

文章编号:1000-4025(2007)12-2411-05

2 种藏茵陈类植物的引种地繁殖系统研究

杨慧玲^{1,3},段元文²,刘健全^{1*}

(1 中国科学院 西北高原生物研究所,西宁 810001;2 中国科学院 青藏高原研究所昆明分部,昆明 650204;3 中国科学院 研究生院,北京 100039)

摘要:通过观察、套袋、人工授粉对引种至低海拔栽培地的 2 种“藏茵陈”类植物——川西獐牙菜(*Swertia mussotii*)和抱茎獐牙菜(*S. franchetiana*)繁育系统进行研究。结果表明:(1) 引种的 2 种植物均为雌雄同株、自交亲和,但大部分花雌雄异熟(dichogamy)和雌雄异位(herkogamy),雌雄同熟的比例为 24%,且雌雄同熟的雄蕊群远离雌蕊,需要靠传粉昆虫等传粉媒介传粉。(2) 引种到低海拔的 2 种“藏茵陈”类植物结实率和发芽率均较高,其中川西獐牙菜柱头张开第 2 天的授粉结实率达 76.54%,种子发芽率达 84.29%。(3) 低海拔栽培的川西獐牙菜的传粉昆虫是家养蜜蜂,抱茎獐牙菜的开花时间较川西獐牙菜晚 20 d,有效的传粉昆虫由家养蜜蜂变成一种很小的蜂类。研究表明,川西獐牙菜和抱茎獐牙菜由高海拔引种到低海拔地区后,结实率和种子发芽率均较高,可以用引种栽培的方式进行“藏茵陈”药材的繁殖。

关键词:川西獐牙菜;抱茎獐牙菜;繁殖系统;引种栽培

中图分类号:Q945.53 **文献标识码:**A

Reproduction Systems of Two Cultivated “Zangyinchen”

YANG Hui-ling^{1,3}, DUAN Yuan-wen², LIU Jian-quan^{1*}

(1 Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China; 2 Institute of Tibetan Plateau Research at Kunming, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; 3 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract: Compared observation, artificial bagged and artificial pollination were operated to study the reproduction system characteristics of *Swertia mussotii* and *S. franchetiana* at the low altitude cultivated sites. The results show that: (1) Two cultivated plants of *S. mussotii* and *S. franchetiana* are hermaphroditic plants of dichogamy and herkogamy. The ratio of homogamy is 24%, the stamen is apart from pistil in homogamous plants. Therefore, the seed set depends on pollinators. (2) There are high seed-setting ratio and germination ratio of two “Zangyinchen” plants at the low altitude cultivated site. The seed-setting ratio reaches 76.54% and germination ratio reaches 84.29% at the second day of open pistil of *S. mussotii*. (3) The effective pollinators are *Apis mellifera* L. (apidae) in the low altitude cultivation site for *S. mussotii*. The sister genus *S. franchetiana* anthesis defers 20 days from *S. mussotii*, the effective pollinator is small bumbus. The results indicated that *S. mussotii* and *S. franchetiana* had a high seed-setting ratio and germination ratio in the low altitude cultivated sites. It is feasible that medicinal materials reproduce through cultivation.

Key words: *Swertia mussotii*; *Swertia franchetiana*; reproduction system; cultivation

收稿日期:2007-05-25;修改稿收到日期:2007-11-02

基金项目:国家自然科学基金项目(30572329)

