

4 种外源激素处理对羊草种子萌发和幼苗生长的影响

马红媛^{1,2}, 梁正伟^{1,3*}, 黄立华^{1,2}, 闫超^{1,2}, 孔祥军^{1,2}

(1. 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 吉林 长春 130012;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 中国大安碱地生态试验站, 吉林 大安 131317)

摘 要: 研究了 100~600 $\mu\text{g/g}$ 赤霉素(GA_3)和吲哚乙酸(IAA)、25~100 $\mu\text{g/g}$ 6-苄氨基嘌呤(6-BA)和脱落酸(ABA)对羊草种子萌发和幼苗生长的影响。结果表明, 100~300 $\mu\text{g/g}$ GA_3 和 IAA 以及 25 $\mu\text{g/g}$ 6-BA 对羊草种子的萌发最终表现为促进作用, 总体效果为 $\text{GA}_3 > \text{IAA} > 6\text{-BA}$ 。当 GA_3 和 IAA 浓度大于 400 $\mu\text{g/g}$ 或 6-BA 浓度大于 50 $\mu\text{g/g}$ 时对羊草种子的最终发芽率均表现为不同程度的抑制; 25~100 $\mu\text{g/g}$ 的外源激素 ABA 对羊草种子萌发没有抑制作用。 GA_3 处理均能显著促进羊草幼苗的伸长, IAA 和 6-BA 则表现为不同程度的抑制作用; GA_3 、 IAA 和 6-BA 3 种促进激素对羊草的根长和根冠比均表现为抑制作用; 25~100 $\mu\text{g/g}$ ABA 对羊草苗长、根长以及根冠比没有显著影响。

关键词: 激素; 羊草; 休眠; 萌发; 幼苗

中图分类号: Q945.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2008)02-0069-05

激素是植物体内的微量信号分子, 其浓度以及不同组织对激素的敏感性控制了植物的整个发育进程^[1]。而外源激素法已成为阐明种子休眠和萌发的激素调控机理^[2~7]、调节幼苗生长^[8]等方面研究的重要手段, 在多个物种得到广泛应用。如 Duan 等^[2]研究发现, 外源 GA_3 和 6-BA 能够促进 *Echinacea angustifolia* 种子提前萌发, 影响种子的生理和代谢活动; Ehiaganare 和 Onyibe^[3]用 IAA 处理 *Tetracarpidium conophorum* 种子, 使其发芽率达到 90%, 比对照提高了 70%。 ABA 是种子休眠的维持和解除过程中主要的激素^[4,5], 显著抑制 *Nicotian glumbaginifolia*^[6]等种子的萌发。

羊草(*Leymus chinensis*)是禾本科优质牧草, 松嫩平原的优势建群种, 其种子具有休眠期长、发芽率低的特点^[9]。以往认为, 羊草种子休眠程度高、发芽率低的主要原因是稃和胚乳中存在大量抑制激素 ABA , 而促进激素 GA_3 、 IAA 等含量低, 促抑激素的比值小, 属于生理休眠^[10,11]。因此, 人们试图通过外源激素处理羊草种子来提高其发芽率。如易津^[10]用 2 $\mu\text{g/g}$ 6-BA 处理贮存 1 a 的羊草种子的最高发芽率达 48%, 比对照提高了 38%。但王萍等^[12]用 GA_3 和细胞分裂素(CK)混合处理羊草种子的发芽率最高仅有 7%(对照为 1%)。从目前有限

的研究报道上看, 有关激素与羊草种子休眠的关系研究不够深入, 尤其是外源激素对羊草幼苗生长的影响研究更少。为此, 本文利用不同浓度的外源激素 GA_3 、 IAA 、6-BA 和 ABA 处理羊草种子, 系统地研究了羊草种子萌发及幼苗生长对外源激素的响应, 旨在为阐明羊草种子休眠发芽机理与激素调控的关系提供参考数据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试羊草种子于 2004 年 7 月末采自吉林省大安市碱地生态试验站内($\text{N}45^\circ 36'$, $\text{E}123^\circ 53'$)^[13]。种子在室温下晾干后装入透气布袋中, 放在 4°C 冰箱内保存、备用。实验前先用 0.1% HgCl_2 溶液对种子进行表面杀菌 10 min, 再用蒸馏水冲洗若干次。

