

赤霉素对 NaCl 胁迫下大黄种子萌发和幼苗生长的影响

李依民^{1,2}, 梁小燕^{1#}, 张 晗^{1,2*}, 高 静¹, 王 楠², 徐 进^{3,4}, 成世强⁴, 彭 亮¹, 张 岗^{1,2*}

1. 陕西中医药大学药学院 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心, 陕西 西安 712046

2. 陕西中医药大学药学院 陕西省中医药管理局“秦药”研发重点实验室, 陕西 西安 712046

3. 镇巴县百花谷现代农牧开发有限公司, 陕西 汉中 723600

4. 镇巴县科技进步促进中心, 陕西 镇巴 723600

摘 要: 目的 研究 NaCl 胁迫下掌叶大黄 *Rheum palmatum*、唐古特大黄 *R. tanguticum* 和药用大黄 *R. officinale* 种子萌发及幼苗生长特性及赤霉素(GA3)引发对盐胁迫下种子萌发及幼苗发育的影响。方法 设置 0、100、150、200、250 mmol/L NaCl 胁迫, 200、250 mg/L GA3 拌种或浸种实验, 双层滤纸培养法分析盐胁迫下 3 种大黄种子萌发及幼苗生长指标。结果 3 种大黄种子发芽率随 NaCl 浓度增加直线下降、盐相对伤害率直线上升($P<0.05$), 子叶长、胚轴长、根长和苗长等受到强烈抑制($P<0.05$)。200 mmol/L NaCl 下 GA3 拌种或浸种能显著提高掌叶大黄种子发芽率($P<0.05$), 250 mmol/L NaCl 下仅 GA3 拌种有作用($P<0.05$); 200 mmol/L NaCl 下 2 个质量浓度 GA3 拌种、低质量浓度浸种提高唐古特大黄种子发芽率($P<0.05$), 250 mmol/L NaCl 下 GA3 无促进作用($P>0.05$); GA3 拌种和高质量浓度 GA3 浸种能提高 150 mmol/L NaCl 下药用大黄种子发芽率($P<0.05$), 100 mmol/L NaCl 下 GA3 无促进作用($P>0.05$)。GA3 浸种能促进盐胁迫下掌叶大黄、唐古特大黄和药用大黄幼苗根和苗的生长($P<0.05$)。结论 NaCl 胁迫下 3 种大黄种子萌发及幼苗生长均受到抑制, 3 种大黄种子和幼苗耐盐性有差异, 药用大黄耐盐性最低, GA3 拌种或浸种引发能不同程度缓解高盐胁迫下大黄种子萌发和幼苗发育。

关键词: 掌叶大黄; 唐古特大黄; 药用大黄; 种子; 盐胁迫; 赤霉素; 引发

中图分类号: R286.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)18-5834-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.18.026

Effects of gibberellin on seed germination and seedling growth of *Rhei Radix et Rhizoma* under NaCl stress

LI Yi-min^{1,2}, LIANG Xiao-yan¹, ZHANG Han^{1,2}, GAO Jing¹, WANG Nan², XU Jin^{3,4}, CHENG Shi-qiang⁴, PENG Liang¹, ZHANG Gang^{1,2}

1. Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an, 712046, China

2. Key Laboratory for Research of "Qin Medicine" of Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine, College of Pharmacy, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 712046, China

3. Baihua Valley Modern Agriculture and Animal Husbandry Development Co., Ltd., of Zhenba County, Hanzhong 723600, China

4. Promotion Center of Science and Technology Progress of Zhenba County, Zhenba 723600, China

Abstract: Objective To reveal the characteristics of seed germination and seedling growth of *Rheum palmatum*, *R. tanguticum* and *R. officinale* and the effects of gibberellin (GA3) priming on seed germination and seedling development under high salinity stress.

Methods The double-layer filter paper culture method was used for the analyses of seed germination and seedling growth of three rhubarbs under various treatments including 0, 100, 150, 200, 250 mmol/L NaCl stresses, and seed dressing or seed soaking with 200

收稿日期: 2022-03-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81973430); 国家自然科学基金资助项目(82104334); 陕西省重点产业创新链(2021ZDLSF04-01); 陕西省中医药管理局重点专项(2021-QYZL-02); 陕西省教育厅重点项目(20JY013); 省部共建特色秦药资源研究开发国家重点实验室(培育)开放课题(QY202101); 陕西中医药大学科技创新团队项目(2019-QN01); 中央本级重大增减支项目(2060302)

作者简介: 李依民, 女, 博士, 副教授, 研究方向为中药资源评价与高效利用。E-mail: 2051058@sntcm.edu.cn

***通信作者:** 张 岗, 男, 博士, 教授, 研究方向为中药资源与分子生药学。E-mail: jay_gumling2003@aliyun.com

张 晗, 男, 博士, 讲师, 研究方向为中药资源评价与高效利用。Tel/Fax: 86-29-38185165 E-mail: 2051121@sntcm.edu.cn

