

苗期低温胁迫对川续断生长发育及川续断皂苷 VI 含量积累的影响

杨欢欢¹, 胥春云¹, 徐 娇^{1,2}, 吴桃生¹, 周 涛^{1,2}, 肖承鸿^{1,2*}

1. 贵州中医药大学, 贵州 贵阳 550025

2. 贵州省道地药材种质创新与资源高效利用全省重点实验室, 贵州 贵阳 550025

摘要 目的 探索苗期低温胁迫对川续断 *Dipsacus asper* 生长发育及川续断皂苷 VI 含量积累的影响, 为川续断种植生态调控奠定基础。**方法** 在 5、10、15、25 °C 条件下处理川续断幼苗, 测定川续断皂苷 VI 含量、农艺性状及抗逆性生理指标, 筛选低温胁迫温度; 将低温胁迫的不同种质川续断幼苗移栽至试验田种植 18 个月, 动态测量生物量、川续断皂苷 VI 含量及川续断皂苷 VI 合成途径关键酶基因表达量。**结果** 10 °C 低温胁迫促进川续断幼苗中川续断皂苷 VI 含量升高, 抑制川续断的生长, 川续断幼苗中丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 和超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性显著升高; 苗期低温胁迫对川续断的后期生长发育无显著影响, 可持续促进川续断皂苷 VI 含量积累, 其中低海拔地区川续断种质川续断皂苷 VI 含量积累增加最为显著; 苗期低温胁迫促进川续断皂苷 VI 合成途径关键酶基因 *DaAACT*、*DaHMGCR*、*DaHMGS*、*DaP450*、*DaSQE*、*DaUGTs* 在不同时期显著上调表达。**结论** 适度苗期低温胁迫可上调川续断后期生长川续断皂苷 VI 合成途径基因的表达, 促进川续断皂苷 VI 积累, 且对川续断生长发育无显著影响。

关键词: 川续断; 苗期低温; 川续断皂苷 VI; 大田试验; 基因表达

中图分类号: R286.2 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)16-5946-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.16.022

Effects of low temperature stress at seedling stage on growth, development, and asperosaponin VI accumulation in *Dipsacus asper*

YANG Huanhuan¹, XU Chunyun¹, XU Jiao^{1,2}, WU Taosheng¹, ZHOU Tao^{1,2}, XIAO Chenghong^{1,2}

1. Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China

2. Guizhou Key Laboratory for Germplasm Innovation and Resource-Efficient Utilization of Dao-di Herbs, Guiyang 550025, China

Abstract: Objective To investigate the impact of early low temperature stress at seedling stage on the growth, development, and accumulation of asperosaponin VI in *Dipsacus asper*, with the objective of establishing a foundation for ecological regulation in *D. asper* cultivation. **Methods** *D. asper* seedlings were subjected to different temperatures (5, 10, 15, and 25 °C) to assess the content of asperosaponin VI, agronomic traits, and physiological indicators associated with stress resistance, and screen the low-temperature stress temperature. Various germplasms of *D. asper* seedlings exposed to low temperature stress were transplanted into experimental fields for an 18-month period. Biomass, content of asperosaponin VI, and expression levels of key enzyme genes involved in its synthesis pathway were dynamically measured. **Results** Exposing to low temperature stress of 10 °C promotes the accumulation of asperosaponin VI and inhibits the growth of *D. asper* seedlings. The activities of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in *D. asper* seedlings significantly increase under low temperature stress. Low temperature stress during the seedling stage does not have a significant impact on the subsequent growth and development of *D. asper*. However, it consistently enhances the accumulation of asperosaponin VI, with the most pronounced increase observed in low-altitude regions. Key enzyme genes *DaAACT*, *DaHMGCR*, *DaHMGS*, *DaP450*, *DaSQE*, and *DaUGTs* involved in the synthesis pathway of asperosaponin VI are significantly upregulated at different stages under low temperature stress during the seedling stage. **Conclusion** Moderate low-temperature stress during the seedling stage induces upregulation of genes involved in the biosynthetic pathway of asperosaponin VI in *D. asper*, thereby enhancing its accumulation, while exerting negligible effects on growth and development of *D. asper*. **Key words:** *Dipsacus asper* Wall. ex Henry; low temperature during seedling stage; asperosaponin VI; field experiment; gene expression

收稿日期: 2025-01-02

基金项目: 国家重点研发计划 (2023YFC3503803); 国家自然科学基金项目 (82160725)

作者简介: 杨欢欢 (1997—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药及民族药资源分类鉴定与质量控制。E-mail: yanghh0918@163.com

