

· 药学基础 ·

# EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪种子萌发、幼苗生长和类黄酮合成关键酶活性的影响

梁泰帅<sup>1</sup>, 赵肖琼<sup>2</sup>, 高建平<sup>1\*</sup>

(1. 山西医科大学药学院, 太原 030001; 2. 太原工业学院, 太原 030008)

**[摘要]** 目的:研究外源不同浓度24-表油菜素内酯(EBR)对干旱胁迫条件下蒙古黄芪种子萌发、幼苗生长及类黄酮合成关键酶活性的影响,为规范化蒙古黄芪抗旱栽培技术提供理论参考。方法:以蒙古黄芪种子为试材,探讨不同浓度EBR溶液(0.001, 0.01, 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )浸种和叶面喷施处理对20%聚乙二醇(PEG)-6000模拟干旱胁迫条件下蒙古黄芪种子萌发、幼苗生长、光合作用、叶绿素和丙二醛(MDA)含量及类黄酮合成关键酶活性的影响。结果:相比空白组(CK),PEG胁迫下蒙古黄芪种子的发芽势,发芽率,发芽指数,活力指数,相对发芽率,株高,根长,地上部和根部干重,净光合速率( $P_n$ ),气孔导度( $G_s$ ),蒸腾速率( $T_r$ ),叶绿素含量,叶绿素a/b值均显著降低,而胞间二氧化碳浓度( $C_i$ ),MDA和类黄酮含量及苯丙氨酸解氨酶(PAL)等类黄酮合成关键酶活性均显著增加。外源适宜浓度的EBR溶液处理可明显提升蒙古黄芪种子和幼苗对PEG胁迫的适应性,其种子的发芽势,发芽率,发芽指数,活力指数,相对发芽率,株高,根长,地上部和根部干重, $P_n$ , $G_s$ , $T_r$ ,叶绿素a/b比值,叶绿素和类黄酮含量及PAL等类黄酮合成关键酶活性均显著增加, $C_i$ 和MDA含量显著降低,其中EBR溶液的最佳缓解浓度为0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。结论:外源适宜浓度EBR溶液处理能够通过上调蒙古黄芪类黄酮合成关键酶的活性促进类黄酮合成,减轻20%PEG胁迫对种子萌发和幼苗生长的抑制效应,降低叶片氧化损伤,在一定程度上提高了植株的抗逆性。

**[关键词]** 24-表油菜素内酯(EBR); 聚乙二醇(PEG)胁迫; 蒙古黄芪; 种子萌发; 幼苗生长; 类黄酮合成

**[中图分类号]** R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)17-0139-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.20211114

**[网络出版地址]** <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20210624.1555.002.html>

**[网络出版日期]** 2021-06-24 17:20

## Effect of EBR on Seed Germination, Seedling Growth and Key Enzyme Activities for Flavonoid Biosynthesis in *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* Under PEG-induced Drought Stress

LIANG Tai-shuai<sup>1</sup>, ZHAO Xiao-qiong<sup>2</sup>, GAO Jian-ping<sup>1\*</sup>

(1. College of Pharmacy, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China;

2. Taiyuan Institute of Technology, Taiyuan 030008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effects of 24-epibrassinolide (EBR) at different concentrations on seed germination, seedling growth and key enzyme activities for flavonoid biosynthesis in *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* under polyethylene glycol (PEG)-induced drought stress, in order to provide theoretical reference for standardizing the drought-resistant cultivation techniques of *A. membranaceus* var. *mongholicus*. **Method:** The seeds of *A. membranaceus* var. *mongholicus* were soaked in EBR solution at different concentrations (0.001, 0.01, 0.1, 1, 10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ) followed by foliar spraying to explore their effects