#并列第一作者 梁小燕, 女, 硕士, 研究方向为中药资源评价与高效利用。E-mail: 1446200532@qq.com

and 250 mg/L GA₃, respectively. **Results** Seed germination rates of three rhubarbs decreased and the relative injury rate of salinity increased with the increasement of NaCl concentration ($P < 0.05$). The cotyledon, hypocotyl, root and seedlings length were all strongly inhibited with the increasement of NaCl concentration ($P < 0.05$). Seed dressing or soaking with GA₃ could significantly improve the germination rate of *R. palmatum* under 200 mmol/L NaCl ($P < 0.05$), and under 250 mmol/L NaCl only seed dressing had effect ($P < 0.05$). Seed dressing with two concentrations of GA₃ and seed soaking at low concentration of GA₃ improved the germination rate of *R. tanguticum* under 200 mmol/L NaCl ($P < 0.05$), and under 250 mmol/L NaCl GA₃ had no promoting effect ($P > 0.05$). Seed dressing with GA₃ and seed soaking with high concentration GA₃ enhanced the seed germination rate of *R. officinale* under 150 mmol/L NaCl ($P < 0.05$), and under 100 mmol/L NaCl GA₃ had no promoting effect ($P > 0.05$). Seed soaking with GA₃ could promote the growth of root and seedling for *R. palmatum*, *R. tanguticum* and *R. officinale* under the included salinity stresses ($P < 0.05$). **Conclusion** Seed germination and seedling growth of the three rhubarbs under the included NaCl stresses all showed repressed. The three species displayed different tolerance at the seed and seedlings stages against salinity stress, and *R. officinale* was the least. Either Seed dressing or soaking with GA₃ priming could alleviate the seed germination and seedling development of rhubarbs under high salinity stresses.

Key words: *Rheum palmatum* L.; *R. tanguticum* Maxim. ex Balf.; *R. officinale* Baill.; seed; salt stress; gibberellin; priming

随着气候环境的不断恶化以及人类活动的影响,土壤盐渍化程度在全球范围内不断加剧,严重影响植物的形态建成与生态分布^[1]。盐胁迫通过渗透胁迫引起细胞代谢变化,可能导致植物生长发育不良、产量或品质下降^[2-3]。自然情况盐胁迫下植物种子首先暴露,种子萌发特性因此成为植物生理代谢的关键点。盐胁迫通常抑制植物种子萌发,也有研究发现盐胁迫对种子萌发存在浓度效应,如低浓度 NaCl ($\leq 0.4\%$) 处理促进棉花种子萌发,而高浓度 ($> 0.7\%$) 则显著抑制^[4]。为提高盐胁迫等逆境下植物种子萌发、生长势,研究中常用渗透引发、激素引发等方法^[5-6]。赤霉素(gibberellin, GA)是一大类重要的植物激素,不仅在调节植物生长发育中起重要作用,还能有效改善盐胁迫下种子萌发、幼苗生长发育^[7],已有 GA₃ 引发处理通关藤^[8]、膜荚黄芪^[9]等药用植物种子盐胁迫下萌发特性研究的报道。但是,GA₃ 引发调控逆境下药用植物种子萌发或生长代谢的相关报道普遍较少,研究还有待加强。

大黄为掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 或药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥根和根茎,味苦、性寒,具有泻下攻积、清热泻火、凉血解毒等功效,用于实热积滞、血热吐衄、目赤咽肿等症^[10]。大黄主要有蒽醌类、蒽酮类、黄酮类、鞣质类等多种有效成分^[11],具有泻下、抗炎和止血等药理活性^[12]。大黄功效明确、作用显著,临床应用十分广泛,而大黄野生资源有限,主要以栽培方式主产于甘肃、青海、陕西、四川等省区高海拔区域^[13]。大黄生境主要表现为低温、高光强、盐或旱胁迫等方面,对其生长

发育和药材品质形成可能有积极作用。大黄为 3 基原药材,不同品种遗传及习性差异以及人工栽培过程影响因素多等因素导致药材质量不稳定。目前,大黄研究主要集中在化学成分、药理作用、临床应用及次生代谢调控等方面^[14],大黄种子萌发与环境条件尤其是与盐胁迫的关系研究尚不清楚。因此,本研究以正品大黄基原植物种子为材料,探索 3 种大黄种子在盐胁迫下的响应差异,同时筛选有效缓解盐害、提高大黄幼苗耐盐性的最适 GA₃ 浓度及施用方式,以促进大黄资源在渐变环境下的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用 3 种大黄种子由陕西中医药大学药学院王继涛高级实验师鉴定为掌叶大黄 *Rheum palmatum* L.、唐古特大黄 *R. tanguticum* Maxim. ex Balf. 和药用大黄 *R. officinale* Baill. 的干燥成熟种子,分别产自甘肃省和政县、甘肃省合作县、陕西省镇巴县。GA₃ 购自上海源叶生物公司,NaCl 为国产分析纯。

1.2 方法

选择大小均匀、饱满的 3 种大黄种子,分别置于蒸馏水中浸泡 24 h 后,按照黑小斌等^[13]建立的方法进行大黄种子消毒处理,用无菌蒸馏水冲洗 3~4 次后待用。

使用 NaCl 模拟盐胁迫。将 NaCl 配制成 0(CK)、100、150、200、250 mmol/L 5 个浓度梯度的溶液。预试验发现 NaCl 浓度 ≥ 250 mmol/L 处理对掌叶大黄种子萌发产生明显抑制,当 NaCl 浓度 ≥ 200 mmol/L 明显抑制唐古特大黄种子萌发,所以二者在

200 和 250 mmol/L NaCl 条件下实验；NaCl 浓度为 150 mmol/L 处理药用大黄种子萌发率明显降低，故选用 100 和 150 mmol/L NaCl 为实验浓度。

