



农业微生物丛书之十

赤 霉 素

中国农业科学院土壤肥料研究所

甘揚声 何德星

农 业 出 版 社

农业微生物丛书之十

赤 霉 素

中国农业科学院土壤肥料研究所

甘揚声 何德星

*

农业出版社出版

(北京西单布胡同7号)

北京市书刊出版业营业许可出字第106号

中华书局上海印刷厂印刷 新华书店发行

*

787×1092 耗1/32·5/8 印张13,000字

1959年2月第1版

1959年2月上海第1次印刷

印数:1—31,000 定价:(7)0.08元

统一书号:16144.574 59.2·京型

農業微生物叢書之十

赤 霉 素

中國農業科學院土壤肥料研究所

甘揚聲 何德星

農 業 出 版 社

目 录

一、緒言.....	3
二、赤霉素發酵法.....	4
三、赤霉素的化学及提煉.....	8
四、赤霉素的生理作用.....	10
五、赤霉素的应用.....	12
附录. 赤霉素在各国的实验例.....	15

一、緒 言

赤霉素是一种植物生長刺激素。它和抗生素同样是發酵工業的产物之一,但是,生成赤霉素的微生物系植物病原菌,它只刺激植物生長,而对动物不發生作用。

赤霉素和我們熟知的一些合成植物生長刺激素,例如,2,4-D、吲哚乙酸、 α -萘乙酸等,無論在化学構造上,在对植物的作用上,都是特殊不同的另一种物質。

产生赤霉素的植物病原菌,最有代表性的是水稻惡苗菌。但是,現在已知的还有几种植物的赤霉菌也能生成赤霉素,甚至發現某些高等植物也能生成極似赤霉素的物質。

在栽植水稻的东方国家,从中国起,到印度、朝鮮、越南、日本、錫蘭等地方,人們很早就知道由惡苗菌引起的水稻惡苗病。病菌寄生的稻秧有时比普通苗徒長好几倍,莖叶細長、顏色較淡,并在地上莖节处生出白根,以后就慢慢枯死。

有趣的是,本菌可以生成刺激植物生長的赤霉素,而在某种培养条件下,却产生抑制植物生長的鐮刀菌酸这样两种作用相反的物質。

近年来,各国农业試驗机构进行了一系列利用赤霉素促进植物生長及提高收获量的試驗。因而,对某些植物我們現在已經可以控制其生長并增加产量。但是,有許多实际应用的可能性还处在实验阶段。

無疑的,赤霉素已在植物生活的科学領域中打开了一个新

的阶段。我們不仅要进一步研究利用它来控制所有植物生活过程，还要繼續寻找新的刺激素，試驗它們对农作物的作用，以提高我們的农業生产力。

二、赤霉菌發酵法

(一)菌种的分离鑑定 赤霉菌的寄主范围很广泛，主要有水稻、甘蔗、玉米和棉花。这里介紹水稻恶苗菌的分离培养。

1. 常用的培养基有下述几种(pH 值在 3—4)：

(1)	甘 油	3%	酒石酸	0.3%
	氯化铵 NH_4Cl	0.25%	硫酸亞鉄 FeSO_4	0.005%
	單磷酸鉀 KH_2PO_4	0.5%	硫酸鋅 ZnSO_4	0.005%
	硫酸鎂 MgSO_4	0.5%		
(2)	葡萄糖	2%	單磷酸鉀	0.8%
	硫酸鎂 MgSO_4	0.8%	硫化铵	0.8%
(3)	碳酸鎂 MgCO_3	0.8克	硫酸亞鉄	0.001克
	食鹽	0.2克	蔗 糖	20克
	硝酸鉀 KNO_3	1克	水	1公升
(4)	葡萄糖	5%	碳酸鎂	0.027%
	酒石酸	0.266%	碳酸铵	0.017%
	酒石酸铵	0.266%	硫酸鋅	0.005%
	磷酸鉄	0.04%	硫酸亞鉄	0.005%
	碳酸鉀	0.04%		
(5)	葡萄糖	8%	硫酸鋅	0.0002%
	硝酸铵 NH_4NO_3	0.24%	硫酸錳 MnSO_4	0.00002%
	硫酸鎂	0.1%	硫酸銅 CuSO_4	0.00003%
	單磷酸鉀	0.5%	鉬酸鉀 K_2MoO_4	0.00002%
	硫酸亞鉄	0.0002%		

