

DOI: 10.12357/cjea.20240185

CSTR: 32371.14.cjea.20240185

马晓兰, 王文颖, 周华坤, 李文婧, 李蛟, 李阳, 邱庆辉, 殷恒霞. 外源 ABA 对干旱胁迫下红豆草种子萌发及幼苗生理生化特性的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2024, 32(11): 1882–1890

MA X L, WANG W Y, ZHOU H K, LI W J, LI J, LI Y, QIU Q H, YIN H X. Effect of soaking exogenous abscisic acid on *Onobrychis viciifolia* seed germination and physiological mechanism under drought stress[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2024, 32(11): 1882–1890

外源 ABA 对干旱胁迫下红豆草种子萌发及幼苗 生理生化特性的影响*

马晓兰^{1,2}, 王文颖³, 周华坤⁴, 李文婧^{1,2}, 李 蛟^{1,2}, 李 阳^{1,2}, 邱庆辉², 殷恒霞^{1**}

(1. 青海大学省部共建三江源生态与高原农牧业国家重点实验室 西宁 810016; 2. 青海大学生态环境工程学院 西宁 810016; 3. 青海师范大学生命科学院 西宁 810016; 4. 中国科学院西北高原生物研究所/青海省寒区恢复生态学重点实验室 西宁 810008)

摘 要: 干旱是影响高寒地区牧草种植和生产力的主要环境胁迫之一, 而植物激素脱落酸 (abscisic acid, ABA) 在调控植物生长发育及应对环境胁迫中具有重要作用。本研究对高寒牧草红豆草 (*Onobrychis viciifolia*) 种子进行不同浓度的 ABA 浸种处理, 室内 10% PEG 模拟干旱胁迫, 通过检测和分析红豆草种子萌发指标和早期幼苗生长生理特性, 探究外源 ABA 浸种对干旱条件下红豆草种子萌发和早期幼苗生长发育的影响。结果表明, 干旱胁迫显著抑制了红豆草种子发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数, 而相较于干旱处理组, 干旱胁迫下低浓度 ABA ($5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 浸种预处理能提高这些萌发特性。此外, $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 浸种能显著促进红豆草早期幼苗的主根长度和根冠比, 提高干旱胁迫下幼苗超氧化物歧化酶、过氧化物酶和过氧化氢酶等抗氧化酶的活性及渗透调节物质脯氨酸的含量, 并减轻干旱胁迫对细胞氧化损伤的程度。然而, 较高浓度 ABA ($>20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 浸种则对干旱胁迫下红豆草种子萌发和幼苗生长没有明显的积极影响, 甚至会轻微抑制萌发, 这可能是由于过度刺激胁迫反应或毒性所致。本研究表明, 适宜浓度的 ABA 浸种能够提高干旱胁迫下红豆草种子的萌发特性, 且能有效减轻干旱对早期幼苗的氧化损伤程度, 这一结果为干旱地区优质牧草种植推广奠定了理论基础。

关键词: 红豆草; 干旱胁迫; 脱落酸; 种子萌发; 幼苗生长

中图分类号: Q945.7

Effect of soaking exogenous abscisic acid on *Onobrychis viciifolia* seed germination and physiological mechanism under drought stress*

MA Xiaolan^{1,2}, WANG Wenying³, ZHOU Huakun⁴, LI Wenjing^{1,2}, LI Jiao^{1,2}, LI Yang^{1,2}, QIU Qinghui², YIN Hengxia^{1**}

(1. State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Qinghai University, Xining 810016, China; 2. College of Eco-Environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810016, China; 3. College of Life Science, Qinghai Normal University, Xining 810016, China; 4. Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences / Key Laboratory of Restoration Ecology of Cold Area in Qinghai Province, Xining 810008, China)

* 国家自然科学基金项目 (32300269)、青海省科学技术厅应用基础研究项目 (2022-ZJ-731) 和青海大学生态环境工程学院研究生科技创新项目 (2023-stxy-Y08) 资助

** 通信作者: 殷恒霞, 主要研究方向为高寒植物极端环境适应性机制。E-mail: hengxiayin@qhu.edu.cn

马晓兰, 主要研究方向为植物抗逆的生理和分子机制。E-mail: 13897466519@163.com

收稿日期: 2024-04-10 接受日期: 2024-07-10

* This study was funded by the National Natural Science Foundation of China (32300269), the Applied Basic Research Project of Qinghai Province, China (2022-ZJ-731), and the Graduate Student Science and Technology Innovation Program of College of Ecological and Environmental Engineering of Qinghai University (2023-stxy-Y08).

** Corresponding author, E-mail: hengxiayin@qhu.edu.cn

Received Apr. 10, 2024; accepted Jul. 10, 2024

<http://www.ecoagri.ac.cn>

Abstract: Drought is one of the major environmental stresses affecting forage planting and productivity in the alpine areas. Absciscic acid (ABA), a plant hormone, plays a critical role in regulating plant growth, development, and responses to environmental stresses. In this study, seeds of the alpine forage species *Onobrychis viciifolia* were subjected to different concentrations of ABA soaking treatments and then exposed to drought stress simulated by 10% polyethylene glycol (PEG6000) in a controlled indoor environment. The germination indices and physiological characteristics of early seedlings were measured and analyzed to investigate the effects of exogenous ABA soaking on seed germination and early seedling growth under drought conditions. The results indicated that drought stress significantly inhibited the germination rate, germination potential, germination index, and vigor index of *O. viciifolia* seeds. Pretreatment with low-concentration ABA, particularly 5 mg·L⁻¹ and 10 mg·L⁻¹ significantly improved these germination parameters. Additionally, pre-soaking seeds with 10 mg·L⁻¹ ABA significantly increased the primary root elongation and root-shoot ratio. The activity of antioxidant enzymes, such as superoxide dismutase, peroxidase, and catalase, was significantly increased in the 10 mg·L⁻¹ ABA-treated group, indicating enhanced antioxidant defense mechanisms. The content of osmotic regulatory substances, including proline also increased, suggesting improved osmoregulation and cellular protection under drought stress. However, higher concentrations of ABA (>20 mg·L⁻¹) did not show any significant positive effects on seed germination or early seedling growth under drought conditions. In some cases, higher concentrations of ABA even slightly inhibited germination, possibly due to overstimulation of stress responses or toxicity. In conclusion, appropriate concentrations of ABA soaking can enhance the germination characteristics of *O. viciifolia* seeds under drought stress and effectively mitigate oxidative damage to early seedlings. The results of this study provide a theoretical basis for promoting the production of high-quality forage grasses in arid regions.

