

苹果扦插繁殖生根机理研究进展

杜学梅, 杨廷桢, 高敬东, 王 骞, 蔡华成, 李春燕, 王淑婷, 弓桂花

(山西省农业科学院果树研究所/果树种质创制和利用山西省重点实验室, 太原 030031)

摘要: 文章从插穗不定根发生的形态解剖学、插穗生根的生理生化基础和扦插生根的分子生物学研究3个方面对苹果扦插生根机理的研究进展进行了综述。目前已明确苹果不定根发生和发育的形态解剖学结构, 认为苹果矮砧不存在潜伏根原始体, 均为诱发根原始体类型。对影响生根的激素、酶、营养物质、水分及其他生理生化物质等进行了深入研究, 认为插穗生根受多种因素影响, 根原基的形成是其综合作用下形成动态平衡的结果, 并在分子水平上对插穗不定根形成原因进行了初步揭示。相关研究结果对调控不定根的发生和发育具有重要意义, 建议今后在分子水平上全面深入开展不定根形成机理的研究。

关键词: 苹果; 苹果矮砧; 扦插; 不定根; 形态解剖学; 生理生化物质; 分子生物学

中图分类号: S66-3

文献标志码: A

论文编号: cjas18110009

Progress of Rooting Mechanism Study in Apple Cutting Propagation

Du Xuemei, Yang Tingzhen, Gao Jingdong, Wang Qian, Cai Huacheng,

Li Chunyan, Wang Shuting, Gong Guihua

(Pomology Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences/

Shanxi Key Laboratory of Germplasm Improvement and Utilization in Pomology, Taiyuan 030031)

Abstract: Research on rooting mechanism of apple cutting is reviewed from morphological anatomy of adventitious root formation of cutting, physio-biochemical basis of cutting rooting and molecular biology of cutting rooting. At present, morphological anatomy structure of adventitious root formation in apple has been known that apple dwarf stock belongs to induced root primitive type, not hidden root primitive type. Hormones, enzymes, nutrients, water, and other physio-biochemical substances affecting rooting have been studied, it is thought that cutting rooting is affected by many factors, the formation of root primordium is the result of the dynamic equilibrium by the factors, and the reason of adventitious root formation in cutting is revealed preliminarily from molecular level. Relevant research results are of significance to regulate the formation and development of adventitious root, and it is necessary to carry out deep and comprehensive research on the formation mechanism of adventitious root from molecular level in the future.

Keywords: Apple; Apple Dwarf Rootstock; Cutting; Adventitious Root; Morphology and Anatomy; Physio-biochemical Substances; Molecular Biology

0 引言

植物扦插繁殖是利用植物营养器官的再生能力发

生新根或新芽而长成一个独立的植株。扦插繁殖可保持母体的遗传特性, 变异较小, 苗木生长一致, 且繁殖

基金项目: 现代苹果产业技术体系晋中综合试验站(CARS-27); 山西省青年科技研究基金项目“Y系苹果矮化中间砧对接树枝条输导组织解剖结构的影响”(201601D0211); 山西省农科院特色农业技术攻关“苹果砧木种质资源筛选与创制”(YGG17035); 山西省科技厅产业链项目“苹果矮化砧木新品种选育”(2015-TN-03-02); 山西省农业科学院重点“Y-I矮砧富士标准化栽培关键技术研究”(YGG1640)。

第一作者简介: 杜学梅, 女, 1966年出生, 山西汾西人, 研究员, 硕士, 研究方向为果树资源与育种。通信地址: 030815 山西省太谷县科苑路 省农科院果树所, Tel: 0354-6215118, E-mail: sxgsjbdu@163.com。

通讯作者: 杨廷桢, 男, 1965年出生, 山西沁源人, 研究员, 本科, 研究方向为苹果砧木资源的评价、筛选及新品种选育。通信地址: 030815 山西省太谷县科苑路 省农科院果树所, Tel: 0354-6215118, E-mail: ytzabc@126.com。

收稿日期: 2018-11-13, **修回日期:** 2019-02-14。

方法简便,取材方便,繁殖季节长,繁殖系数大。这些特点对实生变异较大、不能保持后代一致性的苹果砧木意义重大。苹果为扦插繁殖难生根树种,苹果矮砧更是极难生根,在不加激素的情况下不可能生根^[1-2]。尽管如此,近年来在苹果砧木扦插生根机理研究方面仍取得了一定进展。笔者从解剖结构、生理生化、分子生物学研究等方面对其研究进行综述,以期苹果扦插繁殖机理的进一步研究提供参考,同时为促进苹果扦插技术的深入发展提供理论支撑。

