

# 人参×西洋参 $F_1$ 代及亲本种子 愈伤组织氨基酸含量的比较

宋 娟, 雷 秀 娟, 尹 红 新, 王 晗, 姚 丽 娜, 王 英 平

(中国农业科学院 特产研究所, 吉林 长春 130112)

**摘 要:**为了研究人参与西洋参杂交  $F_1$  代及其亲本种子愈伤组织的氨基酸含量,以“福星 1 号”人参和“中农洋参 1 号”西洋参为试材,采用高效离子交换色谱法,测定了  $F_1$  代和双亲本 3 种材料愈伤组织的氨基酸含量,并分析了氨基酸组成的差异性。结果表明: $F_1$  代及亲本愈伤组织中均含有 17 种氨基酸, $F_1$  代愈伤组织氨基酸含量相对较高,其次为母本、父本;3 种材料均以谷氨酸、天冬氨酸含量最高, $F_1$  代不同种类氨基酸和总氨基酸含量高于亲本,但不同种类氨基酸占总氨基酸的比重与亲本差异较小。

**关键词:**人参;西洋参;杂交种;愈伤组织;氨基酸

**中图分类号:**S 567.5<sup>+</sup>3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)16-0149-03

人参(*P. ginseng* C. A. Mey.)和西洋参(*P. quinquefolium* L.)均属五加科(Araliaceae)多年生草本植物,是珍贵药材,在吉林省广泛种植。人参、西洋参含人参皂苷、氨基酸、多糖等多种有效成分,有增强免疫力、抗疲劳、抗肿瘤等多种功效<sup>[1]</sup>。但因人参、西洋参生长周期长,连作障碍<sup>[2]</sup>和生长环境特殊等问题,不利于优良品种筛选和培育,一般通过人参、西洋参远缘杂交来促进种间基因交流,以利于引入优良基因,该方法是筛选优良变异品种的重要途径<sup>[3]</sup>。因此,国内外学者对红果人参、黄果人参参与西洋参进行了远缘杂交,但只获得少量  $F_1$  代杂交种,且出现  $F_1$  代不育问题,这对育种工作十分不利。为了提高育种水平,目前有许多研究者将传统育种技术与生物技术相结合,如 LAIBACH<sup>[4]</sup> 研究表明,植物组织培养技术通过离体培养可以缩短育种年限,利用离体胚培养技术可拯救远缘杂交败育的杂种胚<sup>[4]</sup>,该技术自 20 世纪在多种物种得到广泛应用。

氨基酸是蛋白质的基本组成单位,对人体健康具有重要作用<sup>[5]</sup>。常见的氨基酸有 20 种,包括人体自身(或其它脊椎动物)不能体内合成的必需氨基酸,可以体内合成的非必需氨基酸和精氨酸、组氨酸 2 种半必需氨基酸<sup>[6]</sup>。氨基酸既对维持身体健康活动和生命活力提供营养支撑,还具有调节免疫力<sup>[7]</sup>、抗肿瘤等药效。但截

至目前,对人参×西洋参  $F_1$  代的研究多为花粉粒、成龄植株形态特征等方面,对组培得到的  $F_1$  代与父母本氨基酸含量研究尚鲜见报道。为此,以“福星 1 号”人参、“中农洋参 1 号”西洋参杂交  $F_1$  代和亲本种子的愈伤组织为试材,进行氨基酸含量的检测,并对  $F_1$  代和双亲的氨基酸成分进行对比分析,以期为人参和西洋参杂交育种工作提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

亲本♀人参(“福星 1 号”)、♂西洋参(“中农洋参 1 号”)均来自于中国农业科学院特产研究所左家野生资源观测站。“福星 1 号”为红果,植株生长旺盛、产量高、抗病虫害能力强;“中农洋参 1 号”为红果,参形好、产量高。 $F_1$  杂交种获得:通过人工授粉将西洋参的花粉授到人参柱头上,将成熟的杂交种及其亲本种子采集后,用组织培养方法将去掉种壳后的种胚接种到培养基上诱导得到组培苗,将组培苗在诱导培养基中诱导得到愈伤组织。

