

桔梗育种研究进展

刘自刚, 张 雁, 王新军, 于浩世, 吴 珍

(陕西商洛学院 生物医药工程系, 陕西 商洛 726000)

桔梗 *Platycodon grandiflorus* (Jacq.) A. DC. 属于桔梗科、桔梗属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、韩、朝等东亚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 2 个变种, 提高了桔梗的观赏价值。本文总结了国内外桔梗育种的新进展, 以期对桔梗育种工作者提供參考。

1 种质资源研究

我国常年桔梗需求量约在 6×10^6 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梗新品种。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。

1.1 资源调查, 桔梗科植物有 60 属 1 500 种, 我国有 17 属约 150 种, 桔梗属植物仅桔梗 1 种, 广泛分布于我国各省, 以西南为多, 生于海拔 1 600 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^[1]。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^[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^[3]首先发现粉花型, 粉花型可能是来源于白花和紫花 2 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. grandiflorus* (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。另外在日本还发现了 1 种淡红色漏斗状花冠桔梗。

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_2 种子中发现黄绿色和灰绿色及杂色种子^[3] (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^[3]。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^[3], 表明种子颜色遗传和花色遗传存在连锁关系。

1.4 授粉结实率: 桔梗有性繁殖主要依靠异花授粉, 自花授粉结实率仅为 1%, 自由授粉结实率约为 12%, 但其花柱授粉率较高为 77.5%, 柱头上平均花粉量为 5~16 个, 但主要为来自自花花粉^[4]。桔梗从柱头开裂前 2 天至柱头萎蔫均可接受外来花粉, 但前期结实率低, 结实率为 6.7%~33.3% (人工授粉); 柱头 5 裂时授粉结实率最高可达 60%~80%, 为授粉适宜时期^[5]。

授粉率、授粉量与结实率呈正相关。桔梗自然授粉结实率较低的原因, 很多人认为与授粉率低、柱头上花粉量少有关^[5]。人工辅助授粉有利于结实率的提高。但李今等认为桔梗柱头上异花花粉较少是自然授粉结实率低的主要原因^[4]。

1.5 孢粉学研究: 桔梗花粉粒扁球形, 极面观五角形, 少数四或六角形; 大小 $(38.5 \pm 3) \mu\text{m} \times (48 \pm 8) \mu\text{m}$, 具 5 孔沟, 少数 4 或 6 孔沟, 沟很浅, 内孔圆, 花粉外壁表面分布有钝而密的呈乳突状小刺^[6]。

2 引种

我国是桔梗的主产国, 野生桔梗一直被认为是优质药材。近年由于桔梗药食兼用及许多新功效的发现, 野生资源被大量采挖而几乎枯竭, 桔梗的人工栽培特别是规范化栽培成为必然, 这就需要有品质优、产量高的新品种以满足桔梗地道性生产的需求, 引种是一条便捷有效的途径。

安徽省是我国桔梗主产区之一。为了改善桔梗品种, 提高产量, 张玲等^[1]对从东北引种到安徽的品种进行了研究, 认为这些品种生长快, 产量高, 但品质不及当地品种。因此, 引种品种适宜作为食用桔梗栽培, 而作为药用的桔梗应选用当地品种, 以提高药效。

3 选择育种

收稿日期: 2005-10-28

基金项目: 陕西省教育厅资助项目 (00JK137); 商洛市药源示范基地建设项目 (SK16)

作者简介: 刘自刚 (1975—), 男, 甘肃天水人, 讲师, 硕士, 从事药用植物遗传育种研究与教学工作。

Tel: 13891408126 E-mail: lzgworking@163.com

桔梗主要依靠异花授粉进行繁殖,群体内存在丰富的变异类型,通过选择育种的方法就可能分离出适应不同生产要求的桔梗新品种。

紫花桔梗群体中存在一种适宜于我国南方地区栽培生长较快的变异型,被选择分离出来后成为南方型桔梗品种。吉林省通化在桔梗生产大田中选出了黄花桔梗新品种,其有效成分量较高。高宝林等从紫花桔梗中依据茎秆特点筛选出2种不同桔梗新类型,即直立型桔梗和倒伏型桔梗,两者相比直立型桔梗光能利用率、总皂苷量、总糖量、果糖量、籽粒产量、根的质量和干质量均较高,综合性状较好,适宜推广。但倒伏型桔梗具有干质量/鲜质量比、蔗糖量和葡萄糖量高等特点,是一种宝贵的种质资源^[7]。李挺等^[8]从桔梗栽培群体中发现优良变异型,经过6年时间的连续选择培育出了药食兼用桔梗新品种——太桔1号,该品种生长旺盛、抗病力强、抗倒伏、增产幅度大,亩产最高可达2500 kg,比普通品种增产20%~50%。

