

兰 英,柳 敏,严铸云,等. 不同地理种源丹参组培快繁及再生苗性状差异比较[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):103-107.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.024

# 不同地理种源丹参组培快繁及再生苗性状差异比较

兰 英,柳 敏,严铸云,谢惠庆,沈晓凤,张 礼,林婵春

(成都中医药大学/中药资源系统研究与开发利用省部共建国家重点实验室培育基地/  
中药材标准化省部共建教育部重点实验室,四川成都 611137)

**摘要:**建立不同地理种源丹参(四川、山东、河南)组织培养条件,比较其组培苗及大田栽种后植株间的生物学性状差异。以不同地理种源盆栽丹参茎尖嫩叶为外植体,经 70% 的乙醇处理 10 s 后,再用 2% 的 NaClO 溶液灭菌 20 min 效果较好,污染率仅为 5%。叶片愈伤组织的诱导及继代增殖最适培养基为 MS + 2.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA,出愈率达到 96.7%;芽分化的最佳激素条件为 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA;幼苗生根的适宜培养基为 1/2MS + 0.2 mg/L NAA + 0.5 mg/L IBA,生根率为 94%。结果显示不同地理种源丹参组培苗及大田栽培后植株间根部特征、株高、叶形及开花与否均有较大差异。这为进一步探索 3 个种源丹参根系分泌物的差异及其与品质形成的关系提供了依据。

**关键词:**丹参;组培快繁;植株再生;生物学性状

**中图分类号:**S567.5+30.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)10-0103-05

丹参为唇形科鼠尾草属植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)的干燥根及根茎,具有活血化瘀、消肿止痛、养血安神的功能,是常用的重要中药<sup>[1]</sup>;广泛分布于四川、河南、山东、安徽、陕西等省区,具有较强的土壤适应性<sup>[2]</sup>。前期研究结果表明,不同产地丹参栽培中普遍存在连作障碍及病毒积累等问题,而其有效成分含量差异明显,这与其遗传特性有关<sup>[3-4]</sup>。本试验以 3 个不同地理种源的丹参植株为材料,利用组织培养具备繁殖速度快、脱除病毒且保证植株遗传稳定性等优势,建立山东临朐、河南方城、四川中江 3 个种源丹参的组培快繁体系,实现对 3 种不同丹参组培苗的快速繁殖,并将试管苗移栽于四川中江进行大田培育,比较其生物学性状的差异,为后期探索不同丹参遗传特性与其药材品质形成的关系提供依据。

## 1 材料与方法

收稿日期:2015-08-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:81173493)。

作者简介:兰 英,女,重庆人,硕士研究生,主要从事中药资源与开发利用研究。E-mail:961269730@qq.com。

通信作者:严铸云,教授,博士生导师,主要从事道地药材品质形成与调控研究。E-mail:cdtemyan@126.com。

### 1.1 试验材料

丹参种源于 2012 年 12 月分别采自四川省中江县石泉乡、山东省临朐县吕匣镇、河南省方城县拐河镇 3 个不同产区,根段繁殖,翌年开花后,经鉴定均为唇形科植物丹参(*Salvia miltiorrhiza* Bge.)。

### 1.2 仪器与试剂

仪器:SW-CJ-1F 超净工作台(江苏苏净集团有限公司),JA5003 电子天平(上海良平仪器仪表有限公司),MLS-3020 自动高压灭菌锅(日本三洋公司),PHS-3C+ 酸度计(成都世纪方舟科技有限公司),MLR-350HT 组培箱(日本三洋公司)。

试剂:MS 培养基(杭州临安木木生物技术有限公司,批号 20120701),6-BA(济南昊天科技发展有限公司,批号 20110603),NAA(济南昊天科技发展有限公司,批号 20110607),2,4-D(济南昊天科技发展有限公司,批号 20101107),维生素 B<sub>1</sub>(成都市科龙化工试剂厂,批号 20111023),蔗糖(成都市科龙化工试剂厂,批号 20090610),琼脂粉(成都市科龙化工试剂厂,批号 20111001),蒸馏水。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 无菌外植体的获得** 取样前将丹参植株移至室内培养 1 周后,采取植株茎尖 1~2 片新叶,用无菌纱布包裹置于

[17]郭丽琼,林俊芳,熊 盛,等. 抗冷冻蛋白基因遗传转化草菇的研究[J]. 微生物学报,2005,45(1):39-43.

[18]Han F,Liu Y,Guo L Q,et al. Heterologous expression of the immunomodulatory protein gene from *Ganoderma sinense* in the basidiomycete *Coprinopsis cinerea*[J]. Journal of Applied Microbiology,2010,109(5):1838-1844.

[19]Maehara T,Yoshida M,Ito Y,et al. Development of a gene transfer system for the mycelia of *Flammulina velutipes* Fv-1 strain[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry,2010,74(5):1126-1128.

[20]Punt P J,Dingemans M A,Kuyvenhoven A,et al. Function ele-

ments in the promoter region of the *Aspergillus nidulans* *gpd A* gene encoding glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase[J]. Gene,1990,93(1):101-109.

[21]杨飞芸. 转基因草菇的生物学特性及其后代遗传稳定性研究[D]. 广州:华南农业大学,2005.

[22]赵风云. 转多功能纤维素酶基因(*mfc*)草菇的稳定性分析和高产菌株的选育[D]. 广州:华南农业大学,2010.

[23]李 巍,刘秀明,李洪志,等. 农杆菌介导的碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)转化平菇的研究[J]. 菌物学报,2011,30(1):46-53.

