

## 几种外源激素对杉木种子萌发的影响

高智慧 史忠礼

(浙江省林业科学研究所, 杭州 310023)

朱治平 潘政 沈瑞娟

(中国科学院上海植物生理研究所, 上海 200032)

### 摘要

应用 GA、6-BA 和 ABA 等三种外源激素对杉木种子萌发的影响进行了研究。结果表明, GA 较明显促进杉木种子的萌发, 而 6-BA 和 ABA 则显著地抑制了杉木种子的萌发。当三种激素共同存在时, 它们在杉木种子萌发中的相互作用表现为: GA 起促进作用(最适浓度为 50-100 ppm), ABA 起抑制作用, 6-BA (浓度不超过 50 ppm) 则有解除 ABA 的抑制作用。

关键词: 杉木; 外源激素; 种子萌发; 正交设计

植物激素与种子休眠和萌发的关系在理论及生产实践上都是一个很重要的问题。关于激素影响林木种子休眠与萌发的研究, 国内外已进行了许多工作<sup>[5-23]</sup>, 但对杉木种子萌发的影响仅限于赤霉素的效应, 而未见其它激素的相互效应的报道, 从而不能全面深入了解激素对杉木种子萌发的影响, 以及在萌发过程中激素之间的相互作用。为此, 我们对赤霉素(GA)、6-苄基腺嘌呤(6-BA)和脱落酸(ABA)等三种外源激素与杉木种子萌发的关系进行了初步研究。

### 材料与方 法

试验用杉木 [*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.] 种子为当年采集的新鲜种子, 其中有胚种子(即除去涩籽的种子)千粒重为 7.4 g。

所用 GA、6-BA、ABA 的浓度均为 50、100、200 ppm。激素处理分三种进行: 1. GA、6-BA、ABA 分别处理杉木种子; 2. GA+6-BA、GA+ABA 分别处理杉木种子; 3. 采用三因子(GA、6-BA、ABA)、三水平(50、100、200 ppm) L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) 正交设计处理杉木种子。种子分别于上述溶液中浸泡 24 h, 蒸馏水漂洗去残液后, 播(100 粒)于直径为 9 cm 培养皿中(内放滤纸)在 25℃光温培养箱中进行常规发芽试验。种子发芽率、发芽指数及活力指数的测定方法同前文<sup>[1]</sup>。蒸馏水浸种为对照, 每处理重复 2-3 次。

种子内源激素测定方法如下<sup>[2,3]</sup>: 将剥去种皮的 50 个种仁, 用 80% 甲醇提取三次, 低温下保存, 备用。用 HPLC 测定各类激素含量。定性分析采用保留时间法, 定量分析为外标法。

色谱条件如下：仪器为日本岛津 LC-4A 型高效液相色谱仪，Zorbax OQs 柱，流动相为  $\text{CH}_3\text{OH}$ ： $\text{CH}_3\text{CN}$ ： $\text{H}_2\text{O}$  (2:2:6)，柱温  $40^\circ\text{C}$ ，检测波长 245 nm。用 CR-ZHx 色谱数据处理机计算并打印结果。

## 试验结果

### 一、GA、6-BA、ABA 对杉木种子萌发的影响

不同激素处理的杉木种子萌发状况有明显的差异 (图 1、表 1)。由图 1 可知，GA 对杉木种子的萌发有促进作用，发芽率均比对照有较明显提高；其中以 50 ppm 浓度处理的效果最好，发芽率比对照提高 11%，以后随着 GA 浓度的增加，发芽率则有所下降。应用 6-BA、ABA 处理的杉木种子，其发芽率均下降，并随激素浓度的增加而迅速降低，而又以 ABA 处理的下降幅度为甚，说明 6-BA、ABA 均对杉木种子萌发有较明显的抑制作用。

