

内存在一定程度的变异,所研究的5个荚果中,H1分为2个RAPD带型,H9为2个,H10为3个,H14只有一株在一个引物中有一条不同的条带,H23则所有带型均相同,5个荚果群体内GS均很高,最小也为92.5926%,说明同一荚果群体在组织培养过程中其变异程度相当小,运用组培方法建立霍山石斛稳定的无性快繁体系是切实可行的,不但能挽救濒临灭绝的霍山石斛,而且能满足市场的大量需求;同时,H1、H9、H10、H23群体间的GD较小,H14与其他4个荚果的则较大,说明H14是距其他4个荚果亲缘关系较远的一个群体,很有可能不是同一种,在产地就已经混杂,当然这一结果还有待于进一步的研究。但至少首次从分子水平证明在霍山产地,霍山石斛种群内存在较大的差异,因此确定霍山石斛种源真伪、保持遗传稳定性,是建立适合市场需求的稳定的霍山石斛快繁体系首要的前提条件。

References:

- [1] Bao S X, Shun Q S, Zhou G Y, et al. A Famous Medicinal Plant Huoshan-shihu (*Dendrobium huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng) in China [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2003.
- [2] Ding X Y, Wang Z T, Xu H, et al. Database establishment of the whole rDNA ITS region of *Dendrobium* species of "FENGDOU" and authentication of *Dendrobium flexicaule* from ITS allied species of *Dendrobium* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(7): 567-573.
- [3] Ding X Y, Xu L S, Wang Z T, et al. Allele-specific diagnostic PCR authentication of *D. devonianum* from other *Dendrobium* species [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(2): 897-901.
- [4] Zhang M, Huang H R, Liao S M, et al. Cluster analysis of *Dendrobium* by RAPD and design of specific primer for *Dendrobium candidum* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26(7): 442-446.
- [5] Zhang Y B, Wang J, Wang Z T, et al. DNA microarray for identification of the herb of *Dendrobium* species from Chinese medicinal formulations [J]. *Planta Med*, 2003, 69(12): 1172-1174.
- [6] Zhang J, Zhang D, Yin L K. Genomic DNA extraction and RAPD experiment conditions of *Tamarix Hixpida* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2003, 23(2): 253-256.
- [7] Xue J P, Miao Y U, Zhang A M. Studies on callus induced from leaves and plantlets regeneration of the traditional Chinese *Chrysanthemum morifolium* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(3): 213-216.
- [8] Lu W D, Wei Q, Tang L. Induction of callus from *Jatropha curcas* and rapid propagation [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2003, 9(2): 127-130.
- [9] Li L L, Zhu B C, Cheng Y L, et al. Chromosome variation in callus culture of *Pinellia pdisata* [J]. *J Agric Biotech* (农业生物技术学报), 1998, 6(1): 23-27.
- [10] Liu S Q, Zhou G Y, Li X J, et al. Advances in molecular marking of random amplified polymorphic DNA (RAPD) and its applications in the authentication of traditional Chinese drug (TCD) [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res* (时珍国医国药), 2004, 15(7): 431-434.

不同种质资源及贮藏条件对缬草种子发芽率的影响

黄宝康,郑汉臣*,张巧艳,秦路平

(第二军医大学药学院,上海 200433)

摘要:目的 探讨不同种质资源、贮藏条件及萌发温度对缬草种子发芽率的影响。方法 采用不同条件贮藏的缬草种子进行常规种子发芽试验,计算不同萌发条件下的种子发芽率。结果 不同来源的缬草种子发芽率有较大差异,缬草的种子发芽率要高于其变种宽叶缬草的发芽率,栽培缬草的种子发芽率要远高于野生缬草种子的发芽率。贮存时间、贮存温度、萌发温度等因素对缬草种子发芽率均会产生影响。结论 为保持缬草种子的发芽率,贮藏过程中要保持适当的低温和透气性,要长期保存缬草种子,则必须要以较低的温度保存;种子繁育要在适宜的时间和温度等条件下进行。

关键词:缬草;种质资源;贮藏条件;发芽率

中图分类号:R282.21

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)03-0431-04

Effects of various seed sources and different storage conditions on seed germination rate of *Valeriana officinalis*

HUANG Bao-kang, ZHENG Han-chen, ZHANG Qiao-yan, QIN Lu-ping

(School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of seed sources and storage conditions on the seed germination rate of *Valeriana officinalis*. **Methods** The seeds of *V. officinalis* under different storage condi-

收稿日期:2004-07-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30270152)

作者简介:黄宝康(1969—),男,浙江东阳人,第二军医大学药学院副教授,在读博士研究生,主要从事中药资源与品质评价及中药新药的研究与开发工作。E-mail:hbkg999@sohu.com

