

不定根向重力性定点角不同的苹果自根砧插穗内源激素差异分析

王荣¹, 王增辉², 毛云飞², 张民¹, 沈向^{2*}

¹山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安271018

²山东农业大学园艺科学与工程学院, 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安271018

摘要: 研究不定根向重力性定点角(GSA)不同的苹果(*Malus* spp.)自根砧木在嫩枝扦插生根过程中的插穗中内源激素含量动态变化, 为通过外源激素调控不定根GSA提供理论依据。以八年生苹果‘国光’(*M. pumila* cv. Ralls)与海棠(*M. sp.*)杂交实生苗的当年生枝条为试验材料, 于5月中旬进行嫩枝扦插, 筛选出不定根GSA不同的株系, 并于次年再次进行嫩枝扦插, 在扦插后0、8、16、24和32 d随机取插穗基部检测内源激素含量。试验结果表明: (1)按照扦插苗不定根GSA的不同, 可把苹果自根砧苗木分为3类: $30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $\text{GSA} < 30^\circ$ 的不定根比例大于 $\text{GSA} > 60^\circ$ 的比例的自根砧, 属于深层根型(DRT); $30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $\text{GSA} < 30^\circ$ 的不定根比例小于 $\text{GSA} > 60^\circ$ 的比例的自根砧, 属于中间根型(IRT); $\text{GSA} > 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$ 的不定根比例大于 $\text{GSA} < 30^\circ$ 的比例的自根砧, 属于浅层根型(SRT)。(2)在苹果自根砧嫩枝扦插生根过程中, 3种根型插穗内吲哚乙酸(IAA)含量的变化趋势呈“倒V”形, 脱落酸(ABA)和异戊烯基腺嘌呤(iPA)含量呈下降趋势, 玉米素核苷(ZR)含量呈“下降-上升-下降”的趋势; 赤霉素(GA_3)含量在中间根型插穗中的变化趋势呈“倒V”形, 在深、浅层根型的则呈“V”形; 扦插16 d后, 插穗中IAA含量表现为深层根型<中间根型<浅层根型, ZR和 GA_3 含量表现为深层根型>中间根型>浅层根型, ABA和iPA含量表现为中间根型<浅层根型<深层根型, IAA/ GA_3 、IAA/ZR和IAA/iPA比值表现为深层根型<中间根型<浅层根型。扦插16 d后, 不定根GSA越小, 插穗中IAA含量越少, ZR和 GA_3 含量越多, IAA/ GA_3 、IAA/ZR和IAA/iPA比值越小。生长素是参与不定根GSA形成的主要激素, 其在从茎尖向不定根的极性运输过程中与细胞分裂素相互作用, 共同调节不定根GSA的形成。

关键词: 自根砧; 向重力性定点角; 嫩枝扦插; 内源激素

优质苹果苗木是苹果产业的基础。利用苹果自根砧苗木, 是发达国家的主要生产模式, 也是我国苹果产业当前主要的技术变革, 有望改变目前我国果园园相不整齐、果实性状差异大等生产实际问题(韩明玉2015)。但自根砧木根系浅, 固地性差(王荣等2012), 在我国瘠薄果园土壤上表现欠佳, 究其原因, 自根砧木根系的向重力性定点角(gravitropic setpoint angle, GSA)发育与实生砧木之间存在差异(张东等2016)。

植物的GSA是指由植物向重力性所决定的、植物器官在重力(gravity)作用下所保持的角度, 最初由Digby和Firn于1995年正式提出(Digby和Firn 1995)。由PIN转运蛋白调控的生长素分布, 是动态调节根系GSA的关键因子(Lavenu等2016)。细胞分裂素(cytokinin, CTK)通过CRFs诱导PIN的表达, 进而调控根系构型(Mária等2015)。生长素、细胞分裂素、赤霉素(gibberellin, GA_3)和脱落酸(abscisic acid, ABA)等内源激素作为植物新陈代谢的调控者, 与植物形态学的适应性变化和应激反应有

密不可分的关联性(陈智裕等2016)。近年来对于植物扦插生根过程中内源激素含量变化的报道屡见不鲜, 但多集中在云杉(*Picea abies*)、落叶松(*Larix kaempferi*)和葡萄(*Vitis vinifera*)等树种上, 且前人研究结果表明, 生长素是促进不定根形成的主要内源激素, 赤霉素和玉米素是不定根形成的抑制剂(欧阳芳群等2015; 麻文俊等2013; 齐永顺等2009), 而对不定根GSA与生根过程插穗中内源激素之间关系的研究较少。

本研究旨在通过分析不定根GSA不同的苹果自根砧扦插生根过程中插穗中内源激素含量的动态变化, 揭示内源激素在苹果自根砧生根过程, 尤其是不定根表达和伸长期的调控作用, 也可为苹

