

网络出版时间:2013-05-02 10:55

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130502.1055.030.html>

盐芥和拟南芥根系 IAA 与 GAs 应答 高浓度 NaCl 胁迫的比较研究

王 荣¹, 黄继昌¹, 赵东生², 高 飞²

(1 阜阳师范学院 生命科学学院, 安徽 阜阳 236041; 2 中央民族大学 生命与环境科学学院, 北京 100081)

【摘要】【目的】比较近缘植物盐芥和拟南芥在高浓度 NaCl 胁迫下根的生长情况及根中内源赤霉素(GAs)及生长素吲哚乙酸(IAA)的含量变化,为进一步研究盐生植物的耐盐机制提供理论依据。【方法】选取在 MS 培养基上生长约 1 周,转接后根长相近的盐芥和拟南芥幼苗进行 NaCl 胁迫(NaCl 浓度拟南芥为 0,50,100,150,200,250,300 mmol/L,盐芥为 0,50,100,150,200,300,500 mmol/L),测定高盐胁迫下 2 种植物根系的生长情况。选取在 MS 培养基上生长 1 周,移栽到蛭石/珍珠岩(体积比 1:1)的培养基上继续培养 4 周的拟南芥和盐芥进行高浓度 NaCl 胁迫(NaCl 浓度为 150 和 300 mmol/L),分别于 0(对照),1,4,7,10 d 取根样,采用酶联免疫吸附(ELISA)法测定 2 种植物根系内源激素 GAs 及 IAA 的含量。【结果】正常生长条件下,盐芥根系的生长速度低于拟南芥;高浓度 NaCl 胁迫下,盐芥与拟南芥根系的生长均受到抑制,但盐芥耐盐能力较强;高浓度 NaCl 胁迫下,盐芥和拟南芥根系 IAA 含量均呈现先下降后增加的变化趋势,而 GAs 含量则呈现不断增加趋势。【结论】盐芥和拟南芥均可通过积累内源 IAA 和 GAs 来应对高浓度 NaCl 胁迫,且盐芥在高浓度 NaCl 胁迫下 IAA 和 GAs 的积累量高于拟南芥。

【关键词】 盐芥;拟南芥;吲哚乙酸;赤霉素;高盐胁迫

【中图分类号】 Q945.78

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2013)05-0178-05

Effects of high concentration salt on contents of IAA and GAs in the roots of *Thellungiella halophilla* and *Arabidopsis thaliana*

WANG Rong¹, HUANG Ji-chang¹, ZHAO Dong-sheng², GAO Fei²

(1 College of Life Science, Fuyang Normal College, Fuyang, Anhui 236041, China;

2 College of Life and Environmental Science, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

Abstract: 【Objective】*Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophilla*, are Brassicaceae species closely relate to *Arabidopsis thaliana*. The effects of high salinity on their root growth, and endogenous gibberellins (GAs) and growth hormone (IAA) levels were compared to improve the understanding of salt tolerance mechanism. 【Method】After growing on MS medium for one week, *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophilla* seedlings with similar root length were selected for the salt tolerance experiment. Concentrations of NaCl solutions for *Arabidopsis* seedlings were 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300 mmol/L and for *Thellungiella* seedlings were 0, 50, 100, 150, 200, 300, 500 mmol/L. Simultaneously, Same *Arabidopsis thaliana* and *Thellungiella halophilla* seedlings were selected to be transplanted in the vermiculite/perlite

【收稿日期】 2012-08-15

【基金项目】 安徽省教育厅自然科学基金项目(KJ2012A215);国家自然科学基金项目(31070361);教育部科学技术研究重点项目(210266);中央高校基本科研业务费专项(1112KYQN31.0910KYZY43)

【作者简介】 王 荣(1968—),女,河北石家庄人,副教授,硕士,硕士生导师,主要从事植物分子遗传学研究。
E-mail: wangrbnu@yahoo.com.cn

【通信作者】 高 飞(1972—),男,河南淇县人,副教授,博士,主要从事植物蛋白质组学和功能基因组学研究。
E-mail: gaofei@263.net

(vol. is 1 : 1) medium. After 4 weeks, these seedlings were treated with salinity as well (150 and 300 mmol/L NaCl). Root samples were taken from these seedlings on 0 (control), 1, 4, 7, and 10 d, and their endogenous GAs and IAA contents in both species were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). 【Result】 We found that *Thellungiella* root growth rate was lower than that of *Arabidopsis* in the normal condition. With salt stress, root growths of both species were inhibited. The *Thellungiella* root exhibited a higher tolerance. In addition, IAA contents in both plants decreased initially and then increased, while the contents of GAs gradually increased in the whole process. 【Conclusion】 Salt stress appears to impact the properties of both species by increasing the overall IAA and GAs contents. IAA and GAs accumulation of *Thellungiella halophilla* was higher than that of *Arabidopsis thaliana* in high salt stress.

