

## · 刺五加生态种植基础研究专题 ·

[编者按] 刺五加 *Acanthopanax senticosus* (Rupr. Maxim.) Harms 为我国珍贵的东北林药资源,具有益气健脾、补肾安神等功效。调查显示,刺五加的年需求量为  $5 \times 10^6$  余 kg,而我国目前每年仅产  $2 \times 10^6$  kg 左右,市场缺口约为  $3 \times 10^6$  kg,其中尚不考虑野生资源的递减。野生刺五加产量和日益增长的市场需求之间的矛盾已经凸显,解决此问题已为当务之急。因此优化刺五加栽培过程中的各种环境因子及探明对其生长发育和次生代谢产物含量影响极为重要,进而建立规范化的刺五加人工种植技术,才能解决制约刺五加可持续发展的问题。该专题主要从植物-土壤反馈以及氮处理两个方向研究其对刺五加幼苗生长,以及中药质量标记物含量的影响。探明多年连作及不同施氮量对刺五加幼苗生长发育、抗氧化酶系统、碳代谢及次生代谢产物含量的影响。黑龙江中医药大学药学院王振月课题组长期致力于中药资源的研究,近年来,承担或主要参与的国家自然科学基金项目、国家自然科学基金重点项目面上项目、国家科技部项目等 10 多项。利用现代技术开展优质林药资源的生态种植适宜性研究、林区生态种植管理关键技术研究、建立林药产地加工及综合开发利用技术等。探索符合林药研究特色的方法学,丰富林药基础研究手段并加快其基础研究进程,为林药基础研究的深入提供研究思路与借鉴。

# 基于灰色关联度法分析刺五加种子中胚率、内源激素和酶活力的相关性

付士朋<sup>1</sup>, 沈宏伟<sup>1,2</sup>, 王谦博<sup>3</sup>, 李俊萍<sup>1</sup>, 王聪<sup>1</sup>, 张爽<sup>1</sup>, 刘悦<sup>1</sup>, 郭盛磊<sup>1,4</sup>, 王振月\*

(1. 黑龙江中医药大学, 哈尔滨 150040; 2. 江阴天江药业有限公司, 江苏 江阴 214400;

3. 广东药科大学 附属第一医院, 广州 510000;

4. 黑龙江珍宝岛药业博士后科研工作站, 哈尔滨 150040)

[摘要] 目的: 研究刺五加种子在层积过程中的内源激素含量、相关酶活力与胚率的相关性研究,为生产和科研中应用内源激素和相关生理指标来调控刺五加种子萌发提供理论依据。方法: 采用刺五加内生真菌,不同浓度的一氧化氮和过氧化氢溶液进行浸种处理后对刺五加种子进行变温层积处理,利用高效液相色谱法测定刺五加种子中内源激素[赤霉素( $GA_3$ ),脱落酸(ABA),吲哚乙酸(IAA),吲哚丁酸(IBA)及水杨酸(SA)]的含量,并且检测体内酶[过氧化氢酶(CAT),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),丙二醛(MDA)]活力变化。通过灰色关联度法探讨胚率和刺五加种子中激素和其酶活力的相关性。结果: 胚率与 IAA,  $GA_3$ , CAT 有显著正相关联,关联系数分别为 1.086, 0.935, 1.067, IAA,  $GA_3$ , CAT, IBA, SA 之间存在显著的正相关性,与 ABA, MDA, POD 之间具有明显的负相关性, SOD 的活性与其他含量之间无显著的相关性。关联度大小比较为 IAA > CAT >  $GA_3$  > IBA > SA > SOD > ABA > POD > MDA。结论: IAA,  $GA_3$ , CAT 对胚率有明显促进作用,激素含量与酶活力之间有明显的相关性,可为探讨刺五加种子萌发机制提供理论依据。

[关键词] 刺五加种子; 激素含量; 酶活力; 灰色关联度分析; 相关性分析

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2020)04-0145-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200411

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191106.1741.007.html>

[网络出版时间] 2019-11-07 09:44

[收稿日期] 20190422(017)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC0500303); 国家科技重大专项和重点研发项目省级项目(GX17C006); 黑龙江省博士后项目(LBH-Z17208)

[第一作者] 付士朋,在读硕士,从事刺五加种子种苗质量标准研究, E-mail: 1196683291@qq.com

[通信作者] \*王振月,教授,博士生导师,从事中药资源研究, Tel: 0451-87266873, E-mail: wangzhen\_yue@163.com

## Grey Correlation Analysis on Rate of Embryo, Endogenous Hormone and Enzyme Activity of *Acanthopanax senticosus* Seeds

