

基于均匀设计优化手参体细胞胚胎发生及植株再生体系

顾地周, 冯 颖, 顾美影, 王艳萍, 姜云天
(通化师范学院 生物系, 吉林 通化 134002)

摘要: 目的 以手参茎尖为外植体, 研究手参体细胞胚胎发生体系。方法 应用均匀设计法筛选其最适合的胚性愈伤组织及胚性细胞复合体诱导、体细胞胚胎发育及植株再生的培养基。结果 手参茎尖胚性愈伤组织及胚性细胞复合体诱导最适宜的培养基为: CM+ 6-BA 1.0 mg/L+ IAA 2.0 mg/L+ 2, 4-D 0.1 mg/L, 诱导率为 98%; 体胚发育及植株再生最适宜的培养基为: CM+ 6-BA 1.00 mg/L+ IAA 0.10 mg/L, 体胚萌发率为 100%, 萌发的体胚在发育培养基上继续培养 50 d 后全部发育成完整植株。结论 对不同阶段培养材料的形态结构及超微结构的观察证明了手参体细胞胚胎的发育过程。

关键词: 手参; 均匀设计; 胚性细胞复合体; 体细胞胚; 植株再生

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)06-0989-05

Uniform design for *in vitro* somatic embryogenesis and plant regeneration of *Gymnadenia conopsea*

GU Di-zhou, FENG Ying, GU Mei-ying, WANG Yan-ping, JIANG Yun-tian
(Department of Biology, Tonghua Normal University, Tonghua 134002, China)

Abstract: Objective Using stem tip of *Gymnadenia conopsea* in this experiment to investigate somatic embryogenesis and plant regeneration *in vitro*. **Methods** Uniform design for the most suitable media for embryogenic callus induction and embryogenic cell complex, development of somatic embryo and plant regeneration were screened. **Results** The results showed that Chaturvedi and Mitra (CM) + 6-BA 1.0 mg/L+ IAA 2.0 mg/L+ 2, 4-D 0.1 mg/L was fit for embryogenic callus and embryogenic cell complex induction. Percentage was 98%; The medium of development of somatic embryo and plant regeneration was CM+ 6-BA 1.00 mg/L+ IAA 0.10 mg/L. Percentage was 100% and converted into plantlets with shoots and roots after 50 d culture on the same medium. **Conclusion** The observation of morphostructure and ultrastructure proves the process of somatic embryogenesis of *G. conopsea*.

Key words: *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br.; uniform design; embryogenic cell complex; somatic embryo; plant regeneration

手参 *Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br. 别名手掌参、巴掌参, 是兰科手参属草本植物, 《中国物种红色名录》中定为近危种, 《吉林省野生动植物保护管理暂行条例》中定为省级一类重点保护植物, 是长白山区野生珍稀濒危药用植物^[1]。手掌参根块中含有对羟基苯甲醇、香草酸、对羟基苯甲醛、腺嘌呤核苷、对甲氧基苯基-β-D-葡萄糖苷、对甲基苯基-β-D-葡萄糖苷、对羟基苯基-β-D-葡萄糖苷、蔗糖、十八烷、丁香酚、β-谷甾醇、5-羟甲基糠醛、正丁基吡喃果糖苷、薯蓣皂苷和果糖等化学成分^[2-4]。其根入药, 具抗过敏、抗氧化等作用, 主治慢性肝炎、神经衰

弱、肺虚咳嗽、虚癆消瘦、久泻、失血、带下等^[4]。其花序造型奇特, 花色艳丽, 可开发用于花坛、花境的绿化, 也可用于鲜切花, 是上好的观赏园艺品种。手参在长白山区数量非常稀少^[5]。因其种子不易获得, 其常规繁殖主要靠分蘖方式, 繁殖系数小, 可操作性极差。组培快繁主要是通过器官发生途径由外植体分化不定芽然后再生植株, 具有增殖系数高等优点^[6,7], 但仍存在外植体诱愈伤组织周期较长、获得无菌苗速度较慢、且无菌苗长期连续增殖极易发生退化和变异等缺点。而相对于器官发生过程, 体细胞胚胎发生途径是培养体细胞经历与合子胚发育

