



高皂苷轮叶党参 EMS 诱变突变体研究

马晓菲, 唐玉倩, 于元杰*

(作物生物学国家重点实验室, 山东农业大学 农学院, 山东泰安 271018)

摘 要:以轮叶党参为材料, 采用甲基磺酸乙酯(EMS)处理离体叶片和愈伤组织对轮叶党参进行诱变, 选择最佳诱变组合, 并对诱变再生群体进行遗传分析。结果表明: (1) 轮叶党参叶片和愈伤组织经 EMS 处理的存活率和分化率均低于对照, 并且随 EMS 浓度的升高和处理时间的延长而下降。 (2) 叶片和愈伤组织的致死处理组合分别是 0.4% EMS 处理 4 h 和 0.3% EMS 处理 4 h, 半致死组合分别为 0.3% EMS 处理 2 h 和 0.2% EMS 处理 2 h, 愈伤组织是 EMS 诱变轮叶党参的最佳材料。 (3) 筛选出的 6 号变异株皂苷含量为 5.061 mg/g, 较对照平均值提高了 5.48%。 (4) 对诱变再生苗进行遗传分析, 8 个特异引物对 10 个供试材料共扩增出 59 条带, 具有多态性的谱带数为 44 条, 占 74.6%。材料间的相似系数变化范围 0.453~0.912, 其中 3 号、7 号株与其他 8 株达到了品种间遗传差异。研究认为, EMS 处理可应用于轮叶党参无性变异系的诱变, 3 号、6 号、7 号植株为诱变产生的具有较高皂苷含量的初选植株。

关键词: 轮叶党参; 甲基磺酸乙酯; 突变体; 皂苷

中图分类号: Q813.5; Q789

文献标志码: A

High Saponin Content Mutants of *Codonopsis lanceolata* Induced by EMS

MA Xiaofei, TANG Yuqian, YU Yuanjie*

(State Key Laboratory of Crop Biology, College of Agronomy, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: For discovering the optimum solution, the leaves and callus of *Codonopsis lanceolata* are used to induce the mutations by Ethyl Methyl Sulfone(EMS). The roots of induced plants were analyzed to screen out variant plants. The results showed that: (1) Both the survival rate and differentiation rate of leaves and calluses induced by EMS were lower compared with the control, and reduced along with the rise of concentration and time. (2) The fatal combination of leaves and callus were (0.4% EMS+4 h) and (0.3% EMS+4 h), and the semilethal combination were (0.3% EMS+2 h) and (0.2% EMS+2 h). Callus was the better material on inducing variation of *C. lanceolata*. (3) The variant plant of No. 6 contained 5.061 mg/g saponins which was 5.48% higher than that of the control. (4) Genetic analysis of regenerative group showed that, 10 materials were amplified for 59 strips by 8 special primers, the number of polymorphic strips was 44, which accounted for 74.6%. Genetic similarity coefficients of different materials were among 0.453~0.912. The plants of No. 3, No. 6 and No. 7 were the variations. The research suggested that EMS treatment was an effective way for mutagenesis of somaclonal variation of *C. lanceolata* and achieved to get variant plants which have more saponins.

Key words: *Codonopsis lanceolata*; EMS; mutant; saponin

轮叶党参[*Codonopsis lanceolata* (Sieb. et Zucc.) Trauv.]又名山海螺、四叶参、山胡萝卜等, 是桔梗科多年生草本植物, 珍贵的山野菜种中药材。以根入

药, 有清热解毒、补虚通乳、养阴润肺及祛痰之功效^[1]。轮叶党参含黄酮类、生物碱、挥发油等多种药用有效成分, 研究表明, 轮叶党参皂苷对二乙基亚硝

收稿日期: 2014-02-26; 修改稿收到日期: 2014-04-25

作者简介: 马晓菲(1988—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事植物遗传与生物技术方面的研究。E-mail: gujingling.88@163.com