FU Shi-peng<sup>1</sup>, SHEN Hong-wei<sup>1,2</sup>, WANG Qian-bo<sup>3</sup>, LI Jun-ping<sup>1</sup>, WANG Cong<sup>1</sup>,  
ZHANG Shuang<sup>1</sup>, LIU Yue<sup>1</sup>, GUO Sheng-lei<sup>1,4</sup>, WANG Zhen-yue<sup>1\*</sup>

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. Jiangyin Tianjiang Pharmaceutical Co. Ltd., Jiangyin 214400, China;

3. The First Affiliated Hospital, School of Clinic Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510000, China;

4. Postdoctoral Programme of Heilongjiang Zbd Pharmaceutical Co. Ltd., Harbin 150040, China)

**[ Abstract ] Objective:** To study the correlation between endogenous hormone content, related enzyme activity and embryogenesis during the stratification of *Acanthopanax senticosus* seeds, and to provide theoretical basis for application of endogenous hormones and related physiological indicators in regulating germination of *A. senticosus* seeds in production and scientific research. **Method:** Endophytic fungi as well as different concentrations of nitric oxide and hydrogen peroxide solution were used for soaking the seeds of *A. senticosus*, and then thermophilic stratification was conducted for the seeds. The content of endogenous hormones such as gibberellin (GA<sub>3</sub>), abscisic acid (ABA), indole acetic acid (IAA), indole butyric acid (IBA) and salicylic acid (SA) in seeds of *A. senticosus* were tested by high performance liquid chromatography (HPLC), and the activity change of enzymes *in vivo* such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), and malondialdehyde (MDA) were tested. The correlation between the embryo rate and the hormones and their enzyme activities in the seeds of *A. senticosus* was studied by the grey correlation method. **Result:** The embryo rate was significantly positively correlated with IAA, GA<sub>3</sub>, and CAT, with correlation coefficient of 1.086, 0.935 and 1.067, respectively. There was a significant positive correlation between IAA, GA<sub>3</sub>, CAT, IBA, and SA, but with a significant negative correlation with ABA, MDA, and POD. The correlation degree was as follows: IAA > CAT > GA<sub>3</sub> > IBA > SA > SOD > ABA > POD > MDA. **Conclusion:** IAA, GA<sub>3</sub> and CAT have significant promoting effects on embryo rate, and there is a significant correlation between hormone content and enzyme activity, which provides a basis for exploring the seed germination mechanism of *A. senticosus*.

**[ Key words ]** *Acanthopanax senticosus* seeds; hormone content; enzyme activity; GRA analysis; correlation analysis

五加科约有 80 属 900 多种,其中五加属植物 53 种,我国有 26 种 18 个变种,五加科植物中有很多名贵药材,如人参、三七、刺五加等,刺五加是针阔叶混交林和阔叶落叶杂木林下的重要经济作物,2014 年卫计委颁布了“药食同源”的品种名单中就包括了刺五加<sup>[1]</sup>。刺五加根及根茎、皮可做药用,叶可做茶,果可做饮料,用途广泛。随着刺五加野生资源逐渐减少,开展刺五加人工种植刻不容缓。刺五加种子属于种胚形态后熟类型(MPD 型种子)<sup>[2]</sup>,指具有正常活力的种子,由于种子未完成胚结构发育,在外界条件都适宜的情况下仍无法发芽,使其他生命阶段周期延长的现象,种子萌发是一个多方面调节的生理活动,激素、酶、营养元素及环境因子对

种子萌发都具有显著影响,破除种子休眠需要外界环境和内源性物质信号的共同调节,具有协同效应<sup>[3]</sup>。但激素与酶之间的相互协同作用机制还有待探讨研究。

灰色关联度分析(GRA 分析)是根据多因素之间发展趋势的联系程度来衡量因素之间关系的强弱、大小、次序的一种分析方法<sup>[4]</sup>,与其他的多因素统计分析方法相比,GRA 分析对数据的要求不高,能广泛应用于分析发生机制、方法改进与优化、因素综合评价等评估研究领域<sup>[5]</sup>。许一鸣等<sup>[6]</sup>应用 GRA 分析方法研究薄荷的品质与其中含有的有机酸类和黄酮类的关联度,由此分析不同产地之间薄荷样品的差异;乔晶晶等<sup>[7]</sup>研究了应用 GRA 分析方

