

## 反式-2-己烯醛抑制拟南芥根尖生长素极性运输

张婷, 闫素丽, 董杉杉, 焦春阳, 张笑, 沈应柏\*

北京林业大学生物科学与技术学院, 林木育种国家工程实验室, 北京100083

**摘要:** 以拟南芥植株为材料, 观察了反式-2-己烯醛熏蒸处理后拟南芥初生根生长变化。采用非损伤微测技术, 从动态生长素流的角度研究了反式-2-己烯醛处理对拟南芥根尖生长素转运的影响, 并结合实时定量PCR技术检测了反式-2-己烯醛处理后生长素极性转运相关基因的表达。结果表明, 反式-2-己烯醛处理能够抑制拟南芥初生根生长, 且浓度越高抑制作用越强。反式-2-己烯醛显著抑制拟南芥根尖分生区及过渡区的生长素外排, 并显著下调了生长素极性转运基因 *PIN1*、*PIN2*、*PIN3* 及生长素感知基因 *TIR1* 的表达。说明反式-2-己烯醛抑制拟南芥根尖生长素的极性转运从而影响初生根生长。

**关键词:** 拟南芥; 反式-2-己烯醛; 生长素; 极性转运; 非损伤微测技术

绿叶性气体(green leaf volatiles, GLVs)是一类含有6个碳的小分子醛、醇和酯类化合物(Hatanaka等1987; Matsui 2006)。正常状态下的植物释放极少量的GLVs, 当植物遭受机械损伤(Kessler等2006)、昆虫取食(Pare和Tumlinson 1997; Allmann和Baldwin 2010)或病菌侵染(Croft等1993; Shiojiri等2006a)等非生物或生物胁迫后, 细胞膜上游离出的亚油酸及 $\alpha$ -亚麻酸经脂氧合酶(lipoxygenases, LOXs)和氢过氧化物裂解酶(hydroperoxide lyase, HPL)作用迅速合成GLVs并大量释放出来(Scala等2013)。GLVs是虫害诱导植物挥发物(herbivore-induced plant volatiles, HIPVs)的重要组成部分。

反式-2-己烯醛(*E*-2-hexenal)属于GLVs的一种, 是大多数绿色植物受损伤后都能快速合成并释放的挥发性物质。以往的研究表明, 反式-2-己烯醛可以影响某些植食性昆虫的取食、交配及产卵(Li等2014; Reddy和Guerrero 2000)行为, 还能作为吸引植食性昆虫天敌的“报警信号”, 帮助植株间接抵御虫害袭击(许宁等1999; Shiojiri等2006b)。反式-2-己烯醛具有较高的抗菌活性, 能有效抑制某些病原菌及真菌的生长(Croft等1993; Kishimoto等2008)。除此之外, 反式-2-己烯醛也被证明是一种气体信号物质, 参与诱导植物防御基因的表达和防御物质的合成。外源己烯醛熏蒸处理激活了拟南芥体内茉莉酸途径及苯丙烷类途径相关基因的表达, 诱导植物抗毒素的合成及叶片木质化程度增加, 继而增强拟南芥的抗病能力(Bate和Rothstein 1998; Kishimoto等2006a, b)。反式-2-己烯醛还会影响植物其他生理过程, 如抑制种子萌发和影响根部形态建成(Arimura等2010)。

经反式-2-己烯醛熏蒸处理后, 拟南芥初生根生长明显受抑制, 这一现象与防御信号物质茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)作用类似(Bate和Rothstein 1998)。在GLVs中, 反式-2-己烯醛影响根生长的作用具有特异性, 这与其特有的化学结构 $\alpha, \beta$ -不饱和羰基密切相关(Mirabella等2008)。然而到目前为止关于己烯醛抑制根生长的机理并不清楚。生长素(indole-3-acetic acid, IAA)是植物体内最重要的激素类物质, 它通过极性运输的方式在植物体内形成以器官顶端为中心的浓度梯度, 维持植物不同组织的生长素浓度差, 从而有效调节植物各个生长发育过程(李俊华和种康 2006)。反式-2-己烯醛抑制根生长的作用是否与生长素相关, 尚未见研究报道。本研究中, 我们利用非损伤微测技术(non-invasive micro-test technology, NMT)实时监测了反式-2-己烯醛处理后拟南芥根尖生长素的转运过程, 并检测了根尖生长素极性转运相关基因的表达, 以期揭示反式-2-己烯醛抑制根生长的机理。

## 材料与方法

### 1 实验材料

本实验材料为野生型拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L., Col-0)幼苗。首先将拟南芥种子用70%

收稿 2015-12-16 修订 2016-01-13  
资助 国家自然科学基金(31270655)和国家“863”计划(2011-AA10020102)。

致谢 美国佛罗里达大学Eric Mclamore教授在生长素测定方面给予技术支持和指导, 中国农业科学院作物科学研究所傅永福研究员课题组在实时定量PCR方面给予技术支持。

