

引用格式: 耿蓓蕊, 高洁, 辜晓英, 等. 羌活种子发育过程中形态及生理生化指标动态变化特征[J]. 西北植物学报, 2024, 44(10): 1539-1548.
[GENG B R, GAO J, GU X Y, et al. Changes of morphological, physiological, and biochemical indices during seed development of *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(10): 1539-1548.] DOI: 10.7606/j.issn.1000-4025.20240268

羌活种子发育过程中形态及生理生化指标动态变化特征

耿蓓蕊¹, 高洁¹, 辜晓英¹, 晋玲^{1,2,3}, 陈红刚^{1,3}, 赵文龙^{1,2,3*}

(1 甘肃中医药大学 药学院, 兰州 730101; 2 陇药产业创新研究院, 兰州 730101; 3 甘肃省珍稀中药资源评价与保护利用工程研究中心, 兰州 730101)

摘要 【目的】探讨羌活种子发育过程中形态及生理生化指标变化规律, 为羌活引种驯化、优质种质资源培育提供理论依据。【方法】采用定期观测采样及冷冻切片法, 对不同发育阶段的羌活种子形态及生理生化指标进行测定。【结果】羌活种子发育过程中, 种子大小、果翅厚度先升后降, 果翅宽度升高, 外种皮颜色由明亮的蓝绿色转为黄褐色; 贮藏物质淀粉、可溶性糖、可溶性蛋白含量升高; 淀粉酶活性小范围波动, 琥珀酸脱氢酶活性升高, 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶活性交替升降, 丙酮酸激酶活性呈“M”形变化, POD 活性降低, 而 SOD 活性先降后升; GA₃、IAA 和 ZR 含量降低, ABA 含量升高; 种子形态指标与 SOD 活性极显著负相关, 贮藏物质含量与种子厚度极显著负相关, 而与果翅宽度极显著正相关。【结论】在羌活种胚发育至心形胚前期过程中, 外种皮由蓝绿色转为黄褐色, 贮藏物质含量升高, 关键酶活性波动变化, 促生长激素含量波动降低, 而胁迫激素含量升高。

关键词 羌活; 种子发育; 外观形态; 生理生化指标

中图分类号 Q945.6⁺5 文献标志码 A

Changes of morphological, physiological, and biochemical indices during seed development of *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang

GENG Beirui¹, GAO Jie¹, GU Xiaoying¹,
JIN Ling^{1,2,3}, CHEN Honggang^{1,3}, ZHAO Wenlong^{1,2,3*}

(1 College of Pharmacy, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730101, China; 2 Gansu Pharmaceutical Industry Innovation Research Institute, Lanzhou 730101, China; 3 Gansu Engineering Research Center for Evaluation, Protection and Utilization of Rare Traditional Chinese Medicine Resources, Lanzhou 730101, China)

Abstract [Objective] The study aims to explore the changes of morphological, physiological, and biochemical indexes during the development of *Notopterygium incisum* seeds, and to provide theoretical basis for the introduction and domestication of *N. incisum* and the cultivation of high-quality germplasm resources. [Methods] The morphological, physiological, and biochemical indexes of *N. incisum* seeds at different developmental stages were determined by observation samplings and the frozen section method.

收稿日期: 2024-04-29; 修改稿收到日期: 2024-07-12

基金项目: 甘肃省自然科学基金项目(23JRRA1208); 甘肃省科技重大专项(23ZDFA013-1); 甘肃省高等学校青年博士基金项目(2022QB-093); 西北中藏药省部共建协同创新中心开放基金项目(Xbzzy-2022-03); 中药保障与创新能力提升项目(甘中医药综函[2024]14号); 中央引导地方科技发展资金项目(24ZYQA041)

作者简介: 耿蓓蕊(1996-), 女, 在读硕士研究生, 从事中药资源开发与可持续利用研究。Email: 961885254@qq.com

* 通信作者: 赵文龙, 博士, 副教授, 主要从事中药资源开发与可持续利用研究。Email: gszy_zwl@163.com

[Results] During the development of *N. incisum* seeds, seed size and wing thickness were first increased and then decreased, while wing width was increased. The color of the outer seed coat was changed from bright blue-green to yellow-brown. The contents of starch, soluble sugar, and soluble protein were increased. Amylase activity was fluctuated in a small range; succinate dehydrogenase activity was increased; glucose-6-phosphate dehydrogenase activity was increased and decreased alternately; pyruvate kinase activity showed “M”-shape changes. POD activity was decreased while SOD activity was decreased. GA_3 , IAA, and ZR contents were decreased, while ABA contents were increased. The morphological indexes of the seeds were negatively correlated with the activity of SOD. The content of the storage materials was negatively correlated with the seed thickness, but positively correlated with the width of the fruit wings.

[Conclusion] When *N. incisum* embryo is developed to pre-cardioid embryo, the outer seed coat is changed from blue-green to yellow-brown, the content of storage material is increased, and the activity of key enzymes is fluctuated and decreased. The content of growth-promoting hormones is fluctuated and decreased, while the content of stress hormones is increased.

Key words *Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang; seed development; physiological and biochemical indicators; appearance and morphology

羌活(*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang)属于伞形科(Umbelliferae)羌活属(*Notopterygium*)植物,以根及根茎入药^[1],性温,具解表散寒、祛湿止痛之效,主治风寒感冒,风寒湿痹,骨节酸疼,痈疽疮毒^[2]。现代药理学研究发现羌活具有抗炎、抗菌^[3]、抗心律失常及抗血栓^[4]等作用,其挥发油及多糖提取液具有抗氧化活性^[5]。羌活用药历史悠久、广泛,首见于《神农本草经》,是中、藏、羌医药体系常用的大宗药材。但羌活年生长量小、种子具有胚后熟特性^[6]、休眠期长、自然发芽率低(仅为0.52%)^[7],且尚未实现大规模引种驯化,药材供需严重失衡。过渡采挖使羌活生境受到严重破坏,致使野生种群衰退,野生资源减少,亦造成了羌活种质资源的大量丧失。

将野生植物引种驯化,实现人工栽培,建立规范化生产基地,是实现野生资源可持续开发利用的有效途径之一^[8]。目前,关于羌活的研究主要集中在休眠解除机制^[6]、饮片质量评价^[9]、临床药理作用^[10]、用药规律^[11]、化学成分^[12]等方面,而关于羌活种子发育过程中形态和生理生化特征的研究鲜有报道。本研究从羌活种子发育过程中外部形态、内部胚发育和营养物质、内源性激素、关键酶活性的动态变化规律入手,探究羌活种子发育过程中形态结构和生理生化指标的变化特征,阐明各生理特性的变化规律,为羌活高质量种质资源生产和休眠解除研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料来源