收稿 2017-07-10 修定 2018-01-10

资助 国家现代农业产业技术体系专项(CARS-28)、农业部科技教育司公益性行业(农业)科研专项(201303093)和支撑计划专项(2014BAD16B02), 以及山东省果品创新团队项目(sdait-06-07)。

* 通讯作者(guanshangguoshu@163.com)。

果自根砧不定根GSA发生的研究中外源激素的添加种类和浓度提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

砧木优系的筛选: 以山东农业大学苹果工程中心的八年生苹果‘国光’ (*Malus pumila* Mill. cv. Ralls)与海棠(*M. sp.*)杂交实生苗的当年生枝条为试验材料, 于2013年5月中旬进行嫩枝扦插。扦插后60 d, 统计嫩枝扦插的成活率, 并测定不定根GSA。

内源激素的测定: 以2013年筛选出的不定根GSA不同的株系13-20、13-10和7-25的当年生枝条为试验材料, 于2014年5月中旬进行嫩枝扦插。分别于扦插后0、8、16、24和32 d分别取样。每次每个样品随机抽取7根插穗, 清水处理并用纱布擦干净, 放入冰盒带回实验室, 迅速剥取插穗基部1 cm范围内的韧皮部, 混合后分为3组, 液氮冷冻后于-70°C超低温冰箱保存, 备用。

1.2 嫩枝扦插和管理

本研究的苹果自根砧的扦插繁殖试验在山东农业大学园艺学院的试验苗圃进行。该苗圃建有南北走向的育苗池, 宽1.2 m, 长50 m。池底铺一层10 cm左右的过筛纯净新鲜细沙, 上层铺10 cm左右育苗基质。试验采用嫩枝扦插, 在配有间歇自动喷雾装置的育苗池进行。扦插前2 d, 采用50%多菌灵可湿性粉剂800倍液进行消毒, 扦插当日浇透水, 并再次铺平池面。

嫩枝扦插全过程采用间歇自动喷雾装置, 扦插前40 d, 每隔60 min喷雾5 min, 保持空气湿度在90%以上; 40 d后, 减少喷水次数, 即每隔120 min喷雾10 min。插穗大量生根后, 每周给插穗喷一次多菌灵800倍液。

1.3 生根情况观测与GSA分析

扦插60 d后, 用平板扫描仪获取扦插苗完整根系的高分辨率图像, 用软件分析系统, 沿着每条侧根的长度, 进行不定根GSA分析统计。

1.4 激素提取与测定

采用间接酶联吸附法(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, ELISA)测定不定根发生发育过程中激素含量的变化, 试剂盒由中国农业大学作物化控室提供, 分别检测吲哚乙酸(indoleacetic acid,

IAA)、GA₃、ABA、玉米素核苷(zeatin riboside, ZR)和异戊烯基腺嘌呤(isopentenyladenine, iPA)含量, 植物激素提取测定方法参照试剂盒附带操作说明书进行, 3次重复。

1.5 数据分析

试验数据采用Microsoft Excel 2003和SPSS 17.0分析软件分析处理。

2 实验结果

2.1 砧木优系不定根GSA分类

按照扦插苗一级不定根GSA的不同, 把苹果自根砧苗木分为3类, 如表1所示: $30^\circ \leq GSA \leq 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $GSA < 30^\circ$ 的不定根比例大于 $GSA > 60^\circ$ 的比例的自根砧, 属于深层根型(deep root type, DRT); $30^\circ \leq GSA \leq 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $GSA < 30^\circ$ 的不定根比例小于 $GSA > 60^\circ$ 的比例的自根砧, 属于中间根型(intermediate root type, IRT); $GSA > 60^\circ$ 的不定根比例不小于50%, 且 $30^\circ \leq GSA \leq 60^\circ$ 的不定根比例大于 $GSA < 30^\circ$ 范围内的比例的自根砧, 属于浅层根型(shallow root type, SRT)。

如表2所示, 13-22和13-20在 $30^\circ \leq X \leq 60^\circ$ 范围内的一级不定根比例都超过50%, 且 $X < 30^\circ$ 范围内一级不定根的比例大于 $X > 60^\circ$ 范围内的比例, 属于深层根型; 7-25、10-1和11-7分布在 $30^\circ \leq X \leq 60^\circ$ 范围内的一级不定根比例都大于50%, 且 $X < 30^\circ$ 范围内一级不定根的比例小于 $X > 60^\circ$ 范围内的比例, 属于中间根型; 8-24、13-13和13-10在 $X > 60^\circ$ 范围内一级不定根的比例大于50%, 且 $30^\circ \leq X \leq 60^\circ$ 范围内一级不定根的比例大于 $X < 30^\circ$ 范围内的比例, 属于浅层根型。

