

DOI:10.12171/j.1000-1522.20230045

## 不同树龄侧柏古树扦插过程中的抑制物研究

魏黔春<sup>1</sup> 刘建锋<sup>1</sup> 郭伟<sup>2</sup> 王鹤智<sup>3</sup> 徐健楠<sup>3</sup> 晁碧霄<sup>3</sup> 常二梅<sup>1</sup>

(1. 林木遗传育种全国重点实验室, 国家林业和草原局林木培育重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091;  
2. 泰安市泰山林业科学研究院, 山东 泰安 271000; 3. 国家林业和草原局林草调查规划院, 北京 100714)

**摘要:**【目的】探究不同树龄侧柏古树在扦插过程中的内源抑制物(如酚酸和类黄酮)对生根的影响, 为提高侧柏古树扦插生根率提供理论依据。【方法】研究3月份和6月份不同树龄(5、100、300和700年生)侧柏的插穗浸提液对白菜籽发芽的影响, 并且测定插穗酚酸、类黄酮物质的含量。比较6月份不同树龄侧柏插穗在扦插生根过程中的酚酸、类黄酮物质对生根过程的影响。筛选去除100年生侧柏插穗抑制物的方法。【结果】(1)侧柏古树(100、300和700年生)的生根率和生根数量显著低于幼年侧柏(5年生)( $P < 0.05$ )。(2)3月份100、300和700年生侧柏插穗的浸提液对白菜籽发芽的抑制作用显著高于6月份( $P < 0.05$ )。随着树龄的增长, 插穗的浸提液对白菜籽发芽的抑制作用增强。(3)6月份侧柏插穗的酚酸和类黄酮含量普遍较低。在3月份和6月份, 芦丁、水杨酸、没食子酸、香豆酸、阿魏酸的含量随侧柏树龄的增长总体上呈增加趋势。在6月份, 5、100、300、700年生侧柏的插穗酚酸和类黄酮含量随生根阶段呈增加趋势。(4)0.1%硝酸银溶液处理侧柏古树插穗能促进不定根形成, 0.05%高锰酸钾溶液能促进根系发育。【结论】随着侧柏树龄的增长, 插穗中酚酸和类黄酮含量的增加对不定根形成产生了抑制作用。然而, 通过使用0.1%硝酸银或0.05%高锰酸钾处理, 可有效缓解这一抑制, 提高侧柏扦插生根率。本文为提高难生根林木扦插生根率提供了理论依据和技术支撑。

**关键词:** 侧柏; 古树; 扦插; 抑制物; 生根

中图分类号: S791.38 文献标志码: A 文章编号: 1000-1522(2024)11-0083-09

引文格式: 魏黔春, 刘建锋, 郭伟, 等. 不同树龄侧柏古树扦插过程中的抑制物研究 [J]. 北京林业大学学报, 2024, 46(11): 83-91. Wei Qianchun, Liu Jianfeng, Guo Wei, et al. Inhibitors during cutting process of ancient *Platycladus orientalis* trees of different ages [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2024, 46(11): 83-91.

### Inhibitors during cutting process of ancient *Platycladus orientalis* trees of different ages

Wei Qianchun<sup>1</sup> Liu Jianfeng<sup>1</sup> Guo Wei<sup>2</sup> Wang Hezhi<sup>3</sup> Xu Jiannan<sup>3</sup>  
Chao Bixiao<sup>3</sup> Chang Ermei<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;  
2. Taishan Academy of Forestry Sciences, Taian 271000, Shandong, China;  
3. Academy of Inventory and Planning, National Forestry and Grassland Administration, Beijing 100714, China)

**Abstract:** [Objective] This paper explores the effects of endogenous inhibitors (such as phenolic acids and flavonoids) produced by ancient *Platycladus orientalis* trees of different ages on rooting during the cutting process, so as to provide a theoretical basis for improving the rooting rate of ancient *P. orientalis* cuttings. [Method] The cuttings from 5-, 100-, 300-, and 700-year-old *P. orientalis* were used as experimental materials for cutting propagation. The effects of extracts from the cuttings of *P. orientalis* of different ages (5-, 100-, 300-, and 700-year-old) in March and June on the germination of cabbage seeds were studied, and

收稿日期: 2023-03-06 修回日期: 2023-05-29

基金项目: “十四五”国家重点研发计划课题(2022YFD2200103), 国家自然科学基金面上项目(32471905), 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项重点项目(CAFYBB2022ZA001)。

第一作者: 魏黔春。主要研究方向: 古树长寿机制。Email: 675801545@qq.com 地址: 100091 北京市海淀区东小府1号中国林业科学研究院林业研究所。

责任作者: 常二梅, 博士, 研究员。主要研究方向: 古树长寿机制。Email: changem@caf.ac.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

the contents of phenolic acids and flavonoids in the cuttings were measured to compare the effects of phenolic acids and flavonoids produced during the rooting process of cuttings of *P. orientalis* trees of different ages from June on the rooting process. Screening different removal methods was to identify the optimal approach for eliminating inhibitors from 100-year-old *P. orientalis* cuttings. [Result] (1) The rooting rates and root numbers of ancient *P. orientalis* trees (100-, 300-, and 700-year-old) were significantly lower than those of young *P. orientalis* trees (5-year-old) ( $P < 0.05$ ). (2) The inhibitory effects of extracts from 100-, 300-, and 700-year-old *P. orientalis* cuttings on cabbage seed germination in March were significantly higher than that in June ( $P < 0.05$ ). As the ages of trees increased, the inhibitory effects of extracts of cuttings on inhibiting the germination of cabbage seeds increased. (3) The contents of phenolic acids and flavonoids in *P. orientalis* cuttings from June were generally low. In the experimental materials from March and June, the contents of rutin, salicylic acid, gallic acid, coumaric acid, and ferulic acid generally showed an increasing trend with the increase of age of *P. orientalis*. In the experimental materials from June, the phenolic acid and flavonoid contents of 5-, 100-, 300-, and 700-year-old *P. orientalis* cuttings showed an increasing trend with the development of rooting process. (4) Treating cuttings of ancient *P. orientalis* with 0.1% silver nitrate solution can promote the formation of adventitious roots, and treating them with 0.05% potassium permanganate solution can promote root development. [Conclusion] As the age of *P. orientalis* grows, the phenolic acid and flavonoid contents of cuttings increase, which have inhibitory effects on the formation of adventitious roots. However, treatment of *P. orientalis* cuttings with 0.1% silver nitrate or 0.05% potassium permanganate can effectively alleviate this inhibitory effect and improve the rooting rates of *P. orientalis* cuttings. The study provides theoretical basis and technical support for improving rooting rates.

