

## ABA 抑制花生侧根发生

戴艳红<sup>1</sup>, 郭栋梁<sup>1,2</sup>, 李玲<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>华南师范大学生命科学学院, 广东省植物发育生物工程重点实验室, 广州 510631; <sup>2</sup>广东省农业科学院果树研究所, 广州 510640

**摘要:** 本实验研究了 ABA 对花生侧根发生的影响。结果表明: 用 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 浸泡处理花生种子 1 h 或在含 ABA 的培养基上培养, 均抑制侧根的发生, 侧根发生率降低, 数目减少, 长度降低, 发生的时间推迟 1~2 d; 用 ABA 合成抑制剂 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NAPR 浸泡后的种子, 无论在 1/2MS 还是在含 NAA 培养基上培养, 侧根发生率、侧根数目和长度均增加。用 NAA 的极性运输抑制剂 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  TIBA 浸泡处理种子后, 再在含 ABA 培养基上培养, 侧根不发生, 说明 ABA 抑制花生侧根的发生与种子内源 ABA 和 IAA 的水平相关。

**关键词:** ABA; 花生; 侧根发生

## The Inhibition Effect of ABA on Lateral Root Formation of Peanut

DAI Yan-Hong<sup>1</sup>, GUO Dong-Liang<sup>1,2</sup>, LI Ling<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Guangdong Key Lab of Biotechnology for Plant Development, College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; <sup>2</sup>Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Science, Guangzhou 510640, China

**Abstract:** In this study, the effect of ABA on the lateral root (LR) formation in peanut has been investigated. ABA treatment of seeds, either by soaking with 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA for 1 h or placed on the 1/2MS medium with ABA, could inhibit lateral root formation, with the decrease in LR formation ratio, in the LR number and in the LR length, and the delayed of LR formation time to 1–2 days. Seeds treated by soaking with 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  naproxen, an inhibitor for ABA biosynthesis, and then grown on the 1/2MS medium or MS medium containing 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA had more LR formation percentage and LR numbers as well as LR lengths than that of the control seeds. No LR formation was observed, when seeds had been treated with 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  TIBA, an IAA transport inhibitor, and then cultured on MS medium containing 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA for 8 days. Above results indicates that the inhibition of ABA on lateral root formation in peanut depends on the levels of endogenous ABA and IAA.

**Key words:** ABA; peanut; lateral roots formation

花生是重要的油料作物和经济作物, 是重要的植物油脂及蛋白质来源, 在农业和国民经济中占重要地位(廖伯寿 2003)。根系发育直接影响植物生长状况, 主根的发生早在胚胎发育过程中就已经被决定, 而侧根(lateral root, LR)的发生会影响植物在不同生长条件下的生活, 与生长环境密切相关, 受植物激素的调控(罗璉等 2008), 影响着植物接触营养和水分, 对农作物来说极为重要(潘瑞焯 2004)。有关侧根发生过程及其激素调控的了解大多源于对拟南芥的研究结果(王树才等 2003)。脱落酸(abscisic acid, ABA)是一种抑制生长发育的植物激素, 具有抑制花生种子萌发和幼苗侧根生长的作用(郭栋梁等 2008)。脱落酸影响花生侧根发生, 在于抑制部分侧根起始基因的表达和侧根分生组织的活

化(郭栋梁和李玲 2008)。已知调控侧根发生和发育的植物激素主要是生长素, 对生长素控制侧根发育的路径和分子机理的认识已经取得了显著的进展(Kim 等 2004; Brocard-Gifford 等 2004)。但是, 脱落酸对花生侧根发生的抑制作用与生长素的关系尚不清楚。

Naproxen (NAPR)是ABA生物合成抑制剂(Lee 和 Milborrow 1997), 生长素类似物萘乙酸(NAA)具有促进植物插枝生根、防止器官脱落等生理功能。2,3,5-三碘苯甲酸(TIBA)能抑制生长素的极性

收稿 2010-08-18 修定 2010-09-30

资助 广东省自然科学基金项目(8151063101000011)。

\* 通讯作者(E-mail: liling502@126.com; Tel: 020-85211378)。

运输(熊国胜等 2009)。本实验研究脱落酸以浸泡或溶解于培养基中处理花生种子对花生侧根发生的影响,同时通过用 ABA 生物合成抑制剂 NAPR 和 IAA 极性运输抑制剂 TIBA 处理,了解内源 ABA 与 IAA 水平的作用,为认识脱落酸对侧根形成的调控提供理论基础。

