

实验简报

寄生药用植物管花肉苁蓉种子的离体萌发 与吸器形成的形态学研究^①

马东明 徐淑莲 翟志席 郭玉海^②

(中国农业大学农学与生物技术学院 北京 100094)

摘要 研究了管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight)种子脱离寄主条件下的离体萌发和吸器形成的形态学,为其高产栽培提供参考。将经过层积处理的种子浸泡于赤霉素($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)36小时,然后培养于 $1/2\ \text{MS}$ (加 $500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 酵母提取物、 $250\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钠和 $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘露醇, pH5.83)培养基上。培养两周后种子开始萌动,首先胚根从软化的内种皮的种孔端伸出,接着形成芽管状物,之后芽管状物逐渐伸长;17天后初生吸器开始发育,厚的带状表皮分化出若干吸根毛;在初生吸器顶端带状表皮围成窝状,表皮上的褶皱和窝内分布有乳头状突起。芽管状物延伸至4 mm就停止发育。吸根毛和乳突是黏着寄主根、刺穿寄主皮层发育为内生吸器最终建立寄生关系的基础。

关键词 管花肉苁蓉, 种子, 萌发, 吸器

In vitro Seed Germination and Haustorium Formation of a Parasitic Medicinal Plant: *Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight

MA Dong-Ming XU Shu-Lian ZHAI Zhi-Xi GUO Yu-Hai^②

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094)

Abstract *In vitro* seed germination and haustorium formation of *Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight without the host allowed for study of morphology to guide high-production cultivation. Stratified seeds were soaked for 36 h with GA_3 ($1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) before they were sown on $1/2\ \text{MS}$ medium solidified with agar supplemented with $500\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ yeast extract, $250\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl and $100\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ mannitol, pH 5.83 (SEM). Seeds began to germinate after two weeks. Radicles elongated out of the micropylar end of the soft endopleura-formed germ-tube-like organ and then elongated gradually. Seventeen days later, elementary haustoria began to develop and several haustorial hairs were differentiated from thick ribbon epidermis, which formed fossae among the apices of elementary haustoria. Papillae were scattered on wrinkles of epidermis and in fossae. When they elongated to 4 mm, the germ-tube-like organs ceased development. Haustorial hairs and papillae play important roles in

①“十五”国家科技攻关项目(2001BA70)、“十五”国家科技攻关重大项目(2002BA517A02)和河北省科技攻关项目(03276408D-4)资助。

②通讯作者。Author for correspondence. E-mail: jzjysh@cau.edu.cn

收稿日期: 2003-12-31 接受日期: 2004-03-05 责任编辑: 白羽红

adhering to host roots and piercing to the cortex and finally develop as endophytes for parasitic connection between parasites and hosts.

Key words *Cistanche tubulosa* (Schenk) R. Wight, Seed, Germination, Haustorium

管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa*)为列当科(Orobanchaceae)肉苁蓉属(*Cistanche*)专性避旱多年生寄生草本植物,产于新疆南部的塔克拉玛干沙漠边缘(李志军等,1997)。它是目前中药肉苁蓉的基源植物的一种,其干燥带鳞叶的肉质茎可入药,具有补肾阳、益精血及润肠通便等功效(宋志宏等,2000)。它常寄生于沙生灌木怪柳属(*Tamarix*)的根部,通过一个称为吸器的特有结构从怪柳体内吸取水分、无机和有机营养来维持其生存。种子中的胚为球形原胚,在自然条件下需经历一定时间的形态后熟与生理后熟期并与寄生怪柳的根保持一定的空间距离时才能萌发和诱导吸器的形成。

目前管花肉苁蓉已在内蒙古(李天然等,2002)和河北吴桥引种栽培成功,但存在的突出问题是肉苁蓉种子接种成功率低、并且接种成功的周期长且接种上的肉苁蓉寄生生长不同步。为此,有必要深入了解管花肉苁蓉的种子结构、萌发规律和吸器发生的特点,以期为人工栽培成为可控的生产状态提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 材料