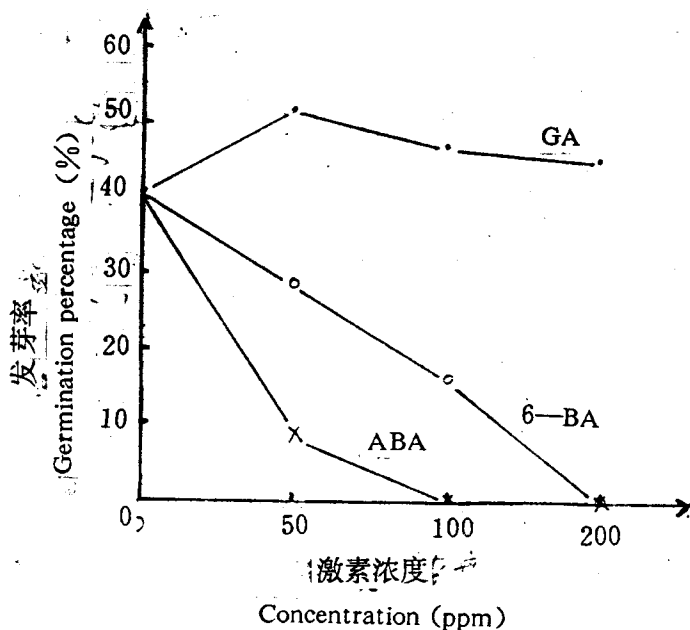


图 1 三种外源激素对杉木种子萌发的影响

Fig. 1 The effects of three exogenous hormones on germination of Chinese fir seed

表 1 表明，GA 不仅提高了杉木种子的发芽率，还明显提高其发芽指数及活力指数，经 GA 处理的杉木种子发芽指数、活力指数分别比对照提高 19% 和 11% 以上，如经 50 ppm 处理的种子发芽指数、活力指数就分别比对照提高 25.0% 和 26.7%；而 6-BA、ABA 则显著地降低了杉木种子的发芽速度及幼苗生长情况，甚至抑制了杉木种子的萌发。

### 二、6-BA、ABA 分别与 GA 交互配合对杉木种子萌发的影响

用 GA+6-BA 及 GA+ABA 的混合液处理杉木种子，对萌发均没有促进作用 (表 2)。从

表2还可看出, 与6-BA或ABA单独处理相比, GA+6-BA及GA+ABA的交互配合, 可减轻6-BA或ABA对杉木种子萌发时的抑制作用。

表1 不同激素处理杉木种子的萌发指标\*

Table 1 The germination index of Chinese fir seed in different hormone treatments

处 理 Treatment (ppm)	发 芽 率 Germination percentage (%)	发 芽 指 数 Germination index	幼 苗 鲜 重 Fresh weight (mg/seedling)	活 力 指 数 Vigour index
GA 50	52	12.34	47.18	582.20
GA 100	47	11.77	45.52	535.77
GA 200	45	11.94	42.95	512.82
6-BA 50	29	8.82	41.56	366.56
6-BA 100	16	6.73	39.01	262.54
ABA 50	9	3.70	35.98	133.13
对 照 Control	41	9.87	46.57	459.65

\* 6-BA 200 ppm、ABA 100 ppm 和 200 ppm 处理的杉木种子均不发芽

The Chinese fir seed treated respectively with 6-BA 200 ppm, ABA 100 ppm and 200 ppm can not be germinated.

