

Study on the Physiological Function of *Cistanche deserticola*

Xiaojia Liu

Yijinhuo Banner Development and Reform and Science and Technology Bureau, Ordos, Inner Mongolia, 017200, China

Abstract

Cistanche, a specialized root-parasitic plant of the *Cistancheaceae* family, possesses significant medicinal value. Its host is the sand-fixing plant saxaul (*Equisetum aridum*). To elucidate the parasitic relationship between saxaul and *Cistanche*, as well as the seed germination mechanism of *Cistanche*, this study employed tissue culture methods to treat *Cistanche* seeds with various hormones and concentrations of the specific substance 2,6-dimethoxybenzquinone (DMBQ), observing the formation of seed suckers in the parasitic plant. Results showed: When IBA, GA₃, and 6-BA were added to MS medium for seed treatment, only GA₃ induced germination. Seeds with seed coats did not germinate, indicating that GA₃ is a necessary condition for germination. The germination rate of GA₃ was 1.0 mg/L and 6-BA was 0.5 mg/L, and the germination rate of IBA was 15% when IBA was 0.5 mg/L, which indicated that IBA had a significant effect on germination. DMBQ combined with GA₃, 6-BA, and IBA can enhance germination rates: the average germination rate in MS medium was 6.67%, while it reached 10% in 1/2MS medium, indicating that adding DMBQ to 1/2MS medium along with these hormones effectively promotes germination. The results provided the basis for revealing the mechanism of *C. sinensis*, and had theoretical and practical significance for its propagation, environmental protection and medicinal material production.

Keywords

parasitic plant; *cistanche*; stomata; DMBQ

肉苁蓉生理机能研究

刘晓佳

伊金霍洛旗发改和科技局, 中国·内蒙古 鄂尔多斯 017200

摘要

肉苁蓉是列当科专性根寄生植物, 具有重要药用价值, 其寄主为固沙植物梭梭。为阐述梭梭和肉苁蓉的寄生关系以及肉苁蓉种子萌发机理, 本研究采用组织培养法用不同种类和浓度的激素与特异性物质2, 6-二甲氧基对苯醌 (DMBQ) 对肉苁蓉种子进行处理, 观察寄生植物种子吸器的形成。结果表明: 在MS培养基中添加IBA、GA₃、6-BA单独处理种子, 仅GA₃可诱导萌发, 带种皮种子不萌发, 说明GA₃是萌发必要条件。固定GA₃为1.0 mg/L、6-BA为0.5 mg/L, 配合不同浓度IBA, 发现IBA为0.5 mg/L时萌发率最高, 达15%, 表明IBA对萌发有明显促进作用。DMBQ与GA₃、6-BA、IBA配合使用可提高萌发率: MS培养基平均萌发率为6.67%, 1/2MS培养基可达10%, 说明1/2MS培养基添加DMBQ与上述激素能有效促进萌发。以上结果为揭示肉苁蓉寄生机理提供了依据, 对其繁殖、环境保护及药材生产具有理论与实践意义。

关键词

寄生植物; 肉苁蓉; 吸器; DMBQ

1 引言

1.1 肉苁蓉的简介

肉苁蓉 (*C. deserticola* Ma) 为列当科 (*Orobanchaceae*) 肉苁蓉属 (*Cistanche*) 的一种多年生专性根寄生植物, 别名: 苁蓉, 大芸, 蒙古名: 察干高要。肉苁蓉有极好的药用价值, 具有补肾、益精、润肠、抗衰老, 调解免疫力等功效, 是使用频率最高的补肾中药。因其生长在荒漠中, 且药用价值甚高, 所以素有“沙漠人参”之美誉^[1,2]。李时珍曰: “此物

补而不峻, 故有从容之兮”。肉苁蓉属植物约有 20 种, 主要分布在欧洲、亚洲温暖的干燥地区, 我国有 6 种, 分布在新疆、内蒙古、宁夏、甘肃、青海等省区。我国内蒙古西部为主产区的荒漠肉苁蓉为中药肉苁蓉正品。品质好产量大的为以梭梭 (*Haloxylon ammodendron* Bge) 及白梭梭 (*Haloxylon persicum* Bunge) 为寄主的肉苁蓉, 以怪柳属 (*Tamarix*) 植物为寄主的管花肉苁蓉。

何松春等对我国的 6 种肉苁蓉: 肉苁蓉 *C. deserticola* Y. C. Ma、盐生肉苁蓉 *C. salsa* (C. A. Mey.) G. Beck、沙苁蓉 *C. sinensis* G. Beck、管花肉苁蓉 *C. tubulosa* (Schenk) Wight、兰州肉苁蓉 *C. lanzhouensis* Z. Y. Zhang 和草苁蓉 *Boschmiakia rossica* Fedtsch. et Flerov 进行了分类鉴定。白花

【作者简介】刘晓佳 (1981-), 女, 中国陕西人, 本科, 农艺师, 从事农学研究。

肉苁蓉 *C. salsa* var. *albiflora* 是新发现的变种^[3]。



图1 肉苁蓉出土开花

1.2 开采现状及存在的问题

肉苁蓉为专性根寄生植物，其寄主为有名的固沙植物梭梭。梭梭生长迅速，耐旱、耐风沙、耐盐碱，为优良的固沙树种，在维护荒漠地区生态平衡和社会经济发展中发挥着重要作用。近年来，随着中医药事业的发展和对肉苁蓉药用成分及其药理分析和药用活性物质的深入研究，肉苁蓉的利用空间将越来越宽，供需矛盾会日趋突出。梭梭林受到无节制的乱砍乱伐和过度放牧，加之对肉苁蓉野生资源进行掠夺式的采挖，梭梭群落的生态平衡遭到了严重破坏，荒漠地区的生态系统失去平衡，肉苁蓉及其寄主处于濒危境地，现为国家二级保护植物^[4]。随着国内外对肉苁蓉资源需求的增长和野生资源产量下降的矛盾日趋明显，人们开始认识到肉苁蓉采种、驯化、人工培养、基础生物学特性等研究的重要性。一方面要加快寄主梭梭林的栽培力度，另一方面要深入研究肉苁蓉寄主特性以及种子萌发机理，人工接种梭梭-肉苁蓉复合体植株苗，从多方面协调这一供求矛盾^[5]。

