药用植物艾纳香基因组 DNA 提取方法研究

庞玉新[1,2]，王文全[1*]，张影波[2,3]，刘国道[2]，莫廷辉[3]

(1. 北京中医药大学 中药学院，北京 100102；2. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所，海南 儋州 571737；海南大学 农学院，海南 儋州 571737)

摘　要：以药用植物艾纳香为研究对象，以-20 ℃保存、4 ℃保存、室温自然干燥和硅胶干燥四种样品保存方式，并采用 SDS 法、CTAB 法、SDS-CTAB 法和改良 CTAB 法 4 种不同的基因组 DNA 提取方法进行了对比试验，以期建立艾纳香的较好的样品保存方法和基因组 DNA 提取方法。结果表明，-20 ℃保存是艾纳香的较理想的样品保存方式；改良 CTAB 法是艾纳香基因组 DNA 提取较适宜的方法，该方法提取的 DNA 经紫外检测，其 A_{260}/A_{280} 为 1.8 左右，明显优于 SDS 法（1.1～1.5）、CTAB 法（1.2～1.5）和 SDS-CTAB 法（1.4～1.6），琼脂糖凝胶电泳、酶切检测和 PCR 扩增也得出了同样的结论。

关键词：艾纳香；基因组 DNA；提取；方法

中图分类号：Q943　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1000-3142(2009)06-0763-05

Method of genomic DNA extraction of the herb *Blumea balsamifera*

PANG Yu-Xin[1,2], WANG Wen-Quan[1*], ZHANG Ying-Bo[2,3], LIU Guo-Dao[2], MO Ting-Hui[3]

(1. *College of Chinese Medical Sciences*, *Beijing University of Traditional Chinese Medicine*, Beijing 100102, China; 2. *China Tropical Crops Genetic Resources Institute of Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences*, Danzhou 571737, China; 3. *College of Agriculture*, *Hainan University*, Danzhou 571737, China)

Abstract: The paper dealt with setting up a more suitable sample preservation way and genomic DNA extraction method for *Blumea balsamifera* by comparing and analysing four sample preservation ways(preserved at -20 ℃, preserved at 4 ℃, natural drying and silica gel drying) and extraction methods (SDS, CTAB, SDS-CTAB, and modified of CTAB). The results showed that -20 ℃ was a better way for sample preservation and the modified CTAB method was a better method for DNA extraction than others. The UV detection value of A_{260}/A_{280} was 1.7－1.8 for DNA extracted by this modified CTAB method, obviously higher than that of others, such as 1.1－1.5 for SDS method, 1.2－1.5 for CTAB method, 1.4－1.6 for SDS-CTAB method. The agarose electrophoresis, restriction endonuclease digestion detection and PCR amplification also indicated that the modified of CTAB method was better than others.

Key words: *Blumea balsamifera*; genomic DNA; extraction; method

艾纳香(*Blumea balsamifera*)为菊科艾纳香属多年生木质草本植物，别名大风艾、大风叶、冰片艾等，全草入药。富含挥发油等成分，具有开窍醒神，清热止痛等功效，是苗族、黎族、壮族等民族重要的民间用药，又是天然冰片的重要原料之一(黄卫东等，2008)。

DNA 的分离提取是进行植物分子生物学研究工作的基础，也是分子生物学实验的关键步骤，但由于不同的植物材料细胞中所含次生代谢产物的种类

收稿日期：2008-09-05　　**修回日期**：2009-06-13

基金项目：国家自然科学基金(30860370)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30860370)]

作者简介：庞玉新(1975-)，男(内蒙古人)，博士生，研究方向为中药材质量形成机制与分子生药学，(E-mail)pyxmarx@126.com。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: wwq57@126.com)