*通信作者: 肖承鸿 (1985—), 教授, 从事中药资源鉴定及质量评价研究。E-mail: xiaochenghong1986@126.com

续断收载于《中国药典》2020年版,具有补肝肾、强筋骨、续折伤等功效,主要用于治疗肝肾不足、腰膝酸软、筋伤骨折等症^[1]。是仙灵骨葆胶囊、骨康片、艾附暖宫丸等中成药的主要原料之一。历史上续断基原虽有变化,但自明清时期以来均以川续断 *Dipsacus asper* Wall. ex Henry 为唯一来源^[2]。川续断主要分布于贵州、湖北、江西、云南、四川、西藏等地,耐寒、忌高温,喜温暖湿润环境。该植物生于海拔 900~2 700 m 的山坡、草丛中。不同海拔分布的居群川续断皂苷 VI 质量分数在 0.23%~10.84%,差异 40 余倍,高海拔地区川续断皂苷 VI 含量显著高于低海拔地区^[3]。一般来说,海拔每升高 100 m,气温下降 0.65 °C,推测温度是高、低海拔下川续断中川续断皂苷 VI 产生差异的重要环境因子之一。课题组前期研究证明,低温诱导可促进苗期川续断中川续断皂苷 VI 含量积累^[4]。

低温胁迫是植物生长发育中常见的非生物胁迫之一,低温直接影响植物的光合系统,使植物的生长发育受到抑制,产生冻害和冷害^[5]。番茄在受到不同低温处理时,苗高、茎粗等存在显著差异,其生长随着温度降低而受到抑制^[6];烤烟幼苗的地上和地下部分鲜质量等生物量受低温胁迫而降低,影响烤烟的生长^[7]。植物在感知外界低温胁迫时,为保护自身免受低温损伤,可通过改变次生代谢物的合成与降解来响应低温环境。低温条件下,葡萄通过诱导产生原花青素 (procyanidins, PAs) 抵抗低温胁迫^[8-9];茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 可通过调控花青素的生物合成,提高拟南芥的耐寒性^[10];植物通过提高三萜皂苷含量以抵抗低温胁迫^[11-12]。因此,次生代谢产物含量积累在植物应对低温胁迫方面发挥着重要作用。

川续断皂苷 VI 是三萜皂苷类成分,是《中国药典》2020年版续断质量控制的指标成分^[1],具有促进骨髓基质细胞成骨分化、促进血管生成、抗抑郁等药理作用^[13-14]。川续断皂苷 VI 在植物体内生物合成途径为甲羟戊酸 (mevalonate, MVA) 途径^[15],主要参与合成的上游关键酶有乙酰辅酶 A 酰基转移酶 (acetyl-CoA acetyltransferase, AACT)、3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 合成酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase, HMGS) 和 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase, HMGR)。下游合成途径中主要涉及的则是细胞色素 P450 单加氧酶

(cytochrome P450, CYP450) 和糖基转移酶 (uridine diphosphate glycosyltransferase, UGT) 等酶^[16-17]。

前期研究表明低温胁迫川续断幼苗可促进川续断皂苷 VI 合成,但对于苗期低温胁迫后移栽大田是否持续影响川续断皂苷 VI 合成,对川续断生物量是否有影响未见报道。本研究将低温胁迫处理的川续断幼苗移栽至试验田种植,检测不同生长期川续断生物量、川续断皂苷 VI 含量及川续断皂苷 VI 合成途径基因表达量,探究苗期低温对川续断生长发育及川续断皂苷 VI 含量的影响。以期为川续断生态调控技术创新和川续断皂苷 VI 的生物合成研究提供理论基础。

1 材料与仪器

1.1 材料

川续断种子分别采自贵州龙里县(海拔约 1 100 m)和贵州六盘水梅花山(海拔约 2 400 m),经贵州中医药大学江维克教授鉴定为川续断 *D. asper* Wall. ex Henry。

1.2 仪器与试剂

C1000 Touch TM Thermal Cycler 型 PCR 扩增仪(美国 BIO-RAD 公司);CFX96 Real-Time System 型实时荧光定量分析仪(美国 Bio-Rad 公司);Waters e2695 高效液相色谱仪(美国 Waters 公司);EL104 型电子分析天平(梅特勒-托利多仪器有限公司)。

总 RNA 提取试剂盒(普洛麦格生物产品有限公司);TB Green premix ex Taq TM II 试剂盒(Takara 生物技术有限公司);川续断皂苷 VI 对照品(中国食品药品检定研究院,批号为 111685-201908);乙腈、甲醇(国药集团化学试剂有限公司);丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒(碧云天生物技术有限公司);过氧化物酶 (peroxidase, POD) 试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒(碧云天生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 样品处理

2.1.1 低温胁迫条件筛选 选择粒满质优的龙里种子播种于椰砖:蛭石=2:1 的营养土中至长出 4~5 片真叶,将健康且长势一致的川续断幼苗分别放入 5、10、15 °C 的光照培养箱中,以 25 °C 作对照组,处理 20 d 取川续断植株,测定农艺性状、抗逆性生理指标和川续断皂苷 VI 含量。

