

下降,传统在开花前采挖,是有一定科学道理的。

3.4 多年来,各栽培基地一直认为肉苁蓉的栽培环境、生长习性与野生品没有明显区别,其质量也不会明显的变化,因此只重视产量,未对质量进行分析。本研究结果表明,栽培管花肉苁蓉的有效成分含

量明显低于野生品,因此在栽培技术上仍须研究,提高有效成分的含量。

Reference:

- [1] Tu P F, Wang B, Deyama T, et al. Analysis of phenylethanoid glycosides of *Herba Cistanchis* by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(4): 294-300

肉苁蓉花粉生活力测定研究

牛东玲^{1,2}, 宋玉霞^{1X}, 郭生虎¹, 高晓原¹, 马洪爱¹, 郑国琦^{1,2}

(1. 宁夏农业生物技术重点实验室, 宁夏 银川 750002; 2. 宁夏大学生命科学学院, 宁夏 银川 750021)

摘要: **目的** 了解肉苁蓉花粉在自然条件下的寿命。**方法** 采用花粉离体萌发法,对自然生长的肉苁蓉花粉生活力进行测定研究。**结果** 肉苁蓉花粉萌发的最佳条件为初花期花粉,在恒温 25℃,以 0.6% 琼脂+ 10% 蔗糖+ 0.1% 硼酸为离体培养基进行培养,有利于花粉的萌发和花粉管的生长;低温(4℃)条件下可进行短期的花粉贮藏,延长花粉的寿命。**结论** 为采用肉苁蓉花粉进行优良种质资源的保存和人工育种工作提供了理论依据。

关键词: 肉苁蓉; 花粉萌发; 生活力

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)06-0679-04

Studies on pollen viability of *Cistanche deserticola*

NIU Dong-ling^{1,2}, SONG Yu-xia¹, GUO Sheng-hu¹, GAO Xiao-yuan¹, MA Hong-ai¹, ZHENG Guo-qi^{1,2}

(1. Ningxia Agricultural Biotechnological Key Laboratory, Yincuan 750002, China;

2. School of Life Science, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: **Object** To understand pollen life of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma in natural conditions.

Methods To determine pollen viability of *C. deserticola* in natural state by pollen germination method in vitro. **Results** The optimum conditions of *C. deserticola* pollen germination are pollens in primary flowering time and a culture medium with 0.6% agar + 10% sucrose + 0.1% boric acid, cultured in 25℃, which is benefit to pollen germination and pollen tube growth; low temperature (4℃) is benefit to pollen short-dated storage and can prolong pollen life. **Conclusion** The study provides a theoretical basis for conserving better seed resources and artificial cultivating by pollen of *C. deserticola*.

Key words: *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; pollen germination; viability

肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 又名大芸、苁蓉、荒漠肉苁蓉,为列当科肉苁蓉属多年生寄生草本植物,以肉质茎入药,是我国沙漠地区特有的名贵药材^[1]。由于肉苁蓉的寄生生长特性及近年来的过度采挖,致使野生资源日趋减少,已被列为国家二级珍稀濒危保护植物^[2~4],因而保护和扩大肉苁蓉种质资源的研究工作尤为重要。有关植物种质资源保存的方法主要有种植保存、贮藏保存、试管保存等^[5]。花粉是种子植物的雄配子体,在有性繁殖中发挥着重要作用,利用花粉进行种质资源的贮藏保存

是非常重要的手段之一。目前有关肉苁蓉人工种植成功已有报道^[6,7],这为创造优良肉苁蓉种质资源,对其进行人工育种奠定了基础。而花粉生活力又是人工辅助授粉成败的关键因素,为此对野生肉苁蓉的花粉进行了生活力的测定研究,以期对肉苁蓉优良种质资源的保存和人工育种工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料: 试验所用肉苁蓉的花粉于 2003 年 5 月中旬采自内蒙古阿拉善盟阿拉善左旗苏海图苏木荒漠生境中自然生长的开花期肉苁蓉植株上,分别采

X 收稿日期: 2003-11-19

基金项目: 国家自然科学基金项目(30260008); 宁夏自然科学基金项目(C123)

