

东京四照花嫩枝扦插繁殖及生根过程中生理指标的动态变化

袁振安¹, 杜文婷², 刘国华³, 毛霞³, 洪香香¹

(1. 南京林业大学林草学院南方现代林业协同创新中心, 江苏南京 210037; 2. 施乐辉医用产品(苏州)有限责任公司, 江苏苏州 215100; 3. 江苏农林职业技术学院风景园林学院, 江苏镇江 212400)

摘要: 【目的】研究植物生长调节剂、扦插基质和生长阶段对东京四照花 *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* 嫩枝扦插生根过程中的形态特征和生理生化特性, 为东京四照花的繁殖和生产提供科学依据。【方法】以清水处理为对照, 对植物生长调节剂种类 [生根粉 1 号 (ABT-1)、萘乙酸 (NAA) 和吲哚乙酸 (IAA)]、质量浓度 (100、300 和 500 mg·L⁻¹) 和浸泡时间 (30、60 和 180 min) 进行正交设计, 采用 4 种扦插基质 [蛭石 (S1)、河沙 (S2)、*V*(泥炭土):*V*(蛭石):*V*(珍珠岩)=2:2:1(S3) 和 *V*(泥炭土):*V*(黄土)=1:1(S4)], 在不同生长阶段 (初期、中期和末期) 进行嫩枝扦插, 统计分析各生根指标, 测定生根过程中营养物质质量分数和相关生根酶活性的变化。【结果】①东京四照花插穗生根类型以皮部生根为主, 占总生根数的 58.60%。②在正交试验中, 300 mg·L⁻¹IAA 浸泡 30 min 处理生根率最高 (77.78%)。③在扦插基质中, S3 基质中插穗生根率和生根指数均最高 (82.22% 和 19.34)。④在生长阶段试验中, 生长中期插穗生根率最高 (82.22%)。⑤相较于对照, IAA 处理有效促进了插穗体内的养分消耗, 提高了氧化酶的活性。⑥相关分析表明: 生根率与根原基诱导和愈伤形成期间的可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白呈显著负相关 ($P < 0.05$), 与过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。【结论】在生长中期采制的穗条通过 300 mg·L⁻¹IAA 浸泡 30 min, 扦插在 S3 基质中, 生根率和生根指数均最高, 分别可达 82.22% 和 19.34。图 2 表 7 参 30

关键词: 嫩枝扦插; 吲哚乙酸 (IAA); 扦插基质; 酶活性; 东京四照花

中图分类号: S718.43

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2024)00-0001-10

Cutting propagation of softwood and dynamic changes in physiological indicators during the rooting process of *Cornus hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

YUAN Zhen'an¹, DU Wenting², LIU Guohua³, MAO Xia³, FU Xiangxiang¹

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, College of Forestry and Grassland, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Smith & Nephew Medical Suzhou Limited, Suzhou 215100, Jiangsu, China; 3. College of Landscape Architecture, Jiangsu Vocational College of Agriculture and Forestry, Zhenjiang 212400, Jiangsu, China)

Abstract: [Objective] This study, with an investigation of the effects of plant growth regulator soaking, substrate type and growth stage of cutting scion on rooting of *Cornus hongdongensis* subsp. *tonkinensis* as well as the morphological characteristics and physiological and biochemical properties of cutting during the rooting process, is aimed to establish a scientific basis for its propagation and production. [Method] First, using clear water treatment as a control, an orthogonal design was performed for plant growth regulator treatment, including types (ABT-1, NAA and IAA), concentrations (100, 300 and 500 mg·L⁻¹) and soaking duration (30,

收稿日期: 2023-09-07; 修回日期: 2023-12-22

基金项目: 江苏省林业科技创新与推广项目 (LYKJ [2020] 26)

作者简介: 袁振安 (ORCID: 0009-0003-8931-4080), 从事人工林定向培育研究。E-mail: yuanzhenan@njfu.edu.cn。通信作者: 洪香香 (ORCID: 0000-0002-3338-4886), 教授, 博士, 从事人工林定向培育研究。E-mail: xxfu@njfu.edu.cn

60 and 180 min); then, 4 types of cutting substrates were prepared, containing vermiculite (S1), river sand (S2), $V(\text{peat soil}) : V(\text{vermiculite}) : V(\text{perlite}) = 2 : 2 : 1$ (S3) and $V(\text{peat soil}) : V(\text{loess}) = 1 : 1$ (S4); afterwards, cutting scions were collected at three stages on July 12, August 15 and September 1, respectively before the rooting index was statistically analyzed, and the changes of nutrient content and rooting-related enzyme activities in the process of rooting were measured. **[Result]** (1) The rooting type was dominated by skin rooting, which accounted for 58.60% of the total number of roots. (2) In the orthogonal test, the highest rooting rate of 77.78% was achieved by soaking the cutting with $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA for 30 min. (3) In the cutting substrate test, the highest rooting rate and rooting index were found in S3 substrate treatment (82.22% and 19.34). (4) In growth stage test, mid-growth cutting rooting was highest (82.88%). (5) Compared with the control treatment, the IAA treatment effectively promoted nutrient consumption in the cutting and increased the activity of oxidative enzymes. (6) Correlation analysis showed that rooting rate was significantly negatively correlated with soluble sugars, starch and soluble proteins during the period of root primordium induction and healing formation ($P < 0.05$), and highly significantly positively correlated with POD and SOD ($P < 0.01$). **[Conclusion]** Cutting scion taken at mid-growth through $300 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA for 30 min treatment and embed in S3 substrate achieved the highest rooting percentage and rooting index up to 82.22% and 19.34, respectively. [Ch, 2 fig. 7 tab. 30 ref.]

