

丁烯羟酸内酯对公鸡花种子萌发和赤霉素含量的影响

周俊芳^{1,2}, 马国华^{1,*}

¹中国科学院华南植物园, 广州 510650; ²中国科学院研究生院, 北京 100049

摘要: 从植物燃烟中提取的丁烯羟酸内酯(butenolide)能提高公鸡花种子的萌发率, 并促进其萌发后的生长。光可以增强丁烯羟酸内酯的作用。公鸡花对外源GA的响应与对丁烯羟酸内酯的响应类似, 二者有协同效应。酶联免疫法测定结果显示, 在种子尚未萌发时, 经丁烯羟酸内酯处理的种子中内源赤霉素含量低于不做处理的; 萌发生长后, 其赤霉素含量则高于不做处理的。因此认为, 丁烯羟酸内酯可能是通过增加种子对GA的敏感性而起作用的。

关键词: 丁烯羟酸内酯; 光; 赤霉素; 种子萌发; 公鸡花

Effects of Butenolide on Seed Germination and Endogenous Gibberellin Contents in *Aristolochia labiata* Willd.

ZHOU Jun-Fang^{1,2}, MA Guo-Hua^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Smoke-derived butenolide could increase the rate of *Aristolochia labiata* seed germination and improve their post-germination growth. Light could enhance the effects of butenolide. Seed had similar response to gibberellins and butenolide, and they had a synergetic effect. Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) revealed that the gibberellin levels of seeds treated with butenolide were significantly less than controls when germination was not finished; however, gibberellin contents were higher than controls after germination. These results suggested that butenolide treatment could increase sensitivity to GA.

Key words: butenolide; light; GA; seed germination; *Aristolochia labiata*

植物燃烧产生的烟雾能够促进植物种子萌发 (Brown 1993; Dixon等1995; Keeley和Fotheringham 1997; Minorsky 2002)。但由于烟化物成分复杂, 有关其生理代谢基础以及作用机制一直没有解决。直到Flematti等(2004)从纤维素或植物材料燃烧产生的烟中分离出对种子萌发起关键作用的化合物——丁烯羟酸内酯(butenolide, 3-methyl-2H-furo [2,3-c]pyran-2-one)才引起人们广泛的关注和重视。它溶于水, 对热稳定, 极低浓度(nmol·L⁻¹)就能促进种子萌发(Sparg等2005; Jain等2006; Kulkarni等2007)。但对于其促进种子萌发的作用机制尚不十分清楚。丁烯羟酸内酯促进植物种子萌发的研究主要在地中海气候特征(夏季干旱少雨, 容易发生山火)的地区, 如澳洲西部、美国加州以及南非等地区。而它对于我国南部亚热带地区季风海洋性气候条件下植物种子萌发的研究尚未见报道。我们前期的工作基础表明植物烟水化物能够促进马兜铃属植物3个种种子萌发。而与马兜铃属植物种子萌发相关的研究尚未见报道。本文以其中之一

的公鸡花为材料, 研究丁烯羟酸内酯对公鸡花种子萌发和萌发后幼苗生长的影响; 同时就丁烯羟酸内酯的作用机制及其与GA、IAA、KT和光之间的关系也作了一些探讨。

材料与amp;方法

公鸡花(*Aristolochia labiata* Willd.)于2009年采自中国科学院华南植物园。丁烯羟酸内酯由西澳大学提供, 其浓度为0.1、1、10、100 nmol·L⁻¹。GA、KT和IAA均购自上海博奥生物有限公司。GA和IAA(均为1.0 g)用1 mL 95%酒精溶解后加蒸馏水分别稀释到10、100和1 000 μmol·L⁻¹。1.0 g KT用1 mL 1 mol·L⁻¹ HCl溶解后加水稀释到10、100和1 000 μmol·L⁻¹。多效唑用3 mL甲醇溶解

收稿 2009-07-10 修定 2009-09-27

资助 国家自然科学基金(30671711)。

致谢 西澳大学提供丁烯羟酸内酯。

* 通讯作者(E-mail: magh@scib.ac.cn; Tel: 020-37252993)。

后加水配制成 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 溶液。这些溶液与1:1 000的杀菌剂混合[杀菌剂成分为*N*-(2-苯并咪唑基)-氨基甲酸甲酯]。酶联免疫法测定中的赤霉素试剂盒购自中国农业大学激素研究室。