试验仪器:L-8900 全自动氨基酸分析仪(日本日立公司);德国 CHRIST 冻干机(上海泰坦科技有限公司);GZX-9240 MBE 电热鼓风干燥箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂);DZF-6090 型真空干燥机(上海浦东荣丰科学仪器有限公司);Milli-Q Advantage A1 超纯水器(美国密理博公司);Amino Acids Mixture Standard Solution (Type H, Wako Pure Chemical Industries)。

### 1.2 试验方法

参考张崇禧等<sup>[8]</sup>方法挑选生长旺盛、状态一致的 3

**第一作者简介:**宋娟(1987-),女,硕士,研究实习员,研究方向为药用植物资源。E-mail:825565316@qq.com.

**基金项目:**吉林省青年基金资助项目(20140520165JH)。

**收稿日期:**2016-02-15

种材料的愈伤组织,吸去表面水分,置于一80℃冰箱内预冻24 h左右后,放入冻干机内冻干,将冻干样品研磨至粉状。分别精确称取3种样品粉末30 mg,置于解离管中,加入15 mL 6 mol·L<sup>-1</sup> HCl,在干燥箱中于(110±1)℃解离22 h。解离后取出静置至室温,将解离液转入到50 mL的容量瓶中,用一级水冲洗解离管,并定容。准确吸取定容后的解离液1 mL于试管中,置于真空干燥箱中蒸干。用2 mL去离子水冲洗试管中蒸干后的样品残渣,并再次蒸干。反复操作2~3次,使氯化氢完全挥发。在洗净蒸干后的样品中精确加入0.02 mol·L<sup>-1</sup> HCl 2 mL用于溶解样品,后用0.22 μm滤膜过滤至进样瓶中,待测。

### 1.3 项目测定

氨基酸测定方法根据GB/T 5009.124-2003<sup>[9]</sup>改进,采用日立L-8900全自动氨基酸分析仪对3种材料的氨基酸组分进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 人参×西洋参F<sub>1</sub>代愈伤组织与亲本氨基酸含量比较

由表1可以看出,3种材料中均检测到17种氨基酸成分。且在17种氨基酸中,Glu在3种材料中含量均为最高,超过1.000%,其中,F<sub>1</sub>代含量(3.073%)高于其亲本(人参1.420%、西洋参1.100%);其次是Asp,F<sub>1</sub>代含量(0.691%)也高于亲本(人参0.480%、西洋参0.452%)。其它氨基酸在3种材料中均存在差异,母本含量较高的为Leu(0.275%)、Lys(0.264%)、Ser(0.255%)、Arg(0.247%);低于0.100%的氨基酸有3种,即Pro(0.055%)、Met(0.024%)、Cys(0.001%);父本含量较高的为Leu(0.238%)、Ser(0.231%)、Arg(0.224%)、Lys(0.217%),含量低于0.100%的氨基酸有

表1 人参×西洋参F<sub>1</sub>代愈伤组织与亲本氨基酸含量比较 %

氨基酸名称	人参愈伤组织含量	西洋参愈伤组织含量	F <sub>1</sub> 愈伤组织含量
天冬氨酸(Asp)	0.480±0.043	0.452±0.032	0.691±0.074
苏氨酸(Thr)	0.216±0.015	0.188±0.017	0.323±0.032
丝氨酸(Ser)	0.255±0.029	0.231±0.024	0.376±0.025
谷氨酸(Glu)	1.420±0.113	1.100±0.103	3.073±0.126
甘氨酸(Gly)	0.241±0.023	0.188±0.017	0.355±0.028
丙氨酸(Ala)	0.229±0.024	0.216±0.026	0.374±0.046
半胱氨酸(Cys)	0.001±0.000	0.000 009±0.000	0.226±0.024
缬氨酸(Val)	0.193±0.021	0.170±0.022	0.286±0.036
蛋氨酸(Met)	0.024±0.004	0.020±0.002	0.010±0.001
异亮氨酸(Ile)	0.161±0.017	0.140±0.007	0.219±0.024
亮氨酸(Leu)	0.275±0.020	0.238±0.024	0.387±0.030
酪氨酸(Tyr)	0.109±0.015	0.076±0.007	0.133±0.017
苯丙氨酸(Phe)	0.167±0.025	0.153±0.023	0.232±0.022
赖氨酸(Lys)	0.264±0.029	0.217±0.025	0.401±0.040
组氨酸(His)	0.114±0.010	0.079±0.004	0.174±0.012
精氨酸(Arg)	0.247±0.016	0.224±0.036	0.548±0.049
脯氨酸(Pro)	0.055±0.007	0.113±0.014	0.126±0.012

