

烟草株高变异体的茎尖中内源激素含量变化及其对外源激素的响应

杨铁钊* 杨欣玲 殷全玉 郭志民

河南农业大学农学院, 郑州 450002

提要 烟草矮秆基因型‘农大202’的茎生长过程中茎尖中内源赤霉素(GA₃)、生长素(IAA)含量始终低于中、高秆基因型, 其内源脱落酸(ABA)和玉米素(ZR)含量则相对较高。喷施外源激素 GA₃ 和 IAA 的结果表明, GA₃ 可调节矮秆基因型茎尖中各内源激素的含量, 与正常株高基因型‘K326’的各激素含量相接近, 从而促进茎生长, 而 IAA 的作用较小。

关键词 烟草; 矮秆; 内源激素

Changes in Endogenous Hormone Contents in Shoot-tip of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Genotypes with Different Plant Height and Response to the Exogenous Hormones

YANG Tie-Zhao*, YANG Xin-Ling, YIN Quan-Yu, GUO Zhi-Min

College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China

Abstract The dynamic changes in gibberellic acid (GA₃), auxins (IAA), abscisic acid (ABA) and cytokinin (ZR) contents were analyzed for 3 tobacco genotypes with different plant height during the growth stage. The GA₃ and IAA contents in shoot-tip of dwarf tobacco genotypes ‘ND202’ were lower than those of the others. In contrast, the ABA and ZR contents were higher. The results indicated that endogenous hormone contents in shoot-tip of dwarf tobacco genotype ‘ND202’ could be regulated to normal genotype ‘K326’ by exogenous hormone GA₃.

Key words tobacco (*Nicotiana tabacum* L.); dwarf; endogenous hormone

在植物育种过程中, 杂种后代常出现一些矮化变异类型, 植株节间紧凑、茎生长缓慢等。尽管这些矮化类型的直接利用价值不高, 但在阐明植物茎的生长调节机制中有一定的作用。引起植物矮化的因素有多种, 报道较多的是与激素相关的植物矮化突变体的研究。小麦(Peng等1999; Börner等1996)、水稻(Itoh等2001)和玉米(Phinney 1956) 4种矮秆突变系以及拟南芥中众多突变体系(袁晶2005)的研究揭示, 植株矮化主要是赤霉素(GA)缺乏, 或者是GA信号转导过程中出现障碍所致。

Ross等(2000, 2001)研究表明, 豌豆的茎中IAA从促进合成与抑制降解2个方面维持着GA含量水平, 进而调控茎生长。朱云集等(2005)、王文静和高送杰(2002)及Hoffmann-Benning和Kende(1992)的研究表明, 植物内源激素间的平衡是影响植物生长发育的重要因素。矮秆基因类型的研究揭示, 在茎生长期间的某单个激素含量变化对茎生长有作用, 而对不同株高类型的茎生长期间

多种激素协同作用的研究则较少。本文以烟草(*Nicotiana tabacum* L.)为材料, 研究不同株高类型的烟草茎生长期间茎尖中内源激素含量的动态变化及其对外源激素的响应。

材料与amp;方法

烟草(*Nicotiana tabacum* L.)品种有‘农大202’、‘K326’和‘8277’。其中‘农大202’为矮化变异类型; ‘K326’是烟草栽培面积较大的品种之一, 株高适中, 用作对照; ‘8277’植株较高, 节距较大。

试验在我校科教园区进行, 用防虫网保护栽培。土壤为砂壤土, pH 7.8, 其有效氮含量为50.5 mg·kg⁻¹ (土), 有效磷为10.1 mg·kg⁻¹ (土), 速效钾为105 mg·kg⁻¹ (土)。移栽前施纯氮45 kg·hm⁻²,