在丁烯羟酸内酯和植物生长调节剂影响种子萌发的实验中, 丁烯羟酸内酯浓度为0.1、1、10、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, GA浓度为10、100、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, KT浓度为10、100、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, IAA浓度为10、100、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。公鸡花种子播于铺有2层定性滤纸的9 cm培养皿中后加入不同处理液, 每组均用蒸馏水为对照。每处理重复4次, 每个重复播25粒种子。于暗中(25 ± 2) °C下培养。以胚根突破种皮长至1 mm时为萌发标志。每天记录萌发数。

在丁烯羟酸内酯和GA影响种子萌发及萌发后幼苗生长的实验中, 丁烯羟酸内酯浓度为0.1、1、10、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$, GA浓度为10、100、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。对照为蒸馏水。处理方法同上。培养条件有: 每天12/12 h光照/黑暗或24 h连续黑暗, 温度均为(25 ± 2) °C。光照度为40 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。种子萌发后继续培养9 d, 测定萌发后的生长情况。幼苗活力指数=[平均胚轴长(mm)+平均胚根长(mm)] \times 萌发率。

在丁烯羟酸内酯和GA混合影响种子萌发和萌发后生长的实验中, 所用处理液为: 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA分别与0.1、1、10、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯以1:1的比例混合而成, 以10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA的处理

液为对照, 于暗中(25 ± 2) °C下培养。每天记录萌发数和观察9 d后的生长情况。

在丁烯羟酸内酯和多效唑混合影响种子萌发的实验中, 所用处理液为1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 多效唑分别与0.1、1、10、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯以1:1的比例混合而成, 以1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 多效唑的处理液为对照, 12/12 h光照/黑暗(光照强度同上)或连续黑暗(25 ± 2) °C下培养。每天记录萌发数。

丁烯羟酸内酯或蒸馏水处理的种子在培养8 d(此时种子尚未完成萌发)和萌发后生长9 d后, 用酶联免疫法(钟显2006)测定种子中内源赤霉素含量。

数据采用SPSS 16.0进行统计学分析。每个处理的萌发率经反正弦后, 用单因素方差分析(ANOVA)比较不同处理间的差异显著性($P<0.05$)。萌发后的生长指标和内源赤霉素含量测定的结果均用单因素方差分析(ANOVA), 比较不同处理间的差异显著性($P<0.05$), 单独样本的*T*检验用于分析成对设计的变量差异显著性($P<0.05$) (Kulkarni等2007)。

结果与讨论

1 丁烯羟酸内酯、GA、KT、IAA对公鸡花种子萌发和萌发后长出的幼苗的影响

种子对丁烯羟酸内酯、GA、KT和IAA的反应是不同的。黑暗培养条件下, 以丁烯羟酸内酯或GA处理的公鸡花种子能够萌发, 50 d时萌发率可以分别达到42%和73.27% (图1), 但KT和IAA对

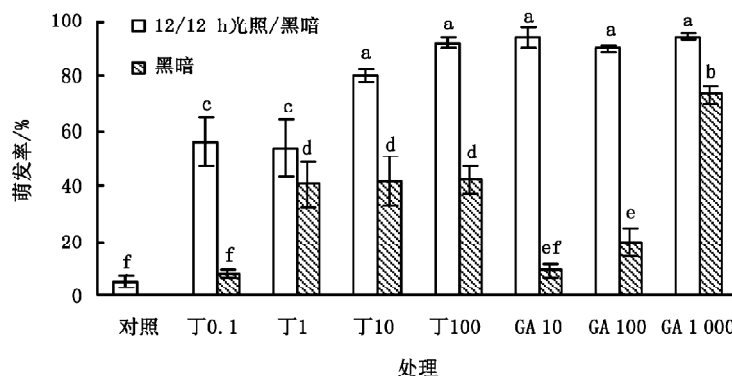


图1 12/12 h光照/黑暗和黑暗下丁烯羟酸内酯和GA对种子萌发的影响

Fig.1 Effects of butenolide and GA on seed germinations under 12/12 h light/dark or dark condition

