

# 沼液浸种对蒙古黄芪种子萌发及幼苗生理特性的影响

陆国弟<sup>1</sup>, 杨扶德<sup>1\*</sup>, 王惠珍<sup>1</sup>, 杜 弢<sup>1</sup>, 郑 健<sup>2</sup>, 邢 豪<sup>1</sup>

(1. 甘肃中医药大学, 甘肃 兰州 730000; 2. 兰州理工大学, 甘肃 兰州 730050)

**摘 要:** 通过培养皿发芽试验, 设计 5 个沼液浓度水平 (0%, 10%, 25%, 50%, 75%) 和 3 个浸种时间水平 (4, 5, 6 h), 探讨沼液浓度和浸种时间对蒙古黄芪种子发芽势、发芽指数、活力指数、根长、苗高、根重、叶绿素 (Chl) 含量、丙二醛 (MDA) 含量、抗氧化酶活性 (CAT、POD、SOD) 及根系活力的影响, 以寻求最佳沼液浸种浓度和时间组合, 为黄芪产量和质量的提高提供理论依据。结果表明, 25% 沼液浸种 5 h 黄芪种子发芽势最高, 显著高于清水浸种 4、5 h 处理 ( $P<0.05$ ); 25% 沼液浸种 5 h 的发芽指数、活力指数、根长、根重, Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量, 根系活力、POD 活性、SOD 活性均显著高于其他 14 个浸种处理 ( $P<0.05$ ); 25% 沼液浸种 4、6 h 苗高均显著高于其余 13 个处理 ( $P<0.05$ ); 丙二醛含量与 CAT 活性测定结果一致, 均以 25% 沼液浸种 5 h 最低 ( $P<0.05$ )。说明适宜的沼液浸种有利于黄芪种子萌发和幼苗生长。其中 25% 沼液浸种 5 h 对黄芪种子萌发和幼苗生长效果最佳。

**关键词:** 沼液浓度; 浸种时间; 蒙古黄芪; 种子萌发; 幼苗生理特性

黄芪为豆科属植物, 具有很高药用及食用价值。目前, 全国大部分地区使用的是蒙古黄芪 [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiaode] 的干燥根<sup>[1-2]</sup>, 药用资源主要依靠栽培, 但由于大量使用化肥农药, 引起土壤酸化、土壤板结、土壤污染等问题, 导致黄芪出苗率下降, 根分支、木化严重<sup>[3-5]</sup>, 影响其产量和质量, 进而制约黄芪产业化发展及临床疗效。

沼液是有机物质厌氧发酵的副产物, 富含丰富氮、磷、钾及多种微量元素<sup>[6]</sup>, 相比化肥更易被作物吸收利用, 且保肥时间长, 缓速供肥能力强, 施用可以显著提高作物产量, 并对作物病虫害有较好的防治作用, 还可改善土壤理化性质, 缓解土壤酸化板结等问题<sup>[7-8]</sup>, 作为浸种液, 沼液中的营养成分被种子不同程度吸收后, 能有效刺激种子内酶的活性, 从而促进胚细胞分裂, 达到催芽和刺激生长的作用<sup>[9]</sup>。近年来, 广泛应用于水稻、小麦等农作物和青菜等蔬菜生产中<sup>[10-13]</sup>, 但在中药材方面的应用鲜有报道<sup>[14-16]</sup>, 尤其是应用于黄芪浸种方面尚未报道, 基于以上原

因, 本试验以蒙古黄芪种子作为研究对象, 通过 2 因素完全随机设计试验, 结合主成分分析, 探讨不同沼液浓度和浸种时间对蒙古黄芪种子萌发及幼苗生理特性的影响, 以寻求最佳沼液浸种浓度和时间组合, 为黄芪产量和质量的提高提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

沼液 (取自甘肃省皋兰县阳洼窑村以牛粪和玉米秸秆为主要原料的户用沼气池, 其中含全氮:  $1.036 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 全磷:  $0.533 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 全钾:  $1.186 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 有机质:  $10.75 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 蒙古黄芪种子 (取自 2017 年甘肃省临夏回族自治州和政药用植物园, 由甘肃中医药大学杜弢教授鉴定)。硫酸、丙酮等试剂, 均购于天津市大茂化学试剂厂, 为分析纯。

### 1.2 试验设计

采用 2 因素完全随机设计, 沼液浓度: 设 0% (清水对照)、10%、25%、50%、75% 5 个水平, 浸种时间: 设 4、5、6 h 3 个水平, 每个处理重复 10 次。选择成熟、饱满、均匀一致的健康种子, 分别用清水、10%、25%、50%、75% 沼液, 以淹没种子 5 cm 为准, 分别浸泡 4、5、6 h, 清水冲洗, 0.05% 次氯酸钠溶液表面消毒 5 min, 蒸馏水清洗 4~5 次, 通风晾干, 均匀摆放于已洗净消毒的河沙培养皿规格中, 每皿规格 80 粒, 于光照培养箱 [光照强度 2 000 LX, 光照时间 12/12 h (光照 12 h, 黑暗 12 h),

收稿日期: 2018-11-06; 录用日期: 2018-12-30

基金项目: 甘肃省科技厅青年项目 (177R5RA166); 甘肃省教育厅创新能力提升项目 (2019B-102); 西北中藏药创新中心 2015 年度重点项目 (XBXT2015-4)。

作者简介: 陆国弟 (1985-), 女, 甘肃会宁人, 在读博士研究生, 主要研究中药品质评价及中藏药规范化栽培。E-mail: luguodi@126.com。

