

文章编号:1000-8551(2005)01-062-06

棉株不同器官中几种内源激素的变化及相关关系

董志强¹ 舒文华² 翟学军³ 张保明¹ 刘芳⁴ 宋国琦⁴(1. 中国农科院作物科学研究所,北京 100081;2. 中国农科院原子能利用研究所,北京 100094;
3. 国家半干旱技术工程中心,河北 石家庄 050051;4. 西北农林科技大学作物遗传育种学院,陕西 杨陵 712100)

摘要:本试验以转 Bt 基因抗虫棉 GK-12 为试材,研究不同生育期棉花幼叶、功能叶、衰老叶片、根组织和伤流中内源激素的变化。结果表明:细胞分裂素两组分 iPA + iP 和 ZR + Z 对叶片、根系建构及功能的调控作用是协同互补关系,在幼叶、功能叶、衰老叶片和根组织中 iPA + iP 和 ZR + Z 的含量变化趋势相反。iPA + iP 和 ZR + Z 均呈单峰曲线变化趋势,其中 iPA + iP 开口向下,ZR + Z 则开口向上。赤霉素两组分 GA₃ 和 GA₄ 在幼叶、功能叶、衰老叶片和根组织中的变化趋势相似,其中 GA₃ 主要调控着根系和叶片的建构与功能,GA₄ 参与调控叶片的衰老。IAA 和 ABA 在幼叶、功能叶、衰老叶片和根组织中的变化趋势不一致。盛花期之后,幼叶和功能叶片中的 IAA 和 ABA 含量上升,衰老叶片和根组织中的含量下降。ABA 启动叶片和根系的衰老过程,启动后 ABA 含量下降。伤流液中 iPA + iP、ZR + Z、GA₃、GA₄、IAA 和 ABA 的变化动态均呈单峰曲线。

关键词:棉花;内源激素;生育期

THE CHANGE AND RELATIONSHIP OF SEVERAL ENDOGENESIS HORMONE IN DIFFERENT ORGANS OF COTTON PLANT

DONG Zhi-qiang¹ SHU Wen-hua² ZHAI Xue-jun³ ZHANG Bao-ming¹ LIU Fang⁴ SONG Guo-qi⁴

(1. Institute for Crop Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS), Beijing, 100081;

2. Institute for Application of Atomic Energy, CAAS, Beijing, 100094;

3. China Semi-arid Tech-engineering Center, Shijiazhuang, Hebei, 050051;

4. Crop Heredity and Breeding College, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: The changes of endogenesis hormone in young leaves (02)/functional leaves (04)/old leaves (08)/root tissue and root sap in different developing stages of Bt transgenic cotton GK-12 were investigated in 2002 at CAAS. The results showed that: iPA + iP contents in young leaves/functional leaves/old leaves and root tissue changed with the changes of ZR + Z contents in different developing stages, but the changes trends were in other way round. The function of iPA + iP and ZR + Z were corresponding and complementary. Both the changes trends of iPA + iP and ZR + Z were single apex curves. GA₃ and GA₄, the two members of gibberellic acid, were also measured in this study. The change trends of GA₃ and GA₄ in young leaves/functional leaves/old leaves and root tissue were same. GA₃ was mainly regulating the construction and function of leaves and roots, GA₄ was mainly regulating consenescence of leaves. The change trends of IAA and ABA in young leaves/functional leaves/old leaves and root tissue were different in different developing stage. The content of IAA and ABA in young leaves/functional

收稿日期:2003-12-14

基金项目:国家自然科学基金项目(30170541)

作者简介:董志强(1964-),男,河北武邑县人,博士,副研究员,从事作物栽培生理与作物化学调控研究工作。E-mail: dongzhiqiang@263.net

leaves increased, and the content of IAA and ABA in old leaves and root tissue decreased with the development. ABA start-up senescence process of leaf and root, and then content of ABA declined. The change trends of $iPA + iP/ZR + Z/GA_3/GA_4/IAA$ and ABA content in root sap were single apex curve.

