

吲哚乙酸、吲哚丁酸和萘乙酸对大豆幼根生长的影响

李欣欣, 赵静, 廖红*

亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 华南农业大学根系生物学研究中心, 广州510642

摘要: 以大豆基因型‘HN89’为材料, 设置不同浓度的吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)及萘乙酸(NAA)处理, 研究不同外源生长素对大豆根系生长的影响。结果表明: 低浓度的IAA (0.05和0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)能够促进大豆主根伸长生长及侧根发育; IBA、NAA和高浓度IAA抑制了主/侧根的伸长生长, 使根系发育不良, 生物量下降。这说明不同外源生长素类物质不同程度的调控了大豆根系形态构型。

关键词: 大豆; 吲哚乙酸; 吲哚丁酸; 萘乙酸; 根系; 生长发育

Effects of Indoleacetic Acid, Indolebutyric Acid and Naphthylacetic Acid on Soybean [*Glycine max* (L.) Merr] Root Growth

LI Xin-Xin, ZHAO Jing, LIAO Hong*

State Key Laboratory for Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, Root Biology Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China

Abstract: The effects of exogenous auxins on root growth were evaluated using soybean genotype ‘HN89’ as plan materials. The seedlings were treated by different concentrations of indoleacetic acid (IAA), indolebutyric acid (IBA) and naphthylacetic acid (NAA). The results showed that only low concentrations (0.05 and 0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) of IAA could promote both primary root elongation and lateral root development in soybean, IBA, NAA and high concentration of IAA inhibited the elongation of both primary and lateral roots, resulted in abnormal root development, and subsequently reduced soybean biomass. These results elucidated that different exogenous auxin regulated the soybean root architecture inordinately.

Key words: soybean (*Glycine max*); indoleacetic acid; indolebutyric acid; naphthylacetic acid; roots; growth and development

生长素是最早发现的一类植物激素, 在植物生长发育过程中起十分重要的作用。在器官水平上, 生长素影响了器官的生长、成熟和衰老; 在细胞水平上, 生长素影响了细胞的伸长、分裂和分化。生长素对植物生长发育的调控作用, 因其浓度、植物种类、器官和细胞的年龄不同而异, 根系生长发育与生长素密切相关(Overvoord等2010)。

根系是植物体的重要组成部分, 具有锚定、吸收水分养分、合成和贮藏营养物质、维持根际微生物等功能(Hodge等2009)。发达的根系对植物正常的生命活动及抵抗不良环境具有重要作用。根系的生长发育与许多因素有关, 生长素是其中最重要的因素之一。生长素参与调控根毛的生长发育, 外施2,4-D能够恢复拟南芥中调控根毛发育的生长素响应缺失突变体 $axr1$ 的表型, 促使其根毛伸长生长(Pitts等1998)。生长素还参与调控侧根原

基的形成, 并且侧根的发生与伸长生长都依赖于生长素直接或间接的调控作用(Péret等2009)。研究发现, 拟南芥中高亲和的生长素输入载体LAX3能促使侧根发育, 并调控与细胞壁建成相关基因的表达(Swarup等2008)。外源添加生长素能增加侧根数目, 抑制生长素运输时减少侧根数目, 且外源添加生长素能恢复 $aux1$ 突变体侧根数目减少的表型(Marchant等2002)。生长素调控根系向地性, 生长素输入载体AUX1在细胞内活动受AXR4调控, 在 $axr4$ 突变体中, AUX1蛋白在根部表皮和原生韧皮部细胞不对称分布丧失, 导致植物根的重力反应减弱(Dharmasiri等2006)。此外, 生长素还

收稿 2013-02-20 修定 2013-04-24

资助 国家自然科学基金项目(31000931)。

* 通讯作者(E-mail: hliao@scau.edu.cn; Tel: 020-85283380)。

调控不定根的发育, 不定根形成的关键是其原基的形成是一个受激素调控的复杂过程, 生长素起关键的调节作用(王金祥等2005)。外施 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA或NAA能促使地中海波喜荡草(*Posidonia oceanica*)水生植物插条产生不定根(Balestri和Lardicci 2006)。周索和杜丽(2008)发现NAA、IAA、IBA和2,4-D等都具有抑制拟南芥主根生长, 促进不定根生长的作用。

