

外源 GA₃ 与 ABA 对烤烟茎尖内源激素 调控及生长的影响

周继华, 杨铁钊*, 巩巧玲, 杨志晓, 豆显武

(河南农业大学农学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 以烤烟基因型 8277 与农大 202 为材料, 研究外源激素 GA₃ 与 ABA 对茎尖处内源激素 GA、ABA、IAA 含量以及株高、节间距伸长的影响。结果表明, 外施一定浓度的 GA₃(100 mg/L) 能使烟株茎尖内源激素 GA 与 IAA 含量提高, 显著地促进烟草株高与节间距的增长; 喷施一定浓度的 ABA(20 mg/L) 在一定程度上抑制了烟株的生长, 其作用时间较短, 只是在激素 ABA 使用前期有一定的效果, 但是 ABA 使烟株在地上部干物质积累得到提高。

关键词: 烤烟; 内源激素; 高秆; 矮秆; 调控

中图分类号: S572; Q945.78 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2009)03-0198-05

植物矮化突变是作物育种中常见的现象, 矮化突变体是研究植物茎生长生理特性的重要材料。利用拟南芥^[1~4]、水稻^[5~7]、小麦^[8]等植物的矮化突变体作为材料的研究表明, 赤霉素的合成代谢途径或发挥信号传导作用过程中基因的变异, 导致了植株高矮表型的变化^[9~12]。朱云集^[13]、王文静^[14]和 Hoffmann Bennins^[15]的研究均表明, 植物内源激素间的平衡是影响植物生长发育的重要因素。激素之间的合成有着很大的关联, 赤霉素通过抑制 IAA 氧化酶的活性, 提高生长素合成。赤霉素与脱落酸有着共同的前体物质, 在短日照条件下前体物质向脱落酸合成, 在长日照条件有利于赤霉素合成, 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^[16]。Hoffmann-Benning^[17]和 Kende^[18]在研究水稻茎生长中得知, 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。杨欣玲研究表明^[19], 烟草矮化变异类型(农大 202)内源 GA₃ 含量明显低于高秆变异类型(8277), 而农大 202 内源 ABA 含量却明显高于 8277, 但目前关于 GA₃ 和 ABA 这两个激素对烟草生长影响报道较少, 使用外源 GA₃ 和 ABA 能否改变这两个材料内源激素的平衡, 本文以烤烟基因型 8277 与农大 202 为材料, 研究 GA₃ 与 ABA 对烟草生长过成中形态指标及其成熟后地上部干物质积累的影响, 为选择有利于烟草经济价值的烟株株高提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试烟草基因型为: 农大 202 和 8277。其中农大 202 为矮化变异类型; 8277 植株较高、节距较大。

1.2 试验设计

试验采用盆栽试验, 试验用盆钵为塑料盆, 直径 30 cm、高 40 cm, 每盆装土 20 kg。塑料盆底用 200 目筛网覆盖, 上面加盖 2 cm 厚细沙, 然后将混合肥料的土壤装盆, 烟苗两边各插一根直径 2.5 cm、长 25 cm 塑料管, 管上口加盖橡皮塞, 从此管内浇水。供试肥料为 NH₄NO₃、KH₂PO₄ 和 KNO₃(即施 N 8 g, P₂O₅ 8 g, K₂O 20 g), 其 1/3 磷肥一次移栽前基施, 2/3 磷肥提苗追施, 氮肥移栽基施和提苗追施各半, 钾肥 1/3 基施, 2/3 分二次追施。盆栽试验设在河南农业大学实验网室内, 供试土壤取自河南农业大学科教园区试验地内 0~50 cm 土层, 质地轻壤, 其基本理化性状如下: 有机质为 3.4 g/kg, 全氮为 0.44 g/kg, 碱解氮为 21.5 mg/kg, 速效磷为 17.1 mg/kg, 速效钾为 111.7 mg/kg。

1.2.1 试验处理 (1) 喷施蒸馏水(CK); (2) 喷施 20 mg/L 的 ABA; (3) 喷施 100 mg/L 的 GA₃, 每个处理 3 个重复, 加上 2 个基因型共 6 个处理组合。外源 GA₃ 和 ABA 用微滴喷雾方法分别于移栽后 30d 进行喷洒。喷洒方法: 喷洒时间为傍晚, 喷洒时液滴要细小、均匀, 药液用量以喷洒部位湿润为度, 为了减少表面张力, 在药液中加入适量的表面活性剂吐温

