

北柴胡试管植株与种子植株生长发育性状比较

郝建平¹, 赵 瑒¹, 高可青¹, 周 琼¹, 王 梅¹, 赵玉臣²

1. 山西大学生命科学学院, 山西 太原 030006

2. 山西省药物培植场, 山西 绛县 043610

摘 要: **目的** 对北柴胡移栽试管植株和种子植株不同生长时期的遗传参数进行分析、比较, 为优质北柴胡育种方法的建立和筛选提供依据。**方法** 将试管植株移栽至大田中, 将相同类型的种子播撒至大田中。第二年植株返青后标记并对分蘖数、分枝数、叶片数、叶长、叶宽、拔节数、节间距、茎粗和、株高、花序数等性状值定时进行测量, 在种子成熟后采挖根并测量根长、根粗、根质量等药材性状指标。应用 SPSS 20.0 软件对数据进行统计学分析。**结果** 北柴胡移栽试管植株在不同生长期遗传参数的相对标准偏差均较小, 植株整齐一致, 个体差异小, 遗传性状稳定; 移栽试管植株在不同生长期各性状间的相关性与种子植株存在一定的差异; 与种子植株相比, 移栽试管植株的根产量和种子产量均具明显优势, 药材性状和质量比较均一。**结论** 北柴胡移栽试管植株的植物学和生药学性状优于种子植株, 植物组织培养技术是优良北柴胡种质选育的有效方法。

关键词: 北柴胡; 移栽试管植株; 种子植株; 遗传参数; 种质资源

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2013)20-2910-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.20.022

Comparison on main growth characters of test-tube plants and seeding plants in *Bupleurum chinense*

HAO Jian-ping¹, ZHAO Yang¹, GAO Ke-qing¹, ZHOU Qiong¹, WANG Mei¹, ZHAO Yu-chen²

1. School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

2. Cultivating Herbs Farm of Shanxi Province, Jiang County 043610, China

Abstract: Objective Analyzing hereditary parameters and comparing the test-tube plants population of *Bupleurum chinense* and seeding plants in different growing periods to provide the basis for building and screening out the right way to foster superior seeds of *B. chinense*. **Methods** The test-tube plants were transplanted into the croplands and the same type of seeds were sowed at the same time. Until the next year, after the reviving of the plants, the plants were marked and the timing measure on the data of number of tiller, number of branches, number of leaves, length of leaves, width of leaves, number of jointings, length of jointing, sum of stem thickness, plant height, and number of flowers was carried out. Then, the roots were dug up and the medical characters of the roots, for instance, length, degree of thickness, and weight of the roots were measured. Following that, the statistic analysis on the data was conducted by using the software of SPSS 20.0. **Results** The relative standard deviation values of test-tube plants population of *B. chinense* in diverse genetic characters were all relatively small. Moreover, plants were tidy, individual difference was tiny, and genetic characters were stable. In addition, the relevance of the characters of test-tube plants in various growing periods had some differences with the seeding plants. At last, compared with the seeding plants, the test-tube plants populations of *B. chinense* had more obvious superiority on the yield of roots and output of seeds. Additionally, the medicinal characters and quality were quite even. **Conclusion** Compared with the seeding plants, the test-tube plants population of *B. chinense* has the superior botanical and pharmacognosy characters. Moreover, plant tissue culture technique is an effective way to breed and enlarge the superior seeds of *B. chinense*.

Key words: *Bupleurum chinense* DC.; test-tube plants; seeding plants; genetic parameters; germplasm resource

北柴胡为伞形科柴胡属多年生草本植物, 以根入药, 是我国常用大宗中药材, 也是《中国药典》

2010年版规定的药用柴胡的原植物^[1]。北柴胡根中含有柴胡皂苷和挥发油等成分, 可发表和里、升阳

收稿日期: 2013-03-26

基金项目: 山西省科技攻关计划项目 (20100311091)

作者简介: 郝建平 (1959—), 男, 山西忻州人, 副教授, 理学硕士, 研究方向为植物生物工程。Tel: 13935168866 E-mail: jphao@sxu.edu.cn

解郁,临床上广泛应用于抑制流感病毒等症^[2-3]。近年来,国内外市场对柴胡药材的需求量不断增加。由于多年的无序采挖和生态条件的恶化,野生柴胡资源急剧减少,现在的市场供应以人工种植为主。然而,人工栽培中普遍存在种源混杂、产量不高、种子发芽率低等问题^[4-8]。因此,选育优良种质、建立规范化种植技术,已经成为提高柴胡药材质量和柴胡产业可持续发展中亟待解决的问题。

