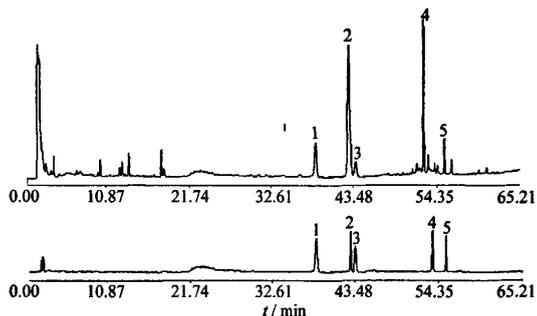


相似度计算结果显示,16 批三七剪口药材指纹图谱相似度均大于 0.92。不同产地之间相似度有差异,如文山平坝镇地区与文山平坝小街地区;而在同一产地差异较小,如文山平坝镇、文山苗乡(马鞍山)、砚山县水泥厂旁和邱北县腻脚地区。相似度分析结果说明本实验建立的指纹图谱方法可以作为三七剪口的质量评价手段。

3 讨论

3.1 提取条件的选择:三七药材中的有效成分除了皂苷类外,还有三七素及黄酮类,在测定其指纹图谱时,这些成分应在图谱中得到反映。如采用甲醇作为提取溶剂,得到的三七指纹图谱只能表达皂苷类成分,无法表达在甲醇中溶解性较差的化学成分^[5],因此最终选定以水为提取溶剂。

3.2 色谱条件的确定:比较了水-甲醇和水-乙腈不同体系下,色谱峰的分离情况。结果表明选择水-甲醇体系的基线波动较大,而水-乙腈体系则可以得到较好的分离结果。分别对水-乙腈体系的不同洗脱梯度进行了试验,结果以本实验中所列梯度出峰较多且色谱峰分离度较好。同时对三七药材供试品溶液进行了 120 min 的 HPLC 测定,结果 65 min 后无色谱峰出现,所以选定指纹图谱记录时间为 65 min。典型的三七剪口药材指纹图谱见图 2-A,指纹图谱中 20 min 之前的色谱峰紫外吸收最大值为 254 nm,为黄酮类成分^[6],35 min 后色谱峰的紫外吸收与对照品的色谱峰(2-B)的紫外吸收对照后,确认为皂苷类成分。



1-三七皂苷 R₁ 2-人参皂苷 Rg₁ 3-人参皂苷 Re
4-人参皂苷 Rb₁ 5-人参皂苷 Rd
1-notoginsenoside R₁ 2-ginsenoside Rg₁ 3-ginsenoside Re
4-ginsenoside Rb₁ 5-ginsenoside Rd

图 2 三七剪口 (A) 和对照品 (B) HPLC 色谱图
Fig. 2 HPLC Fingerprint of rhizome of *P. notoginseng* (A) and reference substance (B)

References

[1] Luo G A, Wang Y M. Classification and development of TCM fingerprint [J]. *Chin J New Drugs* (中国新药杂志), 2002, 11 (1): 46-51.
[2] Zheng G Z, Yang C R. *The Biological Research and Application of Panax Notoginseng* (三七生物学及应用) [M]. Beijing: Science Press, 1994.
[3] Wei J X. *Modern Research and Application of Panax Notoginseng* (三七现代研究及应用) [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Publishing House, 1976.
[4] Cui X M, Wang Z L, He C F. Study on the planting of *Panax Notoginseng* with farm film [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1993, 16 (11): 3-6.
[5] Zhou Y X, Yuan Y S, Gao X, et al. Studies on the fingerprint of *Radix Notoginseng* and its preparation [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2001, 26 (2): 122-123.
[6] Cui X M, Dong T X, Huang W Z, et al. Determination of flavonoids in *Panax notoginseng* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33 (7): 611-612.

