• 药材与资源 •

发芽温度及种质对柴胡种子萌发的影响

杨成民¹, 曹海禄^{1,2}, 魏建和^{1*}, 陈士林¹, 黄忠伟¹, 李梅君¹, 李先恩¹, 程惠珍¹

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 贵州大学林学院, 贵州 贵阳 550025)

摘要:目的 阐明柴胡种质、发芽温度对柴胡种子萌发的影响。方法 中柴 1 号(ZC)、三岛柴胡(SD)、山西柴胡(SX)、甘肃柴胡(GS)4 种柴胡种子在 15、20、25、30、15~25、20~30 ℃ 的光照培养箱中发芽。结果 恒温发芽, 20 ℃ 种子萌发率高于 15 ℃, 20~25 ℃ 迅速下降, 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 ℃ 较恒温显著提高了萌发率, 萌发启动天数变化规律与萌发率相似; 发芽适温下 ZC 种子萌发快、萌发集中、萌发率高; 不同柴胡种子萌发对发芽温度反应显著不同, ZC 对恒定低温、高温及变温均能较好适应, SD 萌发性能与 ZC 相似, SX 与 GS 相似。结论 发芽温度、种质对柴胡种子萌发均有显著影响, 且二者存在显著互作效应; ZC 种子具有优良萌发性能。

关键词:柴胡; 种子; 萌发; 发芽温度; 种质

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)03-0426-04

Effect of germinating temperature and germplasms on germination of *Radix Bupleuri* seeds

YANG Cheng-min¹, CAO Hai-lu^{1,2}, WEI Jian-he¹, CHEN Shi-lin¹, HUANG Zhong-wei¹,

LI Mei-jun¹, LI Xian-en¹, CHENG Hui-zhen¹

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China; 2. Forestry College of Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Objective To investigate the influence of germplasms and temperature on the germination of *Radix Bupleuri* seeds. **Methods** Seeds of four types of *Radix Bupleuri*, ig, *Zhongcai Radix Bupleuri* (ZC), *Sandao Radix Bupleuri* (SD), *Shanxi Radix Bupleuri* (SX), and *Gansu Radix Bupleuri* (GS), were respectively put in the artificial climate incubator at various temperatures (15, 20, 25, 30, 15—25, and 20—30 ℃) to germinate. **Results** In constant temperature, the germination rate of *Radix Bupleuri* seeds was higher at 20 ℃ than at 15 ℃, and then it dropped quickly at 25 ℃. The inhibition on germination was prominent at 30 ℃, which was relieved by alternant temperatures. Germination rates at 15—25 ℃ and 20—30 ℃ were significantly higher than that at constant temperature. The effect of temperature on the germination start-up days was similar with that on germination rate. ZC Possessed the fast and centralized germinating characteristics with higher germination rate. Various types of *Radix Bupleuri* seeds had different germinating reaction on the temperatures. Among them, ZC had a good germinating adaptation to low or high constant temperatures, and alternant temperatures as well. The germinating performance of SD was similar with that of ZC, and that of SX and that of GS was also alike. **Conclusion** There is significant influence of temperatures and germplasms on the germination of *Radix Bupleuri* seeds, and there is also remarkably interactive effect between them. The seeds of ZC have excellent germinating characteristics.

Key words: *Radix Bupleuri*; seeds; germinating; germinating temperature; germplasm

柴胡为和解表里、疏肝升阳的常用大宗药材。《中国药典》2005 年版收载了柴胡(北柴胡) *Bupleurum chinense* DC. 和狭叶柴胡(南柴胡、红柴胡) *B. scorzoneriifolium* Willd. 两个种^[1]。三岛柴胡

B. falcatum L. 主产日本, 已引入我国栽培多年。当前, 我国野生柴胡资源日趋减少, 全国各地正积极开展北柴胡的家种栽培^[2,3], 山西、甘肃等地已形成规模化种植基地。2003 年笔者在发现浅休眠种质的基

收稿日期: 2006-05-14

基金项目: 国家十五科技攻关计划资助项目(2001BA701A59); 北京市科技新星计划资助项目(2004A60); 国家中医药管理局专项资助项目(2004ZX06-3); 国家中药材生产扶持资金项目

