

# The Feasibility of Using Polyploid Breeding in *Anoectochilus roxburghii* Industrialization

Juan Su, Jingjing Chao, Junfeng Tao, Feng Li, Jian Yue\*

Yunnan Qinggu Biological Technology Company Limited, Kunming Yunnan  
Email: yj79517@163.com

Received: May 19<sup>th</sup>, 2017; accepted: Jun. 3<sup>rd</sup>, 2017; published: Jun. 8<sup>th</sup>, 2017

---

## Abstract

Polyploid breeding is one of the most common methods for crop breeding. The advantage is that polyploid plants have more viability in relatively unstable environment and can adapt to harsher environment. *Anoectochilus roxburghii* belongs to perennial herb; it has a great medicinal value and a great commercial value. Polyploid breeding method can be used to obtain *Anoectochilus roxburghii*, which provides a theoretical basis for its industrial production. This paper summarized the simple biological characteristics of *Anoectochilus roxburghii*, the progress in research on polyploidy induction technology and the main methods of polyploid identification; at the same time it indicated the feasibility of polyploidy induction technology of *Anoectochilus roxburghii* and the problems in industrial production.

## Keywords

*Anoectochilus roxburghii*, Polyploidy Induction, Medicinal Plants

---

# 多倍体育种在金线莲产业化中运用的可行性

苏娟, 钞晶晶, 陶俊峰, 李锋, 岳健\*

云南青谷生物科技有限公司, 云南 昆明  
Email: yj79517@163.com

收稿日期: 2017年5月19日; 录用日期: 2017年6月3日; 发布日期: 2017年6月8日

---

## 摘要

多倍体育种作为近代作物育种常用方法之一, 其优点在于多倍体植物在相对不稳定的环境中具有更为强

\*通讯作者。

大的生存能力，能够适应更为恶劣的环境。金线莲属多年生草本植物，药用价值巨大，同时也具有较大的商业价值。采用多倍体育种方法可以快速获得多倍体金线莲，并为产业化生产提供了理论依据。本文概述了金线莲基本生物学特征、多倍体育种技术的研究进展及多倍体植株的鉴定方法，指出了多倍体育种技术在金线莲中的应用可行性以及产业化生产中可能出现的问题。

## 关键词

金线莲，多倍体诱导，药用植物

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

金线莲(*Anoectochilus roxburghii*), 隶属百合目兰科开唇兰属, 民间又称金蚕、金线兰、金石松等。其主要分布于亚洲的日本、中国、斯里兰卡、印度和尼泊尔等地区。由于其治疗面广、疗效独特, 素有“金草”、“神药”、“鸟人参”等美称, 是一种传统的珍贵药材[1]。金线莲的种子微小, 胚含有数层种皮细胞, 自然条件下比较难以萌芽, 加之鸟类嗜食和人们肆意采挖, 现已濒临灭绝[2]。因此采用多倍体育种技术获得生长速率快, 培育周期短的多倍体种显得尤为重要。本文综述了多倍体育种技术的研究现状, 分析了多倍体育种技术在药用植物金线莲产业化培育中可能存在的问题, 以期为以后金线莲的资源利用奠定一定的理论依据。

## 2. 金线莲生物学特征及其药用价值

### 2.1. 金线莲生物学特征

金线莲属多年生草本植物, 植株高约 4~18 cm, 长约 4~5 cm, 叶片呈卵形, 叶面上具有鳞片状脉网, 有光泽, 叶面下呈紫红色, 其花期一般为每年的 8~9 月, 果期为每年的 9~10 月。花为完全花, 总状花序具有 1~6 朵松散的花, 花序梗长 8~13 cm [3]。花苞片淡紫色, 呈卵状披针形。除了药用价值高以外, 金线莲还具有观赏性[4]。

金线莲其在我国的分布地主要为福建、广东、广西、云南等省份[1]。许文江等[5]通过多地调查发现: 金线莲的分布特征为垂直分布, 其主要生长在在 300~600 m 的丘陵地区; 生境主要为植被覆盖较好, 相对湿度大的小环境, 尤为喜爱生存在常绿阔叶林下, 多见于岩缝、石壁等阴凉处。