通讯作者: 杨扶德, E-mail: gszyyfd@163.com。

恒温 20℃] 中, 培养 7 d, 第 8 d 测量各指标。

### 1.3 种子萌发指标测定

培养次日开始逐日记录发芽种子数, 连续 7 d, 计算种子萌发指标, 公式如下:

发芽势 (GE) = 第 4 d 种子发芽数 / 供试种子数 × 100%

$$\text{发芽指数 (GI)} = \sum \frac{G_t}{D_t} \times 100\%$$

$$\text{活力指数 (VI)} = \text{GI} \times S$$

式中:  $G_t$  为第  $t$  d 的种子发芽数,  $D_t$  为  $G_t$  相应的发芽天数; GI 为发芽指数,  $S$  为平均胚根长。

### 1.4 幼苗生长指标测定

培养第 7 d 后, 从每皿随机选取 10 株幼苗, 重复 3 次, 毛刷刷净其表面沙子, 用刻度尺测定其胚根长、胚芽长; 用万分之一电子天平称其胚根鲜重。

### 1.5 叶绿素含量测定

采用丙酮-乙醇研磨法测定<sup>[17]</sup>, 培养第 10 d 后, 取黄芪样品 0.1 g 左右进行 Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量测定, 每个处理重复 3 次。

### 1.6 幼苗抗氧化酶活性测定

取黄芪样品 0.1 g 左右采用过氧化氢法<sup>[18]</sup>、氮蓝四唑光化还原法<sup>[18]</sup>、愈创木酚法<sup>[18]</sup>分别测定过氧化氢酶 (CAT) 活性、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、过氧化物酶 (POD) 活性, 每个处理重复 3 次。

### 1.7 丙二醛活性测定

采用硫代巴比妥酸法<sup>[18]</sup>, 取 0.5 g 黄芪样品进行丙二醛 (MDA) 含量测定, 每个处理重复 3 次。

### 1.8 幼苗根系活力测定

采用 TTC 法<sup>[19]</sup>, 选取根长度、粗度基本一致的幼苗, 用剪刀剪下根 100 条, 进行根系活力测定。每个处理重复 3 次。

### 1.9 数据处理

利用 Excel 2007 进行数据整理, origin 9.1 软

件制图, 应用 SPSS Statistics 22 统计分析软件对各指标进行 Duncan 新复极差法显著性检验 ( $P < 0.05$ ) 及主成分分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 沼液浸种对黄芪种子萌发指标的影响

由表 1 可知, 蒙古黄芪种子萌发率很高, 且萌发速率很快, 培养第 4 d 种子萌发率达最高, 经清水浸种的发芽势可达 96.67%。不同沼液浓度处理, 对各处理间种子发芽势无显著影响, 但对种子发芽速度和长势有显著影响 ( $P < 0.05$ ), 其中以 25% 沼液处理的发芽指数和活力指数值最高, 显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P < 0.05$ ), 且 10%、50%、75% 沼液处理均显著高于清水对照 ( $P < 0.05$ )。浸种时间对种子发芽势无显著影响, 但对其发芽指数和活力指数有显著影响, 浸种 5 h 种子发芽指数和活力指数均显著高于 4、6 h 处理 ( $P < 0.05$ )。浸种浓度和时间互作, 对各处理间种子发芽势无显著影响 (表 1), 对其发芽指数和活力指数具显著影响, 其发芽指数均以清水、10%、25% 沼液浸种 5 h 较好, 显著高于其他浸种时间处理 ( $P < 0.05$ ); 50%、75% 沼液浸种 4 h 均显著高于其他浸种时间处理 ( $P < 0.05$ )。活力指数以清水浸种 6 h 较好, 显著高于其他浸种时间处理 ( $P < 0.05$ ); 10%、25%、75% 沼液浸种 5 h 值较高 ( $P < 0.05$ ); 50% 沼液浸种以浸种 4 h 活力指数较好 ( $P < 0.05$ )。表明沼液浸种有助于黄芪种子发芽速度和活力的提高, 其中以 25% 沼液浸种 5 h 的发芽势、发芽指数、活力指数值较高, 均显著高于其他 14 个处理 ( $P < 0.05$ )。

表 1 不同处理间黄芪种子萌发及幼苗生物量多重比较结果 (n=3)