研究材料羌活种子采自甘肃省陇南市宕昌县南

河镇茹树村(34°6′25″N,104°11′6″E),于开花第10天挂牌、标记20株长势一致的健康羌活植株,之后每7d采摘1次,直至种子完全成熟。采摘后部分种子立即去除茎、秆等杂质,观测其鲜重和外部形态,余下种子置液氮罐带回存于-80℃冰箱,备用。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 种子千粒重

取样后,随机选取5朵花序剪散去茎,先称取鲜重后装布袋中置于室内阴凉通风干燥处阴干,再称取干重,计算其千粒鲜重、干重。

1.2.2 种子外部形态特征

取样后,随机选取10粒种子,用精确度为0.01mm的游标卡尺测量种子纵径、横径和厚度,果翅宽度、果翅厚度;用三恩时电脑色差仪(3nh-NH310)测量颜色参数。色差仪采用CIELAB($L^* a^* b^*$)系统,经白板校正后使用4mm测量口径,将种子覆满洁净平皿,使用直尺刮平表面后进行测量。其中, L^* 是颜色的明度, $L^*=0$ 为黑色, $L^*=100$ 为白色; a^* 为颜色的红绿值, a^* 值越大越偏红色,越小越偏绿色; b^* 为颜色的黄蓝值, b^* 值越大越偏黄色,越小越偏蓝色。 L^* 、 a^* 、 b^* 的色差值 ΔL^* 、 Δa^* 、 Δb^* 分别为其样品测定值与标样测定值之差,总色差(ΔE_{ab}^*)计算公式为: $\Delta E_{ab}^*=[(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2+(\Delta L^*)^2]^{1/2}$ 。以上测量重复3次,取3次结果平均值用于统计学分析。

1.2.3 种子生理生化指标

用考马斯亮蓝法^[13]测定羌活种子可溶性蛋白含量,用蒽酮比色法^[14]测定可溶性糖和淀粉含量,用淀粉-碘比色法^[15]测定 α -淀粉酶、 β -淀粉酶和总淀粉酶活性,用愈创木酚比色法测定过氧化物酶

(POD)活性,用 WST-1 法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性,用紫外分光光度法测定丙酮酸激酶(PK)活性^[16],用硫酸甲酯吩嗪反应法^[17]测定琥珀酸脱氢酶(SDH)活性,这 10 个指标均使用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定,试剂盒批号分别为 20230315、20230328、20230315、20230222、20230222、20230216 和 20230318。用酶联免疫法^[17]测定葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)活性、赤霉素(GA₃)含量、吲哚乙酸(IAA)含量、玉米素核苷(ZR)和脱落酸(ABA)含量,这 5 个指标均使用上海钦成生物科技有限公司的 ELISA 试剂盒测定,试剂盒批号均为 202302,并据此计算(GA₃+IAA)/ABA 比。每个处理重复测定 3 次,取平均值用于统计学分析。

1.3 数据统计和分析

用 Excel 2019 软件对所得数据进行整理、归纳和分析,用 IBM SPSS Statistics 22.0 软件进行单因素方差分析、多重比较、相关性分析,用 Graphpad 8.3 软件绘图。

2 结果与分析

2.1 羌活种子发育过程中形态学特征的变化

2.1.1 外观性状

随着羌活种子不断成熟,其纵径、横径和厚度均先升高后降低,并于花后第 38 天均达到最高,分别是 6.11, 4.83, 3.53 mm, 最终分别降低至 5.16, 3.34, 1.49 mm; 果翅宽度整体呈逐渐升高趋势,由 0.10 mm 大幅显著增加至 0.85 mm, 而果翅厚度在成熟过程中呈现交替升降变化趋势(表 1)。同时,羌活种子种皮色差 ΔL^* (明光度)、 Δa^* (红绿色度)、 Δb^* (黄蓝色度)、 ΔE_{ab}^* (总色差)变化范围分别为 43.63~51.90、(-5.58)~6.58、4.37~18.66 和 44.82~54.08, 整体呈升高趋势(表 2)。以上观测结果与随着种子成熟度升高,种皮亮度先降低后升高,颜色由绿转黄,种子整体由小且饱满的明亮蓝绿色转变成棱翅扩展、背腹压扁的暗黄色的形态发育变化相符(图 1)。

表 1 羌活种子形态发育动态

Table 1 Morphological changes in *N. incisum* seeds during development

开花后时间 Time after anthesis/d	纵径 Vertical diameter	横径 Horizontal diameter	厚度 Thickness	果翅宽度 Seed wing width	果翅厚度 Seed wing thickness
17	4.10±0.27a	2.90±0.31c	1.95±0.22bc	0.10±0.02e	0.11±0.03c
24	4.50±0.60a	3.74±0.13b	2.39±0.35b	0.38±0.10d	0.30±0.12a
31	5.84±0.33ab	4.53±0.44a	3.45±0.25a	0.35±0.14d	0.29±0.08a
38	6.11±0.43a	4.83±0.20a	3.53±0.39a	0.49±0.08cd	0.28±0.02ab
45	5.44±0.33bc	3.12±0.30c	1.56±0.23c	0.58±0.12bc	0.17±0.07abc
52	5.19±0.33c	3.20±0.27bc	1.60±0.28c	0.72±0.07ab	0.15±0.03bc
59	5.16±0.44c	3.34±0.16bc	1.49±0.21c	0.85±0.12a	0.20±0.07abc

注:同列不同小写字母表示种子发育期间在 0.05 水平存在显著差异。

Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among seed developmental periods at the 0.05 level.

表 2 羌活种子发育过程中种皮色差变化动态

Table 2 Difference of seed coat color during seed development of *N. incisum*

开花后时间 Time after anthesis/d	ΔL^*	Δa^*	Δb^*	ΔE_{ab}^*
17	51.70	-1.10	4.37	51.90
24	50.45	-5.58	18.66	54.08
31	45.48	6.58	13.77	47.97
38	43.63	6.01	8.31	44.82
45	44.56	5.87	10.16	46.08
52	51.90	5.13	12.57	53.64
59	48.71	5.11	11.21	50.24



图 1 羌活种子形态发育动态

Fig. 1 Dynamic changes of seed morphology of *N. incisum* during development

2.1.2 千粒重

在羌活种子发育过程中,其千粒干重、鲜重的变化趋势一致(表 3),整体均先升高后降低,但干重变化幅度低于鲜重。其中,种子干、鲜重均在花后 17~31 d 呈上升趋势,且在花后 24~31 d 均增加最快,推断此时应为种子干物质积累的主要时期。

表 3 羌活种子千粒重发育动态

Table 3 Dynamic changes of thousand-seed weight of *N. incisum* during development