预试验发现 $GA_3 \leq 200$ mg/L 对大黄种子萌发无促进作用， $GA_3 \geq 300$ mg/L 对大黄种子萌发产生抑制，所以 GA_3 设定 200 和 250 mg/L。 GA_3 施用方式为拌种和浸种 2 种^[15]。拌种：将 GA_3 与 NaCl 配制符合研究条件的溶液，加入种子发芽床，使 GA_3 始终贯穿整个处理过程。浸种：将大黄种子浸泡于 GA_3 溶液 24 h 后用蒸馏水冲洗至净后置入发芽床，此后种子不再与 GA_3 接触。试验在垫有 3 层滤纸的 150 mmol/L 培养皿中实施，每个培养皿中 100 粒种子，重复 3 次。所有材料在培养箱中培养， $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、12 h/12 h 光照/黑暗、光照强度 15 000 lx。每天加入适量的溶液，以保持滤纸湿润。

1.3 种子萌发指标测定

每天记录种子的发芽个数，连续观察 10 d。第 5 天计算其发芽势；第 10 天计算其发芽率和相对 NaCl 伤害率。

发芽势 = 第 5 天种子发芽率/供试种子总数

种子发芽率 = 第 10 天种子萌发总数/供试种子总数

相对 NaCl 伤害率 = (对照发芽率 - 处理发芽率)/对照发芽率

1.4 幼苗生长指标测定

实验第 10 天，从各重复组中每组任意取 10 株幼苗测量其子叶、胚轴、根及苗长。

1.5 数据处理

使用 Excel 2019 对数据进行绘图分析，SPSS 24.0 数据统计软件对种子发芽率、发芽势、相对 NaCl 伤害率、子叶长、胚轴长、根长、苗长进行处理和差异显著性检验 (LSD 法)。

2 结果与分析

2.1 NaCl 胁迫对大黄种子萌发的影响

大黄种子在盐胁迫下的萌发结果见图 1。随着 NaCl 浓度的增大，3 种大黄种子的发芽率、发芽势整体呈下降趋势。当 NaCl 浓度 ≥ 200 mmol/L 时，掌叶大黄种子发芽率显著下降 ($P < 0.05$)、其发芽势随盐浓度增加逐渐显著下降 ($P < 0.05$)。当 NaCl 浓度 ≥ 150 mmol/L 时，唐古特大黄种子发芽率显著下降 ($P < 0.05$)、其发芽势在 NaCl 浓度 ≥ 200 mmol/L 时显著下降 ($P < 0.05$)。当 NaCl 浓度 ≥ 100 mmol/L 时，药用大黄种子发芽率、发芽势均显著下降 ($P < 0.05$)。

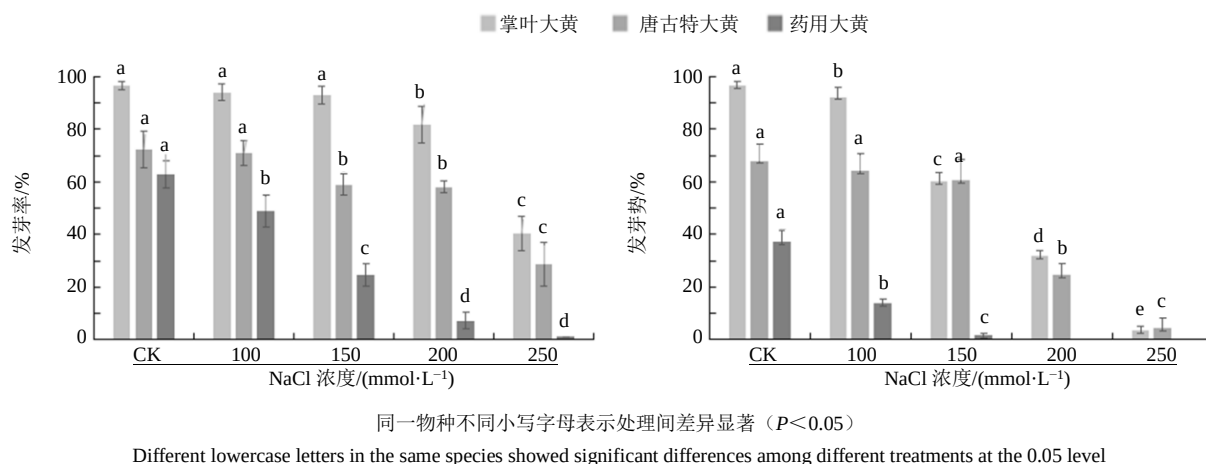
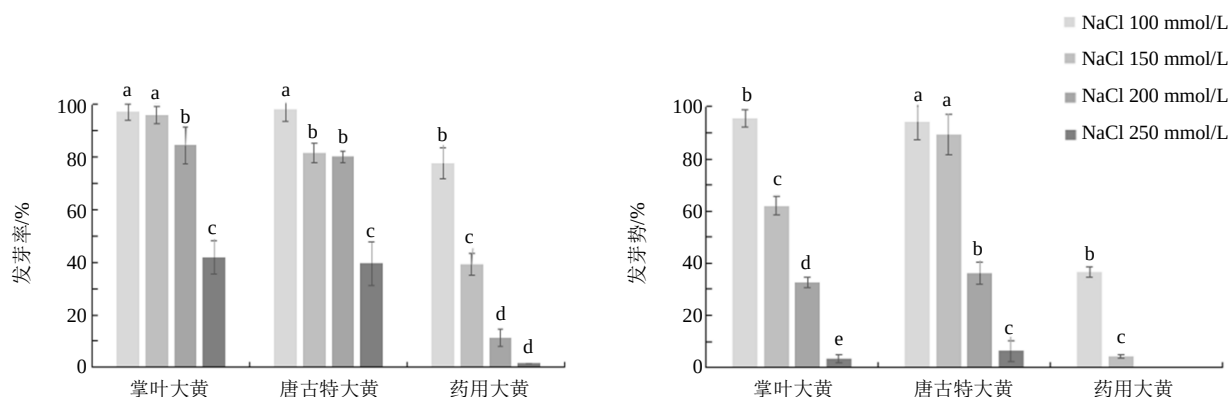