植物组织培养技术是优良种质提纯复壮、选育扩大的有效手段。本实验在建立北柴胡快速繁殖体系^[9]的基础上,通过对生长发育二年后的移栽试管植株与同类型的种子植株进行田间植物学性状的跟踪观察,分析、比较关键生长时期的各项生长参数,为北柴胡优良种质的选育和育种技术的建立提供方法和依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

北柴胡 *Bupleurum chinense* DC. 种子植株的种源是采集自山西省万荣县的人工栽培种,试管植株的起始材料为相同产地、相同类型植株的营养芽。由山西省药物培植场副场长赵玉臣主管中药师鉴定,标本现保存于山西省药物培植场药用植物标本室。

1.2 仪器

DENVER TP-3102 电子分析天平、游标卡尺、卷尺等。

2 方法

2.1 试管植株的培育与移栽

快速繁殖所得的试管植株经炼苗以后进行移栽,栽培密度为 10 cm×25 cm;种子植株由播撒至田间的种子萌发而得。种植场地为位于山西省绛县的山西省药物培植场试验地。

2.2 数据采集方法

在植株生长 1 年、次年返青后,将试验田由西向东平均分为 5 个小块,每个小块随机标记 10 株,定时(每隔 15 d 1 次)测量分蘖数、分枝数、叶片数、叶长、叶宽、拔节数、节间距、茎粗和、株高、

花序数等;在种子成熟后采挖根,测量根长、根粗、根质量等。

所统计的叶片数为发育正常的绿色叶片;所统计的花序数为正常坐果的花序;茎粗和为各分枝到分蘖节 10 cm 处茎粗的总和;分枝数为所标记分蘖枝的一级分枝数;株高和分蘖数的数据采集自所标记的植株。应用 SPSS 20.0 软件对数据进行方差及相关分析。

3 结果与分析

3.1 北柴胡营养生长期植株群体的主要遗传参数与性状间的相关性

3.1.1 移栽试管植株营养生长期的遗传参数和相关性 移栽试管植株营养生长期的主要性状的遗传参数见表 1。各种性状之间的相对标准偏差为分枝数<叶长<叶宽<拔节数<节间距<株高<茎粗和<分蘖数,其中分枝数、叶长、叶宽、拔节数的相对标准偏差为 4.721%、4.959%、6.697%和 7.000%,均小于 10%;相对标准偏差最大的为分蘖数,达到了 16.380%。由表 1 可知,移栽试管植株在营养生长期各种遗传性状的标准偏差均小于 20%,说明试管植株整齐一致,个体差异小,遗传性状稳定。

试管植株营养生长期主要性状的相关性见表 2。表中数据表明,叶片数与分枝数、株高与拔节数、株高与节间距呈显著正相关($P<0.05$),相关系数分别为 0.935、0.985 和 0.851;茎粗和与拔节数、株高与茎粗和呈显著负相关($P<0.05$),相关系数分别为-0.844 和-0.891,其他性状间的相关性不显著。

3.1.2 种子植株营养生长期的遗传参数和相关性 种子植株营养生长期主要性状的遗传参数见表 3。结果表明,叶长的相对标准偏差最小,为 7.804%;叶宽、拔节数、节间距、株高的相对标准偏差均小于 20%;分枝数、叶片数、茎粗和的相对标准偏差较大,叶片数的相对标准偏差最大,达到了 53.538%,是叶长的 6.86 倍。可见种子植株在营养生长期各种性状与相对标准偏差较大,说明种子植株在营养生长期个体差异较大,遗传性状不稳定。

表 1 北柴胡移栽试管植株营养生长期主要性状的遗传参数

Table 1 Genetic parameters of main characters of test-tube plants of *B. chinense* at vegetative growth phase

遗传参数	分蘖数	分枝数	叶片数	叶长 / cm	叶宽 / cm	拔节数	节间距 / cm	茎粗和 / cm	株高 / cm
平均值	15.800	54.000	518.600	8.691	0.881	29.600	3.550	1.280	85.540
标准差	2.588	2.549	62.316	0.431	0.059	2.073	0.228	0.164	8.763
RSD / %	16.380	4.721	12.016	4.959	6.697	7.000	8.113	12.813	10.244

表2 北柴胡移栽试管植株营养生长期主要性状间遗传相关系数

Table 2 Genetic coefficient of main characters of test-tube plants of *B. chinense* at vegetative growth phase