* 通信作者: 于元杰, 硕士, 教授, 硕士生导师, 主要从事植物生物技术及其在育种上的应用研究。E-mail: yuanjie@sdau.edu.cn

胺致小鼠肝细胞 DNA 损伤有一定的保护作用^[2], 对人肝癌 HepG-2 细胞的生长具有抑制作用^[3]。此外, 轮叶党参还具有延缓衰老, 降血脂, 提高机体免疫力等作用^[4-6], 又因其富含维生素、氨基酸、微量元素等营养成分, 药食同源, 可加工成果脯, 低盐制品, 保健饮料等, 风味鲜美独特, 是中国出口韩国、日本、美国的山菜之王。

近年来, 生态环境恶化导致野生党参产量和质量下降明显, 利用体细胞无性系变异与组织培养相结合的方法来增加党参植物有效成分含量, 提高党参品质日益引起人们的重视。甲基磺酸乙酯(EMS), 是目前运用范围最广也是最为有效的诱变剂, 与其它诱变剂相比, EMS 诱变产生的突变频率高, 且多为显性突变体, 易于筛选。赵天祥等^[7]利用 EMS 诱变构建出小麦 EMS 突变体库, 变异类型丰富, 特别是发现了自然突变中少见的变异类型。由继红等^[8]用 EMS 处理紫花苜蓿愈伤组织, 获得抗寒性突变体。张秀省等^[9]报道利用 EMS 处理长春花愈伤组织发现愈伤组织发生了变异, 不仅生长快, 且吲哚总碱含量高。本研究结合前人工作, 在获得轮叶党参组织培养体系的基础上, 对其外植体和愈伤组织分别进行 EMS 诱变, 探索遗传改良的有效方法, 以期获得皂苷含量较高的优良变异植株, 为党参植物的品种改良及开发利用提供参考和技术支持。

1 材料和方法

1.1 试材及取样

试验用轮叶党参材料采自山东农业大学中药园, 取同一单株上的叶片, 于 4~5 月份采集材料。

1.2 试验方法

1.2.1 EMS 处理离体叶片 取 0.1 mol/L、pH 7.0 的磷酸缓冲液, 高压灭菌, 与 EMS 原液配成的不同浓度的 EMS 处理液(0%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%)。叶片切成约 0.5 cm², 消毒后置 EMS 处理液中分别浸泡 0.5、1.0、2.0 和 4.0 h, 无菌水冲洗 3~5 遍, 接种于诱导培养基(MS+0.5 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L 6-BA+1.0 mg/L KT)。共 20 个处理, 每处理 5 瓶, 每瓶 10 个外植体。暗培养 15 d 后移至光下培养。每 3 d 继代 1 次, 培养基(MS+0.5 mg/L 6-BA+0.75 mg/L NAA)。25 d 后转至分化培养基(1/2MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA)。50 d 后统计存活率和分化率。

存活率(%) = 存活块数/接种总块数 × 100%

分化率(%) = 分化出芽愈伤块数/接种愈伤总

块数 × 100%

1.2.2 EMS 处理愈伤组织 用轮叶党参叶片诱导愈伤组织, 选取继代培养 15~20 d 的愈伤组织, 于不同浓度的 EMS 处理液(0%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%)中分别浸泡 0.5、1.0、1.5 和 2.0 h(期间置于摇床上以 60 r/min 不停摇动), 无菌水冲洗, 接种于分化培养基(1/2MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA)。每处理 5 瓶, 每瓶 10 块愈伤组织。接种 50 d 后统计愈伤组织的存活率和分化率。