作者简介: 牛东玲(1973—),女,讲师,硕士,2001年毕业于中国科学院西北高原生物研究所,主要从事植物学和药用植物学方面的教学与科研工作。

* 通讯作者 E-mail: songyx666@163.com

集花蕾期、初花期和盛花期花粉进行试验。

1.2 方法: 采用花粉离体萌发法测定花粉生活力^[8]。

花粉的采集: 花蕾期花粉, 同花蕾一起采集, 装入磨口瓶中密封保存; 初花期花粉, 剥取初放或含苞待放花的尚未开裂的花药, 装入磨口瓶中密封带回室内, 在室内自然阴干, 待花粉散出后收集花粉; 盛花期花粉, 采集已开放 3 d 花的花药, 装入磨口瓶中密封带回室内。

花粉生活力测定: 以 0.6% 琼脂为基本培养基, 分别添加不同浓度的蔗糖、硼酸, 然后接种处于不同花期、不同贮藏条件下的花粉, 在人工控温培养箱中, 选择不同温度进行培养, 每个处理重复 3 次, 在 Leica 光学显微镜下观察并统计花粉萌发率。肉苁蓉花粉在培养 5 h 后, 萌发率基本达到稳定, 本试验以培养 5 h 后统计的萌发率为最终萌发率。

2 结果与分析

2.1 花粉的形态: 在光学显微镜下观察肉苁蓉干燥的花粉粒, 该花粉为长椭圆形, 为三沟花粉, 沟长近到两极。花粉吸水后变为圆球形, 极面观为三裂片圆形。又据张志耘扫描电镜研究报告, 肉苁蓉花粉大小约为 24.0~30.6 Lm×17.0~22.7 Lm, 外壁具瘤状突起和细网状纹饰^[9]。

2.2 花粉生活力测定: 花粉萌发率是鉴定花粉生活力的一项重要指标, 萌发率的高低除了和花粉本身的质量有关外, 还与萌发时的环境条件密切相关, 如培养温度、营养物质、矿质元素等。

2.2.1 不同花期花粉的萌发: 将采集的处于不同花期的肉苁蓉的花粉, 分别接种于 0.6% 琼脂+ 10% 蔗糖+ 0.1% 硼酸的培养基上, 在 25 °C 培养箱中进行暗培养, 5 h 后统计花粉萌发率, 结果见表 1。

表 1 不同花期花粉萌发率

Table 1 Pollen germination rate of different florescence

花 期	花粉萌发率/ %	花药形态
花蕾期	75.2	幼嫩, 药室尚未开裂
初花期	93.6	膨大饱满, 药室刚刚开裂
开放 3 d 的花	40.8	药室已完全开裂, 花粉大部分消失

初花期花粉的萌发率高达 93.6%, 明显高于花蕾期和已开放 3 d 花的花粉萌发率, 而且初花期花粉萌发速度较快, 花粉管生长迅速。处于花蕾期的花粉因在采收时尚未完全成熟, 萌发率低于初花期花粉萌发率, 为 75.2%。已开放 3 d 的花, 药室已完全开裂, 花粉受自然环境的影响, 萌发率降低, 仅为 40.8%。因而要进行肉苁蓉花粉贮藏, 应在保证花粉生活力最高时进行采集, 肉苁蓉花初放时采集花粉为最佳时期。

2.2.2 不同蔗糖浓度下花粉的萌发: 以 0.6% 琼脂+ 0.1% 硼酸为基本培养基, 分别添加 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40% 的蔗糖, 接种初花期花粉, 在 25 °C 恒温培养箱中暗培养, 每隔一段时间统计一次花粉萌发率, 结果见表 2。

不同蔗糖浓度对肉苁蓉花粉的萌发率和萌发速度均有影响, 花粉最终的萌发率随蔗糖浓度的增加而呈下降的趋势。当培养基中蔗糖浓度为 10% 时, 花粉萌发率达到最高, 为 94.2%。当蔗糖浓度超过 10% 时, 萌发率随蔗糖浓度的增大而下降。当蔗糖浓度达到 40% 时, 萌发率仅为 6.5%。在培养 1 h 后, 花粉萌发速度随蔗糖浓度的增加而有差异, 在蔗糖浓度为 15% 时, 花粉萌发速度最快, 萌发率可达 51.0%。当蔗糖浓度超过 30% 时, 花粉萌发速度则明显下降。