Key words: *Thellungiella halophilla*; *Arabidopsis thaliana*; IAA; GAs; salinity stress

近年来,我国土壤盐渍化问题日益严重,造成许多农作物大面积减产,因此研究植物的耐盐机制、筛选抗盐相关基因,培育抗盐新品种显得尤为重要。盐生植物盐芥(*Thellungiella halophilla*)为十字花科盐芥属 2 年生草本植物,在我国主要分布于新疆、山东等地。盐芥和拟南芥为近缘植物,其植株大小、形态结构和发育特性与拟南芥极为相似,因此盐芥日益成为新型的耐盐模式植物,被称为拟南芥相关模式系统(*Arabidopsis thaliana* relative model system, ARMS)^[1-3]。Wong 等^[4]系统总结了盐芥作为研究抵御非生物胁迫遗传机制模式植物的有利条件。近年来,有关盐芥耐盐生理机制及内源激素含量与耐盐性之间的关系研究日益受到关注,并获得了许多重要结果^[5-9]。研究表明,植物的耐盐性与植物内源激素水平关系密切^[10-13]。在 NaCl 胁迫下,植物内源激素如赤霉素、生长素等可通过其含量的变化调控植物的一系列生理生化反应^[11]。近年来,脱落酸(Abscicic acid, ABA)被认为是植物响应外界胁迫的主要信号分子^[14-15],其在植物应答逆境胁迫中起着至关重要的作用,在各种盐胁迫下的植物体内表现出不同程度的积累^[16-17]。赤霉素(GAs)与生长素吲哚乙酸(IAA)等在植物的耐盐生理中也发挥着重要作用^[11]。GAs 和 IAA 为促进生长类激素,在感受到胁迫信号后其含量降低,植物生长速率显著下降,植物由活跃生长状态转变为胁迫适应状态;同时,GAs 和 IAA 通过调节胞内代谢,诱导积累可溶性渗透调节物质,选择性地吸收离子及加强清除活性氧物质,增加植物在逆境中的生存机会^[11]。

有关生长素与盐胁迫关系的研究相对较少。有报道显示,IAA 可能影响植物对逆境胁迫的反应^[18-19]。添加适量外源 IAA 可促进大豆幼苗的生长,增强幼苗对盐渍环境的抵抗能力^[18]。Wang 等^[19]认为,盐胁迫下 IAA 的运输通路在侧根系统

的形成中发挥着重要作用,证明 IAA 的转运活性决定着侧根的产生和伸长,使之形成适应盐胁迫的根系系统,增强植物对盐渍环境的耐受能力。

研究表明,GAs 可以抵消盐分对植物光合作用及光合产物运输的抑制作用,促进植物生长,还能提高盐胁迫下拟南芥种子的发芽势^[20]。温福平等^[21]在水稻种子的研究中取得了类似的结果。GAs 虽未被列作盐胁迫条件下的激素信号^[11],但其变化可以反映出植物对盐胁迫的适应性。Maggio 等^[22]研究发现,用 GA₃ 处理低盐环境中的西红柿植株,可降低其叶片的气孔阻力,加速蒸腾作用,增强植株对水的利用能力,有利于植株生长。

目前,有关植物激素对植物响应盐胁迫调控机制的研究多集中于单一物种在盐胁迫下的形态学和生理生化表现上。盐生植物盐芥与拟南芥为近缘植物,其外形和生活周期与拟南芥相似,蛋白编码区相似性较高,但二者的耐盐性差异较大,因此研究二者在盐胁迫下的根系生长状况及内源激素含量的变化,比单独研究某一种耐盐植物更有助于理解盐生植物的耐盐机制。本试验采用不同浓度 NaCl 溶液处理盐芥与拟南芥,运用酶联免疫吸附分析(ELISA)法测定盐芥与拟南芥 GAs、IAA 的含量,研究 GAs、IAA 含量对 NaCl 胁迫的响应,以期探讨盐芥与拟南芥在 NaCl 胁迫下的生理响应及进一步揭示植物的耐盐机制提供试验依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

