

# 何首乌同源四倍体的诱导及生理指标的测定

张夏楠, 高山林<sup>①</sup>

(中国药科大学, 江苏南京 210038)

**摘要:** 用秋水仙素诱导何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)同源多倍体的最佳条件为用0.2%秋水仙素溶液处理其试管苗幼嫩顶芽36 h, 并接种于含2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA和0.2 mg·L<sup>-1</sup> IAA的MS启动培养基上。对诱导出的多倍体株系进行染色体计数分析, 结果表明, 诱导产生的多倍体均为四倍体, 染色体基数2n=4x=44。生理指标测定结果表明, 何首乌同源四倍体株系试管苗的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和黄嘌呤氧化酶(APX)活性及叶绿素含量等指标均高于二倍体株系。

**关键词:** 何首乌; 同源四倍体; 诱导; 染色体; 生理指标

**中图分类号:** S567.23<sup>+9</sup>   **文献标识码:** A   **文章编号:** 1004-0978(2006)04-0033-05

## Induction and physiological indices determination of autotetraploids of *Polygonum multiflorum*

ZHANG Xia-nan, GAO Shan-lin<sup>①</sup> (China Pharmaceutical University, Nanjing 210038, China), J. Plant Resour. & Environ. 2006, 15(4): 33–37

**Abstract:** Autopolyploids of *Polygonum multiflorum* Thunb. were induced with colchicine. The results indicated that optimal method for inducing autopolyploids was to immerse buds of *P. multiflorum* plantlet into 0.2% colchicine solution for 36 h, then let them grow in MS medium containing 2.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA and 0.2 mg·L<sup>-1</sup> IAA. Induced polyploids were identified by root-tips chromosome determination. It was showed that all of induced polyploids were tetraploids, and their chromosome number was 2n=4x=44. The results also showed that some physiological indices of autotetraploids, such as activities of SOD, POD and APX, and chlorophyll content, were much higher than that of diploids.

**Key words:** *Polygonum multiflorum* Thunb.; autotetraploid; induction; chromosome; physiological index

何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)为多年生缠绕草本植物, 主要成分为卵磷脂和羟基蒽醌类化合物。其性微温、气微、味微苦而甘涩, 有解毒、消疮痈、润肠通便等功效, 为常用的传统中药。

何首乌生长缓慢, 野生何首乌需3 a以上才能形成较大的块根作为药材使用。近年来, 由于市场需求量较大及采挖不合理等原因, 致使野生何首乌资源匮乏, 甚至濒临枯竭。为保护和改良名贵中药材资源, 利用生物技术培育优良药用植物多倍体品种是目前药用植物常用的育种手段之一。植物多倍体一般具有不同器官的巨型性以及抗逆性强、药用成分含量高等特性, 可满足中药材优质高产育种的需要, 因此, 药用植物的多倍体育种具有较高的应用价值和增产潜力<sup>[1]</sup>。

为此, 作者在组织培养条件下, 用秋水仙素诱导并获得何首乌试管苗的多倍体株系, 并对所得株系进行了染色体观察及生理生化指标测定, 为何首乌

优良品系筛选及选育奠定了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验用何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)种子由贵州信邦药业有限公司中药材GAP基地提供, 并由中国药科大学遗传育种教研室鉴定。

### 1.2 方法

1.2.1 种子的消毒及萌发 去除何首乌种子外面带翅的肥厚花被, 清洗后浸泡于水中过夜, 再依次用75%乙醇表面消毒2 min, 10% NaClO溶液处理20 min, 0.1% HgCl<sub>2</sub>溶液浸泡20 min, 最后用重蒸

收稿日期: 2006-08-11

作者简介: 张夏楠(1982-), 女, 满族, 河北承德人, 硕士研究生, 主要从事中药生物技术研究。

① 通讯作者 E-mail: shlingao@163.com

水冲洗 5~6 次，并接种于含  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IAA 的 MS 启动培养基上，20~25 d 后种子开始发芽<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 试管苗的培养** 待嫩芽长出 2~3 个腋芽时，切取带有 1~2 个腋芽的茎段，接种于繁殖培养基（含  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-BA 和  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IAA 的 MS 培养基）上<sup>[3]</sup>，培养温度 25℃，每日光照 16 h，光照强度 1 200 lx，培养 30 d 后即可获得大量丛生芽。切取带有 1~2 个腋芽的幼嫩茎段，接种于何首乌生根培养基（含  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IAA 的 1/2 MS 培养基）<sup>[3]</sup>上，10 d 左右即可获得 0.5~1.0 cm 的根。

