光照、温度和干旱胁迫对藏药川西小黄菊种子萌发的影响

李 蕊[1]，陈文莉[1]，孙泽元[1]，陈瑞鑫[1]，张 艺[2]，古 锐[2*]，蒋桂华[1,2*]

1. 成都中医药大学药学院 西南特色中药资源国家重点实验室/中药材标准化重点实验室，四川 成都 611137
2. 成都中医药大学民族医药学院，四川 成都 611137

摘 要：目的 探究光照、温度和干旱胁迫对藏药川西小黄菊 *Tanacetum tatsienense* 种子萌发的影响。**方法** 在 5 个不同温度（15、20、25、30、35 ℃）下，设置 2 个光照条件（光照 12 h/黑暗 12 h、连续黑暗 24 h）和 5 个聚乙二醇浓度（0、5%、10%、15%、20%）对川西小黄菊种子进行萌发实验，对种子萌发率、平均萌发时间、萌发指数、幼叶长、胚轴长、胚根长等指标进行统计分析。**结果** 光照、温度和干旱胁迫对川西小黄菊种子萌发具有显著影响（P＜0.05）；同一温度下，光照条件下的种子萌发率和萌发指数大于黑暗条件，黑暗环境下平均萌发时间增加；20、25 ℃下光照对种子的萌发率和平均萌发时间影响不显著；15、30 和 35 ℃时，连续黑暗环境显著抑制种子的萌发率（萌发率最低仅为 6.0%）和平均萌发时间（P＜0.05）；15、20、25 ℃时随 PEG 浓度升高，种子萌发率和萌发指数减小、平均萌发时间增加，最短时间仅需 3.4 d，最长时间达 10.6 d；30、35 ℃时，低浓度 PEG（≤10%）胁迫下萌发率和萌发指数显著大于对照（P＜0.05），最高萌发率可达 85.5%；幼叶和胚轴长度在所有温度下随 PEG 浓度的增加而缩短，胚根长度除 15 ℃的所有温度下随 PEG 浓度增加呈先增长后缩短趋势，15 ℃时呈缩短趋势；回收后种子最终萌发率在 15、20、25 ℃与对照无显著差异（P＞0.05），在 30、35 ℃时显著降低（P＜0.05）。**结论** 温度改变会影响光照和干旱胁迫川西小黄菊种子适应性，是调节种子萌发的主要因素，而光照不是必要条件；另外，川西小黄菊种子 PEG 干旱胁迫承受阈值为 20%，在轻度胁迫（PEG 浓度 0～10%），温度为 20～30 ℃时种子萌发最好，在 20～25 ℃时幼苗生长较好，可为川西小黄菊人工育苗提供参考。

关键词：川西小黄菊；种子萌发；PEG；温度；光照

中图分类号：R286 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2023)19 - 6443 - 09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2023.19.025

Effect of light, temperature, and drought stresses on seed germination of Tibetan medicine *Tanacetum tatsienense*

LI Rui[1], CHEN Wen-li[1], SUN Ze-yuan[1], CHEN Rui-xin[1], ZHANG Yi[2], GU Rui[2], JIANG Gui-hua[1,2]

1. Key Laboratory of Standardization of Chinese Medicine, State Key Laboratory of Southwestern Chinese Medicine Resource, School of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China
2. School of Ethnic Medicine, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China

Abstract: Objective To explore the effects of light, temperature and drought stress on the seed germination of the Tibetan medicine *Tanacetum tatsienense*. **Methods** Under five different temperatures (15, 20, 25, 30, 35 ℃), two light conditions (light 12 h/darkness 12 h, continuous darkness 24 h) and five polyethylene glycol (PEG) concentrations (0, 5%, 10%, 15%, 20%) were set to conduct germination experiments on the seeds of *T. tatsienense*. The seed germination rate, average germination time, germination index, young leaf length, hypocotyl length and radicle length were statistically analyzed. **Results** Light, temperature and drought stress had significant effects on the seed germination of *T. tatsienense* (P < 0.05). At the same temperature, the germination rate and germination index of the seeds under light conditions were higher than those under dark conditions, and the average germination time increased under dark conditions. Light has no significant effect on the germination rate and average germination time of seeds at 20 and 25 ℃ (P > 0.05), while continuous dark environment inhibited significantly the germination rate (the lowest germination rate was only 6.0%) and the average germination time of

收稿日期：2023-02-03

基金项目：国家重点研发计划课题项目（2019YFC1712302）；国家重点研发计划课题项目（2019YFC1712305）

作者简介：李 蕊，女，硕士研究生，从事中藏药资源与鉴定研究。Tel: 17828167820 E-mail: 1134303797@qq.com

***通信作者：**蒋桂华，女，教授，博士生导师，从事中藏药资源与品质评价研究。Tel: 18980923782 E-mail: 11469413@qq.com

古 锐，男，教授，博士生导师，从事中藏药资源与品质评价研究。Tel: 18010518232 E-mail: 664893924@qq.com

seeds at 15, 30 and 35 ℃ ($P < 0.05$). With the increase of PEG concentration at 15, 20 and 25 ℃, the seed germination rate and germination index decreased and the average germination time increased, the shortest time was only 3.4 d, and the longest time was 10.6 d. At 30 and 35 ℃, the germination rate and germination index under low concentration PEG (≤ 10%) stress were significantly higher than the control ($P < 0.05$), the highest germination rate can reach 85.5%. The length of young leaves and hypocotyls decreased with the increase of PEG concentration at all temperatures, and the length of radicle increased first and then decreased with the increase of PEG concentration at all temperatures except 15 ℃, and decreased at 15 ℃. The final germination rate of the recovered seeds had no significant difference with the control at 15, 20 and 25 ℃ ($P > 0.05$), but decreased significantly at 30 and 35 ℃ ($P < 0.05$). **Conclusion** Research and analysis found that temperature changes can affect the adaptability of *T. tatsienense* seeds under light and drought stress. Temperature is the main factor to regulate its germination process, while light is not the necessary condition for its germination. In addition, the tolerance threshold to drought stress is 20%. Under mild stress (PEG concentration 0%—10%), the seeds germinated best at 20—30 ℃, and the seedlings grow better at 20—25 ℃. Therefore, this study can provide a reference for artificial seeding culivation of *Tanacetum tatsienense*.

