

丹参不育系 Sh-B 的植物学特征

舒志明¹, 梁宗锁¹, 孙 群¹, 付亮亮², 张兴悟², 叶正良³, 卫新荣²

(1 西北农林科技大学 生命科学院, 陕西 杨凌 712100; 2 天津天士力制药有限公司, 天津 300402;

3 陕西天士力植物药业有限公司, 陕西 商洛 726000)

[摘 要] 对在陕西商洛丹参中发现的不育株系 Sh-B 的植物学特征进行了观察。结果表明, 根据花器官及花药的形态、大小以及花丝的长度, 可以将其分为 3 个类型, 即 Sh-B₁、Sh-B₂ 和 Sh-B₃; 这 3 种不育类型均属于雄性不育, 其花丝较正常可育株短 1 倍以上, 花药干瘪而瘦小, 内无花粉粒或花粉无活力; 根、茎、叶以及种子形态结构与正常可育植株基本相似。

[关键词] 丹参; 不育系; 植物学特征

[中图分类号] S567.5⁺30.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)06-0175-05

Botanical characteristics of the *Salvia miltiorrhiza* sterile line Sh-B

SHU Zhi-Ming¹, LIANG Zong-Suo¹, SUN Qun¹, FU Liang-Liang²,

ZHANG Xing-Wu², YE Zheng-Liang³, WEI Xin-Rong²

(1 College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Tianjin Tasly Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300402, China; 3 Tasly Plant Pharmaceutical Co., Ltd. of Shaanxi, Shangluo, Shaanxi 726000, China)

Abstract : Observation is performed to study the newly discovered male sterile plants from Shaanxi-Shangluo DanShen. Based on the morphology, size and filament length of flower organ and anther, the sterile plants of Shangluo DanShen are categorized to three types, Sh-B₁, Sh-B₂ and Sh-B₃. All of them are male sterile plants and their filament length is over 50 % less than that of normal fertile plants, while there are no pollen grain or very few pollen with no vigor within the wizened and smaller anther, though they resemble normal plants concerning the morphological characteristics of roots, stems, leaves and seeds.

Key words : *Salvia miltiorrhiza*; sterile line; botanical characteristics

丹参 (*Salvia miltiorrhiza*) 为唇形科 (Labiatae) 鼠尾草属 (*Salviae*) 植物, 以根及根茎入药, 是我国传统大宗药材。中药丹参具有祛瘀止痛、活血通经、清心除烦等功效, 在临床上用于冠心病、脑栓塞、心绞痛、肝硬化及妇科病等的治疗。全世界约有丹参 1 000 种, 我国约有 83 种、25 个变种、9 个变型, 该属药用 40 余种 (含变种、变型)^[1-3]。《中华人民共和国药典》规定, 其有效利用部位为根及根茎^[4]。

随着丹参用量的增大, 其野生资源日益枯竭, 各地纷纷开展了丹参的引种及新品种培育研究。张兴国等^[5]引种四川大叶型、小叶型、野生型丹参, 确定小叶型丹参品种适宜在四川中江地区种植; 蔡朝晖等^[6]研究了组织培养法增殖丹参幼苗的条件, 为优良品种群体的迅速扩大提供了技术; 宋经文等^[7]分别采用密环菌、农杆菌诱导丹参组织, 在培育丹参新品系方面取得一定成果; 高山林等^[8]采用染色体加

* [收稿日期] 2006-06-07

[基金项目] 陕西省科技攻关项目 (2001 K01- G15-03 和 2002 K11- G8-04); 天士力植物药业有限公司基金项目 (TSL01001)