广西地不容组培快繁研究

黄宁珍,唐凤鸾,付传明,李 锋,赵志国

(广西壮族自治区中国科学院 广西植物研究所,广西 桂林 541006)

摘要:目的 研究广西地不容的组培快繁技术,为大量生产种苗提供方法和技术。方法 以嫩茎节段为外植体,以 MS 为基本培养基,通过不同的激素种类和浓度配比,选择出最佳的诱导、继代增殖和生根培养基配方。结果 MS+NAA 0.1 mg/L+BA 1.0 mg/L 利于诱导出芽,可用于初代培养。继代增殖则以 MS+IBA 0.4 mg/L+NAA 0.2 mg/L+GA 0.5~1.0 mg/L、MS+NAA 0.1 mg/L+GA 1.0 mg/L 和 MS+IBA 0.2 mg/L+BA 0.4~0.8 mg/L+GA 0.5~1.0 mg/L 3 种培养基交替培养,繁殖系数 6.0 倍/50 d。1/2 MS+IBA 0.8 mg/L 适宜诱导生根获得再生植株,生根率 75%。生根苗春夏之交移栽最好,成活率 90%。结论 本研究得出的方法可用于工厂化生产广西地不容种苗。

关键词:广西地不容;组培快繁;种苗

中图分类号:R282.13

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)03-0445-05

收稿日期:2006-05-12

基金项目:广西壮族自治区科技攻关项目(桂科攻 0322024-3B)

作者简介:黄宁珍(1968-),女,广西大化县人,副研究员,从事药用植物生物技术研究工作。

E-mail:huangnz@gxib.cn hnzhen68@yahoo.com.cn

Tissue culture and rapid proliferation of *Stephania kwangsiensis*

HUANG Ning-zhen, TANG Feng-luan, FU Chuan-ming, LI Feng, ZHAO Zhi-guo

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuangzu Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China)

Abstract; Objective To optimize the tissue culture and rapid-proliferation techniques of *Stephania kwangsiensis* for producing large-scale seedlings. **Methods** The tender stems were used as explants and cultivated in different MS media. The optimum media for inducing buds, subproliferation, and rooting were selected by adjusting the various kinds and concentrations of plant hormones. **Results** The medium MS + NAA 0.1 mg/L + BA 1.0 mg/L was suitable for buds' inducing and could be used in the first generative cultivation. Subproliferation needed to be cultivated alternately in the following three media; MS + IBA 0.4 mg/L + NAA 0.2 mg/mL + GA 0.5–1.0 mg/L, MS + NAA 0.1 mg/L + GA 1.0 mg/L, and MS + IBA 0.2 mg/L + BA 0.4–0.8 mg/L + GA 0.5–1.0 mg/L; propagation coefficient was 6.0 times/50 d. The medium $1/2$ MS + IBA 0.8 mg/L was apt to induce rooting and the rooting rate was 75%, so it can be used as rooting medium. Rooting plantlets were transplanted between spring and summer and its surviving rate was up to 90%. **Conclusion** The rapid-proliferation technique of *S. kwangsiensis* can be used for producing large-scale seedlings.

Key words: *Stephania kwangsiensis* H. S. Lo; tissue culture and rapid-proliferation; seedlings

