

药用植物厚朴种子研究进展

雷 虢¹,杨志玲^{2*},段红平¹,杨 旭² (1. 云南农业大学农学与生物技术学院,云南昆明 650201;2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所,浙江富阳 311400)

摘要 种子是植物生产的物质基础,国家濒危植物厚朴的人工栽培主要依赖种子繁殖,故而厚朴种子的质量及处理方式是决定其人工林及药材质量的关键因子。该文从形态学特征、发育生理特征、休眠原因和解除休眠的方法以及其种子萌发的生态环境因子等方面综述了近年来关于厚朴种子——的研究进展,提出了厚朴种子研究的方向。
关键词 厚朴(CORTEX MAGNOLIAE OFFICINALIS);种子;研究进展
中图分类号 S792.99 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)10-04324-03

Research Progress of Medicinal Plants *Magnolia officinalis* Seeds
LEI Xiao et al (College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunan 650201)
Abstract Seed is the material basis of plant production. The artificial cultivation of *Magnolia officinalis*, which is an endangered plant in China, mainly depends on seed propagation, so the quality and dispose methods of *Magnolia officinalis* seeds is the key factor of the quality of artificial forest and medicinal materials. The research progress on the seeds of *Magnolia officinalis* were reviewed from aspects of morphological characteristics, developmental physiological characteristics, dormancy and dormancy release method, seed germination ecology environmental factors, the new direction of *Magnolia officinalis* seed research was pointed out.
Key words *Magnolia officinalis*; Seed; Research progress

药材厚朴(CORTEX MAGNOLIAE OFFICINALIS)为木兰科(Magnoliaceae)木兰属(*Magnolia Linn*)植物厚朴(*M officinalis* Rehd. et Wils.)或凹叶厚朴(*M officinalis* Rehd. et Wils. var. *biloba* Rehd. et Wils.)的干燥根皮、干皮和枝皮。新版《Flora of China》则把厚朴和凹叶厚朴进行归并,统称厚朴(*Houpoëa officinalis*),组成厚朴属(*Houpoëa*)^[1]。厚朴始载于《神农本草经》,列为中品,其后历代本草均有记载,在我国已有2 000多年药用历史。现代药理学研究表明,厚朴具有抗菌、抗病毒、抗过敏、抗溃疡、抗肿瘤、抗炎镇痛、防龋作用、防止应激性胃功能障碍、抑制血小板聚集、中枢神经系统保护、降血压和肌肉松弛等作用^[2-4]。因其树体硕大,树形幽雅,叶大浓荫,花大而芳香,可用于孤植于公园、庭院、街道作为观赏树及行道树^[4-5]。

20世纪60年代以来,随着经济的发展,对外贸易的快速增长及厚朴临床应用范围的扩大,人们对厚朴的需求日益增大;而野生厚朴越来越难以满足人们医疗保健的需要。加上国内对厚朴野生资源保护不够重视,野生资源被过度采伐,致使资源快速枯竭,分布面积越来越少,因此人工栽培成为填补厚朴药材大量缺口的必然方式。

种子是所有植物生产的物质基础,厚朴的人工林栽培主要依靠种子繁殖,厚朴种子质量的好坏是影响其种子萌发、生长发育和厚朴质量的重要因素。人们对厚朴栽培、药理、种质资源等方面已有不少研究,笔者就近几年关于厚朴种子方面的研究进行综述,以期对厚朴的人工栽培提供理论指导。

基金项目 国家林业局公益性林业专项(200704022)。
作者简介 雷虢(1985-),男,四川仪陇人,硕士研究生,研究方向:高等植物研究与利用。*通讯作者,副研究员,硕士生导师,从事药用植物培育、营养生理与技术研究,E-mail: zlyang0002@126.com。
收稿日期 2013-03-11

1 种子的形态特征及产地变异

厚朴种子为硬实种子,外种皮鲜红色,革质;中种皮肉质;内种皮黑色,木质。腹部有浅沟。种子大,胚乳丰富,种仁油质,但胚很小。厚朴种子种胚长度只占胚乳长度的14.7%,胚宽只占胚乳宽的10.7%^[6]。凹叶厚朴种子横切面由外向内观察,可看到包括种皮、胚乳和胚3个部分,种皮由外种皮、中种皮、内种皮组成。外种皮革质,有角质层,细胞壁厚;中种皮肉质,较厚,含油细胞;内种皮木质坚硬,这与木兰科(鹅掌楸属除外)植物种子种皮的一般特征相似^[7-8]。舒泉等人统计15个不同产地厚朴种子的种子形态和百粒质量的结果,得出平均种子长9.58 mm,宽7.62 mm,厚4.36 mm,平均百粒质量15.77 g^[9]。