1 不定根发生的形态解剖学研究

对扦插不定根发生形态解剖学研究,目前主要集中在插穗的生根类型、茎的解剖结构和根原基类型3个方面。一般认为插穗的生根类型有皮部生根型(易生根类型)、愈伤组织生根型(难生根类型)、混合生根型(兼具皮部和愈伤组织2种生根类型)3种类型,混合生根类型较单一生根类型容易生根,多数植物属混合生根类型^[3-5]。从茎的解剖结构看,插穗不定根的发育可分为3个阶段,第一阶段为不定根诱导阶段,解剖结构表现为细胞脱分化形成根原始体;第二阶段为不定根形成阶段,即根原始体分化成可见的根原基;第三阶段为不定根表达阶段,即根原基发育成不定根并突出茎外成肉眼可见的不定根^[6-8],多数研究表明,插穗皮层与韧皮部间没有环状的厚壁组织,或者虽然有但呈不连续状,则生根相对容易^[9-11]。也有人认为环状厚壁组织可通过外源生长素刺激而打破,不会妨碍不定根的生长^[12]。依据根原始体的形成时间,可将不定根原基分为潜伏根原基和诱导根原基2种类型,有些果树是在枝条生长期间未离开母株时,在茎组织内就已形成根原体,并多从形成层与髓射线交界处产生,即为潜伏根原基类型^[13],一般该类型的植物容易生根;大多数果树是在扦插过程中,在外部刺激下茎内部部分细胞恢复分裂能力,进行细胞反分化形成根原体,产生不定根,为诱导根原基类型^[13],该类型的植物生根相对困难。

研究表明,海棠果插穗在扦插前的插穗切片中未发现潜伏根原基的存在。扦插5天后茎内少数维管射线细胞向韧皮部方向加宽成多列,10天后形成一团细胞核大、排列紧密与周围细胞有明显区别的薄壁细胞团,这些恢复了分生能力的薄壁细胞团就是初期的根原基。海棠果插穗不定根组织学上的起源是维管形成层^[14]。垂丝海棠插穗不定根组织学起源是愈伤组织的薄壁细胞分化而来。垂丝海棠扦插10天后形成由一团薄壁细胞组成的愈伤组织,随后这些愈伤组织内部的一些细胞开始分化成输导组织,同时在愈伤组织

中部形成自身的木质部和形成层,木质部外侧的一些细胞特化成具有根原始体的细胞,这些细胞继续分化形成根原基,根原基经过细胞分裂和伸长生长,在扦插38天后最终突出愈伤组织成为不定根。垂丝海棠生根类型属于愈伤组织诱导型^[15]。‘SH40’苹果矮砧插穗无潜伏根原基,其根原基在韧皮部、皮层部位及髓射线处均可形成^[1]。红缨海棠组培苗嫩茎诱导生根2天后,髓部细胞和部分维管形成层细胞开始旺盛活动,4天后其内部部分细胞的体积、细胞核、核仁进一步增大,经多次分裂组成的细胞团,经多方向的细胞分裂形成根原基轮廓,到第8天已逐渐形成生长点和根冠,10天后明显见不定根。红缨海棠不定根起源于茎维管形成层细胞,无潜伏根原基^[16]。‘M9’试管无根苗在生长素诱导5天后,维管形成层细胞开始旺盛分裂,到第7天时形成类似球形并向韧皮部凸起的根原基轮廓,不定根原基细胞陆续出现。其不定根起源于茎维管形成层细胞^[17]。目前的研究表明,苹果矮砧不存在潜伏根原始体,均为诱发根原始体类型,可在维管形成层(如海棠果)、韧皮薄壁组织细胞(如‘SH40’)等部位诱导出根原始体,也可经愈伤组织(如垂丝海棠)诱导形成根原始体。但苹果砧木种类繁多,不同品种(株系)材料或同一品种不同单株之间在形态结构、生长发育规律及对外界环境条件的适应能力等方面都存在明显差别^[18],因此,对其不定根生根类型、茎的解剖结构和根原基类型方面的研究结论,还有待于今后进一步丰富材料证实。