**1.2.3 同源多倍体的诱导** 取生长约 20 d 的何首乌试管苗，切取带 1~2 片小叶的幼嫩顶芽，分别用浓度为 0.1%、0.2% 和 0.3% 的秋水仙素溶液浸泡 12、24、36、48 及 60 h（共 15 个处理，每个处理 30 个芽），无菌水漂洗 3 次，接种在繁殖培养基上，使其分化成苗。每天光照 16 h，光照强度 1 200 lx，培养温度（ $25 \pm 1$ ）℃，进行继代扩大培养并编号。

**1.2.4 根尖染色体数的观察** 何首乌试管苗在生根培养基上诱发生根，约 7 d 后，待根长至约 0.5 cm 时，切下幼根，在蒸馏水中漂洗干净，置于 0.2% 秋水仙素溶液中室温下浸泡 5 h，取出后用蒸馏水清洗 3 次，加入卡诺氏液置于冰箱中固定 2~24 h，然后依次用 95% 乙醇、70% 乙醇、蒸馏水各洗 3 次，用  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl 60℃ 下解析 12 min，蒸馏水清洗 3 次并在蒸馏水中低渗 30 min。然后小心切取根尖，置于载玻片中央，用改良苯酚品红溶液染色 30 min 后，压片，并在 OLYMPUS BH-2 型显微镜下进行观察、计数及摄影。

**1.2.5 多倍体株系的确认** 用上述染色体计数法观察每一株系 30 个以上细胞，若其中 85% 以上的细胞具有恒定一致的染色体数，即可认为此染色体数就是该株系的染色体数目。经 3 次以上观察确认为四倍体的株系予以保留并扩大繁殖。此外，还要统计各处理方法的存活率及诱导率。

**1.2.6 叶绿素含量的测定** 精密称量 0.25 g 生长 20 d 的何首乌试管苗（包括二倍体和各诱导株系）叶片，剪碎后置于研钵中，加入少量细石英砂及 80% 丙酮研磨至匀浆，再用 80% 丙酮分批提取叶绿素，直到残渣无色为止。将提取液合并、过滤后，用 80% 丙酮定容至 10 mL。吸取叶绿素丙酮提取液 1 mL，加 80% 丙酮 4 mL 稀释后摇匀，以 80% 丙酮作

为空白对照，分别于 663 和 645 nm 波长下读取吸光度。按下式计算叶绿素总浓度： $CT = 20.29 A_{645} + 8.05 A_{663}$ ，式中  $CT$  为叶绿素总浓度， $A_{645}$  与  $A_{663}$  分别为待测叶绿素溶液在波长 645 和 663 nm 处的吸光度<sup>[4]</sup>。

**1.2.7 酶活性的测定** 精密称取 0.5 g 生长 20 d 的何首乌试管苗新鲜叶片（包括二倍体和各诱导株系），分别加入 2.5 mL 预冷的  $0.05 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  Tris-HCl 缓冲液（pH 7.5）及少量石英砂，置冰浴中研磨至匀浆， $4^{\circ}\text{C}$   $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min，取上清液分装后置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冷冻保存，供蛋白质含量及酶活性的测定。

蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法，考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。

SOD 活性测定采用黄嘌呤氧化酶法<sup>[5]</sup>，超氧化物歧化酶活力测定试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。

POD 总活性测定采用愈创木酚法<sup>[4]</sup>。100 μL 酶液用 Tris-HCl (pH 7.0) 溶液稀释至 1 mL，准确加入 0.1% 愈创木酚 1 mL， $30^{\circ}\text{C}$  水浴 10 min 后，立即测定酶液在 470 nm 处的吸光度，然后准确加入 100 μL 0.08%  $\text{H}_2\text{O}_2$ ，充分混匀，反应 2 min 时立即测定酶液在 470 nm 处的吸光度，计算反应前后的吸光度差值。酶的比活力用  $\Delta OD_{470} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  (protein) 表示。

APX 活性测定参照 Mishra<sup>[6]</sup> 和沈文魁<sup>[7]</sup> 的方法进行。3 mL 反应液中含有  $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  PBS (pH 7.0)、 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA、 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{H}_2\text{O}_2$  和  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  ASA，最后加入 100 μL 供试酶液。在室温下记录反应 10 和 30 s 时反应液在 290 nm 处的吸光度，以 1 h 氧化  $1 \mu\text{mol}$  ASA 酶量为 1 个酶活单位。