Keywords: *Onobrychis viciifolia*; Drought stress; Absciscic acid; Seed germination; Seedling growth

干旱是影响植物正常生长发育及产量和品质的主要非生物胁迫因子之一, 严重制约着植物的分布和生态适应性, 是全球农牧业生产和持续发展亟待解决的问题^[1]。干旱显著抑制植物细胞有丝分裂、细胞伸长及扩张能力, 从而导致植株矮小、叶片枯黄萎蔫及根系发育不良等不可逆的生长损伤^[2]。此外, 干旱胁迫会引起植物自身抗氧化系统紊乱, 大量积累活性氧 (ROS), 进而导致细胞膜脂过氧化和膜系统的变性^[3]。受到干旱胁迫时, 植物通过感知干旱刺激和信号传导来启动自身的抗氧化防御系统, 如提高超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 等活性, 以清除细胞内过量的 ROS; 同时, 促进植物渗透调节物质如脯氨酸的生物合成积累, 以维持植物细胞正常渗透压, 从而减轻干旱引起的植物损伤^[4-5]。此外, 干旱胁迫会引起植物内源性激素如脱落酸 (ABA)、生长素 (IAA) 和乙烯 (ETH) 等信号通路的响应^[6], 其中 ABA 在植物生长发育和干旱应答中起关键的调节作用^[7], 并且外源 ABA 能够促进干旱胁迫下植物体内 ABA 的合成, 以此调控气孔关闭, 降低水分散失, 增强植物对干旱胁迫的抵抗和防御能力^[8]。研究发现, 施加适宜浓度的外源 ABA 能显著促进干旱胁迫下小麦 (*Triticum aestivum*) 种子萌发、幼苗生长及根系发育特性, 并能提高幼苗的耐旱性^[9]。张翔等^[10]发现, 用 10 mg·L⁻¹ ABA 浸泡处理水稻 (*Oryza sativa*) 种子对其萌发具有促进作用, 但 50~90 mg·L⁻¹ ABA 浸种则对种子萌发具有明显抑制作用; 而在 ABA 喷施对孔雀草 (*Tagetes patula*) 抗旱性研究中却发现, 100 mg·L⁻¹ ABA

叶面喷施对孔雀草的抗旱效果最佳^[11]。这些研究表明, 外源 ABA 浸种或叶面喷施处理能够提高植物的耐旱性, 但也存在物种特异性。

高原地区极端干旱环境对牧草生长、品质和产量产生极大不利影响, 严重制约饲草产业发展^[12-13], 因此, 提高牧草尤其是早期幼苗对干旱胁迫的抵抗能力, 对于保障高原地区畜牧业可持续发展具有重要意义。红豆草 (*Onobrychis viciifolia*) 为青藏高原地区栽培的多年生豆科牧草, 以其高产、优质、适口性强而闻名, 其单宁含量较高, 可有效防止反刍动物患瘤胃膨胀病, 被誉为“牧草皇后”^[14-15]。此外, 红豆草根发达, 具有强大的根结瘤能力, 能够有效提高土壤中氮素含量^[16], 而且有良好的水土保持能力^[17], 对于高原草地退化修复也具有一定的生态意义。目前, 关于外源激素 ABA 与高寒牧草非生物胁迫抗性的研究多集中于禾本科植物^[18-19], 外源 ABA 是否能提高干旱地区豆科牧草干旱胁迫耐受性的相关研究鲜有报道。本研究以豆科牧草红豆草为研究对象, 利用不同浓度的 ABA 浸种, 10% PEG6000 模拟干旱胁迫, 研究干旱条件下不同浓度外源 ABA 浸种对红豆草种子萌发、早期幼苗生长发育及生理生化特性的影响, 旨在为高原地区红豆草推广种植提供借鉴思路。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

试验所用红豆草种子采自青海省民和县峡口镇 (102°56'E, 35°51'N, 海拔约 2332 m), 采集的种子带

回实验室后置于通风处干燥,随后放入 4℃ 冰箱保存。

1.2 试验方法

1.2.1 浸种和干旱胁迫处理

选用颗粒饱满的种子, 75% 乙醇浸泡 30 s 后用无菌水冲洗 5 次, 然后加入 10% 次氯酸钠对种子表面消毒 5 min, 之后用无菌水冲洗 5 次。将消毒后的种子分别置于含有不同浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) ABA (1, 5, 10, 20, 40 和 80) 的锥形瓶中浸种 24 h (黑暗条件下), 同时将对照组 (CK) 和干旱胁迫处理组 (DR) 的种子置于无菌水中浸泡 24 h。

红豆草种子经浸泡后用无菌水冲洗 5 次, 进行红豆草种子萌发试验。将种子置于覆有灭菌滤纸的直径 9 cm 的培养皿中, 每个培养皿内放置 30 粒种子, 随后分别向 DR 组和 6 个不同浓度 ABA 浸种处理组的培养皿中各加入 5 mL 10% PEG6000 溶液, CK 组培养皿中加入 5 mL 水, 每个处理组设置 3 组重复 (表 1); 将种子萌发培养皿置于温度为 24℃ 植物光照培养箱光照/黑暗 (16 h/8 h) 进行种子萌发, 每 12 h 更换 1 次水或 10% PEG6000 溶液。

表 1 不同处理的 ABA 浸种浓度与 10%PEG6000 体积
Table 1 Volumes of 10% PEG6000 and concentrations of seed-soaking ABA of different treatments

处理 Treatment	10% PEG6000 体积 10% PEG6000 volume (mL)	ABA 浓度 ABA concentration ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)
CK	0	0
DR	5	0
A1	5	1
A2	5	5
A3	5	10
A4	5	20
A5	5	40
A6	5	80

