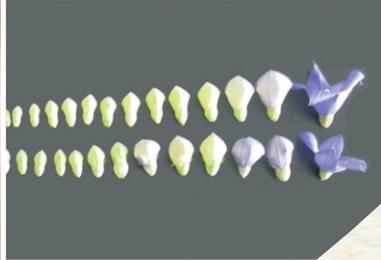


JIEGENG SHENGZHI SHENGWUXUE JI
GANHAN SHENGJING ZHONGZI
MENGFA YU CHENGMIAO

桔梗生殖生物学及 干旱生境种子萌发与成苗

刘自刚 沈冰 © 著



陕西新华出版传媒集团

陕西科学技术出版社
Shaanxi Science and Technology Press

桔梗生殖生物学及干旱生境 种子萌发与成苗

刘自刚 沈 冰 著

陕西新华出版传媒集团
陕西科学技术出版社

内容提要

种子成苗困难造成群体密度不足,是限制桔梗高产的主要原因;土壤表层干旱和桔梗种子内部因素是引起桔梗出苗困难的关键因素,种子活力也是种子萌发与成苗响应水分缺乏的内在基础。本书围绕桔梗种子活力及水分缺乏对种子成苗的影响,着重介绍了桔梗种质资源;花器官结构,雌、雄配子体发育,传粉生物学,花粉与柱头活力与寿命,自交不亲和性及其机理;种子灌浆与活力形成,种子活力保持与恢复技术;水分缺乏条件下,桔梗种子萌发与成苗过程及其外源 NO 对种子成苗期抗旱性的影响等。本书共分六章:第一章,桔梗植物学及种质资源分布;第二章,桔梗生殖生物学;第三章,桔梗种子发育及活力形成;第四章,桔梗种子活力保持和恢复;第五章,水分缺乏与桔梗种子成苗;第六章,外源 NO 与桔梗种子成苗期抗旱性。

图书在版编目(CIP)数据

桔梗生殖生物学及干旱生境种子萌发与成苗 / 刘自刚, 沈冰著. —西安: 陕西科学技术出版社, 2016. 12
ISBN 978 - 7 - 5369 - 6849 - 3

I. ①桔… II. ①刘… ②沈… III. ①桔梗 - 生殖生物学 - 生物学 ②桔梗 - 发芽 - 研究 IV. ①S682.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 303092 号

桔梗生殖生物学及干旱生境种子萌发与成苗

出版者	陕西新华出版传媒集团 陕西科学技术出版社 西安北大街 131 号 邮编 710003 电话 (029) 87211894 传真 (029) 87218236 http://www.snstp.com
发行者	陕西新华出版传媒集团 陕西科学技术出版社 电话(029) 87212206 87260001
印刷	陕西天地印刷有限公司
规格	720mm × 1200mm 16 开本
印张	13.25
字数	230 千字
版次	2016 年 12 月第 1 版 2016 年 12 月第 1 次印刷
书号	ISBN 978 - 7 - 5369 - 6849 - 3
定价	45.00

版权所有 翻印必究



序

商洛降雨充沛,生态优良,自古就有“天然药库”的称谓;2000年后,中药材产业被列为商洛市支柱产业,优先发展。商洛是我国桔梗的主产区之一,随着中药材产业的不断发展,桔梗种植面积也逐年增加,成为农业增效增收的重要途径。

另一方面,野生桔梗种群却遭到严重破坏。从早先文献和对药农的走访了解到,秦岭山区商洛境内野生桔梗广泛分布,是常见的野生中药材之一。但据2010—2012年对陕南秦岭山区的调查显示,仅在人迹罕至的深山区域发现有野生桔梗零星分布,秦岭野生桔梗种群已处于濒危状态中,桔梗野生资源保护和种群生态恢复已迫在眉睫。