## 2 结果和分析

### 2.1 何首乌多倍体诱导方法的比较

利用秋水仙素诱导何首乌多倍体时，秋水仙素的浓度及处理时间对多倍体诱导效果影响显著，结果见表 1。

由表 1 可以看出，秋水仙素处理时间越短多倍体植株的成活率越高，但诱导率却随处理时间延长

水冲洗5~6次，并接种于含 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA 和 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA 的 MS 启动培养基上，20~25 d 后种子开始发芽<sup>[2]</sup>。

**1.2.2 试管苗的培养** 待嫩芽长出2~3个腋芽时，切取带有1~2个腋芽的茎段，接种于繁殖培养基（含 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA 和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA 的 MS 培养基）上<sup>[3]</sup>，培养温度25℃，每日光照16 h，光照强度1 200 lx，培养30 d后即可获得大量丛生芽。切取带有1~2个腋芽的幼嫩茎段，接种于何首乌生根培养基（含 $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA 的 1/2 MS 培养基）<sup>[3]</sup>上，10 d左右即可获得0.5~1.0 cm的根。

**1.2.3 同源多倍体的诱导** 取生长约20 d的何首乌试管苗，切取带1~2片小叶的幼嫩顶芽，分别用浓度为0.1%、0.2%和0.3%的秋水仙素溶液浸泡12、24、36、48及60 h（共15个处理，每个处理30个芽），无菌水漂洗3次，接种在繁殖培养基上，使其分化成苗。每天光照16 h，光照强度1 200 lx，培养温度（ $25\pm1$ ）℃，进行继代扩大培养并编号。

**1.2.4 根尖染色体数的观察** 何首乌试管苗在生根培养基上诱发生根，约7 d后，待根长至约0.5 cm时，切下幼根，在蒸馏水中漂洗干净，置于0.2%秋水仙素溶液中室温下浸泡5 h，取出后用蒸馏水清洗3次，加入卡诺氏液置于冰箱中固定2~24 h，然后依次用95%乙醇、70%乙醇、蒸馏水各洗3次，用 $0.2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  HCl 60℃下解析12 min，蒸馏水清洗3次并在蒸馏水中低渗30 min。然后小心切取根尖，置于载玻片中央，用改良苯酚品红溶液染色30 min后，压片，并在OLYMPUS BH-2型显微镜下进行观察、计数及摄影。

**1.2.5 多倍体株系的确认** 用上述染色体计数法观察每一株系30个以上细胞，若其中85%以上的细胞具有恒定一致的染色体数，即可认为此染色体数就是该株系的染色体数目。经3次以上观察确认为四倍体的株系予以保留并扩大繁殖。此外，还要统计各处理方法的存活率及诱导率。

**1.2.6 叶绿素含量的测定** 精密称量0.25 g生长20 d的何首乌试管苗（包括二倍体和各诱导株系）叶片，剪碎后置于研钵中，加入少量细石英砂及80%丙酮研磨至匀浆，再用80%丙酮分批提取叶绿素，直到残渣无色为止。将提取液合并、过滤后，用80%丙酮定容至10 mL。吸取叶绿素丙酮提取液1 mL，加80%丙酮4 mL稀释后摇匀，以80%丙酮作

为空白对照，分别于663和645 nm波长下读取吸光度。按下式计算叶绿素总浓度： $CT = 20.29 A_{645} + 8.05 A_{663}$ ，式中CT为叶绿素总浓度， $A_{645}$ 与 $A_{663}$ 分别为待测叶绿素溶液在波长645和663 nm处的吸光度<sup>[4]</sup>。

**1.2.7 酶活性的测定** 精密称取0.5 g生长20 d的何首乌试管苗新鲜叶片（包括二倍体和各诱导株系），分别加入2.5 mL预冷的 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl缓冲液（pH 7.5）及少量石英砂，置冰浴中研磨至匀浆， $4^{\circ}\text{C}$  12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min，取上清液分装后置于-20℃冷冻保存，供蛋白质含量及酶活性的测定。

