

# IAA 和 ZR 对黄瓜分枝发育的协同调控

徐庆华<sup>1</sup>, 李凤兰<sup>2</sup>, 金峰<sup>2</sup>, 胡宝忠<sup>2</sup>

(1. 东北农业大学 成栋学院, 黑龙江 哈尔滨 150030 2. 东北农业大学 生命科学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 为揭示主要植物激素协同调控黄瓜分枝发育的生理机制, 使用扫描电镜和 ELISA 法研究了 IAA 和 ZR 对黄瓜分枝发育的协同调控机理。结果表明: IAA 不能独立的调控黄瓜的分枝性状, 茎尖中 IAA 仅能抑制腋芽伸长生长的继续; 根木质部汁液中 ZR 含量与黄瓜分枝发育呈负相关, 茎尖中 ZR 的含量有自调、自稳的功能, 茎尖 IAA 是根木质部汁液中 ZR 合成和运输的负调控信号; 茎节处 ZR/IAA 的相对浓度不是唯一调控腋芽生长和发育的因素。该研究为黄瓜的分枝发育的调控机理奠定了基础。

**关键词:** 黄瓜; IAA; ZR; 分枝发育

**中图分类号:** S 642.2   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1001—0009(2011)09—0001—04

植物分枝发育在植物形态建成中具有十分重要的地位。植物的分枝发育是多种植物激素协同作用的结果, 生长素和细胞分裂素在控制腋芽的生长过程中起着重要的作用, 生长素对腋芽的生长起抑制作用, 而细胞分裂素则促进腋芽的生长。黄瓜(*Cucumis sativus* L.), 为葫芦科黄瓜属植物, 是我国和世界广泛栽培的蔬菜品种之一<sup>[1]</sup>。黄瓜分枝性状是黄瓜株型的重要性状, 分枝的多少和强弱直接影响着栽培条件和种植成本。现进行了四叶一心期黄瓜不同组织部位 IAA 和 ZR 含量与黄瓜分枝特性关系的研究, 在首次探讨生长素和细胞分裂素协同调控黄瓜分枝发育机理的基础上, 结合课题组关于黄瓜分枝发育分子机制的研究, 初步推测一种新的协同调控黄瓜分枝发育的激素类物质。开展黄瓜分枝发育调控的研究对培育不同分枝特性的优质黄瓜品种和提高黄瓜生产效率提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试植物材料(表 1)由东北农业大学黄瓜课题组提供。

表 1		供试黄瓜品系	
Table 1		Lines of cucumber	
品系	株高	分枝数量	侧枝起始节位
Lines	Height of plant	Quantity of branch	Starting node of lateral branch
D0442	正常	多	2~4 节
D0462	极矮	多	0~1 节 *
602	正常	少	7~9 节
D9419	极高	极少	10~9 节

注: 定义黄瓜的子叶节为第 0 节。  
Note: The definition cotyledon node of cucumber was 0 node.

### 1.2 试验方法

采用四叶一心期黄瓜幼苗, 进行以下处理: (1)“断头处理”指去除茎尖(包括顶端生长点和未展开的幼叶); (2)“断头+IAA”指断头后立即用浸满 10 μmol/L IAA (10%乙醇配置)的脱脂棉缠住断口或第 2 节节间, 再裹上保鲜膜; (3)“断头处理后+IAA 处理”指去除茎尖一段时间后, 用浸满 10 μmol/L IAA (10%乙醇配置)的脱脂棉缠住断口或第 2 节节间, 再裹上保鲜膜; (4)“未处理”指幼苗完整, 不做任何处理。每个品种随机挑取生长一致的植株 20 株, 按不同处理后的茎尖或茎节处分别取样, 3 次重复, 1 g 分装, 冻存于-70℃冰箱。木质部汁液收集采用注射器微弱真空抽吸法<sup>[2]</sup>, 3 次重复, 5 mL 分装, 冻存于-70℃冰箱。