\* 通讯作者(E-mail: ybshen@bjfu.edu.cn)。

乙醇消毒4 min, 再用去离子水冲洗7~8次, 均匀播种于含有1/2MS培养基(含2%蔗糖与1.2%琼脂, pH 5.8)的9 cm培养皿上。将培养皿放于4°C黑暗环境下低温春化2 d, 后垂直放置于Percival公司生产的拟南芥培养箱内(型号: I-36VL), 培养温度(22±1)°C, 湿度70%, 光周期为16 h光照和8 h黑暗(L16:D8), 光照强度80~110  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

反式-2-己烯醛( $\geq 97\%$ )与甲醇(methanol)均购自Sigma-Aldrich, 取反式-2-己烯醛溶于甲醇配制成0.32  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的溶液, 并置于4°C环境贮存。

## 2 实验方法

### 2.1 熏蒸处理

取出培养箱中生长4 d的拟南芥幼苗, 挑选长势一致的10~15棵幼苗放于1/2MS新培养皿上。将培养皿垂直放置于容积2 L的玻璃钟罩内, 钟罩内顶部悬挂一个直径1 cm左右的脱脂棉球。向棉球上滴加25  $\mu\text{L}$ 的反式-2-己烯醛贮存液, 使各钟罩内反式-2-己烯醛气态浓度分别达到0.5、1、2和4  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 滴加完毕后迅速将钟罩扣下并用医用凡士林密封。熏蒸处理环境条件与拟南芥培养条件一致。将只滴加25  $\mu\text{L}$ 甲醇的钟罩设为对照处理。每个处理包含3个培养皿, 共计30~40棵幼苗。

### 2.2 拟南芥根长测定

将熏蒸处理24 h后的拟南芥放回培养箱内, 继续生长3 d后取出并拍照。利用ImageJ软件(<http://rsbweb.nih.gov/ij/>)测量每棵幼苗根长并记录, 每处理共30~40个重复。

### 2.3 生长素流速测定

取生长6 d的幼苗置于玻璃钟罩内, 用终浓度1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的反式-2-己烯醛熏蒸并设甲醇为对照处理, 方法同上。熏蒸4 h后取出幼苗, 用滤纸条和透明胶条固定根部于塑料皿底并向皿中加入3 mL离子测试液, 25°C室温平衡30 min后测定。测试液成分为: 0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl、0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  CaCl<sub>2</sub>、0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MgCl<sub>2</sub>、0.5  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NaCl、0.2  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>和0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  MES, pH 5.8。

采用美国杨格公司生产的非损伤微测系统(NMT, 型号: BIO-001A)测定拟南芥根尖生长素流。测试前首先制备IAA电极, IAA电极为尖端直径1~2  $\mu\text{m}$ 的Pt/Ir电极。依照前人的方法(McLamore等2010), 首先利用电镀技术对电极表面进行铂黑

修饰, 之后对电极硅烷化处理, 最后短暂浸入多碳纳米管溶液中, 取出并室温干燥备用。将制好的IAA电极与参比电极同时放入5 mL PBS缓冲液(pH 7.4)中, 增加电压至700 mV极化IAA电极。待通路电流稳定后, 向缓冲液中多次加入5  $\mu\text{L}$ 的IAA (购自Sigma-Aldrich,  $\geq 98\%$ )溶液, 使缓冲液中IAA终浓度依次达到20、40、60和80  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ , 根据分别测得的电流计算该电极的标准曲线,  $R^2 > 0.95$ 的电极才可用于IAA测定。

将平衡好的样品置于非损伤微测系统的载物台上, 调节三维控制装置使电极垂直于根尖外侧放置, 电极尖端在距离根尖外侧10与30  $\mu\text{m}$ 处往复移动进行测定, 并从距根冠0、100、200、300、400、500、600、700、800、900、1 000、1 100和1 200  $\mu\text{m}$ 处分别稳定测试2~3 min, 采样频率为0.2 Hz。将采集的数据导入Excel表格, 根据Fick第一扩散定律计算IAA流速:  $J = -D(\Delta C/\Delta X)$ , 其中,  $J$ 表示IAA流速( $\text{fmol}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ),  $D$ 代表IAA的扩散系数 $7 \times 10^{-6}$   $\text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$  (25°C),  $\Delta C$ 代表电极移动两点间的IAA浓度差值,  $\Delta X$ 系数表示电极移动距离20  $\mu\text{m}$ 。每组处理均设4次重复。

整合离子流量可以直观反映在测量时间内, 某种离子进出细胞的总量情况。根据每一样品根尖不同区域的生长素流速, 利用OriginPro软件的积分工具计算根尖各区域单位时间内的生长素流量。

