

多倍体何首乌产量和品质初步评价

汪珍春¹, 张晓燕¹, 赵 炜², 姚 焱¹, 张 平¹, 孙莉丽¹

(1. 广州大学 生命科学院, 植物抗逆基因功能研究广州市重点实验室, 广东 广州 510006; 2. 广州军区广州总医院, 广东 广州 510010)

摘 要:比较何首乌二倍体、三倍体及同源四倍体在块根产量和品质方面的差异, 为筛选优质高产多倍体新品种奠定基础。结果表明:何首乌多倍体表现为块根重显著提高, 营养优势明显优于二倍体;三倍体和同源四倍体单株块根有效成分二苯乙烯苷产量是二倍体的 2.99 倍和 1.69 倍。与四倍体相比,三倍体在块根产量及二苯乙烯苷产量方面更具优势,在药用植物何首乌优质高产育种中具有高的价值。

关键词:何首乌;三倍体;同源四倍体;产量;品质

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)09-0191-03

何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)为蓼科多年生落叶草本植物。主要以老藤和块根作为入药部位。其体内含有二苯乙烯苷类、蒽醌类、卵磷脂等多种有效成分^[1],具有补肝肾、益精血、乌须黑发、养心安神等功效,是我国重要的中药。历史上,广东德庆何首乌素有岭南道地药材之称;但发展至今,原道地产区及引种地

的何首乌均面临着种质退化、品质变异、病虫害危害等问题,培育高产优质的新品种是解决问题的关键^[2]。利用多倍体优势培育优良品种是目前药用植物常用的方法^[3-4]。在何首乌多倍体育种中,张夏楠等^[5]利用贵州种源诱导产生了何首乌同源四倍体新品种,其产量和品质^[6]有所提高。该试验前期以广东德庆何首乌为亲本,通过染色体加倍技术获得德庆何首乌同源四倍体;同时在种质中筛选出 1 份何首乌三倍体(2n=3x)。何首乌三倍体和四倍体在产量和品质方面是否存在差异,尚无相关报道。现比较何首乌二倍体、同源四倍体和三倍体在产量和品质方面的差异,为筛选品质优、产量高的何首乌多倍体新品种提供重要依据。

第一作者简介:汪珍春(1966-),女,本科,副教授,研究方向为遗传学。E-mail:WZC_laoshi@yahoo.com.cn。

责任作者:姚焱(1972-),女,博士,副教授,研究方向为植物遗传育种。E-mail:yaoyannn@163.com。

基金项目:广州市属高校科研资助项目(10A046);广东省大学生创新实验资助项目(1107810026)。

收稿日期:2012-03-09

参考文献

- [1] 李曙明,黄江经,吴炳健. 茯苓复式栽培技术[J]. 林业实用技术, 2007(8):34-35.
[2] 李剑,王克勤,苏玮,等. 茯苓棚室代料栽培技术研究初报[J]. 食用菌

学报, 2008, 15(4):40-43.

- [3] 刘振武,游平,郑威,等. 2 种长度料筒旱田栽培茯苓的比较试验[J]. 长江大学学报(自科版), 2006, 3(1):129-130, 134.

Raw Material Cultivation of *Wolfiporia cocos* with Three Pine Trees Waste

HE Su-ming¹, ZHANG Chuan-Li¹, Liu-Bao²

(1. Yunnan Vocational College of Tropical Crops, Pu'er, Yunnan 665000; 2 Pu'er Songmao Pharmaceutica Company, Pu'er, Yunnan 665000)

Abstract: With three pine trees waste (pine sawdust, pine edge, pine needle) for cultivation materials, the bacteria lead method, and the greenhouse and open-air cultivation experiment of *Wolfiporia cocos* were tested. The results showed that this scattered sawdust, pine edge, sawdust suppress No. 2 as the raw material of cultivation of biology efficiency and scattered wood sawing cultivation, pine edge was superior to that of the control cultivation its survival rate pine wood logs cultivation, and greenhouse wood sawing cultivation average scattered biological learn efficiency of 27.95%, the cultivation result also higher than those of control pine wood logs *Wolfiporia cocos* cultivation.

