

大。其中柴胡总皂苷,以黑龙江产的最高,为2.966%;甘肃产的量最低,为1.3%。柴胡皂苷a的量则以宁夏产的最高,为0.955%;浙江产的最低,为0.069%。此外,在辽宁省的北柴胡药材中未检测到柴胡皂苷a。通过比较还可以看出,同一药材中柴胡总皂苷量高者,柴胡皂苷a量不一定高,反之亦然。因此,不能单独用柴胡总皂苷或柴胡皂苷a来评价药材的质量,应以柴胡总皂苷量为主,兼顾其柴胡皂苷a的量为宜。

3.2 不同产地药材中柴胡皂苷量的差异与当地的

气候、种植环境、采摘时期及栽培方式等多种因素有关,因此,如何控制其质量稳定并不断提高,探求影响药材质量变化的基本因素,有待于进行深入的研究。同时,为了保证药材的质量,改变中药制剂疗效不稳定的现状,需从源头抓起,实行道地药材的GAP管理。

参考文献:

- [1] 梁 鸿,赵玉英,邱海蕴,等.北柴胡中新皂苷的结构鉴定[J].药学学报,1998,33(1):37-41.
- [2] 安玉明,接传胤,祝世伟.柴胡的研究进展[J].人参研究,2001,13(1):11-13.

白花丹参同源四倍体的诱导与鉴定

陈 力,李秀兰

(南开大学生命科学学院,天津 300071)

摘 要:目的 对白花丹参种质资源进行遗传改良,拟创造出白花丹参同源四倍体新种质。方法 对未成熟种子,采用组织培养方法,用秋水仙碱进行诱变处理。结果 获得了17株同源四倍体,其中一株为四倍体非整倍体。经种植观察,四倍体白花丹参在株高、冠幅、叶片大小、叶片厚度、叶柄绒毛、花、花药、花粉粒大小等方面都明显大或高于原二倍体白花丹参;每株根条数和根粗与倍性成正相关,根部药材产量四倍体株系间虽有显著差异,但多数株系都高于二倍体对照,其中4~5号四倍体单株根部药材产量是二倍体白花丹参的3.19倍;丹参多酚酸、丹参酮等主要药物成分也都高于二倍体对照。结论 四倍体白花丹参新种质在丹参遗传改良和多倍体杂种优势利用方面具有重要应用价值。

关键词:白花丹参;同源四倍体;诱导

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)12-1995-03

白花丹参 *Salvia miltiorrhiza* Bunge var. *miltiorrhiza* f. *alba* C. Y. Wu et H. W. Li 是丹参的一个变型^[1],花冠为白色或淡黄色,野生于山东省莱芜山区,为山东特产药材之一,现已在莱芜、泰安、临沂、林山等地区引种栽培。据报道山东产白花丹参的丹参酮Ⅰ_A、次甲基丹参酮及丹参酮Ⅱ_A 3个主要成分的量均高于同地区产紫花丹参^[2]。白花丹参中的水溶性成分明显高于紫花丹参,约为紫花丹参的2倍^[3]。另外,白花丹参中的铁、镁、锰、锌、钙5种元素也高于紫花丹参^[4]。白花丹参除具有紫花丹参所具有的药效外,它对治疗血栓闭塞性脉管炎具有独特疗效^[5]。因此,近来有关白花丹参的有效成分、药理、毒理和开发的研究倍受关注^[3]。然而,目前白花丹参的分布范围还很小,只分布在东经117°19'~117°58',北纬36°02'~36°33'的莱芜地区,栽

培面积只有近千亩,4 500~6 000 kg/nm²,远远满足不了需求,而且栽培的白花丹参都是直接由野生变栽培,缺乏人工选育和品种改良。首次对白花丹参种质资源进行了遗传改良,创造了四倍体白花丹参新种质,为白花丹参新品种选育提供了新材料。

1 材料与方 法

供试材料白花丹参采自山东省莱芜地区野生种,2002年秋季用分根繁殖种于天津市蓟县黄崖关山区,2003年春季自花授粉,在种子变黑之前接种在1/2 MS+100 mg/L秋水仙碱的培养基中,处理72~96 h后,转入正常1/2 MS培养基中,待生根成苗后移栽于土壤中。在移栽时按单株检查染色体倍性。

