



北柴胡种子生物学研究进展

姚入宇¹, 陈兴福^{1*}, 邹元锋¹, 杨兴旺², 张宝林¹, 杨尧²

(1. 四川农业大学农学院, 四川 温江 611130;

2. 四川德培源中药科技开发有限公司, 四川 绵阳 621000)

[摘要] 北柴胡是我国常用的大宗药材之一,具有良好的开发前景,近年来对其胚胎学及种子生物学的研究取得很大进展。作者综述了北柴胡的胚胎发育、果实形成、种子休眠特性、贮藏特性和萌发特性等内容,总结其种子萌发率低的原因和萌发条件改良所取得的成果,以期为北柴胡种子生理的深入研究提供参考。

[关键词] 北柴胡;胚胎学;种子;休眠;萌发

柴胡药用历史悠久,始载于《神农本草经》,列为上品,具有抗炎、抗菌、解热、镇静、镇痛、镇咳、解表升阳等多种功效,是治疗少阳证的首选药物,《中国药典》(2010年版)收录的柴胡仅为北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡 *B. scorzonerifolium* Willd. 的干燥根。随着人类回归自然的理念的深化与世界植物药市场一体化的进程,野生柴胡早已不能满足国内外需求,人工栽培的柴胡市场前景良好。不少学者在北柴胡的成分分析与质量评价^[1-2]、成分提取工艺^[3]、品种选育^[4]等方面成果丰硕,然而北柴胡种子繁殖效率低,仍然是限制其大规模栽培的最主要因素。

为了解决生产中的实际问题,实现柴胡药材的规模化、规范化人工栽培,众多科研工作者集中于胚胎和果实发育、种子后熟生理及高效萌发技术进行了探索。本文对近年来北柴胡果实发育及种子生物学特性研究作一综述,可为北柴胡种子生理的进一步研究提供参考。

1 北柴胡的果实发育

1.1 北柴胡的胚胎学研究

1.1.1 大孢子和雌配子的发育 北柴胡子房二室,各有一枚倒生胚珠(ovule),孢原细胞体积较大,直接发育为大孢子母细胞,大孢子母细胞进行减数分裂形成线形的大孢子四分体,珠孔端3个解体,合点端的大孢子发育成功能大孢子。功能大孢子细胞质逐渐液泡化,核向胚囊中央移动形成单核胚囊,胚囊发育属蓼型胚囊(polygonum type sac),形成7细胞8核成熟胚囊。陈莹通过石蜡切片显微技术和荧光显微技术观察,揭示了北柴胡胚珠、大孢子、雌配子的发育过程,发现北柴胡雌配子发育过程中存在多细胞孢原现象的证据——

双四分体,并观察到珠心座(podium)的形成^[5],该结构在同科植物当归中有报道^[6]。可见柴胡大孢子发育既有典型的蓼型胚囊特征,又有伞形科植物多细胞孢原现象和珠心座的特殊结构。

1.1.2 小孢子及雄配子发育 北柴胡的花药壁发育类型为双子叶型,绒毡层细胞大小、形态均匀一致,属于腺质绒毡层(glandular tapetum),小孢子母细胞减数分裂为同时型,四分体正四面体型,形成三细胞型的成熟花粉,与伞形科植物胚胎学特征基本一致^[5,7-8]。杨成民等^[9]首次报道了北柴胡具有雄性不育的特征,指出绒毡层异常导致了花粉败育。北柴胡花两性,同一朵花中雄蕊先成熟,花粉散出时,柱头仍未伸出,而柱头伸出时,花药大多已经脱落;单花从露瓣到凋谢需要13~16 d,有限花序,整个花序的开花期平均为30~35 d^[5]。这些特性为北柴胡的异花授粉创造了条件,然而后期发育的雌蕊不易授粉,因此也成了柴胡种子减产的原因。