固体培养基则在培养液中添加 3% 琼脂，其作法可将双倍浓度的培养液和琼脂水分别在 15 磅高压灭菌 30 分钟。使用前，将两液加热（琼脂要溶化），以 1:1 比例混合摇匀。

2. 从秧田采集徒长最厉害的恶苗病秧，将根上土洗去，稍干后，剪下茎根各处呈红褐色的病斑部分，切成小片并混合均匀，以镊子挑取少量摆在预先准备好的置有固体培养基的二重皿中，每皿内可隔适当距离摆五、六处，在 25—28°C 下培养数日后，即见在其周围形成白絮状菌丛，不久，根据菌种生理小种的不同而产生粉红色、橙黄色、紫色等红色系的色素。

本菌无性时代系半知菌纲的镰刀菌属，后来发现其有性时代而移至子囊菌纲的赤霉菌属。以显微镜观察其菌丝系多横分枝的，有隔膜，并产生大小二种分生孢子（图 1、2、3）。

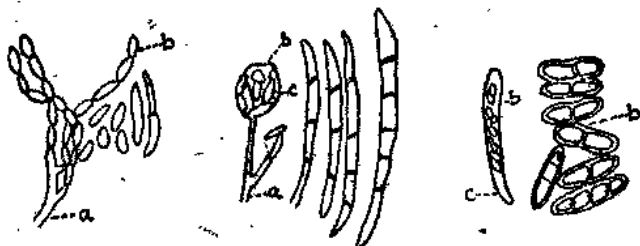


图 1 小分生孢子

a. 担子梗 b. 孢子

图 2 大分生孢子

a. 担子梗 b. 子囊 c. 孢子

图 3 子囊

b. 孢子 c. 子囊

(二) 定性定量分析法 为了选拔优良菌种，研究发酵提炼过程及其他目的，急需一种迅速准确的定量法。遗憾的是，虽然到现在为止，试验过的理化学的定量法，例如，极谱分析、荧光分析、色层分析法等，还不能有令人满意的良好结果。故仍不得不采用生物试验的方法。这里介绍两种经我们试验结果较好的生物测定法。

1. 稻苗徒长法：在 50 毫升三角瓶内装入 20 克普通土壤和 8

毫升普通水。在 15 磅高压下灭菌 30 分鐘。

試驗前，在每瓶土壤上，布置經鹽水选及 1/1,000 升汞水灭菌后預先在定温箱發芽（芽長約达稻谷長度 1/2 者为宜）的稻种 4 粒，然后注入 2 毫升試驗溶液搖勻，置于 25—30°C 下經 1 星期左右，即表現显著反应，測定徒長程度比較之。

2. 白菜發芽法：經酸碱分別处理洗淨烘干的石英砂，置适当量于直徑 9 厘米的二重皿內，注加蒸餾水使之潤湿。將以試液浸漬过的种子隔适当距离佈置 8 粒，放在 25°C 左右温室内，以后每天补加蒸發水分。观察其發芽速度、發芽率及初期徒長程度。

3. 此外，利用赤霉素对馬鈴薯的催芽作用，以試液浸漬塊莖后埋在砂箱內，观察其發芽情况，对極低濃度（例如千万分之五）即能有非常敏感的反应，但需要時間較長，为其缺点。

（三）大量培养 由于优良菌种的分离或以紫外綫、X 綫、同位素鈷⁶⁰ 照射等方法改良菌种，單位發酵液的赤霉素产量也在不断提高，有人报告从 1 升發酵液提煉 540 毫克赤霉素，但，这显然不是最高極限。