盐芥(山东生态型)种子由山东师范大学生命科学学院惠赠。拟南芥(哥伦比亚野生型)种子由北京师范大学生命科学学院惠赠。

1.2 试验方法

1.2.1 NaCl 胁迫条件下 2 种植物根系生长情况的

比较 将盐芥和拟南芥种子在 4 ℃去离子水中分别浸泡 7 和 1 d,然后分别用次氯酸钠进行表面消毒后,播种在 MS 培养基上,萌发 1 周左右,各选取 10 株根长 1 cm 左右的幼苗转接到 MS 平板中,竖直培养,每天观察记录主根的生长情况。同时,取转接后根长相近的拟南芥与盐芥幼苗,分别转接到含 0(对照),50,100,150,200,250,300 mmol/L 和 0(对照),50,100,150,200,300,500 mmol/L NaCl 的 MS 培养基上竖直培养,每天观察记录主根的生长情况。以根生长抑制率考察 NaCl 胁迫对根生长的抑制程度,根生长抑制率=[1-(胁迫条件下的主根长度/对照条件下的主根长度)]×100%。

1.2.2 NaCl 胁迫条件下 2 种植物内源 IAA 及 GAs 含量的测定 将拟南芥和盐芥种子分别播种在 MS 培养基上(浸泡天数和消毒方法同上),萌发 1 周后,移栽到蛭石/珍珠岩(体积比 1:1)培养基上,继续培养 4 周,期间用 1/2 Hoagland 培养液每 3~4 d 浇灌 1 次,培养条件为:25 ℃,相对湿度为 35%左右,日照时间 16 h 光/8 h 暗,光照强度约为 330 μmol/(m²·s)。培养 4 周后,用含 150 和 300 mmol/L NaCl 的 1/2 Hoagland 培养液浇灌,每处理 4 个重复,每个重复 10 株苗。在 NaCl 胁迫后的 0(对照),1,4,7,10 d 分别取拟南芥和盐芥根系样品,备用。

称取经 150 和 300 mmol/L NaCl 胁迫处理的盐芥及拟南芥根各 0.1~0.5 g,加入 2 mL 样品提取液(体积分数 80%甲醇,内含 1 mmol/L 抗氧化剂二叔丁基对甲苯酚),冰浴中研磨成匀浆,转入 10 mL 离心管中,4 ℃提取 4 h,再 3 500 r/min 离心 15 min,取上清液;沉淀中再加入 1 mL 样品提取液,4 ℃提取 1 h,再 3 500 r/min 离心 15 min,取上清液。合并 2 次所得上清液过 C-18 固定萃取柱,收集过柱后的样品置于 1.5 mL 离心管中,在真空干燥离心机中干燥(离心转速 1 500 r/min),最后用样品稀释液定容,采用 ELISA 法测定 IAA、GAs 含量。试验数据用“平均值±SD”表示,采用 Duncan 法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫条件下盐芥与拟南芥根系生长情况的比较

结果表明,正常生长条件下盐芥根系的生长速度明显慢于拟南芥,所以在比较高浓度 NaCl 胁迫下盐芥与拟南芥的根系生长情况时,应选取生长时

间较短的拟南芥与生长时间较长的盐芥进行试验。本研究选取转接后生长 5 d 的拟南芥和生长 9 d 的盐芥植株(主根平均长度为 2.08 cm)进行高 NaCl 胁迫。

由图 1 可以看出,随着 NaCl 浓度的增加,拟南芥主根生长受抑制情况比盐芥严重。在 NaCl 浓度为 150 mmol/L 时,拟南芥与盐芥根生长的抑制率分别为 70%和 48%,盐芥在 200 和 300 mmol/L NaCl 胁迫下,根生长抑制率约为 70%。拟南芥在 150 mmol/L 以上 NaCl 胁迫下,幼苗很快变色枯萎,无法测得根长,故图 1 中没有相关数据;而盐芥在 NaCl 浓度>150 mmol/L 时,根仍能维持一定的生长速度,不发生变色枯萎,据此可推测盐芥根系的生长可能更适应高盐逆境。