Key words: softwood cuttings; IAA; cutting substrate; enzyme activity; *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis*

四照花 *Cornus* spp. 为山茱萸科 Cornaceae 四照花属 *Cornus* 常绿或落叶小乔木或灌木, 花序外有 2 对黄白色花瓣状大型苞片^[1]。四照花主要包括东亚和北美 2 个大类群^[2]。由于北美类群具有极高的观赏价值, 已被大量引种栽培和推广应用, 但成活率不高、抗病性弱^[3]。因此, 对东亚类群的资源开发和引种栽培显得尤为重要。其中, 作为东亚类群的东京四照花 *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* 因分布广、适应性强和独特观赏价值而备受关注^[4-6]; 其种内不仅变异丰富, 而且具有耐盐、耐高温等抗性^[7-8]。东京四照花也称西南四照花, 为常绿小乔木或灌木, 主要分布于中国、日本和越南等东亚地区, 在中国主要分布于贵州、四川、广西及云南等地, 常发现于海拔 900~2300 m 的森林中。目前, 东京四照花种群数量有限, 扩大繁殖加快其推广和应用已显得尤为重要。然而东京四照花扦插育苗中存在扦插生根困难、成活率低等较多问题。

树木插穗生根不仅受内在因素影响, 如树种种类、插穗年龄和位置效应、插穗的养分状况^[9-12]等, 还受到扦插基质、环境因素和生长阶段^[13-15]等外在因素的影响。插穗的酶活性、营养物质与生根密切相关, 如过氧化物酶 (POD) 和超氧化物歧化酶 (SOD) 具有清除超氧自由基的作用, 从而增强插穗对逆境的抵抗能力^[16], 且 POD 与不定根的诱导和生长密切相关^[17]; 多酚氧化酶 (PPO) 通过催化酚类物质与吲哚乙酸 (IAA) 形成 IAA-酚酸复合物, 从而促进根原基的诱导和不定根的形成^[18]。鉴于此, 本研究以 4 年生东京四照花母树的半木质化嫩枝为插穗材料, 测定不同处理插穗的生根率、生根数量和根长等变化, 观察不同时期插穗茎段营养物质质量分数和酶活性变化, 旨在建立东京四照花繁殖体系, 并探究生根的生理机制。

1 材料与方 法

1.1 样地概况

扦插样地设在江苏农林职业技术学院内 ($31^{\circ}14' \sim 33^{\circ}38' \text{N}$, $118^{\circ}23' \sim 119^{\circ}24' \text{E}$), 该区属北亚热带中部气候区, 扦插池室温控制在 $35 \sim 38^{\circ} \text{C}$, 空气相对湿度保持在 80%~85%。

1.2 插穗来源和采制

插穗采自于江苏农林职业技术学院试验地的 4 年生东京四照花实生苗。采集健康饱满的枝条, 选择带有 2 对芽的插穗, 剪制为直径 0.35~0.55 cm、长度 8.00~12.00 cm 的枝条; 插穗上切口平剪, 下切口斜

剪成 45°~50°的斜面，上下切口离芽距离均 2.00~3.00 cm；保留插穗上部 1~2 叶，片叶保留 1/3~1/2 大小。

1.3 研究方法

1.3.1 植物生长调节剂处理 包括调节剂种类 (A)、调节剂质量浓度 (B) 及浸泡时间 (C) 3 个因素，每个因素设 3 个水平，采用正交 $L_9(3^4)$ 试验设计；以清水处理为对照 (ck)，共 10 个处理 (表 1)。2021 年 7 月 12 日进行扦插；扦插基质配比为 $V(\text{泥炭土}):V(\text{蛭石}):V(\text{珍珠岩})=2:2:1$ 。

表 1 植物生长调节剂处理 $L_9(3^4)$ 正交试验设计

Table 1 Orthogonal test design for hormone treatment $L_9(3^4)$

处理	因素水平			处理	因素水平		
	A	B	C		A	B	C
ck	0	0	0	A2B2C3	2	2	3
A1B1C1	1	1	1	A2B3C1	2	3	1
A1B2C2	1	2	2	A3B1C3	3	1	3
A1B3C3	1	3	3	A3B2C1	3	2	1
A2B1C2	2	1	2	A3B3C2	3	3	2

说明：A1~3 分别是生根粉 1 号 (ABT-1)、萘乙酸 (NAA) 和吲哚乙酸 (IAA)；B1~3 分别是 100、300 和 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ；C1~3 分别是浸泡 30、60 和 180 min。

1.3.2 扦插基质对扦插生根的影响 共设置 4 种扦插基质，分别为：蛭石 (S1)、河沙 (S2)、 $V(\text{泥炭土}):V(\text{蛭石}):V(\text{珍珠岩})=2:2:1$ (S3) 和 $V(\text{泥炭土}):V(\text{黄土})=1:1$ (S4)。于 2021 年 8 月 15 日进行试验，插穗用 A3B2C1 处理。

1.3.3 生长阶段对扦插生根的影响 于 2021 年选取生长初期 (7 月 12 日)、生长中期 (8 月 15 日)、生长末期 (9 月 1 日) 3 个生长阶段，以 S3 为扦插基质，插穗用 A3B2C1 处理。

上述 3 个试验均以当年半木质化枝条为扦插材料，每处理 3 次重复，每重复 30 根插穗。

1.3.4 生理指标测定 以当年生半木质化枝条为扦插材料，于 2021 年 7 月 12 日选用 S3 为扦插基质，插穗用 A3B2C1 处理，以清水处理为对照 (ck)。每重复 150 根插穗，重复 3 次。根据预实验观察到的插穗的动态变化，将生根过程分为 5 个时期：扦插前 (0 d)、芽萌动阶段 (10 d)、插穗基部膨大阶段 (20 d)、不定根发生阶段 (30 d)、不定根大量发生阶段 (40 d)。每个阶段从各重复中取 15 根插穗，剥取插穗基部 1~3 cm 处韧皮部材料，保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中用于生理指标测定。

1.4 扦插及管理

扦插株行距为 10 cm×15 cm，深度为插穗长度的 1/3~1/2。扦插后浇透水，并覆盖透光率为 50% 遮光网，每 2 周用 600 倍液多菌灵喷洒消毒，及时清除杂草。采用自动喷雾系统保持适宜的基质含水量和空气湿度。