Key words: *Tanacetum tatsienense* (Bureau & Franchet) K. Bremer & Humphries; seed germination; polyethylene glycol; temperature; light

藏药为我国四大民族药之一，有 3000 多年的应用历史[1]。由于其生长海拔要求高，生态脆弱致使其种群更新、增速慢，药材资源极易遭到破坏[2]。随着藏医药产业迅猛发展，藏药材需求增大，掠夺式采挖导致藏药资源处于濒危或灭绝状态[3]。开展藏药资源保护和可持续利用已成为亟待解决的问题。川西小黄菊 *Tanacetum tatsienense* (Bureau & Franchet) K. Bremer & Humphries 为菊科菊蒿属多年生草本植物，其干燥花序是一种传统常用藏药，为 86 种高原特产藏族药品种之一[4]。其资源主要分布于海拔 3500～5000 m 的云南西北和西藏东南部草甸或灌丛中[5]，具有散瘀、止痛、敛黄水等功效，为二十五味珊瑚丸、三十五味沉香丸、香菊活血丸等 7 种中成药和 20 多种藏药制剂的主要原料，市场前景广阔[6-7]。然而，近年来，随着川西小黄菊市产需求逐年增加，价格不断上涨，药材短缺问题日益突出[4]。另外，川西小黄菊分布区域环境复杂多样，资源稀少[4]，长期采集花序，种子尚未成熟，导致资源急剧下降，难以满足市场需求。因此，发展川西小黄菊人工种植是解决资源可持续利用的重要途径。近年来，已有学者对川西小黄菊的化学成分[8-9]、药理作用[10]和质量研究[11]等方面开展研究，尚未见有关学者对其种子种苗繁育和人工栽培进行报道。种子萌发是植物生活史的初始阶段，是植物早期更新的主要环节，对开展人工栽培具有重要指导价值[12-13]。高山植物生长环境特殊，植物种子萌发通常暴露在过度光照、强烈紫外线辐射和较大温差环境下，此外，由于高山植被和土壤退化加速，湿地面积持续性缩减，导致高山植物生长繁殖面临干旱威胁[14-16]。因此，本研究通过探究光照、温度和干旱胁迫 3 个因素和其间存在的交互作用对藏药川西小黄菊种子萌发的影响，以期为其人工育苗提供科学依据。

1 材料、仪器与试剂

1.1 材料

实验材料于 2021 年 9 月采集自四川省阿坝藏族羌族自治州红原县，经成都中医药大学蒋桂华教授鉴定为川西小黄菊 *T. tatsienense* (Bureau & Franchet) K. Bremer & Humphries 的新鲜种子。预实验表明种子没有大面积休眠现象，但在不同环境条件下种子萌发具有一定差异性，种子净选后贮藏于 4 ℃冰箱冷藏备用。

1.2 仪器与试剂

GTOP-260B 型智能光照培养箱（浙江托普仪器有限公司）、培养皿（直径 90 mm，合肥白鲨生物科技有限公司）、游标卡尺（精度 0.01，贵州西南工具集团有限公司）、聚乙二醇-6000（PEG-6000，以下简称 PEG，购于成都市科隆化学品有限公司）。

2 方法

2.1 实验处理

参照相关文献报道[17-18]选择适宜的光照和温度条件以及适宜的 PEG 浓度范围，进行预实验后发现川西小黄菊种子在＜15 ℃和＞35 ℃、PEG 浓度＞20%时的萌发率低且相同重复之间萌发差异大，因此最终选择在智能光照培养箱中控制的 5 个温度条件（15、20、25、30、35 ℃）下，设置 2 个光照条件（光照 12 h/黑暗/12 h、连续黑暗 24 h）进行萌发实验，共 10 组处理，每个处理 4 次重复；再分别设置 5 个浓度的 PEG 溶液（0、5%、10%、15%、20%）在上述 5 个温度下进行萌发实验，共 25 组处理，每个处理 4 次重复。选择完整饱满的川西小黄菊净种子，用 0.3%的高锰酸钾溶液消毒浸泡 10 min，蒸馏水冲洗 3 次，滤纸吸干表面水分。以双层湿润滤纸

为发芽床，置于培养皿中，将各处理溶液缓慢滴入培养皿至双层滤纸湿润，每个培养皿整齐排列放置 50 粒种子，培养皿置于智能光照培养箱中进行萌发试验，试验期间保持培养皿内水分恒定。15 d 后，PEG 处理的未萌发种子转移到只含蒸馏水的新培养皿中，以双层湿润滤纸为萌发基质，在相同温度和光照条件下再保持 15 d，以研究发芽恢复情况。

2.2 种子萌发指标的测定和计算

每 24 h 观察记录 1 次，记录 15 d，当胚根可见至少 1 mm 时，认为种子已经萌发。萌发第 12 天，从各 PEG 胁迫下的条件重复中随机选取 10 株幼苗（发芽数目不够 10 株的则取最大发芽数），用游标卡尺测定幼叶（cotyledon）、胚轴（hypocotyl）和胚根（radicle）的长度。用萌发率（germination percentage）、平均萌发时间（mean time to germination）、萌发指数（germination index）3 个指标评价种子活力，用相对迫害率（relative persecution rate）评价各浓度胁迫对种子的损害程度，用回收率（recovery percentage）和最终萌发率（final germination percentage）探讨 PEG 对种子的胁迫作用。

萌发率＝萌发种子数/50 粒

平均萌发时间＝$\left(\sum_i ti \times ni\right)/N$

t 为自萌发试验开始时的天数，n 为第 t 天萌发的种子数，N 为处理中萌发的种子总数[19]

