



范三鹏,陈巍,范志强,等.五味子成花特性及花粉离体萌发培养基优化[J].黑龙江农业科学,2021(10):117-122.

# 五味子成花特性及花粉离体萌发培养基优化

范三鹏,陈巍,范志强,王东东,杨用成,胡高升,贾景明

(沈阳药科大学 中药学院,辽宁 沈阳 110016)

**摘要:**为促进五味子栽培育种,通过对五味子花期和小孢子发育过程的观察及花芽分化过程中营养物质变化规律,对五味子成花特性进行了研究。并通过单因素试验和正交试验,对五味子花粉离体萌发培养基进行了优化。结果表明:辽宁省五味子花期为4月23日—5月5日;其花药横切面呈蝶形,每枚雄蕊具有4个小孢子囊,同一花内小孢子发育基本同步;花芽分化过程中叶片总糖和游离氨基酸在不同枝类叶片含量变化趋势基本一致,但含量高低存在显著差异;花粉萌发的最佳培养基配方为30 mg·L<sup>-1</sup>硼酸、7.5 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、50 mg·L<sup>-1</sup>氯化钙,此配方下北五味子花粉萌发率最高,达49.84%,花粉管长度为83.35 μm。培养基中添加30 mg·L<sup>-1</sup>硼酸、5.0 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、40 mg·L<sup>-1</sup>氯化钙,花粉管长度最大,达161.29 μm,花粉萌发率为42.81%。

**关键词:**五味子;成花特性;花粉萌发;花芽分化

五味子为木兰科(Magnoliaceae)五味子属(*Schisandra Michx.*)药用植物五味子[*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill]的干燥成熟果实,习称“北五味子”<sup>[1]</sup>。“北五味子”为辽宁省地道药材之一,是《神农本草经》所收录药材中的上品,具有收敛固涩,益气生津,补肾宁心等作用<sup>[2-3]</sup>。现代医学研究中,五味子还具有提高机体抗逆能力、滋补强壮、保肝、调整血压等作用<sup>[4-5]</sup>。由于长期掠夺式采摘,使五味子野生资源受到严重破坏,质量下降,产量降低<sup>[6]</sup>。我国自20世纪70年代开始对野生五味子进行栽培驯化的研究,并对其推广生产,普遍采用实生苗建园<sup>[7]</sup>,然而后代存在较多的变异,在抗性、丰产稳产性及生物学特性等方面均存在较大差异,不利于人工长期栽培和品质的提高。高等植物的成花是植物个体发育的中心环节<sup>[8]</sup>。在植物生长发育过程中,花的分化是生殖器官生长的开始,首先营养组织产生花序分生组织,其次产生花分生组织,再继而产生花器官原基,最后产生各种花器官。研究五味子的成花特性以及花芽分化过程中营养物质的变化规律,进而完善五味子的栽培管理措施具有重要意义<sup>[9]</sup>。此外,花粉作为遗传信息的载体,其活力的大小对育种工作有着直接的影响<sup>[10]</sup>。因此,本文还对五味子花粉离体萌发的培养基条件进行优

化,以期五味子栽培育种提供一定的技术指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

五味子来源于辽宁万亩五味子科技产业园区有限公司五味子基地,选取五味子生长发育基本一致的植株。

### 1.2 方法

1.2.1 花期观测 选取10株五味子供花期观测。从4月23日开始,将标定的五味子植株做好标记,每天9:00测定全株开花量。利用龚春等<sup>[11]</sup>的方法,将五味子整株有花蕾未开花标记“O”,整株存在30%以下的花蕾开放标记“A”,为始花期;整株存在30%~70%花蕾开放标记“B”,为初花期;整株存在70%以上的花蕾开放标记“C”,为盛花期;整株存在90%的花蕾开放标记“D”,为末花期;整株大部分的花已经凋谢,只有少量残花标记“E”,为花谢期。当有50%以上的植株达到某一阶段时,表示五味子进入该开花时期。