1.5 测定方法

1.5.1 形态指标 扦插 60 d 后统计生根率 (%)、不定根数 (条)；测量不定根长 (cm)，计算平均根长 (cm) 和生根指数，生根指数=生根率×平均根数×平均根长。

1.5.2 生根过程中生理指标的动态变化 采用蒽酮-硫酸比色法测定可溶性糖和淀粉，采用 G-250 考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白；采用愈创木酚法测定 POD 活性，采用邻苯二酚法测定 PPO 活性，采用氮蓝四唑 (NBT) 法测定 SOD 活性^[19]。

1.6 数据处理

利用 Excel 2017 和 SPSS 19.0 统计分析数据，并进行差异显著性分析和 Duncan 多重比较。

2 结果与分析

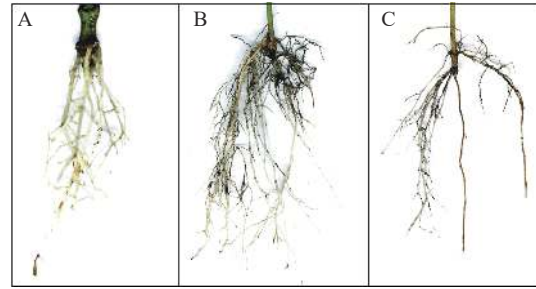
2.1 嫩枝扦插生根类型

根据插穗的外部形态观察 (图 1)，东京四照花嫩枝插穗的愈伤组织部位和皮部均可以产生不定根，

其中以皮部生根类型为主, 占生根数的 58.6%; 混合生根类型次之, 占生根数的 30.1%; 愈伤生根比例最少, 仅为 11.3%。

2.2 植物生长调节剂对嫩枝扦插生根的影响

2.2.1 扦插生根的差异性分析 方差分析(表2)表明: 植物生长调节剂种类和浸泡时间对生根率的影响都达到了显著水平($P < 0.05$); 相比较而言, 植物生长调节剂种类对生根率的影响大于浸泡时间, 而植物生长调节剂质量浓度对生根率无显著影响。浸泡时间对不定根数的影响差异极显著($P < 0.01$), 而植物生长调节剂种类和质量浓度对不定根数的影响差异不显著。浸泡时间对生根指数的影响差异极显著($P < 0.01$), 而植物生长调节剂种类和质量浓度对生根指数的影响差异不显著。尽管植物生长调节剂种类、质量浓度和浸泡时间对最长根长和平均根长有一定影响, 但差异不显著。



A. 愈伤生根类型; B. 皮部生根类型; C. 混合生根类型。

图1 东京四照花嫩枝扦插生根类型

Figure 1 Rooting type of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

表2 各因素对东京四照花扦插生根指标的方差分析

Table 2 Variance analysis of different factors on rooting indexes of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

指标	方差来源	平方和	均方	F	P	指标	方差来源	平方和	均方	F	P
生根率	A	1 513.702	756.851	4.735	0.021	平均根长	C	3.384	1.692	0.808	0.458
	B	1 097.004	548.502	3.432	0.052		A	0.736	0.368	0.275	0.762
	C	1 207.954	603.977	3.779	0.041		B	0.148	0.074	0.054	0.947
不定根数	A	0.178	0.089	0.032	0.968	生根指数	C	1.844	0.922	0.713	0.500
	B	4.038	2.019	0.776	0.472		A	39.233	19.616	0.823	0.453
	C	28.877	14.438	9.209	0.001		B	26.276	13.138	0.551	0.585
最长根长	A	0.114	0.072	0.032	0.968	C	400.006	200.003	8.391	0.002	
	B	0.473	0.236	0.107	0.899						

说明: 表中各项指标自由度均为2。A. 调节剂种类; B. 调节剂质量浓度; C. 浸泡时间。

从表3可以看出: A3B2C1处理的生根率最高, 达77.78%, 而A2B2C3处理的生根率最低, 仅为41.11%; 从不定根数来看, A1B2C2处理最高, 达6.89条, 而A1B3C3处理最低, 仅有3.61条; 生根指数方面, A3B3C2处理最高, 达21.31, 而A1B3C3处理最低, 仅有8.76。植物生长调节剂对最长根长和平均根长影响差异不显著; 最长根长的变异范围为7.49~8.80 cm, 平均根长的变异范围为5.00~6.25 cm。

表3 植物生长调节剂对东京四照花嫩枝扦插生根性状的影响

Table 3 Effects of hormone treatment on rooting traits of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

处理	生根率/%	不定根数/条	最长根长/cm	平均根长/cm	生根指数
ck	45.56±8.32 b	4.28±0.96 bc	8.40±1.31 a	5.49±0.17 a	10.46±1.95 c
A1B1C1	75.56±11.33 a	3.76±0.61 c	8.02±2.09 a	5.71±1.41 a	15.75±3.71 abc
A1B2C2	52.00±13.49 b	6.89±2.01 a	8.06±1.16 a	5.99±0.53 a	20.03±3.49 ab
A1B3C3	46.56±16.64 b	3.61±0.80 c	7.50±1.63 a	5.68±2.07 a	8.76±3.02 c
A2B1C2	55.56±8.32 ab	5.21±0.72 abc	8.80±0.44 a	6.25±0.62 a	17.79±2.32 abc
A2B2C3	41.11±11.33 b	4.98±0.18 abc	7.49±0.46 a	5.54±0.54 a	11.46±3.83 bc
A2B3C1	43.33±8.16 b	3.84±0.37 bc	7.64±0.47 a	5.92±0.64 a	10.00±2.98 c
A3B1C3	61.11±3.14 ab	3.78±1.66 c	7.60±2.30 a	5.00±1.31 a	10.94±4.74 c
A3B2C1	77.78±4.16 a	3.67±0.85 c	8.16±0.85 a	5.64±0.48 a	15.78±2.68 abc
A3B3C2	55.56±9.56 ab	6.22±0.87 ab	8.34±1.14 a	5.90±0.62 a	21.32±7.37 a