目前国内外对肉苁蓉的研究已有很多，但大部分是从其药理性质、化学成分分析、胚的形态、人工栽培、组织培养等方面进行的研究，就组织培养方面而言其绝大多数以肉苁蓉的营养器官为研究对象，种子萌发所需要的激素及诱导物的条件很少有人研究；梭梭的根系分泌物中存在着诱导肉苁蓉萌发的特异性信号物质，但究竟是什么物质诱导了肉苁蓉吸器的产生尚无定论，对于梭梭根系分泌物有待于深入研究。

1.3 肉苁蓉人工培育现有技术的不足

现有人工培育肉苁蓉的技术或方法的成功实现，均是以破坏梭梭群落稀为代价而实施的。目前的人工培育肉苁蓉技术，一般都是将处理过的野生肉苁蓉种子播种在梭梭的根系周围，或者是人工直接接种于梭梭根系，人为切开小口的根毛区来诱导肉苁蓉种子萌发。但是，①梭梭群落植被稀疏，在人工培育时，再容不得两次（播种，采收各一次）挖深根和较大面积破坏梭梭根基土层，而造成的严重破坏梭梭正常生长及其土壤和水分动态平衡；②人工培育的肉苁蓉要经3~4年的生长才能收获，采收肉苁蓉，无疑将是对梭梭植株根系土层和根基植被造成更严重的人为破坏；③播种和采

收挖掘工作劳动强度较大。因此，投入产出比大。④目前的技术无论基质床，还是肉苁蓉种子人工处理萌发，在其后期进一步生长发育过程中，均离不开野生肉苁蓉生长的天然生态环境。目前人工培育肉苁蓉的技术的具体实施，首先是梭梭群落中植被的保育不允许。其次经费投资回报方面受到限制。再则，就是技术的不成熟问题。

1.4 目前和未来近期肉苁蓉培育的对策

1.4.1 人工培育肉苁蓉和常规育种途径

在营造培育肉苁蓉人工梭梭林基地的基础上，应用人工播种梭梭——肉苁蓉复合体植株苗的思路，采用细胞生物学的方法，在实验室或具备一定实验设备的温室中完成人工诱导肉苁蓉种子萌发以及肉苁蓉种苗与梭梭输导支持组织结合生长的共寄生关系的建立。将培育成功的复合体植株，按照一定的株行距，用既方便日后肉苁蓉的采收，又不破坏梭梭根基周围地面植被，并有利于人工梭梭林的后期生长的穴杯或特制穴盘，移栽定植到适合肉苁蓉后期生长的人工梭梭林的野生环境中，以期得到一定规模产量的肉苁蓉植物体。

1.4.2 组织培养途径

分析利用现有的有关肉苁蓉生长发育生态环境因子作用的研究成果和资料，进一步研究出肉苁蓉生长发育成熟个体的主导生态环境因子调控机理和人工调控的技术措施，并研究筛选出肉苁蓉生长发育所需的激素种类及其浓度，采用植物细胞组织培养的方法，实现一定规模的工厂化组培生产线，生产出具有野生肉苁蓉生物学特性的人工培育肉苁蓉植物体。

1.4.3 转基因途径

采用基因工程技术，将合成肉苁蓉生物活性物质的基因，经筛选、确定、定位、分离纯化后，结合其相应的调节、转录、表达的基因构件，拼接到转基因微生物的遗传DNA链上，并促进其得到有效表达和保留，来获得肉苁蓉的生物活性物质^[6]。

2 寄生植物的研究现状

2.1 寄生植物种子的类型

在被子植物中，大约有4000余种是以寄生方式摄取营养物质，营寄生生活^[7]。目前知道的寄生种子植物大约有3000多种，主要分布在地中海和亚热带地区，在两极和热带地区也有分布，分属于18个科。寄生植物有不同的类型（见表1），但寄生植物的共同特征在于利用吸器侵入寄主维管束等组织器官中，吸取营养物质，赖以生存。

2.2 寄生植物种子的萌发

寄生被子植物的种子成熟时，胚发育不完全。其种子的萌发需要一个后熟过程或休眠期，这个过程可长达数月或数年。Wolf和Timko等^[8,9]证明独角金（*striga asiatica*）种子经数月后熟以后再保湿1-2周才能萌发。普遍认为寄生被

子植物从种子萌发到寄生在寄主上是两个完全独立而又相互关联的过程。前者产生吸器，后者通过形成的吸器与寄主的维管束相通，吸收寄主的水分和养分来维持自身的生长和发育。在这两个阶段之间有一个临界发育阶段，一般称之为前寄生阶段或自由生活阶段。这一阶段可延续数天或数月，主要取决于寄生方式，种子内存物质和种子的发根能力等^[10]。

Stewart等^[11]认为，寄生植物种子萌发需有来自寄主释放的萌发刺激物质，即在萌发前寄主植物释放化学信号物质，

而其中大部分还需要另一化学信号才能发育功能性吸器。特定的寄主根系分泌物对于专性寄生植物是非常严格的，像独角金和列当，在这些属中寄主识别系统是非常高级的，因为这些植物为了存活下来，必须在萌发几天内就得碰到寄主的根系，因此必须有寄主根系释放出来的寄生识别特殊分子作为萌发信号^[12]。还有相关报道，植物激素也可单独的或联合的对某个或某些寄生植物种子的萌发有诱导作用^[13]。