在生长素调控众多植物根系发育的研究中, 对大豆根系调控作用尚未见报道。本文以IAA、IBA和NAA三种外源生长素类物质对大豆根系生长发育影响等方面进行了比较研究, 旨在为进一步研究生长素调控大豆根构型及调控根系发育等方面提供理论依据, 丰富大豆根系研究的内容。

材料与方 法

1 实验材料

供试植物为大豆[*Glycine max* (L.) Merr]基因型‘HN89’, 实验在大豆培养室中进行。

2 实验方法

2.1 培养液及实验设计

本实验采用1/2Hoagland营养液的改良配方, 其成分为 $0.25 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ 、 $1.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KNO}_3$ 、 $1.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Ca}(\text{NO}_3)_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.4 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{NO}_3$ 、 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 $0.3 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ 、 $0.5 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.025 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ MgCl}_2$ 、 $0.0025 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaB}_4\text{O}_7\cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.0015 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $0.0015 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.0005 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $0.00016 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} (\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$

和 $0.04 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ Fe-Na-EDTA}$ 。

母液配制: 分别称取7 mg吲哚乙酸(IAA)、8.128 mg吲哚丁酸(IBA)和7.45 mg萘乙酸(NAA)分析纯, 用 $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NaOH}$ 少许溶解后, 定容至40 mL配置成 $1 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 母液待用, 实验中生长素处理大豆幼苗的浓度分别为0.05、0.5、1和 $5 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 工作液按相应比例稀释配制而成。

2.2 大豆幼苗的培养

将饱满均匀的大豆种子经10% H_2O_2 表面消毒1 min, 无菌水漂洗10次, 1/4大豆水培营养液(pH 5.8)催芽至露白后, 用 $121 \text{ }^\circ\text{C}$ 高压灭菌20 min的催芽纸催芽。1/2水培营养液将催芽纸润湿后平铺在干净的平板上, 种子逐个放在距催芽纸上边缘1 cm处卷好, 放入盛有1/2水培营养液的培养杯中。卷纸在培养杯中竖直, 确保大豆胚根向下; 用保鲜膜将卷纸围起, 起到固定并保湿的功能(图1-A)。大豆暗培养2 d后, 再在光照强度为 $400 \text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、空气相对湿度为60%的培养室中(白天温度 $26 \text{ }^\circ\text{C}/13 \text{ h}$, 晚上温度 $24 \text{ }^\circ\text{C}/11 \text{ h}$)培养1 d, 在幼苗没有侧根形成时(图1-B), 移植到分别添加不同浓度IAA、IBA和NAA的培养杯中处理4 d (图1-C), 每种处理有3个生物学重复。

2.3 根系参数的分析

根形态参数的分析用根系扫描仪(Epson1460XL, 日本)对大豆植株根系进行扫描, 根系总根长、根表面积和根直径采用根系分析软件WinRHIZO (Canada, Regent Instrument Inc.)进行定量分析。

2.5 数据处理

本实验所有数据均用 Microsoft Excel 2007进行平均数和标准误差的分析。

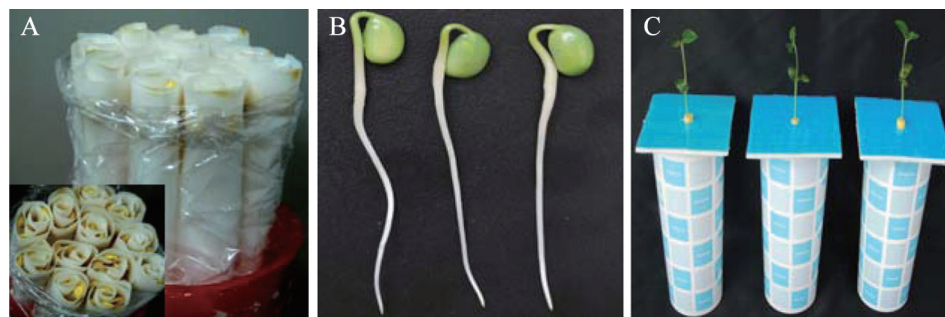


图1 大豆种子卷纸催芽与不同外源生长素处理

Fig.1 Soybean seeds germinated on rolling paper and treatments with different auxin sources