## 2 结果与分析

### 2.1 内源 IAA 对黄瓜分枝发育的调控

**2.1.1 内源 IAA 间接抑制黄瓜腋芽伸长** 四叶一心期黄瓜 D9419 植株, 断头处理的 0、4、8、12、16、20、24 h 后, 取植株第 2、3、4 节叶腋处组织各 10 个, 2.5%戊二醛和 2%多聚甲醛混合固定液(pH 6.8)固定后, 扫描电镜(日本 S-3400N)观察并测量腋芽伸长的变化(图 1)。结果显示, “断头处理”24 h 后 D9419 的第 2、3、4 节腋芽生长变化明显, 其中第 2 节腋芽伸长速度最快, 最显著(图 2)。随后,

第一作者简介: 徐庆华(1976-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为植物分子生物学。E-mail: xuqinghua1976@yahoo.com.  
责任作者: 胡宝忠(1962-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为植物生殖生物学和分子生物学。  
基金项目: 国家“863”计划资助项目(2007AA10Z177); 高等学校博士点专项科研基金资助项目(200802240008)。  
收稿日期: 2011-02-24

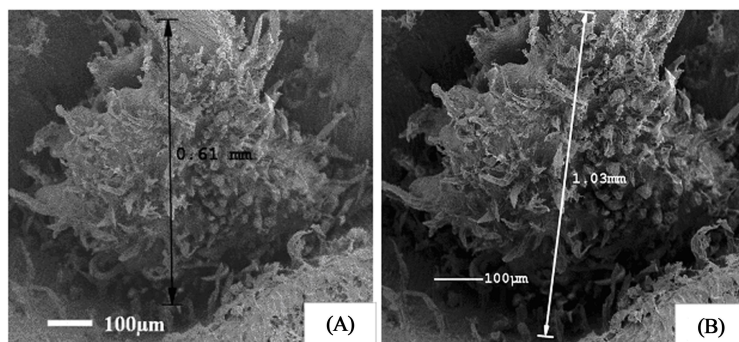
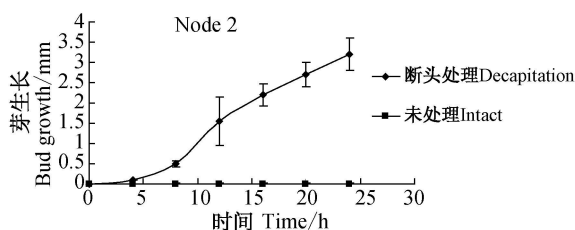


图1 D9419 断头后腋芽伸长的扫描电镜观察

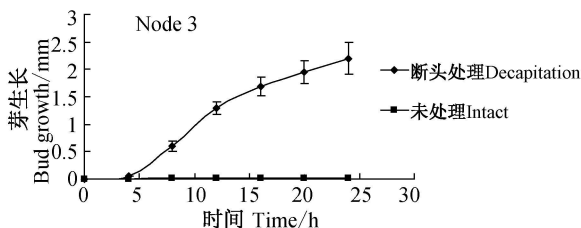
Fig. 1 Length of axillary buds in D9419 after being decapitated by SEM

注 (A)“断头处理”8 h(50×); (B)“断头处理”12 h(50×)。Note: (A) decapitated after 8 h(50×); (B) decapitated after 12 h(50×).

(A)



(B)



(C)

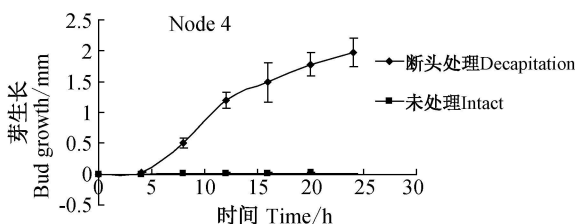


图2 D9419 腋芽生长动态观察(mean ± SE, n = 10)

Fig. 2 Observation the axillary bud dynamics growth of D9419(Values are mean ± standard deviation, n = 10)

注 (A)第2节腋芽长度变化; (B)第3节腋芽长度变化; (C)第4节腋芽长度变化。

Note: (A) axillary bud at node 2; (B) axillary bud at node 3; (C) axillary bud at node 4.