* 通讯作者 魏建和 Tel: (010)62818841 E-mail: wjianh@263.net

基础上培育出了北柴胡新品种中柴 1 号(ZC),并对其种子的休眠特点、生长特性和质量^[4,5]等开展了研究。北柴胡种子休眠和萌发特点的研究很多^[6,7],萌发的温度要求等也有研究^[8],但不同柴胡种质的萌发特点及对萌发温度的要求尚缺乏清晰的结论。为此开展了种质和发芽温度对柴胡种子萌发影响的研究,获得了一些很有意义的结果,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料:来源于我国主要柴胡栽培产区,2004 年秋季收集当年新产柴胡种子,过筛、风选后测定种子生活力(TTC 法),见表 1。

表 1 用于实验的柴胡种子来源及生活力

Table 1 Source and viability of *Radix Bupleuri* seed used in experiment

代号类型或品种	来源植物	学名	种子产地	生活力/%	
ZC	中柴 1 号	北柴胡	<i>Bupleurum chinense</i>	陕西榆林	99
SX	山西柴胡	北柴胡		山西新绛	97
GS	甘肃柴胡	银州柴胡	<i>B. yinchowense</i>	甘肃陇西	97
SD	三岛柴胡	三岛柴胡	<i>B. falcatum</i>	北京药用植物研究所	94

种子来源物经中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所宋万志研究员鉴定

Seed used in experiment were identified by Song Wan-zhi in Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences

1.2 发芽方法:采用透明有机玻璃发芽盒(长 11.5 cm,宽 11.5 cm,深 4.8 cm,带盖),盒内底部垫 1 cm 厚海绵,上铺 2 层滤纸作为培养床。发芽箱为南京恒裕电子仪器厂 GZP—250A 型光照培养箱,自然光照。发芽温度共 6 个处理:恒温 15、20、25、30 ℃、变温 15~25 ℃(25 ℃ 8 h,15 ℃ 16 h)、20~30 ℃(30 ℃ 8 h,20 ℃ 16 h)。每处理 6 次重复(SD4 重复),每重复 100 粒种子。种子经自来水冲洗 10 min 后,置床,放入培养箱发芽。萌动后每日记录萌动种子数(胚根长≥2 mm 时记为萌发),观察至第 35 天。

1.3 恒定高温抑制发芽解除试验:种子置培养箱第 51 天时,将 30 ℃箱中的新鲜未萌发种子按重复分为 2 组,每组 3 个重复(发芽盒),1 组仍置于 30 ℃箱发芽,另 1 组转移至 20~30 ℃(30 ℃ 8 h,20 ℃ 16 h)箱发芽,第 72 天统计种子萌动情况。

1.4 萌发率计算:为矫正置箱时不同种质种子生活力差异对萌发率的影响,最终用于统计分析的萌发率(%)=萌发种子数/(置箱种子数×生活力)。

1.5 数据分析:方差分析采用 SPSS 分析软件中 ANOVA 法。

2 结果与分析

方差分析结果表明发芽温度、种质类型对柴胡种

子的萌发率、萌发启动天数等均有极显著的影响,且发芽温度×种质类型间存在极显著的互作。其中种质类型对柴胡种子萌发率影响最大,占总变异的 51.5%。

2.1 发芽温度对柴胡种子萌发的影响

2.1.1 对萌发率的影响:恒定发芽温度下(表 2,图 1-A),从 15 ℃升至 20 ℃,柴胡种子的萌发率增加(SX 达显著水平);温度继续升高(25 ℃),萌发率下降;升至 30 ℃时,萌发率继续下降,显著低于 20 ℃的萌发率,SX、GS 甚至无一粒种子萌动。4 个恒温下除 ZC 外,其他柴胡种子的萌发率均低于 50%,GS 甚至低于 10%。结果表明恒温不利于柴胡种子的萌发(ZC 除外),且高温抑制其萌发。