**[收稿日期]** 20210520(003)

**[基金项目]** 国家重点研发计划项目(2019YFC1710801);山西省黄芪资源产业化及产业国际化协同创新中心项目(HQXTCXZX2016-002);山西医科大学青年基金项目(02201616)

**[第一作者]** 梁泰帅, 硕士, 实验师, 从事中药微量元素吸收与代谢机制研究, E-mail: taishuai\_liang@163.com

**[通信作者]** \*高建平, 博士, 教授, 从事分子生药学、中药鉴定学研究, E-mail: jpgao123@163.com

on seed germination, seedling growth, photosynthesis, chlorophyll and malondialdehyde (MDA) contents, and key enzyme activities for flavonoid biosynthesis under drought stress induced by 20% polyethylene glycol (PEG)-6000. **Result:** Compared with the control (CK) group, PEG-induced drought stress led to an obvious decrease in germination potential, germination rate, germination index, vigor index, relative germination rate, plant height, root length, aboveground and root dry weight, net photosynthetic rate ( $P_n$ ), stomata conductance ( $G_s$ ), transpiration rate ( $Tr$ ), chlorophyll contents and chlorophyll a/b ratio, while a significant increase in intercellular carbon dioxide concentration ( $G_i$ ), MDA, flavonoids contents, and key enzyme activities for flavonoid biosynthesis such as phenylalanine ammonia lyase (PAL). The treatment with exogenous EBR solution at the suitable concentration significantly enhanced the adaptation of *A. membranaceus* var. *mongholicus* seeds and seedlings to PEG-induced drought stress, manifested as significantly elevated germination potential, germination rate, germination index, vigor index, relative germination rate, plant height, root length, aboveground and root dry weight,  $P_n$ ,  $G_s$ ,  $Tr$ , chlorophyll a/b ratio, chlorophyll and flavonoids contents and key enzyme activities for flavonoid biosynthesis like PAL while lowered  $C_i$  and MDA contents. The optimal concentration of EBR solution was  $0.1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ . **Conclusion:** Exogenous EBR solution at the suitable concentration ameliorates the inhibitory effect of 20% PEG stress against seed germination and seedling growth of *A. membranaceus* var. *mongholicus*, reduces the oxidative damage in leaves, and improves the stress resistance to a certain extent by up-regulating the key enzyme activities and promoting flavonoid synthesis.

[**Keywords**] 24-epibrassinolide (EBR); polyethylene glycol (PEG)-induced drought stress; *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*; seed germination; seedling growth; flavonoid synthesis

蒙古黄芪为豆科黄芪属多年生草本植物,是晋产道地药材恒山黄芪的基源植物,其干燥根入药,具有益气升阳、固表止汗等功效<sup>[1-2]</sup>。近年来,随着全球持续变暖、土壤盐渍化程度剧增及生态环境的破坏,我国干旱灾害问题日益凸显,大部分产区黄芪在生长过程中遭遇不同程度的干旱胁迫,导致植株正常生长及类黄酮等药效成分的合成受到抑制,影响黄芪的产量和质量,进而制约黄芪的产业化发展及临床疗效<sup>[3-4]</sup>。因此,深入分析蒙古黄芪对干旱胁迫的适应能力及抵抗能力是解决黄芪药材生产实际的关键手段。

24-表油菜素内酯(EBR)是一种人工合成的高活性油菜素内酯(BR)类似物,属于新型植物生长调节剂,在调控植物响应逆境胁迫方面表现出重要的正向作用<sup>[5-6]</sup>。例如,EBR处理能提升低氧胁迫下黄瓜叶片可溶性总糖、葡萄糖等碳水化合物向根系的转运及根系蔗糖合酶、醛缩酶等糖酵解代谢酶的活性,增强黄瓜幼苗的低氧耐性<sup>[7]</sup>;施用 $0.01 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR能够降低NaCl胁迫下燕麦体内的 $\text{Na}^+$ 和 $\text{Cl}^-$ 含量,促进根系对 $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ 等离子离子的吸收,维持燕麦体内的离子稳态平衡<sup>[8]</sup>;EBR可明显增强铅胁迫下玉米幼苗的抗氧化酶活性及叶绿素含量,降低脯氨酸累积,从而缓解铅胁迫对玉米幼苗的毒害作用<sup>[9]</sup>。目前关于EBR提高药用植物特别是蒙古黄

芪抗旱性的研究鲜有报道。为进一步探讨EBR对干旱胁迫下蒙古黄芪种子萌发、幼苗生长和类黄酮合成关键酶活性的影响规律,本研究采用水培试验,探究外源不同浓度EBR溶液浸种和叶面喷施对20%聚乙二醇(PEG)-6000模拟干旱胁迫条件下蒙古黄芪种子萌发、幼苗生长、光合作用参数、叶绿素和MDA含量及类黄酮合成关键酶活性的影响,以期期为外源EBR在黄芪药用植物抗旱栽培方面的合理使用提供理论依据和新思路。

## 1 材料

黄芪种子购于河北省安国市北方药材种子分公司,经山西医科大学药学院中药学教研室高建平教授鉴定为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* 的种子。

EBR(批号S18014,纯度92%),PEG-6000(批号S30192,化学纯),芦丁对照品(批号Y30742,纯度>98%)均购于上海源叶生物科技有限公司;查耳酮合成酶(CHS,批号JLC11419)和黄酮合酶(FNS,批号m1062191)酶联免疫吸附法试剂盒,均购于北京金天然科技发展有限公司,其他试剂均为分析纯。

LHP-150型恒温培养箱(常州冠军仪器制造有限公司);HZ-104/35S型1/10万电子天平(上海全扶实业有限公司);LI-6400型便携式光合作用仪(美国LI-COR公司);UV-8000T型紫外-可见分光光度计

(上海元析仪器有限公司);DNM-9602A型酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司);TGL-16M型高速冷冻离心机(济南鑫驰医疗科技有限公司)。