1.2.2 种子萌发指标的测定

根据文献报道^[20], 当胚根突破种皮达 2 mm 时视为种子萌发。从种子开始培养 24 h 后, 每天开始统计同时段萌发状况, 直到无种子萌发为止, 然后对发芽率 (GR)、发芽势 (GE)、发芽指数 (GI) 和活力指数 (VI) 进行统计分析, 计算公式如下:

$$\text{GR} = \text{萌发种子数} / \text{供试种子数} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{GE} = \text{萌发粒数} / \text{供试种子数} \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{GI} = \sum (\text{不同时间的萌发数} / \text{萌发天数}) \quad (3)$$

$$\text{VI} = \text{发芽指数} \times \text{幼苗鲜重} \quad (4)$$

1.2.3 根长测定

种子萌发培养 9 d 后, 每个处理组选取生长状况

相同的幼苗排列整齐并拍照, 各组至少选取 30 株幼苗, 使用 ImageJ 软件对早期幼苗的主根长度进行统一测量。

1.2.4 幼苗地上部和地下部鲜重测定

将各处理组幼苗用蒸馏水冲洗干净后, 再用滤纸将水吸干, 然后将地上部分与地下部分分离后分别称量, 并计算根冠比, 具体公式如下:

$$\text{根冠比} = \text{地下部重量} / \text{地上部重量} \quad (5)$$

1.2.5 幼苗生理生化指标的测定

红豆草幼苗生长至第 11 天, 取 0.5 cm 长的根尖浸入预先配置好的 Evans Blue 染液中 10 min, 之后用无水乙醇漂洗 3 次, 无菌水冲洗 2~3 次, 最后在体式显微镜下对根尖进行观察拍照。此外, 参照李合生^[21]的方法, 取叶片进行叶绿素含量的测定。采集幼苗地上部分, 根据试剂盒使用说明书, 用抗氧化酶试剂盒检测 SOD、POD、CAT 等酶的活性; 同时检测了渗透调节物质脯氨酸 (Proline) 和过氧化物丙二醛 (MDA)、过氧化氢 (H_2O_2) 的含量。

1.3 数据处理

利用 SPSS 26.0 软件对数据进行多组间的单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 然后使用 GraphPad Prism 8.0 绘图。

2 结果与分析

2.1 外源 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草种子萌发的影响

与正常对照组 (CK) 相比, 10% PEG6000 干旱胁迫处理 (DR) 显著抑制了红豆草种子的发芽率、发芽势、发芽指数以及活力指数, 但低浓度 ABA 浸种预处理则能显著改善干旱对这些指标的抑制程度 ($P < 0.05$), 尤其是 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA (A2) 浸种处理后, 发芽率、发芽势、发芽指数以及活力指数分别比 DR 处理提高 17.8%、99.4%、22.6% 和 25.0% (图 1); 同时在 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (A1) 和 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA (A3) 浸种预处理对种子的萌发也具有较好的促进效果。这些结果表明低浓度 ABA 浸种处理能够显著缓解干旱胁迫对种子萌发的抑制作用 ($P < 0.05$)。随着 ABA 浸种浓度的增加, 种子萌发的各项指标均表现出先上升后下降的趋势, 在 $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA (A6) 处理后, 各萌发指标均呈现下降趋势 (图 1), 表明高浓度 ABA 浸种不能有效缓解干旱对红豆草种子萌发的不利影响, 可能对种子萌发产生抑制作用。

2.2 外源 ABA 对干旱胁迫下红豆草早期幼苗生长的影响

与 CK 处理相比, DR 处理红豆草早期幼苗的主根

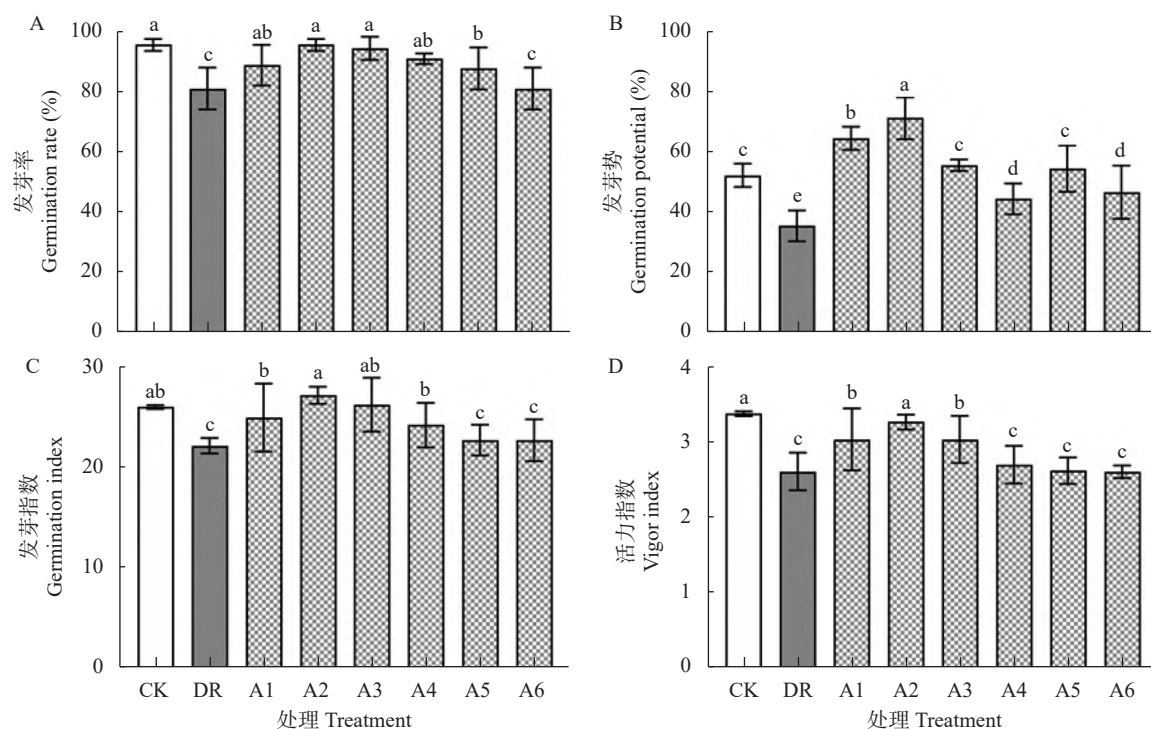


图 1 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草种子萌发的影响

Fig. 1 Effect of ABA seed-soaking on germination of *Onobrychis viciifolia* seeds under drought stress

CK 为对照, DR 为干旱胁迫处理, A1 至 A6 分别为干旱胁迫下 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 浸种处理。不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。CK is the control; DR is the drought stress treatment; A1 to A6 are treatments of 1, 5, 10, 20, 40, and 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA seed-soaking under drought stress, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