表 1 寄生植物的分类

分类标准	类型	比例	举例
根据在寄主植物上寄生的位置	根寄生植物	60%	列当属 (<i>Orobanch</i>) 和独角金属 (<i>striga</i>)
	茎寄生植物	40%	菟丝子科、樟科无根藤属 (<i>Cassytha</i>)
根据叶绿素的有无	全寄生性植物	20%	列当属寄生植物
	半寄生性植物	80%	槲寄生科和无根藤属寄生植物

2.3 特征性器官“吸器”的重要性

寄生被子植物有一个共同的特点：寄生植物萌发吸器，穿透寄主植物的组织，通过吸器引导营养物质向寄生植物体内流动^[14]，成为寄生植物与寄主植物之间形态结构和生理功能的桥梁。大多数寄生植物的吸器一般是由寄主根系分泌物中的次生代谢物质诱导形成的，吸器形成后与寄主根系木质部建立连通，这可能与寄生植物渗透寄主组织时所产生的水解酶有关。

吸器是由寄生植物根端初生组织细胞分化产生的，或由根和茎的维管柱鞘或皮层细胞脱分化产生的，有些种类的吸器首先就由培根的端部直接转变而来。通常在吸器与寄主植物组织的交接面上，吸器中薄壁组织所占的比例较维管组织大，韧皮部发育不典型，有时还不连续，但相对而言全寄生植物的韧皮部发育要比半寄生植物的更完善。全寄生植物完全要依靠寄主提供的水、无机盐和有机营养，其韧皮部发育较好；半寄生植物只需要寄主植物提供无机营养，其韧皮部发育发育不明显。大多数种的吸器表面有吸器毛，其上有乳突，乳突的功能是将吸器毛吸附在寄主植物体表面。樟科的无根藤属 (*Cassytha*) 寄生植物寄生时，先产生垫状的吸盘，再从吸盘的内部产生出吸器。列当科的列当属 (*Orobanch*) 寄生植物的吸器与寄主植物根接触后，开始共同形成巨大的瘤状结构，顶端继续形成内生植体^[15]。

吸器在寄生植物和寄主植物之间起到的是连接纽带的作用，是寄生植物从寄主植物获得营养物质的通道，没有吸器的萌发，也就无从谈起寄生关系的建立，所以吸器对于寄生植物来说是至关重要。

2.4 诱导寄生植物吸器萌发的信号物质

大量的研究表明，寄主释放的刺激物质对植物间寄生关系的建立和维持起了重要的调节作用。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^[16]。寄生植物对寄主植物的识别是通过寄主植物释放的化学信号实现的。现已发现寄生植物对寄主植物的识别主要有两种方式：一是寄生植物种子在适宜条件下预先萌发生长，萌发后寄生植物根部感受到寄主植物释放的化学信号物质，诱导产生吸器 (*haustorium*) 固定到寄主植物根部。二是寄生植物的种子在没有接受到寄主植物释放的刺激其萌发的化学信号前一直处于休眠状态，一旦这些种子感受到寄主植物的化学信号后，立即开始萌发，在寄主根部产生吸器进而完成寄生过程^[17]。

目前人们已经鉴别出来一系列丰富的自然的和人工合成的吸器诱导物质，如从高粱根中分离出来的 2, 6-二甲氧基-对-苯醌，(简称 2, 6-DMBQ)，从棉花中提取出的倍半烯化合物独角金醇和其有相似结构的一系列化合物(统称为 GR24) 等。另酚类化合物中的阿魏酸、芥子酸及丁香酸对吸器的发育也有作用^[18]。Handa^[19]等研究发现 DMBQ 广泛的分布在植物界的 29 个科 48 个属当中，它可以诱导许多寄生植物吸器的萌发。半寄生植物的吸器可在玉米的根系分泌物和 DMBQ 存在的条件下被诱导，而且在其根系生长阶段添加植物生长素对吸器的形成有促进作用，这说明生长素在吸器形成的某个阶段扮演重要的角色。

植物激素对吸器的形成也有作用。姚东瑞等^[20, 21]在寄生植物无根藤的吸器发育过程中发现，无根藤缠绕寄主茎之后，在建立寄生关系之前，吸器原基在皮层中出现时，IPA 和 ZR 含量很高，分别为对照部位的 20 倍和 4 倍，说明吸器发育与细胞分裂素密切相关。黄建中等^[22]，寄生植物体内合成的细胞分裂素在日本菟丝子 (*Cuscuta japonica*) 吸器形成过程中起决定性作用。由此可以推测，细胞分裂素不是诱发吸器形成的化学信号，而是吸器发育的调节物质，某些植物激素对吸器的萌发也起到一定的作用。

