

丹参多倍体性状和药材质量的关系*

高山林 朱丹妮 蔡朝晖 徐德然

(中国药科大学遗传育种教研室, 南京 210038)

摘要 以通过组织培养诱导和选育的 10 个丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)多倍体品系为材料,于 1993 年进行了田间品比试验,评价了药材产量和质量。结果表明:选出的 10 个品系均表现出典型的多倍体性状,药材(根)质量均较大幅度提高。10 个品系中有 2 个品系的有效化学成分——丹参酮含量高于对照种,其中 61-2-22 品系为最优品系,不仅丹参酮含量比对照种高 79%,而且药材产量也比对照高 71.1%,因此平均每个小区生产丹参酮的数量比对照高 206%,这一品系已经加速繁殖,供生产上示范推广。

关键词 丹参;多倍体;丹参酮;组织培养

The relation between characters and quality of crude drug in polyploid lines of Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) Gao Shan-Lin, Zhu Dan-Ni, Cai Zhao-Hui and Xu De-Ran (Department of Genetics & Breeding, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038), *J. Plant Resour. & Environ.* 1996, 5(2): 1~4

Danshen (*Salvia miltiorrhiza* Bge.) is a major Chinese medicine used in curing cardiovascular system disease. In order to develop new variety for large-scale production, 10 tetraploid lines were induced and bred from tissue culture. The field comparative experiment was conducted in 1993. The results indicated that all of 10 polyploid lines of Danshen showed typical polyploidy characters. The root yields (crude drug) of polyploid lines increased greatly comparing with control. The content of effective compounds——danshinone in two lines were higher than that in control. Tetraploid line 61-2-22 was the best one among 10 polyploid lines, not only the content of danshinone increased 79% but also the yield of root drug increased 71.1% by compared with control in field comparative experiment. So the total amount of danshinone produced in per plot (20 m²) was 206% higher than that in control. The excellent line has been rapid-propagated and will be released in large-scale production.

Key words *Salvia miltiorrhiza*; polyploid; danshinone; tissue culture

丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)为唇形科植物,以根入药,具有祛瘀止痛,活血通经,清心除烦的功效,并有滋补作用,主要用于心血管系统疾病,制成制剂及配方,长期以来广泛地应用于临床,是我国大宗药材,国内外市场需求量很大,目前主要采用种子和切根繁殖,长期以来由于只种不选,品种退化混杂十分严重,产量逐年下降,药材质量难以保证,为此,国家医药局于 1990 年下达了“丹参组织培养多倍体育种技术研究”的课题,目的在于培育出产量高,药材质量好的优良品种,以便在生产中示范推广。本文报道丹参多倍体的选育结果。

1. 材料和方法

1.1 多倍体品系的建立和繁殖

以江苏地道丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)为材料,在组织培养条件下添加秋水仙碱,诱导获得30余个丹参多倍体株系,经过1991~1992连续2年的3代繁殖,选出生长旺盛、田间性状好、遗传性稳定、整齐一致的品系10个^[1~3]。

1.2 品系比较试验圃的设计与管理

试验于1993年在南京市郊青龙山林场进行,试验田南北向,沙壤土,土质中上,参试多倍体品系10个,以原种植株为对照,3次重复,顺序交叉排列,每个小区面积20 m²(2m×10m),11月12日按20 cm×40 cm的株行距移栽,分品系插牌,田间管理按上等水肥条件,60 000 kg/hm²猪粪作底肥,生长期追肥2次,每次施225 kg/hm²尿素,中耕除草3~5次,次年11月收获。

1.3 优良性状的鉴定和药材质量的评价

以农作物农艺性状记载标准为基础,结合药用植物的特点,对每个品系的株型、生长势以及叶、茎、花和根(药材)的性状进行了观察测定,以期较全面地评价各品系的产量和根部药材质量。

1.4 化学成分丹参酮含量测定

于11月丹参收获季节挖取各株系的根风干备用。精称各品系烘干样品0.5 g,加入二氯甲烷:甲醇(1:1)混合溶剂8 ml,冷浸过夜,于次日超声提取15 min,离心15 min(3 000 r/min),残渣用混合溶剂洗涤,合并提取液,定容10 ml,用高效液相色谱法测定3种丹参酮含量。

2. 结果与讨论

2.1 丹参多倍体品系的性状

10个优良品系和原丹参种的田间比较试验结果表明:多倍体品系植株紧凑,生长势旺,叶色变深,叶片明显加厚,皱折深而粗糙,从表1还可看出多倍体植株较高,叶面气孔密度变稀,气孔变大。多倍体品系向迟熟变异,生育期延长,花期推迟,育性明显下降,呈现半不育或全不育,花序也大多缩短或萎缩。以上多倍体品系叶、茎及花器官所表现出来的性状变异符合一般多倍体所具有的典型性状。

