

生长素和赤霉素对离体水仙花茎切段伸长的影响

叶梅荣^{1,2}, 甘立军¹, 夏凯^{1*}

(1. 南京农业大学生命科学学院, 南京 210095; 2. 安徽科技学院生命科学学院, 安徽 凤阳 233100)

摘要: 以离体水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)花茎切段为材料, 通过外源吲哚-3-乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)和赤霉素 A₃ (GA₃)处理, 结合内源激素分析, 研究了这两种激素对水仙花茎切段伸长的影响, 以及它们之间的相互作用。结果表明: 外源 50 μmol/L IAA 和 30 μmol/L GA₃ 均能促进花茎切段的伸长, 其中 IAA 的促进作用大于 GA₃。200 μmol/L 生长素运输抑制剂 2,3,5-三碘苯甲酸(2,3,5-Triiodobenzoic acid, TIBA)和 65 μmol/L 赤霉素合成抑制剂烯效唑(Uniconazole, S-3307)均显著抑制花茎切段的伸长。外源 50 μmol/L IAA 处理明显增加内源 GA₁₊₃ 的含量, 是对照的 3.40 倍; 外源 30 μmol/L GA₃ 处理对内源 IAA 含量影响不明显, 说明 IAA 对维持花茎切段内源活性 GA 水平起重要作用, IAA 和活性 GA 共同发挥调控花茎切段伸长的作用。

关键词: 水仙花; 花茎切段; 吲哚-3-乙酸; 赤霉素; 2,3,5-三碘苯甲酸; 烯效唑

中图分类号: Q945.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2006)05-0421-06

Effects of Auxin and Gibberellin on the Elongation of *in vitro* Pedicel Segments from *Narcissus tazetta* var. *chinensis*

YE Mei-rong^{1,2}, GAN Li-jun¹, XIA Kai^{1*}

(1. College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Life Science, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China)

Abstract: The pedicel segments from *Narcissus tazetta* var. *chinensis* were treated with IAA and GA₃ for 48 hours, and the length of the segment elongation was determined. The interactions between the two hormones were also discussed. Both 50 μmol/L IAA and 30 μmol/L GA₃ were found to promote the elongation of pedicel segments. Moreover, IAA performed more effectively than GA₃. Both 2,3,5-triiodobenzoic acid (TIBA) (an IAA polar transport inhibitor) at 200 μmol/L and uniconazole (S-3307) (a gibberellin biosynthesis inhibitor) at 65 μmol/L significantly inhibited the elongation of pedicel segments. Following the 50 μmol/L IAA treatment GA₁₊₃ content in the segments increased 3.4-fold as much as that in the control, whereas IAA content in the segments treated with 30 μmol/L GA₃ was slightly varied. It is suggested that IAA plays an important role in maintaining the level of active GA in pedicels and regulates the elongation of the pedicel segments together with GA.

Key words: *Narcissus tazetta* var. *chinensis*; Pedicel segment; IAA; GA₃; 2,3,5-Triiodobenzoic acid; Uniconazole

中国水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)为石蒜科水仙属植物^[1], 是我国著名的传统花卉之一, 具有极高的观赏价值。室内培养的水仙常因光照不足

出现徒长、茎叶细、株型散、易倒伏等现象^[2]。一般采用生长延缓剂如多效唑、烯效唑等浸泡水仙鳞茎以达到矮化效应^[3], 但生长延缓剂浓度稍高会对水仙

收稿日期: 2006-01-19 接受日期: 2006-05-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(30270138)资助

