

- internal quality of four cultivars of *Chrysanthemum morifolium* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2002, 27 (12): 896-898.
- [5] Zhao S J, Liu Y Z, Zhao Y H, et al. Multi-character general evaluation of Jilin yellow fruit ginseng [J]. *Spec Wild Econimal Plant Res* (特产研究), 1998, 4: 1-6.
- [6] Xiang S R, Hu W X, Zhang R F, et al. Breeding of Elite *Gynostemma pentaphyllum* varieties [J]. *Acta Agric Jiangxi* (江西农业科学), 1998, 10(4): 38-45.
- [7] Wang W Q. Studies on ecological characters of *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. and effects of ecological environment on its medical material quality [A]. *Beijing Forestry University Doctoral Dissertation* (北京林业大学博士论文) [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2000.
- [8] Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志) [M]. Tomus 42(2). Beijing: Science Press, 1998.

决明多倍体的诱导与鉴定

丁如贤¹, 郑水庆^{1*}, 邢爱婷¹, 张汉明¹, 陈万生²

(1. 第二军医大学药学院, 上海 200433; 2. 第二军医大学长征医院, 上海 200003)

决明子为豆科植物决明 *Cassia obtusifolia* L. 或小决明 *C. tora* L. 的干燥成熟种子, 为我国常用中药。性微寒, 味甘、苦、咸。归肝、肾、大肠经。具有清肝明目、润肠通便的功效。常用于治疗目赤肿痛、头痛眩晕、目暗不明、大便秘结等不适症状。现代药理研究证明决明子具有明目、降血压、降血脂、保肝、泻下等药理作用^[1]。

多倍体植物由于其遗传物质的剂量效应, 植物的营养器官变大, 有效成分增加, 抗逆性增强, 对以收获根、茎、叶的药用植物来说其巨大的优越性为广大的科研工作者所接受^[2]。这种技术已成功地应用于多种药用植物的育种, 获得了许多新的品系和种质资源。同时许多学者认为, 并且大多数的实验也证实: 人工诱导的多倍体种子发芽率低, 种子的粒重增加, 但整株乃至亩产的产量是呈下降趋势, 认为对以收获果实和种子的药用植物来说这是致命的缺点, 也是限制其应用的主要原因之一, 所以其成功的育种增产报道并不多见^[3,4]。本研究进行化学多倍体诱变育种, 以期获得多倍体决明, 提高中药材决明子的产量, 改善质量, 获得新的种质资源, 为获取以收获种子为目的的高产、优质人工多倍体药用植物提供理论方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料: 决明种子购自河北安国药材种植试验场, 经笔者鉴定为决明 *C. obtusifolia* L.。

1.2 多倍体诱导: 将决明种子播种于泥炭土-蛭石

(3:1) 中, 置 25℃ 左右温度下萌发, 当两片子叶完全展开后, 用滴管将秋水仙碱溶液滴于顶芽, 并罩上罩子。当溶液蒸发变少时, 继续滴加, 直至达到所需处理时间。然后用蒸馏水清洗处理部位。在室温生长 20 d, 然后移栽进大田, 生长发育直至获得种子, 完成整个生长周期, 以获得多倍体决明种子。

1.3 处理幼苗的生物学性状: 定期观察记录幼苗生长发育情况, 于花期测量叶长、叶宽、株高、植株分支, 并记录花期、果期和果实形态, 测量果实、种子大小。

1.4 染色体鉴定: 将处理后得到的诱导株种子和未处理的对照决明种子, 于 25℃ 温水浸种后, 置培养箱发芽, 约 5 d 后胚根长至 1~2 cm 时, 剪下用 0.2% 秋水仙碱溶液于 4℃ 预处理(最好 8:00~9:00) 2 h 左右。然后用卡诺固定液(无水乙醇-冰醋酸, 3:1) 固定 24 h, 经固定后的材料转入 50% 乙醇, 然后用蒸馏水清洗, 再用 1 mol/L 盐酸 60℃ 解离 10 min。解离后的材料用蒸馏水洗 3 次, 转入 45% 醋酸中软化 10 min, 碱性品红染色压片。经镜检挑选染色体分散良好的细胞, 经二甲苯浸泡, 再用光学树胶封片, 观察并摄影。