收稿日期: 2008-11-18

基金项目: 河南省烟草专卖局重点科技攻关项目(hykj200201)

作者简介: 周继华(1981-), 男, 河南商丘人, 在读硕士, 主要从事烟草生理研究。E-mail: zjh402040@126.com。

* 通讯作者: 杨铁钊(1958-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草遗传育种研究。E-mail: yangtiezhao@126.com。

80。
1.2.2 测定项目及方法 形态指标:在喷施激素后 0 d、10 d、20 d、30 d、40 d 天调查烟株的株高、节间距。烟株株高是第一片叶的叶基处与茎的生长点之间的距离;节间距是从叶基处第 3 片叶至第 13 片叶的茎干高度和叶片数的比值;测定株数为 10 株,求平均值。

现蕾前期内源激素的测定:分别在喷施激素后的 0 d、10 d、20 d、30 d、40 d 取烟株茎尖部位,混合均匀,称取 0.5~1 g 液氮速冻, -70℃ 保存。测定方法为:取样品加入 2 ml 样品提取液(80%乙醇,内含 1 mmol/L 二叔丁基对甲苯酚),在冰浴下研磨成匀浆,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℃ 下再提取 1 h, 3000×g 离心 15 min, 合并上清液。上清液过 C18 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℃~45℃ 水浴下用氮气吹干,再用样品稀释液(100 ml PBS 中加 0.1 ml Tween

-20, 0.1 g 明胶定容, PBS 为磷酸盐缓冲液), 摇匀后用间接酶联免疫法(ELISA)测定。激素试剂盒由中国农业大学化学控制实验室提供。

烤烟地上部干物质积累:烟叶成熟后从茎基部切除,烘干后称取地上部干物质重量

2 结果与分析

2.1 外源 GA₃ 与 ABA 对烤烟株高、节间距的影响

由表 1 与表 2 可以看出,处理后第 10 天农大 202 和 8277 的株高与节间距生长速度均加快, 8277 经过 GA₃ 处理后株高最高, 是对照的 109.16%, ABA 处理后株高最低, 是对照的 90.15%, 与对照有极显著差异, 节间距同样是 GA₃ 处理后的最长, ABA 处理后的最短, 且与对照有极显著差异; 农大 202 经过 GA₃ 处理后株高最高, 是对照的 123%, ABA 处理后株高最低, 是对照的 62.5%, 与对照差异极显著, 节间距同样是 GA₃ 处理的最长, ABA 处理的最短, 差异极显著。

表 1 外源 GA₃ 与 ABA 处理后农大 202、8277 株高的测定值

Table 1 Stem height of Nongda202 and 8277 after topping of exogenous GA₃ and ABA

基因型 Genotype		处理后的天数 Days after topping (d)				
		0	10	20	30	40
8277	CK	51.2A	86.3B	108.9C	139.8B	177.5C
	GA ₃	51.2A	94.2A	135.6A	192.4A	203.8A
	ABA	51.2A	77.8C	118.3B	151B	193.2B
Nd202	CK	22.9B	46.5E	50.6E	60.8D	84.2F
	GA ₃	22.9B	57.2F	80.8D	124B	162.8D
	ABA	22.9B	35.8F	47.6E	78.6C	98.2E

注:不同字母表示在 1% 的显著水平。下同。

Note: Different letters mean significance at 1% level. The same as below.

表 2 外源 GA₃ 与 ABA 处理后农大 202、8277 节间距的测定值

Table 2 Inter-node space of Nongda202 and 8277 after topping of exogenous GA₃ and ABA

基因型 Genotype		处理后的天数 Days after topping (d)				
		0	10	20	30	40
8277	CK	4.23A	5.61B	5.58C	6.00B	6.79C
	GA ₃	4.23A	6.64A	6.72A	7.67A	7.82A
	ABA	4.23A	5.20C	6.05B	6.36B	7.39B
Nd202	CK	2.07A	2.86E	3.02F	3.04C	3.82F
	GA ₃	2.07A	3.92D	4.50D	5.61B	6.04D
	ABA	2.07A	2.72E	3.21E	3.81C	4.03E

