

直径较大的苗。当归提前抽薹除受苗直径大小影响外,还受多种因素如海拔、气温、降水、施肥、栽培方式等的影响,其影响规律和机制还有待深入研究。

3.2 直径 $\leq 0.45$  cm的苗由于移栽前苗较弱,因此在移栽后相同的生长条件下,无法显示生长的优势,而根直径在0.56~0.85 cm的处理其根直径、侧根数、体积、单根鲜质量已赶上甚至超过了直径最大的处理。受出苗率、抽薹率和收获株数的影响,最终的最高产量出现在根直径0.46~0.65 cm。在生产中应避免采用根直径 $\leq 0.35$  cm或 $\geq 0.86$  cm的过小或过大苗移栽。

#### References:

- [1] Chinese Medicinal Materials Company. *Chinese Traditional Medicinal Materials in Common Use* (中国常用中药材) [M]. Beijing: Science Press, 1995.
- [2] Wang K C, Fang Z. *Key Technique Series Book of Chinese Traditional Medicinal Materials Planting and Farming* (中药材种养关键技术丛书) [M]. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 2001.
- [3] Ma R J, Wang Q, Chen X L, et al. Advance in research of *Angelica sinensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 280-282.
- [4] Ma Z C, Zhang E H, Zhang J W, et al. Effect of nitrogen and phosphorus matching application on yield and quality [J]. *Farm Cult* (耕作与栽培), 1997(4): 32.
- [5] Li C D, Huang K, Chen Z Q. Investigation report of *Angelica sinensis* bolting [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 25(8): 445.
- [6] Wang Q, Xi S L. Reason and prevention of cure of *Angelica sinensis* bolting [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002(2): 38.
- [7] Zu Y G, Zhao Z H, Yang F J, et al. Classification and reciprocal transformation of plant life cycle forms [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2005, 25(9): 2348-2353.
- [8] Zhang E H, Zhang J W. Control of some angiogenesis inhibitor on early bolting of *Angelica sinensis* [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1997, 33(4): 317-318.
- [9] Qiu D Y, Lin H M, Zhang Y H, et al. Effect of organic fertilizer with high efficiency and chemical fertilizer on shape and yield of *Angelica sinensis* [J]. *J Gansu Agric Univ* (中国农学报), 2005, 4(1): 48-52.

## 培养基成分对怀地黄试管苗生长发育的影响

李明军<sup>1,3</sup>, 杜琳<sup>1,2</sup>, 赵喜亭<sup>1</sup>, 张晓丽<sup>1</sup>, 张楠<sup>1</sup>

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453002; 2. 河南科技大学食品与生物工程学院, 河南 洛阳 471003; 3. 华中农业大学园艺林学院 园艺植物生物学教育部重点实验室, 湖北 武汉 430070)

**摘要:**目的 降低怀地黄试管苗的生产成本, 为工厂化生产提供理论依据。方法 比较1/2MS和MS、自来水和蒸馏水、白砂糖和蔗糖对怀地黄试管苗生长发育的影响。结果 1/2MS培养基和MS培养基对怀地黄试管苗根数、鲜质量、干质量和叶绿素的量有极显著影响, 对叶片数有显著影响, 1/2MS培养基明显优于MS培养基。自来水和蒸馏水对试管苗根部、冠部、鲜质量增量、干质量和叶绿素的量均有显著性影响, 试管苗在添加蒸馏水的培养基中的生长状况明显优于添加自来水。白砂糖和蔗糖对试管苗根部、冠部、鲜质量增量和干质量的影响不大, 但对叶绿素的量有极显著影响, 选用蔗糖作为碳源时, 其叶片的叶绿素的量更高。结论 1/2MS可以取代MS, 白砂糖可以取代蔗糖。

**关键词:**怀地黄; 试管苗; MS; 自来水; 蒸馏水; 白砂糖; 蔗糖

**中图分类号:**R282.21 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2007)09-1389-04

## Effect of culture medium components on growth and development of plantlets from *Rehmannia glutinosa* f. *huechingensis*

