

乙酰胆碱对管花肉苁蓉种子萌发及其内源 IAA 和 ABA 含量的影响

杨重军*, 张秀省, 庄志坤

聊城大学农学院, 山东聊城 252000

摘要: 检测不同浓度乙酰胆碱对管花肉苁蓉种子发芽率和内源吲哚乙酸(IAA)和脱落酸(ABA)含量影响的结果表明: 适宜浓度(1.0~3.0 mmol·L⁻¹)的乙酰胆碱可促进肉苁蓉种子萌发, 并改变内源 IAA 和 ABA 含量。1.0 mmol·L⁻¹ 乙酰胆碱是促进肉苁蓉种子萌发的临界点。

关键词: 乙酰胆碱; 管花肉苁蓉; 种子萌发; 吲哚乙酸(IAA); 脱落酸(ABA)

Effect of Acetylcholine on Seed Germination and Endogenous IAA and ABA Contents of *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight

YANG Chong-Jun*, ZHANG Xiu-Sheng, ZHUANG Zhi-Kun

College of Agronomy, Liaocheng University, Liaocheng, Shandong 252000, China

Abstract: The effect of acetylcholine on the seed germination and endogenous IAA and ABA contents of *Cistanche tubulosa* were investigated. The results indicated that appropriate concentration (1.0–3.0 mmol·L⁻¹) of acetylcholine accelerated the seed germination and changed endogenous IAA and ABA contents. 1.0 mmol·L⁻¹ acetylcholine was the critical point for the seed germination.

Key words: acetylcholine; *Cistanche tubulosa*; seed germination; IAA; ABA

管花肉苁蓉又称红柳大芸、管花大芸, 为列当科肉苁蓉属植物, 是多年生寄生药用植物, 寄生于柽柳属柽柳植物的根部, 主产于新疆维吾尔自治区塔里木盆地的南缘, 被列为濒危物种, 具有补肾阳、益精血、润燥通肠等功效, 是使用频率最高的补肾中药(国家药典委员会 2000; 傅立国 1991)。近几年来, 不断有关于管花肉苁蓉人工栽培的报道, 但管花肉苁蓉种子萌发率只有 30% 左右, 接种时需加大播种量, 这显然会影响管花肉苁蓉的生产(刘铭庭 2002; 李天然等 2002; 杨太新等 2005)。此外, 如此低的种子萌发率直接关系着管花肉苁蓉的寄生成功率, 进而影响管花肉苁蓉的产量, 因此探讨提高其种子萌发率的途径是有意义的。还有, 乙酰胆碱(acetylcholine)是动物神经传导中的一种主要的神经递质, 在植物界也广泛存在。有人认为, 乙酰胆碱是高等植物体内普遍存在的一种生理活性物质, 对植物种子和花粉以及真菌孢子管萌发有促进效应(Jaffe 1970; 王恒彬等 1999)。基于以上两点, 本文以管花肉苁蓉种子为材料, 探讨乙酰胆碱对种子萌发的效应, 进而提高管花肉苁蓉种子的萌发率, 以期能供生产应用参考。

材料和方法

管花肉苁蓉[*Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight] 种子来源于新疆于田管花肉苁蓉基地, 2005 年秋采收。管花肉苁蓉种子过 35 目筛, 筛上的籽粒用 10% 次氯酸浸泡 1 min, 蒸馏水冲洗 4~5 遍, 放入 0.1~3.0 mmol·L⁻¹ 的乙酰胆碱溶液中, 浸泡 24 h。用蒸馏水冲洗干净后, 装在纱布袋内, 埋入湿沙中, 置于 5℃ 冰箱中。每种处理用种量为 0.02 g, 重复 3 次, 以蒸馏水浸泡的种子为对照。30 d 后随机抽取 100 粒种子测定种子胚长度、胚率(指胚占种子的大小, 值越大, 萌发率越高)和发芽率(盛晋华等 2006)及其内源激素[生长素吲哚乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)和脱落酸(abscisic acid, ABA)]含量(李宗霆和周燮 1996)。

