

## 1-萘氨甲酰苯甲酸、外源 IAA 和 GA<sub>3</sub> 对拟南芥根的伸长和向重力性反应的影响

梁虹, 喻富根\*

南京大学生命科学学院, 南京 210093

**提要:** 拟南芥幼苗用 1-萘氨甲酰苯甲酸(NPA)、IAA 和 GA<sub>3</sub> 处理后测定根的伸长和向重力性弯曲的结果表明, 低浓度(0.001 μmol·L<sup>-1</sup>) IAA 和(0.01~1 μmol·L<sup>-1</sup>) GA<sub>3</sub> 促进根的伸长和向重力性弯曲, 高浓度(0.01~10 μmol·L<sup>-1</sup>) IAA 和(10~100 μmol·L<sup>-1</sup>) GA<sub>3</sub> 的则相反。NPA 在总体上是抑制根的伸长和向重力性弯曲, 但低浓度(0.4 μmol·L<sup>-1</sup>)的 NPA 有促进根伸长的趋势。低浓度的 IAA 和 GA<sub>3</sub> 均拮抗 NPA 对根伸长的影响, 且低浓度的 GA<sub>3</sub> 对根伸长的促进作用并不依赖 IAA。

**关键词:** 1-萘氨甲酰苯甲酸; IAA; GA<sub>3</sub>; 根伸长; 向重力性

## Effects of N-1-naphthylphthalamic Acid and Exogenous IAA and GA<sub>3</sub> on the Elongation and Gravitropic Responses of *Arabidopsis* Roots

LIANG Hong, YU Fu-Gen\*

School of Life Sciences, Nanjing University, Nanjing 210093, China

**Abstract:** The seedlings of *Arabidopsis* were treated with N-1-naphthylphthalamic acid (NPA), IAA and GA<sub>3</sub> respectively and also treated with NPA associated with IAA or GA<sub>3</sub> respectively. The root length and curvature were measured after the primary root was placed horizontally for a period of time. The results indicated that at low concentrations both IAA (0.001 μmol·L<sup>-1</sup>) and GA<sub>3</sub> (0.01-1 μmol·L<sup>-1</sup>) could facilitate the root elongation and gravitropic curvature and at high concentrations IAA (0.001-10 μmol·L<sup>-1</sup>) and GA<sub>3</sub> (10-100 μmol·L<sup>-1</sup>) could restrain the root elongation and gravitropic curvature, that NPA could exert its inhibitions on the root elongation and gravitropic curvature as a whole, but at low concentrations NPA (0.4 μmol·L<sup>-1</sup>) tended to promote the root elongation, that at low concentrations both IAA and GA<sub>3</sub> could oppose the prohibitive action of NPA on the root elongation and that the stimulative action of GA<sub>3</sub> at low concentrations on the root elongation was independent of IAA.

**Key words:** N-1-naphthylphthalamic acid; IAA; GA<sub>3</sub>; root elongation; gravitropism

水平放置的植物初生根常发生弯曲, 根重新向重力的方向生长, 这就是根的向重力性(gravitropism), 也称为向地性(geotropism)。早在 19 世纪, 根向重力性的现象就引起生物学家们的注意。Cholodny 和 Went 在 1920 年分别独立地提出同一个模型——Cholodny-Went 模型来解释植物的向重力性。这一模型认为根的向重力性是源于根尖端的植物激素生长素(indole-3-acetic acid, IAA)的不对称分布而导致的弯曲生长。目前多数学者认为, 借助于其内部淀粉体的沉降, 根冠柱细胞中的淀粉体首先感受重力并产生信号, 信号通过一系列传导后, 来自茎尖的 IAA 由根顶端向根基部运输时, 根上下两侧的量不同, 即上侧的量少、下侧的量多(Hasenstein 和 Kuznetsov 1999; Friml 2003; Perbal 和 Driss-Ecole 2003), 这种 IAA

的不对称分布促使根伸长区上下两个相对侧面发生复杂的差别生长(Trewavas 1992; Rosen 等 1999; Blancaflor 和 Masson 2003), 也就是上侧细胞伸长相对快于下侧细胞伸长, 因而根向重力方向弯曲生长。于是认为, 水平放置的根中 IAA 不对称分布是发生差别生长的根本原因。有研究指出, IAA 的不对称分布导致赤霉素(gibberellic acid, GA)的不对称分布, 进而影响根上下两侧细胞的细胞壁可塑性, 最终导致弯曲生长的发生(Cui 等 2005)。也有报道认为, IAA 是通过调节 GA 应答反应促进根伸长的(Fu 和 Harberd 2003)。但还不