沼液浓度 (%)	浸种时间 (h)	发芽势 (%)	发芽指数	活力指数	根长 (cm)	苗高 (cm)	根重 (g)
0	4	96.67 ± 1.102b	176.35 ± 1.437i	325.04 ± 1.759i	1.84 ± 0.012h	2.58 ± 0.003g	0.071 6 ± 0.000 6 h
	5	96.67 ± 0.417b	183.01 ± 1.164g	328.80 ± 1.459i	1.80 ± 0.007i	2.35 ± 0.006i	0.078 5 ± 0.000 2fg
	6	97.92 ± 1.502ab	180.83 ± 0.402h	362.86 ± 0.799h	2.01 ± 0.009f	2.60 ± 0.015fg	0.074 6 ± 0.001 3gh
10	4	98.33 ± 0.833ab	186.75 ± 0.511f	365.39 ± 2.906h	1.96 ± 0.020g	2.81 ± 0.003b	0.086 2 ± 0.001 8e
	5	98.33 ± 0.833ab	195.75 ± 0.446c	433.90 ± 2.348c	2.22 ± 0.017c	2.61 ± 0.006ef	0.093 0 ± 0.001 7d
	6	98.75 ± 0.000ab	192.67 ± 0.726e	403.30 ± 2.199e	2.09 ± 0.017e	2.62 ± 0.003de	0.093 3 ± 0.001 4d
25	4	97.92 ± 1.102ab	191.44 ± 0.850e	408.39 ± 0.379e	2.13 ± 0.009d	2.86 ± 0.007a	0.103 7 ± 0.003 3c
	5	99.58 ± 0.417a	201.56 ± 0.319a	463.60 ± 0.734a	2.35 ± 0.003a	2.59 ± 0.003g	0.140 2 ± 0.000 4a
	6	99.17 ± 0.417ab	198.03 ± 0.455b	452.17 ± 0.592b	2.28 ± 0.003b	2.85 ± 0.013a	0.111 8 ± 0.000 3b
50	4	98.33 ± 0.417ab	199.42 ± 0.170b	448.01 ± 3.667b	2.25 ± 0.020bc	2.63 ± 0.003d	0.085 0 ± 0.002 0e
	5	97.17 ± 0.417ab	195.09 ± 0.177cd	396.03 ± 2.625f	2.03 ± 0.015f	2.63 ± 0.003d	0.086 5 ± 0.002 1e
	6	97.92 ± 0.417ab	192.61 ± 0.364e	432.07 ± 3.409c	2.24 ± 0.021bc	2.83 ± 0.003b	0.065 1 ± 0.001 0i
75	4	98.75 ± 0.000ab	193.19 ± 0.229de	415.35 ± 1.904d	2.15 ± 0.015d	2.55 ± 0.003h	0.079 5 ± 0.000 9f
	5	97.50 ± 1.250ab	187.60 ± 0.322e	434.10 ± 0.326c	2.26 ± 0.012b	2.55 ± 0.007h	0.084 1 ± 0.000 0e
	6	97.50 ± 0.722ab	191.81 ± 0.934f	380.84 ± 0.870g	2.03 ± 0.006f	2.75 ± 0.010c	0.064 3 ± 0.000 3i

注: 同列不同小写字母表示在  $P < 0.05$  水平上显著。下同。

## 2.2 沼液浸种对黄芪幼苗生长指标的影响

表 1 显示, 不同沼液浓度处理, 对黄芪幼苗根长、苗高、根重具显著性影响, 其根长和根重均显著高于清水对照 ( $P<0.05$ ), 且 25% 沼液浸种的根长和根重均显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P<0.05$ ); 50% 沼液浸种的苗高显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P<0.05$ )。浸种时间对黄芪幼苗根长、苗高、根重具显著性影响, 浸种 5 h 的根长、根重均显著高于 4、6 h 处理 ( $P<0.05$ ); 浸种 4、6 h 的苗高均显著高于 5 h 处理 ( $P<0.05$ )。方差分析表明, 沼液浓度和浸种时间互作显著。其中, 10%、25%、50% 沼液浸种不同时间及 75% 沼液浸种 4、5 h 的根长均显著高于清水对照处理 ( $P<0.05$ ); 10%、25% 沼液浸种不同时间及 50% 沼液浸种 4、5 h 的根重均显著高于清水对照处理 ( $P<0.05$ ); 但 75% 沼液浸种 6 h 的根长、根重均显著低于清水对照处理 ( $P<0.05$ )。其中, 以 25% 沼液浸种 5 h 的根长和根重值最高, 均显著高于其他 14 个处理 ( $P<0.05$ )。对苗高而言, 清水、50%、75% 浸种均以 6 h 较好; 10%、25% 浸种均以 4 h 较好; 其中, 以 25% 沼液浸种 4、6 h 幼苗长势最好, 显著高于其他 14 个处理

( $P<0.05$ )。综上可知, 使用适量的沼液对黄芪种子进行一定时间的浸种处理, 有助于植株生物量的增加。

## 2.3 沼液浸种对黄芪幼苗叶绿素含量的影响

叶绿素是植物进行光合作用的主要物质基础, 其中 Chla 和 Chlb 占叶绿素总色素的 75%。由表 2 可知, Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量随沼液浓度的增加均呈先增后降的趋势, 且显著高于清水对照 ( $P<0.05$ )。其中, 25% 沼液浸种的 Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量均显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P<0.05$ )。浸种时间对叶绿素含量具显著性影响, 其中, 浸种 5 h 的 Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量均显著高于 4、6 h 处理 ( $P<0.05$ )。沼液浓度和时间互作显著 (表 2), 10% ~ 75% 沼液处理不同时间 (除 75% 沼液浸种 6 h) 的 Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量均显著高于清水对照处理 ( $P<0.05$ )。其中, 以 25% 沼液浸种 5 h 的 Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量较高, 均显著高于其他 14 个处理 ( $P<0.05$ )。同时从表 2 可知, Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量随着沼液浓度的增加, 浸种时间的延长均呈现先增加后降低的趋势, 由此可见, 适宜沼液浓度浸种一定时间可显著提高黄芪叶片 Chla、Chlb、Chla+Chlb 的含量。

表 2 不同处理间黄芪幼苗生理生化指标多重比较结果 (n=3)