*通讯作者:Tel(021)25074577 E-mail:hczheng@sohu.com

tions were used as materials for germination test, and the germination rate was calculated and compared according to the results. **Results** The seed germination rate of valerians is varied with different sources. The seed germination rate of *V. officinalis* is higher than that of *V. officinalis* var. *latifolia*, and the seed germination rate of cultivated valeriana is much higher than that of the wild plant. The storage periods, storage temperature, and germination conditions also affect the germination rate. **Conclusion** To maintain the seed germination rate, the seed of *V. officinalis* should be stored in conditions with ventilation and at suitable low temperature. Lower temperature helps to prolong the seed life with relatively high germination rate. Valeriana seed should also be propagated at available temperature conditions in proper seasons.

Key words: *Valeriana officinalis* L.; seed source; storage condition; germination rate

缬草 *Valeriana officinalis* L. 为败酱科缬草属植物,又名欧缬草。在欧洲已有悠久的历史,既可作为香料植物,也可作为花卉和药用,因其有良好的镇静催眠和抗抑郁作用,在欧洲及美国常被用于治疗轻、中度失眠,缬草及其制剂已被英、美、法、德、俄、意等 22 国药典收载^[1]。目前缬草提取物及其制剂在国际上十分畅销,连续几年销售额列植物药前 10 名^[2],国内外对缬草的研究也引起了人们的关注,不少国家已经对其进行开发,缬草在《中华人民共和国药典》中虽然未被收载,但其制剂和缬草油等早已被广泛使用。

缬草在我国的分布主要在西南及东北地区,其中西部和西南部最多,研究表明产于我国的缬草也具有缬草素类镇静催眠活性成分,具有开发利用价值。缬草在我国分布虽然较广,但资源量并不十分丰富,我国多为利用野生缬草资源,不利于大规模生产。在我国由于近年旅游开发以及环境的破坏和无节制的采挖,野生状态的缬草资源已急速下降。而野生状态下缬草种子(瘦果)多数不育,发芽率很低。为了探讨缬草种子的繁殖技术,为实现缬草的人工栽培或者实施 GAP 提供科学依据,笔者收集了不同产地的缬草种子进行了发芽试验,并对影响种子发芽的因素进行了考察比较。

1 材料

2002 年 5 月—2003 年 9 月分别从本校植物园、浙江天目山、北京植物园、沈阳植物园、山西五台山树木园收集缬草种子,产于欧洲的欧缬草种子由布拉格植物园惠赠(表 1),所有种子材料及标本均经笔者鉴定。将种子筛选,除去空瘪种子,分别采用透气纸袋与聚乙烯袋贮存,常规保存方法参照《中药材生产质量管理规范》的基本要求,控制温度与湿度条件,温度为(4±1)℃,相对湿度小于 50%;低温保存条件为-(20±1)℃,相对湿度小于 50%。

2 方法与结果

2.1 常规发芽试验(参照农作物种子检验规程 GB/T 3543.4 的规定):取缬草种子 100 粒,于 30℃温水浸润 4 h,置培养皿中(垫 3 层吸水滤纸,每日加水保持滤纸湿润但水不要超过纸面)培养,观察发芽情况,记录发芽时间,以种子胚根完全长出,子叶两片展开为种子完全发芽标准,计算发芽率,发芽率=发芽株数/100×100%。重复 3 次,取平均值。

2.2 不同产地对缬草种子发芽率的影响:取不同产地缬草种子(纸袋封口 4℃保存),于 2004 年 3 月按上述发芽方法进行发芽,保持温度 20℃左右,发芽时间为 9~15 d,发芽率见表 1。结果表明,缬草的种子发芽率要高于其变种宽叶缬草的发芽率。栽培缬草的种子发芽率远高于野生状态缬草种子的发芽率。栽培缬草由于生长地点不同,种子发芽率也存在差异。

表 1 不同产地缬草种子发芽率

Table 1 Germination rate of valeriana seeds from different habitats

编号	来源	拉丁学名	采种时间	生态	发芽率/%
V1	本校药用植物园	<i>V. officinalis</i>	2002-06—2003-06	栽培	54
V2	本校药用植物园	<i>V. officinalis</i> var. <i>latifolia</i>	2002-06—2003-06	栽培	14
V3	北京植物园	<i>V. officinalis</i>	2003-06	栽培	68
V4	沈阳植物园	<i>V. officinalis</i>	2003-07	栽培	72
V5	浙江天目山	<i>V. officinalis</i> var. <i>latifolia</i>	2003-06	野生	1
V6	山西五台山	<i>V. officinalis</i>	2003-08	野生	3
V7	捷克布拉格植物园	<i>V. officinalis</i>	2003-06	栽培	87

