

付 爽,李美阳,王景然,等. 党参小孢子发生及雄配子体发育研究[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):155-157.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.039

党参小孢子发生及雄配子体发育研究

付 爽¹,李美阳¹,王景然¹,吕 爽¹,南海燕²,全雪丽¹

(1. 延边大学农学院,吉林延吉 13300, 2. 吉林省龙井市智新镇农业技术推广站,吉林龙井 133400)

摘要:以党参不同大小花蕾为试验材料,采用常规石蜡切片法,观察党参小孢子发生及雄配子体发育的过程,以期对党参生殖生物学提供基础资料。结果表明:党参花粉具有 4 个花粉囊,花粉母细胞分布为半圆形,四分体排列方式为四面体形;成熟花粉粒为 2-细胞型,近圆形,花粉粒表面有 6~7 条萌发沟;花药壁由表皮、药室内壁、中层和绒毡层细胞组成;花药成熟后仅留表皮和药室内壁,中层与绒毡层细胞解体消失。

关键词:党参;小孢子发生;雄配子体

中图分类号:S567.5⁺30.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)18-0155-03

党参 [*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf.] 为桔梗科多年生蔓性草本植物^[1-2],为我国常用的传统补益药^[3],主要药用部位为其干燥根。党参具有调节血糖、促进造血功能、抗缺氧、耐疲劳、增强免疫力等功效^[4]。党参主产区主要在甘肃、山西、湖北、四川、陕西等地。目前关于党参的研究比较多,而涉及到的方面也较多,如化学成分分析^[3-7]、种子萌发^[1,4,8-10]、栽培技术^[11-12]、药理^[13-14]、分子方面^[15-18]等。但有关党参胚胎学方面的研究未见报道。本研究采用常规石蜡切片法对党参小孢子发生及雄配子体发育过程进行观察研究,旨在为开展党参遗传育种研究提供理论依据。

收稿日期:2016-12-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:21462044)。

作者简介:付 爽(1991—),女,吉林磐石人,硕士研究生,从事植物资源研究。E-mail:2234839658@qq.com。

通信作者:全雪丽,博士,教授,从事植物学科研究与教学工作。E-mail:qxl2000@aliyun.com。

1.0 万~2.6 万 lx,而夜间则应控制在 100~300 lx,光照时间为 4~6 h;其营养液中 N、P、K 无机复合肥有效成份含量为 0.1%~0.2% 比较适宜,并且插穗浸入营养液长度控制在占插穗自身长度的 70%~90% 比较适宜。

生产上批量育苗时,苗池准备可根据田块和生产需要而定。一般苗池东西向,池宽 1 m,长度不限,苗池深 15~25 cm,苗池间距 0.5 m,池水高度为池深的 2/3 以上,按含 0.15% 有效成份的 N、P、K 复合肥配制营养液,搅拌均匀,育苗池中放入塑料折簇作苗木插穗的支撑载体,离地面 2 m 左右搭防晒棚,上覆草帘或防晒网等遮阳物,以略透光为宜。每 2 d 巡查 1 次苗池中营养液深度,若水份挥发较多,应及时补充水分。

苗木移植前还需练苗。待每株插穗长出须根 5~8 根,每根须长度 3~5 cm 时,就可适度揭开草帘、防晒网等遮阳物,练苗 5~7 d,以便苗木移栽农田。有关营养液育苗出圃的苗木质量要求及其标准,还有待进一步研究。

参考文献:

[1] 王树凤,胡韵雪,李志兰,等. 盐胁迫对弗吉尼亚栎生长及矿质离

1 材料与方法

1.1 材料与试验地概况

将党参种子(由甘肃省农业科学院提供)播种于延边大学农学院试验基地,等党参植株开花后采集处于不同时期的花蕾。

1.2 方法

用 FAA 固定液($V_{70\% \text{乙醇}}:V_{\text{甲醛}}:V_{\text{冰醋酸}}=90:5:5$)固定新鲜的不同大小党参花蕾,拿回实验室用徕卡石蜡切片机进行常规石蜡切片。切片厚度为 14~16 μm ,番红-固绿双重染色,用中性树脂封片,最后在显微镜下拍摄。

2 结果与分析

2.1 党参开花动态

党参花为两性花,属辐射对称花,每朵花内包含 5 枚雄蕊,排成 1 轮(图 1)。柱头 3 裂,子房 3 室,子房下位。个别党参花柱头 4 裂,子房 4 室。对党参开花动态进行初步调查

子吸收、运输和分配的影响[J]. 生态学报,2010,30(17):4609-4616.