¹ 收稿日期: 2009-08-15

基金项目: 国家科技攻关计划引导项目(2005BA741C)

作者简介: 顾地周(1973—), 男, 吉林通化人, 讲师, 主要从事长白山区珍稀濒危植物和药用植物研究。 E-mail: gudizhou@163.com

相似的过程形成胚性细胞复合体, 然后萌发进而发育为完整植株。不仅繁殖系数高, 而且遗传稳定性强, 可用于人工种子的制作, 大大提高种苗生产效率, 并可用于遗传转化, 直接通过体胚发生途径获得手参转基因植株。目前, 国内外关于植物体细胞胚胎发生研究的报道较多^[8-12], 在前人报道的基础上, 研究了手参体细胞胚胎发生体系, 以期明确高效、稳定的体胚诱导、发育及成熟萌发条件; 同时对体胚发生发育过程的形态及超微结构进行研究, 为深入了解手参体胚发生的形态学及形态调控技术提供依据, 为提高种苗生产率和制作手参人工种子奠定基础。本实验采用均匀设计法对其体胚诱发及发育的培养基进行了筛选, 结果对其开发和利用可能有一定的参考意义。

1 材料与amp;方法

1.1 试材: 手参新生茎尖。

1.2 方法

1.2.1 培养条件: 以 CM 为基本培养基, 附加蔗糖分别为 20 g/L, 琼脂 8.0 g/L, pH 5.5, 附加植物生长调节物质, 温度控制在(26±2) °C, 暗光培养。

1.2.2 材料处理: 将手参茎尖剪下, 在超净工作台上用 70% 酒精涮洗 10 s, 再用含 3% 链霉素的次氯酸(0.1%) 溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗 8 次, 用无菌滤纸将外植体表面的水分吸干, 切除受杀菌消毒剂损害部分后留 2 mm 锥状茎尖作为外植体备用。

1.2.3 胚性愈伤组织及胚性细胞复合体的诱导: 将锥状茎尖切面部朝下接种到附加不同质量浓度细胞分裂素 6-BA 和生长素 IAA、NAA、2,4-D 的 CM 培养基上进行胚性愈伤组织及胚性细胞复合体诱导培养, 观察胚性愈伤组织形成情况。以筛选最合适的诱导培养基。

1.2.4 体细胞胚发生发育及植株再生: 将含有胚性细胞复合体胚性愈伤组织转接到附加 6-BA、IAA、IBA、NAA 的 CM 培养基上进行体胚发生及发育培养, 筛选最佳的体胚发生发育培养基。培养到一定时期后, 待胚性愈伤组织表面产生鱼雷状突起时, 将突起剥离下来, 再转接到体胚发生培养基中继续培养, 使体胚继续发育并萌发后形成完整的植株。同时, 结合电镜观察体胚产生的部位及发育情况(球形胚、盾形胚、子叶胚和再生植株)。

1.2.5 结果观察: 采用数码相机对含外植体各阶段的形态变化进行拍摄。同时, 对不同阶段培养物进行扫描电镜观察, 拍摄。

1.2.6 数据分析与amp;处理: 采用均匀设计(Uniform

Design) 软件。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对含胚性愈伤组织及胚性细胞复合体诱导的影响: 以 CM 为基本培养基, 附加不同质量浓度的 6-BA、IAA、NAA、2,4-D(由预实验可知: 6-BA 质量浓度控制 0.1~1.0 mg/L, IAA、NAA、2,4-D 质量浓度均控制在 0~2.0 mg/L), 将手参幼茎尖接种到不同培养基中进行胚性愈伤组织诱导培养。为了提高手参胚性愈伤组织诱导的速度和诱导率, 采用均匀设计法^[13], 每个处理数为 30, 选用 U₁₀(10⁸) 均匀表(表 1), 同时考察了细胞分裂素 6-BA 和生长素 IAA、NAA、2,4-D 的质量浓度交叉配比对诱导率的影响, 结果见表 2。