表1 苹果自根砧扦插苗一级不定根分布与根型的关系

Table 1 Relationship between adventitious root distributions and root architecture of apple self-rootstock

根型	一级不定根GSA		
	$X < 30^\circ$	$30^\circ \leq X \leq 60^\circ$	$X > 60^\circ$
浅层根型	$Y \leq 20\%$	$Y \geq 50\%$	$50\% > Y > 20\%$
中间根型	$50\% > Y > 20\%$	$Y \geq 50\%$	$Y \leq 20\%$
深层根型	$Y \geq 50\%$	$50\% > Y > 20\%$	$Y \leq 20\%$

X表示一级不定根与水平方向的夹角, Y表示一定夹角范围内的根数占扦插苗总根数的比例; 表2同。

表2 苹果砧木扦插苗一级不定根GSA

Table 2 GSAs of adventitious roots of apple rootstock cutting seedlings

不定根类型	扦插材料	总根数	$X < 30^\circ$		$30^\circ \leq X \leq 60^\circ$		$X > 60^\circ$	
			根数	比例/%	根数	比例/%	根数	比例/%
深层根型	13-22	57	12	21.05	43	75.44	2	3.51
	平邑甜茶	53	13	24.53	36	67.92	4	7.55
中间根型	13-20	35	10	28.57	20	57.14	5	14.29
	圆叶海棠	54	6	11.11	36	66.67	12	22.22
	7-25	42	2	4.76	24	57.14	16	38.10
	10-1	41	2	4.88	23	56.10	16	39.02
浅层根型	11-7	41	3	7.32	23	56.10	15	36.59
	8-24	35	1	2.86	15	42.86	19	54.29
	13-13	48	2	4.17	20	41.67	26	54.17
	13-10	36	4	11.11	12	33.33	20	55.56

平邑甜茶: *M. hupehensis* var. *mengshanensis*; 圆叶海棠: *M. prunifolia* var. *ringo*。

2.2 苹果自根砧嫩枝扦插内源激素含量变化

根据以上研究结果, 我们测定了深层根型、中间根型和浅层根型的苹果自根砧木在嫩枝扦插不定根GSA形成过程中插穗内源激素的动态变化, 结果如下。

2.2.1 IAA含量变化

三种根型的苹果自根砧嫩枝扦插生根过程中插穗内IAA含量的动态变化如图1所示。整体来看, 3种根型插穗中IAA含量均呈“倒V”形。扦插后16 d内, IAA含量持续升高, 在扦插16 d时IAA含量最高。在扦插16 d后, IAA含量逐渐降低, 深层根型13-20插穗中内源IAA含量降低幅度较大。扦插32 d时插穗中IAA含量为浅层根型13-10 [$46.09 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)] > 中间根型7-25 [$53.93 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)] > 深层根型13-20 [$57.58 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)], 即随着GSA减小, 插穗中IAA含量也减少。

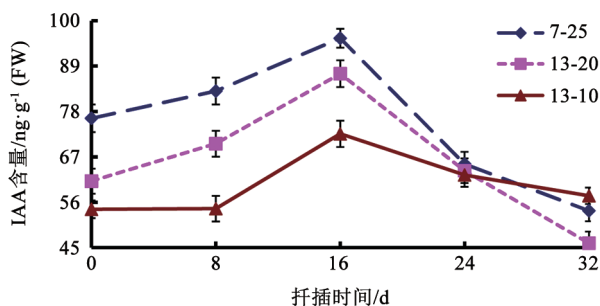


图1 嫩枝扦插IAA含量变化

Fig.1 Changes in IAA content in softwood cuttings

2.2.2 ABA含量变化

三种根型的苹果砧木嫩枝扦插生根过程中, 插穗内源ABA含量总体呈下降趋势(图2)。整个不定根发生过程中, 深层根型13-20插穗中内源ABA含量在扦插后0、8、16、32 d都高于其他插穗中的内源ABA含量。浅层根型13-10插穗内源ABA含量只在根原基诱导期(8~16 d)的含量最低[$92.81 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)], 扦插后16~24 d, ABA含量略微升高, 扦插后24 d时, 其含量为 $101.71 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)。中间根型7-25插穗ABA含量在扦插后24~32 d下降迅速, 32 d时含量最低, 为 $73.90 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ (FW)。这表明插穗中的内源ABA含量并不能直观地反映扦插苗不定根的GSA。