2.2 丹参多倍体的药材(根)产量

丹参根是药材的唯一来源,也是本研究的主要育种目标。从表1可以看出,多倍体品系的根都比原丹参植株的根长或粗大,分枝多,因此根药材平均鲜重较大幅度增加,平均小区产量增加52%~154%,增产幅度较大。

2.3 丹参多倍体根的类型与丹参酮含量的关系

(1)表2示各品系根部化学成分含量的测定结果,多倍体品系中丹参酮IA,IIA及隐丹参酮含量只有2个品系高于对照种,其他品系均低于对照种,分析其原因,可能是多倍体植株

表 1 丹参多倍体品系的性状(1993)*

Tab 1 The characters of 10 tetraploid lines of *Salvia miltiorrhiza*

品系 Lines	生长势 Growth potential	株高 Height (cm)	茎直径 Stem diameter (cm)	气孔 Stoma		开花期 F.D.	育性 Fertility	花序长 Infl. length (cm)
				密度 Density	大小 Size (μm)			
CK	中 Normal	43.27 ± 1.11	0.49 ± 0.01	19.55 ± 0.53	10.03 × 2.03	2/5	正常 Normal	22.25 ± 0.45
61-2-22	强 Strong	51.35 ± 1.28	0.48 ± 0.02	16.75 ± 0.49	12.63 × 2.28	4/5	半不育 H. St.	22.51 ± 0.69
61-3-6	中 Normal	51.76 ± 1.74	0.52 ± 0.02	13.28 ± 0.36	12.31 × 2.16	8/5	半不育 H. St.	21.36 ± 1.07
61-4-3	中 Normal	35.60 ± 0.47	0.53 ± 0.03	11.95 ± 0.34	13.45 × 2.65	8/5	全不育 St.	8.05 ± 0.13
62-5	强 Strong	59.90 ± 1.77	0.46 ± 0.02	13.50 ± 0.45	13.75 × 2.88	1/6	半不育 H. St.	16.42 ± 0.68
62-6	强 Strong	59.69 ± 0.96	0.52 ± 0.01	12.40 ± 0.35	12.70 × 2.93	15/6	半不育 H. St.	18.55 ± 0.77
62-50	强 Strong	59.89 ± 0.81	0.51 ± 0.01	11.35 ± 0.36	13.63 × 2.35	15/6	半不育 H. St.	19.87 ± 0.90
62-91	中 Normal	50.60 ± 1.72	0.43 ± 0.02	10.65 ± 0.33	13.00 × 2.20	30/5	半不育 H. St.	10.75 ± 1.11
62-98	强 Strong	51.41 ± 1.07	0.52 ± 0.03	11.90 ± 0.49	12.98 × 2.40	20/5	全不育 St.	11.99 ± 0.95
62-129	中 Normal	48.68 ± 4.07	0.46 ± 0.04	12.20 ± 0.35	13.00 × 2.38	30/6	半不育 H. St.	15.48 ± 2.36
62-166	中 Normal	55.73 ± 0.63	0.45 ± 0.02	12.85 ± 0.48	13.68 × 2.50	30/6	半不育 H. St.	15.58 ± 1.40

续表 1

Tab 1 (Continued)

品系 Lines	丛生根支数 Root branch	根色泽 Root color	根粗(cm) Root diameter	根长 (cm) Root length	单株根鲜重(g) Fresh weight	晒干率 (%) Dry/fresh	平均小区产量 (kg) Average yield/plot*
CK	4~10	红黄 Red-yellow	1.31 ± 0.09	20.7 ± 1.71	98.15 ± 6.01	26.62	6.53
61-2-22	10~14	紫红 Purple-red	0.99 ± 0.06	27.45 ± 0.91	161.60 ± 10.68	27.64	11.17
61-3-6	5~10	红 Red	1.45 ± 0.05	27.40 ± 1.69	169.00 ± 4.02	29.73	12.56
61-4-3	5~10	红 Red	1.83 ± 0.05	24.85 ± 1.45	189.80 ± 10.23	28.19	13.38
62-5	8~12	紫红 Purple-red	1.44 ± 0.04	38.40 ± 1.59	257.75 ± 15.53	23.28	15.00
62-6	8~10	紫红 Purple-red	1.68 ± 0.07	38.35 ± 1.73	230.95 ± 12.48	28.68	16.56
62-50	8~12	紫红 Purple-red	1.72 ± 0.07	34.70 ± 1.78	273.65 ± 20.19	20.94	13.95
62-91	5~10	红 Red	1.69 ± 0.13	34.08 ± 1.31	136.70 ± 9.59	34.16	11.67
62-98	8~10	红 Red	1.76 ± 0.07	36.47 ± 0.88	223.58 ± 13.06	24.24	13.55
62-129	5~8	红 Red	1.81 ± 0.59	31.30 ± 1.52	150.95 ± 15.03	26.32	9.93
62-166	8~10	紫红 Purple-red	1.69 ± 0.04	36.85 ± 1.55	188.85 ± 12.14	25.16	11.88

* 株高、茎直径、气孔大小均以 20 个随机取样计算,平均数 ± SE。气孔大小单位 μm 。

Data of plant height, stem diameter, size of stoma were the average of 20 random sample X ± SE.