目前没有足够的证据说明寄生植物的萌发是由单一的或一类化合物诱导形成的^[23]。寄生植物不能广泛的寄生在

大多数植物上而是具有专一性的,说明寄主和寄生植物之间还存在着特殊的识别问题尚待深入了解。

2.5 寄生植物肉苁蓉的研究现状

2.5.1 肉苁蓉人工栽培和组织培养

肉苁蓉在自然条件下种子成熟后落在地表通过沙埋接触到寄主的根系,在寄主根系分泌的诱导物质作用下萌发,开始生长发育到开花结实完成一个生命周期。所需的周期长而且接种率非常的低,因此给人工栽培带来了很多的困难。关于肉苁蓉人工栽培技术的研究,戈建新首先发明了营养土种床基质栽培法,使中药肉苁蓉单纯依靠野生资源获取转变为人工栽培种植为主,缩短了繁育周期同时也提高了产量^[24]。在盐碱地、沙地生长着大量的梭梭、红柳、碱蓬、柽柳等肉苁蓉的寄主,可利用他们直接接种肉苁蓉,省去了播种寄主及管理生产工序,降低生产成本,但由于天然寄主已经生活几十年根系老化,萌发力弱,肉苁蓉接种出土比人工种植寄主接种出土迟^[25]。在肉苁蓉天然寄主分布少的条件下可进行寄主种植,寄主种植成活后当年或第二年接种肉苁蓉^[25]。新疆昌吉州吉木萨尔良种实验站近年来又发明使用“接种纸”技术,一张种子纸上有180粒种子,种子生命力可达数十年。在距离寄主30~50cm处挖长40cm,宽20cm,深30~40cm的坑,将接种纸放入,然后回填土至坑沿10cm左右,不可填满,利于贮存雪水或雨水。种子纸制种成功,节约了种子,提高了接种率,使原肉苁蓉自然接种率从50-90%提高到1-35%,是突破肉苁蓉规模化生产的核心技术之一。近年来在内蒙古和新疆等地建立起了大面积的肉苁蓉人工栽培基地,肉苁蓉的人工栽培有了较大规模的发展^[25]。

目前,在肉苁蓉组织培养上,*Cistanche Deserticola*的肉质茎上幼芽、鳞片、与*Cistanche tubulosa* Wight的种子培养进行了培养基的组分、培养环境条件等的研究^[29,30]。苏格尔,李天然等人,对锁阳种子休眠原因进行研究,锁阳几乎是专一性寄生植物,多寄生于蒺藜科白刺属(*Nitraria l.*)植物根部^[26]BA/IAA不同比例可以刺激锁阳种子萌发,天然条件下种子萌发尤其是幼苗的形态发生依赖寄主的刺激^[27]。宋文坚在对列当种子萌发的研究中得到结论,GA₃、IAA、KT可以促进其发芽^[28]。吴新等用添加BA、IBA、GA₃的B5培养基,由*C.Deserticola*肉质茎诱导出了愈伤组织;守屋明等^[31]用添加ZEA,IBA等的WH和MS培养基,由*C.tubulosa* Wight的种子胚诱导出了愈伤组织。在刘德华^[32]的试验中,添加2,4-D、KT的培养基从外植体上诱导出了愈伤组织。茎片段在添加2,4-D,不添加KT的培养基上诱导的愈伤组织呈白色、块状,而在添加KT的培养基上诱导的愈伤组织呈黄绿色、颗粒状;没有添加2,4-D、KT的培养基没能诱导出愈伤组织。这说明2,4-D和KT在愈伤组织的分化上起了决定性的作用。欧阳杰等人研究得出,将种子去皮,激素水平为2.4-D1.0mg/L,KT 0.5mg/L,GA₃1.0mg/

L是肉苁蓉种子愈伤组织诱导的最佳条件。

从以上研究结果中我们可以看出2,4-D、KT、GA₃、IBA都对肉苁蓉及其相近科属寄生植物愈伤组织的诱导起到一定的作用,但对于肉苁蓉种子究竟如何配比激素仍需要进一步的研究。欧阳杰等^[33],在用肉苁蓉种子诱导愈伤组织的试验中发现将种子在不同温度和时间下进行热处理,然后剥去种皮,接种于MS培养基上,只有经过较高温度处理的种子才能形成愈伤组织,其中以50℃处理1h最好,愈伤组织的产生率为25%,未经高温处理的种子不能形成愈伤组织,这与肉苁蓉的生长特性密切相关,自然条件下,肉苁蓉种子成熟后进裂,散落在沙土中,经历了沙漠中昼夜温差的变化(30~60℃),人工采集种子时,为了避免采集困难,在果实快成熟时就将果实采下,种子没有经过沙漠中自然环境的温度变化。高温处理的目的是模仿沙漠中的自然环境变化,高温处理可能对肉苁蓉种子有强烈的刺激作用,植物细胞温度被提高或称热休克(heatshock)时,植物就会暂时合成一些新的蛋白质称热休克蛋白(Hsp)。Hsp可能会刺激植物体内一些酶的产生以及诱导一些生长激素的产生,从而诱导愈伤组织的形成。试验表明,高温处理能使植物种子生理功能趋于完善,萌发性能增强^[34]。肉苁蓉组织培养的研究为在工业条件下大量分裂繁殖,累积野生植物的药物成分,提供了有价值的参考依据。

2.5.2 肉苁蓉的种子萌发特性

据内蒙古农业大学盛晋华在实验过程中发现,荒漠肉苁蓉种子靠近胚囊的珠孔端位置,有两个独立存在、完全分开、同等大小的球形原胚。并且胚率与其他单胚种子相同,TTC染色呈桃红色,活力很强。这就是肉苁蓉的双胚现象^[35]。肉苁蓉是一种多年生根寄生草本植物,正是由于这种专性的寄生特性,导致肉苁蓉种子特殊的萌发特征以及特殊的生理和形态特征。种子一般是由种皮,胚,胚乳等几部分组成。种子千粒重不到0.1g^[36],其种子成熟时胚发育不完全,无胚根、胚芽、子叶的分化,属球形原胚。胚乳包被在胚之外一般有3-5层细胞组成,提供胚萌发时所需要的营养,种皮褐色由一层木质化了的细胞构成^[37]。种子在自然环境里要经过两个冬季其胚才能完成后熟过程^[38]。完成后熟后落在寄主根附近,寄主新生的幼根根尖从肉苁蓉种子的种孔穿入种皮内,分泌化学信号物质,诱导胚细胞进入活跃状态,吸收胚乳提供的营养,在种孔端长出一个芽管状突起,即为“吸器”,并与寄主根一起由种孔端伸出种皮外,吸器前端与寄主接触处逐渐膨大,最后产生一瘤状物,随着寄主的根生长和分化,瘤状物直径达1-3mm时,其前端伸入寄主皮层内,由寄主获得营养来源后,吸器逐渐萎缩并与种皮一起脱落,而在远离寄主根部一端分化产生芽原基,以后发育为肉苁蓉植株,其茎膨大成肉质^[39,50]。