观察 D9419“断头+IAA 处理”和“断头处理”对第2节腋芽生长的动态变化, 结果如图3。“断头+IAA 处理”的0~72 h 期间腋芽伸长生长没有被抑制, 说明黄瓜茎尖中 IAA 不能独立抑制腋芽的生长, 需要与其它抑制腋芽生长的物质共同作用; 72~120 h, “断头处理”腋芽继续伸长生长, “断头后+IAA 处理”腋芽伸长生长被抑制, 说明外源 IAA 没有直接抑制腋芽的伸长, 而是 IAA 诱导了其它抑制腋芽伸长生长的物质的合成, 进而抑制了

腋芽伸长生长的继续。

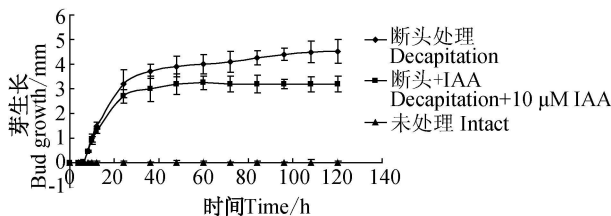


图3 不同处理下 D9419 植株第2节腋芽生长的动态观察(mean ± SE, n = 10)

Fig. 3 Observation on the axillary bud dynamic growth at node 2 under different treating(Values are mean ± standard deviation, n = 10)

2.1.2 内源 IAA 含量的比较 在黄瓜腋芽生长和发育的关键阶段四叶一心期<sup>[3]</sup>, 分别测量 D0442、D0462、602 和 D9419 的茎尖及第2节中 IAA 的含量。多分枝的 D0442 和 D0462 茎尖中 IAA 含量略低于少分枝的 602 和 D9419 茎尖中 IAA 含量; 多分枝的 D0442 和 D0462 第2节中 IAA 含量高于 602 和 D9419 中相应部位中 IAA 含量, 但是分枝性状显著差异的4种黄瓜品系中茎尖中 IAA 含量和茎节处 IAA 含量差异不明显(图4)。多分枝的 D0442 和 D0462 的第2节中 IAA 含量均比自身茎尖中 IAA 含量高, 但是少分枝的 602 和 D9419 的第2节中 IAA 含量均比自身茎尖中 IAA 含量低。表明, 合成于茎尖、极性运输(由上向下)至黄瓜茎节处的 IAA 或是茎节处本地合成的 IAA, 是在茎节处行使功能、调控相应腋芽的生长, IAA 是一种长距离信号。尽管 D0442 和 D0462 第2节 IAA 含量比自身茎尖 IAA 含量高, 但田间调查结果显示<sup>[3]</sup>, 在第2节都有侧枝发生, 说明黄瓜腋芽形成后是继续生长、休眠还是被抑制, 不能由 IAA 含量单独调控, 需与其它激素或物质协同调控。

## 2.2 内源 ZR 对黄瓜分枝发育的调控

2.2.1 根木质部汁液中 ZR 含量与黄瓜分枝发育的关系 根是合成植物体内细胞分裂素的主要器官, 根中合成的细胞分裂素通过木质部由下向上运输到芽。四叶一心期黄瓜 D0442、D0462、602 和 D9419 的茎尖、第2节和根木质部汁液中 ZR 含量进行比较后, 结果表明

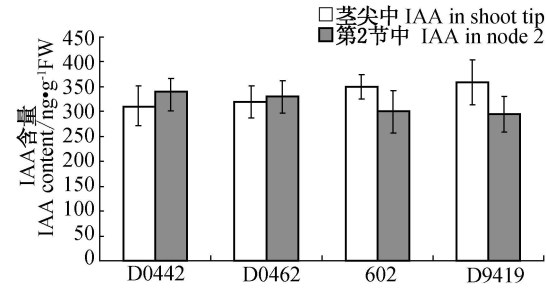


图4 黄瓜茎尖和第2节中 IAA 含量比较  
(M ±SD, n= 10)