2 扦插生根的生理生化基础

2.1 植物激素与生根

根原基的形成是一个受激素调控的复杂过程,生长素起关键的调节作用^[19]。大量研究表明,生长素是促进不定根形成的主要激素,生产实践中也发现,同一品种半木质化带叶嫩枝扦插较硬枝扦插更容易生根,原因之一就是芽和叶产生的生长素向下运输并积累在插枝基部,从而促进插枝生根。如果用2,3,5-三碘苯甲酸等一些能阻止生长素运输的生长抑制剂处理插条,则插条基部的生长素含量减少,生根率下降^[20]。对于一些难生根的树种品种,当用生长素处理插条基部后,被处理部位的薄壁细胞便可恢复分裂的机能,形成根原基或产生愈伤组织,然后长出不定根,使扦插难以生根的树种得以生根^[21]。

常用的促进插枝生根的外源生长素有IBA、IAA、NAA等,普遍认为IBA由于稳定性好于IAA,生根作用也强于IAA和NAA^[22]。但也有例外,许晓岗^[15]在进行垂丝海棠和楸子的扦插试验时,认为IAA效果最显

著, 强于 IBA 和 NAA。可见, 植物生长素对生根的促进作用同生长素的种类、浓度及处理时间密切相关。史莉等^[23]进行山荆子全光迷雾扦插育苗试验时发现, 用清水处理的山荆子生根率为 24.4%, 而用 ABT1 号生根粉(主要成分为 IBA)浸蘸 1 h 处理的山荆子生根率为 45.8%。韩静^[24]的研究表明, 对于易生根的圆叶海棠, 无论硬枝还是嫩枝, 生长素处理对生根效果没有影响, 而对难生根的‘MM106’、‘M26’、‘T337’, 嫩枝扦插‘MM106’、‘M26’以 IBA 3500 mg/L 速蘸 10 s 生根效果最好, 生根率达 74%、32%, ‘T337’则以 NAA 2500 mg/L 速蘸 10 s 生根效果最好(生根率 8%); 硬枝扦插‘MM106’以 ABT 生根粉 1 号 200 mg/L 浸泡 2 h 生根率最高(为 14%), ‘M26’以 NAA 1000 mg/L 蘸 30 s 生根效果最好, 生根率 10%, 不同浓度激素处理对‘T337’硬枝扦插无影响, 生根率均为 0。肖祖飞等^[25]研究表明, IBA 能促进苹果砧木插条生根, ‘中砧 1 号’童期时的顶梢最适宜的 IBA 处理浓度为 3000 mg/L 速蘸插条基部 1 min。李海伟等^[26]用清水处理‘B9’嫩枝扦插生根率为 51.7%, 而经 IBA 蘸 30 s 处理后可达 89.7%, 生根率显著提高, IBA 在 500~1500 mg/L 的范围内生根率随 IBA 浓度增加而增加。张秀美等^[27]研究表明, ‘辽砧 2 号’绿枝扦插清水处理生根率仅为 8.3%, 经 IBA 1000 mg/L + NAA 100 mg/L 蘸 30 s 处理后生根率可达 50%, 生根效果好于 IBA、NAA 单独处理。

一般认为, 植物内源的生长素含量决定了植物扦插生根的难易程度。生长素通过调节插穗内部贮藏营养的分配, 影响相关酶的生成和活性, 进而影响根原基的形成和发育而影响生根。弦间洋^[27]认为 IBA 可促进碳水化合物和还原糖在插条基部积累, 促进淀粉水解, 同时还可提高基部 IAA 水平, 从而促进生根。Alvarez 等^[28]认为, ‘M26’组培苗基部自由 IAA 含量是‘M9’的 2.8 倍可能是‘M26’生根率高于‘M9’的原因。许晓岗^[15]发现, 楸子嫩枝插穗在扦插后第 6 天, 垂丝海棠在第 4 天, 插穗内生长素含量升高, 形成高峰, 以后逐渐下降, 到 11 天后趋于平缓; IAA 与 ABA 比值和 IAA 与 IPA+ZR 比值在第 4~6 天出现峰值, 这和不定根原基的起始细胞建立时间相一致, 证明早期大量生长素的产生是扦插所必需的, 且用 IAA 与 ABA 比值大致可表示海棠果插穗的生根能力, 比值大, 生根率高。

