

崔红米, 曹学伟, 王建军, 等. 外源 GR24 对不结球白菜腋芽生长的影响[J]. 南京农业大学学报, 2016, 39(3): 366–372.

外源 GR24 对不结球白菜腋芽生长的影响

崔红米, 曹学伟, 王建军, 熊爱生, 侯喜林, 李英*

(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏 南京 210095)

摘要: [目的] 本文旨在探究独脚金内酯对不结球白菜腋芽生长的影响。[方法] 采用不同浓度的独脚金内酯人工类似物 GR24 处理不结球白菜‘如皋毛菜’, 调查腋芽表型的变化, 采用超高效液相色谱(UPLC) 法测定叶腋处细胞分裂素(Z+ZR) 和生长素(IAA) 的含量, 用荧光定量 PCR 检测叶腋处分蘖/分枝相关基因的表达。[结果] 外源 GR24 能抑制不结球白菜腋芽的萌发, 且浓度越高抑制作用越明显, 同时还能抑制腋芽的伸长, 但低浓度 GR24 的抑制作用更明显。外源 GR24 处理后, 不结球白菜叶腋处的 Z+ZR 和 IAA 含量显著降低, 且低浓度的 GR24 发挥作用快。外源 GR24 能促进叶腋处独脚金内酯响应基因 *MAX2* 和 *BRC1* 的表达, 且 *MAX2* 的表达量变化比 *BRC1* 的变化早; 外源 GR24 能抑制细胞分裂素合成相关基因 *LOG1* 的表达; 外源 GR24 处理后, 抑制腋生分生组织形成与生长的基因 *SPS* 和抑制新叶形成的基因 *SPL9* 的表达量都明显升高。[结论] 外源 GR24 能直接抑制不结球白菜腋芽的萌发和伸长, 也能通过调控其他激素相关信号和分蘖/分枝相关基因的表达来间接抑制不结球白菜腋芽的萌发和伸长。

关键词: 不结球白菜; 独脚金内酯; 腋芽; 基因表达

中图分类号: S634.3

文献标志码: A

文章编号: 1000-2030(2016)03-0366-07

Effects of exogenous GR24 on the growth of axillary bud of non-heading Chinese cabbage

CUI Hongmi, CAO Xuewei, WANG Jianjun, XIONG Aisheng, HOU Xilin, LI Ying*

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract [Objectives] The effects of strigolactones on axillary bud growth was researched in non-heading Chinese cabbage. [Methods] GR24(artificial analogue of strigolactones) at different concentrations were applied to the roots of non-heading Chinese cabbage ‘Rugaomaocai’. The number and total length of active buds were measured; the contents of cytokinins (Z+ZR) and auxin (IAA) in non-heading Chinese cabbage leaf axil were determined using UPLC(ultra performance liquid chromatography), and the relative expression of tillering/branching related genes in non-heading Chinese cabbage leaf axil was tested by RT-PCR. [Results] As a result, exogenous GR24 inhibited axillary bud of non-heading Chinese cabbage releasing from dormancy and the effect of higher concentration of GR24 was stronger. While lower concentration of GR24 could inhibit axillary bud elongation more than higher concentration. After GR24 application, the contents of Z+ZR and IAA were lower than control. While lower concentration of GR24 effected faster. Compared to the control, the relative expression of strigolactones perception gene *MAX2* and *BRC1* increased after GR24 application. In addition, the relative expression of *MAX2* changed earlier than *BRC1*. After GR24 application, the relative expression of cytokinins related gene *LOG1* was lower than control. The relative expression of *SPS*(regulating the formation and growth of axillary meristem negatively) and *SPL9*(inhibiting the formation of new leaf) increased after GR24 application. [Conclusions] Exogenous GR24 can inhibit axillary bud releasing from dormancy and axillary bud elongation of non-heading Chinese cabbage directly. At the same time, exogenous GR24 can inhibit axillary bud releasing from dormancy and axillary bud elongation indirectly by regulating the hormones signals and expression of tillering/branching related genes.

Keywords: non-heading Chinese cabbage; strigolactones; axillary bud; gene expression

独脚金内酯(strigolactones, SLs)是一种产生于植物根部的类胡萝卜衍生物,最早是作为寄生植物种子萌发刺激物而发现。近期研究发现,该类化合物能够抑制植物的分枝,是继生长素和细胞分裂素之后发现的调控植物分枝的新型植物激素^[1-3]。GR24为独脚金内酯的人工类似物,现已应用于水稻、豌豆、拟南芥

收稿日期: 2015-10-17

基金项目: 江苏高校优势学科建设工程项目; 国家 863 计划项目子课题(2012AA100202-8); 江苏省科技支撑计划项目(BE2012325); 江苏省杰出青年基金项目(BK20130027)

作者简介: 崔红米, 硕士研究生。* 通信作者: 李英, 教授, 博导, 研究方向为蔬菜遗传育种与分子生物学, Tel: 025-84395756, E-mail: yingli@njau.edu.cn。