法评价样品中盐酸益母草碱和黄酮类成分与品质的关联度,并基于品质分析不同产地益母草质量差异。吕伟奇等<sup>[8]</sup>测定 10 个产地滇龙胆样品中 4 种指标成分(獐牙菜苦苷、马钱苷酸、龙胆苦苷和当药苷),运用灰色关联度分析法建立滇龙胆的质量评价方法。杨晓等<sup>[9]</sup>研究运用灰色关联分析法综合评价苜蓿生产性能,筛选出适合西藏地区种植的苜蓿品种。研究证明,该评价方法研究中药材指标之间关联度具有良好效果,可试用于刺五加种子中相应激素和相关酶活力和胚率的关系研究。

本研究应用 GRA 分析方法分析刺五加种子在层积过程中不同发育时期的内生真菌组, SNP 组, 过氧化氢组的内源激素、相关酶活力和胚率关联度,进一步明确刺五加种子内源激素与相关酶之间的相互作用机制,并对不同发育时期所有处理组内源激素赤霉素(GA<sub>3</sub>),脱落酸(ABA),吲哚乙酸(IAA),吲哚丁酸(IBA)及水杨酸(SA)和相关过氧化氢酶(CAT),超氧化物歧化酶(SOD),过氧化物酶(POD),丙二醛(MDA)含量进行测定并进行两者之间的相关性分析,以探索刺五加种子内源激素与其酶活力的相关性,为生产和科研中应用外源因子调控刺五加种子生长发育提供理论依据<sup>[10-11]</sup>。

## 1 材料

刺五加种子采自七台河,由黑龙江中医药大学王振月教授鉴定为刺五加 *Acanthopanax senticosus* 的种子,种子在室温干燥条件下保存;菌株为刺五加根、茎和叶分离得到的内生真菌。

E2695 型高效液相色谱仪(Waterse 公司), AE240 型 1/10 万分析天平(德国梅特勒-托利多国际有限公司), KM-822C 型超声波清洗器(480 W, 40 kHz, 广州市科洁盟实验仪器有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 刺五加破除休眠的方法

**2.1.1 刺五加种子与内生真菌共生** 将 12 株刺五加内生真菌(CWJ-1 ~ CWJ-12)接种于 PDB 液体培养基震荡培养, 25 °C 暗培养 1 周。精密称取饱满刺五加种子 50 g, 消毒后将刺五加种子放入菌悬液中 120 r·min<sup>-1</sup> 震荡培养 7 d, 取出消毒后进行层积处理<sup>[10]</sup>。

**2.1.2 SNP 浸种处理** 将刺五加种子放入浓度为 1, 5, 10, 20 mmol·L<sup>-1</sup> 的外源 NO 供体中浸泡 24 h, 温度 25 °C, 取出后进行层积处理。

**2.1.3 外源 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浸种处理** 将过氧化氢配成体积分数 0.01%, 0.1%, 1.0%, 3.0%, 5.0% 的溶液,

采用饱满的刺五加种子各 50 粒浸在过氧化氢溶液里, 加盖, 于 25 °C 浸种 12 h, 将浸种后的种子洗净, 取出后进行层积处理。

**空白组:** 称量消毒方法同上, 直接进行层积处理。

**赤霉素组:** 称量消毒方法同上, 10% 赤霉素 25 °C 处理 24 h, 进行层积处理。

**2.2 层积处理条件** 将刺五加种子平铺于经高压灭菌的湿河沙中, 种子与湿河沙按体积比 1:2 混匀, 装入 17 cm × 17 cm 大花盆中进行混沙层积催芽, 保持湿度 50% ~ 70%, 具体层积条件见表 1。

表 1 刺五加种子变温层积条件

Table 1 Sedimentary conditions of *Acanthopanax senticosus* seeds

阶段	温度/°C	时间/周	翻动频率 d/次
第一	20 ~ 25	10	1
第二	10 ~ 15	6	2 ~ 3
第三	0 ~ 5	9	>7

**2.3 胚率的测定** 在层积时间 0, 25, 50, 75, 100, 125 d, 每次分别取 30 粒刺五加种子, 沿其种胚中央切成两半, 在实体解剖镜下测量总体胚乳及胚的长度, 并计算其平均胚率, 胚率 = 胚长/胚乳长 × 100%。

**2.4 激素和酶测定** 利用 HPLC 法测定进行胚率检测后的刺五加种子内源激素含量赤霉素(GA<sub>3</sub>), 脱落酸(ABA), 吲哚乙酸(IAA), 吲哚丁酸(IBA)及水杨酸(SA)和采用南京建成试剂盒法测定相关酶过氧化氢酶(CAT), 超氧化物歧化酶(SOD), 过氧化物酶(POD), 丙二醛(MDA)含量, 具体方法参照课题组沈宏伟<sup>[11]</sup>方法。