IAA和ABA含量用气相色谱-质谱法(GC-MS)定性定量测定。称取 0.01 g 种子, 加入石英砂、抗氧化剂二乙基硫氨基甲酸酯和 80% 的冷甲醇,

收稿 2006-07-24 修定 2007-03-05

资助 山东聊城大学科研项目(X031006)。

* E-mail: yangchongjun010@126.com; Tel: 0635-8195585

充分研磨, 过夜; 加内标: 200 ng D₅-IAA 和 800 ng D₃-ABA, 过滤, 用甲醇冲洗, 加 1 滴浓氨水, 于 35 ℃ 浓缩至水相, 冻融 3 次, 于 4 ℃ 下以 10 000×g 离心 20 min; 取上清液, 调 pH 值到 2.5~3.0, 加入等体积的乙酸乙酯进行萃取; 收集上清液, 加入 2 滴浓氨水, 浓缩至干, 过柱; 加入 2 滴浓氨水, 浓缩至干, 抽真空; 甲酯化; 三甲基烷化; GC-MS 定性定量测定。

实验结果

1 不同浓度乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子的胚长度、胚率和发芽率的影响

乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子胚率和发芽率的良好效应与其浓度有关。从表 1 可以看出, 低浓度(0.1 和 0.5 mmol·L⁻¹)乙酰胆碱处理的管花肉苕蓉种子胚长度、胚率和发芽率与未作处理的差异不显著; 而浓度较高(1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mmol·L⁻¹)乙酰胆碱处理的与未作处理的差异则达到显著水平。

2 不同浓度乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子中内源 IAA 和 ABA 含量的影响

乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子中 IAA 和 ABA 含量的影响规律与对胚率和发芽率的影响基本相似。

表 1 不同浓度的乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子胚长度、胚率和发芽率的影响

Table 1 Effects of different concentrations of acetylcholine on embryo length, embryo ratio and germination ratio of *C. tubulosa* seed

乙酰胆碱浓度 /mmol·L ⁻¹	胚长度 /mm	胚率 /%	发芽率 /%
0 (对照)	0.492±0.026 ^a	44.4±2.0 ^a	25.4±1.11 ^a
0.1	0.501±0.032 ^a	45.2±2.6 ^a	26.5±1.30 ^a
0.5	0.489±0.016 ^a	44.1±1.9 ^a	24.9±1.24 ^a
1.0	0.632±0.025 ^b	57.0±3.1 ^b	44.6±2.01 ^b
1.5	0.638±0.018 ^b	57.5±2.9 ^b	45.8±1.98 ^b
2.0	0.643±0.031 ^b	58.0±2.4 ^b	46.2±2.11 ^b
2.5	0.629±0.022 ^b	56.7±2.2 ^b	42.3±1.76 ^b
3.0	0.620±0.018 ^b	55.9±1.8 ^b	41.7±1.62 ^b

种子平均长度按 1.1082 mm 计算; 数值为 3 次测定的平均值。差异显著性比较用 SSR 测验, 字母不同表示在 0.05 水平上的差异显著。表 2 同此。

表 2 不同浓度乙酰胆碱对管花肉苕蓉种子中内源 IAA 和 ABA 含量的影响

Table 2 Effects of different concentrations of acetylcholine on endogenous IAA and ABA contents of *C. tubulosa* seed

乙酰胆碱浓度 /mmol·L ⁻¹	IAA 含量 /ng·g ⁻¹ (FW)	ABA 含量 /ng·g ⁻¹ (FW)
0 (对照)	3298±162 ^a	898±35 ^a
0.1	3342±157 ^a	887±31 ^a
0.5	3222±116 ^a	854±38 ^a
1.0	4687±219 ^b	476±22 ^b
1.5	4703±238 ^b	438±20 ^b
2.0	4765±301 ^b	609±22 ^b
2.5	4532±188 ^b	578±27 ^b
3.0	4491±164 ^b	582±26 ^b

由表 2 可以看出, 低浓度(0.1 和 0.5 mmol·L⁻¹)的乙酰胆碱处理管的管花肉苕蓉种子中内源 IAA 和 ABA 含量与未做处理的差异不显著; 而浓度较高(1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mmol·L⁻¹)的乙酰胆碱处理的管花肉苕蓉种子中 IAA 含量比未作处理的明显升高, 达到显著水平; 而 ABA 含量则显著下降。