和矮牵牛等多分蘖/分枝突变体的研究中^[4-6]。研究表明,低浓度的 GR24 能够使独脚金内酯合成缺失突变体恢复其野生型的表型,对于独脚金内酯信号途径缺失突变体却没有作用^[4-11]。同时,一定浓度的 GR24 能够抑制野生型植株分蘖/分枝的生长^[11-13]。例如,100 nmol·L⁻¹的 GR24 严重抑制豌豆 SLs 合成缺失突变体 *ccd8* 腋芽的生长,对豌豆 SLs 信号途径缺失突变体 *rms4* 的腋芽生长却没有作用^[7];1 μmol·L⁻¹ 的 GR24 能够完全抑制水稻 SLs 合成缺失突变体 *d10* 和 *d17* 的生长,而对水稻 SLs 信号途径缺失突变体 *d3* 却没有作用^[11];低浓度的 GR24(1 μmol·L⁻¹) 不能影响野生型水稻分蘖芽的生长,而高浓度的 GR24 (10 μmol·L⁻¹) 能够明显抑制野生型水稻分蘖芽的生长^[11]。

不结球白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) 是十字花科芸薹属植物,俗称青菜、小白菜、油菜(北方)^[14],在中国南方栽培广泛。不结球白菜的大部分品种不分蘖/分枝,但也有少数品种呈分蘖/分枝状,如‘如皋毛菜’和‘南通马耳头’^[15]。分蘖/分枝影响不结球白菜的株型,进而影响其产量和品质等重要农艺性状。研究表明:分蘖/分枝的形成仅受基因型的控制,而分蘖/分枝的生长发育受到基因、环境和激素的共同调控,这些因素之间相互作用形成复杂的调控网络,共同调控腋芽的生长^[16]。生长素通过顶端优势的作用间接抑制分蘖/分枝,细胞分裂素和独脚金内酯分别直接促进和抑制分蘖/分枝^[17]。*BRC1/TB1* 被认为是作为植物激素与环境信号互作的集成器来调控植物分枝发育,它编码 TCP 家族转录因子,在腋芽特异表达,其功能缺失突变体会产生更多的分枝^[16]。*MAX2* 是独脚金内酯响应途径上的基因,位于 *BRC1/TB1* 的下游,外源独脚金内酯类似物不能恢复其突变体的表型^[18]。水稻中 *LOG* 能够编码一种新的细胞分裂素激活酶,能够催化细胞分裂素合成途径的最后一步^[19]。拟南芥 *sp5* 突变体分枝数大大增加,细胞分裂素含量是野生型植株的 3~9 倍,这说明 *SP5* 可能通过控制腋芽形成部位的细胞分裂素含量来抑制腋芽的生长^[20]。*SPL9* 抑制新叶的形成,*spl9* 突变体分蘖/分枝数大大增加^[21]。

不结球白菜分蘖/分枝的研究目前还处于起步阶段。因此,本研究采用不同浓度的外源 GR24 处理不结球白菜‘如皋毛菜’,调查其腋芽生长的动态变化,检测叶腋处细胞分裂素(Z+ZR)、生长素(IAA)含量和分蘖/分枝相关基因的表达量,以探究外源 GR24 对不结球白菜分蘖/分枝生长的影响机制,为激素调控不结球白菜分蘖/分枝生长的机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与外源 GR24 处理

不结球白菜(*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino) 品种‘如皋毛菜’为南京农业大学白菜课题组保存材料。试验所用试剂 GR24 购于北京大秦兴业科技有限公司。其余试剂均为分析纯。

不结球白菜播种穴盘,待 4~5 片真叶长出时,选取生长一致的幼苗,移栽到 MS 营养液中,气泵间断性通气,每周换 1 次营养液;11~12 片真叶长出时,部分腋芽开始生长,将配好的一定量的 GR24 母液加入到 MS 营养液中(GR24 母液先用少量的丙酮溶解后再用蒸馏水定容^[22]),使其终浓度分别为 0、1.5 和 4.5 μmol·L⁻¹,对照加入与处理等量的丙酮。分别于 GR24 处理后 0、3、6、12、24、36 和 48 h 取腋芽(腋芽长度大于 0.2 cm)及腋芽周围 2 mm 的植物组织,用于 RNA 提取(约 0.1 g)和激素含量的测定(约 1.0 g),-70 °C 保存备用。分别于处理后 0、3、6、9、12 和 15 d 测量‘如皋毛菜’从外到里每个叶片叶腋处腋芽的长度,并统计活动芽数和活动芽总长度。每个处理 3 次重复。