沼液浓度 (%)	浸种时间 (h)	叶绿素 a ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	叶绿素 b ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	总叶绿素 ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	MDA ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ )	根系活力 ( $\text{根}^{-1} \cdot \text{Fw}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )
0	4	0.384 7 ± 0.000 4ij	0.107 4 ± 0.000 2h	0.492 1 ± 0.000 3h	0.011 4 ± 0.000 5bc	32.87 ± 0.176h
	5	0.406 8 ± 0.004 6h	0.121 7 ± 0.002 4g	0.528 6 ± 0.006 5g	0.011 2 ± 0.000 2bed	34.60 ± 0.115g
	6	0.399 2 ± 0.004 8hi	0.114 0 ± 0.003 5h	0.513 2 ± 0.008 1g	0.012 5 ± 0.000 1a	25.33 ± 0.406k
10	4	0.461 3 ± 0.006 7de	0.131 0 ± 0.001 2ef	0.592 3 ± 0.007 1de	0.010 9 ± 0.000 1d	35.13 ± 0.291g
	5	0.512 3 ± 0.002 8b	0.146 9 ± 0.001 5bc	0.659 1 ± 0.003 8b	0.010 1 ± 0.000 0f	36.73 ± 0.291f
	6	0.452 7 ± 0.012 0ef	0.134 9 ± 0.003 3de	0.587 7 ± 0.015 4de	0.011 1 ± 0.000 1cd	36.53 ± 0.176f
25	4	0.472 5 ± 0.002 0cd	0.131 4 ± 0.001 0ef	0.606 6 ± 0.003 0d	0.009 5 ± 0.000 0g	39.20 ± 0.231d
	5	0.530 7 ± 0.003 6a	0.157 0 ± 0.002 9a	0.687 7 ± 0.006 2a	0.009 2 ± 0.000 1h	45.13 ± 0.067a
	6	0.444 9 ± 0.001 6f	0.130 2 ± 0.001 0ef	0.575 1 ± 0.002 2ef	0.010 5 ± 0.000 2e	30.80 ± 0.503i
50	4	0.508 2 ± 0.001 5b	0.148 5 ± 0.000 9b	0.656 8 ± 0.002 0b	0.010 3 ± 0.000 1ef	41.60 ± 0.306b
	5	0.458 9 ± 0.001 9ef	0.134 6 ± 0.000 9de	0.593 5 ± 0.001 9de	0.011 1 ± 0.000 1cd	37.87 ± 0.176e
	6	0.427 5 ± 0.006 1g	0.128 7 ± 0.002 7ef	0.556 1 ± 0.008 6f	0.011 4 ± 0.000 0b	27.27 ± 0.291j
75	4	0.487 6 ± 0.004 1c	0.140 8 ± 0.002 5cd	0.628 0 ± 0.005 4c	0.010 6 ± 0.000 1e	40.00 ± 0.115c
	5	0.448 3 ± 0.000 7ef	0.125 1 ± 0.000 6fg	0.573 4 ± 0.001 2ef	0.011 4 ± 0.000 0b	35.40 ± 0.231g
	6	0.379 6 ± 0.008 4j	0.112 0 ± 0.004 0h	0.491 6 ± 0.012 5h	0.012 4 ± 0.000 2a	24.93 ± 0.240k

#### 2.4 沼液浸种对黄芪幼苗 MDA 含量的影响

MDA 是膜质过氧化的最终产物, 含量的多少可直接反映细胞膜损伤的程度。MDA 含量越低, 控制膜质过氧化水平的能力越强, 进而植株生理活性和抗逆性越强<sup>[18]</sup>。由表 2 可知, 不同沼液浓度处理对黄芪幼苗 MDA 含量具显著影响。其中, 以 25% 沼液浸种的 MDA 含量显著低于清水、其他沼液浓度处理 ( $P<0.05$ ), 浸种时间对 MDA 含量具显著影响, 以浸种 5 h MDA 含量显著低于 4、6 h 处理 ( $P<0.05$ )。方差分析显示, 浸种浓度和时间交互显著 (表 2), 清水、10%、25% 沼液均以浸种 5 h MDA 含量较低, 均显著低于其他浸种时间处理 ( $P<0.05$ ); 50%、75% 沼液均以浸种 4 h 的 MDA 含量较低, 显著低于 5、6 h 浸种时间 ( $P<0.05$ )。其中, 以 25% 沼液浸种 5 h MDA 含量最低, 显著低于其余 14 个处理 ( $P<0.05$ )。

#### 2.5 沼液浸种对黄芪幼苗根系活力的影响

根系生长发育直接影响植株的生命活动, 而根系活力的强弱直接反映根的吸收与合成能力。不同沼液浓度处理对根系活力具显著影响 (表 2)。25% 沼液浸种的根系活力值较高, 显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P<0.05$ ), 且 10%、50%、75% 沼液处理的根系活力均显著高于清水对照 ( $P<0.05$ )。浸种时间对根系活力具显著影响, 以浸种 5 h 的根系活力显著高于 4、6 h 处理 ( $P<0.05$ )。浸种浓度和时间交互, 可显著影响黄芪幼苗根系活力。清水、10%、25% 沼液均以浸种 5 h 其根系活力较强, 显著高于其他浸种时间处理 ( $P<0.05$ ); 50%、75% 沼液均以浸种 4 h 的根系活力较强, 显著高于 5、6 h 浸种时间 ( $P<0.05$ )。但以 25% 沼液浸种 5 h 根系活力最强, 显著高于其余 14 个处理 ( $P<0.05$ )。

#### 2.6 沼液浸种对黄芪幼苗抗氧化酶活性的影响

方差分析显示 (图 1、2、3), 不同沼液浓度处理, 对黄芪幼苗 3 种抗氧化酶活性具显著影响 ( $P<0.05$ ), POD 活性、SOD 活性均以 25% 沼液处理最高, 显著高于清水、其他沼液浓度处理 ( $P<0.05$ ); CAT 活性以 10% 沼液处理最高, 显著高于其他 4 个沼液浓度处理 ( $P<0.05$ ); 浸种时间对黄芪幼苗 3 种抗氧化酶活性具显著影响, POD、SOD 活性均以浸种 5 h 显著高于 4、6 h 处理; CAT 活性以浸种 6 h 显著高于 4、