表 2 不同蔗糖浓度对花粉萌发的影响

Table 2 Effect of different sucrose concentration on pollen germination

蔗糖浓度/ %	不同时间萌发率/ %		
	1 h	3 h	5 h
10	30.0	81.0	94.2
15	51.0	79.1	87.0
20	49.0	76.4	79.7
25	49.8	70.9	76.7
30	44.8	55.5	57.9
35	0.0	0	20.0
40	0.0	0	6.5

2.2.3 不同培养温度下花粉的萌发: 以 0.6% 琼脂+ 10% 蔗糖+ 0.1% 硼酸为基本培养基, 接入在 4 °C 冰箱中贮藏 6 d 的初花期花粉, 分别在 10 °C, 15 °C, 25 °C, 30 °C, 37 °C 进行恒温培养, 并将一部分接种的花粉进行低温 (4 °C) 1 h 和高温 (37 °C) 1 h 交替变温处理培养, 每隔一段时间统计一次花粉萌发率, 最终以 5 h 后统计的结果为准, 结果见表 3。

表 3 不同温度对花粉萌发的影响

Table 3 Effect of different temperature on pollen germination

温度/ °C	不同时间萌发率/ %		
	1 h	3 h	5 h
10	0	0	0
15	21.2	61.2	62.5
25	51.0	66.6	71.8
30	61.9	63.7	65.3
37	68.1	71.7	72.3
40	0	0	3.1
42	0	0	0

在 10 °C 以下, 花粉萌发受到抑制, 萌发率基本

为零。在 15℃~37℃ 花粉 1 h 内的萌发速度和最终的萌发率均随着温度的升高而升高。但当温度达到 40℃ 时,萌发率显著下降。在 42℃ 时花粉萌发完全受到抑制。在 37℃ 条件下,培养 1 h 后花粉萌发率为 68.1%,其最终的萌发率达到 72.3%,花粉萌发快,萌发率最高,但花粉管多数生长不正常,呈现多次弯曲的状态。在 25℃ 条件下,花粉萌发率也较高,达到 71.8%,且花粉管生长迅速,成细长管状,长度约为花粉直径的 20 倍以上。在变温培养条件下,花粉萌发率约为 70.1%,但花粉管出现有分枝的现象。因而认为肉苁蓉花粉离体萌发的培养温度以恒温 25℃ 为宜。

2.2.4 不同硼酸浓度下花粉的萌发:以 0.6% 琼脂 + 10% 蔗糖为基本培养基,分别添加 0%, 0.1%, 0.5%, 1.0%, 1.5%, 2.0% 硼酸,接入在 4℃ 冰箱中贮藏 6 d 的初花期花粉,在 25℃ 培养箱中进行暗培养,5 h 后统计花粉萌发率。结果如图 1 所示。

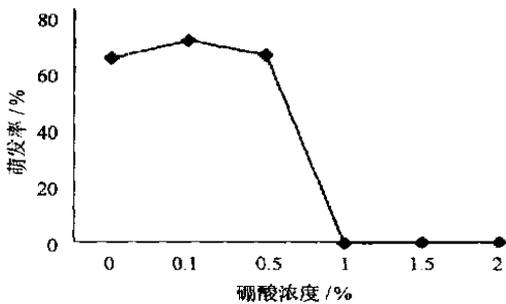


图 1 不同硼酸浓度下花粉的萌发率

Fig.1 Pollen germination rate at different boric acid concentration

由图 1 可见,硼酸浓度在 0%~0.1% 花粉萌发率呈增高的趋势,在浓度为 0.1% 时,花粉萌发速度最快,萌发率最高,达到 70.4%。硼酸浓度在 0.1%~1.0% 花粉萌发率呈下降趋势。当浓度达到或超过 1.0% 时,花粉萌发受到抑制,培养 5 h 后萌发率仍为零。

2.2.5 不同贮藏条件下花粉的萌发:将初花期花粉装入瓶中,分别于低温(4℃)冰箱和室温(23℃~25℃)两种条件下保存花粉,每隔一定天数取少量花粉接种于 0.6% 琼脂 + 10% 蔗糖 + 0.1% 硼酸的培养基上,5 h 后统计花粉萌发率,结果见表 4。