2.1.2 大田试验 将龙里与梅花山种质 1 月龄川续

断幼苗在筛选的低温胁迫温度下处理 20 d, 设置 25 °C 为对照组。移栽至贵州中医药大学试验田种植, 每组种植 100 株, 共 4 组。分别于移栽后 6、12、18 个月取川续断植株, 测定农艺性状、川续断皂苷 VI 含量、川续断皂苷 VI 合成关键酶基因表达量。

2.2 农艺性状及生理指标检测

2.2.1 农艺性状测量 取 3~5 株川续断幼苗全株混合作为一个生物学重复, 每个时间点 3 个生物学重复, 测量川续断苗的株高、最大 5 片叶的叶宽、地上生物量和地下生物量。移栽至试验田的样品取样方式同低温处理的川续断幼苗。

2.2.2 生理指标检测 将 3~5 株川续断新鲜叶片混合作为一个生物学重复, 每个时间点 3 个生物学重复。使用试剂盒检测 MDA、POD、SOD 活性^[18]。

2.3 川续断皂苷 VI 含量检测

参考《中国药典》2020 年版测定川续断中川续断皂苷 VI 含量^[19]。

2.3.1 供试品溶液的制备 精密称取 10 mg 川续断根干燥粉末置于离心管中, 精密加入 2 mL 甲醇, 超声处理 (100 W, 40 kHz) 30 min, 放冷后 12 000 r/min 离心, 吸取 1.8 mL 上清液挥干, 将其溶于 0.3 mL 的色谱甲醇中, 用 0.45 μm 的微孔滤进行膜滤过。

2.3.2 对照品溶液的制备 精密称取川续断皂苷

VI 对照品适量, 将其置于 10 mL 量瓶内, 以甲醇为溶剂, 制成 1.114 4 mg/mL 的母液, 稀释 10 倍成质量浓度为 0.114 4 mg/mL 的对照品溶液。

2.3.3 川续断皂苷 VI 检测条件 Wondasil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 流动相为乙腈-0.1% 磷酸水 (30:70), 检测波长 212 nm, 柱温 30 °C, 体积流量 1 mL/min, 进样量 20 μL。

2.4 川续断皂苷 VI 合成途径基因表达量检测

川续断根经液氮研磨提取总 RNA, 核酸定量和电泳检测 RNA 浓度及纯度, 挑选 A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.80~2.20 的 RNA 样品。根据试剂盒说明书, 将总 RNA 反转录成 cDNA, 聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测 cDNA 质量, 反转录产物分离纯化后置于 -20 °C 保存。

根据课题组川续断转录组数据^[17], 筛选川续断皂苷 VI 合成途径的相关基因转录本, 设计实时荧光定量反转录 PCR (real-time RT-PCR, RT-qPCR) 的特异性引物序列, 见表 1。以 *Daactin103* 为内参^[20], 利用 RT-qPCR 检测低温处理材料中基因相对表达量。RT-qPCR 反应体系如下: 5 μL TB Green TM premix Ex TaqTM^{II}, 正、反向引物各 0.5 μL, cDNA 模板 4 μL。反应程序为 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 5 s, 60 °C 退火 30 s, 39 个循环, 95 °C 变性 10 s, 65 °C 退火 1 min, 95 °C 变性 5 min。结果采用 2^{-ΔΔCt} 进行分析, 每个样本 3 个生物学重复。

表 1 三萜皂苷合成路径相关基因 RT-qPCR 引物序列

Table 1 Primer sequences for RT-qPCR analysis of genes related to triterpenoid saponin synthesis pathway