与恒定发芽温度比较,采用 15~25 ℃或 20~30 ℃变温处理(表 2),能显著促进柴胡种子的萌发,SD、SX、GS 萌发率均在相应恒温(高温)基础上增加 50%以上。这表明柴胡种子非常适合在变温环境下萌发。

表 2 发芽温度对 4 种柴胡种子萌发率(35 d)的影响

Table 2 Effect of germinating temperature on germination rates (35 d) of four *Radix Bupleuri* seeds

发芽温度/℃	ZC	SD	SX	GS
15	93.8a	44.7b	14.9c	6.2b
20	95.5a	45.2b	32.3b	6.0b
25	91.9a	39.1bc	25.1b	1.5b
30	74.7b	20.7c	0.0d	0.0b
15~25	94.8a	93.9a	77.0a	54.6a
20~30	94.6a	89.1a	76.3a	65.5a

表中同列数字后的字母表示同一种质在不同发芽温度下萌发率的差异显著性测定结果(5%显著水平,采用修正最小显著差异法检测),凡有一个相同标记字母的即为差异不显著,凡没有相同标记字母的即为差异显著(下同)。

Letters after numbers of same line in Table 2 show seed germination rates measured in various temperatures are significantly different (5% significant level, LSDMCD), It is not significant difference with having any of same letters, while it is significant difference without having any of same letters

图 1 4 种柴胡种质种子萌发率(A)及萌发启动天数(B)对温度的响应曲线(35 d)

Fig. 1 Response curve of germination rates (A) and start-up days (B) of four *Radix Bupleuri* seeds to temperatures (35 d)

在恒定高温下(30 ℃),萌发受到抑制的柴胡种子即使延长发芽时间(52~72 d),萌发率的提高也

不显著,但将该种子转入 20~30 ℃ 变温下发芽,发芽率均显著提高(ZC 有提高但不显著)(图 2)。特别是 GS、SX, 萌发率分别从 0.0%、7.5% 提高到 74.7%、68.8%。因此高温对柴胡种子萌发的抑制,保持高温不变,但只要一天当中给予一定时间的合适发芽低温,基本可以解除。这进一步表明变温有利于柴胡种子的萌发。

柱状图上字母不同表示同一种质萌发指标差异达 5% 显著水平,采用修正最小显著差异法检测

Letters on histogram in Fig. 2 show seed germination rates mensurated in various conditions are significantly different (5% significant level, LSDMCD)

图 2 4 种柴胡种子萌发率对恒定高温解除的响应

Fig. 2 Response of germination rates of four *Radix Bupleuri* seeds to disappearance of constantly high temperature

2.1.2 对萌发启动天数的影响: 萌发启动天数表示种子发芽的快慢。恒温下,不同温度对柴胡种子萌发启动天数的影响因种质而异。但基本变化趋势与温度对萌发率的影响相似: 20 ℃ 处理萌发启动天数少,种子萌发快,30 ℃ 处理种子萌发显著延后, SX、GS 种子第 35 天观察截止时尚无种子萌发。采用 15~25 ℃ 或 20~30 ℃ 变温处理,萌发启动天数均显著少于相应的恒温(高温)处理(ZC 不显著)(表 3,图 1-B)。数据表明恒定高温(25 ℃ 以上)会抑制柴胡种子萌发启动,甚至完全抑制萌发(30 ℃, SX、GS)。高温不变,给予适当低温则可以启动种子萌发。

表 3 发芽温度对 4 种柴胡种子萌发启动天数(35 d)的影响
Table 3 Effect of germinating temperature on germination start-up days (35 d) of four *Radix Bupleuri* seeds