**2.5 数据处理** 实验数据选用 Excel 2003 进行分析, 利用 SPSS 20.0 进行相关性分析。

## 3 结果与分析

**3.1 各处理方法层积过程胚率的测定结果** 变温层积过程中, 刺五加种子胚率变化、发芽率与层积时间见表 2, 从表中可以看出, 种胚生长速率与层积时间呈正相关, 胚率随着层积时间的延长而逐渐增大。

### 3.2 GRA 分析

**3.2.1 无量纲化** 为了能够对原始数据之间可以进行比较, 首先对各序列进行无量纲化分析, 本研究采用均值化法, 均值化后各项平均值分别为 22.233, 0.097, 0.135, 0.156, 0.111, 0.155, 2.306, 37.375, 0.425, 10.384。所有处理组均值化具体

表 2 刺五加种子变温层积中胚率和发芽率的变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ )

**Table 2** Mbryo ratio and germination rate during fluctuating temperature stratification of *Acanthopanax senticosus* seeds ( $\bar{x} \pm s, n = 30$ ) %

菌株	天数/d					发芽率
	30	50	80	100	130	
CWJ-1	1.85 ± 0.041	4.15 ± 0.122	9.67 ± 0.812	28.96 ± 1.061	46.00 ± 2.449	12.80 ± 0.002
CWJ-2	1.90 ± 0.016	4.56 ± 0.141	10.23 ± 0.816	29.80 ± 0.189	49.00 ± 0.816	19.20 ± 0.010
CWJ-3	1.40 ± 0.041 <sup>1)</sup>	4.03 ± 0.037 <sup>1)</sup>	9.38 ± 0.245	27.46 ± 0.816	45.30 ± 0.816	12.00 ± 0.008 <sup>2)</sup>
CWJ-4	12.13 ± 0.008	34.00 ± 3.266	36.00 ± 2.940	43.00 ± 2.494	74.00 ± 0.816 <sup>1)</sup>	49.20 ± 0.002 <sup>1)</sup>
CWJ-5	1.80 ± 0.082	4.23 ± 0.081	10.13 ± 0.748	29.24 ± 0.081	48.00 ± 0.408	14.80 ± 0.001
CWJ-6	18.18 ± 0.816	50.00 ± 4.109	55.56 ± 0.653 <sup>2)</sup>	66.67 ± 2.494 <sup>1)</sup>	100.00 ± 0 <sup>1)</sup>	62.80 ± 0.023 <sup>1)</sup>
CWJ-7	10.15 ± 0.147	33.00 ± 0.245	35.00 ± 0.081	42.00 ± 0.329	68.00 ± 0.082	47.40 ± 0.011 <sup>2)</sup>
CWJ-8	1.13 ± 0.016 <sup>1)</sup>	3.60 ± 0.245	8.36 ± 0.816	25.52 ± 0.833	40.56 ± 0.081	8.00 ± 0.029
CWJ-9	0.90 ± 0.707	3.00 ± 2.449	7.24 ± 1.632	20.42 ± 1.633	39.24 ± 0.816	42.80 ± 0.019
CWJ-10	15.15 ± 0.931	38.00 ± 3.266	42.00 ± 4.320	51.00 ± 3.266	82.00 ± 1.633 <sup>2)</sup>	58.60 ± 0.016 <sup>2)</sup>
CWJ-11	1.20 ± 0.081	3.90 ± 0.163	9.15 ± 0.779	26.54 ± 0.779	41.24 ± 0.816	11.00 ± 0.016
CWJ-12	13.14 ± 0.816	36.00 ± 1.633 <sup>1)</sup>	38.00 ± 1.633	42.00 ± 1.886	61.00 ± 2.160	56.20 ± 0.003 <sup>2)</sup>
GA <sub>3</sub>	12.34 ± 0.726	35.20 ± 2.870	37.65 ± 0.379	40.20 ± 0.983	59.00 ± 2.378	38.40 ± 0.004
CK	2.00 ± 0.041	5.00 ± 0.489	10.00 ± 0.408	30.00 ± 1.633	50.00 ± 1.633	25.60 ± 0.009
SNP 5 mmol·L <sup>-1</sup>	10.04 ± 0.975	30.33 ± 0.757	34.47 ± 0.751	37.23 ± 0.473	43.27 ± 0.802	32.33 ± 0.015
SNP 20 mmol·L <sup>-1</sup>	12.20 ± 0.917	33.40 ± 0.954	37.57 ± 0.971	39.30 ± 0.458	60.37 ± 1.106	38.17 ± 0.009
SNP 1 mmol·L <sup>-1</sup>	2.63 ± 0.493	6.37 ± 0.586	11.50 ± 0.900	33.50 ± 1.053	53.50 ± 0.700	30.20 ± 0.010
SNP 10 mmol·L <sup>-1</sup>	2.63 ± 0.551	6.60 ± 0.529	10.63 ± 0.737	30.50 ± 0.818	49.57 ± 1.436	25.53 ± 0.019
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 3.0%	10.47 ± 0.833	30.23 ± 1.320	35.63 ± 1.150	37.43 ± 0.834	54.93 ± 2.274	33.20 ± 0.009
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 2.0%	3.23 ± 0.153	6.67 ± 0.153	16.50 ± 1.808	37.53 ± 0.801	46.36 ± 1.626	28.07 ± 0.003
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 1.0%	3.13 ± 0.643	5.20 ± 0.265	13.60 ± 1.114	28.00 ± 1.153	43.63 ± 0.751	25.33 ± 0.008
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 0.01%	2.46 ± 0.416	5.03 ± 0.208	13.43 ± 1.150	26.70 ± 0.436	44.60 ± 1.200	25.93 ± 0.004
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 5.0%	2.53 ± 0.451	4.73 ± 0.416	1.00 ± 0.578	28.63 ± 0.751	44.53 ± 0.901	25.40 ± 0.002