**Key words:** *Platycladus orientalis*; ancient tree; cuttings; inhibitors; rooting

扦插繁殖是一种简便高效的林木种质资源保存方法。其操作简便、周期短、繁殖效率高,能够在林木繁殖过程中高度遗传并保持母株的优良特性,因此被广泛用于优质林木遗传资源(如珍稀长寿基因和抗逆基因)的保存<sup>[1-2]</sup>。目前,林木扦插生根机理的研究侧重于生理、生化等方面,揭示了插穗的营养水平、酶活性、内源激素变化等与生根的关系<sup>[3-4]</sup>。然而,对于抑制林木扦插生根的物质研究还鲜有报道。

扦插生根抑制物是指在植物扦插繁殖过程中,阻碍或抑制插穗根系形成和生长的化学物质,如激素(脱落酸、乙烯等)、代谢物(酚酸、类黄酮和生长抑制剂等)<sup>[5]</sup>。林木插穗中的抑制物含量受树种和树龄的影响<sup>[6]</sup>,如樱桃(*Prunus* spp.)插穗中的酚类物质(芦丁、香草酸、表儿茶素、咖啡酸和芥子酸)含量较高,导致扦插生根率低<sup>[7]</sup>。在巨桉(*Eucalyptus grandis*)插穗中发现了3种与单元酚相近的生根抑制物<sup>[8]</sup>。在落叶松(*Larix kaempferi*)扦插过程中,邻苯二酚、对羟基苯甲酸、儿茶酸、阿魏酸和没食子酸含量在难生根的无性系中均高于易生根无性系,且在扦插过程中逐渐减少,表明这些物质在生根过程中具有抑制作用<sup>[9]</sup>。

树龄的增长会导致抑制物含量的增加,这也是影响林木扦插生根能力的重要因素之一。如苯酚类和类黄酮含量随马尾松(*Pinus massoniana*)、紫杉(*Taxus cuspidata*)、核桃楸(*Juglans mandshurica*)树龄

增长而逐渐积累,从而对扦插生根产生抑制作用<sup>[10-12]</sup>。有研究表明,通过使用酒精、高锰酸钾、硝酸银和抗酚剂等溶液处理,以及机械处理,可以去除插穗中的部分抑制物,从而提高其生根率<sup>[13-15]</sup>。

古树具有较强的气候和土壤适应能力,是林木用材、困难立地造林和园林美化等方面的优良种质资源<sup>[1-2]</sup>。侧柏(*Platycladus orientalis*)是我国重要的长寿树种之一,在陕西、河南和山西等地分布着寿命长达数百年甚至数千年的侧柏古树<sup>[16-17]</sup>。然而,侧柏古树扦插繁殖中存在生根时间长、生根率低的问题<sup>[4]</sup>,这严重限制了古树的繁殖效率和数量,不利于古树优良基因保存和生态功能的发挥。目前,针对侧柏古树扦插过程中类黄酮和酚酸物质含量及其影响的研究仍较少。本文在3月份和6月份选取树龄为5、100、300和700年生的侧柏母树的插穗进行扦插,研究不同树龄、不同扦插季节以及扦插过程中类黄酮和酚酸物质对侧柏生根的影响,为提高林木扦插生根率和保留古树优良种质资源提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取中国林业科学研究院和北京植物园内树龄约为5、100、300和700年生(根据古树树龄记载)的侧柏母树,其中以5年生侧柏作为对照试验材料。

在 3 月份、6 月份分别采集各林龄生长健壮、无病虫害的新梢。不同部位插穗试验采取 5、100、300 和 700 年生侧柏古树的东、南、西、北的上和下 8 个方位的枝条,截成 10~15 cm 长的插穗,在离芽 1.0~1.5 cm 处的基部斜切。每个处理 25 个插穗,3 次重复。插穗用质量浓度为 1 000 mg/L 的溶液( $m_{\text{NAA}}:m_{\text{IBA}} = 1:1$ )浸泡处理 1 min。使用轻基质网袋容器,基质选用体积比为 2:8 的泥炭和珍珠岩的混合物。扦插试验在中国林业科学研究院内的全光照喷雾插床中进行,管理参照杜常健等<sup>[18]</sup>研究。

根据前期实验观察到的扦插过程中插穗基部的形态变化,本文将 5、100、300 和 700 年生侧柏母树的插穗中的 3 个不定根形成过程进行设定,扦插试验当天设为第 0 天(S1)、愈伤组织形成期设为第 45 天(S2)和不定根形成期设为第 90 天(S3)。对每个重复随机选取插穗进行样本取材。拔出插穗后,用蒸馏水冲洗干净,滤纸擦干,迅速剥取插穗基部 0.5 cm(除去木质部),剪碎混匀后保存。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 不同季节的不同树龄侧柏插穗的浸提液对白菜籽发芽的影响

在 3 月份、6 月份分别取 5、100、300 和 700 年生侧柏的插穗。在 S1 阶段时采取除木质部外的组织 0.2 g,液氮研磨成粉末,放入 6 mL 的 80% 甲醇提取液中,用超声波浸提 2 h。将所得浸提液定容至 3 mL,然后稀释至浸提液原浓度的 0%(CK)、25%、50%、100%,分别导入培养皿,待溶液蒸干后加入 2 mL 蒸馏水,每个处理重复 3 次。在每个培养皿中放置 50 粒白菜种子,置于 25 °C 光照培养箱中进行培养和观察,3 d 后统计发芽率。

### 1.2.2 树龄对侧柏扦插生根的影响

在 6 月份分别开展 5、100、300 和 700 年生侧柏母树扦插试验,3 个月后统计生根率和生根数,分别

取平均值。

### 1.2.3 内源生根抑制物的测定

采用高效液相色谱法(HPLC)(Agilent 1100, 美国 Agilent 公司)测定内源生根抑制物,包括类黄酮(芦丁和槲皮素)和酚酸物质(水杨酸、香豆酸、苯酚、阿魏酸、没食子酸、邻苯二酚)。