1.2.3 根的诱导 不定芽继代 3 次后进行生根诱导, 根诱导培养基 1/2MS+0.2 mg/L IAA+0.2 mg/L NAA。30 d 后统计生根率。

生根率(%) = 生根苗数/接种数 × 100%

1.2.4 炼苗移栽 试管苗根系长达 3~5 cm, 并且长出侧根, 苗高达 4 cm 时, 进行炼苗移栽。移栽基质为腐殖土: 蛭石: 河沙(1:1:1)。取最佳诱变条件下所得生长健壮的处理苗 20 株与健康对照苗 20 株炼苗移栽, 30 d 后统计移栽成活率。

1.2.5 皂苷含量的测定 (1) 轮叶党参皂苷的提取

用筛选出的 EMS 适宜浓度和时间组合再分别对各离体组织进行批量处理, 将再生植株转入生根培养基中扩繁 2 代并培养 60 d, 选取扩繁后长势良好、生根粗壮的再生苗和对照的根各 5 个, 测定根中皂苷的含量。

将鲜根洗净, 烘干, 用研钵磨碎成粉末。取粉末(过 3 号筛)约 2 g, 精密称定, 精密加入甲醇 100 mL, 称重, 放置过夜, 加热回流 2 h, 放冷, 用甲醇补失重, 过滤, 精密量取续滤液 50 mL, 蒸干, 残渣加甲醇溶解, 转移至 5 mL 量瓶中, 并稀释至刻度, 摇匀, 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得到轮叶党参供试品溶液。

(2) 皂苷含量的测定 ①标准品溶液的配制。精密称取轮叶党参皂苷标准品适量, 加甲醇溶解制成每 1 mL 含轮叶党参皂苷 0.896 mg 的标准品溶液。②采用 RP-HPLC 法。色谱条件: 色谱柱 Diamonsil-C18(250 mm×4.6 mm, 5 μm); 流动相为乙腈-0.1%甲酸(33:67); 流速 1.0 mL·min⁻¹; 检测波长 207 nm; 柱温 30 ℃; 进样量 10 μL。③标准曲线的绘制。分别精密吸取标准品溶液 2.0、5.0、10.0、15.0、20.0 μL, 注入 HPLC 仪中, 按上述色谱条件测定峰面积。以峰面积积分值(y)为纵坐标, 进样量(x, μg)为横坐标, 制备标准曲线, 得回归方程为 $y = 8.45 \times 10^5 x - 5.98 \times 10^3$ ($r = 0.9677$)。结果表明, 轮叶党参皂苷进样量在 1.792~17.92 μg

范围内与峰面积积分值呈良好的线性关系。

1.2.6 诱变再生群体的 RAPD 分析 采用 CTAB 法提取基因组 DNA。总反应液以 25 μL 为基本单位,模板 DNA 浓度稀释 10 倍。

反应体系为 10 $\times$ buffer 2.5 μL , Mg^{2+} (2.5 mmol/L) 1.2 μL , dNTP (2.5 mmol/L) 1 μL , Taq 酶 0.2 μL , Primer (20 ng/ μL) 2 μL , DNA (30 ng/ μL) 2 μL , ddH₂O 16.1 μL 。反应程序为 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min, 40 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 40 个循环后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。

试验采用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。制备 1% 琼脂凝胶,电泳缓冲液为 1 $\times$ TBE,电泳电压为 100 V,电泳约 15 min。采用 EB 染色,由凝胶成像系统拍照保存。

1.2.7 数据分析 采用 DPS2000 数据处理软件对统计数据进行分析,比较差异显著性。

根据电泳图谱,将观测到的每一条带视为一个性状,把有带的量化为 1,无带的量化为 0,数据输入计算机标准化处理。利用 NTSYSPC21-2 软件进行数据的遗传分析,计算各株间的遗传相似系数(G_s)和遗传距离指数(D)。