1.2 激素含量的测定

叶腋处的 Z+ZR 和 IAA 含量参照刘旭^[23]的方法并适当改动。将样品(1.00 g 左右)放到预冷的研钵中,加入 5 mL 预冷的 50% 甲醇溶液(体积分数),冰浴研磨成浆;4 °C 下浸提 12 h,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液保存于 4 °C 冰箱中;残渣加入预冷的 50% 甲醇溶液 3 mL 重复浸提 2 次,间隔 12 h,离心同上,收集合并全部浸提液;向提取液中加入 0.2 g PVPP 吸附酚类物质及色素,在摇床上 4 °C 振荡 60 min,摇匀,离心同上;将上清液缓慢过 C₁₈ 小柱,流出液倒入 50 mL 小烧杯中进行冷冻干燥;冻干样品用 2.5 mL 预冷的 50% 甲醇溶液溶解,过 0.22 μm 的有机系超微滤膜,用于测定激素含量。超高效液相色谱(UPLC)仪为 Agilent 1290 Infinity 系统,色谱条件为:流动相为 0.6% 乙酸(体积分数)和色谱级甲醇梯度洗脱(表 1);柱温 35 °C,进样量 2 μL,流速 0.3 mL·min⁻¹,检测波长为 254 nm。

1.3 RNA 的提取和荧光定量 PCR 引物的设计

叶腋处 RNA 的具体提取方法参照植物 RNA 提取试剂盒说明书(TianGen 公司)。按照 PrimeScript RT

试剂盒说明书 (TaKaRa 公司) 将 RNA 反转录为 cDNA。

实时定量 PCR 检测分蘖/分枝相关的 5 个基因表达量,引物采用 Bioxm 2.7 设计,内参基因为 *Actin*, 试验所用引物由南京金斯瑞生物公司合成,荧光引物信息序列见表 2。定量体系参照 TaKaRa 公司 SYBR Premix *Ex Taq*TM 试剂盒说明书。荧光定量 PCR 为美国应用生物系统公司的 7500 Fast Real-Time PCR System。PCR 程序采用两步法: 95 ℃ 30 s; 95 ℃ 3 s 60 ℃ 30 s 40 个循环; 设置 60 ℃ 到 95 ℃ 的溶解曲线。

表 2 荧光定量引物

Table 2 Primer of real-time PCR

基因名称 Gene name	引物对名称 Primer name	序列(5'→3') Sequence
<i>BRC1</i> (BRANCHED 1)	q- <i>BRC1</i>	AGAGAAGACGACCACAAGT/AAGTACTCCAATTAACACCAGA
<i>MAX2</i> (MORE AXILLARY GROWTH 2)	q- <i>MAX2</i>	GATGATGGTGATGATGAT/TAGGTACTGGTGTTAGAA
<i>LOG1</i> (LONELY GUY Cytokinin-Activating Enzymes 1)	q- <i>LOG1</i>	GGACTATTGAATGTGGAAGGATA/CGAGCAGTTGCTGTAATGA
<i>SPS</i> (SUPERSHOOT)	q- <i>SPS</i>	AGGAACTTACAACGGAACA/TATCACTCTCATCTAACACATCA
<i>SPL9</i> (SBP-box genes)	q- <i>SPL9</i>	AGTGGAGGGCTCATGTTTGG/TTCCACGTACCCTTCTGTTTGA
<i>Actin</i>	q- <i>Actin</i>	GTTGCTATCCAGGCTGTTCT/AGCGTGAGGAAGACATAAC

1.4 形态指标的测定

向营养液中加入 GR24 母液,使其终浓度分别为 0、1.5 和 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,对照加入与处理等量的丙酮,每 3 d 换 1 次营养液并加入相应量的 GR24 母液。分别于处理后 0、3、6、9、12 和 15 d 统计单株活动芽的个数,并用直尺测量活动芽的长度,每处理 10 株 3 次重复。

1.5 数据分析和处理

数据采用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 进行统计处理和单因素方差分析(One-way ANOVA),组间比较用 Duncan's 检验。荧光定量 PCR 数据采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 进行计算分析。

2 结果与分析

2.1 外源 GR24 对不结球白菜‘如皋毛菜’腋芽生长的影响

2.1.1 不结球白菜‘如皋毛菜’腋芽生长的动态调查 ‘如皋毛菜’长到约 8 片真叶时,腋芽形成,几乎每个叶片的叶腋内都有腋芽长出;长到 11~12 片真叶时,腋芽开始萌动。由图 1 可知:当腋芽长度大于 0.2 cm 时,腋芽开始迅速伸长,而小于 0.2 cm 的腋芽,处于基本不伸长或休眠状态,因而将大于 0.2 cm 的腋芽