[2] 王树凤,胡韵雪,孙海菁,等. 盐胁迫对 2 种栎树苗期生长和根系生长发育的影响[J]. 生态学报,2014,34(4):1021-1029.

[3] 刘家财,滕士元,史骥清. 弗吉尼亚栎的引种与扦插繁殖生产试验研究[J]. 中国园艺文摘,2011,27(6):24-25.

[4] 王树凤,孙海菁,陈益泰,等. 模拟干旱胁迫下弗吉尼亚栎苗木叶片相关生理参数的分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2011,35(6):6-10.

[5] 王树凤,陈益泰,孙海菁,等. 盐胁迫下弗吉尼亚栎生长和生理生化变化[J]. 生态环境,2008,2(2):747-750.

[6] 杨舒婷,曲 博,李谦盛,等. 弗吉尼亚栎幼苗对高温胁迫的生理响应[J]. 江西农业大学学报,2015(1):90-95.

[7] 陈益泰,王树凤,陈雨春,等. 弗吉尼亚栎种子产量、脱落过程与种子形态特征的变异及稳定性[J]. 林业科学研究,2015,28(4):524-530.

[8] 戎国增,裴龙联. 弗吉尼亚栎种子育苗和无性繁育技术[J]. 林业科技开发,2009,23(5):112-114.

[9] 陈雨春,王 杰,宋文君,等. 硝酸银和生根粉在弗吉尼亚栎扦插繁殖中的应用[J]. 林业科技开发,2007,21(3):97-98.

发现,党参开花时,先是绿色的 5 个花萼往外开展(图 1-A 至图 1-C);之后黄绿色的花瓣开放,花瓣刚刚打开时,雄蕊的花药已经开裂,都围在柱头的周边(图 1-D、图 1-E);然

后雄蕊的花药慢慢从柱头周边往外移开到花瓣内侧,这时已经能看见好多成熟的花粉印在柱头表面(图 1-F、图 1-G);再然后,3 裂的柱头慢慢展开,最后反卷(图 1-H、图 1-I)。