蛋白含量测定采用考马斯亮蓝G-250染色法，考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。

SOD活性测定采用黄嘌呤氧化酶法<sup>[5]</sup>，超氧化物歧化酶活力测定试剂盒由南京建成生物工程研究所生产。

POD总活性测定采用愈创木酚法<sup>[4]</sup>。100 μL酶液用Tris-HCl（pH 7.0）溶液稀释至1 mL，准确加入0.1%愈创木酚1 mL，30℃水浴10 min后，立即测定酶液在470 nm处的吸光度，然后准确加入100 μL 0.08% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，充分混匀，反应2 min时立即测定酶液在470 nm处的吸光度，计算反应前后的吸光度差值。酶的比活力用 $\Delta OD_{470} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ （protein）表示。

APX活性测定参照Mishra<sup>[6]</sup>和沈文飚<sup>[7]</sup>的方法进行。3 mL反应液中含有50 mmol·L<sup>-1</sup> PBS（pH 7.0）、0.1 mmol·L<sup>-1</sup> EDTA、0.1 mmol·L<sup>-1</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和0.5 mmol·L<sup>-1</sup> ASA，最后加入100 μL供试酶液。在室温下记录反应10和30 s时反应液在290 nm处的吸光度，以1 h氧化1 μmol ASA酶量为1个酶活单位。

## 2 结果和分析

### 2.1 何首乌多倍体诱导方法的比较

利用秋水仙素诱导何首乌多倍体时，秋水仙素的浓度及处理时间对多倍体诱导效果影响显著，结果见表1。

由表1可以看出，秋水仙素处理时间越短多倍体植株的成活率越高，但诱导率却随处理时间延长

而呈抛物线型变化,在接近半数致死率时诱导率为21.4%。综合考虑成活率及诱导率2个指标,最终确定何首乌同源多倍体的诱导方法为0.2%秋水仙素溶液浸泡36 h,存活率达46.7%,诱导率达21.4%。

## 2.2 何首乌多倍体株系与二倍体株系的比较

**2.2.1 染色体数目的比较** 在显微镜下可以观察到经诱导的何首乌同源多倍体株系的根尖体细胞明显大于二倍体株系,细胞染色体数目加倍为44,而二倍体株系根尖体细胞染色体数目为22(见图1),

从而确定所诱导出的何首乌多倍体均为四倍体株系。

**2.2.2 植株形态的差异** 移栽到田间1个月后何首乌四倍体和二倍体试管苗生长情况见图2。由图2可以看出,虽然何首乌四倍体和二倍体植株总分枝数无显著变化,但其茎秆粗度、叶片宽度及厚度均有所增加,且叶面积增大,使得四倍体植株的光合作用及呼吸作用明显优于二倍体,有利于植株的生长及药用活性成分的积累,从而提高何首乌药材的产量与质量。

表1 不同浓度秋水仙素及不同诱导时间对何首乌同源多倍体株系诱导的影响

Table 1 Effects of different concentrations of colchicine and different treatment times on autopolyploid induction of *Polygonum multiflorum* Thunb.

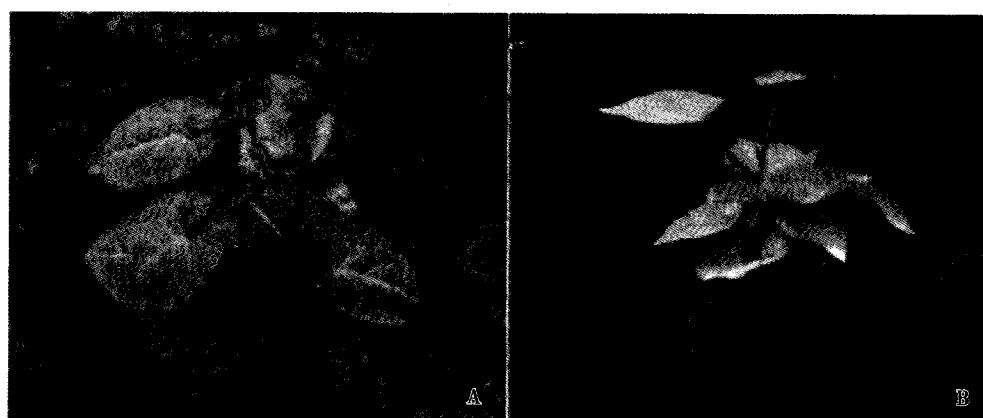
浓度/% Concentration	起始丛生芽数 Original number of cluster bud	诱导时间/h Time of induction	丛生芽 Cluster bud		多倍体植株 Induced number	多倍体植株 Polyplloid plantlet 诱导率/% Induced rate
			存活数 Survival number	存活率/% Survival rate		
0.1	30	12	30	100.0	2	6.7
	30	24	26	87.2	2	7.7
	30	36	20	66.7	3	5.0
	30	48	11	36.7	1	19.0
	30	60	12	40.0	2	16.7
0.2	30	12	27	90.0	2	7.4
	30	24	20	66.7	3	15.0
	30	36	14	46.7	3	21.4
	30	48	9	30.0	1	11.1
	30	60	5	16.7	1	20.0
0.3	30	12	23	76.7	2	8.7
	30	24	12	40.0	2	16.7
	30	36	8	26.7	1	12.5
	30	48	4	13.3	1	25.0
	30	60	0	0.0	0	0.0