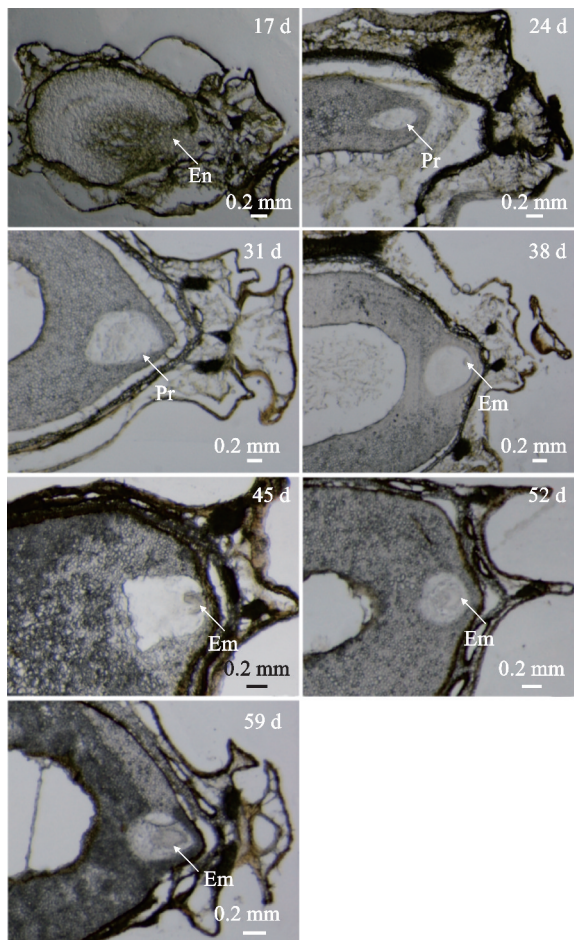
开花后时间 Time after anthesis/d	17	24	31	38	45	52	59
鲜重 Fresh weight/g	8.14±0.16c	8.42±0.54c	11.97±0.60a	11.07±0.69a	9.53±0.63b	5.23±0.39d	4.63±0.45d
干重 Dry weight/g	1.06±0.02e	1.46±0.10e	4.80±0.10a	3.13±0.19b	2.21±0.29d	2.70±0.20c	2.39±0.22cd

注:同行不同小写字母表示种子发育时期在 0.05 水平存在差异显著。

Note: Different normal letters in the same row indicate significant differences among developmental periods at the 0.05 level.

2.1.3 种胚大小

羌活种胚在种子形成初期时尚未形成,随着种子逐渐成熟,于花后 38 d 由原胚发育成 0.08 mm 的胚,而后逐渐变大,于花后 52 d 发育成 0.22 mm 的心形胚,于种子成熟(59 d)时发育成 0.35 mm 大小的心形胚前期,但仍未达到种子萌发所需种胚大小(图 2)。



En. 胚乳; Em. 种胚; Pr. 原胚。

图 2 羌活种子种胚发育动态

En, endosperm. Em, embryo. Pr, proembryo.

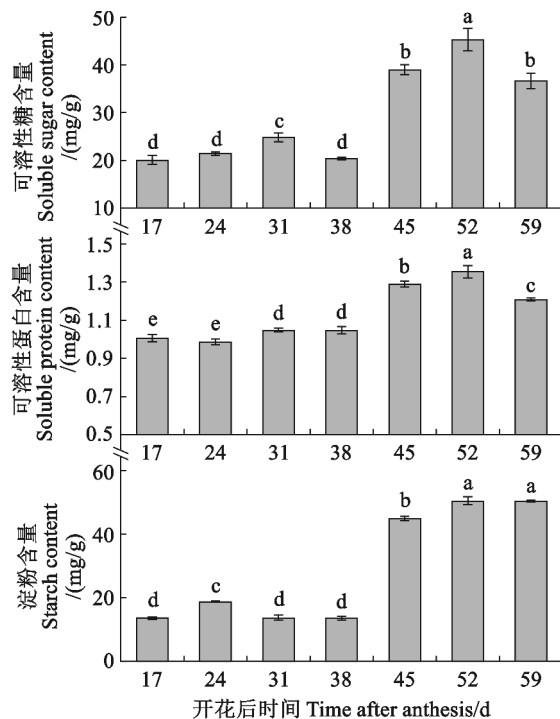
Fig. 2 Dynamics of seed embryo development in *N. incisum*

2.2 羌活种子发育过程中生理生化指标的变化

2.2.1 营养物质含量

在羌活种子发育过程中,其可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白质含量于花后 38~45 d 增幅最大(图 3),并在花后 52 d 时达到最高值,分别为 45.27, 50.47, 1.35 mg/g。

在花后 17~38 d,种子可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白含量有所波动且变化趋势各有不同,可溶性糖含量于 17~31 d 先升高后降低,淀粉含量小幅度波动并于花后 38 d 时最低,而可溶性蛋白含量在此期间总体呈升高趋势。



不同小写字母表示种子发育时期之间在 0.05 水平上差异显著。下同。

图 3 羌活种子营养物质含量随发育期的动态变化

Different normal letters indicate significant differences among developmental periods at the 0.05 level. The same as below.

Fig. 3 Dynamic changes of nutrient content in seeds of *N. incisum* during development

在花后 52~59 d,种子可溶性糖、淀粉和可溶性蛋白质含量均降低,比最高值(花后 52 d)分别降低 19.08%、0.60%、10.37%。以上结果说明羌活种子发育过程中各营养物质含量协同变化,总体均呈先升高后降低趋势。

2.2.2 相关酶活性

在羌活种子发育过程中,种子相关酶活性呈波动性变化(图 4)。其中,种子总淀粉酶、 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性均处于相对平稳的范围之中,且总淀粉酶和 α -淀粉酶活性变化始终未达到显著水平, β -淀粉酶活性先在花后 17~38 d 内持续降低至最低值(8.12 U/g),且降幅达显著水平,后又逐渐回升

至最初水平(8.89 U/g)。琥珀酸脱氢酶(SDH)活性处在 177.51~481.85 U/g 区间内,并呈不断升高趋势。葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)活性整体呈“W”形波动降低趋势,先在花后 17~31 d 降低,再于花后 38 d 升至最高值(22.53 U/g)后又降低,但活性变化始终未达到显著水平。丙酮酸激酶(PK)活性以“M”形波动,于花后 45 d 降至最低点并与其余时间段差异显著。过氧化物酶(POD)活性在 197.33~71.33 U/g 区间总体呈下降趋势,先在花后 24~38 d 显著低于初始值,再在花后 45~59 d 又比前一时间段大幅显著降低,且在各时间段内也多差异显著。