5 h 处理。由图 1、2、3 可知, 浸种浓度和时间交互显著, 但 3 种抗氧化酶活性变化趋势不同。在 0% ~ 25% 沼液浓度范围内, POD 活性随浸种时间的延长, 呈先增后降的趋势, 且均显著高于清水对照处理 ( $P<0.05$ ); 但 50%、75% 沼液处理, 随浸种时间的延长均呈降低趋势, 各处理间具显著性差异 ( $P<0.05$ )。SOD 活性变化趋势 (除 10% 沼液浸种 5 h 外) 与 POD 活性一致。CAT 活性在 0% ~ 10% 沼液浓度范围内, 随浸种时间延长呈先增后降的趋势, 并显著高于清水对照处理 ( $P<0.05$ ); 25% 沼液处理, 随浸种时间的延长, 呈现先增后降又增的趋势, 并显著低于清水对照处理 ( $P<0.05$ ), 而 50%、75% 沼液处理不同时间, 呈先增后降的趋势, 各处理间均具显著性差异

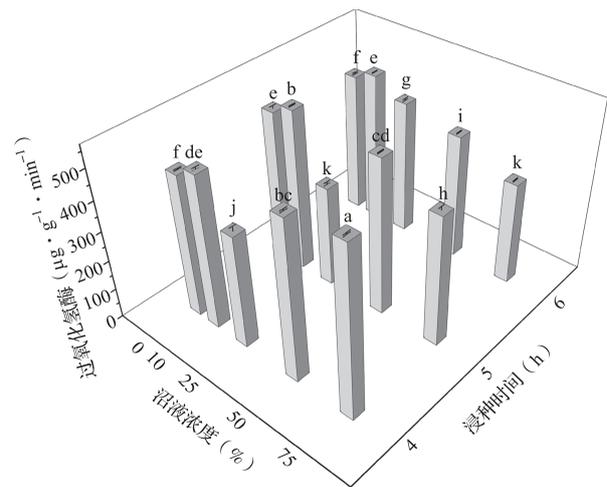


图 1 不同沼液浓度浸种不同时间的过氧化氢酶 (CAT) 活性

注: 不同小写字母表示处理间差异显著 ( $P<0.05$ )。下同。

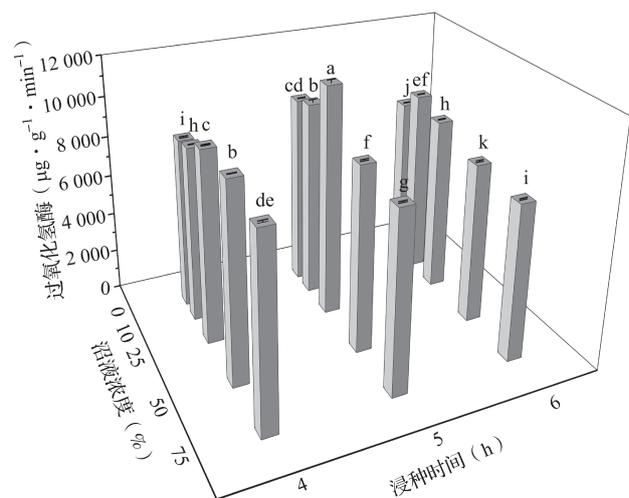


图 2 不同沼液浓度浸种不同时间的过氧化物酶 (POD) 活性

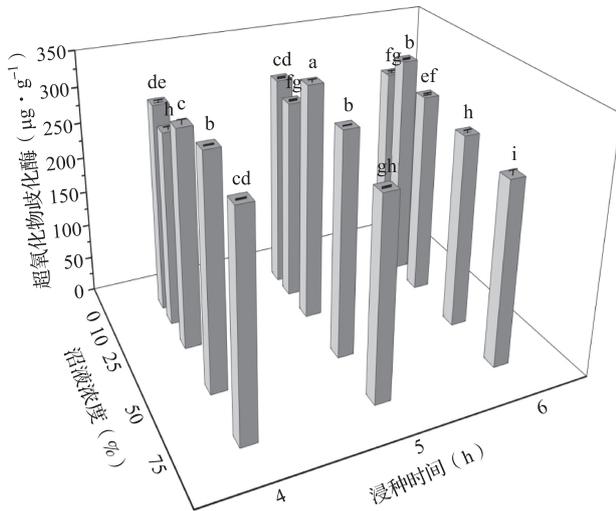


图3 不同沼液浓度浸种不同时间的超氧化物歧化酶 (SOD) 活性

( $P < 0.05$ )。其中, 以 25% 沼液浸种 5 h 的 POD、SOD 活性最强, 75% 沼液浸种 4 h CAT 活性最强, 均显著高于其余 14 个处理 ( $P < 0.05$ )。表明, 适宜的沼液浓度和浸种时间处理, 可有效增加黄芪幼苗体内抗氧化酶活性, 从而提高植株的抗逆性。

### 2.7 沼液浸种综合评价

根据上述黄芪种子各指标分析, 均以 25% 沼液浸种 5 h 更有利于黄芪种子萌发及幼苗生长。本研究为了更客观、准确评价浸种浓度和时间最优组合, 以黄芪种子发芽指数、活力指数、根长、根重, Chla、Chlb、Chla+Chlb 含量, POD、CAT、SOD 活性, MDA 含量及根系活力 12 个指标为原始变量进行主成分分析。主成分的特征值和贡献率作为选择主成分的重要依据, 由表 3 可知, 前 3 个主成分的累计贡献率为 91.991 0%, 由此可见, 这 3 个主成分可以反映黄芪种子萌发及幼苗生长性状 91% 以上的信息。故通过计算这 3 个主成分的单项得分和综合得分, 便可评价沼液浸种浓度和时间最优组合 (表 4)。由表 4 可知, 第 1 主成分最高得分为 25% 沼液浸种 5 h; 第 2 主成分最高得分为 25% 沼液浸种 6 h; 第 3 主成分最高得分为 25% 沼液浸种 5 h。可基本判断, 25% 沼液浸种 5 h 的黄芪种子萌发及幼苗生长的综合表现最好。在计算各主成分得分的基础上, 计算出综合得分, 其综合得分结果在 15 个处理中, 以 25% 沼液浸种 5 h 得分最高, 为 128.322 9。这与各指标单独分析结果基本一致, 说明采用主成分分析来评价沼液浸种浓度和时间的最优组合是可行的。