Key words: cotton; endogenesis hormone; development stage

植物内源激素对植物的生长发育起重要的调控作用,这种调控作用是在分子水平上通过调节植物基因的表达^[1],调控功能蛋白和结构蛋白的合成,进而调控植株生理生化代谢过程,最终调控着植株的生长发育进程而实现的,其中包括根、茎、叶、花等器官的发生、建构与功能表达^[1~6]。因此,研究内源激素水平变化可以在生理水平上直接反映植株内在的生长发育进程状况。然而,前人研究内源激素的变化多采用离体培养或特定器官定位方法,所得结果只能解释一种或多种激素与特定生理生化过程的关系,却难以反映植株体内不同器官之间内源激素和发育过程的互作关系,因此,在植株整体水平上探讨不同器官同步发育过程中内源激素水平变化趋势,为进一步研究器官之间的同生、同伸和协同互作关系提供理论依据。本试验以转基因抗虫棉 GK-12 为试材,以根系、冠层叶片和维系二者协同关系的伤流液为研究对象,研究棉花生长发育过程中叶片、根系和伤流液中内源激素的变化动态,探讨根系与叶片同步发育过程中彼此器官中内源激素的相互关系,揭示根、叶协同发育的激素机理,为制订适宜的管理措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验安排

本试验于 2002 年在中国农业科学院院子能利用研究所科学园进行。试验地为轻壤土,肥力中等。以陆地棉 (*Gossypium hirsutum* L.) 转 Bt 基因棉花品种 GK-12 为试材,设置小区试验,随机排列,3 次重复;小区面积 10m × 4.8m。大小行种植(50、100cm),株距 22.22cm,密度 52,500 株/hm²。

1.2 伤流液获取

分别于盛蕾期(6/23,既 6 月 23 日,下同)、盛蕾期(7/5)、初花期(7/5)、盛花期(7/23)、盛花期(8/4)、结铃盛期(8/14)、结铃后期(8/24)选择发育一致的棉株 6 株,用蒸馏水冲洗主茎子叶节处,擦干,在子叶节处切断主茎,将洁净的乳胶管套在根基部茎杆上,收集 12h(18:00 ~ 6:00)。用注射器测量伤流液的体积。而后放置在 - 37℃ 低温冰箱中保存待测。

1.4 侧根和叶片取样方法

分别于苗期(6/11)、盛蕾期(6/23、7/5)、盛花期(7/25)、结铃盛期(8/13)、结铃后期(8/23)、吐絮期(9/12),挖取 20cm × 20cm × 30cm 土体内的根系,先用自来水冲洗,而后用蒸馏水冲洗,吸水纸擦干。剪取侧根,剪碎,混匀,置于 - 37℃ 低温冰箱内保存待测。

分别于苗期(6/11)、盛蕾期(7/5)、盛花期(7/25)、结铃盛期(8/13)、结铃后期(8/21)上午 9:00 开始,自主茎顶部向下,取顶部倒 2 叶幼叶(02)、倒 4 叶功能叶(04)、倒 8 叶衰老叶(08),放置在低温冰壶内,迅速带回实验室,用湿纱布(蒸馏水)轻轻擦去尘土, - 37℃ 冰箱保存,待测。

1.5 内源激素测定

激素测定采用间接酶联免疫测定方法(ELISA)测定^[7],试剂盒购自中国农业大学作物化控中心。

2 结果与分析

2.1 异戊烯基腺嘌呤 + 异戊烯基腺嘌呤核苷(iPA + iP)与玉米素 + 玉米素核苷(ZR + Z)

细胞分裂素由根系产生,沿木质部导管随伤流液一起向冠层运输,而后参与调节叶片组织细胞的分裂、伸长,诱导硝酸还原酶活性,促进氮素同化和叶绿素合成,促进光合作用进行,诱导碳水化合物定向运输^[8~10]。

iPA + iP 和 ZR + Z 是目前已知的植物内生的高活性细胞分裂素。棉花去除顶尖以前,主茎倒 2 叶为快速伸长时期的幼叶,倒 4 叶为光合产物开始向外输出的功能叶片,倒 8 叶为开始衰老的叶片。如图 1 所示,iPA + iP 在幼叶、功能叶和侧根组织中的含量变化动态相似,呈单峰曲线,峰值出现在盛蕾期(6/23—7/5)。衰老叶由盛蕾期(6/23)至盛铃期呈下降趋势。

