

低温条件下 γ -氨基丁酸对扁蓿豆种子萌发的影响

李颖,汪玲玲,马凯凯,鱼小军*

(甘肃农业大学草业学院,草业生态系统教育部重点实验室,甘肃省草业工程实验室,中-美草地畜牧业可持续发展研究中心,甘肃 兰州 730070)

摘要:【目的】提高低温下种子萌发期和早期幼苗生长期扁蓿豆耐寒性。【方法】模拟高寒草甸5月地温,研究不同GABA浓度下扁蓿豆种子萌发情况以及最佳浓度下GABA对其种子淀粉酶活性、根系活力和种子表型特性的影响。【结果】低浓度(0.1~1.0 mmol/L)的GABA可促进种子萌发。0.5 mmol/L的浸种处理为最佳效应浓度,此浓度下种子发芽势、发芽指数、活力指数、正常种苗数、胚根胚芽长和苗干重显著提高48.03%、28.36%、44.54%、7.41%、27.33%、21.23%和10.17%,同时显著缩短平均发芽时间4.72%。通过0.5 mmol/L的GABA浸种浓度对常温和低温处理下 α -淀粉酶活性、根系活力和种子表型特征的探究,得出常温(25℃)下,GABA对 α -淀粉酶活性和根系活力有提高作用,但未达到显著水平,对种子表型几乎无影响,但此浓度可显著增强低温下萌发前期(萌发4 d)种子中的 α -淀粉酶活性,提高种子根系活力,缓解低温下幼苗发育不良和生长较慢的情况,促进幼苗生长发育。【结论】0.5 mmol/L的GABA浸种处理是提高低温下扁蓿豆耐寒性的最佳浓度。

关键词: γ -氨基丁酸;低温;扁蓿豆;种子萌发; α -淀粉酶;根系活力

中图分类号:S541.9 文献标志码:A 文章编号:1009-5500(2023)03-0118-08

DOI: 10.13817/j.cnki.cyyep.2023.03.015



扁蓿豆(*Medicago ruthenica*)是一种多年生苜蓿属草本植物,多以伴生种的形式存在于甘肃、山东、四川等低温带和寒温带的典型草原和沙质草原等植被类型区域^[1],在寒冷地区的推广种植具有重要价值^[2]。尤其以高寒地区为主,此地区由于气候环境问题,极其缺乏优良豆科牧草,而扁蓿豆具有抗逆性强,生态幅宽,耐践踏等优良特性^[3],且营养价值高,适口性好,牲畜过量采食也不会产生鼓胀病^[4],是建立人工草地、补播草原的优良草种。我国北方地区扁蓿豆的种植一般于每年5月进行,此时,春季不可预测的低温问题是影响种子萌发的重要因素,以天祝高寒草甸地区为例,近30年此地区5月平均气温不超过8℃^[5],尽管扁蓿豆耐寒,但持续性的低温将会导致种子出苗时间推

迟,出苗率大幅度降低,还可能影响早期幼苗胚根胚芽的发育,增加不健康幼苗数,最终阻碍幼苗的建成。因此,探究提高扁蓿豆种子萌发期耐寒性的新途径是高寒地区植被恢复和缓解草畜矛盾问题的关键。

目前,外源物质的施用对于缓解植物低温问题颇见成效^[6-7],其中,较为常用的为激素类,如脱落酸(Abscisic Acid, ABA)、赤霉素(Gibberellins, GAs)、水杨酸(Salicylic acid, SA)等。近些年, γ -氨基丁酸(γ -aminobutyric acid, GABA)也被应用在遭受到非生物胁迫的植物中。首先,GABA作为一种四碳非蛋白氨基酸,前期多用于脊椎动物抑制性神经递质,用于降低心血管疾病的发生率,之后,逐渐在植物中进行研究,这种物质被证明在调节植物抗逆性方面有重要作用^[8]。2 mmol/L的GABA水溶液浸种处理可有效缓解NaCl胁迫对垂穗披碱草(*Elymus nutans*)种子萌发的影响,提高种子活力^[9]。Cheng等^[10]对盐胁迫下白三叶(*Trifolium repens*)种子萌发特性的研究中表明,适量使用GABA可以加速淀粉分解代谢,改善细

收稿日期:2021-09-14;修回日期:2021-10-28

基金项目:甘肃省草原生态治理修复科技支撑项目

作者简介:李颖(1997-),女,甘肃省榆中县人,硕士研究生。E-mail:2041263361@qq.com

*通信作者。E-mail:yuxj@gsau.edu.cn

胞抗氧化防御,减轻盐胁迫造成的损伤,使得盐胁迫导致的种子萌发抑制作用得到缓解。Gilliham等^[11]提出GABA对非生物胁迫下植物的缓解作用是通过内源GABA的增加,为ATP的产生提供电子传递链,保证三羧酸循环的顺利进行。另外,GABA对植物种子在非生物胁迫下的萌发缓解效应,在龚动庭^[12]对低温胁迫下油菜(*Brassica campestris*)的研究及符京燕等^[13]对Al胁迫下白三叶种子的萌发效应中均得以证实GABA对调节种子萌发有重要作用。