Fig. 4 Comparing the IAA content in the shoot tip and node 2 of cucumber plants(Values are mean ± standard deviation, n= 10)

D0462 根木质部汁液中 ZR 的含量最低, 仅是 D9419 木质部汁液中 ZR 含量的 1/3; 多分枝性状的 D0442 和 D0462 根木质部汁液中 ZR 含量均低于茎尖中 ZR 含量; 少分枝性状的 602 和 D9419 根木质部汁液中 ZR 含量均高于茎尖中 ZR 含量(图 5)。4 种植物根木质部汁液中 ZR 的含量差别明显, D9419 根木质部汁液中 ZR 最多, 大约是 D0462 根中 ZR 的 3 倍; 4 种植物茎尖中 ZR 含量差别不大, 602 茎尖中 ZR 最多, D9419 茎尖中 ZR 含量最少。结合 4 种植物田间分枝性状的观察, 分析表明, 多分枝黄瓜 D0442 和 D0462 根木质部汁液中 ZR 含量低于少分枝黄瓜 602 和 D9419 根木质部汁液中 ZR 含量; 同时, 多分枝黄瓜 D0442 和 D0462 茎尖中 ZR 含量高于多分枝黄瓜 D9419 茎尖中 ZR 含量, 但是低于多分枝黄瓜 602 茎尖中 ZR 含量, 关系不定。所以黄瓜根木质部汁液中 ZR 含量与黄瓜的多分枝性状呈负相关, 黄瓜茎尖中 ZR 含量与黄瓜多分枝性状无关。

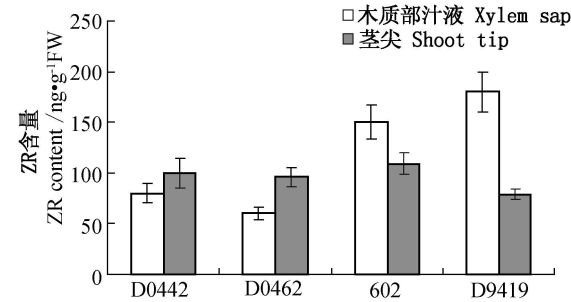


图5 黄瓜木质部汁液中和茎尖中 ZR 含量  
(M ±SD, n= 10)

Fig. 5 ZR content in the xylem sap and in shoot tip of cucumbers(Values are mean ± standard deviation, n= 10)

2.2.2 茎尖 IAA 与根木质部汁液 ZR 含量的关系  
D9419“断头处理” 12~72 h 后腋芽伸长生长动态变化明显(图 2), 选择“断头处理 48 h”和“断头 48 h+IAA 处理 48 h”后, 观察四叶一心期 D9419 和 D0462 根木质部汁液中和第 4 节中 ZR 含量的变化。D9419“断头处理” 48 h 后木质部汁液中 ZR 含量急剧增加; “断头+IAA”处理的植株木质部汁液中 ZR 含量有所增加, 但是没有“断头

处理”的木质部汁液中 ZR 的含量高; 2 种处理下第 4 节中 ZR 的含量与“未处理”的第 4 节中 ZR 含量相比基本无变化(图 6)。“断头处理(48 h)”后, 根木质部汁液中 ZR 含量增加约 1 倍; 施加外源 IAA (48 h)后, 根木质部汁液中 ZR 含量逐渐减少。由此可见, 黄瓜茎尖中 IAA 抑制了根组织中 ZR 的合成和输出, 茎尖 IAA 是木质部汁液中 ZR 合成和运输的负调控的、长距离的信号。同时, D9419 的 2 种不同处理后茎尖中 ZR 的含量与“未处理”的相比基本没变, 可见 IAA 含量的变化对茎尖 ZR 含量的影响不大, 说明茎尖组织对自身细胞分裂素的含量有自调、自稳的功能。分枝数量差异明显的 D0462 与 D9419, 茎尖中 IAA 对植株木质部汁液中 ZR 和茎尖中 ZR 含量的调控趋势是一致的。