1.1.3 胚和胚乳的发育 北柴胡胚的发育属于典型的茄型,胚柄不参与胚体的形成,核型胚乳(nuclear endosperm)。陈莹等对采收的果实做石蜡切片,发现仅有10%发育到鱼雷胚,另有70%的心形胚、20%的球形胚,胚率(胚长/胚乳长)小,萌发困难^[10]。可见北柴胡种子存在明显的形态后熟,采收后绝大部分种子未发育成熟,种子成熟度的参差不齐造成了发芽率低、出苗时间不一致、种苗质量差异大等问题,不利于田间管理,成为柴胡种植的技术瓶颈。

1.1.4 种皮和果皮的发育 在原胚时期北柴胡的子房壁包括多层细胞,从外向内可以分为外表皮细胞、多层薄壁细胞和1~2层长形薄壁细胞。北柴胡果实发育成熟时,外表皮细胞发育为外果皮,子房壁发育为果皮,多层薄壁细胞发育为中果皮,中果皮内相间排列着分泌道和维管束,而1~2层长形细胞发育为内果皮,细胞壁木质化^[5]。果皮与种皮紧密连接,成为种子的抵御外界不良环境的天然屏障,另一方面,这种结构使种皮牢牢包被于种子外,而种皮内含有发芽抑制物^[11],不利于种子萌发。

[稿件编号] 20110421015

[基金项目] 国家星火计划项目(2010GA810056)

[通信作者] * 陈兴福,教授,博士生导师,主要研究方向为川产道地及特色药材生理生态与栽培, Tel: (028) 86290970, E-mail: chenxf64@sohu.com

[作者简介] 姚入宇,硕士研究生, E-mail: yry0255@126.com



1.2 北柴胡的果实形态与化学成分

1.2.1 果实的形态 北柴胡果实是由两心皮组成的分果(schizocarp),又叫双悬果(cremocarp),据《中国植物志》记载,该果实为广椭圆形,棕色,两侧略扁,长约3 mm,宽约2 mm,棱狭翼状,淡棕色,每棱槽油管3个,很少4个,合生面4条。

1.2.2 果实化学成分 北柴胡果实中贮藏物主要为脂类、淀粉、蛋白质^[5],还含有挥发油^[12],主要贮藏于胚乳中,内源抑制物以香豆素为主^[10]。豆红强的研究表明,北柴胡果实中主要含有棕榈酸、硬脂酸、油酸和亚油酸4种脂肪酸,粗脂肪含量随着北柴胡果实的发育逐渐升高,到成熟后含量最高;而可溶性糖的含量逐渐降低,淀粉和可溶性蛋白质的含量在果实发育的早期阶段逐渐升高,在果实成熟的后期呈现一定的下降趋势^[11]。可见,北柴胡果实成熟期可溶性糖先转化为淀粉,在果实发育进程中糖类又在不断地转化成脂类成分,到成熟后期大部分贮藏物已经转化为脂肪贮存在果实中。北柴胡果实油管结构发达,果实富含挥发油,刘玉华等^[12]采用GC-MS法从北柴胡果实挥发油中分离鉴定了51种物质,主要是萜类和脂肪族化合物,与柴胡根的挥发油相似。生物鉴定法证实北柴胡果实中内源抑制物以香豆素为主,含量在子房膨大期较高,到球形胚时期逐渐降到最低,之后迅速升高,当发育到鱼雷胚时香豆素含量最高^[11]。内源抑制物具有抑制种子萌发的生物效应,北柴胡果实中内源抑制物的存在是导致其萌发率低的又一大因素。