3种,即His(0.079%)、Met(0.020%)、Cys(低于0.001%);F<sub>1</sub>代含量较高的为Arg(0.548%)、Lys(0.401%)、Ser(0.376%)、Ala(0.374%),含量低于0.100%的只有Met(0.010%)。F<sub>1</sub>代单个氨基酸含量均高于父母本,有明显的杂种优势,如Glu、Arg、Gly等,最显著的是在亲本含量都极低的Cys,在F<sub>1</sub>代为0.226%;但Met含量表现出负向优势,其亲本中含量偏低,而在杂交种子愈伤组织中含量甚至低于亲本。这表明杂交在整合亲本优势的同时,也会表现出部分的负向增长<sup>[10]</sup>,人工杂交导致基因的随机整合,这使得基因表达存在着不可控制性。

### 2.2 人参×西洋参F<sub>1</sub>代与亲本总氨基酸及种类比较

由表2比较发现,F<sub>1</sub>代总氨基酸含量(7.934%)最高,其次为母本(4.452%)、父本(3.806%)。按所含氨基和羧基数目将氨基酸分为酸性氨基酸、碱性氨基酸和中性氨基酸3类。通常红果人参×西洋参F<sub>1</sub>代与亲本含量均为酸性氨基酸>碱性氨基酸>中性氨基酸,F<sub>1</sub>代含量约为亲本含量之和。人体必需氨基酸共检测出7种,总含量以F<sub>1</sub>代(1.858%)最高,其次为母本(1.301%)、父本(1.126%),3种材料均以非必需氨基酸含量为最高,其次为必需氨基酸、半必需氨基酸;F<sub>1</sub>代的半必需氨基酸和非必需氨基酸占总氨基酸比例略高于亲本,而必需氨基酸的比重低于亲本。以上表明,人参×西洋参F<sub>1</sub>代中氨基酸含量高于亲本,表现出杂交优势,但在总体构成比重上与亲本基本一致。由图1可以看出,除酸性氨基酸占自身总氨基酸含量比重略有差异外,碱性氨基酸和中性氨基酸在3种材料中占总氨基酸的比重基本无差异。

表2 人参×西洋参F<sub>1</sub>代与亲本氨基酸总量及种类比较 %

氨基酸种类	人参愈伤组织含量	西洋参愈伤组织含量	F <sub>1</sub> 愈伤组织含量
总氨基酸	4.452±0.018	3.806±0.026	7.934±0.230
酸性氨基酸	1.900±0.073	1.552±0.124	3.764±0.200
碱性氨基酸	0.625±0.019	0.519±0.008	1.123±0.069
中性氨基酸	0.605±0.045	0.516±0.042	1.068±0.037
必需氨基酸	1.301±0.054	1.126±0.065	1.858±0.020
半必需氨基酸	0.361±0.015	0.303±0.032	0.723±0.056
非必需氨基酸	2.790±0.010	2.377±0.085	5.354±0.203