## 材料与方 法

### 1 材料

花生(*Arachis hypogaea* L.)品种为‘粤油 7 号’,由广东省农业科学院作物研究所提供。筛选同一收获日期、大小接近的花生种子,用 75% 乙醇浸泡 1 min, 10% NaClO<sub>3</sub> 浸泡 10 min, 无菌水泡洗 3 次, 去掉种皮, 取有胚芽的花生子叶置于 1/2MS 培养基表面, 每个培养皿(直径 10 cm)播 8 粒, 分为两排, 在自然光照 16 h·d<sup>-1</sup>, 日温度 26 °C; 夜温度 22 °C 下培养。

ABA 为中国科学院成都生物研究所产品, 90% 可湿性粉剂; NAA 为天津化学试剂厂产品。

### 2 方法

#### 2.1 激素及其抑制剂处理

ABA 的处理浓度为 5、8 和 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , NAA、TIBA 和 NAPR 的处理浓度分别为 5  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 、10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  和 25  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。采用 2 种处理方式: 处理 1, 用激素溶液浸泡种子, 以等量无菌水同时浸泡处理为对照(CK1); 处理 2, 将种子在含有激素的 1/2MS 培养基(3 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 0.8% 琼脂, pH 6.2)上培养, 以不加任何激素的 1/2MS 培养基为对照(CK2)。两种激素或抑制剂协同处理, 即先采用浸泡, 然后置于含激素的培养基中培养。

#### 2.2 侧根发生统计

处理后的种子培养 8 d, 用 Sony 数码相机拍摄

侧根, 用于统计侧根的发生率、发生时间、数目、长度、发生部位(侧根长度以 5 mm 为计)。侧根发生率为发生侧根的种子数占萌发种子数的百分率。以胚轴与胚根交界处为起点, 即远离胚轴侧根的发生位置与靠近胚轴的侧根到胚轴之间的距离(cm)表示侧根分布范围。侧根分布密度为每 cm 侧根分布范围中侧根发生的数目。

以上各项指标单独测定 3 次以上。每次单独实验的每个处理均选择 30 株花生幼苗分别统计测定结果, 用 Excel 软件进行显著性差异分析。

## 实验结果

### 1 ABA 处理对花生侧根发生的影响

不同浓度 ABA 浸泡处理花生种子 1 h, 在 1/2MS 培养基培养 5、8 和 10 d 后, 均抑制侧根的发生, 与对照比较, 侧根发生率降低了 24.7%~74.8%, 数目减少, 长度降低, 发生的时间推迟 1~3 d (表 1)。

用 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 浸泡处理花生种子 1 h, 在 1/2MS 培养基培养 8 d 后, 抑制侧根的发生, 与对照比较, 侧根发生率降低了 74.8%, 数目减少, 长度降低, 发生的时间推迟 2 d (表 2)。用 ABA 生物合成抑制剂 NAPR 浸泡处理, 侧根排列比对照较规整, 侧根长且直, 分布密度增加(图 1、表 2); 侧根发生率、数量和侧根长度都大于 ABA 浸泡处理的结果, 侧根发生的天数也早 3 d, 说明种子内 ABA 水平抑制了侧根的发生。经生长素运输抑制剂 TIBA 浸泡处理的种子, 没有侧根发生(表 2), 表明花生侧根的发生必需内源 IAA 的参与。

在含 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA 的 1/2MS 培养基上培养 8 d, 强烈抑制了花生的侧根发生(表 3), 抑制作用小于同样浓度的浸泡处理(表 1)。在含 ABA 培养基上培养的花生, 侧根的发生率、侧根数目和侧根长

表 1 不同浓度 ABA 浸泡处理 1 h 对花生种子侧根形成的影响

Table 1 Effects of ABA on lateral root formation in peanut seed by soaking with different concentrations for 1 h