1.2 实验方法

将 GA_3 和 IAA 用少量的乙醇分别溶解后, 用蒸馏水配成浓度 0(对照)、100、200、300、400、500 和 600 $\mu\text{g/g}$ 的溶液。将消毒的种子放在铺有单层滤纸的 9 cm 玻璃培养皿内, 每种处理 3 次重复, 每个重复 50 粒饱满的羊草种子。发芽实验采用滤纸培养皿发芽法, 每个培养皿内加入 10 ml 上述溶液(对照为蒸馏水)。发芽温度 $16/28^\circ\text{C}$, 12/12 h 黑暗和

收稿日期: 2007-07-08

基金项目: 国家科技部 973 项目(2007CB106800); 吉林省与中国科学院科技合作项目(2005SYHZ0007)

作者简介: 马红媛(1979-), 女, 回族, 山东德州人, 在读博士生, 主要从事种子生物学与植物逆境生理生态研究。

* 通讯作者: 梁正伟(1962-), 男, 研究员, 博士生导师。

光照,光照强度为 $54\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,实验时间为 27 d。将 6-BA 和 ABA 分别用少量的 1 mol/L 的 HCl 和无水乙醇溶解后,用蒸馏水配成浓度为 0、25、50、75 和 $100\ \mu\text{g}/\text{g}$ 的溶液,各取 25 ml 分别放入不同的三角瓶内,然后将羊草种子(约 0.5 g)放入三角瓶中,使种子完全浸入溶液内部,置于 4°C 冰箱内浸泡处理 24 h 后取出后用蒸馏水洗净,每个培养皿内均加入 10 ml 蒸馏水,其它萌发条件与上述相同,进行发芽实验。每天记录种子发芽率,在实验结束时测量幼苗的根长、苗长,并计算根/冠比(根长/苗长)。

1.3 统计分析

利用 SPSS10.0 软件进行数据统计,并将发芽率转化成反正弦的形式后进行 ANOVA 分析。采用 Duncan 方法多重比较,最小显著差法(LSD)在 0.05 或 0.01 概率水平上确定各平均值之间的差异显著性。利用 Origin7.5 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 GA₃ 对羊草种子萌发与幼苗生长的影响

从图 1 可以看出,萌发初期(3~10 d)GA₃ 对羊草种子萌发没有表现出促进作用;12~27 d 表现为低浓度促进高浓度抑制;100~300 $\mu\text{g}/\text{g}$ GA₃ 处理的羊草种子发芽率均高于对照,以 300 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时发芽率最高,为 83.4%,比对照高 18.8%。当 GA₃ 浓度超过 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时,羊草种子发芽率受到明显抑制,600 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时仅为 20.0%。此外,GA₃ 显著促进了幼

苗的伸长、抑制了根长和根冠比(图 2)。其中,100 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和 200 $\mu\text{g}/\text{g}$ GA₃ 促进作用最明显,苗长分别为 16.4 cm 和 14.6 cm,是对照的 2.2 倍和 1.9 倍。当浓度超过 300 $\mu\text{g}/\text{g}$ 时,苗长仍显著高于对照($P<0.05$)。在 0~600 $\mu\text{g}/\text{g}$ 浓度范围内,GA₃ 浓度与根长呈极显著的负相关($r=-0.917$, $P<0.001$)。100 $\mu\text{g}/\text{g}$ GA₃ 处理的根长为 4.3 cm,比对照缩短了约 40%。600 $\mu\text{g}/\text{g}$ 处理完全抑制了幼根的生长(0 cm)。由于 GA₃ 抑制了幼根的生长,促进了幼苗的生长,因此,随着浓度的增加,根/冠比减小,两者呈极显著负相关($r=-0.788$, $P<0.001$)。