1.2.2 小孢子发育与配子体形成 将采下的五味子花蕾立即投入FAA固定液中固定并保存带回实验室。采用常规石蜡切片法对花蕾进行切片,番红-固绿双重染色,中性树胶封片,用OLY-IMPUS显微镜观察,找出各发育时期,并进行显微照相。

1.2.3 总多糖及游离氨基酸的含量测定 从6月14日到9月2日,每隔10 d取样。选取生长发育正常且树龄株高一致的植株,从植株中上部分别取叶丛枝叶片、未结果长枝第3~4节叶片、

收稿日期:2021-06-29

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFC1701200)。

第一作者:范三鹏(1991—),男,在读博士,从事中药资源及有效成分代谢调控。E-mail:1403186801@qq.com。

通信作者:贾景明(1964—),男,博士,教授,从事中药资源及有效成分代谢调控。E-mail:jiajingming@163.com。

结果长枝第 3~4 节叶片和果实,立即放入冰盒中带回实验室。将各样品剪碎混匀,液氮研磨,置于一 60 ℃ 冰箱储存。取 0.25 g 样品按制备五味子总多糖和总游离氨基酸提取液,吸取 1 mL 各提取液,采用蒽酮比色法测定总多糖含量<sup>[12]</sup>,茚三酮显色法测定游离氨基酸含量<sup>[13]</sup>。并以 1 mg·mL<sup>-1</sup>的葡萄糖标准溶液和 1.25 μg·mL<sup>-1</sup>亮氨酸标准液 0,0.2,0.4,0.6,0.8 和 1.0 mL 绘制标准曲线。总多糖标准曲线方程为  $Y=0.004\ 9X-0.007\ 3$ ,  $R^2=0.995\ 4$ ;总氨基酸标准曲线方程为  $Y=0.679\ 1X-0.000\ 1$ ,  $R^2=0.999\ 8$ 。

1.2.4 花粉离体萌发培养基优化 于盛花期采集五味子雄蕊置于硫酸纸上,室温下待其自然开放,取成熟花粉用于花粉萌发试验。基本培养基含 0.7% 琼脂、0.1% 硝酸钾、0.2% 硫酸镁。添加蔗糖、硼酸和氯化钙后,121 ℃ 高压蒸汽灭菌 15 min,备用。使用凹面载玻片,滴加适量的培养基于载玻片的凹槽中,并将花粉置于培养基上,盖紧盖玻片,将载玻片和花粉放入培养皿中,用水浸湿脱脂棉并放入培养皿中,用于保持培养基的湿润,25 ℃ 恒温培养 8 h。在显微镜下随机选取 3 个视野,每视野观察 30 粒以上,并记录花粉萌发情况。花粉管萌发长度大于花粉粒直径 1/2 为萌发的基准,统计五味子花粉的萌发率。用目镜测微尺测量花粉管长度,每视野随机测量 10 个花粉,每个处理组共测 30 个花粉管长度。

1.2.5 单因素试验 在基本培养基中加入硼酸,浓度分别为 15,20,25,30 和 35 mg·L<sup>-1</sup>;在基本培养基中加入蔗糖,浓度分别为 5.0,7.5,10.0,12.5 和 15.0 g·L<sup>-1</sup>;在基本培养基中加入氯化钙 10,20,30,40 和 50 mg·L<sup>-1</sup>。统计不同处理的萌发率和花粉管长度。

1.2.6 正交试验 在单因素试验的基础上,对硼酸、蔗糖、氯化钙 3 因子进行正交试验,如表 1 所示。统计萌发率和花粉管长度。

表 1 L<sub>25</sub>(5<sup>3</sup>)正交试验设计表

水平	因素		
	硼酸/(mg·L <sup>-1</sup> )	蔗糖/(g·L <sup>-1</sup> )	氯化钙/(mg·L <sup>-1</sup> )
1	15	5.0	10
2	20	7.5	20
3	25	10.0	30
4	30	12.5	40
5	35	15.0	50