种子性状存在一定的地理变异,这种变异与分布地区的光照、温度、降雨量及海拔、纬度等多个环境因素有关,这些因素之间通常协同作用^[10-11]。厚朴种子形态特征在产地间差异极明显,产地效应明显。其中,产地的纬度、年均气温、年降水量和无霜期是引起种子大小及质量差异的主要地理气候因子^[9]。杨志玲等通过8个省19个原生分布区厚朴种源种子性状变异分析,获知厚朴种源间和家系间种子性状存在差异性,不同种源间种子和种源内不同家系种子的长、宽、厚等性状差异均达到极显著水平($P<0.01$);厚朴种子种源间的长宽比达到极显著水平($P<0.01$),种源内不同家系种子长宽比未达到显著水平($P<0.05$)。经对种子性状与地理、气候因子进行相关性分析得到:厚朴种子性状受积温和热量因子控制作用极为明显。厚朴种子宽度、厚度和百粒重的地理渐变趋势基本呈纬向变化,自南向北种子变宽、变厚、种子质量不断增加^[12]。舒泉分析15个产地种子性状却得出产于厚朴分布区南部的种子一般大于北部产区的种子^[9]。

2 种子的生理学研究

2.1 种子的生殖发育特征及影响结果的处理 厚朴繁育系统属于专性异交系统,但存在雌雄异熟和雌性异位的现

象,且传粉效率低下,易导致同株异花授粉这种广义的自交形式,导致胚胎的败育;通过异株异花授粉可大幅度提高结实率和单果出种率^[13]。凹叶厚朴在胚胎发育的过程中表现出胚胎发育的原始性,在大小孢子发生和雌雄配子体的发育过程中都存在异常发育现象,导致其自然繁殖率降低,进而引起濒危^[14]。

运用不同浓度的细胞分裂素、赤霉素、多效唑和硼砂在3月初厚朴花芽分化时对厚朴进行喷洒,发现浓度40 mg/L细胞分裂素对厚朴开花结果作用明显,有利于花芽的形成,使厚朴开花量与结籽量明显提高;浓度20 mg/L的赤霉素能明显提高植物光合作用,促进茎叶生长,对花芽的分化和形成具有抑制作用,提高花芽质量,对脱落酸具有拮抗作用促进果实发育防止落果明显;浓度1 600 mg/L多效唑能抑制冠幅生长,促进花芽分化全部成花,提高坐果率;浓度800 mg/L硼砂对球果的质量有明显影响,使厚朴果实增大,种子饱满,提高种子质量。4种植物生长调节剂作用效应从大到小依次为赤霉素>细胞分裂素>多效唑>硼砂^[15]。

2.2 种子休眠的生理特征及解除休眠方法 种子休眠是指具有活力的种子处于适宜萌发的条件下而不能正常萌发的一种生理现象。种子休眠对处于恶劣环境中的植株保持其自身的繁衍发展具有重要的生态学意义^[16-17]。种子休眠对植物个体的生存、物种的延续和进化有着积极的作用,但也不可避免地给生产带来一定的困难和不便。引起种子休眠原因大致可归为两大类:内源因素和外源因素。由内源因素引起的休眠通常称为胚休眠,由外源因素引起的休眠称为种壳休眠^[18-19]。

通过对凹叶厚朴种子休眠特性的研究发现,外源因素是引起厚朴种子休眠的主要因素。试验证实,果实脱落时胚已分化完全,具有明显的子叶、胚芽、胚轴及胚根,胚的形态已处于鱼雷形阶段;内种皮有阻碍种子吸水的作用,外种皮+中种皮,内种皮,胚乳均存在发芽抑制物质,抑制物质在外种皮+中种皮>胚乳>内种皮^[20]。从形态特征看:凹叶厚朴的种子外种皮革质,有角质层,细胞壁厚;中种皮肉质,较厚,含油细胞;内种皮木质坚硬,这种特征在一定程度上阻碍了胚与外界的水交换,影响种子的吸胀和萌发,是引起凹叶厚朴休眠导致其中子在自然条件下繁殖率低的一个原因^[8]。日本厚朴种子的中种皮中的油状物质,有阻碍种子吸水的作用,对种子的透水性有一定的影响,种子的假种皮、内种皮、胚乳和胚中存在较多抑制物。其中,假种皮存在主要抑制子叶生长的水溶性抑制物,胚乳中存在主要抑制胚根生长的水溶性抑制物。这些抑制物均导致日本厚朴种子休眠、种子萌发困难^[21]。