收稿 2007-03-02 修定 2007-05-09

资助 国家自然科学基金(30270086)。

\* 通讯作者(E-mail: fugen@nju.edu.cn; Tel: 025-83686755)。

清楚的是,外源 IAA 和 GA 是怎样影响根的伸长生长和向重力性反应的。近年来,有人研究植物生长抑制剂 1-萘氨甲酰苯甲酸(N-1-naphthylphthalamic acid, NPA)对植物生长影响机制时发现, NPA 是作为 IAA 极性运输过程中,存在于细胞膜上的 IAA 输出载体的抑制剂而发生作用的(Ruegger 等 1997; Müller 等 1998; Geldner 等 2001)。由于 IAA 只在茎尖合成,因而经 NPA 预处理的植物根中 IAA 水平会因 IAA 极性运输受阻而下降,又由于 IAA 氧化酶的作用,以致根中缺乏内源 IAA,这就给研究 IAA 和 GA 在根伸长和向重力性反应中的作用和相互关系提供了有益的启示。本文分别用不同浓度的 NPA、IAA 和  $GA_3$  处理拟南芥的初生根后观察它们对根伸长和向重力性反应的影响,并通过 NPA 和 IAA 或  $GA_3$  组合处理探讨 IAA 和 GA 影响根的伸长和向重力性反应中可能存在的相互关系,以期为进一步了解根的伸长生长和向重力性反应机制提供参考。

### 材料与amp;方法

材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana* 'Columbia')种子。选取饱满的种子均匀播在铺有海绵的培养皿中,海绵上覆盖 1 层滤纸。每个培养皿中播 25 粒种子并加入 7 mL 纯净水,用塑料保鲜膜密封后,竖直放置于 4℃ 的黑暗中,种子同步化 3 d 后转移至 22℃ 的光照(光照强度为  $90 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )下培养(仍然竖直放置) 2 d,当幼苗根长至 1~1.5 mm 时用于实验,根生长方向与重力方向一致。

处理材料时,将培养皿分为 2 批。第 1 批培养皿继续放在 22℃ 下光照,根竖直培养 2 h 后,再分成 2 组。第 1 组分别用 0.001、0.01、0.1、1 和  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 IAA 浸泡材料 5 min;第 2 组分别用 0.01、0.1、1、10 和  $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $GA_3$  浸泡材料 5 min。而后将所有第 1 批培养皿均旋转 90°,根水平放置于 22℃ 下光照培养 2.5 h 后,用无水乙醇固定材料,再用苏木精对材料染色,拍照。第 2 批培养皿分 3 组:第 1 组分别用 0.4、2 和  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NPA 浸泡材料 5 min,置于 22℃ 下光照,根竖直培养 2 h;第 2 组用  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPA 浸泡材料 5 min,置于 22℃ 下光照,根竖直培

养 1 h 55 min 后,分别用  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NPA 和不同浓度(0.01、0.1 和  $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $GA_3$  的混合液浸泡材料 5 min;第 3 组用  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NPA 浸泡材料 5 min,置于 22℃ 下光照,根竖直培养 1 h 55 min 后,分别用  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPA 和不同浓度(0.001、0.01 和  $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) IAA 的混合液浸泡材料 5 min。所有第 2 批培养皿均旋转 90°,根水平放置于 22℃ 下光照培养 2.5 h 后,用上述方法固定、染色和拍照。以上每一组处理均以纯净水浸泡的为对照,重复 3 次。

测定根长和根弯曲角度时,拍照用最低刻度为 0.5 mm 的标尺标记每一条根。根长从根尖端至下胚轴基部计量,根的弯曲角度以重力调定角,即按根尖与重力矢量所形成的角度计量(Mullen 和 Hangarter 2003)。两者的测定均借用 AutoCAD 软件完成。

