

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 繇. 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 繇, 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, Srisakandaram 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

已经有 $8 \times 10^3 \text{ hm}^2$ 的种植规模,但还是一个混杂群体,至今没有可以在生产上推广应用的选育品种。新品种的选育是当前三七种植最迫切需要解决的课题。三七存在着丰富的不同变异类型,前期工作中对不同变异进行了分类和整理^[4],最早注意到了紫根三七的总皂苷量较高,开展了绿茎三七和紫茎三七的田间对比试验^[5],还采用相关分析和通径分析的方法,以产量为指标,对三七的株高、茎粗、叶长、叶宽、叶面积等几个农艺性状进行比较,发现叶宽和叶长 2 个性状显著影响三七的产量,可以作为高产的育种目标^[6]。三七的应用主要是提取皂苷,育种中应提倡高产量育种,在三七诸多的自然变异类型中,筛选皂苷量高的变异,按育种程序进行选择 and 纯化,是三七育种的重要基础。

1 材料和方法

1.1 样品来源: 分别在云南省文山县、马关县的 6 个不同三七种植地块,于 10 月中旬,采集三年生三七样品。按照块根颜色(紫根/绿根)、茎杆颜色(紫杆/绿杆/过渡型)、叶柄弯曲程度(直立型/平展型)、复叶数(3/4/5/6)、根的形状(长/圆)、小叶形状(狭长/普通/宽叶)、茎数(1/2/3)等共 7 个变异类型进行分类采样,累计采集样品 289 份。并对每一株三七样品编号、清洗和标记。采取以地块为单位取样,保证在同一立地条件、同一种植户、同一栽培措施的基础上进行比较,尽量排除环境和种植水平差异的干扰。

1.2 皂苷测定: 采用 HPLC 测定方法^[7],测定部位为三七主根。仪器: 日本岛津液相色谱仪,试剂: CH_3OH (色谱纯)、 CH_3CN (色谱纯)均购自 Sigma 公司,对照品(人参皂苷 Rg_1 、 Rb_1 、三七皂苷 R_1)均购自中国药品生物制品检定所。

1.3 数据统计: 采用 DPS 统计软件处理^[8]。

2 结果与分析

2.1 三七块根颜色变异类型的皂苷差异: 三七的块根颜色按断面分为紫根三七和绿根三七两类,其中绿根三七常见,紫根三七少见,其自然存在的比例仅为 5% 左右^[5]。这组变异性状对三七皂苷的影响见表 1。6 个产地紫根和绿根的单体皂苷量之和平均值分别为 6.13%、5.70%。不同产地间比较看,除乐诗冲点以外,均是紫根三七量高,紫根三七的特点是人参皂苷 Rg_1 量高于普通的绿根三七,最多的增幅 25.53%,人参皂苷 Rg_1 的 t 值检验表明: $t = 2.6312, P = 0.0581$, 接近显著差异。三七特有的三七皂苷 R_1 中,紫根三七普遍低于普通绿根三七。

表 1 块根颜色对三七皂苷量的影响

Table 1 Effect of different root color on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	$\text{R}_1 + \text{Rg}_1 +$	样品数
	性状	$\text{R}_1 / \%$	$\text{Rg}_1 / \%$	$\text{Rb}_1 / \%$	$\text{Rb}_1 / \%$	
下寨	紫根	0.50	2.77	1.68	4.95	6
	绿根	0.60	2.76	1.42	4.79	33
乐诗冲	紫根	0.46	3.45	1.83	5.74	7
	绿根	0.93	2.82	2.05	5.81	20
沙尾冲	紫根	0.81	4.20	2.03	7.03	5
	绿根	0.67	3.41	1.98	6.06	30
阿黑	紫根	0.81	3.52	2.00	6.33	7
	绿根	0.54	3.13	1.65	5.33	23
八寨	紫根	—	—	—	—	11
	绿根	0.56	2.13	1.47	4.17	36
大栗树	紫根	0.79	3.54	2.24	6.58	18
	绿根	0.94	3.42	2.18	6.54	27

“—”为样品遗失,无试验数据

“—” represents missing samples and no tested data

2.2 三七茎杆颜色变异类型的皂苷量差异: 三七茎杆颜色是三七所有变异类型中最显著的,有紫茎、绿茎和过渡型茎 3 种,均广泛地存在于三七的群体中,它们对三七皂苷量的影响见表 2。从检测数据来看,三七的茎杆颜色对皂苷量的影响没有规律性,田间环境对三七茎杆的颜色有一定影响,随着种植海拔的增加及荫棚透光率的增加,紫杆三七的比例有增加的趋势,在同一个地块,畦边缘的紫杆三七比例多,中部绿杆三七的比例多。实验室检测出三七茎杆颜色对皂苷量没有规律性。