培养条件对赤霉素生成量及赤霉素种类比例有重大影响。例如营养源的形态及濃度，意見不統一，有人主張以甘油为碳源，有人則推荐葡萄糖，葡萄糖濃度也由 0.25% 到 30% 等差异很大，这是因为和菌种及其他培养条件有关。适宜 pH 值及發酵过程中 pH 的变化因菌种而异，但是，以葡萄糖或甘油为碳源（1—3%），在 25°C 下，培养液 pH 值达 9.0 以上时即产生抑制植物生長的鐮刀菌酸而不产生赤霉素。注意不要用普通鉄桶發酵，并且在培养过程中通氣量以每分鐘通过培养液容量的 0.3—0.5 为宜。同时通入少量二氧化碳可增加赤霉素产量。

靜置培养約 28 天；通氣攪拌培养則 72—96 小时即可，但有人报告赤霉素生成量以 15 天为最高峯，因而提出赤霉素到底是

代謝产物还是自溶产物的問題。

不言而喻,在操作过程中要避免污染,通气时經過 1/1,000 升汞水及棉濾管,一般即可达到無菌目的。

我所附屬厂采用如下土洋結合的裝置,連續發酵,效果良好,特介紹供参考(圖 4、5)。

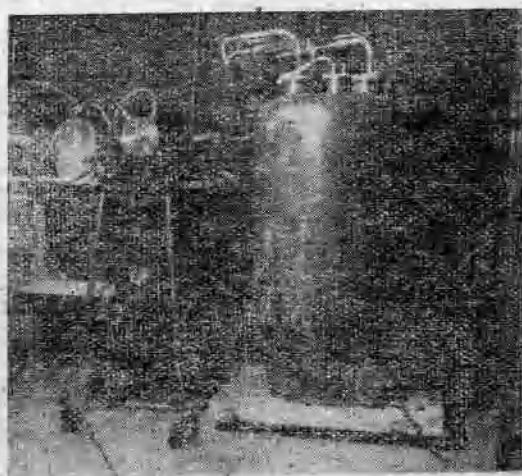


圖 4 赤霉素大缸發酵

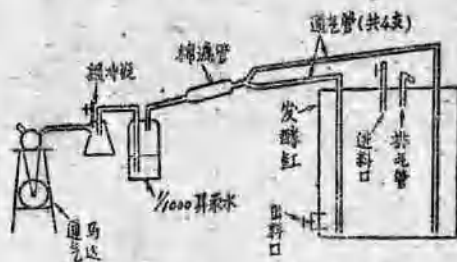


圖 5 赤霉素大缸(300升)發酵示意圖

圖中大缸的灭菌采用酒精燃燒,培养液則另行灭菌后灌注。

發酵是在保溫室內嚴格控制溫度在 $25-28^{\circ}\text{C}$ 下進行。

首先準備大量種子液，第一次接種約大缸容量的 $1/3$ 左右種子液，以後每次從下面出口抽走一半發酵液，從上口補充培養液。

三、赤霉素的化學及提煉

(一) 赤霉素的性質 赤霉素分為 A、B、C 三種(圖6、7、8)。



圖6 赤霉素A結晶

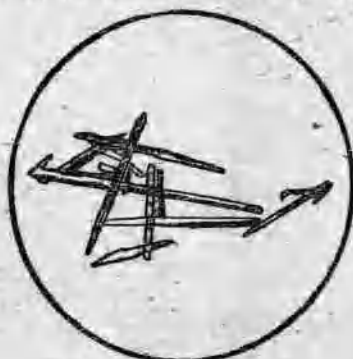


圖7 赤霉素B結晶

A 又可分為 A_1, A_2, A_3, A_4 。赤霉酸或赤霉素X系與赤霉素A₃ 同一物質。無論是赤霉素 A、B、C 都是生理上活性的，但，赤霉素A最活化，其中尤以 A_3 為最強。

一般成品的主要成分是赤霉素A，但也混合 B、C。其比例因菌種、發酵條件及提煉方法而異。



圖8 赤霉素C結晶

赤霉素是一种白色结晶，对酸较稳定，对碱不稳定，在酸性高温下即分解成生理不活性的异赤霉素。

赤霉素能溶于丙酮、乙醚、酯类、醇等，难溶于水。

赤霉素A系短柱状结晶，融点是 $240-244^{\circ}\text{C}$ ，旋光度是 $[\alpha]_{\text{D}} + 36.1^{\circ}$ ，具有 $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{O}_7$ 的分子式，能溶于浓硫酸，呈淡蓝色，后变成稳定的血红色。