### 1.2.4 不同种类酚酸、类黄酮物质含量在不同季节的变化

在 3 月份和 6 月份,以母树树龄为 5、100、300 和 700 年生侧柏在 S1 阶段时插穗为试验材料,测定类黄酮(芦丁和槲皮素)和酚酸物质(水杨酸、香豆酸、苯酚、阿魏酸、没食子酸、邻苯二酚)的含量。

### 1.2.5 扦插过程中不同种类酚酸、类黄酮的含量的变化

在 6 月份进行扦插后,以母树树龄为 5、100、300 和 700 年生侧柏在 S1、S2 和 S3 阶段时插穗为试验材料,测定类黄酮(芦丁和槲皮素)和酚酸物质(水杨酸、香豆酸、苯酚、阿魏酸、没食子酸、邻苯二酚)的含量。

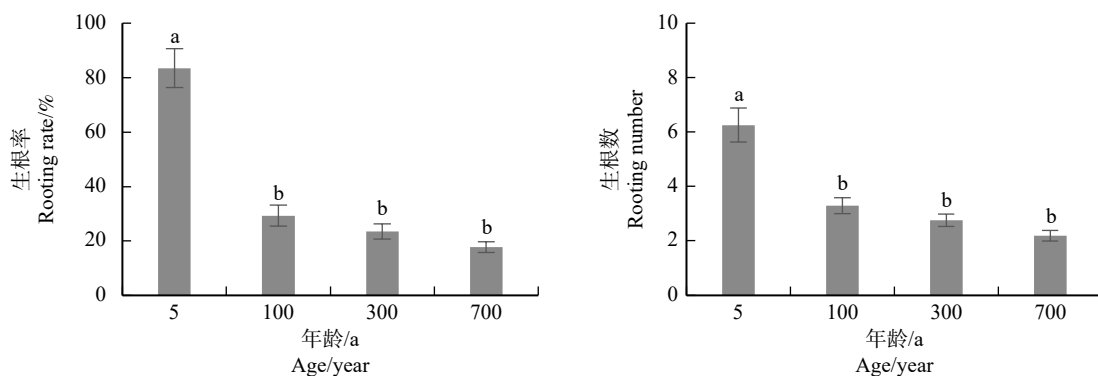
### 1.2.6 清除内源生根抑制物对扦插生根的影响

在 6 月份,选取 100 年生的侧柏插穗为试验材料,分别用 0.1% 硝酸银、0.1% 醋酸、2% 乙醇溶液进行 20 h 处理,分别用温水、洗洁精溶液处理 3 h,用 0.05% 高锰酸钾溶液处理 15 min。每个处理设 25 个插穗、3 次重复。其他步骤同扦插试验。

## 2 结果与分析

### 2.1 树龄对侧柏扦插生根的影响

本文研究了树龄对侧柏扦插生根率和生根数的影响。结果表明在 6 月份的扦插试验中,5 年生侧柏扦插的生根率和生根数分别为 83.5% 和 6.12; 100、300 和 700 年生侧柏扦插生根率分别为 19.31%、13.54% 和 7.78%,生根数分别为 3.21、2.84 和 2.24 (图 1)。5 年生侧柏扦插的生根率和生根数显著高



不同小写字母代表处理之间在 0.05 水平存在显著性差异。下同。Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level. Same as below.

图 1 树龄对侧柏扦插生根的影响

Fig. 1 Effects of tree age on rooting of *Platycladus orientalis* cuttings

于100、300和700年生( $P < 0.05$ )。随着树龄增加,生根能力显著下降,而100、300和700年生的扦插生根率和生根数没有显著差异( $P > 0.05$ )。

## 2.2 不同季节和不同树龄侧柏插穗的浸提液对白菜籽发芽的影响

进一步探讨不同树龄和季节侧柏插穗浸提液对扦插生根的影响,研究结果表明除了CK外,3月份和6月份的侧柏插穗浸提液随着浓度的增加,白菜种子的发芽率均呈下降趋势。同时,随树龄增长,发芽率总体上呈现降低的趋势。尤其是浸提液占比为25%和50%时,来自300和700年生侧柏插穗的浸提液处理过的白菜籽的发芽率显著低于5年生侧柏插穗的浸提液处理过的白菜籽( $P < 0.05$ )(表1,2)。总体来看,6月份的白菜籽的发芽率高于3月份,因此在6月份对侧柏古树进行扦插能够取得较好的效果。

表1 3月份不同树龄侧柏不同插穗浸提液占比对白菜籽发芽率的影响

Tab. 1 Effects of extraction solution with different proportions from *Platyclusus orientalis* cuttings of different ages on germination rates of cabbage seeds in March

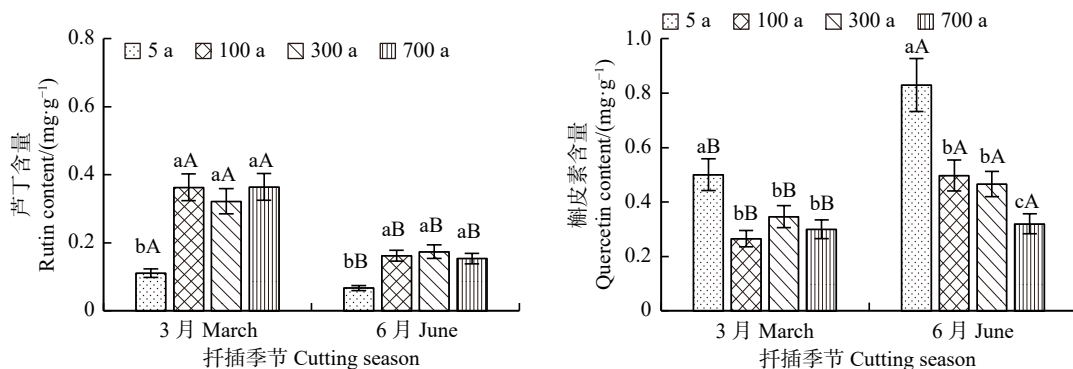
树龄/a Tree age/year	0(CK)	25%	50%	100%	%
5	96.67 ± 1.33a	86.63 ± 7.05a	82.69 ± 6.37a	76.67 ± 6.66a	
100	96.67 ± 1.35a	71.33 ± 7.23ab	70.00 ± 7.34ab	61.00 ± 7.22b	
300	96.67 ± 1.38a	70.67 ± 6.87b	61.33 ± 6.59b	60.67 ± 6.13b	
700	96.67 ± 1.33a	66.67 ± 7.15b	62.67 ± 6.78b	58.67 ± 5.93b	

注:不同小写字母表示同一浸提液占比不同年龄间发芽率存在显著差异( $P < 0.05$ )。下同。Notes: different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level between cuttings of different ages under the same proportion of extraction solution. The same below.