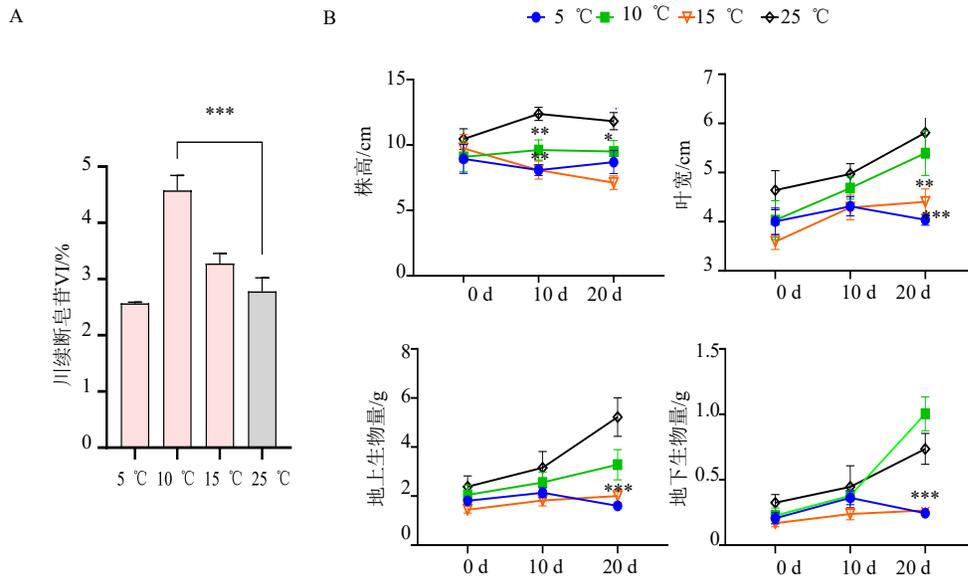
引物名称	上游引物 (5'-3')	下游引物 (5'-3')
Daactin103	ACAGCCGAGCGGGAAATTGT	TGTGGGCAGCGGAATCTCTCT
DaAACT	ACAAGCAGCATTAGGGGCAGG	AACAAGAGAATCGTGTCCAAGGC
DaHMGS	AGCAGCACAAGTAGCAAAGCCTC	TCACGAATACGGAACGAGAACAT
DaHMGCRCR	TCCGCAACTCCACTCCTCTCC	CGTCGTCCTTGAGTAGTGCTTGG
DaSQE	CATCTGGCATCAGGTTGTCCC	TCTTCTTGCTCGCATTGTTTCAG
DaP450	AAATCCAGAATGGCAAGACCG	GACACCACGGATACAGGAGGA
DaGUTs	CGTTCCTATTATCGCAATGCCTA	TTCTCCACAGCTTCATCCAA

3 结果与分析

3.1 低温胁迫温度筛选

川续断皂苷 VI 含量检测结果显示, 5、10、15 和 25 °C 根中川续断皂苷 VI 的质量分数分别为 2.574%、4.577%、3.273%、2.778%, 其中 5、15、25 °C 处理样品间无显著差异, 而 10 °C 显著促进川续断根中川续断皂苷 VI 的积累, 比 25 °C 处理时的含量提高了 64% (图 1-A)。川续断幼苗分别在 5、

10、15、25 °C 处理 0、10、20 d 后, 结果显示, 处理第 10 天时, 5、10、15 °C 处理的叶宽、地上生物量和地下生物量与 25 °C 均无显著差异, 而 5 °C 和 15 °C 的株高显著低于 25 °C; 处理第 20 天时, 5、15 °C 川续断受到抑制, 生长缓慢, 株高、叶宽、地上及地下生物量均显著低于 25 °C, 而 10 °C 对川续断生长抑制较小, 仅地上生物量显著低于 25 °C, 其他指标均无显著差异 (图 1-B)。结果表明, 川续断



A-温度对川续断皂苷 VI 含量积累的影响; B-低温对川续断农艺性状的影响。与 25 °C 条件比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$, 下同。
A-Effect of temperature on accumulation of asperosaponin VI; B-Effect of low temperature on agronomic traits yield of *D. asper*. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs 25 °C, same as below.

图 1 低温对苗期川续断中川续断皂苷 VI 和农艺性状的影响 ($n=3$)

Fig. 1 Effects of low temperature on asperosaponin VI and agronomic traits in *D. asper* ($n = 3$)

幼苗 10 °C 低温胁迫能够显著促进根中川续断皂苷 VI 的积累, 对川续断的生长亦有一定的抑制作用。

3.2 低温胁迫提高川续断幼苗抵抗胁迫能力

POD 是植物在逆境条件下酶促防御系统的关键酶之一, 与 SOD、MDA 协同作用, 清除体内过剩的自由基, 从而提高植物的抗逆性。10 °C 低温胁迫对川续断幼苗中 MDA 含量、POD 活性有显著影响, 均高于 25 °C 的对照组, SOD 活性无显著差异 (图 2)。表明 10 °C 低温胁迫使川续断细胞膜系统受到了氧化伤害, 对川续断幼苗造成逆境胁迫, 诱导植物产生对抗环境胁迫的生理反应。

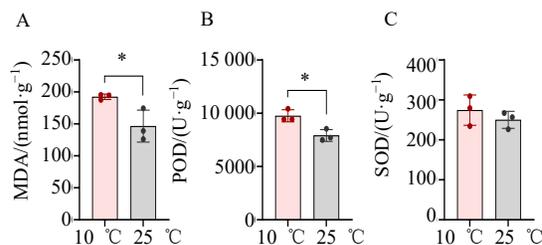


图 2 低温对川续断幼苗中 MDA 含量 (A)、POD (B) 和 SOD (C) 酶活性的影响 ($n=3$)

Fig. 2 Effects of low temperature on MDA content (A), POD (B) and SOD (C) activities in *D. asper* seedlings ($n = 3$)

3.3 苗期低温对川续断生长发育无显著影响

龙里种质川续断在移栽后第 6 个月时, 10 °C 低温处理川续断的株高、叶宽均高于对照组; 从第 12 个月起地下生物量、株高、地上生物量和地下生物量间没有明显差异 (图 3-A)。梅花山种质移栽 6 个月后 25 °C 处理的川续断叶宽大于低温处理组, 但在生长后期无显著差异 (图 3-B)。由此表明, 不同种质川续断的后期生长情况不受苗期低温处理影响。