2.2 IAA 对羊草种子萌发与幼苗生长的影响

从图 3 可以看出,萌发初期(3~16 d)IAA 对羊草种子萌发均表现为抑制作用;18~27 d 表现为低浓度略有促进,高浓度则显著抑制。100~300 $\mu\text{g}/\text{g}$ IAA 处理的羊草种子最终发芽率均高于对照 10% 左右,超过 400 $\mu\text{g}/\text{g}$ 处理的发芽率均受到显著抑制,500 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和 600 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的发芽率仅为 29.7%和 6.3%,比对照分别降低了 37.6%和 61.0%。IAA 对羊草种子播种后的初始萌发时间影响很大,对照为 3 d,100~300 $\mu\text{g}/\text{g}$ IAA 处理的种子均为 5 d;400、500 和 600 $\mu\text{g}/\text{g}$ 的分别为 12、14 和 21 d。从图 4 可以看出,IAA 浓度越高,对幼苗生长的抑制作用越大。相关分析表明,IAA 的浓度与根长、苗长和根/冠的相关系数分别为 -0.948, -0.817 和 -0.951,均表现为极显著负相关($P<0.001$)。

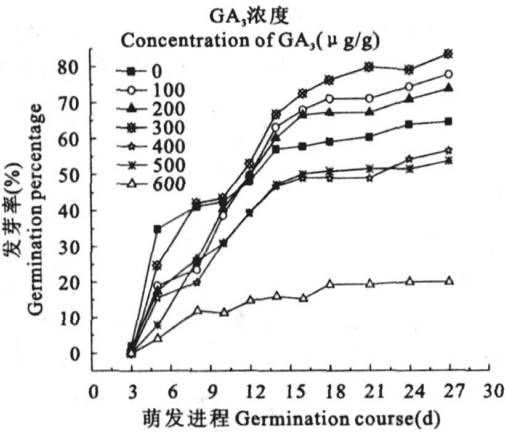


图 1 不同浓度 GA₃ 处理的羊草种子萌发进程
Fig.1 Germination course of *L. chinensis* seeds treated with different concentrations of GA₃

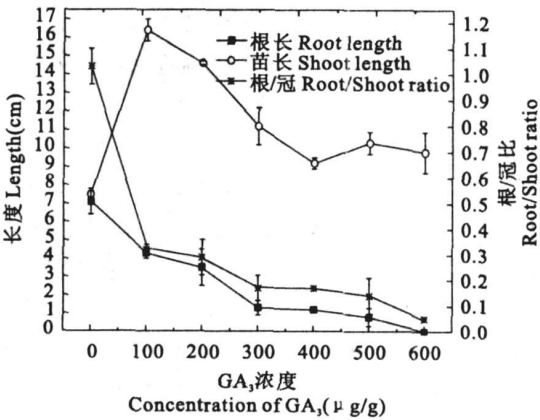


图 2 不同浓度 GA₃ 对羊草幼苗生长的影响
Fig.2 Effects of different concentrations of GA₃ on seedling growth of *L. chinensis*

2.3 6-BA 对羊草种子萌发和幼苗生长的影响

从图 5 可以看出,萌发初期(4~12 d)6-BA 对羊草种子萌发均表现为抑制作用,14~24 d 表现为

低浓度促进高浓度抑制。如 25 $\mu\text{g}/\text{g}$ 6-BA 时,发芽率为 58.0%,比对照高 5.7%;50 $\mu\text{g}/\text{g}$ 和 75 $\mu\text{g}/\text{g}$ 虽然发芽率低于对照,但没有达到显著差异。此外,

6-BA 显著抑制了羊草幼苗的伸长(图 6)。100 $\mu\text{g/g}$ 的苗长最短,比对照降低了 31.7%。与苗长相比,6-BA 对根长的抑制作用更为明显,根长最低