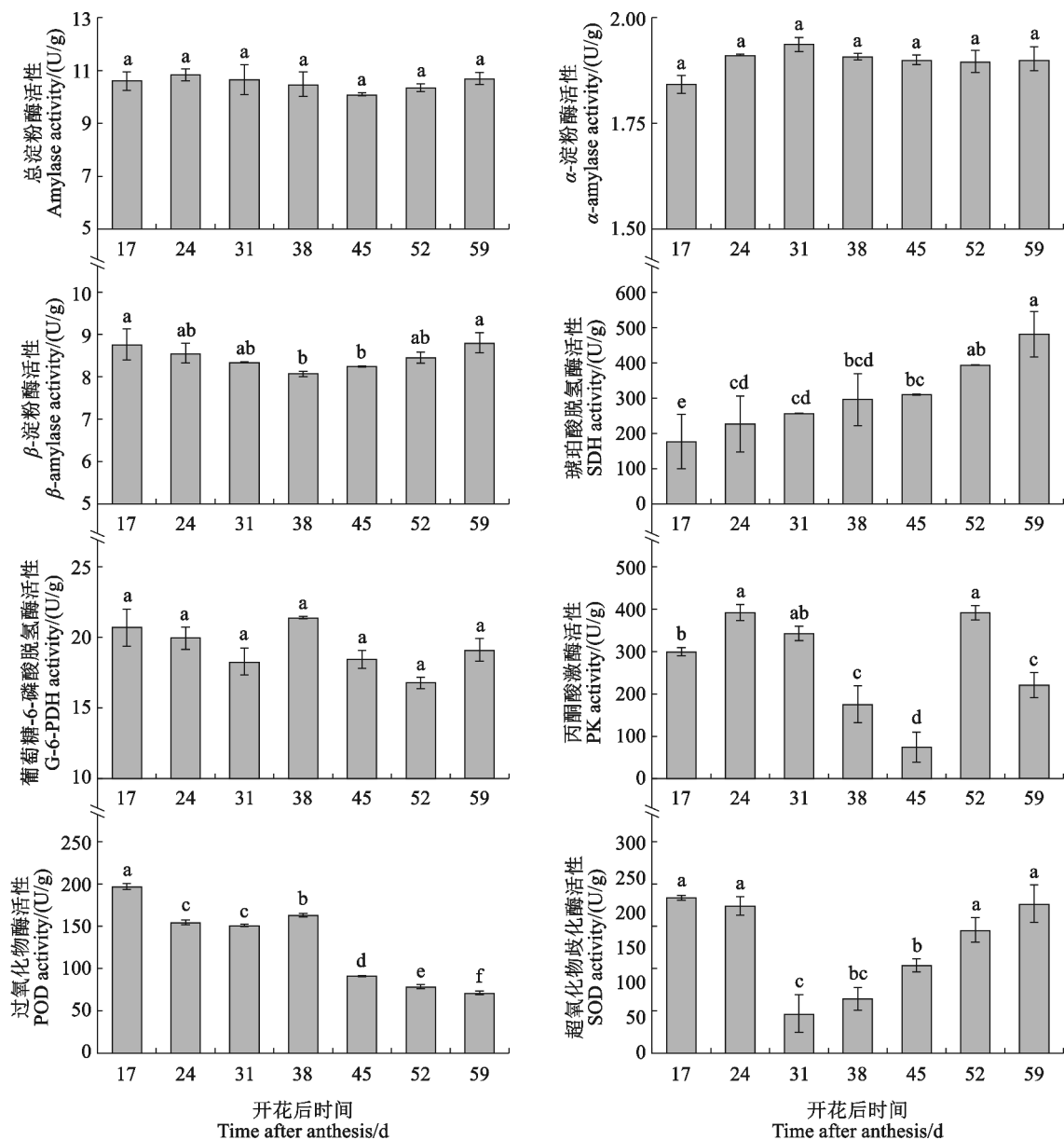


图 4 羌活种子相关酶活性在发育过程中的动态变化

Fig. 4 Dynamic changes of related enzyme activity of *N. incisum* during seed development

超氧化物歧化酶(SOD)活性整体呈先降后升的变化趋势,先在花后 17~31 d 呈下降趋势,其中花后 24~31 d 由 224.37 U/g 降至 97.03 U/g,降幅达 56.75%,随后逐渐上升直至种子完全成熟,并接近初始水平。

以上结果说明羌活种子发育过程中总淀粉酶、 α -淀粉酶和 β -淀粉酶活性在小范围内波动变化,抗氧化系统关键酶 SOD、POD 活性于种子发育初期较高,而呼吸途径关键酶活性波动变化亦反映了种子发育期间呼吸途径的改变。

2.2.3 内源性激素含量

羌活种子动态发育过程中内源性激素含量及其比值变化规律不尽相同(图 5)。其中,随着种子日趋成熟,内源 ABA 含量在 142.81~183.40 ng/g 区间内呈先降低后升高趋势,但各时期之间均无显著差异;内源 GA_3 含量呈现“W”形波动变化,先在开花后 17~31 d 和 45~52 d 期间均显著降低并达最低值,后在花后 31~45 d 期间显著升高,但各时期均比初始值不同程度降低,且大多达到显著水平;内源 IAA 含量在 666.65~536.71 ng/g 区间内表现出频繁的波动变化趋势,并在花后 17~24 d 期间降幅最大,显著降低 19.49%;内源 ZR 含量总体呈先升高后逐渐大幅降低趋势,并在花后 31 d 达到最高值(28.28 ng/g),在花后 59 d 达到最低值(8.65 ng/g),最高值是最低值的 3.27 倍。另外,内源性激素含量比值 $[(GA_3+IAA+ZR)/ABA]$ 整体表现出先升后降的趋势,在花后 31 d 达到最大值,在花后 59 d 达到最小值,且两者之间差异显著,而在花后 17~45 d 之间均无显著差异。

以上结果说明羌活种子发育过程中各激素含量波动变化,于种子发育前期促生长激素 GA_3 、IAA 和 ZR 含量均处于高位,于种子成熟时 ZR 含量大幅回落,ABA 含量升至最高。

2.3 羌活种子形态指标与生理生化指标相关性分析

各形态指标与生理生化指标相关性分析结果(表 4)表明,在羌活种子发育过程中,种子 SOD 活性与其纵径、横径、果翅厚度、千粒干重、千粒鲜重,以及 ZR 含量与种子纵径、果翅宽度均呈极显著负相关;贮藏营养物质(淀粉、可溶性糖、蛋白质)含量与种子厚度也均呈极显著负相关,与果翅宽度呈极显著正相关;而 POD 活性与种子厚度呈极显著正相关,与果翅宽度呈极显著负相关。