### 2.2. 金线莲药用价值

金线莲作为一种名贵的药材可全草入药, 据《福建药物志》记载: 金线莲味甘性平, 具有清热凉血、平肝、疏经络等功效。主要医治支气管炎、膀胱炎、糖尿病、百日咳、毒蛇咬伤等症状[6] [7]。《中国本草原色图谱》中记载: 台湾金线莲性平微寒, 无毒, 主要用来医治肝脾病、肺癆病、遗精等病症[8]。经研究发现, 金线莲中所含氨基酸组成、成分以及含量均高于西洋参, 因此在台湾素有“药王”之称[9]。另外金线莲还具有抗衰老和提高机体免疫力的作用[10], 黄立峰等对肝损伤小鼠注射金线莲中的有效成分发现金线莲提取物有明显减轻小鼠肝损伤及肝纤维化的形成[11]; 王常青等对台湾金线莲的水溶性多糖进行细胞活性研究, 发现其具有抑制癌细胞生长的作用[12]; 李葆华等发现金线莲提取物对肾血管性高血压

具有减压作用[13]。

### 3. 药用植物多倍体育种研究进展

多倍体含义是指植物体细胞内含有 3 个或者 3 个以上的染色体组，这种异常归结于有丝分裂或减数分裂时期染色体数目的改变，在生物学上主要表现为“巨大”、某些代谢物的产量增加、抗逆性增强等特点。与二倍体药用植物相比，多倍体药用植物具有以下 3 个特点：1) 抗逆性强，多倍体药用植物即使生存在不良的生存环境下仍然具有较强的适应性。2) 多倍体药用植物的药用成分含量高，例如经研究发现曼陀罗同源四倍体中的可利用成分较其亲本而言，是亲本的 2 倍左右[14]。3) 多倍体药用植物的生长速率较二倍体种质明显提高，营养器官也比二倍体植物大[15]，倘若营养器官为入药部位，则可大幅度提高药材产出率，例如四倍体丹参较二倍体丹参而言，茎秆粗壮，药用部分比二倍体粗大[16]，同源四倍体怀牛膝根干重比二倍体也有所提高[17]。然而在自然界中天然多倍体发生的可能性频率低，不容易被发现利用。因此可采用人工诱导技术对植物进行多倍体诱导(物理诱导法、化学诱变法及体细胞杂交法等)。

#### 3.1. 物理诱导法

物理诱导法主要是采用一些机械损伤、高低温处理以及射线等方法诱导植物染色体加倍。主要作用原理是通过物理方法使已染色体已经加倍的细胞不能分离，从而产生多倍体。例如 Demol (1923)采用低温诱导法处理风信子的鳞茎从而获得了三倍体植株；李云等(2000)通过超低温诱导成功获得毛新杨、银腺杨、银毛杨的三倍体植株[18]；杨今后等(1989)利用  $\gamma$  射线处理桑树冬芽，成功获得了四倍体植株[19]。但是物理诱导法诱导多倍体的产生发生频率低，容易导致基因突变等情况。

#### 3.2. 化学诱变法

化学诱变法主要是采用一些化学试剂来诱发产生多倍体，例如秋水仙素，其作用原理是在细胞分裂过程中，通过抑制微管的聚合来阻止纺锤丝的合成，达到染色体数目加倍的目的。常用的是通过浸渍种子、点涂的方式来处理种子或幼苗。点涂法主要是将一定浓度的秋水仙素与一定浓度的羊毛脂膏或者琼脂混合在一起，然后涂抹在幼苗或枝条的顶端[20]，例如谭素英等通过秋水仙素与羊毛脂膏按一定比例混合后涂抹经处理的幼叶，显著提高了西瓜四倍体的产生频率[21]；郭清泉等采用含有 0.1%的秋水仙素的琼脂胶包埋莲子胚，得到了较好的诱导效果[22]。此外有研究证实，二甲基亚砜(DMSO)能够作为助渗剂促进秋水仙素快速浸入到植物组织中[23]，例如王凤宝以 DMSO 为助渗剂诱导豌豆同源四倍体的形成取得了很好的诱导效果[24]，然而这两种方法的缺点是易产生嵌合体并且受环境影响较大，不适用于广泛应用。

#### 3.3. 体细胞杂交法

细胞壁的主要成分为纤维素和果胶，因此利用纤维素酶和果胶酶处理植物细胞可以获得原生质体。利用物理或化学方法使得同种或异种原生质体融合形成异核体，然后将异核体中的细胞核进一步融合为共核体，经培养分化出异源或同源多倍体植株，这种方式克服了植物远缘杂交的障碍。原生质融合法主要有化学融合法、电融合法以及 PEG 融合法。Teodoro cardi 等通过电融合技术将二倍体马铃薯原生质体进行融合，得到了比亲本耐受性更强的四倍体植株，不过 S.Warra 发现虽然马铃薯双单倍体融合后大部分植株为四倍体植株，但同样存在六倍体或者八倍体植株[25]；刘继红等通过电融合方法对澳洲指橘(*Microcitrus papuana* Swingle)和酸橙(*Citrus aurantitum* L.)进行体细胞融合处理，成功得到了四倍体植株[26]，这种方法可以快速地获得多倍体植株，实现野生型优良基因向栽培型种的转移。