### 实验结果

#### 1 NPA 单独处理对拟南芥根的伸长和向重力弯曲的影响

由图 1 可以看出,低浓度的 NPA 促进根的伸长,较高浓度的 NPA 抑制根的伸长( $P < 0.01$ );根的弯曲生长与 NPA 浓度一直呈负相关( $P < 0.01$ ),且当 NPA 浓度达到  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,根完全丧失向重力性弯曲的能力。当  $0.4 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPA  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时,其对根伸长生长和向重力弯曲生长的抑制趋势基本一致。

#### 2 外源 IAA 和 $GA_3$ 单独处理对拟南芥根的伸长和向重力弯曲的影响

浓度相对低( $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的外源 IAA 促进拟

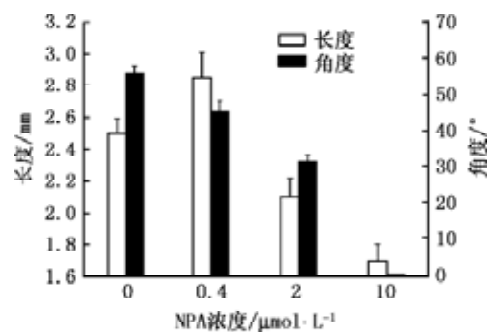


图 1 NPA 对拟南芥根的伸长和向重力弯曲的影响

Fig.1 Effects of NPA on the elongation and gravitropic curvature of *Arabidopsis* roots

南芥根的伸长和弯曲, 而当 IAA 浓度为 0.01~10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 抑制根伸长和弯曲( $P<0.01$ ) (图 2-a)。相对低浓度的外源  $\text{GA}_3$  促进根伸长和弯曲, 而较高浓度的外源  $\text{GA}_3$  则起抑制作用。 $\text{GA}_3$  促进根伸长的最适浓度为 1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 促进弯曲的最适浓度为 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  (图 2-b)。当 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{GA}_3$  100

$\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 其抑制根伸长生长( $P<0.01$ ); 而对向重力弯曲生长的抑制, 只在  $\text{GA}_3$  为 100  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时才表现出来( $P<0.01$ ) (图 2-b)。总之, IAA 和  $\text{GA}_3$  对根的伸长生长和向重力性弯曲的影响趋势基本一致, 即低浓度时促进, 高浓度时抑制, 但 IAA 抑制根伸长和向重力性反应的浓度比  $\text{GA}_3$  低。

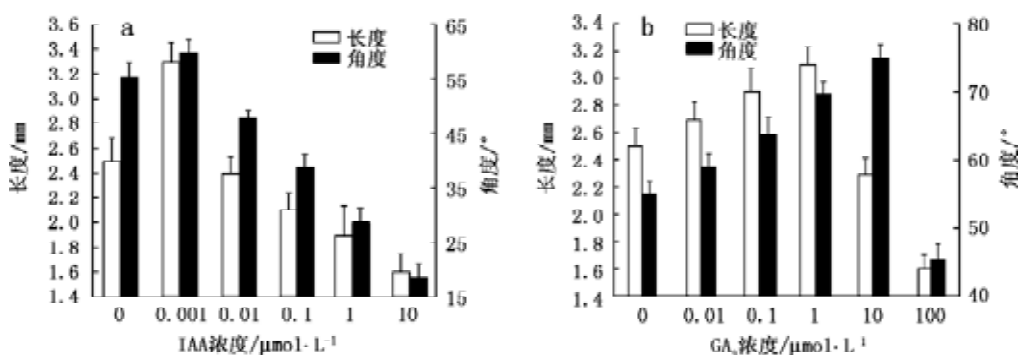


图2 外源 IAA 和  $\text{GA}_3$  对拟南芥根的伸长和向重力性弯曲的影响

Fig.2 Effects of exogenous IAA and  $\text{GA}_3$  on the elongation and gravitropic curvature of *Arabidopsis* roots

### 3 NPA 与 IAA 或 $\text{GA}_3$ 组合处理对拟南芥根的伸长和向重力性弯曲的影响

经 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  NPA 预处理后伸长生长受到抑制的根, 施加 0.001 和 0.01  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 IAA 能促进它的伸长, 当 IAA 达到 0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时则不能促进( $P<0.01$ ); 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  的 NPA 预处理使根完全