广西地不容 *Stephania kwangsiensis* H. S. Lo 属防己科千金藤属多年生草质藤本落叶植物, 生长于石灰岩地区山地灌丛, 主要分布在广西百色地区靖西、凌云等县, 为广西石山特有濒危物种^[1]。其植株单性、雌雄异株、异交, 种子小、种壳坚硬, 自然条件下萌发困难, 因此, 繁殖能力极差。加上近年来人为的破坏及各种环境因素的影响, 其种群及个体数量急剧减少, 物种生存受到威胁。在《广西中药材标准》中, 广西地不容收载为金不换的植物来源品种之一, 是壮族等少数民族民间常用草药, 具清热解毒、散瘀消肿之功效, 用于胃、十二指肠溃疡疼痛, 上呼吸道感染, 急性胃肠炎, 牙痛, 神经痛, 痈疮肿毒, 跌打肿痛等。其块根中含有多种生物碱, 是生产中药镇痛定的重要原料, 在临床上用于镇痛、镇静、解热^[2~4]等。最近, 除了陆续分离到一些新的生物碱成分外, 还发现其中的 *l*-罗默碱对褐飞虱有触杀作用, 为化学杀虫剂马拉硫磷触杀毒力的 7.48 倍^[5], 是一种很有前景的低毒植物农药。随着相关各项研究的深入, 越来越多的生物功效被发现, 广西地不容的应用前景更为广阔, 开发应用和物种资源紧缺的矛盾也显得日益突出, 因而通过组织培养和快速繁殖对广西地不容进行繁育意义十分重大。目前, 除了地不容毛状根诱导培养外^[6], 组织培养与快速繁殖研究尚未见有报道, 因此, 本实验以种质繁育保护和生产为目的, 对广西地不容进行组培快繁研究。

1 材料与方 法

1.1 材料和处理: 供试材料来源于广西靖西、凌云等县, 采集其块根并种植于广西植物园内, 剪下新长出的嫩梢, 用自来水冲洗干净, 然后在超净工作台上剪成节段, 用 70% 乙醇浸泡 30 s, 再用 0.1% $HgCl_2$ 溶液浸泡 6 min, 取出后用无菌水浸洗 5 次, 以消毒过的吸水纸吸干水, 剔除可能残留有 $HgCl_2$ 的两端伤口, 将材料剪成 1.5~2.0 cm 的节段(每一节段带一个腋芽), 接种于诱导培养基上。

1.2 培养基: 以 MS 为基本培养基, 根据实验目的和材料的生长情况添加不同种类和质量浓度的植物激素, 包括 6-BA、IBA、NAA、BR、2,4-D 及 GA_3 , 并附加 2.0%~3.0% 蔗糖、0.5% 琼脂, pH 值为 5.8。分装后, 于 121 °C、压力为 105 Pa 的条件下灭菌 25 min。

初代培养: 以 MS 为基本培养基(蔗糖 3%), 按不同的质量浓度组合添加: (1) BA: 0.5、1.0、2.0 mg/L; (2) NAA: 0.05、0.1 mg/L; (3) IBA 0.1 mg/L。外植体消毒后接入装有相应培养基的试管中, 培养, 2 周后定期观测材料的生长情况, 筛选出适用于初代培养的激素种类、质量浓度和组合。

继代培养: 以 MS 为基本培养基(蔗糖 3%), 根据需要按不同的质量浓度和组合加入下列植物激素: (1) 6-BA: 0.01、0.2、0.4、0.8、1.0 mg/L; (2) NAA: 0.02、0.005、0.1、0.2、0.5 mg/L; (3) IBA: 0.05、0.1、0.2、0.4、0.8 mg/L; (4) BR: 0.05、0.1 mg/L; (5) 2,4-D: 0.01、0.02、0.04 mg/L; (6) GA_3 :

0、0.5、1.0、2.0 mg/L。将初代培养得到的材料接种到继代培养基中，每瓶接种 3~5 个外植体，培养，可得丛生芽或小苗。将形成的丛生芽分割，或将小苗切成小段，转入新鲜的继代培养基中进行增殖培养。材料接种 3 周后定期观测，根据材料的生长情况，调整培养基中植物激素的种类、质量浓度和组合，探索出合适的继代培养基配方及培养方法。

生根培养：以 1/2MS 为基本培养基（蔗糖 2%），加入下列不同的激素及质量浓度：（1）NAA：0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L；（2）IBA：0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/L；（3）BR：0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/L。将生长健壮、带叶的芽苗分成单株，接入培养基中诱导生根。如果芽苗过高，可剪成 4~5 cm 的小段后再接种。每瓶接种 3~5 株，培养，30 d 后观测并统计生根率，选出合适的生根培养基。