4 组织培养及倍性育种

组织培养技术在桔梗品种改良、种质保存、快速繁殖、基因转移等多方面得到广泛应用。桔梗组织在离体培养条件下,体细胞染色体更易发生各种变异,基因突变的频率也大为提高,这极大丰富了桔梗遗传资源,为药用植物改良开辟了新的途径。

4.1 组织培养:桔梗主要采用种子或无性扦插繁殖,但种子繁殖存在生产周期长,产量低,种子发芽率不高,扦插枝条成活率又很低,严重限制了生产的发展。利用快繁技术可为桔梗栽培提供足量优质种苗;另外开展桔梗组织培养技术的研究,还可为桔梗其他方面的研究提供各种符合要求的材料。

桔梗的茎尖、茎段和叶片离体材料均可诱导分化再生植株。使用MS附加BA、NAA或IAA培养及组合可以较容易地诱导出愈伤组织^[9~12],后期能很快分化出丛生芽并发育成再生植株,但激素浓度过高时试管苗出现轻微的玻璃化。2,4-D诱导愈伤组织效果很好,在MS+2,4-D 0.2 mg/L培养基中易产生愈伤组织,但出现愈伤组织较慢,且愈伤组织无法再分化^[9],与牛德水的结论不同^[4],其原因可能是由培养条件或者培养材料的基因型差异引起的。

在没有生长素的1/2 MS培养基上,桔梗也能生根,但试管苗根细弱,成活率低;加入IAA 0.2 mg/L时不仅根变粗壮,生根系数也高;加0.5 mg/L IAA同时加入0.1 mg/L ABT^[9]、0.2 mg/L IAA^[10]或0.5 mg/L NAA^[12],可使生根时间提前,生根率明显提高,生根数增多,根系粗壮,移栽易于成活。

戴均贵^[10]将继代培养若干次,生长较好的愈伤组织转入MS+0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D液体培养基中培养,4~5代后细胞便能在液体培养基中稳定生长。还观察到悬浮培养的细胞存在2种不同状态(细胞系JX-1和细胞系JX-2)。这种悬浮培养的桔梗细胞可用于转化天麻素,使其脱去葡萄糖基生成羟基苯甲醚。

4.2 多倍体育种:桔梗的染色体数为 $2n=18$,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 $2n=2x=18=16m+2m(\text{SAT})$,其中第6对具有随体;最长的染色体为 $2.73\text{ }\mu\text{m}$,最短的染色体为 $1.14\text{ }\mu\text{m}$ ^[13]。

二倍体被加倍后由于染色体剂量变化而引起生理、生化特性及生物学等方面的不同于亲本的变化,为育种工作提供了丰富的变异来源。彭向东等^[14]在组织培养条件下诱导获得了桔梗四倍体株系,并对其进行了研究,结果表明四倍体植株和原二倍体植株相比,各种农艺性状发生了明显的变化。四倍体植株茎秆明显增粗,叶片增大,气孔变大,根产量比二倍体最高增加92.97%,株高降低,花粉育性下降,桔梗的主要有效成分桔梗皂苷D量也显著高于对照二倍体。

5 航天育种

植物航天育种是利用高空气球、返回式卫星和航天飞机所能达到的空间环境对植物(种子)的诱导变作用产生的有益变异,在地面选育新种质、新材料,培育新品种的植物育种新技术。其主要目的是探索空间条件下植物生长发育规律,利用空间条件下引起的遗传变异,开创植物育种新途径。利用空间诱变技术,已经培育成了一批高产、优质、多抗的植物新品种和有重要价值的种质资源。与常规育种相比空间技术育种变异范围广,突变率高,变异易稳定等特点,为选育优良种质提供丰富的遗传资源。开展空间育种的研究,对培育桔梗新品种有重要意义。

自1992年开始,我国开展了药用植物航天育种研究^[15]。桔梗种子卫星搭载后,SP₁植株叶片组织结构未见变化,但搭载后细胞核、叶绿体等超微结构、形态指标、过氧化物酶和蛋白质等方面有所变化^[15]。SP₁代桔梗成株率、株高、结实率、单株分枝数、花蕾数和单株种子质量明显低于对照,开花期延迟10~12 d^[16]。这表明药用植物的种子经太空飞行后确能产生一定程度的变异。