萌发指数＝$\sum G_t/D_t$

G_t 为萌发试验终期内每日发芽数，D_t 为萌发天数[20]，数值越高，发芽越快

相对迫害率＝(各处理对照发芽率－各处理最终发芽率)/各处理对照发芽率 [21]

回收率＝$(a-b)/(c-b)$

a 为蒸馏水恢复后萌发的种子总数，b 为 PEG 处理后萌发的种子总数，c 为种子总数[19]

最终萌发率＝PEG 处理加蒸馏水回收后萌发的种子总数/50 粒

2.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 软件对数据进行统计和处理；采用 SPSS 19.0 软件对种子各萌发参数和幼苗参数进行差异显著性检验，相关数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示；采用 GraphPad Prism 8.0 软件对种子各萌发参数和幼苗参数进行回归分析并制作图表；采用 Design Expert 8.0 软件对 PEG 胁迫下种子的萌发率、幼叶长、胚轴长和胚根长进行响应值预测并做图。

3 结果与分析

3.1 温度和光照对川西小黄菊种子萌发的影响

方差分析结果表明，温度和光照以及两者的交互作用对川西小黄菊种子萌发的影响显著（表 1）。光照对川西小黄菊种子萌发的调节受温度的影响（表 2），虽然在同一温度环境中有光照条件下种子的萌发率均高于连续黑暗条件，但光照在 20 ℃和 25 ℃下对萌发率影响不显著，在低温（15 ℃）和高温环境（30、35 ℃）下对萌发率影响显著，甚至在 35 ℃、连续黑暗条件下基本已完全抑制种子萌发，萌发率仅有 6%。2 种光照条件下种子萌发率随温度的升高呈先增大后减小的趋势，且均在 25 ℃时最高，35 ℃时最低；萌发率最大值出现在 25 ℃、有光照的条件下，为 77%。光照条件在高温环境下对川西小黄菊种子的平均萌发时间影响显著，30 ℃、有光照条件下发芽时间最短（3.38 d），35 ℃、连续黑暗条件下萌发时间最长（7.25 d）；2 种光照条件下种子均在 25、30 ℃时萌发时间较短。种子在连续黑暗条件下的萌发速度在各温度条件中均显著慢于有光照条件，且 2 种光照条件均在 25 ℃时萌发最快。

3.2 温度和干旱胁迫对川西小黄菊种子萌发的影响

3.2.1 温度和干旱胁迫对川西小黄菊种子萌发参数的影响　方差分析结果表明（表 3），温度、PEG 模拟干旱胁迫和两者的交互作用对川西小黄菊种子的

表 1 不同温度和光照条件下川西小黄菊种子萌发率、平均萌发时间和萌发指数的双因素方差分析

Table 1 Two factor ANOVA of seed germination rate, average germination time and germination index of *T. tatsienense* under different temperatures and light conditions

因素	萌发率			平均萌发时间			萌发指数		
	自由度	*F*	*P*	自由度	*F*	*P*	自由度	*F*	*P*
温度（A）	4	104.73	0.000	4	40.07	0.000	4	145.23	0.000
光照（B）	1	92.24	0.000	1	47.04	0.000	1	139.31	0.000
A×B	4	8.26	0.000	4	15.61	0.000	4	19.22	0.000

表 2　不同温度和光照条件下川西小黄菊种子的萌发率、平均萌发时间和萌发指数（$\bar{x} \pm s$, n = 4）

Table 2　Germination rate, average germination time and germination index of *T. tatsienense* under different temperatures and light conditions ($\bar{x} \pm s$, n = 4)

温度/℃	萌发率/%		平均萌发时间/d		萌发指数	
	L/D	D	L/D	D	L/D	D
15	66.00±5.42Ab	49.00±4.76Bc	5.48±0.46Aa	5.77±0.12Ab	6.38±1.00Ab	4.38±0.46Bc
20	67.50±8.23Aab	60.00±4.32Ab	5.61±0.59Aa	5.75±0.21Ab	6.73±1.23Ab	5.81±0.38Bb
25	76.50±7.90Aa	72.50±4.73Aa	4.64±0.32Ab	4.42±0.29Ad	11.55±0.42Aa	10.53±0.69Ba
30	68.50±5.97Aab	43.50±4.43Bc	3.38±0.17Bc	5.06±0.39Ac	11.28±1.32Aa	4.73±0.64Bc
35	36.50±3.79Ac	6.00±3.65Bd	5.11±0.38Bab	7.25±0.50Aa	4.13±0.22Ac	0.43±0.28Bd

L/D 表示光照 12 h/黑暗 12 h 交替条件，D 表示连续黑暗条件；不同小写字母和大写字母分别表示列和行（组内）差异显著（P<0.05）

L/D is the alternating condition of light 12 h/darkness 12 h, and D is the continuous darkness condition; Different lowercase letters and uppercase letters indicate significant differences in columns and rows (within groups) (P < 0.05)

表 3　温度和 PEG 模拟干旱胁迫下川西小黄菊种子萌发率、平均萌发时间和萌发指数的双因素方差分析

Table 3　Two factor ANOVA of seed germination rate, average germination time and germination index of *T. tatsienense* under simulated drought stress by temperature and PEG

因素	萌发率			平均萌发时间			萌发指数		
	自由度	F	P	自由度	F	P	自由度	F	P
温度（A）	4	70.63	0.000	4	36.80	0.000	4	94.44	0.000
PEG 浓度（B）	4	130.45	0.000	4	32.18	0.000	4	165.25	0.000
A×B	16	1.85	0.039	16	3.77	0.000	16	11.14	0.000