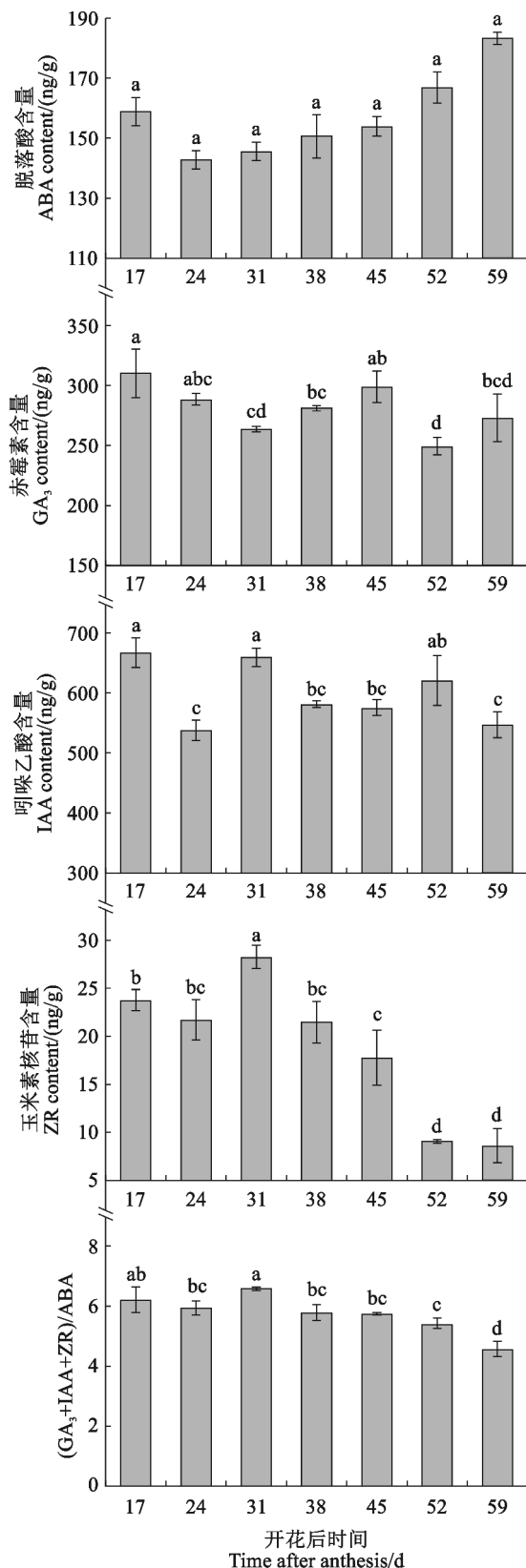


图 5 羌活种子内源激素含量及其比值在发育过程中的动态变化

Fig. 5 Dynamic changes of endogenous hormone content and their ratio in seeds of *N. incisum* during development

表 4 羌活种子发育过程中各形态指标与其生理生化指标间相关系数

Table 4 Correlation coefficients among physiological and biochemical indicators and morphological indicators of

N. incisum seeds during development

指标 Indicator	种子纵径 Seed vertical diameter	种子横径 Seed horizontal diameter	种子厚度 Seed thickness	果翅宽度 Seed wing width	果翅厚度 Seed wing thickness	千粒鲜重 Dry weight per thousand seed	千粒干重 Fresh weight per thousand seed
淀粉含量 Starch content	-0.009	-0.520 *	-0.789 **	0.817 **	-0.379	-0.752 **	-0.151
可溶性糖含量 Soluble sugar content	0.155	-0.431	-0.664 **	0.757 **	-0.356	-0.615 **	0.061
可溶性蛋白含量 Soluble protein content	0.231	-0.398	-0.611 **	0.722 **	-0.350	-0.524 *	0.069
SOD 活性 SOD activity	-0.748 **	-0.749 **	-0.635 **	0.098	-0.275	-0.766 **	-0.815 **
POD 活性 POD activity	-0.264	0.292	0.583 **	-0.899 **	0.152	0.598 **	-0.124
α -淀粉酶活性 α -amylase activity	0.362	0.333	0.230	0.177	0.300	0.211	0.402
β -淀粉酶活性 β -amylase activity	-0.407	-0.595 *	-0.523 *	-0.004	-0.619 **	-0.564 *	-0.388
总淀粉酶活性 Amylase activity	-0.465	-0.351	-0.535 *	-0.296	-0.604 *	-0.366	-0.262
PK 活性 PK activity	-0.417	-0.138	-0.150	-0.270	-0.147	-0.432	-0.571 *
G-6-PDH 活性 G-6-PDH activity	-0.163	0.175	0.272	-0.272	0.291	0.082	0.041
SDH 活性 SDH activity	0.302	-0.097	-0.382	0.731 **	-0.122	-0.498 *	0.160
ZR 含量 ZR content	-0.713 **	-0.317	-0.147	-0.662 **	-0.048	-0.539 *	-0.294
ABA 含量 ABA content	0.395	0.036	-0.007	0.488	0.044	-0.054	0.201
GA ₃ 含量 GA ₃ content	-0.221	0.095	0.364	-0.358	0.067	-0.077	-0.172
IAA 含量 IAA content	-0.263	-0.087	-0.113	-0.566 *	-0.262	0.120	-0.118
(GA ₃ +IAA+ZR)/ABA	-0.598 *	-0.124	0.065	-0.695 **	0.027	-0.418	-0.303

注: * 表示显著相关性($P < 0.05$), ** 表示极显著相关性($P < 0.01$)。Note: * means significant correlation ($P < 0.05$), while ** mean extremely significant correlation ($P < 0.01$).

3 讨 论

花后种子生长发育过程中,其纵径、横径、厚度等指标能够反映种子外形变化趋势,并与种子的生存能力、萌发速率和环境适应性息息相关。种子大小和形状可能影响其在土壤中的埋藏深度和分布,从而影响其暴露于适宜萌发条件的可能性^[18]。千粒重能够体现种子大小与饱满程度、种质资源的遗传多样性、种子遗传和播种品质的优劣。农业上有研究表明,千粒重的多样性越高,其遗传多样性分析中的变异系数越大^[19]。在一些环境条件下,千粒重较大的种子可能拥有更高的成活率。在植物育种和生态研究中,通过形态特征变化可以更好地揭示种子的生态策略、繁殖成功率以及种子与环境之间的相互作用。在本研究中,在羌活种子发育初期,果翅厚而窄,种子小而富含水分,外种皮为明亮的蓝绿色;随着干物质持续积累,千粒干、鲜重逐渐升高,种子膨胀变大,其纵径、横径和厚度升高,果翅宽度延展,外种皮向暗黄色过渡;蛋白质、脂肪持续合成并