Key words: wolfiporia cocos; three pine trees waste; cultivation

1 材料与方法

1.1 试验材料

采集栽培条件和生长年限(1 a 生)相同的何首乌二倍体、三倍体和四倍体块根。清洗块根后进行检测。其中同源四倍体创建参照张夏楠等^[5]、姚焱等^[7]方法。仪器及试剂: Waters515 高效液相色谱系统(1525 Binary HPLC Pump、717 Plus Auto Sampler、2487 Dual Absorbance Detector、Breeze 工作站)。精密电子天平(Sartorius BS 300S)。色谱纯乙腈购自 Merck 公司; 0.45 μm 微孔滤膜, 为 Gelman Laboratory 产品; 2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷(批号: 110844-200606), 购自广东省药品生物制品检定所。

1.2 试验方法

二苯乙烯苷含量测定(参考焦旭雯等^[8]方法)。

1.2.1 对照品、供试品溶液制备 精密称量二苯乙烯苷标准品 6.100 mg, 溶于 25 mL 50% 乙醇溶液, 定容, 对照品浓度为 0.244 mg/mL。取 3 个株系何首乌块根, 切碎, 液氮碾磨。55℃ 干燥 30 h。过 80 目筛, 收集粉末, 精密称量, 溶于 25 mL 50% 乙醇溶液, 定容。封口膜密封, 冷浸 12 h。离心后上清过 0.45 μm 纤维素过滤膜。

1.2.2 色谱条件 Dikma C18ODS 色谱柱(4.6 mm \times 250 mm, 5 μm); 流动相为乙腈: 水(25 : 75); 柱温: 27℃; 流速: 1.0 mL/min; 进样量: 10 μL ; 紫外检测波长: 320 nm; 进样时间: 10 min。

1.2.3 线性关系考察 浓度为 0.244 mg/mL 的标准品母液, 分别取 1 000、750、500、250、100、50、25、10、5、1 μL 用 50% 乙醇定容至 1 mL。浓度分别为: 244、183、122、61、24.4、12.2、6.1、2.44、1.22、0.244 $\mu\text{g/mL}$ 。按上述条件检测。以峰面积积分值为纵坐标(Y), 对照品进样浓度($\mu\text{g/mL}$) 为横坐标(X), 进行线性回归处理, 得回归方程为 $Y=41.233X+1.6644$, $R^2=1$ 。结果表明: 二苯乙烯苷浓度在 0.244~244 $\mu\text{g/mL}$ 范围内线性关系良好。

1.2.4 精密度试验 取 0.244 mg/mL 对照品溶液重复进样 6 次, $\text{RSD}=0.2\%$ 。表明该方法精密度良好。

1.2.5 稳定性试验 取对照品溶液和供试品溶液分别在 0、0.5、1、2、4、6 h 按上述方法测定。RSD 分别为 0.2% ($n=6$) 和 0.5% ($n=6$)。说明样品在 6 h 内稳定性良好。

1.2.6 重复性试验 取 0.244 mg/mL 对照品溶液和供试品溶液各进样 5 针, 按上述方法检测。RSD=0.4% ($n=10$)。说明本方法重复性良好。

1.2.7 供试品测定结果 冷浸 12 h 供试品溶液按上述方法, 每样平行进样 3 次, 取平均值, 为各株系块根二苯乙烯苷含量(%干重)。

2 结果与分析

2.1 何首乌块根重量及二苯乙烯苷含量测定

由表 1 可知, 在二倍体、三倍体和四倍体中, 三倍体

的块根产量最高, 其次是四倍体, 二倍体产量最低。表明多倍体在营养生长方面显著优于二倍体; 在块根有效成分含量上, 二倍体块根中的二苯乙烯苷浓度高于三倍体和四倍体; 但由于多倍体块根重量增加明显, 三倍体和四倍体单株块根二苯乙烯苷产量仍然是二倍体块根的 2.99 倍和 1.69 倍。