李天然等^[39,40]做过实验证明,肉苁蓉种子在无寄主的人工条件下无论用任何萌发刺激物处理均无法萌发,只有在

培养皿中呆 1-2 个月才会萌发。作者在实验中将剥去种皮和未剥去种皮的种子分别在添加了激素的培养基上培养,发现只有剥去种皮的种子才能形成吸器。盛晋华在实验中发现将种子层积处理后发现种子中的可溶性蛋白和糖的含量都有提高,赤霉素(GA₃)和细胞分裂素(CAT)含量均有提高,而脱落酸(ABA)变化不明显,种子的表观胚率明显增大,是形态后熟的表现^[41]。结合这些资料表明肉苁蓉萌发困难的原因很可能是多方面的,种子细小、胚发育不完全,胚乳中含有的营养物质有限、种子休眠,需要有个后熟的过程、种皮的机械阻碍、需要特定的信号物质启动萌发等都可能是影响萌发的原因。如何让肉苁蓉种子在离寄主条件下萌发,需要一些什么样的条件,又是如何与寄主识别并寄生到寄主根系上的,还需进一步深入研究。

3 肉苁蓉吸器萌发条件的研究

寄生植物只有在寄主植物存在的条件下才可以形成吸器,表明寄主分泌的某些物质可诱导吸器的发育。现在可诱导吸器发育的物质大致分成四类:类黄酮,对甲氧基酸,醌类,和细胞分裂素(Lynn and Chang, 1990)^[42]。这些物质大多是寄主植物释放的异源识别物质,现以 2, 6-二甲氧基对苯醌(DMBQ)研究的较多,它可在很短时间内诱导玄参科植物吸器的萌发,但在肉苁蓉上还没有相关的报道,本试验的主要目的是研究肉苁蓉种子在有 DMBQ 和各类激素存在的条件下吸器形成的情况,为肉苁蓉种子吸器萌发提供一些理论依据。

3.1 实验材料

肉苁蓉种子由内蒙古阿拉善盟林研站提供。

激素类包括吲哚丁酸(IBA)、赤霉素(GA₃)、萘乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)和细胞分裂素(6-BA),为分析纯,均为国产。

吸器诱导物质 DMBQ: sigma 公司所产

3.2 实验方法

3.2.1 培养基的配制

实验所用的培养基为 MS、1/2MS 培养基(李合生 2002),激素分别添加的为不同浓度的吲哚丁酸(IBA)、萘乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)、细胞分裂素 6-BA、赤霉素(GA₃)。

3.2.2 种子预处理

精选一定量饱满的肉苁蓉种子用蒸馏水冲洗多次,直到清洗液不再呈棕黄色变为无色为止。然后将肉苁蓉种子在 50℃ 的水浴锅中恒温加热一小时,然后将种子移至培养皿中,用解剖针剥离种皮,将胚放进装有润湿滤纸的培养皿中,用 0.1% 的 Hgcl 消毒 1-2min,然后用蒸馏水冲洗多遍,即可进行接种。未剥去种皮的种子加热后直接消毒即可接种。

3.2.3 实验设计

将种子接种在添加生长素(IBA),赤霉素(GA₃),细

胞分裂素(6-BA)的培养基上。浓度梯度分别设置为 0.1mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L, 三个浓度。每皿接种 10 粒种子,每个处理重复二次,18℃ 下暗培养,观察结果。

将 GA₃ 浓度固定为 1.0mg/L, 6-BA 浓度固定为 0.5 mg/L。分别在 MS 培养基中添加 IBA、NAA、IAA, 将 IBA、NAA 的浓度分别设置 0.1mg/L, 0.5mg/L, 1.0mg/L 三个梯度; IAA 的浓度设置为 0.5mg/L, 1.0mg/L, 1.5mg/L 三个梯度。每瓶接种 10 粒种子,每个处理重复二次,18℃ 条件下暗培养,观察结果。

激素配比为 GA₃ 浓度 1.0mg/L、6-BA 浓度 1.0mg/L、IBA 浓度 0.5mg/L, DMBQ 浓度 10 μmol。(见附图 1, 2)

实验 1: MS 和 1/2MS 培养基中添加以上三种激素。

实验 2: MS 和 1/2MS 培养基中不加任何物质。

实验 3: MS 和 1/2MS 培养基中添加 DMBQ 和以上三种激素。

每瓶接种 10 粒种子,每个处理重复三次,18℃ 条件下暗培养,观察结果。

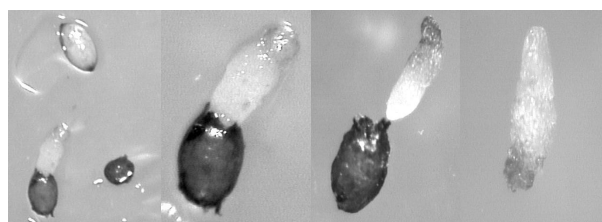
3.3 实验结果

3.3.1 不同激素对肉苁蓉种子吸器形成的影响

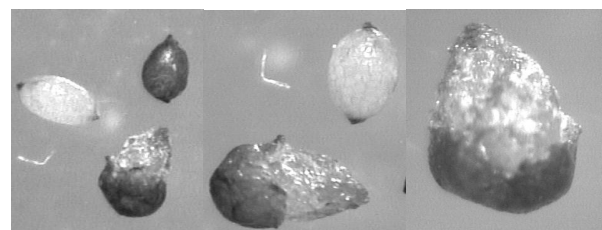
45 天左右见到赤霉素浓度为 1.0mg/L 的处理中剥去种皮的肉苁蓉种子萌发(见图 4),但萌发率不是很高,其他处理均无萌发现象,可见赤霉素在刺激肉苁蓉种子萌发上有一定的作用。有研究表明: ABA/GA 的比值小,有利于种子的萌发。本实验在培养基中加入一定量的 GA₃, 相对降低了 ABA 的浓度,减小了 ABA/GA 的比值,促进了肉苁蓉种子的萌发。带皮种子没有萌发,可能种皮中存在有某种萌发抑制物,具体是何种物质,其机理如何还有待于进一步研究。