### 2.4 基因表达量测定

用反式-2-己烯醛熏蒸处理生长6 d的拟南芥幼苗, 在熏蒸4和12 h后将幼苗取出, 剪取根尖部分并置于-80°C保存。本实验采用TRIzol试剂盒(北京全式金生物技术公司)提取根尖组织总RNA。提取的RNA用1%琼脂糖凝胶电泳以检测完整性, 并用NanoDrop ND-2000c测定其纯度与浓度, 采用TaKaRa公司研制的反转录酶将500  $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$  RNA反转录成cDNA。实时定量RT-PCR时, 以稀释5倍的cDNA为模板, 加入TaKaRa公司的SYBRGreen Mix及扩增引物(表1), 在Applied Biosystems公司的StepOnePlus Real-Time PCR仪上进行PCR扩增。两步法PCR反应条件: 95°C预变性30 s; 95°C变性5 s, 60°C退火30 s, 共40个循环并生成溶解曲线。荧光数据采集后, 用该仪器自带软件进行数据分析。

表1 实时定量RT-PCR所用扩增引物  
Table 1 Amplification primers for quantitative real-time PCR

基因名称	正向引物	反向引物
<i>ACTIN7</i>	5'-CCATTCAGGCCGTTCTTTC-3'	5'-CGTTCTGCGGTAGTGGTGA-3'
<i>PIN1</i>	5'-GGTCGGAAGCTCTAACTTTGGTC-3'	5'-CAGCTCCAGCAGCAGTTCCAGC-3'
<i>PIN2</i>	5'-CCTCGCCGCACTCTTTCTTTGG-3'	5'-CCGTACATCGCCCTAAGCAATGG-3'
<i>PIN3</i>	5'-AGCACCTGACAACGATCAAGGCG-3'	5'-GTTCTCCTCCGAAATCTCCACT-3'
<i>PIN4</i>	5'-CCACTTCTCTCCACCAACGATCC-3'	5'-CCGGACCAAAAATTCGAAAGCCTCC-3'
<i>AUX1</i>	5'-GTTCGTATACGTGAAGGGAGTA-3'	5'-CACACACTACATATTATCGACT-3'
<i>TIR1</i>	5'-CTTAACCGAGCTGTTCCAC-3'	5'-AGTAAACAATCTGGTCGCACT-3'

各处理组与对照组均有3次独立重复和3次技术重复, 选择*ACTIN7*为内参基因, 相对定量分析采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法, 定义4 h对照组目的基因表达量为1, 由此得到各处理组目的基因的相对表达量。

### 3 数据统计分析

采用Excel软件对试验数据进行分析, 利用SPSS 19.0软件对各处理组的数据进行方差分析,  $P < 0.05$ 表现为差异显著,  $P < 0.01$ 为差异极显著。结果以平均值 $\pm$ 标准差(或标准误)表示。

## 实验结果

### 1 反式-2-己烯醛熏蒸对拟南芥初生根生长的影响

反式-2-己烯醛熏蒸处理24 h后, 拟南芥幼苗初生根生长减缓(图1-A)。经0.5、1、2和4  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 反式-2-己烯醛处理后的初生根长度分别为(12.06 $\pm$ 1.4) mm、(9.23 $\pm$ 0.66) mm、(7.53 $\pm$ 0.72) mm和(5.76 $\pm$ 0.42) mm, 与甲醇(MeOH)对照组根长(15.77 $\pm$ 2.19) mm相比均达到极显著差异( $P < 0.01$ )。四种浓度处理下的根长生长较对照组分别减少了23.52%、41.47%、52.25%和63.47%, 且反式-2-己烯醛浓度越高抑制效果越显著(图1-B)。后续实验中, 设置反式-2-己烯醛熏蒸处理的有效浓度为1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 2 反式-2-己烯醛对拟南芥根尖生长素流的影响

通过测定对照组拟南芥根尖生长素流发现, 生长素的转运方向及流速在根尖不同功能区存在较大差异(图2)。根尖分生区(0~200  $\mu\text{m}$ )及过渡区(200~500  $\mu\text{m}$ )的生长素表现为持续外流趋势, 且在根尖300  $\mu\text{m}$ 处的外排流速达到最大值。根尖500  $\mu\text{m}$ 处开始的伸长区(500~900  $\mu\text{m}$ )及成熟区(>900  $\mu\text{m}$ )的生长素表现为内流趋势, 且内流流速较为平稳。反式-2-己烯醛熏蒸处理并没有改变各功能区