[作者简介] 舒志明 (1965 -), 男, 陕西长安人, 助理研究员, 硕士, 主要从事中药材育种研究。

E-mail : Shuzhiming2298 @yahoo. com. cn

[通讯作者] 梁宗锁 (1965 -), 男, 陕西扶风人, 教授, 博士生导师, 主要从事植物生理及药用植物规范化理论与技术研究。

E-mail : liangzs @ms. iswc. ac. cn

倍技术培育出四倍体丹参品系 61-2-22,对丹参良种选育起到了积极的推动作用。但在生产实际中,目前还无法解决丹参大面积品种混杂退化问题,不能满足我国迅速发展的中药现代化对 GAP(Good Agricultural practice)基地建设的要求。利用丹参群体中存在一定比例雄性不育株的有利条件,直接利用不育系培育杂交种,再通过根系无性繁殖方式固定杂种优势,这将为丹参良种培育开辟一条快速而有效的新途径。作者于 2002 年在陕西商洛天士力丹参药源基地大田中发现了丹参不育株,并对其进行了进一步观察研究。目前,有关丹参不育情况的相关研究尚未见报道,本试验就这种不育株系(暂定名为 Sh-B)^[9]的植物学特征研究结果作一报道,旨在为该材料的进一步利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

本试验采用商洛当地栽培品种丹参(*Salvia miltiorrhiza*)原植物为研究材料,由陕西商洛天士力植物药业有限公司药原基地提供。2002-06,在该基地生产大田中发现几株花药发育畸形的不育植株,随即将其采用切根的方法分单株繁殖建立株系,连续保持其不育性,同时对每个不育株系的后代进行观察研究,并以丹参原植物中正常可育的植株作为对照。

1.2 方法

全部试验于 2003-03 至 2005-11 在陕西商洛天士力药源基地进行。

1.2.1 丹参不育单株的繁殖方法 将发现的不育株挂牌编号,于 2003 年 11 月下旬采挖出根系,分株系切成长度为 8 cm 左右的长段,每株栽种 1~2 行,次年春季出苗后进行观察记录。首先对每个株系无性繁殖后代的植物学特征、开花习性、花器官的外部形态等进行观察、测量和拍照,并与原植物中正常可育植株进行比较和描述。

1.2.2 丹参不育株系的分类和花粉活力检测 根据花药形状和花丝的长短,将所发现的不育株系后代分为 3 种类型,暂时定名为 Sh-B₁、Sh-B₂ 和 Sh-B₃。分别选取 3 种类型的不育株系和对照各 5 株,于始花期挂牌,当花朵完全开放时定点取样,每株选择主花序上、中、下 3 个部位花各 2 朵,用游标卡尺测量花瓣上下唇、花丝和花药的长度,米尺测量植株高度和叶片大小;花粉活力采用人工授粉套袋、液体培养法、形态鉴定法和 TTC 法^[10] 4 种方法进行检

测;根、茎、叶用显微镜观察新鲜组织结构,并用数码相机照相。

2 结果与分析

2.1 丹参不育系的植物学特征

所有丹参不育株后代,在植株外形、根、茎、叶的形态与结构,以及花序、花冠形态方面均与对照基本相同,主要差异表现在植株个体高度、花器官的大小以及花药和花丝的长度等方面。不育株系的花序均为轮伞花序,顶生或腋生,多轮排成疏离的总状花序,长 10~30 cm,小花排列紧密,花梗较短。花萼绿色或略带紫色,呈钟形,先端二唇形,上唇阔三角形,先端二尖齿裂,萼筒喉部密被白色绒毛;花冠蓝紫色或淡蓝色,二唇形,上唇直立,呈镰刀状,下唇较短,先端分裂,中央裂片较两侧裂片长且大,又作二浅裂;雄蕊 2 个,干瘪而瘦小,花药长 1.0~2.5 mm,三角形或线形,内无花粉粒或很少,花丝长约 2~8 mm,略呈弧形,花药二室,线形或三角形,花药与花丝之间呈丁字型;子房上位,4 浅裂,雌蕊的花柱伸出花冠外,柱头 2 裂,裂片不相等,子房基部有密腺。