表 3 方差贡献率和累计方差贡献率

主成分	特征值	贡献率 (%)	累加贡献率 (%)
1	8.032 0	66.932 0	66.932 0
2	1.851 0	15.429 0	82.361 0
3	1.156 0	9.630 0	91.991 0
4	0.373 0	3.106 0	95.097 0
5	0.210 0	1.746 0	96.843 0
6	0.151 0	1.257 0	98.100 0
7	0.110 0	0.914 0	99.104 0
8	0.070 0	0.585 0	99.598 0
9	0.041 0	0.341 0	99.939 0
10	0.007 0	0.060 0	99.999 0
11	$9.25 \times 10^{-5}$	0.001	100.000 0
12	$4.33 \times 10^{-7}$	$3.61 \times 10^{-6}$	100.000 0

### 3 讨论

黄芪种子发芽率低, 出苗不整齐, 制约了黄芪产业化持续发展<sup>[20]</sup>, 分析原因除种皮存在较高硬实休眠特性外, 种子带菌严重<sup>[21]</sup>, 种皮内存在很厚果胶物质<sup>[22]</sup>, 不良条件下会失去吸胀能力, 造成不可逆性。研究显示沼液含多种可溶性小分子物质, 可被种子直接吸收, 进而提供种子发芽及幼苗生长足够的营养元素, 其次沼液中含抗菌类物质<sup>[23-24]</sup>, 这些物质能杀灭种子表面病菌, 增强种子抗病力, 起到催芽、壮苗的作用。正如本研究观察到一样, 沼液浸种后, 黄芪种子与清水相比, 第一, 无发霉现象, 第二, 可显著提高黄芪种子发芽指数和活力指数。但试验曾用全沼液处理后, 随浸种时间延长, 首先延缓了种子萌发, 其次种子萌发后开始大量死亡, 这可能是由于浸种浓度高、时间长, 抑制种子呼吸, 造成种子毒害作用。沼液浸种对黄芪种子发芽率影响不显著, 分析原因有 2 点: 第一, 试验所用蒙古黄芪种子为当年新采集种子, 发芽率本身高; 第二, 接种在培养皿中的种子都是挑选吸水膨胀的, 已达到了种子萌发所需水分, 故沼液处理初期, 浓度和时间对种子萌发影响不大。

表 4 各主成分得分及综合得分

处理	主成分 1	主成分 2	主成分 3	主成分 4	主成分 5	主成分 6	主成分 7	主成分 8	主成分 9	主成分 10	主成分 11	主成分 12	综合得分
清水浸种 4 h	-0.379 19	-1.861 91	0.412 66	-0.035 98	-0.219 08	-0.982 8	-1.432 73	-0.890 91	-0.235 62	-0.623 74	0.107 08	-0.050 77	-53.811 3
清水浸种 5 h	0.143 51	-1.856 65	0.477 44	0.286 9	-0.066 01	-0.443 85	1.078 58	-0.018 2	2.181 85	-0.677 33	0.322 32	0.406 89	-12.546 2
清水浸种 6 h	-1.560 9	-0.584 16	0.206 58	0.177 54	0.543 1	1.221 4	-1.670 96	1.354 7	0.180 31	1.585 45	-0.285 07	-0.257 73	-109.041
10% 沼液浸种 4 h	1.009 52	-1.020 33	-1.785 77	0.590 72	0.775 3	0.823 35	0.434 04	0.666 39	-1.838 4	-0.870 51	0.754 3	0.491 02	38.961 4
10% 沼液浸种 5 h	1.198 3	0.594 47	-1.381 01	1.088 29	0.234 93	-0.243 06	-0.203 68	0.817 19	1.584 76	1.163 8	0.052 76	0.294 79	80.464 7
10% 沼液浸种 6 h	-0.620 61	0.105 69	1.508 53	0.497 61	0.340 12	0.434 76	0.144 53	0.519 61	-0.923 87	-0.761 03	0.840 45	0.069 97	-22.618 6
25% 沼液浸种 4 h	1.166 91	-0.371 1	0.042 75	-1.398 24	-0.130 99	-1.750 3	-0.323 01	-0.391 59	-1.121 96	1.716 55	-0.228 5	-0.008 19	65.213 7
25% 沼液浸种 5 h	1.608 88	0.708 62	1.259 32	-1.901 92	1.106 67	0.986 32	-0.265 85	0.687 89	0.598 98	-0.855 59	-0.413 78	-0.116 52	128.322 9
25% 沼液浸种 6 h	-1.283 91	1.232 56	-0.331 97	0.289 83	2.395 04	-1.555 45	0.543 29	-0.592 03	0.101 17	-0.310 48	0.229 19	-0.582 89	-66.821 4
50% 沼液浸种 4 h	0.517 5	1.091 48	1.101 58	0.882 17	-1.372 95	-0.149 05	0.101 89	-0.045 79	-0.160 39	0.570 28	2.266 05	-0.426 01	62.289 6
50% 沼液浸种 5 h	-0.234 71	-0.050 1	1.017 58	0.738 93	-0.098 75	0.546 15	1.871 27	-0.507 23	-0.695 71	1.120 36	-1.692 24	1.321 47	-2.631 9
50% 沼液浸种 6 h	-0.948 36	1.061 3	-0.604 28	-0.573 97	-1.564 39	-1.118 09	-0.319 41	1.475 08	-0.074 9	-1.286 28	-0.734 05	1.438 44	-58.372 2
75% 沼液浸种 4 h	0.683 11	0.350 58	-0.030 87	1.344 45	-0.776 21	0.108 94	-0.455 1	-0.413 02	-0.205 66	-0.882 4	-1.865 45	-2.210 05	53.008 7
75% 沼液浸种 5 h	-0.188 31	0.827 69	-0.742 01	-0.281 31	-0.210 99	1.315 98	-1.041 03	-2.527 42	0.438 2	-0.220 6	0.217 05	1.251 69	-8.860 5
75% 沼液浸种 6 h	-1.111 75	-0.228 14	-1.150 53	-1.705 04	-0.955 8	0.805 72	1.538 18	-0.134 66	0.171 24	0.331 55	0.429 89	-1.622 11	-93.557 6

