

荒漠肉苁蓉种子萌发与吸器形成的形态学研究

盛晋华^{1,2}, 翟志席¹, 郭玉海^{1X}

(1. 中国农业大学 中药材研究中心, 北京 100094; 2. 内蒙古农业大学农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘要: **目的** 观察荒漠肉苁蓉种子萌发与吸器形成的形态发生过程。**方法** 通过组织培养, 采用光学显微镜和扫描电子显微镜对种子萌发及吸器形成过程进行了观察。**结果** 种子在接种 2 周后, 开始露白, 然后形成芽管状器官, 进一步顶端膨大成初生吸器。在初生吸器上, 厚的带状表皮围成均匀窝状, 窝内又均匀分布着乳头状突起。**结论** 荒漠肉苁蓉种子萌发由胚根极的活动形成的单极性的幼苗发育方式。初生吸器是肉苁蓉黏着寄主的器官。

关键词: 荒漠肉苁蓉; 种子; 萌发; 吸器

中图分类号: R282.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)09-1047-03

Morphology of seed germination and haustorium formation in *Cistanche deserticola*

SHENG Jin-hua^{1,2}, ZHAI Zhi-xi¹, GUO Yu-hai¹

(1. Chinese Medicinal Material Center, China Agricultural University, Beijing 100094, China;

2. College of Agronomy, Inner Mongolia Agriculture University, Huhhot 010019, China)

Abstract: **Object** The process of seed germination and haustorium formation in *Cistanche deserticola* Y. C. Ma was observed. **Methods** Seeds were inoculated on culture medium, the process of seed germination and haustorium formation were observed using light and electron microscopy. **Results** The seedling sprouted after two weeks, then a tube-like-organ formed, finally the apex expanded to attachment organ. The outer papillar surface of the extended apex bears wall protuberances that are encircled with a thick cuticular belt and covered with a thin cuticle. **Conclusion** The seed germination of *C. deserticola* is single pole of radicle. The attachment organ adheres host first.

Key words: *Cistanche deserticola* Y. C. Ma; seed; germination; haustorium

荒漠肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma 别名大芸、苁蓉、察干高要(蒙语), 为列当科肉苁蓉属 (*Cistanche* Hoffing. et Link) 一种多年生的专性根寄生植物, 是我国稀有的名贵中药材, 有“沙漠人参”之美誉, 是补肾壮阳的要药, 由《中华人民共和国药典》收载^[1], 其寄主为黎科植物梭梭 *Haloxylon ammodendron* (C. A. Mey.) Bunge。长期以来, 自然作用和人为过度放牧与采挖使用荒漠肉苁蓉和寄主梭梭均处于濒危境地, 现为国家二级保护植物, 被列入《中国植物红皮书》。近几年来, 肉苁蓉人工栽培面积在逐年扩大, 但是生产中存在萌发率与接种寄生率低下的关键问题。

在天然条件下, 种子萌发、尤其幼苗的形态发生依赖寄主的刺激^[2], 肉苁蓉种子及其萌发体极小, 田间取样观察难度很大, 因而对肉苁蓉种子萌发过程了解甚少。特别是吸器的研究还未见报道。本实验通过组织培养手段, 观察了从种子萌发至初生吸器

形成的形态学发生过程。

1 材料与方法

1.1 材料: 种子来源于内蒙古阿拉善盟, 经屠鹏飞教授鉴定为荒漠肉苁蓉 *Cistanche deserticola* Y. C. Ma, 采收年份分别为 2001 年和 2002 年。

1.2 方法

1.2.1 无菌培养: 种子经层积处理后, 去掉果皮, 在无菌条件下, 接种在 1/2 MS 培养基上, pH 5.8, 黑暗培养, 培养温度 25℃。

1.2.2 显微镜观察: 干燥种子表面观察采用锇酸固定、真空喷金后用日立 S-570 型扫描电子显微镜观察、拍照; 种子萌发过程采用 Olympus SZH10 型体视显微镜和 Philip XE30 环境扫描电镜直接观察、拍照。

2 结果与分析

2.1 种子形态: 荒漠肉苁蓉蒴果, 每果有 450 粒左右种子, 极细小, 平均长为 1.1 mm, 宽 0.7 mm, 千粒重 0.086~0.091 g, 近球形, 黑褐色, 有光泽, 具网