种子来源于新疆于田种植场,由中国科学院新疆生物土壤沙漠研究所刘铭庭教授提供,经郭玉海教授鉴定为管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa* (Schenk) R.Wight),采收年份为2002年。

1.2 方法

经过初步分级的种子放于冰箱(2~5 °C)进行为期两周到两个月的低温层积,完成生理后熟。将种子浸于70%酒精30秒,然后用2%次氯酸钠消毒8分钟,再用无菌水冲洗5次,而后置于经过0.22 μm微孔滤膜过滤的赤霉素

(1 000 mg·L⁻¹)中,浸泡36小时。培养基为1/2 MS(另加500 mg·L⁻¹酵母提取物(YE)、250 mg·L⁻¹的氯化钠和100 mg·L⁻¹的甘露醇),pH调至5.83,经过上述处理后接种于9 cm的培养皿,用封口膜封闭,黑暗培养。用OLYMPUS SZH10型体视显微镜进行初步观察,最终用XL30型环境扫描电镜(ESEM)观察并照相。

2 结果与分析

2.1 管花肉苁蓉种子的形态

管花肉苁蓉果实为蒴果,成熟时蒴果开裂散出极细小的种子,千粒重约60.6 mg,肉眼无法看清。在体视显微镜下观察多数种子为球形,直径为0.45~0.8 mm,少数种子呈椭圆形;外种皮大多呈深褐色,偶有浅褐色。扫描电镜下的外种皮呈蜂巢状,蜂巢直径约100 μm,类似肋状物的结构形成了蜂房的骨架,蜂巢内可见到层状排列的褶皱(图1A)。种子的亚尖端具有种孔,种孔附近的肋状物呈不规则状,直径约200 μm(图1B)。剥去外种皮后,在致密的内种皮表面可以看到清晰的网格,这是外种皮被剥去后留下的印记。内种皮较光滑,常有均匀的隆起分布于表面(图1C)。

2.2 管花肉苁蓉种子的萌发

萌发的早期阶段首先是充分吸涨种子的类胚根从软化的内种皮的种孔端伸出(图2 A, B);接着类胚根逐渐伸长呈一细长的“芽管状物”(图2C),其表面粗糙有褶皱,尖端为椭圆球状,此时的芽管状物未分化出乳头状突起。之后,芽管状物继续伸长,在生长的过程中芽管状物长度和形态出现差异,长度变化范围为0.2~4 mm,形态上呈弯曲生长(图2 D,

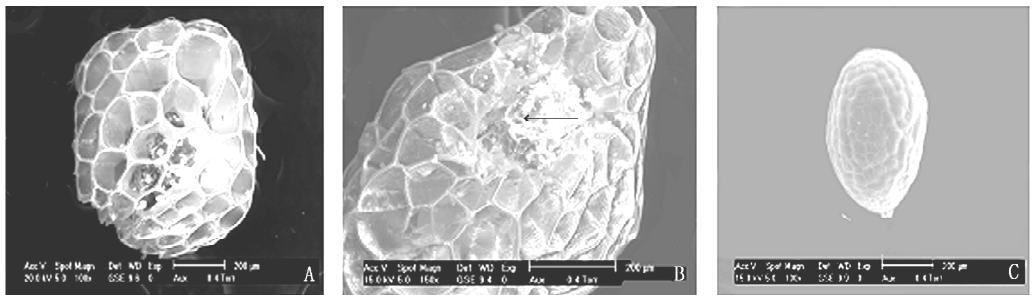


图 1 管花肉苁蓉种子的外部形态
A. 管花肉苁蓉种子的蜂巢状外种皮; B. 箭头指向为种子的种孔; C. 剥去蜂巢状外种皮后的种子内种皮
Fig.1 Outer morphology of *Cistanche tubulosa* seed
A. Scrobiculate testa of *Cistanche tubulosa* seed; B. Arrow points to micropyle of seed; C. Endopleura of seed after scrobiculate testa had been peeled off