表 1 U₁₀(10⁴) 设计因素及水平

Table 1 Factors and levels of U₁₀(10⁴) design

水平	因素/(mg·L ⁻¹)			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
1	0.10	0.00	0.00	0.00
2	0.20	0.10	0.10	0.10
3	0.30	0.25	0.25	0.25
4	0.40	0.50	0.50	0.50
5	0.50	0.75	0.75	0.75
6	0.60	1.00	1.00	1.00
7	0.70	1.25	1.25	1.25
8	0.80	1.50	1.50	1.50
9	0.90	1.75	1.75	1.75
10	1.00	2.00	2.00	2.00

X₁-6-BA 浓度 X₂-IAA 浓度 X₃-NAA 浓度 X₄-2,4-D 浓度, 表 2 同

X₁-6-BA concentration X₂-IAA concentration X₃-NAA concentration X₄-2,4-D concentration Table 2 is same

表 2 U₁₀(10⁴) 均匀设计试验安排及结果

Table 2 U₁₀(10⁴) Uniform design and result

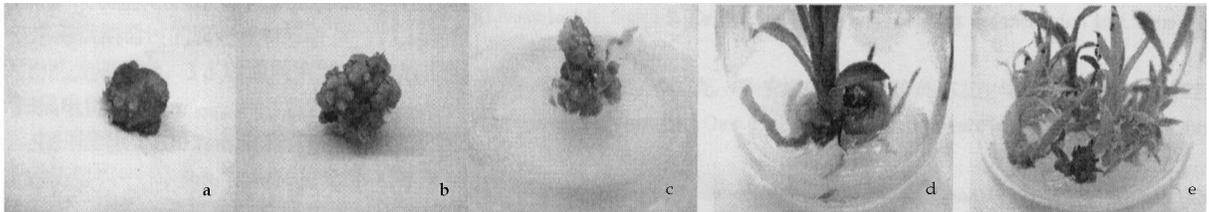
处理号	因素/(mg·L ⁻¹)				Y(诱导率)/%
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	
1	0.10	0.25	0.50	0.75	52.00
2	0.20	1.00	1.50	2.00	60.00
3	0.30	1.75	0.00	0.50	79.00
4	0.40	0.00	0.75	1.75	44.00
5	0.50	0.50	1.75	0.25	65.00
6	0.60	1.25	0.10	1.50	72.00
7	0.70	2.00	1.00	0.10	90.00
8	0.80	0.10	2.00	1.25	57.00
9	0.90	0.75	0.25	0.00	73.00
10	1.00	1.50	1.25	1.00	83.00

将所得数据经均匀设计软件处理得回归方程:

Y = 49.0 + 12.7 X₁ + 16.5 X₂ + 0.955 X₃ - 4.82 X₄, 样本容量 N = 10, 显著性水平 α = 0.01, 复相关系数(R) = 0.9967, 检验值 F_t = 185.9, 临界值 F_(0.01, 4, 5) = 11.39, F_t > F_(0.01, 4, 5), 显著, 回归方程有

意义。对各方程项进行显著性检验可知: 检验值 $F_{(3)} = 1.307$, 临界值 $F_{(0.01, 1, 5)} = 16.26$, $F_{(3)} \leq F_{(0.01, 1, 5)}$, 此方程项不显著。剔除不显著方程项, 新建回归方程继续计算: 得回归方程 $Y = 49.6 + 13.4 X_1 + 16.2 X_2 - 4.65 X_4$, $R = 0.9958$, 检验值 $F_t = 235.4$, 临界值 $F_{(0.01, 3, 6)} = 9.780$, $F_t > F_{(0.01, 3, 6)}$, 回归方程显著。同理对各方程项进行显著性检验可知: 各方程项对 Y 值均影响显著。求得实验范围内的最佳条件为: $X_1 = 1.0$, $X_2 = 2.0$, $X_3 = 0$, $X_4 = 0.1$, 在此组合基础上求得最优解: $Y = 95.0$, 此解为回归方程的解析解, 按公式 $Y = \bar{y} \pm u_{\alpha} \cdot s$ (其中 u_{α} 为正发布的双侧分位数, s 为剩余标准差) 计算出优化值区间估计为 $Y = 95.0 (\pm 6.05)$, 即 88.95% ~ 101.05%。用实验得到的优化值 6-BA 1.0 mg/L +