伸长受到明显抑制作用, 而适宜浓度的 ABA 浸种能有效缓解这种抑制作用 (图 2)。与 DR 处理相比, ABA 浸种处理 (A1-A6) 使红豆草幼苗主根长度增加 8.4%~33.1%, 其中 A3 处理组中 ABA 浸种对早期幼苗根的延伸促进作用最显著, 其主根长度增加 33.1% ($P<0.05$), 与 CK 处理主根长差异不显著 (图 3A)。与 CK 处理相比, DR 处理幼苗根冠比显著升高, 而 A1、A2 和 A3 处理幼苗根冠比均显著低于 DR 处理;

A2 处理与 CK 处理无显著差异, 但 A4、A5 和 A6 处理与 DR 处理无显著性差异, 均显著高于 CK 处理 (图 3B)。此外, 与 CK 处理相比, DR 处理幼苗叶绿素含量显著降低 32.3% ($P<0.05$), 而适宜浓度 ABA 处理 (A3, A4) 则能缓解干旱胁迫对幼苗叶绿素合成的抑制, 与 DR 处理相比, A3 处理幼苗叶绿素含量显著提高 45.7% ($P<0.05$), 与 CK 处理无显著差异 (图 3C)。



图 2 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草早期幼苗生长的影响

Fig. 2 Effect of ABA seed-soaking on early seedlings phenotype of *Onobrychis viciifolia* under drought stress

CK 为对照, DR 为干旱胁迫处理, A1 至 A6 分别为干旱胁迫下 $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $20 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $40 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 浸种处理。CK is the control; DR is the drought stress treatment; A1 to A6 are treatments of 1, 5, 10, 20, 40, and 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA seed-soaking under drought stress, respectively.

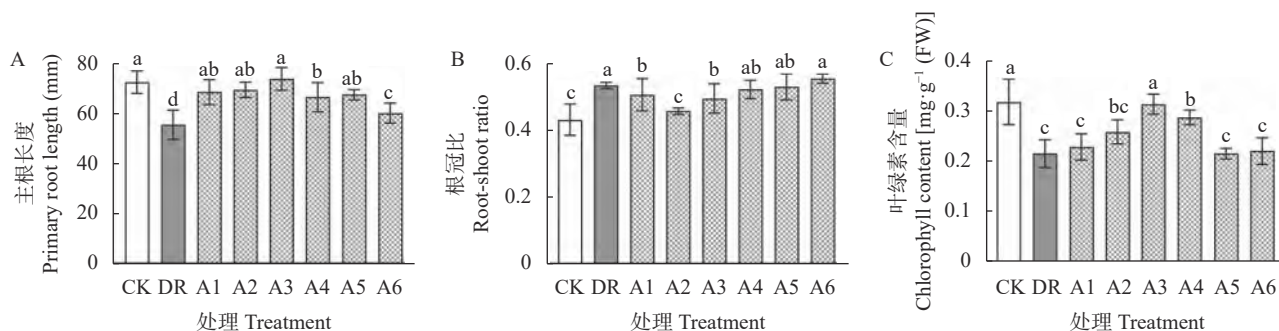


图3 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草早期幼苗主根长、根冠比和叶绿素含量的影响

Fig. 3 Effect of ABA seed-soaking on the primary root length, root/shoot ratio and chlorophyll content of early seedlings of *Onobrychis viciifolia* under drought stress

CK 为对照, DR 为干旱胁迫处理, A1 至 A6 分别为干旱胁迫下 1 mg·L⁻¹、5 mg·L⁻¹、10 mg·L⁻¹、20 mg·L⁻¹、40 mg·L⁻¹ 和 80 mg·L⁻¹ ABA 浸种处理。不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。CK is the control; DR is the drought stress treatment; A1 to A6 are treatments of 1, 5, 10, 20, 40, and 80 mg·L⁻¹ ABA seed-soaking under drought stress, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$).

2.3 外源 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草根尖细胞死亡率的影响

使用 Evans Blue 染色法对红豆草早期幼苗根尖进行染色, 结果显示 DR 处理幼苗根尖细胞染色最深, 表明干旱胁迫造成根尖细胞严重的氧化损伤进而导致细胞死亡; 在 A2 和 A3 处理幼苗的根尖染色较浅; 随着外源 ABA 浸种浓度的增加, 幼苗根尖细胞染色程度也随之加深, 特别是 A6 处理幼苗根尖染色着色程度与 DR 处理相似, 说明高浓度的 ABA 浸种不能缓解干旱胁迫对早期幼苗根尖细胞的氧化损伤 (图 4)。

2.4 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草早期幼苗氧化物含量、抗氧化酶活性和渗透调节物质含量的影响

相对于 CK 处理, 干旱胁迫使红豆草早期幼苗中 H₂O₂ 含量显著增加 (图 5A), 引起了细胞严重的氧化损伤, 这与根尖细胞死亡染色结果一致 (图 4)。相比于未使用 ABA 浸种的 DR 处理, ABA 浸种处理都能不同程度地降低 H₂O₂ 含量 (图 5A), 尤其是 A3 处理组中幼苗叶片细胞内的 H₂O₂ 含量降低幅度最大, 为 37.5% ($P < 0.05$), 说明适宜浓度的 ABA 浸种可减轻干旱胁迫引起的细胞内 H₂O₂ 累积, 进而缓解氧化

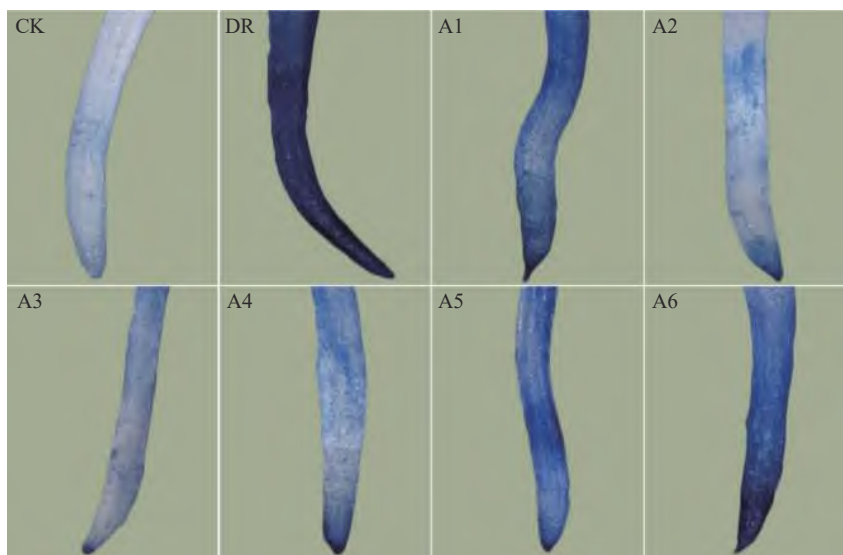


图4 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草早期幼苗根尖细胞死亡的影响

Fig. 4 Effect of ABA seed-soaking on the apical cell death of *Onobrychis viciifolia* seedlings under drought stress