A:二倍体 Diploid  $2n=2x=22$ ; B: 四倍体 Tetraploid  $2n=4x=44$

图1 何首乌二倍体与同源四倍体株系间染色体数目的比较

Fig. 1 Comparison of chromosome number of diploid and autotetraploid of *Polygonum multiflorum* Thunb.



A: 四倍体株系 Tetraploid strain; B: 二倍体株系 Diploid strain

图2 田间生长1个月的何首乌二倍体与同源四倍体幼苗的生长状态比较  
 Fig. 2 Comparison of growth state of diploid and autotetraploid seedlings of *Polygonum multiflorum* Thunb. for one month in experimental field

**2.2.3 叶绿素含量的差异** 何首乌同源四倍体与二倍体株系试管苗总叶绿素含量的差异见表2。由表2可以看出,四倍体株系的总叶绿素浓度全部接近或高于二倍体(CK),其中B9株系含量最高,达到 $0.869\text{2 mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,是对照的2.3倍。植株的总叶绿素含量在很大程度上反映出试管苗的光合作用强度及其生物合成量,也是高产株系增产的生理机制之一。若植株的光合作用强,则植物生长旺盛,其生物合成量相应较高,药用部位有效成分的含量也随之增加,最终使药材产量相应提高。

**2.2.4 抗氧化酶活性的差异** 何首乌四倍体株系的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)和黄嘌呤氧化酶(APX)活性普遍高于二倍体(见表3),活性最高的B9株系的SOD、POD和APX活性分别是二倍体的1.78,2.50和2.78倍,说明大多数四倍体株系清除活性氧的能力均较二倍体株系高。根据该实验结果可推测,当外界环境变化时,四倍体株系抵抗细胞受损的能力高于二倍体,显示出较强的抗逆性和适应性,该结果为今后何首乌优良品种的选育提供较可靠的选育指标和依据。

表2 何首乌同源四倍体与二倍体株系叶绿素含量的比较

Table 2 Comparison of chlorophyll content between diploid and autotetraploid seedlings of *Polygonum multiflorum* Thunb.

样品号 No. of sample	株系 <sup>1)</sup> Strain <sup>1)</sup>	叶绿素含量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Content of chlorophyll	叶绿素相对含量 Relative content of chlorophyll	样品号 No. of sample	株系 <sup>1)</sup> Strain <sup>1)</sup>	叶绿素含量/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Content of chlorophyll	叶绿素相对含量 Relative content of chlorophyll
1	CK	0.377 4	1.00	11	B13	0.368 7	0.98
2	A3	0.363 6	0.96	12	B24	0.556 8	1.48
3	A4	0.664 7	1.76	13	B25	0.448 9	1.19
4	A6	0.533 4	1.41	14	B15	0.638 2	1.69
5	A9	0.579 1	1.53	15	B26	0.564 3	1.50
6	B1	0.609 1	1.61	16	C1	0.486 9	1.29
7	B3	0.639 2	1.69	17	C2	0.490 7	1.30
8	B7	0.589 1	1.56	18	C4	0.546 1	1.45
9	B8	0.777 8	2.06	19	C10	0.552 4	1.46
10	B9	0.869 2	2.30	20	C13	0.653 8	1.73

<sup>1)</sup> CK: 二倍体株系 Diploid strain; A: 0.1% 秋水仙素诱导的四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.1% colchicine; B: 0.2% 秋水仙素诱导的四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.2% colchicine; C: 0.3% 秋水仙素诱导四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.3% colchicine.

表3 何首乌同源四倍体与二倍体株系的SOD、POD和APX酶活性的比较  
Table 3 Comparisons of SOD, POD and APX activities between autotetraploid and diploid strains of *Polygonum multiflorum* Thunb.