赤霉素B是柱状结晶，融点 $197-199^{\circ}\text{C}$ ，旋光度 $[\alpha]_{\text{D}} - 82.3^{\circ}$ ，分子式 $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_5$ ，具有特殊吸收带，遇浓硫酸不呈色。其生理活化比赤霉素A弱，赤霉素B系将赤霉素A热水处理数小时或加稀硝酸加热到 $60-80^{\circ}\text{C}$ 即可获得，是A的分解生成物。

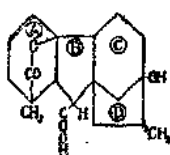
赤霉素C是将赤霉素A以稀酸煮沸后产生，柱状结晶，融点 $251-252^{\circ}\text{C}$ ，旋光度 $[\alpha]_{\text{D}} + 49.9^{\circ}$ ，分子式为 $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{O}_8$ ，其生理活性比B稍强。

无论何种赤霉素，变成酯类即失去生理活性。

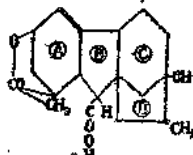
目前，赤霉素的化学构造虽提出几种方案，还没有定讞。

例如 A_3 的构造式提出两种推定构造式，意见未统一，须从各种角度加以讨论。

赤霉素 A_3 的两种推定构造式



(I)



(II)

(二) 几种提炼方法 赤霉素提炼方法很多，方法也愈来愈简化，这里仅介绍主要的几种。

1. 将培养液滤去菌丝体后，在滤液中加入 1% 活性炭搅拌吸着。过滤稍干后以 pH9 的甲醇氨（用量为活性炭的 10—20倍）

振盪溶出，在 50°C 以下減壓濃縮為 $1/10$ 量，以硫酸調節 pH 為 2.0 後以乙酸乙酯抽出 3—5 次，以減壓除去溶劑，加入微量粗結晶于殘液，置于冰箱析出赤霉素結晶。成品大部分系 A_1 — A_4 的混合物。

2. 在培養液中加 1% 活性碳吸着乾燥後以含 20—30% 水分的丙酮浸出，浸液在減壓蒸餾後，余下水溶濃縮液。用等量乙酸乙酯浸漬 2 次。這乙酸乙酯溶液再用 0.25 容量的 pH6.2 磷酸緩沖液〔單磷酸鉀 272 克，氫氧化鉀 (KOH) 48 克，水 2 公升〕浸漬 2 次。在減壓下濃縮後即可得赤霉素。

3. 由培養濾液吸着赤霉素的活性碳，以 10 倍量含 5% 的濃氨水的甲醇浸出，過濾後重復上述手續，合併 2 次浸液，在 30°C 下進行減壓蒸餾。以 $12\text{NH}_4\text{SO}_4$ 酸化所得的乳狀液用等量乙酸乙酯浸出一次，再用 $1/3$ 量的乙酸乙酯提取 3 次，合併提取液，用少量水洗到硫酸反應很弱。將此液在真空下濃縮。再將濃縮液用無水乙酸乙酯——苯 (50 : 50) 處理幾次，移去所有水分，濃縮後即得白色結晶。過濾取出後，再濃縮母液可得兩次結晶。

4. 另有一種提取粗結晶的簡易方法，系將培養液過濾後，把濾液濃縮成 $1/10$ — $1/30$ 量，加等量乙醚在分液漏斗激烈振盪，放置一星期（在這期間內要不斷振盪）後，赤霉素即移行到乙醚中，濃縮後即析出赤霉素粗結晶。

四、赤霉素的生理作用

（一）赤霉素對植物生長的影响 植物體的生長起因于細胞分裂與細胞伸長。過去一直認為赤霉素作用于植物促進細胞伸長，因而使植物體顯著成長。最近有人証明，赤霉素還能促進細胞分裂。赤霉素不影响動物細胞，可能因為赤霉素只作用于細