3.3.2 GA 和 6-BA 与不同生长素结合对肉苁蓉种子萌发的影响

一个月后在培养基中有肉苁蓉种子萌发产生吸器及愈伤组织。(结果见表 2 和图 5、6)



附图 1 1/2MS 培养基中添加激素和 DMBQ



附图 2 MS 培养基中添加激素

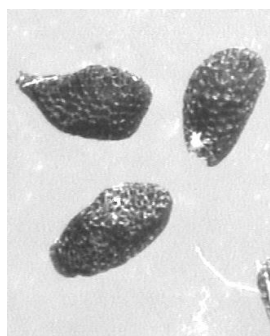


图3 带皮种子的情况

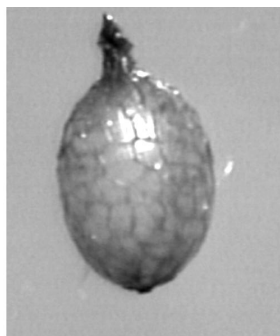


图3 去皮后添加其他激素的种子萌发情况



图4 添加 GA3 后肉苁蓉种子的萌发情况

表2 固定 GA 和 6-BA 的浓度后，不同生长素对肉苁蓉种子萌发的影响

	NAA (mg/L)			IBA (mg/L)			IAA (mg/L)		
	0.1	0.5	1.0	0.1	0.5	1.0	0.5	1.0	1.5
GA(1.0mg/L) 6-BA(0.5mg/L)	10%	20%	---	10%	20%	---	10%	---	---
GA(1.0mg/L) 6-BA(0.5mg/L)	10%	---	10%	---	10%	---	---	10%	---
平均萌发率	10%	10%	5%	5%	15%	0	5%	5%	0

由结果看出 GA、6-BA 结合生长素类物质提高了萌发率，其中 IBA 浓度为 0.5mg/L 的效果最好，萌发率达到 15%。

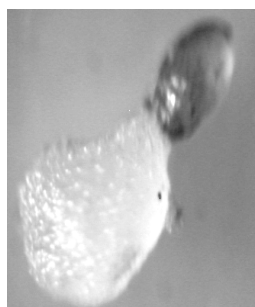


图5 GA、6-BA 与 IBA 结合对肉苁蓉种子的影响

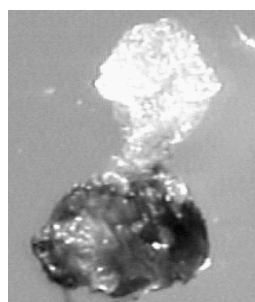


图6 GA、6-BA 与 IBA 结合对肉苁蓉种子的影响

3.3.3 DMBQ 和各种激素混合应用时对肉苁蓉种子吸器形成的影响

DMBQ 是一种诱导种子萌发的特异物质，在其他寄生

植物种子萌发过程中起明显的促进作用。本实验在培养基中添加 DMBQ 观察它是否对肉苁蓉起作用。

结果表明：不剥去种皮的种子均不萌发。DMBQ 在和激素 GA₃、6-BA、IBA 配合使用的情况下，吸器的萌发率有所提高，用 MS 培养基时平均萌发率为 6.67%，而在用 1/2MS 培养基时平均萌发率为 10%。有可能因为 MS 培养基不能满足肉苁蓉种子萌发所需的水分，而 1/2MS 培养基由于水分含量高，能够满足肉苁蓉种子萌发的要求，从而提高了萌发率（见表 3，4 和图 7，8）。

表3 MS 培养基时不同处理的实验结果（萌发率%）

MS 培养基	单独加激素		不加激素		激素与 DMBQ 混合	
	剥皮	不剥皮	剥皮	不剥皮	剥皮	不剥皮
1	10%	0	0	0	10%	0
2	0	0	0	0	10%	0
3	10%	0	0	0	0	0
平均萌发率	6.67%	0	0	0	6.67%	0

表4 1/2MS 培养基时不同处理的实验结果（萌发率%）

1/2MS 培养基	单独加激素		不加激素		激素与 DMBQ 混合	
	剥皮	不剥皮	剥皮	不剥皮	剥皮	不剥皮
1	10%	0	0	0	10%	0
2	10%	0	10%	0	10%	0
3	0	0	0	0	10%	0
平均萌发率	6.67%	0	3.33%	0	10%	0

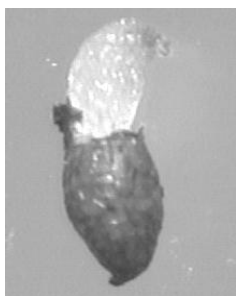


图7 MS培养基中添加激素和DMBQ

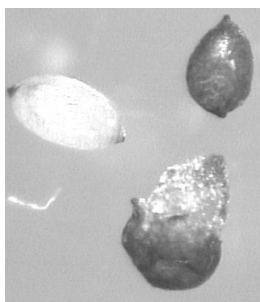


图8 MS培养基中添加激素

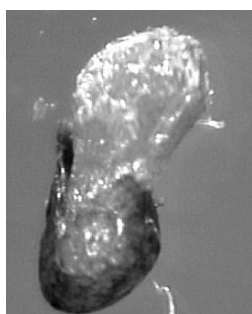


图9 1/2MS培养基中添加激素和DMBQ

3.4 讨论

寄生被子植物有一个共同的特点：能穿透寄主植物的组织，通过吸器从寄主植物获得水、碳水化合物、矿质营养^[12]。寄生植物萌发吸器的过程是寄生过程中的重要阶段，寄生植物只有在萌发形成吸器后才可能和寄主建立寄生关系。肉苁蓉种子的萌发和寄生到寄主植物体内是一个复杂的过程，由于种子细小、种皮造成的机械障碍、胚发育的不完全及缺少外源诱导物质等原因造成吸器很难突破种皮萌发。李天然等^[39, 40]做过实验证明，肉苁蓉种子在无寄主的人工条件下无论用任何萌发刺激物处理均无法萌发，本次试验在高温处理后又添加了各种激素和特异性物质 DMBQ 后萌发率有所提高，说明这个过程可能启动了萌发机制中的关键步骤。