处理后第 20 天, 8277 经过 GA₃ 处理株高与节间距明显大于对照, 差异极明显, 而经过 ABA 处理的与第 10 天测量的结果不同, 其株高明显高于对

照, 节间距明显比对照要长, 差异极显著; 农大 202 经过 GA₃ 处理的株高明显高于对照, 节间距明显长于对照, 经过 ABA 处理的株高比对照稍低, 节间距

比对照稍短,差异不显著。

从第 30 天与第 40 天来看,2 个基因型株高与节间距的变化,同样是经过 GA₃ 处理的株高明显高于对照,节间距明显长于对照;经过 ABA 处理的 2 个基因型,就 8277 而言,第 30 天与第 40 天株高分别是对照的 108.0% 与 108.8%,差异极显著,节间距分别是对照的 106.0% 与 108.8%,差异极显著;第 30 天与第 40 天农大 202 经过 GA₃ 处理后株高与节间距与对照差异极显著;第 30 天与第 40 天农大 202 经过 ABA 处理后,株高分别是对照的 129.3% 与 116.6%,差异极显著,节间距分别是对照的 129.5% 与 105.4%,差异极显著。

从以上结果可以说明喷施 GA₃ 对烟株株高与节间距长度有一定的促进作用,喷施 ABA 在烟株生长前期有一定的抑制作用,对后期烟株生长的影响从株高与节间距上又明显快于对照。

2.2 外源 GA₃ 与 ABA 处理后对烟草茎尖处内源 GA₃、IAA、ABA 含量的影响

如图 1~3 所示,从总体上来看:

(1) 由图 1 可以看出 2 个烟草基因型喷施 GA₃ 与 ABA 后茎尖内 IAA 含量在不同时期的变化趋势,结果表明,基因型 8277 喷施 GA₃ 后茎尖内 IAA 含量在不同时期高于对照,在处理 20 d 茎尖内 IAA 含量达到最大值,随后又下降,8277 喷施 ABA 后茎尖内 IAA 含量在不同时期低于对照,在处理 20 d 茎尖内 IAA 含量同样达到最大值,随后下降;农大 202 喷施 GA₃ 后到第 30 天茎尖内 IAA 含量高于对照,30 d 后其茎尖内 IAA 含量又低于对照,农大 202 喷施 ABA 后到第 20 天左右茎尖内 IAA 含量超过对照。

这说明喷施 GA₃ 对烟草茎尖内 IAA 的合成有一定的促进作用,喷施 ABA 对烟草茎尖内 IAA 的合成在前期有一定的抑制作用,到后期这种抑制作用逐渐减弱。

(2) 由图 2 可以看出 2 个烟草基因型喷施 GA₃ 与 ABA 后茎尖内 GA₃ 含量在不同时期的变化趋势。结果表明,8277 喷施 GA₃ 后其茎尖内 GA₃ 含量在不同时期高于对照,在第 10 天与 30 天茎尖内 GA₃ 含量出现两个峰值,在第 20 天左右出现一个低谷,8277 喷施 ABA 后茎尖内 GA₃ 含量在不同时期低于对照;农大 202 喷施 GA₃ 后其烟株茎尖内 GA₃ 含量在不同时期高于对照,喷施 ABA 后其茎尖内 GA₃ 含量在前 20 天左右低于对照,随后又高于对照。

这说明喷施外源 GA₃ 对烟草茎尖内 GA₃ 的合成有一定的促进作用;喷施 ABA 对基因型 8277 茎尖内 GA₃ 的合成有一定的抑制作用,对农大 202 茎

尖内 GA₃ 的合成在前期有一定的抑制作用。

(3) 由图 3 可以看出 2 个基因型喷施 GA₃ 与 ABA 后茎尖内 ABA 含量在不同时期变化趋势,8277 喷施 GA₃ 后其茎尖内 ABA 含量在不同时期低于对照,喷施 ABA 后其茎尖内 ABA 含量在不同时期高于对照;农大 202 喷施 GA₃ 后茎尖内 ABA 含量在不同时期低于对照,喷施 ABA 后其茎尖内 ABA 含量在前 20 天左右高于对照,随后茎尖内 ABA 含量低于对照。