除生长素外, 植物内源激素赤霉素类(GA)、脱落酸(ABA)、细胞分裂素类(IPA、ZR、DHZR 等)等均不同程度影响着插穗根原基的形成。ABA 被认为是抑制扦插生根的主要物质之一^[15,29], 有研究表明‘红玉’苹果难生根就是由 ABA 的抑制作用造成的^[30]。GA 和细胞

分裂素类物质被认为对多种植物不定根的产生有抑制作用^[31], 但也有研究表明, 细胞分裂素类物质与生长素共同作用促进细胞分裂, 究竟何种比例对生根有利, 何种比例抑制生根, 还有待于进一步研究, 但单独使用对生根影响不大^[15]。由此可见, 插穗生根受多种内源激素影响, 根原基的形成是其综合作用下形成动态平衡的结果, 对苹果砧木等扦插难生根树种, 研究其生根过程中内源激素平衡形成的机制, 对促进插条生根意义重大。

2.2 酶的活性与生根

很多研究表明, 一些种类的酶与不定根的发生有关。目前研究较多的, 也是公认的同苹果扦插生根能力密切相关的酶主要有过氧化物酶(POD)、吲哚乙酸酶(IAAO)和多酚氧化酶(PPO)。

过氧化物酶被视作植物扦插生根的标志之一, 是一种活性较高的酶, 参与生长素的代谢、呼吸、细胞壁的合成和伤害反应^[32], 与不定根的诱导和生长密切相关。伤害或逆境反应时, 先是碱性 POD 被激活, 通过调节生长素的代谢, 诱导生根, 随后酸性 POD 激活, 促进根发育过程中的木质化和细胞壁的合成^[33]。宋金耀等^[34]研究表明, 易生根树种(柳)硬枝和嫩枝扦插时, 插穗的 POD 活性均为前期降低, 然后升高, 而苹果、梨等难生根树种则表现为前期升高而后降低, 认为由于扦插后 POD 一直保证较高活性, 没有前期的活性回落是苹果等树种难于生根的主要原因。这同杜伟^[35]在桑树上硬枝扦插的研究结果一致, 无论是在愈伤组织生根类型还是在皮部生根类型生根过程中, POD 酶活性均表现先上升后下降, 说明 POD 酶活性是离体生根的生化指标之一。

吲哚乙酸酶是植物体广泛存在的一种酶, 是一种含 Fe 的血红蛋白, 具有降解 IAA 的作用, 在扦插繁殖过程中, IAAO 通过调节插穗内 IAA 含量水平, 直接影响其生长发育和其他生理活动, 从而影响不定根的形成和生长^[36]。宋金耀等^[34]研究表明, 硬枝扦插后, 易生根树种(柳)插条内 IAAO 活性基本呈下降趋势, 难生根树种(苹果等)正好相反, 其插条内 IAAO 活性基本呈上升趋势, 分析认为 IAAO 活性的降低使 IAA 含量升高, 对根的形成过程有促进作用。而 IAAO 活性升高氧化或抑制了 IAA, 从而使苹果等的不定根难以形成。

多酚氧化酶是一种含铜的酶, 普遍存在于高等植物体内, 具有催化酚类物质氧化的作用。其中一个重要的作用是能够催化 IAA 与酚类物质缩合形成 IAA-酚酸复合物, 是一种促进不定根形成的生根辅助因

子^[37],对不定根的形成有重要作用。PPO 主要集中于插穗不定根的起源部位,影响细胞分裂分化及根原基的形成和生长^[38]。有研究表明,垂丝海棠、楸子当年生枝扦插生根率同多酚氧化酶活性呈显著负相关^[14]。也有正好相反的结论,认为多酚氧化酶与不定根的形成呈正相关,其活性和含量在不定根形成初期升高,而当根形成后活性持续下降^[39]。

2.3 枝条内水分及单宁等其他生理生化物质与生根

插穗内的含水量对扦插成活起决定性作用,枝条的含水量是影响扦插最大的因子^[5,40]。许晓岗^[15]研究发现,垂丝海棠和楸子不同类型插穗的含水量不同,徒长枝的分别为52.42%和44.02%,明显高于结果枝和当年生枝(52.35%、51.77%、43.09%、43.11%);自由水含量以当年生枝最高,徒长枝最低,束缚水含量与自由水含量正好相反。扦插后含水量的变化趋势也不一致,当年生枝的总含水量和自由水含量随扦插时间的延长逐渐下降,徒长枝为先上升后下降,而结果枝总含水量和自由水含量则表现为逐渐上升。插穗内总含水量和自由水含量越高,插穗越容易生根,插穗生根率与总含水量和自由水含量呈显著正相关。