萌发率、平均萌发时间、萌发指数的影响均达显著水平（P<0.05）。

回归分析结果显示（图 1），在不同温度下种子的萌发率、平均萌发时间、萌发指数、幼叶长、胚轴长和胚根长的回归模型均表现为三次曲线，全部回归模型均达显著水平（P<0.05）。由图 1 可以看出，川西小黄菊种子萌发率在 15、20、25 ℃下随 PEG 浓度的升高而减小，在 30、35 ℃下随 PEG 浓度的升高呈先增大后减小的趋势，其中 PEG 浓度为 5%和 10%时的萌发率大于对照，即在低温环境下，PEG 模拟干旱胁迫抑制川西小黄菊种子的萌发；在高温环境下，低浓度 PEG（≤10%）促进种子的萌发，高浓度 PEG（＞10%）抑制。在 PEG 浓度≤10%时，除 35 ℃外种子萌发率可维持在 60%以上，在 30 ℃、PEG 浓度为 5%时出现最大值，为 85.5%；在 PEG 浓度＞10%时，种子萌发率随 PEG 浓度的升高显著降低，且在 35 ℃、PEG 浓度为 20%时出现最小值，仅为 1.5%，这说明川西小黄菊种子对 PEG10%浓度以下的干旱胁迫具有较好的耐抗能力。此外，在预实验中发现川西小黄菊种子在 PEG 浓度＞20%条件下极少萌发，因此认为 20% PEG 浓度时川西小黄菊种子承受干旱胁迫的阈值。

除 35 ℃外，种子平均萌发时间随 PEG 浓度的升高而增加，且 30 ℃时萌发时间最短，最短时间出现在 30 ℃、无干旱胁迫条件下，种子完全萌发仅需 3.4 d；而萌发最长时间出现在 15 ℃、PEG 浓度为 20%条件下，为 10.6 d。这说明 PEG 模拟干旱胁迫延长川西小黄菊种子的萌发时间，高温环境（≥30 ℃）比低温环境（≤20 ℃）的萌发时间短。

种子的萌发指数在 15、20、25 ℃下随 PEG 浓度的升高而减小，在 30 ℃和 35 ℃下随 PEG 浓度的升高呈先增大后减小的趋势，且在 15、20、35 ℃下萌发指数较小，即在这 3 个温度下川西小黄菊种子的活力较低，萌发较慢。萌发指数在 30 ℃、PEG 浓度为 5%时出现最大值，此时种子萌发速度最快。

3.2.2　温度和干旱胁迫对川西小黄菊幼苗参数影响　川西小黄菊幼苗的幼叶长度和胚轴长度在所有温度下均随 PEG 浓度的增加而缩短（图 1），两者的最长值均出现在 25 ℃、无 PEG 胁迫的条件下，分别为 0.41 cm 和 0.88 cm；最短值均出现在 35 ℃、PEG 浓度为 20%条件下，分别为 0.12 cm 和 0.16 cm。川西小黄菊幼苗的胚根长度在除 15 ℃的所有温度下随 PEG 浓度的增加呈先增长后缩短的趋势，15 ℃时呈缩短趋势。胚根最长值出现在 20 ℃、PEG 浓度为 5%时，为 1.25 cm，最短值出现在 35 ℃、PEG 浓度为 20%时，为 0.25 cm。在同一 PEG 浓度下，胚根均在 20 ℃环境下最长。