2.2.3 细胞分裂素ZR和iPA含量变化

除生长素外, 细胞分裂素在植物扦插繁殖不定根的形成中也起着一定的作用。细胞分裂素能促进细胞分裂, 延缓植株衰老。天然的细胞分裂

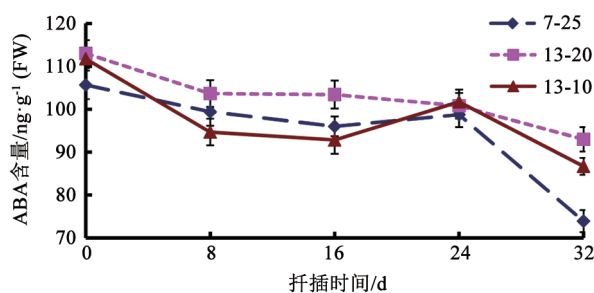


图2 嫩枝扦插ABA含量变化

Fig.2 Changes in ABA content in softwood cuttings

素分为游离态和结合态细胞分裂素。本试验各选择一种作为研究对象,即结合态的ZR和游离态的iPA,以便确定细胞分裂素含量与扦插繁殖不定根发生及不定根GSA形成的关系。

ZR对细胞的伸长生长起着重要作用。图3所示,嫩枝扦插初期(0~8 d),插穗刚从母株取下,ZR的供应路线被切断,且由于插穗切口处组织细胞脱分化和愈伤组织形成,ZR处于消耗状态,ZR含量下降。之后,插穗自身启动了ZR的合成途径,随着扦插时间延长,ZR含量增加,且在扦插后16 d达到高峰,深层根型13-20、中间根型7-25和浅层根型13-10插穗中的ZR含量分别为10.99、14.50和10.94 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)。插穗中的ZR含量甚至比扦插时(0 d)增高了2%~9%。16 d后,插穗中ZR的含量开始下降。扦插苗根系扫描结果显示,13-20的不定根总长度明显大于其他扦插苗,而在24 d之后,13-20插穗中ZR含量高于其他插穗。由此推断,ZR在不定根伸长过程中发挥着一定的作用。

如图3所示,在扦插24 d后,深层根型13-20插穗、中间根型7-25插穗和浅层根型13-10插穗中内源ZR含量继续降低,扦插苗不定根GSA小的插穗,在扦插后16 d时的ZR含量高。这表明插穗中内源ZR可能通过与生长素复杂的交互效应,共同调控根系结构。

三种根型的苹果砧木嫩枝扦插过程中的插穗中iPA含量如图4所示。浅层根型13-10在扦插起始时(0 d),插穗中iPA含量[12.85 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)]高于其他插穗,扦插后0~16 d,其含量下降,16~24 d iPA含量略有上升,在24~32 d再次下降;中间根型7-25插穗中iPA含量始终低于其他插穗;深层根型13-20插穗中iPA在扦插后8~32 d缓慢下降。扦插32 d时,浅

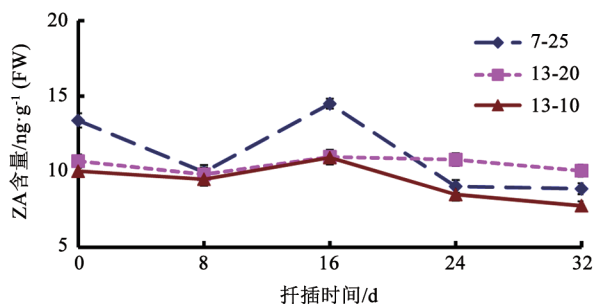


图3 嫩枝扦插ZR含量变化

Fig.3 Changes in ZR content in softwood cuttings

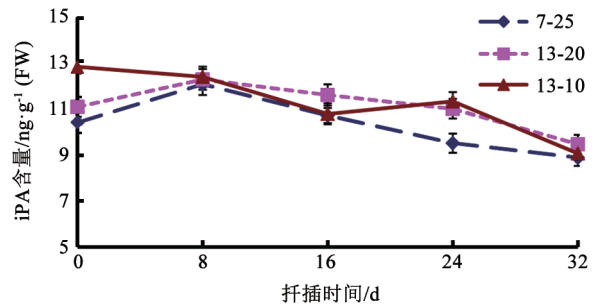


图4 嫩枝扦插iPA含量变化

Fig.4 Changes in iPA content in softwood cuttings

层根型13-10、中间根型7-25和深层根型13-20插穗中iPA含量分别为9.07、8.89和9.47 $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (FW)。

对比发现,苹果砧木嫩枝扦插插穗中两种细胞分裂素(ZR和iPA)的含量相差无几,由此可见,在苹果自根砧扦插生根过程中,插穗中的ZR和iPA同时存在,并发挥着各自的作用。

2.2.4 GA₃含量变化

关于GA₃在扦插繁殖不定根发生过程中变化的观点不一致。本试验对苹果自根砧嫩枝扦插生根过程中GA₃含量进行动态跟踪研究,结果如图5所示。除中间根型7-25插穗中GA₃含量的变化趋势大致呈“倒V”形,深层根型13-20和浅层根型13-10的变化趋势呈“V”形。在扦插后24~32 d,GA₃含量为深层根型13-20>中间根型7-25>浅层根型13-10,即GSA小的插穗中GA₃含量高,这和IAA含量的表现是相反的。