Bergmann 等认为 GA_3 对种子的萌发是必需的^[43]，苏格尔^[44]等用水浸泡锁阳小坚果半月以上，剥去果皮用 GA_3 处理后萌发率达 90% 以上。是否是 GA_3 激活了种子的胚进入活跃状态，感觉到有特异性物质 DMBQ 的存在，启动了

萌发机制还需进一步的探讨。本次实验采用在激素 GA_3 、6-BA 和 IBA 与 DMBQ 共同处理后萌发率有了提高，实验结果可以告诉我们在激素和 DMBQ 混合处理的情况下可以提高萌发速度和萌发率，机理尚不明确。这与 Harro J Bouwmeester^[45] 的研究，即没有足够的证据说明寄生植物的萌发是由单一的或一类化合物诱导形成的结论相符。

4 结论

将各类激素 IBA, GA_3 , 6-BA 添加到 MS 培养基中的方法来观察诱导肉苁蓉种子萌发的效果，结果表明：单独使用各种激素处理时，只见 GA_3 处理的有萌发现象，其余未见萌发。带种皮的种子不萌发，可能种皮中存在有某种萌发抑制物，具体是何种物质，其机理如何还有待于进一步研究。

将 GA_3 的浓度固定在 1.0mg/L 和 6-BA 固定在 0.5mg/L 时，用不同的生长激素与之组合，结果表明 IBA 浓度是 0.5mg/L 时萌发率为 15%，说明 IBA 对肉苁蓉种子的萌发有明显的促进作用。

DMBQ 在和激素 GA_3 、6-BA、IBA 配合使用的情况下，吸器的萌发率有所提高，用 MS 培养基时平均萌发率为 6.67%，而在用 1/2MS 培养基时平均萌发率为 10%。有可能因为 MS 培养基不能满足肉苁蓉种子萌发所需的水分，而 1/2MS 培养基由于水分含量高，能够满足肉苁蓉种子萌发的要求，从而提高了萌发率。

5 研究展望

肉苁蓉是我国重要的中草药资源，应用前景十分广阔。目前在胚的形态、人工栽培和组织培养及药理作用等方面均取得了一定的成果^[25 29 32 39]，为肉苁蓉进行离体细胞或组织的液体培养，诱导其直接合成野生肉苁蓉植株所具有的生物活性物质奠定了基础，但就其基础生物学和寄生机理方面的研究还比较薄弱。由于种子细小其萌发前、萌发后的许多生理生化指标很难测定；种子不易萌发的原因尚不明确，对于如何促进胚的后熟、打破休眠、寻找刺激种子萌发的物质和萌发的适宜条件、种皮中是否含有抑制物质等问题还需进一步的研究；肉苁蓉和寄主之间是如何进行识别的，寄主根分泌物中能诱导肉苁蓉吸器萌发的化学信号物质尚不确定，如何使肉苁蓉在脱离寄主的情况下萌发也是亟待解决的问题之一。在此基础上进一步研究调控肉苁蓉的生长发育规律，以解决实际生产中的低接种率、种子资源浪费严重和产量不高等问题也是未来研究中的主要方向。随着西部开发战略的实施，大力发展肉苁蓉种植产业和药用成分的提取加工对加强我区农业产业结构的调整，发展有特色的农业经济，保护我区沙漠地区的生态平衡具有现实而深远的意义。

参考文献

- [1] 马毓泉 内蒙古大学学报(自然科学版), 1960, (1): 61-66
- [2] 马毓泉 内蒙古大学学报(自然科学版), 1977, (1):