尽管GABA在非生物胁迫下对草类植物的影响研究居多,但主要集中于盐胁迫^[9]及高温胁迫^[14],对于低温胁迫下GABA在种子萌发上的缓解效应并未有研究。因此,本研究以高寒地区常见伴生种“扁蓿豆”为研究对象,通过模拟天祝高寒地区地温情况探究GABA浸种对种子萌发效应的影响,以期筛选出缓解种子萌发率低的最佳浓度处理。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试草种扁蓿豆于2015年采集于甘肃宁县地埂边,其地理坐标为N 37°40', E 102°32',海拔1 220 m。2016年将供试扁蓿豆种植于甘肃省武威市黄羊镇甘肃农业大学牧草试验站,其地理坐标为N 35°33', E 107°49',海拔2 960 m。2018年9月,采收扁蓿豆种子。试验前先对扁蓿豆进行破除种皮处理:挑选籽粒饱满的扁蓿豆种子于100 mL小烧杯中,倒入98%的浓硫酸(浓H₂SO₄)浸种20 min,然后用蒸馏水冲洗干净,置于干净的滤纸上备用。外源GABA购自Sigma公司,纯度≥99%。

1.2 试验方法

1.2.1 种子萌发期GABA浓度筛选 试验设置6个GABA浸种浓度:0(蒸馏水浸种,CK)、0.1、0.5、1.0、5.0和10.0 mmol/L。首先,挑选6份已破除种皮的扁蓿豆种子置于6个培养皿(直径:9 cm)中,每份种子250粒,然后向培养皿中加入不同GABA水溶液20 mL,放入25℃人工培养箱于黑暗条件下放置18 h。待浸种结束,将浸种液倒掉,挑选不同GABA浸种的种子于铺有2层滤纸的培养皿中,每个培养皿放置50粒,每种浓度设置5个重复。最后,将不同GABA处理的种子放入光照培养箱中黑暗条件下培养12 d(前

期预试验所确定的天数),培养箱中的温度设置模拟甘肃农业大学牧草试验站5月的地温变化值(7℃ 2 h、15℃ 6 h、12℃ 4 h、7℃ 2 h、3℃ 10 h)循环交替进行。以培养皿放入培养箱的第2 d为种子发芽试验第1天,每天观察种子的发芽状况。通过测定不同浓度GABA浸种后的扁蓿豆种子发芽指标,确定最佳GABA浸种浓度。

1.2.2 种子萌发试验 试验设置4个处理:(1)蒸馏水浸种+25℃常温处理(C);(2)0.5 mmol/L GABA浸种(前期预筛选得出)+25℃常温处理(CG);(3)蒸馏水浸种+低温处理(D);(4)0.5 mmol/L GABA浸种+低温处理(DG)。GABA的浸种处理方法同1.2.1,之后将0和0.5 mmol/L GABA浸种的种子置于铺有2层滤纸的不同培养皿中,每培养皿50粒,每个处理重复5次。之后把放有相同浸种浓度种子的培养皿分为2份,一份放入人工气候培养箱中,温度设为恒温25℃,另一份置于光照培养箱中,温度为前期GABA筛选试验中用到的模拟天祝5月地温变化值。由于常温下种子萌发速度较快,于第4、8天采集胚根和胚芽样品进行α-淀粉酶含量测定,第8天测定根系活力,低温培养箱中的种子于第4、8和12天采集胚根和胚芽样品进行α-淀粉酶含量测定,第12天测定根系活力。

1.3 测定指标与方法

发芽势(GE)=(发芽第5天的发芽种子数/供试种子数)×100%

发芽率(GP)=(发芽第12 d的发芽种子数/供试种子数)×100%

发芽指数 $GI = \sum Gt/Dt$ (Dt 为发芽时间(d), Gt 为与 Dt 相对应的发芽种子数)

活力指数 $VI = GI \times S$ (S 为幼苗长度)

平均发芽时间(MGT)=($Gt \times Dt$)/ $\sum Gt$ (Dt 代表发芽天数; Gt 代表与 Dt 相对应的每天发芽种子数)

每个培养皿随机选取10株幼苗用游标卡尺测定胚根和胚芽长,然后用分析天平记录幼苗鲜重,最后放入105℃烘箱中30 min,后放入80℃条件下烘干至恒重。

α-淀粉酶含量测定:参考李合生等^[15]的方法。

根系活力采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据整理,所有数值均以“平均值±标准误”表示,采用 SPSS 26.0 软件对所测数据进行方差分析,并用 Duncan 新复极差法对测定数据进行多重比较,差异显著性水平为 0.05 时,差异具有统计学意义;使用 SPSS 26.0 中的独立样本 t 检验对 12 d 低温处理下蒸馏水浸种(D 处理)和 GABA 浸种(DG 处理)数据进行显著性分析,所有的图均采用 Origin 2019 进行制作,利用 Microsoft Excel 2010 软件进行模糊隶属函数分析。