注: <sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01。

结果见表 3。

**3.2.2 绝对值序列** 原始数据经过无量纲化处理,采用公式  $ABS(x_{胚率} - x_i)$  计算胚率序列与其他几组激素与酶相关序列绝对差值数据,即表示在刺五加种子层积时间上各因素的变化态势的强弱,所有处理组绝对值序列的具体结果见表 4。

**3.2.3 灰色关联系数的计算** 在上述表中发现,绝对值差序列之间存在较大数量级之间的差异,(最小值为 0,最大值 2~3),无法进行综合评价,还需进行一步规范化操作,即将上述结果代入到公式,  $\rho \in [0, 1]$ ,在本研究中取 0.4,得到每个因素的灰色关联系数  $\xi$ ,并将各个层积时间的灰色关联系数  $\xi$  计算其算数平均值  $\gamma$ 。所有处理组,内生真菌组,SNP 组,过氧化氢组的灰色关联系数  $\xi$  和关联度  $\gamma$  ( $\xi$  算数平均值)的具体结果见表 5。

**3.2.4 关联度的比较** GRA 结果分析,将  $\gamma$  从大到小排序, $\gamma$  越大,表示其因素与胚率正相相关性越强,反之,则表示其因素与胚率相关性越弱。不同因

素的  $\gamma$  值排序结果可以作为与胚率关联的依据,由表 6 可知,刺五加种子层积过程中所有因素的关联度,0.552~1.086,其中 4 个因素关联度 > 0.9,5 个因素在 0.552~0.701,表明层积过程中的不同因素对种胚的发育总体存在较大差异,排序结果对研究胚率的相关性有重要的参考价值。从刺五加种子层积过程中所有处理组,内生真菌组,SNP 组,过氧化氢组的激素及酶 GRA 分析结果基本相同,所有处理组排列顺序 IAA > CAT > GA<sub>3</sub> > IBA > SA > SOD > ABA > POD > MDA,关联度水平比较可知,IAA 在内生真菌组关联度最大,GA<sub>3</sub> 在 SNP 组、过氧化氢组关联度最大,CAT 在内生真菌组、过氧化氢组均排在第二位,IAA,CAT,GA<sub>3</sub> 对胚率的关联度明显高于其他因素,因此其变化对胚率影响较大。

**3.3 相关性分析** 利用 SPSS 20.0 软件进行相关性分析,在 0,25,50,75,100,125 d 的内生真菌组,SNP 组,过氧化氢组的相应的激素含量和酶活力做相关性分析。

表 3 刺五加种子层积过程中所处理组均值化序列

Table 3 Group mean sequence processed during stratification of *Acanthopanax senticosus* seed

层积时间/d	胚率	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA	IBA	SA	MDA	SOD	CAT	POD
0	0.000	0.020	0.020	0.305	0.033	0.000	6.905	48.675	0.001	28.147
25	6.200	0.068	0.056	0.154	0.069	0.004	3.960	39.017	0.030	17.643
50	16.836	0.114	0.126	0.137	0.128	0.009	1.742	17.048	0.181	7.143
75	21.420	0.121	0.143	0.131	0.138	0.115	0.839	29.141	0.230	4.560
100	34.852	0.124	0.178	0.123	0.141	0.225	0.309	39.068	0.353	3.100
125	54.091	0.133	0.288	0.087	0.156	0.576	0.084	51.302	1.756	1.711