种子是桔梗繁育后代群体的主要材料,桔梗野生种群抚育和人工栽培群体的形成,都需要高活力种子。桔梗以根部入药,根部作为最强库接纳了大量有机物质;就栽培群体而言,种子一般为药材生产的副产品,被分配到种子中的有机物数量有限,这使得桔梗种子粒型十分细小,千粒重常不足1g,只能播种在2cm以内的表土层中,但表土层干湿交替频繁而剧烈,并且桔梗种子萌发与成苗对于旱很敏感,表土层频繁的局部干旱很容易终止萌动种子生命活动,桔梗种子成苗期是后代群体形成的关键期。桔梗成株对贫瘠等不良环境具有较强耐性,也是一种较耐干旱的中生植物,因此高活力种子和干旱下成苗就成为桔梗生产的关键。

本书是在多年系统研究的基础上,总结了桔梗花器结构与发育、减数分裂与配子体发育及其变异、生殖生物学过程、种子灌浆动态与活力形成规律、种子贮藏及活力保持与恢复、种子在干旱条件下成苗、缓解成苗期干旱胁迫

的措施等方面的研究成果,对指导桔梗生产和野生种群人工抚育等工作具有重要作用。

全书资料翔实、图文并茂,科学性、实用性强,可供广大桔梗科技工作者和生产者阅读。

沈 冰
2016年10月

前 言

桔梗(*Platycodon grandiflorum*(Jacq.) A. DC) 属于桔梗科、桔梗属,是一种药用、食用、观赏兼用型多年生双子叶草本植物。桔梗主要分布在我国各地、俄罗斯远东地区、朝鲜半岛及日本列岛等地。我国由于长期的过量开采利用,导致野生桔梗生境出现片断化破碎,其群体规模迅速萎缩,这不仅影响了生态系统的种类组成、数量结构、生态过程以及非生物因素,同时也对物种群体遗传结构和生物多样性程度产生了复杂的影响。据我们在陕南秦岭山区12个点的调查结果显示,仅3个点有野生桔梗零星分布,秦岭野生桔梗种群已处于濒危状态中,桔梗野生资源保护和种群生态恢复已迫在眉睫。

近年来,社会对桔梗原材料的需求迅速增加,已濒于枯竭的桔梗野生品难以满足市场需求。在此情况下,各地普遍开展了桔梗野生种驯化和人工栽培技术,目前市场上流通的桔梗产品主要为人工栽培品。

商洛市地跨长江、黄河两大流域,森林覆盖率高,生态环境优良,是我国西北地区中药材最佳适宜生长区之一和国家理想的桔梗药源基地建设区域,已成为我国第四大桔梗主产区。目前桔梗野生种群抚育修复与人工规范化栽培面临的主要问题有两方面:一是种源质量低劣,种子活力保持与恢复技术缺乏;二是受表土层易干旱的影响,种子田间成苗困难,缺苗成为影响桔梗产量提高的主要限制因子。

在自然生境和人工栽培条件下,种子均是桔梗繁殖后代群体的主要材料。桔梗药用部位为根部,一般种子是药材生产的副产品,产量低,品质劣,种子活力丧失迅速;在桔梗人工栽培中,常由于种子出苗率较低(仅1%左右)造成缺苗断垄,难以构建足够的栽培群体而给生产带来严重损失。另外,由于缺乏科学的贮藏技术,常常隔年的种子已失去种用价值。桔梗是一种药用

植物,其种植面积受市场供求关系的影响很大,种子用量在年度间波动幅度也较为剧烈,桔梗种子活力保持和恢复技术研发,就成为种子年度间调配和市场波动平抑的重要措施,对桔梗生产与市场需求的快速反应具有重要意义。

桔梗成株对贫瘠等不良环境具有较强耐性,也是一种较耐干旱的中生植物;种子萌发和幼苗生长阶段是种群数量恢复和栽培群体构建的关键时期,但桔梗种子较为细小,千粒重平均约为 1.0 g,其对水分、温度等环境因子的变化较为敏感。桔梗土壤种子库通常分布在 2 cm 左右的土壤表层,由于春季多风、温度回升快、降雨也逐渐增多,很容易导致表层土壤种子处于干湿交替的环境之中,使种子萌发阶段遭受干旱胁迫干扰,影响其种群更新过程和群体规模维系;人工栽培中水分限制也是产量形成的主要限制因素之一。温度在决定种子萌发中起双重作用,即直接影响种子萌发或通过间接调节休眠影响种子萌发。