X 收稿日期: 2004-02-23

基金项目: “十五”科技攻关项目(2001BA70); 国家自然科学基金资助项目(30360052)

作者简介: 盛晋华(1968—), 女, 副教授, 研究方向为中药肉苁蓉及其寄主植物寄生机制。

* 通讯作者

状纹饰, 种子形状差异很大, 大多呈椭圆或球形, 也有长方形、菱形及梯形等形状。种子的结构为种皮、胚乳和胚。果皮呈蜂窝状, 蜂房直径 100 Lm 左右, 种子较尖端具有种孔, 直径约 200 Lm, 种皮致密(图 1-A、B)。

2. 2 种子的萌发: 在自然条件下, 肉苁蓉种子需要接受寄主植物根系分泌物的刺激才能萌发。本实验也表明: 经过低温层积处理的荒漠肉苁蓉种子, 在适宜的水分、温度和氧气条件下也不萌发, 还需要有其他萌发刺激物质的诱导。

肉苁蓉种子经层积处理后, 去掉果皮, 在 1/2 MS 培养基上进行无菌培养。2 个星期以后, 种子开始萌动: 萌发的早期阶段, 首先充分吸胀种子的珠孔端呈现“露白”(图 1-C), 逐渐突起, 突起由半球形变为圆锥状(图 1-D), 并且逐渐伸长, 呈“芽管状”, 称之为“类芽管器官”(germ-tube-like-organ)(图 1-E、F)。大部分“类芽管器官”一直呈乳白色, 有的在生长过程中, 转为淡黄, 或者浅褐色。

“类芽管器官”的长度和形态因刺激物质的种类与浓度而存在差异。一般芽管长度为 3~4 mm, 有的 5~6 mm; 最长可达 8.47 mm(图 1-E), 基部直径约为 0.57 mm。芽管粗细不等, 生长形态呈直立、弯曲、螺旋生长等现象。

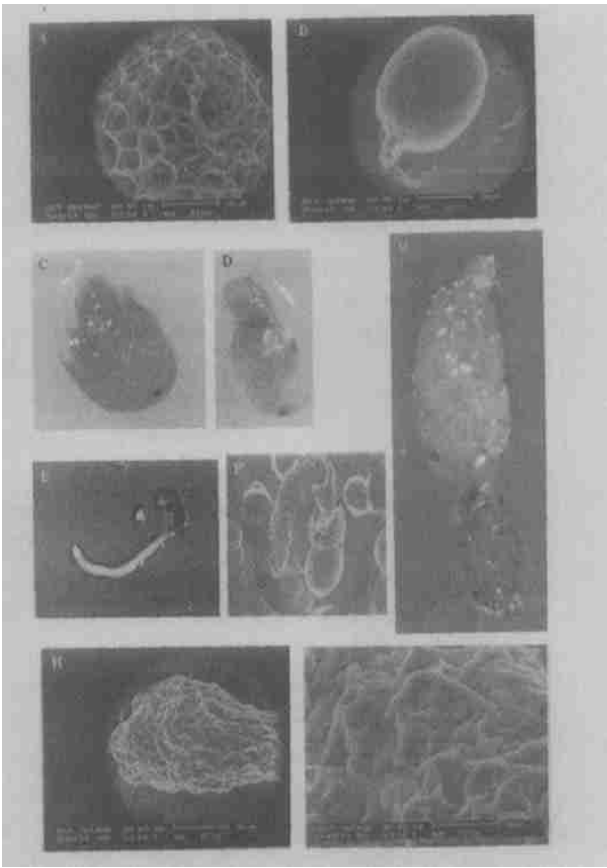
2. 3 种子的初生吸器: 肉苁蓉种子在萌发过程中首先产生类芽管器官, 一般情况下, 芽管伸长至 2~3 mm 后, 顶端膨大为吸器(图 1-G), 膨大部分长度为 2.75 mm, 最宽处直径约 1.19 mm。为了严格区分与寄主连接建立起寄生关系的功能性吸器, 称之为初生吸器。在无寄主植物根系存在条件下, 初生吸器的生长直至消耗完种子胚乳可提供的营养为止。