图 1 不同浓度 NaCl 对大黄种子发芽率和发芽势的影响

Fig. 1 Effects of different NaCl concentrations on germination rate and potential of *Rhei Radix et Rhizoma* seeds

为直观显示 3 种大黄种子萌发对盐胁迫的差异，利用不同 NaCl 浓度下各种子发芽率、发芽势与各自 CK 数值的百分比作图。图 2 结果表明，随盐浓度增加，掌叶大黄种子相对发芽率分别为 97.24%、96.20%、84.48%、41.72%，唐古特大黄种子相对发芽率分别为 98.2%、81.6%、80.22%、39.56%，药用大黄种子相对发芽率变化

最大，分别为 77.78%、39.16%、11.43%、1.59%；唐古特大黄种子相对发芽势变化较小，分别为 94.12%、89.22%、36.28%、6.37%，掌叶大黄种子次之，为 95.51%、62.07%、32.76%、3.44%，最后为药用大黄种子，为 36.59%、4.3%、0、0。因此，掌叶大黄和唐古特大黄种子耐盐性明显高于药用大黄。



不同小写字母表示处理间差异性显著 ($P < 0.05$)

Different lowercase letters showed significant differences among different treatments at the 0.05 level

图 2 不同浓度 NaCl 对大黄种子相对发芽率和相对发芽势的影响

Fig. 2 Effects of different NaCl concentrations on relative germination rate and potential of rhubarb seeds

2.2 NaCl 胁迫对大黄幼苗生长的影响

在不同浓度 NaCl 条件下, 3 种大黄幼苗生长受到不同程度抑制 (表 1)。与 CK 相比, 掌叶大黄幼苗的子叶、胚轴长随盐浓度的增大而递减 ($P < 0.05$), 其根和苗长在 NaCl > 150 mmol/L 时受到显著抑制 ($P < 0.05$)。当 NaCl > 100 mmol/L 时, 唐古特大黄幼苗的子叶受到显著抑制 ($P < 0.05$),

胚轴生长表现为低浓度促进 ($P < 0.05$), 高浓度抑制 ($P < 0.05$), 根长和苗长随盐浓度的增大也受到明显抑制 ($P < 0.05$)。药用大黄幼苗的子叶、胚轴、根及苗长均显著降低 ($P < 0.05$)。从表 1 还可以看出, 3 种大黄种子所受盐相对伤害率随盐浓度增大依次递增, 药用大黄的相对伤害率变化速率最大。

表 1 不同浓度 NaCl 对大黄种子幼苗生长的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NaCl on seedling growth of rhubarb seedlings

物种	处理	子叶长/mm	胚轴长/mm	根长/mm	苗长/mm	相对伤害率/%
掌叶大黄	CK	5.98 ± 0.40a	9.53 ± 1.07a	34.50 ± 3.15a	58.47 ± 3.21a	0.00
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl	5.43 ± 0.62b	7.77 ± 0.73b	27.73 ± 1.89b	44.08 ± 1.15b	0.03
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	5.10 ± 0.59b	6.80 ± 0.55c	17.05 ± 2.86c	31.48 ± 2.18c	0.04
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.38 ± 0.21c	5.32 ± 1.01d	4.67 ± 0.42d	15.53 ± 0.52d	0.24
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.49 ± 0.32c	5.14 ± 0.80d	2.51 ± 0.11d	12.32 ± 1.31d	0.59
唐古特大黄	CK	5.01 ± 0.56a	5.32 ± 0.69b	30.29 ± 2.57a	44.28 ± 1.55a	0.00
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl	4.71 ± 0.33a	6.48 ± 0.26a	26.33 ± 0.66b	38.07 ± 0.34b	0.02
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.68 ± 0.40b	4.32 ± 0.75bc	5.95 ± 0.84c	16.03 ± 0.90c	0.18
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.02 ± 0.00b	3.75 ± 0.34c	4.07 ± 0.53cd	12.48 ± 1.01d	0.20
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.29 ± 0.54b	3.14 ± 1.27c	2.18 ± 0.45d	9.89 ± 2.15e	0.60
药用大黄	CK	6.11 ± 0.64a	8.28 ± 1.40a	40.38 ± 1.95a	58.16 ± 2.61a	0.00
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl	4.67 ± 0.46b	6.38 ± 0.33b	17.58 ± 1.77b	31.35 ± 0.58b	0.29
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.51 ± 0.21c	5.45 ± 0.56b	7.27 ± 0.15c	17.79 ± 0.76c	0.61
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	3.53 ± 0.08c	3.75 ± 0.40c	3.59 ± 0.77d	12.08 ± 1.14d	0.89
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	—	—	—	10.54 ± 0.40d	0.98

同列不同小写字母表示组内差异显著 ($P < 0.05$), —表示不可测量

Different lowercase letters in the same column showed significant differences among different treatments at the 0.05 level, — indicates undetected.

