

高山红景天生物学特性与资源培育研究进展

马春英^{1,2}, 王文全^{1X}, 蔡景竹², 张红瑞¹

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 河北农业大学农学院, 河北 保定 071001)

摘要: 高山红景天属于濒危野生保护植物, 为了解决其资源短缺的问题, 近些年开展了大量的有关其生物学特性及资源培育的研究工作。综述高山红景天生态环境、物候学和遗传学等生物学特性和人工栽培、组织培养、细胞培养以及其他利用生物技术方法对其进行人工培育的方法, 并提出了未来的发展方向。

关键词: 高山红景天; 生物学特性; 栽培; 组织培养; 细胞培养

中图分类号: R282.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2008)03-0474-03

Advances in studies on biological characteristics and resources cultivation
of *Rhodiola sachalinensis*MA Chun-ying^{1,2}, WANG Wen-quan¹, CAI Jing-zhu², ZHANG Hong-rui¹

(1. College of Chinese Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China;

2. College of Agronomy, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Key words: *Rhodiola sachalinensis* A. Bor.; biological characteristics; cultivation; tissue culture; cell culture

高山红景天 *Rhodiola sachalinensis* A. Bor. 为景天科多年生草本植物, 红景天主要有效成分为红景天苷及其苷元酪醇, 具有抗缺氧、抗寒冷、抗疲劳、抗衰老、增强免疫功能等作用。前苏联从20世纪60年代起已开始了对红景天的研究, 20世纪70年代将红景天定为“适应原”样药物。我国对红景天的开发始于20世纪80年代初。近年来, 随着人们对高山红景天的不断深入研究与开发利用, 自然状态生长的高山红景天资源受到了严重的威胁, 已经成为濒危野生保护植物。国内不少单位已经对高山红景天进行生物学特性及人工培育条件的研究, 这对高山红景天的资源保护及开发利用具有重要的意义。现将近些年有关高山红景天的生物学特性与资源培育研究进行综述。

1 高山红景天的生物学特性

1.1 高山红景天生态环境概况: 高山红景天主要分布于欧洲、北美洲及亚洲的西部和北部^[1], 在我国主要分布于吉林省长白山及黑龙江省海林县等山区海拔1700 m以上的岳桦林下和高山苔原带。高山红景天生长土壤一般为高山草甸土, 剖面观由有机质层和母质层组成, 母质层常见有冰碛物和冰水沉砾物, 有机质层分为草根盘结层(生草层)和腐殖质层, 生草层一般厚3~5 cm, 腐殖质层一般厚20~30 cm。高山红景天生境中磷的量均较低, 氮的量居中, 钾的量相对较高, 但有机质的量则明显较高。在整个分布区中土壤的pH值近中性偏碱。一年中5~9月间气温基本为正值, 其他月份的气

温基本为负值。降雨量主要集中在每年的5~9月, 其他月份则相对较少或很少。

1.2 高山红景天物候学特性: 按照谭敦炎等^[2]的研究结果可以把高山红景天划分为以下6个生长发育时期, 分别为休眠期、解除休眠期、营养与生殖生长期、始花期、盛花及结实期、成熟期。根据高山红景天的6个生长发育时期又将其归纳为三大生育阶段, 即以芽的状态为中心的休眠期和解除休眠后的居间生长期, 每个芽都通过居间生长而分别发育成营养枝和生殖枝, 意味着高山红景天进入第2个生育阶段, 此阶段为展叶期和花的生长成熟期; 第3个阶段即为果实的成熟期。

1.3 高山红景天遗传特性研究: 高山红景天为雌雄异株或杂性同株, 繁殖方式以异交为主, 应该具有高的遗传变异。但是祖元刚等^[3]研究表明高山红景天天然种群内遗传变异并不高。原因之一是高山红景天分布范围狭窄, 生境比较单一; 原因之二是高山红景天除了有性生殖外, 还伴随着无性生殖, 再加上近些年来, 人们对其野生资源大量的采挖丢失了部分基因型而致使高山红景天种群的遗传结构发生了变化, 使其遗传变异并不高。这些原因也使得高山红景天的天然贮量锐减, 导致濒危。人们已经开始采取措施对高山红景天进行资源培育。

2 高山红景天资源培育研究

2.1 高山红景天有性繁殖概况

X 收稿日期: 2007-07-20

基金项目: 国家发展和改革委员会中药材资金扶持项目(编号8号)