失去向重力性弯曲生长的能力后, 继续用 IAA 处理, 受重力刺激的根依然不发生弯曲(图 3-a)。用 NPA 预处理后, 再用  $\text{GA}_3$  处理, 根随  $\text{GA}_3$  浓度的增大而显著伸长( $P<0.01$ ), 但根并不对重力刺激作出响应而发生弯曲(图 3-b)。综合 IAA 和  $\text{GA}_3$  单独处理的结果(图 2)可知, 低浓度的外源 IAA 和  $\text{GA}_3$

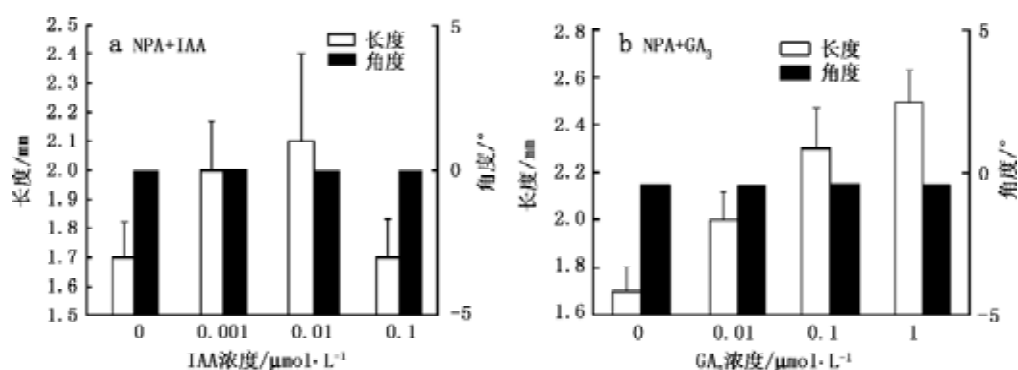


图3 NPA 与 IAA 或  $\text{GA}_3$  组合对拟南芥根的伸长和向重力性弯曲的影响

Fig.3 Effects of NPA associated with IAA or  $\text{GA}_3$  on the elongation and gravitropic curvature of *Arabidopsis* roots

均不能逆转 NPA 抑制根向重力性弯曲生长的作用, 但能部分抵消 NPA 对根伸长的抑制。

## 讨论

本文结果(图 1)表明, 较高浓度的 NPA 抑制

根的伸长。这显然是 NPA 阻止 IAA 极性运输之果 (Gälweiler 等 1998; Geldner 等 2001)。当用 IAA 输出载体抑制剂 NPA 处理根部时, 随着 NPA 浓度的增加, IAA 的极性运输逐渐受到阻碍或终止, 根中 IAA 的水平即低于正常水平。因此, 以高浓

度 NPA 处理植物幼苗后, 初生根中 IAA 的浓度即降低, 进而抑制根的伸长。而低浓度的 NPA 则有促进根伸长的趋势, 这一结果似乎显示, 正常情况下, 根中 IAA 浓度超过根伸长生长所需要的最适浓度。但外源 IAA 单独处理的结果(图 2-a)似乎又显示, 在正常情况下, 根中 IAA 浓度低于根伸长生长所需要的最适浓度。至于低浓度 NPA 促进根伸长的机制, 尚需进一步研究。

近年来的研究认为, IAA 的侧向浓度梯度是植物根向重力性反应所必须的(Hou 等 2004)。本文结果(图 2-a)则表明, 外源 IAA 大于  $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 抑制根的弯曲, 这可能是高浓度的外源 IAA 削弱或抵消伸长区 IAA 的侧向浓度梯度而引起的; 但在极低浓度( $0.001 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的外源 IAA 下, 根的弯曲生长反而加强。由于 IAA 单独处理时根的弯曲生长一直与其伸长生长保持着协同性(同增同减), 因而并不排除根的伸长生长的改变影响根的向重力性反应的强弱。