A: 大豆幼苗露白后卷纸催芽; B: 萌发3 d后大豆幼苗; C: 进行生长素处理的培养杯。

结果与讨论

1 不同浓度IAA、IBA及NAA对大豆根系形态的影响

从图2可以看出, 经不同浓度的IAA、IBA及NAA处理4 d的大豆根系形态发生了显著的变化。随着IAA浓度的递增, 大豆根系生长呈现出从促进到抑制的趋势, 0.05和0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的IAA处理与对照(图2-A)相比能够促进根系生长(图2-A~C), 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理大豆根系变化不显著(图2-D), 但5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理的大豆根系生长受到明显抑制, 尤其是侧根和主根的伸长(图2-E)。

外施IBA显著抑制了大豆根系的生长。0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA处理的根系主、侧根都短于对照但又长于高浓度IBA处理的根系(图2-F), 0.5和1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$

IBA处理的根系形状类似于排根(并非排根), 侧根在整条主根上分布均匀(图2-G和H), 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA处理的根系侧根能刺穿并掀起表皮(图2-I, 右侧为IBA放大图, 白色箭头表示), 侧根数量变多、变短、粗壮且不能伸长。

不同浓度的NAA处理大豆根系都抑制侧根和主根的伸长(图2-J~M), 0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA处理与0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA处理根系表型相似(图2-G和J)。1和5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA处理的大豆根系在距离根尖处的侧根分布密集(图2-L和M, 右侧为图2-M的放大图), 靠近基部的侧根却变得稀疏, 侧根像主根上的突起。

从图2可以发现, 随着浓度的增加, NAA和IBA对根系生长的抑制作用增强; 而低浓度IAA能够促进根系生长而高浓度IAA则抑制其生长。这



图2 不同浓度IAA、IBA和NAA处理的大豆根系形态的变化

Fig.2 Changes of soybean root morphology with different concentrations of IAA, IBA and NAA

可能是因为高浓度IAA破坏了正常的生理过程,抑制了细胞伸长。高浓度IBA (图2-G~I)及所有NAA处理的大豆根系都明显缩短了根尖与最后一条侧根之间的距离,而在高浓度IAA (图2-E)处理的大豆根系中这种现象才明显。由此可见, NAA、IBA和高浓度的IAA能加速植物的根系衰老,过度地促使侧根原基发育并形成侧根突起,然而不能发育成具有正常生物学功能的侧根。

在植物体内,生长素首先与生长素受体相结合,生成生长素受体复合物,通过各种作用元件在信号传递链上传递,最终引起植株形态上的改变(吕剑和喻景权2004)。本文研究发现不同浓度的外源生长素类物质处理大豆幼苗,根系表型发生了显著变化,可能的原因有:(1)外源生长素作为信号物质,由于外界浓度的提高,可能影响了大豆体内生长素与受体结合程度,阻遏或者增强了各作用元件的传递作用,进而改变了根系表型。(2)根的生长发育是一个复杂的过程,有多种植物激素的参与,然而激素之间的互作常常会引起某一个或几个激素信号途径的改变,最终调控根系发育

(Benková和Hejátko 2009)。本实验中通过不同浓度外源激素的处理,可能引起了大豆体内不同激素间共同信号转导成员时空表达的改变,是调控根系表型的另一原因。(3)研究发现生长素参与调控细胞周期蛋白、根系发育(严小龙等2007)及细胞壁建成相关基因(Swarup等2008)的表达。因此,生长素直接或间接调控根构型响应基因的表达是起根形态改变的可能原因之一。从图2-I中可以看出 $5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA能刺激侧根原基形成并掀起其表皮,说明外界IBA可能诱导了与根系发育相关的细胞周期蛋白的表达,促使细胞快速分裂,侧根迅猛增加,然而其真实性需要进一步的实验证实。

2 不同浓度IAA、IBA及NAA对大豆根系指标的影响

从图3可以看出,不同浓度的IAA、IBA和NAA处理显著影响了大豆幼苗根系的总根长、侧根数、根表面积和平均直径。 0.05 和 $0.5 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA显著增加了大豆根系的总根长,但之后随着IAA浓度的增加,总根长逐渐变短(图3-A),这也与低浓度IAA促进生长高浓度抑制生长的现象相一