## 2 方法

**2.1 萌发试验** 精选健康饱满、均匀一致的蒙古黄芪种子,经65%浓硫酸破除硬实处理5 min,清水冲洗30 min,0.1%的 $\text{HgCl}_2$ 常规消毒20 min,蒸馏水洗净后,均匀摆放于铺有双层滤纸的培养皿中,每皿100粒种子,分别加入蒸馏水(CK),20% PEG溶液(T0),20% PEG溶液+0.001  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR(T1),20% PEG溶液+0.01  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR(T2),20% PEG溶液+0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR(T3),20% PEG溶液+1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR(T4),20% PEG溶液+10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  EBR(T5)进行处理,每个处理设置3次重复,PEG和EBR溶液浓度设计根据预实验和参考文献[6]确定(下同)。萌发试验在温度25  $^{\circ}\text{C}$ ,光周期12 h/12 h,光强2 000 lx的恒温培养箱中进行,每日观察并记录种子发芽数,分别在第4天计算发芽势和第7天计算发芽率等相关指标,试验结束时每皿随机取10株幼苗测量胚根长。发芽势(GP),发芽率(GR),发芽指数(GI)及活力指数(VI)的计算按照已报道的方法<sup>[10-11]</sup>;相对 $GR = GR_{\text{处理}} / GR_{\text{CK}} \times 100\%$ <sup>[11]</sup>;相对PEG伤害率 $= (GR_{\text{CK}} - GR_{\text{处理}}) / GR_{\text{CK}} \times 100\%$ <sup>[12]</sup>。

**2.2 生长试验** 精选健康饱满、均匀一致的蒙古黄芪种子,经65%浓硫酸破除硬实处理5 min,清水冲洗30 min,0.1%的 $\text{HgCl}_2$ 常规消毒20 min,蒸馏水洗净后催芽。待根系生长到1 cm时转移到1/2霍格兰氏(Hoagland)营养液中,每3 d更换1次营养液,培养条件为昼/夜温度25  $^{\circ}\text{C}$ /20  $^{\circ}\text{C}$ ,光周期14 h/10 h,光强10 000 lx。继续培养6周后,挑选长势一致的蒙古黄芪幼苗,设置5个处理,每个处理3盆,每盆12株幼苗。①CK,培养液为1/2 Hoagland营养液+叶面喷施蒸馏水;②T0,培养液为含20% PEG的1/2 Hoagland营养液(下同)+叶面喷施蒸馏水;③T1,叶面喷施0.001  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液;④T2,叶面喷施0.01  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液;⑤T3,叶面喷施浓度0.1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液;⑥T4,叶面喷施1  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液;⑦T5,叶面喷施10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液,每天上午10:00对植株叶面喷施蒸馏水或EBR溶液,以喷至叶片滴液为宜,于处理第7天收取蒙古黄芪幼苗植株测定相关指标。

**2.3 幼苗生长生理指标测定** 生长指标测定,每个处理随机取10株幼苗测定株高、根长,将植株分为地上部和根部,80  $^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重后称得干重。

光合参数测定:每盆选取植株顶部往下第3至5片完全展开的功能叶各3片并进行标记,在晴天上午9:00~11:00采用LI-6400型便携式光合作用仪测定叶片的净光合速率( $P_n$ ),气孔导度( $G_s$ ),蒸腾速率( $T_r$ )和胞间二氧化碳浓度( $C_i$ )。

叶片生理指标测定:叶绿素含量测定采用文献[13]的方法;丙二醛(MDA)含量测定文献[14]的方法;类黄酮的提取及含量测定参照文献[15]的方法;类黄酮合成关键酶苯丙氨酸解氨酶(PAL),肉桂酸4-羟化酶(C4H),4-香豆酰辅酶A连接酶(4CL)活性的测定按照文献[16]的方法;查耳酮异构酶(CHI)活性的测定参考文献[17]的方法;CHS和FNS活性的测定采用酶联免疫试剂盒。

**2.4 数据处理** 采用WPS Office 2019进行试验数据整理,SPSS 19.0进行数据方差分析和最小显著性差异法(LSD),以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 3 结果与分析

### 3.1 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪种子萌发的影响

相比CK组,T0组明显降低了蒙古黄芪种子的萌发特性,其发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数和相对发芽率分别降低了19.63%,23.46%,24.02%,45.73%和23.46%,而相对PEG伤害率增加了23.46%。相比T0组,T1~T5组不同程度促进了蒙古黄芪种子的萌发,且发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数和相对发芽率均随着EBR浓度的增加呈先升高再降低趋势,T3组增幅最大,分别较T0组显著提高了19.08%,25.55%,26.04%,63.85%和25.55%;而相对PEG伤害率随着EBR浓度的增加呈先降低再升高趋势,T3组降幅最大。见表1。