如图 2 所示,ZR + Z 在幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中的含量变化动态相似,表现为:苗期至盛花期(7/25)呈开口向上的曲线,最低值出现在盛蕾期(6/23)。

进一步分析发现,苗期至盛花期(7 打顶),在幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中 iPA + iP 和 ZR + Z 的变化趋势相反,即 iPA + iP 含量增加对应着 ZR + Z 含量的降低,两者呈显著负相关关系(相关系数分别为 -0.8533、-0.8514、-0.6234 和 -0.9483)。且含量数值分析结果为,ZR + Z 的含量较少,约为 iPA + iP 的 1/3 左右。

如图 1、图 2 所示,盛花期(7/25)至结铃后期幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中的 iPA + iP 和 ZR + Z 含量变化趋势相似,呈正相关关系,相关系数分别为 0.6289、0.9136、0.9977 和 0.4611。

由图 3 结果可以看出,伤流液中 iPA + iP 和 ZR + Z 的含量变化相似,呈单峰曲线,峰值出现在盛蕾期(6/23)。并且伤流液中 ZR + Z 的含量高于 iPA + iP。表明 ZR + Z 可能是根系向地上部运输高活性细胞分裂素的一种主要形式。

2.2 GA₃ 与 GA₄

高等植物中发育着的种子、果实及延长中的茎端区域或根部均可产生赤霉素。目前已知植物中存在的赤霉素以及具有赤霉素活性的中间产物有上百种,其中赤霉素中的 GA₃(赤霉素 3)和 GA₄(赤霉素 4)在调节棉株生长发育进程中起着重要作用,并且,赤霉素两组分 GA₃ 和 GA₄ 均由 GA₁-2-醛通过不同的途径产生,共同调节着主茎和叶片的伸长^[11,12,2]。由图 4、5 所示,幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中 GA₃、GA₄ 的含量变化动态相似,苗期至盛蕾期(6/23、7/5)呈下降趋势,从盛蕾期(6/23、7/5)至结铃后期呈单峰曲线。GA₃ 和 GA₄ 的差别在于,幼叶、功能叶中 GA₃ 含量在盛蕾期的最低值在 6 月 23 日,比 GA₄ 提前 12d,盛蕾期之后的峰值同步超前。根组织中 GA₃ 和 GA₄ 的含量变化动态相似。GA₃ 和 GA₄ 两者的含量数值相当。衰老叶中 GA₄ 的峰值比 GA₃ 迟 12d,且结铃后期 GA₄ 含量比 GA₃ 高 56.52%。

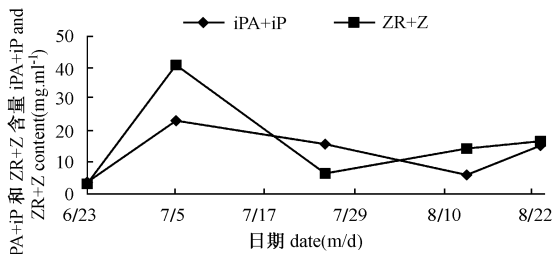


图 3 伤流液中 iPA + iP 和 ZR + Z 含量变化动态
Fig. 3 Change of iPA + iP and ZR + Z content in cotton root sap

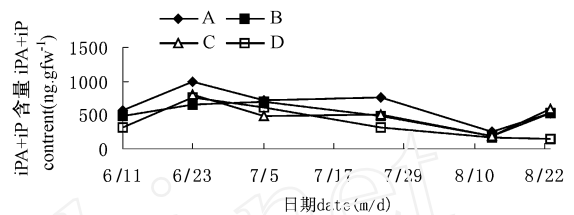


图 1 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中 iPA + iP 含量变化动态

Fig. 1 Change of iPA + iP content in leaves and roots

A: 幼叶; B: 功能叶; C: 衰老叶; D: 侧根; 下同
A: young leaves; B: functional leaves; C: old leaves;