1.2.7 数据分析 使用 Excel 2013 和 SPSS 20.0 软件处理数据。

2 结果与分析

2.1 五味子的花期观测

由表 2 可知,五味子于 4 月 24—25 日进入始花期,4 月 26 日为初花期,4 月 27—28 日为盛花期,4 月 29 日—5 月 2 日为末花期,5 月 3 日之后进入花谢期。另外,观测还发现五味子不同植株间、同一植株的不同枝间和同一枝的不同芽间,花的发育不同步。雌花花柄较长,雄花花柄短缩,雄花较雌花开花早。

表 2 五味子各植株开花状况观测结果

日期	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	开花时期
4 月 23 日	O	A	O	O	O	O	O	O	O	O	未开花
4 月 24 日	A	A	O	A	A	O	O	A	O	O	始花期
4 月 25 日	A	A	A	A	A	A	O	A	O	A	
4 月 26 日	B	B	B	B	B	B	A	B	B	B	初花期
4 月 27 日	C	C	C	C	C	C	B	B	C	C	盛花期
4 月 28 日	C	D	C	C	C	C	C	C	D	D	
4 月 29 日	D	D	D	D	D	D	C	C	D	D	末花期
4 月 30 日	D	D	D	D	D	D	D	C	D	D	
5 月 1 日	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	
5 月 2 日	D	D	D	D	D	D	D	D	E	D	
5 月 3 日	E	E	D	E	E	E	E	D	E	D	花谢期
5 月 4 日	E	E	E	E	E	E	E	D	E	E	
5 月 5 日	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	

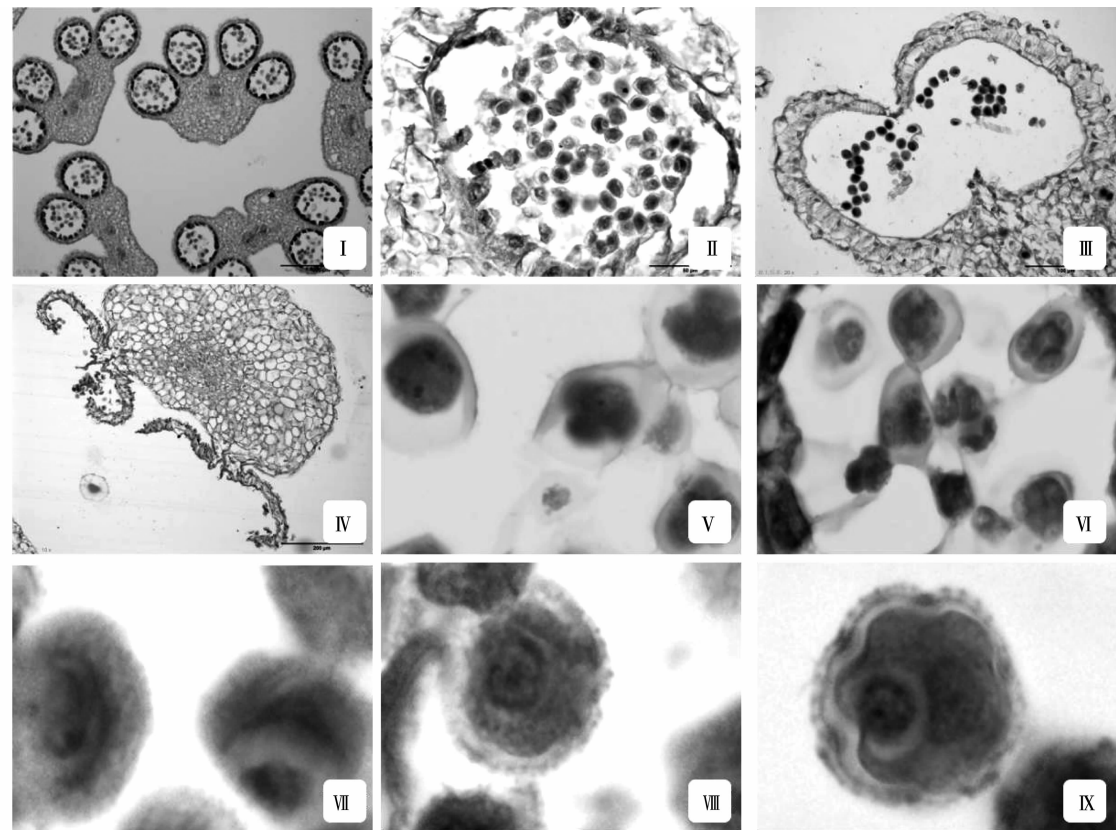
注:O 为未开花;A 为始花期;B 为初花期;C 为盛花期;D 为末花期;E 为花谢期。