和含量不同，所以不同植物的 DNA 提取方法也不尽相同。当前，小麦、水稻等重要农作物的植物细胞总 DNA 提取已有较成熟技术方案(Scott 等，1988；孙鑫等，2004；楼巧君等，2005)但有关诸多珍稀濒危植物及传统的药用植物的总 DNA 的提取方法仍处于不断探索之中(邹喻苹等，1994a；李钧敏，2002；侯义龙，2003；陈莉等，2007)。艾纳香植物组织中含有丰富的酚类、色素、单宁及酯类等成分，若提取方法不当，不仅容易使提取的基因组 DNA 降解，而且可能会使提取的基因组 DNA 含有较多的酚类、色素等杂质，进而影响 PCR 扩增反应的稳定性和重复性。本实验选取 4 种常规提取植物基因组 DNA 的方法，稍加改动，分别用于提取艾纳香基因组 DNA，通过检测结果的比较，筛选出一种比较适合艾纳香 DNA 提取的方法，为艾纳香属植物的系统发育及遗传多样性研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料来源

叶片来源于中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所南药种质圃。选取无病虫害的一年生嫩叶，采后迅速置于冰盒中并带回实验室，除去主叶脉后在电子天平上精确称取 0.5 g，分别置于不同的处理下保存 3 d 后用于 DNA 提取，这四种处理方法是：(a)-20 ℃保存(b)4 ℃保存(c)室温，通风避光干燥(d)室温，硅胶干燥。

1.2 DNA 提取方法

(1)SDS 法(Pich & Schubert，1993)：取经处理过的叶片 0.5 g，用液氮研磨均匀后置于 15 mL 离心管中，并迅速加入 2.5 mL，65 ℃预热 5×SDS DNA 提取液[0.1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)，0.05 mmol/L EDTA(pH8.0)，0.5 mmol/L NaCl，5% SDS，2%的 PVP(聚乙烯吡咯烷酮，下同)，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)，(Sigma，2002)]，在 65 ℃的水浴中温浴 30 min。加 800 μL 的 5 mol/L 的 KAc，混匀后冰浴 30 min，12000 r/min 离心 15 min。上清转入另一离心管，室温下用等体积的异丙醇沉淀 30 min，12 000 r/min 离心 15 min(4 ℃)，弃上清液。管中加入 200 μL 冷冻的 75%的乙醇洗涤沉淀 2 次，干燥沉淀。沉淀用 500 μL TE (pH8.0)充分溶解，加等体积 tris 酚/氯仿/异戊醇(25：24：1)，轻颠几次混匀，于 4 ℃，10 000 r/min 离心 10 min。上清液转入另一离心管，加入 6 μL RNAase(10 mg/mL)于 37 ℃温浴 45 min。用等体积氯仿/异戊醇(24：1)抽提，上清液转入另一离心管，加终浓度为 1/10 体积 5 mol/L 的 NaAc 的，混匀，加入 2 倍体积的无水乙醇，轻缓混匀，室温放置 30 min 以上；以 12 000 r/min 的速度离心 15 min，加入 200 μL 冷冻的 75%的乙醇洗涤沉淀 2 次，吹干沉淀；加入 50 μL ddH_2O 溶解 DNA，4 ℃保存备用。

(2)CTAB 法(邹瑜苹等，2001b)取经处理过的叶片 0.5 g，用液氮研磨均匀后置于 15 mL 离心管中，并迅速加入 2.5 mL，65 ℃预热 2×CTAB DNA 提取液[0.1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)，0.05 mol/L EDTA(pH8.0)，1.4 mol/L NaCl，2%CTAB，2%的 PVP，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)]，在 65 ℃的水浴中温浴 30 min。加入等体积的 Tris 酚/氯仿/异戊醇(25：24：1)混匀后，12 000 r/min 离心 15 min。上清转入另一离心管加入等体积的异丙醇混匀后室温放置 10 min，12 000 r/min 离心 10 min，弃上清液。管中加入冷冻的 75%的乙醇 200 μL 乙醇洗涤 2 次，干燥沉淀。沉淀用 500 μL TE(pH8.0)充分溶解，加入 6 μL 的 RNAase(10 mg/mL)于 37 ℃温浴 45 min，加等体积氯仿/异戊醇(24：1)，轻颠几次离心管，放置片刻，4 ℃ 10 000 r/min 离心 10 min。上清液转入另一离心管，加终浓度为 1/10 体积 5 mol/L 的 NaAc 的，混匀，加入 2 倍体积的无水乙醇，轻缓混匀，室温放置 30 min 以上；12 000 r/min 离 15 min，75%的乙醇洗涤 2 次，吹干沉淀；加入 50 μL ddH_2O 溶解 DNA，4 ℃保存备用。