### 3.2 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗生长特性的影响

与CK组相比,T0组明显抑制了蒙古黄芪幼苗的生长,其株高、根长、地上部和根部干重分别降低了36.13%,30.71%,36.84%和52.17%。相比T0组,T1~T5组可不同程度促进蒙古黄芪幼苗的生长,且株高、根长、地上部和根部干重均随着EBR浓度的增加呈先升高再降低趋势,T3组增幅最大,分别较T0组显著提高了41.80%,35.63%,37.50%和100.00%。见表2。

### 3.3 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片光合特性的影响

T0组蒙古黄芪幼苗叶片 $P_n$ , $G_s$ 和 $T_r$ 较CK组分别显著降低了47.96%,29.77%和53.77%,而 $C_i$ 显著增加了101.05%。相比T0组,T1~T5组 $P_n$ , $G_s$ 和 $T_r$ 均显著增加,而 $C_i$ 显著降低,其中T3组增降幅度最

表1 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪种子萌发的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 1 Effect of EBR on seed germination of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* under PEG stress ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	发芽势/%	发芽率/%	发芽指数	活力指数	相对发芽率/%	相对PEG伤害率/%
CK	54.33±1.53 <sup>a</sup>	59.67±2.08 <sup>a</sup>	15.83±0.41 <sup>a</sup>	36.93±2.42 <sup>a</sup>	100.00	0.00
T0	43.67±0.58 <sup>e</sup>	45.67±1.53 <sup>d</sup>	12.03±0.27 <sup>e</sup>	20.04±1.39 <sup>f</sup>	76.54	23.46
T1	45.33±1.15 <sup>de</sup>	49.33±0.58 <sup>c</sup>	12.87±0.14 <sup>d</sup>	23.17±1.29 <sup>de</sup>	82.68	17.32
T2	47.33±1.53 <sup>cd</sup>	53.33±1.53 <sup>b</sup>	13.91±0.38 <sup>c</sup>	25.05±1.39 <sup>cd</sup>	89.39	10.61
T3	52.00±1.00 <sup>b</sup>	57.33±1.53 <sup>a</sup>	15.16±0.27 <sup>b</sup>	32.84±0.88 <sup>b</sup>	96.09	3.91
T4	48.33±0.58 <sup>c</sup>	53.67±0.58 <sup>b</sup>	13.88±0.20 <sup>c</sup>	26.84±0.80 <sup>c</sup>	89.94	10.06
T5	45.67±1.53 <sup>de</sup>	50.00±2.00 <sup>c</sup>	12.85±0.33 <sup>d</sup>	21.42±1.48 <sup>ef</sup>	83.80	16.20

注:同列不同小写字母表示组间差异显著( $P<0.05$ ,表2~5同)。

表2 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗生长特性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 2 Effect of EBR on growth characteristics of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedlings under PEG stress ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	株高/cm	根长/cm	每株地上部干重/g	每株根部干重/g
CK	12.73±0.45 <sup>a</sup>	16.07±0.35 <sup>a</sup>	0.25±0.01 <sup>a</sup>	0.077±0.006 <sup>a</sup>
T0	8.13±0.21 <sup>f</sup>	11.13±0.31 <sup>e</sup>	0.16±0.01 <sup>e</sup>	0.037±0.006 <sup>d</sup>
T1	8.77±0.15 <sup>e</sup>	11.83±0.40 <sup>d</sup>	0.18±0.01 <sup>d</sup>	0.043±0.006 <sup>cd</sup>
T2	9.67±0.25 <sup>d</sup>	13.50±0.40 <sup>c</sup>	0.20±0.01 <sup>c</sup>	0.057±0.006 <sup>b</sup>
T3	11.53±0.25 <sup>b</sup>	15.10±0.30 <sup>b</sup>	0.22±0.01 <sup>b</sup>	0.073±0.006 <sup>a</sup>
T4	10.47±0.25 <sup>c</sup>	13.53±0.29 <sup>c</sup>	0.21±0.01 <sup>bc</sup>	0.053±0.006 <sup>bc</sup>
T5	8.97±0.21 <sup>e</sup>	11.23±0.35 <sup>de</sup>	0.18±0.01 <sup>d</sup>	0.043±0.006 <sup>cd</sup>