2 结果与分析

2.1 EMS 处理对轮叶党参离体叶片和愈伤组织的影响

经 EMS 处理过的叶片和愈伤较对照颜色变褐、质地变软、失去光泽(图 1, A、B),存活率和再生率均低于对照(表 1)。

在 0.1% EMS+0.5 h 处理的所有组合中,叶片的存活率达到 100%,但当处理组合达到 0.3% EMS+2 h 时,叶片的存活率仅为 46.7%。因此,0.4% EMS+4 h 是离体叶片的致死处理组合,0.3% EMS+2 h 是离体叶片的半致死处理组合。同理,愈伤组织的致死剂量是 0.3%+4 h,半致死

处理组合为 0.2%+2 h。与叶片相比,愈伤组织对 EMS 处理更敏感。

随着 EMS 浓度的增大,EMS 对存活率的影响较对分化率的影响大。以叶片为例,在 EMS 浓度从 0.1% 上升到 0.4% 的过程中,叶片的分化率降低为 40% 左右,而存活率降低了约 60%。

EMS 处理时间对存活率的影响也比对分化率的影响大。在 EMS 处理时间从 0.5 h 增至 4 h 的过程中,愈伤存活率从 70.0% 减至 17.5%,降低率为 52.5%,而分化率降低约 35.9%。可见相对于分化率,EMS 抑制离体叶片和愈伤的存活作用更强。

2.2 不同处理对再生苗生根的影响

再生苗接种到生根培养基 15 d 后,芽基部开始产生白色小突起,然后长成具有浓密根毛的白色根(图 1, C),45 d 后生根趋于稳定。

EMS 处理会显著降低丛生芽的生根率(表 2),轮叶党参离体叶片和愈伤组织在半致死浓度下均成功生根,说明本实验中 EMS 的半致死浓度可以作为诱变浓度。同时在 EMS 处理离体叶片和愈伤组织的半致死组合下,愈伤组织的生根率为 12.3%,高于叶片生根率(9.8%),因此,轮叶党参愈伤组织更适宜用做 EMS 的诱变处理材料,0.2% EMS 处理愈伤组织 2 h 是 EMS 诱导轮叶党参的上限处理组合。

2.3 炼苗移栽

EMS 处理获得的大部分处理苗较对照生长缓慢。但是部分处理苗表现出较好的形态特征,主要表现在叶片颜色深,茎叶较为粗壮(图 1, D)。

分别对 20 株处理苗和对照苗统计移栽成活率。在适宜移栽条件下对照的移栽成活率可达到 85%,而经过 EMS 处理所得幼苗成活率只有 45%(表 3),可见 EMS 处理降低了幼苗移栽成活率。

2.4 变异体获得及皂苷含量的测定

EMS 处理获得的材料中存在长势较对照苗旺

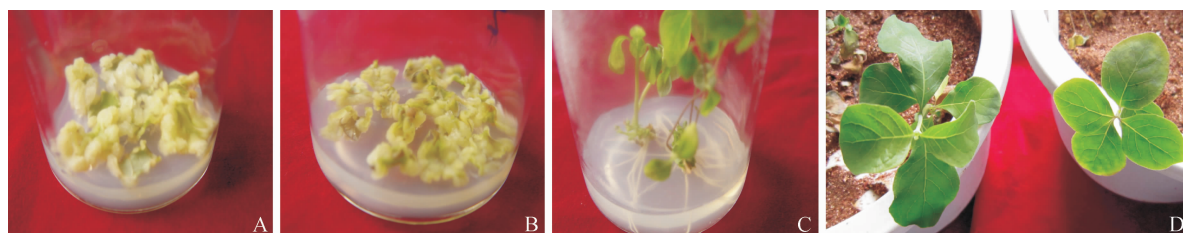


图 1 轮叶党参离体叶片和愈伤组织的诱变与组织培养

A. 正常叶片愈伤组织;B. EMS 处理后的叶片形成愈伤组织;C. 再生苗生根;D. 诱变苗(左)与正常苗(右)

Fig. 1 Callus induction from leaves and regeneration of *C. lanceolata* in vitro

A. Normal callus of leaves;B. Callus of leaves induced by EMS;C. Rooted plantlets;D. The variant plant(left) and the normal plant(right)