存储于胚乳中。胚乳作为被子植物种子中独有的组织,其主要作用是以淀粉、蛋白质等形式为发育中的胚胎提供养分,此时羌活种子胚以原胚形式存在,种胚尚未形成,可能是因为胚乳在种子发育中是一个自发形成的过程,胚胎发育独立于胚乳^[20]。于花后 38 d 时,羌活种子整体脱水变小,果翅宽度进一步延展,果翅厚度略有降低,其千粒鲜重、干重降低,胚长成,此时外种皮颜色由绿转黄,这可能是羌活胚开始形成的外部指标;于花后 45 d 时,羌活种子形态由饱满膨胀向成熟形态转变,果翅主棱扩展、背腹压扁,种胚发育成心形胚前期;于种子成熟时,种胚发育仍为心形胚前期,此时仍未达到萌发所需种胚大小。

活性氧(ROS)参与调控细胞生长、新陈代谢及其程序性死亡,在植物体内处于动态平衡状态。当植物生长过程中受到环境胁迫时由于氧化应激反应会产生大量 ROS,引起膜脂过氧化,打破植物生理动态平衡^[21]。SOD 和 POD 作为植物体内清除 ROS 的抗氧化酶,可增强植物在逆境胁迫下的耐受能力。本研究发现,羌活种子发育过程中,其 SOD 活性在

种子发育初期处于高位状态,呈先降低后升高的“V”字形变化趋势,这与北五味子^[22]发育动态中SOD活性变化趋势相一致。这可能是随着生境温度升高,植株受到高温干旱复合胁迫,植物通过调节SOD活性提升自身抗逆性。本研究中花后31d时,羌活种子千粒干重、鲜重均出现下降拐点,此时种子正处于脱水状态,同时伴随胁迫程度加深,抗氧化系统(AOS)到达阈值^[23],SOD活性降至最低点(97.03 U/g),而后逐渐升高,这与四季桂^[24]、枸橼^[25]对高温干旱胁迫的响应特征一致,可能是植物通过SOD缓解ROS损害能力有限。同时,POD通过消除SOD歧化反应产生的H₂O₂协助维持植物体内正常的ROS水平,降低AOS损伤。在羌活花后31~38d,其种子POD活性略有上升,随后显著下降,可能是在清除ROS过程中SOD歧化反应产生的H₂O₂抑制了POD活性^[26],这与毛竹^[27]、白花桔梗^[28]发育动态中POD活性变化规律相一致。

丙酮酸激酶(PK)能够调控细胞代谢和ATP生成,影响种内物质参与其发育与形成,亦是调控糖酵解途径(EMP)的关键限速酶^[29],琥珀酸脱氢酶(SDH)及葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G-6-PDH)分别参与三羧酸循环途径(TCA)和磷酸戊糖途径(PPP),三者均能在一定程度上反映呼吸途径的活化水平,种子休眠主要受呼吸途径中EMP-TCA(糖酵解-三羧酸循环)和PPP途径调节。羌活开花后24d,其种子中PK与G-6-PDH活性处于相对高位,以EMP和PPP途径为主要呼吸代谢途径;花后38d,羌活种子G-6-PDH活性达到相对最高水平,SDH与PK活性仍相对较低,呼吸代谢途径转为以PPP途径为主;花后59d,羌活种子SDH活性升至最高值(481.85 U/g),PK活性降至222.17 U/g,呼吸代谢途径由PPP途径为主转为以TCA途径为主,呼吸途径的转变促使羌活成熟种子进入休眠状态。

植物激素对种子品质具有重要调控作用,且不同植物激素所发挥的作用及其机制亦不相同,激素相对含量和绝对含量不仅能影响种子休眠和萌发,亦能调节植物生长进程快慢^[30-31]。GA₃、ABA、IAA是三大经典植物激素^[32]。赤霉素(GA₃)隶属双萜类化合物,为植物生长发育过程中必需的植物激素之一,不仅参与调控种子萌发和果实发育,亦能调节植物茎秆增长、生根开花等,其中GA₃是生物活性最高的类型之一,能解除种子休眠,促进萌发^[33]。在本研究羌活种子发育过程中,GA₃含量有2个高

点,分别是开花后17d、45d,此时分别为种子形成初期和即将成熟阶段,高GA₃含量能增强植物的呼吸强度^[34],加速果实生长;当种子趋于成熟,GA₃含量回到高位,抑制果实成熟和衰老。ABA和GA₃是调节种子休眠与萌发的关键因素且两者互为拮抗,GA₃促进种子萌发,ABA诱导种子休眠^[35],在羌活种子发育过程中,高水平ABA首先出现在种子形成初期,其主要来源可能是植物母体,伴随种子逐渐成熟,ABA含量先降低后升高,这与‘紫梗籽银桂’^[36]种子成熟时ABA含量较高的结果相一致,此时种子内ABA来源由母体转为合子组织合成,高水平的ABA亦诱导羌活种子产生休眠、维持胚的状态和阻止种子萌发。另外,亦有研究发现,ABA含量分别与胚率和发芽率呈显著和极显著负相关^[6]。生长素是植物激素家族中最早被发现的成员,IAA是天然植物生长素的主要活性成分之一^[30],由植物娇嫩部位合成,具有调控植物种子胚胎发育等功能。本研究发现,羌活种子发育过程中,种子内IAA含量于花后24~31d增幅较大,同时种子千粒重以0.51 g/d增速显著升高,这是因为内源IAA可有效增加种子大小^[37],亦有研究发现外源喷洒IAA可促进细胞胚胎发育和细胞壁合成^[38]。羌活种子发育后期,IAA含量降低,亦诱导羌活种子休眠机制形成,这与贾冬冬等^[27]关于毛竹种子发育过程中IAA含量的研究结果相一致。玉米素核苷(ZR)是细胞分裂素之一,主要由根部合成。羌活种子发育过程中,ZR含量较ABA、IAA和GA₃含量低,且整体呈下降趋势,这与梁艳等^[39]红松种子的相关研究结果一致。在开花后24~31d羌活种子ZR含量升高,促进细胞分裂,同时种子长、宽、厚和千粒干重、鲜重均显著升高,此阶段为羌活种子快速生长期,此后随着种子生长速率的降低,其ZR含量回落。