2.3 苹果自根砧嫩枝扦插内源激素比值变化

2.3.1 IAA/GA₃比值变化

对苹果自根砧嫩枝扦插生根过程中IAA/GA₃比值进行动态跟踪分析,结果如图6所示。在扦插

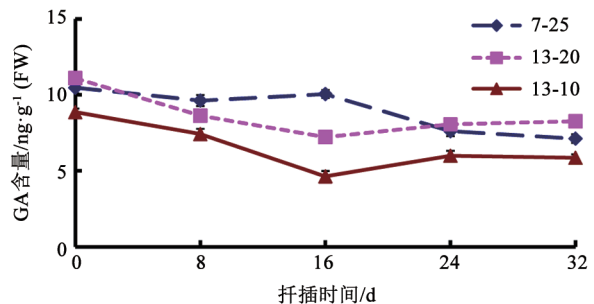


图5 嫩枝扦插GA₃含量变化

Fig.5 Changes in GA₃ content in softwood cuttings

0~8 d, 插穗中IAA/GA₃比值缓慢上升; 在扦插8~16 d, 插穗中IAA/GA₃比值明显上升, 达到峰值。其中, 浅层根型13-10插穗中IAA/GA₃比值达到15.67, 其次是深层根型13-20和中间根型7-25插穗中的比值分别为12.06和9.52。扦插16~32 d, 插穗中IAA/GA₃比值均开始下降。对照图1 (IAA含量动态变化)和5 (GA₃含量动态变化)可知, 插穗中IAA/GA₃比值与插穗中IAA含量的变化趋势一致, 可以判断主要是IAA的动态变化造成插穗中IAA/GA₃比值之间的差别。

此外, 在扦插后24~32 d, 插穗内源IAA/GA₃比值为浅层根型13-10>中间根型7-25>深层根型13-20, 即GSA越小, 插穗内源IAA/GA₃也越小, 这和该时期插穗中GA₃含量的高低恰好相反(不定根表达和伸长期, GA₃含量为深层根型13-20>中间根型7-25>浅层根型13-10)。由此推断, 不定根GSA的形成可能和插穗中内源激素平衡有关。

2.3.2 IAA/ZR比值变化

三种根型的苹果自根砧嫩枝扦插生根过程中, 插穗内IAA/ZR比值的动态变化结果如图7所示。不定根发生过程中, 深层根型13-20插穗中IAA/ZR比值呈现先上升再下降的趋势, 且IAA/ZR比值的峰值(7.93)出现在扦插后16 d的不定根根原基诱导期; 中间根型7-25插穗中IAA/ZR比值呈现出“上升-下降-上升-下降”的双峰趋势, 峰值(8.31和7.23)分别在扦插后8和24 d; 而浅层根型插穗13-10呈缓慢上升趋势。在扦插24~32 d, 插穗内源IAA/ZR比值为浅层根型13-10>中间根型7-25和深层根型13-20, 即GSA越小, IAA/ZR比值越小。对照图1 (IAA含量动态变化)和3 (ZR含量动态变化)可知, 插穗中IAA/ZR比值与插穗中IAA含量的变化趋势一致。

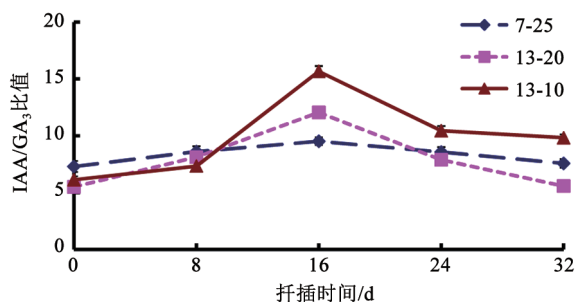


图6 IAA/GA₃比值变化

Fig.6 Changes in IAA/GA₃ ratio

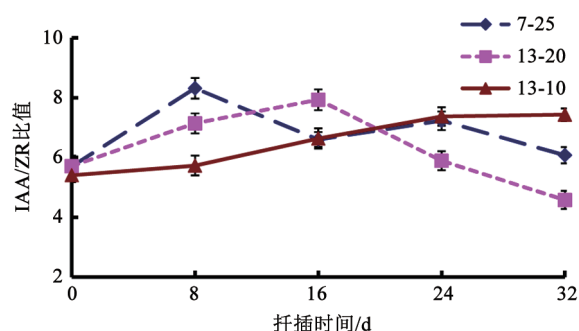


图7 IAA/ZR比值变化

Fig.7 Changes in IAA/ZR ratio

2.3.3 IAA/iPA比值变化

三种根型的苹果砧木嫩枝扦插生根过程中, 插穗内IAA/iPA比值的动态变化结果如图8所示。整体来看, 3种根型插穗中IAA/iPA比值均呈“升高-下降”的趋势, 峰值均出现在扦插后16 d, 浅层根型13-10、中间根型7-25和深层根型13-20的峰值分别为6.72、7.50和8.93。在扦插32 d时, IAA/iPA比值表现为深层根型13-20<中间根型7-25<浅层根型13-10, 即GSA越小, IAA/iPA比值越小, 这与IAA/ZR比值的情况是一致的。