2.3 赤霉素对 NaCl 胁迫下大黄种子萌发及幼苗生长发育的影响

以 CK 为空白、2 种盐浓度为对照, 分别统计 2 种质量浓度 GA3 不同施用方式下大黄种子萌发及幼苗生长情况, 结果见表 2、3。

在 200 mmol/L NaCl 胁迫下, 对掌叶大黄种子实施 200 或 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率显著高于对照 ($P<0.05$), 高质量浓度 GA3 处理时发芽势显著高于对照 ($P<0.05$); 子叶长、胚轴长与对照相比无差异 ($P>0.05$), 根长显著降低、苗长在低浓度 GA3 处理时显著降低 ($P<0.05$)。当用 200 和 250 mg/L GA3 浸种处理时 (表 3), 种子发芽率比对照显著提高、低质量浓度 GA3 促进发芽势 ($P<0.05$); 子叶长、胚轴长及根长与对照相比无差异 ($P>0.05$), 高质量 GA3 浸种促进苗长 ($P<0.05$)。

在 250 mmol/L NaCl 胁迫下, 掌叶大黄种子经 200 和 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率比对照显著提高 ($P<0.05$), 发芽势极低且与对照相比无差异 ($P>0.05$); 低质量浓度 GA3 拌种下幼苗子叶长、胚轴长、根长和苗长与对照相比均无差异 ($P>0.05$), 高质量浓度 GA3 拌种严重抑制幼苗生长

($P<0.05$)。以 200 和 250 mg/L GA3 浸种 (表 3), 种子发芽率和发芽势与对照相比无差异 ($P>0.05$), 发芽势极低且无差异 ($P>0.05$); 子叶长、胚轴长与对照相比无差异 ($P>0.05$), 2 个质量浓度 GA3 都能促进根长和苗长 ($P<0.05$)。

在 200 mmol/L NaCl 胁迫下, 对唐古特大黄种子采用 200 和 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率显著高于对照 ($P<0.05$), 发芽势无显著变化 ($P>0.05$); 子叶长和根长与对照相比无显著差异 ($P>0.05$), 胚轴长和苗长比对照增长 ($P<0.05$)。当用 200 和 250 mg/L GA3 浸种 (表 3) 时, 低质量浓度 GA3 处理下发芽率与对照相比显著提高 ($P<0.05$), 发芽势无显著变化 ($P>0.05$); 2 个质量浓度 GA3 都促进子叶、胚轴、根和苗的生长 ($P<0.05$)。

在 250 mmol/L NaCl 胁迫下, 对唐古特大黄种子施用 200 和 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率、发芽势与对照相比无显著差异 ($P>0.05$); 低质量浓度 GA3 处理下幼苗子叶与对照相比无显著变化 ($P>0.05$), 胚轴、根和苗受到促进 ($P<0.05$), 高质量浓度 GA3 处理抑制幼苗生长 ($P<0.05$)。当用 200 和 250 mg/L GA3 浸种时 (表 3), 种子发芽率

表 2 GA3 拌种对 NaCl 胁迫下大黄种子萌发及幼苗生长的影响

Table 2 Effect of seed dressing with GA3 on seed germination and seedling growth of rhubarb under NaCl stress

物种	处理	发芽率/%	发芽势/%	子叶长/mm	胚轴长/mm	根长/mm	苗长/mm
掌叶大黄	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	67.33±4.68c	10.67±6.53c	3.38±0.21b	5.32±1.01b	4.67±0.42b	15.53±0.52bc
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	84.00±3.65b	16.00±1.63bc	3.75±0.42b	6.38±1.27b	3.74±1.10c	14.79±1.40c
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	95.20±3.90a	22.80±3.35b	4.06±0.50b	7.36±1.09b	4.24±2.51b	16.46±2.33b
	CK	95.67±5.57a	94.00±5.37a	5.98±0.40a	9.53±1.07a	34.50±3.15a	58.47±3.21a
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	25.67±7.42c	1.20±1.10b	3.49±0.32b	5.14±0.80b	2.51±0.11b	12.32±1.31b
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	53.60±2.19b	4.33±2.34b	4.54±0.61b	6.77±1.72b	6.09±1.85b	17.68±2.06b
唐古特大黄	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	54.00±1.63b	3.33±2.31b	—	—	—	—
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	46.00±7.21c	13.00±1.41b	3.02±0.00b	3.75±0.34c	4.07±0.53b	12.48±1.01c
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	69.50±1.92b	13.60±2.97b	3.07±0.38b	6.04±0.10b	3.09±1.16b	15.38±2.02bc
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	66.40±4.78b	17.00±5.03b	3.48±0.62b	6.66±1.10b	4.65±1.57b	18.33±1.52b
	CK	79.20±2.68a	74.40±1.67a	5.01±0.56a	5.32±0.69a	30.29±2.57a	44.28±1.55a
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	40.00±6.33b	2.00±0.00b	3.29±0.54b	3.14±1.27c	2.18±0.45c	9.89±2.15c
药用大黄	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	42.67±3.06b	2.00±0.00b	3.58±0.10b	5.12±1.28b	3.27±1.86b	13.39±1.72b
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	40.50±3.00b	2.00±0.00b	—	—	—	—
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl	55.00±6.48b	19.83±2.40c	4.67±0.46b	6.38±0.33b	17.58±1.77c	31.35±0.58b
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	52.33±2.08b	22.33±1.16bc	5.37±1.21b	8.68±1.84ab	23.12±8.03b	36.67±4.78b
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	49.00±5.66b	27.00±2.83b	5.69±0.57b	8.69±1.70ab	19.15±5.34b	34.92±4.20b
	CK	69.83±4.40a	51.83±4.58a	6.11±0.64a	8.28±1.40a	40.38±1.95a	58.16±2.61a
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	20.00±4.56c	2.83±2.79c	3.51±0.21c	5.45±0.56c	7.27±0.15c	17.79±0.76c
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	32.33±2.31b	7.67±0.58bc	4.30±0.58b	5.87±0.70b	7.96±1.34c	19.79±1.42c
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	34.33±3.51b	10.00±3.46b	4.67±0.66b	6.43±1.48b	12.76±1.50b	26.57±4.14b