胞膜由纖維素或類似物質構成的植物細胞，而對細胞膜不由纖維素或類似物質構成的動物細胞不發生作用。

赤霉素對微生物的影響，過去以酵母及幾種細菌試驗的結果是否定的。但最近有人報告赤霉素能刺激固氮菌及藍藻等土壤微生物。

赤霉素促進植物幼細胞的生長，遠遠超過對於已分化的成細胞。其在植物組織間移動的速度在玉蜀黍節間大約是 5—10 毫米/小時。

赤霉素處理的植物一般都減少葉綠素，這說明赤霉素似與同化作用無關。

赤霉素對植物體內酶活力的消長有密切關係，其作用因植物體部位及酶種類而異。

一般認為赤霉素對植物根無明顯作用，但有時也有良好影響，例如有人試驗對玉蜀黍的某些系統在一定濃度範圍內即增加了根的生長。

經赤霉素處理的植物一般都可增加全干物重，纖維素，半纖維素，及含氮物等，這當然和肥料施用量也有關。

赤霉素影響矮生植物的生長最顯著，例如使矮生型排樹發育成高大的植物，使叢生菜豆變成攀援型等，並且是在很短時間內即生效。

(二)其他生理作用 赤霉素能解除塊莖與種子的休眠狀態，其作用比通常用於解除休眠的硫脲，氯乙醇等更迅速。

牡丹類種子的後熟一般須經低溫處理，而赤霉素則可代替這種低溫的作用。

赤霉素能使許多植物葉形變化，能防止植物移植後的生長抑制。

赤霉素能使一些為了開花或營養生長需要長日照的植物在

短日照下开花或打破休眠。这就是說，赤霉素能部分地代替光的作用。

在赤霉素的影响下，植物往往产生單性结实。它还能刺激花粉發芽，增加花粉管長度，这在某些近緣杂交的場合下具有十分重大的意义。

赤霉素能影响植物提早开花，增加结实率，这是促进营养生長及加速發育向成熟移行的結果，并不是直接影响开花本身的过程。

有趣的是，最近从某些高等植物的种子、果实中抽出極似赤霉素的物質，这种物質的作用与赤霉素 A 的作用沒有区别。

(三)赤霉素与其他植物生長刺激素的比較 已知的合成植物生長刺激素，例如2,4-D, 吲哚乙酸， α -萘乙酸等，無論在化学構造上，在对植物的作用上都和赤霉素不同。首先赤霉素对燕麦測定法，豌豆測定法等試驗方法全無反应，对愈伤組織的形成或根的創成也無作用。

赤霉素能使側芽發育，并且对植物的影响不受光綫影响。这一点同抑制所有側芽生長的吲哚化合物有很大区别。

一般地說，赤霉素与合成植物生長素之間存在着抵抗作用，但有时也能相互強化地作用。

此外，赤霉素能使矮生植物的生長正常化，而吲哚乙酸系的生長素則無此作用。

最后根据某些材料計算，赤霉素比其他合成植物刺激素的活化程度要高达 500 倍。

五、赤霉素的应用

(一)应用效果 利用赤霉素对植物多方面的作用以提高农

作物產量和質量的應用試驗，近年來在各國農業試驗機構逐漸開展，並取得相當成果。

赤霉素的效果不僅因植物種類而異，並與其用量、使用方法、使用時期以及和施肥、栽培管理等一系列農業技術措施都有密切關係。

下面簡單介紹其應用方面的主要效果（參閱附錄：赤霉素在各國的實驗例）。

1. 促進作物發育：赤霉素對植物最顯著的作用之一就是促進發育——加速發育過程及增大植物體。

各種蔬菜，如菠菜、芹菜、白菜、甘藍、黃瓜、番茄、萵苣等等，噴射赤霉素後都提早收穫期。例如對芹菜噴射 2ppm 赤霉素溶液時，株高為對照的 2 倍，鮮重和干重的均增加 1.5 倍，而且提早 45 天收穫。

現在在北京郊區栽植白菜，利用赤霉素可以十幾天收穫一次。

對茶葉新芽噴射赤霉素後，顯著加速生長，增加採茶次數，而其成分不變。

看來，利用赤霉素來實現農作物的多季栽培以及調節植物生長以防避各種自然災害的可能性是很大的。那時，整個農業地帶的農作物分布情況，將會有所改變。

2. 促進開花：不僅可以促進各種花卉開花，在生產實踐上重要的是，甚至可使甜菜、胡蘿卜、洋蔥這類二年生植物在栽植當年就開花結實。

3. 解除休眠及促進種子發芽：可利用於薯類、球根、苗木的休眠解除。例如以 0.5ppm 溶液浸漬馬鈴薯塊莖一次即能顯著催芽（圖 9）並增加產量二、三倍。此外以低濃度即能促進各種植物種子的發芽。