2 结果与分析

2.1 白花丹参四倍体诱变效果分析:按上述方法接

收稿日期:2009-03-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(批准号30670211)

作者简介:陈 力(1962—),男,天津市人,博士,从事药用植物分子生物学研究。

Tel: (022) 23500208 Fax: (022) 23508800 E-mail: lichen@nankai.edu.cn

种 50 粒未成熟的丹参种子,经处理后有 44% 种子不能发芽,共获得 28 株成苗,经染色体检查有 17 株为四倍体,其中 16 株为四倍体整倍体($2n=32$,图 1-8),一株为四倍体非整倍体($2n=31$),四倍体诱变频率为 60.7%。

2.2 白花丹参四倍体鉴定

2.2.1 四倍体白花丹参主要形态性状分析:如表 1 所示,四倍体白花丹参主要形态性状如株高、冠幅、叶面积、花、花粉粒和根部药材产量等,都明显大或高于原二倍体白花丹参,只有每枝的花数有减少。在形态性状中与生殖有关的性状是比较稳定的,如花的大小,花药大小,花粉粒大小等,四倍体与二倍体有显著差异(图 1-1~8),可以作为鉴定四倍体的形态性状参考指标。四倍体丹参的根部产量株系间虽有明显差别,但与二倍体相比多数四倍体株系产量都超过原二倍体,在 16 株四倍体株系中有 14 个株系根部产量都超过二倍体白花丹参,其中 4-5 号单株产量 428 g,是二倍体白花丹参的 3.19 倍(图 1-6)。

2.2.2 四倍体白花丹参的染色体鉴定:染色体分析结果表明,四倍体白花丹参染色体结构是稳定的,核

型分析结果表明所获得的 16 株四倍体整倍体均为同源四倍体(图 1-9)。

3 讨论

3.1 四倍体丹参的诱变频率及鉴定:植物多倍体育种,存在 2 个困难,一是诱变频率较低,二是诱变结果的鉴定比较困难。本实验采用低质量浓度秋水仙素,较长时间处理,在半致死剂量条件下进行选择,四倍体诱变频率达到 60% 以上。多倍体鉴定最准确的方法仍然是以染色体计数为最终手段,但与生殖相关的形态指标,如花、花药、花粉粒大小,是比较稳定的性状,可作为多倍体鉴定的形态参考指标。

3.2 四倍体丹参在育种上的意义及其应用:由于植物多倍化后的直接效应,常表现在根、茎、叶、花、果实等器官的巨大性和内含物量的提高上,所以近年来药用植物基因组多倍化,作为遗传改良途径倍受重视,据不完全统计目前已有 40 多种药用植物人工诱变多倍化获得成功^[6]。高山林(1996)较早诱导丹参同源四倍体获得成功,并选育出丹参酮的量比对照种高 79% 的 61-2-22 优良品系^[7],为我国丹参遗传改良开辟新途径。丹参作为多倍化育种,是一个

表 1 白花丹参二倍体与四倍体主要形态性状比较

Table 1 Comparison of major morphological character between 2x and 4x of *S. miltiorrhiza* f. *alba*