3.4 苗期低温促进川续断生长过程中川续断皂苷 VI 积累

苗期经 10 °C 低温处理, 移栽至试验田生长的川续断中川续断皂苷 VI 含量均显著高于对照组, 从移栽后第 6 个月起, 含量的差异一直持续至 18 个月, 其中川续断皂苷 VI 含量差异极显著的时期是移栽后的第 12 个月 (图 4)。龙里种质川续断生长至 6 个月时, 低温处理川续断中川续断皂苷 VI 的含量出现显著性差异, 比对照组高出 22%; 生长至 12 个月时, 低温处理中川续断皂苷 VI 的含量已显著高于对照组, 增加 134%; 移栽后第 18 个月龙里种质的川续断中川续断皂苷 VI 的含量提高 35% (图 4-A)。梅花山种质川续断在受到苗期低温处理后川续断皂苷 VI 的含量也呈上升趋势, 苗期低温处理

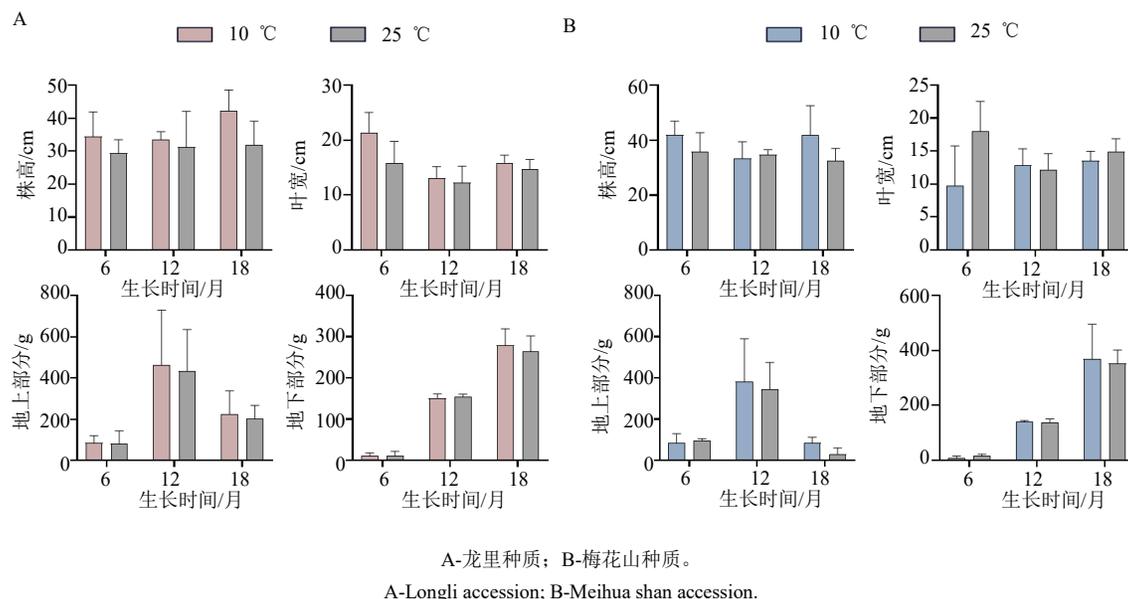


图 3 不同种质川续断经苗期低温胁迫移栽至试验田种植 18 个月的生物量测量

Fig. 3 Biomass measurement of *D. asper* with different germplasms after being subjected to low-temperature stress during seedling stage and then transplanted to experimental field for cultivation for 18 months

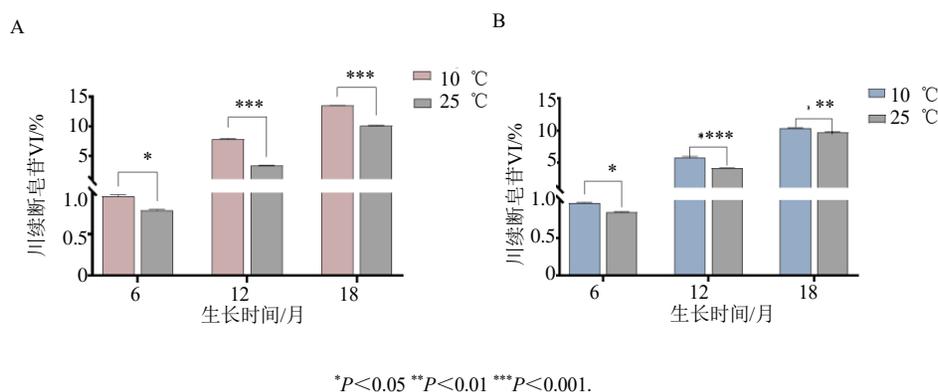


图 4 苗期低温对龙里种质 (A) 和梅花山种质 (B) 川续断中川续断皂苷 VI 含量的影响 ($n=3$)