因此,研究桔梗种子资源分布情况、桔梗生殖生物学过程,种子活力形成、活力保持与恢复技术,干旱、温度等生态因子及其互作对桔梗种子成苗过程影响和作用机制等,不仅对桔梗人工栽培具有指导意义,同时也具有重要的生物学和生态学意义。为此,我们将多年研究的结果进行了总结、归纳,汇集成册,以供从事桔梗研究和生产者方便查阅参考。

本书共分六章:第一章,桔梗植物学及种质资源分布;第二章,桔梗生殖生物学;第三章,桔梗种子发育及活力形成;第四章,桔梗种子活力保持和恢复;第五章,水分缺乏与桔梗种子成苗;第六章,外源 NO 与桔梗种子成苗期抗旱性。

本书在写作过程中得到了西安理工大学沈冰教授的悉心指导和无私帮助,沈冰教授还为本书作了序;甘肃农业大学孙万仓教授、白江平教授、孟亚雄教授、武军艳副教授、方彦副研究员、李学才副研究员,兰州大学张金林教授,甘肃农科院张建平研究员、冯克云副研究员、杨蕊菊副研究员,甘肃中医药大学何春雨副教授等先后提出了宝贵的修改意见;甘肃农业大学马骊博士、蒲媛媛博士,方园、米超、陈琦硕士等,商洛学院薛粉丽、陈秀丽等同学参与了部分研究工作,在此一并表示衷心的感谢!

由于作者业务水平有限,对研究结果的总结分析不够,不足之处在所难免,敬请读者指正。

刘自刚

2015 年 12 月 20 日

目录

| 第一章 | 桔梗植物学及种质资源分布 /1

- 第一节 桔梗生物学概述 /1
- 第二节 我国桔梗资源分布及现状 /4
- 第三节 桔梗的主要化学组分及用途 /8
- 第四节 商洛市桔梗资源调查 /10
- 第五节 桔梗花色遗传分析 /13
- 第六节 我国桔梗育种概况 /16
- 参考文献 /21

| 第二章 | 桔梗生殖生物学 /24

- 第一节 桔梗花器官的生长发育 /24
- 第二节 桔梗传粉生物学研究 /30
- 第三节 桔梗自交亲和性研究 /37
- 第四节 克服桔梗自交不亲和性的方法 /42
- 第五节 桔梗花粉活力形成及田间老化对结实能力的影响 /48
- 第六节 桔梗花粉活力离体测定方法研究——花粉离体萌发与花粉管生长 /55
- 第七节 贮藏温度对桔梗花粉活力影响 /62
- 第八节 桔梗雄配子体发育异常——雄性不育生殖生物学 /66
- 第九节 桔梗雄配子体发育异常——雄性不育稳定性研究 /73
- 第十节 桔梗雄配子体发育异常——不育花蕾发育期的生理生化特性 /79
- 第十一节 桔梗雄配子体发育异常——不育花蕾内源激素含量动态变化 /87