发芽温度/℃	ZC	SD	SX	GS
15	8ab	10.5b	14.2c	11.2b
20	7.3b	8.8b	11c	15.8b
25	6.7b	9.3b	17.8b	30.3a
30	8.7a	16a	>35a	>35a
15~25	8ab	9b	11.8c	10.2b
20~30	8ab	9.5b	12c	13.7b

表中同列数字后的字母表示同一种质在不同发芽温度下萌发启动天数的差异显著性测定结果(5% 显著水平,采用修正最小显著差异法检测)

Letters after numbers of same line in Table 3 show seed germination start-up days mensurated in various temperatures are significantly different (5% significant level, LSDMCD)

2.2 种质对柴胡种子萌发的影响: 表 2、3 结果表明 20~30 ℃ 均适合 4 种柴胡种子萌发。在该发芽适温下, ZC 的萌发启动天数、萌发达 50% 天数最少,萌发率最高,置箱后 8 d 种子开始大量萌发,第 10 天时萌发率就超过了 50%, 35 d 时萌发率达 94.6%; 而 GS 置箱后 11 d 种子才开始萌发, 27 d 时萌发率才达到 50%, 35 d 的萌发率仅 65.5% (图 3-A、B、C)。因此 ZC 种子萌发速度快、萌发集中且萌发率高,休眠浅; GS 种子休眠较深,萌发慢、很不整齐、萌发率低。SD 种子萌发性能与 ZC 接近, SX 种子与 GS 相近。

柱状图上字母不同表示不同种质间萌发指标差异达 5% 显著水平,采用修正最小显著差异法(LSDMCD)检测

Letters on histogram in Fig. 3 show seed germination index mensurated between different germplasm are significantly different (5% significant level, LSDMCD)

图 3 萌发启动天数 (A)、萌发达 50% 天数 (B) 和萌发率 (C)

Fig. 3 Start-up days (A), days when germination rates reached 50% (B), and germination rates (C)

2.3 种质与发芽温度互作对柴胡种子萌发的影响: 不同柴胡种质类型对发芽温度的反应不同。从种子萌发率看(表 2), ZC 对高低恒温、变温均能很好适应,在低温(15 ℃)、高温(25 ℃)下的萌发率都超过了 90%,即使是 30 ℃ 的萌发率也达到 74.7%; 而 SD、SX、GS 种子则喜好在变温下发芽,且恒定高温对其萌发有严重抑制。

从萌发启动天数看(表 3), ZC 的所有温度处理都比较接近, SD 的各温度处理也较相近(只有 30 ℃ 显著延长了萌发启动天数 6~7 d),表现出对温度的较好适应; 但 SX、GS 种子的萌发启动天数则因发芽温度不同差异很大, GS 种子在 15 ℃ 时(恒温或变温),种子最易开始萌发。

3 讨论

3.1 柴胡种质间萌发的显著差异: 在以往关于柴胡种子休眠的众多研究中^[6-8], 均没有明确指出不同柴胡种质间萌发的差异,或研究只用了一种柴胡种质的种子。本实验采用我国目前生产上 4 种主流的栽培柴胡种质(ZC、SD、GS 和 SX)种子,用 15、20、25、30、15~25、20~30 ℃ 6 个发芽温度梯度,系统

地研究了柴胡种子的萌发特点。通过研究,第一次明确地指出了不同柴胡种质对发芽温度的反应,及在最适发芽温度下种子的萌发性能,且均有显著性差异。因此,柴胡种子的休眠或萌发特性不能一概而论,而是与种质密切相关的。

3.2 ZC 种子优异的萌发性能:本研究揭示了 ZC 种子具有优良的萌发性能,即萌发适应的温度范围宽,在高温(30 ℃)及低温(15 ℃)下均能较好萌发,而且具有萌发速度快、集中(置箱后 8 d 开始大量萌发,第 10 天萌发种子超过 50%)的特点,这非常有利于种子田间出苗,大大降低了苗期管理的难度(柴胡种子千粒质量 1.1~1.5 g,田间播种覆土不能超过 1.5 cm,长时间保证出苗期地表的潮湿有很大难度)。使用 ZC 种子基本解决了柴胡出苗难的问题。