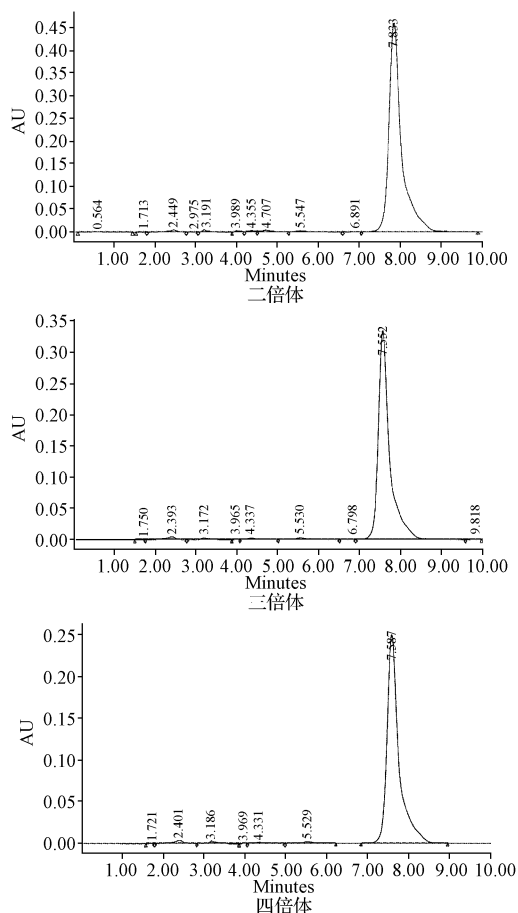


图 1 何首乌二倍体、三倍体和四倍体块根二苯乙烯苷含量高效液相色谱图

Fig. 1 HPLC chromatograms of different ploidy roots of *Polygonum multiflorum* Thunb.

表 1 3 个不同倍性何首乌块根二苯乙烯苷含量及单株二苯乙烯苷产量

Table 1 Stilbene glucoside contents and stilbene glucoside yield per plant of three strains roots

样品 Sample	块根平均重 Average weight /g · 株 ⁻¹	二苯乙烯苷浓度 Stilbene glucoside content/%干重	块根二苯乙烯苷产量 Stilbene glucoside yield per plant/g · 株 ⁻¹
二倍体(2n=2x)	13.7c ± 2.57	2.95	0.404
三倍体(2n=3x)	81.9a ± 3.98	1.48	1.212
四倍体(2n=4x)	36.8b ± 3.45	1.86	0.684

3 讨论与结论

何首乌块根主要含有二苯乙烯苷类、蒽醌类和卵磷脂等有效成分。相关研究^[8-10]对多种产地何首乌鲜品及其炮制品成分测定后发现, 不同产地何首乌中蒽醌类成

分与二苯乙烯苷含量高低有一定相关性:蒽醌类含量高的样品,其二苯乙烯苷含量也相对较高,反之也相同。通过对何首乌组织学切片研究表明^[11],蒽醌类主要分布于块根、块茎的韧皮部,二苯乙烯苷成分主要分布周皮、韧皮部和木质部的薄壁细胞中,2种成分含量似与韧皮部发达程度呈正相关。何首乌多倍体中蒽醌含量与二苯乙烯苷类含量是否也遵循一定规律,有待进一步检测,这也利于正确合理评价何首乌多倍体的品质。

李晓瑜等^[6]测定了栽培3a的何首乌同源四倍体块根重及有效成分,四倍体块根比二倍体明显增大,二苯乙烯苷含量比二倍体高79.2%,单株二苯乙烯苷生产量高50%^[6]。表明同源四倍体在优良品种推广应用上具有优势。该试验中何首乌多倍体营养优势明显优于二倍体,块根重显著高于二倍体;但在单株二苯乙烯苷含量方面,多倍体均低于二倍体,此结果与丹参多倍体株系根部丹参酮含量大多低于二倍体相似^[12]。这可能与多倍体根系生长速度较快,不利于代谢物质的积累有关。如生长1a的防风多倍体有效成分含量低于二倍体,生长2a时,有效成分含量才高于二倍体^[13]。因此为了提高何首乌多倍体块根中有效成分含量,保证一定的生长年限是必要的。何首乌获得较高的品质和产量的栽培年限为3a^[6]。