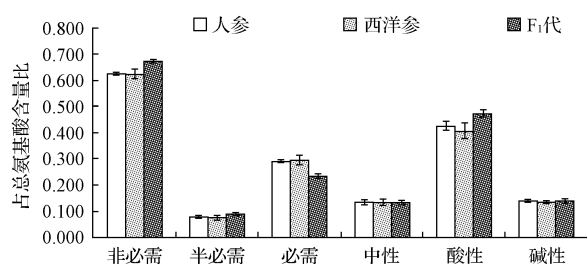


图1 3种材料中各类氨基酸占总氨基酸的含量比

### 3 讨论与结论

远缘杂交是重要的育种手段,可以通过创造出新品种或引入不同优良基因性状来改良作物<sup>[11]</sup>。虽然人参、西洋参远缘杂交 F<sub>1</sub> 代尚存在不育问题<sup>[12]</sup>,但杂交整合二者的基因性状,F<sub>1</sub> 代与亲本间性状表达仍存在差异。目前植物组织培养技术已日渐成熟,与传统育种技术相结合,可获得 F<sub>1</sub> 代愈伤、组培苗等材料。该研究对人参属的人参、西洋参 2 个重要种进行远缘杂交得到的 F<sub>1</sub> 代及亲本种子,经组织培养后得到的愈伤组织材料进行了氨基酸含量的对比分析。从单一氨基酸及总氨基酸含量来看,F<sub>1</sub> 代的氨基酸含量(除 Met)都高于亲本,这可能是杂交种整合了人参、西洋参中的氨基酸性状,有利于氨基酸的合成,这为组织培养大量获取氨基酸提供了条件;但 F<sub>1</sub> 代中不同种类氨基酸比例与父母本差异不大,分析可能是杂交使得氨基酸合成表达增加,个别氨基酸表达差异较大,但各类氨基酸合成的比例差异较小。

(该文作者还有梁韶、侯志芳,单位同第一作者。)

### 参考文献

- [1] 陈巍,高文远,贾伟,等. 人参属药用植物组织和细胞培养的研究进展[J]. 中草药,2005,36(4):616-620.
- [2] 尹红新,雷秀娟,宋娟,等. 组培和大田条件下人参、西洋参叶片解剖结构比较[J]. 吉林农业大学学报,2015,37(2):171-176.
- [3] 钟方丽,李平亚. 林下参研究进展[J]. 人参研究,2006,18(2):8-10.
- [4] LAIBACH F. Das Taubwerden von Bastardsamen und die künstliche Aufzucht früh absterbender Bastard-Embryonen[J]. Zeist Bot,1925(17):417-459.
- [5] GAD G,RAINER H. Metabolic engineering of amino acids and storage proteins in plants[J]. Metabolic Engineering,2002(4):3-11.
- [6] 徐琪寿. 氨基酸药理学研究进展[J]. 氨基酸和生物资源,1996,18(1):30-32.
- [7] 蒋立锐. 氨基酸与免疫功能[J]. 氨基酸和生物资源,1981(2):60-62.
- [8] 张崇禧,李向高,郭生桢. 西洋参中总氨基酸成分的分析[J]. 中成药研究,1987(5):29-31.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 食品中氨基酸的测定:GB/T 5009.124-2003[S]. 北京:中国标准出版社,2004.
- [10] 潘晨,胡燕,包满珠,等. 孔雀草杂交组合遗传效应分析[J]. 中国农业科学,2014,47(12):2395-2404.
- [11] 刘长友,范保杰,曹志敏,等. 豇豆属食用豆类间的远缘杂交[J]. 中国农业科学,2015,48(3):426-435.
- [12] 赵亚会,辜旭辉,吴连举,等. 黄果人参西洋参远缘杂交研究[J]. 特产研究,2007,29(3):24-26.

## Comparison of Amino Acids on Seed Callus of F<sub>1</sub> Generation From Ginseng and American Ginseng and Their Parents

SONG Juan, LEI Xiujuan, YIN Hongxin, WANG Han, YAO Lina, WANG Yingping, LIANG Shao, HOU Zhifang

(Institute of Special Wild Economic Animals and Plants, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun, Jilin 130112)

**Abstract:** In order to determine the amino acid content of the callus, with the seeds *in vitro* of F<sub>1</sub> generation from *P. ginseng* C. A. Mey. and *P. quinquefolium* L. and their parents as material, the amino acids content and amino acid composition were determined and analyzed by the high performance ion exchange chromatography in three callus. The results showed that the callus of F<sub>1</sub> generation and their parents contained 17 kinds of amino acids. The amino acid of F<sub>1</sub> generation was higher than their parents', the lower were female parent, male parent. Glutamic acid and aspartic acid of the three materials were higher than others. The contents of types and total of amino acid of F<sub>1</sub> generation were higher than their parents'. But the share of types and total of amino acid of F<sub>1</sub> generation and their parents was less than the difference.

**Keywords:** *P. ginseng* C. A. Mey.; *P. quinquefolium* L.; hybrids; callus; amino acids