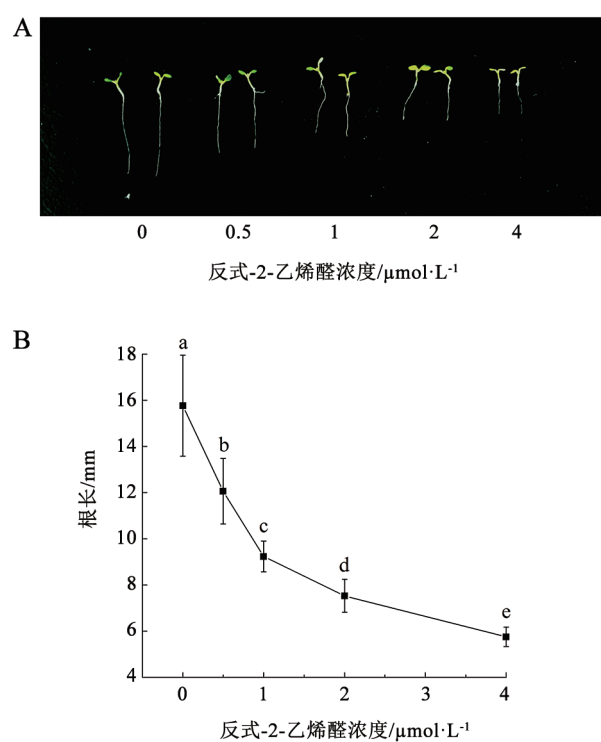


图1 不同浓度反式-2-己烯醛熏蒸后对拟南芥初生根根生长的影响

Fig.1 The impact of *E*-2-hexenal exposure on primary root growth of *Arabidopsis*

A: 不同处理后根长形态变化; B: 不同处理后根长统计结果。浓度0  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 表示甲醇对照处理; 数据为平均值 $\pm$ 标准差( $n=30-40$ ); 经Tukey多重比较, 数据点上不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

生长素进出根尖的方向, 但却显著抑制了根尖分生区及过渡区的生长素外流, 根尖200  $\mu\text{m}$ 及300  $\mu\text{m}$ 处的生长素流速分别降低到对照组流速的34.99%和23.19%。反式-2-己烯醛对根尖600  $\mu\text{m}$ 处的生长素内流有微弱抑制, 但从总体来看, 反式-2-己烯醛没有显著影响根尖伸长区及成熟区生长素的内流幅度(图2)。



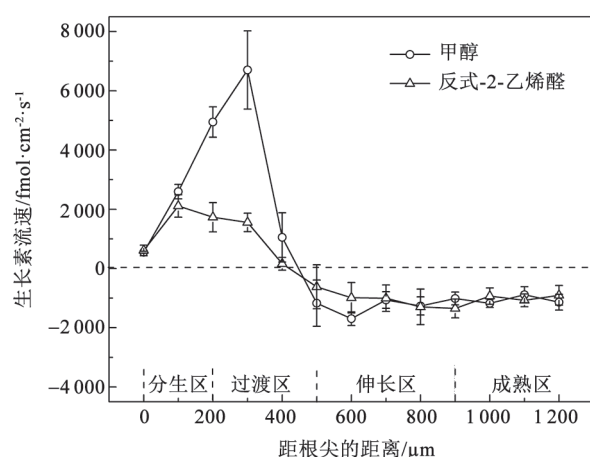


图2 反式-2-己烯醛熏蒸对拟南芥根尖各功能区生长素流速的影响

Fig.2 Effect of *E*-2-hexenal treatment on IAA net flux in different functional regions of the root apex in *Arabidopsis* seedlings

离子外流为正值, 内流为负值。数据为平均值±标准误 ( $n=4$ )。甲醇和反式-2-己烯醛分别表示甲醇对照与 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 反式-2-己烯醛熏蒸处理4 h。

整合根尖生长素流量也有类似规律(图3)。反式-2-己烯醛处理降低了根尖分生区及过渡区生长素的外流量, 反式-2-己烯醛抑制过渡区生长素流量的作用最为明显。两种处理的根尖伸长区与成熟区生长素的内流量无显著差异。

### 3 反式-2-己烯醛对拟南芥根尖生长素转运基因表达量的影响

为进一步揭示反式-2-己烯醛影响根尖生长素转运的机理, 本实验检测了反式-2-己烯醛熏蒸处理后生长素转运体基因的转录水平变化。在反式-2-己烯醛处理4 h和12 h后, 生长素外输载体 *PIN1* 基因的表达量与对照组相比分别降低了88.22%和75.74% (图4-A), *PIN2* 基因的表达量与对照处理相比分别降低了32.82%和54.88% (图4-B)。 *PIN3* 基因的表达量分别降低到对照组的20.30%和28.28% (图4-C)。反式-2-己烯醛则诱导了 *PIN4* 基因的表达量上调, *PIN4* 基因在处理4 h和12 h处的表达量分别为对照组的2.8和1.8倍(图4-D)。反式-2-己烯醛并没有显著影响生长素内向转运体基因 *AUX1* 的转录水平, 该基因在两个时间点的表达量分别为对照处理的0.88和0.93倍(图4-E)。除影响生长素转运基因的表达外, 反式-2-己