不同 GABA 浸种浓度下扁蓿豆种子萌发效应的综合评价采用模糊隶属函数分析法,将测定指标的相对值转化为隶属函数值,最后利用公式求出隶属平均值,根据该值大小来评出最佳 GABA 浓度,具体计算公式为^[16]:

$$W_{ij} = (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin}) \quad (1)$$

$$W_{ij} = 1 - (X_{ij} - X_{jmin}) / (X_{jmax} - X_{jmin}) \quad (2)$$

$$W_j = \sum_{n=1}^i W_{i,j} \quad (3)$$

$$Z = \frac{1}{n} W_j \quad (4)$$

式中: W_{ij} 为第 i 个 GABA 浸种处理下 j 指标的隶属函数值, X_{ij} 为第 i 个 GABA 浸种处理下 j 观测指标值, X_{jmin} 为第 j 个观测指标的最小值, X_{jmax} 为第 j 个观测指标的最大值, n 为观测指标数, W_j 为第 i 处理下的综合隶属值, Z 为观测指标的隶属平均值。发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、胚根和胚芽的长度,鲜干重与耐寒性呈正相关,计算时用公式(1),平均发芽天数与耐寒性呈负相关,计算时用公式(2)。

2 结果与分析

2.1 不同 GABA 浸种浓度对低温下种子萌发的影响

随着 GABA 浸种浓度的增加,种子的发芽势、发芽率、正常种苗数、发芽指数和活力指数均呈现先升高后降低的趋势,平均发芽时间先减少再增加(表1)。0.5 mmol/L 的 GABA 浸种溶液是显著提高种子发芽势、正常种苗数、发芽指数和活力指数的最佳浓度处理,在此浓度下,种子的平均发芽时间较 CK 处理可显著缩短 4.72% ($P < 0.05$)。低浓度的 GABA 浸种溶液(0.1~5.0 mmol/L)可提高种子最终发芽率,0.5 mmol/L 浓度下对发芽率的提高作用最大,但较 CK 仍未达到显著差异。

表1 不同 GABA 浸种浓度对低温下扁蓿豆种子萌发的影响

Table 1 Effects of different GABA soaking concentrations on seed germination of *Medicago ruthenica* under low temperature

GABA 浸种浓度 (mmol·L ⁻¹)	发芽势/%	发芽率/%	正常种苗数/%	发芽指数	活力指数	平均发芽时间/d
0(CK)	50.80±7.96 ^{bc}	88.80±2.65 ^{ab}	86.40±2.71 ^b	12.13±1.41 ^{bc}	6.69±1.24 ^c	8.04±0.20 ^{ab}
0.1	69.20±1.36 ^a	89.20±1.62 ^{ab}	86.80±1.36 ^{ab}	14.41±0.50 ^{ab}	7.35±0.55 ^{bc}	7.68±0.04 ^c
0.5	75.20±3.88 ^a	94.80±1.74 ^a	92.80±1.62 ^a	15.57±0.80 ^a	9.67±0.55 ^a	7.66±0.09 ^c
1	64.80±3.67 ^{ab}	90.00±1.26 ^{ab}	89.20±1.20 ^{ab}	13.92±0.61 ^{ab}	9.05±0.80 ^{ab}	7.77±0.07 ^{bc}
5	54.80±3.72 ^{bc}	89.20±1.02 ^{ab}	86.80±1.36 ^{ab}	11.88±0.69 ^{bc}	5.60±0.42 ^c	8.03±0.08 ^{ab}
10	46.00±4.69 ^c	87.20±2.58 ^b	85.20±2.58 ^b	10.82±0.36 ^c	5.74±0.53 ^c	8.12±0.10 ^a

注:不同小写字母表示同一指标不同处理间差异显著($P < 0.05$)

2.2 不同 GABA 浸种浓度对低温下早期幼苗的影响

2.2.1 不同 GABA 浸种浓度对低温下胚根/胚芽长度的影响 通过图 1-A 对不同 GABA 浸种浓度下扁蓿豆胚根和胚芽长度的分析可看出,0.1~10.0 mmol/L 的 GABA 浸种浓度对幼苗低温下的胚根和胚芽伸长较 CK 均有促进作用,其中,0.5 和 1.0 mmol/L 的浓度下显著促进胚根伸长,较 CK 提高了 27.33% 和 24.94%,0.1、0.5 和 1.0 mmol/L 的 GABA 浸种溶液显著增加胚芽的长度,其中,

