
- [7] Kaiser E, Ouzounis T, Giday H, Kaiser E, Ouzounis T, Giday H, Schipper R, Heuvelink E, Marcelis L F M. Adding blue to red supplemental light increases biomass and yield of greenhouse-grown tomatoes, but only to an optimum[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 9: 2002
- [8] Lim Y J, Eom S H. Effects of different light types on root formation of *Ocimum basilicum* L cuttings [J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 164: 552-555
- [9] Cho K H, Laux V Y, Wallace-Springer N, Clark D G, Folta K M, Colquhoun T A. Effects of light quality on vegetative cutting and in vitro propagation of coleus (*Plectranthus scutellarioides*) [J]. *HortScience*, 2019, 54(5): 926-935
- [10] 魏海蓉, 陈新, 宗晓娟, 王甲威, 张庆霞, 张道辉, 刘庆忠. 甜樱桃矮化砧‘吉塞拉6号’扦插过程中氧化酶活性和碳氮含量变化[J]. 林业科学, 2013, 49(9): 172-177
- Wei H R, Chen X, Zong X J, Wang J F, Zhang Q X, Zhang D H, Liu Q Z. Changes of oxidase activity and carbon and nitrogen content in cutting process of ‘Gisela 6’ dwarfing anvil of sweet cherry[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2013, 49(9): 172-177 (in Chinese)
- [11] 侯江涛, 沈聪聪, 张毅芳, 凌娜. 植物扦插繁殖生根机理研究综述[J]. 安徽农业科学, 2019, 47(19): 1-3, 6
- Hou J T, Shen C C, Zhang Y F, Ling N. Review on the rooting mechanism of plant cuttings propagation [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2019, 47(19): 1-3, 6 (in Chinese)
- [12] Druege U, Zerche S, Kadner R. Nitrogen- and storage-affected carbohydrate partitioning in high-light-adapted pelargonium cuttings in relation to survival and adventitious root formation under low light [J]. *Annals of Botany*, 2004, 94(6): 831-842
- [13] 许晓岗. 垂丝海棠、楸子的扦插生根机理研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2006
- X X G. Study on rooting mechanism of *Begonia pendula* and *Catalpa mandshurica* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006 (in Chinese)
- [14] Voß U, Wilson M H, Kenobi K, Gould P D, Robertson F C, Peer W A, Lucas M, Swarup K, Casimiro I, Holman T J, Wells D M, Péret B, Goh T, Fukaki H, Hodgman T C, Laplaze L, Halliday K J, Ljung K, Murphy A S, Hall A J, Webb A A R, Bennett M J. The circadian clock rephases during lateral root organ initiation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 7641
- [15] 王丽. SH40 苹果矮化砧木扦插繁殖技术及生根机理初探[D]. 保定: 河北农业大学, 2015
- Wang L. Preliminary study on cutting propagation technology and rooting mechanism of SH40 apple dwarf rootstock [D]. Baoding: Agricultural University of Hebei, 2015 (in Chinese)
- [16] Kong Y Y, Zhu Y B, Gao C, She W J, Lin W Q, Chen Y, Han N, Bian H W, Zhu M Y, Wang J H. Tissue-Specific expression of *SMALL AUXIN UP RNA41* differentially regulates cell expansion and root meristem patterning in *Arabidopsis* [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2013, 54(4): 609-621
- [17] 邱昌朋, 李梦珂, 郭鹏靖, 周忠莉, 韩振海, 许雪峰, 王忆, 张新忠, 吴婷, 李威. 一种气液循环扦插培养架. 中国, CN202110345846.9[P]. 2021-08-03
- Qiu C P, Li M K, Guo P J, Zhou Z L, Han Z H, Xu X F, Wang Y, Zhang X Z, Wu T, Li W. A gas-liquid circulating plug cultivation system. China, CN202110345846.9[P]. 2021-08-03 (in Chinese)
- [18] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- Li H S. *Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000 (in Chinese)
- [19] 王金祥, 严小龙, 潘瑞炽. 不定根形成与植物激素的关系[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 133-142
- Wang J X, Yan X L, Pan R C. Relationship between adventitious root formation and plant hormones [J]. *Plant Physiology Journal*, 2005, 41(2): 133-142 (in Chinese)
- [20] Sorin C, Bussell J D, Camus I, Ljung K, Kowalczyk M, Geiss G, McKhann H, Garcion C, Vaucheret H, Sandberg G, Bellini C. Auxin and light control of adventitious rooting in *Arabidopsis* require ARGONAUTE1 [J]. *The Plant Cell*, 2005, 17(5): 1343-1359
- [21] 郭鹏靖. 苹果砧木 GM256×M9 杂交后代嫩枝扦插繁殖体系的建立[D]. 北京: 中国农业大学, 2021
- Guo P J. Establishment of cuttage propagation system of hybrid progeny of GM256×M9 apple rootstock [D]. Beijing: China Agricultural University, 2021 (in Chinese)
- [22] 张广仁, 李广旭, 张秀美. 苹果砧木‘辽砧2号’和SH40 扦插技术研究[J]. 北方果树, 2015(6): 7-9
- Zhang G R, Li G X, Zhang X M. Study on cutting propagation of apple rootstock with ‘Liaozhen -2’ and SH40 [J]. *Northern Fruits*, 2015(6): 7-9 (in Chinese)
- [23] Poudel P R, Kataoka I, Mochioka R. Effect of red-and blue-light-emitting diodes on growth and morphogenesis of grapes [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 2008, 92(2): 147-153
- [24] Li C X, Xu Z G, Dong R Q, Chang S X, Wang L Z, Muhammad K U R, Tao J M. An RNA-seq analysis of grape plantlets grown in vitro reveals different responses to blue, green, red LED light, and white fluorescent light [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8: 78
- [25] 余亮, 王飞. 苹果砧木 M9 快繁技术的建立及试管苗生根进程解剖研究 [J]. 西北林学院学报, 2013, 28(4): 106-110
- Yu L, Wang F. Anatomical study on rooting process and rapid propagation of apple rootstock M9 [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2013, 28(4): 106-110 (in Chinese)
- [26] 李焕勇, 刘涛, 张华新, 杨秀艳, 杨升. 植物扦插生根机理研究进展[J]. 世界林业研究, 2014, 27(1): 23-28
- Li H Y, Liu T, Zhang H X, Yang X Y, Yang S. Research progress in rooting mechanism of plant cuttings [J]. *World Forestry Research*, 2014,