* 通讯作者 Corresponding author

根产生伤害从而影响了后期的观赏效果^[4]。

生长素(Indole-3-acetic acid, IAA)和赤霉素(gibberellin, GAs)是控制植物茎伸长的两类主要植物激素。两者之间的相互作用一直是研究热点。早期理论认为 GAs 可增加植物体内的 IAA 含量^[5], 近来发现在豌豆(*Pisum sativum* L.)^[6]、大麦(*Hordeum vulgare*)^[7]和烟草(*Nicotiana tabacum* L.)^[8]茎伸长的节间, IAA 通过促进活性 GA(即 GA₁)的生物合成, 并抑制其失活来维持高水平的 GA₁, 从而促进茎节间的伸长。在离体试验中也有类似的报道^[9]。但植物激素和生长调节剂对离体水仙花茎切段伸长生长的研究未见报道。本文研究外源 IAA 和 GA₃ 对离体水仙花茎切段伸长生长的影响及二者之间的相互作用, 以期控制整体水仙花茎的伸长生长提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

材料 水仙(*Narcissus tazetta* var. *chinensis*)鳞茎购自福建漳州。每箱 20 桩, 10 月初水养在直径为 30 cm 带篮子塑料盆内。每盆 3-4 棵。常规管理。待水仙花茎抽出高度为 2-4 cm 时, 进行激素处理。

试剂 吲哚-3-乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)和赤霉素(Gibberellin A₃, GA₃)分别购自美国 Sigma 公司, 生长素运输抑制剂 2,3,5-三碘苯甲酸(2,3,5-Triiodobenzoic acid, TIBA)和赤霉素合成抑制剂烯效唑(Uniconazole, S-3307)分别购自上海试剂一厂。4 种试剂分别用少量二甲亚砜溶解, 然后用 1/15 mol/L PBS 磷酸缓冲液(pH=6.24)配成母液, 用 PBS 磷酸缓冲液稀释到实验所需的浓度。以含同样量二甲亚砜的 PBS 磷酸缓冲液作为对照溶液。

1.2 方法

外源处理 取生长一致的水仙, 切取花茎基部 2 cm 切段(花茎基部 2 cm 切段的确定: 取花茎基部 10 cm 切段, 每 2 cm 标记后放入 15 cm 的塑料盒里, 分别加入 50 ml 各浓度的 IAA 和 GA₃ 处理液, 置于 20-23℃ 恒温培养箱中, 每 12 h 换液一次, 48 h 后用直尺测其花茎切段长度, 得出花茎基部 2 cm 为伸长最快的区域), 置于 9 cm 培养皿中, 加入 20 ml

1/15 mol/L PBS 磷酸缓冲液(pH=6.24)配置的各种浓度梯度的处理液: IAA (0、10、50、250 μmol/L)、GA₃ (0、30、150、750 μmol/L)、S-3307 (0、32.5、65、130、260 μmol/L)或 TIBA (0、50、100、200、400 μmol/L), 置于 20-23℃ 恒温培养箱中, 每 12 h 换液一次。48 h 后用直尺测其花茎切段长度。计算花茎切段伸长率, 花茎切段伸长率(%)={ (处理后的切段长度-处理前的切段长度) / 处理前的切段长度 } × 100%。分别选出上述试验中最适浓度用于 IAA+GA₃、IAA+S-3307 和 GA₃+TIBA 混合处理试验(操作同上)。各试验重复 3 次, 每处理 10 个重复。试验结果取 3 次的平均值。

内源植物激素分析 取各处理的花茎切段 500 mg 鲜重左右, 测定 IAA 和 GA₁₊₃ 的含量。按吴颂如等^[10]的方法进行样品的提取和纯化, IAA 的酶联免疫吸附分析(ELISA)按 Chen^[11]的方法, GA₁₊₃ ELISA 参照郑志富和周燮^[12]的方法进行。取 3 次样品, 每个处理取 3 个样品, 分别提取、纯化和测定, 每个样品测定 3 次, 最后取平均值。

2 结果和分析

2.1 IAA 和 GA₃ 对花茎切段伸长的促进效应

水仙花茎基部 2 cm 切段, 分别浸泡于 0、10、50、250 μmol/L IAA 溶液和 0、30、150、750 μmol/L GA₃ 溶液中, 48 h 后, 切段的伸长情况如图 1 和图 2 所示。从图 1 可知 3 种浓度的 IAA 都明显促进花茎切段伸长, 其中 50 μmol/L IAA 的促进效果最显著。处理 48 h 后, 其伸长率为 35.5%, 而对照的仅为 20.2%。因此选用 50 μmol/L IAA 作为混合处理浓度。