4 结 论

(1)羌活种子发育过程中,种子大小、千粒重均先升后降,外种皮颜色由明亮的蓝绿色转为黄褐色,种胚发育至心形胚前期,但未完全发育成熟。

(2)种子中贮藏物质含量升高,淀粉酶、抗氧化酶、呼吸酶活性波动变化,于种子成熟时,呼吸途径改变促使种子进入休眠。

(3)种子内以GA₃、IAA、ZR为代表的促生长激素含量波动降低,以ABA为主的胁迫激素含量升高,两类激素共同影响羌活种子的发育进程。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部): 2020年版[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 190-191.
- [2] 时博, 史晶晶. 羌活药性及功效应用考证[J]. 中医学报, 2017, 32(7): 1239-1241.
SHI B, SHI J J. Textual research on application of the drug properties of *Notopterygium* root and its effect[J]. *Acta Chinese Medicine*, 2017, 32(7): 1239-1241.
- [3] 张英秀, 张剑光, 哈马莫支阿木, 等. 羌活抗炎质量标志物的挖掘及资源评价[J]. 中草药, 2023, 54(2): 652-662.
ZHANG Y X, ZHANG J G, Hamamozhiam, et al. Excavation and resource evaluation of anti-inflammatory quality markers of *Notopterygium Rhizoma et Radix*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(2): 652-662.
- [4] 欧阳辉发, 王友琴, 赵淋仙, 等. 濒危药材羌活化学成分、药理作用、药代动力学研究进展及其应用分析[J]. 中药与临床, 2023, 14(4): 105-111.
OUYANG H F, WANG Y Q, ZHAO L X, et al. Research progress and application analysis of chemical constituents, pharmacological effects, and pharmacokinetics of the endangered medicinal material *Notopterygium Rhizoma et Radix*[J]. *Pharmacy and Clinics of Chinese Materia Medica*, 2023, 14(4): 105-111.
- [5] ZHENG X K, WEN R, LIU Y N, et al. Nitric oxide inhibitory phenolic constituents isolated from the roots and rhizomes of *Notopterygium incisum*[J]. *Bioorganic Chemistry*, 2022, 128: 106060.
- [6] 张娟, 其乐木格, 段海婧, 等. 层积过程中羌活种子胚形态及生理生化变化[J]. 植物资源与环境学报, 2023, 32(1): 61-68.
ZHANG J, Qilemuge, DUAN H J, et al. Embryo morphology and physiological and biochemical variations of *Notopterygium incisum* seeds during stratification [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2023, 32(1): 61-68.
- [7] 王红兰, 杨萍, 孙辉, 等. 羌活野生和栽培产地土壤水力学性质的对比研究[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(16): 3805-3811.
WANG H L, YANG P, SUN H, et al. Comparison of soil hydraulic properties in wild and cultivated areas of *Notopterygium incisum*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45(16): 3805-3811.
- [8] 贾鑫, 张美茜, 李颖, 等. 芍药种子萌发抑制物活性研究及抑制物消除方法探究[J]. 中药材, 2021, 44(11): 2511-2515.
JIA X, ZHANG M Q, LI Y, et al. Study on the activity of seed germination inhibitors of *Paeonia lactiflora* and the methods of eliminating inhibitors[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2021, 44(11): 2511-2515.
- [9] 廉婧, 张超, 华悦, 等. 不同规格羌活微型饮片质量评价[J]. 中成药, 2022, 44(3): 856-863.
LIAN J, ZHANG C, HUA Y, et al. Quality evaluation for differently sized fine slice of *Notopterygium Rhizoma et Radix*[J]. *Chinese Traditional Patent Medicine*, 2022, 44(3): 856-863.
- [10] 马丽梅, 杨军丽. 羌活药材的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中草药, 2021, 52(19): 6111-6120.
MA L M, YANG J L. Research progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Notopterygium Rhizoma et Radix*[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2021, 52(19): 6111-6120.
- [11] 赵文龙, 其乐木格, 张晶晶, 等. 基于3种疼痛病的羌活组方用药规律多维度分析[J]. 中草药, 2023, 54(2): 608-619.
ZHAO W L, Qilemuge, ZHANG J J, et al. Multidimensional analysis on medication rule of prescriptions containing *Notopterygium Rhizoma et Radix* based on three kinds of pain diseases[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2023, 54(2): 608-619.
- [12] 刘文武, 蒋晓文, 张帅, 等. 羌活中香豆素类化学成分及其抗氧化活性研究[J]. 中草药, 2019, 50(6): 1310-1315.
LIU W W, JIANG X W, ZHANG S, et al. Chemical constituents of coumarins compounds from *Notopterygium incisum* and their antioxidant activity[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2019, 50(6): 1310-1315.
- [13] 普甜, 栗宏林, 王娟, 等. 珍稀濒危植物蒜头果种子萌发特征与幼苗类型的研究[J]. 西北植物学报, 2023, 43(2): 242-254.
PU T, LI H L, WANG J, et al. Seed germination characteristics and seedling types of *Malania oleifera*, a rare and endangered plant[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(2): 242-254.
- [14] 师亚婷, 单立山, 解婷婷, 等. 干旱胁迫下红砂幼苗非结构性碳水化合物动态变化特征[J]. 西北植物学报, 2023, 43(1): 116-126.
SHI Y T, SHAN L S, XIE T T, et al. Dynamic changes of non-structural carbohydrate in *Reaumuria soongorica* seedlings under drought stress[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(1): 116-126.
- [15] 任晓亮, 黄东晨, 谷明远, 等. 平茬高度对香椿生长及其光合特性和非结构性碳水化合物含量的影响[J]. 西北植物学报, 2023, 43(4): 648-655.
REN X L, HUANG D C, GU M Y, et al. Growth and photosynthetic characteristics and non-structural carbohydrate content of *Toona sinensis* under different stubble height[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2023, 43(4): 648-655.
- [16] 苏海兰, 周先治, 李希, 等. 七叶一枝花种子萌发不同阶段生理生化变化研究[J]. 中草药, 2017, 48(22): 4755-4763.
SU H L, ZHOU X Z, LI X, et al. Physicochemical changes of *Paris polyphylla* var. *chinensis* seed during different stages of germination [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2017, 48(22): 4755-4763.
- [17] 久西加, 杜毅, 陈红刚, 等. 桃儿七种子低温层积过程中胚形态及生理生化物质变化[J]. 西北植物学报, 2021, 41(12): 2096-2103.
JIU X J, DU T, CHEN H G, et al. Changes of embryo morphology, physiology and biochemistry during low temperature stratification of *Sinopodophyllum hexandrum* seeds [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2021, 41(12): 2096-2103.
- [18] 薛国连, 郭小平, 薛东明, 等. 不同表土覆盖方式对种子库活力的影响[J]. 北京林业大学学报, 2022, 44(4): 86-94.
XUE G L, GUO X P, XUE D M, et al. Effects of different