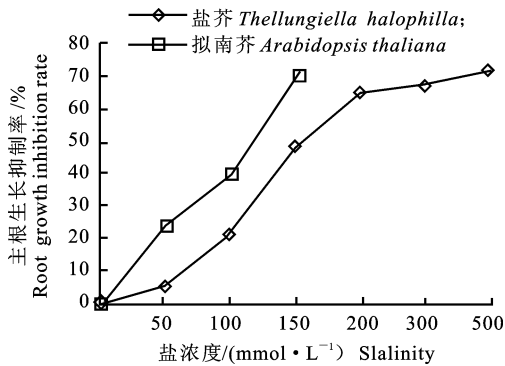


图 1 高浓度 NaCl 胁迫下盐芥与拟南芥主根生长的抑制率比较

Fig. 1 Repression ratios in root growth of *Thellungiella halophilla* and *Arabidopsis thaliana* treated with different NaCl concentrations

2.2 高 NaCl 胁迫下盐芥和拟南芥根中 IAA、GAs 含量的变化

2.2.1 IAA 含量 图 2 显示,在 NaCl 胁迫下盐芥和拟南芥根部 IAA 含量均呈现先下降后增加的变化趋势,NaCl 胁迫前,盐芥根中的 IAA 含量(17.3 μg/g)显著高于拟南芥(5.3 μg/g);150 mmol/L NaCl 胁迫下,拟南芥根部 IAA 含量开始增加的时间(10 d)晚于盐芥(7 d);随着 NaCl 浓度的增大,盐芥和拟南芥根部 IAA 含量开始增加的时间均提前,在 300 mmol/L NaCl 胁迫下,拟南芥和盐芥根中 IAA 含量均于第 4 天开始剧增。盐芥根部 IAA 的积累量在 150 mmol/L NaCl 胁迫下显著大于拟南芥;在 300 mmol/L NaCl 胁迫下的第 1 天和第 10 天,盐芥根部 IAA 的积累量显著大于拟南芥,但第 4 天和第 7 天,盐芥 IAA 的积累量显著小于拟南芥。

2.2.2 GAs 含量 由图 3 可以看出,经高浓度

NaCl 胁迫后,盐芥和拟南芥根部 GAs 含量均呈现上升趋势。胁迫前(0 d 时),盐芥根中 GAs 含量($5.1\text{ }\mu\text{g/g}$)显著高于拟南芥($2.68\text{ }\mu\text{g/g}$);胁迫后,盐芥对 GAs 的积累量显著大于拟南芥;无论是 150

还是 300 mmol/L NaCl 胁迫,胁迫前期(1~7 d)盐芥对 GAs 的积累均较为缓慢,但在 10 d 出现激增,其中 300 mmol/L NaCl 胁迫下更为明显。

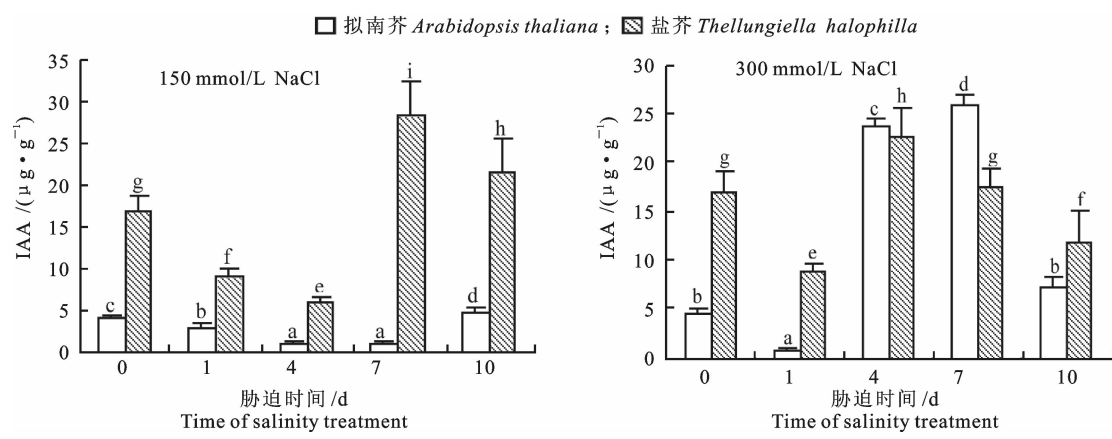


图 2 高浓度 NaCl 胁迫下盐芥和拟南芥根部 IAA 含量的变化
柱上标不同小写字母表示有显著性差异($P<0.05$),下同

Fig. 2 Changes of IAA contents in roots of *Thellungiella halophilla* and *Arabidopsis thaliana* after salinity treatment
The different small letters indicate a significance difference($P<0.05$), the same below



