广寄生种子结构及其萌发实验研究*

□李永华** 阮金兰** (华中科技大学同济医学院药学院 武汉 430030) 陈士林 李先恩 (中国医学科学院北京协和医学院药用植物研究所 北京 100193) 卢 栋 朱开昕 赵明惠 裴河欢 (钦州市中医药研究所 钦州 535000)

摘 要:目的:了解广寄生种子结构与种子萌发过程及其影响萌发的因素。方法:采用体视显微镜 观察广寄生种子萌发过程和智能人工气候箱培养观察广寄生种子萌发的影响因素。结果:①广寄生种 子由种皮、胚与胚乳构成,胚由胚芽与"类胚根"构成,其中"类胚根"为分化形成种子初生吸器的器官; ②种子不具休眠期,可以独立萌发。萌发时首先见"类胚根"从种孔"露头"膨大并逐渐分化形成初生吸 器,同时芽也从种孔长出;③广寄生种子含水量为50%,种子对干燥脱水敏感,当含水量下降到25% 时种子的萌发率为0:④广寄生种子适宜萌发温度为20~30 $^{\circ}$ 、低于10 $^{\circ}$ 和高于40 $^{\circ}$ 萌发率为0;⑤种 子无论有无光照均能独立萌发,在有光照条件下分化形成的初生吸器通常为一个,并呈现避光性分 化:在无光照条件下种子则能分化形成多个吸器:⑥在有寄主情况下,种子的初生吸器分化形成朝向 寄主;⑦种子不耐储藏,寿命短暂。结论:广寄生种子不具休眠期,种子一经成熟即可萌发生长,属于顽 拗型种子类型,种子由种皮、胚与胚乳构成,成熟的胚由胚芽与"类胚根"器官构成,初生吸器在种子萌 发时在"类胚根"基础上逐渐分化形成。

关键词:广寄生 种子 结构 萌发 doi: 10.3969/j.issn.1674-3849.2010.06.014

广寄生(Taxillus chinensis (DC.) Danser)是我国 传统常用中药材桑寄牛的基原植物[1],分类学上隶 属桑寄生科钝果寄生属,主要分布在广西、广东、海 南及福建南部[2]。广寄生属半寄生性植物,在野生状 态下广寄生与桑寄生科其它植物一样主要以鸟媒 进行传播[3-4],一些食果肉鸟通过吞食果实消化果肉 排出种子,种子落在适宜的寄主植物上萌发生长,

而有关广寄生种子的结构及其萌发过程国内外还 未见任何报道。近年来随着人们对广寄生功能认识 的不断深入,广寄生的使用量不断增加,野生药源 日趋紧张,特别是一些特定寄主如以桑树为寄主的 广寄生已基本无药可收,因而很有必要开展人工繁 殖与种植。本文通过对广寄生种子结构及其萌发进 行实验观察研究,为开展广寄生的人工繁殖与种植 提供理论依据。

收稿日期: 2010-02-09 修回日期: 2010-02-25

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 920

广西壮族自治区科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 0630002-3G):桑寄生规范化种植研究,负责人:卢栋;广西壮族自治区科学研究 与技术开发计划项目(桂科攻 0992003B-30):中药桑寄生种质资源圃开发,负责人:李永华。

^{**} 通讯作者:李永华,高级工程师,博士研究生,主要研究方向:天然药物开发,E-mail:liyonqhua185@126.com;阮金兰,教授,博士生导师,华 中科技大学同济医学院副院长,主要研究方向:天然药物化学,E-mail:jinlan8152@163.com。

一、材料与方法

1. 材 料

(1)仪器与试剂。

智能人工气候箱(HP250GS-C,武汉瑞华仪器设备有限公司);体视显微镜(SZX16,日本奥林巴斯); FAA 固定液;番红 T(国药集团化学试剂有限公司); 固绿 FCF(国药集团化学试剂有限公司)等。

(2)广寄生种子。

广寄生种子采自钦州市中医药研究所桑寄生规范化种植示范基地,寄主为桑树,经中国科学院华南植物研究所丘华兴教授鉴定为广寄生 Taxillus chinensis (DC.)Danser 植物种子。