目前解除种子休眠的方法中,主要有物理、化学、生物和综合处理的方法,一般常见的有机械处理、浸种、层积处理、药剂处理和激素处理等^[22]。针对厚朴种子休眠的特性,解除厚朴种子休眠的方法中目前常采用温水浸种,层积处理和化学药剂处理。用不同温度的温水浸种,认为60℃温水浸种厚朴种子的发芽率最高^[23]。用浓度49%的浓硫

酸和浓度1 mol/L的氢氧化钠分别处理厚朴种子8、6和4 h,以浓度1 mol/L NaOH处理4 h的效果最好,厚朴种子的发芽率最高^[7]。再通过对厚朴种子进行碱、温水、研磨和水浸对照,发现碱处理4 h>研磨处理>温水处理>碱处理3 h>碱处理2 h>碱处理1 h>对照。因此,碱处理4 h是最佳处理方式^[24]。

2.3 种子的萌发生理特征 种子的萌发是高等植物生活史循环的开始,是指种子从吸水到培根(很少情况下是胚芽)突破种皮期间所发生的一系列生理生化变化的过程^[25-26]。种子萌发时期是种子植物个体发育中最为关键的时期,也是植物生长周期中的重要阶段,直接影响植物的生长和生物量,对种群个体的繁殖、种群的扩展和物种抵抗不良环境有着重要的生物学和生态学意义^[27-28]。种子萌发受内部因素和外部环境因素的影响,外因包括相互制约的水分、温度、光照、氧气、化学物质、土壤因子和生物因素等。内因是指种子自身是否具有足够的储备和是否具有利用这些储备在接受外部信号后启动各种生命活动的生物化学反应能力^[29-37]。

部分专家对影响厚朴种子萌发的外部环境因素开展过研究,如舒泉通过试验得出光照对于厚朴种子的萌发具有明显的促进作用。在连续光照和连续黑暗下,厚朴种子的发芽率存在明显差异;在不同的温度处理下,发芽率最高的是变温20~30℃,发芽率最高的恒温25℃,两者分别为65%和59.2%,即变温有利于厚朴种子的萌发;不同含水量对种子的发芽率存在明显差异,说明土壤含水量是影响种子萌发的限制因子,厚朴种子萌发最适宜的含水量在20%~25%^[23]。余启高认为厚朴在光照和黑暗条件下发芽率分别为76%和74.67%、发芽指数分布为20.40和19.80,两种处理间差异没有达到显著水平($P<0.05$),说明厚朴种子对光不敏感。20~30℃条件下的变温处理和25℃条件下的恒温处理下,厚朴种子的发芽率分别为76%和75.33%,二者差异不显著^[38]。

一些学者对影响厚朴种子发芽的内部因素展开研究,发现种子活力是种子萌发的生理基础。叶应青在研究厚朴种子活力时发现,测定厚朴种子活力的最佳处理浓度为0.5%的四唑溶液^[39]。张国珍等对凹叶厚朴的种子保存方式及相应的播种苗的发芽情况、幼苗生长规律进行统计分析,得出经沙藏的凹叶厚朴种子发芽时间、出苗速度及发芽率均优于冷藏处理;而且,沙藏处理的苗高、地径、叶幅的累积生长量相应地大于冷藏处理^[40]。以浓度1 500 mg/L GA₃浸种后低温层积比单独低温层积处理更有利于解除凹叶厚朴种子休眠、提高种子的萌发率^[20]。杨朝霞运用低温层积、暖温层积和昼夜变温层积处理厚朴种子,通过发芽试验得出,变温层积可以快速打破厚朴种子的休眠;低温层积处理下种子发芽速度缓慢,但发芽整齐、且发霉率低,并随着层积时间的延长,发芽率呈上升趋势;暖温层积处理条件下厚朴种子的发芽率最低^[41]。

3 种子的分子鉴定

近年来,分子生物学技术已经深入运用到了厚朴种间与

种内的鉴定当中。SDS - PAGE 电泳图谱能够测定厚朴和凹叶厚朴种子蛋白质成分的相对分子质量,并根据蛋白谱带的迁移率和相对分子质量的差异鉴定厚朴和凹叶厚朴^[42],但该方法仅限于种间鉴定。厚朴种子的种内鉴定也已有报道,张琼光等利用聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)和 SDS - PAGE 的方法比较了湖北恩施 2 种类型的厚朴种子,发现椭圆形果实的种子比长椭圆形果实的种子多 2 条二级谱带,并将该方法作为紫油厚朴优质种源的鉴别依据之一^[43]。李晓琳应用 SDS - PAG 的方法比较了湖北恩施 5 个不同产地厚朴种子的电泳图谱,发现这 5 个产地的厚朴种子的电泳图谱存在明显的产地差异。SDS - PAG 电泳法可以作为厚朴种子的产地鉴别提供依据^[44]。