2 北柴胡种子生物学特性

2.1 种子的休眠特性

北柴胡种子采收后胚未发育完全,即使在适宜的环境下仍不能萌发,具有胚休眠(embryo dormancy)特性。魏建和等研究不同成熟度的北柴胡和三岛柴胡种子的萌发情况表明,种子成熟度差是柴胡种子萌发率低和出苗率低的重要原因之一^[13]。种子成熟度表征种胚的发育程度,胚的发育程度越高,种子的萌发率和出苗率越高。柴胡种子休眠的另一个原因是种皮内含有的发芽抑制物。魏建和等首先排除种皮吸水 and 气体交换障碍、机械障碍,发现去除种皮后种子发芽率均有明显提高^[13],说明柴胡种子含有发芽抑制物,并且定位于种皮中。

2.2 种子的贮藏特性

北柴胡种子不耐贮藏,隔年种子极其不易萌发,属于短命种子。潘安中等研究表明存放不到2 a的北柴胡种子发芽率已经很低,仅为6.67%,随着贮藏时间的增加,发芽率下降趋势明显^[14]。他们还发现SOD,POD 2种抗氧化酶活性与种子发芽率正相关,可见在贮藏过程中,柴胡种子有可能因为受到氧化损伤,逐渐丧失生命力。另有研究表明,柴胡种子贮藏的适宜含水量为5.82%~4.85%,柴胡种子含水量在此最适范围内贮藏经人工老化后,浸出液最少,POD酶活性高,脱氢酶活性相对下降最少,种子发芽率和生活力能够保持较

高状态,有利于长期保存和利用^[15]。由以上研究可知,北柴胡种子发芽率与抗氧化酶的活性相关,而贮藏时间和含水量都是影响其抗氧化酶活性的因素,至于贮藏时间与含水量之间的关系以及它们影响抗氧化酶活性的机制,有待进一步研究。

2.3 种子的萌发特性

北柴胡种子由于存在胚休眠和内源抑制物,自然状态下萌发率低,一般仅为30%~50%,而且发芽时间长,出苗不整齐,是生产管理中的难题。为了解决这些问题,科研工作者多点出发进行了大量探索,并取得丰硕成果,以下归纳了近年来提高北柴胡种子萌发率的处理方法和萌发过程中种子内物质转变的研究结果。

2.3.1 发芽温度对北柴胡种子萌发的影响 北柴胡种子发芽的适宜温度为20,30℃时发芽受到严重抑制,但该抑制可用变温解除,变温15~25℃或20~30℃较恒温显著提高萌发率,萌发启动天数变化规律与萌发率相似^[16];胡小荣等报道柴胡种子发芽最适温度为20~30℃变温,恒温中发芽喜偏低温15~20℃^[17];另有研究表明,夜温16~20℃,日温24~28℃对北柴胡种子萌发有明显的促进作用^[18]。由上述研究可知,适宜的变温条件可有效提高北柴胡种子的萌发率,若是恒温发芽,则以20℃为宜。实现将适宜发芽温度处理技术与生产实践配套使用,将有效提高大田种植北柴胡种子的萌发率,然而大田温度条件不易控制,因此温度处理技术在种植中的应用有待进一步研究。

2.3.2 温水浸种对北柴胡种子萌发的影响 胡继鹰等研究表明,用40℃温水和GA₃预处理种子不仅能显著提高北柴胡的出苗率,而且能明显提早出苗和促进生长,提高药材产量,认为浸种主要是使种子充分地吸收水分,利于萌发^[19];雷燕妮观察了不同水温浸种24 h后柴胡种胚的解剖形态,发现40℃温水浸种的种胚吸水情况良好,胚占胚腔的比例达到41.22%,而20℃处理仅为17.30%^[20],可见40℃温水浸种利于北柴胡萌发的吸胀阶段种胚吸水。吸胀吸水是萌发的第1步,快速充分吸水的北柴胡种子种胚细胞活化快,能适应萌发过程内部生理变化需要,从而有效提高萌发率。