(3)SDS-CTAB 结合法(参照孙鑫等，2004；黄绍辉等，2007)取经处理过的叶片 0.5 g，用液氮研磨均匀后置于 15 mL 离心管中，并迅速加入 2.5 mL，65 ℃预热 5×SDS DNA 提取液[0.1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)，0.05 mol/L EDTA(pH8.0)，0.5 mol/L NaCl，5%SDS，2%的 PVP，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)，(Sigma，2002)]，在 65 ℃的水浴中温浴 30 min。加 1 mL 的 5 mol/L 的 KAc，混匀后冰浴 30 min，12 000 r/min 离心 15 min。取上清，加入 1/5 体积的 2×CTAB DNA 提取液([0.1 mol/L Tris-HCl(pH8.0)，0.05 mol/L EDTA (pH8.0)，0.5 mol/L NaCl，2%CTAB，2%的 PVP，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)]，充分混匀，65 ℃水浴 10～20 min。冷却至室温后，加入等体积的

Tris 酚/氯仿/异戊醇(25∶24∶1)混匀后，12 000 r/min 离心 15 min。上清转入另一离心管加入等体积的异丙醇混匀后室温放置 10 min，12 000 r/min 离心 10 min，弃上清液。加入 200 μL 冷冻的 75% 的乙醇洗涤沉淀 2 次，干燥沉淀。沉淀用 500 μLTE(pH8.0)充分溶解，加入 6 μL 的 RNAase(10 mg/mL)于 37 ℃温浴 45 min，加等体积氯仿/异戊醇(24∶1)，轻颠几次离心管，放置片刻，4 ℃ 10 000 r/min 离心 10 min。上清液转入另一离心管，加终浓度为 1/10 体积 5 M 的 NaAc 的，混匀，加入 2 倍体积的无水乙醇，轻缓混匀，室温放置 30 min 以上；12 000 r/min 离心 15 min，加入 200 μL 冷冻的 75%的乙醇洗涤沉淀 2 次，吹干沉淀；加入 50 μL ddH_2O 溶解 DNA，4 ℃保存备用。

(4)改良 CTAB 法(Licy 等，2000；安泽伟等，2005)取经处理过的叶片 0.5 g，用液氮研磨均匀后置于 15 mL 离心管中，并迅速加入 2.5 mL DNA buffer[0.35 mol/L 的甘露醇，0.1 mol/L Tris-HCl (pH8.0)、0.005 mol/L EDTA(pH8.0)、2%(W/V)PVP，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)] 混匀后，冰上放置 20 min，于 4 ℃下以 4 000 r/min 离心 20 min。弃去上清液，沉淀中加入 65 ℃预热的 2.5 mL 2×CTAB DNA 提取液[0.1 mol/L Tris-HCl (pH8.0)，0.05 mmol/L EDTA(pH8.0)，1.4 mol/L NaCl，2%CTAB，2 %的 PVP，2%(V/V)β-巯基乙醇(用前加入)]，混匀后于 65 ℃水浴中保温 30 min。加入等体积的 Tris 酚/氯仿/异戊醇(25∶24∶1)混匀后，12 000 r/min 离心 15 min。上清转入另一离心管加入 6 μL 的 RNAase(10 mg/mL)于 37 ℃温浴 45 min，再加入 10 μL(10 mg/mL)的蛋白酶 K 于 37 ℃温浴 45 min 后加入等体积氯仿/异戊醇(24∶1)混匀后，12 000 r/min 离心 15 min。上清转入另一离心管加入等体积的异丙醇混匀后室温放置 10 min，12 000 r/min 离心 10 min，弃上清液。管中加入冷冻的 75%的乙醇 200 μL 洗涤 2 次，干燥沉淀，加入 50 μL ddH_2O 溶解 DNA，4 ℃保存备用。