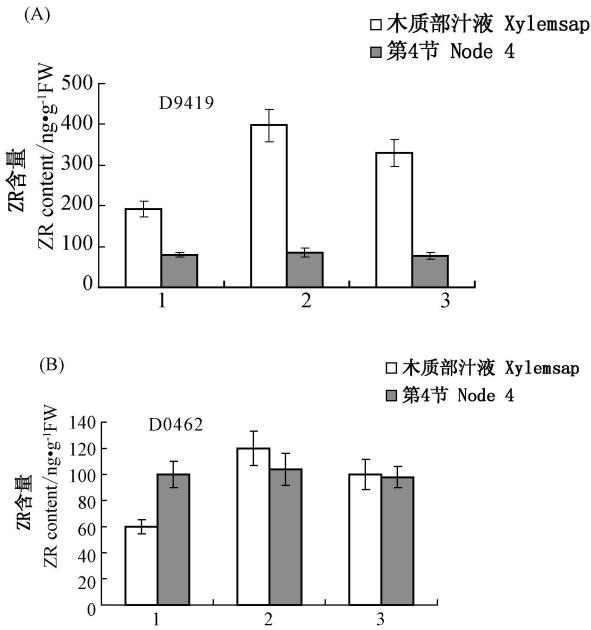


图6 完整植株和断头处理 48 h 后黄瓜 ZR 含量(mean ± SE, n= 10)

Fig. 6 ZR content of intact and decapitated after ZR treated in cucumbers(Values are mean ± standard deviation, n= 10)  
注: 1: “未处理”; 2: “断头处理” 48 h; 3: “断头处理(48 h)后+IAA 处理(48 h)”。  
Note: 1: Intact; 2: Decapitation for 48 h; 3: Decapitation for 48 h then adding IAA for 48 h.

2.3 茎节处 ZR/IAA 比值对黄瓜分枝发育的调控  
生长素和细胞分裂素在控制腋芽的生长过程中起着重要的作用, 但是由于腋芽的生长取决于这 2 种激素的比例而不是它们的绝对水平。测定四叶一心期 D0442、D0462、602 和 D9419 的第 0、1、2、3、4 节处的 ZR 和 IAA 含量, 并计算各茎节处 ZR/IAA 比值, 结果见图 7。D0442 的第 4 节和 D0462 的第 2 节是 2 种黄瓜发生侧枝的节位, 但茎节处 ZR/IAA < 1; 602 的第 3 节和 D9419 的第 3、4 节是 2 种黄瓜不发生侧枝的节位, 但茎节处 ZR/IAA 比值均 > 1。可见, 生长素和细胞分裂素的相对浓度不是唯一的控制黄瓜腋芽生长的因素, 推测一定有另外一种物质或信号在调节腋芽的生长中起到重要的作用。

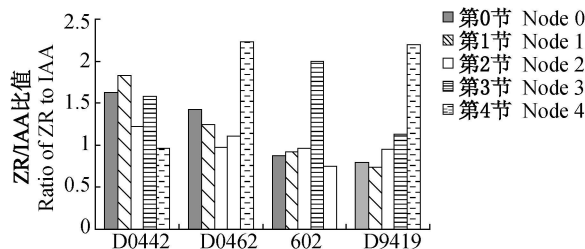


图7 4种黄瓜各节处ZR/IAA比值

Fig. 7 The ratio of ZR to IAA in each node of four lines cucumber

### 3 结论与讨论

黄瓜茎尖中 IAA 和茎节处 IAA 不能独立的调控黄瓜的分枝性状, 与其它物质协同作用调控植株的分枝性状。黄瓜茎尖中 IAA 抑制腋芽伸长的继续, 黄瓜茎尖中 IAA 不能独立抑制腋芽的伸长。黄瓜分枝性状与根木质部汁液中 ZR 含量呈负相关。茎尖对自身 ZR 的含量有自调、自稳的功能。黄瓜茎尖 IAA 是根木质部汁液中 ZR 合成和运输的负调控信号。黄瓜茎节处 ZR 和 IAA 的相对浓度不是唯一调控腋芽生长和发育的因素, 还存在其它物质或信号协同调节腋芽的生长和发育。