表2 GA+6-BA与GA+ABA对杉木种子萌发的影响(%)

Table 2 The effects of GA+6-BA and GA+ABA on germination percentage of Chinese fir seed (%)

处 理 Treatment (ppm)	GA (ppm)			
	0	50	100	200
0	41	52	47	45
6-GA	50	29	32	31
	100	16	39	29
	200	0	7	20
	50	9	26	24
ABA	100	0	10	5
	200	0	0	0

运用正交多项式方差分析结果表明, GA与6-BA、GA与ABA各浓度间及各交互配合均差异显著, 在GA+6-BA的处理中, 对于因素GA, 则2次项显著 [ $F=10.68 > F_{0.05}(1, 5) = 6.61$ ], 对于因素6-BA, 则1次项极显著, [ $F=36.50 > F_{0.01}(1, 5) = 16.30$ ], 对于GA和6-BA的交互作用, 则差异显著 [ $F=6.7^*$  (\*表示差异显著、\*\*表示极显著, 下同)], 同样在GA+ABA处理中, GA的2次项显著 [ $F=15.77^*$ ], ABA的1次和2次项均显著 [ $F_1=130.99^{**}$ ,  $F_2=15.72^*$ ], 对于GA和ABA的交互作用, 则差异亦显著 [ $F=8.17^*$ ], 说明各处理对杉木种子萌发均有一定影响。由于GA+ABA的处理大部分抑制了杉木种子的萌发, 故我们仅对GA+6-BA的处理效应进行如下的正交多项式回归分析。

发芽率随GA和6-BA浓度变化的响应曲线, 一般用直线(1次项)或者抛物线(2次项)表示就相当满意了。因此, 我们用 $X_1$ 表示GA的正交多项式的1次项, 用 $X_2$ 表示2次项, 用 $Y_1$ 表示6-BA的1次项, 运用正交多项式回归分析, 由计算机运算得出GA与6-BA的交互配

合处理对杉木种子发芽率 (Z) 的影响可用下式来描写:

$$Z = 28.000 + 0.675X_1 - 4.125X_2 - 5.650Y_1 + 0.345X_1Y_1$$

### 三、GA、6-BA、ABA 对杉木种子萌发的综合影响

本试验采用三因子三水平的正交试验设计, 根据正交表  $L_9(3^3)$ , 共有 9 个处理, 结果见表 3。由表 3 极差栏中可以看出, GA 对杉木种子发芽率的影响最大, 6-BA 次之, ABA 则由于 GA 和 6-BA 的作用而抵消了对种子萌发的抑制作用。种子发芽指数及活力指数等指标的变异情况也与之相似。其中以 4 号和 1 号处理为最好, 它们的发芽指数分别为对照的 1.96 和 1.91 倍; 它们的活力指数分别为对照的 1.90 和 1.82 倍。表 3 还说明, 当这三种激素共同处理种子时, 对杉木种子萌发而言, GA 处理以 100 ppm 为好, 6-BA 处理以 50 ppm 为好。

表 3  $L_9(3^3)$  正交试验的安排及效果分析

Table 3 Plan and effect analysis of  $L_9(3^3)$  orthogonality treatment

处 理 号 Treatment No	组 合* Combination			发 芽 率 Germination percentage (%)	发 芽 指 数 Germination index	幼 苗 鲜 重 (mg/株) Fresh weight (mg/seedling)	活 力 指 数 Vigour index
	GA	6-BA	ABA				
1	1	1	1	48	18.86	44.27	834.93
2	1	2	2	44	12.16	43.15	524.70
3	1	3	3	41	10.45	40.20	420.09
4	2	1	3	53	19.35	45.24	875.39
5	2	2	1	49	15.30	44.83	685.90
6	2	3	2	34	10.96	41.12	450.68
7	3	1	2	31	11.74	40.93	480.52
8	3	2	3	28	10.36	40.13	415.75
9	3	3	1	21	5.26	39.64	208.58
极差 (R) Range	56	36	11				
对照 Control				41	9.87	46.57	459.65