气孔密度为 400 倍显微镜中 5 个视野的平均个数 ± SE。

Density of stoma were the average of 5 fields of vision ($\times 400$) under microscope X ± SE

花序高、根粗、根长、单株根鲜重均以 20 个随机取样计算,平均数 ± SW。

F.D. - Flowering date, CK - Control; St. - Sterility; H. St. - Half sterility; The data of Inflorescence (Infl.) length, root diameter, root length and fresh weight of per root were average of 20 random samples X ± SE.

生长快,组织疏松,对化学成分的积累有一定影响,另一个原因是丹参酮主要存在于根部表皮层,而多倍体品系的根粗大,和较细的根比较,其表皮面积按重量计就相对减少,也就造成丹参酮含量较低。从表 1 及表 2 可见,凡是根粗的品系丹参酮含量都较低,似呈负相关趋势,因此进行了根粗与丹参酮总含量的相关分析,计算结果,其相关方程为:

$$Y = 1.3383 - 0.6448X, \quad r = -0.9518 \quad \text{式中: } Y = \text{丹参酮含量} \quad X = \text{根粗}$$

相关系数为 -0.9518,说明根粗与丹参酮含量确实成负相关,因此就丹参而言,选育丛生根型多倍体品系将有利于提高化学成分的含量。

(2) 从表 1 与表 2 可见,多倍体品系 61-2-22 属于多根的丛根类型,其根丛生 10~14 支,

根细而长,单根平均重量 161.60 g,小区产量(干重)比对照高 71.1%,在 10 个多倍体品系中属中等,产量不如粗根型的 62-50, 62-2 或 62-98 高,但是 3 种丹参酮含量都很高;丹参酮 I A 含量比对照增加 32%,丹参酮 II A 含量增加 23%,隐丹参酮含量增加 166%,增加幅度最大,3 种丹参酮平均比对照种增加 79%,这个品系的多倍体特征主要表现在丛根和长根性状上,这样使多倍体巨大性和化学成分含量 2 个方面得以较理想的组合和统一。

表 2 丹参多倍体品系丹参酮含量及小区产量(1993)

Tab 2 Chemical compounds and plot yield of 10 tetraploid lines of *Salvia miltiorrhiza*

品系 Lines	丹参酮含量 Danshinone content (%)			小区丹参酮产量(g) Total weight of Danshinone/plot*	
	I A	II A	Crypto-danshinone	合计 Total	
CK	0.0959	0.1682	0.1593	0.4234	27.65
61-2-22	0.1266	0.2063	0.4239	0.7568	84.53
61-3-6	0.0965	0.1174	0.2472	0.4611	57.91
61-4-3	0.0542	0.0836	0.1167	0.2545	34.05
62-5	0.0654	0.0981	0.1846	0.3481	52.22
62-6	0.0568	0.0923	0.1176	0.2667	44.17
62-50	0.0415	0.0618	0.0820	0.1854	25.86
62-91	0.0410	0.0777	0.0907	0.2094	24.44
62-98	0.0388	0.0536	0.0940	0.1872	25.37
62-129	0.0392	0.0531	0.0839	0.1762	17.50
62-166	0.0543	0.0726	0.1261	0.2530	30.06

* 20 m²

2.4 丹参多倍体优良品系的评价

根据药用植物育种的特殊要求和本试验结果,为了全面评价选育获得的 10 个多倍体品系,根据各品系产量和化学成分含量计算了单位面积中生产丹参酮的总量,作为最终选育及评价各多倍体品系的依据,结果表明:对照种平均每个小区生产丹参酮总量为 27.65 g,10 个多倍体中超过对照品种的 6 个,平均比对照品种高 83.7%,其中最高的为 61-2-22 品系,平均每个小区丹参酮总产量 84.53 g,比对照增加 206%。61-3-6 品系次之,丹参酮产量为 57.91 g,比对照增加 109%。再依次为 62-5, 62-6, 61-4-3 和 62-166。因此 61-2-22 是一个较理想的品系,不但根药材产量高,而且有效成分丹参酮含量也高,目前,该品系正加速繁殖,进行示范推广,种植面积已达 0.67 hm²,将进一步大面积推广栽培。

参 考 文 献

- 1 高山林,徐德然,蔡朝晖等. 1992: 中国药科大学学报 23(4): 224~228.
- 2 蔡朝晖,高山林,郭 蓓. 1993: 中国药科大学学报 24(1): 49~52.
- 3 蔡朝晖,高山林,徐德然. 1991: 中国药科大学学报 22(2): 65~68.

(责任编辑:许定发)