另外有研究表明,还有一些生化物质对苹果扦插生根起着促进或抑制作用。Cuuriv等^[41]认为,黄酮类化合物是IAA氧化酶的抑制剂,可提高内源IAA含量,促进生根。日本学者^[42]研究认为根皮酚作为IAAO和POD的基础物质,具有防止IAA氧化的作用,从而促进‘M9’生根;间苯二酚也可增加‘M9’的生根率;对二羟基苯、咖啡碱、绿原酸、根皮苷、根皮苷分解产物根皮素和根皮酸可促进发根数的增加,而阿魏酸和鞣酐可抑制发根,使发根率降低,水杨酸则完全抑制发根,使发根率为0。许晓岗^[14]研究发现单宁对插穗有毒害作用,对生根也有抑制作用,但不是影响扦插生根的主要因子。

2.4 枝条营养物质与生根

枝条中的营养物质是不定根形成的物质基础,营养物质为插穗提供生根所需的基本物质和能量,是不定根产生的必要条件^[17]。枝条贮藏的营养物质主要有葡萄糖、淀粉等碳水化合物,同时还有一定量的氨基酸和蛋白质等含氮化合物。不定根的孕育过程需要消耗大量的糖,有研究表明^[43],在苹果茎尖外植体不定根发生的诱导期,形成层细胞中质体的比例主要为淀粉粒显著增加,推测可能是这些淀粉粒通过水解作用转化成的糖类物质供给不定根启动期所需的能量。宋金耀等^[44]研究发现,扦插后插穗中还原糖含量开始都明显降低,一直到愈伤组织大量出现期间,易生根树种插穗

内还原糖含量一直保持较低水平,而难生根的苹果等树种则明显升高,到不定根产生后,由于植株成活产生了光合作用,减缓了插穗内糖分的消耗,易生根树种还原糖含量有所升高,而难生根树种由于已接近死亡,还原糖含量也就不再降低。也有不同观点,许晓岗^[15]在研究垂丝海棠和楸子插条可溶性糖含量与扦插生根率的相关性时发现,虽然同一时期采集的插条当年生枝的可溶性糖含量明显高于结果枝,其扦插生根率也明显高于结果枝,但当年生枝可溶性糖含量与扦插生根率相关性不明显(相关系数0.47、0.4),而结果枝则呈极显著负相关;扦插生根过程中,垂丝海棠和楸子当年生枝可溶性蛋白含量随着扦插时间的延长表现先上升后下降,其中垂丝海棠可溶性蛋白含量4月15日扦插的较3月23日扦插的提早近10天达到峰值,更有利于插穗切口愈合生根。而王丽^[1]则认为,基部黄化处理可提高‘SH40’嫩枝扦插生根率是因为黄化处理可提高插穗体内淀粉含量,并转化成可溶性糖含量增加有利于生根,与可溶性蛋白含量关系不大。

许多试验证明,碳水化合物和含氮化合物对根原始体的分化有重要意义,C/N值可作为生根难易的判断指标,C/N值大生根能力强^[5,45-47]。苹果品种、砧木类型较多,品种、同一品种枝条类型、采穗时间、生根类型等不同,其生理代谢活动均不尽相同,营养物质对不定根的影响是与其他物质共同作用来进行的,对不定根影响机理机制还需验证。

3 扦插生根的分子生物学研究现状

随着现代生物技术的快速发展为苹果扦插生根的机理研究提供了重要的技术手段和方法,不定根形成发育研究已从简单的组织解剖学逐渐深入到基因、蛋白水平,尽管苹果扦插繁殖分子生物学研究起步较晚,但近年来也取得了一些进展。

许晓岗等^[48]利用SDS-PAGE电泳技术和酶联免疫吸附分析法,找到了与楸子生根相关的可溶性蛋白是分子量为83、72、65、52、43、39、31、28、26、22 ku的蛋白质,其中,分子量为65、39、26、22 ku的蛋白是调控蛋白,根原基分化时存在,不定根形成后消失,52 ku的蛋白是阻碍细胞分裂的蛋白,对生根不利,其余蛋白均可促进楸子插穗生根。王丽^[1]认为,ARRO-1、ARF7、ARF19是与生根相关的基因,而ARRO-1是参与‘SH40’嫩枝扦插不定根形成的主要基因。Welander等^[49]将rolB基因导入‘M26’后改善了其生根能力。杨利粉等^[50]研究发现,绞缢处理可显著提高苹果矮化砧木‘9-3’压条新梢的生根率和生根条数,且新梢生根时间也早于对照,进一步研究表明,绞缢新梢压条生根期间,