表2 6月份不同树龄侧柏不同插穗浸提液占比对白菜籽发芽率的影响

Tab. 2 Effects of cabbage seeds treated with different proportion extraction solutions from cuttings propagated from *P. orientalis* at different ages on germination rates in June

树龄/a Tree age/year	0(CK)	25%	50%	100%	%
5	96.60 ± 1.81a	88.15 ± 8.62a	83.47 ± 6.94a	78.67 ± 5.97a	
100	96.60 ± 1.81a	73.33 ± 7.16b	72.00 ± 7.25ab	65.00 ± 6.26b	
300	96.60 ± 1.81a	73.67 ± 7.10b	68.33 ± 5.92b	65.67 ± 6.29b	
700	96.60 ± 1.81a	72.67 ± 7.13b	65.67 ± 6.97b	63.67 ± 6.16b	



不同大写字母表示不同生根阶段在同一树龄的差异显著( $P < 0.05$ );不同小写字母表示不同树龄在同一生根阶段间差异显著( $P < 0.05$ )。下同。Different capital letters indicate significant differences among varied rooting stages in same tree age ( $P < 0.05$ ); different lowercase letters indicate significant differences among varied tree ages in same stage ( $P < 0.05$ ). Same as below.

图2 不同树龄侧柏在不同季节类黄酮含量变化

Fig. 2 Changes of flavonoids contents of *P. orientalis* at different ages in varied seasons

苯酚、水杨酸、没食子酸和邻苯二酚。结果发现 3 月份 5、100、300、700 年生侧柏插穗的香豆酸、水杨酸含量均高于 6 月份,特别是 3 月份 700 年生侧柏插穗的水杨酸、香豆酸含量较高,分别为 40.47 和 111.05 mg/g(图 3)。3 月份 5、100、700 年生侧柏插穗的阿魏酸、没食子酸、邻苯二酚含量均显著高于 6 月份( $P < 0.05$ )。以上数据表明,3 月份侧柏插穗的酚酸含量大多高于 6 月份,生长旺盛期的各种酚酸和类黄酮物质含量减少,说明 6 月份的枝条更适合侧柏古树扦插。5、100、300、700 年生侧柏插穗香豆酸、水杨酸和邻苯二酚在 3 月份和 6 月份总体上呈现升高的趋势,这说明古树插穗的木质化程度较高,在不同季节中均具有较强的酚酸合成能力,可能与古树抗氧化和防御机制更强相关。

### 2.5 扦插过程中不同种类酚酸、类黄酮的含量的变化

林木插穗中含有过量的酚酸和类黄酮对不定根形成具有抑制作用<sup>[19]</sup>。结果表明 100、300、700 年生侧柏插穗的芦丁含量在 S1、S2 和 S3 都显著高于 5 年生( $P < 0.05$ ),5、100、300、700 年生侧柏扦插

过程中芦丁含量随着生根阶段总体上呈上升趋势(图 4),且在 S3 阶段达到峰值,分别为 0.20、0.60、0.88 和 0.90 mg/g,这表明芦丁对侧柏古树的生根具有抑制作用。而 5 年生侧柏插穗的槲皮素含量在 S3 时显著高于 100、300、700 年生侧柏( $P < 0.05$ ),为 1.49 mg/g。

### 2.6 扦插过程中不同种类酚酸、类黄酮的含量的变化

不同树龄的酚酸含量在侧柏扦插生根过程的影响研究表明,300、700 年生侧柏扦插过程中 S2 和 S3 的香豆酸含量显著高于 5 年生侧柏插穗(图 5)。100、300、700 年生侧柏插穗的水杨酸、邻苯二酚含量随生根进程显著上升,并且在 S1、S2 和 S3 显著高于 5 年生侧柏插穗( $P < 0.05$ )。没食子酸的含量随树龄升高总体上呈现升高的趋势。除此之外,5 年生侧柏插穗的苯酚、阿魏酸含量在 S1 时显著高于 100、300、700 年生侧柏古树插穗。结果说明香豆酸、水杨酸、没食子酸和邻苯二酚)的含量随年龄增加总体上呈现增加趋势。