该试验材料田间栽培仅1a,栽培土壤比较贫瘠,二倍体块根生长较缓慢,但多倍体在相同生长条件下表现出强的抗逆能力,块根生长明显优于二倍体;虽然三倍体和同源四倍体的二苯乙烯苷含量低于二倍体,但二者块根重量明显高于二倍体,其单株块根二苯乙烯苷生产量仍然是二倍体株系的2.99倍和1.69倍。如果保证栽

培年限,多倍体在块根产量和二苯乙烯苷含量优势可能会更明显;因此,创造和培育三倍体新品种在何首乌优质高产育种过程中会具有更大的价值和优势。

参考文献

- [1] 朱铁英.何首乌化学成分研究进展[J].时珍国医国药,2006(2):274-275.
- [2] 华国栋,郭兰萍,黄璐琦,等.药用植物品种选育的特殊性及其对策措施[J].资源科学,2008,30(5):754-758.
- [3] 何韩军,杨跃生,吴鸿.药用植物多倍体的诱导及生物学意义[J].中草药,2010,41(6):1000-1006.
- [4] 周志军,武晓阳,孟义江.药用植物育种研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(7):1694-1698.
- [5] 张夏楠,高山林.何首乌同源四倍体的诱导及生理指标的测定[J].植物资源与环境学报,2006,15(4):33-37.
- [6] 李晓瑜,高山林,刘利.何首乌同源四倍体农艺性状考察及二苯乙烯苷含量测定[J].药物生物技术,2009,16(2):132-135.
- [7] 姚焱,汪珍春,王小兰,等.广东道地中药何首乌的组织培养[J].北方园艺,2010(7):175-177.
- [8] 焦旭雯,张相年,赵翔,等.不同倍性何首乌中二苯乙烯苷和蒽醌类的含量比较[J].中药材,2007,30(12):1487-1489.
- [9] 郭青,鲁静.高效液相色谱法测定何首乌及其炮制品中蒽醌类成分的含量[J].药物分析杂志,2000,20(5):326-328.
- [10] 严寒静,傅军,梁从庆,等.不同采集地何首乌中蒽醌类成分的含量测定[J].中成药,2007,29(7):1023-1026.
- [11] 蔡慧君,张朝凤,张勉.何首乌不同器官和组织中蒽醌和芪类化合物的分布[J].中国野生植物资源,2008,27(2):44-48.
- [12] 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,1996,5(2):1-4.
- [13] 娄志红,王喜军,孟祥才,等.多倍体防风的质量和产量研究[J].现代中药研究与实践,2006,20(5):17-18.

(该文的作者还有王小兰,单位同第一作者;赵树进,单位为广州军区广州总医院。)

Study on Yield and Quality of Polyploid *Polygonum multiflorum* Thunb.

WANG Zhen-chun¹, ZHANG Xiao-yan¹, ZHAO Wei², YAO Yan¹, ZHANG Ping¹, SUN Li-li¹, WANG Xiao-lan¹, ZHAO Shu-jin²

(1. Guangzhou Key Laboratory for Functional Study on Plant Stress-Resistant Genes, College of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou, Guangdong 510006; 2. Guangzhou Military Guangzhou General Hospital, Guangzhou, Guangdong 510010)

Abstract: Compared the differences of yield characteristics and quality among diploid, triploid and autotetraploid of *Polygonum multiflorum* Thunb. in order to develop polyploid strains with high yields and qualities. The results showed that roots weight of polyploid were higher than that of diploid. The stilbene glucoside production of per plant of triploid and autotetraploid, respectively, were 2.99 and 1.69 times more than that of diploid. Compared with tetraploid, the average root weight and stilbene glucoside production of triploid had more advantages. Triploid of *Polygonum multiflorum* Thunb. had higher value in high yield and quality breeding of medicinal plants.

Key words: *Polygonum multiflorum* Thunb.; triploid; autotetraploid; root weight; quality