CK 为对照, DR 为干旱胁迫处理, A1 至 A6 分别为干旱胁迫下 1 mg·L⁻¹、5 mg·L⁻¹、10 mg·L⁻¹、20 mg·L⁻¹、40 mg·L⁻¹ 和 80 mg·L⁻¹ ABA 浸种处理。CK is the control; DR is the drought stress treatment; A1 to A6 are treatments of 1, 5, 10, 20, 40, and 80 mg·L⁻¹ ABA seed-soaking under drought stress, respectively.

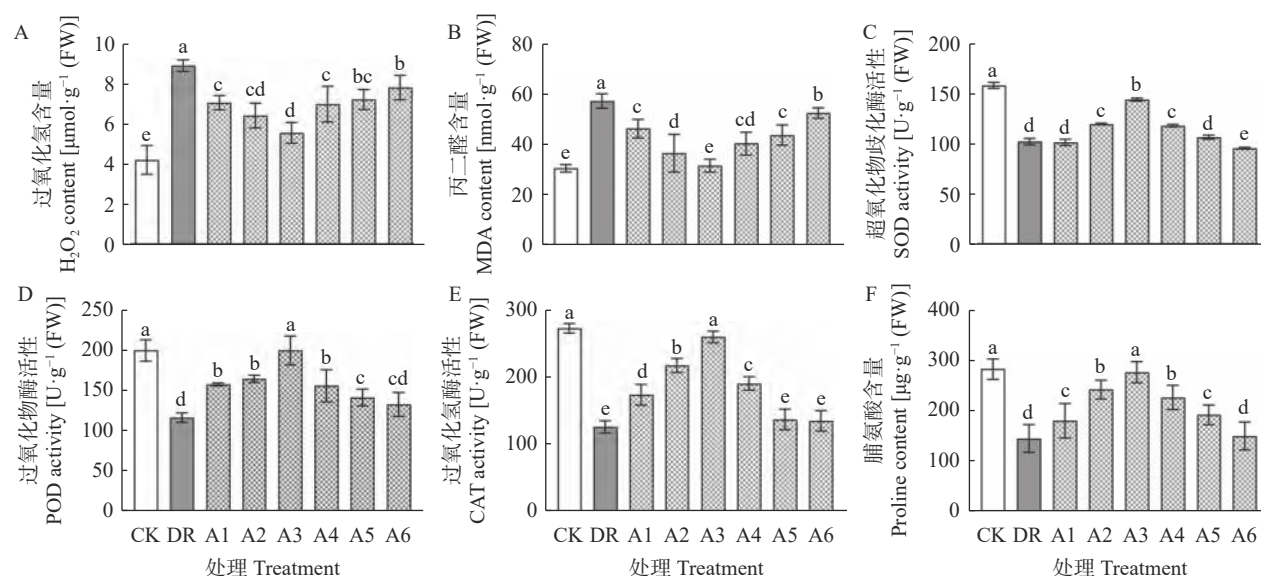


图 5 ABA 浸种对干旱胁迫下红豆草早期幼苗氧化物水平和抗氧化酶活性的影响

Fig. 5 Effect of ABA seed-soaking on oxides level and activities of antioxidant enzymes of *Onobrychis viciifolia* seedlings under drought stress

CK 为对照, DR 为干旱胁迫处理, A1 至 A6 分别为干旱胁迫下 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 浸种处理。不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。MDA: malondialdehyde; SOD: superoxide dismutase; POD: peroxisome; CAT: catalase. CK is the control; DR is the drought stress treatment; A1 to A6 are treatments of 1, 5, 10, 20, 40, and $80\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA seed-soaking under drought stress, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

损伤。类似地, 与 DR 处理相比, 不同浓度 ABA 浸种均可使表征细胞膜脂氧化损伤的 MDA 水平降低 (图 5B), 并且 A3 处理幼苗 MDA 含量最低, 与 DR 相比降低 44.7% ($P<0.05$), 与 CK 无显著差异。这些结果表明, 适宜浓度 ABA 浸种对于减轻干旱胁迫下红豆草幼苗受到的氧化损伤具有积极作用。

在抗氧化酶活性方面, 与 CK 处理相比, 干旱胁迫下红豆草早期幼苗体内 SOD、POD 和 CAT 活性显著下降。随着外源 ABA 浸种浓度的增加, 这些抗氧化酶活性呈先增加后降低的趋势, 并且相对于 DR 处理, A3 处理幼苗 SOD、POD 和 CAT 活性分别增加 40.7%、71.4% 和 106.4% ($P<0.05$), 在所有 ABA 浸种处理中抗氧化酶活性最高, 其次是 A2 和 A4 处理, 以及 A1 处理幼苗 POD 活性 (图 5C、D 和 E), 而更高浓度 ABA 浸种处理 (A5, A6) 幼苗抗氧化酶活性未发生明显改善。这一结果表明, 适宜浓度的 ABA 提高了红豆草早期幼苗干旱胁迫下的抗氧化酶活性, 进而缓解干旱胁迫引起的氧化损伤。

脯氨酸是植物体内重要的调节物质, 与 DR 处理相比, A3 处理红豆草早期幼苗脯氨酸含量增加 90.5% ($P<0.05$) (图 5F), 但当 ABA 浸种浓度减少或提高时, 脯氨酸含量也随之降低, 说明适宜浓度的 ABA 浸种处理可以通过提高渗透调节物质含量维持细胞渗透压, 进而缓解干旱胁迫损伤。