说明: 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。各处理所表示具体含义见表1。

2.2.2 极差分析和最优组合筛选 由表 4 可知：各因素对生根率的影响从大到小依次为植物生长调节剂种类、浸泡时间、植物生长调节剂质量浓度；对于不定根数和最长根长的影响从大到小依次为浸泡时间、植物生长调节剂质量浓度、植物生长调节剂种类；对于平均根长和生根指数的影响从大到小依次为浸泡时间、植物生长调节剂种类、植物生长调节剂质量浓度。由此可见，植物生长调节剂种类对生根率的影响最大，对于不定根数、最长根长、平均根长、生根指数来说，浸泡时间的影响则更为突出。

表 4 正交试验各因素对东京四照花扦插生根指标的极差分析

Table 4 Range analysis of various factors in orthogonal test on rooting traits of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

因素	生根率/%				不定根数/条				最长根长/cm			
	k_1	k_2	k_3	R	k_1	k_2	k_3	R	k_1	k_2	k_3	R
调节剂种类A	58.04	46.67	64.81	18.14	4.75	4.68	4.56	0.19	7.86	7.98	8.03	0.17
调节剂质量浓度B	64.07	56.96	48.48	15.59	4.25	5.18	4.56	0.93	8.33	7.90	7.82	0.51
浸泡时间C	65.55	54.37	49.59	15.96	3.73	6.11	4.12	2.38	7.94	8.47	7.53	0.94

因素水平	平均根长/cm				生根指数			
	k_1	k_2	k_3	R	k_1	k_2	k_3	R
调节剂种类A	5.79	5.90	5.51	0.39	14.85	13.08	16.01	2.93
调节剂质量浓度B	5.65	5.72	5.83	0.18	14.83	15.76	13.16	2.60
浸泡时间C	5.76	6.05	5.41	0.64	13.84	19.71	10.39	9.32

说明： k_1 、 k_2 、 k_3 为各因素3水平对应各试验结果之和的平均值， R 表示极差。

影响生根率的最优组合为 A3B1C1 (100 mg·L⁻¹IAA 浸泡 30 min)；影响不定根数的最优组合为 A1B2C2 (300 mg·L⁻¹ABT-1 浸泡 60 min)；影响最长根长的最优组合为 A3B1C2 (100 mg·L⁻¹IAA 浸泡 60 min)；影响平均根长的最优组合为 A2B3C2 (500 mg·L⁻¹NAA 浸泡 60 min)；影响生根指数的最优组合为 A3B2C2 (300 mg·L⁻¹IAA 浸泡 60 min)。

2.3 扦插基质对嫩枝扦插生根的影响

如表 5 所示：扦插基质对嫩枝扦插生根率影响差异显著 ($P < 0.05$)。其中，混合基质 S3 的生根率最高，达 82.22%；其次为单一基质 S1，生根率为 74.41%；最低的是混合基质 S4，生根率仅为 44.44%。基质对不定根数的影响差异显著 ($P < 0.05$)，单一基质 S1 的不定根数最多，达 6.43 条；其次是混合基质 S3，不定根数为 4.87 条；混合基质 S4 的不定根数最少，仅有 3.33 条。相应的，扦插基质对生根指数的影响差异显著 ($P < 0.05$)，混合基质 S3 的生根指数最高，达 19.34；其次是单一基质 S1，生根指数为 16.01；最低的是混合基质 S4，仅为 5.56。扦插基质对生根插穗的最长根长和平均根长影响差异不显著。

表 5 扦插基质对东京四照花嫩枝扦插生根的影响

Table 5 Effect of substrates on rooting traits of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

基质种类	生根率/%	不定根数/条	最长根长/cm	平均根长/cm	生根指数
S1	74.41±9.52 a	6.43±0.42 a	5.29±0.36 a	3.36±0.18 a	16.01±1.81 ab
S2	51.12±3.10 ab	4.38±1.04 b	6.14±1.18 a	4.46±0.82 a	10.86±5.27 bc
S3	82.22±4.16 a	4.87±0.31 ab	7.18±1.34 a	4.89±0.88 a	19.34±2.55 a
S4	44.44±6.85 b	3.33±0.97 b	6.18±1.53 a	3.89±0.93 a	5.56±2.09 c

说明：同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。4 种基质分别为蛭石 (S1)、河沙 (S2)、 $V(\text{泥炭土}) : V(\text{蛭石}) : V(\text{珍珠岩}) = 2 : 2 : 1$ (S3) 和 $V(\text{泥炭土}) : V(\text{黄土}) = 1 : 1$ (S4)。

2.4 生长阶段对嫩枝扦插生根的影响

如表 6 所示：生长阶段对嫩枝扦插生根率影响差异显著 ($P < 0.05$)。其中，生长中期扦插的生根率最高，为 82.22%；其次是生长初期扦插的生根率 (77.78%)；生长末期的生根率最低，仅为 55.56%。生长阶段对不定根数影响差异显著 ($P < 0.05$)，其中生长中期生根数最多 (4.87 条)，其次是生长初期 (3.67 条)，而生长末期不定根数最少，为 3.30 条。生长阶段对根长的影响显著 ($P < 0.05$)，生长初期扦插

生根的最长根长 (8.16 cm) 和平均根长 (5.64 cm) 最大; 其次是生长中期, 分别为 7.18 和 4.89 cm; 而生长末期的最长根长 (4.53 cm) 和平均根长 (3.09 cm) 都最低。生长阶段对生根指数的影响差异显著 ($P < 0.05$), 其中生根指数最高的是生长中期 (19.34); 其次是生长初期 (15.78); 而生长末期的生根指数最低, 仅有 5.63。

表 6 生长阶段对东京四照花嫩枝扦插生根的影响

Table 6 Effects of growth phase on rooting traits of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