0.5 mmol/L 浓度下,胚芽长度较 CK 显著增加了 21.23% ($P < 0.05$)。

2.2.2 不同 GABA 浸种浓度对低温下苗鲜重/苗干重的影响 不同 GABA 浸种处理对扁蓿豆苗鲜重和干重的影响表现为 0.5 和 1.0 mmol/L 的浸种处理可增加苗鲜重,但较 CK 处理差异不显著;低浓度的 GABA 浸种处理均可以增加苗干重,总体表现先增加后降低的趋势(图 1-B)。0.5 mmol/L 的浸种浓度下,苗干重较 CK 处理增加了 10.17%,差异显著($P < 0.05$)。

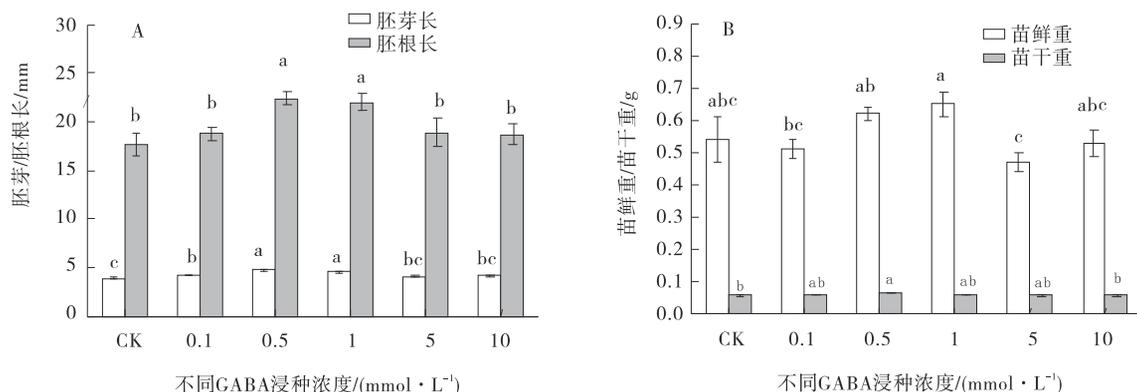


图 1 不同 GABA 浸种浓度对低温下扁蓿豆苗长和苗鲜干重的影响

Fig. 1 Effects of different GABA concentrations on length and fresh /dry weight of *M. ruthenica* seedlings under low temperature

注:不同小写字母表示同一指标不同 GABA 浸种浓度间差异显著($P < 0.05$),下同

2.3 GABA 浸种浓度对种子萌发的最佳浓度筛选

采用模糊隶属函数的分析方法评价不同 GABA 浓度在低温条件下对 10 个种子萌发指标的表现效应,结果显示在 0.5 mmol/L 浸种浓度下,扁蓿豆种子萌

发指标的隶属平均值达到最高,是扁蓿豆种子在低温条件下提高萌发指标的最佳处理浓度,其次为 1.0 和 0.1 mmol/L(表 2),高浓度 GABA(10.0 mmol/L)浸种后,种子萌发效应不如蒸馏水浸种处理(CK)。

表 2 不同 GABA 浸种浓度下扁蓿豆种子萌发的综合评价

Table 2 Comprehensive evaluation of seed germination of *M. ruthenica* under different GABA soaking concentrations

GABA 浸种浓度	发芽势	发芽率	正常种苗数	发芽指数	活力指数	平均发芽时间	胚芽长	胚根长	苗鲜重	苗干重	隶属平均值	排序
0(CK)	0.16	0.21	0.16	0.28	0.27	0.17	0.00	0.00	0.39	0.14	0.18	5
0.1	0.79	0.26	0.21	0.76	0.43	0.96	0.37	0.24	0.22	0.29	0.45	3
0.5	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	0.83	1.00	0.98	1
1.0	0.64	0.37	0.53	0.65	0.85	0.76	0.77	0.91	1.00	0.29	0.68	2
5.0	0.30	0.26	0.21	0.22	0.00	0.20	0.20	0.28	0.00	0.14	0.18	4
10.0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.03	0.00	0.33	0.23	0.33	0.00	0.09	6

2.4 GABA 浸种对常温和低温条件下的幼苗表型变化影响

常温条件下,C 和 CG 处理下的幼苗表型相差较小,生长状况良好,低温条件下,种子生长速度明显减慢(图 2),GABA 浸种处理之后的幼苗较 C 和 CG 处理长势较弱,但较 D 处理可以有效缓解低温下幼苗的生长发育迟缓,具体表现为 DG 处理的胚根和胚芽长度较 D 处理有所增加,幼苗生长状况更好。

2.5 GABA 浸种对种子 α -淀粉酶活性的影响

随着发芽天数的逐渐增加,不同处理下的种子 α -淀粉酶活性均呈现逐渐降低的趋势(图 3)。其中,在种子发芽的第 4 天,未经过 GABA 浸种的处理(C 和 D 处理) α -淀粉酶活性较经过 GABA 浸种的处理(CG 和 DG)低,尤其在低温胁迫条件下,GABA 浸种可促进种子中 α -淀粉酶活性增加,图中表现为 DG 处