目前, 这种与生长素和细胞分裂素协同调控黄瓜分枝发育的新的信号物质, 可能是在拟南芥和豌豆中已经证实的独角金内酯(Strigolactone)<sup>[4-5]</sup>, 其在调节拟南芥和豌豆的腋芽生长中起重要作用。Beveridge 等<sup>[6]</sup>揭示了参与独角金内酯合成和信号转导的途径。其中参与合成的酶有 4 种: 类胡萝卜素裂解双加氧酶 7 (CCD7, MAX3/ RMS5/ D17/ HTD1)、类胡萝卜素裂解双加氧酶 8

(CCD8, MAX4/ RMS1/ DAD1/ D10)、D27 和细胞色素 P450 单加氧酶(P450, MAX1); 参与信号传导的有 2 种酶: F-box 蛋白 (F-box, MAX2/ RMS4/ D3) 和  $\alpha/\beta$  折叠水解酶 ( $\alpha/\beta$ -fold hydrolase, D14/ D88/ HTD2)。该课题组已经成功克隆了黄瓜 CsCCD7 和 CsCCD8、CsCCD7 表达的研究<sup>[7]</sup>, 再结合该研究中 IAA 和 ZR 对黄瓜分枝发育的协同调控研究的基础上, 为进一步揭示黄瓜分枝发育的机理提供了理论依据。

综上, 使用扫描电镜和 ELISA 的方法首次探讨了 IAA 和 ZR 对黄瓜分枝发育的协同调控, 分析存在一种新的信号物质与生长素和细胞分裂素一起协同调控黄瓜分枝发育, 推测可能是独角金内酯, 为进一步揭示黄瓜中独角金内酯的信号合成、信号转导和生理机制的研究提供植物生理学的依据。

### 参考文献

- [1] 李开盛, 秦智伟, 周秀艳. 黄瓜分枝性遗传分析[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(2): 163-167.
- [2] Beveridge C A, Murfet I C, Kerhoas L, et al. The shoot controls zeatin riboside export from pea roots. Evidence from the branching mutant mms4 [J]. Plant Journal, 1997, 11: 339-345.
- [3] 徐庆华, 胡宝忠, 李凤兰. 黄瓜矮化突变体营养芽茎尖分生组织分化动态[J]. 中国蔬菜, 2010(22): 28-33.
- [4] Gomez-Roldan V, Femas S, Brewer P B, et al. Strigolactone inhibition of shoot branching [J]. Nature, 2008, 455(7210): 189-194.
- [5] Umehara M, Hanada A, Yoshida S, et al. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones [J]. Nature, 2008, 455(7210): 195-200.
- [6] Beveridge C A, Kozuka J. New genes in the strigolactone-related shoot branching pathway [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 13: 1-6.
- [7] 徐庆华. 黄瓜分枝特性的研究及 CsCCDs 的克隆及表达[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.

## Coregulation of Branching Development by IAA and ZR in *Cucumis sativus* L.

XU Qing-hua<sup>1</sup>, LI Feng-lan<sup>2</sup>, JIN Feng<sup>2</sup>, HU Bao-zhong<sup>2</sup>

(1. College of Chengdong, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030; 2. College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)

**Abstract:** In order to reveal the physiological mechanism of *Cucumis sativus* L. branching development which coregulated by main plant hormone, coregulation of *Cucumis sativus* L. branching development by IAA and ZR was studied using SEM and ELISA. The results showed that IAA in cucumber could not independently, IAA in shoot tip could not inhibit the successive elongation of axillary bud; ZR content in xylem sap was negative correlation with cucumber branching trait, ZR content in shoot tip can self-stable, IAA in shoot tip down-regulated the ZR content in xylem sap and was a long distance signal; Relative concentration of IAA/ZR was not the only factor on regulation axillary bud outgrowth. Except auxin and cytokin, it must be another material or signal coregulating axillary buds growth and development. This research established the bases on regulating mechanism of *Cucumis sativus* L. branching development.

**Key words:** *Cucumis Sativus* L.; IAA; ZR; branching development