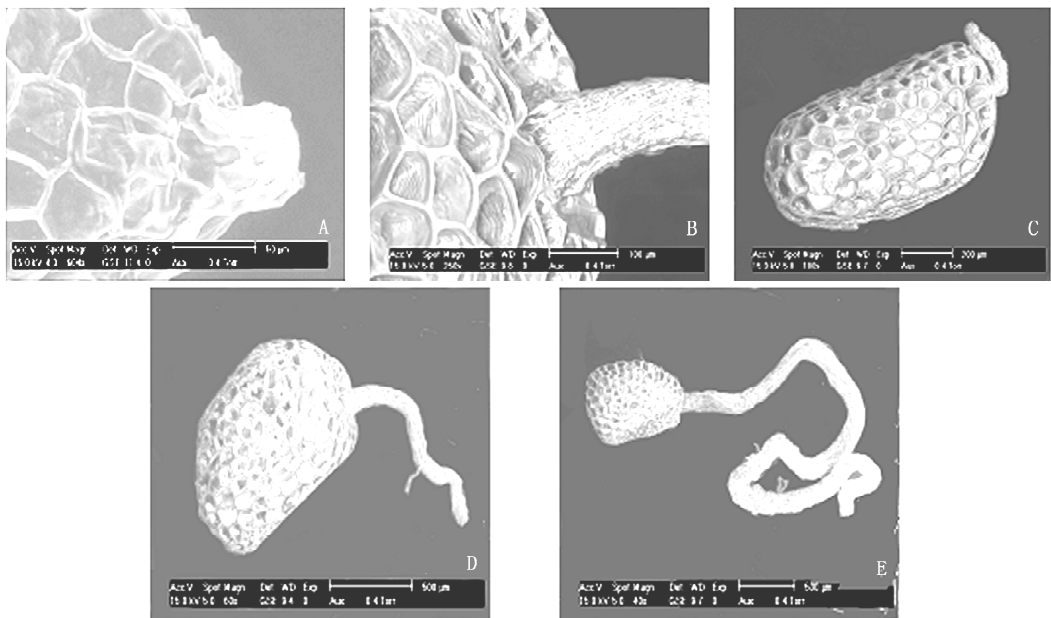


图 2 管花肉苁蓉的种子萌发过程
A, B. 胚根从软化的内种皮的种孔端伸出; C. 初生吸器尚未发育的芽管状器官; D, E. 已分化出吸根毛和乳突的芽管状器官
Fig. 2 The process of seed germination of *Cistanche tubulosa*
A, B. Radicle had elongated out of the micropylar end of the softened endopleura; C. Germ-tube-like organ before developement of elementary haustorium; D, E. Germ-tube-like organ after differentiation of hautorial hairs and papillae

E)。

2.3 管花肉苁蓉的初生吸器

吸器是有花寄生植物的特殊器官，是连接寄生植物与寄主“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(Kuigt, 1969 ; Visser and Dorr, 1987)。

管花肉苁蓉首先在萌发的过程中产生

“芽管状物”，接着芽管状物不断伸长。在芽管状物长度超过种子长度(约700 μm)的一半时，从外貌上看是比较光滑的，只是其顶端开始发育为轻微的褶皱状物(图3A)；待芽管状物伸长至700 μm 后，也即芽管状物与种子等长或超过种子长度时，顶端变得很粗糙，有大量的褶皱出现，褶皱上偶有一两个乳头状的突起(图3B)；在继续发育的过程中，褶皱由于逐渐的变厚而在芽管状物的尖端围成不均匀的窝状，窝内和褶皱上均分布乳头状突起，乳头直径2~5 μm ，乳头表皮相对于周围的层状褶皱薄的多，并且较光滑(图3 C,D)。