大, $Pn$ , $Gs$ 和 $Tr$ 分别较T0组增加了70.45%,32.17%和86.13%, $Ci$ 较T0组降低了43.29%。见表3。

表3 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片光合特性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 3 Effect of EBR on leaves photosynthetic characteristics of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedlings under PEG stress ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	$Pn/\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$Gs/\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$Tr/\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$	$Ci/\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$
CK	17.79±0.38 <sup>a</sup>	185.30±6.78 <sup>a</sup>	7.67±0.31 <sup>a</sup>	183.00±8.03 <sup>g</sup>
T0	9.26±1.08 <sup>e</sup>	130.14±4.56 <sup>f</sup>	3.54±0.23 <sup>f</sup>	367.91±7.70 <sup>a</sup>
T1	12.00±0.05 <sup>d</sup>	144.30±4.42 <sup>e</sup>	3.90±0.12 <sup>e</sup>	292.52±8.70 <sup>c</sup>
T2	14.08±0.73 <sup>c</sup>	162.96±3.00 <sup>e</sup>	4.77±0.18 <sup>d</sup>	258.04±7.12 <sup>d</sup>
T3	15.78±0.70 <sup>b</sup>	172.00±3.52 <sup>b</sup>	6.61±0.16 <sup>b</sup>	208.64±7.43 <sup>f</sup>
T4	14.88±0.30 <sup>bc</sup>	153.35±3.49 <sup>d</sup>	6.60±0.11 <sup>b</sup>	241.51±10.91 <sup>e</sup>
T5	11.59±0.70 <sup>d</sup>	141.84±3.20 <sup>e</sup>	5.26±0.21 <sup>c</sup>	315.22±5.92 <sup>b</sup>

3.4 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片叶绿素含量的影响 相比CK组,T0组显著降低了蒙古黄芪幼苗叶片的叶绿素含量及叶绿素a/b值,其叶绿素a,叶绿素b,叶绿素(a+b)含量及叶绿素a/b值分别降低了38.91%,22.79%,35.43%和20.96%。相比T0组,T1~T5组叶绿素a,叶绿素b,叶绿素(a+b)含量及叶绿素a/b值均有不同程度增加,T3组增幅最大,分别显著增加了57.29%,26.64%,49.39%和24.24%。见表4。

3.5 EBR对PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片MDA,类黄酮含量及类黄酮合成关键酶活性的影响 T0组蒙古黄芪幼苗叶片MDA,类黄酮含量及PAL,C4H,4CL,CHS,FNS,CHI活性较CK组均显著增加,分别增加了127.72%,25.19%,119.00%,70.52%,27.05%,31.48%,38.49%和42.14%。相比T0组,T1~T5组可不同程度显著降低蒙古黄芪幼苗叶片MDA含量,T3组MDA含量显著降低了35.49%,降幅最大;而T1~T5组类黄酮含量及PAL,C4H,4CL,

表 4 EBR 对 PEG 胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片叶绿素含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 4 Effect of EBR on chlorophyll contents in leaves of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedlings under PEG stress ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	叶绿素 a/mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 b/mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 (a+b)/mg·g <sup>-1</sup>	叶绿素 a/b 值
CK	1.79±0.01 <sup>a</sup>	0.49±0.02 <sup>a</sup>	2.28±0.02 <sup>a</sup>	3.64±0.16 <sup>a</sup>
T0	1.09±0.03 <sup>f</sup>	0.38±0.00 <sup>c</sup>	1.47±0.03 <sup>f</sup>	2.88±0.09 <sup>d</sup>
T1	1.36±0.01 <sup>e</sup>	0.44±0.04 <sup>b</sup>	1.80±0.04 <sup>de</sup>	3.13±0.32 <sup>cd</sup>
T2	1.57±0.03 <sup>e</sup>	0.48±0.02 <sup>a</sup>	2.05±0.03 <sup>c</sup>	3.28±0.18 <sup>bc</sup>
T3	1.72±0.01 <sup>b</sup>	0.48±0.01 <sup>a</sup>	2.20±0.01 <sup>b</sup>	3.58±0.11 <sup>ab</sup>
T4	1.42±0.01 <sup>d</sup>	0.42±0.01 <sup>bc</sup>	1.84±0.02 <sup>d</sup>	3.42±0.16 <sup>abc</sup>
T5	1.36±0.04 <sup>e</sup>	0.41±0.01 <sup>bc</sup>	1.76±0.04 <sup>e</sup>	3.35±0.12 <sup>abc</sup>

CHS, FNS, CHI 活性均有不同程度增加 (T5 组 4CL 活性除外), T3 组增幅最大, 分别显著增加了 44.21%, 23.47%, 49.28%, 31.85%, 21.21%, 49.77% 和 32.55%。见表 5。

表 5 EBR 对 PEG 胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片 MDA, 类黄酮含量及类黄酮合成关键酶活性的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