相同字母表示在0.05水平下差异不显著。丁0.1、丁1、丁10、丁100分别代表0.1、1、10、100 $\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯; GA 10、GA 100、GA 1 000分别代表10、100、1 000 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA。图2~4均同此。

其没有促进作用, 种子不萌发。

无论是在 12/12 h 光照/黑暗还是连续黑暗下, 丁烯羟酸内酯和 GA 都明显促进公鸡花种子萌发 ($P < 0.05$)。12/12 h 光照/黑暗下, 种子随着丁烯羟酸内酯浓度升高, 萌发率也升高。100 nmol·L⁻¹ 丁烯羟酸内酯处理的萌发率达到 92%, 与 1000 μmol·L⁻¹ GA (萌发率为 94%) 的效应相同 ($P > 0.05$)。随着 GA 浓度的增加, 种子萌发率并没有明显增加。黑暗条件下, 丁烯羟酸内酯和 GA 促进种子萌发的程度明显小于 12/12 h 光照/黑暗下(图 1)。

萌发后再培养 9 d, 不同浓度丁烯羟酸内酯和

GA 对胚轴和胚根生长都有明显促进作用。12/12 h 光照/黑暗下, GA 促进胚轴生长(10.6~17.9 mm) 的程度大于丁烯羟酸内酯(图 2-a)。

12/12 h 光照/黑暗下幼苗活力指数都高于黑暗下, 幼苗鲜重则低于黑暗下(图 2-c、d)。丁烯羟酸内酯和 GA 处理的幼苗活力指数和鲜重都明显提高 ($P < 0.05$), 丁烯羟酸内酯对幼苗鲜重的提高程度高于 GA 的(图 2-d)。