2.3.3 电磁辐射对北柴胡种子萌发的影响 适当微波辐射能够提高柴胡种子的萌发率,于晓艳等采用家用微波炉处理北柴胡种子25 s后萌发率达到77%,而对照仅40%~50%^[21];超声波处理也能明显提高北柴胡的萌发率^[22]。电磁辐射能提高分子运动能量,分子运动速度加快,使种子内部处于休眠状态的成分被激活而转化为活跃状态,促进萌发,还能增强作物的抗逆能力。

2.3.4 种皮损伤对北柴胡种子萌发的影响 北柴胡种子的种皮虽对其水分吸收和气体交换无阻碍^[13],但种皮中存在发芽抑制物,因此,损伤北柴胡种子的种皮能够减少抑制效应,使其萌发率提高。郝建平研究表明,损伤种皮可使种子萌发率提高20%,并且大幅缩短种子的萌发时间^[23]。



2.3.5 沙藏处理对北柴胡种子萌发的影响 沙藏处理能给种子一种机械的刺激,使其内部的构造发生变化,较迅速地完成形态后熟,从而转为可萌发状态。据葛淑俊等报道,沙藏处理10 d后可以使柴胡种子比对照提前8 d萌发,萌发率由30%提高到43.5%,出苗率由13.5%提高到24.5%^[24]。由此可知,沙藏对促进柴胡种子萌发的效果明显。

2.3.6 低温贮藏对北柴胡种子萌发的影响 杨成民等发现经低温(0~4℃)处理8星期的北柴胡种子胚长度增长至对照的3倍,且比对照的发芽势高^[16],朴锦等采用4℃贮藏并以GA₃处理柴胡种子发芽率高达80.0%^[25],可见低温对北柴胡的种胚发育及种子发芽有明显的促进作用,能缓解种子的胚休眠,提高种子萌发率,其机制有待进一步研究。

2.3.7 化学药剂处理对北柴胡种子萌发的影响 常用作柴胡种子处理的药剂有KMnO₄、H₂O₂和聚乙二醇(PEG),效果良好。雷燕妮证明用1%的KMnO₄处理对种胚的发育有促进作用^[20],徐丽霞等用此法处理得到高达82%的发芽率^[26]。KMnO₄具有抑菌效果,也可能是它的氧化性破坏了柴胡果实的外皮,从而有利于种子吸胀,促进萌发。3%的H₂O₂处理也能使北柴胡种子发芽率有明显提高,效果次于1%的KMnO₄溶液处理^[26]。PEG常用作种子引发剂,可延长种子萌发的吸胀期,张慧玲报道用PEG600浸泡种子,不同浓度处理均能提高种子发芽率,其中以5%的PEG600浸种处理最佳,发芽率为75%^[27]。

2.3.8 植物激素对北柴胡种子萌发的影响 植物激素如GA₃、6-BA等常用于打破种子休眠,孟祥才等对狭叶柴胡的研究结果表明其对于贮存20 d的种子具有提高发芽率的作用,而对于室内经过5个月贮藏的种子则表现出相反的结论,而且随浓度的升高,发芽率有降低的趋势^[28],对北柴胡而言,郝建平报道GA₃和6-BA对其萌发无明显作用^[23]。由此可知,GA₃和6-BA能够打破新鲜柴胡种子的休眠,对贮藏过的种子却无明显作用,其作用机制有待深入探索。但是柳枝浸出液作为天然的萌发剂,含有生长素和水杨酸,配合40℃温水浸种、流水冲洗、微波辐射可提高发芽率,并能为生产所使用^[21]。

2.3.9 北柴胡种子萌发过程中物质变化 可溶性糖在北柴胡种子萌发阶段呈总体下降趋势,淀粉酶活性总体上升,与种子萌发的吸胀期对应,前6 d快速吸水期,水分增加导致可溶性糖含量减少;滞缓期种子维持重量,此时进行细胞活化与修复,直到12 d,可溶性糖基本维持不变;萌后期后可溶性糖迅速下降,以维持种子呼吸消耗以及合成新细胞所需的物质和能量^[29]。氨基酸的变化总体呈现先升高再降低的趋势,在萌发0~6 d氨基酸含量迅速升高,6 d以后迅速降低,这种变化对柴胡种子的萌发是有利的;蛋白质含量呈现先降后升的趋势,早期的贮藏蛋白分解而新蛋白合成水平低,蛋白质降低;滞缓期之后新蛋白大量合成、细胞迅速生长,种子蛋白含量升高^[30]。由此可知,北柴胡种子萌发过程中,首