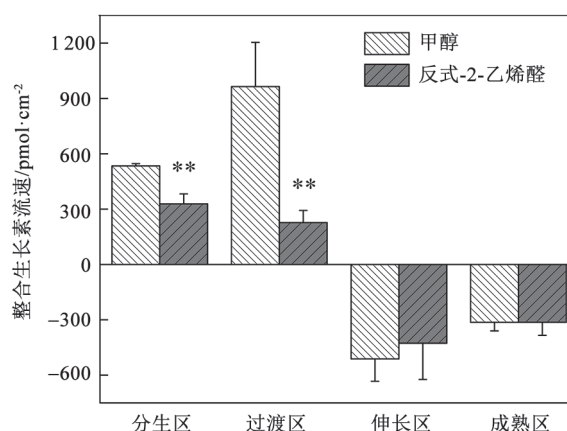


图3 反式-2-己烯醛处理对拟南芥根尖各功能区整合生长素流量的影响

Fig.3 Effect of *E*-2-hexenal treatment on integrated IAA flux in different functional regions of the root apex in *Arabidopsis* seedlings

离子外流为正值, 内流为负值。数据为平均值±标准误 ( $n=4$ )。甲醇和反式-2-己烯醛分别表示甲醇对照与 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 反式-2-己烯醛熏蒸处理4 h。 \*\*表示同一区域两组处理之间达到极显著差异( $P<0.01$ )。

烯醛处理也下调了生长素感知基因 *TIR1* 的表达, *TIR1* 在处理4 h和12 h处的表达量分别降低到对照处理的50.17%和55.23% (图4-F)。以上结果表明, 反式-2-己烯醛在转录水平上降低了根部生长素的极性转运和感知过程。

## 讨论

近20年的研究表明, 包括反式-2-己烯醛在内的GLVs是诱导植株间产生防御反应的重要气体信号物质(Scala等2013)。除调控防御反应外, 反式-2-己烯醛还能对植物的形态建成过程产生影响, 尤其表现为抑制初生根生长。本研究证明, 经反式-2-己烯醛熏蒸处理后, 拟南芥初生根生长明显受抑制, 且反式-2-己烯醛的抑制效果具有浓度效应, 这与前人的研究结果相一致(Bate和Rothstein 1998; Mirabella等2008)。

生长素是调控植物生长发育最重要的激素, 外界环境变化和外界信号物质通过影响植物体内生长素的合成和转运过程从而影响生长素在植物体内的分配, 最终表现为影响植物根部及其他部位的形态建成(Vanneste和Friml 2009)。本研究通过NMT技术直观证明了反式-2-己烯醛熏蒸处理对