2.2 丹参不育花与可育花的主要特征比较

丹参不育株的花冠外形虽然与正常可育株基本相似,但小花的花冠明显比正常花朵小,颜色偏淡(图 1),而且花丝较短,花药干瘪而瘦小,三角形或线形。当花朵开放时,花药中基本无花粉粒或有很少花粉粒,用手指捻,无黄色花粉粒。而正常可育株的花朵开放时有大量的鲜黄色花粉粒散出(图 2,3,4),用手指捻,黄色花粉粒明显可见。用 TTC 法检测花粉活力的结果表明,正常可育株的花粉具有较高的活性,约为 60%;而不育株花粉无活性,显微观察结果也表明不育花粉粒多数为畸形。

2.3 丹参不育株系的分类

丹参不育株系的后代个体在株高、叶片长和宽、叶柄长短、花序长短、花丝长短、花的上下唇大小等方面有一定差异,根据这些差异,将不育株系后代分为:Sh-B₁、Sh-B₂ 和 Sh-B₃ 3 个类型。这 3 种类型之间的主要区别在于花药和花丝的长短、大小不同,其中花朵大小和花药、花丝长度顺序依次为 Sh-B₁ > Sh-B₂ > Sh-B₃。其他主要特征和区别见表 1。从实际植株生长形态及对表 1 分析的结果表明,丹参不育株系叶片大小与叶柄长短,可能与植株个体生长的大小有关,即株高越高,相应叶片也越大,叶柄相对则较长。

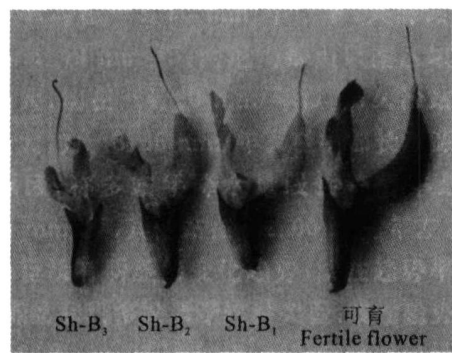


图 1 丹参花器官的外形
Fig. 1 Morphology of *Salvia miltiorrhiza* flower

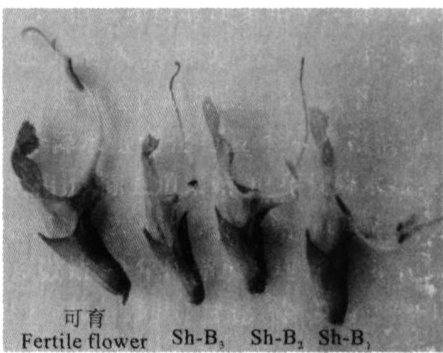


图 2 去掉花冠上唇的丹参花器官外形
Fig. 2 Morphology of *Salvia miltiorrhiza* flower
(Upper corolla lip moved away)

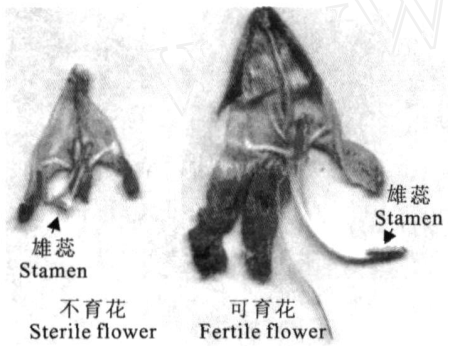


图 3 丹参不育花和可育花的纵剖面
Fig. 3 Profile of *Salvia miltiorrhiza* sterile and fertile flower

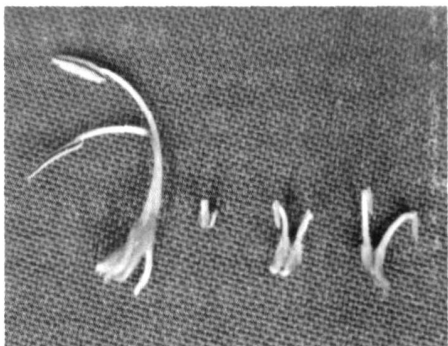


图 4 丹参正常可育与不育株的花药形态
Fig. 4 Anther morphology of *Salvia miltiorrhiza* sterile and ferti