本研究发现,用25%沼液浸种5 h,黄芪幼苗与其他处理相比,存在以下区别:第一,叶片颜色较深,且较大而厚;第二,根较粗而长。经叶绿素含量、根长、根重、根系活力测定,其值也是显著高于其他14个处理。这是因为沼液中含有丰富的全氮、全钾(前期所测沼液中含氮、钾量均高出含磷量2倍),这两种营养成分对作物叶绿素、光合速率、呼吸作用等都有明显的影响<sup>[25]</sup>,而25%沼液浸种5 h相比其他14个处理,黄芪幼苗所含氮和钾浓度可能更有利于其叶绿素、碳水化合物的合成,促使光合产物积累增加,物质供应充足,从而加快根营养成分积累,进而使黄芪生物量显著增加,同时沼液中存在氨基酸、维生素等活性物质可提高根系活力,促进植物根系发育<sup>[26]</sup>。而根系活力代表植株吸收、合成、呼吸等整个代谢的强弱,能反映根系的生命活动,并与整个植株生命活动强度紧密相关<sup>[27]</sup>。袁大刚等研究表明,使用不同沼液浓度和浸种时间可显著影响万寿菊根系活力<sup>[15]</sup>,并随沼液浓度增加和浸种时间的延长,万寿菊根系活力呈先增后降的趋势,与本研究结果类似。

植物在逆境(干旱、毒害)条件下,体内会积累大量的活性氧物质,这些活性氧会破坏膜系统。短时间胁迫,可刺激植物启动自身活性氧清除系统(SOD、POD和CAT活性氧清除酶类),帮助植物度过难关,提高抗逆性,但超出植物消除能力,就会对植物造成伤害。而MDA是膜质过氧化的产物,其积累的多少可判断植物受损程度及抗逆性强弱<sup>[28]</sup>。本研究表明,低浓度沼液(10%~50%)浸种4、5 h,黄芪幼苗MDA含量积累显著降低,POD、SOD、CAT活性显著增强,这是因为沼液中存在的多种活性物质,给植株提供足够营养的同时,增强了其活力,进而加强了植株自生防御系统,减少了幼苗细胞膜的损伤程度,这与薛延丰等用生理生化参数评价水葫芦沼液浸种对青菜生长情况的研究结果相似<sup>[29]</sup>,而高浓度沼液(75%)浸种4~6 h,MDA含量显著升高,3种抗氧化酶活性显著降低,分析原因有2点:第一,不同植物抗性有所差异;第二,沼液成分复杂,可能存在其他尚不清楚的生物抑制物质,使用高浓度沼液后,浸种时间过长,这些生长抑制物质在植株体内蓄积较多,就会对植株造成不可逆的损伤。

## 4 结论

沼液浸种可有效提高蒙古黄芪种子生活力及萌发速度,其含有的活性物质可增强黄芪幼苗叶片光和能力,促进根系生理活性物质积累,增强植株抗逆能力,从而提高其产量和质量。但浸种时一定要掌握好沼液浸种浓度和时间。本研究得出,以25%沼液浸种5 h时黄芪种子萌发及幼苗生长效果最佳,值得关注的是,需要更准确得出提高黄芪产量和质量的沼液浓度,还需进一步盆栽、大田试验,也是本项目下步主要工作。该研究为提高黄芪产量,改善黄芪质量,以及沼液浸种在中药材方面的推广应用提供理论依据。