性 状	分蘖数	分枝数	叶片数	叶长	叶宽	拔节数	节间距	茎粗和	株高
分蘖数	1.000								
分枝数	0.406	1.000							
叶片数	0.502	0.935*	1.000						
叶长	0.033	-0.065	-0.250	1.000					
叶宽	-0.114	0.467	0.249	0.467	1.000				
拔节数	-0.172	0.734	0.607	-0.146	0.721	1.000			
节间距	-0.496	0.415	0.163	0.285	0.833	0.813	1.000		
茎粗和	0.498	-0.498	-0.322	0.262	-0.448	-0.844*	-0.787	1.000	
株高	-0.283	0.686	0.546	-0.170	0.689	0.985*	0.851*	-0.891*	1.000

* $P < 0.05$

表3 北柴胡种子植株营养生长期主要性状的遗传参数

Table 3 Genetic parameters of main characters of seeding plants of *B. chinense* at vegetative growth phase

遗传参数	分蘖数	分枝数	叶片数	叶长 / cm	叶宽 / cm	拔节数	节间距 / cm	茎粗和 / cm	株高 / cm
平均值	1.000	2.285	40.857	9.943	0.674	20.143	2.791	0.453	61.571
标准差	0	1.019	21.874	0.776	0.097	2.795	0.354	0.120	12.235
RSD / %	0	44.574	53.538	7.804	14.391	13.875	12.684	26.490	19.871

叶片数与分枝数、茎粗和与分枝数、株高与拔节数均呈显著正相关 ($P < 0.05$), 相关系数分别为 0.927、0.813 和 0.933; 茎粗和与拔节数呈显著负相关 ($P < 0.05$), 相关系数为-0.890; 其他性状间的相关性不明显。具体分析结果见表4。

3.2 北柴胡花期植株群体主要的遗传参数和性状间的相关性

3.2.1 移栽试管植株花期的遗传参数与相关性 移栽试管植株花期的分枝数、叶片数、拔节数、节间距、株高和花序数的相对标准偏差均小于 10%; 分

蘖数和茎粗和的相对标准偏差较大, 分别为 12.069% 和 16.759%, 其中茎粗和的相对偏差最大, 是相对标准偏差最小的株高的 6.288 倍; 移栽试管植株花期的各种性状相对标准偏差均小于 20%, 说明移栽试管植株在花期的植株群体整齐度高、遗传性状相对比较稳定。具体分析结果见表5。

移栽试管植株花期的遗传相关性见表6。分枝数与分蘖数呈显著正相关 ($P < 0.05$), 相关系数为 0.886; 叶片数与株高、花序数与株高均呈显著负相关 ($P < 0.05$), 相关系数分别为-0.848 和-0.886;

表4 北柴胡种子植株营养生长期主要性状间遗传相关系数

Table 4 Genetic coefficient of main characters of seeding plants of *B. chinense* at vegetative growth phase

性 状	分蘖数	分枝数	叶片数	叶长	叶宽	拔节数	节间距	茎粗和	株高
分蘖数	1.000								
分枝数	0.000	1.000							
叶片数	0.000	0.927*	1.000						
叶长	0.000	0.205	0.253	1.000					
叶宽	0.000	0.113	0.309	-0.470	1.000				
拔节数	0.000	0.025	0.377	0.453	0.274	1.000			
节间距	0.000	0.631	0.646	0.576	-0.276	0.271	1.000		
茎粗和	0.000	0.813*	0.770	-0.196	0.283	-0.890*	0.616	1.000	
株高	0.000	0.115	0.405	0.677	-0.013	0.933*	0.498	-0.056	1.000

* $P < 0.05$

表5 北柴胡移栽试管植株花期主要性状的遗传参数

Table 5 Genetic parameters of main characters of test-tube plants of *B. chinense* at flower forming phase

遗传参数	分蘖数	分枝数	叶片数	拔节数	节间距 / cm	茎粗和 / cm	株高 / cm	花序数
平均值	15.500	56.333	382.500	37.000	3.578	1.450	138.083	510.000
标准差	1.871	4.676	28.592	2.683	0.149	0.243	3.679	26.077
RSD / %	12.069	8.301	7.475	7.251	4.164	16.759	2.665	5.113

表6 北柴胡移栽试管植株花期主要性状间遗传相关系数

Table 6 Genetic coefficient of main characters of test-tube plants of *B. chinense* at flower forming phase