2.2 五味子花的小孢子发育与配子体形成

五味子雄蕊 4~5 枚,花药横切面呈蝶形,具有 4 个小孢子囊(图 1I)。图 1 中 I-IV 所示为花药从小孢子形成成熟花粉粒,并释放花粉的过程。图 1V 中的小孢子母细胞正处于减数分裂期,其他大部分细胞已经形成四分体结构,说明同一小孢子囊内母细胞减数分裂存在个别差异,但基本上同步。图 1VI 中可以观察到胼胝质壁中包藏着大量呈四面体结构的细胞团,这些细胞团是小孢子在经历两次细胞分裂过程中,新的细胞壁同时在 4 个细胞核之间产生,并将原有细胞的细胞质分成 4 份,而形成的四面体结构。因此,小孢子母细胞在减数分裂后期的胞质分裂为同时型。随着小孢子进一步发育,包裹在四分体周围的胼胝

质壁逐渐消失,将小孢子传输到药室中,发育成单核小孢子(图 1II)。之后,细胞质中液泡不断长大,逐渐形成中央大液泡,将小孢子核推向花粉壁的一侧,形成单核靠边期花粉(图 1VII)。随后,

小孢子完成有丝分裂,形成营养核与生殖核,此时萌发沟清晰可见,为六沟型花粉(图 1IX),细胞型花粉粒发育完成。



I.花药横切图; II.单核小孢子; III, IV.花粉释放; V.减数分裂期小孢子; VI.四分体结构; VII.单核靠边期花粉; VIII.小孢子有丝分裂; IX.具六条萌发沟的二细胞型花粉粒。

图 1 五味子花的小孢子发育显微观察

**2.3 花芽分化过程中营养物质变化规律**

在五味子的生长发育过程中,叶片是果实与花芽生长发育的营养源,花芽能否获得充足的营养供应,决定了其分化的质量。果实作为花芽营养竞争的主要来源,是影响花芽分化的重要因素。营养供应水平高低直接影响花芽的分化<sup>[14]</sup>。

由图 2 可知,从 6 月 14 日到 7 月 16 日,五味子果实中总糖含量持续升高,从 4.80% 上升到 7.49%,含量提高 56%。至 8 月 4 日,总糖含量基本无明显变化。而 8 月 4 日到 9 月 2 日总多糖含量呈先降后升趋势。其原因可能是在五味子成熟过程中,部分糖类成分参与包括花色苷在内的苷类化合物的合成,导致 8 月中下旬总多糖含量降低,而后果实内化合物的合成代谢逐渐减弱,且糖类物质持续积累,总多糖含量又逐渐升高。不同枝类五味子叶片中总糖含量变化趋势基本一

致,在整个花芽分化过程中,有果和无果长枝叶片总糖含量始终高于叶丛枝叶片。研究表明,叶片中总糖含量的高低直接决定源端对库端的营养供应能力,叶片营养含量的降低反映了源端营养向库端转移的过程。因此,与叶丛枝相比,长枝叶片具有较强的碳同化物供应能力,有利于花芽分化。叶片总多糖含量存在两次明显的下降,可能与果实的快速生长有关,叶片中营养物质向果实转移,导致叶片自身总糖含量降低,另外,在整个花芽分化过程中,无果长枝叶片总糖含量始终高于有果长枝叶片,这也印证了果实作为营养的库具有较强的营养竞争能力。结有果实或靠近果实的枝条由于果实的营养竞争,导致花芽分化的营养供应不足,雌花分化水平降低。