生长阶段	生根率/%	不定根数/条	最长根长/cm	平均根长/cm	生根指数
初期	77.78±4.16 a	3.67±0.85 ab	8.16±0.85 a	5.64±0.48 a	15.78±2.68 a
中期	82.22±4.16 a	4.87±0.31 a	7.18±1.34 a	4.89±0.88 ab	19.34±2.55 a
末期	55.56±8.32 b	3.30±0.36 b	4.53±0.70 b	3.09±0.86 b	5.63±1.81 b

说明: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.5 扦插生根过程中生理指标的变化

2.5.1 可溶性糖 如 2A 所示: 对照组和处理组插穗的可溶性糖均呈“V”字型的变化趋势。0~20 d 时可溶性糖急剧下降, 此期间插穗经过萌芽、愈伤组织形成, 插穗基部代谢活跃, 消耗了大量的营养物质; 在 20~40 d 时, 淀粉水解补充可溶性糖, 叶片光合产物运输养分, 可溶性糖缓慢上升。处理组可溶性糖的变化幅度大于对照组, 特别在 20 d 时, 处理组可溶性糖显著低于对照组 ($P < 0.05$), 说明 IAA 处理加快了愈伤组织和不定根的形成, 从而消耗了更多的养分; 后期则由于根系较早形成, 从而促进了光合产物的积累。

2.5.2 淀粉 从图 2B 所示: 淀粉的变化趋势与可溶性糖一致, 均表现出先降低后上升的趋势, 但时间稍有滞后。0~30 d, 插穗淀粉均在逐渐下降, 且在 30 d 时达到谷值。前 20 d 已有大量的可溶性糖及部分淀粉降解产生的可溶性糖用于根原基的形成与分化, 但无功能性根系, 需继续降解淀粉; 30~40 d, 具备根系插穗的光合产物能提供生长所需并合成淀粉, 导致淀粉上升。经过 IAA 处理的插穗淀粉变化趋势大于对照组, 特别在 30 d 时, 对照组对淀粉的消耗小于植物生长调节剂, 说明对照组生根量少且所需养分少。

2.5.3 可溶性蛋白 如图 2C 所示: 0~30 d, 对照和处理组的可溶性蛋白逐步下降, 为根系形成过程中的细胞增殖、DNA 复制提供物质条件; 30~40 d, 处理组已形成的根系开始合成可溶性蛋白并加以积累, 而对照组可溶性蛋白持续下降, 说明对照组生根较慢, 不定根的形成仍然需要消耗可溶性蛋白。经过 IAA 处理, 插穗的可溶性蛋白在生根前始终低于对照组, 说明植物生长调节剂通过加快利用可溶性蛋白促进插穗生根。

2.5.4 POD 活性 对照组和处理组插穗的 POD 活性均呈现“M”型变化趋势, 均在 10 和 30 d 出现高峰 (图 2D)。0~10 d, 插穗离体处于逆境胁迫, POD 活性大幅上升以消除产生的自由基, 避免插穗受害; 10~20 d, POD 活性下降, 使体内 IAA 质量浓度升高, 有利于皮部膨大处开裂, 从而形成愈伤组织及根原基诱导; 20~30 d 时根原基诱导完成, 此时 POD 活性上升, 进而氧化过多的 IAA, 促进了根系的伸长与生长; 30~40 d, 由于插穗形成完整根系成为独立植株, 致使植株抵抗能力增强, POD 活性又开始降低。相比较而言, 处理组在愈伤膨大期 (10~20 d) 的 POD 活性显著大于对照组 ($P < 0.05$), 说明 IAA 处理提高了插穗的抗逆能力。

2.5.5 SOD 活性 对照组和处理组插穗的 SOD 活性均呈先升后降的变化趋势 (图 2E)。0~20 d, SOD 活性逐渐上升, 消除了插穗因离体而产生的大量自由基, 降低自由基对植物细胞的伤害; 20~40 d, 处理组 SOD 活性开始下降, 说明处理组插穗逐渐恢复完整植株的功能, 对不利环境的抵抗能力逐渐增强, 体内自由基降低, SOD 活性逐渐降低。而对照组 SOD 活性的峰值比处理组晚了约 10 d, 说明对照组插穗根系形成时间晚于处理组。处理组 SOD 活性在生根前都高于对照组, 表明 IAA 处理能提高 SOD 活性, 清除插穗体内的自由基来提高抗逆性, 从而有利于生根。

2.5.6 PPO 活性 对照组和处理组插穗的 PPO 活性均呈先降低后升高再降低的变化趋势, 但处理组插穗的 PPO 活性变化趋势更加明显 (图 2F)。0~10 d, 通过使插穗发生褐变, PPO 活性降低, 避免插穗感

染；10~30 d，PPO 活性显著上升 ($P < 0.05$)，此时 PPO 通过催化苯酚氧化生成高活性的邻醌类化合物，促进生根；30~40 d，PPO 活性呈现下降趋势，此时根系进入伸长和生长。由此可见，PPO 不仅反映了插穗自身的防御能力和褐化过程，还可能与愈伤组织的形成及不定根的形成密切相关。