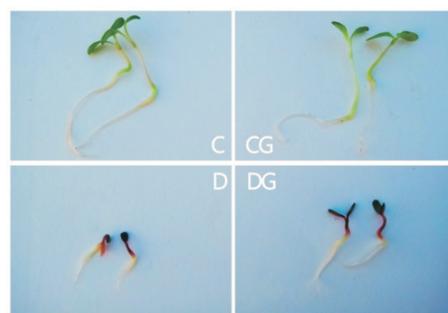


图 2 不同处理下扁蓿豆种子表型特征

Fig. 2 Phenotypic characteristics of *Medicago ruthenica* seeds under different treatments

注:C:蒸馏水浸种+25℃常温处理;CG:0.5 mmol/L GABA 浸种+25℃常温处理;D:蒸馏水浸种+低温处理;DG:0.5mmol/L GABA 浸种+低温处理,下同

理较 D 处理显著增加了 70.74% ($P < 0.05$);在第 8 天,D 处理的 α -淀粉酶活性较常温处理(C 和 CG)显

著降低,DG处理对于低温下 α -淀粉酶活性的抑制有一定程度的缓解,但较D差异未达显著水平;种子发芽末期(第12天),DG处理的 α -淀粉酶活性强于D处理,但差异不显著。

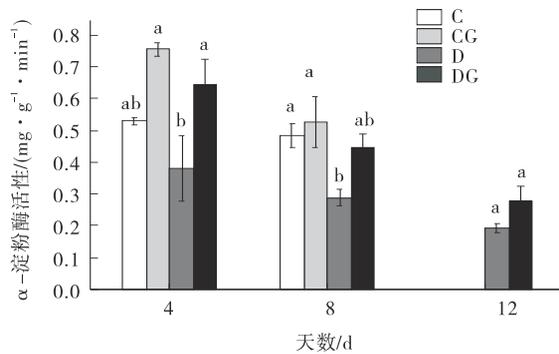


图3 GABA浸种对扁蓿豆 α -淀粉酶活性的影响

Fig. 3 Effect of GABA seed soaking on α -amylase activity of *M. ruthenica*

注:由于常温下扁蓿豆发芽较快,第8天已经完成发芽进程,因此未测定C和CG第12天 α -淀粉酶活性,第12d下D和DG处理间差异由独立样本 t 检验获得

2.6 GABA浸种对种子根系活力的影响

低温条件下,种子根系活力较常温处理显著降低,而GABA浸种处理可缓解根系活力降低,具体表现为DG处理较D处理根系活力显著增加了44.83% ($P < 0.05$)(图4)。在常温处理下,C和CG处理间未表现出显著差异。

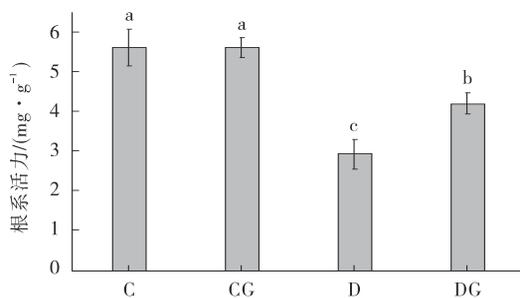


图4 GABA浸种对扁蓿豆根系活力的影响

Fig. 4 Effect of GABA seed soaking on root activity of *M. ruthenica*

3 讨论

种子萌发是植物从种子到植株的过渡性阶段,其对植物生长发育至关重要^[17],在此阶段中温度是影响种子萌发的关键性因素,温度过低或者积温不足均会抑制植物种子萌发^[18-19]。GABA浸种法是近年用于缓解非生物胁迫下植物种子萌发的重要途径,笔者的