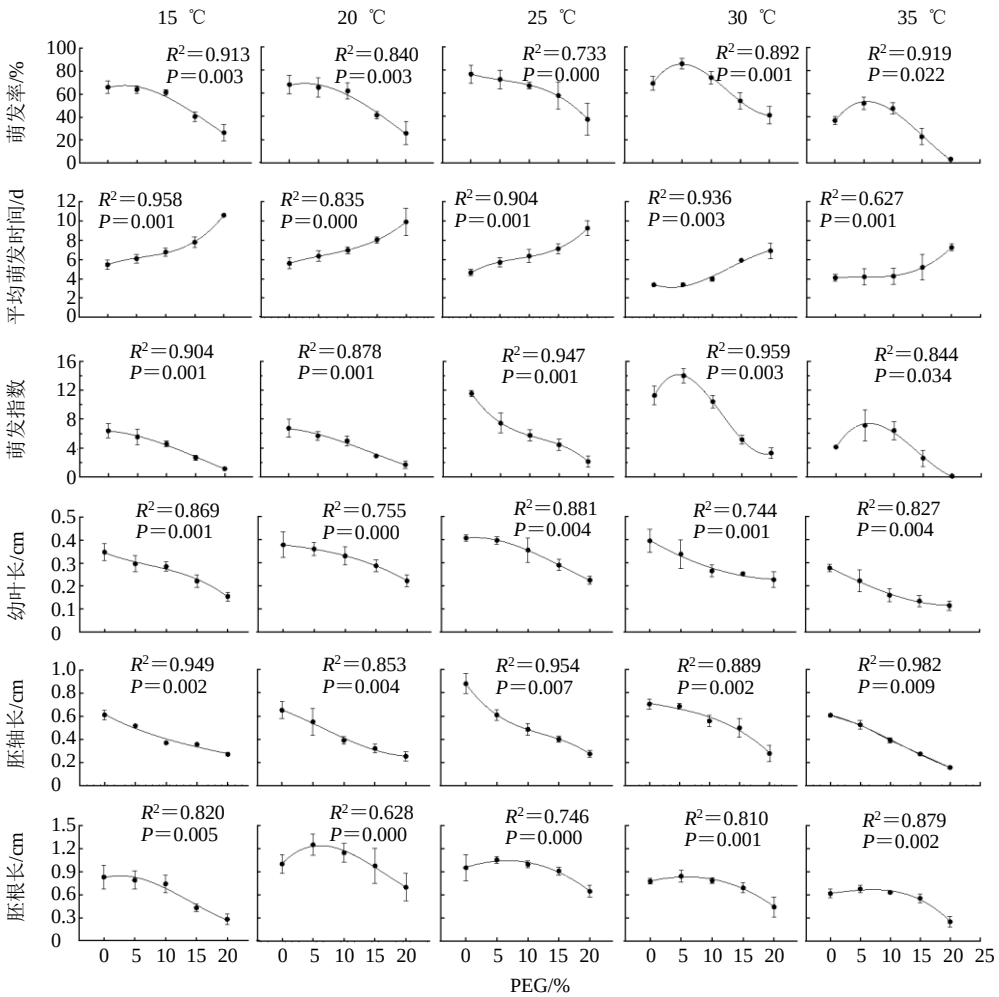


图 1 不同温度和不同浓度 PEG 对川西小黄菊种子萌发和幼苗生长的影响

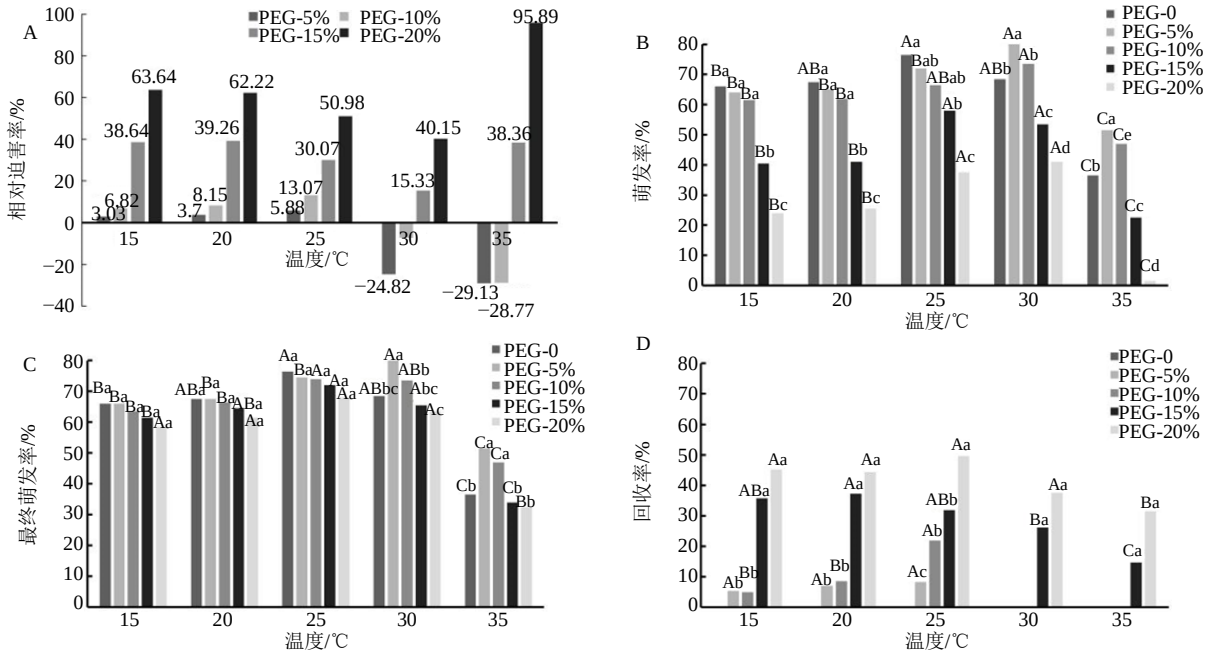
Fig. 1 Effects of PEG at different temperatures and concentrations on seed germination and seedling growth of *T. tatsienense*

3.2.3 温度和干旱胁迫的交互作用对种子萌发的影响 不同温度下 PEG 对川西小黄菊种子的相对迫害率见图 2-A，相同温度下 PEG 浓度越大对川西小黄菊种子的伤害程度越高。30 ℃环境下不同浓度 PEG 溶液对种子的伤害程度最低。35 ℃环境下，不同浓度 PEG 对种子的伤害程度差异最大，相对迫害率最高为 95.89%。

未萌发的种子转移到蒸馏水中后的最终萌发率见图 2-C，在 15、20、25 ℃环境下，各浓度 PEG 溶液间的最终萌发率没有显著性差异；在 30 ℃和 35 ℃环境下，PEG 浓度为 5%和 10%时促进种子萌发，对最终萌发率有显著影响且高于对照，PEG 浓度为 15%和 20%时种子最终萌发率与对照无显著性差异。对同一 PEG 浓度溶液而言，种子的最终萌发率在 25 ℃或 30 ℃时处于最高水平，在 35 ℃时处于最低水平。未萌发的种子转移到蒸馏水中后的回收率见图 2-D，种子的发芽恢复受温度和 PEG 浓度的影响，所有温度下 PEG 浓度为 20%时种子的恢复率最高，最高在 25 ℃时可达 49.58%。同一 PEG 浓度下，种子在 25 ℃时的恢复率处于最高水平，而在 30 ℃和 35 ℃的恢复率显著降低。这说明在 PEG 胁迫下，种子萌发抑制主要是由于渗透胁迫引起的水势降低，川西小黄菊种子被在低浓度 PEG 胁迫后用蒸馏水恢复能基本恢复到无胁迫条件下的萌发率，而被高浓度 PEG 胁迫后的萌发率均难以恢复。

3.3 温度和干旱胁迫的交互作用对种子萌发与幼苗生长的预测分析

采用 Design Expert 8.0 软件分析，以萌发率、幼叶长、胚轴长和胚根长的测量指标为响应值，来预测不同温度和 PEG 胁迫下川西小黄菊种子萌发和幼苗生长的最佳处理，结果见图 3。在 PEG 浓度