氨基酸含量可以反映果肉中生理活动的强弱变化<sup>[15]</sup>。蛋白质以氨基酸为合成原料,其含量随

着氨基酸的变化而变化<sup>[16]</sup>。本研究中五味子果实中游离氨基酸含量先持续降低后升高再降低。不同枝类五味子叶片中游离氨基酸含量变化趋势基本一致,呈先降后升再降趋势,7月16日含量最低,这一变化可能与这一时期花芽处于花性分化期,花芽细胞分裂及分化等生理活动旺盛,游离氨基酸向花芽转移有关<sup>[14,17]</sup>。而在整个过程中,叶丛枝叶片游离氨基酸含量始终低于长枝叶片,推测较高浓度的游离氨基酸可能有利于花芽分化和雌花形成。

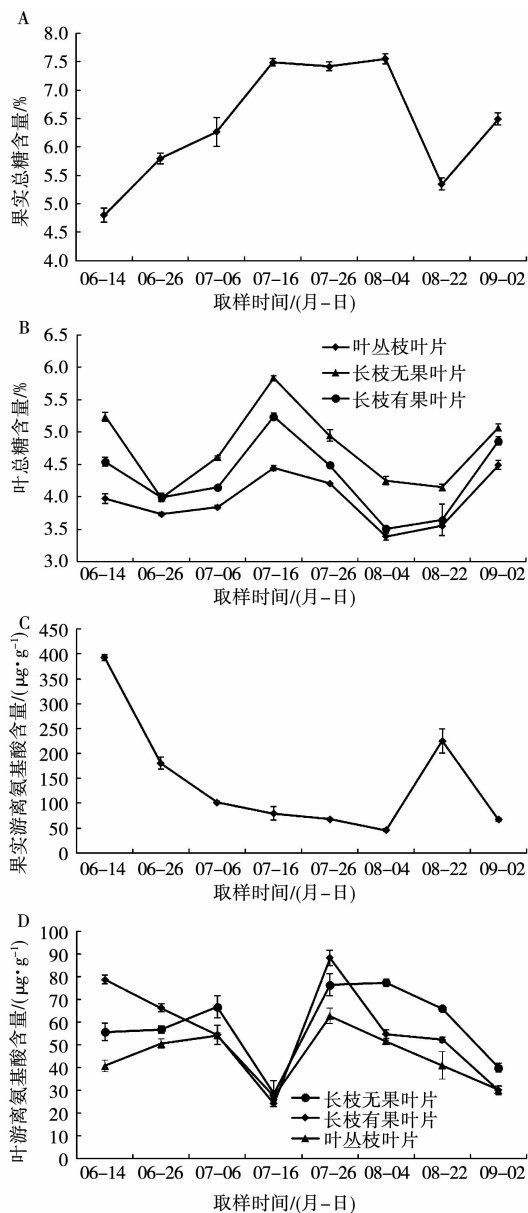


图2 不同时期果实和叶片中总糖和游离氨基酸含量的动态变化

## 2.4 五味子花粉离体萌发培养基优化

**2.4.1 单因素试验结果** 由图3A可知,在培养基中增加硼酸浓度后,花粉萌发率也相应上升,上升幅度缓慢,并且在硼酸浓度高于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,五味子花粉萌发率略有下降。在硼酸浓度低于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,花粉管长度则随着硼酸浓度的增加无明显变化,在浓度高于 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,花粉管长度才出现明显的增加。经方差分析,硼酸浓度为 $20, 25, 30$ 和 $35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,均对五味子花粉萌发率和花粉管长度存在显著影响。培养基中硼酸浓度在 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,萌发率最高,但花粉管长度最低,因此,最佳的硼酸浓度确定为 $35\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