Table 5 Effect of EBR on MDA, flavonoids contents and flavonoids synthetic key enzyme activities in leaves of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedlings under PEG stress ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	MDA /μmol·g <sup>-1</sup>	类黄酮 /mg·g <sup>-1</sup>	PAL /U·g <sup>-1</sup>	C4H /U·g <sup>-1</sup>	4CL /U·g <sup>-1</sup>	CHS /U·g <sup>-1</sup>	FNS /U·g <sup>-1</sup>	CHI /U·g <sup>-1</sup>
CK	3.05±0.23 <sup>f</sup>	8.58±0.25 <sup>f</sup>	0.12±0.001 <sup>f</sup>	0.48±0.006 <sup>g</sup>	0.90±0.03 <sup>e</sup>	0.39±0.01 <sup>f</sup>	0.23±0.02 <sup>f</sup>	0.022±0.002 <sup>e</sup>
T0	6.95±0.11 <sup>a</sup>	10.74±0.23 <sup>c</sup>	0.26±0.005 <sup>e</sup>	0.81±0.012 <sup>f</sup>	1.14±0.06 <sup>cd</sup>	0.52±0.02 <sup>e</sup>	0.31±0.01 <sup>e</sup>	0.032±0.002 <sup>d</sup>
T1	6.45±0.09 <sup>b</sup>	11.83±0.33 <sup>d</sup>	0.27±0.004 <sup>d</sup>	0.86±0.005 <sup>e</sup>	1.22±0.03 <sup>c</sup>	0.54±0.01 <sup>d</sup>	0.35±0.01 <sup>d</sup>	0.036±0.001 <sup>e</sup>
T2	5.69±0.10 <sup>d</sup>	13.46±0.28 <sup>b</sup>	0.29±0.003 <sup>c</sup>	0.93±0.004 <sup>d</sup>	1.34±0.05 <sup>b</sup>	0.56±0.01 <sup>c</sup>	0.39±0.01 <sup>c</sup>	0.037±0.001 <sup>bc</sup>
T3	4.48±0.17 <sup>e</sup>	15.49±0.16 <sup>a</sup>	0.32±0.004 <sup>a</sup>	1.21±0.005 <sup>a</sup>	1.50±0.02 <sup>a</sup>	0.63±0.00 <sup>a</sup>	0.47±0.01 <sup>a</sup>	0.042±0.002 <sup>a</sup>
T4	5.98±0.16 <sup>c</sup>	13.71±0.33 <sup>b</sup>	0.30±0.004 <sup>b</sup>	1.11±0.004 <sup>b</sup>	1.33±0.03 <sup>b</sup>	0.58±0.01 <sup>b</sup>	0.44±0.01 <sup>b</sup>	0.039±0.001 <sup>b</sup>
T5	6.63±0.07 <sup>b</sup>	12.38±0.28 <sup>c</sup>	0.27±0.000 <sup>d</sup>	1.00±0.005 <sup>c</sup>	1.08±0.10 <sup>d</sup>	0.54±0.01 <sup>cd</sup>	0.40±0.01 <sup>c</sup>	0.037±0.001 <sup>bc</sup>

#### 4 结论与讨论

种子萌发与幼苗生长是植物生命周期的重要阶段,也是植物易受逆境胁迫干扰的敏感时期,其优劣将直接影响植物的正常生长,并最终决定其产量和品质<sup>[18]</sup>。PEG-6000 是一种优良的高分子渗透剂,利用其高渗溶液模拟干旱逆境具有对植物无毒害作用、操作简单、重复性好等优点,已在植物抗旱性研究方面得到广泛应用<sup>[19]</sup>。本试验中,PEG 胁迫 (T0 组) 明显抑制了蒙古黄芪的种子萌发和幼苗生长,其发芽势、发芽率、发芽指数、活力指数、相对发芽率、株高、根长、地上部和根部干重均显著降低。外源 EBR 溶液浸种和叶面喷施处理能够不同程度缓解 PEG 胁迫对蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长的伤害,以 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> EBR 溶液的缓解效果最佳,这与常丹等<sup>[20]</sup>在棉花和马野等<sup>[21]</sup>在玉米方面的研究结果相似。

光合作用是植物有机物累积和能量获取的主要途径,是决定植物产量和品质的重要前提,但其

对干旱胁迫较为敏感<sup>[22]</sup>。轻度干旱胁迫或者干旱胁迫前期,气孔限制为 *Pn* 降低的主导因素,表现为植物气孔关闭,叶片对 CO<sub>2</sub> 的摄取减少, *Ci* 和 *Gs* 同时降低;重度干旱胁迫或者干旱胁迫后期,非气孔限制为 *Pn* 降低的主导因素,表现为 Rubisco 酶活性降低,叶肉细胞光合能力降低, *Ci* 升高而 *Gs* 降低<sup>[23]</sup>。叶绿素在植物光合作用中具有吸收转化光能和电子传递的重要作用,其含量直接反映植物的光合能力,而干旱胁迫能够促进已合成的叶绿素分解或者导致植株吸收营养元素困难引发缺素症状,使得叶绿素含量下降<sup>[24]</sup>。本试验中,PEG 胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片的叶绿素含量及叶绿素 a/b 比值, *Pn*, *Gs*, *Tr* 均显著降低,而 *Ci* 显著增加,说明非气孔限制为 *Pn* 降低的主导因素。叶面喷施 0.1 μmol·L<sup>-1</sup> 的 EBR 溶液能够明显提高 PEG 胁迫下蒙古黄芪幼苗的叶绿素含量及叶绿素 a/b 比值, *Pn*, *Gs*, *Tr*, 并显著降低 *Ci*, 这与王丽君等<sup>[22]</sup>在烤烟上的研究结果一致,说明外源 EBR 能够增强 PEG 胁迫下蒙古黄芪幼