从图 2 可知 30 μmol/L GA₃ 和 150 μmol/L GA₃ 显著促进花茎切段伸长, 48 h 后, 伸长率分别为对照的 1.46 倍和 1.48 倍。高浓度处理与对照相比无明显差异。因此选用 30 μmol/L GA₃ 作为混合处理浓度。

2.2 S-3307 和 TIBA 对花茎切段伸长的抑制效应

水仙花茎基部 2 cm 切段, 分别浸泡于 0、32.5、65、130、260 μmol/L S-3307 和 0、50、100、200、400 μmol/L TIBA 溶液中, 48 h 后, 花茎切段的伸长情况如图 3 和图 4 所示。从图 3 可看出不同浓度

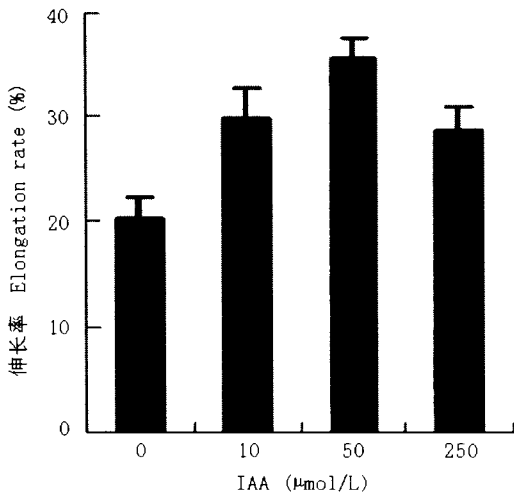


图1 不同浓度 IAA 处理 48 h 后花茎切段的伸长率

Fig. 1 Elongation rate of pedicel segments treated with different concentration IAA for 48 hours

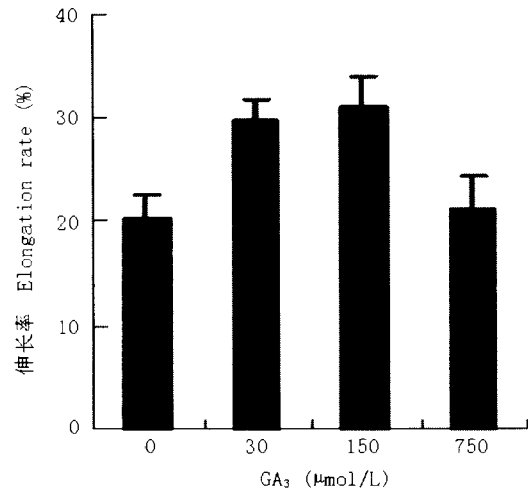
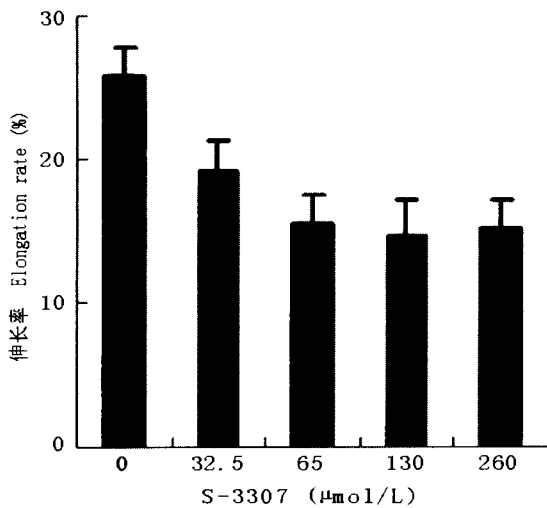
图2 不同浓度 GA₃ 处理 48 h 后花茎切段的伸长率Fig. 2 Elongation rate of pedicel segments treated with different concentration GA₃ for 48 hours