表 1 3 种丹参不育类型外部形态的比较

Table 1 Morphology comparison of three *Salvia miltiorrhiza* sterile lines

不育类型 Sterile line	花丝长/cm Filament length	花药长/cm Anther length	上唇/cm Upper lip	下唇/cm Lowe lip	株高/cm Plant height	叶柄长/cm Petiole length	叶片大小/cm Leaf size
			Length/ Width	Length/ Width		上部/ 中部/ 下部 Top/ Middle/ Base	长/ 宽 Length/ Width
Shr-B ₁	0.8	0.25	1.7/0.35	1.4/0.30	47.0	1.30 / 3.00 / 2.00	3.8/3.6
Shr-B ₂	0.5	0.20	1.5/0.25	1.2/0.25	35.0	1.80 / 2.70 / 2.80	3.6/3.2
Shr-B ₃	0.2	0.10	1.2/0.20	1.0/0.20	23.0	2.10 / 3.20 / 2.30	3.0/2.8
CK	2.0	0.5	2.2/0.4	1.8/1.8	60.0	2.50/3.50/4.20	2.6/2.6

2.4 丹参花粉活力检测

采用 TTC 染色法、液体培养法、形态鉴定法和人工授粉 4 种方法,分别对正常可育和不育株的丹参花粉活力和萌发率进行检测。结果表明,正常可育花粉活力在 14.8 %~60.8 %,而不育花粉活力因

检测方法而异。当采用 TTC 染色法和液体培养法检测时,不育花粉的活力为 0;而采用形态鉴定法检测时,不育花粉的活力为21.67 %~38.73 %,该法检测结果与实际授粉结实率结果不符。因此证明,TTC 法和液体培养法检测结果最接近实际水平。

表 2 不同方法对丹参 3 种不育类型花粉活力的检测结果

Table 2 Results of pollen granules vigor test of three *Salvia miltiorrhiza* sterile lines

检测方法 Test method	品种名称 Variety name	具有生活力的花粉数/ 总花粉数 Number of vigorous pollen/ Number of total pollen				平均/ % Mean
		第 1 视野 First view	第 2 视野 Second view	第 3 视野 Third view		
		第 1 视野 First view	第 2 视野 Second view	第 3 视野 Third view		
TTC 染色法 TTC colour staining	CK	10/ 28	14/ 41	10/ 31	34.04	
	Shr-B ₁	0/ 15	0/ 14	0/ 12	0	
	Shr-B ₂	0/ 12	0/ 10	0/ 9	0	
	Shr-B ₃	0/ 8	0/ 6	0/ 6	0	

续表 2 Continued of table 2

检测方法 Test method	品种名称 Variety name	具有生活力的花粉数/ 总花粉数 Number of vigorous pollen/ Number of total pollen			平均/ % Mean
		第 1 视野 First view	第 2 视野 Second view	第 3 视野 Third view	
液体培养法 Pollen germination liquid	CK	7/ 57	6/ 55	13/ 61	14. 83
	Shr-B ₁	0/ 10	0/ 11	0/ 6	0
	Shr-B ₂	0/ 6	0/ 8	0/ 8	0
	Shr-B ₃	0/ 5	0/ 4	0/ 5	0
形态鉴定法 Morphological identification	CK	16/ 25	16/ 22	15/ 21	60. 84
	Shr-B ₁	2/ 5	3/ 7	2/ 6	38. 73
	Shr-B ₂	1/ 6	2/ 6	1/ 5	23. 33
	Shr-B ₃	1/ 4	1/ 5	1/ 5	21. 67
授粉结实率 Seed setting percentage	CK				38. 4
	Shr-B ₁				0
	Shr-B ₂				0
	Shr-B ₃				0

注:花粉形态鉴定在 400 倍镜下观察计数,其余在 100 倍镜下观察。

Note:Morphological identification under 400 folds lens;rest photos under 100 folds.