#### 4. 多倍体鉴定的方法

如何鉴定经多倍体育种技术获得的植株是否为多倍体植株,通常通过三种方法来进行多倍体的鉴定:形态学水平、细胞水平以及分子水平。形态学水平的鉴定主要是通过对气孔、植株大小、种子、花粉、果实的形态的变化来判断。其中气孔和花粉直径的测量更为可靠,这是因为其大小与染色体多少密切相关,但这种方法容易受到异常环境等因素的影响;植物细胞水平上的鉴定主要是采用流式细胞仪进行的,原理是采用荧光染料对植物细胞核进行着色,然后经流式细胞仪对荧光强度进行鉴定,可明显判断出所测细胞是否为多倍体。缺点是流式细胞仪过于昂贵,不适于普及[27];分子水平的鉴定是指利用 RAPD (随机扩增多态性 DNA 标记)和 RFLP (限制性内切酶片段长度多态性)等分子标记来达到鉴定多倍体的目的[28][29],这种方法的优点在于快捷,因此应用广泛。

#### 5. 问题及展望

金线莲作为典型的药用植物,其多倍体育种技术尚不成熟,还有其抗逆性弱、克隆繁殖能力弱等特点[30],共同导致了金线莲难以做到产业化生产。虽然之前有研究表明可成功诱导获得金线莲多倍体[31],但是迄今为止,真正运用到实际生产中的应用不多,这主要归结于药用植物细胞遗传学研究滞后,再加上不同植物物种对诱导处理方法的敏感性不一样,其效果差异较大,虽然有的可以诱导成功,但无法获得大量多倍体植株,因此对不同的药用植物要进行系统地研究并选择出合适的诱导方法。伴随着众多名贵药材(人参、竹荪、鹿茸等)的人工种植技术得到突破,以育种为核心的药用植物产业化发展必将为以后的药用植物资源供应起到决定性作用。就目前研究现状而言,药用植物的多倍体育种技术的发展与多倍体育种相关理论及方法的完善和创新有着密切联系,对于已经成功培育出多倍体植株的药用植物的药性评价机制还不完善,在今后的育种过程中需加强这方面的研究。金线莲作为高档的保健品原材料,其大规模产业化生产必将对我国一些疾病的医治起到不可估量的作用,因此如何确保在不使用农药的情况下保证其避免病虫害的几率,如何找到合适的多倍体育种方法以及如何制定规范的产业化技术标准成为金线莲规模化生产中亟待解决的问题。但随着生物技术的不断进步,必将一一解决相关限制性难题。因此相信在不久的将来,建立完善的多倍体育种技术必定能使得药用植物多倍体育种展现出新的活力,使得其形成较为完整的产业化模式,带动未来药用植物的高效发展。

#### 基金项目

金线莲多倍体育种及快繁关键技术研究(编号:官科计字 2016N13)。

#### 参考文献 (References)

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴第五册[M]. 北京: 科学出版社, 1980: 248.
- [2] 王丽芳, 黄建, 林霞. 秋水仙素离体诱导金线莲多倍体的研究[J]. 浙江农业学报, 2010, 22(6): 760-763.
- [3] 郭慧慧, 蒋元斌, 林丛发, 等. 金线莲研究进展[J]. 福建农业科技, 2016, 47(3): 55-59.
- [4] 刘贤旺, 黄慧莲, 袁勇. 金线莲的研究进展[J]. 江西中医药大学学报, 1999(4): 188-189.
- [5] 许文江, 陈裕, 林坤瑞. 药用野生金线莲植物资源的研究[J]. 福建热作科技, 2000(4): 9-10.
- [6] 福建省中医药研究院. 福建药物志第二卷[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1982: 215.
- [7] 《浙南本草新编》编写组. 浙南本草新编[M]. 杭州: 浙江人民出版社, 1975: 422.
- [8] 吴青昌. 中国本草原色图谱[M]. 台北: 台湾药草出版社, 1984: 178.
- [9] 郑纯, 黄以钟. 金钱莲文献考证,原植物及商品调查[J]. 中草药, 1996(3): 169-170.
- [10] 陈卓, 黄自强. 金线莲及其提取物降血糖实验研究[J]. 福建医科大学学报, 2000, 34(4): 350-353.