不同生根阶段的酚酸含量对侧柏扦插的影响研

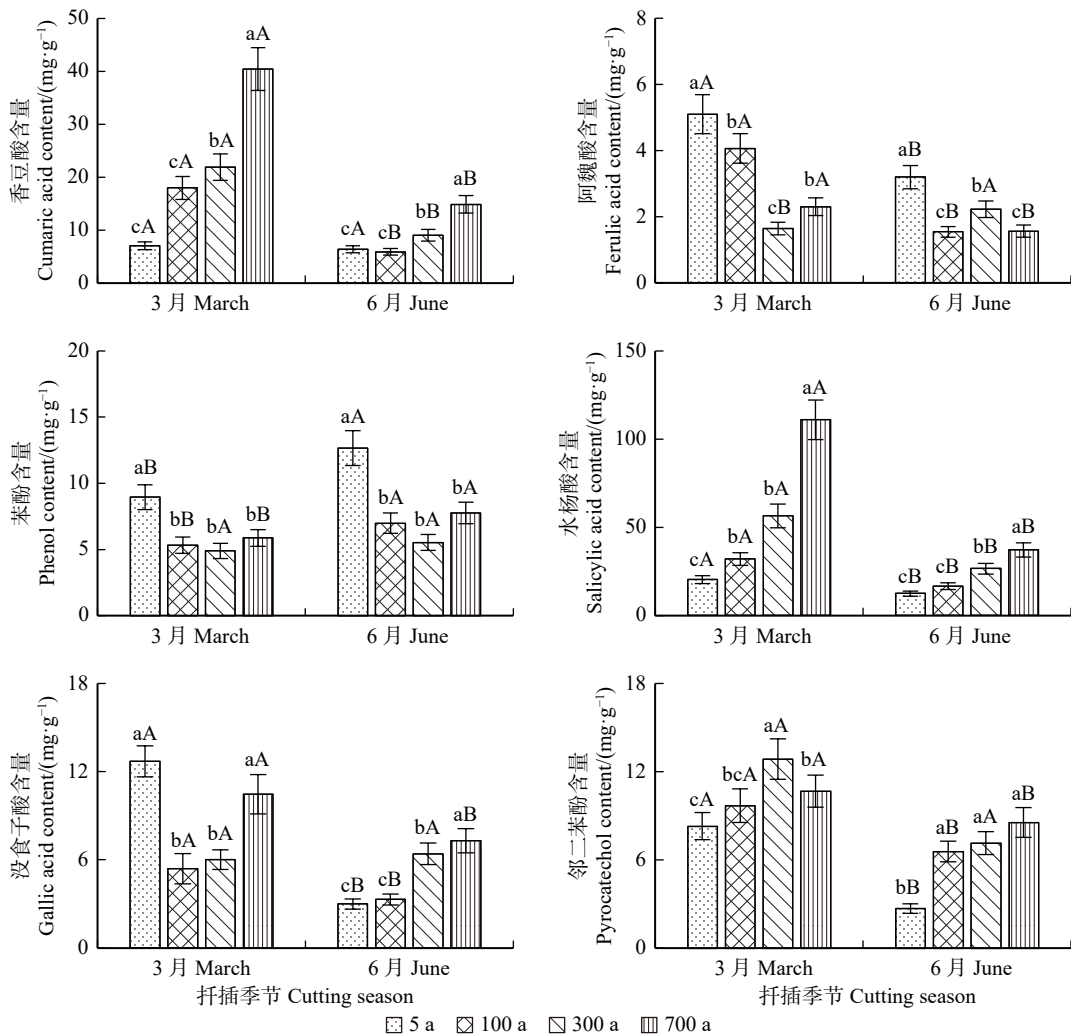
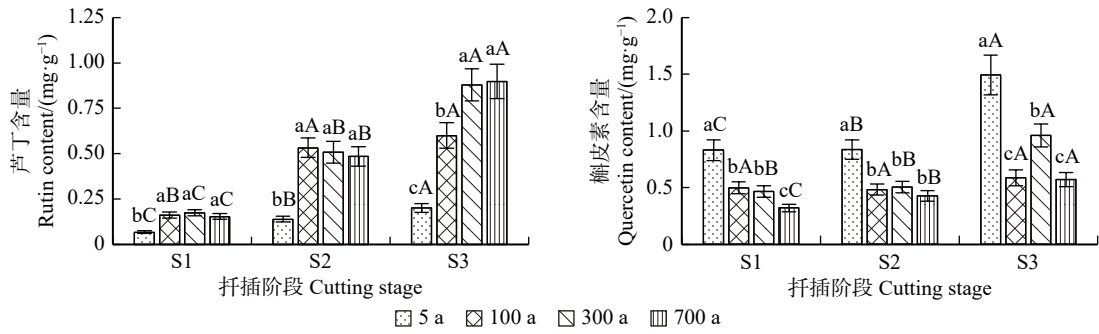


图 3 不同树龄侧柏在不同季节酚酸含量变化

Fig. 3 Changes of phenolic acid contents of *P. orientalis* at different ages in varied seasons



S1 为扦插试验当天, S2 为愈伤组织形成期(第 45 天), S3 为不定根形成期(第 90 天)。下同。S1 refers to the day of cutting experiment, S2 refers to callus formation period (the 45th day), and S3 refers to the adventitious root formation period (the 90th day). The same below.

图 4 不同树龄侧柏扦插过程中类黄酮含量变化

Fig. 4 Changes of flavonoid content during rooting process of cuttings propagated from *P. orientalis* at different ages