\* 组合中的 1、2、3 分别表示 50、100、200 ppm

1, 2, 3 of Combination represent concentration at 50, 100, 200 ppm respectively

在  $L_9$  这样的小规模试验中, 因误差的自由度小, 故任何因素一般都难以显著, 但在本次试验中, GA 差异显著, 6-BA 也达到 10% 显著水平 (见表 4)。对于因素 GA, 应用正交多项式分析, 则 1 次项显著 [ $F = 21.72 > F_{0.05}(1, 2) = 18.5$ ], 2 次项较显著 [ $F = 8.97 > F_{0.1}(1, 2) = 8$ ]。取 GA 的三个水平为  $t = -1, 0, 1$ , (即  $50 \text{ ppm} = 2^{-1} \times 100$ ,  $100 \text{ ppm} = 2^0 \times 100$ ,  $200 \text{ ppm} = 2^1 \times 100$ ), 则可得 (见表 5):

$$X = 45.33 - 8.83t - 9.84t^2$$

式中: X 为发芽率。

另外, 对  $t$  取微分令其等于零 ( $dx/dt = 0$ ),  $t = -0.45$  时,  $X_{\max} = 47.31$ , 即  $t = -0.45$  时, 可以得到最高的发芽率 (47.31%)。因为 GA 的三水平是取为等间隔的, 因此,  $t = -0.45$  时就相当 GA 的水平为  $100 - 0.45 \times 50 = 77.5 \text{ ppm}$ , 也就是说, 当用 GA、6-BA、ABA 共同处理杉木

种子时，GA 推理的浓度以 77.5 ppm 为好，但这有待实验证实。

表 4  $L_9(3^4)$  正交试验的方差分析

Table 4 The square deviation analysis of  $L_9(3^4)$  orthogonality treatment

来源 Source	平方和 Square sum	自由度 Free degree	均方 Equal square	F
GA	661.56	2	330.78	30.69*
6-BA	226.89	2	113.45	10.52 <sup>⊙</sup>
ABA	29.56	2	14.78	1.37
误差 Error	21.55	2	10.78	
总 Sum	939.56	8		

\*  $F_{0.05}(2,2) = 19$ ,  $F_{0.1}(2,2) = 9.0$

表 5 GA 三水平上的平均发芽率

Table 5 The average germination percentage at 3 concentration levels of GA

水平 GA (ppm)	50	100	200
t	-1	0	1
平均 (X, %) Average	44.32	45.33	26.66

#### 四、杉木种子内源激素种类与含量

表 6 杉木种子内源激素种类与含量

Table 6 The kind and content of endogenous hormones of Chinese fir seed

单位 Unit	GA	IAA	ABA
$\mu\text{g}/\text{seed}$	0.086	0.025	0.04
$\mu\text{g}/\text{g. DW}$	19.77	5.75	9.66

由表 6 可知，杉木种子含有 GA、IAA (吲哚乙酸) 和 ABA 三种内源激素，其中内源 GA 含量每克干重种子达 19.77 $\mu\text{g}$ ，由于 GA 含量较高，故其种子较易萌发。但还有一部分种子未能萌发，降低了种子的发芽率，给生产上带来了一定的损失，这是否与种子中存在一定量的 ABA 有关，尚需进行深入研究。

## 讨 论

实验结果表明 GA 对杉木种子的萌发有较明显的促进作用，这与赤霉素对漆树<sup>[10]</sup>、黄连<sup>[11]</sup>、法国沙苇<sup>[12]</sup>、日本落叶松<sup>[13]</sup>、团花<sup>[14]</sup>、木荷<sup>[15]</sup>、水浮莲<sup>[16]</sup>、光皮桦<sup>[17]</sup>、火炬松<sup>[18]</sup>、玉兰<sup>[19]</sup>、刺楸<sup>[20]</sup>、乌桕<sup>[21]</sup>等种子打破休眠、促进萌发有一定作用的结果相似。研究还表明，外源 GA 处理种子并不是浓度越高越好，这与在某些情况下 GA 也会抑制种子萌发<sup>[5,6]</sup>的结果相似。实验结果表明 GA 处理杉木种子最适浓度为 50 ppm；GA 等三种激素混用时，GA 的最适浓度为 100 ppm，但由正交多项式回归分析方法计算得到，GA 促进杉木种子萌发的理论浓度