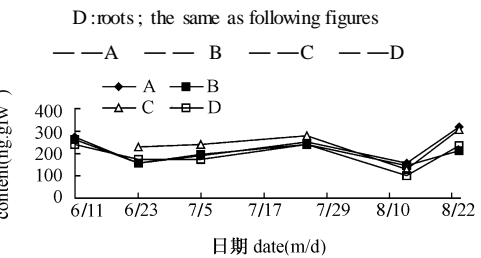


图 2 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中 ZR + Z 含量变化动态

Fig. 2 Change of ZR + Z content in leaves and roots

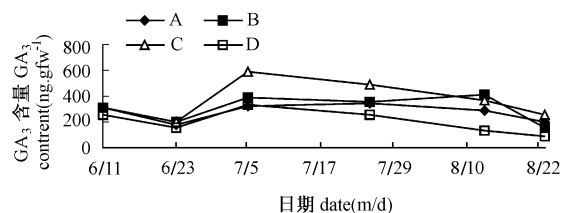


图 4 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中 GA₃ 含量变化动态

Fig. 3 Change of GA₃ content in leaves and roots

如图 6 所示,伤流液中 GA_3 和 GA_4 的流量变化动态相似,呈单峰曲线,峰值在盛花期(7/25)。且 GA_3 的流量始终高于 GA_4 。进一步分析发现, GA_3 的流量与幼叶和侧根组织中 GA_3 的含量呈显著正相关关系,相关系数分别为 0.8973 和 0.8302,与功能叶相关系数为 0.5888。伤流中 GA_4 流量与根组织和叶片中 GA_4 含量相关性较小。以上表明在调控棉株过程中赤霉素的主要形式是 GA_3 。

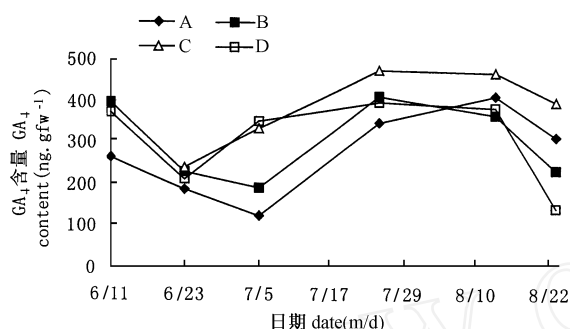


图 5 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中 GA_4 含量变化动态

Fig. 5 Change of GA_4 content in leaves and roots

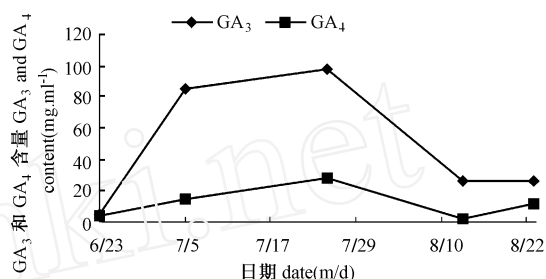


图 6 伤流液中 GA_3 和 GA_4 含量变化动态

Fig. 6 Change of GA_3 and GA_4 content in cotton root sap

2.3 IAA

生长素(IAA)由根尖或茎尖等生理顶端产生向生理基部定向运输,其含量水平的变化直接改变着内源信号的传导强度,依此来调控基因的表达(如 SAUR (Small auxin-up-regulated RNA) 和 GH3 家族基因系列),进而调控着叶、根的建构与功能表达^[13~15]。

如图 7 所示,幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中 IAA 的含量变化趋势不一致,其中幼叶中 IAA 含量由苗期至盛蕾期(6/23)呈降低趋势,由盛蕾期(6/23)至结铃后期呈单峰曲线,峰值出现在盛蕾期(7/5);衰老叶和侧根组织中 IAA 含量变化趋势与幼叶相反,呈负相关关系,相关系数为 -0.8071 和 -0.7573。功能叶中 IAA 含量变化表现为:苗期和盛铃期较高,盛蕾期(6/23)至盛花期(7/25)较低,相当于苗期 IAA 含量的 65.71%~76.72%。盛铃期回升至苗期的 92.50%,结铃后期又降低至苗期的 71.12%。伤流中 IAA 流量变化呈单峰曲线,如图 8 所示峰值出现在盛蕾期(7/5)。