收稿 2006-01-27 修定 2006-06-28

资助 河南省烟草专卖局重点科技攻关项目(hykj200201)。

*E-mail: yangtiezhao@126.com, Tel: 0371-63558030

氮、磷、钾按 1:1:2 配比施入。2005 年 5 月 5 日移栽, 在移栽后 0、15、30、45、60 d 分别取茎的生长点以液氮速冻后于 -70°C 下保存。测定时取 1.0 g 样品加入 2 mL 样品提取液(80% 乙醇, 内含 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 二叔丁基对甲苯酚), 在冰浴中研磨成匀浆, 转入 10 mL 试管, 再用 2 mL 提取液分次冲净研钵, 转入试管中。摇匀, 于 4°C 下再提取 1 h, 以 $3\ 000\times g$ 离心 15 min, 合并上清液。上清液过 C_{18} 固相萃取柱(具体步骤: 1 mL 80% 甲醇平衡柱→上样→收集样品→移开样品后用 5 mL 100% 甲醇洗柱→5 mL 100% 乙醚洗柱→循环), 放在 $40\sim 45^{\circ}\text{C}$ 水浴中用氮气吹干, 再用样品稀释液定容, 摇匀后用间接酶联免疫法(ELISA)测定(何钟佩 1994)。试剂盒由中国农业大学化学控制实验室提供。

外源 GA_3 和 IAA 用微滴喷雾方法分别于移栽

后 15 和 30 d 对‘农大 202’植株进行喷洒。 GA_3 的浓度有 60、100、150 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, IAA 设 2 个浓度(10、15 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 2 个 IAA+ GA_3 组合。以‘农大 202’喷清水为对照 1, ‘K326’喷清水为对照 2。每处理 20 株, 重复 3 次。现蕾前期(移栽后 45 d)测量株高和茎尖内源激素含量。

实验结果

1 生长期不同基因型烟草的株高和节间长度的差异

从表 1 可见, 在各个时期, 3 个基因型烟草的株高和节间长度有显著差异。在移栽后各时期的测定均以‘8277’植株最高, 节间长度也最大; ‘农大 202’的植株最低, 节间长度也最小。说明‘8277’为高秆类型; ‘农大 202’株型紧凑, 为矮秆类型; ‘K326’株高适中。

表 1 生长期不同基因型烟草的株高和节间长度

Table 1 Plant height and internode distance of different tobacco genotypes during the growth stage

基因型	移栽后时间/d							
	30		45		60			
	株高/cm	节间长度/cm	株高/cm	节间长度/cm	株高/cm	节间长度/cm	株高/cm	节间长度/cm
‘8277’	13.24 ^A	2.65 ^A	56.71 ^A	7.09 ^A	112.53 ^A	11.25 ^A	182.50 ^A	9.46 ^A
‘K326’	6.45 ^B	1.61 ^B	23.80 ^B	3.97 ^B	78.56 ^B	8.73 ^B	117.65 ^B	7.30 ^B
‘农大 202’	3.23 ^C	0.81 ^B	8.78 ^C	1.56 ^C	36.50 ^C	4.21 ^C	60.35 ^C	6.01 ^B

不同字母表示在 1% 的显著水平, 节间长度是茎秆高度(即株高)与叶数的比值。

2 生长期烟草茎尖中 GA_3 、IAA、ABA 和 ZR 的含量变化

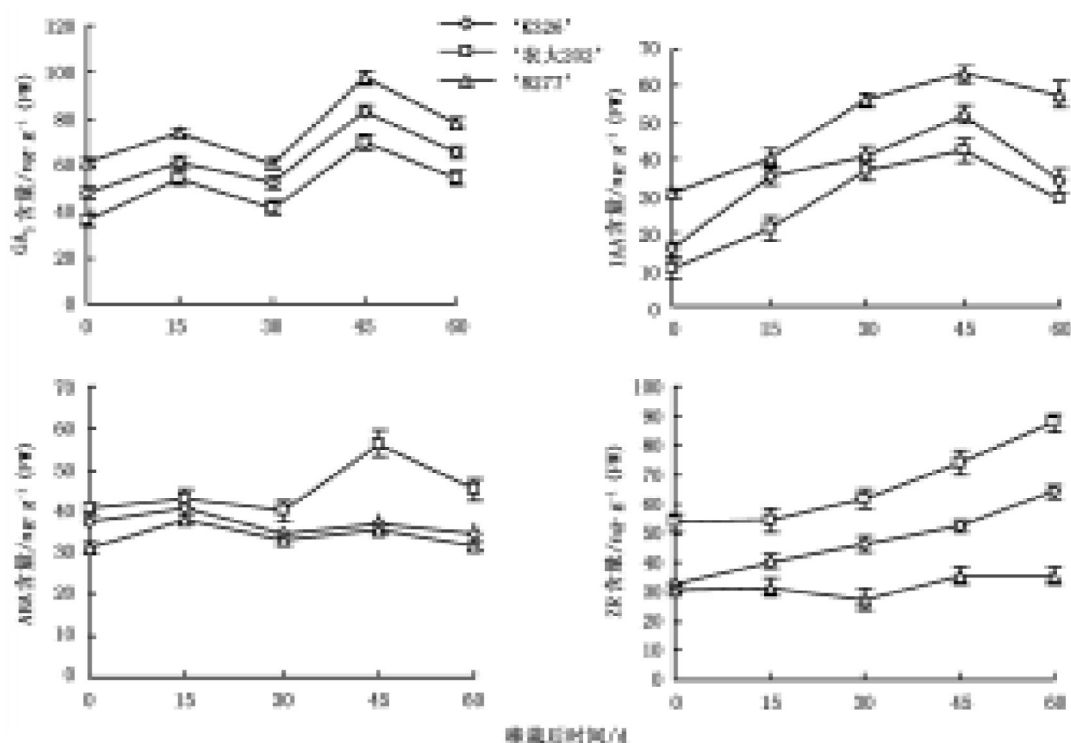
如图 1 所示, 在总体上是:

(1) 3 种不同株高基因型的烟草茎尖 GA_3 含量在茎生长过程中变化趋势基本上一致, 在移栽后的 15 和 45 d 各有 1 个峰值。移栽后 15 d, 烟草茎尖中 GA_3 含量有明显增加的趋势, 这可能是烟草移栽后返苗, 较高含量的 GA_3 可促进烟草生长的一种反映。移栽 15 d 以后, GA_3 含量开始下降, 植株生长缓慢。30 d 以后, GA_3 含量又增加, 此时正是烟草的大生长期开始, 茎生长加快。移栽后 45 d 时, GA_3 含量达到最大值, 烟草生长达到旺长期。45 d 以后, GA_3 含量开始下降, 茎的

生长速度减慢, 烟草进入现蕾期。这显示, 3 种不同株高基因型烟草的 GA_3 含量变化与茎生长有密切关系, 表现为‘8277’>‘K326’>‘农大 202’, 即高秆基因型‘8277’茎尖中 GA_3 含量最高, 矮秆基因型‘农大 202’的最低。

(2) 3 种基因型烟草茎尖中 IAA 含量均表现为‘8277’>‘K326’>‘农大 202’, 即高秆型‘8277’茎尖中 IAA 含量最高, 矮秆型‘农大 202’茎尖中 IAA 含量最低, 表明茎尖内 IAA 含量与株高有一定的关系。

3 种基因型烟草茎尖中 IAA 含量变化趋势基本上一致。茎尖内 IAA 含量在移栽后明显呈增加趋势, 移栽后 45 d 的 IAA 含量达到最大值, 而后

图1 烟草生长期间茎尖中GA₃、IAA、ABA和ZR含量的变化Fig. 1 Changes in GA₃, IAA, ABA and ZR contents in shoot-tip of tobacco during the growth stage

下降。表明茎尖中 IAA 含量的变化与烟株生长同步, IAA 含量增加可促进植株生长, 而 IAA 含量下降时植株生长速度也减慢。

(3) 3种基因型烟草茎尖中ABA含量均表现为‘农大202’>‘K326’>‘8277’, 即矮秆型‘农大202’茎尖内ABA含量始终最高, 高秆型‘8277’始终最低。

前30 d内, 3种基因型烟草茎尖中ABA含量变化趋势基本上一致。移栽后15 d内, 茎尖中ABA含量上升, 这可能是由于烟草移栽时断根, 属于逆境状态所致。30 d后, ‘K326’和‘8277’茎尖中的ABA含量相对较低, 且变化不明显, 植株茎生长较快。矮秆基因型‘农大202’在移栽30 d后其茎尖中ABA含量明显增加, 茎生长也受抑制, 植株生长较慢; 移栽45 d时ABA含量达到最大值, 茎生长也受最大抑制; 移栽45 d以后茎尖内ABA含量下降。

(4) 3种基因型烟草茎尖中ZR含量差异表现为‘农大202’>‘K326’>‘8277’, 表明茎尖ZR含量与株高也有密切关系。3种基因型烟草的ZR

含量变化趋势一致。随着烟草的生长, ZR含量逐渐上升, 移栽60 d时, ZR含量达到最大值。

3 生长期间烟草对外源激素调控的响应

以‘农大202’为例, 从表2和图2可见:

(1) GA₃和IAA单独或结合喷施, 各处理间的株高差异显著(表2)。不同浓度GA₃对茎生长均有

表2 生长期间喷施不同外源激素对‘农大202’株高的影响

Table 2 Effect of spraying different exogenous hormones on plant height of ‘ND202’ during the growth stage

处理	处理浓度/mg·L ⁻¹	株高/cm
对照1(‘农大202’)		65.91 ^D
对照2(‘K326’)		118.84 ^A
GA ₃	60	80.60 ^B
GA ₃	100	118.94 ^A
GA ₃	150	118.83 ^A
IAA	10	69.87 ^C
IAA	15	71.18 ^C
GA ₃ +IAA	60+10	81.22 ^B
GA ₃ +IAA	100+10	119.96 ^A

不同字母表示在1%的显著水平。

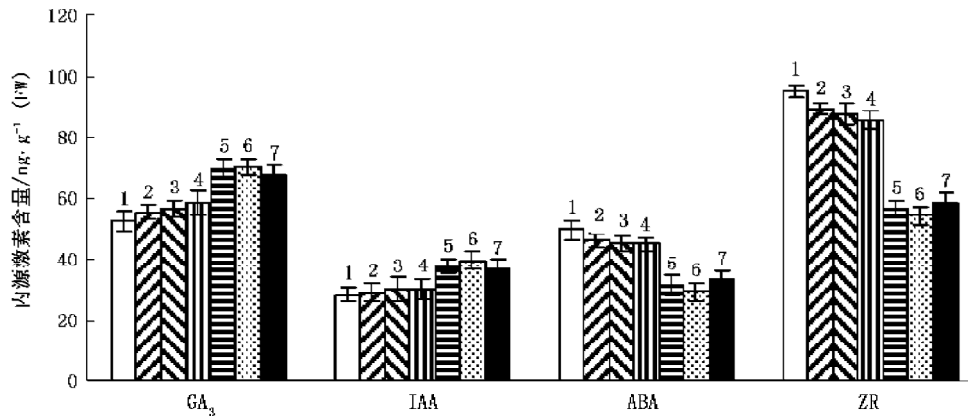


图2 喷施不同外源激素对烟草茎尖中内源激素含量的影响

Fig. 2 Effect of spraying different exogenous hormones on the endogenous hormone contents in shoot-tip of tobacco

1: 对照1; 2: 10 mg·L⁻¹ IAA; 3: 60 mg·L⁻¹ GA₃; 4: 60 mg·L⁻¹ GA₃+10 mg·L⁻¹ IAA; 5: 100 mg·L⁻¹ GA₃; 6: 100 mg·L⁻¹ GA₃+10 mg·L⁻¹ IAA; 7: 对照2。

不同程度的促进效应, 其中以 100 和 150 mg·L⁻¹ GA₃ 的效果最好。喷施后茎生长加快, 现蕾时株高达到正常基因型 ‘K326’ 的高度。单独喷施 10 和 15 mg·L⁻¹ 的 IAA 也促进茎生长。GA₃+IAA 与单喷 GA₃ 的株高差异不大, GA₃ 对茎生长的作用大于 IAA, 显示烟草植株矮化主要是 GA₃ 缺乏所致。

(2) 喷施 100 或 150 mg·L⁻¹ GA₃ 对烟草株高均有显著的效应(表 2)。喷施外源激素 100 mg·L⁻¹ GA₃ 后, 烟株茎尖中各种内源激素发生显著变化, 其中 GA₃ 和 IAA 含量明显提高, ABA 和 ZR 含量明显下降, 各种激素含量接近对照 ‘K326’ 的水平(图 2)。这进一步表明, 喷施外源激素 GA₃ 可以调节烟草体内各种内源激素之间的平衡, 使矮秆型烟草株高显著增加, 甚至达到正常类型的水平。

讨 论

各类激素在植物生长过程中既有相互协同的作用, 又有相互拮抗的作用。从本文结果来看, GA₃ 和 IAA 均能促进植物茎的伸长, GA₃ 是烟草茎生长的主要调节因子, 在整个生长期高秆基因型茎尖中 GA₃ 含量均显著高于矮秆基因型。外源 GA₃ 和 IAA 处理矮秆型烟草的结果显示, GA₃ 的作用大于 IAA。IAA 对 GA₃ 来说, 其调节作用可能是辅助性的。