苗的叶绿素含量及光合强度,一方面通过减缓叶绿素的降解程度而提升光合速率,另一方面通过减少叶片内的水分散失,避免因过度失水引起Gs过度降低,从而保证PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗的正常生命活动,提高植株的抗旱性。

PEG胁迫下植物细胞会产生大量的活性氧,从而引发膜脂过氧化作用,使细胞膜结构和稳定性受到损伤,MDA是膜脂过氧化作用的终产物之一<sup>[25-26]</sup>。本试验中,PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片MDA含量较CK组显著增加,叶面喷施 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的EBR溶液能够明显降低MDA含量,表明外源EBR可显著减轻PEG胁迫引发的膜脂过氧化作用,提升细胞膜结构的稳定性,从而缓解PEG胁迫对蒙古黄芪幼苗的氧化伤害。

类黄酮也称为黄酮类化合物,是植物体内主要的次生代谢产物,能够捕捉细胞内的活性氧,减轻氧化损伤,同时也是蒙古黄芪发挥药效的重要成分<sup>[27]</sup>。类黄酮的生物合成主要是通过苯丙烷代谢途径,首先苯丙氨酸在PAL,C4H和4CL等关键酶的作用下形成香豆酰辅酶A,香豆酰辅酶A和丙二酰辅酶A经CHS催化合成第一个具有C15基本骨架的黄酮化合物—查尔酮,查尔酮经CHI催化生成黄烷酮,并作为主要的前体物质通过不同的分支合成途径生成黄酮、黄酮醇、黄烷酮、黄烷醇、异黄酮和花色苷等,其中FNS是生成黄酮的关键酶<sup>[28-29]</sup>。研究发现,干旱胁迫影响类黄酮合成途径关键酶的活性<sup>[30-31]</sup>。本实验中,PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片的PAL等类黄酮合成途径关键酶活性及类黄酮含量均显著提升,这与李丹丹等<sup>[30]</sup>在紫花苜蓿和管仁伟等<sup>[32]</sup>在黄芩上的研究结果一致。在叶面喷施 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ EBR溶液能够进一步明显提高PEG胁迫下蒙古黄芪幼苗叶片的PAL等类黄酮合成途径关键酶活性及类黄酮含量,说明外源EBR能够通过上调PEG胁迫下类黄酮合成途径关键酶的活性来促进黄酮类化合物的合成,从而增强植株的活性氧清除能力。

综上所述,20%PEG胁迫下蒙古黄芪种子萌发和幼苗生长受到抑制,外源适宜浓度的EBR溶液处理能够通过上调PAL等类黄酮合成关键酶活性,有效促进类黄酮含量的累积,降低膜脂过氧化的伤害,从而明显提升蒙古黄芪种子和幼苗对PEG胁迫适应性,其中EBR溶液最佳缓解浓度 $0.1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

【利益冲突】 本文不存在任何利益冲突。

#### 【参考文献】

- [1] 韩多红,张勇,晋玲. 碱性盐及混合盐碱胁迫对蒙古黄芪种子萌发和幼苗生理特性的影响[J]. 中草药, 2013,44(12):1661-1666.
- [2] 高建平,刘春生,秦雪梅,等. 晋产道地药材资源及其种植、产地加工与质量标准研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志,2018,24(24):1-6.
- [3] 冯延芝,赵阳,王保平,等. 干旱复水对楸叶泡桐幼苗光合和叶绿素荧光的影响[J]. 中南林业科技大学学报,2020,40(4):1-8.
- [4] 陆国弟,杨扶德,王惠珍,等. 沼液浸种对蒙古黄芪种子萌发及幼苗生理特性的影响[J]. 中国土壤与肥料,2019(5):155-162.
- [5] 吴雪霞,查丁石,朱宗文,等. 外源24-表油菜素内酯对高温胁迫下茄子幼苗生长和抗氧化系统的影响[J]. 植物生理学报,2013,49(9):929-934.
- [6] 董亚茹,张艳波,赵东晓,等. 外源24-表油菜素内酯对NaCl胁迫下桑树幼苗的缓解效应[J]. 核农学报, 2021,35(6):1466-1475.
- [7] 康云艳,杨暹,郭世荣,等. 24-表油菜素内酯对低氧胁迫下黄瓜幼苗碳水化合物代谢的影响[J]. 中国农业科学,2011,44(12):2495-2503.
- [8] 寇江涛. 外源EBR对NaCl胁迫下燕麦幼苗无机离子吸收、运输和分配的影响[J]. 生态学杂志,2020,39(3):855-864.
- [9] 乔琳,李杰,胡春红,等. 外施表油菜素内酯缓解玉米幼苗铅毒害机制研究[J]. 核农学报,2014,28(11):2126-2131.
- [10] 王惠珍,陆国弟,胡茹英,等. 聚乙二醇-6000模拟干旱胁迫下硅对蒙古黄芪种子萌发特性和幼苗质量的影响[J]. 甘肃中医药大学学报,2020,37(1):31-36.
- [11] 杨祎辰,牛惠杰,张跃进,等. 干旱胁迫对蒙古黄芪种子萌发及生长生理的影响[J]. 种子,2015,34(3):30-35.
- [12] 王楠,高静,黄文静,等. 旱、盐胁迫下黄芪种子萌发及其对水杨酸的响应[J]. 草业科学,2018,35(1):106-114.
- [13] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2006.
- [14] 赵世杰,许长成,邹琦,等. 植物组织中丙二醛测定方法的改进[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):207-210.
- [15] 王景然,王萌,汪洋,等. 水杨酸浓度对膜荚黄芪生物量、总黄酮和多糖积累的影响[J]. 江苏农业科学, 2018,46(8):120-123.
- [16] 岳凯,刘文瑜,魏小红. 干旱胁迫对不同品系藜麦内黄酮和抗氧化性的影响[J]. 分子植物育种,2019,17(3):956-962.