1.3 培养条件：材料接种后，在平均照度 2 000 lx 的光照下培养，光照时间 12 h/d；温度（28±3）℃。

1.4 生根苗的移栽：根据广西地不容原来的分布生境，将腐质土和堆沤发酵好的猪粪按 4：1 均匀混合，用 800 倍托布津可湿性粉剂消毒，装入营养杯中作为移栽基质。将生好根的试管小苗，移出培养室后，在室外炼苗 5 d，洗净根系上的培养基，移栽至装好基质的营养杯中，在荫蔽度 70% 的大棚中培养，40 d 后统计成活率。

2 结果与分析

2.1 外植体的选择与消毒：在采样及消毒过程中发现，广西地不容嫩茎节比茎尖对消毒剂 HgCl₂ 的耐受能力要强得多，用同样的方法消毒，嫩茎节的成活率为 70%，而茎尖为 0。茎尖较嫩，在消毒后 1~2 d 内全部褐变并死亡。因此，通常情况下，外植体的选取以嫩茎节为主。综合污染率、死亡率等因素，用 0.1% 的 HgCl₂ 消毒 6 min 效果最好。

2.2 初代培养与诱导出芽：观测不同质量浓度的 BA（0.5、1.0、2.0 mg/L）与 NAA（0.05、0.1 mg/L）共 6 个组合的试验发现，培养基 MS+NAA 0.1 mg/L+BA 1.0 mg/L 上的培养材料出芽率最高，达 70% 以上，芽苗生长最快，经过 35 d 培养，平均苗高 9.8 cm（表 1）。若是以 0.1 mg/L IBA 代表 NAA，出芽率相差不大，但芽苗节间短、矮壮，经 37 d 培养后，平均苗高 4.7 cm（表 1）。可见，在合适的质量浓度下，NAA 和 IBA 对出芽率没有大的影响，但前者的芽苗生长速度较快。因此，MS+NAA 0.1 mg/L+BA 1.0 mg/L 和 MS+IBA 0.1 mg/L+BA 1.0 mg/L 均可作为初代培养的培养基，但前者更好。

表 1 NAA 和 IBA 对出芽率和芽苗生长的影响

Table 1 Effect of NAA and IBA on budding rate and shoot growth

培养基/ (mg·L ⁻¹)	培养天 数/d	观测量 /管	出芽率 /%	平均苗高 /cm	苗的形态
MS+NAA 0.1+BA 1.0	35	25	72.0	9.8	高、中等壮
MS+IBA 0.1+BA 1.0	37	27	70.4	4.7	矮、壮

2.3 继代培养与增殖：继代增殖是广西地不容组培快繁成功的关键环节。在实验过程中发现，如果把初代培养得到的材料直接转接到含细胞分裂素 6-BA 的培养基上，不论如何调整其质量浓度、或改变与其他各类激素的配比，材料生长及繁殖效果均不理想。接种 30~40 d 后观测，仅长成 0.1~1.0 cm 长的小芽，芽黄化、萎缩、细弱，即使在培养基中加入促使细胞伸长的激素 GA₃ 也不起任何效果。根据材料生长情况，通过不断调整培养基中激素的种类、质量浓度和组合，得以下结果：

（1）材料不宜连续两代以上在含 BA 的培养基上培养。若连续继代到含 BA 的培养基上，培养初期虽能诱导出多个芽点，但新形成的芽细弱、萎缩，茎节不能伸长，叶小甚至退化成只剩叶柄（图 1-1），生长和增殖速度下降，这种现象并不随 BA 质量浓度的降低或 GA 质量浓度的增高而有所缓解。因此，继代增殖的关键是以含 BA 和不含 BA 的培养基交替培养。