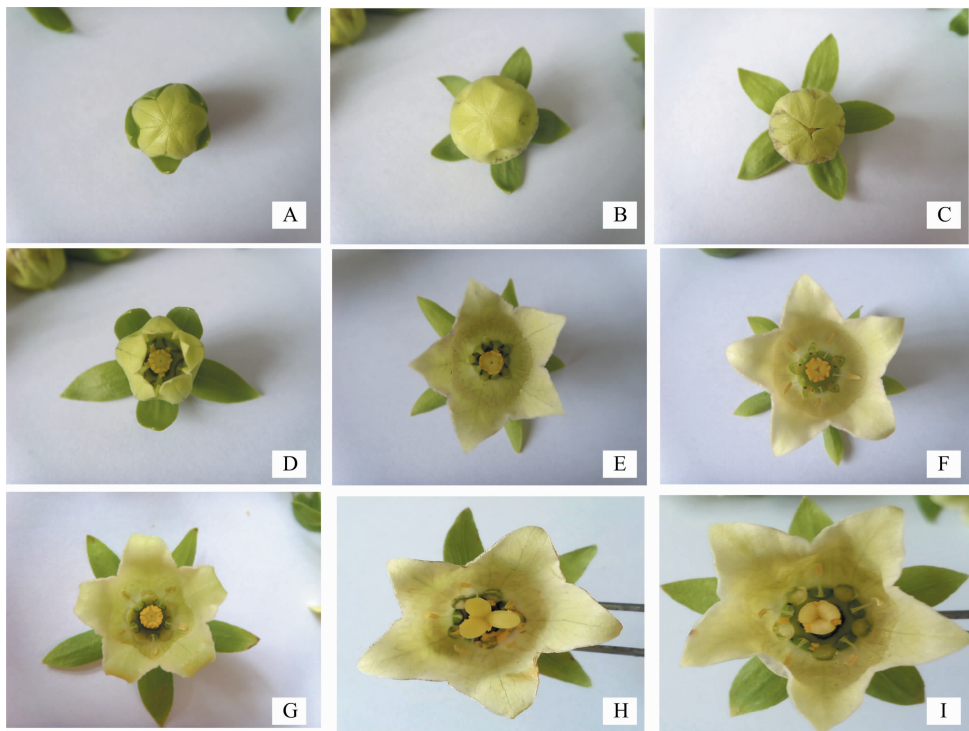


图1 党参开花动态过程

2.2 党参小孢子发生

从党参很小的雄蕊原基中花药的横切面来看,党参每个花药由 4 个花粉囊组成,左右对称,呈蝶形(图 2-A)。最初,花托上产生雄蕊原基,其顶端分化成花药,基部分化成花丝。花药初期最外面是 1 层表皮,内侧 4 个角隅部分细胞分裂旺盛,由造孢细胞组成。花药外侧部分是周缘细胞,分裂、分化后发育成花药壁的主要组成部分(图 2-A)。花药横切面的中央部分是药隔部分,是由药隔维管束(细胞小、排列比较密集的部分)和药隔薄壁组织组成(维管束周边细胞比较大的部分)(图 2-A)。造孢细胞进一步发育形成花粉母细胞,党参花粉母细胞在花粉囊内分布成半圆形,主要是因为药隔薄壁细胞延伸到花粉囊内部造成的(图 2-B),此时,花粉母细胞体积很大,排列紧密,细胞核很明显,核也大,周缘细胞也通过分裂逐渐分化成花药壁,但这时分化不是很明显(图 2-B)。花粉母细胞进入减数分裂时期,体积进一步变大,排列变得疏松,整个花粉囊空间逐渐变大,绒毡层细胞体积也迅速达到最大值(图 2-C)。每个花粉母细胞经过减数分裂形成 4 个小孢子,党参的 4 个小孢子在空间上排成四面体形,每个小孢子之间由胼胝质相连(图 2-D),这个时期叫四分体时期。四分体时期花药壁已经分化很明显,由表皮、药室内壁、中层和绒毡层细胞组成,但是中层细胞不是很发达,大多部位观察不到中层。四分体在绒毡层提供的胼胝质酶的作用下互相分离,形成游离状态小孢子。刚释放的小孢子形态像镰刀形,体积也较小(图 2-E)。