只有 0.6 cm,是对照(5.6 cm)的 10.7%,且与根/冠比之间呈极显著的负相关($r = -0.795$, $P < 0.001$)。

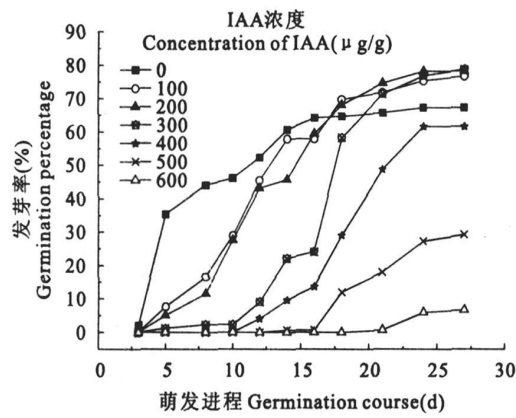


图 3 不同浓度 IAA 处理的羊草种子萌发进程
Fig.3 Germination course of *L. chinensis* seeds treated with different concentrations of IAA

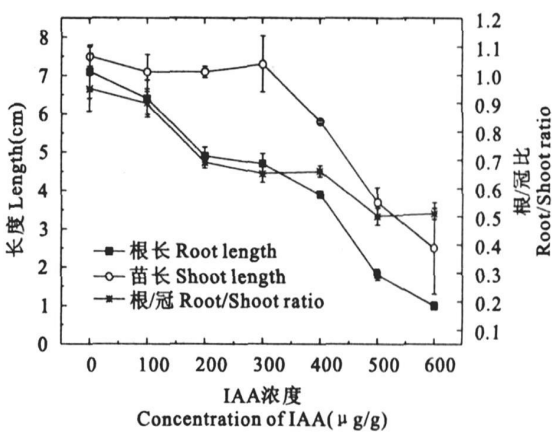


图 4 不同浓度 IAA 对羊草幼苗生长的影响
Fig.4 Effects of different concentrations of IAA on seedling growth of *L. chinensis*

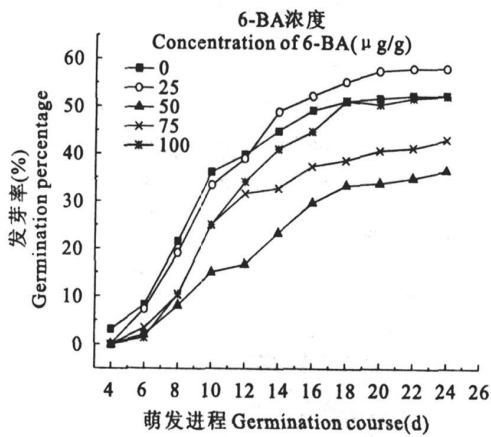


图 5 不同浓度 6-BA 处理的羊草种子萌发进程
Fig.5 Germination course of *L. chinensis* seeds treated with different concentrations of 6-BA

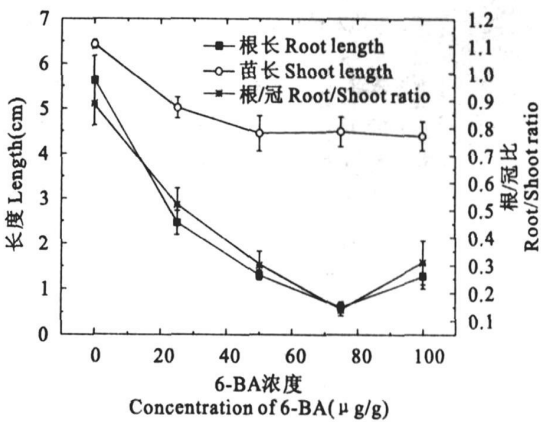


图 6 不同浓度 6-BA 对羊草幼苗生长的影响
Fig.6 Effects of different concentrations of 6-BA on seedling growth of *L. chinensis*

2.4 ABA 处理对羊草种子萌发和幼苗生长的影响
从图 7 可以看出,25~100 $\mu\text{g/g}$ ABA 处理的羊草种子发芽率均高于对照,但所有的处理之间均不存在显著性差异。经过 ANOVA 分析得知,不同浓度 ABA 处理之间的苗长、根长以及根/冠比均不存在显著的影响($P > 0.05$)。以上结果表明,25~100 $\mu\text{g/g}$ 的外源 ABA 对羊草种子萌发和幼苗生长均不存在显著影响。