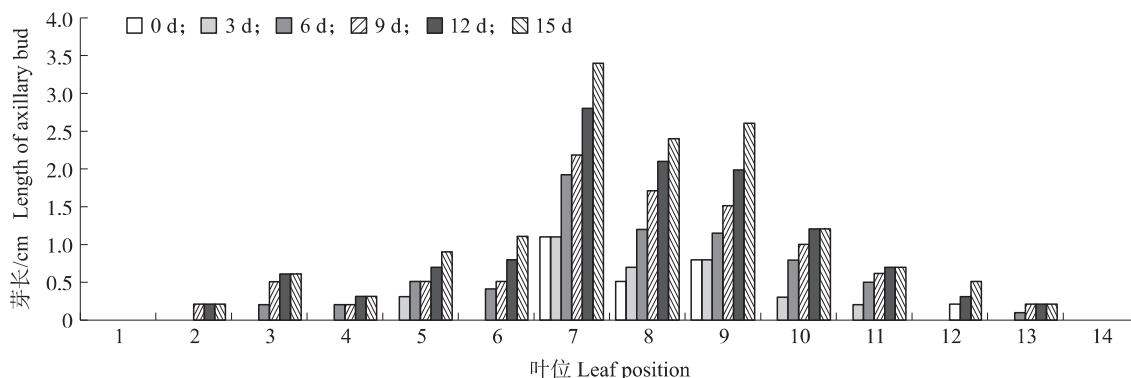


图 1 不结球白菜每叶腋处腋芽长度

Fig. 1 Axillary bud length per leaf axil of non-heading Chinese cabbage

1~14 按照叶片长出的先后顺序编号,1 表示最外侧先长出真叶的叶位,14 表示植株最内侧的叶位。

1~14 are the sequence number in accordance with the leaves, 1 shows the leaf position which grow true leaf firstly, and 14 shows the leaf position which grow true leaf lastly.

定义为活动芽,小于或等于 0.2 cm 的腋芽定义为休眠芽。位于中间叶位的腋芽最先开始萌动,而最里面和最外面的腋芽生长比较晚或基本不生长。

2.1.2 外源 GR24 对‘如皋毛菜’活动芽数和活动芽总长度的影响 如图 2-A 所示:与对照相比,外源 GR24 处理后 3 d 开始,活动芽的个数显著减少($P<0.05$);且 12 d 以后,4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理的活动芽数比 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理显著减少;处理 15 d 后,1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理的活动芽个数比对照减少 11%,4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理比对照活动芽个数减少 18%。表明外源 GR24 能够抑制休眠芽的萌发,且随着处理时间的延长高浓度比低浓度对休眠芽萌发的抑制作用更为明显。从图 2-B 可以看出:与对照相比,处理后 3 d,外源 GR24 就开始明显抑制腋芽的伸长,且总体来看,低浓度的 GR24 比高浓度的 GR24 更能抑制腋芽的伸长,这说明低浓度的 GR24 比高浓度的 GR24 对腋芽伸长的抑制作用更为明显。这可能是随着 GR24 浓度的升高,GR24 分子的有效性对活动芽丧失^[22]。

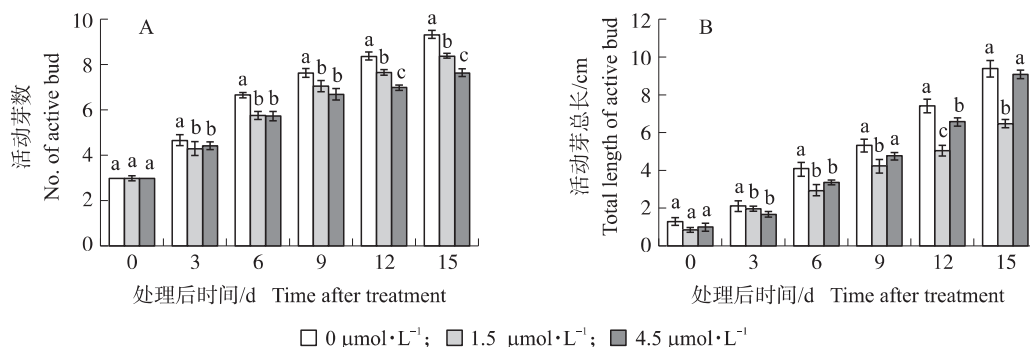


图 2 外源 GR24 对不结球白菜活动芽数(A)和活动芽总长(B)的影响

Fig. 2 Effects of exogenous GR24 on the number(A) and the total length(B) of active buds in non-heading Chinese cabbage

不同小写字母表示同一时间不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Different small letters indicate significant difference between different treatments at the same time at 0.05 level. The same as follows.

2.2 外源 GR24 对不结球白菜‘如皋毛菜’激素含量的影响

由图 3-A 可见:1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 12 h,叶腋内的 Z+ZR 含量比对照显著降低,到 48 h 时,比对照降低 33%;而 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 48 h,叶腋内的 Z+ZR 含量显著低于对照,比对照低 49%。这说明,在降低叶腋处 Z+ZR 含量时,低浓度的 GR24 比高浓度的 GR24 发挥作用更早。

由图 3-B 可见:1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GR24 处理后 12 h 开始,叶腋内的 IAA 含量比对照显著降低,到 48 h 时,叶腋内的 IAA 含量比对照低 42%;4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 24 h 开始,叶腋内的 IAA 含量较对照有明显的降低,48 h 时,比对照低 48%。这说明外源 GR24 可能降低了 IAA 从源到库的运输能力,且低浓度的 GR24 的作用更为显著。