这说明喷施外源 GA₃ 对烟草茎尖内 ABA 的合成有一定的抑制作用;喷施 ABA 对烟草茎尖内 ABA 的合成有一定的促进作用。

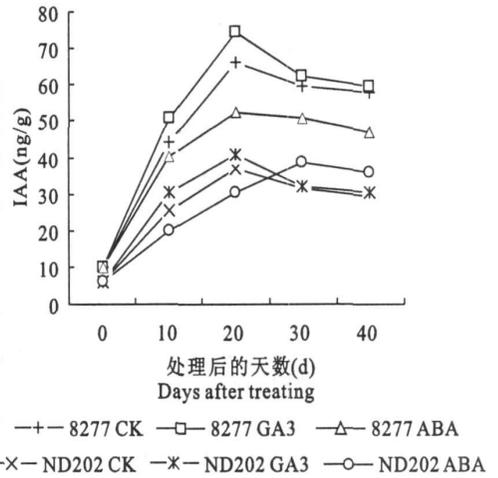


图 1 烟草生长过程中茎尖内 IAA 含量的变化

Fig. 1 Changes of IAA content in meristem during tobacco growth stage

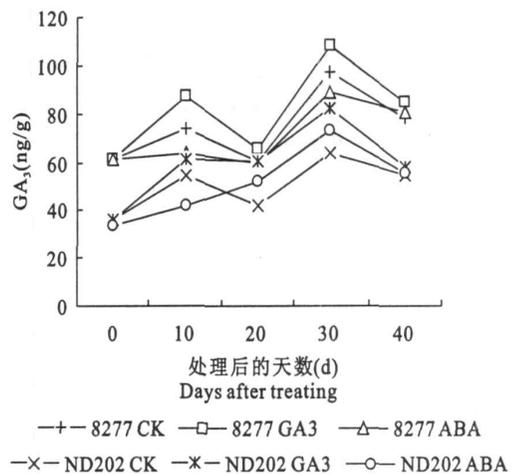


图 2 烟草生长过程中茎尖内 GA 含量的变化

Fig. 2 Changes of GA₃ content in meristem during tobacco growth stage

2.3 外源 GA₃ 与 ABA 对烟草干物质积累的影响

由图 4 表可以看出,基因型 8277 经过 GA₃ 处理后在地上部的干物质积累与对照相比明显较少,是对照的 83.9% 经过 ABA 处理的在地上部的干物质

积累与对照相比明显大于对照, 是对照的 125.7%; 对于农大 202 来说, 其结果与 8277 结果类似, 同样经过 GA₃ 处理的干物质积累较少, 是对照的 97.21%, ABA 处理的较多, 是对照的 110.8%。这说明 ABA 提高了两个烤烟在地上部干物质的积累。