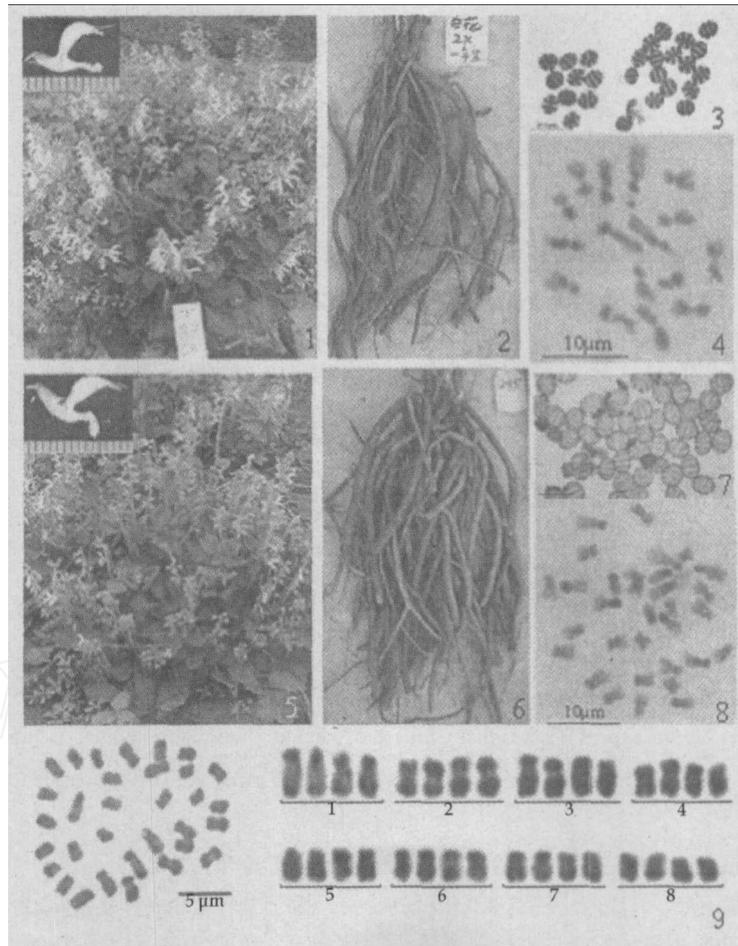
名称	株高/ cm	冠幅/ cm	茎粗/ mm	一次分枝数	叶长×叶宽/ cm	花序数	花序长/ cm	花数/ 枝	花大小/ mm	花粉粒大 小/ μm	根条数/ 株	根粗/ cm	根长/ cm	根鲜质量/ (g·株 ⁻¹)	根色
四倍体株系 4-1	25	20	4	7	16	7	20	30	20	7×4	14	0.4	11	110	灰白
四倍体株系 4-2	45	50	4	8	42	12	22	36	20	8×4	49	0.8	31	200	白红
四倍体株系 4-3	45	50	5	15	25	24	20	37	25	7×4	27	0.7	25	212	红
四倍体株系 4-4	45	50	4	12	33.7	39	20	33	25	7×4	30	0.9	28	260	红白
四倍体株系 4-5	50	60	4	19	52.5	28	20	25	25	8×4	58	1.5	35	428	红
四倍体株系 4-6	40	50	4	8	30.3	18	15	20	25	7×4	43	0.9	37	273	红白
四倍体株系 4-7	60	60	5	7	30.3	28	25	30	25	8×4	28	0.8	29	120	红白
四倍体株系 4-8	25	30	4	8	34.8	3	8	19	25	8×4	42	0.7	27	135	红
四倍体株系 4-9	20	25	4	4	24	11	20	28	25	7×4	31	0.7	26	219	红
四倍体株系 4-10	40	50	6	4	47.6	12	20	26	25	7×4	19	1.2	33	226	红白
四倍体株系 4-11	40	50	5	7	33	17	20	30	25	7×4	26	0.8	40	145	红白
四倍体株系 4-12	30	40	8	8	39	14	15	25	25	8×4	24	0.9	30	137	红白
四倍体株系 4-13*	25	40	4	7	35.7	8	9	15	25	8×4	30	0.7	31	98	红白
四倍体株系 4-14	40	50	5	8	30.2	20	15	15	25	7×4	25	1.3	37	305	红
四倍体株系 4-15	40	70	6	8	30	35	20	38	25	8×4	24	1.3	47	267	红白
四倍体株系 4-16	40	50	4	6	26.4	31	20	37	25	8×4	16	1.1	35	150	灰
四倍体株系 4-17	45	50	4	4	22	9	20	16	20	7×4	6	1.2	27	23	红
平均值	38.5	46.8	4.7	8.2	32.5	18.6	16.9	27.1	24.1	29.9	28.9	0.94	31.1	194.6	
二倍体 CK	30	30	2.5	3	22.1	13	15	43	21	5×4	10	0.75	47	102	红白
与 CK 相比	+8.5	+16.8	+2.2	+5.2	+10.4	+5.6	+1.8	-15.9	+3.1	+9.9	+18.9	+0.19	-15.9	+92.6	

以最粗、最长的一条计算根粗和根长,叶片也是以最大的测量。*:4-13 为四倍体非整倍体 ($2n=31$)