3 结论与讨论

3.1 不育系的利用

雄性不育在植物界中是一种常见现象,据统计,已经在 43 科 162 属 320 个种和 297 个种间杂种中发现了雄性不育现象^[11],并且这个数目还在不断增加。由于雄性不育是杂种优势利用的基础,因而新型不育源的发现及其对雄性不育机理的探索,一直是一个非常活跃的研究领域,特别是近年来对雄性不育的分子生物学研究更是成果丰硕,不断有关于雄性不育分子机制的研究成果,并提出了若干相应理论和假设^[1-3],丰富了杂种优势利用的理论基础,提高了人们对雄性不育机理的认识。

研究表明,可遗传的雄性不育性表现类型相当复杂,不同植物各有其特性,主要分如下 4 种类型:①雄蕊畸形或退化。如花药瘦小、干瘪、萎缩、不外露,甚至花药缺失;②无花粉或花粉不育。雄蕊虽然接近正常,但不产生花粉或花粉极少,或花粉无生活力;③功能不育。雄蕊和花粉基本正常,但是由于花药不能自然开裂散粉,或迟熟、迟裂,因而阻碍了自花授粉;④部位不育。雄蕊、花粉都发育正常,但因雌雄蕊异常,如柱头高、雄蕊低,而不能自花授粉^[12-13]。

本研究发现的丹参不育株系植株外形特征与药典规定的丹参特征相同,主要是花器构造不同,其花为二唇形,花萼钟状,花冠紫色或蓝紫色,花药比正常可育的短小、干瘪、瘦小,内无花粉或很少,肉眼看不到花粉粒,用手指捻花药,没有黄色的花粉粒,无散粉现象,经采用 TTC 法对花粉活力进行检测,花粉畸形或不染色,证明花粉无活力。花丝也比正常

可育植株的短而细瘦,并稍带弧形,尖端有二叉分裂,在自然或人工授粉条件下接受其他可育植株上的花粉而结实,成熟后的种子具有发芽能力。而且,近期的研究表明,Shr-B 不育株系的不育性稳定,可作为母本培育丹参杂交种,避免人工去雄的麻烦,降低杂交制种成本。

3.2 Shr-B 的遗传类型

按雄性不育的遗传方式,可以将雄性不育性主要分为 3 类:

(1)细胞质雄性不育型。这个类型的雄性不育性,完全受细胞质控制,母本与父本的细胞核对育性没有影响。所有可育系给其授粉都可保持其不育性,在理论上找不到恢复系。对于利用营养体杂种优势的药用植物有育种意义。

(2)细胞核雄性不育型(核不育)。细胞核雄性不育性,受细胞核雄性不育基因(核基因)控制,多为隐性,但在少数植物中也发现了显性核基因控制的雄性不育性。该类型不能得到固定的不育类型。

(3)核质互作雄性不育型。是由核-质交互作用产生的。不育性由核不育基因和细胞质内的不育因子互作控制,只有核不育基因和细胞质的不育因子共同存在时,才能引起雄性不育。该类型既能筛选到保持系,又能找到恢复系,可以实现“三系”配套,是以果实或种子为产品的药用植物较理想的不育类型^[12-13]。

本研究从不育株后代中分化出 3 种不育类型,开花后均表现为无花粉或花粉不能散出,采用无性繁殖方式繁殖的同一株系后代群体中,均能分化出上述 Shr-B₁、Shr-B₂ 和 Shr-B₃ 3 种不育类型,只是各种类型所占的比例不同,其中 Shr-B₁ 主要分化出 Shr-B₁