ABA 浓度 / $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	发生率 /%	发生时间 /d	数目 / 条	长度 /mm	分布范围 /cm	分布密度
0	37.3 <sup>Aa</sup>	5	11 <sup>Aa</sup>	83.1 <sup>Aa</sup>	31.3 <sup>Bb</sup>	0.35 <sup>Aa</sup>
5	28.1 <sup>Bb</sup>	6	5 <sup>Bb</sup>	41.0 <sup>Bb</sup>	59.2 <sup>Aa</sup>	0.08 <sup>Bb</sup>
8	18.8 <sup>Cc</sup>	7	4 <sup>Bb</sup>	28.2 <sup>Bc</sup>	50.0 <sup>Aa</sup>	0.08 <sup>Bb</sup>
10	9.4 <sup>Dd</sup>	8	3 <sup>Bb</sup>	14.5 <sup>Dd</sup>	23.4 <sup>Bc</sup>	0.13 <sup>Bb</sup>

同列数据小写字母不同表示 5% 水平上的差异, 大写字母不同表示在 1% 水平上的差异。下同。

表 2 ABA 和 2 种抑制剂浸泡处理对花生种子侧根形成的影响  
Table 2 Effects of ABA or two inhibitors on peanut seed lateral root formation

处理物及浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	发生率/%	发生时间/d	数目/条	长度/mm	分布范围/cm	分布密度
CK (0)	48.5 <sup>Bb</sup>	5	9 <sup>Aa</sup>	104.3 <sup>Ab</sup>	35.8 <sup>Ab</sup>	0.25 <sup>Aa</sup>
ABA (10)	4.9 <sup>Cc</sup>	7	1 <sup>Bb</sup>	30.2 <sup>Bc</sup>	21.3 <sup>Bc</sup>	0.05 <sup>Bb</sup>
NAPR (25)	68.9 <sup>Aa</sup>	4	11 <sup>Aa</sup>	132.6 <sup>Aa</sup>	40.3 <sup>Aa</sup>	0.27 <sup>Aa</sup>
TIBA (10)	N	N	N	N	N	N

“N”为未观察到结果,括号内为浓度数值,下同。

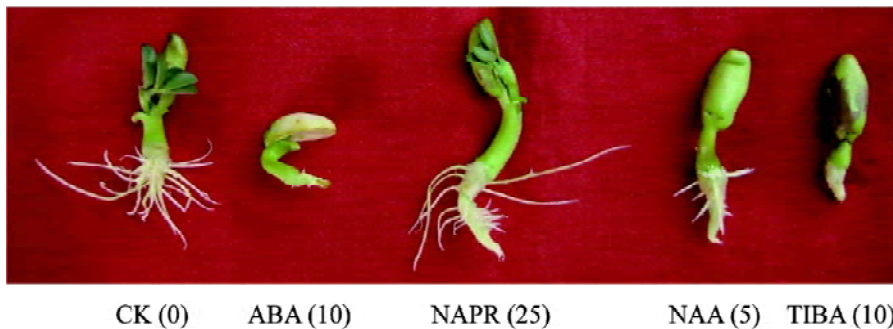


图 1 不同激素和抑制剂浸泡处理对花生种子侧根形成的影响

Fig.1 Effects of hormones and inhibitors on lateral root formation in peanut

表 3 1/2MS 培养基中不同激素和抑制剂处理对花生种子侧根发生的影响

Table 3 Effects of different hormones and inhibitors dissolved in 1/2MS medium on peanut seed lateral root formation

处理物及浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	发生率/%	发生时间/d	数目/条	长度/mm	分布范围/cm	分布密度
CK2 (0)	36.5 <sup>Bb</sup>	5	8 <sup>Bb</sup>	107.5 <sup>Bb</sup>	30.8 <sup>Aa</sup>	0.26 <sup>Bb</sup>
ABA (10)	7.1 <sup>Cd</sup>	7	2 <sup>Cc</sup>	45.4 <sup>Cd</sup>	25.1 <sup>Ab</sup>	0.08 <sup>Cc</sup>
NAPR (25)	64.5 <sup>Aa</sup>	5	12 <sup>Aa</sup>	126.5 <sup>Aa</sup>	29.0 <sup>Aa</sup>	0.41 <sup>Aa</sup>
NAA (5)	23.1 <sup>Bc</sup>	6	8 <sup>Bb</sup>	92.3 <sup>Bc</sup>	28.2 <sup>Aa</sup>	0.28 <sup>Bb</sup>
TIBA (10)	3.1 <sup>Cd</sup>	8	1 <sup>Cc</sup>	30.8 <sup>Cd</sup>	N	N

度显著降低,发生时间比对照推迟 2 d,侧根分布密度小; ABA 合成抑制剂 NAPR 处理显著促进侧根发生,侧根的发生率、侧根数目和侧根长度显著提高,但是侧根发生时间与对照相同(表 3)。