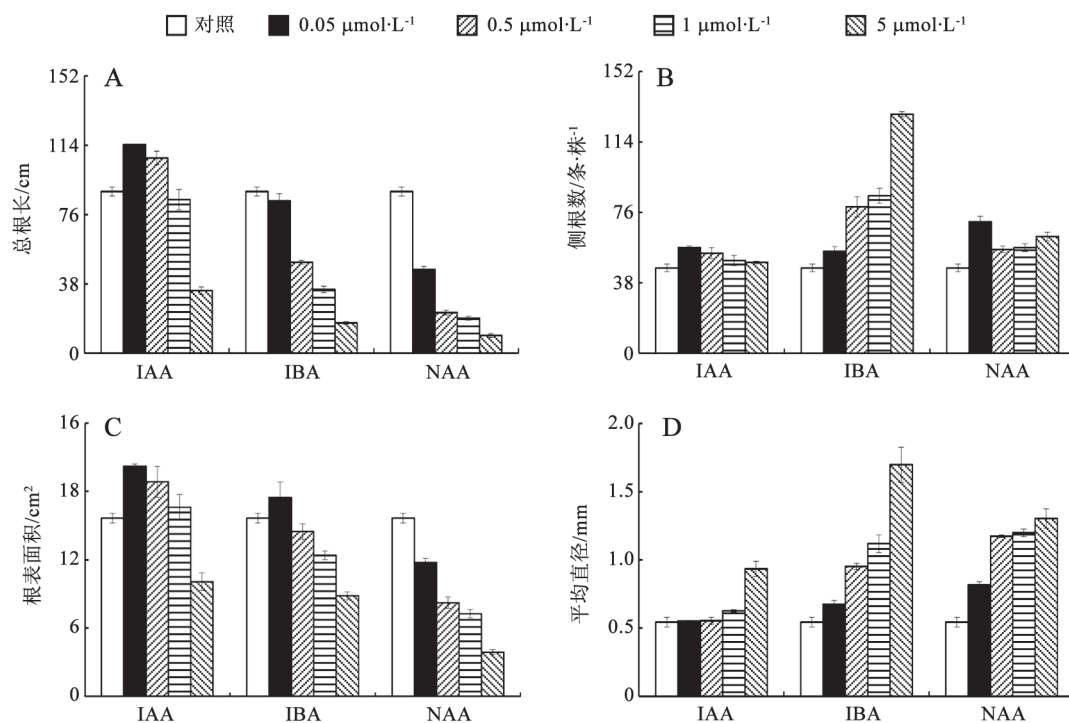


图3 不同浓度IAA、IBA和NAA对大豆总根长、侧根数、根表面积和平均直径的影响

Fig.3 Effect of IAA, IBA and NAA with different concentrations on soybean root length, lateral root number, root surface area and average diameter

致。1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA与对照之间的差异不显著, 5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA与对照相比较, 显著缩短了总根长。IBA和NAA处理的大豆幼苗皆随着浓度的增加而抑制根系伸长生长, NAA的抑制作用更大(图3-A)。

0.05和0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA显著增加了大豆侧根数(图3-B), 说明低浓度的IAA不仅能促进根系伸长生长, 还能促进侧根发育。1和5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA与对照的侧根数相当。不同浓度IBA的处理下, 大豆幼苗侧根数都多于对照, 且随着IBA浓度的增加而增加。不同浓度NAA处理都能明显增加大豆幼苗的侧根, 其中浓度为0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 时侧根最多。图3-B显示, IBA和NAA抑制主根和侧根根系的伸长生长, 促进侧根原基形成。

根表面积是反映根系与土壤之间进行营养交换界面大小的重要参数(严小龙等2007)。从图3-C可以看出, IAA和NAA处理的大豆根表面积与其总根长的变化趋势一致, IBA处理略有不同。大豆根表面积的随着IBA浓度的增加而减少。与对照相比较, 0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA处理增加了根表面积, 与总根长的变化不同的原因可能是0.05 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA侧根数增加导致的, 而其他处理没有改变的原因是侧根没有伸长(图2-F), 即使侧根数有所增加最终未能引起总根长的变化。

不同浓度的IAA、IBA和NAA均影响了根系平均直径(图3-D)。不同浓度IAA处理中, 只有5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的IAA显著增加了根系平均直径, 其他浓度处理与对照之间差异不显著。IBA和NAA处理的平均直径都是随着浓度的增加而增加, 高浓度5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的IAA、IBA和NAA促使根系增粗, 导致根系短而粗、发育不良。