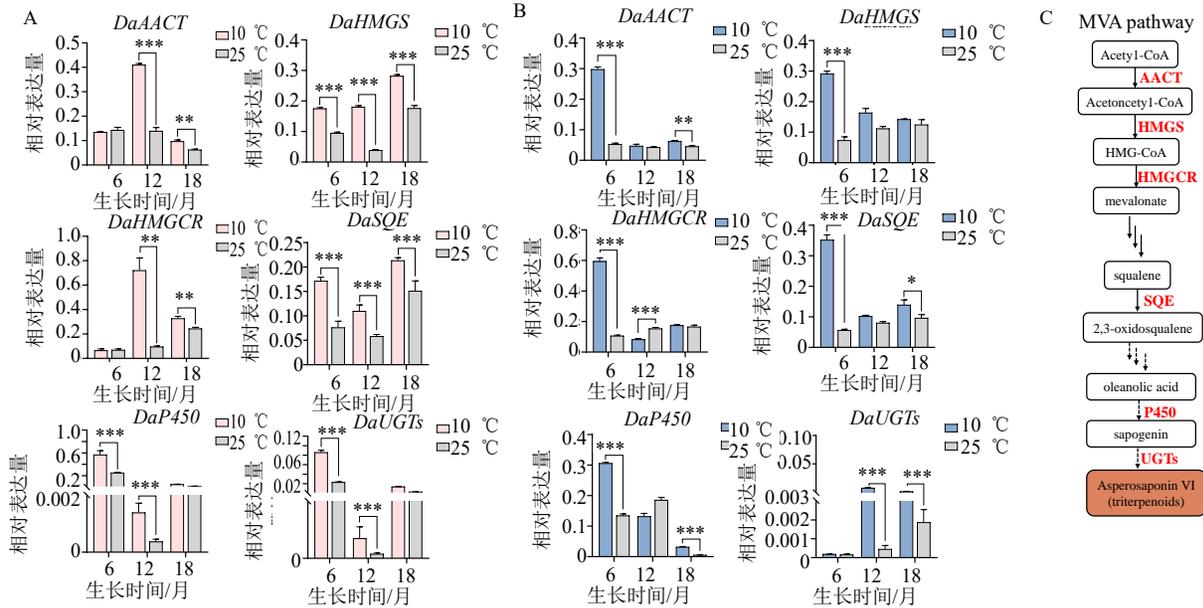
Fig. 4 Effect of seedling-stage low temperature stress on Longli (A) and Meihuashan (B) germplasm asperosaponin VI content in *D. asper* ($n = 3$)

后的川续断皂苷 VI 含量在移栽后第 6 个月出现差异, 增长 16%; 到第 12 个月苗期低温处理川续断皂苷 VI 的含量显著高于对照组, 升高 42%; 18 个月时低温处理川续断的川续断皂苷 VI 含量提高 7% (图 4-B)。可见, 苗期 10 °C 低温处理后会促进后期川续断生长中川续断皂苷 VI 的含量积累, 且低温处理对于龙里种质川续断中川续断皂苷 VI 含量积累效果更加显著。

3.5 苗期低温促进川续断皂苷 VI 合成路径基因上调表达

苗期低温胁迫显著上调川续断皂苷 VI 合成途径中酶基因的表达量 (图 5)。龙里种质川续断在移栽后第 6 个月时, 低温处理促进川续断根中 *DaHMGS*、

DaSQE、*DaP450*、*DaUGTs* 等基因显著上调表达, 其中表达量差异最显著的为 *DaUGTs* 基因, 是对照组的 4 倍, *DaAACT* 与 *DaHMGR* 基因与对照组无明显差异; 第 12 个月 *DaAACT*、*DaHMGS*、*DaHMGR*、*DaSQE*、*DaUGTs* 等基因受苗期低温处理均显著上调表达, 其中 *DaHMGR* 基因下表达量为对照组的 7.5 倍; 移栽 18 个月时除 *DaP450* 和 *DaUGTs* 的表达量受低温诱导无显著变化外, 其余基因均显著上调表达 (图 5-A)。梅花山种质移栽后第 6 个月时 *DaAACT*、*DaHMGS*、*DaHMGR*、*DaSQE* 等显著上调表达, 分别为对照组的 6、5.8、12 和 2.8 倍; 第 12 个月时, *DaHMGR*、*DaUGTs* 在低温处理后表达量显著高于对照组, 其中差异最大的是 *DaUGTs* 基因, 为对照组



A-龙里种质, B-梅花山种质, C-川续断皂苷 VI 合成通路。DaAACT-乙酰辅酶 A 酰基转移酶; DaHMGS-3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 合酶; DaHMGR-3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶; DaSQE-角鲨烯环氧化酶; DaP450-细胞色素 P450 酶; DaUGTs-尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶。其中红色字体表示该基因上调表达。* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.005$ 。

A-D. *asper* (Longli germplasm), B-D. *asper* (Meihuashan germplasm), C-asperosaponin VI biosynthetic pathway. DaAACT-acetyl-CoA C-acetyltransferase; DaHMGS-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA synthase; DaHMGR-3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase; DaSQE-squalene epoxidase; DaP450-cytochrome P450 enzyme; DaUGTs-UDP-glycosyltransferases. Genes marked in red indicate up-regulated expression. * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.005$.