作者简介:杨慧玲(1975-),女,在读博士研究生,主要从事中、藏药资源研究。

* 通讯作者:刘健全,博士,研究员,博士生导师,主要从事植物亲缘地理及资源研究。E-mail:ljqdx@public.xn.qh.cn

川西獐牙菜(*Swertia mussotii* Franch.)为2年生草本植物,花4数,直径8~13 mm,花冠暗紫红色,花萼长为花冠的1/2~2/3.分布在中国西藏、云南(德钦)、四川西北部、青海西南部,生于山坡、河谷、林下、灌丛、水边等^[1].川西獐牙菜的替代种抱茎獐牙菜与川西獐牙菜非常相似,只是花冠的颜色为淡蓝色。“藏茵陈”的原植物是龙胆科植物川西獐牙菜^[2]在藏药中用途较广,用于治疗肝炎、胆结石、消炎、清热、抗病毒和细菌引起的各种疾病等^[3,4].从“藏茵陈”类植物中分离出的活性物质主要有齐墩果酸、獐牙菜苦甙、芒果甙、当药黄素等物质^[3].齐墩果酸被证明对治疗多种肝中毒具有显著作用^[2],还发现它通过降低毒性代谢产物来保护急性肝损伤,提高葡萄糖酶增加解毒作用,是“藏茵陈”治疗肝炎的主要活性成分^[4].川西獐牙菜的最佳替代种是抱茎獐牙菜(*Swertia franchetiana*)^[5],其药理作用和川西獐牙菜相近,也是《中国药典》记载的“藏茵陈”类药材,是川西獐牙菜最佳的替代品种.研究发现经一次引种栽培的川西獐牙菜的有效成分,只有芒果甙一种成分是野生的四分之一,其余成分都与野生的相近^[6],说明栽培的药材可以替代野生的.引种栽培的种子第1年可以从野生地采集,要想真正解决引种栽培的问题,就必须拥有足够的种源供应,这样才能从根本上解决引种问题.但是引种后的植物是否结实、结实率如何、种子的发芽率如何,这些都是引种必须要解决的问题.本研究对引种至低海拔栽培地的2种“藏茵陈”进行繁殖系统研究,为藏茵陈类植物药材的引种栽培提供依据.

1 材料和方法

1.1 材料

野生的川西獐牙菜种子于2004年9~10月采自青海省玉树藏族自治州,北纬32°15'40.2",东经96°56'70.3",海拔约3520 m;抱茎獐牙菜的种子2004年9月采自青海省湟中县,北纬36°32'21.1",东经101°25'15.0",海拔2860 m的地区.种子经-20℃低温冷藏和800 μg·g⁻¹的赤霉素处理于2005年4月播种在青海省大通县河滩村(北纬36°37'17.7",东经101°10'9.5")海拔2620 m的低海拔地区.播种当年6月出苗生长,秋季枯萎,第2年春季从越冬根茎处重新长出植株,到7~8月份开花.在盛花期观察了雄蕊的散粉持续时间和雌蕊的柱头张开天数,同时进行了繁育系统实验.

1.2 繁育系统实验

在繁育系统研究中,实验共设6个处理:(1)自然授粉(natural pollination);(2)去雄后自然授粉(natural pollination after emasculation);(3)不去雄套袋(isolation without emasculation);(4)去雄套袋(isolation after emasculation);(5)人工同株异花授粉,即用同一植株上的花粉为另一朵花授粉(artificial geitonogamy);(6)人工异株异花授粉(artificial xenogamy),即用不同植株上的花粉为另一植株的花授粉.去雄操作均在花药未散粉时进行,套袋的时间均在柱头未张开以前;试验(3)在花蕾期进行,人工授粉时间依据花柱头的张开时间而定.种子成熟而果实未裂开时采收种子,放在纸袋内让果实自然裂开,统计结实率.每组实验花数为20朵,实验时间川西獐牙菜为7月末到8月初,抱茎獐牙菜为8月末到9月初.

1.3 柱头接受花粉能力持续天数实验

分别选择第1天张开柱头的川西獐牙菜和抱茎獐牙菜花若干进行套袋(避免昆虫传粉),分别在柱头张开的第1天人工给柱头授粉1次,之后套袋,待种子成熟而果实未裂开时采收种子,放在纸袋内让果实自然裂开,统计结实率.分别统计柱头张开不同天数授粉的结实率,以此类推柱头张开的第2天,一直到第6天人工授粉1次套袋,统计1次传粉的结实率.