在含  $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 培养基上培养的花生,侧根的数目和分布与对照相同,但侧根的发生率和侧根长度比对照低,侧根发生的时间推迟 1 d(表 3); IAA 极性运输抑制剂 TIBA 处理显著抑制侧根的发生。

## 2 ABA 和 NAA 协同处理对花生侧根发生的影响

NAPR 先浸泡处理的花生种子,置于含 1/2MS 培养基上培养,侧根的发生率和侧根长度都明显高于对照(CK1+CK2);用 NAPR 浸泡处理种子后置于

含 NAA 的 1/2MS 培养基上培养,使侧根的发生率、数目和分布范围显著提高(表 4),表明抑制花生种子内源 ABA 含量后, NAA 具有促进侧根发生的作用;将 NAPR 浸泡处理的种子,置于含 TIBA 的 1/2MS 培养基培养,侧根的发生率、数目、侧根长度和分布范围显著降低,发生时间推迟,表明 ABA 抑制花生侧根发生需要 IAA 参与(表 4)。用 ABA 先浸泡 1 h 后,在含 NAA 培养基上培养,侧根发生率与对照(CK1+CK2)相同,侧根数目、侧根长度和分布范围明显降低。

用 TIBA 浸泡处理抑制了种子内 IAA 的极性运输,种子再在 1/2MS 培养基上培养,侧根发生率降

表4 浸泡液和培养中施加不同物质处理对花生种子侧根发生的影响

Table 4 Effects of different hormones and inhibitors on peanut lateral root formation soaking and in 1/2MS medium

处理物质及浓度/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	发生率/%	发生时间/d	数目/条	长度/mm	分布范围/cm	分布密度
CK1 (0)+CK2 (0)	26.7 <sup>Bc</sup>	5	8 <sup>Bb</sup>	85.0 <sup>Bc</sup>	38.3 <sup>Bc</sup>	0.21 <sup>Bb</sup>
NAPR (25)+CK2 (0)	32.4 <sup>Ab</sup>	5	7 <sup>Bb</sup>	181.5 <sup>Aa</sup>	35.3 <sup>Bc</sup>	0.20 <sup>Bb</sup>
NAPR (25)+NAA (5)	39.0 <sup>Aa</sup>	5	16 <sup>Aa</sup>	109.6 <sup>Bb</sup>	50.2 <sup>Aa</sup>	0.32 <sup>Aa</sup>
NAPR (25)+TIBA (10)	3.1 <sup>Cd</sup>	8	0.03 <sup>Cc</sup>	30.8 <sup>Cd</sup>	N	N
ABA (10)+NAA (5)	28.6 <sup>Bc</sup>	7	5 <sup>Bb</sup>	48.3 <sup>Cd</sup>	17.5 <sup>Cd</sup>	0.29 <sup>Aa</sup>
TIBA (10)+CK2 (0)	6.0 <sup>Cd</sup>	5	14 <sup>Aa</sup>	182.5 <sup>Aa</sup>	51.1 <sup>Aa</sup>	0.27 <sup>Aa</sup>
TIBA (10)+ABA (10)	N	N	N	N	N	N
NAA (5)+ABA (10)	10.8 <sup>Cd</sup>	8	5 <sup>Bb</sup>	23.4 <sup>Cd</sup>	43.6 <sup>Ab</sup>	0.11 <sup>Cc</sup>

低,只是对照的22%,但是侧根数目和长度、分布都高于对照(表4),表明在培养基上培养可能减缓TIBA的抑制作用,侧根可以发生。但是用TIBA浸泡处理后的种子在含ABA的培养基上培养,侧根不能发生;值得注意的是,先用NAA浸泡处理,再在含ABA培养基上培养(NAA+ABA),也抑制侧根的发生(表4),说明ABA是影响侧根发生的主要因素。

## 讨 论

侧根的发生起始于特定的中柱鞘细胞,侧根原基形成过程中涉及细胞分裂和分化(王树才等2003)。相同条件下,种子的侧根发生部位呈现一定的波动性。通过分布范围和密度来描述侧根的发生部位。外源ABA抑制花生侧根的发生。ABA通过抑制部分侧根起始基因的表达、抑制侧根分生组织的活化等调控侧根发生(De Smet等2003)。侧根起始基因不能正常表达,影响侧根原基的形成,推迟发生时间,甚至使侧根不能形成,从而降低侧根的发生率;根的伸长是通过根顶端分生组织的细胞分裂和伸展完成的(Benfey和Schiefelbein 1994; Himanen等2002),在侧根原基形成并突破种子后,若分生组织活化受抑制,侧根细胞的分裂受阻,降低侧根的长度。