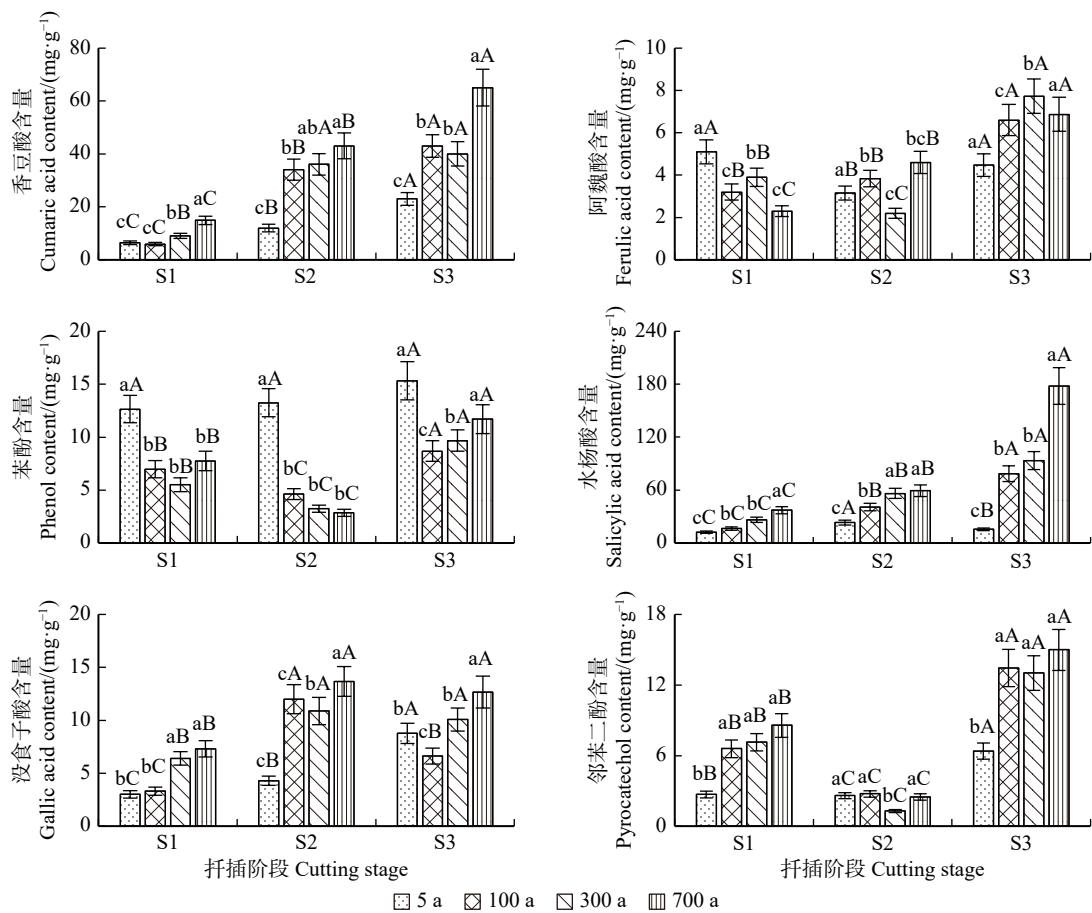


图 5 不同树龄侧柏扦插过程中酚酸含量变化

Fig. 5 Changes of phenolic acid content during rooting process of cuttings propagated from *P. orientalis* at different ages

究结果表明, 5、100、700 年生侧柏插穗的香豆酸含量随生根进程(S1 ~ S3)显著上升( $P < 0.05$ )。100、300、700 年生侧柏插穗的阿魏酸、苯酚含量在 S3 显著高于 S1 和 S2, 而 5 年生侧柏插穗的苯酚含量在 3 个生根时期没有显著变化。S2 和 S3 时 5、100、300、700 年生侧柏插穗的没食子酸含量显著高于 S1 时的含量; S3 时 5、100、300、700 年生侧柏插穗的邻苯二酚含量显著高于 S1、S3 时的含量。结果表明酚酸物质含量随生根阶段(S1 ~ S3)的进展显著

增加, 尤其是在 700 年生插穗中的 S3 阶段, 表明年龄较大的插穗在生根过程中会积累更多的酚类化合物。

## 2.7 清除内源生根抑制物对扦插生根的影响

清除 100 年生侧柏插穗的内源生根抑制物的试验结果显示, 不同清除抑制物方式对扦插生根结果存在显著差异( $P < 0.05$ )(表 3)。使用 0.1% 硝酸银、清水、0.05% 高锰酸钾处理 100 年生侧柏插穗能显著提高扦插生根率, 生根率分别为 26.55%、22.97%、

表 3 清除抑制物对 100 年生侧柏古树扦插生根的影响

Tab. 3 Effects of removing inhibitors on rooting rates of cuttings of 100 years old ancient *P. orientalis*

清除方式 Clear method	处理时间 Treating time/h	生根率 Rooting rate/%	生根数 Rooting number	最长根长 Max. root length/cm
0.1% AgNO <sub>3</sub>	20	26.55 ± 2.66a	5.13 ± 0.48a	1.68 ± 0.22a
0.1% CH <sub>3</sub> COOH	20	19.25 ± 2.28b	2.52 ± 0.23c	1.24 ± 0.29b
2% EtOH	20	21.14 ± 3.24b	3.78 ± 0.39b	1.57 ± 0.19ab
水 Water	3	22.97 ± 2.98ab	3.16 ± 0.46bc	1.52 ± 0.21ab
洗洁精 Abluent	3	18.52 ± 2.72b	3.59 ± 0.77b	1.17 ± 0.26b
0.05% KMnO <sub>4</sub>	0.25	23.63 ± 2.91ab	5.44 ± 0.69a	1.95 ± 0.23a

注:不同小写字母表示不同清除方法之间存在显著差异( $P < 0.05$ )。Note: different lowercase letters indicate significant differences at 0.05 level between removal methods.

23.63%, 高于用 0.1% 醋酸、2% 乙醇、洗洁精处理后的生根率。此外, 0.1% 硝酸银和 0.05% 高锰酸钾处理 100 年生侧柏插穗能提高扦插生根数, 生根数分别为 5.13 和 5.44, 高于其他方法处理后的生根率。0.1% 硝酸银和 0.05% 高锰酸钾处理插穗后扦插生根效果较好, 说明适合的方法能清除侧柏古树的内源抑制物, 提高扦插生根率。

### 3 讨 论

林木的树龄和季节是影响扦插生根的重要因素<sup>[4]</sup>。本研究发现随树龄的增加, 侧柏扦插生根率降低, 这与马尾松、桉树等林木扦插生根的结果一致<sup>[10,20]</sup>。同时, 插穗的浸提液抑制白菜种子发芽的作用增强, 与沉水樟和核桃楸等林木的研究结果相似<sup>[5,12]</sup>。而侧柏插穗的水杨酸、香豆酸等酚酸物质在 3 月份的含量普遍高于 6 月份。因此, 6 月份较适合侧柏古树扦插, 这与荷花玉兰(*Magnolia grandiflora*)扦插的最佳时间同期<sup>[6]</sup>。这主要是因为 6 月份插穗生长旺盛, 营养物质(可溶性和淀粉)含量高, 次生物质(酚酸和类黄酮)含量少, 木质化程度低<sup>[9]</sup>。本研究根据树龄和季节对林木扦插生根的重要性, 选择适宜的季节进行插穗扦插有助于提高生根率。

当插穗中的酚酸化合物含量较高时, 扦插不定根的形成受阻<sup>[21]</sup>。随着树龄增长, 侧柏古树(100、300、700 年生)插穗的芦丁和水杨酸等酚酸和类黄酮物质含量升高, 这表明古树扦插生根率低可能与侧柏古树插穗木质化程度高导致的酚酸和类黄酮物质积累有关<sup>[9]</sup>。牛樟(*Cinnamomum kanehirae*)插穗在木质素含量高时, 不定根形成困难<sup>[22]</sup>。樱桃(*Prunus* spp.)插穗木质化程度高时, 酚酸物质(芦丁、香草酸、表儿茶素、咖啡酸和芥子酸)含量也高, 而扦插生根率却比较低, 与本文的研究结果相似<sup>[7]</sup>。这些抑制物在树龄较大的侧柏插穗中的含量普遍较高, 进一步说明了抑制物(酚酸和类黄酮)是导致古树难生