表 2 茎杆颜色对三七皂苷量的影响

Table 2 Effect of different stem color on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	$\text{R}_1 + \text{Rg}_1 +$	样品数
	性状	$\text{R}_1 / \%$	$\text{Rg}_1 / \%$	$\text{Rb}_1 / \%$	$\text{Rb}_1 / \%$	
下寨	绿茎	0.60	2.69	1.67	4.86	18
	过渡色茎	0.58	2.72	1.35	4.66	11
	紫茎	0.58	2.88	1.40	4.85	10
乐诗冲	绿茎	0.71	3.15	1.98	5.84	9
	过渡色茎	0.30	3.35	1.69	5.34	2
	紫茎	0.88	2.92	2.09	5.89	14
沙尾冲	绿茎	0.65	3.44	1.67	5.75	14
	过渡色茎	0.64	2.81	2.02	5.48	9
	紫茎	0.52	3.52	1.83	5.88	7
阿黑	绿茎	0.58	2.78	1.31	4.68	19
	过渡色茎	0.36	2.12	0.96	3.44	3
	紫茎	0.44	2.99	1.70	5.13	10
八寨	绿茎	0.55	1.80	1.32	3.68	13
	过渡色茎	0.59	1.95	1.90	4.45	5
	紫茎	0.63	2.31	1.65	4.58	38
大栗树	绿茎	0.88	3.42	2.20	6.50	21
	过渡色茎	0.77	3.56	1.99	6.32	16
	紫茎	0.59	3.74	1.86	6.19	5

2.3 三七复叶柄弯曲变异类型的皂苷量差异: 复叶柄根据与茎杆的夹角,可以分为平展型和直立型两类,在栽培中,一般认为复叶柄的弯曲对光能的利用

率有差异。复叶柄弯曲程度对皂苷量的影响见表 3。平展型和直立型 6 个产地的单体皂苷量之和平均值分别为 5.55%、5.01%。不同产地间比较看,除八寨点外,平展型的单体皂苷量之和普遍高于直立型, t 值检验表明: $t = 2.9116, P = 0.0436 < 0.05$, 显著差异。

2.4 三七根形变异类型的皂苷量差异: 根形是三七传统质量评价的主要指标之一, 传统认为, 三七主根以类圆锥形为好, 俗称“团七”或“疙瘩七”, 商品价格比类圆柱形“长七”或“萝卜七”高。样品收集中, 文山乐诗冲、马关沙尾冲两块地块的长形根形的三七只有一个样品, 缺乏统计学意义。圆根形状和长根形状 4 个产地的单体皂苷量之和平均值分别为 5.02%、5.45%。不同地块均表现出长根三七单体皂苷量之和高于圆根三七的趋势, 见表 4。 $t =$

2.4688, $P = 0.0902$ 。

表 3 复叶柄弯曲类型对三七皂苷量的影响
Table 3 Effect of different bending degrees of compound petioles on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	$R_1 + R_{g1} +$	样品数
	性状	$R_1 / \%$	$R_{g1} / \%$	$R_{b1} / \%$	$R_{b1} / \%$	
下寨	直立	0.52	2.70	1.46	4.67	18
	平展	0.58	2.81	1.45	4.85	20
乐诗冲	直立	0.56	2.47	2.04	5.07	4
	平展	0.71	2.86	2.03	5.61	22
沙尾冲	直立	0.54	3.25	1.77	5.56	26
	平展	0.99	3.07	2.16	6.23	4
阿黑	直立	0.57	3.06	1.24	4.87	14
	平展	0.58	3.40	1.95	5.93	16
八寨	直立	0.56	2.19	1.68	4.43	8
	平展	0.48	1.69	1.07	3.25	45
大栗树	直立	0.69	2.95	1.83	5.48	11
	平展	1.21	3.92	2.29	7.43	35

表 4 根形对三七皂苷量的影响

Table 4 Effect of different shapes of root on PNS content

地点	变异性状	三七皂苷 $R_1 / \%$	人参皂苷 $R_{g1} / \%$	人参皂苷 $R_{b1} / \%$	$R_1 + R_{g1} + R_{b1} / \%$	样品数(n)
下寨	圆根形状(疙瘩七)	0.59	3.01	1.48	5.07	32
	长根形状(萝卜七)	0.86	3.13	1.71	5.71	6
阿黑	圆根形状	0.55	2.53	1.49	4.57	28
	长根形状	0.54	3.31	1.50	5.35	13
八寨	圆根形状	0.61	2.15	1.56	4.32	45
	长根形状	0.63	2.04	1.58	4.25	10
大栗树	圆根形状	1.01	2.50	2.59	6.10	36
	长根形状	0.99	3.22	2.38	6.59	9