表 4 刺五加种子层积过程中所处理组绝对值序列

Table 4 Absolute value sequence of group processed during stratification of *Acanthopanax senticosus* seed

层积时间/d	ΔGA <sub>3</sub>	ΔIAA	ΔABA	ΔIBA	ΔSA	ΔMDA	ΔSOD	ΔCAT	ΔPOD
0	0.207	0.148	1.954	0.300	0.000	2.994	1.302	0.002	2.711
25	0.425	0.136	0.709	0.340	0.254	1.438	0.765	0.208	1.420
50	0.418	0.173	0.120	0.399	0.698	0.002	0.301	0.331	0.069
75	0.286	0.097	0.127	0.278	0.220	0.600	0.184	0.423	0.524
100	0.279	0.251	0.782	0.292	0.112	1.434	0.522	0.737	1.269
125	1.057	0.302	1.874	1.025	1.284	2.397	1.060	1.697	2.268

表 5 刺五加种子层积过程中所处理组灰色关联系数 ζ

Table 5 Grey correlation coefficient of group treated by seed stratification process of *Acanthopanax senticosus*

层积时间/d	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA	IBA	SA	MDA	SOD	CAT	POD
0	1.981	2.195	0.509	1.716	1.000	0.353	0.704	2.995	0.385
25	0.738	0.898	0.628	0.779	0.825	0.454	0.610	0.852	0.457
50	0.741	0.874	0.909	0.750	0.632	0.998	0.799	0.783	0.945
75	0.807	0.925	0.904	0.812	0.845	0.666	0.867	0.739	0.696
100	0.811	0.827	0.605	0.804	0.914	0.455	0.696	0.619	0.486
125	0.531	0.798	0.390	0.539	0.483	0.333	0.530	0.414	0.346
γ	0.935	1.086	0.658	0.900	0.783	0.543	0.701	1.067	0.552

表 6 刺五加种子在层积过程中激素和酶的 GRA 分析

Table 6 GRA analysis of hormones and enzymes during stratification of *Acanthopanax senticosus* seeds

因素	总和		内生真菌组		SNP 组		过氧化氢组	
	γ	等级	γ	等级	γ	等级	γ	等级
GA <sub>3</sub>	0.935	3	0.792	2	4.778	1	0.805	1
IAA	1.086	1	0.942	1	4.284	2	0.761	3
ABA	0.658	7	0.675	7	2.144	7	0.597	7
IBA	0.900	4	0.791	4	3.357	4	0.683	4
SA	0.783	5	0.762	5	2.423	5	0.683	4
MDA	0.543	9	0.570	9	1.007	9	0.473	9
SOD	0.701	6	0.729	6	2.207	6	0.645	6
CAT	1.067	2	0.792	2	3.833	3	0.779	2
POD	0.552	8	0.582	8	1.682	8	0.510	8

刺五加种子层积过程中,不同时期内源激素含量与其体内相关代谢酶的活性密切相关,具有明显的相关性,且不同处理组结果基本相同,内源激素与体内相关酶的相关性分析结果见表 7~9。其中,以内生真菌组为例,GA<sub>3</sub> 与 IAA, CAT 极显著正相关性; IAA 与 IBA, CAT 呈显著的正相关性; ABA 与 MDA, POD 呈极显著得正相关性; ABA 与 IBA, SA 呈极显著的负相关性; IBA 与 SA 呈现极显著的正相关性, IBA 与 MDA, POD 呈现极显著的负相关性; SA 与 MDA, POD 呈现显著的负相关性, MDA 与 POD 呈现极显著的正相关性。

#### 4 讨论

种子萌发伴随着各种生理活动的调节进行的, 胚的生长和代谢, 也代表着植株开始进入发育

表 7 内生真菌组刺五加种子层积过程中激素及酶的相关性

Table 7 Correlation between hormones and enzymes in process of eucalyptus chinensis seed stratification

因素	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA	IBA	SA	MDA	SOD	CAT	POD
GA <sub>3</sub>	1	0.961 <sup>2)</sup>	-0.630	0.636	0.608	-0.486	0.711	0.983 <sup>2)</sup>	-0.548
IAA		1	-0.794	0.817 <sup>1)</sup>	0.796	-0.689	0.507	0.940 <sup>2)</sup>	-0.746
ABA			1	-0.933 <sup>2)</sup>	-0.971 <sup>2)</sup>	0.978 <sup>2)</sup>	-0.052	-0.599	0.966 <sup>2)</sup>
IBA				1	0.990 <sup>2)</sup>	-0.943 <sup>2)</sup>	-0.026	0.594	-0.981 <sup>2)</sup>
SA					1	-0.978 <sup>2)</sup>	-0.046	0.572	-0.994 <sup>2)</sup>
MDA						1	0.123	-0.444	0.988 <sup>2)</sup>
SOD							1	0.668	0.085
CAT								1	-0.499
POD									1