3 讨论

青藏高原极端环境尤其是干旱严重影响着牧草的生长发育和生态适应范围^[22]。种子萌发是植物生命周期中的重要阶段, 能否在干旱环境下快速萌发, 是植物适应干旱生长发育的关键^[23-24]。本研究中, 10% PEG6000 干旱胁迫使红豆草种子萌发受到显著抑制 (图 1), 这与其他牧草如黑麦草 (*Lolium perenne*)^[25]、长穗偃麦草 (*Thinopyrum ponticum*)^[19] 等干旱胁迫下的种子萌发情况相一致。ABA 作为一类调控植物生长发育和抗逆的重要植物激素, 外源 ABA 浸种处理对非生物胁迫下种子萌发具有重要的调节作用^[26], 如低浓度 ($6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 的 ABA 浸种处理能够显著促进荒漠植物红砂 (*Reaumuria soongarica*) 种子的萌发以及幼苗生长^[27]。本研究也发现 10% PEG6000 干旱胁迫下, $5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 处理可明显提高种子的萌发指标, 可能由于低浓度 ABA 浸种处理使抑制种子萌发的化学物质钝化, 或激活种子内酶活性, 解除休眠以提高发芽率^[28]。

植物根系是水分和营养物质吸收的重要器官。本研究发现干旱胁迫对红豆草幼苗主根伸长具有显著的抑制作用, 而低浓度 ABA 浸种能够显著缓解干旱胁迫对主根伸长的抑制作用 (图 2)。根冠比是反映非生物因素和生物因素影响地上生物量和地下生物量重新分配的指标^[29]。研究发现, 干旱胁迫下拟南

芥 (*Arabidopsis thaliana*)^[30]、酸枣 (*Ziziphus jujuba* var. *spinosa*)^[29]、甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*)^[31] 等植物幼苗根冠比增加,说明根冠比的提高可能是植物响应干旱胁迫以增强水分利用率的生存策略。本研究发现在 10 mg·L⁻¹ ABA 处理下,红豆草幼苗根冠比与 CK 相比无显著差异,对于缓解红豆草干旱胁迫损伤具有积极作用。此外,干旱也会使植物叶绿素合成受到抑制,光合能力下降,进而对其生长发育造成不利影响^[32]。与 CK 相比,干旱胁迫下红豆草幼苗叶绿素含量显著降低,而在 10 mg·L⁻¹ ABA 处理下,幼苗叶绿素含量显著提高,增强了幼苗的光合能力。除了 ABA 浸种预处理外,通过喷施外源 ABA 同样能够提高植物的光合作用效率^[33],说明 ABA 浸种或其他方式施加均能有效提高植物的光合能力,进而提高植物对干旱的耐受性。

干旱胁迫往往引起过氧化物如 H₂O₂ 和 MDA 的积累,进而导致植物体生理和代谢紊乱^[34]。本研究中心干旱胁迫下红豆草幼苗 MDA 和 H₂O₂ 含量明显增加(图 5),并且根尖细胞染色结果发现干旱胁迫造成幼苗根尖细胞大量死亡,进一步证实干旱胁迫引起了严重的氧化损伤并导致主根伸长受到抑制(图 4),这与前人的研究结果一致^[35]。而低浓度 ABA 浸种预处理却能显著降低过氧化物含量,对于维持细胞膜完整性和有效缓解红豆草幼苗干旱胁迫引起的氧化损伤具有重要作用。同时,过氧化物或其他活性氧也会激活植物体内抗氧化酶防御系统,清除植物体内过多的活性氧等有害物质,以维持细胞内氧化还原稳态^[36]。适宜浓度的外源 ABA 能提高植物在干旱条件下的抗氧化酶活性,并能有效抑制活性氧及过氧化有害物质的累积^[32],这与本研究结果较为一致,尤其在 10 mg·L⁻¹ ABA 处理下,幼苗的抗氧化酶 SOD、POD 和 CAT 活性显著提高,尽管 ABA 处理对幼苗的处理方式有所不同,但都能有效提高抗氧化酶的活性,并进一步增强植物对干旱胁迫的防御能力。

另外,脯氨酸作为重要的渗透调节物质之一,通过保持细胞的含水量和膨压势来维持植物体正常的生长代谢^[37]。本研究发现在 10 mg·L⁻¹ ABA 处理下,能显著提高幼苗体内脯氨酸的含量,这对维持红豆草幼苗干旱胁迫下的正常渗透压具有积极作用。并且前人研究也发现,适宜浓度的外源 ABA 通过提高茶树 (*Camellia sinensis*)^[38] 和甘薯 (*Ipomoea batatas*)^[39] 的脯氨酸含量介导了这些植物的抗旱性,表明调控渗透物质的合成积累也可能是外源 ABA 缓解植物干旱的策略之一。

4 结论

干旱条件下,低浓度 ABA (5~10 mg·L⁻¹) 浸种能显著提高红豆草种子萌发时的耐旱性;同时可以增强红豆草幼苗在干旱胁迫下的抗氧化酶活性,有效清除细胞内过量的活性氧及氧化有害物质,减缓根尖细胞死亡,维持细胞膜的完整性和正常的细胞渗透压,缓解因干旱引起的幼苗损伤。而较高浓度 ABA (>20 mg·L⁻¹) 浸种处理对于种子萌发和幼苗抗旱作用不显著。因此,适宜浓度 (5~10 mg·L⁻¹) 的 ABA 浸种能够有效减轻干旱对红豆草种子萌发和幼苗生长的影响,这一结果为高原牧草的干旱区适应性种植提供了重要参考依据。