表 1 EMS 对轮叶党参离体叶片和愈伤组织再生的影响
Table 1 Effects of EMS on regeneration of leaves and callus

外植体 Explant	项目 Item	EMS 浓度 EMS concentration /%	EMS 处理时间 Treatment time/h				平均 Average
			0.5	1.0	2.0	4.0	
离体叶片 Leaf	存活率 Survival rate/%	0(CK)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		0.1	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0a
		0.2	100.0	100.0	83.3	70.0	88.3b
		0.3	100.0	70.0	46.7	10.0	56.7c
		0.4	100.0	60.0	13.3	0.0	43.3d
		平均 Average	100.0a	82.5b	60.8c	45.0d	
	分化率 Differentiation rate/%	0(CK)	83.3	80.0	76.7	66.7	76.7
		0.1	60.0	53.3	50.0	40.0	50.8a
		0.2	53.3	46.7	32.0	14.3	36.6b
		0.3	40.0	28.6	14.3	0.0	20.7c
		0.4	37.3	0.0	0.0	0.0	9.3d
		平均 Average	47.7a	32.2b	20.1c	13.6d	
愈伤组织 Callus	存活率 Survival rate/%	0(CK)	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
		0.1	90.0	86.7	67.7	50.0	73.6a
		0.2	86.7	70.0	50.0	20.0	56.7b
		0.3	66.7	46.7	26.7	0.0	35.0c
		0.4	36.7	14.3	10.0	0.0	15.3d
		平均 Average	70.0a	54.4b	38.6c	17.5d	
	分化率 Differentiation rate/%	0(CK)	86.5	83.3	80.0	73.3	80.8
		0.1	55.7	42.3	25.0	6.7	32.4a
		0.2	46.2	28.6	13.3	0.0	22.0b
		0.3	15.0	6.7	0.0	0.0	5.4c
		0.4	3.3	0.0	0.0	0.0	0.8d
		平均 Average	37.6a	19.4b	9.6c	1.7d	

注:数值后的小写字母表示不同处理间 0.05 水平下差异显著;下同。
Note:Different lowercase letters indicate significant difference at the 0.05 level between different treatments. The same as below.

表 2 不同 EMS 浓度、不同时间处理的再生芽生根率
Table 2 Rooting rate of regenerated shoots in different concentrations of EMS and treatment time

处理时间 Treatment time/h	离体叶片再生芽生根率 Rooting rate of leaves/%					愈伤组织再生芽生根率 Rooting rate of callus/%				
	CK	0.1	0.2	0.3	0.4	CK	0.1	0.2	0.3	0.4
0.5	88.0	72.2	56.3	25.0	9.1	88.5	66.7	41.6	16.7	0.0
1.0	83.3	62.5	35.7	14.7	0.0	84.0	36.4	25.0	8.7	0.0
2.0	78.3	46.7	26.9	9.8	0.0	79.2	25.0	12.3	0.0	0.0
4.0	70.0	25.0	12.3	0.0	0.0	68.2	0.0	0.0	0.0	0.0

盛的再生植株,主要表现在生根多且主根粗壮;茎叶长势旺盛,而且常伴随着茎叶肥厚、颜色偏重。对其中表现较为突出的 10 株(包括离体叶片诱导形成的 5 株及愈伤组织诱导形成的 5 株)和 2 组对照测定根中皂苷的含量。

组培过程对轮叶党参皂苷含量影响不明显,对照组皂苷含量平均值为 4.798 mg/g(表 4)。经 EMS 处理后获得的轮叶党参再生植株,皂苷含量变化差异显著,变化幅度为 0.001~0.372 mg/g。3 号,6 号,7 号的皂苷含量均高于对照平均值,其中 6

表 3 EMS 处理苗与对照苗移栽成活率的比较
Table 3 Survival rate contrast between processed seedlings by EMS and control