本实验室曾在前文中描述了在含有 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  ABA的1/2MS培养基上培养的花生其侧根数目与对照相比有明显的降低(Guo等2009)。在本文中,作者进一步详细分析了不同ABA处理对花生侧根发生的影响。结果表明:ABA处理方式不同产生不同的作用效果,用浸泡处理对侧根发生的抑制作用要高于培养基处理。前者的激素作用时间短,但直

接作用于种子的胚芽,对根系的起始作用强烈,后者则是在培养期间不断渗透到种子内,持续影响根系发生的多个过程。由此推测ABA在培养过程中更能影响侧根的发生。值得注意的是,ABA浸泡处理和培养基处理对花生侧根发生的抑制作用有所区别。ABA可通过提高内源ABA水平来抑制侧根的发生(Guo等2009)。

ABA和NAA前后处理对侧根发生的效果不同。ABA+NAA和NAA+ABA均抑制侧根发生,后者作用更强,表明协同处理作用复杂,可能涉及到其他激素的参与调控,侧根在不同的发生过程中,由于参与调控的激素种类和比例不同,表现出不同的协同或拮抗作用(Hidehiro和Masao 2009)。ABA和NAA前后协同处理和不同处理时间对花生侧根的发生均有影响,其作用还需要进一步研究。

## 参考文献

- 郭栋梁,李玲(2008). ABA对植物侧根发生的调节. 亚热带植物科学, 37 (1): 67~69
- 郭栋梁,王静杰,万小荣,李玲(2008). 外源脱落酸抑制花生种子发芽的生理机制. 植物生理学通讯, 44 (5): 936~938
- 廖伯寿(2003). 花生. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1~10
- 罗璉,孙长忠,王琦,辛学兵,孔庆云(2008). 根系的发育及其激素调控研究. 安徽农业科学, 36 (26): 11219~11222
- 潘瑞炽主编(2004). 植物生理学(第5版). 北京: 高等教育出版社, 174~175
- 王树才,徐朗莱,夏凯,周燮(2003). 侧根的发生及其激素调控. 植物学通报, 20 (2): 129~136
- 熊国胜,李家洋,王永红(2009). 植物激素调控研究进展. 科学通报, 54 (18): 2718~2733
- Benfey PN, Schiefelbein J (1994). Getting to the root of plant development: the genetics of *Arabidopsis* root formation. Trends Genet, 10 (3): 84~88
- Brocard-Gifford I, Lynch TJ, Garcia ME, Malhotra B, Finkelstein

- RR (2004). The *Arabidopsis thaliana* ABSCISIC ACID-INSENSITIVE 8 locus encodes a novel protein mediating abscisic acid and sugar responses essential for growth. *Plant Cell*, 16: 406~421
- De Smet I, Signora L, Beeckman T, Inze D, Foyer CH, Zhang H (2003). An abscisic acid-sensitive checkpoint in lateral root development of *Arabidopsis*. *Plant J*, 33: 543~555
- Guo DL, Liang JH, Li L (2009). Abscisic acid (ABA) inhibition of lateral root formation involves endogenous ABA biosynthesis in *Arachis hypogaea* L. *Plant Growth Regul*, 58: 173~179
- Hidehiro F, Masao T (2009). Hormone interactions during lateral root formation. *Plant Mol Biol*, 69: 437~449
- Himanen K, Boucheron E, Vanneste S, de Almeida, Engler J, Inzé D, Beeckman T (2002). Auxin-mediated cell cycle activation during early lateral root initiation. *Plant Cell*, 14: 2339~2351
- Kim S, Kang JY, Cho DI, Park JH, Soo Y (2004). ABF2, an ABRE-binding bZIP factor, is an essential component of glucose signaling and its overexpression affects multiple stress tolerance. *Plant J*, 40: 75~87
- Lee HS, Milborrow BV (1997). Endogenous biosynthetic precursors of (+)-abscisic acid. IV. Biosynthesis of ABA from [<sup>2</sup>H<sub>n</sub>] carotenoids by a cell-free system from avocado. *Aust J Plant Physiol*, 24: 715~726