图 3 高浓度 NaCl 胁迫下盐芥和拟南芥根部 GAs 含量的变化

Fig. 3 Changes of GAs contents in roots of *Thellungiella halophilla* and *Arabidopsis thaliana* after salinity treatment

3 讨论

植物激素与植物耐盐性关系密切。植物激素对植物生长响应盐胁迫的调控主要体现在其对植物生长的抑制效应及对胞内代谢的调节作用方面。抑制类激素(如脱落酸)感受到胁迫信号后含量上升,促生长类激素(如赤霉素、细胞分裂素和生长素)感受胁迫信号后含量降低。

研究证实,GAs 依赖 IAA 作用促进细胞伸长,且 GAs 促进作用滞后期较 IAA 长;GAs 还具有促进细胞分裂,使叶片扩大的作用^[18]。盐芥通过调节根部和叶片生长积累 GAs,又通过 GAs 反作用于根和叶的生长,根和叶共同作用抵抗盐胁迫^[18]。

本研究中,在 NaCl 胁迫前,盐芥根中 IAA 及 GAs 的含量均高于拟南芥;在 NaCl 胁迫后,盐芥根表现出了较高的耐受力,IAA 的含量在 2 种植物根部呈现出先下降后增加的变化趋势,其原因可能在于,盐芥和拟南芥需要通过一定时间的适应和调节,才能对外界 NaCl 胁迫作出积极应答。盐芥对 IAA 积累的反应时间早于拟南芥,在 150 mmol/L NaCl 胁迫下,其 IAA 的积累量显著大于拟南芥;而在 300 mmol/L NaCl 胁迫下第 4 和 7 天,盐芥 IAA 的

积累量显著小于拟南芥,这是否与拟南芥长时间在 300 mmol/L NaCl 胁迫下的耐受力有关还有待进一步研究。在 GAs 方面,2 种植物根部在高浓度 NaCl 胁迫后 GAs 含量均逐步升高,说明盐芥和拟南芥都选择积累 GAs 来应对高浓度 NaCl 胁迫,而且盐芥积累 GAs 的能力明显强于拟南芥,且胁迫程度增大,GAs 积累量也相应增高,这可能是盐芥较拟南芥更为耐盐的机制之一。对于植物细胞准确感知外界胁迫信号的机制及有关植物激素与胁迫信号途径间的交叉反应等问题,还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Amtmann A, Bohnert H J, Bressan R A. Abiotic stress and plant genome evolution: search for new models [J]. Plant Physiology, 2005, 138(1): 127-130.
[2] Inan G, Zhang Q, Li P H, et al. Salt cress, a halophyte and cryophyte *Arabidopsis* relative model system and its application to molecular genetic analyses of growth and development of extremophiles [J]. Plant Physiology, 2004, 135(3): 1718-1737.
[3] Volko V V, Wang B, Dominy P J, et al. *Thellungiella halophilla* a salt-tolerant relative of *Arabidopsis thaliana*, possesses effective mechanisms to discriminate between potassium and sodium [J]. Plant Cell Environ, 2003, 27: 1-14.