2 结果与分析

2.1 染色体鉴定结果: 观察 50 个以上可准确计数染色体的分裂中期细胞, 对照决明染色体数目为 $2n=2x=28$, 与文献报道一致^[5], 诱导株的染色体数目为 $2n=4x=56$, 见图 1。

2.2 秋水仙碱处理时间的影响: 根据诱导其他植物

收稿日期: 2006-11-12

作者简介: 丁如贤(1963—), 男, 江苏南通人, 副教授, 主要从事药用植物生物工程工作。

Tel: (021) 25074572 E-mail: rxding@smmu.edu.cn

* 通讯作者 郑水庆 Tel: (021) 25074574 E-mail: sqzheng@smmu.edu.cn

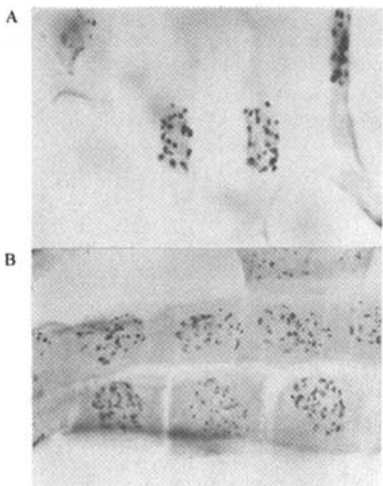


图 1 二倍体(A)和四倍体(B)决明染色体

Fig. 1 Chromosomes of diploid (A) and tetraploid (B) of *C. obtusifolia*

多倍体的成功经验^[6],将秋水仙碱溶液质量浓度选择为 0.5 mg/mL,处理时间分别设置为 6、12、18、24 h。从实验结果统计及生长状况知道,6 h 的处理时间显然太短,秋水仙碱溶液未能充分渗透发挥作用;18、24 h 的处理会造成部分处理苗死亡,部分不致死亡的苗其顶芽也严重损伤,从植株的其他部位再生出一些芽,继续生长,但这些芽未经过秋水仙碱的作用,所以其多倍体诱导数目较少;较合适的处理时间为 12 h,诱导率最高,结果见表 1。

表 1 决明四倍体的诱导效果

Table 1 Induced results of tetraploid of *C. obtusifolia*

处理时间/h	处理数目	存活数目	四倍体数目	诱导率/%
6	30	30	2	6.67
12	30	30	14	46.67
18	30	21	5	16.67
24	40	15	3	10.00

2.3 诱导株与对照株的形态比较:经秋水仙碱诱导产生的 C₀ 代植株形态和生理都发生巨大变化。尽管已获得 21 株多倍体,但由于秋水仙碱处理引起的染色体结构和数量的变异,有时是基因的突变,其 C₀ 代植株的变异是多方位的,发现其形态学特征的变异在 C₀ 代植株不具有统计学意义,但可以作为初步鉴定多倍体的很好指标,只有经过几代的选育和种植,才能使变异性状稳定遗传。

经秋水仙碱诱导的植株生长期延长。处理初期,植株生长缓慢,甚至有 5~10 d 的停止生长,随后生长状况逐渐恢复;多倍体植株开始开花时间与对照株相同,但花期一直可持续到 11 月底,比对照株花期延长 10~20 d,果实成熟时间也延长 5~10 d。诱