参考文献 References

- [1] 刘宪锋,傅伯杰. 干旱对作物产量影响研究进展与展望[J]. *地理学报*, 2021, 76(11): 2632–2646
LIU X F, FU B J. Progress and prospects of research on the impact of drought on crop yield[J]. *Journal of Geography*, 2021, 76(11): 2632–2646
- [2] 王丹丹,王鹏,韩智阳,等. 干旱胁迫对赤芍生理特性影响及相关基因的克隆表达[J]. *干旱地区农业研究*, 2022, 40(5): 71–80
WANG D D, WANG P, HAN Z Y, et al. Effects of drought stress on physiology characteristics of *Radix paeoniae* var. *rubra* and clonal expression of related genes[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2022, 40(5): 71–80
- [3] WANG X X, GAO Y G, WANG Q J, et al. 24-Epibrassinolide-alleviated drought stress damage influences antioxidant enzymes and autophagy changes in peach (*Prunus persicae* L.) leaves[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2019, 135: 30–40
- [4] 张雪洁,单长卷,赵新亮. 干旱胁迫对小麦品种百农 207 叶片生理特性的影响[J]. *农业科技通讯*, 2022(1): 73–76
ZHANG X J, SHAN C J, ZHAO X L. Effects of drought stress on physiological characteristics of wheat variety Bainong 207[J]. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2022(1): 73–76
- [5] JI H T, LIU L, LI K X, et al. PEG-mediated osmotic stress induces premature differentiation of the root apical meristem and outgrowth of lateral roots in wheat[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(17): 4863–4872
- [6] 王福祥,肖开转,姜身飞,等. 干旱胁迫下植物体内活性氧的作用机制[J]. *科学通报*, 2019, 64(17): 1765–1779
WANG F X, XIAO K Z, JIANG S F, et al. Mechanisms of reactive oxygen species in plants under drought stress[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2019, 64(17): 1765–1779
- [7] LIM C W, BAEK W, JUNG J, et al. Function of ABA in stomatal defense against biotic and drought stresses[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(7): 15251–15270
- [8] 梁琼月,潘明君,尹永强,等. 外源 ABA 对低温胁迫下烤烟幼苗生理指标的影响[J]. *东北农业科学*, 2023, 48(5): 51–55

- LIANG Q Y, PAN M J, YIN Y Q, et al. Effects of exogenous ABA on physiology index of tobacco seedling under cold stress[J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2023, 48(5): 51–55
- [9] 席吉龙, 张建诚, 席凯鹏, 等. 外源 ABA 对小麦抗旱性和产量性状的影响[J]. *作物杂志*, 2014(3): 105–108
- XI J L, ZHANG J C, XI K P, et al. Effects of exogenous ABA on wheat drought resistance and yield[J]. *Journal of Crops*, 2014(3): 105–108
- [10] 张翔, 项超, 刘金师, 等. 脱落酸对水稻种子萌发的影响[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(35): 73–74, 120
- ZHANG X, XIANG C, LIU J S, et al. Effect of the exogenous plant hormone ABA on the germination of rice seeds[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2015, 43(35): 73–74, 120
- [11] 李素华, 余佳, 韩浩章, 等. 干旱胁迫下外源 ABA 处理对孔雀草幼苗生理特性的影响[J]. *内蒙古农业大学学报 (自然科学版)*, 2021, 42(4): 8–11
- LI S H, YU J, HAN H Z, et al. Effects of exogenous ABA on physiological characteristics of *Tagetes patula* seedlings under drought stress[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2021, 42(4): 8–11
- [12] 刘晓霞, 周凡莉, 何明珠, 等. 扁蓿豆在川西北高原植被恢复、畜牧业发展中的利用价值[J]. *特种经济动植物*, 2023, 26(3): 148–150
- LIU X X, ZHOU F L, HE M Z, et al. Utilization value of alfalfa bean in vegetation restoration and animal husbandry development in Northwest Sichuan Plateau[J]. *Special Economic Animals and Plants*, 2023, 26(3): 148–150
- [13] 蔚胜利, 王秋雁, 张群眺, 等. 5-ALA 浸种对干旱胁迫下紫花苜蓿种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *草学*, 2022(6): 22–31
- YU S L, WANG Q Y, ZHANG Q Y, et al. Effects of exogenous 5-ALA soaking on seed germination and seedling growth of *Medicago sativa* under drought stress[J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2022(6): 22–31
- [14] 汪玺. 红豆草草地生产能力的评价[J]. *草业学报*, 2002, 11(4): 108–113
- WANG X. Studies on productivity of sainfoin pasture[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2002, 11(4): 108–113
- [15] 南丽丽, 温素军, 魏凡, 等. 红豆草新品系的草产量及营养价值研究[J]. *草地学报*, 2020, 28(2): 383–388
- NAN L L, WEN S J, WEI F, et al. Studies on the forage yield and nutritional value of new sainfoin lines[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(2): 383–388
- [16] 黄海军, 张雨琪, 杜文宣, 等. 红豆草种质资源研究进展[J]. *草地学报*, 2024, 32(8): 2346–2356
- HUANG H J, ZHANG Y Q, DU W X, et al. Research progress on germplasm resources of sainfoin (*Onobrychis viciae folia*) [J]. *Journal of Grassland Science*, 2024, 32(8): 2346–2356
- [17] 司海灿, 温素军, 南丽丽, 等. 干旱胁迫对红豆草幼苗生长及根际土壤细菌群落的影响[J]. *草原与草坪*, 2023, 43(3): 92–99
- SI H C, WEN S J, NAN L L, et al. Influence of simulated drought stress on seedling growth and bacterial communities in the rhizosphere of sainfoin[J]. *Grassland and Turf*, 2023, 43(3): 92–99
- [18] 梁润芳, 李志勇, 武自念, 等. 外源添加剂对羊草种子萌发的影响[J]. *种子*, 2022, 41(9): 28–33, 39
- LIANG R F, LI Z Y, WU Z N, et al. Effects of exogenous addition on the germination of *Leymus chinensis* seeds[J]. *Seed*, 2022, 41(9): 28–33, 39
- [19] 张睿, 封晓辉, 吴玉洁, 等. 长穗偃麦草 (*Thinopyrum ponticum*) 幼苗对盐旱胁迫的生理响应[J]. *中国生态农业学报 (中英文)*, 2022, 30(11): 1795–1806
- ZHANG R, FENG X H, WU Y J, et al. Interactive effects of drought and salt stresses on the growth and physiological characteristics of *Thinopyrum ponticum* [J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30(11): 1795–1806
- [20] 宋佳琦, 王玉祥, 张博. 内源激素变化及外源生长素对紫花苜蓿种子萌发过程的影响[J]. *草地学报*, 2018, 26(3): 691–696
- SONG J Q, WANG Y X, ZHANG B. Effects of endogenous hormone change and exogenous auxin on the germination process of alfalfa seed[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2018, 26(3): 691–696
- [21] 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: 134–137
- LI H S. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical Experiment[M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 134–137
- [22] 王劲松, 姚玉璧, 王莺, 等. 青藏高原地区气象干旱研究进展与展望[J]. *地球科学进展*, 2022, 37(5): 441–461
- WANG J S, YAO Y B, WANG Y, et al. Meteorological droughts in the Qinghai-Tibet Plateau: Research progress and prospects[J]. *Advances in Earth Sciences*, 2022, 37(5): 441–461
- [23] 李培英, 孙宗玖, 阿不来提. PEG 模拟干旱胁迫下 29 份偃麦草种质种子萌发期抗旱性评价[J]. *中国草地学报*, 2010, 32(1): 32–39
- LI P Y, SUN Z J, ABULAITI. Evaluation of drought resistance of 29 accessions of *elytrigia repens* at seed germination stage under PEG-6000 stress[J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2010, 32(1): 32–39
- [24] 吴文荣, 刘晓艳, 吴桂丽, 等. 不同干旱胁迫对胡麻种子萌发特性的影响[J]. *作物杂志*, 2012(2): 134–137
- WU W R, LIU X Y, WU G L, et al. Influence of drought stress on germination characteristics of linseed seed[J]. *Crops*, 2012(2): 134–137
- [25] 张咏梅, 胡海英, 白小明, 等. 多年生黑麦草、雀麦根系形态和生长对土壤干旱的适应性[J]. *中国生态农业学报 (中英文)*, 2022, 30(11): 1784–1794
- ZHANG Y M, HU H Y, BAI X M, et al. Effects of soil water restriction on root growth and root morphology of perennial ryegrass and pasture brome[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30(11): 1784–1794
- [26] DU Z Y, CHEN M X, CHEN Q F, et al. *Arabidopsis* acyl-CoA-binding protein ACBP1 participates in the regulation of seed germination and seedling development[J]. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology*, 2013, 74(2): 294–309
- [27] 后有丽, 苏世平, 李毅, 等. 外源脱落酸对红砂叶片渗透调节物质含量及抗氧化酶活性的影响[J]. *草业科学*, 2020, 37(2): 245–255
- HOU Y L, SU S P, LI Y, et al. Effects of exogenous abscisic acid on the content of osmotic adjustment substances and