3 讨论

植物根GSA是根响应重力刺激的最终生物学反映。由于根对重力的感受部位在根冠小柱细胞, 而响应部位位于伸长区, 因此, 这中间需要重力信号的传递, 而生长素(IAA)就是连接重力感受组织和响应组织的重力信号(Sato等2015; 李远婷等2012)。生长素发挥作用主要是通过通过在植物组织或器官建立不对称分布, 生长素极性运输在生长素浓度梯度的建立和维持中具有重要的作用(邹纯雪

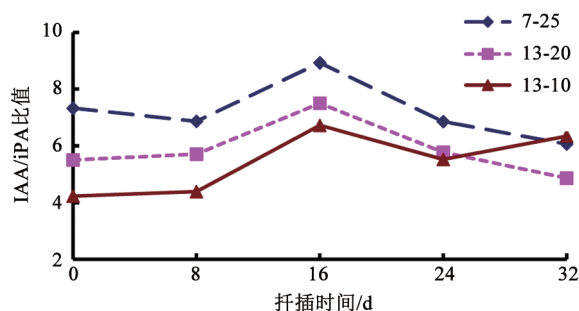


图8 IAA/iPA比值变化

Fig.8 Changes in IAA/iPA ratio

和门淑珍2013)。已知植物中的生长素极性运输不仅有从茎尖向根的运输,还有在组织局部的极性运输。本试验中,苹果自根砧木扦插苗在扦插后32 d时,插穗中的IAA含量表现为深层根型13-20<中间根型7-25<浅层根型13-10,即GSA越小,插穗中IAA含量也越少(图1),这可能是由于相比于浅层根型13-10和中间根型7-25的苹果自根砧,深层根型13-20苹果自根砧在扦插生根过程中的插穗中茎尖产生的IAA较多地通过脉管系统的端向运输(acropetal transport)运往根尖,并在根冠部位富集。当不定根受到重力刺激时,根冠部位生长素的侧向运输被改变,优先运输到根伸长区的近地侧,使根伸长区的生长素形成近地侧至远地侧的浓度梯度,促使根尖向下生长(胡利伟2007),导致不定根GSA减小。

生长素和细胞分裂素通过复杂的交互作用共同调节根系的向重力性生长(Lavenus等2016)。生长素的极性运输是由特殊的生长素流入载体(AUX/LAX蛋白家族)和生长素流出载体(PIN蛋白家族和ABCD/PGD蛋白家族)介导完成的(Swarup和Bennett 2014; Peer等2011)。研究表明,侧根向重力性生长过程和生长素流出载体PIN3、PIN4和PIN7的表达有关(Roychoudhry等2017):与GSA接近90°(较水平)的侧根相比,GSA小(较垂直)的侧根中PIN4和PIN7表达上调,PIN3表达下调。Šimášková等(2015)研究表明,细胞分裂素通过CRFs诱导PIN表达,即CRF2和CRF6转录因子正调控PIN7和PIN1的表达,进而调控根系结构(分支率、生长率和生长方向,特别是重力作用下的生长方向)。本试验中,在扦插后32 d时,插穗中IAA/ZR比值和IAA/iPA比值均表现为深层根型13-20<中间根型7-25<浅层根型13-10,即GSA越小,IAA/ZR比值和IAA/iPA比值越小(图7和8),这可能是由于插穗中生长素向不定根的极性运输过程中,生长素和细胞分裂素通过复杂的交互作用,共同影响不定根的向重力性生长。但生长素和细胞分裂素是如何相互作用的,还有待于进一步研究。

生长素的极性运输对不定根GSA很重要,但生长素运输的方向性是由生长素流出载体PINFORMED (PIN)家族的不对称分布导致的(Grunewald和Friml 2010)。已有研究表明,生长素和赤霉素能