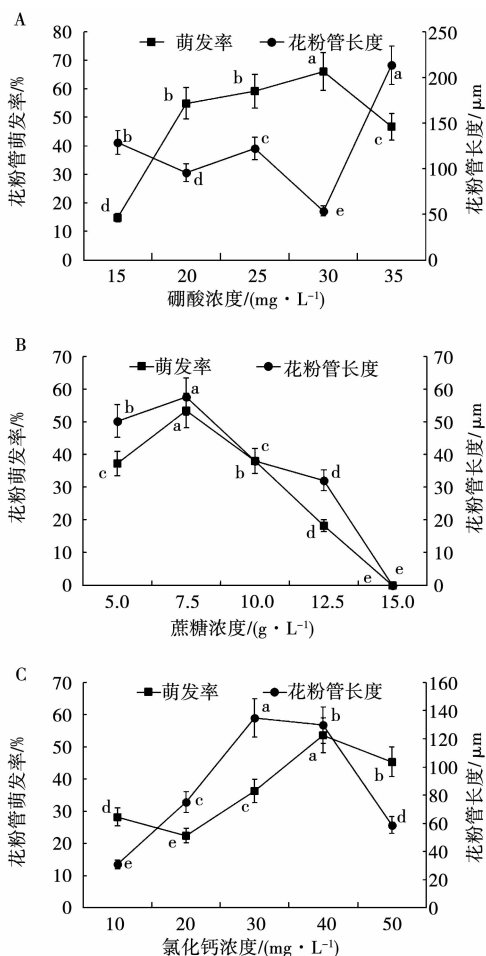


图3 硼酸、蔗糖和氯化钙浓度对花粉萌发的影响

由图3B可知,增大培养基中蔗糖的浓度后,五味子花粉萌发率和花粉管长度变化趋势都为先升高后降低,蔗糖浓度为 $7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,花粉萌发率(53.46%)和花粉管长度(57.70  $\mu\text{m}$ )都达到最大值。方差分析表明,蔗糖浓度为 $7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,

五味子花粉萌发率和花粉管长度显著高于其他处理组,因此在五味子花粉离体培养中,最佳蔗糖浓度确定为 $7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

由图 3C 可知,增加培养基中氯化钙的浓度,五味子花粉萌发率和花粉管长度变化趋势都为先升高后降低,花粉萌发率最高的氯化钙浓度为 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,花粉管长度最大的氯化钙浓度为 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。经方差分析表明,氯化钙浓度对花粉萌发率和花粉管长度影响显著,氯化钙浓度为 $30$ 和 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,花粉管长度接近,且显著高于其他处理组。因此,氯化钙最佳浓度确定为 $40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.4.2 正交试验结果 由表 4 可知,由各因素不同水平间的极差值可知,对五味子花粉萌发率和花粉管长度的影响表现为蔗糖>硼酸>氯化钙。培养基中硼酸和氯化钙浓度对花粉萌发率和花粉管长度有一定的影响。根据正交试验结果,培养基中添加 $30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸、 $7.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钙,五味子花粉萌发率最高,达 $49.84\%$ 。但是正交试验花粉萌发率低于单因素的试验结果,在重复正交试验中,发现不同的批次取样的花粉的活性有一定的差别,但在多次试验中得到的最优五味子花粉萌发培养基都是相同的。培养基中添加 $0.30\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 硼酸、 $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $0.40\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 氯化钙,花粉管长度最大,达 $161.29\text{ }\mu\text{m}$ 。

表 3 五味子花粉在正交试验中的萌发率和花粉管长度

试验号	因素水平			萌发率/%	花粉管长度/ $\mu\text{m}$
	硼酸	蔗糖	氯化钙		
1	1	1	1	23.03	66.01
2	1	2	2	0	0
3	1	3	3	29.80	98.93
4	1	4	4	3.54	45.65
5	1	5	5	0	0
6	2	1	2	37.02	70.31
7	2	2	3	32.90	72.78
8	2	3	4	26.05	76.54
9	2	4	5	28.31	45.93
10	2	5	1	0	0
11	3	1	3	28.47	84.49
12	3	2	4	44.38	79.74
13	3	3	5	25.83	47.42
14	3	4	1	23.68	48.74
15	3	5	2	0.25	19.55
16	4	1	4	42.81	161.29
17	4	2	5	49.84	83.35
18	4	3	1	34.26	61.80
19	4	4	2	34.85	85.38
20	4	5	3	0.36	7.90
21	5	1	5	33.60	62.88
22	5	2	1	43.13	123.67
23	5	3	2	27.06	96.19
24	5	4	3	33.56	45.20
25	5	5	4	0	0