- antioxidant enzyme activity in the leaves of *Reaumuria soongorica*[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(2): 245–255
- [28] 罗富成, 郭铁敏, 彭健, 等. 外源激素对纳罗克非洲狗尾草种子休眠的破除效果[J]. *草业科学*, 2015, 32(3): 406–412
- LUO F C, GUO Y M, PENG J, et al. Effects of exogenous hormones treatments to release seeds dormancy of *Setaria sphacelata* cv. Narok[J]. *Pratacultural Science*, 2015, 32(3): 406–412
- [29] 麻云霞, 李钢铁, 张宏武, 等. 酸枣幼苗光合特征和生理生化指标对不同强度干旱胁迫的响应[J]. *干旱区资源与环境*, 2018, 32(12): 164–169
- MA Y X, LI G T, ZHANG H W, et al. Photosynthetic characteristics and physiological and biochemical indexes in response to drought stress in *Zizyphus jujuba* seedlings[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2018, 32(12): 164–169
- [30] CHEN Q C, HU T, LI X H, et al. Phosphorylation of SWEET sucrose transporters regulates plant root: shoot ratio under drought[J]. *Nature Plants*, 2022, 8: 68–77
- [31] 刘长利, 王文, 崔俊茹, 等. 干旱胁迫对甘草光合特性与生物量分配的影响[J]. *中国沙漠*, 2006, 26(1): 142–145
- LIU C L, WANG W, CUI J R, et al. Effects of drought stress on photosynthesis characteristics and biomass allocation of *Glycyrrhiza uralensis*[J]. *Journal of Desert Research*, 2006, 26(1): 142–145
- [32] QIAN J J, ZHANG X P, YAN Y, et al. Unravelling the molecular mechanisms of abscisic acid-mediated drought-stress alleviation in pomegranate (*Punica granatum* L.)[J]. *Plant Physiology and Biochemistry: PPB*, 2020, 157: 211–218
- [33] 刘芯伶, 彭玉婷, 王云梅, 等. 外源褪黑素和脱落酸对干旱胁迫下猕猴桃幼苗生理特性的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2021, 39(4): 95–101
- LIU X L, PENG Y T, WANG Y M, et al. Effects of exogenous melatonin and abscisic acid on physiological characteristics in kiwifruit seedlings under drought stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(4): 95–101
- [34] 刘旻霞, 马建祖. 6种植物在逆境胁迫下脯氨酸的累积特点研究[J]. *草业科学*, 2010, 27(4): 134–138
- LIU M X, MA J Z. Study on proline accumulation patterns of six plant species under adversity stress[J]. *Pratacultural Science*, 2010, 27(4): 134–138
- [35] 张笑, 宋敏丽. 外源脱落酸对干旱胁迫下谷子生长及生理特性的影响[J]. *太原师范学院学报(自然科学版)*, 2020, 19(4): 91–96
- ZHANG X, SONG M L. Effects of exogenous abscisic acid on growth and physiological characteristics of millet seedlings under drought stress[J]. *Journal of Taiyuan Normal University (Natural Science Edition)*, 2020, 19(4): 91–96
- [36] 胡国霞, 马莲菊, 陈强, 等. 植物抗氧化系统对水分胁迫及复水响应研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(3): 1278–1280, 1282
- HU G X, MA L J, CHEN Q, et al. Research progress on the response of plant antioxidant system to water stress and rewatering[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(3): 1278–1280, 1282
- [37] 段文静, 孟妍君, 江丹, 等. 外源褪黑素对盐胁迫下棉花幼苗形态及抗氧化系统的影响[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2022, 30(1): 92–104
- DUAN W J, MENG Y J, JIANG D, et al. Effects of exogenous melatonin on the morphology and antioxidant enzyme activities of cotton seedlings under salt stress[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30(1): 92–104
- [38] 周琳, 徐辉, 朱旭君, 等. 脱落酸对干旱胁迫下茶树生理特性的影响[J]. *茶叶科学*, 2014, 34(5): 473–480
- ZHOU L, XU H, ZHU X J, et al. Effect of abscisic acid on physiological characteristics of tea plant under drought stress[J]. *Journal of Tea Science*, 2014, 34(5): 473–480
- [39] 孙哲, 范维娟, 刘桂玲, 等. 干旱胁迫下外源 ABA 对甘薯苗期叶片光合特性及相关生理指标的影响[J]. *植物生理学报*, 2017, 53(5): 873–880
- SUN Z, FAN W J, LIU G L, et al. Effects of exogenous ABA on leaf photosynthetic characteristics and associated physiological indexes of sweet potato (*Ipomoea batatas*) seedlings under drought stress[J]. *Plant Physiology Journal*, 2017, 53(5): 873–880