同列同一盐浓度与 CK 组内不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), —表示不可测量。下同

In the same column, different lowercase letters among the same salt concentrations and CK groups showed significant differences at the 0.05 level, — indicates undetected, same as below

表 3 GA3 浸种对 NaCl 胁迫下大黄种子萌发及幼苗生长的影响

Table 3 Effects of seed soaking with GA3 on seed germination and seedling growth of rhubarb under NaCl stress

物种	处理	发芽率/%	发芽势/%	子叶长/mm	胚轴长/mm	根长/mm	苗长/mm
掌叶大黄	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	67.33±4.68c	10.67±6.53d	3.38±0.21b	5.32±1.01b	4.67±0.42c	15.53±0.52c
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	86.80±4.38b	62.00±5.89b	4.74±0.84b	7.43±1.83b	16.44±0.42b	30.08±0.95b
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	80.00±6.63b	26.80±3.63c	5.87±0.59b	8.22±1.49b	17.96±0.33b	33.14±0.65b
	CK	95.67±5.57a	94.00±5.37a	5.98±0.40a	9.53±1.07a	34.50±3.15a	58.47±3.21a
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	25.67±7.42b	1.20±1.10c	3.49±0.32b	5.14±0.80b	2.51±0.11c	12.32±1.31c
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	26.40±4.34b	3.50±1.92b	4.42±0.38b	6.19±1.10b	9.61±2.21b	22.49±1.71b
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	21.67±6.62b	4.00±2.31b	4.61±0.42b	7.22±1.30b	11.35±2.47b	24.87±1.17b
唐古特大黄	200 mmol·L ⁻¹ NaCl	46.00±7.21c	13.00±1.41b	3.02±0.00c	3.75±0.34c	4.07±0.53c	12.48±1.01c
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	56.40±7.54b	17.33±6.11b	4.26±0.73b	6.69±0.70b	15.27±2.20b	28.11±2.27b
	200 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	54.00±2.83bc	20.00±7.83b	4.37±0.55b	5.05±0.52b	12.44±1.33b	24.20±1.67b
	CK	79.20±2.68a	74.40±1.67a	5.01±0.56a	5.32±0.69a	30.29±2.57a	44.28±1.55a
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl	40.00±6.33b	2.00±0.00c	3.29±0.54b	3.14±1.27c	2.18±0.45c	9.89±2.15c
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	32.80±5.02b	2.00±0.00c	3.68±0.29b	4.96±0.52b	8.85±2.24b	19.04±2.14b
	250 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	39.20±4.60b	7.00±2.58b	3.85±0.47b	5.36±0.53b	10.05±1.96b	21.21±2.76b
药用大黄	100 mmol·L ⁻¹ NaCl	55.00±6.48b	19.83±2.40b	4.67±0.46b	6.38±0.33c	17.58±1.77c	31.35±0.58c
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	57.33±7.77b	8.67±1.53c	5.12±0.90b	8.06±0.75b	22.04±3.63b	37.61±4.58bc
	100 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	65.67±5.13ab	9.33±1.16c	5.27±0.44b	8.66±1.39ab	23.50±3.28b	40.66±2.90b
	CK	69.83±4.40a	51.83±4.58a	6.11±0.64a	8.28±1.40a	40.38±1.95a	58.16±2.61a
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	20.00±4.56c	2.83±2.79b	3.51±0.21c	5.45±0.56c	7.27±0.15c	17.79±0.76c
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl+200 mg·L ⁻¹ GA3	25.50±4.95bc	1.00±0.00b	3.92±0.52b	6.97±1.42b	7.91±2.49b	19.54±2.52b
	150 mmol·L ⁻¹ NaCl+250 mg·L ⁻¹ GA3	33.50±0.71b	0.33±0.58b	3.76±0.57b	6.22±1.53b	7.77±1.46b	19.31±1.32b

与对照相比无显著差异 ($P>0.05$), 发芽势极低且高浓度 GA3 有促进作用 ($P<0.05$); 幼苗子叶长与对照相比无显著变化 ($P>0.05$), 2 个质量浓度 GA3 浸种显著促进胚轴、根和苗的生长 ($P<0.05$)。