2.3 不同包装材料贮存对发芽率的影响:以本校药用植物园栽培缬草收获的种子(编号 V1),分别采用透气性能较好的纸袋包装与不透气的聚乙烯塑料管密封常规方法 4℃ 保存一定时间,作发芽试验。结果以纸袋包装的缬草种子 6 个月后发芽率为 51%,高于用聚乙烯塑料管包装组(7%),采用后者贮存的缬草种子 9 个月后,发芽率基本降为零(见表 2)。

表 2 不同贮存时间对缬草种子(V1)发芽率的影响

Table 2 Effect of storage different times on seed (V1) germination rate of *V. officinalis*

贮存时间/月	发芽率/%			
	I	II	III	IV
0	23	—	30	—
1	35	13	37	39
3	49	8	50	53
6	51	7	45	43
9	50	1	50	52
12	47	1	39	46
24	11	0	—	42

I-4℃ 纸袋贮存组 II-室温聚乙烯塑料管贮存组 III-4℃ 贮存,赤霉素处理组 IV-冰箱低温(-20℃)贮存组

I-seeds are stored in paper bag at 4℃ II-seeds are stored in vinyl tube at room temperature III-seeds are stored at 4℃ and soaked with Gibberellin before test IV-seeds are stored in freezer at -20℃

2.4 低温保存对发芽率的影响:以缬草种子 V1,封贮于纸袋,置于冰箱中-20℃ 保存,于不同时期测定发芽率,结果对贮存 1~3 个月的缬草种子可以提高发芽率,对贮存 6 个月的缬草种子发芽率影响不明显,而经低温贮存 24 个月的缬草种子,较常温贮存的发芽率有较大提高。

2.5 赤霉素处理对发芽率的影响:常规方法保存的缬草种子 V1,用 100 mg/L 赤霉素浸泡 39 min 后,再用常规方法发芽,结果发芽率未有明显的提高,仅对收获后立即作发芽试验的缬草种子可以提高发芽率。

2.6 不同贮存时间对发芽率的影响:缬草种子 V1 用常规方法贮存一定时间后作发芽试验,结果表明,当年收获的缬草种子立即作发芽试验仍可以发芽,发芽率在 23% 左右。经过放置 1~3 个月后,发芽率有所上升,可达 50% 左右,而经 12 个月后,发芽率有所下降,至 24 个月后,发芽率下降较明显,仅为 11%。见表 2。

2.7 不同萌发温度对发芽率的影响:缬草种子 V1,收获后封于透气纸袋中常规方法贮存 90 d 后,在不同季节根据自然环境温度进行发芽试验,发芽期间室内温度波动在±2℃,温度值取平均温度,环境相对湿度在 30%~50%。结果表明,15~27℃ 均为较

适宜的发芽温度,发芽率较高(表 3),温度过高或过低均不利于缬草种子发芽。而在恒温箱中,发芽率十分低下,温度 37℃ 时无一发芽。

表 3 环境温度对缬草种子(V1)发芽率的影响

Table 3 Effect of environment temperature on seed (V1) germination rate of *V. officinalis*

月份	平均环境温度/℃	发芽率/%	发芽时间/d
2	6	2	28
3	12	44	13
11	15	51	8
10	18	58	7
9	22	63	6
8	27	48	5
9	30 (恒温箱)	3	4
9	37 (恒温箱)	0	—

3 讨论

缬草多野生于高海拔的山坡、沟谷及灌丛中,且多为零散生长,种子细小,每克种子约有 2 000~2 500 粒,单株缬草产种子量很少,且多数不育,为了提高缬草种子的繁育效率,可以对野生缬草进行人工栽培驯化,经过驯化后的缬草种子结实率与发芽率均有较大的提高,如欧洲缬草已有较久的栽培时间,种子驯化条件较好,来自捷克的缬草种子发芽率在试验的几组种子中是最高的。国内北京及沈阳植物园对缬草引种栽培也已有一定的时间,表现出发芽率也较高,而纯野生状态的缬草种子,发芽率十分低下。估计可能与野生状态下缬草种子成熟程度极不一致、高海拔地区的生长环境也不利于昆虫授粉有关,另外引种驯化的条件如土壤、纬度等对种子发芽率也会有一定影响。本院药用植物园收集的缬草种子发芽率一般,一方面与引种的原品质有一定关系,另一方面由于栽培驯化时间不是很长,对种子收集后未进行生活力检测,可能与部分种子不育有关。