类型,约占后代总数的 60%~70%,Sh-B₂ 和 Sh-B₃ 类型分别为 20%和 10%。Sh-B₂ 和 Sh-B₃ 后代同样主要分化出与亲本相同的类型,其他类型数量较少。这种分化趋势是由于环境因素还是遗传因素的影响,还有待进一步研究。

用不同来源的丹参品系类型如山东白花丹参、南丹参、亳州丹参以及卢氏紫花丹参等与 Sh-B₁、Sh-B₂、Sh-B₃ 杂交,均可获得杂交种,而且能够通过切根无性繁殖方式保持其不育性,这将为选择恢复系和建立杂交制种体系奠定良好的基础。但是,由于目前所获得的后代群体数量较少,还不能充分肯定其遗传类型。

3.3 杂交品种的选育

一般植物利用雄性不育性制种,如水稻、小麦、五味子、薏苡等是以种子或果实为收获对象的,需解决雄性不育系(A系)、雄性不育保持系(B系)和雄性不育恢复系(C系)3个问题,才能完成雄性不育的三系配套,达到杂种优势利用的目的。但是,对于很多不以种子为主要收获对象的药用植物来讲,杂种的育性恢复与否就不是要解决的主要问题,只要 F₁ 代药用部位具有明显的优势即可。丹参的药用部位是根及其根茎^[12],而不是籽粒,繁殖方式可采用种子、切根、芦头繁殖^[14],因而与收获籽粒为主的作物品种在雄性不育利用方式上有所不同,可以不通过实现三系完全配套而达到对不育系的利用,即不育系的保持采用无性繁殖方式就可保存,所以杂交品种选育主要通过测定配合力、鉴定杂交优势情况就可达到杂种优势利用的目的。这样可以省去先

研究遗传规律,然后才可利用雄性不育系的过程,大大节约了育种年限。

[参考文献]

- [1] 徐任生. 丹参 - 生物学及其应用[M]. 北京:中国科学出版社, 1990:23-79.
- [2] 肖小河,方清茂,尹国萍,等. 药用鼠尾草分布式样与丹参药材道地性[J]. 中草药,1999,29(增刊):121.
- [3] 肖小河,方清茂,夏文娟,等. 药用鼠尾草属数值分类与丹参药材道地性[J]. 植物资源与环境,1997,6(2):17-21.
- [4] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典 2005 版:第一部[M]. 北京:化学工业出版社,2005.
- [5] 张兴国,王义明,罗国安,等. 丹参品种资源特性的研究[J]. 中草药,2002,33(8):742-747.
- [6] 蔡朝晖,高山林,徐德然. 丹参组织培养快速繁殖技术的研究[J]. 中国药科大学学报,1991,22(2):65-68.
- [7] 宋经元,祁建军,雷和田,等. 蜜环菌诱导子对丹参冠瘿组织积累丹参酮的影响[J]. 植物学报,2000,42(3):316-320.
- [8] 高山林,朱丹妮,蔡朝晖,等. 丹参四倍体优良新品系 61-2-22 的选育与鉴定[J]. 中国中药杂志,1995,20(6):333-335.
- [9] 舒志明,梁宗锁,卫新荣,等. 一种丹参不育系及其繁殖育种方法[A01G 7/00]:中国,200410073061[P/OL]. 2005-03-02. <http://www.cnpatent.com>.
- [10] 高俊凤. 植物生理学实验技术[M]. 西安:世界图书出版西安公司,2000:183-184.
- [11] 谢潮添,魏冬梅,田惠桥,等. 高等植物雄性不育的细胞生物学研究进展[J]. 植物生理与分子生物学报,2006,32(1):17-23.
- [12] 庄文庆. 药用植物育种学[M]. 北京:中国农业出版社,1993.
- [13] 胡延吉. 植物育种学[M]. 北京:高等教育出版社,2003.
- [14] 董忠信. 丹参芦头繁殖方法[J]. 中草药,1990,21(3):32.