表 4 五味子花粉离体萌发正交试验极差分析结果

项目	硼酸(A)		蔗糖(B)		氯化钙(C)		最佳培养条件
	萌发率/%	花粉管长度/ $\mu\text{m}$	萌发率/%	花粉管长度/ $\mu\text{m}$	萌发率/%	花粉管长度/ $\mu\text{m}$	
k1	11.27	42.12	32.98	89.00	24.82	60.04	萌发率: $A_4B_2C_5$ ; 花粉管长度: $A_4B_1C_4$
k2	24.86	53.11	34.05	71.91	19.84	54.29	
k3	24.52	55.99	28.60	76.18	25.02	61.86	
k4	32.43	79.95	24.79	54.18	23.36	72.64	
k5	27.47	65.59	0.12	5.49	27.52	47.92	
极差	21.15	37.83	33.93	83.50	7.68	24.73	

3 讨论与结论

在高等植物中,成花是一个非常重要的过程,是植物个体发育的中心环节<sup>[8]</sup>。在植物个体发育中,花的分化是生殖器官生长的开始。研究五味子的成花特性以及花芽分化过程中营养物质的变化规律,进而完善五味子的栽培管理措施具有重要意义<sup>[9]</sup>。此外,花粉作为遗传信息的载体,其活力的大小对育种工作有着直接的影响<sup>[10]</sup>。

因此,本研究对五味子的花期进行了观测,辽宁省五味子花期为4月23日—5月5日,较吉林与黑龙江两省早。刘实等<sup>[18]</sup>观测吉林农业大学中药种植园中的五味子,报道其花期为5月17日—5月24日;周德本等<sup>[19]</sup>连续三年对黑龙江省野生五味子进行花期观测,报道其花期为5月19日—6月12日。即由于气候等原因,辽宁省五味子较吉林省和黑龙江省五味子开花早,生

育期相对较长。通过石蜡切片法观察五味子小孢子发育情况,花药横切面呈蝶形,每枚雄蕊具有4个小孢子囊,同一花内小孢子发育基本同步。花芽分化过程中叶片总糖和氨基酸含量测定结果表明,不同枝类叶片营养含量变化趋势基本一致,但含量高低存在显著差异,长枝叶片总糖和游离氨基酸含量均始终高于叶丛枝叶片,而长枝无果叶片总糖与游离氨基酸含量始终高于长枝有果叶片,刘实等<sup>[18]</sup>研究表明,五味子不同枝类花芽分化差异较大,叶丛枝花芽分化水平最低,雌花分化率为0%,而中长枝花芽分化水平较高,雌花分化率可达40%以上,上述测定结果说明花芽分化水平高低与其能否得到充足的营养供应有关,果实作为较强的营养竞争来源,是影响花芽分化水平的重要因素。通过对花粉萌发培养基中硼酸、蔗糖和氯化钙浓度的优化,最终获得了五味子花粉萌发的最佳培养基配方,以期五味子栽培育种提供一定的技术指导。

#### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2020.
- [2] SZOPA A, DZIURKA M, WARZECHA A, et al. Targeted lignan profiling and anti-inflammatory properties of *Schisandra rubriflora* and *Schisandra chinensis* extracts[J]. *Molecules*, 2018, 23(12): 3103-3119.
- [3] 余黄合, 李鑫, 杨珍, 等. 中药五味子药理作用研究进展[J]. *环球中医药*, 2019, 12(7): 1133-1138.
- [4] RADOSLAW J E, AGNIESZKA S, HALINA E, et al. Analysis of lignans in *Schisandra chinensis* fruits, leaves, bio-masses from *in vitro* cultures and food supplements[J].

*Journal of Functional Foods*, 2013, 5(4): 1576-1581.