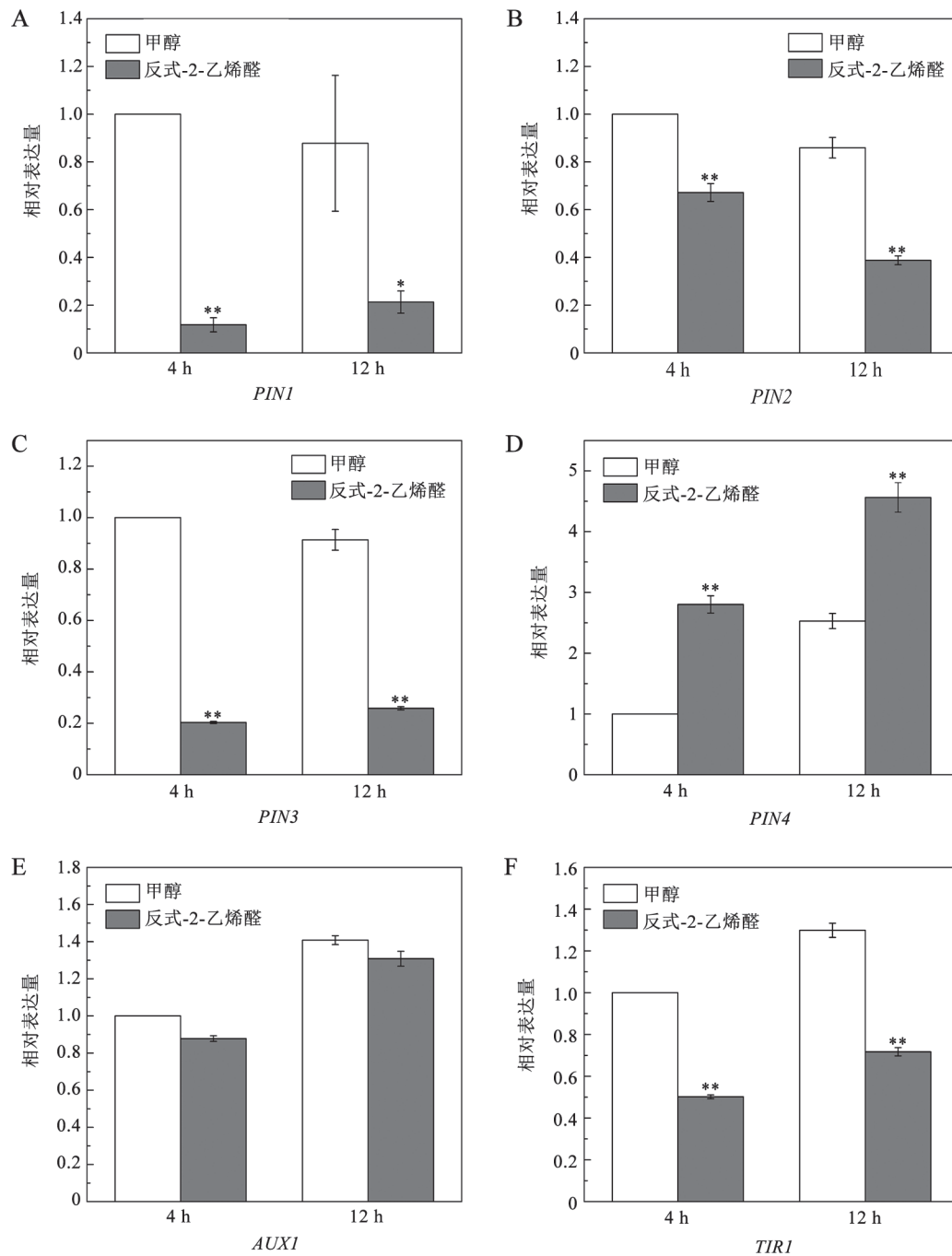


图4 反式-2-己烯醛处理对拟南芥生长素转运及感知相关基因表达量的影响

Fig.4 Analysis of transcript levels of the auxin transport and perception-related genes in *Arabidopsis* roots after *E-2-hexenal* treatment

甲醇和反式-2-己烯醛分别表示甲醇对照与 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 反式-2-己烯醛熏蒸处理4和12 h。*ACTIN7*为内参基因,定义4 h对照组目的基因表达量为1,根据 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法,由各处理组目的基因及内参基因的 $C_T$ 值,计算得到各处理组目的基因的相对表达量。相对表达量表示为平均值 $\pm$ 标准差( $n=3$ )。\*表示甲醇对照与反式-2-己烯醛处理组之间达到显著差异( $P<0.05$ ),\*\*表示两组处理之间达到极显著差异( $P<0.01$ )。

根尖生长素转运的影响,发现根尖过渡区对反式-2-己烯醛的诱导作用最为敏感。Verbelen等(2006)证明,生长5 d左右的拟南芥幼苗距根冠200~

520  $\mu\text{m}$ 的区域为根尖过渡区,该区域细胞生长缓慢但有丝分裂旺盛,处于细胞快速伸长的早期状态。Mancuso等(2005)及McLamore等(2010)的研究

发现,生长素在玉米根尖过渡区的流速最大,表明过渡区是根尖生长素流最活跃的部位。地上部分合成的生长素向顶运输(根基向根尖运输)到根尖分生组织后,再经由过渡区向基运输(根尖向根基运输)到伸长区细胞,因此过渡区的生长素转运在植物根生长中起关键作用。许多外界刺激都可以影响过渡区的生长素转运,如铝抑制拟南芥根尖过渡区细胞的生长素分泌从而抑制根尖生长(Shen等2008)。最近的研究发现,MeJA显著降低了拟南芥过渡区细胞的生长素外排,表明该区域在MeJA调控的根发育过程中起重要作用(Yan等2015)。本研究中,反式-2-己烯醛显著抑制了生长素从过渡区向伸长区的转运,可能导致伸长区生长素不足从而影响根尖伸长生长,表现为根生长减缓。

根尖生长素的极性运输依赖于生长素外输载体PIN蛋白家族。在PIN蛋白作用下,生长素形成通过向顶运输和向基运输的“伞形”运输,使根尖各部位的生长素呈不对称分布(吴道铭等2014)。本研究发现,反式-2-己烯醛处理显著影响了几种PIN蛋白基因的表达。PIN1主要调控生长素向顶性运输至根尖的过程(Petrášek和Friml 2009),PIN2在生长素根尖回流并向基性运输中发挥重要作用(Baluška等2010),PIN3参与调控生长素在根尖细胞的侧向分配过程(Friml等2002)。反式-2-己烯醛处理下调了上述3种外输载体基因的表达,表明反式-2-己烯醛对于根尖生长素向顶及向基运输的抑制作用,进一步解释了反式-2-己烯醛抑制根尖过渡区生长素转运的现象。有趣的是,反式-2-己烯醛激活了PIN4基因的表达,考虑到PIN4主要参与生长素向根尖静止中心的运输(邹纯雪和门淑珍2013),对于维持根中生长素浓度梯度发挥作用,该基因的表达上调可能是根尖向基性运输被抑制后的代偿性反应。反式-2-己烯醛处理也抑制了生长素感知基因TIR1在根尖的表达,表明反式-2-己烯醛降低了拟南芥幼苗对生长素的敏感性。