（2）在不同激素种类、质量浓度和组合的继代培养基中，筛选出材料生长较好的 5 个组合：①MS+IBA 0.4 mg/L + NAA 0.2 mg/L + GA 0.5~1.0 mg/L；②MS+NAA 0.1 mg/L+GA 1.0 mg/L；③MS+NAA 0.05~0.1 mg/L；④MS+BR 0.05~0.1 mg/L 和⑤MS+IBA 0.2 mg/L+BA 0.4~0.8 mg/L+GA 0.5~1.0 mg/L。将材料接种在这 5 种培养基上，观测并统计芽苗的生长数据（表 2）。结果表明：①号培养基芽苗的高度、粗壮度及外观最好（图 1-2）；⑤号培养基材料的增殖和生长速度最快（图 1-3）。



1-培养基中不加 BA (50 d) 2-培养基中加 BA (19 d)
3-连续二代加 BA (30 d)

1-medium without BA (50 d) 2-medium with BA (19 d)
3-media with BA for two successive generations (30 d)

图 1 不同继代培养基上的芽苗

Fig. 1 Shoots in various media

表 2 广西地不容在不同的继代培养基中的生长状况
Table 2 Growth of *S. kwangsiensis* in various subcultivation

培养基/(mg · L ⁻¹)	培养时间/d	观测的瓶数/ 外植体块数	每块外植体的 平均芽数	平均苗高/ cm	苗的形态	增殖倍数
① MS+IBA 0.4+NAA 0.2+GA 0.5~1.0	50	10/54	2.3	8.0	粗壮	5
② MS+NAA 0.1+GA 1.0	50	5/25	2.0	7.0	粗壮	4
③ MS+NAA 0.05	50	5/23	2.2	5.5	粗壮	4
MS+NAA 0.1	50	5/26	1.7	5.0	粗壮	4
④ MS+BR 0.05	50	5/24	2.0	6.5	粗壮	4
MS+BR 0.1	50	5/24	1.8	5.5	粗壮	4
⑤ MS+IBA 0.2+BA 0.4~0.8+GA 0.5~1.0	35	10/51	5.0	4.5	中等	7

(3)材料若连续在不含 BA 的培养基中培养,如上述的培养基①、②、③、④,所得的芽苗较高也比较健壮,但诱导的芽数少,生长相对较慢,继代时间长(表 2)。因此,广西地不容虽然可以在不含 BA 的培养基上连续继代,但繁殖速度较慢。

(4)在所使用的几种生长素类激素中,2,4-D 诱导的愈伤过多,易使培养材料和培养基褐变,影响芽苗的生长,因此,不宜使用。除了 2,4-D 外,NAA、IBA、BR 均可用于广西地不容的继代培养,使用的质量浓度各不相同(表 2)。

综合上述结果可知,广西地不容继代增殖的最佳方式是交替培养于含 BA 和不含 BA 的培养基上,其中,交替于①、②、⑤中可获得健壮的芽苗和较快的繁殖速率,平均繁殖系数 6.0 倍/50 d。

2.4 生根培养:比较不同生长素种类和组合的生根效果,在所试的范围内,单因素的 IBA(0.8 mg/L)诱导的生根率最高,为 75%;NAA、BR、NAA 与 BR 组合、NAA 与 IBA 组合、BR 与 IBA 组合所诱导的生根率都相对较低。在比较盐、糖浓度对生根的影响时发现,1/2MS 和低糖(20 g/L)更利于根的形成和生长。因此,广西地不容的生根培养基为 1/2MS+IBA 0.8 mg/L,通常培养 35 d 后,每株长根 3~5 条,根长 1.0~3.5 cm(图 2-1、2)。

2.5 移栽:广西地不容试管小苗叶片薄,特别容易失水萎蔫,因此,打开瓶盖后应置于半封闭的潮湿环境中炼苗 1~2 d,完全敞开后炼苗 2~3 d,炼苗过程中应及时注意保湿。比较不同季节的移栽实验发现,环境的温湿度是影响移栽成活率的主要原因,其中,春夏之交是广西地不容最佳的移栽季节,此时移栽,成活率可达 90%,小苗生长速度也比较快,45 d 长出新叶 7~8 片,苗高约 10 cm(图 2-3)。