第十二节 桔梗雄配子体发育异常——花粉母细胞减数分裂及雄性败育的细胞生理学机理 /92

参考文献 /99

| 第三章 | 桔梗种子发育及活力形成 /108

第一节 桔梗种子灌浆及成熟 /108

第二节 桔梗种子成熟生理动态 /116

参考文献 /122

| 第四章 | 桔梗种子活力保持与恢复 /124

第一节 桔梗种子休眠解除方法研究 /124

第二节 层积处理和干湿间隙浸种对桔梗种子发芽的影响 /131

第三节 不同贮藏方式对桔梗种子活力及生理特性的影响 /135

第四节 我国桔梗种子活力研究概况 /145

参考文献 /150

| 第五章 | 水分缺乏与桔梗种子成苗 /153

第一节 桔梗种子萌发及幼苗生长对干旱胁迫的形态与生理响应 /153

第二节 干旱胁迫对桔梗光合特性和叶绿体超微结构的影响 /162

第三节 不同基因型桔梗种子萌发及幼苗生长对温度胁迫的响应 /169

第四节 桔梗种子萌发对低温、干旱及互作胁迫的响应 /178

参考文献 /186

| 第六章 | 外源 NO 与桔梗种子成苗期抗旱性 /192

第一节 外源 NO 对干旱胁迫下桔梗种子萌发和胚苗生长的影响 /192

第二节 NO 及其合成抑制剂对干旱胁迫下桔梗种子萌发和幼苗生长的影响 /197

参考文献 /203

桔梗植物学及种质资源分布

第一节 桔梗生物学概述

桔梗(*Platycodon grandiflorum*(Jacq.) A. DC)属于桔梗科、桔梗属,为多年生双子叶草本植物,是一种药、食、赏兼用植物。桔梗根部入药,其主要活性成分是皂苷,具有镇咳、抗炎、降血压、降血糖、减肥、抗肿瘤、提高人体免疫力等广泛的药理活性。桔梗嫩苗、根均可食用,在我国东北地区以及日本、韩国、朝鲜等国家是一种常见蔬菜,具有很高的营养价值。桔梗花期长,花色鲜艳,有紫色、白色、黄色和粉色等多种;花冠钟形,合瓣花,近年还发现漏斗形花冠桔梗和重瓣桔梗两个变种,观赏价值极高。

1 桔梗植物学形态特征

1.1 茎叶

桔梗为多年生双子叶草本植物,高30~120 cm;茎直立,单株通常在根顶部生出3~4个生长的茎,一年生茎有3~4个分支,多年生在上部有分枝;茎内含有白色乳汁。叶近无柄,着生在茎中下部为对生或3~4片轮生,茎上部为互生叶。叶片卵状披针形,边缘有不整齐的锐锯齿(图1-1-1)。

由于桔梗属异花授粉植物,群体在遗传上具有高度异质性,在茎、叶形态特征方面表现尤为明显变异性。桔梗茎干色泽从黄绿色、微紫色、紫色到深紫色,逐渐加深;多数桔梗栽培品种苗期茎干色泽为微紫色和紫色,黄绿色和深紫色较少,特别是从茎基部直至顶部均为深紫色的品种则更少见。叶片着生方式也有3叶轮生、互生、对生等;叶缘基本呈锯齿形,叶缘锯齿深度和形态在单株间存在明显差异。多年生桔梗苗期直立,茎叶形态清秀优美,直至花

期多年生桔梗都具有较高的观赏价值。

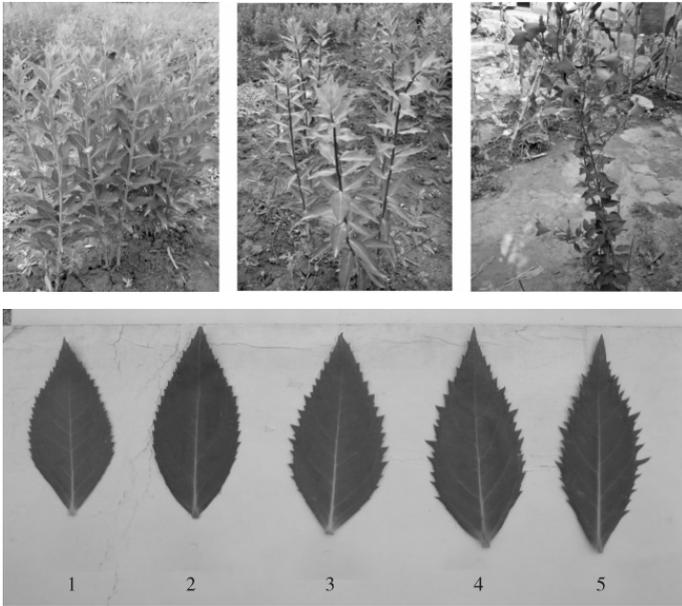


图 1-1-1 桔梗茎叶形态

1. 绿色茎; 2. 紫色茎; 3. 单株形态; 4. 叶片及叶缘形态

1.2 根

根肉质粗壮,长圆柱形或有分枝,外皮淡褐色或灰褐色,折断面白色或淡黄色,味苦或稍带甜味(图 1-1-2)。



图 1-1-2 桔梗根部形态

1. 较少侧根的根型; 2. 多侧根根型

对白花桔梗和紫花桔梗的根部性状进行了比较分析,表明除根长平均值紫花桔梗与白花桔梗两者无差异之外,其他根部性状的平均值白花桔梗均小于紫花桔梗;紫花桔梗根粗、侧根数、单根鲜重平均值高于白花桔梗,但差异