1.3 DNA 样品的紫外消光值检测

在各种方法提取 DNA 样品 5 μL 中加 ddH_2O 495 μL 混匀后，用石英比色杯于 Genova 蛋白质分析仪中测定紫外消光值，根据其在 260 nm 和 280 nm 波长处的光吸收值计算 DNA 产率，根据 A_{260}/A_{280} 判断 DNA 样品的纯度。DNA 样品的浓度(μg/mL)为：在 260 nm 的紫外消光值×核酸稀释倍数×50。纯 DNA 样品 A_{260}/A_{280} 紫外消光值应为 1.6～1.8。A_{260}/A_{280} 值大于 1.9 时，表明有 RNA 污染，小于 1.6 时，表明样品中存在蛋白质或酚污染。

1.4 琼脂糖凝胶电泳检测

各种 DNA 提取方法所得 DNA 样品 5.0 μL，加入 1 μL TIANGEN 6×loading Buffer 在 1.0% 琼脂糖(含 0.5 μg/mLEB)凝胶中，加入 1×TAE 缓冲液，3～4 V/cm 电压下电泳，3～4 V/cm 电压下电泳 2.5 h 左右，在 UVP 公司 GDS-8000 凝胶成像系统上观察并拍照。比较各种方法的 DNA 质量。

1.5 酶切检测

各种 DNA 提取方法所得 DNA 样品 5.0 μL，参照 TaKaRa 公司的 EcoRV 的使用说明，分别加入 EcoRV 0.2 μL，10×H Buffer 0.4 μL，加 ddH_2O 至 20 μL，37 ℃温浴过夜，加入 1 μL 10×loading Buffer 后在 1.0%琼脂糖(含 0.5 μg/mLEB)凝胶中，电泳后在凝胶成像系统上观察并拍照。

1.6 PCR 扩增检测

各种 DNA 提取方法所得 DNA 样品 1.0 μL，引物(碱基序列为 TTCCCCCCAG)2.0 μL，TIANGEN 2×taq PCR MasterMix 10 μL，加 ddH_2O 至 20 μL。扩增程序为：94 ℃预变性 3 min，94 ℃变性 40 s，34 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 1 min，30 个循环，72 ℃最后延伸 10 min，4 ℃保存。PCR 扩增产物直接在 1.5%琼脂糖(0.5 μg/mL EB)凝胶中电泳，电泳后在凝胶成像系统上观察并拍照。

2 结果分析

2.1 紫外消光值检测

各种方法所提取的 DNA 溶解于等量 50 μL ddH_2O 后，由于所含杂质的种类和数量的差异，它们所表现出的颜色深浅不一。改良 CTAB 法所得 DNA 不仅 A_{260}/A_{280} 在 1.8 左右，其颜色也明显浅于其它方法所得 DNA。在其它几种方法中，酚类、多糖等次生物质与核酸形成复合物，使 DNA 难于溶解或产生不同程度的褐变，影响了所提 DNA 含量和纯度(表 1)。

2.2 琼脂糖凝胶电泳检测

从 4 种方法提取 DNA 的琼脂糖电泳凝胶成像照片(图 1)可见，改良 CTAB 法提取 DNA 质量较好，条带较强，残留杂质少，SDS 法和 CTAB 法的条带虽强，但点样孔有较多残留的糖类和蛋白质等杂质。

表 1 不同处理下和不同提取方法的 DNA 提取的紫外消光值和产率

Table 1 Value and extraction percentage of different DNA extraction methods and different experimental treatments

编号	OD260	OD280	OD260/OD280	DNA 外观	DNA 浓度 (μg/mL)	总 DNA 量 (μg)
a1	0.211	0.188	1.12	较黑	1055	52.8
b1	0.199	0.174	1.14	较黑	995	49.8
c1	0.111	0.074	1.50	较褐	555	27.8
d1	0.112	0.078	1.44	较褐	560	28.0
a2	0.291	0.238	1.22	较好	1455	72.8
b2	0.188	0.148	1.27	较好	940	47.0
c2	0.177	0.122	1.45	较好	885	44.3
d2	0.106	0.072	1.47	较好	530	26.5
a3	0.152	0.122	1.25	较褐	760	38.0
b3	0.143	0.113	1.27	较褐	715	35.8
c3	0.108	0.074	1.46	较黄	540	27.0
d3	0.094	0.060	1.57	较黄	470	23.5
a4	0.174	0.104	1.67	较好	870	43.5
b4	0.138	0.080	1.73	较好	690	34.5
c4	0.065	0.037	1.76	较好	325	16.3
d4	0.109	0.062	1.76	较好	545	27.3