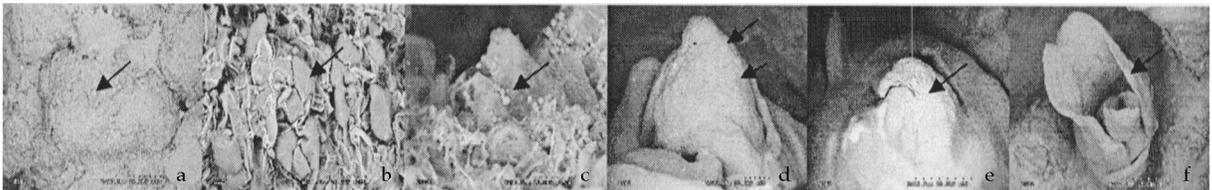
IAA 2.0 mg/L + 2, 4-D 0.1 mg/L 进行验证试验, 幼茎尖接种到诱导培养基 15 d 后逐渐增粗, 继续培养至 30 d 由白色转为绿色, 45 d 后完全形成愈伤组织, 表面光滑致密呈鲜绿色 (图 1-a), 培养至 60 d 时部分愈伤组织表面逐渐形成颗粒状的小突起, 愈伤组织转为黄绿色 (图 1-b)。通过扫描电镜 (SEM) 观察确定: 表面光滑致密呈绿色的愈伤组织是含有胚性细胞复合体的胚性愈伤组织 (图 2-a, b), 小突起是体胚发育的前期即球形胚 (图 2-c)。统计诱导率达 98% 以上, 在估计区间范围内, 且比所有实验 Y 值都大, 说明实验结果是正确的。因此, 手参幼茎尖诱导含胚性细胞复合体的胚性愈伤组织最佳培养基为: CM + 6-BA 1.0 mg/L + IAA 2.0 mg/L + 2, 4-D 0.1 mg/L。



a- 胚性愈伤组织 b- 含有球形胚的胚性细胞复合体 c, d- 体细胞胚萌发 e- 体细胞胚萌发后发育为完整植株
a-embryonic callus b-embryonic cell complex with globular embryo c, d- somatic cell embryo germination
e- somatic embryos developing a complete plant after germination

图 1 手参胚性愈伤组织及体细胞胚诱导发生发育各阶段的形态结构

Fig 1 Morphostructure of embryonic callus and inducing developing somatic embryogenesis in various stages of *G. conopsea*



a- 含胚性细胞复合体的胚性愈伤组织 b- 胚性细胞复合体 c- 含球形胚的胚性细胞复合体 d- 盾形胚 e- 子叶胚 f- 再生植株
a-embryonic callus with embryonic cells complex b- embryonic cell complex c- embryonic cell complex with globular embryo
d- embryonic cell complex with scutellate embryo e- cotyledonary embryo f- regeneration plant

图 2 手参体细胞胚诱导及发育各阶段组织结构扫描电镜观察

Fig 2 SEM Observation of induction and development of *G. conopsea* somatic embryo in different stages

2.2 不同激素配比对体细胞胚发育及植株再生的影响: 以 CM 为基本培养基, 附加不同质量浓度的 6-BA、NAA、IAA (由预实验可知: 质量浓度范围均控制在 0.1~1.0 mg/L), 为了提高手参体胚的发育及萌发速度和萌发率, 采用均匀设计法, 每个处理数为 30。选用 $U_{10}(10^8)$ 均匀表 (表 3), 同时考察了细胞分裂 6-BA 和生长素 IAA、NAA 的质量浓度交叉配比对萌发率的影响, 结果见表 4。