ARRO-1 基因表达量呈先上升后下降趋势,在不定根发生始期达到峰值,新梢愈伤组织形成期 *ARF7*、*ARF19* 表达量显著高于绞缢处理,认为绞缢处理促进了生根过程中 *ARRO-1*、*ARF7*、*ARF19* 的表达,从而有利于根原基分化,最终提高了压条新梢的生根率和根条数。王荣^[51]利用转录组学技术研究了3种近缘性不同苹果砧木插穗中不定根向重力性定点角(GSAS)形成的影响因素,表明不定根GSAS形成时期基因 *DFR*、*HCT1A* 和 *CYP78A5* 等下调,促进了柚皮素、槲皮素等类黄酮化合物和生物碱化合物的合成,不定根GSAS大的插穗中,*E-2*-己烯醛相对含量多,IAA/ZR 和 IAA/GA₃ 值大,为阐明苹果砧木不定根向重力性角形成调控网络提供了理论依据。田河^[52]在‘M26’苹果矮砧组培苗不定根诱导过程中,应用 mRNA 差异显示技术,利用8个上游随机引物和3个下游锚定引物共扩增出41条差异基因,包括诱导后上调表达基因2个和下调表达基因1个及特异表达基因38个。初步建立了苹果矮化砧木生根过程中的相关基因筛选体系。徐晓召^[53]研究发现,在相同处理措施下,童期‘中砧1号’绿枝扦插生根率显著高于成龄期,通过对其生根机制研究发现,miR156的高水平表达是‘中砧1号’绿枝插穗不定根发生的必要条件之一,但 miR156 影响生根不依赖调控 *AFR* 和 *PIN* 表达,而是通过 *MxSPL26* 调控 *RTCS* 基因表达,进而影响不定根的发生。miR156 转录因子 *SPL20*、*SPL21*、*SPL22*、*SPL26* 都参与了不定根的发生过程,*SPL26* 起主要作用。‘中砧1号’童期绿枝插穗在 IBA 处理后 6~48 h 中,*NAC29*、*MYC2*、*SBP5*、*ERF003*、*WRKY75*、*MADS* 转录因子基因和 *WRKY29*、*C3H67* 蛋白均显著上调表达,启动不定根发生。成龄期的‘中砧1号’绿枝插穗在 IBA 处理后 6~48 h 中,差异表达基因 6390 个,其中受 IBA 诱导下调表达的有 2900 个。IBA 处理后 *HB13* 基因快速响应,随后生长素运输蛋白基因、诱导蛋白基因和响应蛋白基因以及细胞分裂分化相关基因均显著下调表达,表明成龄苹果砧木插穗不能形成不定根的原因主要是成龄期插穗主动响应并抵御 IBA 运输,通过抑制细胞分裂、脱分化与再分化等生理过程,抑制了不定根的发生。

4 展望

扦插繁殖是获得自根苗最经济有效的技术手段(途径)。扦插繁殖成功与否取决于插穗不定根的发生。不定根的发生是一个受多因素影响的复杂的生物学过程,对不定根形成机理的研究早已深入到分子水平,有多个参与生长素代谢或信号转导的基因被克隆,还有许多参与不定根形成的转录因子被鉴定。但对苹

果不定根形成的相关研究却相对滞后,虽然苹果扦插繁殖起步较早,但由于生根难、研究力量薄弱等原因,目前仅基本上明确了扦插繁殖过程中不定根发生、发育的形态解剖构造,对其生根过程中植物激素动态水平及激素的相互作用,以及相关酶活性及营养物质动态变化规律等方面的研究仍有分歧,还有待通过更多的例证加以证明。可喜的是目前在苹果矮砧扦插繁殖机理研究方面已深入到分子水平,同扦插生根的相关基因筛选体系已初步建立,同生根相关的一些基因已被鉴定、克隆,个别矮砧扦插难以生根的分子机制已被探明,为解决苹果矮砧扦插繁殖难的问题提供了理论技术支撑。