图3 不同浓度 S-3307 处理 48 h 后花茎切段的伸长率

Fig. 3 Elongation rate of pedicel segments treated with different concentration S-3307 for 48 hours

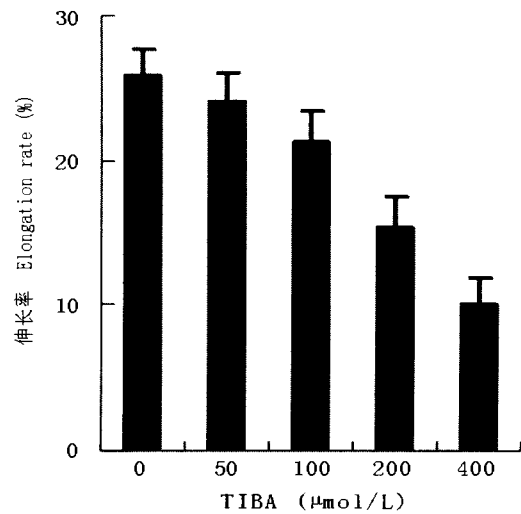


图4 不同浓度 TIBA 处理 48 h 后花茎切段的伸长率

Fig. 4 Elongation rate of pedicel segments treated with different concentration TIBA for 48 hours

S-3307都显著抑制花茎切段伸长。48 h后,花茎切段伸长率分别为19.10%、15.5%、14.7%和15.1%,而对照的为25.8%。因此选用65 $\mu\text{mol/L}$ S-3307作为混合处理浓度。

从图4可看出,高浓度(200和400 $\mu\text{mol/L}$) TIBA显著抑制花茎的伸长生长,48 h后花茎切段伸长率分别为对照的59.6%和38.7%。低浓度抑制效果不明显。因此选用200 $\mu\text{mol/L}$ TIBA作为混合处理浓度。

2.3 IAA+GA₃、IAA+S-3307、GA₃+TIBA 联合处理对花茎切段伸长的影响

水仙花茎基部2 cm切段,浸泡于50 $\mu\text{mol/L}$ IAA、30 $\mu\text{mol/L}$ GA₃、50 $\mu\text{mol/L}$ IAA + 30 $\mu\text{mol/L}$ GA₃、50 $\mu\text{mol/L}$ IAA + 65 $\mu\text{mol/L}$ S-3307和30 $\mu\text{mol/L}$ GA₃ + 200 $\mu\text{mol/L}$ TIBA混合处理溶液48 h,切段的伸长情况如图5所示。从图5中可知,IAA和GA₃处理48 h后,花茎切段伸长率均明显大于对照处理的,分别为36.2%和29.4%,而对照

的仅为 21.5%。而且 IAA 处理的花茎切段伸长率显著大于 GA_3 处理的,后者仅为前者的 80.1%。表明 IAA 和 GA_3 能明显促进离体花茎切段的伸长生长,且 IAA 的促进作用显著大于 GA_3 。从图 5 中还可看出, S-3307 与 IAA 共同处理花茎切段,48 h 后伸长率为 33.6%,与 IAA 单独处理的无显著差异,暗示 S-3307 抑制内源 GA 合成后,并不影响 IAA 对花茎

切段伸长生长的促进作用; GA_3 和生长素运输抑制剂 TIBA 共同处理花茎切段,48 h 后伸长率为 24.2%,与 GA_3 单独处理的差异不明显,提示 GA_3 本身对花茎切段伸长有促进作用; IAA 与 GA_3 共同处理花茎切段,其伸长率为 45.3%,略大于 IAA 和 GA_3 单独处理的伸长率之和,提示二者对花茎切段伸长具有增效效应。