由表 4 结果看出,肉苁蓉花粉的生活力受贮藏温度的影响很大,在低温和室温条件贮藏的花粉,随贮藏时间的延长,花粉的生活力均呈下降趋势。室温贮藏至第 4 天,花粉的生活力已降为 2.3%,贮藏至

表 4 不同贮藏条件下花粉的萌发率

Table 4 Pollen germination rate in different store conditions

贮藏温度	不同贮藏时间萌发率/%								
	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	11 d	13 d	15 d	17 d
室温 (23℃~25℃)	97.1	2.3	0	0	0	0	0	0	0
低温 (4℃)	94.2	89.3	72.6	63.9	53.6	33.5	11.8	4.7	0

第 6 天,花粉已完全丧失萌发能力。低温贮藏的花粉,在贮藏至第 15 天的时候,花粉的萌发率降为 4.7%,贮藏至 17 d 时,花粉完全丧失萌发力。由此可知,低温条件有利于肉苁蓉花粉的贮藏。肉苁蓉的花粉由采收,再经过短途的运输,然后在 4℃ 低温冰箱保存的条件下,最长可贮藏 15 d 左右的时间。

3 讨论

3.1 花粉保持生活力的长短,一方面是由遗传因素所决定,另一方面也受环境因素的影响。花粉萌发率虽不能完全等同于生活力,但在实践中大多数是以花粉萌发率来表示生活力的^[10,11]。研究发现,野生肉苁蓉的花粉生活力是比较高的,在适宜的萌发条件下,初花期花粉可达到 93.6% 的萌发率,这对于传粉、受精和提高结实率是很有利的,这也是肉苁蓉物种在干旱、贫瘠的生态环境条件下得以保存的原因之一。

3.2 低温贮藏可使大多数植物的花粉保持较长时间的生活力^[10]。肉苁蓉花粉在不同贮藏温度下的萌发特点也充分说明了低温有利于花粉的贮藏,可延长其生活力。由此认为,如果在超低温条件下保存肉苁蓉花粉,会使花粉保持更长的寿命,以种质资源的保存。

3.3 每种植物花粉萌发和花粉管的生长都有自己最适的温度。大多数温带地区的植物,花粉萌发和花粉管的生长在 5℃ 以下会受到一定的抑制,25℃~30℃ 是最适的萌发温度^[10]。肉苁蓉地处西部沙漠中,其开花传粉季节的温度白天在 20℃~25℃,试验结果表明肉苁蓉花粉在 10℃ 以下萌发受到抑制,在 25℃ 条件下,花粉生长正常,萌发速度最快,萌发率最高。

3.4 通过 4℃ 和 37℃ 交替变温培养,发现肉苁蓉花粉管有分枝现象。目前对于这种异常的行为,有两种不同的解释:一种认为花粉管的分枝穿过珠被、珠心和子房的其他部分,作为吸器的功能;另一种认为花粉管的分枝只在珠孔区域和内珠被及外珠被之间或周围,认为分枝是在实现受精以后,由于雌性组织产生的激素的扩散,扰乱了激素的代谢,影响到花粉管管壁的合成没有停止,因而发生突起和分枝^[10]。

对于肉苁蓉花粉管出现分枝现象的原因及其对结实的影响,还有待进一步的深入研究。

References:

[1] Ma Y Q. Inner Mongolia Flora (内蒙古植物志) [M]. Tomus 5. Huhhot: Inner Mongolia People's Press, 1980.
 [2] Fu L G. The Rare and Imminent Danger Plant in China (中国珍稀濒危植物) [M]. Shanghai: Shanghai Educational Press, 1989.
 [3] Tu P F, He Y P, Lou Z C. Herbalogical study on *Cistanche deserticola* [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 1994, 19 (1): 3-5.
 [4] Zhang Z Y. Study on Chinese Orobanchaceae (one) [J]. Plant Res (植物研究), 1984, 4(4): 111-119.
 [5] Ma K. General Horticulture (园艺通论) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2001.