注：a1，a2，a3 和 a4 分别表示-20 ℃条件保存 3 d 后采用 SDS 法，CTAB 法，SDS-CTAB 法和改良 CTAB 法提取的 DNA；b1，b2－d3，d4 则分别表示不同处理，不同提取方法下的 DNA 提取结果。下同。

Note: a1, a2, a3 and a4 are respectively the DNA extratiom results of SDS method, CTAB method, SDS-CTAB method and modified CTAB method, perserved at -20 ℃ for 3 days; b1, b2-d3, d4 were the results of different persation way and different extraction methods. The same below.

2.3 酶切检测

从 4 种方法提取 DNA 的琼脂糖电泳凝胶成像照片(图 1)可见，改良 CTAB 法提取 DNA 质量较好，条带较强，残留杂质少，可以被 EcoRV 完全酶切。SDS 法和 CTAB 法则只能被部分酶切。

2.4 PCR 扩增检测

从 PCR 扩增反应后的电泳图谱看(图 2)，CTAB 法和改良 CTAB 法提取的 DNA 均可用于 PCR 扩增，扩增产物有较清晰的电泳条带，且条带数较多，可用于进一步的分子生物学研究，但是 CTAB 法直接提取-20 ℃保存和 4 ℃保存的样品时则会出现点样空中有较多的杂质。SDS 法和 SDS-CTAB 提取-20 ℃保存和 4 ℃保存的样品 DNA 时由于杂质较多无法扩增。

3 结论与讨论

3.1 不同方法抽提艾纳香基因组 DNA 的质量与产量

用不同的方法抽提艾纳香嫩叶的 DNA，从 DNA 色泽上看，CTAB 法和改良 CTAB 法所得的 DNA 基本上是无色的，而 SDS 法 SDS-CTAB 法所得 DNA 的色泽为黑色或黄褐色，可能污染有色素或醌类物质。各种方法抽提的 DNA 经紫外分光度

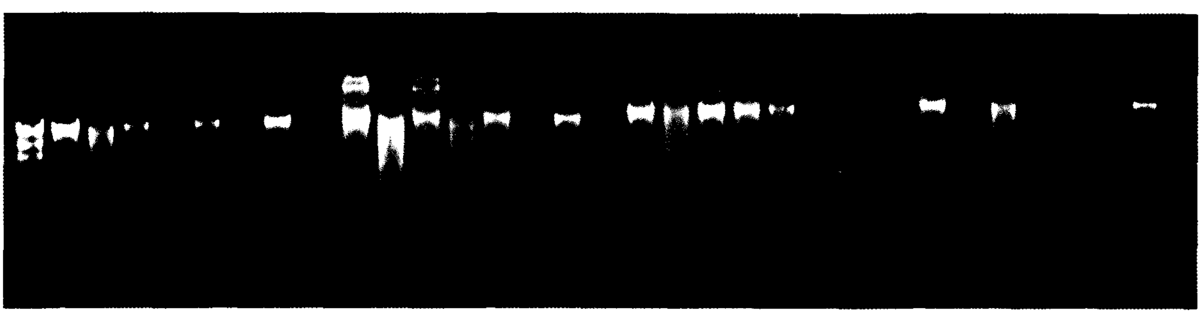

图 1 各种方法提取的 DNA 和 EcoRV 酶切的电泳

Fig. 1 Electrophoresis of DNA and its digesting with EcoRV sorts of experimental treatments and sorts of extraction methods

①a1，a2……d3，d4 分别表示不同处理，不同提取方法下的 DNA 提取结果；②a1′，a2′……d3′，d4′分别表示不同处理，不同提取方法下的 DNA 酶切结果；③M：Lambda DNA/Hind Ⅲ。