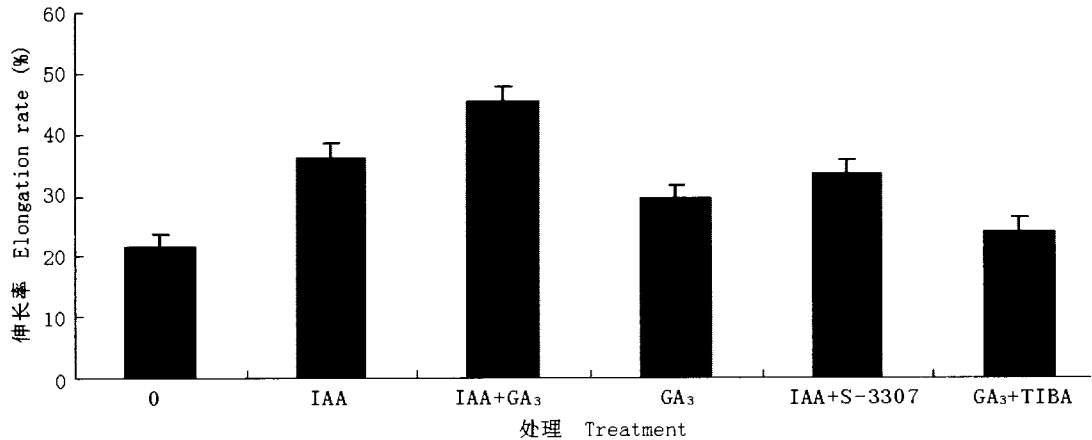


图 5 IAA、 GA_3 、IAA+ GA_3 、IAA+S-3307 和 GA_3 +TIBA 处理 48 h 后花茎切段的伸长率

Fig. 5 Elongation rate of pedicel segments treated with IAA, GA_3 , IAA+ GA_3 , IAA+S-3307 and GA_3 +TIBA for 48 hours, respectively

IAA、 GA_3 、S3307 和 TIBA 浓度分别为:50、30、65 和 200 $\mu\text{mol/L}$ 。The concentrations of IAA, GA_3 , S-3307 and TIBA were 50, 30, 65 and 200 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

2.4 外源 IAA 和 GA_3 处理对花茎切段内源 IAA 和 GA_{1+3} 水平的影响

水仙花茎基部 2 cm 切段,浸泡于对照(0)、50 $\mu\text{mol/L}$ IAA 和 30 $\mu\text{mol/L}$ GA_3 溶液 48 h 后,对

花茎切段内源 IAA 和 GA_{1+3} 的含量进行分析(图 6)。与对照(只用 PBS 溶液处理)相比,外源 IAA 处理不仅使花茎内源 IAA 的含量增加 8.65 倍,而且使内源 GA_{1+3} 的含量增加到对照的 3.40 倍,该结果提

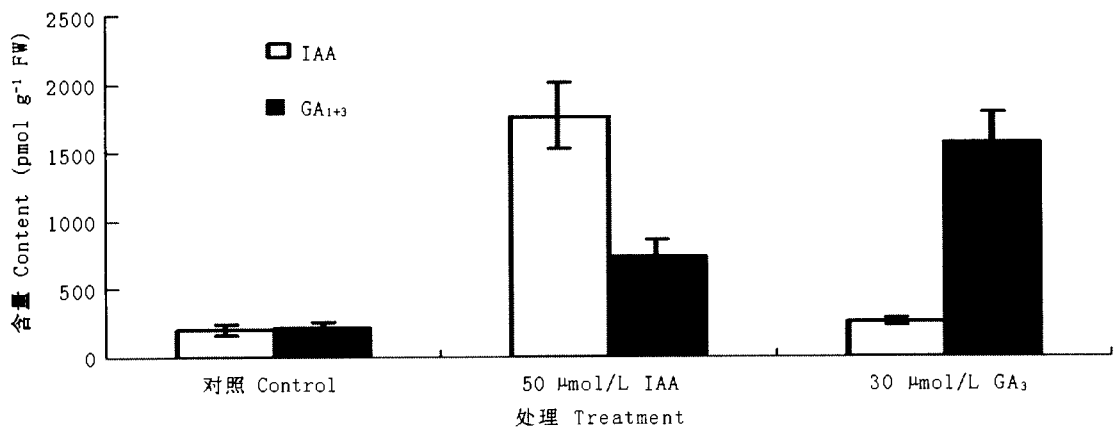


图 6 外源 IAA 和 GA_3 处理 48 h 对花茎切段内源 IAA 和 GA_{1+3} 含量的影响

Fig. 6 The contents of IAA and GA_{1+3} in the segments treated with exogenous IAA and GA_3 for 48 hours