项目 Item	对照 Control	诱变处理 Mutagenesis
移栽株数 No. of plantlets	20	20
成活株数 No. of survived plantlets	17	17
成活率 Rate of survived plantlets/%	85	45

号植株皂苷含量为 5.061 mg/g,较对照平均值提高了 5.48%,说明 EMS 处理离体叶片和愈伤组织是诱导轮叶党参产生皂苷含量变异的有效途径。

2.5 诱变再生苗 RAPD 分析

用 200 个随机引物对上述 10 株组培苗进行 PCR 扩增,筛选出 8 条带纹清晰、具有多态性的引物(表 5)。8 个特异引物对 10 个供试材料扩增出

表 4 EMS 处理组的皂苷含量

Table 4 Content of saponin of treatment groups

外植体 Explant	变异株号 No. of variant plants	皂苷含量 Content of saponin/(mg/g)	
		对照 Control	EMS
离体叶片 Leaf	1	4.792	4.800d
	2	4.797	4.792cd
	3	4.802	4.926a
	4	4.800	4.801d
	5	4.807	4.802cd
愈伤组织 Callus	6	4.802	5.061a
	7	4.787	4.920b
	8	4.801	4.689bc
	9	4.793	4.803cd
	10	4.801	4.802cd
变异系数 Coefficient of variation		0.001	0.021

表 5 RAPD 分析所用的引物序列及扩增谱带

Table 5 Primers used for RAPD analysis and its patterns

引物 Primer No.	序列 Sequence	每个引物扩增谱带数 Bands per primer	具多态性的谱带数 Polymorphic bands
S012	AGGCAGCCTG	7	7
S023	GTTCTCGGAC	6	3
S089	GGGAAGACGG	7	5
S126	GGATCGTCGG	8	6
S147	GGGTCGGCTT	5	3
S157	CCACCACGAC	10	8
S179	GGCGCGTTAG	7	6
S196	ACACCTGCCA	9	6
总计 Total		59	44

59 条带,平均每个引物可获得扩增带 7.4 条,最少的可扩增 5 条带,最多的达 10 条。其中具有多态性的谱带数为 44 条,占 74.6%。由引物 S012 的扩增结果(图 2)可见,除 8 号与 10 号株谱带大致相近外,其他所有植株的扩增结果都不相同,说明 EMS 处理获得了很高的突变率。

2.6 遗传相似性分析

根据扩增多态性统计,分别计算出遗传相似系数(G_s)和遗传距离指数(D)。不同材料间的遗传相似系数在 0.453~0.912 之间(表 6)。其中 9 号株与 10 号株之间相似程度最高,1 号与 6 号相似程度最低。皂苷含量较高的 3 号、6 号和 7 号株均表现出与其它植株间遗传距离较大的特征,说明较高皂苷含量和较大遗传差异之间存在必然关系。

6 号株与其它 7 组间的遗传距离为 0.434,而 3 号、7 号与其它所有植株间的遗传距离达到了 0.5,相当于品种间的遗传差异。皂苷含量提高的 3 组(3 号、6 号、7 号)相互间的遗传差异也较大,说明 EMS 诱变不仅可以用于选育皂苷含量高的轮叶党参新品

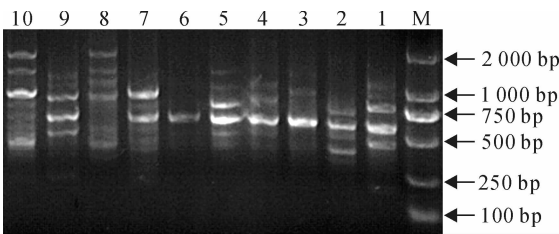


图 2 引物 S012 的 RAPD 扩增结果

M, DNA marker;1~10. EMS 诱导的变异株 DNA

Fig. 2 The amplified result of primer S012

M, DNA marker;1~10. The DNA of variant

plants induced by EMS

表 6 10 株轮叶党参组培苗的遗传相似系数和遗传距离指数

Table 6 Genetic similarity and genetic distance index of 10 *C. lanceolata* tissue culture seedlings