作者简介: 马春英(1977—), 女, 河北临漳县人, 讲师, 在读博士生, 研究方向为药用植物资源培育。

Tel: (0312) 7528407 E-mail: bushbucker@126.com

* 通讯作者 王文全 Tel: (010) 84738623 E-mail: wwq57@126.com

2.1.1 种子处理研究:高山红景天的种子很小,千粒质量0.13~0.15 g,种子成熟度较差,成熟者仅占总数的30%~40%,存在休眠特性。红景天生长于高寒山区,种子以此休眠习惯度过不良环境,是其在自然界长期演化过程中形成的对环境条件的适应性。秦佳梅等^[4]对种子结构进行了观察,发现高山红景天种胚位于子叶中间呈直立状,形态完整。由此推断其休眠属于种胚生理后熟。野生高山红景天产种量大而实,生苗极少,秦佳梅等^[5]认为是种子萌发、生长的条件不具备。

吴维春等^[6]研究表明未经处理的高山红景天种子发芽率8%~10%,适宜的发芽温度15~20℃,温度过高(25℃以上)或过低(10℃以下)均影响种子的发芽率。种子采收之后在15~25℃条件下贮存8个月后发芽率开始下降,贮存1年后多数失去发芽能力,低温贮存可适当延长种子寿命。秋季播种或用流水冲洗等方法处理种子可提高发芽率。此后很多研究者相继证明流水冲洗处理、低温处理和赤霉素处理能够提高高山红景天种子的发芽率^[4, 7, 8]。高山红景天种子含有抑制发芽的物质,经长时间流水冲洗可除去其中水溶性部分,而低温促进了种子内源激素的生成,从而打破种子休眠。

2.1.2 育苗移栽研究:高山红景天在人工栽培过程中主要是采用种子繁殖、育苗移栽的方式,这样可以获得大量实生苗,并且移栽后第2年即可收获。朱俊义等^[9]在育苗方面进行了春播、伏播、秋播试验,表明秋播育苗管理方便、保苗率高、苗期短。前1年11月上旬播种,第2年3月下旬出苗,6月上旬即为移栽,并且苗期几乎无病虫害。吴维春等^[10]则认为种子7月份采收以后,贮存至秋季或翌年春季播种,不仅延长了栽培时间,而且由于种子贮存时间过久,出苗率降低,幼苗出土时正是春季干旱季节,土壤墒情不好影响出苗,同时田间杂草多,管理不便。夏季播种育苗实验证明高山红景天夏季播种育苗是可行的。夏季播种时的温度和空气湿度优于春季,播种后出苗快,出苗率高,幼苗生长迅速而且苗壮,此时多数杂草的种子早已萌发,因此育苗床内杂草很少,管理十分方便。王春梅等^[11]在低海拔、平原区采用了温室、大棚、小棚、兰膜等11种不同设施对高山红景天育苗进行实验,获取了各种育苗方式下大、中、小植株平均株高、叶片数、根长与CK增长的百分比,并对其数据进行对比分析,获得了高山红景天的育苗最佳方案。

2.1.3 引种栽培进展:我国从20世纪80年代就开始报道有关高山红景天引种栽培的研究^[6]。成玉怀等^[12]进行了将高山红景天从新疆高海拔区引种到低海拔区的栽培试验。用种子育苗和块根繁殖均获得成功。石铁源等^[13]对栽培高山红景天的红景天苷定量测定结果表明,红景天苷的量与海拔高度和栽培年限有明显相关性。随着海拔高度的增高,栽培年限的增加,红景天苷量随之增加;在低海拔地区栽培,摘花序处理可以提高红景天苷的量。朴仁哲等^[14]为了更好地人工驯化栽培,扩大药材资源,满足社会的药用需求,研究了移栽一年生高山红景天在不同N、P、K处理下的生长情况。结果表明,不同量N、P、K处理对株高、茎数、根茎数的影响不大,但对根质量、根长的影响较大。并根据实验结果建立了根质

量回归模型,找到了最高产量的施肥量组合。研究证明用红膜处理人工栽培的高山红景天会使红景天苷的量和产量显著增加^[15, 16]。

2.2 高山红景天无性繁殖概况:高山红景天多年生植株有的分枝多簇生,茎顶呈“狮子头”型;有的根茎横走,上具许多饱满不萌发的潜伏芽;在易被雨水冲刷处,发现有断根及新根茎萌发的新植株。秦佳梅等^[17]利用高山红景天多年生植株的根茎为材料进行了无性繁殖试验。

2.2.1 分株繁殖:呈“狮子头”型的植株,根茎多数直立簇生,用刀片纵向将每个分枝切开成独立植株,于阴凉通风处使伤口愈合,在苗床上栽植,成活率100%。

2.2.2 根茎繁殖:根茎横走的多年生植株,根茎较长,尤其是地下部分具许多饱满不萌发的潜伏芽,且节间长,按节间长短切成长3~5 cm的根茎段,用薄膜包1 d左右,根茎段上生出许多嫩根,不发根者可直接淘汰。栽植时,可先在苗床上开10 cm深的沟,行距20 cm,将根茎段芽向上方摆放于沟内,盖土压实,上盖乱草等保湿,成活率达90%以上。