3 讨论

通常情况下,顶芽分生组织是植物生长和分化最活跃的部位,理论上是进行组织培养研究最好的



图 2 生根小苗(35 d,1,2)和移栽成活的植株(45 d,3)
Fig. 2 Rooting seedlings (35 d, 1, 2) and survival plant after transplanted (45 d, 3)

材料。但广西地不容顶芽较嫩,在消毒过程中易受损伤,细胞结构容易受到破坏,从而影响细胞内多酚氧化酶及酚类物质的区域化分布格局,促进多酚氧化酶将酚氧化成醌类物质,导致褐变的产生^[7];同时,顶芽本身的多酚量比例芽高。上述两方面的原因导致顶芽的成活率比例芽低。这一结果与 Yu^[8]等对葡萄的研究结果类似。另外,外植体的生理状态、取材的部位和时间、培养基和培养条件等都可能影响成活率的主要原因。对广西地不容而言,采样季节和时间对成活率影响不大。

在继代培养中,为了达到快速繁殖的目的,通常需要在培养基中添加一定质量浓度的激素。然而,由于多次继代,造成激素在培养材料中累积^[9,10],常导致培养材料的异常生长,如玻璃化^[11]和体细胞变异^[12~14]等。激素的累积对不同的植物材料影响不同,有些植物,如马蹄莲,激素累积效应不明显,可在含相同质量浓度激素的培养基上重复继代多次;而多数植物,如草莓^[15]等,激素累积效应明显,须调整不同继代阶段的激素质量浓度(一般采取逐代降低的办法),以避免激素累积造成的负面影响。广西地不容与上述两类植物有所不同,其培养材料中细胞分裂素 BA 的累积和作用方式是突发式的,不论质量浓度高低,只要连续使用两代,就会产生明显的负面效果(新芽萎缩,难以伸长长高,添加 GA 不能解除此症状);而且,与其他激素累积效应不同的是,其并未形成大量的丛生芽,也未见玻璃化,发生这种现

象的内在原因有待进一步研究。

References:

- [1] Jiang S Y, Zhao R F, Wu X H, et al. A list of peculiar and rare medicinal plants in the limestone area of Guangxi [J]. *Guihaia* (广西植物), 2005, 25(suppl): 107-115.
- [2] Wang X K, Zhao T F. Distribution and bioactivity of alkaloid from *Stephania kwangsiensis* [J]. *Chin Pharm J* (中国药学杂志), 1990, 25(1): 3-5.
- [3] Deng Y C, Xu H H. Alkaloids from the tubers of *Stephania kwangsiensis* [J]. *J Guangxi Norm Univ, Nat Sci* (广西师范大学学报:自然科学版), 2004, 22(4): 73-77.
- [4] Dong C Q, Zhou Y, Yi H, et al. Total alkaloid assay from the tubers of *Stephania kwangsiensis* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2004, 29(9): 915-916.
- [5] Deng Y C, Xu H H. Studies on insecticidal activities and active ingredients of *Stephania kwangsiensis* Lo. [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), 2005, 38(3): 523-527.
- [6] Luo S H, Hu H, Yang C R, et al. Hairy root culture of *Stephania delavayi* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1997, 19(4): 411-414.
- [7] Ye M, Wang B C, Duan C R. Advances of explant browning in plant tissue culture [J]. *Lett Biotechnol* (生物技术通讯), 2004, 15(4): 426-428.
- [8] Yu D H, Meredith C P J. The influence of explant origin on tissue browning and shoot production in shoot tip culture of grapevine [J]. *J Am Hort Sci*, 1986, 111(6): 97.
- [9] Xiao G L, Yang Q H, Li F S, et al. Study on the relationship between endogenous hormones and the rooting rate of plantlet of sugarcane in the course of subculture [J]. *J Yunnan Agric Univ* (云南农业大学学报), 2001, 16(4): 271-273.
- [10] Zhan Y G, Diao G P, Wang Q Y, et al. Rapid propagation of *Populus tremula* × *P. tremuloides* by multiplication of axillary buds [J]. *J Northeast Fores Univ* (东北林业大学学报), 2005, 33(2): 7-9.
- [11] Wang A Q, He L F, Pei R M, et al. Study on the vitrification of aloe varieties plantlet in tissue culture [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2002, 18(5): 46-49.
- [12] Yang J L, Gui Y L, Guo Z C. Studies on differentiation potential and chromosome stability of embryogenic callus in subcultures of *Picea meyeri* Rehd. et Wils [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 2000, 20(1): 44-47.
- [13] Wu M S, Wang X F. Variation of chromosome number in successive culture of *Eucalyptus camaldolensis* Dehnhardt [J]. *J China Agric Univ* (中国农业大学学报), 1998, 3(1): 16.
- [14] Lai Z X, Chen C L, Huang S H, et al. Long-term subculture of embryogenic calli and their genetic variation of the chromosome number in Longan [J]. *J Fujian Agric Univ* (福建农业大学学报), 2001, 30(1): 29-32.
- [15] Liang G Q, Tang Y M. Tissue culture and rapid amplification of strawberry [J]. *J Guangxi Tropic Agric* (广西热带农业), 2004, 6: 8-9.