根的关键因素之一。

酚酸类物质的积累与植物抵御胁迫有关, 但也对扦插生根具有抑制作用。在生根的不同阶段(S1 ~ S3), 各种酚类化合物(如水杨酸、没食子酸和邻苯二酚)的含量随生根的进程显著增加, 700 年生侧柏的插穗在 S3 阶段的酚酸含量显著高于其他年龄组。水杨酸作为逆境内源信号参与植物的抗性, 是侧柏插穗在扦插过程中受到病菌侵染产生的应激反应物质。侧柏古树(100、300、700 年生)的插穗在 S3 阶段水杨酸含量较高, 使愈伤组织趋于成熟生长, 再分化能力降低<sup>[23]</sup>。如巴拉圭冬青(*Ilex paraguariensis*)插穗在高光照胁迫下总酚含量升高, 但是生根率却降低<sup>[24]</sup>。这主要是因为胁迫条件下, 插穗中的酚酸和类黄酮物质积累增加, 这些物质不仅具有增加细胞壁厚度、提高细胞刚性的作用, 还会抑制扦插不定根形成。因此, 未来的研究可以重点关注通过调控类黄酮和酚酸物质的含量来提高林木插穗的生根能力。

有些酚酸和类黄酮物质可能对林木扦插生根起到促进作用。本研究显示, 6 月份 5 年生侧柏插穗中槲皮素和阿魏酸含量高, 说明在幼嫩的植物组织中有些种类的酚酸含量高, 这与苦丁茶(*Ilex kudingcha*)嫩叶比老叶中的槲皮素含量高的结果相似<sup>[25]</sup>。5 年生侧柏插穗在生根阶段槲皮素和邻苯二酚的含量增加, 这可能是由于槲皮素可保护吲哚乙酸(IAA)免受羧化作用的伤害, 从而促进生根。在 *Rosa bourboniana* 嫩枝扦插过程中, 高浓度的酚类促进不定根发生<sup>[26]</sup>, 这主要是因为酚酸在不定根形成过程中能提高插穗抗逆能力。蛇足石杉(*Huperzia serrata*)插穗中 IAA、儿茶酚、绿原酸、阿魏酸的含量与 PPO、POD 的活性正比时促进扦插生根<sup>[27]</sup>。这些不同种类的酚酸和类黄酮物质对扦插生根的影响还需要进一步研究。

通过清除插穗中抑制物(如酚酸和类黄酮), 能

够提高侧柏扦插的生根率<sup>[28]</sup>。本研究发现,使用0.1%的硝酸银或0.05%的高锰酸钾溶液处理侧柏插穗,能有效促进不定根的形成。这与使用0.2%硝酸银溶液处理弗吉尼亚栎(*Quercus virginiana*)插穗、3%乙醇与0.5%高锰酸钾的组合处理马尾松插穗能获得良好的生根效果相似<sup>[29]</sup>。因此,需要进一步筛选和优化清除插穗抑制物的对比试验,以获得较好的生根效果。

## 4 结 论

综上所述,随着树龄的增长,5、100、300、700年生侧柏扦插生根的能力下降,表明树龄与扦插生根能力呈负相关关系。同时,侧柏插穗的浸提液抑制白菜种子发芽的作用增强。除了槲皮素和苯酚外,100、300、700年生侧柏的酚酸和类黄酮物质含量大都高于5年生侧柏。除了槲皮素和阿魏酸外,3月份的酚酸和类黄酮物质含量普遍高于6月份。随着生根阶段(S1~S3)的推进,酚酸含量显著增加,尤其在700年树龄插穗的S3阶段,年龄较大的母树插穗在生根过程中会积累更多的酚类化合物。使用0.1%的硝酸银处理侧柏插穗后生根率和生根数量较高,而0.05%的高锰酸钾处理后插穗不定根的长度增长。本文通过研究不同树龄侧柏插穗的酚酸和类黄酮物质的作用以及清除方法,为提高林木的扦插生根率提供了理论依据。