检测分析结果显示(表 1)，改良 CTAB 法所抽提 DNA 的 A_{260}/A_{280} 在 1.67～1.8 之间，纯度较高，含较少的杂质，而其它方法所抽提 DNA 的 A_{260}/A_{280} 在 1.12～1.7 之间不等，说明其质量有很大的不稳定性，且杂质较多，改良 CTAB 法得率也较稳定，可达 32.5～87 μg/g 鲜重；从琼脂糖凝胶电泳和酶切检测以及 PCR 检测也得出相同的结论，此方法所抽提 DNA 的点样空中无蛋白质污染，可以被限制性内切酶酶切成一定亮度均匀的条带，PCR 扩增也可以扩增出清晰的条带，而其它方法所抽提的 DNA 或者点样空中有较多的杂质或不能被完全酶切，且均没有办法扩增出较好的条带。从以上结果分析可知，改良 CTAB 法较适合于艾纳香基因组 DNA 的提取。

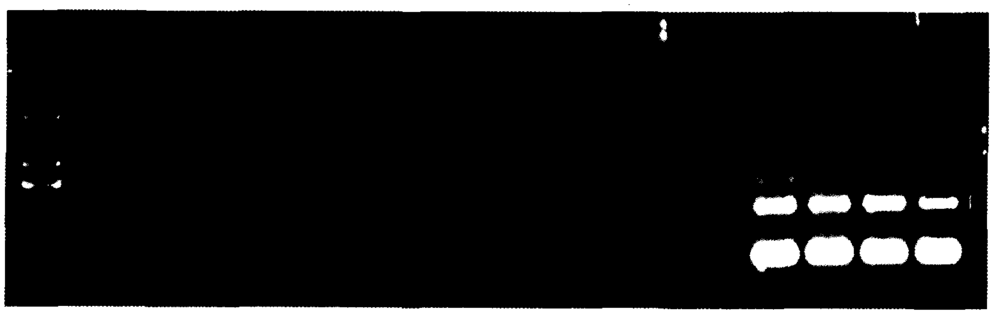

图 2　各种处理和提取方法的 PCR 扩增

Fig. 2　PCR amplification of DNA for sorts of experimental treatments and sorts of extraction method　①M：DL2000（TIANGEN Markers）

3.2 不同保存方法对抽提艾纳香基因组 DNA 的质量与产量

由于不同的保存条件，所抽提得到的艾纳香基因组 DNA 的质量与产量都会有一定的影响，从 DNA 溶液色泽上来看，-20 ℃和 4 ℃保存所得的 DNA 颜色较浅；而硅胶干燥和通风避光干燥所得 DNA 的色泽为黑色或黄褐色，可能伴随着温度的较高和干燥环境，色素大分子降解为可被异丙醇或乙醇沉淀的水溶性小分子物质。不同保存方法抽提的 DNA 经紫外分光光度检测、琼脂糖凝胶电泳和酶切检测以及 PCR 检测分析结果表明，伴随着保存温度的升高，会显著地降低 DNA 的产量，同时也会降低其中的蛋白质含量，所以对艾纳香叶片保存的最好方法是置于-20 ℃长期保存或 4 ℃做短期保存，但当环境条件不允许时，可以采用硅胶干燥保存。

植物基因组 DNA 提取是分子生物学实验的一个关键环节。不同植物材料含有的次生代谢产物种类和含量不同，而 DNA 提取方法改进的关键是在不破坏 DNA 的前提下尽可能的去除这些杂质。艾纳香由于其有效成分是龙脑、柠檬烯等萜类与黄酮类物质，其不仅极易氧化，而且呈现一定的水溶性和醇类物质可沉淀性，所以提取方法的改进主要是尽可能地去除这些杂质，本改进的 CTAB 法相对于其它 DNA 提取方法的不同之处有：(1)在细胞核裂解前用提取缓冲液对样品进行预处理，通过质壁分离使细胞质中的大部分多糖，酚类和色素类物质溶解在提取缓冲液中，利用低速离心使之与含有总 DNA 的样品分离。(2)提取缓冲液中用甘露醇代替葡萄糖作为稳定剂，不仅可以保持渗透性，而且可以起到保护样品使之处于一个相对稳定的环境。(3)用高浓度 PVP 结合多酚类和黄酮类易氧化物质，艾纳香是酚类和黄酮类特别丰富的植物，本改良方法通过利用 PVP 中其“$CO_2N=$”基随多酚化合物中芳环羟基数量的增加而加强的结合多酚化合物能力，其结合成复合物后，通过离心除去。(4)用高浓度巯基乙醇作抗氧化剂，β-巯基乙醇主要是利用其“巯”基打断多酚氧化物酶的二硫键而使之失活，防止酚类化合物被氧化而不被形成复合物，有利于离心除去酚类物质。此外适当地提高 β-巯基乙醇含量可以有效去除多糖等次生代谢物质。(5)利用酚/氯仿/异戊醇抽提后即开始利用 RNAase 去除 RNA，这样不仅可以节省一部分时间，而且亦利用了在较高浓度的 Tris-HCl 和 EDTA 下，可以较完全地除去 RNA。(6)利用蛋白酶 K 去处抽提后剩余的蛋白质，避免了单纯用氯仿抽提无法去除部分的组蛋白，有效的去除 DNA 中的杂质，获得高质量的基因组 DNA。