3 讨论

本文研究表明,生长促进激素 GA_3 、IAA 和 6-BA 对羊草种子最终发芽率的影响均表现为低浓度

促进,高浓度抑制的趋势。100~300 $\mu\text{g/g}$ 的 GA_3 或 IAA 和 25 $\mu\text{g/g}$ 6-BA 均对羊草种子的最终发芽率表现为促进作用,而当 GA_3 和 IAA 浓度大于 400 $\mu\text{g/g}$ 或 6-BA 浓度大于 50 $\mu\text{g/g}$ 时对羊草种子的最终发芽率均表现为不同程度的抑制。外源激素对种子休眠与萌发的影响因物种的不同而存在很大的差异(表 1), GA_3 等促进激素能够显著提高某些物种种子的发芽率,如紫雏菊^[2],而 GA_{4+7} 则抑制了咖啡种子的萌发^[14]。而对羊草而言,易津^[10]报道,100 $\mu\text{g/g}$ GA_3 和 2 $\mu\text{g/g}$ 6-BA 使羊草发芽率比对照(10%)提高了 38%~40%。而本研究中,300 $\mu\text{g/g}$ GA_3 和 25 $\mu\text{g/g}$ 6-BA 条件下羊草种子发

芽率最高,为 83.4%和 58.0%。产生这种差异的原因可能是由于供试种子本身休眠程度、基因型以及发芽温度条件不同引起。据报道,羊草种子内源激素 GA₃、IAA 和 ABA 的含量分别为 14.1、6.3 和 7.8 μg/g^[11]。因此,本研究试图通过研究羊草种子发芽率对外源 ABA 的响应来进一步验证内源 ABA 是导致羊草种子休眠的主要原因这一结论,但却没有观察到由于外源 ABA(25~100 μg/g)的过剩投入抑制

羊草种子萌发的预期结果发生,说明羊草种子深度休眠的原因是 ABA 的结论目前仍然缺乏足够的实验证据,其它原因,如从羊草种子稃的机械抑制^[15,16]、外界环境因素等引起的强迫性休眠^[17]等方面有待进一步深入探讨。因此,建议今后对羊草休眠机理的探讨不能只局限于对激素的研究,应从多种因素方面综合加以考察研究,从而全面清晰地阐明羊草的休眠和发芽的内在生理机制。

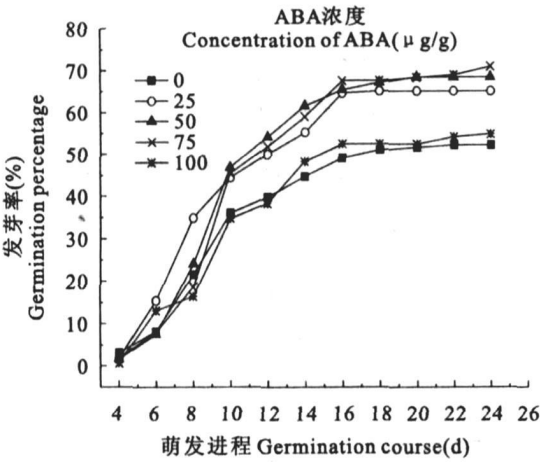


图 7 不同浓度 ABA 处理的羊草种子萌发进程
Fig.7 Germination course of *L. chinensis* seeds treated with different concentrations of ABA

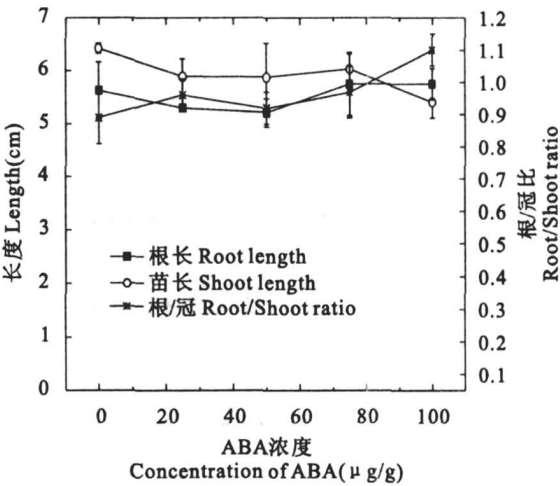


图 8 不同浓度 ABA 对羊草幼苗生长的影响
Fig.8 Effects of different concentrations of ABA on seedling growth of *L. chinensis*