研究结果显示,0.5 mmol/L的GABA浸种后,种子发芽势、发芽率和发芽指数相对于蒸馏水浸种均得到显著提高,说明该浓度下的GABA对于提高扁蓿豆种子,发芽速度有一定的正效应,正常种苗数和活力指数的增加说明萌发前施用GABA后可提高种子生长势,继而为后续幼苗的良好生长提供基础,这在缓解低温下种子幼苗鲜干重减少方面得到体现。GABA对于非生物胁迫下种子萌发的调节作用在Tang等^[20]的研究中也有体现,1 mmol/L的GABA可以改善NaCl胁迫下多年生黑麦草(*Perennial ryegrass*)的发芽率,Ji等^[21]的研究显示,除了0.1 mmol/L的GABA外,其余浓度处理均对绿豆种子在盐胁迫下的萌发无作用,说明植物对GABA是否存在正响应,取决于植物种类,GABA浓度和非生物胁迫程度等多种因素。低浓度的GABA浸种还可以缩短平均发芽时间,表明GABA浸种可使得低温下种子加快发芽速度,可能是低温下GABA浸种后使蛋白质降解速率加快,形成的游离氨基酸含量增加,调节植物细胞的渗透压力,从而改善低温下种子萌发速度较低的现象。另外,本研究中GABA浸种可提高低温下幼苗的鲜干重,但在Ji等^[22]的研究中并未产生相同效果,可能是植物生长的不同阶段所致,GABA可能对于种子萌发和植物生长前期的作用大于后期生长阶段。在对盐碱胁迫下甜瓜(*Cucumis melo*)种子的研究表明,GABA提高幼苗胚根胚芽长度的主要原因是GABA的施用使得胚根内MDA含量降低所致^[23],本研究中0.5 mmol/L的GABA也可以显著促进胚根胚芽伸长,这与陈光鑫等^[24]对番茄(*Lycopersicon esculentum*)的研究结果一致,表明了GABA在调控植物茎和根的伸长上有重要作用,但是其调控机理是通过改善萌发期的抗氧化途径达到缓解低温损伤目的还是通过加快GABA分流途径(GABA向琥珀酸半醛降解和参与三羧酸循环的速度)使得植物耐寒性增强,需要进一步试验验证。

种子萌发过程中需要大量消耗营养物质,而最重要的营养物质就是储存在胚乳中的淀粉^[25],淀粉在淀粉酶作用下分解成为小分子糖类后才能为种子萌发提供能量支持,在此过程中 α -淀粉酶是最主要的萌发相关酶类^[26-27]。本研究中,萌发试验初期(萌发第4天),低温下蒸馏水浸种处理的种子淀粉酶活性降低,

但是 GABA 处理的种子中淀粉酶活性大幅度增加,说明低温下淀粉酶活性不高,转化营养物质能力有限,而 GABA 能够加速胚乳中淀粉的分解,提供更多的营养物质以促进种子萌发和支持胚的生长发育。所以,本研究中低浓度的 GABA 浸种处理可以有效增加胚根胚芽长度也可能是通过增强淀粉酶活性,为胚的生长提供能量物质所致。在王泳超^[28]的研究中也提到外源 GABA 的施用可提高盐胁迫下玉米(*Zea mays*)种子萌发率,特别是对 α -淀粉酶活性的促进作用最为明显。在萌发中期和后期,D 和 DG 处理中种子的淀粉酶活性均呈现降低状态,说明在此阶段,发芽已处于后期,胚乳中淀粉含量减少,淀粉酶活性减弱,同样的研究结果也在阎娥和乔有明^[29]对燕麦(*Avena sativa*)种子淀粉酶活性的研究中有体现。此外,虽然常温和低温下使用 GABA 浸种方法后淀粉酶活性均增强,但低温胁迫下淀粉酶活性的增加达到显著差异,这也映证了 GABA 对种子萌发的调节作用不只是提供营养物质,而是 GABA 通过与低温胁迫下植物生理机制相互作用,使得 GABA 在低温下发挥最大缓解效应。

本研究中通过常温下和低温下 GABA 浸种后扁蓿豆幼苗表型特征说明低温下 GABA 对幼苗生长具有缓解效应,其原因可能在于 GABA 浸种后可有效增强低温下萌发前期 α -淀粉酶活性,促进种子早发,快发,提高低温下种子萌发指标,在胚根胚芽伸出后,GABA 作为一种氨基酸态氮源,可以直接被植物根系吸收利用,促进植物对硝酸盐的吸收^[30],提高植物中可溶性蛋白,谷氨酸和总氮含量,通过调控植物氮代谢的方式促进根系伸长^[31],之后 GABA 被根系吸收后转移至叶片,有效促进植物多胺合成^[32],缓解植物低温损伤。根系活力反映了植物代谢能力的强弱,与植株生命强度有重要关系^[33],在植物生长早期,根系活力与根系长度成正相关,本研究中低温显著降低种子根系活力,这一结果与低温抑制胚根伸长印证,但低温下 GABA 浸种的方式可以抑制根系活力的大幅度降低作用,使得根系免受低温伤害,起到这一逆转作用的原因可能是 GABA 参与了植物的早期发育,经过 GABA 浸泡之后的种子在遭受低温胁迫时,植物内源 GABA 含量会大量增加,其积累可以限制 ROS 的产

生,减少根系中生物分子的氧化损伤^[34],也可能是 GABA 对于根系的直接营养作用增加了扁蓿豆幼苗根系吸收养分的能力,有效缓解了低温损伤。GABA 对于植物在逆境胁迫下根系活力的促进作用在黄娟等^[35]和张妍^[36]研究中也呈现,其结果和本研究一致。