在 100 mmol/L NaCl 胁迫下, 对药用大黄种子实施 200 和 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率与对照相比无显著差异 ($P>0.05$), 高质量浓度 GA3 处理显著提高发芽势 ($P<0.05$); 子叶长、胚轴长和苗长与对照相比无显著变化 ($P>0.05$), 根长受到促进 ($P<0.05$)。以 200 和 250 mg/L GA3 浸种 (表 3) 时, 种子发芽率与对照相比无显著差异 ($P>0.05$), 发芽势显著抑制 ($P<0.05$); 子叶长与对照相比未达到显著差异水平 ($P>0.05$), 2 个质量浓度 GA3 促进胚轴、根和苗的生长 ($P<0.05$)。在 150 mmol/L NaCl 胁迫下, 对药用大黄种子实施 200 和 250 mg/L GA3 拌种 (表 2), 发芽率与对照相比均显著提高、高质量浓度 GA3 能提高发芽势 ($P<0.05$); 2 个质量浓度 GA3 显著促进幼苗子叶和胚轴的生长 ($P<0.05$), 高浓度 GA3 显著促进根和苗生

长 ($P<0.05$)。用 200 和 250 mg/L GA3 浸种 (表 3) 时, 高质量浓度显著改善发芽率 ($P<0.05$), 发芽势极低 ($<1.00\%$) 且与对照相比无显著差异 ($P>0.05$); 2 个浓度 GA3 处理下, 幼苗子叶长、胚轴长、根长与苗长等均提高 ($P<0.05$)。

3 讨论

盐碱胁迫属于植物面临的化学类环境胁迫因素^[16]。药用植物在长期适应这类与水分相关的复杂胁迫中, 不断积累相关遗传变异成为其品质形成的重要条件^[17]。大黄生境通常阳光充足、昼夜温差大, 并常常伴随着干旱、紫外辐射及养分缺乏的胁迫, 研究表明环境与遗传作用共同导致大黄化学成分及含量的差异^[18]。本研究首次系统开展 3 种大黄种子萌发及幼苗发育对盐胁迫的响应, 为科学阐明极端条件下不同大黄种质品质形成机制奠定基础。研究结果发现 3 种大黄种子最终发芽率、发芽势均随 NaCl 胁迫强度的增强而降低, 相对伤害率随盐浓度增大而加剧, 这与蒙古黄芪和膜荚黄芪在盐浓度下的发芽率及伤害率趋势一致^[19-20]。3 种大黄幼苗子

叶长、胚轴长、根长和苗长随 NaCl 浓度而变短,符合前人关于通关藤、黄芪等研究趋势^[8-9]。植物耐盐性差异与细胞众多生理生化代谢过程密切相关^[21]。大黄药材质量分析研究显示掌叶大黄和唐古特大黄化学指纹图谱比药用大黄的复杂,说明二者复杂的化学组分特征^[22]。掌叶大黄和唐古特大黄通常分布海拔高于药用大黄,生境条件更为苛刻,提示二者可能表现出对环境胁迫较高的耐受性,本研究的发现也印证了这一点,即药用大黄种子萌发和幼苗生长受盐胁迫影响最大,对盐胁迫的耐受性最差。

在植物种子萌发过程中,赤霉素对种皮的蜡质层具有不同程度的腐蚀作用,可以增加胚的生长势,还能促进生长素的合成和细胞分裂膨大,提高种子胚内酶活性及代谢活动^[23]。研究证实盐胁迫下一定浓度 GA3 浸种引发能有效改善通关藤^[8]、黄芪^[9]、金背杜鹃^[24]、紫锥菊^[25]等植物种子萌发,鲜有 GA3 拌种的报道。本研究发现 GA3 拌种或浸种均能提高 200 mmol/L NaCl 下掌叶大黄种子发芽率,盐浓度为 250 mmol/L NaCl 时,仅 GA3 拌种促进种子发芽;GA3 拌种或低质量浓度(200 mg/L) GA3 浸种能促进 200 mmol/L NaCl 下唐古特大黄种子发芽,盐浓度达到 250 mmol/L NaCl 时,GA3 拌种或浸种均丧失促进作用;GA3 拌种或浸种对 100 mmol/L NaCl 胁迫下药用大黄种子发芽无促进作用,GA3 拌种或高浓度(250 mg/L) GA3 浸种能促进 150 mmol/L NaCl 胁迫下种子发芽。3 种大黄种子萌发对 GA3 引发有明显差异,拌种或浸种在不同盐浓度下均有促进作用,可能与 3 个物种遗传及生理特征有关。GA3 浸种通常是通过提高种皮透水、透气性,增强种子内生理生化过程与呼吸作用,促进胚的发育及种子萌发^[23-24]。3 种大黄在生理上响应 GA3 拌种或浸种以促进盐胁迫下种子萌发的差异机制值得深入探究。

盐胁迫下 GA3 引发不仅对植物种子萌发有促进作用,而且对幼苗生长发育的影响在不同植物中有一定变化。NaCl 胁迫下,番茄种子施加 GA3 后其芽和根均长于空白对照^[26],高质量浓度(400 mg/L) GA3 浸种 36 h 膜荚黄芪,其芽和根短于中等浓度 GA3 浸种^[9]。本研究发现 GA3 浸种均能促进盐胁迫下掌叶大黄、唐古特大黄和药用大黄幼苗根和苗的生长,尤其是当盐浓度增至 150 mmol/L NaCl 时,高质量浓度(250 mg/L) GA3 浸种显著促进药用大黄根和苗的生长。这些结果说明在本实验