植物体内资源在不同功能间的分配存在“此消彼长”的平衡关系,防御反应的升高是以减少生长发育为代价的。在逆境胁迫下,植物倾向于减慢生长速率以节约资源用于防御反应(Coley等1985)。因此,反式-2-己烯醛诱导根生长减缓的现象可能是植物响应其诱导防御作用而采取的一种资源调控机制。

## 参考文献

- Allmann S, Baldwin IT (2010). Insects betray themselves in nature to predators by rapid isomerization of green leaf volatiles. *Science*, 329 (5995): 1075–1078
- Arimura G, Shiojiri K, Karban R (2010). Acquired immunity to herbivory and allelopathy caused by airborne plant emissions. *Phytochemistry*, 71 (52): 1642–1649
- Baluška F, Mancuso S, Volkmann D, Barlow PW (2010). Root apex transition zone: a signaling-response nexus in the root. *Trends Plant Sci*, 15 (7): 402–408
- Bate NJ, Rothstein SJ (1998). C<sub>6</sub>-volatiles derived from the lipoxygenase pathway induce a subset of defense-related genes. *Plant J*, 16 (5): 561–569
- Coley PD, Bryant JP, Chapin FS 3rd (1985). Resource availability and plant antiherbivore defense. *Science*, 230 (4728): 895–899
- Croft KPC, Juttner F, Slusarenko AJ (1993). Volatile products of the lipoxygenase pathway evolved from *Phaseolus vulgaris* (L.) leaves inoculated with *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola*. *Plant Physiol*, 101 (1): 13–24
- Friml J, Wisniewska J, Benkova E, Mendgen K, Palme K (2002). Lateral relocation of auxin efflux regulator PIN3 mediates tropism in *Arabidopsis*. *Nature*, 415 (6873): 806–809
- Hatanaka A, Kajiwara T, Sekiya J (1987). Biosynthesis pathway for C<sub>6</sub>-aldehydes formation from linolenic acid in green leaves. *Chem Phys Lipids*, 44 (2-4): 341–361
- Kessler A, Halitschke R, Diezel C, Baldwin IT (2006). Priming of plant defense responses in nature by airborne signaling between *Artemisia tridentata* and *Nicotiana attenuata*. *Oecologia*, 148 (2): 280–292
- Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, Takabayashi J (2006a). Components of C<sub>6</sub>-aldehyde-induced resistance in *Arabidopsis thaliana* against a necrotrophic fungal pathogen, *Botrytis cinerea*. *Plant Sci*, 170 (4): 715–723
- Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, Takabayashi J (2006b). ETR1-, JAR1- and PAD2-dependent signaling pathways are involved in C<sub>6</sub>-aldehyde-induced defense responses of *Arabidopsis*. *Plant Sci*, 171 (3): 415–423
- Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, Takabayashi J (2008). Direct fungicidal activities of C<sub>6</sub>-aldehydes are important constituents for defense responses in *Arabidopsis* against *Botrytis cinerea*. *Phytochemistry*, 69 (11): 2127–2132
- Li JH, Chong K (2006). Current research advances on polar auxin transport in plant. *Chin Bull Bot*, 23 (5): 466–477 (in Chinese with English abstract) [李俊华, 种康(2006). 植物生长素极性运输调控机理的研究进展. *植物学通报*, 23 (5): 466–477]
- Li Y, Zhong S, Qin Y, Zhang S, Gao Z, Dang Z, Pan W (2014). Identification of plant chemicals attracting and repelling whiteflies. *Arthropod Plant Interact*, 8 (3): 183–190
- Mancuso S, Marras AM, Magnus V, Baluška F (2005). Noninvasive and continuous recordings of auxin fluxes in intact root apex with a carbon nanotube-modified and self-referencing microelectrode. *Anal Biochem*, 341 (2): 344–351
- Matsui K (2006). Green leaf volatiles: hydroperoxide lyase pathway of oxylipin metabolism. *Curr Opin Plant Biol*, 9 (3): 274–280