图 5 川续断皂苷 VI 合成途径基因表达量检测 ($n = 3$)

Fig. 5 Detection of gene expression levels in asperosaponin VI biosynthetic pathway ($n = 3$)

的 10 倍; 在第 18 个月时, *DaAACT*、*DaSQE*、*DaP450*、*DaUGTs* 基因的表达受苗期低温而上调表达, 其中 *DaUGTs* 基因显著上调, 是对照组的 10 倍 (图 5-B)。表明苗期低温胁迫持续影响川续断生长过程中川续断皂苷 VI 合成基因的表达, 且低海拔地区的龙里种质最为显著。

4 讨论

植物对不同的温度环境适应性存在差异, 过低的温度会影响其表型、生理状况和次生代谢产物的合成。本研究发现, 不同的低温胁迫对川续断苗期的生长产生不同程度的抑制作用, 其中 10 °C 对川续断生长抑制较小, 且 10 °C 低温胁迫后川续断皂苷 VI 的含量显著高于对照组。这与课题组前期研究低温胁迫增加川续断皂苷 VI 含量的结果一致^[4]。低温胁迫下, 植物体内细胞膜的成分磷脂会发生脂质过氧化反应, MDA 作为反应的重要产物, 其含量反映了氧化损伤引起的细胞膜系统受损程度^[18]。本研究中, 10 °C 低温胁迫下, MDA 含量相比于对照组显著升高, 同菊芋的耐寒性评价研究结果一致^[21]。植物受胁迫时细胞内的活性氧代谢平衡造成破坏, 使细胞内产生过量的活性氧, 引发了细胞

的损伤, 为了应对活性氧带来的损伤, 植物一般会通过增强抗氧化酶的活性来提高自身的保护能力, 其中 SOD 和 POD 是植物酶系统中 2 种重要的抗氧化酶, 在活性氧自由基的清除过程中发挥重要作用^[22]。本研究中, 10 °C 低温胁迫酶活性显著高于对照组, 表明 10 °C 低温胁迫川续断可能通过增加 POD 酶的活性, 缓解低温对川续断幼苗的损伤。将低温胁迫后的川续断幼苗移栽至试验田种植后, 2 个种质川续断的生物量均不受苗期低温影响, 均无显著差异, 说明短期低温对川续断幼苗的生长抑制作用可恢复。这一结果与大豆幼苗生长发育受到的低温胁迫可在生长后期恢复一致^[23]。

不同地区海拔等环境因素差异, 导致栽培品中川续断品质参差不齐^[24]。高海拔地区川续断皂苷 VI 含量显著高于低海拔地区^[3]。本研究将龙里种质 (低海拔) 和梅花山种质 (高海拔) 的川续断进行低温胁迫后移栽种植发现, 苗期低温胁迫持续显著促进川续断皂苷 VI 积累, 且对龙里种质川续断中川续断皂苷 VI 积累促进效果比梅花山种质更加显著。通过基因表达量检测发现, 不同种质川续断中川续断皂苷 VI 合成途径的基因表达量均高于对照, 表

明川续断皂苷 VI 合成途径中基因受低温诱导而促进川续断皂苷 VI 的生物合成。在不同种质中,川续断皂苷 VI 合成途径的基因表达趋势与川续断皂苷 VI 含量积累趋势基本相同,均为低温对龙里种质影响较大。龙里种质采种地海拔 1 100 m,年平均气温约 15 °C,梅花山种质采种地海拔 2 400 m,低温持续时间长,年平均温度约 12 °C,可能是梅花山种质原处于低温胁迫状态,苗期在低温胁迫促进川续断皂苷 VI 合成效果低于原未低温胁迫的种质,这是否与遗传记忆相关,还需进一步研究证实。