2 结果与分析

2.1 开花过程

实验观察结果表明,川西獐牙菜的开花时间是7月中旬到8月中旬,开花时首先花药开始散发花粉,花药的散粉时间较短,一般1~4 h散粉完毕,此时柱头还没有张开,大部分为雄性先熟,雌雄同熟的比例为24%.

川西獐牙菜都是上午8:00~9:00开花,花一开放花药就开始散粉,到10:00左右花粉最多,大量的蜜蜂访问,经实验证明此时蜜蜂的传粉效率很高,实验证明蜜蜂访问1次(观察刚张开的柱头,只要有1只蜜蜂访问立刻套袋,结实率即为1次访花的结实率),花的结实率可达10.09%,花粉的活力逐渐下降,中午12:00左右花药上的花粉几乎散完,随着散粉的结束花丝带着花药远离雌蕊向花瓣方向移动.到下午16:00~17:00大部分柱头开始张开直到花瓣闭合,在没有人干扰的盛花期柱头持续期是(56.45 ± 10.63) h(n=10).根据结实率计算柱头接

受花粉的能力,结果(图 1)显示,初张开的柱头授粉后结实率为 $(65.73 \pm 11.36) \%$ ($n = 20$),此时柱头接受花粉的能力不是最强,随着柱头逐渐张大,对花粉的接受力增强,到第 2 天上午时柱头的接受力最强,此时授粉结实率可达 $(76.45 \pm 11.59) \%$ ($n = 20$),以后柱头接受花粉的能力下降,到第 6 天柱头已无接受花粉的能力,授粉后结实率为 0.

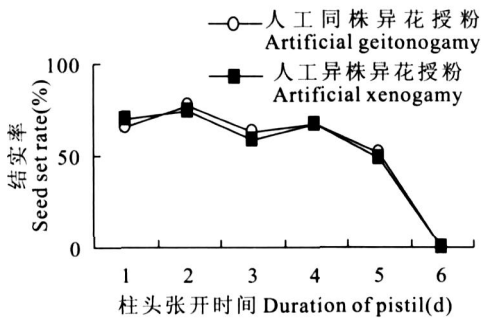


图 1 川西獐牙菜柱头张开时间对结实率的影响
Fig. 1 Effects of pistil opening time on seed set rate of *S. mussoitii*

抱茎獐牙菜花药散粉时间和散粉持续时间以及柱头张开的的时间和柱头持续期都与川西獐牙菜相同,只是抱茎獐牙菜的开花时间较川西獐牙菜晚 20 d,大量的家养蜜蜂已经离开,缺少了有效的传粉昆虫,此时抱茎獐牙菜的传粉依靠一种很小的蜂类,可能影响了抱茎獐牙菜的结实率.

观察结果表明,抱茎獐牙菜的开花时间是 8 月中旬到 9 月初,开花时也首先是花药散粉,此时柱头没有张开,一般 1~4 h 散粉完毕,这时柱头才开始逐步张开,大部分花也是雄性先熟,雌雄同熟的比例为 24%.抱茎獐牙菜也是上午 8:00~9:00 开花,花一开放花药就开始散粉,到 10:00 左右花粉最多,大量的小型蜂类访花.随着时间的推移,花粉逐渐减少,到中午 12:00 左右时,花粉几乎散完,随着散粉的结束花丝带着花药远离雌蕊向花瓣方向移动,到下午 16:00~17:00 时大部分柱头开始张开直到花瓣闭合.

根据结实率计算柱头接受花粉的能力,结果由图 2 可以看出,初张开的柱头接受花粉的能力不是最强的,结实率可达 $(67 \pm 0.17) \%$ ($n = 20$),随着柱头的逐渐张开,到第 2 天上午柱头接受花粉的能力达到最强,为 $(68 \pm 0.22) \%$ ($n = 20$),随着时间的延长,柱头接受花粉的能力下降,到第 5 天柱头已没有接受花粉的能力,授粉后结实率为 0.