成玉怀等^[12]利用根茎繁殖成活率达95%以上。将5月初或10月下旬采集的野生高山红景天根茎切成3~5 cm的小块,每块应带有已经萌发的2~3个幼芽。种块先用草木灰拌匀放在阴凉通风处1~2 d,或用50%多菌灵1 000倍液浸20 min消毒后,再栽效果较好。移栽时于畦面开沟,沟深10 cm,稍加盖压。栽后浇足水,并保持土壤湿润不板结,直到苗出齐为止。移栽后即搭遮荫棚,以防阳光直接照射。

2.2.3 潜伏芽繁殖:地下根茎上的潜伏芽有的独立而饱满,有的在芽基部生有1~3或更多条须根,长度不等。将每个芽带须根切下,于通风处使伤口愈合后,同分根茎法栽植,成活率达68%。该苗较根茎繁殖的苗长势弱,生长量不大。

2.3 高山红景天的组织培养与快速繁殖概况:野生高山红景天主要以种子进行有性繁殖,多年生植株通常于肉质根状茎上长出丛生越冬休眠芽,次年发育成地上茎,进行开花、结实。其种子体积小,成熟晚,多败育,发芽率低,自然繁殖相当困难。组织培养技术是实现高山红景天快速人工繁殖的一条比较好的途径。刘世强等^[18]曾以高山红景天的种子作为外植体诱导愈伤组织并再生出植株。张弓等^[19]分别以高山红景天的休眠芽、种子、无菌苗叶片、茎段等作为外植体进行组培试验。罗明等^[20]经过近3年的试验,发现以越冬休眠芽作为外植体诱导愈伤组织效果最好,可再生出完整植株,并成功地移栽成活。

2.4 高山红景天的细胞培养概况:利用植物细胞培养技术筛选快速生长又能产生高山红景天有效活性成分的愈伤组织、细胞系是大规模生产药用成分的有效途径。许建峰等^[21, 22]进行了高山红景天细胞大规模培养的研究,发现红景天苷合成与细胞生长偶联;在高山红景天细胞悬浮培养过程中,3 mg/L 6-BA + 13 mg/L NAA、60 mmol/L 氮源(其中NH-NO为1:1)、0.5~0.125 mmol/L KH₂PO₄和200 mg/L 蛋白胍较适合于细胞生长和红景天苷的积累;通过降低培养基pH值能有效地诱导培养细胞中红景天苷的细胞释放,将

诱导释放过的细胞组织转入到新鲜的生产培养基中,细胞仍然具有合成红景天苷的能力。还探索了红景天苷生物合成的可能途径:认为其苷元酪醇是经由莽草酸途径合成的;前体及真菌诱导子的加入对红景天生物合成具有调控作用。通过组合运用两种调控机制最终使得培养细胞中红景天苷的量达到1.7%,已大大超过野生植株的量。此外还进行了气升式反应器培养高山红景天愈伤组织颗粒的动力学与氧传递特性研究,最终已在气升式反应器中实现了大规模培养,这都为高山红景天资源的开发和利用开辟了新的有效途径。

2.5 生物技术的应用:Zhou等^[23]利用发根农杆菌转化后得到的高山红景天毛状根生产红景天苷。还可以对高山红景天主要活性成分的代谢途径进行探索,利用分子生物学方法尽快找出功能基因或功能基因族及相关基因和次生代谢酶基因,进行基因的克隆和表达,就可能在实验室内生产基因药物。Ma等^[24]对尿苷二磷酸葡萄糖转移酶基因进行克隆和多表达都可以增加红景天苷的量,这是第一个从高山红景天中克隆出来的与红景天苷合成相关的葡萄糖基转移酶的基因。这为以后基因克隆提供了很好的思路。

3 问题与展望

邓科君等^[25]利用线粒体中nad7基因的保守序列设计的引物,对红景天属植物进行PCR分析,发现红景天属植物的该基因区域具有特异性,这可能是与其特殊的生长环境有关系。那么随着高山红景天的野生变家种,从高海拔地区引种到低海拔地区进行栽培等,野生品与栽培品是否相同就可以用分子生物学的方法对其进行比较,这可以为高山红景天遗传资源鉴定与保证提供指导。

随着GAP的广泛开展,高山红景天的规范化栽培、质量标准以及新品种选育等一系列问题都应该尽早提到日程上来。这些都是未来高山红景天资源培育的主要目标。

参考文献:

[1] 吉林省中医中药研究所. 长白山植物药志 [M]. 长春:吉林人民出版社, 1982.