为 77.5 ppm, 与实验结果 100 ppm 的浓度有点差距, 这还有待今后实验证实。关于 GA 促进杉木种子萌发的机理, 已有一些研究, 如欧洲榛种子胚轴在 GA 溶液中吸胀 2—3d 后, 和对照组相比 RNA 的总含量有所增加<sup>(8)</sup>; 我们的研究<sup>(7)</sup>表明, 经 50—100 ppm GA 处理的杉木种子, 在萌发后胚根伸出 1—4 d 内, 其蛋白质、总核酸、DNA、RNA 的含量都比对照组增加; 这些结果似可说明, GA 不仅对种子萌发早期有生理作用, 对萌发后胚根生长亦有作用, 因为蛋白质的合成是种子萌发及胚根生长的前提条件<sup>(9)</sup>。但 GA 促进杉木种子萌发的机理, 仍是当前种子萌发生理研究的重要课题, 有些问题仍需继续深入的研究。激动素可促进某些种子的萌发, 但这些种子往往是需光性种子, 或萌发时与温度等有关<sup>(8)</sup>。6-BA 对杉木种子萌发没有一定的促进作用, 我们认为可能与以下两种情况有关: 一是杉木种子是非常需光性种子, 且萌发时对温度的要求也不严<sup>(1)</sup>; 二是所采用的 6-BA 浓度可能过大, 因为激动素一般的应用浓度在 10 ppm 以下, 偏高的浓度有明显的反效果<sup>(9)</sup>。但 6-BA 何以对杉木种子的萌发没有促进作用的机理, 尚需进一步研究。GA+6-BA 处理杉木种子萌发的表现不如单独使用 GA 好, 这与李近雨利用激素处理漆树种子的结果相类似<sup>(10)</sup>。

ABA 是最常见的重要发芽抑制物。50 ppm 的 ABA 可使杉木种子发芽率减少 61%, 至 100 ppm 时已完全抑制了种子的萌发, 这与 ABA 引起抑制效应的浓度在 5—100 ppm 范围内的结论<sup>(6)</sup>是一致的。目前有些报导认为, 使用 ABA 可抑制核酸和蛋白质的合成<sup>(6)</sup>, ABA 对杉木种子萌发的抑制机理尚有待研究。我们的研究还表明, GA+ABA 可减轻 ABA 对杉木种子萌发的抑制作用。

从三因子 (GA、6-BA、ABA) 三水平 (50、100、200 ppm)  $L_9(3^4)$  的正交设计试验结果看, GA 对杉木种子萌发的影响最大, 说明 GA 在调节种子萌发中起着主要的促进作用。当 GA、6-BA、ABA 混用处理杉木种子时, 不管 ABA 浓度大小如何, ABA 所起的抑制种子萌发的作用均不显著, 而只用 GA+ABA 处理杉木种子时, 种子萌发仍受到一定的抑制。从这一点似可认为, 6-BA 在 GA、6-BA、ABA 混用处理杉木种子过程中起着解除 ABA 对种子萌发的抑制作用。需要指出的是, 对杉木种子来说, 6-BA 的浓度只有在 50 ppm 时才起着“解抑作用”, 当超过这一浓度后, “解抑作用”逐渐减小, 并逐渐表现出对杉木种子萌发的抑制作用。