LI Ming-jun<sup>1,3</sup>, DU Lin<sup>1,2</sup>, ZHAO Xi-ting<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-li<sup>1</sup>, ZHANG Nan<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxian 453002, China; 2. Food and Bioengineering College, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China; 3. Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education; College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract: Objective** To decrease the cost of plantlets of *Rehmannia glutinosa* f. *huechingensis* and

收稿日期: 2007-01-14

基金项目: 河南省重点科技攻关项目(0423032100, 0623030700)

作者简介: 李明军(1962—), 男, 河南温县人, 教授, 硕士生导师, 在读博士, 长期从事植物生理学及药用植物生物技术的教学和科研工作。 Tel: (0373)3328189 E-mail: limingjun2002@263.net

pave the way for large scale production. **Methods** To compared the effects between 1/2 MS and MS, tap water and distilled water, table sugar and sucrose on the growth and development of *R. glutinosa* f. *huaichingensis*. **Results** (1) There was a significant difference in the number of roots, fresh weight, dry weight, and the chlorophyll content and a difference in the number of leaves between MS and 1/2 MS. So 1/2 MS is better than MS. (2) There was a significant difference in the root, the crown, the fresh weight increase, and the dry weight and the chlorophyll content between tap water and distilled water. By observation, the plant can grow better in distilled water. (3) There was a significant impact on the chlorophyll content between table sugar and sucrose, the content of chlorophyll in the medium of sucrose was higher, while little effect on root, crown, fresh weight increase, and dry weight. **Conclusion** So on a large scale of production, MS could be taken place with 1/2 MS and sucrose with table sugar.

**Key words:** *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. et Mey. f. *huechingensis* (Chao et Schih) Hsiao; plantlet; MS; tap water; distilled water; table sugar; sucrose

怀地黄 *Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch. ex Fisch. et Mey. f. *huechingensis* (Chao et Schih) Hsiao 为玄参科地黄属多年生草本植物, 是著名的“四大怀药”之一。其根可入药, 是常用大宗的道地药材。生产中长期采用营养繁殖, 病毒感染严重, 导致品质和产量下降、品种退化<sup>[1]</sup>。利用组织培养技术可以脱除病毒、加快繁殖速度、恢复其品质及产量。但目前试管苗常因成本高而不能进行工厂化生产<sup>[2]</sup>。本实验研究了培养基中替代成分对怀地黄试管苗生长发育的影响, 为降低成本、实现工厂化生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

1.1 材料: 怀地黄“85-5”试管苗(来自河南师范大学“四大怀药”组织培养研究室)。

1.2 方法: 以 MS 与 1/2MS (MS 培养基中大量元素减半, 其他成分不变), 蔗糖与白砂糖(3%), 蒸馏水与自来水采用 3 因素两水平完全随机区组设计, 设计 8 种组合: (1)MS+蔗糖+蒸馏水; (2)MS+蔗糖+自来水; (3)MS+白砂糖+蒸馏水; (4)MS+白砂糖+自来水; (5)1/2MS+蔗糖+蒸馏水; (6)1/2MS+蔗糖+自来水; (7)1/2MS+白砂糖+蒸馏水; (8)1/2MS+白砂糖+自来水。附加 6-BA 0.2 mg/L, NAA 0.02 mg/L, 冷凝脂浓度为 0.6%, 调 pH 值为 6.0, 在 121 ℃、1.1 kg/cm<sup>2</sup> 的压力下灭菌 20 min。

在超净工作台上把无菌苗切成 2.5~3 cm 的带芽茎段, 分别接种在以上 8 种培养基上。在温度 (25±2) ℃, 光强 2 000 lx, 每天光照时间 14 h 的条件下培养。定期观察记录并于 28 d 时称其鲜质量, 然后于 106 ℃、5 h 烘干, 称干质量。叶绿素量的测定采用丙酮-乙醇浸提法<sup>[3]</sup>。

实验数据用 SPSS 软件进行统计分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 培养基成分对怀地黄试管苗形态的影响