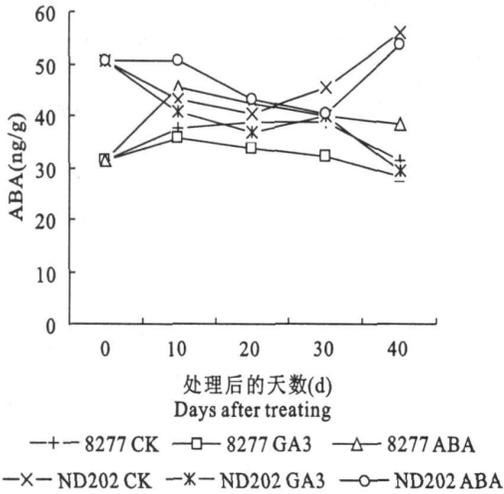


图 3 烟草生长过程中茎尖内 ABA 含量的变化

Fig. 3 Changes of ABA content in meristem during tobacco growth stage

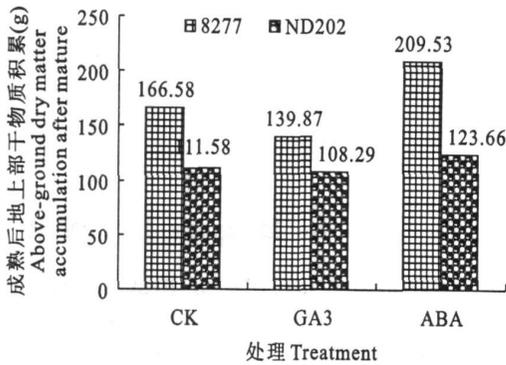


图 4 外源 GA₃ 与 ABA 对烟草干物质积累的影响

Fig. 4 Effects of exogenous GA₃ and ABA on tobacco dry matter accumulation

3 讨论

前人分别对水稻、玉米、番茄和豌豆等十种植物矮化突变体品系的试验结果表明:GA₃ 是植物体内促进茎秆伸长的至关重要的 GA 活化形式^[20~22], 从本研究结果来看, 喷施一定浓度的 GA₃ 有利于烟株茎尖处 IAA 与 GA₃ 的合成, 高秆类型的 8277 茎尖处的 GA₃ 与 IAA 含量明显高于矮秆类型的农大 202, 喷施一定浓度的 GA₃ 使烟株迅速生长, 其生长速度明显快于对照, 这说明 GA₃ 在调节烟株生长方面起着很大的作用。

李宗霖^[23]等研究表明, 过高水平的内源 ABA 是抑制茎叶生长的因素, 但并非是内源 ABA 水平越

低, 茎生长越快, 要维持茎叶的正常扩展, 必须保持一定阈值以上的内源 ABA。本研究在高秆类型的 8277 喷施一定浓度的 ABA, 在喷施后前期植株生长速度明显慢于对照, 可是随着烟株的生长, ABA 这种作用慢慢变弱, 随后生长速度又超过对照, 这可能是由于喷施 ABA 后茎尖处内源 ABA 含量在这个阈值之间的变化所造成的, 只是在烟草生长前期有一定的抑制作用, 随着烟株的生长 ABA 的作用渐渐减弱。矮秆基因型农大 202 植株较矮, 主要是在整个生长期内源激素 GA₃ 和 IAA 含量较低, 影响茎的生长, 喷施外源激素 GA₃, 一方面直接增加了茎尖内的 GA₃ 和 IAA 的含量, 另一方面, 刺激茎尖产生 GA₃ 和 IAA, 同时 ABA 含量明显下降, 在破坏原有激素平衡的基础上, 建立了一种新的激素平衡, 促进了农大 202 茎的生长。

不同作物品种的 ABA 含量存在着广泛的遗传差异, 其含量与多种作物的产量和粒重呈正相关^[24~26]。小麦^[24]、水稻^[26]籽粒灌浆前期, 内源 ABA 有促进同化物在籽粒中积累的作用, 在灌浆后期则为负效应。水稻灌浆前期喷施低浓度 ABA (10 mg/kg), 能增强同化物向穗部运输, 使粒重增加, 在棉铃发育中, 内源 ABA 的消长与纤维伸长和干重增加密切相关^[26]。施用缩节胺可提高棉铃 ABA 和 CTK 水平, 增强酸性转化酶活性, 促进同化产物在棉铃中积累。从本研究来看, 喷施一定浓度的 ABA 提高了这 2 个烤烟在地上部干物质的积累, 这可能是喷施 ABA 后提高了根系活力, 进一步提高了养分利用效率, 增加了烟株在地上部干物质的积累; 喷施 GA₃ 虽然加快了烟株的生长, 但烟草在地上的干物质积累却低于经过 ABA 处理后的烟株, 这说明烟株生长过程中存在很多相关性, 这还需要从更多的生理指标上去研究其中的关联, 为优质烟的选择提供理论依据。

参考文献:

- [1] Reid J B. The genetic control of growth via hormones [C]//Davies P J. Plant hormones and their role in plant growth and development. Boston: Martinus Nizjhoff, 1987.
- [2] Peng J, Richards D E, Hartley N M, et al. Green Revolution genes encode mutant gibberellin response modulators [J]. Nature, 1999, 400: 256.
- [3] Hedden P. The genes of the Green Revolution [J]. Trends Genet, 2003, 19: 5.
- [4] Sun T P, Gubler F. Molecular mechanism of gibberellin signaling in plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 2004, 55: 197.
- [5] Davies P J. Plant Hormones: physiology, biochemistry and molecular