4. 增加产量: 赤霉素处理可显著增加葡萄、草莓、杏、无花果等水果的收获量。尤其使葡萄果粒增大, 增加糖分, 甚至使副梢也能结果(图 10)。

此外, 使棉花、亚麻等纤维作物增产, 而纤维强度不变。并可获得长毛棉。

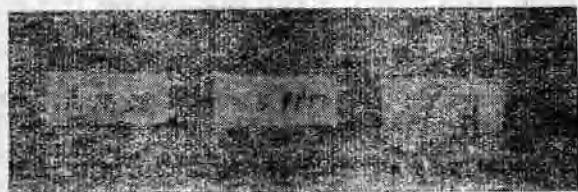


图 9 赤霉素对马铃薯的促芽作用(15天)

以上列述的几种主要效果仅是应用上的一部分, 更多的有待今后在实践中继续摸索。现在, 这方面每天都有新的成果出来, 附录的实验例系最新的成果总结, 可为实践上的参考。

(二) 使用方法 赤霉素的使用方法因植物种类(甚至不同品种)及其他条件而异。非常复杂。至今还未确立一套全面详细成熟的方法。

一般使用的浓度范围在 1—100ppm, 也有个别较高或较低的, 应根据试验结果确定, 不适宜的高浓度会使植物受到药害。

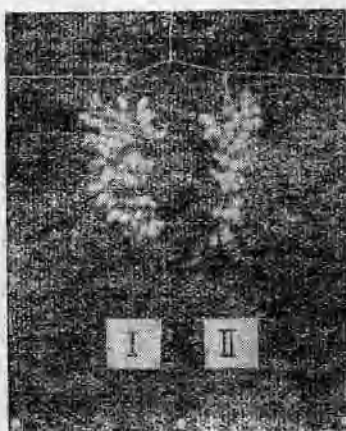


图 10 赤霉素使葡萄副梢结果及增大果粒

I. 以 100ppm 液喷射花蕾(副梢);

II. 对照; 比处理者早一个月开花。

使用时期一般在植物幼小时期效果较为显著，但有时是在其他发育阶段使用。

使用次数也因植物种类、生育状态而异，一般以1—3次为标准，根据反应效果再适当增加亦可。

赤霉素处理的植物一般都需要施用较多肥料。赤霉素可以和尿素混合喷射。

较常用的使用方法有下列数种，根据具体情况灵活采用：

1. 浸种：以较低温度在播种前浸种。注意浸渍时间和浓度。
2. 喷射：系最常用的方法，喷射叶面、生长点或花蕾上。
3. 点滴：滴几滴溶液在生长点上。
4. 涂抹：与羊毛脂混合（一般是1%），涂一点在植物茎上或生长点上。适用于树木等高大植物。
5. 施入土壤中使植物根吸收，可与肥料混拌同时施入。
6. 注意不要用没有杀死赤霉菌的培养液或浓缩液直接使用，以免引起恶苗病菌蔓延。

附录： 赤霉素在各国的实验例

类别	作物种类	使用 方 法	效 果
根	小 麦	0.01—100ppm由根部吸收	茎长增加72%，1—10ppm效果最好，增加干重、鲜重，但根重减少
		1—100ppm浸种14小时	促进发芽
	玉 蜀 黍	用0.1—100ppm喷射叶面，或每株用0.01—20微克处理幼苗顶端	显著增加茎长，后期作用减少，结合施肥可防止白化现象
		10—100ppm喷射	增加地上部分重量及产量
棉	大 豆	0.1, 1, 10 及 100ppm 喷射叶面	茎伸长 300%，0.1ppm 即反应，100ppm 显著
		每株每天处理 1—10 微克连续 4 星期	茎伸长，不开花
	小 豆	喷射10ppm液	显著增加产量（增产70%）