2.3 党参雄配子体形成

小孢子进一步发育后,由镰刀形变成圆形,体积稍变大,

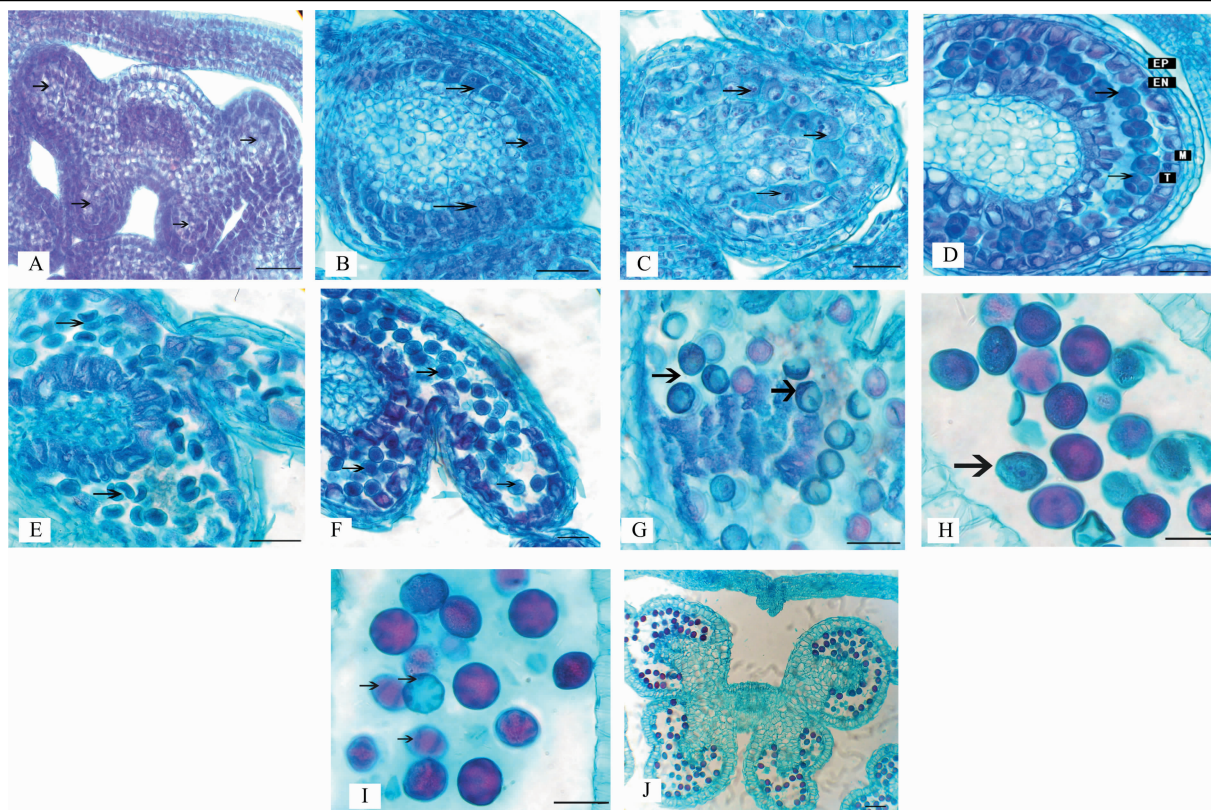
核在中央,这个时期为小孢子单核中央期(图 2-F)。小孢子体积继续变大,核移向一边,属单核靠边期(图 2-G)。核再进行 1 次有丝分裂,形成 2 个核,即 1 个核大、1 个核小,大的核与细胞质组成营养细胞,小的核与营养细胞的细胞质组成生殖细胞,就是说生殖核游离在营养细胞的细胞质中,这个时期叫双核初期(图 2-H)。双核初期的花粉粒表面形成花粉壁,壁上出现数条萌发沟(6~7 条),体积继续变大,最后形成成熟的花粉粒,属于 2-细胞型花粉粒(图 2-I)。花粉成熟后花粉囊开裂,最后花药壁仅留存表皮与药室内壁,绒毡层与中层细胞解体消失(图 2-J)。药室内壁细胞在双核初期出现纤维加厚,有的部位出现 2 层纤维加厚,并径向伸长。

3 结论与讨论

本试验只是对党参的开花动态进行了初步调查,下一步应该定期(如每天同一时期或每几个小时)对开花动态进行跟踪调查,这样更能详细了解其开花进程。

党参花药由 4 个花粉囊组成,小孢子与雄配子体发育经历了造孢时期、花粉母细胞时期、四分体时期、单核中央期、单核靠边期、双核初期和成熟花粉粒时期。与大多数植物小孢子与雄配子体经历类似。四分体属于四面体形,没有观察到其他类型的四分体。成熟花粉粒属于 2-细胞型。小孢子与雄配子发育过程中,同一药室小孢子之间、同一花药花粉囊之间、同一花不同花药之间小孢子发育基本同步。