吸根毛的发育几乎是和乳突的发育同步进行的，吸根毛一般是由“芽管状物”表面的褶皱围成的小窝内分化出来的。层叠状突起相间分布于芽管状物表面，突起间则形成波纹状凹陷(图3F)。乳突一般只在芽管状物的顶端发生，但从芽管状物中部分化出吸根毛的同时也偶有一至数个乳突紧靠着吸根毛出现。

吸根毛的长度为100~200 μm 不等，一般呈丝带状(图3 E, F)。

为了区分与寄主建立起寄生关系的内生吸器，严格地讲，应称吸根毛和“芽管状物”的顶端为初生吸器。随着芽管状物继续伸长，吸根毛逐步出现，在无寄主根存在的条件下，吸根毛和芽管状物的生长直至消耗完种子营养储备就停止发育。吸根毛和乳突是粘着寄主根、刺穿寄主皮层发育为内生吸器最终建立寄生关系的基础。

2.4 结果分析

管花肉苁蓉种子小而轻，蜂巢状的种皮吸水力和保水力强，种子尖端的种孔结构较不规则，其肋状物不明显以利于吸水。种孔作为萌发时吸水的通道将种皮吸收的水分更快的运至种仁，是管花肉苁蓉长期生长在沙漠干旱地区适应环境的表现。

管花肉苁蓉种子萌发由靠近珠孔的胚根端发生，但长出的器官不具有典型的根冠组

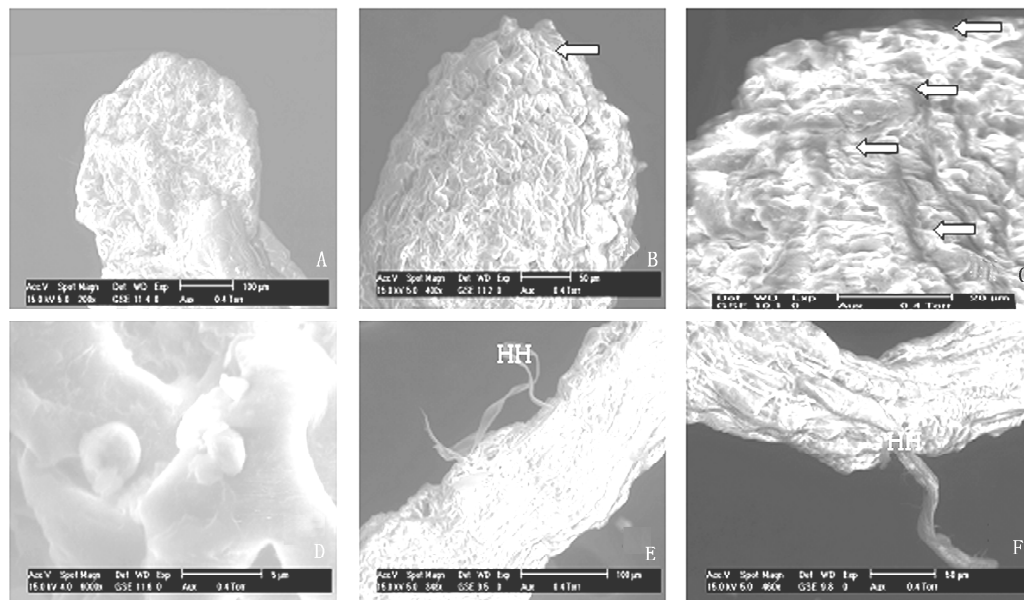


图3 管花肉苁蓉吸器形成

A~C. 乳突的发育过程(箭头所指即为乳突); D. 乳突的放大; E, F. 芽管状器官带状表皮上分化出的吸根毛(HH 代表吸根毛)

Fig. 3 Haustorium formation of *Cistanche tubulosa*

A~C. The developmental process of papillae (arrows show papillae); D. Magnification of papillae; E, F. Haustorial hairs(HH) differentiated from ribbon epiderm of germ-tube-like organ