随着分子遗传技术的不断完善与发展,今后应在分子水平上全面深入开展不定根形成机理研究,如激素调控不定根发育的分子机制的研究,不定根发育的生长素信号通路研究,转录因子调控不定根发生的分子机制研究,植物基因诱导表达调控研究,植物扦插生根生理调控等方面的研究,获得更多与不定根发育的相关基因和蛋白,并分析其功能和作用机制,最终有效调控不定根的发生发育,使扦插难生根树种品种变得容易生根,从而广泛应用于生产实践,推动相关产业的发展。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 张海新,及华. 苹果无病毒矮化砧扦插试验[J]. 河北林业科技,1996(3):24-26.
- [3] 鲁丹. 红檉木扦插生根机理研究[D]. 南京:南京林业大学,2013.
- [4] 张颖. 秤锤树扦插繁殖技术及生根机理的研究[D]. 南京:南京林业大学,2009.
- [5] 曹凡. 美国山核桃扦插繁殖技术及生根机理研究[D]. 南京:南京林业大学,2015.
- [6] 李继华. 扦插的原理与应用[M]. 上海:上海科学技术出版社,1987:59-60.
- [7] Syros T, Yupsanis T, Zafiriadis H, et al. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L.[J]. *Journal of Plant Physiology*,2004, 161(1):69-77.
- [8] Hatzilazarou S P, Syros T D, Yupsanis T A, et al. Peroxidases, ligninand anatomy during in vitro and ex vitro rooting of gardenia (*Gardenia jasminoides* Ellis) microshoots[J]. *Journal of Plant Physiology*,2006,163(8):827-836.
- [9] Hartmann H T, Kester D E, Davies F T, et al. Plant propagation, principles and practices(7 ed)[M]. New Jersey: Prentice Hall,2002: 880.
- [10] 王戈戎,袁晓颖. 喜树茎解剖构造及插穗不定根的形成[J]. 东北林业大学学报,2007,35(3):88-89.