党参花粉母细胞时期分布呈半圆形,这与大多其他植物圆形分布不同。桔梗花药研究表明,桔梗花粉母细胞分布也呈半圆形^[19]。笔者所在课题组对轮叶党参花药进行切片,也



A—1个花药横切, 示造孢细胞; B—花粉母细胞时期; C—花粉母细胞时期, 进入减数分裂; D—四分体时期, 示花药壁分化(EP:表皮; EN:药室内壁; M:中层; T:绒毡层); E—刚释放的小孢子; F—单核中央期; G—单核靠边期; H—双核初期; I—成熟花粉粒; J—花粉囊即将开裂。图A至图I标尺=50 μm, 图J标尺=100 μm

图2 党参小孢子及雄配子体形成示意过程

发现其花粉母细胞分布呈半圆形,可能是桔梗属和党参属植物的特征,有待于进一步验证。

马琴国等对党参花粉形态扫描电镜观察表明,党参花粉粒近球形,具有7沟,极少数有6沟^[20],本研究观察结果与之吻合。

参考文献:

- [1] 苏宁宁,张丽萍,王艳芳,等. 党参种子发芽率调查研究[J]. 中国农学通报,2012,28(4):294-298.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:化学工业出版社,2005:119.
- [3] 孙政华,邵晶,郭玫. 党参化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学,2015,43(33):174-176.
- [4] 王惠珍,张恩和,马啸,等. 党参根系分泌物对自身种子萌发的影响[J]. 甘肃中医学院学报,2007,24(6):36-38.
- [5] 谢君,张义正,顾用祚. 党参挥发油及脂溶性化学成分的研究[J]. 中国药学杂志,2000,35(9):583-586.
- [6] 陈敏,李晓瑾,姜林,等. 新疆党参挥发油成分的研究[J]. 中草药,2000,31(4):254.
- [7] 郭琼琼,李晶,孙海峰,等. 党参挥发油成分分析及其特殊香气研究[J]. 中药材,2016,39(9):2005-2012.
- [8] 孙年喜,彭锐,李隆云,等. 川党参种子发芽检验规程的研究[J]. 中国中药杂志,2008,33(11):1246-1248.
- [9] 杨静,王莉,李利改. 党参种子品质的研究[J]. 时珍国医国

药,2005,16(7):687-688.

- [10] 杨鹏飞,鲜小龙,陈叶. 党参种子发芽检验标准化研究[J]. 中国种业,2007(8):41-42.
- [11] 赵国锋,张丽萍,武滨,等. 山西党参规范化种植技术研究及SOP的制定[J]. 现代中药研究与实践,2006,20(6):13-16.
- [12] 李成义,刘书斌,李硕,等. 甘肃党参栽培现状调查分析[J]. 中国现代中药,2016,18(1):102-105.
- [13] 焦红军. 党参的药理作用及其临床应用[J]. 临床医学,2005,25(4):92,89.
- [14] 许爱霞,张振明,葛斌,等. 党参多糖抗衰老作用机制的实验研究[J]. 中国现代应用药理学杂志,2006,23(8):729-731.
- [15] 谷聪,曹玲亚,苏强,等. 党参原产地及其迁地引种后 AFLP 与 HPLC 指纹图谱分析[J]. 中药材,2016,39(8):1716-1722.
- [16] Guo H B, Lu B R, Wu Q H, et al. Abundant genetic diversity in cultivated *Codonopsis pilosula* populations revealed by RAPD polymorphisms[J]. Genetic Resources and Crop Evolution,2007,54(5):917-924.
- [17] 陈大霞,彭锐,李隆云,等. 利用 SRAP 和 ISSR 标记分析川党参的遗传多样性[J]. 中国中药杂志,2009,34(3):255-259.
- [18] 刘新星,陈玉梁,石有太,等. SSR 标记甘肃栽培党参种质资源的遗传多样性分析[J]. 中药材,2016,39(8):1742-1747.
- [19] 朴雪梅,全雪丽,严一字,等. 桔梗小孢子发育时期与花器形态相关性研究[J]. 江苏农业科学,2008(6):138-139.
- [20] 马琴国,赵勇,安培坤,等. 党参与素花党参花粉形态扫描电镜观察[J]. 甘肃中医学院学报,2010,27(3):71-72.