对照、IAA、 GA_3 浓度分别为:0、50、30 $\mu\text{mol/L}$ 。The concentrations of Control, IAA, GA_3 were 0, 50 and 30 $\mu\text{mol/L}$, respectively.

示, 外源 IAA 处理可引起花茎切段内源活性 GA_{1+3} 水平的提高, 表明 IAA 能促进花茎切段活性 GA_{1+3} 的生物合成和(或者)维持其活性。

另一方面, 外源 GA_3 处理对花茎切段的内源 IAA 没有影响, 但使花茎切段内源 GA_{1+3} 含量增加到对照的 5.69 倍。这可能是外源 GA_3 虽然能促进花茎切段的伸长, 但其效应却低于外源 IAA 的原因。这还提示, 花茎切段的伸长生长依赖于内部具有高水平的活性生长素和赤霉素。

3 讨论

蒋宇霞等^[13]报道 IAA 和 GA_3 均促进豌豆黄化茎切段伸长, 与本文的研究结果 IAA 和 GA_3 均促进水仙花茎切段伸长相同。并且 IAA 和 GA_3 混合处理促进花茎切段伸长略大于 IAA 和 GA_3 单独处理之和, 表明 IAA 和 GA_3 对花茎切段伸长具有协同增效作用。何建辉等^[14]报道 S-3307 能促进绿豆 (*Vigna radiata* L.) 下胚轴插条形成不定根, S-3307 抑制 GA 的合成, 活性 GA 含量减少促进不定根形成, 说明活性 GA 是不定根形成的抑制激素, 而已知 IAA 是不定根形成的促进激素^[15], 暗示 IAA 和活性 GA 对插条生根具有拮抗作用。Fu 等^[16]报道 IAA 参与了赤霉素介导的 DELLA 蛋白降解的失活过程, 来自茎尖合成的 IAA 通过提高根部细胞对活性 GA 的应答而促进了拟南芥 (*Arabidopsis thaliana* L.) 的根伸长。综上所述, 表明 IAA 和活性 GA 之间的关系具有植物种类和器官的特异性。

Barratt^[17]等报道赤霉素明显促进豌豆野生型和突变体(如 *le*) 绿色苗早期扩展的离体茎节段的伸长, 而生长素对其伸长不明显; 但生长素对中期扩展的茎节段伸长效应比赤霉素强, 二者具有协同作用。但同时他们的结果还表明, 赤霉素处理早期扩展的绿色豌豆茎切段, 内源生长素的含量提高了 3 倍, 而处理中期扩展的茎切段不能提高生长素的含量, 并且赤霉素的促进伸长效应需要生长素的作用。而 Ross 等^[9]报道在离体的豌豆茎切段, 生长素增加了赤霉素的含量, 生长素部分通过赤霉素介导了茎切段的伸长生长。本文研究结果也表明, 外源 IAA 处理水仙花茎切段后增加了内源 GA_{1+3} 的含量。提示其他植物中 IAA 和活性 GA 在控制植物茎

伸长中的相互关系在水仙花茎中同样存在。

本试验揭示的 IAA 和 GA_3 在花茎切段伸长生长中的相互作用在水仙栽培生产中具有参考价值。目前在水仙培养中, 为控制水仙植株徒长, 易倒伏等特征, 水养过程中常使用生长抑制剂如多效唑, 烯效唑等处理鳞茎, 虽对花茎伸长有一定抑制作用, 但浓度稍高易伤害根, 而影响后期的观赏效果。根据本研究结果, 在花苞下方配合使用一定量的生长素极性运输抑制剂如 TIBA、萘基邻氨基苯甲酸 (Naphthylphthalamic acid, NPA) 等, 则有可能起到降低生长抑制剂的用量, 更好地控制花茎的伸长。