- [11] 王涛. 植物扦插繁殖技术[M]. 北京:北京科学技术出版社,1989:36, 57-58.
- [12] 弦间洋. 桃树硬枝扦插繁殖研究[J]. 国外农学·果树,1989(1):1-6.
- [13] 郝荣庭. 果树栽培学总论[M]. 北京:中国农业出版社,2001:146-151.
- [14] 许晓岗,汤庚国,童丽丽. 海棠果插穗扦插生根过程解剖学观察[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006,30(4):77-80.
- [15] 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.
- [16] 游小英,沈永宝,凌柳聪. 红缨海棠茎段快速繁殖技术及组织解剖观察[J]. 林业科技开发,2010,24(6):23-28.
- [17] 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.
- [18] 杜学梅,杨廷桢,高敬东,等. 影响苹果矮砧扦插生根因素的研究进展[J]. 农学学报,2017,7(8):55-59.
- [19] 王金祥,严小龙,潘瑞焱. 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.
- [20] 王忠. 植物生理学[M]. 北京:中国农业出版社,2002:305.
- [21] Liu J H, Reid D M. Adventitious rooting in hypocotyls of sunflower (*Helianthus annuus*) seedling. IV: The role of changes in endogenous free and conjugated indole-3-acetic acid[J]. *Physiol Plant*,1992,86:285-292.
- [22] 朱永超,李彬,廖伟彪. 3种生长素对蓝叶忍冬枝条扦插生根的影响[J]. 草业科学,2016,33(1):61-66.
- [23] 史莉,白芳芳,查振道. 山荆子全光喷雾扦插育苗试验[J]. 陕西林业科技,2012(1):49-51.
- [24] 韩静. 几种无性繁殖方式对苹果砧木生根的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2015.
- [25] 肖祖飞,张艳珍,王忆,等. 苹果砧木绿枝扦插快繁技术研究[J]. 园艺学报,2013,40(S):2579.
- [26] 李海伟,艾治国,谷鸿飞,等. 苹果矮化砧木B9嫩枝扦插试验[J]. 河北果树,2010(2):4.
- [27] 张秀美,李宝江,杨锋,等. 苹果砧木绿枝扦插繁殖的研究[J]. 中国果树,2009(1):22-25.
- [28] Alvarez R, Nissen S J, Sutter E G. Relationship between indole-3-acetic acid levels in apple (*Malus pumila* Mill) rootstocks cultured *in vitro* and adventitious root formation in presence of indole-3-butyric acid[J]. *Plant physiology*,1989,89(2):439-443.
- [29] 许晓岗,汤庚国,谢寅峰. 海棠果插穗的内源激素水平及其与扦插生根的关系[J]. 莱阳农学院学报,2005,22(3):195-199.
- [30] Noiton D, Vine J H, Mullion M G. Effects of serial subculture *in vitro* on the endogenous levels of indole-3-acetic acid and abscisic acid and rootability in microcuttings of 'Jonathan' apple[J]. *Plant growth regulation*,1992b,11(4):377-383.
- [31] 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.
- [32] Ros Barcelo A, Pedreno M A, Ferrer M A, et al. Indole-3-methanol is the main product of the oxidation of indole-3-acetic acid catalyzed by two cytosolic basic isoperoxidases from *Lupinus*[J]. *Planta*,1990,181:448-454.
- [33] Gaspar T, Penel C, Castillo F J, et al. A two-step control of basic and acidic peroxidases and its significance for growth and development[J]. *Physiol Plant*,1985,64:418-423.
- [34] 宋金耀,刘永军,宋刚,等. 几个常见树种扦插生根过程中 POD、IAAO 活性及酚含量的变化[J]. 江苏农业科学,2007(6):115-118.
- [35] 杜伟. 桑树硬枝扦插生根的生理生化与分子机理研究[D]. 镇江:江苏科技大学,2016.
- [36] 曹帮华,扈红军,张大鹏,等. 桑树硬枝扦插生根能力及其生根关联酶活性的研究[J]. 蚕业科学,2008,34(1):96-100.
- [37] 李明,黄卓烈,谭绍满. 难易生根按树多酚氧化酶、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.
- [38] 张昉,郭素娟. 不定根发生机理的研究进展[J]. 广东林业科技,2006,22(3):91-95.
- [39] Yilmaz H, Tafikin T. Polyphenol oxidase activity during rooting in cuttings of grape (*Vitis vinifera* L.) varieties[J]. *Turkish Journal of Botany*,2003,27(6):495-498.
- [40] 孟平. 苹果蒸腾耗水特征及水分胁迫诊断预报模型研究[D]. 长沙:中南林学院,2005.
- [41] Curir P, van Sumere C F, Termini A, et al. Flavonoid accumulation is correlated with adventitious roots formation in *Eucalyptus gunnii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation[J]. *Plant Physiol*,1990,92:1148-1153.
- [42] 孙琴. 苯酚类物质和其他因素对试管中苹果砧木M9和M26发根的效应[J]. 国外农学·果树,1983(2):24.
- [43] 张焕欣,董春娟,李福凯,等. 植物不定根发生机理的研究进展[J]. 西北植物学报,2017,37(7):1457-1464.
- [44] 宋金耀,宋刚,李辉,等. 几种园艺植物扦插生根过程中生化指标的变化[J]. 江苏农业科学,2010(3):211-214.
- [45] 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.
- [46] 张忠微,石素霞,张彦广,等. 金露梅嫩枝插穗生根过程中营养物质含量变化研究[J]. 河北农业大学学报,2008,31(4):56-59.
- [47] 郭素娟,凌宏勤,李凤兰. 白皮松插穗生根的生理生化基础研究[J]. 北京林业大学学报,2004,26(2):43-47.
- [48] 许晓岗,丁俊刚,童丽丽. 激素对楸子插穗内源激素含量和可溶性蛋白组成的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2009,33(2):60-64.
- [49] Welander M, Zhu L H. The Rooting ability of *rolb* trans-formed clones of the apple rootstock M26 and its relation to gene expression[J]. *Acta Horticulturae*,2000,521:133-138.
- [50] 杨利粉,孟红志,马宏,等. 绞缢对苹果矮砧压条新梢激素含量及生根相关基因表达的影响[J]. 园艺学报,2017,44(4):613-621.
- [51] 王荣. 苹果砧木茎源根系发生中次生代谢、内源激素和转录组差异分析[D]. 济南:山东农业大学,2016.
- [52] 田河. 苹果组培苗不定根发生过程中 mRNA 差异显示表达及生根移栽体系优化研究[D]. 保定:河北农业大学,2013.
- [53] 徐晓召. '中砧1号'成龄期绿枝插穗难生根的分子机制初探[D]. 北京:中国农业大学,2017.