2. 方 法

(1)广寄生种子萌发与萌发影响因素。

将采集的成熟广寄生浆果去果皮果肉,种孔朝上,整齐排列垫有保湿滤纸培养皿内,置于人工气候箱进行培养观察。实验分别设计种子离体(无寄主)与在体(有寄主)培养、种子脱水、温度、光照以及储藏等因素对种子的萌发影响。

(2)广寄生种子固定、切片与染色。

将处于不同萌发阶段的广寄生种子纵向切开置于 FAA 固定液固定 24h,采用常规石蜡切片法制片,用番红-固绿双重染色法染色观察^[5]。

(3) 广寄生种子结构观

察。

染色种子切片置于体视 显微镜观察测定、拍照。

二、结果与分析

1. 种子的形态与结构

成熟广寄生种子呈长椭圆形,长约 6mm,最宽处直径 3mm。颜色为淡绿色或浅褐色。由种皮、胚与胚乳 3 个部分构成。种皮由外种皮与内种皮构成,内种皮紧贴胚乳,外种皮骨质化呈鳞片状对内种皮成半包裹状态。胚乳乳白色,占据种子体积 4/5,细胞内充填大量的着色颗粒,可能为淀粉等一些营养物质,为胚的

发育与种子萌发提供营养。胚由分化成型的胚芽与呈圆球状的"类胚根"器官构成,"类胚根"绿色,是分化形成广寄生初生吸器的细胞组织。种孔直径约0.3mm(见图 1)。

2. 种子的萌发

广寄生种子不具休眠期,种子一经成熟即可萌发。培养温度 25℃,湿度 90%,光照强度 3500Lx 条件下,种子萌发时间约 45 天左右。种子萌发时首先见"类胚根"器官逐渐膨大从种孔"露头"出来,"类胚根"颜色为绿色,呈圆球状,随着"类胚根"进一步膨大,初生吸器逐渐分化形成,同时芽也从种孔生长出来(见图 1)。

(1)干燥对种子萌发的影响。

成熟新鲜的广寄生种子含水量约为 50%,将去果皮果肉后的广寄生种子置于装有生石灰的干燥器中脱水干燥,然后再将不同程度脱水的广寄生种子进行离体培养,种子萌发结果见表 1。广寄生种子对脱水干燥十分敏感,随着种子脱水增加,种子含水量下降,种子萌发率显著下降,当种子含水量下降到 25%时,种子萌发率为 0。

(2)温度对种子萌发的影响。

从 10~40℃设计 7 组不同温度条件下的广寄生种子培养实验,结果见表 2。10℃时广寄生种子的萌发率为 0,随着培养温度的升高,广寄生种子萌发率

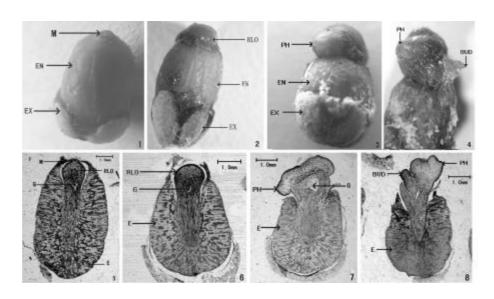


图 1 广寄生种子萌发过程

注:1-4:种子萌发过程外部形态变化;5-8:种子萌发过程内部结构变化(M:种孔; EN:内种皮;EX:外种皮;RLO:类胚根;PH:初生吸器;BUD:芽;G:胚芽;E:胚乳)。

921 (World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica)

增加,适宜萌发温度为20~30℃,当培养温度达到 40℃,广寄生种子的萌发率为0。

(3)光照对种子萌发的影响。

实验设计单向光照与无光照两种光照模式,结 果见表 3。种子无论有光还是无光均能萌发,但光照 对种子初生吸器的分化形成的数量与方向以及芽的 萌发生长方向均有影响。单向光条件下种子初生吸 器的分化形成呈现明显的避光性, 初生吸器通常只 分化形成一个, 芽的萌发生长则表现为向光性; 无光 照黑暗条件下种子的初生吸器分化形成以及芽的萌 发生长方向表现为无规则的凌乱状态,初生吸器会 分化形成多个。黑暗条件下萌发的种子由于不能进 行光合作用, 芽与初生吸器均明显弱化、黄化, 且随 着种子储藏营养耗尽而很快死亡。