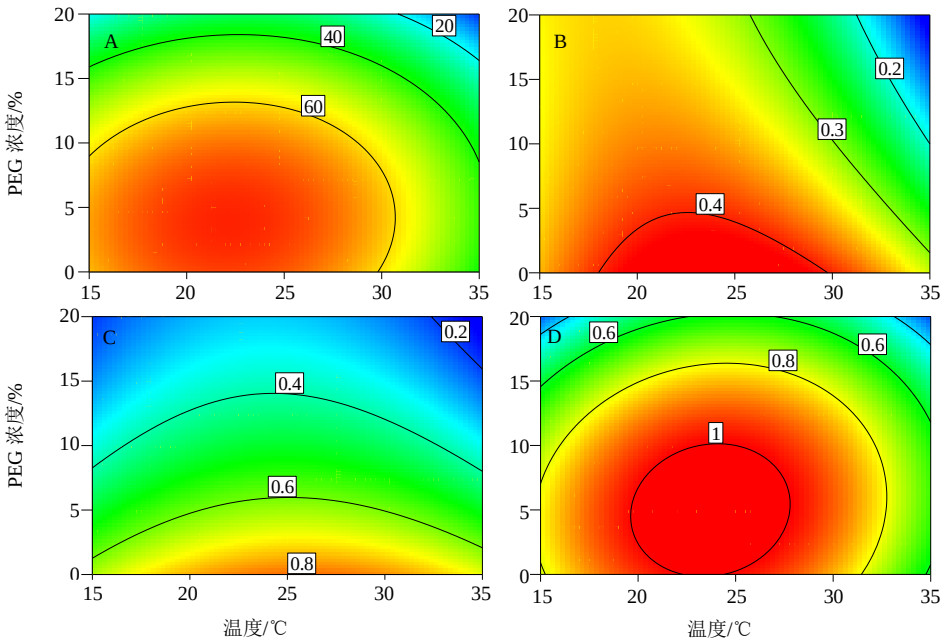


A-不同温度下 PEG 对种子的相对迫害率　B-不同温度和 PEG 胁迫下种子萌发率　C-回收试验后种子的最终发芽率　D-种子在蒸馏水中的回收率，图中大写字母表示相同 PEG 浓度下不同温度的显著性差异，不同小写字母表示相同温度下不同 PEG 浓度的显著性差异（$P<0.05$）

A-relative persecution rate of PEG to seeds at different temperatures　B-seed germination percentage under temperature and PEG stress　C-final germination percentage of seed after recovery test　D-recovery rate of seed in distilled water. The capital letters in the figure represent the significant differences between different temperatures at the same PEG concentration, and the lower letters represent the significant differences between different PEG concentrations at the same temperature ($P < 0.05$)

图 2　温度和 PEG 胁迫的交互作用对种子萌发的影响

Fig. 2　Effects of the interaction of temperature and PEG stress on seed germination



A-PEG 胁迫下萌发率　B-PEG 胁迫下幼叶长　C-PEG 胁迫下胚轴长　D-PEG 胁迫下胚根长

A-germination percentage under PEG stress　B-young leaf length under PEG stress　C-hypocotyl length under PEG stress　D-radicle length under PEG stress

图 3　川西小黄菊种子萌发与幼苗生长的响应面图

Fig. 3　Response surface diagrams of seed germination and seedling growth of *T. tatsienense*

低于 10%和温度处于 15～30 ℃时川西小黄菊种子的萌发率最高，预测得出最高萌发率出现在 PEG 浓度为 3.73%、温度为 21.98 ℃条件下；在 PEG 浓度低于 5%和温度处于 20～30 ℃时川西小黄菊幼苗的幼叶长度最长，预测出幼叶最长出现在 PEG 浓度为 0%、温度为 23.89 ℃条件下；在 PEG 浓度低于 2.5%和温度处于 20～30 ℃时胚轴长度最长，预测出胚轴最长出现在PEG浓度为0%、温度为25.67 ℃条件下；在 PEG 浓度低于 10%和温度处于 20～30 ℃时胚根长度最长，预测出胚根最长出现在 PEG 浓度为 4.97%、温度为 23.71 ℃条件下。

4 讨论

4.1 温度是影响川西小黄菊种子萌发的重要因素

种子萌发和出苗是植物生命周期中最重要的步骤，容易受到各种非生物胁迫[22]，其中温度对种子萌发的影响体现在对酶活性的调节，从而影响到需要酶参与的种子萌发过程中的吸水激活代谢反应及幼苗生长过程中的物质和能量转化[17]，因此温度是影响种子萌发和出苗的重要因素，低温和高温均抑制种子的萌发。结果表明，川西小黄菊种子在 15～35 ℃下均可萌发，种子萌发率随温度的升高先增大后减小，在 25 ℃时最高达 76.5%，高于这一温度后，萌发率随温度升高逐渐减小；15～30 ℃下萌发率均大于 65%，但 35 ℃下萌发率最低仅为 36.5%。尽管种子在 25 ℃和 30 ℃下种子萌发速度更快、种子活力更高，但在 20～30 ℃时的萌发率均处于最高水平且各温度间没有明显差异，因此综合种子萌发参数来看，20～30 ℃应该是川西小黄菊种子萌发的适宜条件。低温（≤15 ℃）和高温（≥30 ℃）均抑制川西小黄菊种子的萌发，但高温抑制作用更为显著，这与黎言言等[23]对 4 种高山菊科植物种子的研究结果一致，高温条件（25/10 ℃、30/15 ℃）显著抑制了沼生橐吾 *Ligularia lamarum* (Diels) Chang、苍山橐吾 *L. tsangchanensis* (Franch.) Hand.-Mazz.、苞叶雪莲 *Saussurea obvallata* (DC.) Edgew.、莱菔叶千里光 *Senecio raphanifolius* Wall. Ex DC.种子的萌发。这种高温对种子萌发的抑制作用是高海拔植物应对高原极端环境所选择的萌发策略，避免种子在夏季过晚萌发导致幼苗根系生长不足而难以越冬[24]；在春季融雪后的适宜温度下萌发，延长幼苗生长季可大大提高幼苗的存活率。此外，本研究发现川西小黄菊种子在较高温度（≥30 ℃）下的萌发时间显著缩短，这可能是由于相对高温可加快酶活化速率并调节激素水平从而使种子解除休眠[18]。