株系 <sup>1)</sup> Strain <sup>1)</sup>	SOD		POD		APX	
	活性/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$ Activity	相对比活力 Relative activity	活性/ $\text{OD}_{470} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ Acitivity	相对比活力 Relative activity	活性/ $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1}$ Acitivity	相对比活力 Relative activity
CK	13.25	1.00	0.640	1.00	1.107	1.00
A3	11.20	0.85	0.480	0.75	0.984	0.89
B26	16.01	1.21	0.919	1.44	1.755	1.59
B9	23.59	1.78	1.602	2.50	3.069	2.78
B24	15.89	1.20	0.918	1.43	1.732	1.56
B1	18.93	1.43	1.075	1.68	2.276	2.06
B7	17.78	1.34	1.016	1.59	1.951	1.76
C4	15.09	1.14	0.847	1.32	1.395	1.26
C10	15.22	1.15	0.866	1.35	1.581	1.43
C2	13.93	1.05	0.651	1.02	1.223	1.10
C13	19.87	1.50	1.103	1.72	2.792	2.52
B15	18.82	1.42	1.045	1.63	2.150	1.94
A6	14.87	1.12	0.801	1.25	1.284	1.16
B8	21.88	1.65	1.230	1.92	2.934	2.65
A9	16.34	1.23	0.948	1.48	1.851	1.67
A4	19.99	1.51	1.112	1.74	2.811	2.54

<sup>1)</sup> CK: 二倍体株系 Diploid strain; A: 0.1% 秋水仙素诱导的四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.1% colchicine; B: 0.2% 秋水仙素诱导的四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.2% colchicine; C: 0.3% 秋水仙素诱导四倍体株系 Tetraploid strain induced by 0.3% colchicine.

### 3 讨 论

用秋水仙素诱导植物同源多倍体是目前普遍采用的获得多倍体的方法之一,该方法具有操作简单易行、诱导效果明显的特点。诱导出的植株除可通过染色体计数法进行鉴定外,还可以根据植株的一些形态性状(如植株是否巨大、花粉粒大小、气孔保卫细胞大小以及叶绿体数目多少等)加以鉴定,但后者一般只能作为多倍体鉴定的辅助手段。考虑到诱导后的植株可能存在嵌合体现象,经一次鉴定得到的多倍体株系在以后的继代繁殖过程中可能会恢复成二倍体株系,因此,多倍体株系的鉴定需要3代以上的染色体数目及后代性状鉴定才能最后确认。

植物细胞在正常代谢活动及不利的环境条件下均能产生活性氧,若活性氧的浓度超出代谢系统的清除能力时就会产生氧化损伤,导致膜脂过氧化、碱基突变、DNA链断裂等损伤植物机体的变化发生<sup>[7]</sup>。因此,与清除活性氧能力相关的酶含量及活性的测定与筛选,在优良品种选育上具有重要的参考价值。

何首乌为多年生草本植物,田间栽培3 a后才能收获块根,虽然作者只观察记录了移栽至田间生长

1 a 以内的多倍体株系与二倍体株系田间农艺性状的对比情况,并以此为依据筛选出具有良好性状表现的优良多倍体株系,但根据所测定的生理生化指标与已掌握的田间性状及生长情况资料可以预测,经诱导的何首乌多倍体株系,其药用部位产量与质量均将优于二倍体株系<sup>[1]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] 高山林. 药用植物遗传育种的现状和展望[J]. 世界科学技术——中药现代化, 2001, 3(6): 58-62.
- [2] 袁维刚, 刘素珍. 何首乌茎切段培养[J]. 中草药, 1987, 18(2): 29-31.
- [3] 杨振德, 何际远, 黄寿先, 等. 何首乌组培快繁技术的研究[J]. 广西农业生物科学, 2002, 9(3): 181-184.
- [4] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005. 135.
- [5] 马旭俊, 朱大海. 植物超氧化物歧化酶(SOD)的研究进展[J]. 遗传, 2003, 25(2): 225-231.
- [6] Mishra N P, Mishra R K, Singhal G S. Changes in the activities of anti-oxidant enzymes during exposure of intact wheat leaves to strong visible light at different temperatures in the presence of protein synthesis inhibitors [J]. Plant Physiology, 1993, 102: 903-910.
- [7] 沈文飚, 徐朗莱, 徐茂炳, 等. 抗坏血酸过氧化物酶活性测定的探讨[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(3): 203-205.