注: <sup>1)</sup>P < 0.05, <sup>2)</sup>P < 0.01 (表 8, 9 同)。

表 8 SNP 组刺五加种子层积过程中激素及酶的相关性

Table 8 Correlation between hormones and enzymes in SNP group of *Acanthopanax senticosus* seed stratification

因素	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA	IBA	SA	MDA	SOD	CAT	POD
GA <sub>3</sub>	1	0.877 <sup>1)</sup>	-0.564	0.677	0.613	-0.692	0.357	0.954 <sup>2)</sup>	-0.662
IAA		1	-0.813 <sup>1)</sup>	0.945 <sup>2)</sup>	0.910 <sup>1)</sup>	-0.943 <sup>2)</sup>	-0.127	0.827 <sup>1)</sup>	-0.933 <sup>2)</sup>
ABA			1	-0.878 <sup>1)</sup>	-0.915 <sup>1)</sup>	0.881 <sup>1)</sup>	0.445	-0.533	0.908 <sup>1)</sup>
IBA				1	0.993 <sup>2)</sup>	-0.995 <sup>2)</sup>	-0.419	0.611	-0.996 <sup>2)</sup>
SA					1	-0.990 <sup>2)</sup>	-0.484	0.542	-0.998 <sup>2)</sup>
MDA						1	0.372	-0.600	0.997 <sup>2)</sup>
SOD							1	0.309	0.424
CAT								1	-0.585
POD									1

表 9 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组刺五加种子层积过程中激素及酶的相关性

Table 9 Correlation of hormones and enzymes in the seed stratification of *Acanthopanax senticosus* in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group

因素	GA <sub>3</sub>	IAA	ABA	IBA	SA	MDA	SOD	CAT	POD
GA <sub>3</sub>	1	0.877 <sup>1)</sup>	-0.564	0.678	0.617	-0.712	0.364	0.970 <sup>2)</sup>	-0.669
IAA		1	-0.815 <sup>1)</sup>	0.945 <sup>2)</sup>	0.911 <sup>1)</sup>	-0.946 <sup>2)</sup>	-0.121	0.859 <sup>1)</sup>	-0.938 <sup>2)</sup>
ABA			1	-0.871 <sup>1)</sup>	-0.916 <sup>1)</sup>	0.880 <sup>1)</sup>	0.436	-0.563	0.882 <sup>1)</sup>
IBA				1	0.991 <sup>2)</sup>	-0.990 <sup>2)</sup>	-0.409	0.648	-0.999 <sup>2)</sup>
SA					1	-0.986 <sup>2)</sup>	-0.470	0.584	-0.995 <sup>2)</sup>
MDA						1	0.328	-0.655	0.994 <sup>2)</sup>
SOD							1	0.300	0.410
CAT								1	-0.631
POD									1

阶段<sup>[12]</sup>, 激素是种子萌发的关键调节因子, 酶是植物种子萌发的直接影响因素<sup>[13]</sup>。激素在种子的功能有控制萌发和幼苗增长、控制干物质在种子中的积累、控制种子本身的发育。而抗氧化物酶参与在

磷酸戊糖途径(PP 途径)中解除种子休眠的氧化途径<sup>[14]</sup>。代谢模式的改变, 种子的休眠性得以解除, 萌发过程顺利进行。

研究采用灰色关联度理论决定影响胚率的相关

性因素,对刺五加种子萌发过程中的 9 个因素指标进行了综合分析,结果表明,关联度大小比较为 IAA > CAT > GA<sub>3</sub> > IBA > SA > SOD > ABA > POD > MDA, IAA, CAT, GA<sub>3</sub> 对胚率的关联度明显高于其他因素,三者的变化对胚率影响较大。杨凯等<sup>[15]</sup>在研究三七种子在后熟阶段的内源激素的变化中得出 GA<sub>3</sub>, IAA 对其种子萌发起到明显的促进作用。苏海兰等<sup>[16]</sup>研究七叶一枝花种子在萌发不同时期酶和内源激素变化时发现 IAA 与胚率有显著的正相关性。程露露等<sup>[17]</sup>研究了用外源激素 GA<sub>3</sub> 处理桂花种子可使其内 CAT 活性增强,种子生命力变强。研究结果与本研究基本一致。GA<sub>3</sub>, IAA, CAT 对种子萌发均有显著影响, CAT, GA<sub>3</sub> 与 IAA 对种胚的生长有正向促进作用。