- [11] 黄立峰, 卢若艳, 苏志敏, 等. 福建金线莲提取物对 CCl<sub>4</sub> 所致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 解放军药学报, 2007, 23(4): 278-281.
- [12] 王常青, 严成其, 王勇, 等. 台湾金线莲多糖的分离纯化及其体外抑瘤活性研究[J]. 中国生化药物杂志, 2008, 29(2): 93-96.
- [13] 李葆华, 陈以旺. 金线莲提取物 RM 对肾血管性高血压大鼠的血压及血管紧张素 II 的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 2006, 15(6): 552-554.
- [14] 许铁峰, 张汉明, 张磊, 等. 生物技术在中药材品质改良、保护和鉴定等方面的应用[J]. 中国药学杂志, 2003, 38(3): 166-170.
- [15] Abel, S. and Becker, H.C. (2007) The Effect of Autopolyploidy on Biomass Production in Homozygous Lines of *Brassica rapa* and *Brassica oleracea*. *Plant Breeding*, **126**, 642-643. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2007.01405.x>
- [16] 高山林, 徐德然, 蔡朝晖, 朱丹妮. 丹参同源四倍体新物种的培育[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(4): 224-228.
- [17] 吕世民, 梁可钧, 葛传吉, 等. 怀牛膝多倍体育种的研究[J]. 中国中药杂志, 1988, 13(7): 11.
- [18] 李云, 朱之悌. 极端温度处理白杨雌花培育三倍体植株的研究[J]. 北京林业大学学报, 2000, 22(5): 7-12.
- [19] 杨今后, 杨新华. 桑树人工三倍体育种的研究[J]. 蚕业科学, 1989, 15(2): 65-70.
- [20] 张天翔, 林宗铿, 蔡坤秀, 等. 植物多倍体诱导技术的研究进展[J]. 福建热作科技, 2010, 35(2): 29-31.
- [21] 谭素英, 黄秀强, 刘济伟. 提高西瓜四倍体诱导率的研究[J]. 华北农学报, 1993, 8(4): 12-15.
- [22] 郭清泉, 郑思乡, 杨瑞芳, 等. 莲 *Nymphaea L.* 多倍体研究 I. 莲多倍体诱导及变异株的形态特征和细胞学观察[J]. 湖南农业大学学报, 1997(1): 26-29.
- [23] 纪凤高, 邓景扬. 秋水仙素与二甲基亚砷混合水溶液处理小麦×黑麦杂交一代苗进行染色体加倍的试验[J]. 遗传, 1987, 9(3): 3-6+12.
- [24] 王凤宝, 付金锋, 董立峰. 秋水仙素与 DMSO 诱导豌豆同源四倍体[J]. 核农学报, 2009, 23(2): 203-208.
- [25] Waara, S., Pijnacker, L., Ferwerda, M.A., et al. (1992) A Cytogenetic and Phenotypic Characterization of Somatic Hybrid Plants Obtained after Fusion of Two Different Dihaploid Clones of Potato (*Solanum tuberosum*, L.). *Theoretical and Applied Genetics*, **85**, 470-479. <https://doi.org/10.1007/BF00222329>
- [26] 刘继红, 胡春根, 邓秀新. 原生质体电融合再生柑橘属间体细胞杂种[J]. 实验生物学报, 2000, 33(4): 325-331.
- [27] 朱道圩, 杨宵, 鄧玉宝, 等. 用流式细胞仪鉴定中华猕猴桃的多倍体[J]. 植物生理学报, 2007, 43(5): 905-908.
- [28] 张有做, 楼程富, 周金妹, 等. 不同倍性桑品种基因组 DNA 多态性比较[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 1998, 24(1): 79-81.
- [29] Sorrells M E. (1992) Development and application of RFLPs in polyploids. *Crop Science*, **32**: 1086-1091.
- [30] 罗晓青, 吴明开, 查兰松, 等. 珍稀药用植物金线莲研究现状与发展趋势[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(3): 71-74.
- [31] 赖红英, 赵秀萍, 林婉玉, 等. 二甲戊乐灵诱导金线莲多倍体[J]. 分子植物育种, 2015, 13(10): 2355-2361.

#### 期刊投稿者将享受如下服务:

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [bp@hanspub.org](mailto:bp@hanspub.org)