红花 RAPD 和 AFLP 分子标记技术多态性效率比较

张阵阵¹, 郭美丽^{1*}, 张军东², 张汉明¹

(1. 第二军医大学药学院 生药学教研室, 上海 200433; 2. 第二军医大学药学院 药理学教研室, 上海 200433)

摘要:目的 探讨 RAPD 和 AFLP 这两种分子标记技术应用于红花不同品系多态性效率的比较。方法 以河南无刺大红袍和若羌有刺白两个红花品系为材料,应用 100 条 RAPD 引物、64 对 AFLP 引物,对两品系进行多态性筛选,初步确定反映品系间差异的引物。结果 筛选到 RAPD 特异性引物共 5 条,分别为 AA52726、AA52729、AA52739、AA52766、AA52785,在两品系间扩增到稳定的差异片段;筛选到 AFLP 特异性引物共 7 对,分别为 AF26356、AF26372、AF26385、AF26311、AF26396、AF26327、AF26343,在两品系间扩增到稳定的差异片段。结果表明,平均每条 RAPD 引物可以扩增出红花基因组片段数目 4~10 条,多态性选出率为 0.20%;平均每对 AFLP 引物可以扩增出红花基因组片段数目为 50~80 条,多态性选出率为 0.31%。就每条(对)引物平均可以扩增出多态性条带的数目而言,RAPD 引物为 1~2 条,AFLP 引物组合则 4~5 条,AFLP 的检测效率明显高于 RAPD。结论 在红花的分子标记研究中,AFLP 较 RAPD 为更有效的分子标记。

关键词:红花; RAPD; AFLP; 分子标记; 效率比较

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)03-0449-03

Efficiency comparison on polymorphism in *Carthamus tinctorius* with RAPD and AFLP

ZHANG Zhen-zhen¹, GUO Mei-li¹, ZHANG Jun-dong², ZHANG Han-ming¹

(1. Department of Pharmacognosy, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China;

2. Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

Key words: *Carthamus tinctorius* L.; random amplified polymorphic DNA (RAPD); amplified fragment length polymorphism (AFLP); molecular marker; efficiency comparison

收稿日期:2006-06-27

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271588),国家中医药管理局课题(02-03zpf54);上海市基础研究重点项目(043919313)

作者简介:张阵阵(1979—),女,山东人,硕士,研究方向为生药种质资源。E-mail:zz_jane@163.com.

* 通讯作者 郭美丽 E-mail:mlguo@smmu.edu.com