一般认为空间环境的影响因素有微重力、高能重离子辐射(HZE)、高真空及超洁净等因素。空间辐射的来源有地球捕获的高能粒子产生的俘获带辐射、宇宙射线和太阳爆炸产生的粒子辐射等。当植物种子被高能粒子击中后,出现多重染色体畸变,植物异常发育率增加,而HZE击中的部位不同,畸变的情况也不同,其中根尖分生组织和胚轴细胞畸变频率最高。微重力是诱发植物种子基因突变的另一原因,微重力作用时间越长,染色体畸变率越高。微重力信号被细胞膜表面受体分子识别并通过传导转化系统传统给细胞内贮钙体,使细胞质内 Ca^{2+} 浓度发生改变,影响与钙受体蛋白的结合,从而调节植物体内蛋白质的磷酸化和脱磷酸化,进而影响细胞分裂、细胞运动、信息传递、光合作用和生长发育等生理、生化过程。空间条件引起植物遗传变异的主要原因是空间辐射、微重力及其二者间的互作。研究表明,空间环境条件影响植物种子的萌发与生长,不同植物或同一植物不同品种对空间飞行的敏感性存在差异。植物遗传背景、空间飞行高度和飞行时间等因素都可影响诱变效果。但总体上具有以下基本生物学效应,(1)SP₁许多表形变异属环境引起的生物学适应,随世代增加而逐渐消失;(2)空间环境对多数植物

种子有促进效应,这种效应表现在生长和发育过程的加快及产量提高上;(3)空间飞行对植物基本生物过程没有影响,但对植物生命活动及生长具有多方面重要影响;(4)SP₂ 群体强烈广谱分离,是选择的关键世代。

6 基因工程在桔梗育种中的应用

药用植物育种中基因工程的应用主要是通过有重要经济意义的目的基因的分离、改造和利用,培育具有生物反应器功能的工程植株,以及具有优良经济性状的工程植株,并采取适当的育种途径培育出优质高产的植物新品种。

韩国学者对桔梗毛状根的诱导和培养做了研究,发现经农杆菌转导生成的毛状根中多类化合物的量比正常根中高出许多^[17]。日本学者通过土壤菌 *Agrobacterium tumefaciens* NIAES1724 克隆了与桔梗植株侏儒化和生根有关的基因,并发现这些基因与 *Agrobacterium* A4 的基因组 A、B、C 和 D 具有高度的同源性^[18]。

用发根农杆菌 PRi9402 对桔梗进行感染,可获得发状根及其再生植株,筛选出一个增殖率高的发状根无性系 (P9C3) 和具有优良农艺性状的再生植株^[19]。获得的再生植株在转化根的生长速度、不定芽的时间、部位、数量、分化能力以及转化植株的形态上表现一定的多样性^[19]。转化体多样性原因可能是由于 T-DNA 整合片段的多样性和植物基因型的异质性造成的。

7 良种繁育

桔梗种子的扩繁周期长(一般需要 2 年)、产量低,而且种子发芽率仅 16%~20%;桔梗生产中一直存在种源不足、种子质量不高等问题,为此需进行桔梗的种源生产和无性繁殖技术的研究,提出桔梗繁育的新方法。

7.1 种源生产:收获时选择发育良好、无病虫害的植株,从芦头以下 1 cm 出切下,切口处撒草木灰,可防止伤口感染,促进切口愈合,第 2 年开春移栽,当年就可开花结籽,每亩可生产种子 10~16 kg,且种子采收后,其根仍可加工销售或药用。采用此法不仅增加种子产量,且缩短了种子生产的年限,是一种桔梗种子繁育的较好方法。

7.2 无性繁殖技术:秋季采收时桔梗已长出新芽头,采收后从肉质部位向下 3~4 cm 的地方剪下留作种用,埋在土里待封冻前或第 2 年春移栽;切口蘸根宝 8 号可提高移栽成活率^[20]。另一种方法是桔梗播种后的第一年,将主茎从茎基部折断(让其长出大量的不定芽头),覆土 3.5 cm 左右,翌春新芽出土,芽基部也长出须根,到秋天收获桔梗时,小桔梗苗亦长成,将新生苗采下移栽即可。也可用激素处理桔梗枝条后进行扦插繁殖^[21]。

8 存在问题及展望

目前生产上应用的桔梗品牌大多为就地取种源或野生种通过简单的驯化而成。而且品种经过多年栽培,品种退化严重,因此,对桔梗已有品种应当加以提纯复壮,同时应在展开桔梗种质资源的搜集、鉴定和评价工作的基础上,积极开展桔梗优良品种的选育工作,为生产提供优质高产的桔梗新品种。