调节质膜上PIN蛋白的分布,Löfke等(2013)的研究表明,高浓度的赤霉素会使更多的PIN分布在质膜上,然而,低浓度赤霉素会导致PIN蛋白的内化。本试验中,扦插后32 d时,插穗内源IAA/GA₃比值表现为浅层根型13-10>中间根型7-25>深层根型13-20(图6),和此时插穗中GA₃的含量恰好相反(不定根GSA越小,IAA/GA₃比值越大;图5)。因此可以判断IAA/GA₃的动态变化是由IAA的动态变化造成的。赤霉素可能是通过调节质膜上PIN蛋白的分布来影响不定根GSA的,而与其含量无关。

ABA是一种调节休眠、脱落及植物胁迫反应的生长抑制物质(段娜2015),被普遍认为是扦插生根的抑制剂,但其抑制效应是可逆的。很多研究表明,当植物处于逆境胁迫条件时,其内源ABA含量显著上升,促使植物增强对环境的适应性。本试验中,苹果砧木嫩枝扦插生根过程中,插穗内源ABA含量总体呈下降趋势(图2),且3种根型之间没有明显的规律变化,这可能是由于插穗中内源ABA含量与不定根GSA之间不存在明显的调控关系。

综上所述,苹果自根砧木不定根的向重力性生长与插穗中内源激素密切相关。在扦插16 d后,不定根GSA越小,插穗中的IAA含量越少,ZR和GA₃含量越多,IAA/GA₃、IAA/ZR和IAA/iPA比值越小。生长素是参与不定根GSA形成的主要激素,生长素从茎尖向不定根的极性运输过程中,生长素和细胞分裂素相互作用,共同调节不定根GSA的形成。

参考文献(References)

- Chen Z, Wu P, Zou X, et al (2016). Relationship between growth and endogenous hormones of Chinese fir seedlings under low phosphorus stress. *Sci Silv Sin*, 52 (2): 57-66 (in Chinese with English abstract) [陈智裕, 吴鹏飞, 邹显花等(2016). 低磷胁迫下杉木幼苗生长特性与内源激素的关系. *林业科学*, 52 (2): 57-66]
- Digby J, Firm R (1995). The gravitropic set-point angle (GSA): identification of an important developmentally controlled variable governing plant architecture. *Plant Cell Environ*, 18: 1434-1440
- Grunewald W, Friml J (2010). The march of the PINs: developmental plasticity by dynamic polar targeting in plant cells. *EMBO J*, 29: 2700-2714
- Han M (2015). Discussion on the technical model of intensive cultivation of apple. *Chin Fruits*, (3): 76-79 (in Chinese) [韩明玉(2015). 苹果矮砧集约栽培技术模式刍议. *中国*

- 果树, (3): 76–79]
- Hu L (2007). The gravitropism of rice leaf sheath bases and space flight experiment of rice and *Arabidopsis* (dissertation). Shanghai: Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, 3–12 (in Chinese with English abstract) [胡利伟(2007). 水稻叶鞘基部的负向重力性反应及拟南芥和水稻的空间搭载实验(学位论文). 上海: 中国科学院上海生命科学研究院, 3–12]
- Lavenus J, Guyomarc'h S, Laplaze L (2016). *PIN* transcriptional regulation shapes root system architecture. *Trends Plant Sci*, 21 (3): 175–177
- Li Y (2006). Studies of *NPY* genes on gravitropism in *Arabidopsis* (dissertation). Lanzhou: Lanzhou University, 26–63 (in Chinese with English abstract) [李远婷(2006). 拟南芥*NPY*基因对根向重力性的研究(学位论文). 兰州: 兰州大学, 26–63]
- Löfke C, Zwiewka M, Heilmann I, et al (2013). Asymmetric gibberellin signaling regulates vacuolar trafficking of PIN auxin transporters during root gravitropism. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 3627–3632
- Ma W, Zhang S, Wang J, et al (2013). Endogenous hormones, nutritive material and phenolic acid variation in cutting of Japanese larch during rooting. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 33 (1): 109–115 (in Chinese with English abstract) [麻文俊, 张守攻, 王军辉等(2013). 日本落叶松扦插生根期内源激素和营养物质及酚酸含量变化特征. 西北植物学报, 33 (1): 109–115]
- Ouyang F, Fu G, Wang J, et al (2015). Qualitative analysis of endogenesis hormone and polyphenol during rooting of cuttings in Norway spruce (*Picea abies*). *Sci Silv Sin*, 51 (3): 155–162 (in Chinese with English abstract) [欧阳芳群, 付国赞, 王军辉等(2015). 欧洲云杉扦插生根进程中内源激素和多酚类物质变化. 林业科学, 51 (3): 155–162]
- Peer WA, Blakeslee JJ, Yang H, et al (2011). Seven things we think we know about auxin transport. *Mol Plant*, 4 (3): 487–504
- Qi YS, Zhang ZH, Wang TK, et al (2009). Changes of endogenous hormones in adventitious root formation in softwood cuttings of autotetraploid grape Muscat Hamburg. *Acta Hort Sin*, 36 (4): 565–570 (in Chinese with English abstract) [齐永顺, 张志华, 王同坤等(2009). 同源四倍体玫瑰香葡萄嫩枝前插不定根发生过程中内源激素的变化. 园艺学报, 36 (4): 565–570]
- Roychoudhry S, Kieffer M, Del Bianco M, et al (2017). The developmental and environmental regulation of gravitropic setpoint angle in *Arabidopsis* and bean. *Sci Rep*, 7: 42664
- Sato EM, Hijazi H, Bennett MJ, et al (2015). New insights into root gravitropic signaling. *J Exp Bot*, 66 (8): 2155–2165
- Šimášková M, O'Brien JA, Khan M, et al (2015). Cytokinin response factors regulate *PIN-FORMED* auxin transporters. *Nat Commun*, 6: 8717
- Swarup R, Bennett MJ (2014). Auxin transport: providing plants with a new sense of direction. *Biochemist*, 36: 12–15
- Zou C, Men S (2013). Research advances in auxin efflux carrier PIN proteins. *Chin J Cell Biol*, 35 (5): 574–582 (in Chinese with English abstract) [邹纯雪, 门淑珍(2013). 生长素的外输载体PIN蛋白家族研究进展. 中国细胞生物学学报, 35 (5): 574–582]