(4)寄主对种子萌发的影响。

在培养皿中放置一截桑树活枝条,将种子规则 地置于距离枝条表皮 2mm 左右处,结果发现种子的 初生吸器分化形成明显朝向寄主,提示寄主可能通 过释放一些外感物质诱导广寄生种子初生吸器的分 化与生长。

(5)储藏对种子萌发的影响。

由于广寄生种子不具休眠期, 去果皮果肉后成 熟种子马上萌发,而脱水干燥对种子也具有 致命性影响,因此本储藏实验只设计广寄生 浆果的室温保湿储藏,对经不同储藏时间的 浆果再剥去果皮果肉,观察储藏 10 天内不

同的储藏时间对种子萌发的影响,结果见表 4。随着储藏时间的延长,种子的萌发率下 降,室温储藏10天的浆果种子萌发率为0。

3. 种子的初生吸器

吸器(Haustoria)是连结寄生与寄主的 "生理桥",是寄生从寄主获取水分与无机盐 等物质的通道。为了区别于吸器,将种子萌 发时在"类胚根"器官上分化形成的乳头状 突起称"初生吸器(Primary Haustoria)",初 生吸器与"类胚根"的颜色相比偏淡绿色,顶 端颜色透明,有粘液状液体分泌。种子的初 生吸器无论有无光照、有无寄主均能独立分 化形成,但光照与寄主决定初生吸器分化形 成的方向,在单向光照条件下离体培养初生 吸器的分化形成表现为明显的避光性,种子 通常只分化形成一个初生吸器,但在无光照

的黑暗条件下能分化形成多个初生吸器。在有寄主 的情况下初生吸器的分化形成则明显地朝向寄主, 至于种子是否也存在类似于肉苁蓉寄生种子萌发受 寄主释放外感物质诱导影响目前尚不清楚,而初生 吸器的避光性分化则可能与其自然繁殖的适应性有 关。在无寄主的离体培养条件下,种子的初生吸器由 乳头状突起逐渐生长,长度可达 1.0cm,直至耗尽种 子的全部营养才停止生长。

三、结果与讨论

广寄生果实为浆果,具有丰富的果肉,在野生状 态下其传播与繁殖主要通过一些食果肉鸟吞食果实 消化果肉排出种子来实现,种子外种皮骨质化并呈 鳞片状对种子形成半包裹状态可免遭鸟吞食消化果 实的过程中对种子产生伤害。成熟的广寄生种子由 种皮、胚乳与胚3个部分构成,其丰富的胚乳为广寄 生种子萌发提供充足营养。胚由胚芽与"类胚根"两 部分构成,种子成熟时除胚芽分化成型外,广寄生种 子的特征性器官——初生吸器则要在种子萌发过程 中在"类胚根"的基础上逐渐分化形成。从对种子萌 发影响的脱水干燥、温度以及储藏等实验结果综合 推断,广寄生种子属于顽拗型种子(Recalcitrant