2.5 三七复叶数变异类型的皂苷差异: 三年生三七的掌状复叶数一般为 4 片或 5 片, 在三七变异类型对产量的研究中发现, 叶面积对三七产量有重要影响^[6], 设想通过多复叶、多茎为育种目标, 增加叶面积, 提高产量, 但从质量分数比较看, 不论是各单体皂苷还是总和, 没有规律性。见表 5。

2.6 三七多茎变异类型的皂苷差异: 三七正常情况为单茎, 在样品采集过程中, 采集了部分 3 茎、4 茎三七, 但由于样品量太少, 不足构成统计学意义。单茎和双茎 6 个产地的单体皂苷量之和平均值分别为 5.81%、5.27%。从单茎和双茎的产地间比较看, 除马关县下寨外, 双茎三七的皂苷量不如单茎三七, 人参皂苷 R_{g1} 和 R_{b1} 的表现与单体皂苷总和表现一致。见表 6。 t 值检验表明: $t = 2.8315, P = 0.0366 < 0.05$, 呈显著差异。

2.7 三七叶形变异类型的皂苷差异: 三年生三七的小叶为长圆状倒卵形, 每个复叶一般 5~7 枚, 以掌状复叶的中叶为对照。根据其小叶长和宽比值(i)的不同, 小叶的变异可以分为狭长型($i \geq 3.5$)、普通

表 5 不同复叶数对三七皂苷量的影响

Table 5 Effect of different compound leaf numbers on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	$R_1 + R_{g1} +$	样品数
	性状	$R_1 / \%$	$R_{g1} / \%$	$R_{b1} / \%$	$R_{b1} / \%$	
下寨	复叶数 3	0.54	2.85	1.23	4.62	3
	复叶数 4	0.64	2.93	1.53	5.10	33
	复叶数 5	0.50	2.76	1.77	5.03	4
乐诗冲	复叶数 3	0.67	2.83	2.09	5.59	5
	复叶数 4	0.71	2.99	1.99	5.69	15
	复叶数 5	0.63	3.32	2.08	6.03	3
沙尾冲	复叶数 3	0.74	2.90	1.69	5.33	5
	复叶数 4	0.59	3.61	1.90	6.10	18
	复叶数 5	0.88	3.18	2.28	6.34	7
阿黑	复叶数 3	0.53	3.24	1.54	5.31	3
	复叶数 4	0.59	3.06	1.72	5.37	21
	复叶数 5	0.50	3.38	1.68	5.56	4
八寨	复叶数 3	0.55	2.41	1.64	4.60	14
	复叶数 4	0.62	2.27	1.60	4.49	33
	复叶数 5	0.73	1.97	1.35	4.05	9
大栗树	复叶数 3	1.00	3.11	2.10	6.21	11
	复叶数 4	1.09	3.35	2.05	6.48	29
	复叶数 5	0.70	3.72	2.63	7.04	10

表 6 多茎对三七皂苷量的影响

Table 6 Effect of multi stem on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	R ₁ + R _{g1} +	样品数
	性状	R ₁ / %	R _{g1} / %	R _{b1} / %	R _{b1} / %	
下寨	单茎	0.57	2.94	1.58	5.08	27
	双茎	0.57	2.99	1.63	5.19	12
乐诗冲	单茎	0.78	2.99	2.01	5.78	24
	双茎	0.52	3.14	1.84	5.50	4
沙尾冲	单茎	0.66	3.89	2.11	6.65	22
	双茎	0.74	3.04	1.77	5.56	8
阿黑	单茎	0.56	3.52	1.77	5.85	20
	双茎	0.68	2.75	1.39	4.83	8
八寨	单茎	0.61	2.10	1.53	4.23	20
	双茎	0.53	1.88	1.50	3.91	10
大栗树	三茎	0.47	2.07	1.41	3.95	4
	单茎	0.79	3.56	2.94	7.28	21
	双茎	1.00	3.33	2.32	6.66	11

型($i=2\sim3\sim5$)和宽叶型($i\leq2\sim3$),共3种。在不同农艺性状对三七产量的相关和通径分析中,已经明确了宽叶性状对产量有重要影响^[6]。因此,叶形是三七品种选育考察的一个主要性状,该性状对皂苷的影响见表7。乐诗冲和八寨两个点的宽叶三七只有1株样品,没有统计意义,从现有样品量分析,普通型、宽叶型、叶片狭长型6个产地的单体皂苷量之和平均值分别为5.35%、6.22%、5.62%。产地间以普通型为对照,宽叶型三七的单体皂苷量之和较高, $t=1.8325$, $P=0.1643$ 。叶片狭长型三七对皂苷量的影响次之, $t=1.1523$, $P=0.3013$,但没有达到显著差异。