4 问题与展望

国内外对厚朴的研究大多集中在其药理作用、化学成分、有效成分含量、品质鉴别和品种资源、育苗与栽培技术以及组培快繁的研究。针对种子的研究主要偏重于种子生理学的基础研究。如种子的萌发特性、解除种子休眠的方法、不同种源的形态变异分析的研究。对厚朴种子研究还有很多不足,主要表现在:缺乏对种子长期保存技术研究;很少针对种子成熟与萌发过程中的生理变化研究;种子萌发的分子水平调控机理认识不足,尚未形成较为完善的厚朴种子生理生态研究理论体系。针对目前厚朴种子研究中存在的不足,建议今后加强以下几个方面:(1)加强种子的生态学研究,从针对种子的个体研究向群体、群落与环境关系的方向发展,以更全面的揭示种子质量和萌发的特性与生态环境的内在关系。(2)加强对野生种子种质资源保护和研究,重点研究其种子储藏和种质长期保存的新技术。(3)加强种子在成熟和萌发过程中各类营养物质、激素、酶含量生理变化规律的研究。(4)加强对种子休眠与萌发的分子调控机制研究,包括种子萌发的启动基因、激素控制在种子萌发中的作用途径、激素受体和作用部位、种子种质的分子测定技术、种子抗逆性的基因表达、种胚的程序性细胞更替机理等,运用最新的分子生物学技术把厚朴种子的分子生物学和基因生物学研究成果应用到林业生产上,以达到提高种子质量的目的^[26]。