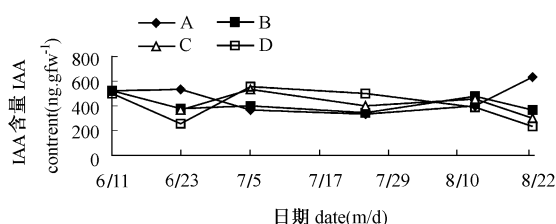


图 7 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中 IAA 含量变化动态

Fig. 7 Change of IAA content in leaves and roots

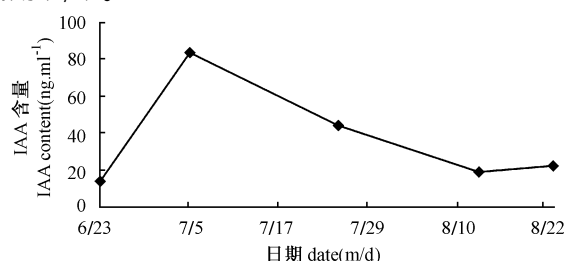


图 8 伤流液中 IAA 含量变化动态

Fig. 8 Change of IAA content in cotton root sap

2.4 ABA

棉株幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中 ABA 的含量变化趋势如图 9 所示,其中幼叶中 ABA 含量在苗期以及盛蕾期(7/5)至结铃盛期较低,盛蕾期(6/23) ABA 含量出现一个高峰,相当于苗期 ABA 含量的 1.55 倍,结铃后期 ABA 含量大幅度上升至苗期含量的 2.28 倍。

苗期至盛花期(7/25),功能叶和根系组织中 ABA 含量变化动态相似,呈显著正相关关系($r = 0.9385$),盛花期(7/25)以后,根系组织中 ABA 含量下降,功能叶中 ABA 含量上升。衰老叶中 ABA 含量由盛花期(6/23)至结铃后期呈下降趋势。

伤流中 ABA 含量在盛蕾期至盛铃期呈单峰曲线(如图 10 所示),峰值出现在盛蕾期(7/5),结铃后期上升。

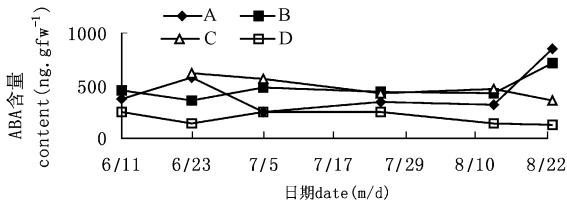


图 9 幼叶、功能叶、衰老叶和根组织中

ABA 含量变化动态

Fig. 9 Change of ABA content in leaves and roots

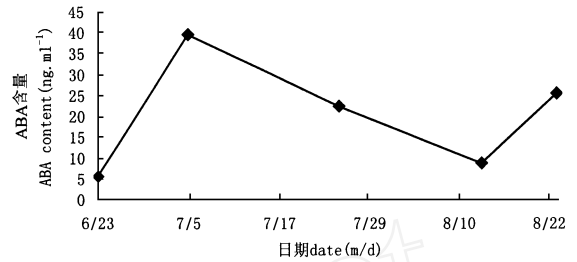


图 10 伤流液中 ABA 含量变化动态

Fig. 10 Change of ABA content in cotton root sap

3 讨论与结论

叶片、根组织和伤流液中内源激素含量变化调控着棉株地上部、地下部器官之间的协同发育。细胞分裂素 (iPA + iP、ZR + Z)、赤霉素 (GA_3 、 GA_4)、IAA 和 ABA 等内源激素均可在根系合成^[1],而后随伤流液向地上部冠层运输,再由棉株统筹分配,一部分分配到叶片,调控叶片的伸长、扩展和光合作用功能的发挥;一部分分配到蕾、铃,与蕾、铃内部产生的内源激素共同调控棉铃的发育;分配到根系的一部分沿韧皮部筛管回流到根组织,调控根系吸收水分和矿质元素、合成氨基酸和内源激素等代谢过程,调控着根系的发育。