并不很明显。

1.3 花与果实

桔梗花单生或数朵呈疏生的总状花序,两性花;花萼钟状,裂片5;花冠阔钟形合生5裂,大小为(2.53~7.77) cm × (3.02~4.57) cm,裂深约1.51 cm,花色有紫、白、粉3种,花瓣具清晰脉纹;子房中下位,5室,卵圆形,长约0.96 cm,宽0.75 cm;柱头棒状紫色,密被白色柔毛;雄蕊5枚,与花冠裂片互生,长1.62 cm,花药黄色4室,长0.78 cm,花丝白色,下端膨大成盾片状,长0.84 cm,内侧被白色绒毛;成熟花粉卵圆形,被呈正六边形半透明的物质包裹。花色为紫色,另外还有白色、粉色、浅绿色等,上部5裂。花冠多为钟形,直径为2~5 cm,还发现重瓣花和筒状花(图1-1-3)。

果实近球形或倒卵形,成熟时顶端5裂。内含种子多数,狭卵形至椭圆形,长2~3 mm,宽约1 mm,成熟时为褐色,表面光滑,密被黑色条纹,一侧有褐色狭窄的薄翼。花期7~9月,果实成熟期8~9月。

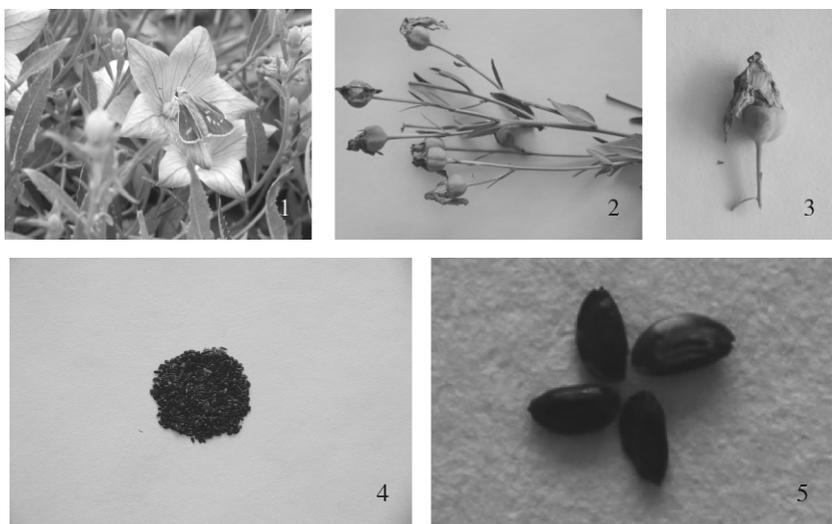


图1-1-3 桔梗的花、果实、种子形态

1. 花形态;2. 果实的着生状态;3. 果实形态;4,5. 种子形态

2 桔梗的生物学习性

桔梗原产于我国,对气候的适应性很广,我国大部分地区均宜栽培,较耐

高温,亦较耐寒冷,但不耐严寒酷暑,适宜生长的温度范围是 $10\sim 30^{\circ}\text{C}$,最适温度为 20°C ,能忍受 -20°C 低温。宿根长圆锥形或圆柱形,粗壮肥厚肉质,贮存养分较多,外皮黄褐色或灰褐色,肉淡黄白色。桔梗可以越冬,可在北方种植,宜选择向阳温暖地,但由于气温低,生长期短,植株较矮,切花的价值低。南方夏季炎热,亦抑制植株生长,宜选择海拔较高的凉爽地区种植。桔梗喜光,喜湿润空气,忌干风,不耐荫蔽。喜肥沃湿润,排水良好的疏松土壤,黏重土或积水地生长不良,土壤水分过多或积水易引起根部腐烂(图1-1-4)。