织,不能叫做胚根,应称之为“芽管状物”。当芽管状物长至与种子等长或超过种子的长度,由芽管状物的中部分化出一至几条带状的毛,应称之为“吸根毛”(Baird and Riopel, 1983)。吸器不仅在形态上连接了寄主与寄生植物,而且也架设了寄生植物从寄主吸取水分和营养的通道——生理桥。初生吸器与寄主接触后,在初生吸器所分泌的酶类和机械压力的作用下穿透寄主皮层并在寄主体内进一步发育为 endophyte (Musselman and Dickison, 1975),称之为内生吸器。内生吸器的发育标志着寄生关系的建立,此后吸器通过特有的薄壁组织和寄主的维管束形成运输水分和营养的通道。从管花肉苁蓉种子萌发到初生吸器的形成是既相互独立又相互联系阶段,它对内生吸器形成并最终寄生关系的建立起着重要的作用。

在列当科(Orobanchaceae)的其他一些寄生植物(如分枝列当(*O. aegyptica*)和 *O. cumana*)中,芽管状物的顶端形成乳突成为附着寄主根的主要形式(Daniel and Dalia, 1994),而玄参科(Scrophulariaceae)寄生植物 *Agalinis purpurea* 则是以吸根毛而不是乳突来附着寄主(Baird and

Riopel, 1983)。在初生吸器发育过程中吸根毛和乳突同时出现的现象还未见报道。本实验同时观察到吸根毛和乳突,某种程度上丰富了寄生植物的寄生机理。分枝列当和 *O. cumana* 的乳突表面有糖类分泌物的存在,而 *Viscum*(桑寄生科)植物 *V. minimum* 的乳突则是分泌脂类物质(Heide-Jørgensen, 1989),这两类分泌物的存在是寄生植物和寄主能够顺利建立寄生关系的关键。在管花肉苁蓉中,其乳突分泌物是糖类、脂类或是其他类物质的研究还有待深入。

此试验中在没有寄主根存在的情况下,吸根毛延长至0.2 mm,芽管延伸至4 mm就停止发育,说明种子本身的营养储备只能使芽管状物和吸根毛有限的伸长生长,在接触不到寄主根的情况下就停止了自身的发育。为此,在田间管花肉苁蓉人工栽培时宜使种子尽量接触寄主根或使种子与寄主根的空间距离保持在小于0.4 cm。

致谢 本实验得到了公安部物证鉴定中心陶克明研究员的指导与帮助,在此表示由衷的谢意。

参 考 文 献

- 李天然,曹瑞,马虹,李西荣,崔金虎(2002) 管花肉苁蓉在内蒙古栽培成功. *中国野生植物资源*, 21(5): 54
- 李志军,吕春霞,段黄金(1997) 管花肉苁蓉茎异常结构的发育解剖学研究. *西北植物学报*, 17(5): 118-122
- 宋志宏,莫少红,陈燕,屠鹏飞,赵玉英,郑俊华(2000) 管花肉苁蓉化学成分的研究. *中国中药杂志*, 25: 728-730
- Baird WV, Riopel JL (1983) Experimental studies of the attachment of the parasitic angiosperm *Agalinis purpurea* to a host. *Protoplasma*, 118: 206-218
- Daniel MJ, Dalia LG (1994) The attachment organ of the parasitic angiosperm *Orobancha cumana* and *O. aegyptica* and its development. *Canadian Journal of Botany*, 72: 564-574
- Heide-Jørgensen HS (1989) Development and ultra-structure of the haustorium of *Viscum minimum* I. The adhesive disk. *Canadian Journal of Botany*, 67: 1161-1173
- Kuigt J (1969) The Biology of Parasitic Flowering Plants. University of California Press, Berkeley, pp. 101-109
- Musselman LJ, Dickison WC (1975) The structure and development of the haustorium in parasitic Scrophulariaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 70: 183-212
- Visser JH, Dorr I (1987) The haustorium. In LJ Musselman, ed. Parasitic Weeds in Agriculture I. Striga. Boca Raton CRC Press, Florida, pp. 91