2.1.1 对根部生长的影响: 培养至第 3 天时, 各组试管苗均有根生成, 随着培养天数的增加, 各组根数均有增加, 根长也逐渐增大。28 d 时各组培养基对怀地黄试管苗根部生长情况的影响见表 1。各组培养基对试管苗的根数、生根率影响较大, 而对根长影响不大。从根数、根长和生根率 3 方面总体比较, 第 5、7 组最好(生根率高, 根数多且长), 第 1、6 组最差(根数少或生根率低, 且苗基部出现膨大, 有黄色致密愈伤组织形成)。

表 1 培养基成分对怀地黄试管苗根部生长的影响(28 d)

Table 1 Effect of culture medium components on root growth of plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis* (28 d)

| 培养基编号 | 平均根数/条     | 平均根长/cm   | 生根率/% |
|-------|------------|-----------|-------|
| (1)   | 7.00±1.20  | 2.52±0.26 | 65    |
| (2)   | 10.83±0.89 | 2.73±0.32 | 81    |
| (3)   | 15.72±1.25 | 2.83±0.34 | 85    |
| (4)   | 15.93±0.40 | 2.49±0.37 | 70    |
| (5)   | 21.47±0.50 | 2.83±0.31 | 95    |
| (6)   | 18.30±0.64 | 2.58±0.46 | 50    |
| (7)   | 23.61±0.48 | 2.88±0.26 | 90    |
| (8)   | 11.75±0.88 | 2.68±0.58 | 75    |

2.1.2 对冠部生长的影响: 培养到 14 d 时, 腋芽均开始萌发, 之后, 大部分腋芽开始快速生长, 株高明显增大; 其中第 6 组的原始叶片有部分变黄枯死, 试管苗生长缓慢。28 d 时各组培养基对试管苗冠部生长情况的影响见图 1 和 2。除第 1 组外, 添加蒸馏水的组明显好于添加自来水的组。

### 2.2 培养基成分对怀地黄试管苗生理指标的影响

2.2.1 对叶绿素量的影响: 28 d 时, 试管苗叶片中叶绿素量见图 3。28 d 时, 添加 1/2MS、蒸馏水、蔗糖

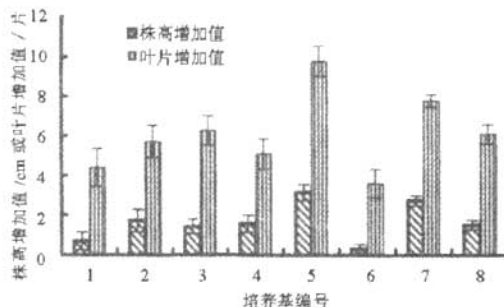


图 1 培养基成分对怀地黄试管苗株高增加值和叶片增加值的影响(28 d)

Fig. 1 Effect of culture medium components on increased value of shoot length and leaf number of plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis* (28 d)



图 2 不同培养基对怀地黄试管苗生长的影响(28 d)(1~8 为培养基编号)

Fig. 2 Effect of different media on growth of plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis* (28 d) (1—8 are numbers. of media)

的组,其叶绿素量高于添加 MS、自来水、白砂糖组。

2.2.2 对鲜质量和干质量的影响:28 d 时不同培养基对试管苗鲜质量和干质量的影响见表 2。除第

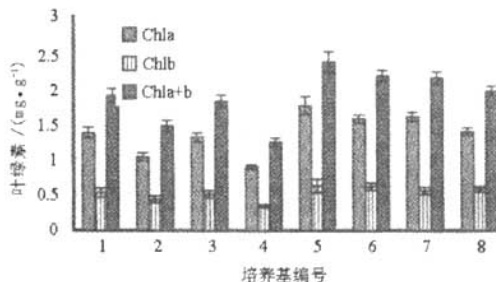


图 3 培养基成分对怀地黄试管苗叶绿素量的影响(28 d)

Fig. 3 Effect of culture medium components on content of chlorophyll of plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis* (28 d)

表 2 培养基成分对怀地黄试管苗鲜质量增加值和干质量的影响(28 d)