先淀粉酶活化,催化淀粉转化为可溶性糖供新组织生长的物质和能量需求,同时合成氨基酸,形成种子萌发所需的蛋白质,种子总蛋白增加。

3 结语

综上所述,北柴胡种子具有胚休眠特性,种皮中含有内源抑制物,种子成熟度不一致,是其萌发率低、出苗不整齐的原因,且不耐贮藏,属于短命种子,给大规模规范化种植带来了难题,有待通过研究解决。建议把握以下4点做深入探讨:打破胚休眠是提高北柴胡种子萌发率的根本,后期研究应重视其后熟理论与技术研究,构建能促进胚采后发育的贮藏技术体系;内源抑制物的存在不利于种子萌发,优化去除内源抑制物的工艺也是研究的重点;选育优良品种,以优良的种子成熟度为选育目标,从种质上提高种子萌发质量;此外,目前研究集中在种子萌发的室内条件筛选,而大田环境条件难以控制,因此建立与生产配套的种子高效萌发技术体系,是将现有成果为生产实践所应用的关键。

【参考文献】

- [1] 朱再标,梁宗锁,杨东风,等. 北柴胡药材质量分析与评价[J]. 中国中药杂志,2008,33(5):586.
- [2] 耿茂林,宋萍萍,徐增莱,等. 不同种质来源柴胡地上部分的HPLC比较研究[J]. 中国中药杂志,2010,35(5):574.
- [3] 肖功胜,杨云,孙维英,等. 柴胡有效成分提取工艺的研究[J]. 时珍国医国药,2009,19(8):1829.
- [4] Zhu Zaibiao, Liang Zongsuo, Han Ruilian, et al. Growth and saikosaponin production of the medicinal herb *Bupleurum chinense* DC. under different levels of nitrogen and phosphorus[J]. Ind Crops Prod, 2009, 29(2):96.
- [5] 陈莹. 北柴胡胚胎学研究[D]. 西安:西北大学,2007.
- [6] 张满朝,王耀芝,丁惠宾. 当归的胚胎学研究[J]. 兰州大学学报:自然科学版,1991,27(2):193.
- [7] 王艳杰,申家恒. 柴胡大、小孢子发生及雌、雄配子体发育[J]. 植物学通报,2007,24(3):425.
- [8] 陈莹,蔡霞,胡正海,等. 北柴胡大小孢子发生和雌雄配子体发育的研究[J]. 西北植物学报,2007,27(6):1134.
- [9] 杨成民,于婧,魏建和,等. 北柴胡雄性不育特点及败育细胞学途径[J]. 中国中药杂志,2010,35(24):3246.
- [10] 陈莹,蔡霞,胡正海,等. 北柴胡胚和胚乳的发育及对其种子萌发的影响[J]. 植物研究,2008,28(1):14.
- [11] 豆红强. 狭叶柴胡胚胎学及北柴胡果实发育过程中贮藏物含量变化的研究[D]. 西安:西北大学,2010.
- [12] 刘玉法,阎玉凝,刘云华,等. 柴胡果实挥发油成分的GC-MS分析[J]. 中草药,2005,36(5):671.
- [13] 魏建和,李昆同,程惠珍,等. 种子成熟度及种皮对北柴胡和三岛柴胡种子萌发的影响[J]. 中国中药杂志,2003,28(7):614.
- [14] 潘安中,谢树莲,秦雪梅. 不同年份柴胡种子SOD、POD活性与发芽率的测定[J]. 天津中医药,2008,25(3):243.
- [15] 杨艳芳,付尧,魏建和,等. 不同含水量对柴胡种子生活力的