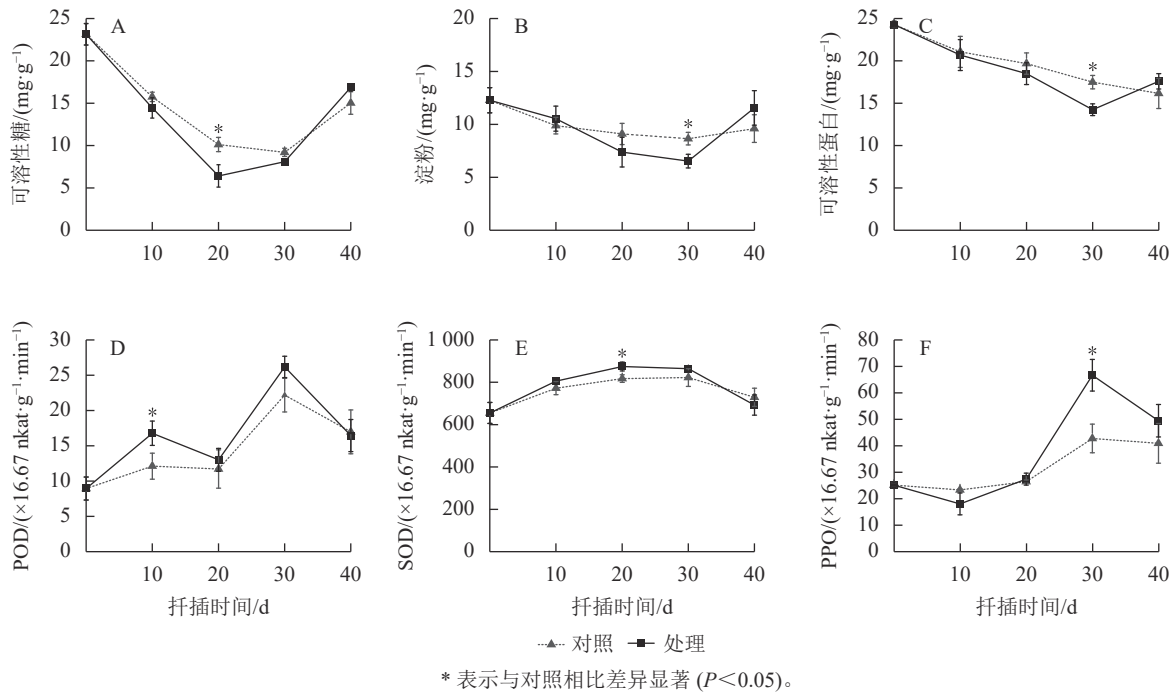


图 2 东京四照花嫩枝插穗生根过程中生理指标的变化

Figure 2 Changes of physiological index during rooting process of softwood cutting on *C. hongdongensis* subsp. *tonkinensis*

2.6 生理指标与生根指标相关性分析

从表 7 可见：生根率与生根指数呈显著正相关 ($P < 0.05$)；生根率与淀粉和可溶性蛋白呈显著负相关 ($P < 0.05$)，与可溶性糖呈极显著负相关 ($P < 0.01$)；生根率与 POD 和 SOD 活性呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。此外，各生理指标之间也表现出一定的相关性，淀粉与可溶性糖呈显著正相关 ($P < 0.01$)，两者与 POD 和 SOD 活性呈显著负相关 ($P < 0.05$)；可溶性蛋白与 POD 和 SOD 活性呈极显著负相关 ($P < 0.01$)；POD 与 SOD 活性呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。结合前期分析，本研究认为插穗在 20 和 30 d 内养分含量越低 (即消耗越大)，更多的养分则用于根原基诱导和愈伤组织形成，生根率越高；在测定的 3 种酶活性中，POD 和 SOD 活性与生根率呈极显著正相关 ($P < 0.01$)，说明东京四照花扦插生根过程中消除自由基是影响生根的重要因子。

表 7 生根指标与生理指标之间的相关性分析

Table 7 Correlation analysis between rooting index and physiological index

指标	生根率	生根指数	可溶性糖	淀粉	可溶性蛋白	PPO活性	POD活性
生根指数	0.830*						
可溶性糖	-0.918**	-0.823*					
淀粉	-0.861*	-0.820*	0.911*				
可溶性蛋白	-0.896*	-0.850*	0.909*	0.844*			
PPO活性	0.619	0.384	-0.389	-0.359	-0.214		
POD活性	0.928**	0.889*	-0.953**	-0.903*	-0.988**	0.298	
SOD活性	0.947**	0.729	-0.932**	-0.879*	-0.940**	0.390	0.948**

说明：*表示显著相关 ($P < 0.05$)；**表示极显著相关 ($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 植物生长调节剂、基质和生长阶段与东京四照花扦插生根的关系

植物生长调节剂通过调节插穗生根过程中内源激素水平和氧化酶的活性，刺激根原基的启动，有助

于提高插穗的生根率,但不同的植物生长调节剂对树种生根的影响不同^[19]。胡涛等^[20]研究发现:吲哚丁酸(IBA)处理的美国流苏 *Chionanthus virginicus*,其插穗生根率要显著高于 IAA 和 NAA 处理。此外,植物生长调节剂的质量浓度和浸泡时间也显著影响插穗生根。SABATINO 等^[21]研究发现:银香科科 *Teucrium fruticans* 插穗在 IBA 中浸泡 5 min 的生根率最高,而浸泡 7 min 的不定根数最多。本研究结果证明了这一点,合理的选择植物生长调节剂可以有效提高东京四照花插穗的生根率。

扦插基质由于理化性质的差异,导致其在保温性、保湿性、透气性、透水性等方面有所不同^[22]。研究表明:混合基质的生根效果优于单一基质的生根效果^[23]。本研究也得到了相似的观点,插穗在 S3 混合基质中的生根率和根长显著高于其他处理,说明泥炭土、蛭石和珍珠岩的混合基质土壤结构疏松、透气状态和营养状况良好,有利于插穗的生根与生长,也与东京四照花不耐水湿的特性有关。

处于不同生长发育阶段的插穗由于内源激素水平、生根相关酶的活性和养分储备存在差异,从而影响插穗的不定根形成^[24]。KIM 等^[25]发现:在 5 月采集的草莓 *Fragaria × ananassa* 插穗生根成活率最高,并随着插穗的成熟,生根率逐渐降低。本研究发现:东京四照花在生长中期扦插生根率最高,为 82.22%;此前的穗条木质化程度不够且养分储备不足,此后的穗条内可能产生了过多的抑制类物质,以上情况均影响了根系的产生。