4.2 光照对川西小黄菊种子萌发的影响受温度调控

光是种子萌发过程中起重要调控作用的环境因素，根据种子萌发对光的需求不同分为 3 种类型：第 1 类种子萌发需要光照，无光照时抑制种子萌发或不萌发，即需光型；第 2 类种子萌发时光照会诱导种子进入休眠，即忌光型；第 3 类种子萌发时是否有光照不会影响种子萌发，即光中性型[25]。如皱叶酸模 *Rumex crispus* L.的种子属于需光型[26]，沙蓬 *Agriophyllum squarrosum* (L.) Moq.的种子属于忌光型[27]，傣百解 *Marsdenia tenacissima* (Roxb.) Moon 的种子属于光中性型[28]。但研究发现植物种子对光照的需求会随着温度的改变而改变，如随着温度的升高，黄芪种子在低温环境下光照不影响种子的萌发率，但在高温环境下随光照时间的延长萌发率显著下降，即黄芪种子由需光型转变为光中性型[18]。本研究发现，在温度为 20 ℃和 25 ℃时，光照与否对川西小黄菊种子的萌发率和平均萌发时间影响不显著，此时光照不是川西小黄菊种子萌发的必要因素，种子为光中性型；但随着温度的改变，在温度为 15、30、35 ℃时，连续黑暗环境则显著抑制种子的萌发率和平均萌发时间，特别是在高温 35 ℃条件下萌发率仅有 6.0%，此时种子为需光型。本研究中低温和高温环境下光照均显著促进种子萌发，但在高温下无论光照与否种子萌发率均较低，这有利于高山植物种子在早春融雪后的较低温度下接受到光信号就开始萌发，避免其在夏季高温环境下萌发导致生长期缩短而不利于越冬[23]。而在 20～25 ℃的适宜温度范围内，光照不影响川西小黄菊种子的萌发是高山植物应对高原萌发季短、提高幼苗存活率等风险的又一重要措施。

4.3 PEG 对川西小黄菊种子萌发的影响受温度调控

干旱胁迫是制约青藏高原地区植物生长的重要因素。PEG 是一种高分子渗透剂，具有强亲水性，不同浓度的处理可模拟形成不同干旱水势程度，且具备提高种子活力的能力，可用于种子萌发阶段的耐旱性研究[29-30]。种子启动是用天然或合成来源的不同因素对种子进行处理，以诱导轻度应激，相关启动技术有渗透启动、盐启动、氢启动等，可诱导种子遭受轻度胁迫，从而激活胁迫响应基因和蛋白质[12]，研究表明，低浓度渗透作用可促进种子萌发和幼苗生长，如 10% PEG 处理的小麦种子的萌发参数和幼苗参数均高于对照[31]；高浓度渗透作用对种

子萌发和幼苗生长的抑制作用明显[32]。在本研究中，PEG 对川西小黄菊种子的萌发的影响表现出低温抑制，高温低浓度促进的作用。在 15、20、25 ℃时 PEG 模拟干旱胁迫在各浓度下均抑制种子萌发，随 PEG 浓度的升高，种子萌发率和萌发指数减小，平均萌发时间延长；在 30 ℃和 35 ℃时低浓度 PEG（≤10%）胁迫下萌发率和萌发指数显著大于对照。低浓度 PEG（≤10%）胁迫在低温下抑制种子萌发，但抑制作用不显著，在高温下促进种子萌发，可以认为川西小黄菊种子对低浓度渗透胁迫具有一定的耐受性，因此在此范围内利用渗透胁迫可激活信号因子，使植物具有耐旱能力，有利于诱导种子启动。

35 ℃时川西小黄菊种子对渗透胁迫敏感，在 PEG 浓度为 20%时萌发受到严重抑制，另外种子经过蒸馏水回收后，在≤25 ℃环境下的最终萌发率与对照无显著性差异，而在 30 ℃和 35 ℃环境下经高浓度 PEG 胁迫后的种子最终萌发率经回收后也难以达到对照水平，这说明温度对 PEG 处理的干旱胁迫作用有一定程度的影响，不适宜的温度会加速 PEG 胁迫的抑制作用，这种交互作用可导致种子生理失衡，从而延缓萌发时间、降低萌发率等[33]；适宜的温度可以增加种子对 PEG 胁迫的抗性，这可能是因为在这种复合条件下可激活种子的内在保护机制，提高相关酶活性并减少吸胀过程出现的膜损伤，从而提高种子活力、加速种子萌发进程等[32]。因此川西小黄菊种子在适宜温度下遭受轻度干旱胁迫后，在雨水或灌溉的有利环境开始时，种子萌发能力可以恢复到初始水平，从而有助于提高产量。

5　结论

本实验通过研究光照、温度和干旱胁迫对川西小黄菊种子萌发的影响，发现温度是调节种子萌发过程的主要因素，温度的改变会影响川西小黄菊种子对光照和干旱胁迫的敏感性，高温（35 ℃）不利于种子萌发和幼苗前期生长；光照不是川西小黄菊种子萌发的必要因素，20 ℃和 25 ℃时光照与否对种子的萌发率没有显著影响；轻度渗透胁迫在高温环境下能促进种子萌发，川西小黄菊种子对轻度胁迫的耐受性较好。因此，人工种植建议选择在 20～30 ℃温度下进行川西小黄菊种子的萌发，再适当进行干旱胁迫（PEG≤10%）以增加萌发率；幼苗形成后控制温度在 20～25 ℃，可最大程度地有利于川西小黄菊的初期生长。本研究仅对探讨高原环境主要生态因子温度、水分、光照对川西小黄菊种子萌发特性的影响，然而，除此之外，产地、种子成熟度、种子储藏时间和方式等因素均会影响种子的萌发和幼苗的生长，如何选择适宜的种植区、采集适宜成熟度的种子及种子储藏对川西小黄菊进行人工育苗还需下一步研究，以提高川西小黄菊人工种植水平，改善资源短缺等问题。

利益冲突　*所有作者均声明不存在利益冲突*

参考文献

[1] 赵紫薇, 赵程成, 徐鑫梅, 等. 藏药圆柏 HPLC 指纹图谱的建立及不同品种模式识别研究 [J]. 中草药, 2023, 54(2): 663-669.

[2] 赵彩云, 刘欢, 苏锦松, 等. 青藏高原藏药濒危现状及其资源保护策略 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(23): 4451-4455.

[3] 俞志凌, 张驰, 甘慧琴, 等. 藏药亚吉玛(长梗金腰)醋酸乙酯部位的化学成分研究 [J]. 中草药, 2022, 53(2): 354-361.