表 1 干燥对广寄生种子萌发率影响

种子含水量	50%	40%	35%	25%
萌发率	97%	90%	50%	0%

注:每组种子 100 粒,培养温度为 25℃,湿度为 90%,光照强度为 3500Lx。

表 2 温度对广寄生种子萌发的影响

温度	10℃	15℃	20℃	25℃	30℃	35℃	40℃
萌发率	0%	20%	97%	98%	93%	30%	0

注:每组种子 100 粒,培养湿度为 90%,光照强度为 3500Lx。

表 3 光照对广寄生种子萌发的影响

光照	单向光照	无光照
萌发率	97%	95%
吸器的分化 与芽的生长	芽萌发生长与初生吸器分化形成方向呈现向光性与避光性,初 生吸器通常只分化形成一个	

注:每组种子 100 粒,培养温度为 25℃,湿度为 90%。

表 4 不同储藏时间对广寄生种子萌发影响

储藏时间	0天	1天	2 天	3 天	7天	10 天
萌发率	98%	97%	87%	50%	6%	0

注:每组种子 100 粒,培养温度为 25℃,湿度为 90%,光照强度为 3500Lx。

[World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica] 922

Seeds)类型,具有不耐干燥、不耐低温与寿命短暂等 顽拗型种子的典型特征^[6]。

广寄生种子不具休眠期,一经成熟即可萌发生长,与肖来云等问报道的桑寄生科其它多种寄生植物种子无休眠期实验结果一致。广寄生种子可以不依赖寄主而独立萌发,这与肉苁蓉等一些专寄性被子寄生植物种子需要来自寄主外感物质诱导萌发的特性具有明显区别[8-9],这可能也是广寄生具有广寄生性特点的重要原因,我们在对广西境内广寄生的寄主分布状况调查发现广寄生涉及 36 个科 150 多种寄主植物[10]。但对广寄生种子在有寄主情况下的在体培养发现种子萌发初生吸器的分化形成明显朝向寄主,是否也存在寄主可能会通过释放外感物质诱导广寄生的初生吸器分化生长,则有待于进一步深入研究。

光照条件对广寄生种子初生吸器的分化形成特别是分化形成的方向性产生明显作用,初生吸器的避光性分化可能与广寄生种子在自然情况下其繁殖生物学方面进化形成的适应性有关,即初生吸器朝向光照缺少的寄主表皮面分化形成,这样有利于初生吸器对寄主的寄入,但光照影响种子初生吸器的

分化形成机理有待于进一步研究。

参考文献

- 1 国家药典委员会编.中华人民共和国药典(一部). 北京: 化学工业出版 社.2005:210.
- 2 傅立国,沉潭清,郎楷永,等主编.中国高等植物(第七卷). 青岛:青岛出版社,2001:754.
- 3 Doris Zuber. Biological flora of Central Europe:Viscum album L..Flora, 2004.199:181–203
- 4 鲁长虎. 槲寄生的生物学特征及鸟类对其种子的传播. 生态学报, 2003,23(4):834-839.
- 5 徐青·植物石蜡切片双重染色技术的改进.宁夏农学院学报,1999,20 (2):89~90.
- 6 杨期和, 尹小娟, 叶万辉, 等. 顽拗型种子的生物学特性及种子顽拗性的进化. 生态学杂志, 2006, 25(1):79~86.
- 7 肖来云, 普正和. 西双版纳桑寄生植物的繁殖. 云南植物研究, 1989,11(2):175~180.
- 8 盛晋华,翟志席,郭玉海.荒漠肉苁蓉种子萌发与吸器形成的形态学研究.中草药,2004,35(9):1047~1049.
- 9 王华磊,杨太新,杨重军,等.管花肉苁蓉种子萌发和寄生过程的形态 学研究.中国中药杂志,2005,30(23):1812~1814.
- 10 李永华,阮金兰,陈士林,等.中国桑寄生科 Loranthaceae 药用植物资源学研究进展.世界科学技术-中医药现代化,2009,11(5):665-669.

Seed Structure and Germination of Taxillus chinensis (DC.) Danser Li Yonghua¹, Ruan Jinlan¹, Chen Shilin², Li Xianen², Lu Dong³, Zhu Kaixing³, Zhao Minghui³, Pei Hehuan³

- (1. Tongji School of Pharmacy, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China;
 - 2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Peking Union Medical College, Beijing 100193, China;
 - 3. Qinzhou Institute of Traditional Chinese Medicine, Qinzhou 535000, China)

Abstract: This work aimed to examine the seed structure and germination of Taxillus chinensis (DC.) Danser, and determine the factors affecting germination. The germination process was observed under a stereomicroscope, and the factors affecting germination were examined in the Intelligence Artificial Climate Box. The results showed that the seed was composed of testa, embryo and endosperm, and the embryo composed of germ and the radicle-like organ. The primary haustorium differentiated from the radicle-like organ. The seed could germinate very well at 20 -30°C without dormancy. But it could not germinate when water content decreased from 50% to 25% or when the temperature was below 10°C or above 40°C. One primary haustorium differentiated in the light condition, while more primary haustorium differentiated in the dark. The primary haustorium differentiated towards the host. Seeds were short-lived and impatient in storage. Taken together, seeds of Taxillus chinensis (DC.) Danser are recalcitrant without dormancy. Keywords: Taxillus chinensis (DC.) Danser, Seed, Structure, Germination

(责任编辑:张志华 李沙沙,责任译审:张立崴)

923 (World Science and Technology/Modernization of Traditional Chinese Medicine and Materia Medica)