Table 2 Effect of culture medium components on fresh weight increase and dry weight of plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis* (28 d)

| 培养基编号 | 鲜质量增加值/g        | 干质量/g           |
|-------|-----------------|-----------------|
| (1)   | 0.412 3±0.051 7 | 0.048 0±0.004 4 |
| (2)   | 0.566 8±0.144 6 | 0.064 2±0.002 5 |
| (3)   | 0.626 9±0.052 2 | 0.056 3±0.007 1 |
| (4)   | 0.478 3±0.043 6 | 0.056 0±0.006 0 |
| (5)   | 1.149 1±0.036 7 | 0.123 4±0.010 7 |
| (6)   | 0.849 1±0.028 1 | 0.074 6±0.005 8 |
| (7)   | 1.185 3±0.080 0 | 0.118 6±0.003 7 |
| (8)   | 0.844 3±0.054 9 | 0.074 1±0.002 9 |

一组外,添加蒸馏水和 1/2MS 的组明显好于添加自来水和 MS 的组。

2.3 培养基成分对怀地黄试管苗形态和生理指标影响的方差分析:培养基成分对试管苗各项指标的方差分析见表 3。基本培养基、水及基本培养基与水的互作对怀地黄试管苗的绝大部分指标均有显著性或极显著性影响;糖仅对叶片的叶绿素量有极显著性影响,对其他指标影响不大。

表 3 培养基成分对怀地黄试管苗各指标方差分析的 F 值

Table 3 Effect of culture medium components of F value of variant analyses on morphologic and physiological indexes to plantlets of *R. glutinosa* f. *huechingensis*

| 因素       | 根数       | 根长       | 株高      | 叶片数     | 鲜质量       | 干质量      | 叶绿素的量     |
|----------|----------|----------|---------|---------|-----------|----------|-----------|
| 1/2MS·MS | 8.830*   | 9.685    | 2.261   | 5.919*  | 463.118** | 24.128** | 276.626** |
| 蒸馏水·自来水  | 7.889**  | 11.264** | 5.103*  | 4.495*  | 49.250**  | 5.440*   | 50.722**  |
| 蔗糖·白砂糖   | 1.551    | 0.838    | 1.967   | 0.019   | 2.872     | 0.008    | 42.689**  |
| 基本培养基·水  | 12.198** | 4.561    | 15.22** | 8.934** | 51.777**  | 8.904**  | 64.583**  |
| 基本培养基·糖  | 3.660    | 0.838    | 0.391   | 0.059   | 1.323     | 0.042    | 0.065     |
| 水·糖      | 0.525    | 6.885*   | 1.799   | 0.585   | 14.742**  | 0.059    | 2.172     |

\* $P \leq 0.05$  \*\* $P \leq 0.01$

综合以上结果,从试管苗的生长状况来看,1/2MS培养基优于MS培养基,MS培养基中的无机盐如钾盐、铵盐和硝酸盐含量均较高,微量元素种类较全,浓度也较高,是植物组织培养中常用的基本培养基。可见,怀地黄试管苗对大量元素的需求不高,1/2MS中大量元素的量足以满足其生长的需要,因此,可以用1/2MS培养基取代MS培养基<sup>[4]</sup>。

添加蒸馏水明显优于添加自来水,试管苗在添加自来水的培养基中的生长状况远不如添加蒸馏水的。这一点与张春华等<sup>[5]</sup>对马铃薯、菊花和满天星进行规模化生产时的研究结果不同。主要原因可能是本地区(新乡)自来水水质较硬( $\text{Ca}^{2+}$ 和 $\text{Mg}^{2+}$ 量较高),pH值偏高,在配制过程中虽已对培养基的pH值进行调定,但仍比用蒸馏水配制的附加等量冷凝脂的培养基硬度大。由此认为,培养基过硬也可对试管苗的生长造成不利影响。所以在怀地黄试管苗的快速繁殖中,不提倡使用自来水。可以考虑将自来水煮沸以降低其中 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 的离子浓度<sup>[6]</sup>,从而用自来水代替蒸馏水。

在大规模生产时,为了降低成本,常采用白砂糖作为碳源代替蔗糖<sup>[7~9]</sup>,本实验中两种碳源除叶绿素外对试管苗的生长影响不大,因此,白砂糖可以取代蔗糖。