3.2 养分和氧化酶活性与东京四照花扦插生根的关系

本研究发现:东京四照花插穗在生根前,可溶性糖和淀粉均呈现“先下降、后上升”的趋势,这是由于刚扦插时会消耗插穗体内部分可溶性糖和淀粉以提供生根所需养分;随着根系形成及光合能力的提升,促进了可溶性糖和淀粉的合成和转化^[26]。在生根过程中,可溶性蛋白呈持续下降趋势,一方面提供插穗生根所需的能量,另一方面以蛋白酶类的形式参与调控生根生理生化。

POD 与 SOD 不仅参与植物的氧化胁迫反应,而且在植物体内的多种生理生化反应中发挥重要的作用^[27]。本研究中,POD 与 SOD 在插穗扦插后上升,有助于清除插穗体内的自由基,提高插穗的抗逆性。此外,POD 还通过调节 IAA 水平来影响插穗愈伤组织的形成和不定根的诱导与生长,相似的结果在楸树 *Catalpa bungei*^[28] 扦插生根研究中有报道。PPO 通过褐变插穗,避免其切口感染,同时催化 IAA 形成的 IAA-酚酸复合物有助于插穗生根^[29]。本研究发现:在插穗生根过程中,PPO 活性在前期升高,在不定根发育时期出现峰值,说明 PPO 有效促进了插穗根系的生长,这与 YANG 等^[30]的研究结果一致。

4 结论

采用质量浓度为 300 mg·L⁻¹ 的 IAA 溶液浸泡东京四照花生长中期(8月中旬)的半木质化插穗 30 min,扦插在 V(泥炭土):V(蛭石):V(珍珠岩)=2:2:1 的基质中,生根率和生根指数分别可达 82.22% 和 19.34;生根类型主要以皮部生根为主。IAA 处理可以加快插穗可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白的代谢速度,并提高 POD、SOD 和 PPO 的活性以促进生根。

5 参考文献

- [1] 陈梦倩,范李节,王小德.香港四照花花芽分化的形态学观察[J].植物科学学报,2018,36(4):501-507.
CHEN Mengqian, FAN Lijie, WANG Xiaode. Morphological observation of flower bud differentiation of *Dendrobenthamia hongkongensis* (Hemsl.) Hutch. [J]. *Plant Science Journal*, 2018, 36(4): 501-507.
- [2] 韩维栋.四照花类种群质资源及其开发利用[J].中国野生植物资源,1993(1):37-40.
HAN Weidong. *Cornus* spp. germplasm resources and their development and utilization [J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 1993(1): 37-40.
- [3] 孙大伟,杨玲,毛霞,等.外源CaCl₂缓解东京四照花幼苗盐胁迫的生理机制[J].西北植物学报,2023,43(3):441-449.
SUN Dawei, YANG Ling, MAO Xia, et al. Physiological mechanism of CaCl₂ application relieving salt-stressed seedlings of *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(3): 441-449.
- [4] 崔毅婵,林雪茜,洪香香,等.不同四照花观赏价值的综合评价[J].植物资源与环境学报,2022,31(6):43-51.
CUI Yichan, LIN Xueqian, FU Xiangxiang, et al. Comprehensive evaluation on ornamental values of different *Cornus* spp.

- [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2022, **31**(6): 43 – 51.
- [5] YUAN Jiaqiu, SUN Dawei, LU Qiang, *et al.* Responses of physiology, photosynthesis, and related genes to saline stress in *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* (WP Fang) QY Xiang[J/OL]. *Plants*, 2022, **11**(7): 940[2023-09-01]. doi: 10.3390/plants11070940.
- [6] 马青江, 孙操稳, 洪香香, 等. 东亚四照花群体中国潜在适生区预测研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2019, **43**(5): 135 – 140.
MA Qingjiang, SUN Caowen, FU Xiangxiang, *et al.* Identification of potential distribution region for East Asian dogwoods (*Cornus*) in China [J]. *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition)*, 2019, **43**(5): 135 – 140.
- [7] LU Qiang, YANG Ling, FU Xiangxiang, *et al.* Calcium ion richness in *Cornus hongkongensis* subsp. *elegans* (W. P. Fang et Y. T. Hsieh) Q. Y. Xiang could enhance its salinity tolerance[J/OL]. *Forests*, 2021, **12**(11): 1522[2023-09-01]. doi: 10.3390/f12111522.
- [8] 孙大伟, 袁佳秋, 蔡梅, 等. 东京四照花盐胁迫响应下实时荧光定量PCR内参基因的筛选与验证[J]. 农业生物技术学报, 2023, **31**(5): 1088 – 1099.
SUN Dawei, YUAN Jiaqiu, CAI Mei, *et al.* Screening and verification of reference genes for real-time fluorescence quantitative PCR in *Cornus hongkongensis* subsp. *tonkinensis* under salt stress [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2023, **31**(5): 1088 – 1099.
- [9] INOUE S, ILOGU C, SOBZE J M. Effects of indole-3-butyric acid and age of stem cuttings on root morphology, growth, and survival of *Cornus sericea* [J]. *Journal of Forestry Research*, 2023, **34**(2): 433 – 440.
- [10] 钱家连, 李迎超, 许慧慧, 等. 不同年龄栓皮栎嫩枝扦插生根及解剖学分析和酶活性变化[J]. 浙江农林大学学报, 2023, **40**(1): 107 – 114.
QIAN Jialian, LI Yingchao, XU Huihui, *et al.* Rooting, anatomical analysis and changes of enzyme activity of softwood cuttings of *Quercus variabilis* at different ages [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, **40**(1): 107 – 114.
- [11] LÜ Gengxin, QING Jun, DU Hongyan, *et al.* Comparing rooting ability and physiological changes of two *Eucommia ulmoides* improved varieties[J/OL]. *Forests*, 2021, **12**(9): 1267[2023-09-01]. doi: 10.3390/f12091267.
- [12] 朱晓宇, 童婉婉, 赵楚, 等. 冬青 ‘长叶阿尔塔’ 扦插生根及解剖学研究[J]. 浙江农林大学学报, 2022, **39**(2): 347 – 355.
ZHU Xiaoyu, TONG Wanwan, ZHAO Chu, *et al.* Root formation and anatomical structure of *Ilex × atlaclerensis* ‘Belgica Aurea’ stem cuttings [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2022, **39**(2): 347 – 355.
- [13] NASCIMENTO B, SÁ A C S, MORAES C, *et al.* Rooting cuttings of *Ilex paraguariensis* native to southern Brazil according to mother tree genotype, rooting environment and IBA use[J/OL]. *Scientia Forestalis*, 2020, **48**(128): 3087[2023-09-01]. doi: 10.18671/scifor.v48n128.24.
- [14] CHEN Wangzun, HE Libing, TIAN Shiyi, *et al.* Factors involved in the success of *Castanea henryi* stem cuttings in different cutting mediums and cutting selection periods [J]. *Journal of Forestry Research*, 2021, **32**(4): 1627 – 1639.
- [15] 周幼成, 钟秋平, 李清平, 等. 千年桐半木质化春梢扦插繁殖及生根机理研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2020, **40**(8): 25 – 36.
ZHOU Youcheng, ZHONG Qiuping, LI Qingping, *et al.* Study on cutting propagation and rooting mechanism of semilignified spring shoots of *Vernicia montana* [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2020, **40**(8): 25 – 36.
- [16] MENG Xinya, WANG Zheng, HE Songlin, *et al.* Endogenous hormone levels and activities of IAA-modifying enzymes during adventitious rooting of tree peony cuttings and grafted scions [J]. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, 2019, **60**(2): 187 – 197.
- [17] CHENG Qiangqiang, JI Dejie, GUO Xiaoyan, *et al.* Endogenous metabolic content of the cutting positions and indole-3-butyric acid influence rooting of *Toona ciliata* var. *pubescens* stem cuttings [J]. *Southern Forests: a Journal of Forest Science*, 2021, **83**(4): 284 – 293.
- [18] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 142 – 219.
GAO Junfeng. *Experimental Guidance for Plant Physiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 142 – 219.
- [19] 刘昊, 宋晓波, 周乃富, 等. 吡啶丁酸对核桃嫩枝扦插生根及内源激素变化的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(6): 1038 – 1043.