图1-1-4 桔梗群体形态

1. 一年生桔梗苗期及花期田间形态; 2, 3. 两年生桔梗花期田间形态

第二节 我国桔梗资源分布及现状

桔梗染色体数为 $2n = 18$,可配成9对同源染色体,均为中部着丝点染色

体;核型为1B型,核型公式为 $2n=2x=18=16m+2m$ (SAT),其中第6对具有随体;最长的染色体为 $2.73\ \mu\text{m}$,最短的染色体为 $1.14\ \mu\text{m}$ 。由于长期生活环境的差异,形成了众多生态类型,这为桔梗的育种工作提供了丰富的变异来源。

桔梗含苞待放时,其花蕾膨大如球,十分适宜于布置花坛和用于插花。近年来,日本学者将桔梗的提取物用于化妆品和浴液中。桔梗的提取物具有抗氧化作用,可用于抗衰老化妆品的研制。此外,桔梗提取液还可作为农作物的杀虫杀菌剂、气味掩饰剂、人体对酒精的吸收抑制剂和癌细胞抑制剂等。

1 野生桔梗的生境

桔梗为耐干旱植物,多生长在砂石质的向阳山坡、草地、稀疏灌丛及林缘。适应性强,喜温和湿润气候。多生于山坡、草丛或沟旁。据调查,桔梗常在的群落有稀疏的蒙古栎林、棚栎林、棒灌丛、中华绣线菊灌丛和连翘灌丛等。据刘鸣远等对桔梗的居群调查发现,桔梗多生长在砂石质草山坡、砍伐后杂木林郁闭的山坡、较干旱的草原、岩石缝隙等阳光充足的生境,结合形态解剖的分析,认为桔梗系耐旱的中生植物(图1-2-1)。



图1-2-1 野生桔梗形态及生境

2 桔梗资源分布

2.1 种质资源研究

2.1.1 资源调查

桔梗科植物有60属1500种,我国有17属约150种,桔梗属植物仅桔梗

1 种,广泛分布于我国各地,以西南为多,生于海拔 1600 m 以下的山坡草地和灌丛中。由于长期生活环境的差异,形成了众多生态类型,这为桔梗的育种工作提供了丰富的变异来源。

桔梗在中国、俄罗斯远东地区、朝鲜半岛、日本列岛均有分布,为广布种。桔梗在我国广泛分布,大部分省区均有分布。野生桔梗主要分布在黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、河南、河北、山东、山西、陕西、安徽、湖南、湖北、浙江、江苏等省区,四川、贵州、江西、福建、广东、广西等省区也有分布。张玲等对安徽省桔梗及近缘种属进行了调查,表明安徽省桔梗科植物共有 8 属 13 种 3 亚种,药用植物 7 属 12 种 3 亚种,另外还有 3 个新类群有待进一步研究。芦金清认为湖北栽培桔梗与野生桔梗在外观性状及主要化学成分上并无差异。

栽培桔梗主产于安徽太和、滁县、六安、阜阳、安庆、巢湖;河南桐柏、鹿邑、南阳、信阳、新县、商城、灵宝;四川梓潼、巴中、中江、阆中;湖北蕲春、罗田、大悟、英山、孝感;山东泗水;辽宁辽阳、凤城、岫岩;江苏盱眙、连云港、宜兴;浙江磐安、嵊县、新昌、东阳;河北定县、易县、安国;吉林东丰、辉南、通化、和龙、安图、汪清、龙井。据文献记载,野生桔梗以东北三省和内蒙古产量最大;栽培桔梗以河北、河南、山东、安徽、湖北、江苏、浙江、四川等省产量较大。野生桔梗以东北的质量最佳,而栽培的桔梗目前认为以华东地区的质量较好。商品药材以东北和华北产量大,以华东地区品质为好。也有人认为桔梗虽在全国多有分布,但以产于北方长白山区、半山区的野生桔梗为上品,深受国内外群众的欢迎。