讨论

本文结果表明, 管花肉苕蓉的种子经适宜浓度(1.0~3.0 mmol·L⁻¹)乙酰胆碱处理后, 其胚长度、胚率和发芽率均明显提高, IAA 含量升高, ABA 含量降低。乙酰胆碱对种子萌发的效应尚有不同的看法, 有人认为乙酰胆碱无论在光下还是在黑暗中, 对光不敏感种子萌发都没有影响, 但光下可促进对光敏感种子的萌发, 而暗中则没有作用; 对于不需光的种子萌发来说, 光下乙酰胆碱则抑制其萌发(王恒彬等 1999)。自然状况下的管花肉苕蓉种子在有光和无光条件下, 都能萌发。至于管花肉苕蓉种子萌发对光是否敏感尚待进一步查明。此外, 人们对 IAA 在种子萌发过程中的作用也有不同的看法。有人认为 IAA 参与调节种子萌发(张培玉等 1993; 管康林等 1989; Kochanko 等 1998), 也有人认为种子萌发与 IAA 关系不大(高红兵等 1998; 李金克等 1997; 陈学梅和王沙生 1992)。至于 ABA 在种子萌发过程中的作用, 一般认为高浓度 ABA 是种子生理休眠的

原因之一,更多的实验表明,种子贮藏或低温层积过程中ABA含量下降并不是解除休眠的前提条件,种子休眠的诱导和解除可能是包括ABA在内的多种抑制因素作用的结果(郑彩霞和高荣孚1991;管康林等1989)。但在本文中,适宜浓度(1.0~3.0 mmol·L⁻¹)的外源乙酰胆碱在管花肉苁蓉种子萌发的效应看来是通过影响IAA和ABA含量从而提高种子发芽率的。管花肉苁蓉种子发芽率的提高与其内源IAA含量升高和ABA含量降低相呼应。至于乙酰胆碱调控内源激素IAA和ABA的机制尚待进一步研究。

参考文献

- 陈雪梅,王沙生(1992). HPLC法定量分析植物组织ABA、IAA和NAA. 植物生理学通讯, 28 (5): 368~371
- 傅立国(1991). 中国珍稀濒危植物名录. 见: 傅立国主编. 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第1册). 北京: 科学出版社, 502
- 高红兵, 吴榜华, 孙振良(1998). 东北红豆杉种子层积过程中内源生长素和脱落酸含量的变化. 吉林林学院学报, 14 (4): 187~189
- 管康林, 方星, 郑钢(1989). 山茱萸种子的休眠原因与萌发条件. 植物生理学通讯, 25 (5): 24~27
- 国家药典委员会编(2000). 国家药典, 北京: 化学工业出版社
- 李金克, 金幼菊, 陈华君, 王沙生(1997). 红松种子层积催芽处理和萌发过程中内源GAs和IAA含量的变化. 河北林果研究, 12 (3): 203~208
- 李天然, 曹瑞, 马虹, 李西荣, 崔金虎(2002). 管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa*)在内蒙古栽培成功. 中国野生植物, 11 (5): 54
- 李宗霆, 周燮(1996). 植物激素及其免疫检测技术. 南京: 江苏科学技术出版社, 80~298
- 刘铭庭(2002). 红柳大芸人工栽培与推广现状. 全国第2届肉苁蓉暨沙生药用植物学术研讨会文集, 和田. 北京: 中国农业出版社, 16~18
- 盛晋华, 张雄杰, 刘宏义, 李莉(2006). 层积对肉苁蓉种子后熟作用的研究. 中国种业, (3): 23~24
- 王恒彬, 张蜀秋, 王学臣, 姜成后(1999). 高等植物中的乙酰胆碱. 植物生理学通讯, 35 (3): 236~242
- 杨太新, 王华磊, 王长林, 翟志席, 王树安, 郭玉海(2005). 华北平原管花肉苁蓉引种试验研究. 中国农业大学学报, 10 (1): 27~29, 43
- 张培玉, 杨晓玲, 项殿芳, 齐永顺, 郭明军, 杨越冬(1999). 山楂种子休眠、萌发与内源激素含量的变化. 河北农业技术师范学院学报, 13 (1): 7~10
- 郑彩霞, 高荣孚(1991). 脱落酸与内源抑制物对洋白蜡种子休眠的影响. 北京林业大学学报, 13 (4): 39~46
- Jaffe MJ (1970). Evidence for the regulation of phytochrome mediated processes in bean roots by the neurohumor, acetylcholine. *Plant Physiol*, 46: 768~777
- Kochankov VG, Grtzesik M, Chojnowski M, Nowak J (1998). Effect of temperature, growth regulators and other chemicals on *Echinosia purpurea* (L.). *Moench seed germination and seedling survival*. *Seed Sci Technol*, 26: 547~554