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1		0.290	0.544	0.269	0.340	0.547	0.486	0.423	0.276	0.226
2	0.710		0.434	0.284	0.276	0.490	0.473	0.358	0.363	0.297
3	0.456	0.566		0.398	0.434	0.521	0.385	0.417	0.481	0.467
4	0.731	0.716	0.602		0.313	0.434	0.439	0.264	0.290	0.323
5	0.660	0.724	0.566	0.687		0.453	0.437	0.275	0.282	0.327
6	0.453	0.51	0.479	0.566	0.547		0.5	0.475	0.5	0.545
7	0.514	0.527	0.615	0.561	0.563	0.5		0.458	0.426	0.450
8	0.577	0.642	0.583	0.736	0.725	0.525	0.542		0.211	0.263
9	0.724	0.637	0.519	0.710	0.718	0.5	0.574	0.789		0.088
10	0.774	0.703	0.533	0.667	0.673	0.455	0.550	0.737	0.912	

注:左下方数据为遗传相似系数,右上方数据为遗传距离指数。

Note:Figures at the lower left are genetic similarity,and the upper right are genetic distance index.

种,还能产生多样的变异类型,丰富育种基础材料。综上,判断3号、6号和7号植株为有较高皂苷含量的初选植株。

3 讨论

本试验中,以轮叶党参的叶片、茎段诱导愈伤组织时,出现了愈伤褐化现象,且在EMS处理组培养基后,由于EMS的毒副作用延缓了组培进程更加大了褐化率,愈伤死亡率明显增加,这使得降低褐化率成为影响实验成功的重要环节。研究发现,酚类化合物的含量与褐变现象有直接关系^[10],而植物在生长旺盛季节大都含有较多的酚类化合物^[11]。另外,采集后的外植体接种前无菌水浸泡2~3 h,接种后1~2 d转接到新鲜培养基也是控制褐变的有效措施^[12]。本试验采取春季4~5月份采集的外植体,消毒过程中在无菌水中切割材料,接种3d后将材料转入新鲜培养基,缩短转瓶周期的措施,对培养物的挽救作用十分明显,是防止轮叶党参愈伤褐变的有效手段。

诱变材料的选择在诱变育种过程中占有重要地位,通常情况下,对诱变剂敏感的材料更适用于诱变

育种。研究表明,植物生殖器官的敏感性要高于营养器官,这可能与细胞的分化程度有关。不同组织之间,分生组织的敏感性要大于成熟组织。梁国平等^[13]对红掌的不定芽和愈伤组织进行辐射诱变时,发现愈伤组织对射线更为敏感。本试验分别对轮叶党参叶片诱导的愈伤组织以及离体叶片进行EMS诱变处理,结果表明,愈伤组织对EMS诱变剂更为敏感,与多数研究者所得结论一致。

当前,采用物理和化学诱变方法来提高植物皂苷含量已得到广泛应用,但皂苷含量的提高率受诱变材料及诱变方式的影响较大。李波^[14]用紫外诱变法处理苜蓿种子,产生的愈伤组织的皂苷含量高于未处理的种子0.3%。崔永霞等^[15]对辐射诱变的盾叶薯蓣株系进行皂苷元含量分析,得到的诱变株皂苷元含量平均比对照株系高出25.0%。本试验采用EMS化学诱变组培材料的方法,诱导获得的轮叶党参再生植株皂苷含量较对照提高了5.48%,诱变效果处于前两者之间。虽然此方法能否应用于大规模工厂化生产有待进一步研究,但为利用无性系变异的方法增产轮叶党参药用成分提供了证据。

参考文献:

- [1] 中药志(第一册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1993:375—377.
- [2] ZHENG CH J(郑春姬), YU X(俞星), HAN CH J(韩春姬). Protective effect of *Codonopsis lanceolata* saponin on DNA damage in liver cells induced by diethylnitrosamine[J]. *Food Science*(食品科学), 2013, **34**(11): 254—257(in Chinese).
- [3] YU X(俞星), LI L(李林), HAN CH J(韩春姬), et al. Effects of *Codonopsis lanceolata* total saponin on apoptosis in HepG-2 cells[J]. *Journal of Jilin University*(Medicine Edition)(吉林大学学报·医学版), 2011, **37**(6): 1 090—1 093(in Chinese).
- [4] NIE S L(聂松柳), XU X X(徐先祥), XIA L ZH(夏伦祝). Effect of total saponins of *Codonopsis* on blood lipid and nitric oxide level in experimental hyperlipemia rats[J]. *Journal of Anhui TCM College*(安徽中医学院学报), 2002, **21**(4): 40—42(in Chinese).
- [5] XU Q(徐勤), CHEN X J(陈晓军), et al. Studies on invigorating energy, activating blood flow, resolving blood stasis and anti-aging actions of alcohol extracts of *Codonopsis lanceolata*[J]. *Guangxi Medical Journal*(广西医学), 2008, **30**(12): 1 834—1 837(in Chinese).
- [6] WANG D C(王德才), QIU Y Y(邱玉玉), ZHANG X ZH(张显忠), et al. Immunoregulation of polysaccharides from radix *Codonopsis lanceolata* from Mount Taishan in juvenile and immunosuppressed mice[J]. *Lishizhen Medicine and Materia Research*(时珍国医国药), 2009, **20**(11): 2 886—2 888.
- [7] ZHAO T X(赵天祥), KONG X Y(孔秀英), ZHOU R H(周荣华), et al. Morphological identification and analysis of EMS mutants from hexaploid wheat cultivar Yanzhan 4110[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学), 2009, **42**(3): 755—764.
- [8] YOU J H(由继红), YANG W J(杨文杰), LI SH Y(李淑云). The selection of cold-resistant mutants of Alfalfa[J]. *Journal of Northeast Normal University*(东北师大学报), 1996, **2**: 84—87(in Chinese).
- [9] ZHANG X SH(张秀省), ZHANG R T(张荣涛), CAO L(曹岚), et al. Mutation in *Catharanthus roseus* induced by EMS[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), 2004, **35**(11): 1 293(in Chinese).
- [10] GAO G X(高国训). Browning in plant tissue culture[J]. *Plant Physiology Communications*, 1999, **35**(6): 501—506(in Chinese).
- [11] MAIER V, METZLIER DM. Quantitative changes in data polyphenols and their relation to browning[J]. *Food Sci.*, 1965, **30**: 80—84.
- [12] BIEDERMANN EG. Factors affecting establishment and development of *Magnolia hybrids in vitro*[J]. *Acta Hort*, 1987, **212**: 625—629.
- [13] LIANG G P(梁国平), XIAO S Y(肖三元), GUAN Y(管艳). A preliminary report on radiated material with ⁶⁰Co for anthurium tissue culture[J]. *Tropical Agricultural Science & Technology*(热带农业科技), 2005, **28**(3): 24—26(in Chinese).
- [14] LI B(李波). Influence of study on saponins accumulation of Alfalfa seeds treated by ultraviolet ray mutation[J]. *Seed*(种子), 2008, **27**(1): 38—39(in Chinese).
- [15] CUI Y X(崔永霞), WU M X(吴明侠), XIE C X(谢彩侠), et al. Analysis of physio-chemical index and the content of diosgenin in radiation lines of *Dioscorea zingiberensis*[J]. *Chin. Hosp. Pharm. J.*(中国医院药学杂志), 2009, **29**(23): 1 971—1 973(in Chinese).