现已发现桔梗有多种花色,主要栽培的是紫花和白花桔梗,多数学者认为两者药效相近,也有学者认为紫花桔梗药用效果更好,而白花桔梗更适于食用;另外,桔梗花色多,花冠大而鲜艳,具有很高的观赏价值。因此,桔梗的育种工作应该朝药用、食用和观赏 3 个方向分别研究与开发。

References:

- [1] Zang L, Wang D Q. Medicinal plant resources of Campanulaceae in Anhui [J]. *J. Anhui Coll Tradit Chin Med* (安徽中医药大学学报), 2003, 22(6): 48-50.
- [2] Lu J Q, Xu W P, Liu H G, et al. *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC produced in Hubei Province of quality compared wildness with breed [J]. *J. Hubei Chin Tradit Med* (湖北中医杂志), 2002, 24(3): 48-49.
- [3] Wei J H, Yang S L, Li X E, et al. Comparative studies on different germplasms of *Platycodon grandiflorum* their inter-cross and new types and differentiation of flower and seed color [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(5): 455-458.
- [4] Li J, Shao J Z. Pollination rates and seed set in *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC. [J]. *J. Hunan Normal Univ: Nat Sci* (湖南师范大学学报:自然科学版), 2001, (24): 73-75.
- [5] Fan R W, Zhou J, Huang J Q. The controlled pollination and seed setting rate of *Liriodendron chinense* (Hemsl) Sarg [J]. *Chin J Bot*, 1995, 7(1): 24-29.
- [6] Wei Z X. Pollen morphology of some codonopsis and related species of Campanulaceae [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 2001, 21(3): 335-338.
- [7] Cao W Y, Tang X M, Li Z L, et al. Comparative study on the erect and fallen types of *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) DC. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1997, 22(3): 144-145.
- [8] Li T, Gong G Q, Li C Y. Taijie 1 with officinal and edible *Platycodon grandiflorum* (Jacq.) DC. and cultivar of high yield [J]. *China Agrotechnol Exten* (中国农技推广), 2004, (3): 56.
- [9] Gao S L, Shu Y. The tissue culture of *Platycodon grandiflorum* A. DC. [J]. *J. Plant Resour Envir* (植物资源与环境学报), 2001, 10(3): 63-64.
- [10] Dai J G, Lu D D, Cui Y J, et al. Biotransformation of ginsenoside by cell suspension culture of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学学报), 2001, 32(12): 942-943.
- [11] Zhu Y L, Wu T, Fan Z M. Explant culture and regeneration plant of *Platycodon grandiflorum* [J]. *J. Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2000, 28(1): 93-94.
- [12] Tang W P, Shi X Y, Shun Y L, et al. Establishment of rapid propagation system of *Platycodon grandiflorum* [J]. *J. Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2005, 33(4): 644-645.
- [13] Yang J Y, Wang L X, Li F Y, et al. Karyotype analysis of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Acta Acad Med Neimengu* (内蒙古医学院学报), 1998, 20(3): 185-186.
- [14] Peng X D, Gao S L, Zhu D N, et al. Identification and comparison of platycodin D contents among autotetraploid lines of *Platycodon grandiflorum* A. DC. [J]. *Pharm Biotechnol* (药物生物技术), 2004, 11(6): 351-355.
- [15] Gao W Y, Zhao S P, Xue L, et al. Pilot study of efferents of outer-space flight on *Platycodon grandiflorum* and safflower [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1997 (Suppl): 102.
- [16] Wang Z F, Su X H, Yan L, et al. Biological effects on SP1 generation by spaceship-carried dry seed of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Acta Agric Nucl Sin* (核农学报), 2004, 18(4): 323-324.
- [17] Hosoda K, Noguchi M, Kanaya T, et al. Studies on the cultivation and preparation of platycodon root [J]. *Chem Pharm Bull*, 1992, 40(7): 1946.
- [18] Hamon N. Bellflower *Platycodon grandiflorum* [J]. *Can Pharm J*, 2003, 12(4): 422-426.
- [19] Wang Y, Zhang M P, Xu Y K, et al. Study on transferring *Platycodon grandiflorum* by PRi9402 [J]. *J. Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 1997, 19(4): 52-55.
- [20] Huang X T, Yang Y, Hu X Y, et al. Pilot study of rapid propagation by cutting root [J]. *J. Jilin Agric Sci* (吉林农业科技), 1997(1): 13-15.
- [21] Chen Z, Zhang L P. Study on cuttage of *Platycodon grandiflorum* [J]. *Lishizhen Mater Med Res* (时珍国药研究), 1997, 8(6): 549-550.