2.2 2 种獐牙菜的繁殖系统

2.2.1 川西獐牙菜的繁殖系统 因柱头张开的第

2 天接受花粉的能力最强,种子的结实率也最高,所以,本研究的繁育系统实验均选择柱头张开的第 2 天进行.

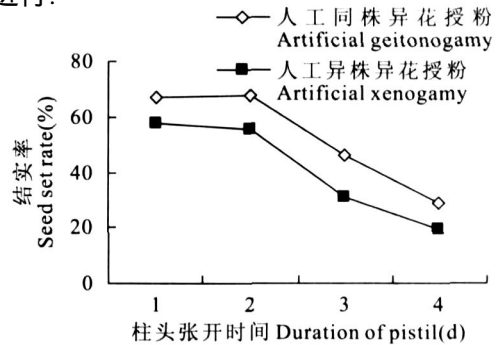


图 2 抱茎獐牙菜柱头张开时间对结实率的影响
Fig. 2 Effects of pistil opening time on seed set rate of *S. franchetiana*

川西獐牙菜 6 种实验处理的种子结实率统计见表 1.从表 1 可以看出,去雄套袋和不去雄套袋均没有结实,说明川西獐牙菜单花不能完成授粉,也不能通过无融合生殖产生种子.自然授粉、人工同株异花和异株异花授粉均有较高的结实率,分别为 68%、66%、70%,说明川西獐牙菜不但在昆虫传粉的异花受精可以结实而且自交也是亲和的,只是需要外界的帮助,否则自花不能完成受精结实.柱头不同持续天数结实率的研究结果见表 2,从表 2 中可以看出,柱头张开的第 2 天授粉无论是人工自交还是杂交结实率都最高,分别为 76%和 75%,川西獐牙菜的人工自交和杂交的结实率没有显著性差异 ($P = 0.895 > 0.05$).

2.2.2 抱茎獐牙菜的繁殖系统 抱茎獐牙菜 6 种人工处理实验结果见表 1.由表 1 可以看出,抱茎獐牙菜与川西獐牙菜的实验结果一致,去雄套袋和不去雄套袋都没有结实,说明抱茎獐牙菜也不能单花结实,但是给抱茎獐牙菜传粉的小型蜂类的传粉效率不如家养蜜蜂高,导致抱茎獐牙菜自然结实率(41%)低于川西獐牙菜(68%),但是人工授粉的抱茎獐牙菜最高的结实率(46%)也低于川西獐牙菜最高的结实率(70%),可能是由于 2 种獐牙菜植物本身的原因造成的,这些有待在以后的实验中进一步验证.从表 1 和表 2 可以看出,无论是从繁育系统的不同处理还是柱头的不同持续期都可以看出抱茎獐牙菜的自交结实率高于杂交结实率,可能是人为因素造成的或者是 2 种植物本身固有的区别,这在以后的实验中将进一步验证.从表 2 显示的结果中可以得出,抱茎獐牙菜自交和杂交的结实率存在显著性差异 ($P = 0.044 < 0.05$).

表 1 不同传粉处理对川西獐牙菜和抱茎獐牙菜结实率的影响

Table 1 Seed set rate of *Swertia mussotii* and *Swertia franchetiana* with different treatments

传粉处理 Pollination treatment	样本量 No. of sample	结实率 Seed set rate (%)	
		川西獐牙菜 <i>S. mussotii</i>	抱茎獐牙菜 <i>S. franchetiana</i>
自然授粉 Natural pollination	20	68	41
去雄套袋 Isolation after emasculation	20	0	0
不去雄套袋 Isolation without emasculation	20	0	0
去雄后自然授粉 Natural pollination after emasculation	20	48	43
人工同株异花授粉 Artificial geitonogamy	20	66	46
人工异株异花授粉 Artificial xenogamy	20	70	35