我们用这一方法已提取了近 500 个艾纳香样品的 DNA，均获得较满意的结果，OD_{260}/OD_{280} 在 1.6～1.8。大量提取 DNA 实验证明，采用这一方法提取艾纳香 DNA 是切实可行的，所得 DNA 没有蛋白质、酚类及小分子的污染，不仅可以满足 RAPD 等对 DNA 质量要求不高的后续实验，而且亦可以满足 RFLP 等对 DNA 质量要求较严格的后续实验。

参考文献：

江苏新医学院. 1986. 中药大辞典[M]. 第一版. 上海：上海人民出版社出版，562－563

许婉芳. 2002. 去除顽拗植物 DNA 提取过程中干扰物质的方法[J]. 闽西职业大学学报，**3**：55－57

孙鑫，崔洪志，胡宝忠，等. 2004. SDS-CTAB 结合法提取棉花总 DNA[J]. 生物技术通报，**5**：45－47

安泽伟，黄华孙. 2005. 一种提取橡胶树叶中总 DNA 的方法[J]. 植物生理学通讯，**41**(4)：513－515

（下转第 791 页 Continue on page 791 ）

些变化有利于增强珐菲亚生长后期的抗旱、抗衰老作用。

对作物进行化学调控，培育健壮植株，最终目的就是为了提高其产量、改善品质。药用植物不同于一般的粮食农作物，其品质取决于次生代谢物质（活性成分）含量，珐菲亚品质取决于活性物质——总皂苷含量。多效唑化学调控处理对其根部总皂苷含量即珐菲亚品质影响不大。

多效唑是一种高效低毒的植物生长延缓剂，具有延缓植物生长、抑制茎枝伸长、使茎杆粗壮、促进分蘖、根系发达、成花和座果、增强抗寒及抗旱性、提高耐盐性和延缓植物衰老等多种效应，在农作物、果树、药用植物等方面广泛应用（黎建玲等，2006；李明军等，2007；付传明等，2007）。用多效唑适期化控处理珐菲亚植株是一项简单易行、有效的化学控制途径，并且用量少，成本低，不会造成环境污染和公害，建议在使用多效唑化控处理珐菲亚大田植株时，在250～300 mg/L 之间较为合适。

参考文献：

王熹. 1997. 作物化控原理[M]. 北京：中国农业技术出版社

李合生. 2003. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 高等教育出版社，134－137，164－165

高俊凤. 2000. 植物生理学实验技术[M]. 世界图书出版公司，214－215

邹琦. 2000. 植物生理学实验指导[M]. 中国农业出版社，163－167

Bian QY(卞庆亚)，Luo CN(罗崇念)，Ma XJ(马小军). 2002. World progress in the studies of *Pfaffia*(国外对珐菲亚的研究进展)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药)，**33**(5)：1

Bot Inst. 2002. Bot Gartell Univ. Herbal composition for enhancing sexual response[P]. US：6444237－B1

Cai YQ(蔡幼清). 1996. Anti-inflammatory and analgesic activities of *Pfaffia paniculata*(巴西人参的抗炎镇痛作用)[J]. *Fore Med Sci*(国外医学中医中药分册)，**18**(1)：56