- LIU Hao, SONG Xiaobo, ZHOU Naifu, *et al.* Adventitious root formation with IBA and endogenous hormones dynamics in walnut soft-cuttings [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2017, **34**(6): 1038 – 1043.
- [20] 胡涛, 曹钰, 张鸽香. 美国流苏嫩枝扦插及生根内源激素含量的变化[J]. 西北林学院学报, 2019, **34**(2): 109 – 115.
HU Tao, CAO Yu, ZHANG Gexiang. Softwood cutting of *Chionanthus virginicus* and changes of endogenous hormone content during rooting period [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2019, **34**(2): 109 – 115.
- [21] SABATINO L, D' ANNA F, LAPICHINO G. Cutting type and IBA treatment duration affect *Teucrium fruticans* adventitious root quality [J]. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2015, **42**(2): 478 – 481.
- [22] 胡涛, 曹钰, 张鸽香. 基质和植物生长调节剂对美国流苏硬枝扦插生根的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2019, **36**(3): 622 – 628.
HU Tao, CAO Yu, ZHANG Gexiang. Rooting of *Chionanthus virginicus* hardwood cuttings with media and plant growth regulator [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(3): 622 – 628.
- [23] CHEN Wangzun, HE Libing, TIAN Shiyi, *et al.* Factors involved in the success of *Castanea henryi* stem cuttings in different cutting mediums and cutting selection periods [J]. *Journal of Forestry Research*, 2020, **32**(4): 1627 – 2639.
- [24] 魏黔春, 江泽平, 刘建锋, 等. 侧柏古树扦插试验及插穗营养物质变化[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2020, **44**(1): 63 – 71.
WEI Qianchun, JIANG Zeping, LIU Jianfeng, *et al.* Effects of several factors on rooting of cutting propagation of ancient *Platycladus orientalis* and the changes of nutritive material [J]. *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Sciences Edition)*, 2020, **44**(1): 63 – 71.
- [25] KIM E J, JIN S Y, JUNG H S, *et al.* Comparison of propagation methods and cutting collection time focusing on transplant growth, fruit quality, and yield in strawberry (*Fragaria×ananassa* Duch.) [J]. *Horticultural Science and Technology*, 2023, **41**(1): 1 – 10.
- [26] 赵爽, 刘志高, 冯彬, 等. 山木通扦插繁殖及生根机制[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(5): 955 – 962.
ZHAO Shuang, LIU Zhigao, FENG Bin, *et al.* Cutting propagation technology and rooting of *Clematis finetiana* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2017, **34**(5): 955 – 962.
- [27] 吕庚鑫, 孟益德, 庆军, 等. ‘华仲6号’ 杜仲嫩枝扦插生根的解剖及生理变化[J]. 林业科学, 2022, **58**(2): 113 – 124.
Lǚ Gengxin, MENG Yide, QING Jun, *et al.* Changes of anatomical structure and physiology during softwood cutting rooting of *Eucommia ulmoides* ‘Huazhong No. 6’ [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2022, **58**(2): 113 – 124.
- [28] 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.
WANG Gaiping, WANG Xiacong, ZHANG Lei, *et al.* Cutting test of *Catalpa bungei* and change analysis of cutting contents [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2021, **38**(2): 296 – 303.
- [29] QIN Ruofan, ZHAO Qingrong, GU Chenrui, *et al.* Analysis of oxidase activity and transcriptomic changes related to cutting propagation of hybrid larch[J/OL]. *Scientific Reports*, 2023, **13**(1): 1354[2023-09-01]. doi: 10.1038/s41598-023-27779-x.
- [30] YANG Wanxia, ZHUANG Jiaqi, DING Siyu, *et al.* Study on cutting cultivation technology and rooting mechanism of *Cyclocarya paliurus* [J]. *Ecological Chemistry and Engineering S*, 2022, **29**(3): 379 – 389.