性 状	分蘖数	分枝数	叶片数	拔节数	节间距	茎粗和	株高	花序数
分蘖数	1.000							
分枝数	0.886*	1.000						
叶片数	0.533	-0.553	1.000					
拔节数	0.159	0.064	-0.378	1.000				
节间距	0.046	0.483	0.421	-0.393	1.000			
茎粗和	0.065	0.355	0.351	-0.277	0.537	1.000		
株高	-0.138	0.387	-0.848*	0.263	0.507	-0.183	1.000	
花序数	-0.041	-0.640	0.697	-0.229	0.092	-0.097	-0.886*	1.000

* $P < 0.05$

其他性状间的相关性均不明显。

3.2.2 种子植株花期的遗传参数与相关性 种子植株花期的遗传参数见表 7。可以看出分枝数、拔节数、节间距和株高的相对标准偏差均小于 10%；分蘖数、叶片数、茎粗和和花序数的相对标准偏差较大，其中叶片数的相对标准偏差最大，为 39.694%。说明在花期，种子植株的分蘖数、叶片数、茎粗和

和花序数存在较大差异，其余性状则相对比较稳定。

种子植株花期的叶片数与分蘖数、茎粗和与分蘖数、叶片数与茎粗和均呈正极显著相关 ($P < 0.01$)，相关系数分别为 0.993、0.922 和 0.927；分蘖数与花序数、叶片数与花序数均呈显著相关 ($P < 0.05$)，相关系数分别为 0.877 和 0.910；其他性状间的相关性均不明显，具体分析结果见表 8。

表7 北柴胡种子植株花期主要性状的遗传参数

Table 7 Genetic parameters of main characters of seeding plants of *B. chinense* at flower forming phase

遗传参数	分蘖数	分枝数	叶片数	拔节数	节间距 / cm	茎粗和 / cm	株高 / cm	花序数
平均值	1.200	14.000	96.200	21.800	3.722	0.492	84.900	114.000
标准差	0.447	1.000	38.186	1.303	0.202	0.126	5.878	39.503
RSD / %	37.250	7.143	39.694	5.977	5.427	25.609	6.923	34.652

表8 北柴胡种子植株花期主要性状间遗传相关系数

Table 8 Genetic coefficient of main characters of seeding plants of *B. chinense* at flower forming phase

性 状	分蘖数	分枝数	叶片数	拔节数	节间距	茎粗和	株高	花序数
分蘖数	1.000							
分枝数	0.559	1.000						
叶片数	0.993**	0.602	1.000					
拔节数	-0.343	0.383	-0.315	1.000				
节间距	0.291	0.178	0.189	0.142	1.000			
茎粗和	0.922**	0.803	0.927**	0.030	0.370	1.000		
株高	0.342	0.362	0.297	0.568	0.703	0.542	1.000	
花序数	0.877*	0.646	0.910*	0.015	0.073	0.810	0.482	1.000

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$

3.3 北柴胡种子成熟期植株群体的主要遗传参数

在移栽试管植株与种子植株的种子成熟后, 对所收获的干根与种子进行数据统计, 结果见表 9 和表 10。根质量与种子质量的相对标准偏差较大, 分别为 17.083% 和 17.189%; 根长与根粗的相对标准偏差较小, 分别为 11.647% 和 11.977%; 各种性状的相对标准

偏差均小于 20%, 说明移栽试管植株收获的根与种子差异性较小, 均一性较高。种子植株的根质量相对标准偏差最大 (55.150%), 其根粗和种子质量的相对标准偏差也较大, 说明种子植株收获的根与种子差异性较大。由各种性状间的平均值也可以看出, 移栽试管植株收获的根与种子性状参数均优于种子植株。

表 9 北柴胡移栽试管植株种子成熟期主要性状的遗传参数

Table 9 Genetic parameters of main characters of test-tube plants of *B. chinense* at seed ripening phase

遗传参数	根长 / cm	根粗 / cm	根质量 / g	种子质量 / g
平均值	12.430	0.693	3.120	3.828
标准差	1.447	0.083	0.533	0.658
RSD / %	11.641	11.977	17.083	17.189

表 10 北柴胡种子植株种子成熟期主要性状的遗传参数

Table 10 Genetic parameters of main characters of seeding plants of *B. chinense* at seed ripening phase

遗传参数	根长 / cm	根粗 / cm	根质量 / g	种子质量 / g
平均值	9.939	0.442	0.961	1.436
标准差	1.247	0.115	0.530	0.356
RSD / %	12.547	26.018	55.150	24.791