苗期低温胁迫影响移栽后川续断中川续断皂苷 VI 合成酶基因的表达,促进川续断皂苷 VI 含量积累,低海拔种质对低温胁迫表现出更强烈的敏感性;苗期低温胁迫对移栽后川续断生长发育无显著影响。研究结果为川续断生态调控技术创新和川续断皂苷 VI 的生物合成研究提供理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 刘丽, 杨征, 傅若秋, 等. 续断化学成分、药理作用及炮制对其质量的影响研究进展 [J]. 中国药业, 2023, 32(13): 126-133.
- [2] 代琪, 叶臻, 叶俏波, 等. 续断来源考证、化学成分及药理作用综述 [J]. 中国药物评价, 2020, 37(6): 432-436.
- [3] 江维克, 艾强, 周涛, 等. 贵州续断药材川续断皂苷 VI 含量的地理分布趋势分析 [J]. 贵州农业科学, 2013, 41(8): 19-22.
- [4] 冯汪银, 徐娇, 郭娟, 等. 低温胁迫对川续断中川续断皂苷 VI 积累的影响研究 [J]. 中药材, 2021, 44(5): 1081-1085.
- [5] Zhang J Y, Li X M, Lin H X, et al. Crop improvement through temperature resilience [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2019, 70: 753-780.
- [6] 吕明芯. 低温环境对番茄幼苗生长的影响 [J]. 农业科技与信息, 2024(1): 11-13.
- [7] 蒋朝维, 陶轩, 杨雷, 等. 低温胁迫下 2 个烤烟品种幼苗对外源亚精胺的生理响应 [J]. 江苏农业科学, 2024, 52(2): 73-78.
- [8] Zhao C Z, Wang P C, Si T, et al. MAP kinase cascades regulate the cold response by modulating ICE1 protein stability [J]. *Dev Cell*, 2017, 43(5): 618-629.
- [9] Chen M S, Yu S J. Lipophilized grape seed proanthocyanidin derivatives as novel antioxidants [J]. *J Agric Food Chem*, 2017, 65(8): 1598-1605.
- [10] Song S, Liu B, Song J, et al. A molecular framework for signaling crosstalk between jasmonate and ethylene in anthocyanin biosynthesis, trichome development, and defenses against insect herbivores in *Arabidopsis* [J]. *J Integrat Plant Biology*, 2022, 64(9): 1770-1788.
- [11] Augustin J M, Kuzina V, Andersen S B, et al. Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins [J]. *Phytochemistry*, 2011, 72(6): 435-457.
- [12] Han X Y, Zhao J Y, Zhou H, et al. The biosynthesis of asiaticoside and madecassoside reveals tandem duplication-directed evolution of glycoside glycosyltransferases in the Apiales [J]. *Plant Commun*, 2024, 5(10): 101005.
- [13] Yang X R, Liang J, Shu Y, et al. Asperosaponin VI facilitates the regeneration of skeletal muscle injury by suppressing GSK-3 β -mediated cell apoptosis [J]. *J Cell Biochem*, 2024, 125(1): 115-126.
- [14] Huang J, Liang X W, Zhao M R, et al. Metabolomics and network pharmacology reveal the mechanism of antithrombotic effect of asperosaponin VI [J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173: 116355.
- [15] Wang J Y, Liang Y L, Hai M R, et al. Genome-wide transcriptional excavation of *Dipsacus asperoides* unmasked both cryptic asperosaponin biosynthetic genes and SSR markers [J]. *Front Plant Sci*, 2016, 7: 339.
- [16] Saerens K M J, Roelants S L K W, Van Bogaert I N A, et al. Identification of the UDP-glucosyltransferase gene *UGT1* responsible for the first glucosylation step in the sophorolipid biosynthetic pathway of *Candida bombicola* ATCC 22214 [J]. *FEMS Yeast Res*, 2011, 11(1): 123-132.
- [17] Xu J, Hu Z P, He H, et al. Transcriptome analysis reveals that jasmonic acid biosynthesis and signaling is associated with the biosynthesis of asperosaponin VI in *Dipsacus asperoides* [J]. *Front Plant Sci*, 2022, 13: 1022075.
- [18] 曾洪学, 屈兴红. 葛藤对低温胁迫的生长和生理生化响应 [J]. 北方园艺, 2022(18): 109-116.
- [19] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 343-344.
- [20] 梁晴, 徐娇, 肖承鸿, 等. 川续断 Actin、Tubulin 和 GAPDH 基因的克隆及表达稳定性分析 [J]. 中草药, 2020, 51(21): 5571-5578.
- [21] 赵孟良, 郭怡婷, 孙世英, 等. 低温胁迫下 4 种菊芋的耐寒性评价 [J]. 植物生理学报, 2020, 56(7): 1419-1431.
- [22] 张嘉雯, 卢绍浩, 赵喆, 等. 外源褪黑素对低温胁迫下烟草幼苗生理指标的影响 [J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(9): 78-86.
- [23] 李天, 余洁, 乔云发, 等. 短期低温对大豆苗期生长和结瘤固氮的影响 [J]. 中国农业气象, 2024, 45(2): 159-169.
- [24] 陈璞, 赵华, 贺雅琴, 等. 续断 HPLC 特征图谱及 3 种活性成分的含量测定 [J]. 中药材, 2017, 40(6): 1373-1376.

[责任编辑 时圣明]