3.3 柴胡种子萌发高温抑制低温(变温)解除特性:多年在北京、河北、山西、甘肃等地的柴胡播种出苗中观察到,6、7 月份播种的 SX、GS 柴胡种子在 7、8 月基本不萌发,至 8 月底或 9 月上中旬时才大量萌发出苗,而 ZC 种子在夏季也基本上能全部萌发。本

实验揭示出的 GS、SX 柴胡种子在高温时萌发受抑制,但当低温满足时能大量萌发,而 ZC 种子在高温也基本能萌发的特点充分地解释了该现象。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000.
 [2] Wang T P. Cultivation and management technology of *Bupleurum* L. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18 (4): 207.
 [3] Guo Z Y, Xia X J. Manual cultural technique of *Bupleurum chinense* [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 1993, 4 (4): 30.
 [4] Wei J H, Cheng H Z, Li K T, et al. Plant growth analysis of *Bupleurum chinense* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26 (8): 613.
 [5] Pan R L, Chen D H, Chen J M, et al. Determination of saikosaponin a and d in *Radix bupleuri* by RP-HPLC [J]. *Centr South Pharm* (中南药学), 2004, 2 (4): 198.
 [6] Yoshie M, Tadao H, Yasuo O T A, et al. Studies on the germination of seeds of *Bupleurum falcatum* L. N. The germination inhibitors of *Bupleurum falcatum* seeds [J]. *Proc Crop Sci Japan*, 1978, 47 (1): 25.
 [7] Wang X L, Wang W, Wang X Q, et al. Study on the biological nature of bamboo leaf therowax [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 1997, 19 (2): 54.
 [8] Chen Y. *Practical Technical Manual of Chinese Medicinal Materials Seed* (实用中药种子技术手册) [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 1999.

丹参不定根组织培养的研究(I)

培养基种类、盐强度和有机组分对丹参不定根培养的影响

郭肖红, 高文远*, 李克峰

(天津大学药物科学与技术学院, 天津 300072)

摘要:目的 研究培养基种类、盐强度和有机物对丹参 *Salvia miltiorrhiza* 不定根生长及其丹参酮 I_A 和原儿茶醛合成的影响。方法 利用组织培养技术结合 HPLC 手段,考察培养基种类、盐强度和有机物对丹参不定根生长和丹参酮 I_A、原儿茶醛量的影响。结果 通过考察 MS、LS、B₅、White 和 SH 培养基对丹参不定根培养的影响,综合考虑不定根生长速率和有效成分的量,确定 MS 为基本培养基。改变培养基盐强度发现,高盐强度利于不定根生长,低盐强度促进丹参酮 I_A 和原儿茶醛合成。MS 培养基 5 种有机物之间的相互作用对丹参不定根生长起很大作用;甘氨酸有利于丹参酮 I_A 的合成;仅缺少肌醇、甘氨酸、VB₁、VB₆ 其中一种时,原儿茶醛合成均受阻。结论 确定了丹参不定根悬浮培养的基本培养基为 MS,培养基盐强度和有机物处理对丹参不定根生长和次生代谢物合成有显著影响。

关键词:丹参; 培养基种类; 盐强度; 丹参酮 I_A; 原儿茶醛

中图分类号:R282.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2007)03-0429-04

Adventitious root culture of *Salvia miltiorrhiza* (I)—Effects of various media, salts intensity, and organic components on adventitious root culture of *Salvia miltiorrhiza*

GUO Xiao-hong, GAO Wen-yuan, LI Ke-feng

(College of Pharmaceuticals and Biotechnology, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Objective To study the effects of various media, salt intensity, and organic components on

收稿日期:2006-05-20

基金项目:国家 863 项目(2003AA2Z2040); 国家中医药管理局中医药科学技术研究专项(04-05ZP10)

* 通讯作者 高文远 Tel: (022)87401895 E-mail: pharimgao@tju.edu.cn