4 讨论

晋产万荣北柴胡移栽试管植株在不同生长时期主要性状的相对标准偏差都不大, 说明植株整齐一致, 个体差异小, 遗传性状稳定, 有利于优良种质性状的保持和遗传。本课题组在晋产陵川北柴胡移栽试管植株中也得到了相同的结果^[10]。研究结果表明, 北柴胡移栽试管植株具有优良的植物学性状, 植物组织培养技术是北柴胡种质提纯复壮、扩大繁殖以及优质种苗生产的有效方法。晋产万荣北柴胡种子植株在不同生长时期主要性状的相对标准偏差都较大, 说明种子植株间的差异性较大, 种源混杂, 种质不纯, 这也是导致其药材质量均一性差的主要原因之一。

晋产万荣北柴胡移栽试管植株与种子植株在不同生长期各种性状间的相关性指标上存在差异。由于移栽试管植株在前期的培养、诱导和生根过程中, 试管苗的基部分化出许多不定芽, 移栽到大田以后植株分蘖多、分枝多、生长旺盛, 与种子植株相比具有明显的优势。因此, 移栽试管植株与种子植株在相关性指标上的表现有所不同。在育种过程中, 也可以通过不同性状间的相关性指标进行优良性状和优良植株的筛选。

北柴胡移栽试管植株在不同生长时期的主要

性状均优于种子植株。在营养生长期, 移栽试管植株的分蘖数、分枝数和叶片数均远远多于种子植株, 说明移栽试管植株的营养生长旺盛, 光合作用能力强, 植株健壮。当植株生长、发育至花期时, 移栽试管植株与种子植株均长势缓慢, 但移栽试管植株的花期早于种子植株 1~2 周, 而种子植株落花的时间又比移栽试管植株晚 1 周左右, 此时气候已转冷, 导致有效花序数大大减少, 以至于影响到所收获的种子的产量。种子成熟期的相关数据也证明了这一点。

北柴胡移栽试管植株的根的综合性状优于种子植株。根长、根粗和根质量是 3 个重要的药材性状。本课题组前期所做的研究表明, 北柴胡移栽试管植株的根具有优良的综合性状, 根产量明显高于种子植株的产量^[11]。本实验中北柴胡移栽试管植株的根长、根粗和根质量的标准差分别为 1.447、0.083 和 0.533; 相对标准偏差分别为 11.641%、11.977% 和 17.083%, 均小于 20%, 说明移栽试管植株的根长、根粗和根质量的整齐度较高, 药材性状和质量比较均一。北柴胡移栽试管植株的根产量明显高于种子植株, 根质量是种子植株的 3 倍。由于移栽试管植株的根是植物组织培养过程中所诱导的不定根, 数量多、发育好, 因而所收获的根数多、根长, 产量

也高。相对于种子植株而言,北柴胡移栽试管植株的根具有优良的综合性状。

柴胡皂苷是北柴胡的主要活性成分,其中柴胡总皂苷和柴胡皂苷 a、d 的量是药材质量的主要控制指标。在后续工作中,本课题组将通过对北柴胡根中主要成分的分析、测定,比较、验证移栽试管植株较之于种子植株的优势所在,为优良北柴胡种质的选育提供更多的科学证据。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [2] 李 芳, 李建北, 张东明. 柴胡的药理研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2004, 15(2): 120-121.
- [3] 杨 柳, 王雪莹, 刘 畅, 等. 北柴胡化学成分与药理作用的研究进展 [J]. 中医药信息, 2012, 29(3): 143-145.
- [4] 魏建和, 程惠珍, 李昆同, 等. 北柴胡植株生长分析 [J]. 中药材, 2003, 26(9): 617-618.
- [5] 郝建平, 徐丽霞, 杨东方, 等. 北柴胡愈伤组织诱导、分化及不定芽增殖条件的研究 [J]. 中草药, 2008, 39(8): 1234-1238.
- [6] 秦雪梅, 王玉庆, 岳建英. 栽培柴胡资源状况分析 [J]. 中药资源, 2005, 7(8): 30-32.
- [7] Shon T K, Kim S K, Acquah D, *et al.* Haploid plantlet production through somatci embryogenesis in anther-derived callus of *Bupleurum falcatum* [J]. *Plant Prod Sci*, 2004, 7(2):204-211.
- [8] Ikegami F, Sumino M, Fujii Y, *et al.* Pharmacology and toxicology of *Bupleurum* root-containing kampo medicines in clinical use [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2006, 25(8): 481.
- [9] 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): 752-756.
- [10] 李 博, 郝贵茹, 常 琦, 等. 北柴胡移栽试管植株与种子植株植物学性状分析 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1634-1637.
- [11] 王丽荣, 郝建平, 李晨龙, 等. 北柴胡移栽试管植株生长关键期主要遗传参数分析 [J]. 中药材, 2010, 33(6): 850-853.