### 参 考 文 献

- [1] Chang E M, Tian Y X, Wang C Y, et al. Exploring the phylogeography of ancient *Platycladus orientalis* in China by specific-locus amplified fragment sequencing[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(16): 3871.
- [2] 岳剑云, 杜常健, 纪敬, 等. 银杏枝条部位和年龄对不定根形成的影响及其与非结构碳水化合物含量的关系[J]. 林业科学研究, 2018, 31(5): 153-158.
- Yue J Y, Du C J, Ji J, et al. Effects of different position and ages of twigs on cutting of *Ginkgo biloba* and its relationship with non-structural carbohydrates[J]. Forest Research, 2018, 31(5): 153-158.
- [3] 杜常健, 孙佳成, 陈炜, 等. 侧柏古树实生树和嫁接树的扦插生理和解剖特性比较[J]. 林业科学, 2019, 55(9): 41-49.
- Du C J, Sun J C, Chen W, et al. Comparison of physiological and anatomical characteristics between seedlings and graftings derived from old *Platycladus orientalis*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2019, 55(9): 41-49.
- [4] 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 Q C, Jiang Z P, Liu J F, 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.
- [5] 邹显花, 胡亚楠, 孙雪莲, 等. 基于非靶向代谢组学的沉水樟同源生根抑制物分析[J]. 林业科学研究, 2020, 33(5): 86-96.
- Zou X H, Hu Y N, Sun X L, et al. Analysis of endogenous rooting inhibitors in *Cinnamomum micranthum* based on non-targeted metabolomics approach[J]. Forest Research, 2020, 33(5): 86-96.
- [6] Schuler J L, McCarthy W. Development of eastern cottonwood cuttings as modified by cutting length and surface area available for rooting[J]. New Forests, 2015, 46: 547-559.
- [7] Trobec M, Štampar F, Veberič R, et al. Fluctuations of different endogenous phenolic compounds and cinnamic acid in the first days of the rooting process of cherry rootstock 'GiSeIA 5' leafy cuttings[J]. Journal of Plant Physiology, 2005, 162(5): 589-597.
- [8] Nicholls W, Crow W D, Paton D M. Chemistry and physiology of rooting inhibitors in adult tissue of *Eucalyptus grandis*[C]// Carr D J. Plant growth substances. Berlin: Springer, 1972: 324-329.
- [9] 麻文俊, 王军辉, 张守攻, 等. 日本落叶松无性系扦插生根过程中多酚类物质研究[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(1): 150-154.
- Ma W J, Wang J H, Zhang S G, et al. Qualitative analysis of phenolic compounds in the Japanese larch during the rooting of cuttings[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2011, 33(1): 150-154.
- [10] 季孔庶, 王章荣, 陈天华, 等. 马尾松插穗内源抑制物质的研究[J]. 林业科学, 1997, 33(2): 47-56.
- Ji K S, Wang Z R, Chen T H, et al. Study on the endogenous inhibitors in masson pine (*Pinus Massoniana* Lamb.) cuttings[J]. Scientia Silvae Sinicae, 1997, 33(2): 47-56.
- [11] 程广有. 紫杉插穗中生根抑制物的鉴定[J]. 北华大学学报, 2000, 1(2): 163-166.
- Cheng G Y. Determination of rooting-inhibitor in cutting of *Taxus cuspidata*[J]. Journal of Beihua University (Natural Science), 2000, 1(2): 163-166.
- [12] 徐程扬, 张忠辉, 李绍臣. 核桃楸枝条、插穗中生根抑制物质的含量[J]. 吉林林学院学报, 1998, 14(4): 28-31.
- Xu C Y, Zhang Z H, Li S C. Dynamic state of rooting inhibitor in branches and cuttings of *Juglans mandshurica*[J]. Journal of Jilin Forestry University, 1998, 14(4): 28-31.
- [13] 魏黔春. 侧柏古树扦插繁殖技术与生根机理研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2015.
- Wei Q C. Cutting propagation technique and rooting mechanism of old *Platycladus orientalis*[D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry, 2015.
- [14] 林海球, 龙腾, 莫晓勇. 抗酚剂对桉树扦插生根的影响研究[J]. 林业科学研究, 2000, 13(1): 86-92.
- Lin H Q, Long T, Mo X Y, et al. Study on the effects of antyphen on rooting of eucalyptus cuttings[J]. Forest Research, 2000, 13(1): 86-92.
- [15] 丁占发. 插穗生根的技术措施探讨[J]. 现代农业科技, 2012, 582(16): 197.

- Ding Z F. Discussion on technical measures for rooting of cuttings[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2012, 582(16): 197.
- [16] Chang E M, Zhang J, Deng N, et al. Transcriptome differences between 20- and 3, 000-year-old *Platycladus orientalis* reveal that ROS are involved in senescence regulation[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2017, 29: 68–77.
- [17] Chang E M, Zhang J, Yao X M, et al. De novo characterization of the *Platycladus orientalis* transcriptome and analysis of photosynthesis-related genes during aging[J]. *Forests*, 2019, 10(5): 393.
- [18] 杜常健, 孙佳成, 韩振泰, 等. 板栗扦插生根过程的解剖结构和生理变化研究 [J]. *西北植物学报*, 2019, 39(11): 1979–1987.
- Du C J, Sun J C, Han Z T, et al. Study on changes of anatomical structure and physiology during cuttings rooting of *Castanea mollissima*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(11): 1979–1987.
- [19] 廖静. 三种观赏植物水培机制与技术研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2006.
- Liao J. Study on hydroponics theory and technology of three ornamentals[D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2006.
- [20] 刘卫东, 周莹, 孙汉洲. 桉树扦插生根过程中抑制物的研究 [J]. *经济林研究*, 1998, 16(4): 16–19, 73.
- Liu W D, Zhou Y, Sun H Z. Studies on the inhibitory substances in the rooting process of cuttage *Eucalyptus*[J]. *Economic Forest Reseaches*, 1998, 16(4): 16–19, 73.
- [21] Faivre-Rampant O, Charpentier J P, Kevers C, et al. Cuttings of the non-rooting rac tobacco mutant overaccumulate phenolic compounds[J]. *Functional Plant Biology*, 2002, 29(1): 63–71.
- [22] Legué V, Rigal A, Bhalerao R P. Adventitious root formation in tree species: involvement of transcription factors[J]. *Physiologia Plantarum*, 2014, 151(2): 192–198.
- [23] Vermerris W, Nicholson R. Isolation and identification of phenolic compounds[M]// *Phenolic compound biochemistry*. Dordrecht: Springer, 2008: 151–196.
- [24] Tarragó J, Filip R, Mroginski L, et al. Influence of the irradiance on phenols content and rooting of *Ilex paraguariensis* cuttings collected from adult plants[J]. *Acta Physiologiae Plantarum*, 2012, 34(6): 2419–2424.
- [25] 黄雪梅, 蒙大平. 广西苦丁茶嫩叶和老叶中槲皮素和山柰素的含量测定 [J]. *中国现代应用药学*, 2005, 22(5): 32–34.
- Huang X M, Meng D P. Determination of quercetin and kaempferol in the burgeon leaves and old leaves of Guangxi Kudingcha[J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy*, 2005, 22(5): 32–34.
- [26] Balakrishnamurthy G, Rao V N M. Changes in phenols during rhizogenesis in rose (*Rosa bourboniana* Desp)[J]. *Current Science*, 1988, 57(17): 960–962.
- [27] 李娜, 陈钧, 朱大元. 土壤微生物影响蛇足石杉扦插生根的机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2007, 32(23): 2478–2481.
- Li N, Chen J, Zhu D Y. Mechanism of effects of soil microbes on cuttings rooting of *Huperzia serrata*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2007, 32(23): 2478–2481.
- [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. Studies on the cutting propagation technology and rooting mechanism of *Liriodendron chinese* × *L. tulipifera*[D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2009.
- [29] 李永进, 丁贵杰, 全红梅, 等. 插穗直径和洗脱处理对马尾松插穗生根的影响 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2008, 91(1): 104–107.
- Li Y J, Ding G J, Quan H M, et al. Effects of cutting diameter and different elution treatments on the rooting rate of *Pinus massoniana*[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2008, 91(1): 104–107.

(责任编辑 赵田芸  
责任编辑 孟平)