3 不同浓度IAA、IBA及NAA对大豆生物量的影响

经不同生长素处理4 d后, 大豆幼苗第一片真叶未完全张开, 且各处理的大豆幼苗地上部形态没有改变(图1-C), 但根部形态变化显著, 这可能是因为根部是植物体对生长素浓度最敏感的营养器官或者根部直接接触生长素的缘故。由图4可知, 0.05和0.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理显著促进了大豆生长, 植株总生物量明显增加; 而1和5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA处理抑制了大豆生长, 植株总生物量与对照相比较明

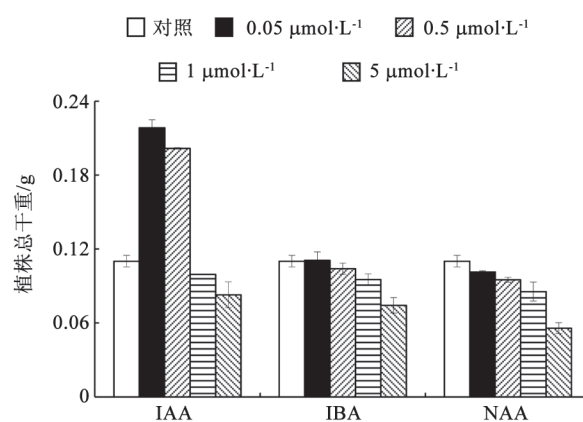


图4 不同浓度IAA、IBA和NAA处理对大豆生物量的影响
Fig.4 Effects of IAA, IBA and NAA with different concentrations on soybean biomass

显下降。IBA和NAA负调控大豆生长, 随浓度的升高抑制作用增强, 总生物量呈现递减的趋势。5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA、IBA和NAA严重阻碍了大豆生长, 在各处理浓度之间总生物量最小。说明不同外源生长素类物质通过改变大豆根系形态构型, 影响根系发育, 进而影响了其生物量。

参考文献

- 吕剑, 喻景权(2004). 植物生长素的作用机制. 植物生理学通讯, 40 (5): 624-628
- 王金祥, 严小龙, 潘瑞焜(2005). 不定根形成与植物激素的关系. 植物生理学通讯, 41 (2): 133-142
- 严小龙, 廖红, 年海(2007). 根系生物学: 原理和应用. 北京: 科学出版社
- 周索, 杜丽(2008). 四种生长素对拟南芥根生长发育的影响. 北方园艺, 3: 51-52
- Balestri E, Lardicci C (2006). Stimulation of root formation in *Posidonia oceanica* cuttings by application of auxins (NAA and IBA). *Marine Biol*, 149: 393-400
- Benková E, Hejácíto J (2009). Hormone interactions at the root apical meristem. *Plant Mol Biol*, 69: 383-396
- Dharmasiri S, Swarup R, Mockaitis K, Dharmasiri N, Singh SK, Kowalchuk M, Marchant A, Mills S, Sandberg G, Bennett MJ et al (2006). AXR4 is required for localization of the auxin influx facilitator AUX1. *Science*, 312: 1218-1220
- Hodge A, Berta G, Doussan C, Merchan F, Crespi M (2009). Plant root growth, architecture and function. *Plant Soil*, 321: 153-187
- Marchant A, Bhalerao R, Casimiro I, Eklöf J, Casero PJ, Bennett M, Sandberg G (2002). *AUX1* promotes lateral root formation

- by facilitating indole-3-acetic acid distribution between sink and source tissues in the Arabidopsis seedling. *Plant Cell*, 14: 589~597
- Overvoord P, Fukaki H, Beeckman T (2010). Auxin control of root development. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2 (6): 1~16
- Péret B, Rybel BD, Casimiro I, Benková E, Swarup R, Laplace L, Beeckman T, Bennett MJ (2009). Arabidopsis lateral root development: an emerging story. *Trends Plant Sci*, 14: 399~408
- Pitts RJ, Cernac A, Estelle M (1998). Auxin and ethylene promote root hair elongation in Arabidopsis. *Plant J*, 16: 553~560
- Swarup K, Benkova E, Swarup R, Casimiro I, Péret B, Yang Y, Parry G, Nielsen E, Smet ID, Vanneste S et al (2008). The auxin influx carrier LAX3 promotes lateral root emergence. *Nat Cell Biol*, 10: 946~954