- 影响[J]. 种子, 2009, 28(4):41.
- [16] 杨成民, 曹海禄, 魏建和, 等. 发芽温度及种质对柴胡种子萌发的影响[J]. 中草药, 2007, 38(3):426.
- [17] 胡小荣, 孙雨珍, 陈辉, 等. 柴胡种子发芽条件及 TTC 生活力测定方法的研究[J]. 种子科技, 1998(3):28.
- [18] 黄汉津, 刘新裕. 柴胡种子发芽势之改良研究[J]. 中华农业研究, 1987, 36(3):258.
- [19] 胡继鹰, 张正磷, 何德刚. 柴胡种子处理对发芽及生长的影响[J]. 中药材, 2004, 27(8):553.
- [20] 雷燕妮. 北柴胡种子萌发的生物学特性[J]. 商洛学院学报, 2008, 22(2):53.
- [21] 于晓艳, 于辉, 任亚超. 北柴胡和狭叶柴胡的萌发试验研究[J]. 现代医学进展, 2009, 9(20):3962.
- [22] 董汇泽, 杨君丽. 超声波 + 赤霉素处理促进柴胡种子萌发[J]. 中国种业, 2007(11):57.
- [23] 郝建平, 徐笑飞, 杨东方, 等. 北柴胡快速繁殖及种子萌发条件研究[J]. 中草药, 2008, 39(5):752.
- [24] 葛淑俊, 孟义江, 甄瑞, 等. 不同处理方法对柴胡种子萌发的影响[J]. 中国农学通报, 2006, 22(4):178.
- [25] 朴锦, 邵天玉, 吕龙石. 不同贮藏法和处理法对长白山区柴胡种子发芽率的影响[J]. 延边大学农学学报, 2007, 29(1):27.
- [26] 徐丽霞, 杨新根, 杨东方, 等. 北柴胡种子发芽条件研究[J]. 山西农业科学, 2008, 36(10):23.
- [27] 张慧玲. 植物生长物质对柴胡产量及品质的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006.
- [28] 孟祥才, 孙晖, 颜丙鹏, 等. 狭叶柴胡种子发芽特性研究[J]. 种子, 2008, 27(2):63.
- [29] 陶贵荣, 齐建红, 张金芳. 柴胡种子在萌发过程中淀粉酶和可溶性糖的变化初步研究[J]. 西安文理学院学报: 自然科学版, 2009, 12(1):34.
- [30] 陶贵荣, 齐建红, 田佩, 等. 柴胡种子在萌发过程中氨基酸和蛋白质变化的初步研究[J]. 西安文理学院学报: 自然科学版, 2008, 11(3):20.

Advances of studies on seed biology of *Bupleurum chinense*

YAO Ruyu¹, CHEN Xingfu^{1*}, ZOU Yuanfeng¹, YANG Xingwang², ZHANG Baolin¹, YANG Yao²

(1. Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Wenjiang 611130, China;

2. Sichuan Depeiyuan Traditional Chinese Medicine Technology Development Co., Ltd., Mianyang 621000, China)

[Abstract] *Bupleurum chinense* is a commonly used Chinese medicinal material, which has been used medicinally in China for over 2 000 years, the development of it is of great value. There have been great advances of studies on its embryology and seed biology in recent years. In this paper, we make a review of the growth of its embryo and fruit, the characteristics of dormancy and storage and the germination of its seed. Besides, we summarize the reasons of its low germination rate and the achievements in improving the situation, for the purpose of providing reference in research on seed physiology of *B. chinense*.

[Key words] *Bupleurum chinense*; embryology; seed; dormancy; germination

doi:10.4268/cjcm20111726

[责任编辑 吕冬梅]