3.1 棉花发育过程中 iPA + iP 与 ZR + Z 的作用属于协同、互补关系

细胞分裂素来自腺苷或腺嘌呤^[8]。在异戊烯基转移酶和二甲基转移酶的催化下,二甲基丙烯焦磷酸酯 (DMAPP) 和一磷酸腺苷 (5-AMP) 缩化反应后去磷酸化,脱去核糖后产生 iPA + iP; iPA + iP 在细胞分裂素氧化酶的作用下转变为 ZR + Z^[3, 8, 9, 15, 1]。试验结果表明,幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中的 iPA + iP 和 ZR + Z 含量变化趋势相反,即以苗期为起始点, iPA + iP 含量呈增加趋势时 ZR + Z 呈减少趋势,当 iPA + iP 含量呈降低趋势时 ZR + Z 却呈增加趋势。内源激素浓度的高低是化学信号强弱的直接反映。因此推断 iPA + iP 和 ZR + Z 之间存在着转化关系,在协同调控叶片伸长、调控 CO_2 同化分配和调控根系建构及其吸收、合成、同化功能发挥时,两者的作用是互相补充、协同作用的关系。

从含量数值来分析, ZR + Z 的含量较少,约为 iPA + iP 的 1/3 左右,表明 ZR + Z 以低浓度调控,活性高; iPA + iP 以高浓度调控,活性较低。也可能 iPA + iP 是棉花组织中细胞分裂素的较稳定的存在形式。

3.2 iPA + iP、ZR + Z、 GA_3 和 GA_4 均同步调控着幼叶、功能叶和根的建构与功能表达

研究表明, iPA + iP 在幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中的含量变化相似(幼叶与根、幼叶与衰老叶、幼叶与功能叶的相关系数分别为 0.8420、0.8787 和 0.8398),在苗期至盛花期(7/25)呈单峰曲线,表明 iPA + iP 所调控的幼叶伸长扩展过程、功能叶 CO_2 同化分配过程和根系扩展吸收、同化、合成等过程是同步进行。与 iPA + iP 一样, ZR + Z、 GA_3 和 GA_4 分别在幼叶、功能叶、衰老叶和侧根组织中的含量变化也相似,表明 ZR + Z、 GA_3 、 GA_4 各自所调控的过程与功能也同步进行。

3.3 棉花发育过程中的赤霉素 GA_3 起主要的调控作用

GA_3 和 GA_4 由 GA_{12} -醛通过不同的途径产生^[11]。研究表明叶片和根组织中 GA_3 和 GA_4 含量变化趋势相似,而伤流液中 GA_3 的流量始终高于 GA_4 ,且伤流液中 GA_3 与幼叶和侧根组织中 GA_3 的含量呈显著正相关关系(相关系数分别为 0.8973 和 0.8302),与功能叶相关系数为 0.5888。而伤流液中 GA_4 流量与根组织和叶片中 GA_4 含量相关性较小。可以推断在调控棉株生长发育过程中, GA_3 可能是主要形式的赤霉素。

3.4 ABA 调控叶片的衰老

ABA(脱落酸)具有全面的生理功能^[16],在细胞生物学水平上,ABA 调控着光合产物的卸载和气孔的开关^[17],在组织水平上,刺激诱导侧根的发生;并且当植物受到干旱、盐渍或低温胁迫时,内源 ABA 含量迅速上升,诱导植物抗逆系统的启动、表达^[18~23]。

研究表明,盛花期(7/25)至结铃后期,幼叶和功能叶 ABA 含量呈上升趋势,根系和衰老叶 ABA 含量呈下降趋势。幼叶处在叶面积迅速扩展时期,功能叶向外部器官组织大量输出光合产物,随着时间的延长,幼叶和功能叶叶龄逐渐增长、叶片逐渐衰老,叶片中 ABA 含量逐渐增高,表明幼叶和功能叶片中 ABA 浓度增高所发出的强信号诱导启动叶片的衰老过程;衰老叶片中的叶绿体、蛋白质等开始解离,向幼叶或功能叶片转运;衰老叶片中 ABA 含量逐渐下降,表明衰老过程启动后,ABA 含量下降。根组织中 ABA 含量下降与 ZR + Z 含量上升相对应可推测,棉花为多年生植物,这种现象可能与生育后期根系为预备越冬积聚养分有关。

参考文献:

- [1] 曹宗巽. 植物生长调节物质概论. 余叔文, 汤章城, 主编, 植物生理与分子生物学, 北京: 科技出版社, 1999, 421 ~ 425
- [2] 马焕普. 果树花芽分化与激素的关系. 植物生理学通讯, 1987(1): 1 ~ 6
- [3] 潘瑞炽. 植物激素的作用机理. 植物生理生化进展, 1982(1): 90 ~ 102
- [4] Alliotte T, Trie C, Engler G, et al. An Auxin-Regulated Gene of Arabidopsis Thaliana Encodes a DNA-Binding Protein. Plant Physiol, 1989, 89: 743 ~ 752
- [5] Dhinsa R S, Dong G, Lalonde L. Altered Gene Expression during Auxin-Induced Root Development from Excised Mung Bean Seedlings. Plant Physiol, 1987, 84: 1148 ~ 1153
- [6] Evinet W H. Enhancement of Polyribosome Formation and Induction of Tryptophan-Rich Proteins by Gibberellic Acid. Biochemistry, 1971, 10(23): 4295
- [7] 何钟佩. 农作物化学控制试验指导. 北京: 北京农业大学出版社, 1993
- [8] 赵毓桔. 细胞分裂素的生物合成、代谢和作用机理. 余叔文, 汤章城, 主编, 植物生理与分子生物学. 北京: 科技出版社, 1999, 458 ~ 475
- [9] 丁静. 细胞分裂素. 植物生理学通讯, 1982(2): 70 ~ 80
- [10] 张智勇, 周嘉槐. 植物根系生长的激素调节. 自然杂志, 1986, 9(9): 681 ~ 684
- [11] 潘瑞炽. 赤霉素的生物合成、代谢和作用机理. 余叔文, 汤章城, 主编, 植物生理与分子生物学. 北京: 科技出版社, 1999, 439 ~ 457
- [12] 丁静, 沈镇德, 方亦雄, 等. 棉花幼铃发育过程中内源激素水平的变化及赤霉素对它的影响. 植物生理学报, 1980(4): 407 ~ 417
- [13] 邢惕, 张德颐. 生长素对基因表达的调节及其受体. 余叔文, 汤章城, 主编, 植物生理与分子生物学. 北京: 科技出版社, 1999, 426 ~ 438
- [14] 朱雨生, 汤佩松. 高等植物酶合成的调节—基因表达. 植物生理学通讯, 1979(1): 48 ~ 62
- [15] 张德颐. 植物激素作用的分子机理. 植物生理学通讯, 1983(5): 10 ~ 20
- [16] 周燮, 夏凯. 脱落酸的生物合成、代谢和作用机理. 余叔文, 汤章城, 主编, 植物生理与分子生物学. 北京: 科技出版社, 1999, 476 ~ 492
- [17] Jones R J, Brenner M L. Distribution of Absciscic Acid in Maize Kernel during Grain Filling. Plant Physiol, 1987, 84: 905 ~ 909
- [18] 赵春江, 康书江, 等. 植物内源激素与不同基因型小麦抗旱性关系的研究. 华北农学报, 2000, 15(3): 51 ~ 54
- [19] Bray E A, Beachy R N. Regulation by ABA of B-Conglycinin Expression in Cultured Developing Soybean Cotyledons. Plant Physiol, 1985, 79: 746 ~ 750
- [20] Chen T H, Gusta L V. Absciscic Acid-Induced Freezing Resistance in Cultured Plant Cells. Plant Physiol, 1983, 73: 71 ~ 75
- [21] Gday A, Martinez D S, Gomez J, et al. Gene Expression in Developing Zea Mays Embryos: Regulation by Absciscic Acid of a Highly phosphorylated 23- to 25-kD Group of proteins. Plant Physiol, 1988, 88: 564 ~ 569
- [22] Guinn G, Brummett D L. Changes in Free and Conjugated Indole 3-Acetic Acid and Absciscic Acid in Young Cotton Fruits and Their Abscission Zones in Relation to Fruit Retention during and after Moisture Stress. Plant Physiol, 1988, 86: 0028 ~ 0031
- [23] Mhapatra S S, Poole R J, Dhindsa R S. Absciscic Acid Regulated Gene Expression in Relation to Freezing Tolerance in Alfalfa. Plant Physiol, 1988, 87: 468 ~ 473