## 参考文献:

- [1] 姜波. 种子包衣后黄芪生长形状与药材品质的研究[D]. 哈尔滨:黑龙江医药大学,2009.
- [2] 赵一之. 黄芪植物来源及其产地分布研究[J]. 中草药,2004,35(10):1189-1190.
- [3] 王凌诗,王良信. 中药材性状特征的质量评价[J]. 中草药,1999,30(5):371-374.
- [4] 刘娟,王良信,王凌诗. 黄芪性状特征与物种及土壤条件相关性研究[J]. 中国野生植物资源,1996,15(4):3-6.
- [5] Fu J, Wang Z H, Huang L F, et al. Review of the botanical characteristics, phytochemistry, and pharmacology of *Astragalus membranaceus* (Huangqi)[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(9): 1275-1283.
- [6] 张震,唐华,郭彦军. 不同环境温度下沼液养分在土壤中的淋失模拟研究[J]. 草业学报,2015,24(04):57-65.
- [7] 吴树彪,崔畅,张笑千,等. 农田施用沼液增产提质效应及水土环境影响[J]. 农业机械学报,2014,44(8):118-125.
- [8] 秦文,陈宝玉,王瑞珍,等. 沼液膜下滴灌对早春重茬西瓜枯萎病防挂效果初探[J]. 上海蔬菜,2016(3):58-95.
- [9] 宋聚波,雷友造,刘安琴,等. 不同浓度沼液浸红蒜种对比试验[J]. 中国沼气,2006,25(2):38-45.
- [10] Wu J, Yang Q, Yang G, et al. Effects of biogas slurry on yield and quality of oil-seed rape [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2013, 36(13): 2084-2098.
- [11] 刘远,李文杨,高承芳,等. 沼液灌溉对砂培黑麦草种子发芽与生理效应的影响[J]. 福建农业学报,2014,29(7):657-661.
- [12] 魏芳勤,吴玉红,陈永刚,等. 不同浓度沼液浸种对花魔芋实生种子萌发的影响[J]. 中国沼气,2018,36(2):92-95.
- [13] 薛延丰,冯慧芳,石志琦,等. 水葫芦沼液浸种对苗期青菜品质影响初探[J]. 草业科学,2011,28(4):687-692.
- [14] 王显安,马超,胡榜文,等. 不同浸种方法对独活种子的影响研究[J]. 安徽农学通报,2017,28(10):58-59.

- [15] 袁大刚, 刘成, 蒲光兰, 等. 沼液浸种对万寿菊种子发芽及幼苗生长的影响 [J]. 中国中药杂志, 2011, (7): 817-821.
- [16] 雍山玉, 桑得福. 不同浓度沼液浸种对柴胡种子发芽率的影响 [J]. 中国沼气, 2013, 31 (6): 57-58.
- [17] 刘家尧, 刘新. 植物生理学实验教程 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [18] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [19] 白宝章, 金镜子, 白崧, 等. 玉米根系活力 TTC 测定法的改良 [J]. 玉米科学, 1994, 2 (4): 44-47.
- [20] 史丽萍, 欧巧明, 崔文娟, 等. 甘肃传统中药材黄芪种子发芽方法的优选研究 [J]. 中药材, 2014, 37 (4): 548-552.
- [21] 范钱, 简恒. 黄芪种子带菌检测及药剂消毒处理 [J]. 云南农业大学学报, 2010, 25 (4): 494-499.
- [22] 张琳, 秦雪梅. 黄芪种子萌发实验 [J]. 中药材, 1994, 17 (11): 9-10.
- [23] 袁炳富, 汪立龙, 洪长才. 沼液浸种增产的原因及浸种方法 [J]. 农村能源, 1999, (1): 20-21.
- [24] 曹云, 马艳, 吴华山, 等. 沼液处理对土壤微生物性状及西瓜枯萎病发生的影响 [J]. 中国土壤与肥料, 2016, (1): 34-41.
- [25] 荆家海. 植物生理学 [M]. 西安: 陕西科技出版社, 1994.
- [26] 薛延丰, 李慧明, 石志琦. 蓝藻发酵沼液对青菜生物学特性和品质影响初探 [J]. 江西农业学报, 2009, 21 (10): 59-62.
- [27] 魏道智, 宁书菊, 林文雄. 小麦根系活力变化与叶片衰老的研究 [J]. 应用生态学报, 2004, 15 (9): 1565-1569.
- [28] 胡学俭, 孙明高, 夏阳, 等. NaCl 胁迫对无花果与海棠膜脂过氧化作用及保护酶活性的影响 [J]. 西北植物学报, 2005, 25 (5): 937-943.
- [29] 薛延丰, 石志琦, 严少华, 等. 利用生理生化参数评价水葫芦沼液浸种可行性初步研究 [J]. 草业学报, 2010, 19 (5): 51-56.

### Effects of biogas slurry soaking seeds on seed germination and physiological characteristics of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedling

LU Guo-di<sup>1</sup>, YANG Fu-de<sup>1\*</sup>, WANG Hui-zhen<sup>1</sup>, DU Tao<sup>1</sup>, ZHENG Jian<sup>2</sup>, XING Hao<sup>1</sup> (1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000; 2. Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050)

**Abstract:** The influences of different biogas slurry concentrations and soaking time on the seed germination and physiological characteristics of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedling were studied by the culture dish germination experiment. And germination power, germination index, vigor index, root and seedling length, root height, content of chlorophyll and MDA, antioxidant enzyme activities and root activity in various biogas slurry concentrations (0%, 10%, 25%, 50%, 75%) and soaking time (4, 5, 6 h) were recorded and analyzed with PCA analysis, and the best biogas slurry soaking concentration and time were explored to improve the yield and quality of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. The results showed that, the germination power of seeds was the highest in 25% biogas slurry soaking for 5 h, which was significantly higher than that in water soaking for 4 and 5 h ( $P < 0.05$ ). The germination index, vigor index, root length, root weight, Chla content, Chlb content, Chla+Chlb content, root activity, POD and SOD activity of seeds under 25% biogas slurry soaked for 5 h were significantly higher than the other 14 soaking treatments ( $P < 0.05$ ). The seedling height of seeds under 25% biogas slurry soaked for 4 and 6 h was the highest ( $P < 0.05$ ). MDA content and CAT activity of seeds under 25% biogas slurry soaked for 5 h were the lowest ( $P < 0.05$ ). It can be concluded that appropriate biogas slurry soaking can improve the germination and growth of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*. As a whole, soaking for 5 h in 25% biogas slurry had the best effect on seed germination and growth of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* seedling.

**Key words:** biogas slurry concentration; seed soaking time; *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus*; seed germination; physiological characteristics of seedlings