在扫描电镜下观察: 层叠状突起与波纹状凹陷密布整个芽管状器官, 尤其膨大的球形器官表面皱折很多, 但又呈规则的窝状分布, 窝周围的细胞凸起呈厚表皮带, 每窝大约有 8 个以上的乳头状突起物均匀分布, 乳突直径为 2~6 Lm, 乳突表皮相对于其周围表皮薄得多, 在扫描过程中很容易被击穿(图 1-H、I)。

3 讨论

3. 1 种子形态与特性: 肉苁蓉种子小而轻, 易被风吹, 蜂窝状的果皮富含果胶质, 吸水力和保水力很强, 在野生条件下, 偶有降雨时, 可迅速地吸收土壤中的水分, 并保持在果皮中。而种子尖端的种孔可作为通道, 将果皮吸收的水分以最短的距离运送到种仁。

寄生被子植物种子成熟时, 胚发育往往不全, 种



A-蜂窝状表面及其种孔 B-致密的种皮 C-种子开始萌动
D-类芽管器官形成 E-伸长的类芽管器官
F-螺旋生长的类芽管器官 G-顶端膨大形成初生吸器
H-顶端膨大的吸器 I-吸器的表面结构
A-honeycomb-like surface and seed hole
B-compact skin of seed C-beginning sprout of seed
D-formation of germ-tube-like-organ
E-elongated germ-tube-like-organ
F-shape of screw germ-tube-like-organ
G-swelled top change into attachment organ
H-swelled top formed attachment organ
I-surface structures of haustorium

图 1 荒漠肉苁蓉种子萌发与吸器形成的显微观察

Fig. 1 Observation on seed germination and haustorium formation in *C. deserticola* with microscope

子萌发需有一个后熟过程或休眠期。肉苁蓉种子在长期系统发育过程中, 为了适应不良环境也形成了休眠这种重要的生物学特性。肉苁蓉种子属于球形原胚类型, 胚发育简单, 由数十个细胞组成, 无胚根、胚轴、胚芽的分化。种子休眠主要是由于胚发育不完全需要生理后熟而引起的胚休眠。笔者对肉苁蓉种子在 2~5 ℃ 下进行 2 周至 2 个月的低温层积, 可有效完成生理后熟。对同一批的种子进行层积处理, 以未进行层积处理的种子为对照, 测定种子中可溶性蛋白、糖和内源激素变化表明: 层积后的种子中,

溶性蛋白和糖含量增高;赤霉素(GA_3)和细胞分裂素(CTK)含量均增大(待发表)。肉苁蓉种皮致密而具蜡质,透性差,相对于微小的种仁,它所形成的机械屏障阻力很大,具有种皮强迫休眠,属于综合休眠类型。

3.2 种子的萌发刺激:许多寄生植物种子萌发需要有来自寄主植物的萌发刺激物质,即在萌发前寄主植物给一化学信号,激活休眠种子内部酶的活性,从而打破休眠、促进萌发。而其中大部分还需另一化学信号才能发育功能性的吸器^[3,4]。在遵循内源激素动态与植物生长发育规律的基础上,是否可以用外源激素来改变肉苁蓉种子内的激素平衡关系,进而促进启动萌发基因的表达?目前在 1/2 MS 合成培养基上,没有寄主植物分泌物情况下,可以使肉苁蓉种子离体萌发;以生长素类、赤霉素和细胞分裂素为主的植物激素、糖类、酵母浸出物等能明显促进种子萌发。实验表明刺激种类与浓度,是离体萌发启动时间长短的主要影响因素。排除不同化学组份之间在培养基制备过程中可能发生的互作,对肉苁蓉种子萌发“启动”物质种类的定性定量研究是进一步提高萌发率的关键所在。

3.3 初生吸器形成:吸器是有花寄生植物的特殊器官,是由寄生植物胚根部位特定的细胞接受外界刺激发育而来的类似植物根组织的器官。由初生吸器进一步发育而产生的次生吸器又叫做功能性吸器,它是连结寄生植物与寄主“运输线”的生理桥,是与寄主连接和钻入寄主体内吸收水分和营养的特殊器官^[5,6]。