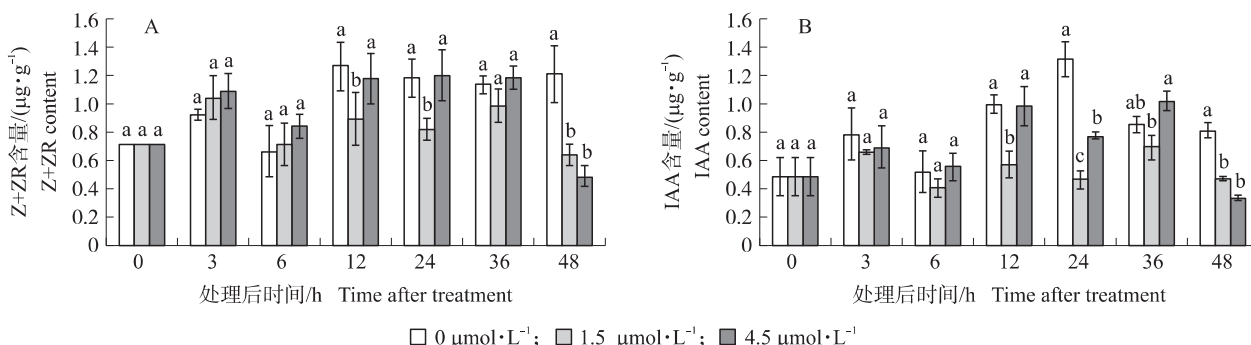


图 3 外源 GR24 对不结球白菜叶腋内 Z+ZR(A)和 IAA(B)含量的影响

Fig. 3 Effects of exogenous GR24 on the contents of Z+ZR(A) and IAA(B) in non-heading Chinese cabbage leaf axil

2.3 外源 GR24 对不结球白菜‘如皋毛菜’分蘖/分枝相关基因表达的影响

由图 4 可见:4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 MAX2 基因的表达量快速下降,到 6 h 时降到最低,12 h 时逐渐回升,36~48 h 又逐渐降低;1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理和对照的 MAX2 表达量在处理 3 h 快速下降,之后变化平缓。4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 3 h 时,MAX2 的表达量比对照有明显的升高趋势,而处理后

48 h, *MAX2* 的表达量与对照没有明显的区别; 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GR24 处理后 3 h, *MAX2* 的表达量较对照升高, 但没有高浓度的升高作用明显; 48 h 后, *MAX2* 的表达量与对照没有明显的区别。说明 GR24 施加到根部后, 很快由根部运输到腋芽发挥其作用, 且腋芽对高浓度的 GR24 的响应更为明显。4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 24 h, *BRC1* 基因的表达量开始显著升高, 36 h 时升到最高, 48 h 又回降; 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 *BRC1* 基因的表达量先升后降, 12 h 时降至最低, 48 h 又快速升高; 对照的 *BRC1* 基因表达量变化规律不明显。4.5 和 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 24 h 开始, *BRC1* 基因的表达量均比对照有明显的升高, 但 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理效果更明显。说明高浓度的 GR24 比低浓度对叶腋处 *BRC1* 基因表达量的影响更为明显。

由图 4 可见: 4.5 和 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后, *LOG1* 基因表达量显著降低, 48 h 时, 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理 *LOG1* 基因的表达量显著低于 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理; 对照 *LOG1* 基因的表达量先降后升, 之后再降并趋于平稳。GR24 处理后 3 h 开始, 叶腋处的 *LOG1* 表达量显著低于对照, 处理后 24 h 开始, 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理 *LOG1* 的表达量低于 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理, 说明由根部运输到腋芽内的 GR24 可以抑制腋芽内的 *LOG1* 表达, 且随着时间的延长, 高浓度的抑制作用更为明显。

4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 6 h, *SPS* 基因的表达量降低, 12 h 时降至最低, 24 h 时迅速升至最高, 之后回降; 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 3 h, *SPS* 表达量迅速降至最低, 24 h 时开始回升, 并至 48 h 时升到最高; 对照的 *SPS* 表达量变化趋势与 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理基本一致 (图 4)。外源 GR24 处理后 24 h 开始, *SPS* 表达量较对照升高, 且 4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理比 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理升高的更为明显。4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 3 h, *SPL9* 基因的表达量迅速升高, 12 h 时回降, 之后又升高, 24~48 h 又逐渐下降; 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后, *SPL9* 表达量 0~6 h 呈下降趋势, 6~24 h 变化不大, 36 h 时又开始升高, 之后趋于稳定; 对照的 *SPL9* 表达量 12 h 时开始下降, 之后趋于平稳。4.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GR24 处理后 3 h, *SPL9* 表达量较对照有明显的升高, 1.5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GR24 处理后 12 h, *SPL9* 表达量较对照升高, 且高浓度的升高作用更为明显。总体来看, 高浓度的 GR24 处理比低浓度的 GR24 处理对 *SPL9* 基因表达量的影响更大。