导植株的株高与对照株相同,有些诱导株的分支明显比对照株少;部分诱导株叶宽、叶长、叶厚都增加,表皮细胞、保卫细胞明显增大,有些植株叶片有褐色锈点分布,但没有出现叶片畸形的诱导株。部分诱导株的花形较大,没有畸形花出现。果实变异很大,果实数量少,直径增大,长度缩短。同一诱导株上有的果实有一粒种子,有的有 20~30 粒,这些种子都普遍变大、增重,最重的在成熟自晾干后达到 0.057 77 g/粒,比对照株增重 70%。变异的种子有两种形态:一种是种子形态与对照相似,其长度增加不多,但宽度大幅度增加;另一种是种子形态变成圆柱形,长度增加,与对照形态不同。

3 讨论

3.1 利用秋水仙碱诱导多倍体有:液滴法、浸泡法、胶粘法、琼脂法。这些方法或是用秋水仙碱水溶液处理芽的生长点,或用含有秋水仙素溶液的琼脂棉小团包裹生长点及秋水仙碱溶液浸泡种子、芽等。本实验采用液滴法,使顶芽生长点细胞充分与秋水仙碱溶液接触。通过套罩和持续滴加,延长药物作用时间,经鉴定生长发育所获种子,有较好的同源四倍体得率,该方法对决明同源多倍体的诱导是较佳的选择。

3.2 药用植物决明在 0.5 mg/mL 的秋水仙碱下,诱导时间 12 h 为最佳,诱导率高。当时间短于 12 h 时,可能由于秋水仙碱溶液作用于生长点的时间不够长,细胞还能按正常的方式分裂,所以诱导率很低;当时间超过 18 h 时,由于处理苗的部分死亡,存活率降低,再加之有些存活苗是由未经处理的不定芽生长而成,所以鉴定出的多倍体诱导率同样较低。

3.3 多倍体诱导在农作物和药用植物新品质、新资源的获得中已有许多报道,但大多数以营养器官和果实的获得为目的,而以种子为目的的同源多倍体诱导文献并不多见。大多数学者普遍认为,秋水仙碱诱导的多倍体植物具有“巨型性”,不管是营养器官和生殖器官。但同时结实率会降低,种子数目会减少,生长发育期延长,对于以收获种子为目的的植物来说,并不一定适用。从多次对菘蓝的四倍体诱导实验来看,其诱导植株不仅营养器官增产明显,而且对生殖器官的影响结果是育种第一代果实变大、种子变大,但数目都减少,经过第二代的种植,果实、种子增大的性状未变,并且数目也与对照植株相似。本实验结果发现,决明诱导育种产生的 C₀ 代,其种子普遍都变大,而且增幅较高,每一果实内的种子数与对照植株比较变化很大,即使是同一诱导株,也是如此,说明诱导造成植物体内遗传的巨大变异,有待以

后种植选出遗传稳定的优良株系。

3.4 多倍体诱导不仅能高产量、改变质量,同时由于植物遗传物质的变化,通过成分检测会找到原先没有被检测到的化合物,虽然这种诱导没有外源基因的进入,但秋水仙碱引起的染色体数量、结构的变化,甚至是基因的突变,会改变植物体内原有的代谢网络,致使原先在植物体内没有或很少的化合物在诱导后被检测发现^[7],这在一些多倍体植物中已有报道。本实验已获得一定数量的多倍体,其遗传稳定性和成分的量留待以后进一步研究。

References:

- [1] Wang Y S, Deng W L, Xue C S. *Pharmacology and Application of Chinese Materia Medica* (中药材药理及应用) [M].

Beijing: People's Medical Publishing House, 2000.

- [2] Zhuang W Q. *Medicine Plant Breeding* (药用植物育种) [M]. Beijing: Agriculture Press, 1993.
- [3] Zhang A M, Chang L, Xue J P. Progress in research on inducing the polyploid of medicinal plants [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2005, 30(9): 645-649.
- [4] Qiao C Z, Cui X. Application of the medicinal plants polyploidy [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1989, 4(4): 40-42.
- [5] Zheng T J. Studies of chromosome numbers of 9 medicinal plants [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23(2): 88-89.
- [6] Qiao C Z, Wu M S, Dai F B, et al. Studies on polyploid breeding of *Isatis indigotica* Fort. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1989, 31(9): 678-683.
- [7] Li B, Chen W S, Zheng S Q, et al. Two new alkaloids isolated from tetraploidy banlangen [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2000, 35(7): 508-510.