Fu CM(付传明)，Zhao ZG(赵志国)，Huang NZ(黄宁珍)，*et al*. 2007. Preservation *in vitro* of medicinal plant *Salvia prionitis*(药用植物红根草种质资源的离体保存)[J]. *Guihaia*(广西植物)，**27**(4)：653－657

Gao H(高辉)，Ma XJ(马小军)，Wen XS(温学森)，*et al*. 2006. Advances in study on chemical constituents from plants of genus *Pfaffia* and their bioactivities(法菲亚属植物化学成分和药理活性研究进展)[J]. *China J Chin Mat Med*(中国中药杂志)，**31**(21)：1 749

Pedersen TM. 1997. Studies in south American Amaranthaceae[J]. *Adansonia*，**19**(2)：217

Li JL(黎建玲)，Zhan YQ(詹源庆)，Jiang B(蒋波). 2006. Effect of PP_{333} on the growth of the plantlets of *Dendrobium nobile*(多效唑对金钗石斛试管苗生长的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物)，**26**(5)：513－515

Li JW(李建武)，Wang D(王蒂). 2008. The effect of water stress on the activity of antioxidant ezymes of *Solanum tuberosum*(水分胁迫对马铃薯试管苗抗氧化酶活性的影响)[J]. *Northern Hort*(北方园艺)，(1)：7

Li MJ(李明军)，Xu X(徐鑫)，Zhang XL(张晓丽)，*et al*. 2007. Effects of PP_{333} on morphological and physiological characteristics of *Rehmannia glutinosa* libosch plantlets(PP_{333}对怀地黄试管苗形态及生理特性的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物)，**27**(2)：250－254

Ling ZZ(凌征柱)，Yang DA(杨东爱)，Ma XJ(马小军)，*et al*. 2006. Quality comparison of saponin constituents of *Pfaffia paniculata* between cultured and provenance(引种珐菲亚与原产地珐菲亚主要成分的比较研究)[J]. *Lishizhen Med Mat Meidca Res*(时珍国医国药)，**17**(12)：2 649

Ling ZZ(凌征柱)，Zhao WH(赵维合)，Chen CJ(陈超君)，*et al*. 2007. Study on introducted *Pfaffias* biological charactersistic(引种珐菲亚生物学特性观察研究)[J]. *Lishizhen Med Mat Meidca Res*(时珍国医国药)，**18**(2)：325

Zhao SJ(赵世杰)，Xu CC(许长成). 1994. An improvement on testing method of Malondialdehyde in plant tissue(植物组织中丙二醛测定方法的改进)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯)，**30**(3)：207

(上接第 767 页 Continue from page 767)

李钧敏，柯世省. 2002. 濒危植物七子花 DNA 的提取及分析[J]. 广西植物，**22**(6)：499－502

邹喻苹，葛颂等. 2001. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京：科学出版社，216－219

邹喻苹，汪小全，等. 1994. 几种濒危植物及其近缘类群总 DNA 的提取与鉴定[J]. 植物学报，**36**(7)：528－533

陈莉，魏莉，等. 2007. 几种中药 DNA 提取方法的比较研究[J]. 广西植物，**27**(1)：137－139

侯义龙，曹同，等. 2003. 苔藓植物 DNA 提取方法研究[J]. 广西植物，**23**(5)：425－428

黄卫东，吕武清. 2008. 冰片的研究进展[J]. 中国药业，**17**(4)：64－66

黄绍辉，方炎明. 2007. 改进的 SDS-CTAB 法提取濒危植物连香树总 DNA[J]. 武汉植物学研究，**25**(1)：98－101

楼巧君，陈亮，等. 2005. 三种水稻基因组 DNA 快速提取方法的比较[J]. 分子植物育种，**3**(5)：749－752

Licky J，Matt J，Dickinson，*et al*. 2000. An approach identify disease resistance gene analogues in hevea Indian[J]. *J Nat Rubber Res*，**13**(1 & 2)：79－85

Pich U，Schubert I. 1993. Miniprep method for isolation of DNA from Plants with a high content of polyphenolics[J]. *Nucleic Acids Res*，**21**(14)：3 328－3 332

Scott OR，Bendich AJ. 1988. Extraction of DNA from plant tissue[J]. *Plant Mol Biol Manual*，**6**：1－10