2.1.2 花色、花形变异

桔梗花色有 4 种变异类型:紫花型、白花型、黄花型和粉花型,目前人工栽培的主要是紫花类型。我国学者魏建和首先发现粉花型,粉花型可能是来源于白花和紫花两种类型的杂交。1992 年韩国报道,从野生紫花桔梗自交后代中获得 1 种用于观赏的淡红花色新品系 *P. grandiflorum* (Jacq.) f. *Duplex*, 该品系与粉色型可能为同一类型,只是来源不同。

桔梗一般为合瓣花钟形,近年还发现一种新变种重瓣桔梗 *P. grandiflorum* (Jacq.) (A. DC.) cv. *Plenus* X. S. Wen, 表现为花重瓣,花柱 5 裂畸形或正常。另外 Cho - JT 在日本还发现了 1 种淡红色漏斗状花冠桔梗(图 1-2-2)。



图 1-2-2 桔梗花色及花冠变异

1. 粉色花; 2. 白色花; 3. 重瓣花; 4. 合瓣筒状花

2.1.3 种子颜色变异

桔梗种子颜色一般为黑色至棕色,为种皮表现出的颜色。不同花色植株杂交,在 F_0 种子中发现黄绿色和灰绿色及杂色种子(即种子的两端为黄绿至灰绿色,中部有或小或大的黑色至棕色斑点或斑块,表现为颜色嵌合现象)。杂色种子的形成很可能受跳跃基因的影响。

种子颜色分离没有规律性比例关系。一般种皮由珠被发育而成,其基因型与母本的基因型一致,同一单株所有种子颜色应当一致。但在桔梗杂交当代出现杂合果实(同一果实内有不同颜色的种子),那么杂合果实的形成很可能是一种果实直感现象。

种子颜色和花色具有一定相关性,在自然授粉条件下花色越深种子颜色越深,紫花、粉色花和白花植株的种子颜色分别为黑色、褐色和棕色。表明种子颜色遗传和花色遗传存在连锁关系。

2.2 桔梗资源的现状

桔梗为常用大宗药材,在我国大部分地区均有生产。1970年前,商品桔梗主要来源于野生资源,1970年后野生转家种试验成功,扩大了种植面积,以栽培桔梗进入市场,成为商品的主要来源之一。近年来,由于荒原减少,且国内外市场的俏销,我国由于长期的过量开采利用导致野生桔梗生境出现片断化破碎,其群体规模迅速萎缩,这不仅影响了生态系统的种类组成、数量结构、生态过程以及非生物因素,同时也对物种群体遗传结构和生物多样性程度产生了复杂的影响。据严一字等对我国长白山区野生桔梗资源调查结果表明,该地区桔梗野生资源正面临濒危灭绝的威胁。

我国常年桔梗需求量约在600万t,单靠野生桔梗资源已不能满足需求。在此情况下,各地普遍开展了桔梗人工栽培技术的研究,但许多地方的种源都是就地取得,且品种退化严重,生产上急需综合性状优良的桔根新品种。对现有品种的改良和新品种的选育,首先需要开展桔梗种质资源研究工作,因此,许多桔梗主产区都进行了种质资源的调查、搜集、鉴定和评价工作,从中发现了一些新的变异类型。

第三节 桔梗的主要化学组分及用途

1 桔梗的主要化学组分

桔梗的天然活性化学成分以桔梗皂苷D、远志皂苷等皂苷类成分为代表,除皂苷外桔梗还包含多种黄酮、酚类、聚炔、多糖、氨基酸、不饱和脂肪酸、矿物质微量元素等成分。其化学成分的多样性,丰富了桔梗及其提取物的生理学活性,同时也为其应用奠定了物质基础。

桔梗的嫩茎叶每100g含水分74g、粗纤维3.2g、胡萝卜素8.87mg、维生素C138mg、钙585mg、磷180mg等。每100g鲜根中含蛋白质3.5g、脂肪1.2g、碳水化合物18.2g、钙260mg、铁13mg、胡萝卜素2.2mg、维生素210mg、硫胺素0.45mg、核黄素0.44mg、膳食纤维3.29mg。并含有十几种氨基酸及铜、铁、锌、锰等22种微量元素。