表 7 叶形对三七皂苷量的影响

Table 7 Effect of different shapes of leaf on PNS content

地点	变异	三七皂苷	人参皂苷	人参皂苷	R ₁ + R _{g1} +	样品数
	性状	R ₁ / %	R _{g1} / %	R _{b1} / %	R _{b1} / %	
下寨	普通型	0.60	2.99	1.88	5.47	17
	狭长型	0.53	2.79	1.39	4.71	17
	宽叶型	0.59	3.23	1.53	5.35	4
乐诗冲	普通型	0.70	2.95	2.25	5.90	16
	狭长型	0.80	3.49	2.33	6.63	6
	宽叶型	—	—	—	—	1
沙尾冲	普通型	0.64	2.86	1.79	5.29	8
	狭长型	0.65	3.38	1.72	5.76	16
	宽叶型	0.54	3.53	1.92	5.99	6
阿黑	普通型	0.58	2.89	1.69	5.16	9
	狭长型	0.58	3.07	1.56	5.20	17
	宽叶型	0.58	3.75	1.37	5.70	4
八寨	普通型	0.65	1.85	1.69	4.20	26
	狭长型	0.54	2.38	1.57	4.50	29
	宽叶型	—	—	—	—	1
大栗树	普通型	0.66	3.38	2.02	6.05	25
	狭长型	0.88	3.74	2.32	6.94	18
	宽叶型	1.63	3.12	3.10	7.85	4

“—”由于样品数量太少,无统计意义,未检测样品

“—” represents no statistical significance and no tested data due to few number of samples

3 讨论

3.1 目前中药材以育种为目的对变异类型的研究还很少,丹参^[9]、甘草^[10]、杜仲^[11]等都是将各自自然存在的主要变异类型进行组合,划分为几类,以组合类型为对象进行研究。三七的变异类型广泛地分布在根、茎、叶、果等器官上,就现在的观察,除黄果性状与绿茎性状密切相关外,其他各种变异类型的性状都是各自存在,各变异类型的性状间还没有发现关联性,因此三七很难划分变异的组合类型,本研究以单一变异类型对三七皂苷量的影响,对育种研究初期锁定育种性状目标可能更具有实际的指导意义。

3.2 研究的7种变异类型都是在自然界广泛存在,不论地理位置、环境条件及生长年限如何,都普遍存在。继采用分光光度法最早注意到了紫根三七的总皂苷量较高后,赵昶灵等^[12]的研究也证实了三七块根的平均花色苷量和平均总皂苷量均以纯紫色块根的为最高。本研究中,双茎三七的皂苷量没有优势,三七的茎杆颜色及复叶数的多少对皂苷积累无规律性,紫根、复叶柄平展型、长形根、宽叶等4种变异类型的皂苷量较高,可以作为优质三七品种选育的品质选育目标。

3.3 结合前期研究中宽叶三七产量高的特点^[6]及作者对不同变异类型后代性状分离情况的观察,三七的育种工作应对紫根三七及宽叶三七给予重视,适宜采用系统选育的方法逐代提纯。

参考文献:

[1] 吴兰欧,詹合琴,闫俊岭,等.三七皂苷R_{g1}对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制探讨[J].中草药,2006,37(2):229-233

[2] 崔秀明,徐珞珊,王强,等.三七药材中几种单体皂苷的含量测定[J].中草药,2004,35(12):1408-1410

[3] 张文斌,冯光泉,曾鸿超,等.三七及栽培土壤中烯酰吗啉残留降解动态研究[J].中草药,2009,40(5):809-812

[4] 孙玉琴,陈中坚,李一果,等.三七的植株性状差异观察[J].现代中药研究与实践,2003(增):16-18

[5] 陈中坚,王勇,曾江,等.三七植株的性状差异及其对三七产量和质量影响的调查研究[J].中草药,2001,32(4):357-360

[6] 陈中坚,崔秀明,孙玉琴,等.三七主要农艺性状的相关和通径分析[J].中国中药杂志,2004,29(1):37

[7] 地理标志产品文山三七[S].GB/T 19086-2008 2008

[8] 唐启义,冯明光.实用统计分析及其DPS数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002

[9] 张红瑞,李志敏,高致明,等.裕丹参变异类型分析[J].河南农业大学学报,2007,41(4):421-425

[10] 杨全,王文全,魏胜利,等.不同变异类型甘草中甘草苷及甘草酸量比较研究[J].中草药,2007,38(7):1087-1090

[11] 杜红岩,谢碧霞,孙志强,等.不同变异类型杜仲皮含胶性状的变异规律[J].中南林学院学报,2004,24(2):10-14

[12] 赵昶灵,王颖,段承刚,等.三七块根紫色素的花色苷本质及其含量和总皂苷含量的正相关性(英文)[J].广西植物,2008,28(5):661-670