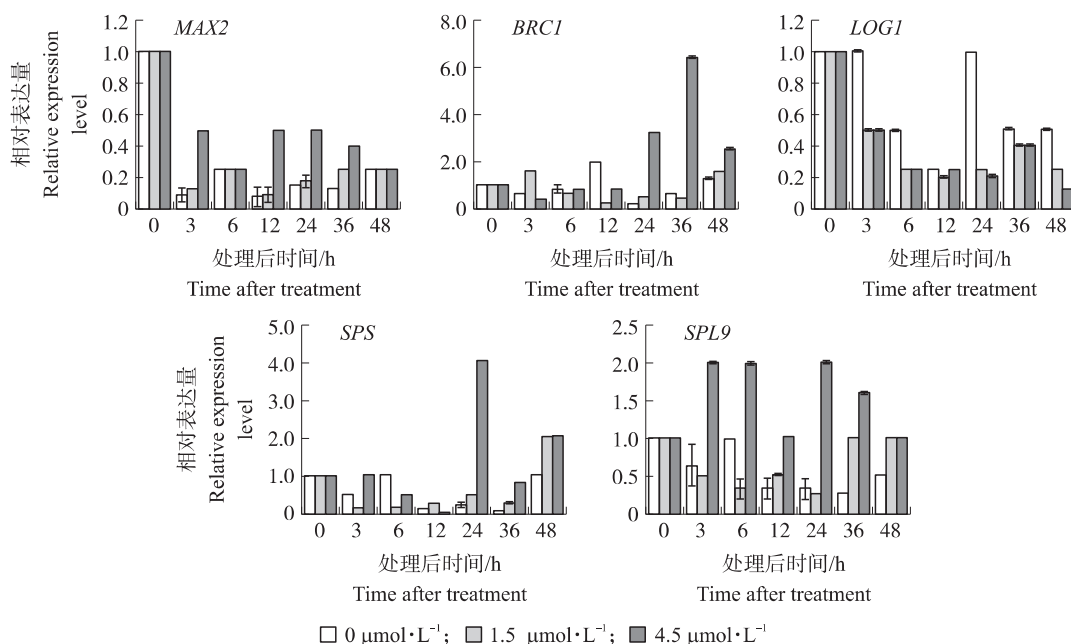


图 4 外源 GR24 对不结球白菜叶腋内分蘖相关基因表达的影响

Fig. 4 Effects of exogenous GR24 on the relative expression of branching related gene in non-heading Chinese cabbage leaf axil

3 讨论与结论

分蘖/分枝影响不结球白菜的株型, 进而影响其产量和品质等重要农艺性状。分蘖/分枝的生长发育, 可以分为腋芽的形成和腋芽的生长两个阶段。对分蘖/分枝生长影响最大的 3 种激素是生长素 (IAA)、细胞分裂素 (CTK) 和独脚金内酯 (SLs), 这 3 种激素之间相互影响, 共同调控分蘖/分枝的生长^[24]。独脚金

内酯作为一种新型的植物激素,受到了研究者的广泛重视,随着越来越多分蘖/分枝相关突变体的发现和研究,植物体内独脚金内酯合成和信号途径以及独脚金内酯与其他信号共同调控植物分蘖/分枝的网络,越来越清晰。

本研究结果表明:外源 GR24 能够抑制不结球白菜腋芽的萌发,且高浓度的 GR24 抑制作用更为明显;外源 GR24 能够抑制活动芽的伸长,且低浓度比高浓度的 GR24 的作用更为明显。Xu 等^[13]对水稻根部施用一定浓度的外源 GR24($2\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)发现能够完全抑制水稻腋芽的生长;王玫等^[12]对一串红腋芽处施用外源 GR24 的研究结果表明:GR24 能够抑制一串红侧枝的伸长,且浓度越高,抑制作用越为明显,本研究结果与之相一致。

关于独脚金内酯与生长素和细胞分裂素相互作用的调控网络,研究者们做了大量的研究,也提出了各种假说,其中最具代表性的是渠化模型和第二信使模型。渠化模型研究者认为 SLs 通过影响 IAA 的运输调控腋芽的生长;第二信使模型研究者认为,SLs 和 CTK 作为 IAA 的第二信使直接进入腋芽内促进或抑制腋芽的生长^[17]。Xu 等^[13]研究表明:GR24 不能明显降低水稻茎节内的细胞分裂素含量或细胞分裂素合成相关基因的表达,但是却能够显著降低水稻茎节内 IAA 的含量和 IAA 的运输能力。在本研究中,外源 GR24 处理后 3 h,不结球白菜叶腋内的细胞分裂素合成基因 *LOG1* 基因的表达量明显降低,且低浓度的外源 GR24 处理 12 h 后,不结球白菜叶腋处的 Z+ZR 含量显著降低,高浓度的 GR24 处理后 48 h,不结球白菜叶腋处的 Z+ZR 含量明显降低,这说明由根部运输到叶腋处的 GR24 通过抑制细胞分裂素合成基因的表达来降低叶腋内细胞分裂素的含量,从而抑制腋芽的生长。外源 GR24 处理后,不结球白菜叶腋处的 IAA 含量显著降低,这说明外源 GR24 会降低叶腋处 IAA 的含量,可能是外源 GR24 降低了 IAA 从源到库的运输能力。本研究结果与 Xu 等^[13]的研究结果相一致。