### 3 结论

本实验的结果表明,在怀地黄试管苗的快速繁殖过程中,1/2MS培养基优于MS培养基,白砂糖

与蔗糖差别不大,而自来水不利于试管苗的生长。因此,在怀地黄的规模化生产中,可以1/2MS培养基取代MS培养基,以市售白砂糖取代分析纯蔗糖。从生产成本看,每株试管苗可降低成本约0.05元。由此可见,在怀地黄试管苗的生产中,适当调节培养基成分,可以降低生产成本。

### References:

- [1] Chen M Y, Liang Z S, Wang Z Z, et al. Tissue culture and plantlet regeneration of *Rehmannia glutinosa* [J]. *Acta Bot Boreali-Occident Sin* (西北植物学报), 2004, 24(6): 1083-1087.
- [2] Kodym Z, Arias F J. Low-cost alternatives for the micropagation of banana [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2001, 66: 67-71.
- [3] Gong F S, Zhang J B. *Plant Physiology Experiment* (植物生理实验) [M]. Beijing: China Meteorological Press, 1995.
- [4] Pang S M, Fang G N. The optimize of potato virus-free plantlet's medium for rapid propagation and low-cost [J]. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2004 (12): 59-61.
- [5] Zhang C H, Lian M L, Piao X C. Lowercost of culture medium during tissue culture [J]. *J Agric Sci Yanbian Univ* (延边大学农学报), 2005, 27(4): 261-264.
- [6] Bai Y J, Li X Z, He Y X, et al. Factorizing production of high-quality and low-cost of potato virus-free plantlets [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2001, 17(2): 82-83.
- [7] Puchooa D, Erigadoo P, Wah Y F W C. A comparison between analytical sucrose and table sugar in the tissue culture of *Saintpaulia ionantha* [J]. *Revue Agricole et Sucriere de l' Ile Maurice*, 1997, 76(2): 7-16.
- [8] Li J, Li C G, Tian X K. The study of decreasing the factorizing cost of cherry plantlets [J]. *Hebei Fruits* (河北果树), 2004(1): 7-8.
- [9] Sharma T R, Singh B M. Simple and cost effective medium for propagation of ginger (*Zingiber officinale*) Indian [J]. *Agric Sci*, 1995, 65(7): 506-508.

## 人参农家类型遗传多样性的ISSR分析

李靖<sup>1</sup>,程舟<sup>1\*</sup>,杨晓伶<sup>1</sup>,李珊<sup>1</sup>,顾然其<sup>1</sup>,万树文<sup>2</sup>,张文驹<sup>3</sup>

(1. 同济大学生命科学与技术学院,上海 200092; 2. 上海雷允上药业有限公司,上海 200002; 3. 教育部生物多样性与生态工程重点实验室,复旦大学生命科学学院生物多样性科学研究所,上海 200433)

**摘要:**目的 探讨人参农家类型的遗传多样性和亲缘关系,为人参的栽培和选育种提供遗传学依据。方法 采用ISSR分子标记分析5种人参农家类型7个居群120个样本的遗传多样性。结果 人参农家类型有较丰富的遗传多样性,平均多态位点百分率为48.85%;不同农家类型的遗传多样性水平有差异,和其他农家类型相比,长脖和竹节芦的遗传变异较小,且两者之间的相似性系数高达97%;不同产地的同一人参农家类型间也存在很大的遗传差异。结论 研究表明人参农家类型的遗传差异主要存在于各类型内部,而且可能更多地存在于同一类型的不同居群内部。为促进人参新品种的选育,有必要在现有的栽培群体中补充不同产地的同一类型的种质资源。

**关键词:**人参;农家类型;遗传多样性;ISSR

**中图分类号:**R282.2

**文献标识码:**A

**文章编号:**0253-2670(2007)09-1392-04

收稿日期:2006-12-15

基金项目:上海市科委中药现代化专项(03DZ19547,04DZ19834)

作者简介:李靖(1981—),男,湖北松滋人,在读研究生,从事中药材资源保护及利用研究。

\*通讯作者 程舟 Tel: (021)65985185 E-mail: chengzhou@mail.tongji.edu.cn