[4] 张亚梅, 杜小浪, 钟国跃. 藏族药打箭菊的研究进展 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(19): 222-225.

[5] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志（第七十三卷，第二分册） [M]. 北京: 科学出版社, 1983: 64.

[6] 中华人民共和国卫生部药品标准·藏药 (第一册) [S]. 1995: 22.

[7] 梅蒙, 葛宁. 藏药打箭菊的研究进展 [J]. 中国民族医药杂志, 2012, 18(9): 70-71.

[8] 齐桦琳, 杜艳, 陈玉, 等. 打箭菊水溶性成分的研究 [J]. 绿色科技, 2022, 24(8): 222-224.

[9] 陈玉, 卢青秀, 年贺凤, 等. 川西小黄菊茎化学成分的研究 [J]. 中南民族大学学报: 自然科学版, 2020, 39(2): 174-179.

[10] 夏玉英, 祝晨蔯, 林朝展, 等. 基于 UPLC-Triple TOF MS/MS 和网络药理学技术分析打箭菊总黄酮部位保肝活性成分及其潜在靶点研究 [J]. 中药材, 2018, 41(7): 1609-1614.

[11] 周礼仕, 周林, 岳清洪, 等. 藏药打箭菊的质量标准研究 [J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(1): 136-140.

[12] Raj Aswathi K P, Kalaji H M, Puthur J T. Seed priming of plants aiding in drought stress tolerance and faster recovery: A review [J]. *Plant Growth Regul*, 2022, 97(2): 235-253.

[13] 赵小祥, 王根绪, 杨凯, 等. 高山植物种子萌发、幼苗存活和定居对气候变化的响应 [J]. 草业科学, 2020, 37(2): 213-225.

[14] 费璇, 锁才序, 向双, 等. 青藏东缘高寒草甸植物群落结构及功能群特征对长期季节放牧的响应 [J]. 草地学

报, 2022, 30(8): 1954-1963.

[15] 张春辉, 马真, 任彦梅, 等. 青藏高原高寒草甸六种杂类草植物种子萌发期抗旱性研究 [J]. 草地学报, 2022, 30(5): 1159-1164.

[16] 孟思宇, 李晓青, 魏小星, 等. 水分胁迫对发草种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 草业科学, 2022, 39(8): 1531-1539.

[17] 李慧, 王雪茹, 李依民, 等. 温度和干旱胁迫对 3 种大黄种子萌发和幼苗生长的影响 [J]. 中草药, 2022, 53(8): 2480-2489.

[18] 王楠, 高静, 岳正刚, 等. 黄芪种子萌发对光温条件和旱盐胁迫的响应特征 [J]. 中国中药杂志, 2019, 44(12): 2444-2451.

[19] Vicente M J, Martínez-Díaz E, Martínez-Sánchez J J, *et al*. Effect of light, temperature, and salinity and drought stresses on seed germination of *Hypericum ericoides*, a wild plant with ornamental potential [J]. *Sci Hortic*, 2020, 270: 109433.

[20] 闫兴富, 刘建利, 贝盏临, 等. 不同光强条件下柠条锦鸡儿的种子萌发和幼苗生长特征 [J]. 生态学杂志, 2015, 34(4): 912-918.

[21] 胡云, 赵淑文, 李明, 等. 等渗 NaCl 和 PEG 胁迫对黄芩种子萌发的影响 [J]. 分子植物育种, 2022, 20(10): 3402-3408.

[22] Chu L, Gao Y P, Chen L L, *et al*. Impact of environmental factors on seed germination and seedling emergence of white clover (*Trifolium repens* L.) [J]. *Agronomy*, 2022, 12(1): 190.

[23] 黎言言, 林玲, 王国严, 等. 藏东南 5 种菊科植物种子萌发对温度和光照的响应 [J]. 高原农业, 2022, 6(2): 130-137.

[24] 许静, 李文龙, 吴鑫悦, 等. 青藏高原高寒草甸种子萌发行为沿海拔梯度的分异特征 [J]. 草地学报, 2021, 29(S1): 10-18.

[25] 张敏, 朱教君, 闫巧玲. 光对种子萌发的影响机理研究进展 [J]. 植物生态学报, 2012, 36(8): 899-908.

[26] 乐靖宇, 冯金慧, 刘瑞曦, 等. 皱叶酸模种子萌发对光照和温度的响应 [J]. 湖北民族大学学报: 自然科学版, 2021, 39(3): 241-245.

[27] 唐卫东, 魏林源, 马全林, 等. 不同因素对沙蓬种子萌发和出苗的影响 [J]. 西北林学院学报, 2017, 32(3): 156-161.

[28] 尹翠云, 王云强, 张丽霞, 等. 傣百解种子萌发特性研究 [J]. 种子, 2020, 39(11): 63-66.

[29] 闫兴富, 周立彪, 思彬彬, 等. 不同温度下 PEG-6000 模拟干旱对柠条锦鸡儿种子萌发的胁迫效应 [J]. 生态学报, 2016, 36(7): 1989-1996.

[30] 安衍茹, 彭亮, 王媛媛, 等. PEG-6000 引发对人工诱导老化的远志种子发芽活力影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(17): 47-53.

[31] Bhutto T A. Evaluation of wheat varieties to salt stress (NaCl) for seed germination and early seedling growth under laboratory conditions [J]. *Pure Appl Biol*, 2018, 7(4): 8-15.

[32] Han Y X, Hou Z N, Zhang X M, *et al*. Important changes in germination, seedling tolerance, and active components content due to drought stress on three licorice (*Glycyrrhiza*) species [J]. *Ind Crops Prod*, 2022, 175: 114240.

[33] Yi F Y, Wang Z R, Baskin C C, *et al*. Seed germination responses to seasonal temperature and drought stress are species-specific but not related to seed size in a desert steppe: Implications for effect of climate change on community structure. [J]. *Ecol Evol*, 2019, 9(4): 263-272.

［责任编辑　时圣明］