根据 Kadry 和 Tewfic (1956) 的研究,在列当科植物 *Orobancha crenata* 中,种子萌发时胚的胚根极形成一个“胚根柱”,其顶端能穿入寄主的根。肉苁蓉种子的萌发,只是由形态学的胚根端发生,长出的器官不具备典型的根冠组织,不能叫做胚根,Rangan (1968) 叫做“类芽管器官”(germ-tube-like-organ),Wegmann (1993) 称之为“芽管”(germ-tube),Daniel (1994) 叫“attachment organ”^[7,8],也有人叫“胚根状物”。笔者首次观察到肉苁蓉芽管顶端膨大所形成的成熟器官,均匀分布着乳头状的突起,具有吸器的典型结构特征,称之为“初生吸器”。不同萌发刺激物质及浓度,产生形态各异的芽管,螺旋生长的“类芽管器官”形象地反映寄生植物寻找寄主的形态特点。

但是,在没有寄生根的情况下,萌发的过程只能进展到胚根或者初生吸器为止。肉苁蓉种子萌发过

程中,芽管的伸长、螺旋生长现象,是肉苁蓉主动寻找寄主的表现形式之一。另外,初生吸器上紧密分布的乳头状突起物及其分泌物为接触和连接寄生、与建立寄生关系创造了条件。

从种子萌发至初生吸器形成,是荒漠肉苁蓉生活史中“寄生生活阶段”之前的“独立生活阶段”,虽然很短暂,但对建立寄生关系起重要作用。推测肉苁蓉初生器上还存在着特殊的肉苁蓉真菌,其代谢产物和乳突的分泌物,共同起着黏连并降解寄主根木质素或者诱导寄主根产生吸器诱导因子——苯醌类化合物,如 2,6-二甲氧基对苯醌(2,6-DMBQ)等的作用,从而刺激次生吸器的形成,进一步与寄主植物建立联系。

3.4 待研究问题:肉苁蓉是具有广泛应用前景的名贵中药材。目前,肉苁蓉的人工栽培技术正在大面积推广,引种栽培工作进展也很顺利。但基础生物学研究和寄生生物学机制研究还相当薄弱:关于种胚生理特点与特性、胚后熟作用和种子萌发过程中的生理与生化指标及其机制还不十分清楚,肉苁蓉与寄主植物相互作用的化感物质还有待于分离和鉴定,寄主植物产生何种信号来诱导肉苁蓉启动寄生发育程序,肉苁蓉又是怎样对寄主植物进行感知、识别与信息传递的分子水平机制研究还是空白。因此,在加强肉苁蓉寄生生物学研究基础上,进一步探讨打破休眠更有效的方法、如何提高种子生活力、种子萌发刺激物质和萌发适宜条件、吸器形成诱导技术和肉苁蓉高效接种技术以及肉苁蓉生长发育规律的调控技术,直接解决生产中存在的接种率低、种源浪费严重和产量不高等实际问题,这些都是今后需要深入研究的问题。

References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol E. 2000.
- [2] Li T R, Ge J X, Xu Y Y. The seed germination of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma and its relationship with host plant *Haloxylon ammodendron* Bunge. [J]. J Inner Mongolia Univ (内蒙古大学学报), 1989, 20(3): 395-400.
- [3] Chang M, Lynn D G. The haustorium and chemistry of host recognition in parasitic angiosperms [J]. Chem Ecology, 1986, 12(2): 561.
- [4] Stewart G R, Press M C. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms [J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1990, 41: 127.
- [5] Kuigt J. The Biology of Parasitic Flowering Plants [M]. Berkeley Univ: Calif Press, 1969.
- [6] Estabrook E M, Yoder J I. Plant-plant communications: rhizosphere signaling between parasitic angiosperms and their hosts [J]. Plant Physiol, 1998, 116: 1.
- [7] Rangan T S, Rangaswamy N S. Morphogenic investigation on parasitic angiosperms *Cistanche tubulosa* (Orobanchaceae) [J]. Canad J Bot, 1968, 46: 263.
- [8] Joel D M, Losner-Goshen D. The attachment organ of the parasitic angiosperms *Orobancha cumana* and *O. aegyptiaca* and its development [J]. Can J Bot, 1994, 72: 564-574.