总之, 以上结果与前人报道的丁烯羟酸内酯促进金合欢属植物种子萌发和萌发后长出幼苗的生长结果(Kulkarni 等 2007)是一致的。

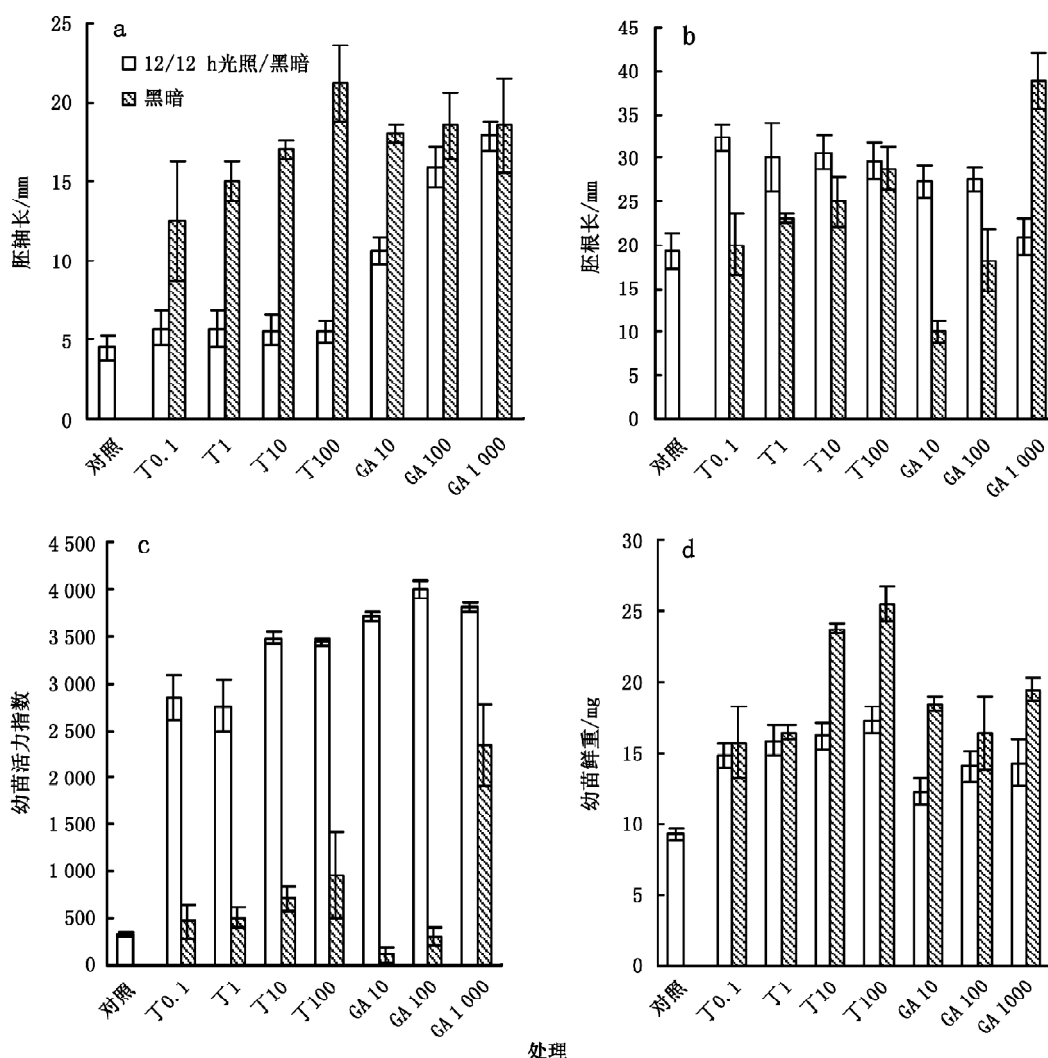


图 2 12/12 h 光照/黑暗和黑暗下丁烯羟酸内酯和 GA 对萌发后长出的幼苗生长(9 d)的影响

Fig.2 Effects of butenolide and GA on the growth of seedlings after germination for 9 d under 12/12 h light/dark or dark condition

此外,我们还观察到:(1)当 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA 分别与 0.1 、 1 、 10 、 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯以 $1:1$ 的比例混合后,其萌发率、胚根长、幼苗活力指数都明显高于单独使用 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA 的($P < 0.05$) (图 3-a、b、c),胚轴长和幼苗鲜重与 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA 没有明显区别($P > 0.05$) (图 3-b、d)。 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA 与 $1 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯混合后,其萌发率比单独以 $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ GA 处理的增加 58% ,

胚根长增加 15 mm ,幼苗活力指数提高 30 倍。这与前人报道的一定浓度的植物茎叶燃烧产生的烟雾水可以促进水稻幼苗根的分蘖和叶生长的结果(方平夷 1998)是类似的。(2)当 $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 多效唑分别与 0.1 、 1 、 10 、 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯以 $1:1$ 的比例混合施用后,无论是在 $12/12 \text{ h}$ 光照/黑暗还是在黑暗条件下,种子均不萌发。这似乎说明种子萌发过程的完成需要赤霉素的重新合成。