参考文献

- [1] LIU Y H, HOUPŌEA N H XIA, WU C Y. Fl. China. 7:64. 2008. 厚朴属 *hou po shu* FOC Vol. 7 [EB/OL]. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=317304.
- [2] 张永太,吴皓. 厚朴药理学研究进展[J]. 中国中医药信息杂志, 2005(5): 96 - 99.
- [3] 陈笈,王伯初. 厚朴的药理研究进展[J]. 重庆大学学报:自然科学版, 2005(9): 136 - 139.
- [4] 熊璇,于晓英,魏湘萍,等. 厚朴资源综合应用研究进展[J]. 林业调查规划, 2009(4): 88 - 92.
- [5] 郑万均. 中国树木志:第 1 卷[M]. 北京:中国林业出版社, 1983: 448.
- [6] 余启高. 厚朴种子休眠解除的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2007.
- [7] 胡江琴. 凹叶厚朴种子的结构及细胞化学研究[J]. 杭州师范大学学报:自然科学版, 2009(6): 449 - 452.
- [8] 徐凤霞,吴七根. 木兰科种子内种皮合点区形态及其系统学意义[J]. 植物分类学报, 2002, 40(3): 260 - 270.
- [9] 舒象,杨志玲,杨旭,等. 不同产地厚朴种子性状的变异分析[J]. 林业科学研究, 2010(3): 457 - 461.
- [10] 李晓洁,徐化成. 白皮松种子发芽习性及其种源变异的研究[J]. 林业科学, 1989, 25(2): 97 - 104.
- [11] 宋丽华,王娅丽. 几个臭椿种源种子的生物学特性变异研究[J]. 农业科学研究, 2005, 26(1): 18 - 22.
- [12] 杨志玲,杨旭,谭梓峰,等. 厚朴不同种源及家系种子性状的变异[J]. 中南林业科技大学学报, 2009, 29(5): 49 - 55.
- [13] 杨旭,杨志玲,王杰,等. 濒危植物凹叶厚朴的花部综合特征和繁育系统[J]. 生态学杂志, 2012, 31(3): 551 - 556.
- [14] 王利琳,胡江琴,庞基良,等. 凹叶厚朴大、小孢子发生和雌、雄配子体发育的研究[J]. 实验生物学报, 2005(6): 490 - 500.
- [15] 张少华,周建青,刘利元,等. 植物生长调节剂对厚朴结果影响的试验[J]. 中国林副特产, 2011(6): 20 - 21.
- [16] 邢勇,武月琴. 种子休眠与致休眠因子[J]. 生物学教学, 2003, 28(5): 7 - 8.
- [17] 张鹏. 白蜡树属树种种子休眠及其萌发的调控[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(2): 354 - 358.
- [18] LEADEM C L. Dormancy - Unlocking Seed Secrets [C]//LANDIS T D. National Proceedings, Forest and Conservation Nursery Associations. Gen. Tech. Rep. PNW - G TR - 419. Portland, OR: U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station, 1997: 43 - 52.
- [19] GENEVE R L. Seed dormancy in commercial vegetable and flower seeds [J]. Seed Technol, 1998, 20: 236 - 249.
- [20] 胡江琴,冯晓恩,沈檬笑,等. 凹叶厚朴种子休眠与萌发特性的研究[J]. 杭州师范大学学报:自然科学版, 2011(4): 329 - 332.
- [21] 付晓云,于光艳,周广柱. 日本厚朴种子休眠原因探索[J]. 辽宁林业科技, 2008(1): 1 - 9.
- [22] 鱼小军,王芳,龙瑞军. 破除种子休眠方法研究进展[J]. 种子, 2005(7): 46 - 49.
- [23] 舒象,杨志玲,段红平,等. 濒危植物厚朴种子萌发特性研究[J]. 中国中药杂志, 2010(4): 419 - 422.
- [24] 余启高. 几种处理对厚朴种子活力的影响[J]. 湖北农业科学, 2010(4): 911 - 912.
- [25] TOBE K, LI X, OMASA K. Seed germination and radicle growth of a halophyte, *Kalidium capsicum* (Chenopodiaceae) [J]. Annals of Botany, 2000, 85: 391 - 396.
- [26] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社, 2002: 283.
- [27] 廖钢,张志飞,王俊丽,等. 锯肋迫对野老鹳草和长刺酸模种子萌发的影响[J]. 草原与草坪, 2011, 31(1): 47 - 49.
- [28] 乌凤章,刘桂丰,姜静,等. 种子萌发调控的分子机理研究进展[J]. 北方园艺, 2008(2): 54 - 58.
- [29] 王友凤,马祥庆. 林木种子萌发的生理生态学机理研究进展[J]. 世界林业研究, 2007, 20(4): 19 - 23.
- [30] 彭幼芬. 世界林木种子生理研究的概况和趋势[J]. 世界林业研究, 1998(2): 8 - 12.
- [31] 曹兵,高捍东. 希蒙得木种子生物学特性研究[J]. 种子, 2002(5): 41 - 42.
- [32] ATIFK M, PUTUL B, UMA S, et al. Seed germination and seedling fitness in *Mezua ferrea* L. in relation to fruit size and seed number per fruit [J]. Acta Oecol, 1999, 20(6): 599 - 606.
- [33] THOMPSON J N. Variation among individual seed masses in *Lomatium grayi* (Umbelliferae) under controlled conditions: magnitude and partitioning of the variance [J]. Ecology, 1984, 65(2): 626 - 631.
- [34] WEI I M. The effects of propagule size on gemination and seedling growth in *Mirabilis hirsute* [J]. Can J Bot, 1982, 60(6): 959 - 971.
- [35] GROSS K L. Effects of seed size and growth form on seedling establishment of six monocarpic perennials [J]. J Ecol, 1984, 72(2): 369 - 387.
- [36] DEMEKE T, CHANG H G, MORRIS C F. Effect of germination seed abrasion and seed size on polyphenol oxidase assay activity in wheat [J]. Plant Breeding, 2001, 120(5): 369 - 373.
- [37] 杨期和,杨威,李秀荣. 热带植物种子萌发影响因素初探[J]. 种子, 2001(5): 45 - 48.
- [38] 余启高. 厚朴种子发芽检验标准化研究[J]. 中国种业, 2010(2): 36 - 37.
- [39] 应叶青,申亚梅,李浪. 3 种阔叶树种子生活力四唑法测定研究[J]. 种子, 2005(1): 32 - 35.
- [40] 张国珍,李策宏,谢孔平,等. 凹叶厚朴种子保存方法对发芽及幼苗生长的影响[J]. 林业实用技术, 2008(5): 19 - 21.
- [41] 杨朝霞. 厚朴种子解除休眠及萌发生理的研究[D]. 南京:南京林业大学, 2008.
- [42] 陈振江,殷丹,曹艳,等. 厚朴种子蛋白质成分相对分子质量测定[J]. 中成药, 2005(6): 711 - 712.
- [43] 张琼光,陈科力,王克勤. 厚朴两种类型种子的电泳鉴别[J]. 时珍国医国药, 2003, 14(9): 541.
- [44] 李晓琳,邵爱娟,陈敏,等. 道地产区不同产地厚朴种子的电泳指纹图谱研究[J]. 中国中药杂志, 2011(22): 3075 - 3078.