表 2 川西獐牙菜和抱茎獐牙菜柱头持续期的结实率统计

Table 2 *Swertia mussotii* and *Swertia franchetiana* seed set rate of the duration of pistil

柱头张开时间 Days of open pistil (d)	样本量 No. of sample	川西獐牙菜 <i>S. mussotii</i>		抱茎獐牙菜 <i>S. franchetiana</i>	
		自交 Self-pollination (%)	杂交 Outcrossing (%)	自交 Self-pollination (%)	杂交 Outcrossing (%)
0	20	66	70	46	35
1	20	76	75	67	57
2	20	63	59	68	31
3	20	66	68	56	46
4	20	51	49	29	19
5	20	0	0	0	0

3 结论

观察结果显示:2种“藏茵陈”类植物都是雌雄异位和雌雄异熟,雌雄同熟的比例只有24%,即使是雌雄同熟,雄蕊群还是远离雌蕊,仍然需要靠传粉昆虫等传粉媒介传粉。据观察川西獐牙菜从高海拔引种到低海拔传粉昆虫发生了变化,川西獐牙菜在野生高海拔地区传粉昆虫是雄蜂,还有一些獐牙菜类植物的传粉昆虫也是雄蜂,药用植物祁连獐牙菜的传粉昆虫也是雄蜂^[7]。那么在低海拔栽培地是否存在有效的传粉昆虫为其传粉,是决定栽培植物是否可以结实,结实率可以达到繁殖后代水平的主要因素。据研究,栽培的种子也具有一定的发芽率,发芽率最高可达84.29%,而原产地青海玉树地区野生种子的发芽率最高为75.71%^[8]。

川西獐牙菜的花是雌雄异熟和雌雄异位^[9],即两性花植物的雄蕊和雌蕊在时间和空间上的分离,必须依靠外界传粉才能结实,这2种机制在两性花植物中广泛存在^[10]。雌雄异熟和雌雄异位在植物中

的共同存在长期以来被认为主要是促进植物异花传粉、避免自交^[11,12]。许多植物也是雌雄异熟和雌雄异位的^[13-19]。尽管川西獐牙菜和抱茎獐牙菜的花综合特征促进异交,避免了单花自交,但是昆虫的部分访问在同一植株上存在连续性,因而同株异花传粉导致的自交完全有可能发生。

抱茎獐牙菜在大通花卉园内缺少有效的传粉昆虫,其它的栽培种也存在这样的情况,昆明植物园内栽培的红花山玉兰也是这样^[20],由于在引种栽培地缺少抱茎獐牙菜的有效传粉昆虫,使自然状态下的抱茎獐牙菜结实率(41%)低于川西獐牙菜(68%)。但是人工传粉的抱茎獐牙菜的同株授粉的结实率(46%)高于异株传粉的结实率(35%),这是不符合植物进化过程的,可能是由于人为因素导致的,即:同株给的花粉多于异株的花粉使同株花药有足够的花粉供应,结实率高于异株。为了提高引种栽培地植物的结实率以获得更多的种子,为引种栽培的持续性提供基础,建议选择在家养蜜蜂较多的地方进行引种栽培,以获得更多的传粉昆虫传粉。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1988,62:400-401.