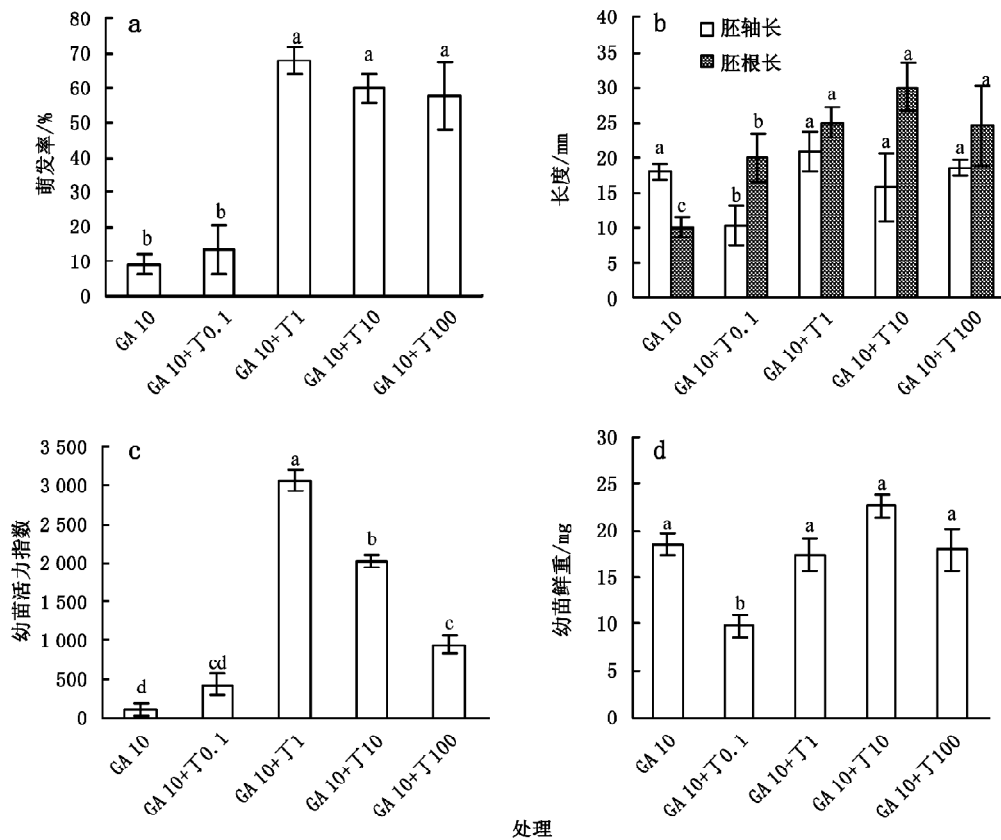


图3 暗中 GA 和丁烯羟酸内酯的混合物对种子萌发和萌发后幼苗生长的影响

Fig.3 Effects of GA mixed with butenolide on the seed germination and growth of seedlings under dark condition

2 丁烯羟酸内酯对公鸡花种子和幼苗中赤霉素含量的影响

种子培养 8 d 后, $12/12 \text{ h}$ 光照/黑暗下以 10 、 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯处理的和黑暗下以 $100 \text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯处理的赤霉素含量都显著低于不做处理的($P < 0.05$) (图 4-a)。第 8 天时, 黑暗下培养的种子中赤霉素含量高于 $12/12 \text{ h}$ 光照/黑暗下种子的。种子萌发后长出的幼苗生长 9 d (即培养的第 17 天)时, $12/12 \text{ h}$ 光照/黑暗下以 10 、 100

$\text{nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 丁烯羟酸内酯处理的赤霉素含量显著高于不做处理的($P < 0.05$), 黑暗下以丁烯羟酸内酯处理的与不做处理的差异不明显(图 4-b)。

根据本文结果,可以得到两个印象:(1)植物燃烧促进公鸡花种子萌发可能与赤霉素路径有关。本文结果与前人报道的植物燃烧可促进莴苣萌发(Drewes 等 1995)和丁烯羟酸内酯可促进澳大利亚菊科植物(Merritt 等 2006)和耕地杂草(Daws 等 2007)种子萌发,并认为其可代替红光和 GA 可代替

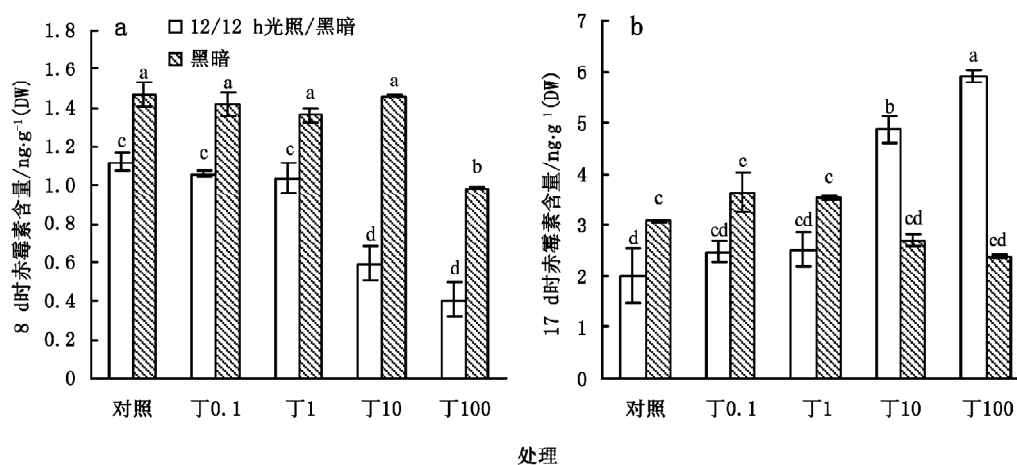


图4 12/12 h 光照/黑暗和黑暗下经丁烯羟酸内酯处理的公鸡花种子赤霉素含量变化

Fig.4 Effects of butenolide on the GA contents of *A. labiata* seeds under 12/12 h light/dark or dark condition