本研究结果表明,低温胁迫下 GABA 对扁蓿豆的缓解策略为 GABA 浸种通过增强 α -淀粉酶活性的方式为种子萌发提供能量,加快种子发芽速率,提高种子活力,促进种子胚根胚芽的伸长,提高根系活力,保护根系免受低温损伤,提高植物耐寒性,有效增加植物幼苗鲜干重,从而缓解植物低温下的生长发育。因此,我们推测适宜浓度的 GABA 溶液可以加快早春高寒草甸地区扁蓿豆种子的萌发速度,提高低温下种子活力,为提高扁蓿豆耐寒性提供重要途径,但由于室外试验中存在诸多复杂因素,GABA 的最佳效应浓度和缓解低温效果如何,需要进一步的大田试验验证。

4 结论

低浓度的 GABA 浸种处理可提高种子发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、正常种苗数、胚根胚芽长和苗鲜干重以及缩短平均发芽时间,通过模糊隶属函数对萌发指标进行综合分析得出 0.5 mmol/L 的 GABA 浸种浓度为低温下促进扁蓿豆种子萌发的最佳浓度。0.5 mmol/L 的 GABA 浸种可通过提高低温下萌发前期种子中的淀粉酶活性加快种子萌发速度,提高低温下根系活力,促进幼苗生长发育,从而提高扁蓿豆耐寒性。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1998:318—320.
- [2] 武自念,侯向阳,任卫波,等. 气候变化背景下我国扁蓿豆潜在适生区预测[J]. 草地学报,2018,26(4):898—906.
- [3] 苏加楷. 牧草高产栽培[M]. 北京:金盾出版社,1993:23—24.
- [4] 李海贤,石凤翎. 我国扁蓿豆种子生产研究现状及提高产量的途径[J]. 草原与草坪,2006,26(3):14—16.
- [5] 童永尚,鱼小军,徐长林,等. 天祝高寒区播期对7个燕麦品种饲草产量及品质的影响[J]. 草地学报,2021,29(5):1094—1106.

- [6] 缪森. 外源物质和土壤改良对盐土上马蔺生长及生理特性的影响[D]. 南京:南京农业大学,2017.
- [7] 周永音. 外源抗氧化剂对高羊茅耐热性的影响及其调控机理[D]. 南京:南京农业大学,2006.
- [8] Shelp B J, Bown A W, Mclean M D. Metabolism and function on gamma aminobutyric acid[J]. Trends in Plant Science, 1999, 4(11):446-452.
- [9] 赵旭,陈仕勇,刘伟,等. NaCl胁迫及外源GABA对垂穗披碱草种子萌发的影响[J]. 种子,2021,40(7):39-44.
- [10] Cheng B Z, Li Z, Liang LL, et al. The γ -Aminobutyric acid (GABA) alleviates salt stress damage during seeds germination of white clover associated with Na^+/K^+ transportation, dehydrins accumulation, and stress-related genes expression in white clover[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(9):2520.
- [11] Gilliam M, Tyerman S D. Linking metabolism to membrane signaling: the GABA-malate connection [J]. Trends in Plant Science, 2016, 21(4):295-301.
- [12] 龚动庭. 硅与 γ -氨基丁酸引发对低温胁迫下油菜种子萌发与幼苗生长的影响[D]. 杭州:浙江大学,2019.
- [13] 符京燕,梁林林,周敏,等. 伽马氨基丁酸浸种对铝胁迫下白三叶种子萌发及耐铝性的影响[J]. 草地学报, 2020, 28(5):1275-1284.
- [14] 王日明,王志强,向佐湘. γ -氨基丁酸对高温胁迫下黑麦草光合特性及碳水化合物代谢的影响[J]. 草业学报, 2019, 28(2):168-178.
- [15] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:高等教育出版社,2000.
- [16] 石永红,万里强,刘建宁,等. 多年生黑麦草抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报, 2010, 18(5):669-672.
- [17] 卢艳敏,苏长青,李会芬. 不同盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(4):123-129.
- [18] 钟鹏,刘杰,王建丽,等. 花生对低温胁迫的生理响应及抗寒性评价[J]. 核农学报,2018,32(6):1195-1202.
- [19] Peng Z, Xiao H, Wang F, et al. Seed germination tests of *Medicago ruthenica* (Leguminosae) [J]. Seed Science and Technology, 2018, 46(1):149-156.
- [20] Tang J, Li M, Mao P, et al. Effects of gamma-aminobutyric acid on seed germination, ion balance, and metabolic activity in *Perennial ryegrass* under salinity stress[J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2021, 40:1-10.
- [21] Ji J, Shi S, Chen W, et al. Effects of exogenous γ -Aminobutyric acid on the regulation of respiration and protein expression in germinating seeds of mungbean (*Vigna radiata*) under salt conditions[J]. Electronic Journal of Biotechnology, 2020, 47:1-9.
- [22] Ji Z, Camberato J J, Zhang C, et al. Effects of 6-benzyladenine, γ -aminobutyric acid, and nitric oxide on plant growth, photochemical efficiency, and ion accumulation of *perennial ryegrass* cultivars to salinity stress[J]. Hort Science, 2019, 54(8):1418-1422.
- [23] 赵宁,徐志然,曲斌,等. 外源 γ -氨基丁酸对盐碱胁迫下甜瓜种子萌发的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2016,42(1):40-46.
- [24] 陈光鑫,丁栋,李倩,等. GABA和 CaCl_2 复配对盐碱胁迫下番茄幼苗生长、叶绿素荧光参数和活性氧的影响[J]. 中国蔬菜,2021(7):48-55.
- [25] 李晓易,张积贵,刘一,等. 丁酸钠对玉米种子萌发和 α -淀粉酶活性及其基因表达的影响[J]. 黑龙江农业科学,2020,43(6):22-25.
- [26] Sheng Y D, Xiao H Y, Guo C L, et al. Effects of exogenous gamma-aminobutyric acid on α -amylase activity in the aleurone of barley seeds[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 127:39-46.
- [27] 赵玉锦,王台. 水稻种子萌发过程中 α -淀粉酶与萌发速率关系的分析[J]. 植物学通报, 2001, 19(2):226-230.
- [28] 王泳超. γ -氨基丁酸(GABA)调控盐胁迫下玉米种子萌发和幼苗生长的机制[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2016.
- [29] 阎娥,乔有明. 两燕麦品种种子萌发中淀粉酶活性变化的研究[J]. 草业科学,2006,23(9):96-98.
- [30] Beuve N, Rispaill N, Laine P, et al. Putative role of γ -aminobutyric acid (GABA) in upregulation of nitrate uptake in *Brassica napus* L. [J]. Plant Cell and Environment, 2004, 27(8):1035-1041.
- [31] 宋锁玲,李敬蕊,高洪波,等. γ -氨基丁酸对低氧胁迫下甜瓜幼苗氮代谢及矿质元素含量的影响[J]. 园艺学报, 2012, 39(4):695-704.
- [32] 范龙泉,杨丽文,高洪波,等. γ -氨基丁酸对低氧胁迫下甜瓜幼苗多胺代谢的影响[J]. 应用生态学报,2012,23(6):1599-1606.
- [33] 张旭东,王智威,韩清芳,等. 玉米早期根系构型及其生