- [5] 罗运凤, 高洁, 柴艺汇, 等. 五味子药理作用及临床应用研究进展[J]. *贵阳中医学院学报*, 2019, 41(5): 93-96.
- [6] 丁立威. 五味子产销趋势分析[J]. *中国现代中药*, 2013, 15(12): 1099-1102.
- [7] 常仁龙, 臧皓, 孙佳明, 等. 北五味子资源调查及可持续利用研究[C]//中国自然资源学会天然药物资源专业委员会. 全国第8届天然药物资源学术研讨会论文集. 凯里, 2008: 120-124.
- [8] 范树国. 高等植物成花分子机理研究进展[J]. *楚雄师范学院学报*, 2014, 29(6): 58-69.
- [9] 艾军, 王英平, 李昌禹, 等. 五味子花芽分化过程中3种内源激素的消长[J]. *中国中药杂志*, 2006(1): 24-26.
- [10] 赵小光, 张耀文, 关周博, 等. 花粉在植物遗传研究中的应用[J]. *中国农学通报*, 2017, 33(13): 54-59.
- [11] 龚春, 王慧, 易金生, 等. 赣无系列油茶不同品系花期观测[J]. *经济林研究*, 2012, 30(2): 121-124.
- [12] 姚立虎, 徐茜. 蒽酮比色法测食品总糖含量的简化研究[J]. *食品工业*, 1992(3): 40-42.
- [13] 彭真汾, 王威, 谢倩, 等. 橄榄果实游离氨基酸测定方法的优化[J]. *食品工业科技*, 2017, 38(22): 263-267.
- [14] 艾军, 王振兴, 秦红艳, 等. 我国五味子研究现状及展望[J]. *东北农业大学学报*, 2012, 43(10): 14-20.
- [15] 张天晓, 谢明. 东北道地药材五味子的应用概况[J]. *中国市场*, 2015(36): 76-80.
- [16] 刘清玮, 高延辉. 北五味子育种研究现状与展望[J]. *人参研究*, 2010, 22(3): 43-46.
- [17] 林昊. 北五味子扦插技术及几种植物生长调节剂对座果率影响研究[D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- [18] 刘实, 李爱民, 郭春明, 等. 北五味子物候的观测及气象要素影响[J]. *东北林业大学学报*, 2009, 37(12): 39-42.
- [19] 周德本, 梁鸣, 郭春景, 等. 野生北五味子生物学特性的研究[J]. *植物研究*, 1997(1): 96-103.

## Floral Formation Characteristics of *Schisandra chinensis* and Optimization of Pollen Germination Medium *in vitro*

FAN San-peng, CHEN Wei, FAN Zhi-qiang, WANG Dong-dong, YANG Yong-cheng, HU Gao-sheng, JIA Jing-ming

(Traditional Chinese Medicine College, Shenyang Pharmaceutical University, Shenyang 110016, China)

**Abstract:** In order to promote the cultivation and breeding of *Schisandra chinensis*, the flowering characteristics were studied by observing the florescence and microspore development process and the changes of nutrients in the process of flower bud differentiation. And through single factor experiment and orthogonal experiment, the *in vitro* germination medium of pollen was optimized. The results showed that the flowering period of *S. chinensis* in Liaoning Province was from April 23rd to May 5th; the cross-section of its anthers was butterfly-shaped, and each stamen had 4 microsporangia, and the development of microspores in the same flower was basically synchronous; the leaves were in the process of flower bud differentiation. The change trend of total sugar and free amino acid content in leaves of different branches was basically the same, but there were significant differences in content; the best medium formula for pollen germination: 30 mg·L<sup>-1</sup> boric acid, 7.5 g·L<sup>-1</sup> sucrose and 50 mg·L<sup>-1</sup> calcium chloride, the pollen germination rate was the highest, reaching 49.84%, and the pollen tube length was 83.35 μm. 30 mg·L<sup>-1</sup> boric acid, 5.0 g·L<sup>-1</sup> sucrose, and 40 mg·L<sup>-1</sup> calcium chloride, the pollen tube length was the largest, reaching 161.29 μm, and the pollen germination rate was 42.81%.

**Keywords:** *Schisandra chinensis*; flowering characteristics; pollen germination; flower bud differentiation