将所得数据经均匀设计软件处理得回归方程: $Y = 62.4 + 39.9 X_1 - 14.1 X_2 - 2.02 X_3$, 样本容量

$N = 10$, 显著性水平 $\alpha = 0.01$, $R = 0.9987$, 检验值 $F_t = 778.7$, 临界值 $F_{0.01}(3, 6) = 9.780$, $F_t > F_{0.01}(3, 6)$, 回归方程显著。对各方程项进行显著性检验可知: 检验值 $F_{(3)} = 4.250$, 临界值 $F_{0.01}(1, 6) = 13.75$, $F_{(3)} \leq F_{0.01}(1, 6)$, 此方程项不显著, 需要剔除。剔除不显著方程项, 新建回归方程继续计算: 得回归方程 $Y = 61.1 + 40.2 X_1 - 14.0 X_2$, 复相关系数 $R = 0.9978$, 检验值 $F_t = 796.2$, 临界值 $F_{0.01}(2, 7) = 9.547$, $F_t > F_{0.01}(2, 7)$, 回归方程显著。同理, 对各方程项进行显著性检验可知: 各方程项均显著。

表 3 $U_{10}(10^3)$ 设计因素及水平

Table 3 Factors and levels of $U_{10}(10^3)$ design

水 平	因 素/(mg · L ⁻¹)		
	X_1	X_2	X_3
1	0.10	0.10	0.10
2	0.20	0.20	0.20
3	0.30	0.30	0.30
4	0.40	0.40	0.40
5	0.50	0.50	0.50
6	0.60	0.60	0.60
7	0.70	0.70	0.70
8	0.80	0.80	0.80
9	0.90	0.90	0.90
10	1.00	1.00	1.00

X_1 -6-BA 浓度 X_2 -IAA 浓度 X_3 -NAA 浓度, 表 4 同

X_1 -6-BA concentration X_2 -IAA concentration X_3 -NAA concentration Table 4 is same

表 4 $U_{10}(10^3)$ 均匀设计试验安排及结果

Table 4 $U_{10}(10^3)$ Uniform design and result

处理号	因 素/(mg · L ⁻¹)			Y(诱导率)
	X_1	X_2	X_3	/%
1	0.10	0.50	0.70	57.50
2	0.20	1.00	0.30	55.00
3	0.30	0.40	1.00	67.00
4	0.40	0.90	0.60	64.50
5	0.50	0.30	0.20	78.00
6	0.60	0.80	0.90	74.00
7	0.70	0.20	0.50	87.50
8	0.80	0.70	0.10	85.00
9	0.90	0.10	0.80	95.00
10	1.00	0.60	0.40	91.50

根据回归方程求出 Y 的最优组合为: $X_1=1.00$, $X_2=0.1$, 在此组合基础上求得最优解: $Y=99.9$, 按公式 $Y=y \pm u_{\alpha} \cdot s$ 计算出优化值区间估计为 $Y=99.9 (\pm 3.73)$, 即 96.17~103.63。用实验得到的优化值 6-BA 1.00 mg/L+ IAA 0.10 mg/L 进行验证试验。将含有胚性细胞复合体的胚性愈伤组织切割成适当的小块转接到附加 6-BA 1.00 mg/L 和 IAA 0.10 mg/L 的 CM 培养基上进行体胚发育及萌发培养, 胚性细胞复合体在此组合的培养基上培养 20 d 后开始呈现出明显的发育状态, 由淡黄色逐渐转为浅绿色, 继而转为鲜绿色, 继续培养至 35 d 后, 有绿色圆锥体出现(图 1-c)。通过电镜观察确定: 绿色圆锥体是胚性细胞复合体表现球形胚发育产生的盾形胚(图 2-d)和早期子叶胚(图 2-e), 说明体胚开始转向植株萌发阶段。统计萌发率为 100%, 在估计区间范围内, 且比所有实验 Y 值都大, 说明实验结果是正确的。因此, 手参体细胞胚发育及萌发的最佳培养基为: CM+ 6-BA 1.00 mg/L+ IAA 0.10 mg/L。

植株再生可将胚性愈伤组织表面产生的鱼雷状

的小芽锥剥离下来, 再转接到培养基: CM+ 6-BA 1.00 mg/L+ IAA 0.10 mg/L 中继续培养 35 d 由鱼雷状变成小植株(图 1-d), 50 d 后小植株全部发育成完整的大植株(图 1-e)。同时通过电镜观察证实了鱼雷状的小芽锥为子叶胚(图 2-f)。