- [17] LISTER C E, LANCASTER J E. Phenylalanine ammonia-lyase (PAL) activity and its relationship to anthocyanin and flavonoid levels in New Zealand-grown apple cultivars[J]. *J Am Soc Horticulture Sci*, 1996, 12(2):281-285.
- [18] 李冬,王艳芳,王悦华,等. 外源褪黑素对镉胁迫下豌豆种子萌发、幼苗抗性生理及镉含量的影响[J]. *核农学报*, 2019, 33(11):2271-2279.
- [19] 张小微,王玉萍. 水杨酸对 PEG-6000 胁迫下茄子种子活力和幼苗抗旱性的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2019, 54(1):103-109.
- [20] 常丹,杨艺,王艳,等. 24-表油菜素内酯对 PEG 与盐胁迫下棉花种子萌发的影响[J]. *西北农业学报*, 2015, 24(3):96-101.
- [21] 马野,原换换,裴新涌,等. 干旱胁迫下外源油菜素内酯对玉米幼苗光合作用和 D1 蛋白的调控效应[J]. *华北农学报*, 2017, 32(3):118-124.
- [22] 王丽君,李冬,申洪涛,等. 油菜素内酯对干旱胁迫下烤烟幼苗生长生理及光合特性的影响[J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*, 2020, 48(11):33-41.
- [23] 吴建慧,范卫芳,牛喆,等. 外源茉莉酸甲酯对干旱胁迫下狭叶黄芩光合和生理特性的影响[J]. *植物研究*, 2020, 40(3):360-367.
- [24] 里程辉,刘志,王宏,等. 干旱胁迫下不同中间砧对“岳冠”苹果叶片光合特性及叶绿素荧光特性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(5):83-91.
- [25] 邵怡若,徐建新,薛立,等. 低温胁迫时间对4种幼苗生理生化及光合特性的影响[J]. *生态学报*, 2013, 33(14):4237-4247.
- [26] 宋靓苑,林恬逸,许静雯,等. 盐胁迫下表油菜素内酯对沟叶结缕草愈伤组织生长和再生的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(7):1440-1446.
- [27] 张浩,郝立华,刘贵巧,等. 正交实验优化酸枣黄酮类物质提取工艺及其体外抗氧化作用[J]. *北方园艺*, 2018(3):130-138.
- [28] 邹丽秋,王彩霞,匡雪君,等. 黄酮类化合物合成途径及合成生物学研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2016, 41(22):4124-4128.
- [29] 张刚,李军营,黎旺姐,等. 烟草黄酮类化合物的代谢及其调控机制[J]. *基因组学与应用生物学*, 2017, 36(4):1672-1681.
- [30] 李丹丹,梁宗锁,普布卓玛,等. 干旱胁迫对紫花苜蓿黄酮类化合物含量及其合成途径关键酶活性的影响[J]. *西北植物学报*, 2020, 40(8):1380-1388.
- [31] 周明,沈勇根,朱丽琴,等. 植物黄酮化合物生物合成、积累及调控的研究进展[J]. *食品研究与开发*, 2016, 37(18):216-221.
- [32] 管仁伟,林慧彬,林建强. 干旱及盐胁迫对黄芩种子萌发和黄酮合成关键酶活性的影响[J]. *中药材*, 2020, 43(1):9-14.

[责任编辑 顾雪竹]