- 27(1): 23-28 (in Chinese)
- [27] 闫绍鹏. 欧美山杨杂种扦插生根的理化与分子机理研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2011
- Yan S P. Study on physicochemical and molecular mechanism of cutting rooting of *Populus euramericana* hybrid[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2011 (in Chinese)
- [28] 魏树强. 杂交鹅掌楸扦插繁殖技术与生根机理研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2009
- Wei S Q. Study on cutting propagation techniques and rooting mechanism of hybridized gooseberry [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2009 (in Chinese)
- [29] 向旭初. 红花玉兰扦插生根机制及其分子基础研究[D]. 宜昌: 三峡大学, 2022
- Xiang X C. Study on rooting mechanism and molecular basis of cutting of *grandiflora* cutting[D]. Yichang: China Three Gorges University, 2022 (in Chinese)
- [30] 张紫璇. 燕山花椒嫩枝扦插繁殖及生根生理研究[D]. 河北: 河北科技师范学院, 2023
- Zhang Z X. Study on reproduction and rooting physiology of young branches of *Zanthoxylum Yanshan*[D]. Hebei: Hebei Normal University of Science and Technology, 2023 (in Chinese)
- [31] 郭远. 小麦生长素响应基因 *TaSAUR78* 和 *TaSAUR75* 在非生物逆境中的功能研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2017
- Guo Y. Study on the function of auxin response genes *TaSAUR78* and *TaSAUR75* in abiotic stress [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017 (in Chinese)
- [32] Monroe J D, Storm A R. Review: The *Arabidopsis* β -amylase (BAM) gene family: Diversity of form and function [J]. *Plant Science*, 2018, 276: 163-170
- [33] 吴康. 苹果早期生长素响应基因 *MdSAUR6* 的功能分析[D]. 山东: 鲁东大学, 2023
- Wu K. Functional analysis of early growth hormone response gene *MdSAUR6* in apple [D]. Shandong: Ludong University, 2023 (in Chinese)
- [34] Li A, Chen J, Lin Q, Zhao Y Y, Duan Y Q, Wai S C, Song C C, Bi J F. Transcription factor *MdWRKY32* participates in starch-sugar metabolism by binding to the *MdBam5* promoter in apples during postharvest storage [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(49): 14906-14914
- [35] Peng T, Zhu X F, Duan, N, Liu J H. *PtrBAM1*, a β -amylase-coding gene of *Poncirus trifoliata*, is a CBF regulon member with function in cold tolerance by modulating soluble sugar levels [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2014, 37(12): 2754-2767

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 苏泽彬, 硕士研究生, 2018年9月—2022年6月就读于山西农业大学园艺专业, 2022年9月至今就读于中国农业大学园艺学院农艺与种业专业。硕士阶段主要研究方向为果树栽培与生理, 2022年获中国农业大学硕士二等学业奖学金。



通讯作者简介: 邱昌朋, 博士, 中国农业大学园艺学院果树系副教授, 硕/博士生导师, 中国农业大学“优秀人才”。研究方向为果树良种繁育与高效栽培, 主要从事园艺植物抗逆育种、良种扩繁及高效栽培等教学与科研工作。已主持或在研课题6项; 在 *Plant Cell & Environment*、*Scientia Horticulturae*、*European Journal of Horticultural Science*、*International Journal of Molecular Sciences*、*The Plant Journal* 等期刊发表论文20余篇; 获得授权专利10余项, 其中作为第一发明人的专利有6项; 发布京津冀苹果肥水一体化技术规程1项; 参编《果树优质丰产的生理基础与调控技术》; 参与选育审定杂交苹果砧木新品种3个; 指导大学生科技创新项目10余项等。