- [4] Wong C E, Li Y, Whitty B R, et al. Expressed sequence tags from the Yukon ecotype of *Thellungiella* reveal that gene expression in response to cold, drought and salinity shows little overlap [J]. *Plant Molecular Biol*, 2005, 58: 561-574.
- [5] Wang Z L, Li P H, Fredricksen M, et al. Expressed sequence tags from *Thellungiella halophila*, a new model to study plant salt-tolerance [J]. *Plant Sci*, 2004, 166: 609-616.
- [6] 赵 昕, 吴雨霞, 赵敏桂, 等. NaCl 胁迫对盐芥和拟南芥光合作用的影响 [J]. *植物学通报*, 2007, 24(2): 154-160.
Zhao X, Wu Y X, Zhao M G, et al. Response of photosynthesis function of salt cress and *Arabidopsis* to NaCl salt stress [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2007, 24(2): 154-160. (in Chinese)
- [7] Rana M, Mark T. Mechanisms of salinity tolerance [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 651-681.
- [8] 张 敏, 蔡瑞国, 李慧芝, 等. 盐胁迫环境下不同抗盐性小麦品种幼苗长势和内源激素的变化 [J]. *生态学报*, 2008, 28(1): 310-320.
Zhang M, Cai R G, Li H Z, et al. Responses of seedling growth and endogenous hormone contents in different wheat cultivars to salt stress [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(1): 310-320. (in Chinese)
- [9] Wang Y, Li K, Li X. Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(15): 1637-1645.
- [10] Chang C, Wang B, Shi L, et al. Alleviation of salt stress-induced inhibition of seed germination in cucumber (*Cucumis sativus* L.) by ethylene and glutamate [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(14): 1152-1156.
- [11] 姚曼红, 刘 琳, 曾幼玲. 五大类传统植物激素对植物响应盐胁迫的调控 [J]. *生物技术通报*, 2011(11): 1-5.
Yao M H, Liu L, Zeng Y L. Several kinds of phytohormone in plants responses to salt-stress [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2011(11): 1-5. (in Chinese)
- [12] Kim S G, Park C M. Gibberellins acid-mediated salt signaling in seed germination [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2008, 3(10): 877-879.
- [13] Zhang W, Chiwocha S D S, Trischuk R, et al. Profile of plant hormones and their metabolites in germinated and ungerminated canola (*Brassica napus*) seeds imbibed at 8°C in either GA4+7, ABA, or asaline solution [J]. *Plant Growth Regul*, 2010, 29(1): 91-105.
- [14] Zhang J H, Jia W S, Yang J C, et al. Role of ABA in integrating plant responses to drought and salt stresses [J]. *Field Crops Research*, 2006, 97(1): 111-119.
- [15] Atia A, Debez A, Barhoumi Z, et al. ABA, GA₃ and nitrate may control seed germination of *Crithmum maritimum* (Apiaceae) under saline conditions [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2009, 332(8): 704-710.
- [16] 江 玲, 万建民. 植物激素 ABA 和 GA 调控种子休眠和萌发的研究进展 [J]. *江苏农业学报*, 2007, 23(4): 360-365.
Jiang L, Wan J M. Advances in seed dormancy and germination regulated by plant hormones ABA and GA [J]. *Jiangsu J of Agr Sci*, 2007, 23(4): 360-365. (in Chinese)
- [17] Hartung W, Schraut D, Jiang F. Physiology of abscisic acid (ABA) in roots under stress—a review of the relationship between root ABA and radial water and ABA flows [J]. *Aust J Agr Res*, 2005, 56(11): 1253-1259.
- [18] 魏爱丽, 陈云昭. IAA 对盐胁迫下大豆幼苗膜伤害及抗盐力的影响 [J]. *西北植物学报*, 2000, 20(3): 410-414.
Wei A L, Chen Y Z. Effect of IAA on soybean seedling's membrane injury and salt resistance [J]. *Acta Bot Boreal Occident Sin*, 2000, 20(3): 410-414. (in Chinese)
- [19] Wang Y, Li K, Li X. Auxin redistribution modulates plastic development of root system architecture under salt stress in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(15): 1637-1645.
- [20] Alonso-Ramirez A, Rodriguez D, Reyes D, et al. Evidence for a role of gibberellins in salicylic acid-modulated early plant responses to abiotic stress in *Arabidopsis* seeds [J]. *Plant Physiology*, 2009, 150(3): 1335-1344.
- [21] 温福平, 张 檀, 张朝晖, 等. 赤霉素对盐胁迫抑制水稻种子萌发的缓解作用的蛋白质组分析 [J]. *作物学报*, 2009, 35(3): 483-489.
Wen F P, Zhang T, Zhang Z H, et al. Proteome analysis of relieving effect of gibberellin on the inhibition of rice seed germination by salt stress [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35(3): 483-489. (in Chinese)
- [22] Maggio A, Barbieri G, Raimondi G, et al. Contrasting effects of GA₃ treatments on tomato plants exposed to increasing salinity [J]. *J Plant Growth Regul*, 2010, 29(1): 63-72.