参考文献

- [1] Xie J H(谢嘉华), Yuan J J(袁建军). Tissue culture of *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [J]. J Biol(生物学杂志), 2002, 19(3):30, 36. (in Chinese)
- [2] Huang C H(黄春华), Ji X M(吉威美), Xu Y S(徐永山), et al. Effect of PP333 on growth of *Narcissus tazetta* [J]. J Jiangsu For Sci Techn(江苏林业科技), 2000, 27(supp):58-60. (in Chinese)
- [3] Xu X(胥晓), Deng S F(邓淑芳), Chen Y(陈瑶), et al. Stunted effect on *N. tazetta* var. *chinensis* caused by three kinds of retardants [J]. J China West Norm Univ (Nat Sci) (西华师范大学学报自然科学版), 2003, 24(4):406-410. (in Chinese)
- [4] Zhang J D(章骏德). Control of growth of *Narcissus tazetta* by complex compound of PP333 [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1995, 31(5):349-350. (in Chinese)
- [5] Law D M, Davies P J. Comparative indole-3-acetic acid levels in the slender pea and other pea phenotypes [J]. Plant Physiol, 1990, 193:1539-1543.
- [6] Ross J J, O'neill D P, Smith J J, et al. Evidence that auxin promotes gibberellin A₁ biosynthesis in pea [J]. Planta, 2000, 21: 547-552.
- [7] Wolbang C M, Chandler P M, Smith J J, et al. Auxin from the developing inflorescence is required for the biosynthesis of active gibberellins in barley stems [J]. Plant Physiol, 2004, 134:769-776.
- [8] Wolbang C M, Ross J J. Auxin promotes gibberellins biosynthesis in decapitated tobacco plants [J]. Planta, 2001, 214:153-157.
- [9] Ross J J, O'Neill D P, Rathbone D A. Auxin-gibberellin interactions in pea: integrating the old with the new [J]. Plant Growth Regul, 2003, 22:99-108.
- [10] Wu S R(吴颂如), Chen W F(陈婉芬), Zhou X(周燮). Enzyme linked immunosorbent assay for endogenous plant hormones [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1988, (5):53-57. (in Chinese)
- [11] Chen J G, Zhao H Y, Zhou X. Changes in levels of endogenous hormones in *Azalea* from apical dominance [J]. J Hort Sci, 1997,

- 72:583-591.
- [12] Zheng Z F(郑志富), Zhou X(周燮). A monoclonal antibody recognizing nonderivative 13-hydroxy gibberellin and their glucosides [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 1995, 37(10):761-769.(in Chinese)
- [13] Jiang Y S(蒋宇霞), Gan L J(甘立军), Xia K(夏凯). Interactions between IAA and GA₃ in regulation of etiolated stem segment elongation in *Pisum sativum* L. [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 2006, 42(2):107-112.(in Chinese)
- [14] He J H(何建辉), Tian X S(田兴山), Pan R C(潘瑞炽). Promotive effects of S-3307 on the rooting of mungbean hypocotyl cuttings [J]. J South China Nor Univ (Nat Sci) (华南师范大学学报 自然科学版), 1997, (3):92-95.(in Chinese)
- [15] Wang J X(王金祥), Yan X L(严小龙), Pan R C(潘瑞炽). Relationship between adventitious root formation and plant hormones [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 2005, 41(2):133-142.(in Chinese)
- [16] Fu X, Harberd N P. Auxin promotes *Arabidopsis* root growth by modulating gibberellin response [J]. Nature, 2003, 421:740-743.
- [17] Barratt N M, Davies P J. Developmental changes in the gibberellin-induced growth response in stem segments of light-grown pea genotypes [J]. Plant Growth Regul, 1997, 21:127-134.