一般来说, ABA 是抑制植物生长的, 在许多

情况下, GA₃ 和 ABA 的作用是逆转的。Hoffmann-Benning 和 Kende (1992) 在研究水稻茎生长中得到, 水稻的水下茎节生长受 ABA 的制约, 这种制约可被 GA₃ 解除, 其生长速率取决于 GA₃ 和 ABA 的比率。宋平等(1998)的研究也表明, 半矮秆型的水稻品种的内源 ABA 含量显著高于高秆型的, 且水稻株高、苗高与 ABA 含量呈显著负相关。本文结果也表明, 在烟草整个生长期, 矮秆基因型茎尖中的 ABA 含量高于高秆型。喷施 GA₃ 可以显著降低矮秆型茎尖内中 ABA 含量, 同时提高茎尖中 GA₃ 和 IAA 的含量, 使得矮秆型茎尖中的各激素含量与正常型相接近, 而促进矮秆型茎的生长。另外, 矮秆型烟草茎尖中的 ZR 含量也高于高秆型。这可能是细胞分裂素类物质和 GA₃ 结构都含有异戊二烯基本单元, 在两者合成中有竞争关系之故, 据此认为, 细胞分裂素类物质和植物株高之间可能有一定的相关性。

本文采用的矮秆型烟草是杂种后代的一个稳定变异体。从本文结果来看, 此种变异体茎尖内 IAA、GA₃ 含量比正常烟草低, 而 ABA 和 ZR 含量较高, 外施 GA₃ 后, 其株高可与正常株高接近。虞慧芳等(2002)认为, 根据植物矮化突变体对外源激素的反应可分为缺陷型和不敏感型 2 类。激素缺陷型矮化突变体的活性激素由于在合成途径中受到抑制或阻断, 因而植物体内源活性激素缺乏或痕量存在, 而外施相应的活性激素后即可恢

复野生型表型。但‘农大202’是否为GA₃缺陷型突变体, 需应作遗传学和分子生物学分析加以查明。

参考文献

- 何钟佩(1994). 农作物化学控制实验指导. 北京: 北京农业大学出版社
- 宋平, 高红胜, 曹显祖, 谢迎兰(1998). 不同籼稻品种的矮生性与内源ABA水平及其结合蛋白的关系. 西北植物学报, 18 (3): 380~385
- 王文静, 高松杰(2002). 不同粒型小麦品种内源GA₃和ABA含量变化及其与源库关系. 植物生理学通讯, 38 (4): 289~293
- 袁晶, 汪俏梅, 张海峰(2005). 植物激素信号之间的相互作用. 细胞生物学杂志, 27 (3): 325~328
- 虞慧芳, 曹家树, 王永勤(2002). 植物矮化突变体的激素调控. 生命科学, 14 (2): 85~88
- 郑慧琼, 赵毓橘(1997). 植物激素突变体. 植物生理学通讯, 33 (5): 321~329
- 朱云集, 李向阳, 郭天才, 马冬云, 王晨阳, 王永华(2005). 不同冠温特征冬小麦灌浆过程中内源激素含量的变化. 植物生理学通讯, 41 (6): 720~724
- Börner A, Plaschke J, Korzun V, Worland AJ (1996). The relationships between the dwarfing genes of wheat and rye. *Euphytica*, 89 (1): 69~75
- Hoffmann-Benning S, Kende H (1992). On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice. *Plant Physiol*, 99 (3): 1156~1161
- Itoh H, Ueguchi-Tanaka M, Sentoku N, Kitano H, Matsuoka M, Kobayashi M (2001). Cloning and functional analysis of two gibberellin 3 β -hydroxylase genes that are differently expressed during the growth of rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98 (15): 8909~8914
- Peng J, Richards DE, Hartley NM, Murphy GP, Devos KM, Flintham JE, Beales J, Fish LJ, Worland AJ, Pelica F et al (1999). ‘Green revolution’ genes encode mutant gibberellin response modulators. *Nature*, 400 (6741): 256~261
- Phinney BO (1956). Growth response of single-gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. *Proc Natl Acad Sci USA*, 42 (4): 185~189
- Ross JJ, O’Neill DP (2001). New interactions between classical plant hormones. *Trends Plant Sci*, 6 (1): 2~4
- Ross JJ, O’Neill DP, Smith JJ, Kerckhoffs LHJ, Elliott RC (2000). Evidence that auxin promotes gibberellin AI biosynthesis in pea. *Plant J*, 21 (6): 547~552