刺五加种子中的激素含量和酶活力变化之间存在一定的相关性, IAA, GA<sub>3</sub>, CAT, IBA, SA 之间存在显著的正相关性,与 ABA, MDA, POD 之间具有明显的负相关性。种子萌发过程中,结合型 GA<sub>3</sub>, IAA 下降,游离型 GA<sub>3</sub>, IAA 上升, GA<sub>3</sub> 的浓度高于其他组织, IAA 主要聚集在营养性组织胚乳中, GA<sub>3</sub> 与 IAA 浓度增大是由于子房壁迅速生长导致的<sup>[13]</sup>。种子在后熟中 CAT 活性增加,这些变化很可能由休眠至胚根萌发转变直接引起是其他变化所产生的结果。ABA 作用是控制种子萌发维持休眠,而在发育种子中抑制胚生长,防止发生胚萌发。较高的 IAA 极性运输通量能抑制乙烯的敏感性, ABA 正是促进乙烯合成的关键因素,两者呈负相关。MDA 与细胞内发生反应可引起膜损伤,导致细胞膜结构受到破坏,不能进行种子萌发,与 ABA 呈正相关。SOD, POD 是植物体内的保护酶,主要是清除体内多余的活性氧及其他过氧化物自由基,但在刺五加种子层积过程中, SOD 的活性与其他含量之间无显著的相关性。本研究为实际生产中刺五加种子内源激素和生理物质的作用机制提供思路,为通过施用外源激素来调控生理物质来达到促进刺五加种子萌发的目的提供了理论依据。

#### [参考文献]

[1] 单峰,黄璐琦,郭娟,等.药食同源的历史和发展概况[J].生命科学,2015,27(8):1061-1069.  
[2] 张爽.东北岩高兰种子繁殖和快繁体系建立研究

[D].哈尔滨:黑龙江中医药大学,2018.

[3] LI Z F, WU Z H, CHEN G. et al. Two new compounds from *Acanthopanax senticosus* Harms [J]. J Asian Nat Prod Res, 2009, 11(8): 715-718.  
[4] 赵先超,滕洁,谭书佳.基于投入产出法的湖南省旅游业碳排放测算及 GRA 关联度分析[J].世界地理研究,2018,27(3):164-174.  
[5] 王涵,张雷.基于 GRA 与回归分析法的青少年超重原因间的关系研究[J].科技与创新,2018(21):73-74,76.  
[6] 许一鸣,吴放南,乐巍,等.不同产地薄荷药材有机酸与黄酮类成分分析[J].中药材,2018,41(2):299-302.  
[7] 乔晶晶,吴放南,许一鸣,等.HPLC 法同时测定益母草中 4 种成分[J].中成药,2018,40(11):2467-2471.  
[8] 吕伟奇,张霁,左智天,等.基于灰色关联度分析法的滇龙胆质量评价[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(13):66-73.  
[9] 杨晓,李锦华,朱新强,等.西藏“一江两河”地区紫花苜蓿生产性能灰色关联综合评价[J].中国农学通报,2015,31(2):80-84.  
[10] 沈宏伟,张爽,付士朋,等.内生真菌对刺五加种子萌发过程激素及酶含量变化的影响[J].中草药,2019,50(3):716-721.  
[11] 沈宏伟,张爽,李佳宾,等.不同浓度的外源 NO 对刺五加种子激素及酶含量变化的影响[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(3):137-142.  
[12] 苏佳露,姜明云,王星,等.黄条金刚竹花期内源激素含量与生理生化指标变化[J].安徽农业大学学报,2019,46(1):18-24.  
[13] 刘化禹,娄爽,秦栋,等.蓝果忍冬果柄离区形成中内源激素含量与细胞壁相关酶活性的变化特征[J].西北植物学报,2019,39(1):110-120.  
[14] 傅家瑞.种子生理[M].北京:科学出版社,1985.  
[15] 杨凯,杨景煌,刘绍伟,等.三七种子后熟过程种胚发育和 6 种内源激素的动态变化[J].中药材,2018,41(3):519-523.  
[16] 苏海兰,周先治,李希,等.七叶一枝花种子萌发不同阶段生理生化变化研究[J].中草药,2017,48(22):4755-4763.  
[17] 程露露,张秋园,王东辉,等.不同处理对桂花种子萌发率及过氧化氢酶活性的影响[J].现代农业科技,2018(19):162-163.

[责任编辑 顾雪竹]