红光的说法是类似的。这也从另一个侧面说明丁烯羟酸内酯与GA的作用有相似之处。(2)植物燃烧后生成的烟水溶液影响种子中内源赤霉素合成和脱落酸含量(Schwachtje 和 Baldwin 2004)。本文结果也显示经过丁烯羟酸内酯处理的公鸡花种子中赤霉素含量变化与光有关。这与 Nelson 等(2009)的 Karrikins (丁烯羟酸内酯的新化学名称)促进休眠的拟南芥种子萌发时需要光照和GA的合成, 以及 Soos等(2009)的烟水溶液能活化莢苳种子萌发过程中与ABA有关的基因和光诱导基因表达的双重作用的结果相似。总之, 丁烯羟酸内酯能够通过增强种子对GA的敏感性, 从而促进种子萌发和萌发后幼苗的生长。对此, 今后还需从分子水平上进一步探讨。

参考文献

- 方平夷(1998). 植物茎叶燃烧产生的烟雾水溶液对水稻生长的效应. 植物生理学通讯, 34 (4): 262~263
- 钟显(2006). 月季切花内源激素含量ELISA测定方法的建立. 河南林业科技, 26: 6~9
- Brown NAC (1993). Promotion of germination of fynbos seeds by plant-derived smoke. *New Phytol*, 123: 575~583
- Daws MI, Davies J, Pritchard HW, Brown NAC, Van Staden J (2007). Butenolide from plant-derived smoke enhances germination and seeding growth of arable weed species. *Plant Growth Regul*, 51: 73~82
- Dixon KW, Roche S, Pate JS (1995). The promotive effect of smoke derived from burnt native vegetation on seed germination of Western Australian plants. *Oecologia*, 101: 185~192
- Drewes FE, Smith MT, Van Staden J (1995). The effect of a plant-derived smoke extract on the germination of light-sensitive lettuce seed. *Plant Growth Regul*, 16: 205~209
- Flematti GR, Ghisalberti EL, Dixon KW, Trengrove RD (2004). A compound from smoke that promotes seed germination. *Science*, 305: 977
- Jain N, Kulkarni MG, Van Staden J (2006). A butenolide, isolated from smoke, can overcome the detrimental effects of extreme temperatures during tomato seed germination. *Plant Growth Regul*, 49: 263~267
- Keeley JE, Fotheringham CJ (1997). Trace gas emissions and smoke-induced seed germination. *Science*, 276: 1248~1250
- Kulkarni MG, Sparg SG, Van Staden J (2007). Germination and post-germination response of *Acacia* seeds to smoke-water and butenolide, a smoke-derived compound. *J Arid Environ*, 69: 177~187
- Merritt DJ, Kristiansen M, Flematti GR, Turner SR, Ghisalberti EL, Trengrove RD, Dixon KW (2006). Effects of a butenolide present in smoke on light-mediated germination of Australian Asteraceae. *Seed Sci Res*, 16: 29~35
- Minorsky PV (2002). Smoke-induced germination. *Plant Physiol*, 128: 1167~1168
- Nelson DC, Riseborough JA, Flematti GR, Stevens J, Ghisalberti EL, Dixon KW, Smith SM (2009). Karrikins discovered in smoke trigger *Arabidopsis* seed germination by a mechanism requiring gibberellic acid synthesis and light. *Plant Physiol*, 149: 863~873
- Schwachtje J, Baldwin IT (2004). Smoke exposure alters endogenous gibberellin and abscisic acid pools and gibberellin sensitivity while eliciting germination in the post-fire annual, *Nicotiana attenuata*. *Seed Sci Res*, 14: 51~60
- Soos V, Juhasz A, Light ME, Van Staden J, Balazs E (2009). Smoke-water-induced changes of expression pattern in Grand Rapids lettuce achenes. *Seed Sci Res*, 19: 37~49
- Sparg SG, Kulkarni MG, Light ME, Van Staden J (2005). Improving seedling vigour of indigenous medicinal plants with smoke. *Bioresource Technol*, 96: 1323~1330