缬草种子采用不同包装材料对发芽率具有较大影响,完全隔绝空气密闭保存后,随保存时间的延长,发芽率下降很快,可能与缬草种子在保存过程中仍有呼吸作用等生命活动与保持发芽率密切相关,因此保存过程中需要一定量的空气。缬草种子低温保存可以延长生命力时间,有利于种子的保存。

缬草种子(瘦果)较为细小,种皮(果皮)较薄,当年收获后可以立即发芽,保持一定的发芽率。用赤霉素处理对种子发芽率影响不显著,说明缬草种子不存在休眠期或休眠期较短,休眠由其他因素自行可以解除,是否还存在其他因素,有待于进一步的研究。另外在试验过程中发现一个有趣的现象,缬草瘦

果顶端的羽状冠毛对发芽有很大影响,去除羽状冠毛的缬草种子可以正常发芽,而未去除的发芽率极低,甚至不发芽。缬草种子是否存在休眠或者说是否羽状冠毛与种子的休眠状态的解除有一定关系,尚值得进一步研究。

缬草的繁殖可以用种子,也可以用根茎移栽,采用根茎存活率高,但繁殖系数低,在大规模栽培中不适用,仍以种子繁殖为主。为了提高种子的发芽率,提高繁殖效率,建议采用优质的野生缬草亲本经驯化栽培2~3年后,收获缬草种子,可以当年秋季播种,最迟至次年春季播种,在常温条件下,保存时间不宜超过1

年。如需较长时间保存,则宜于冰箱低温保存。

致谢:北京植物园刘永刚研究员、北京大学陈虎彪教授、武汉植物园王有为研究员、沈阳植物园王文元老师、捷克布拉格植物园 Pavel Sekerka 博士惠赠缬草种子及给予的指导帮助。

References:

- [1] Zhang Z X, Yao X S. The development and research advances in bioactivity for the medicinal plant *Valeriana officinalis* [J]. *J Shenyang Pharm Univ* (沈阳药科大学学报), 2000, 17(3): 222-225.
- [2] Shao Y D, Gao W Y, Liu D, et al. Quality control of plant extract [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2003, 28(10): 899-903.

盾叶薯蓣四倍体诱导的研究

李运合¹, 胡春根², 姚家玲^{1*}, 张友德¹

(1. 华中农业大学生命科学技术学院, 湖北 武汉 430070; 2. 华中农业大学园艺林学学院, 湖北 武汉 430070)

摘要:目的 选育盾叶薯蓣 *Dioscorea zingiberensis* 新种质资源, 以期为高产、高皂苷元含量薯蓣育种打下基础。方法 以刚露出绿色芽点的盾叶薯蓣愈伤组织块为材料, 采用两种方法处理: ①愈伤组织块浸泡到秋水仙素水溶液中。②培养基中添加秋水仙素。结果 成功获得了染色体数加倍的薯蓣新材料, 其中以 1×10^3 mg/L 秋水仙素水溶液浸泡 24 h 效果最好, 诱导率达到 35.2%, 四倍体植株与二倍体亲本相比, 二者在外观形态、生理指标、显微结构上有明显区别。结论 四倍体植株体型大、具生长优势, 离体条件下利用愈伤组织块诱导多倍体是盾叶薯蓣倍性育种的一条有效途径。

关键词: 盾叶薯蓣; 秋水仙素; 四倍体

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)03-0434-05

Inducement of tetraploid *Dioscorea zingiberensis*

LI Yun-he¹, HU Chun-gen², YAO Jia-ling¹, ZHANG You-de¹

(1. College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Objective To create new tetraploid resource of *Dioscorea zingiberensis* in the hope of potential breeding materials with high yield and high level of diosgenin. **Methods** Callus with tiny green buds were directly soaked in colchicine solution or cultured in medium plus with colchicine to prohibit the isolation of chromosomes and induce tetraploid mutants. **Results** Tetraploids were achieved successfully. The most efficient treatment for inducing tetraploid was soaking the tiny buds in 1×10^3 mg/L colchicine solution for 24 h, the inducing rate could be up to 35.2%. The induced tetraploids exhibited notable difference with common wild type (diploids) in morphology, physiology, and microscopic structure. **Conclusion** The tetraploid plants show the advantages of gigantic size and vigorous growth. Thus, the established technique system to induce tetraploid from tissue cultured callus would provide an efficient alternative pathway for medicinal plants of *Dioscorea* L. breeding.

Key words: *Dioscorea zingiberensis* C. H. Wright; colchicine; tetraploid

收稿日期: 2004-05-12

作者简介: 李运合(1977—), 男, 河南新乡人, 现中山大学生命科学学院 2003 级博士生, 研究方向为植物发育及分子生物学。

* 通讯作者 Tel: (027)87286292 E-mail: yaojlm@mail.hzau.edu.cn