2.3 炼苗和移栽: 待苗根长至 4.0 cm 时, 从培养瓶中取出试管苗, 在含有 10 mg/L 高锰酸钾溶液中洗去苗上残留的琼脂, 然后植入经 50 倍杀毒矾消毒过的腐烂松针与泥炭土按 3:1 混合的基质中, 用薄膜覆盖以保湿保温, 湿度保持在 80%, 温度控制在 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, 每天自然光照 10 h, 3 d 后通风换气, 7 d 后揭膜, 每天早晚喷洒清水各 1 次, 成活率达 98% 以上。

2.4 扫描电镜观察: 由扫描电镜下可以观察到含胚性细胞复合体的胚性愈伤组织表面致密(图 2-a), 而胚性细胞复合体形成后呈颗粒状半埋于愈伤组织中(图 2-a, b), 其表面光滑(图 2-b, c)。胚性细胞复合体中的单一细胞继续发育形成球状突起并浮在胚性细胞复合体表面, 这些突起是体细胞胚发育过程形成的球形胚(图 2-c), 随着培养时间的延长, 体细胞胚会经过球形胚(图 2-c)、盾形胚(图 2-d)、子叶胚(图 2-e, f)等发育阶段, 最终萌发成完整植株, 且每个体细胞胚最终都能独立发育成完整的植株。

3 讨论

植物离体培养的外部条件影响着体胚的发生和发育。本实验对影响体胚发生过程的植物生长调节剂因素进行了研究。关于体胚诱导的外植体因素, 在其他植物上已有较多研究, 大多数植物只有处于一定发育阶段的某些器官的外植体才易于诱导形成胚性细胞复合体^[14]。本研究结果表明, 手参茎尖较适宜胚性愈伤组织及胚性细胞复合体诱导。体胚发生不同阶段所需植物生长调节剂种类和浓度存在差异, 较高质量浓度的 IAA、较低质量浓度的 2,4-D 和一定质量浓度的 6-BA 在手参胚性愈伤组织诱导阶段是必需的, 但添加过高质量浓度的 2,4-D 会导致外植体迅速黄化导致细胞死亡, 不能形成胚性愈伤组织。原因可能是高浓度 2,4-D 会诱导外植体生成乙烯等气体, 加速外植体的衰老。添加 6-BA 有利于外植体保持较高的活性, 不添加 6-BA, 外植体会逐渐黄化而失去脱分化能力。植物生长调节剂还影响体胚的发育进程, 体胚发育培养基中添加适当质量浓度的 6-BA, 一方面消除胚性愈伤组织中 2,4-D 的影响, 另一方面保持胚性愈伤组织的活性, 促使体胚进一步发育^[15]。体胚发生过程的扫描电镜观

察表明,手参体细胞胚胎发生过程具有和合子胚发生相似的阶段,胚性愈伤组织及胚性细胞复合体形成后,继续发育经历球形胚、盾形胚、子叶胚等发育阶段。研究中发现球形胚形成后与其周围组织之间产生了结构上的隔离,这正是体细胞胚胎发生的先决条件。球形胚形成后,两极同时发育,呈现明显的两极性;且每个体细胞胚最终都能萌发成完整的植株,具有相对的独立性。这两个特征是区分器官发生和体胚发生的标志。手参体胚发生的形态学和超微结构观察表明,本研究初步建立了相对稳定的手参体细胞胚胎发生体系,为进一步完善体胚发生调控体系和阐明体胚发生发育机制提供了基础。

参考文献:

- [1] 周 翊, 长白山区野生珍稀濒危药用植物资源评价体系的初步研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 599-605
- [2] 杨 帆, 刘岱琳, 邱 峰, 等. 手掌参块茎中水溶性化学成分的研究[J]. 食品研究与开发, 2009, 30(7): 125-128
- [3] 李 帅, 王 栋, 匡海学, 等. 手掌参的化学成分研究[J]. 中草药, 2001, 32(1): 18-19
- [4] 李 敏, 王春兰, 郭顺星, 等. 手参属植物化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2006, 37(8): 1264-1368
- [5] 周 翊, 于俊林, 张本刚, 等. 长白山区药用植物资源及其