Variance analysis of endogenous hormones in self-rooted rootstock cuttings of apple with different adventitious root gravitropic setpoint angles

WANG Rong¹, WANG Zeng-Hui², MAO Yun-Fei², ZHANG Min¹, SHEN Xiang^{2,*}

¹College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Taian, Shandong 271018, China

²College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University / State Key Laboratory for Crop Biology, Taian, Shandong 271018, China

Abstract: To provide theoretical basis for the regulation of adventitious root gravitropic setpoint angle (GSA) by endogenous hormones, dynamic changes in endogenous hormone contents in cuttings of different adventitious root GSA, during rooting of softwood cuttings, was studied. The annual shoots of eight years hybrid seedlings of *Malus pumila* 'Ralls' and *M. sp.* were used as experimental materials, and softwood cutting was carried out in mid-May. Different strains of adventitious root GSA were screened and shoot cuttings were carried out again the following year. The cuttings were randomly selected at 0, 8, 16, 24 and 32 d after cutting, and the endogenous hormones contents of cutting bases were measured. The results show that: (1) according to the difference of adventitious root GSA of cutting seedlings, the seedlings of apple rootstock were divided into 3 groups. Rootstocks with the ratio of adventitious root ($30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$) not less than 50% and the ratio of adventitious root ($\text{GSA} < 30^\circ$) more than the adventitious root ($\text{GSA} > 60^\circ$) ratio belong to the deep root type (DRT). Rootstocks with the ratio of adventitious root ($30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$) not less than 50% and the ratio of adventitious root ($\text{GSA} < 30^\circ$) less than the adventitious root ($\text{GSA} > 60^\circ$) ratio belong to the intermediate root type (IRT). Rootstocks with the ratio of adventitious root ($\text{GSA} > 60^\circ$) not less than 50% and the adventitious root ($30^\circ \leq \text{GSA} \leq 60^\circ$) ratio more than the ratio of adventitious root ($\text{GSA} < 30^\circ$) belongs to the shallow root type (SRT). (2) In the rooting process of apple rootstock softwood cuttings, changes in endogenous hormone contents in the 3 root types were as follows: indoleacetic acid (IAA) contents showed "inverted V" shape, abscisic acid (ABA) and isopentenyladenine (iPA) contents decreased continuously, and zeatin riboside (ZR) contents showed a trend of "falling-rising-falling". As for gibberellin (GA_3) content, the change trend of the IRT cuttings was "inverted V" shape, and the DRT and SRT cuttings showed "V" shape. At 16 d after cutting, the smaller the adventitious root GSA was, the less IAA content, the more ZR and GA_3 content, and the smaller the ratio of IAA/ GA_3 , IAA/ZR and IAA/iPA were. Auxin is the major hormone involved in the formation of adventitious root GSA. In the auxin polar transport process from the stem tip to the adventitious root, auxin and cytokinin interact to regulate the formation of adventitious root GSA.

Key words: self-rooted rootstock; gravitropic setpoint angle; softwood cuttings; endogenous hormones

Received 2017-07-10 Accepted 2018-01-10

This work was supported by the Special Funds for National Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-28), Special Funds for Scientific Research of Public Welfare (Agriculture) in the Department of Science and Technology Education of the Ministry of Agriculture (201303093), Special Fund for Support Plan (2014BAD16B02), and Shandong Fruit Innovation Team (sdait-06-07).

*Corresponding author (guanshangguoshu@163.com).