不同浓度的  $\text{GA}_3$  对根伸长的影响不同。一般来说, 低浓度  $\text{GA}_3$  促进, 而高浓度  $\text{GA}_3$  抑制根的伸长生长。受重力影响的根伸长区上下两侧呈现 IAA 浓度梯度差, 进而呈现与之相对应的 GA 侧向浓度梯度差。正由于此, 根的上侧伸长快于下侧, 根发生差别生长, 并表现出向重力性反应(Cui 等 2005)。本文的结果(图 2-b)显示, 当施加较低浓度( $0.01\sim 10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的  $\text{GA}_3$  时, 根的弯曲生长反而加强, 这表明此时外源 GA 并不能削弱或抵消 Cui 等(2005)指出的伸长区根两侧的 GA 侧向浓度梯度; 当施加高浓度( $100 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )的  $\text{GA}_3$  时, 根的弯曲生长开始减弱, 但此时根的伸长生长也受到抑制, 这可能是高浓度 GA 影响根伸长生长进而抑制根的向重力弯曲生长所致。由此看来, 本文结果不能支持根的弯曲是由于 IAA 浓度梯度差介导 GA 侧向浓度梯度差所造成的观点。

根经 NPA 预处理后完全失去向重力性弯曲的能力, 表明此时 NPA 已完全抑制 IAA 的极性运输, 又由于 IAA 氧化酶的作用, 根中已不存在内源 IAA, 所以继续用外源  $\text{GA}_3$  处理促使根伸长时, 其对根伸长的促进作用不依赖于 IAA。而 Fu 和 Harberd (2003)认为 IAA 是通过 GA 促进根伸长的。由此可见, 在促进根伸长生长的信号通道上, GA

可能位于 IAA 的后面, 内源 IAA 对根伸长的促进作用需要 GA 的介导, 而外源 GA 对根伸长的促进作用一般不需要 IAA, 其中机制值得深入探讨。

### 参考文献

- Blancaflor EB, Masson PH (2003). Plant gravitropism. Unraveling the ups and downs of a complex process. *Plant Physiol*, 133: 1677~1690
- Cui DY, Neill SJ, Tang ZC, Cai WM (2005). Gibberellin-regulated XET is differentially induced by auxin in rice leaf sheath bases during gravitropic bending. *J Exp Bot*, 56: 1327~1334
- Friml J (2003). Auxin transport — shaping the plant. *Curr Opin Plant Biol*, 6: 7~12
- Fu XD, Harberd NP (2003). Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response. *Nature*, 421: 740~743
- Gälweiler L, Guan CH, Müller A, Wisman E, Mendgen K, Yephremov A, Palme K (1998). Regulation of polar auxin transport by AtPIN1 in *Arabidopsis* vascular tissue. *Science*, 282: 2226~2230
- Geldner N, Friml J, Stierhof YD, Jürgens G, Palme K (2001). Auxin transport inhibitors block PIN1 cycling and vesicle trafficking. *Nature*, 413: 425~428
- Hasenstein KH, Kuznetsov OA (1999). The response of *lazy-2* tomato seedlings to curvature-inducing magnetic gradients is modulated by light. *Planta*, 208: 59~65
- Hou G, Kramer VL, Wang YS, Chen R, Perbal G, Gilroy S, Blancaflor EB (2004). The promotion of gravitropism in *Arabidopsis* roots upon actin disruption is coupled with the extended alkalization of the columella cytoplasm and a persistent lateral auxin gradient. *Plant J*, 39: 113~125
- Mullen JL, Hangarter RP (2003). Genetic analysis of the gravitropic set-point angle in lateral roots of *Arabidopsis*. *Adv Space Res*, 31 (10): 2229~2236
- Müller A, Guan CH, Gälweiler L, Tänzler P, Huijser P, Marchant A, Parry G, Bennett M, Wisman E, Palme K (1998). AtPIN2 defines a locus of *Arabidopsis* for root gravitropism control. *EMBO J*, 17: 6903~6911
- Perbal G, Driss-Ecole D (2003). Mechanotransduction in gravisensing cells. *Trends Plant Sci*, 8: 498~504
- Rosen E, Chen RJ, Masson PH (1999). Root gravitropism: a complex response to a simple stimulus? *Trends Plant Sci*, 4: 407~412
- Ruegger M, Dewey E, Hobbie L, Brown D, Bernasconi P, Turner J, Muday G, Estelle M (1997). Reduced naphthylphthalamic acid binding in the *tir3* mutant of *Arabidopsis* is associated with a reduction in polar auxin transport and diverse morphological defects. *Plant Cell*, 9: 745~757
- Trewavas AJ (1992). What remains of the Cholodny-Went theory? *Plant Cell Environ*, 15: 759~794