- [2] 杨永昌. 藏药志[M]. 西宁:青海人民出版社,1991.
- [3] DING J Y(丁经业),SUN H F(孙洪发). Effective components antihepatitis of *Swertia mussottii*. . Separate and identify mangiferin and olinolic acid[J]. *Chin. Tradit. Herb. Drugs* (中草药),1980,9:391 - 392 (in Chinese).
- [4] JIL J(纪兰菊),LIAO ZH X(廖志新),SUN H F(孙洪发). A survey of gentian plants of the Tibetan traditional herb medicines[J]. *Acta Biologica Plateau Sinica* (高原生物学集刊),2002,15:234 - 250 (in Chinese).
- [5] LIU J Q(刘健全),CHEN ZH D(陈之端),LIAO ZH X(廖志新),LU A M(路安民). A comparison of the ITS sequences of the Tibetan medicine "Zang Yin Chen" ——*Swertia mussotti* and its adulterant species[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica* (植物分类学报),2001,36:67 - 70 (in Chinese).
- [6] YANG H L, DING C X, DUAN Y W, LIU J Q. Variation of active constituents of an important Tibet folk medicine *Swertia mussottii* Franch. (Gentianaceae) between artificially cultivated and naturally distributed[J]. *Journal of Ethnopharmacology*,2005,98:31 - 35.
- [7] DUAN Y W(段元文),LIU J Q(刘健全). Floral syndrome and insect pollination of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Swertia przewalskii* (Gentianaceae) [J]. *Acta Pharmaceutica Sinica* (植物分类学报),2003,41(5):465 - 474 (in Chinese).
- [8] YANG H L(杨慧玲),LIU J Q(刘健全). Seed germination of *Swertia mussottii* (Gentianaceae), a threatened biennial with an important application in Tibet folk medicine[J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究),2005,27(3):295 - 300 (in Chinese).
- [9] HUANG SH Q(黄双全). On several scientific terms in pollination biology and their Chinese translation[J]. *Acta Pharmaceutica Sinica* (植物分类学报),2004,42(3):284 - 288 (in Chinese).
- [10] RENNER S S. How common is heterodichogamy [J]. *Trends in Ecology and Evolution*,2001,16:595 - 597.
- [11] LLOYD D G,WEBB C J. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy[J]. *New Zealand Journal of Botany*,1986,24:135 - 162.
- [12] WEBB C J,LLOYD D G. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. . Herkogamy [J]. *New Zealand Journal of Botany*,1986,24:163 - 178.
- [13] LIJ Y,ZHANG Z X,YIN W Y. Flower structure and reproduction system of *Forsythia suspensa* Vahl[J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.* (西北植物学报),2006,26(8):1 548 - 1 553 (in Chinese).
- [14] WEBB C J,LITTLETON J. Flower longevity and protandry in two species of *Gentiana*(Gentianaceae) [J]. *Annals of Missouri Botanical Garden*,1987,74:51 - 57.
- [15] B YNUM M R,SMITH W K. Floral movements in response to thunderstorms improve reproductive effort in the alpine species *Gentiana algida*(Gentianaceae) [J]. *American Journal of Botany*,2001,88:1 088 - 1 095.
- [16] PETANIDOU T,DEN-NIJS J C M,ELLIS-ADAM A C. Comparative pollination ecology of two rare Dutch *Gentiana* species in relation to population size[J]. *Acta Horticulture*,1991,288:308 - 312.
- [17] PETANIDOU T,DEN-NIJS J C M,OOSTERMEIJER J GB. Pollination ecology and constraints on seed set of the rare perennial *Gentiana cruciata* L. in The Netherlands[J]. *Acta Botanica Neerlandica*,1995,44:55 - 74.
- [18] PETANIDOU T,ELLIS-ADAM A C,DEN-NIJS J C M,OOSTERMEIJER J GB. Pollination ecology of *Gentiana uliginosa*, a rare annual of the Dutch coastal dunes[J]. *Nordic Journal of Botany*,1998,18:537 - 548.
- [19] PETANIDOU T,ELLIS-ADAM A C,DEN-NIJS J C M,OOSTERMEIJER J GB. Differential pollination success in the course of individual flower development and flowering time in *Gentiana pneumonanthe* L. (Gentianaceae) [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*,2001,135:25 - 33.
- [20] GONG X(龚 洵),WU Q A(武全安),LU Y X(鲁元学),ZHANG Y P(张彦凭). Pollination biology of cultivated *Magnolia delavayi* [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究),1998,20(2):89 - 93 (in Chinese).