菝葜药材的本草考证

邹节明, 钟小清, 吕高荣

(桂林三金药业股份有限公司, 广西 桂林 541004)

菝葜, 始载于《名医别录》, 又名金刚藤(湖北)、金刚菟(广西)、金刚刺(广西)、金刚鞭(浙江)、草薢(四川)、铁菱角(江西)、红土茯苓(贵州)等。味甘, 微苦涩, 性平, 归肝肾经。功能祛风利湿, 解毒散瘀。用于筋骨酸痛、小便淋漓、带下量多、疔疮肿毒^[1]。菝葜是三金片、血尿胶囊、金刚藤糖浆(胶囊)及撒尔沙提取物的重要原料, 为了正本清源, 对菝葜药材进行本草考证及原植物来源调查。

1 古本草考查

参考《本草图经》^[2]、《本草纲目》^[3]、《植物名实图考》^[4]等古本草附图及描述, 不能确定菝葜 *Smilax china* L. 就是菝葜药材的唯一植物来源, 从古本草对本品种的论述来看, 有黄花、白花、黑果、红果等描述, 这些特征不能简单以笔误来认定, 因为这些特征都是菝葜属与菝葜原植物相近的几个种的重要特征, 因此认定古代本草描述的菝葜药材的原植物与今之菝葜属植物相吻合较为合理。而且菝葜与菝葜属相近种的几种植物在植株形态的主要区别在叶柄的脱落点、托叶鞘、叶背被粉、花的颜色、果序托的长短、果实颜色的情况, 结合笔者长期的野外调查及

收集许多相关产地的原植物标本及原药材来看, 黄花、白花、红果、黑果等特征在菝葜属的植物中还是较为常见, 因此认为古本草所记录的菝葜的原植物来源不是菝葜一个种, 而是来源于菝葜属植物与菝葜相近的几个种。

2 菝葜药材原植物来源调查及鉴定

通过近几年的中草药资源调查及对菝葜药材主产区菝葜药材植物来源专项调查发现, 目前菝葜药材的商品主流是菝葜 *Smilax china* L. 以及同属植物长托菝葜 *S. ferox* Wall. ex Kunth 和黑果菝葜 *S. glauco-china* Warb. 的根茎。药材的原植物标本的鉴定结果得到广西壮族自治区植物研究所李光照研究员的确认, 相关的菝葜药材标本及药材原植物标本保存于桂林三金药业股份有限公司中药研究所标本室。菝葜药材鉴定结果见表 1。

菝葜原药材为不规则块状或弯曲扁圆柱形, 具结节状隆起, 长 10~20 cm, 直径 2~4 cm, 表面黄棕色或紫棕色, 有圆锥状突起的茎基痕, 并残留坚硬的刺状须根残基或细根, 质坚硬, 难折断, 断面呈棕黄色或红棕色, 纤维性, 可见点状维管束及多数小亮点^[5,6]。

收稿日期: 2006-11-22

作者简介: 邹节明(1943—), 湖南常德市人, 武汉大学生物系药用植物专业毕业, 长期从事中药制剂创新研究与产业化开发, 设计与主持研发桂林西瓜霜、脑脉泰胶囊等中药新药 43 种, 发表学术论文 70 余篇, 专著 3 部, 是我国现代中药制剂研发的先驱者之一, 现任桂林三金药业股份有限公司董事长、总工程师, 中国药典委员会委员, 中国中医药管理局专家咨询委员会委员, 《中草药》杂志副主任委员, 中国中药协会副会长, 北京中医药大学及武汉大学生命科学院客座教授, 博士生导师。