表 1 外源激素对不同物种种子萌发的影响比较

Table 1 Comparison of exogenous hormones effects on seed germination of different species

物种名称 Species	外源激素 Exogenous hormones	激素浓度(μg/g) Hormone concentration	发芽率比较 Germination comparison	参考文献 Reference
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	GA ₃ 6-BA	2~500 2~500	所有浓度 GA ₃ 发芽率均高于对照 (10%), 100 μg/g 最高 (50%); 2 μg/g 6-BA 发芽率 (48%) 显著高于对照 (10%), 而其他处理无显著影响	[10]
咖啡 <i>Coffea Arabica</i> cv. Rubi	GA ₄₊₇	1~1 000 μM	1~10 μM 发芽率比对照降低 35%; 100~1000 μM 比对照降低 65%	[14]
紫锥菊 <i>Echinacea angustifolia</i>	GA ₃ 6-BA	0.1~0.5 0.1~0.5	所有浓度 GA ₃ 和 BA 均显著提高了种子的发芽率, 且以 0.3 μg/g 最佳, 发芽率分别比对照高 68% 和 64%	[2]
香椿 <i>Toona sinensis</i>	GA ₃ 6-BA IAA	100~2000 25~100 10~200	GA ₃ 表现为低浓度促进高浓度抑制, 1500 μg/g 时发芽率最高为 80%; 6-BA 和 IAA 均表现为促进, 发芽率最高的浓度分别为 50 和 100 μg/g	[15]
羊草 <i>Leymus chinensis</i>	GA ₃ IAA 6-BA ABA	100~600 100~600 25~100 25~100	100~300 μg/g 的 GA ₃ 和 IAA 促进发芽, >400 μg/g 时抑制; 仅有 25 μg/g 的 6-BA 促进种子萌发, 其他浓度均抑制; 25~100 μg/g ABA 发芽率均高于对照	此文 This paper

4 结 论

1) 100~300 μg/g GA₃ 和 IAA 以及 25 μg/g 6-BA对羊草种子的最终发芽率表现为促进作用, 总体效果 GA₃>IAA>6-BA。当 GA₃ 和 IAA 浓度

大于 400 μg/g 或 6-BA 浓度大于 50 μg/g 时对羊草种子的最终发芽率均表现为不同程度的抑制; 25~100 μg/g 的外源激素 ABA 对羊草种子萌发没有抑制作用。

2) GA₃ 处理均能显著促进羊草幼苗的伸长,

IAA 和 6-BA 则表现为不同程度的抑制作用; GA₃、IAA 和 6-BA 三种促进激素对羊草的根长和根冠比均表现为抑制; 25~100 $\mu\text{g/g}$ ABA 对羊草苗长、根长以及根冠比没有显著影响。

参考文献:

- [1] 布坎南 B B, 格鲁依森姆 W, 琼斯 R L. 植物生物化学与分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2003. 690.
- [2] Duan C R, Wang B C, Liu W Q, et al. Effect of chemical and physical factors to improve the germination rate of *Echinacea Angustifolia* seeds[J]. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2004, 37, 101—105.
- [3] Ehiaganare J E, Onyibe H I. Effect of pre-sowing treatments on seed germination and seedling growth of *Tetracarpidium conophorum* Mull[J]. African Journal of Biotechnology, 2007, 6, 697—698.
- [4] Le Page-Degivry M T, Bianco J, Barthe P, et al. Change in hormone sensitivity in relation to onset and breaking of sunflower embryo dormancy [A]. Lang G A. Plant dormancy: physiology, biochemistry and molecular biology [C]. Oxford: CBA International, 1996. 221—231.
- [5] Kermode A R. Role of abscisic acid in seed dormancy[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2005, 24, 319—344.
- [6] Grappin P, Bouinot D, Sotta B, et al. Control of seed dormancy in *Nicotiana glauca*: post-imbibition abscisic acid synthesis imposes[J]. Planta, 2000, 210, 279—285.
- [7] Chono M, Honda I, Shinoda S, et al. Field studies on the regulation of abscisic acid content and germinability during grain development of barley: molecular and chemical analysis of pre-harvest sprouting[J]. Journal of Experimental Botany, 2006, 57 (10): 2421—2434.
- [8] Shani E, Yanai O, Ori N. The role of hormones in shoot apical meristem function[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2006, 9, 484—489.
- [9] 马红媛, 梁正伟, 陈 渊. 提高羊草种子发芽率方法研究进展[J]. 中国草地, 2005, 27, 64—68.
- [10] 易 津. 羊草种子的休眠生理及提高发芽率的研究[J]. 中国草地, 1994, (6), 1—6.
- [11] 易 津, 李青丰, 田瑞华. 赖草属牧草种子休眠与植物激素调控[J]. 草地学报, 1997, 5(2), 93—100.
- [12] 王 萍, 周 天, 刘建国, 等. 提高羊草种子发芽能力的研究[J]. 东北师大学报(自然科学版), 1998, (1), 54—57.
- [13] 邓 伟, 裴善文, 梁正伟. 中国大碱地生态试验站区域生态环境背景[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [14] Silva E A A, Toorop P E, Nijssse J, et al. Exogenous gibberellins inhibit coffee (*Coffea Arabica* cv. Rubi) seed germination and cause cell death in the embryo[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(413), 1029—1038.
- [15] 康 冰, 陈彦生, 张小红. GA₃、6-BA 及 IAA 对香椿种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 植物生理学通讯, 2001, 34(5), 399—400.
- [16] Ma H Y, Liang Z W, Wang Z C, et al. Lemmas and endosperms significantly inhibited germination of *Leymus chinensis* (Trin.) Tzvel. (Poaceae) [J]. Journal of Arid Environments, 2008, 72(4), 573—578.
- [17] 马红媛, 梁正伟. 不同贮藏条件和发芽方法对羊草种子萌发的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(5), 997—1002.

Effects of four kinds of exogenous hormones on the germination and seedling growth of *Leymus chinensis*

MA Hong-yuan^{1,2}, LIANG Zheng-wei^{1,3*}, HUANG Li-hua^{1,2}, YAN Chao^{1,2}, KONG Xiang-jun^{1,2}

(1. Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun,

Jilin 130012, China; 2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China;

3. Da'an Sodic Land Experiment Station of China, Da'an, Jilin 131317, China)

Abstract: The effects of Gibberellic Acid (GA₃) and 3-Indoleacetic acid (IAA) with the concentrations of 100~600 $\mu\text{g/g}$, 6-Benzyl Aminopurine (6-BA) and Absciscic Acid (ABA) with the concentrations of 25~100 $\mu\text{g/g}$ on the germination and seedling growth of *Leymus chinensis* were investigated in this paper. The results showed that 100~300 $\mu\text{g/g}$ GA₃ and IAA, 25 $\mu\text{g/g}$ 6-BA promoted the germination and the effects were in the order of GA₃>IAA>6-BA. However, when the concentrations of GA₃ and IAA were higher than 400 $\mu\text{g/g}$ or the 6-BA higher than 50 $\mu\text{g/g}$, the final germination percentages would be limited. ABA with the concentration of 25~100 $\mu\text{g/g}$ showed no inhibitory effect on the final germination of *L. chinensis* seeds. The shoot length was promoted only by GA₃ while limited by IAA and 6-BA but the root length and root/shoot ratios were all limited by the three kinds of hormones. All of the ABA treatments in this paper showed no significant effects on the lengths of shoot and root, the root/shoot ratios.

Key words: hormone; *Leymus chinensis*; dormancy; germination; seedling