- 理特性对土壤水分的响应[J]. 生态学报, 2016, 36(10): 2969—2977.
- [34] Rodrigues—Corrêa K C D, Fett—Neto A G. Abiotic stresses and non—protein amino acids in plants[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2019, 38 (5—6) : 411—430.
- [35] 黄娟, 李兴发, 黄山. γ -氨基丁酸浸种对不同温度胁迫下黄瓜种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 长江蔬菜, 2014, 31(12):30—35.
- [36] 张妍. 分蘖期冷水胁迫下施用外源物质对寒地粳稻生长发育及产质量的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2020.

Effects of γ -aminobutyric acid on seed germination of *Medicago ruthenica* under low temperature

LI Ying, WANG Ling-ling, MA Kai-kai, YU Xiao-jun*

(College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Key Laboratory for Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Grassland Engineering Laboratory of Gansu Province, Sino-U. S. Centers for Grazing Land Ecosystem Sustainability, Lanzhou 730070, China)

Abstract: [Objective] To improve the cold tolerance of *Medicago ruthenica* during seed germination and seedling growth period under low temperature. [Method] We studied the germination of *M. ruthenica* seeds under different GABA concentrations. We explored the effects of GABA on seed α -amylase activity, root activity and seed phenotypic characteristics at the optimal concentration by simulating the ground temperature of alpine meadow in May. [Result] Low concentration of GABA (0.1~1 mmol/L) could promote seed germination, with a concentration of 0.5 mmol/L GABA being the optimal concentration. At this concentration, the germination potential, germination index, vigor index, number of normal seedlings, radicle and germ length and seedling dry weight were significantly increased by 48.03%, 28.36%, 44.54%, 7.41%, 27.33%, 21.23% and 10.17%, respectively, and the average germination time was significantly shortened by 4.72%. Moreover, under normal temperature treatment (25 °C) GABA (0.5 mmol/L) could improve α -amylase activity and root activity, but did not reach the significant level, and had little effect on seed phenotype. Different from normal temperature, GABA significantly enhanced the α -amylase activity of *M. ruthenica* at the early germination stage (germination 4 d) under low temperature. It also improved the root activity, alleviated the slow growth of seedlings and slim seedlings, and promoted the growth and development of *M. ruthenica*. [Conclusion] The optimum GABA concentration to improve the cold tolerance of *M. ruthenica* is 0.5 mmol/L under low temperature.

Key words: γ -aminobutyric acid; low temperature; *Medicago ruthenica*; seed germination; α -amylase; root activity