设定的盐胁迫与 200 mg/L 或 250 mg/L 2 个质量浓度 GA3 条件下,GA3 浸种有利于掌叶大黄和唐古特大黄幼苗发育,GA3 拌种或浸种均有利于高盐胁迫下药用大黄幼苗发育。盐胁迫下,GA3 提高种子中以 α -淀粉酶为主的水解酶活性,使贮藏物质大部分分解,为种子萌发提供非结构性碳水化合物和其他养分^[27],从而输送到新生器官供生长使用,这可能是本研究 GA3 引发促进盐胁迫下大黄幼苗生长的原因所在。此外,本研究还发现在 250 mmol/L NaCl 时,掌叶大黄和唐古特大黄幼苗生长受到显著抑制但尚可发育,而高浓度 GA3 拌种严重抑制高盐胁迫下大黄幼苗的生长发育,暗示 GA3 拌种条件下可能与盐胁迫产生效应来增强抑制作用,但是其具体机制有待于下一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Joseph B, Jini D. Salinity induced programmed cell death in plants: Challenges and opportunities for salt-tolerant plants [J]. *J Plant Sci*, 2010, 5(4): 376-390.
- [2] Slama I, Abdelly C, Bouchereau A, et al. Diversity, distribution and roles of osmoprotective compounds accumulated in halophytes under abiotic stress [J]. *Ann Bot*, 2015, 115(3): 433-447.
- [3] van Zelm E, Zhang Y X, Testerink C. Salt tolerance mechanisms of plants [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2020, 71: 403-433.
- [4] 谢德意, 王惠萍, 王付欣, 等. 盐胁迫对棉花种子萌发及幼苗生长的影响 [J]. *中国棉花*, 2000, 27(9): 12-13.
- [5] Ibrahim E A. Seed priming to alleviate salinity stress in germinating seeds [J]. *J Plant Physiol*, 2016, 192: 38-46.
- [6] Ma H Y, Zhao D D, Ning Q R, et al. A multi-year beneficial effect of seed priming with gibberellic acid-3 (GA 3) on plant growth and production in a perennial grass, *Leymus chinensis* [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 13214.
- [7] Wang Y, Gong X W, Liu W K, et al. Gibberellin mediates spermidine-induced salt tolerance and the expression of GT-3b in cucumber [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2020, 152: 147-156.
- [8] 肖雪峰, 刘丽, 郭巧生, 等. 种子引发对 NaCl 胁迫下通关藤种子萌发及幼苗生理特性的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2015, 40(2): 218-225.
- [9] 王楠, 高静, 黄文静, 等. 赤霉素浸种时长和施用浓度对重度干旱和盐胁迫下黄芪幼苗发育的影响 [J]. *生态学杂志*, 2019, 38(9): 2693-2701.
- [10] 中国药典 [S]. 一部. 2020: 263.
- [11] Zheng Q X, Wu H F, Guo J, et al. Review of rhubarbs:

- Chemistry and pharmacology [J]. *Chin Herb Med*, 2013, 5(1): 9-32.
- [12] Yang F, Xu Y, Xiong A Z, *et al.* Evaluation of the protective effect of *Rhei Radix et Rhizoma* against α -naphthylisothiocyanate induced liver injury based on metabolic profile of bile acids [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 144(3): 599-604.
- [13] 黑小斌, 李依民, 李欢, 等. 掌叶大黄种子特性研究及无菌培养体系的构建 [J]. 中草药, 2019, 50(18): 4430-4437.
- [14] 李欢, 张娜, 李依民, 等. 利用转录组测序挖掘掌叶大黄蒽醌类生物合成相关基因 [J]. 药学报, 2018, 53(11): 1908-1917.
- [15] 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.
- [16] 黄璐琦, 郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成 [J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 277-280.
- [17] 郭兰萍, 周良云, 康传志, 等. 药用植物适应环境胁迫的策略及道地药材“拟境栽培” [J]. 中国中药杂志, 2020, 45(9): 1969-1974.
- [18] 商彤, 胡会娟, 孟磊, 等. 遗传和环境对唐古特大黄功效成分含量的影响研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(11): 2246-2253.
- [19] 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.
- [20] 韩多红, 晋玲, 张勇. NaCl 胁迫对膜荚黄芪种子萌发和幼苗生理特性的影响 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 2045-2049.
- [21] Shahid M A, Sarkhosh A, Khan N, *et al.* Insights into the physiological and biochemical impacts of salt stress on plant growth and development [J]. *Agronomy*, 2020, 10(7): 938.
- [22] 高亮亮. 唐古特大黄、药用大黄和掌叶大黄的化学成分和生物活性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2012.
- [23] Inada S, Shimmen T. Regulation of elongation growth by gibberellin in root segments of *Lemna minor* [J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41(8): 932-939.
- [24] 申惠翥, 赵冰, 黄文梅. 温度和赤霉素对金背杜鹃种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 江苏农业科学, 2016, 44(6): 281-283.
- [25] Zadeh S Y, Ramin A A, Baninasab B. Effect of gibberellic acid, stratification and salinity on seed germination of *Echinacea purpurea* cv. Magnus [J]. *Herba Polonica*, 2015, 61(3): 13-22.
- [26] 宋科, 姚政, 徐四新, 等. 盐胁迫下番茄种子萌发和幼苗生长发育的调控研究 [J]. 上海农业学报, 2013, 29(6): 64-68.
- [27] Wang R, Gao M, Ji S, *et al.* Carbon allocation, osmotic adjustment, antioxidant capacity and growth in cotton under long-term soil drought during flowering and boll-forming period [J]. *Plant Physiol Biochem*, 2016, 107:137-146.

[责任编辑 时圣明]