[6] Yang J Q, Zhang X Y, Chai S Z. Technology of planting *Haloxylon ammodendron* and *Cistanche deserticola* artificially [J]. Modern Agric (现代农业), 2002, (12): 14-15.
 [7] Song J L, Zhang Y O. Cultivation and collection of *Cistanche deserticola* [J]. Chin Wild Plant Res (中国野生植物资源), 2001, 21(2): 59-60.
 [8] Hu S Y. Botany experimental method (one) determination of pollen viability [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 1993, 10 (2): 60-62.
 [9] Zhang Z Y. Studies on the pollen morphology and seed coat of the genus *Cistanche* (or *Orobanchaceae*) in China [J]. Acta Phytotaxon Sin (植物分类学报), 1990, 28(4): 294-298.
 [10] Hu S Y. Angiosperm Embryology (被子植物胚胎学) [M]. Beijing: People's Educational Press, 1982.
 [11] Wang Q L, Lu L D, Wu X Q, et al. Pollen storage and viability determination [J]. Chin Bull Bot (植物学通报), 2002, 19(3): 365-372.

喜树茎尖组织培养与植株再生

吕立堂, 朱冬雪^X, 赵德刚*

(贵州大学 农业生物工程省级重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘要: 目的 探索喜树的人工快繁。方法 以喜树幼苗的茎尖作为外植体, 培养在附加不同激素的培养基上。结果 以 B5 培养基附加 6-BA 0.2 mg/L, IBA 0.05 mg/L 和 AS (afenine sulfate, 10 mg/L) 对丛生芽的诱导与增值效果最佳, 而附加 IBA 0.5 mg/L, KT 0.1 mg/L 和 AS 10 mg/L 的生根效果最佳。试管苗移栽到珍珠岩-土壤 (3:7) 的基质中生长良好, 成活率高达 96%。结论 为喜树的开发利用提供了一条新途径。

关键词: 喜树; 植株再生; 组织培养

中图分类号: R282.13

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)05-0682-03

Tissue culture of shoot-tip and plantlet regeneration of *Camptotheca acuminata*

LÜ Li-tang, ZHU Dong-xue, ZHAO De-gang

(Guizhou Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Object To explore the artificial propagation of the medicinal plant, *Camptotheca acuminata* Decne. Methods The shoot-tip was tested as the explants and cultured on culture media with different portions of hormone. Results The best medium for bud induction was the B5 basic medium with additions of 6-BA (0.2 mg/L), IBA (0.05 mg/L), and AS (afenine sulfate, 10 mg/L). While B5 with the additions of IBA (0.5 mg/L), KT (0.1 mg/L), and AS (10 mg/L) was suitable for rooting. The seedling was cultivated and grew well on the base material mixed with perlite-soil (3:7). The survival rate of transplant was up to 96%. Conclusion The above mentioned method provides a new effective way to exploit this plant resources.

Key words: *Camptotheca acuminata* Decne.; plantlet regeneration; tissue culture

喜树 *Camptotheca acuminata* Decne. 是珙桐科 (Nyssaceae) 的一种落叶阔叶树^[1], 主要分布在我国长江流域及西南各省。其树干通直圆满, 枝条平向外展, 树冠倒卵形, 姿态端直雄伟, 为优良的园林绿化树种, 其木材适于做造纸原料、室内装饰材料等。

另外喜树还是我国民间的一种中药材, 其果实、根、树皮、树枝和叶均可入药, 其中主要含有抗肿瘤作用的喜树碱 (camptothecin)。喜树碱主要通过抑制 DNA 拓扑异构酶 E 的活性及逆转录病毒的复制来阻止细胞 DNA、RNA 的合成, 使细胞凋亡^[2]。因而

X 收稿日期: 2003-09-10

基金项目: 贵州省科学技术基金资助 (20023033); 贵州省科技厅专项基金 (黔科合字 (2003) JN012)

作者简介: 吕立堂 (1978—), 男, 山东莱芜人, 贵州大学农业生物工程重点实验室在读硕士研究生, 从事植物基因工程及其次生代谢产物方面的研究。

* 通讯作者 Tel: (0851) 3865027 E-mail: Zhudongxue@163.com; degangzhao@Yahoo.com