[2] 谭敦炎, 朱建雯, 田允温. 高山红景天的繁殖生态学研究报告 I. 生态因子与植物学、物候学特性分析 [J]. 新疆农业大学学报, 1997, 20(3): 1-4.

[3] 祖元刚, 颜廷芬, 周福军. 高山红景天(*Rhodiola sachalinensis*)遗传变异及其濒危机制的探讨 [J]. 木本植物研究, 1998, 18(3): 304-309.

[4] 秦佳梅, 张卫东, 田洪. 红景天种子休眠与其解除方法 [J]. 特产研究, 1999(2): 45-46.

[5] 秦佳梅, 张卫东. 长白山高山冻原带红景天之实地考察 [J]. 中国野生植物资源, 1994(3): 25.

[6] 吴维春, 刘义. 高山红景天引种栽培技术 [J]. 中药通报, 1987, 12(12): 16-18.

[7] 朴仁哲, 张蕾光, 刘迎春. 红景天种子处理与生育期的观察 [J]. 延边农学院学报, 1994, 16(3): 182-187.

[8] 秦佳梅, 张卫东, 田洪. 提高红景天种子发芽率的试验 [J]. 人参研究, 1998(3): 31-32.

[9] 朱俊义, 张福三, 任文慧. 高山红景天秋播育苗技术 [J]. 通化师范学院报: 自然科学版, 1995(2): 52-53.

[10] 吴维春, 丁志国. 库页红景天夏季播种育苗技术 [J]. 基层中药杂志, 1992, 6(4): 24-25.

[11] 王春梅, 付胜国, 杨玉贵. 库页红景天不同设施条件下育苗技术的研究 [J]. 中国林副特产, 2006(5): 37-38.

[12] 成玉怀, 李鹏, 王琪, 等. 红景天引种及栽培试验 [J]. 中药材, 2003, 26(11): 775-776.

[13] 石铁源, 全雪丽, 张美淑, 等. 高山红景天栽培条件探讨 [J]. 中药材, 2006, 29(2): 107-108.

[14] 杜仁哲, 崔一龙, 朴哲. 不同量的氮磷钾处理对高山红景天生长的影响 [J]. 延边农学院学报, 1995, 17(4): 202-207.

[15] 阎秀峰, 王洋, 郭盛磊, 等. 遮荫和红膜处理对高山红景天根生物量及红景天甙含量季节变化的影响 [J]. 应用生态学报, 2004, 15(3): 382-386.

[16] 阎秀峰, 王洋, 尚辛亥, 等. 光或是和光质对野外栽培高山红景天生物量和红景天甙含量的影响 [J]. 生态学报, 2004, 24(4): 674-679.

[17] 秦佳梅, 张卫东. 红景天无性繁殖技术 [J]. 特产研究, 1994(3): 55.

[18] 刘世强, 韩素敏. 高山红景天愈伤组织的诱导和植株再生的研究 [J]. 辽宁农业科学, 1991(5): 17-22.

[19] 张弓, 张继福, 侯晓航, 等. 高山红景天组织培养技术研究 [J]. 特产研究, 1995(4): 26.

[20] 罗明, 谭敦炎, 张玉霞, 等. 高山红景天的组织培养 [J]. 新疆农业科学, 1996(3): 123-125.

[21] 韩爱明, 许建峰, 方晓丹, 等. 影响高山红景天细胞悬浮培养中细胞生长和红景天甙积累的几个因素 [J]. 植物生理学通讯, 1997, 33(1): 33-36.

[22] 许建峰, 韩爱明, 冯朴荪, 等. 高山红景天细胞悬浮培养生长和营养成分摄取动力学及其计量关系 [J]. 应用与环境生物学报, 1997, 3(2): 100-105.

[23] Zhou X, Wu Y, Wang X, et al. Salidroside production by hairy roots of *Rhodiola sachalinensis* obtained after transformation with *Agrobacterium rhizogenes* [J]. Biol Pharm Bull, 2007, 30(3): 439-442.

[24] Ma L Q, Liu B Y, Gao D Y, et al. Molecular cloning and overexpression of a novel UDP-glucosyltransferase elevating salidroside levels in *Rhodiola sachalinensis* [J]. Plant Cell Rep, 2007, 26(7): 989-999.

[25] 邓科君, 杨足君, 刘成, 等. 红景天线粒体nad7基因内含子2序列测定及其系统发育意义 [J]. 遗传, 2007, 29(3): 371-375.