- McLamore ES, Diggs A, Calvo Marzal P, Shi J, Blakeslee JJ, Peer WA, Murphy AS, Porterfield DM (2010). Non-invasive quantification of endogenous root auxin transport using an integrated flux microsensor technique. *Plant J*, 63 (6): 1004–1016
- Mirabella R, Rauwerda H, Struys EA, Jakobs C, Triantaphylidès C, Haring MA, Schuurink RC (2008). The *Arabidopsis her1* mutant implicates GABA in *E-2-hexenal* responsiveness. *Plant J*, 53 (2): 197–213
- Pare PW, Tumlinson JH (1997). De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiol*, 114 (4): 1161–1167
- Petrásek J, Friml J (2009). Auxin transport routes in plant development. *Development*, 136 (16): 2675–2688
- Reddy GVP, Guerrero A (2000). Behavioural responses of diamond-back moth, *Plutella xylostella*, to green leaf volatiles of *Brassica oleracea* subsp. *capitata*. *J Agric Food Chem*, 48 (12): 6025–6029
- Scala A, Allmann S, Mirabella R, Haring MA, Schuurink RC (2013). Green leaf volatiles: a plant's multifunctional weapon against herbivores and pathogens. *Int J Mol Sci*, 14 (9): 17781–17811
- Shen H, Hou NY, Schlicht M, Wan YL, Mancuso S, Baluska F (2008). Aluminium toxicity targets PIN2 in *Arabidopsis* root apices: Effects on PIN2 endocytosis, vesicular recycling, and polar auxin transport. *Chin Sci Bull*, 53 (16): 2480–2487
- Shiojiri K, Kishimoto K, Ozawa R, Kugimiya S, Urashimo S, Arimura G, Horiuchi J, Nishioka T, Matsui K, Takabayashi J (2006a). Changing green leaf volatile biosynthesis in plants: An approach for improving plant resistance against both herbivores and pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103 (45): 16672–16676
- Shiojiri K, Ozawa R, Matsui K, Kishimoto K, Kugimiya S, Takabayashi J (2006b). Role of the lipoxygenase/lyase pathway of host-food plants in the host searching behavior of two parasitoid species, *Cotesia glomerata* and *Cotesia plutellae*. *J Chem Ecol*, 32 (5): 969–979
- Vanneste S, Friml J (2009). Auxin: a trigger for change in plant development. *Cell*, 136 (6): 1005–1016
- Verbelen JP, Cnodder TD, Le J, Vissenberg K, Baluska F (2006). The root apex of *Arabidopsis thaliana* consists of four distinct zones of growth activities. *Plant Signal Behav*, 1 (6): 296–304
- Wu DM, Cao HP, Shen H (2014). Response of auxin and its transporter to aluminum stress in plant. *Plant Physiol J*, 50 (8): 1135–1143 (in Chinese with English abstract) [吴道铭, 曹华莘, 沈宏(2014). 生长素及其运输蛋白对植物铝胁迫的响应. *植物生理学报*, 50 (8): 1135–1143]
- Xu N, Chen ZM, You XQ (1999). Isolation and identification of tea plant volatiles attractive to tea geometrid parasitoids. *Acta Entomol Sin*, 42 (2): 126–131 (in Chinese) [许宁, 陈宗懋, 游小清(1999). 引诱茶尺蠖天敌寄生蜂的茶树挥发物的分离与鉴定. *昆虫学报*, 42 (2): 126–131]
- Yan SL, Zhang T, Dong SS, McLamore ES, Wang NN, Shan XY, Shen YB, Wan YL (2015). MeJA affects root growth by modulation of transmembrane auxin flux in the transition zone. *J Plant Growth Regul*, doi 10.1007/s00344-015-9530-9
- Zou CX, Men SZ (2013). Research advances in auxin efflux carrier PIN proteins. *Chin J Cell Biol*, 35 (5): 574–582 (in Chinese with English abstract) [邹纯雪, 门淑珍(2013). 生长素的外输载体PIN蛋白家族研究进展. *中国细胞生物学学报*, 35 (5): 574–582]

## ***E-2-hexenal* inhibit polar auxin transport in root of *Arabidopsis thaliana***

ZHANG Ting, YAN Su-Li, DONG Shan-Shan, JIAO Chun-Yang, ZHANG Xiao, SHEN Ying-Bai\*

National Engineering Laboratory for Tree Breeding, College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

**Abstract:** In this study, primary root length of *Arabidopsis thaliana* seedlings was measured after *E-2-hexenal* fumigation. Using non-invasive micro-test technique, IAA flux rate was detected in different functional regions of the root apex with or without *E-2-hexenal* treatment. Furthermore, the expression levels of several polar auxin transport relevant genes were quantified by quantitative Real-time PCR. The result indicated that the primary root growth of *Arabidopsis* seedlings was strongly inhibited after *E-2-hexenal* exposure, and the inhibition was significant along with the increased concentrations of this aldehyde. *E-2-hexenal* significantly repressed the auxin efflux rate in the meristem and transition zone of seedling roots. *E-2-hexenal* also down-regulated the transcription expression level of auxin transport-related genes *PIN1*, *PIN2*, *PIN3*, and the IAA perception gene *TIR1*. Therefore, *E-2-hexenal* has the negative effect on polar auxin transport in roots, which finally inhibited the primary root elongation.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*; *E-2-hexenal*; IAA; polar auxin transport; non-invasive micro-test technique

Received 2015-12-16 Accepted 2016-01-13

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31270655) and the National “863” Project (Grant No. 2011AA10020102).

\*Corresponding author (E-mail: ybshen@bjfu.edu.cn).