## 参 考 文 献

- 1 高智慧, 史忠礼, 洪昌端等. 杉木种子生理特性和地理变异. 植物生理学通讯, 1991; 27 (1): 36—38
- 2 丁静, 沈镇德, 方亦雄等. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定. 植物生理学通讯, 1979; 15 (2): 27—39
- 3 邵大森, 满纪生. 高效液相色谱仪简介. 植物生理学通讯, 1982; 18 (6): 41—43
- 4 奥野忠一, 芳贺敏郎. 牛长山, 张永照译. 试验设计方法. 机械工业出版社, 1985; 130—141, 234—239
- 5 赵海珍. 激素以水曲柳种子休眠萌发的影响. 东北林学院学报, 1983; 11 (2): 7—12
- 6 傅家瑞. 种子生理. 科学出版社, 1985; 40—50, 264—265
- 7 许月明, 史忠礼, 朱治平等. 赤霉素对杉木种子萌发及生物大分子合成的影响研究. 种子, 1990; (1): 19—21
- 8 黄学林, 傅家瑞. 种子发芽抑制物和促进物及其作用机理. 徐是雄, 唐锡华, 傅家瑞等著. 种子生理的研究进展. 中山大学出版社, 1987; 183—201
- 9 郑光华, 史忠礼, 赵同芳等. 实用种子生理学. 农业出版社, 1990; 188—195, 458—459
- 10 李近雨. 漆树种子的休眠生理及催芽技术的初步研究. 种子, 1988; (3): 17—19, 11
- 11 蒋德勋. 赤霉素对黄莲种子萌发及植株生长的影响. 植物生理学通讯, 1982; (5): 21—22, 25

- 12 彭永庆. 欧洲沙苇种子发芽生理的研究. 植物生理学通讯, 1984; (1): 35—36, 50
- 13 孙典兰. 赤霉素对日本落叶松幼苗顶芽生长的影响. 植物生理学通讯, 1983; (2): 30—31
- 14 陈耀武, 管康林, 肖耀文. 团花种子休眠和萌发生理的初步研究. 植物生理学通讯, 1981; (6): 28—31
- 15 王成霖, 邵蓓蓓. 木荷种子萌发生理的初步研究. 林业科学, 1984; 20 (4): 447—449
- 16 傅家瑞. 乙烯与水浮莲种子需光性休眠的关系. 植物生理学报, 1985; 11 (1): 58—65
- 17 周佑勋. 光皮桦种子休眠和萌发特性的研究. 种子, 1987; (4): 5—8
- 18 周佑勋. 火炬松种子的休眠和萌发特性. 植物生理学通讯, 1987; (5): 22—26
- 19 史晓华, 俞仲谔, 史志礼. 玉兰种子休眠和萌发生理的研究. 林业科学, 1987; 营林专辑: 77—82
- 20 黄玉国. 抑制物质在刺楸种子休眠中的作用. 东北林业大学学报, 1987; 15 (2): 18—25
- 21 孙秀琴, 胡春姿, 陶章安. 赤霉素对乌桕种子萌发及幼苗生长的影响. 种子, 1987; (6): 20—22
- 22 Khan A A. The physiology and biochemistry of seed dormancy and germination. Elsevier/North—Holland Biomedical Press, 1977; 111—144
- 23 Leadem C L. The role of plant growth regulators in the germination of forest tree seed. Plant growth regulation, Martinus Nijhoff Press, 1982; 61—93

## THE EFFECTS OF SEVERAL EXOGENOUS HORMONES ON GERMINATION OF CHINESE FIR SEED

Gao Zhihui     Shi Zhongli

(Zhejiang Institute of Forestry, Hangzhou 310023)

Zhu Zhiping     Pan Zheng     Shen Ruijuan

(Shanghai Institute of Plant Physiology, Academia Sinica, Shanghai 200032)

### Abstract

The effects of three exogenous hormones on germination of the seed of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) were studied. The results showed that the seed germination was actively stimulated by Gibberellin (GA), and significantly inhibited by 6-benzylaminopurine (6-BA) and Abscisic acid (ABA). When the three exogenous hormones were used together, it was shown that GA at 50—100 ppm had an active role in promoting seed germination, while 6-BA at concentration not exceed 50 ppm exhibited disinhibition effect. The inhibition effect of ABA could be antagonized by 6-BA and GA.

**Key words:** *Cunninghamia lanceolata*; Exogenous hormones; Seed germination; Orthogonal design