- 多样性研究[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(3): 52-59
- [6] Kuehnle A R, Sugii N. Callus induction and plantlet regeneration in tissue cultures of *Hawaiian anthuriums* [J]. *Hort Sci*, 1991, 26(7): 919-921.
- [7] 岑益群, 蒋如敏, 邓志龙, 等. 安祖花离体增殖的形态发生与理化因子效应[J]. 园艺学报, 1993, 20(2): 187-192.
- [8] Adelheid R, Kuehnle, Chen F C, et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Anthurium andraeanum* [J]. *Plant Cell Reports*, 1992, 11(9): 438-442
- [9] 邢朝斌, 苏凤云, 田春迎, 等. 刺五加叶柄的体细胞胚胎发生研究[J]. 中草药, 2009, 40(8): 1302-1305
- [10] Al-Ramamneh E, Sriskanadarajah S, Serek M. Plant regeneration via somatic embryogenesis in *Schlumbergera truncate* [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2006, 84: 333-342
- [11] 王 义, 赵文君, 孙春玉, 等. 人参体细胞胚胎发生过程中内源激素变化和基因表达研究[J]. 中草药, 2008, 39(7): 1084-1089
- [12] Bhojwani S S, Soh W. Y. *Current Trends In the Embryology of Angiosperms* [M]. Dordrecht: Kluwer, 2001, 279-336
- [13] 方开泰. 均匀设计—数论方法在试验设计的应用[J]. 应用数学学报, 1980, 3(4): 363-372
- [14] 王清连, 王 敏, 师海荣. 植物生长调节剂对棉花体细胞胚胎发生的诱导及调节作用[J]. 生物技术通讯, 2004, 15(6): 577-579
- [15] 袁 澍, 贾勇炯, 林宏辉. 诱导植物体细胞胚发生的几个生理因素[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(5): 508-512

三七不同变异类型中皂苷的差异研究

孙玉琴¹, 陈中坚^{1,2}, 黄天卫¹, 崔秀明¹, 王朝梁¹

(1 文山三七研究院栽培研究所 云南三七农业工程实验室, 云南 文山 663000;

2 文山苗乡三七实业有限公司, 云南 文山 663000)

摘要:目的 三七的根部颜色、茎杆颜色、复叶柄弯曲程度、复叶数、根形、叶形、茎数存在不同的变异类型, 分析它们对皂苷量的影响, 为三七育种确定选育目标。方法 在云南文山的 6 个三七产区采样 289 份, 逐一标记植株变异类型, 用 HPLC 法测定人参皂苷 R_{g1}、R_{b1} 和三七皂苷 R₁ 共 3 个单体皂苷, 在同一立地条件、同一栽培措施的基础上, 对比分析 7 种不同变异类型对三七皂苷量的影响。结果 紫根、复叶柄平展型、长形根、宽叶等 4 种变异类型三七的皂苷量高, 双茎三七的皂苷量低于单茎三七, 三七的茎杆颜色及复叶数的多少对皂苷积累无规律性。结论 紫根三七、复叶柄平展型三七、长形根三七、宽叶三七 4 种变异类型三七可以作为优质三七品种选育的目标。

关键词: 三七; 变异类型; 皂苷; 育种目标

中图分类号: R284.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)06-0993-05

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 是五加科人参属植物, 为多年生植物, 是我国特有的名贵中药材, 主产于云南文山。现代药理研究证实, 三七皂苷(*Panax notoginseng* saponins, PNS) 对多

种动物脑缺血及再灌注损伤有良好保护作用, 同时三七皂苷还具有降低血黏度、抑制血小板聚集、扩张血管、降血脂等作用^[1], 目前对三七研究有不少报道^[2,3]。三七人工种植已经有 400 余年的历史, 目前

¹ 收稿日期: 2009-09-15

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2006BA106A12-14); 云南省人才引计划(2006PY02-33); 云南省重点产业创新工程(2008IF006)

作者简介: 孙玉琴(1975-), 女, 吉林临江人, 助理研究员, 硕士, 从事三七栽培和育种研究。Tel: (0876) 8881540

* 通讯作者 陈中坚 Tel: (0876) 8881230 E-mail: 08765173@163.com