- biology [M]. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1995.
- [6] Bishop G J, Yokota T. Plants steroid hormones, brass in steroids; current highlights of molecular aspects on their synthesis metabolism, transport, perception and response [J]. *Plant Cell Physiol*, 2001, 42: 114.
- [7] Yamamoto R, Demura T, Fukuda H. Brass in steroids induce entry into the final stage of tracheary element differentiation in cultured Zinnia cells [J]. *Plant Cell Physiol*, 1997, 38: 980.
- [8] Yamamoto R, Fujioka S, Demura T, et al. Brass in steroid levels increase drastically prior to morphogenesis of tracheary elements [J]. *Plant Physiol*, 2001, 125: 556.
- [9] Mandava N B. Plant growth promoting brass in steroids [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1988, 39: 23.
- [10] Clouse S D, Sasse J M. Brass in steroids; essential regulators of plant growth and development [J]. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1998, 49: 427.
- [11] Taiz L, Zeiger E. *Plant physiology* [M]. 3rd Ed. Sunderland, MA: Sinauer Associates, 2002.
- [12] Fujioka S, Yokota T. Biosynthesis and metabolism of brass in steroids [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2003, 54: 137.
- [13] 朱云集, 李向阳, 郭天才, 等. 不同冠温特征冬小麦灌浆过程中内源激素含量的变化 [J]. *植物生理学通讯*, 2005, 41(6): 720—724.
- [14] 王文静, 高松杰. 不同粒型小麦品种内源 GA₃ 和 ABA 含量变化及其与源库关系 [J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(4): 289—293.
- [15] Hoffmann-Benning S, Kende H. On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice [J]. *Plant Physiol*, 1992, 99: 1156—1161.
- [16] 高翌珠. 植物生理学 [M]. 1981: 174.
- [17] Börner A, Plaschke J, Korzun V, et al. The relationships between the dwarfing genes of wheat and rice [J]. *Euphytica*, 1996, 89(1): 69—75.
- [18] Hoffmann-Benning S, Kende H. On the role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice [J]. *Plant Physiol*, 1999, (3): 1156—1161.
- [19] 杨欣玲. 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 [J]. *植物生理学通讯*, 2006, (4): 673—677.
- [20] Ross J J, Reid J B, Gaskin P, MacMillan J. Internode length in Pisum. Estimation of GA levels in genotypes and led [J]. *Physiol Plant*, 1989, 76: 173—176.
- [21] Ross J J, Reid J B, Swain S M. Control of stem elongation by Gibberellin A1; evidence from genet studies including the slender mutant [J]. *Plant Physiol*, 1993, 20: 585—599.
- [22] Swain S M, Olszewski N E. Genetic analysis of gibberellin signal transduction [J]. *Plant Physiol*, 1996, 112: 11—17.
- [23] 李宗霆, 周 燮. 植物激素及其免疫检测技术 [M]. 南京: 江苏农业出版社, 1996: 250—284.
- [24] 刘仲齐. 吲哚乙酸和脱落酸对小麦籽粒淀粉积累的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 1992, 15(1): 7—12.
- [25] 柏新付. 脱落酸与稻麦籽粒灌浆的关系 [J]. *植物生理学通讯*, 1989, (3): 40—41.
- [26] 何钟佩. 植物生长延缓剂 DPC 对棉铃内源激素水平和棉铃发育影响的研究 [J]. *作物学报*, 1990, (3): 252—257.

Effects of exogenous GA₃ and ABA on tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plant growth and development and endogenous hormone contents in meristem

ZHOU Ji-hua, YANG Tie-zhao^{*}, GONG Qiao-ling, YANG Zhi-xiao, DOU Xian-wu
(School of Agronomy, He'nan Agricultural University, Zhengzhou, He'nan 450002, China)

Abstract: Effects of exogenous GA and ABA on endogenous hormone GA, ABA and IAA contents in meristem in tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) plants and their height and internode were carried out with two tobacco strains 8277 and ND202. The results showed that supply with GA₃ (100 mg/L) promoted the contents of two endogenous hormones GA and IAA, and the tobacco plant height and internode space as well. The plants supplied with ABA (20 mg/L) delayed growth during a short period, whereas increased dry matter accumulation.

Keywords: tobacco; endogenous hormone; high plant; dwarf; regulation