69~75

- [3] 何松春 中药肉苁蓉类的药源调查及原植物鉴别, 上海医科大学学报 1995年03期
- [4] 盛晋华 梭梭(*Haloxyylon ammodendron*(C.A.Mey.)Bunge)物候期的观察, 中国农业科技导报 2003年03期
- [5] 谭德远 郭泉水等 我国肉苁蓉资源状况及开发利用研究 林业资源管理2004.4 NO.2 29-32
- [6] 包金英 董占元等 内蒙古肉苁蓉开发研究现状及对策 内蒙古林业科技 2 0 0 1 .NO.4 41—42
- [7] Matvieko M, Wojtowicz A, Wrobel R, Jamison D, Goldwasser Y, Yoder JI: Quinone oxidoreductase message levels are differentially regulated in parasitic and non-parasitic plants exposed to allelopathic quinines. *Plant* 2001, 25: 375-387
- [8] Timko MP, Florea CS, Riopel JL. Control of germination and early development in parasitic angiosperm. In Taylorson RB (ed). *Recent Advances in the Development and Germination of Seeds*. New York: Pleum Press, 1989. 225
- [9] Wolf SL, Timko MP, Analysis of in vivo protein formation and histological studies of haustorial formation in root cultures of witchweed (*striga asiatica* L. Kuntz). *J Exp Bot*, 1992, 43(225): 1339
- [10] Fer A, Russo N, Simier P et al. Physiological changes in a root hemiparasitic angiosperm, *Thesium humice*(santalaceae), before and after attachment to the host plant (*Triticum vulgare*). *J Plant physiol*, 1994, 143: 704
- [11] Chang M, Lynn DG. The haustorium and the chemistry of host recognition in parasitic angiosperms. *J Chem Ecology*, 1986, 12(2): 561
- [12] Stewart GR, Press MC. The physiology and biochemistry of parasitic angiosperms. *Ann Rev Plant Mol Biol*, 1990, 41: 127
- [13] Chang M, Netzly DH, Butler LG, Lynn DG: Chemical regulation of distance: Characterization of the first natural host germination stimulant for *Striga asiatica*. *J Amer Chem Soc* 1986, 108: 7858-7860.
- [14] 李天然 寄生被子植物的种子生理及其寄主的相互关系. 植物生理通讯, 1996. 32(6): 450-457.
- [15] John I Yoder, Host-plant recognition by parasitic Scrophulariaceae *Current Opinion in Plant Biology* 2001, 4: 359-365
- [16] 谭德远 采挖和接种肉苁蓉对梭梭群落及其生理生态的影响 学士论文, 2004年6月
- [17] 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 *Chinese Traditional and Herbal Drugs* 第35卷第9期 2004年9月 1047-1049
- [18] 胡飞 孔垂华 寄生植物对寄主植物的化学识别. 生态学报, 2003. 23 (5) 965: 971
- [19] Handan, S.S. Kinghorn, A.D., Cordeu, G.A., and Farnsworth, N.R. 1983. Plant anticancer agent XXVI. Constituents of *Peddiea fischeri*. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1975: 656-658
- [20] 李扬汉 姚东瑞 无根藤吸器发育过程的解剖组合组织化学的研究 植物学报, 1992 34 (10) 753
- [21] 姚东瑞 郑小明 黄建中等 寄生植物无根藤吸器发育过程中酸性磷酸酯酶与细胞分裂素变化的研究. 植物学报, 1994, 36 (3) : 170
- [22] 黄建中, 李扬汉, 外源细胞分裂素诱导日本菟丝子形成吸器与钙调素的关系. 西北植物学报, 1991, 11: 116
- [23] Harro J Bouwmeester, Radoslava Matusova et al. Secondary metabolite signaling in host-parasitic plant interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 2003, 6: 358-364
- [24] 戈建新, 肉苁蓉人工栽培技术---营养土种床基质栽培法, 1988年各省、市、自治区及有关部门申报国家发明奖目录[N]. 光明日报, 1988.4.29. 第二版
- [25] 郑兴国, 等. 肉苁蓉人工栽培技术研究[J] 新疆林业, 2001 (1)
- [26] 苏格尔, 李天然, 于彦珠等. 寄生植物锁阳种子萌发抑制物质的研究. 内蒙古大学学报(自然科学版), 1995, 26 (5) : 600
- [27] 刘基焕 药用寄生植物锁阳的生长观察 植物生理学通讯 1995年 01期
- [28] 宋文坚 影响根寄生植物列当种子萌发因素的研究 种子 2 0 0 5年 0 2 期
- [29] 吴新, 李森, 董效成等. 肉苁蓉的愈伤组织的培养[J]. 西北药学杂志, 1998, 13(3): 103-104.
- [30] 刘德华, 等. 肉苁蓉组织培养的研究[J] 湖南农业大学学报, 2003, 1 (29) : 35-37
- [31] 守屋明, 唐傅英, 有马博, 等. *Cistanche*属植物的组织培养研究. *Cistanche tubulosa* Wight子からのカルスのトの分化[J]. 植物组织培养, 1995,
- [32] 刘德华, 等. 肉苁蓉组织培养的研究[J] 湖南农业大学学报, 2003, 1 (29) : 35-37
- [33] 欧阳杰, 王晓东, 等. 肉苁蓉愈伤组织诱导条件的研究, 中国药理学杂志, 2002, 7 (37)
- [34] 刘江华, 方新湘 加速人工种植肉苁蓉技术研究 新疆农业科学 2003年 06期
- [35] 盛晋华 肉苁蓉寄生生物学的研究, 中国农业科技导报 2004年第 6卷 (1) 57-59
- [36] 封兴明, 等. 肉苁蓉现状及其调查 [J]. 国外畜牧学——草原与畜牧 1997, 16(1)33—34.
- [37] 马虹、屠颀珠, 肉苁蓉胚胎学研究: II 胚和胚乳的发育[J]. 内蒙古大学学报(自然科学版), 1997, 28 (2) : 219-221
- [38] 何松春, 等. 中药肉苁蓉的药源调查及原植物鉴别 [J]. 上海医科大学学报, 1995, 22(3): 186—188
- [39] 李天然, 戈建新, 许月英等. 肉苁蓉 (*Cistanche deserticola*

- Ma) 种子萌发及与寄主梭梭的关系.内蒙古大学学报(自然科学版).1989, 20(3): 395
- [40] 许月英, 李天然, 戈建新等.寄生植物肉苁蓉种子活力测定的研究.内蒙古大学学报(自然科学版), 1993, 24(1): 95
- [41] 盛晋华、翟志席, 肉苁蓉寄生生物学的研究.中国农业科技导报, 2004, 第6卷(1)
- [42] Lynn DG, Steffens JC, kamat VS et al. Isolation and characterization of the first host recognition substance for parasitic angiosperms. J Am Chem soc, 1981, 103: 1868
- [43] Bergmann C, Wegmann K, Frischmuth K et al. Stimulation of *Orbanche crenata* seed germination by (+) strigol and structure analogues. J Plant Physiol, 1993, 142:338
- [44] 苏格尔, 李天然, 于彦珠等.寄生植物锁阳种子萌发抑制物质的研究.内蒙古大学学报(自然科学版), 1995, 26(5): 600
- [45] Harro J Bouwmeester, Radoslava Matusova et al. Secondary metabolite signaling in host-parasitic plant interactions. Current Opinion in Plant Biology 2003, 6: 358-364
- [46] 申建波, 张福锁.根分泌物的生态效应.中国农业科技导报, 1999, 1(4): 21-27