- topsoil covering modes on seed bank vitality[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2022, 44(4): 86-94.
- [19] 常宏兵, 王晨, 何美敬, 等. 60份玉米种质资源遗传多样性分析[J]. *草地学报*, 2024, 32(4): 1162-1168.
CHANG H B, WANG C, HE M J, *et al.* Genetic diversity analysis of 60 maize germplasm resources[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, 32(4): 1162-1168.
- [20] XIONG H X, WANG W, SUN M X. Endosperm development is an autonomously programmed process independent of embryogenesis[J]. *The Plant Cell*, 2021, 33(4): 1151-1160.
- [21] LUO X M, XU N, HUANG J K, *et al.* A lectin receptor-like kinase mediates pattern-triggered salicylic acid signaling[J]. *Plant Physiology*, 2017, 174(4): 2501-2514.
- [22] 文湘穗, 王雨濛, 张誉莽, 等. 北五味子种子发育过程生理生化分析[J]. *分子植物育种*, 2022, 20(1): 303-309.
WEN X S, WANG Y M, ZHANG Y Q, *et al.* Physiological and biochemical analysis of *Schisandra chinensis* during seed development periods[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(1): 303-309.
- [23] 冯晓敏, 张永清. 水分胁迫下不同耐旱性糜子叶片保护酶活性及膜脂过氧化特性[J]. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(1): 200-207.
FENG X M, ZHANG Y Q. Characteristics of protective enzyme activities and lipid peroxidation in broomcorn millet leaves under soil water stress[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2019, 37(1): 200-207.
- [24] 许馨露, 李丹丹, 马元丹, 等. 四季桂抗氧化防御系统对干旱、高温及协同胁迫的响应[J]. *植物学报*, 2018, 53(1): 72-81.
XU X L, LI D D, MA Y D, *et al.* Responses of the antioxidant defense system of *Osmanthus fragrans* cv. 'Tianxiang Taige' to drought, heat and the synergistic stress[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2018, 53(1): 72-81.
- [25] 吴永波, 叶波. 高温干旱复合胁迫对构树幼苗抗氧化酶活性和活性氧代谢的影响[J]. *生态学报*, 2016, 36(2): 403-410.
WU Y B, YE B. Effects of combined elevated temperature and drought stress on antioxidative enzyme activities and reactive oxygen species metabolism of *Broussonetia papyrifera* seedlings[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(2): 403-410.
- [26] 甘倩倩, 杨萍, 王红兰, 等. 羌活种子发育过程中形态及生理生化特征研究[J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(2): 354-360.
GAN Q Q, YANG P, WANG H L, *et al.* Morphological and biochemical characterization during seed development of *Notopterygium incisum*[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2024, 49(2): 354-360.
- [27] 贾冬冬, 李在留, 郑云丽, 等. 毛竹种子发育过程中形态和生理特性变化[J]. *中南林业科技大学学报*, 2024, 44(1): 79-88.
JIA D D, LI Z L, ZHENG Y L, *et al.* Changes in morphological and physiological characteristics of *Phyllostachys edulis* seeds during development[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2024, 44(1): 79-88.
- [28] 张新静, 于营, 雷慧霞, 等. 桔梗种子发育过程中外观形态及生理生化的变化[J]. *种子*, 2018, 37(8): 36-40.
ZHANG X J, YU Y, LEI H X, *et al.* Morphological, physiological and biochemical changes of *Platycodon grandiflorum* seeds during seed development[J]. *Seed*, 2018, 37(8): 36-40.
- [29] CAI Y C, LI S F, JIAO G A, *et al.* OsPK2 encodes a plastidic pyruvate kinase involved in rice endosperm starch synthesis, compound granule formation and grain filling[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2018, 16(11): 1878-1891.
- [30] 黎家, 李传友. 新中国成立70年来植物激素研究进展[J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 49(10): 1227-1281.
LI J, LI C Y. Seventy-year major research progress in plant hormones by Chinese scholars[J]. *Scientia Sinica (Vitae)*, 2019, 49(10): 1227-1281.
- [31] 陈红刚, 赵文龙, 晋玲, 等. 红花绿绒蒿种子休眠解除的生理生化响应[J]. *草地学报*, 2023, 31(12): 3697-3705.
CHEN H G, ZHAO W L, JIN L, *et al.* Physiological and biochemical responses of *Meconopsis punicea* Maxim. to dormancy release[J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, 31(12): 3697-3705.
- [32] 李合生. *现代植物生理学*[M]. 2版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [33] LIU X, HOU X L. Antagonistic regulation of ABA and GA in metabolism and signaling pathways[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 251.
- [34] 李凤玲, 陈季楚, 赵毓橘. 赤霉素和光对拟南芥种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *植物生理学报*, 2000, 26(2): 101-104.
LI F L, CHEN J C, ZHAO Y J. Effects of gibberellin and light on seed germination and seedling growth of *Arabidopsis* [J]. *Acta Photophysiological Sinica*, 2000, 26(2): 101-104.
- [35] KANNO Y, JIKUMARU Y, HANADA A, *et al.* Comprehensive hormone profiling in developing *Arabidopsis* seeds: Examination of the site of ABA biosynthesis, ABA transport and hormone interactions[J]. *Plant & Cell Physiology*, 2010, 51(12): 1988-2001.
- [36] 朱永莉, 沈永宝. '紫梗杉银桂'种子发育过程中内源激素含量的动态变化研究[J]. *林业科学研究*, 2023, 36(6): 144-150.
ZHU Y L, SHEN Y B. Changes of endogenous hormone contents in seed development of *Osmanthus fragrans* 'Zigengziyingui'[J]. *Forest Research*, 2023, 36(6): 144-150.
- [37] 刘洋, 肖文惠, 蔡文璐, 等. 植物激素对水稻籽粒灌浆、粒重与品质的调控作用研究进展[J]. *中国稻米*, 2023, 29(3): 9-14.
LIU Y, XIAO W H, CAI W L, *et al.* Advances in studies on the roles of plant hormones in grain filling, grain weight and quality of rice[J]. *China Rice*, 2023, 29(3): 9-14.
- [38] 岳贺伟, 李连珍, 王雨情, 等. IAA对黄精种子萌发及生理特性的影响[J]. *河南农业科学*, 2023, 52(3): 64-72.
YUE H W, LI L Z, WANG Y Q, *et al.* Effect of IAA on seed germination and physiological characteristics of *Polygonatum sibiricum* Red. [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2023, 52(3): 64-72.
- [39] 梁艳, 沈海龙, 高美玲, 等. 红松种子发育过程中内源激素含量的动态变化[J]. *林业科学*, 2016, 52(3): 105-111.
LIANG Y, SHEN H L, GAO M L, *et al.* Content dynamics of endogenous hormones in different seed developmental stages of Korean pine[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2016, 52(3): 105-111.