SLs 作为一类抑制植物分枝发育的植物激素,可与 IAA 和 CTK 协同调控植物的分蘖/分枝生长^[19],同时,SLs 也可通过调控分蘖/分枝相关基因的表达来调控分蘖/分枝的生长。*BRC1* 作为植物激素与环境信号互作的集成器来调控植物分枝发育^[19],GR24 处理后野生型豌豆腋芽内 *PsBRC1* 的表达量升高^[13],CTK 能够降低 *PsBRC1* 的表达量^[19]。Minakuchi 等^[8]对于水稻的研究结果表明 *FC1* (*BRC1* 在水稻中的同源基因)位于 SLs 下游抑制腋芽的生长。Aguilar-Martínez 等^[25]对拟南芥的研究也同样表明 *BRC1* 位于 MAX 途径的下游。本研究结果表明:不结球白菜叶腋处 *MAX2* 基因的表达量在 GR24 处理后 3 h 较对照明显升高,且处理浓度越高升高越显著;*BRC1* 的表达量在 GR24 处理后 24 h 才明显升高,且浓度越高升高越明显,这一结果说明在不结球白菜中 *BRC1* 基因可能在独脚金内酯途径的下游发挥作用,即 GR24 可能通过直接影响 *BRC1* 基因的表达来抑制腋芽的生长。

Tantikanjana 等^[20]的研究表明,在拟南芥中 *SPS* 负调控腋生分生组织的形成和生长,*sp*s 突变体产生大量的腋芽,细胞分裂素含量升高了 3~9 倍,因而推测 *SPS* 基因通过调控腋芽内细胞分裂素的含量来控制腋芽的生长。本研究表明,GR24 处理后 24 h,叶腋内的 *SPS* 基因的表达量明显比对照升高,且浓度越高升高作用越明显,这说明在不结球白菜中,外源 GR24 可能通过提高叶腋处 *SPS* 基因的表达量来抑制腋芽的生长,但是关于 *SPS* 与其他信号之间的关系,还有待于进一步研究。Schwarz 等^[21]的研究表明 *SPL9* 抑制新叶的形成,*SPL9* 功能缺失突变体分蘖/分枝数明显增加,同时 *SPL9* 受到 miRNA156 的调控。在本研究中,较高浓度的 GR24($4.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理后 3 h,腋芽内的 *SPL9* 的表达量较对照有明显的升高,低浓度的 GR24($1.5\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)处理后 12 h,腋芽内的 *SPL9* 的表达量较对照升高,而高浓度的 GR24 对腋芽内的 GR24 表达量的影响更为明显。这说明,GR24 可以通过促进 *SPL9* 的表达来抑制腋芽的生长,且高浓度的 GR24 的抑制作用更为明显。

综上所述,外源 GR24 能够通过不同的途径抑制不结球白菜腋芽的萌发和伸长;外源 GR24 可能由根部运输到叶腋处直接抑制腋芽的萌发和伸长;同时运输到叶腋处的 GR24 还可能通过抑制细胞分裂素合成基因的表达而降低叶腋处的细胞分裂素含量,从而抑制腋芽的生长;外源 GR24 还能够提高叶腋处 *SPS* 基因和 *SPL9* 基因的表达来抑制腋芽的生长,但是关于 *SPS* 基因和 *SPL9* 基因与其他信号之间的关系,还有待于进一步研究。

参考文献 Reference:

- [1] 冯丹,陈贵林.独脚金内酯调控侧枝发育的研究进展[J].生态学杂志,2011,30(2):349-356.