In most crude, longest for a calculation of root diameter and root length, leaf is in greatest measure. *: 4-13 is aneuploid ($2n=31$)

比较理想的材料,首先是染色体基数比较少, $x=8$, $2n=16$,容易加倍成功;其次它是一个异花授粉植物,遗传多态性强,变异大,选择的机率大;第三,丹参是以收获根部营养体作为药材计算产量,因此,四倍体营养器官的巨大性可以充分体现出来;第四,丹

参是多年生草本植物,可以“一劳永逸”;第五,丹参同时行有性和无性繁殖,这是多倍体育种最重要的一点,克隆繁殖不仅避免了有性分离,而且可以把优良的性状“永久”地保存下来。因此,丹参是进行多倍体育种的一种典型材料,具有示范性。四倍体丹



1~4-二倍体白花丹参的植株、根外形、花粉和染色体 5~8-同源四倍体白花丹参的植株、根、花粉和染色体(2n=32) 9-同源四倍体核型
1—4-shape, root, pollen, and chromosome of diploid *S. miltiorrhiza* f. *alba*. 5—8-shape, root, pollen, and chromosome of autotetraploids *S. miltiorrhiza* f. *alba* (2n=32) 9-karyotype of autotetraploid

图 1 二倍体白花丹参和其同源四倍体的植株、根、花粉和染色体

Fig. 1 Shape, root, pollen, and chromosome of diploid and autotetraploids *S. miltiorrhiza* f. *alba*

参在育种上的应用可以归纳为：①直接进入育种程序，选育新品种，进行推广应用。四倍体育种已在黑麦、荞麦、水稻、玉米、果树等作物上，在一些国家和地区得到推广应用；②开展多倍体杂种优势利用研究，多倍体杂种优势利用可以是 $4x \times 4x$, $4x \times 2x \rightarrow 3x$ ，三倍体被认为是营养生长最好的，常常表现出最强的杂种优势，成为以无性繁殖作物的主要育种目标。三倍体杂种优势利用最成功的作物，唯有糖甜菜。自上个世纪七十年代以后，一些欧洲国家在生产上已 100% 采有了三倍体糖甜菜品种。我国也是利用三倍体糖甜菜较早的国家之一。但糖甜菜不能进行无性繁殖，不能进行杂种优势固定。③筛选遗传变异新类型，由于四倍体减数分裂会产生一定比例的非整倍性配子，所以，在四倍体种群中经常会出现一定比例的非整倍体，在糖甜菜四倍体中，非整倍体株率约为 4%~5%。同时，在四倍体种群中染色体结构变异频率也略高于二倍体。据报道在四倍体燕麦中发现了 5 个基因组间的相互易位，六倍体

燕麦中相互易位多达 18%。因此，由于在四倍体种群中，广泛存在的染色体结构和数量变异以及基因突变，可以分离出很多的遗传变异类型，这些不同类型的变异，可成为重要的种质材料，具有重要的育种价值。这已在水稻、大麦、大白菜、西瓜等作物中得到应用。

参考文献：

- [1] 肖小河, 方清茂, 夏文娟, 等. 药用鼠尾草属数值分类与丹参药材道地性 [J]. 植物资源与环境, 1997, 6(2): 17-21.
- [2] 李允尧, 赵华英, 陈沪宁, 等. 山东省白花丹参的植物资源 [J]. 中药材, 2000, 23(2): 69-70.
- [3] 马丽虹, 瞿树林, 王传杰. 白花丹参的开发进展 [J]. 中国林副特产, 2005, 1: 72.
- [4] 齐水秀, 杨忠孝, 李珂, 等. 白花丹参微量元素分析比较 [J]. 泰山医学院学报, 2004, 25(6): 589.
- [5] 郑师章, 何敏. 丹参五个样品有效成分的比较—丹参栽培应重视品种选择 [J]. 中草药, 1981, 12(3): 12-13.
- [6] 武振华, 牛炳韬, 王新宇, 等. 药用植物染色体加倍的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2005, 25(2): 2569-2574.
- [7] 高山林, 朱丹妮, 蔡朝晖, 等. 丹参多倍体性状和药材质量的关系 [J]. 植物资源与环境学报, 1996, 5(2): 1-4.