- Feng D ,Chen G L. Shoot-branching control with strigolactones research progresss [J]. Chinese Journal of Ecology ,2011 ,30(2) : 349–356 (in Chinese with English abstract) .
- [2] 张荣祥 杨清 赵德刚. 新型植物激素——独脚金内酯[J]. 生物学通报 2011 46(5) : 10–13.
Zhang R X ,Yang Q ,Zhao D G. New plant hormone: strigolactones [J]. Bulletin of Biology 2011 46(5) : 10–13(in Chinese with English abstract) .
- [3] Waldie T ,McCulloch H ,Leyser O. Strigolactones and the control of plant development: lessons from shoot branching [J]. The Plant Journal , 2014 ,79(4) : 607–622.
- [4] Arite T ,Umehara M ,Ishikawa S ,et al. *d14* ,a strigolactone-insensitive mutant of rice ,shows an accelerated outgrowth of tillers [J]. Plant and Cell Physiology 2009 ,50(8) : 1416–1424.
- [5] Sorefan K ,Booker J ,Haurogne K ,et al. *MAX4* and *RMS1* are orthologous dioxygenase-like genes that regulate shoot branching in *Arabidopsis* and pea [J]. Genes and Development 2003 ,17(12) : 1469–1474.
- [6] Stirnberg P ,van de Sande K ,Leyser H M O. *MAX1* and *MAX2* control shoot lateral branching in *Arabidopsis* [J]. Development 2002 ,129(5) : 1131–1141.
- [7] Gomez-Roldan V ,Fernas S ,Brewer P B ,et al. Strigolactone inhibition of shoot branching [J]. Nature 2008 ,455(7210) : 189–194.
- [8] Minakuchi K ,Kameoka H ,Yasuno N ,et al. *FINE CULM1* (*FC1*) works downstream of strigolactones to inhibit the outgrowth of axillary buds in rice [J]. Plant and Cell Physiology 2010 ,51(7) : 1127–1135.
- [9] Booker J ,Auldrige M ,Wills S ,et al. *MAX3/CCD7* is a carotenoid cleavage dioxygenase required for the synthesis of a novel plant signaling molecule [J]. Current Biology 2004 ,14(14) : 1232–1238.
- [10] Lin H ,Wang R ,Qian Q ,et al. DWARF27 ,an iron-containing protein required for the biosynthesis of strigolactones ,regulates rice tiller bud outgrowth [J]. The Plant Cell 2009 ,21(5) : 1512–1525.
- [11] Umehara M ,Hanada A ,Yoshida S ,et al. Inhibition of shoot branching by new terpenoid plant hormones [J]. Nature ,2008 ,455(7210) : 195–200.
- [12] 王玫 陈洪伟 刘克锋. 外源 GR24 对一串红生长发育的影响 [J]. 江苏农业科学 2015 43(2) : 164–167.
Wang M ,Chen H W ,Liu K F. Effects of exogenous GR24 on the growth and development of tropical sage [J]. Jiangsu Agricultural Sciences , 2015 43(2) : 164–167(in Chinese with English abstract) .
- [13] Xu J ,Zha M ,Li Y ,et al. The interaction between nitrogen availability and auxin ,cytokinin and strigolactone in the control of shoot branching in rice(*Oryza sativa* L.) [J]. Plant Cell Reports 2015 ,34(9) : 1647–1662.
- [14] 侯喜林 宋小明. 不结球白菜种质资源的研究与利用 [J]. 南京农业大学学报 ,2012 ,35(5) : 35–42. DOI: 10.7685/j.issn.1000–2030.2012.05.005.
Hou X L ,Song X M. Research and utilization of *Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino(non-heading Chinese cabbage) germplasm resources [J]. Journal of Nanjing Agricultural University 2012 ,35(5) : 35–42(in Chinese with English abstract) .
- [15] 曹寿椿 李式军. 白菜地方品种的初步研究 [J]. 南京农学院学报 ,1980(2) : 32–38. DOI: 10.7685/j.issn.1000–2030.1980.02.005.
Cao S C ,Li S J. Preliminary study on local varieties of Chinese cabbage [J]. Journal of Nanjing Agricultural College ,1980(2) : 32–38(in Chinese with English abstract) .
- [16] Kebrom T H ,Spielmeier W ,Finnegan E J. Grasses provide new insights into regulation of shoot branching [J]. Trends in Plant Science 2013 , 18(1) : 41–48.
- [17] Cheng X ,Ruyter-Spira C ,Bouwmeester H. The interaction between strigolactones and other plant hormones in the regulation of plant development [J]. Frontiers in Plant Science 2013 4: 199.
- [18] Germain A D S ,Bonhomme S ,Boyer F D ,et al. Novel insights into strigolactone distribution and signalling [J]. Current Opinion in Plant Biology , 2013 ,16(5) : 583–589.
- [19] 刘拥海 俞乐 丁君辉 等. 植物激素对分枝发育的协同调控作用研究进展 [J]. 植物生理学报 2012 48(10) : 941–948.
Liu Y H ,Yu L ,Ding J H ,et al. Research progress in synergistic regulatory roles of phytohormones in shoot branching [J]. Plant Physiology Journal 2012 48(10) : 941–948(in Chinese with English abstract) .
- [20] Tantikanjana T ,Yong J W H ,Letham D S ,et al. Control of axillary bud initiation and shoot architecture in *Arabidopsis* through the *SUPER-SHOOT* gene [J]. Genes and Development 2001 ,15(12) : 1577–1588.
- [21] Schwarz S ,Grande A V ,Bujdosó N ,et al. The microRNA regulated SBP-box genes *SPL9* and *SPL15* control shoot maturation in *Arabidopsis* [J]. Plant Molecular Biology 2008 67(1/2) : 183–195.
- [22] Luisi A ,Lorenzi R ,Sorce C. Strigolactone may interact with gibberellin to control apical dominance in pea(*Pisum sativum*) [J]. Plant Growth Regulation 2011 65(2) : 415–419.
- [23] 刘旭. 成熟期不同的梨品种果实生长发育机理探究 [D]. 雅安: 四川农业大学 2008: 37–39.
Liu X. Studies on mechanism of fruit growth and development of different ripening-season of pears [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University , 2008: 37–39(in Chinese with English abstract) .
- [24] Durbak A ,Yao H ,McSteen P. Hormone signaling in plant development [J]. Current Opinion in Plant Biology 2012 ,15(1) : 92–96.
- [25] Aguilar-Martínez J A ,Poza-Carrón C ,Cubas P. *Arabidopsis BRANCH1* acts as an integrator of branching signals within axillary buds [J]. The Plant Cell 2007 ,19(2) : 458–472.

责任编辑: 范雪梅