自来水下冲洗 1 h。将冲好的嫩叶用无菌水洗涤 5 次后置于超净工作台中,先后用 70% 的乙醇和 2% 的 NaClO 溶液进行不同时间的灭菌处理,期间不断搅拌使叶片与消毒液充分接触<sup>[5-6]</sup>。最后用无菌水冲洗 4 次后切块接种于培养基上。1 周后统计其灭菌后的生长状况及污染率,筛选出最佳的灭菌时间组合。污染率 = 污染数/接种数 × 100%<sup>[7]</sup>。

1.3.2 丹参愈伤组织的诱导及增殖培养 将灭菌好的嫩叶剪成约 0.5 cm × 0.5 cm 的小块,并用解剖刀轻轻将其表面划伤,背接(背面向上)于附加不同浓度生长素(NAA、2,4-D)和细胞分裂素(6-BA)配比的 MS 培养基上(含蔗糖 3%、琼脂 0.7%,pH 5.8~6.0,121℃、1.1 kg/cm<sup>2</sup> 条件下灭菌 15 min)。每种处理培养 10 瓶,每瓶接种 3 块,培养 5 d 后将无菌的组织块接入新的培养基上培养。于(25±2)℃下黑暗培养,每隔 5 d 对其生长状况进行观察,20 d 后统计诱导出愈伤组织的外植体数并计算诱导率,同时记录愈伤组织的颜色、质地和生长情况。愈伤组织诱导率按出愈率计算,公式如下<sup>[7]</sup>:

出愈率 = [ 无污染愈伤组织数/(总接种数 - 污染数) ] × 100%。

将上述已分化愈伤组织分割成大小约 0.5 cm × 0.5 cm 的小块后,转移到与诱导愈伤相同激素比例的增殖培养基中,于(25±2)℃黑暗条件下继代培养。

1.3.3 丛生芽的诱导 将愈伤组织分割成大小约 0.5 cm × 0.5 cm 的小块后,转移到附加不同浓度生长素(NAA)和细胞分裂素(6-BA)的 MS 增殖培养基中(培养基组成同“1.2.2”节)。温度(25±2)℃、光照度 2 000~3 000 lx、光照时间 11 h/d 条件下培养,20 d 后记录丛生芽生长状态。

1.3.4 根的发生 取增殖培养中生长的丹参无根苗茎尖端 2~3 cm,同时将未分化成苗的芽丛分割成单芽,接种到附加不同浓度的 NAA 和 IBA 的 1/2MS 生根培养基中(含蔗糖 1.5%、琼脂 0.8%,pH 5.8~6.0,121℃、1.1 kg/cm<sup>2</sup> 条件下灭菌 15 min)。以不添加任何激素的 1/2MS 为对照培养基。培养条件同上述处理。统计各种激素条件下 2 种材料的最早生根时间,并在培养 25 d 后统计其生根率并记录生长状况。生根率计算公式如下:

生根率 = [ 形成根的苗数/(接种数 - 污染数) ] × 100%。

将采自同一植株的河南方城和四川中江丹参外植体按最佳灭菌条件灭菌后,接种于山东临朐丹参组培中各阶段优化的最佳培养基上,于同样条件下进行培养,以期获得 3 个不同地理种源的丹参无菌组培苗,比较其性状的差异。至根长至 5~8 cm 时取出组培苗,洗净根部培养基后,移栽于含灭菌基质(腐殖土:珍珠岩比例为 3:1)的育苗杯中室内光照炼苗。成活后移栽到四川省中江县石泉乡进行大田栽培,不同种源丹参以相同方式管理。于栽种 1 个月后统计其幼苗存活率,并分别补苗以保证各种源丹参幼苗 35 株以上。定期观察不同地理种源丹参大田栽培的植株生物学性状差异。

2 结果与分析

2.1 丹参外植体的最佳灭菌条件

取同一丹参植株切根繁殖的丹参苗茎尖嫩叶为组培外植体,按“1.3.1”节的步骤进行不同灭菌时间的处理后接种于不含激素的 MS 培养基上(同“1.3.2”节)。其灭菌情况及丹参叶片生长状态见表 1。

表 1 不同处理时间对外植体灭菌效果的影响

灭菌处理时间		接种数 (块)	污染数 (块)	污染率 (%)	灭菌情况	生长状态
70% 乙醇	2% NaClO					
10 s	10 min	20	11	55	无变化	较好,组织块保持新鲜
10 s	15 min	20	4	20	无变化	较好,组织块保持新鲜
10 s	20 min	20	1	5	无变化	较好,组织块保持新鲜
20 s	15 min	20	0	0	边缘褐化	较差,组织块部分褐化皱缩
20 s	20 min	20	0	0	部分褐化	较差,组织块部分褐化死亡

盆栽丹参茎尖嫩叶因暴露于空气中易被微生物污染,在置入培养基之前必须经过表面灭菌,但不同灭菌剂、灭菌浓度及灭菌时间的灭菌效果不一样,且表面灭菌剂对植物组织会有一定的伤害作用。文献报道多以氯化汞作为灭菌剂<sup>[8-9]</sup>,考虑到氯化汞虽具有较好的灭菌效果,但毒性较大,易损伤外植体,且灭菌后难以除去,因此本试验中以 70% 的乙醇溶液和 2% NaClO 组合灭菌。从表 1 可以看出,先用 70% 的乙醇处理 10 s 后再用 2% 的 NaClO 溶液灭菌 20 min 效果最好,污染率仅为 5%。其他灭菌时间均不理想。

2.2 外源激素对愈伤组织形成的诱导

将灭菌好的组织块分别接种到 6-BA、NAA、2,4-D 不同浓度组合的培养基上,25 d 后统计愈伤组织诱导率,结果见表 2。

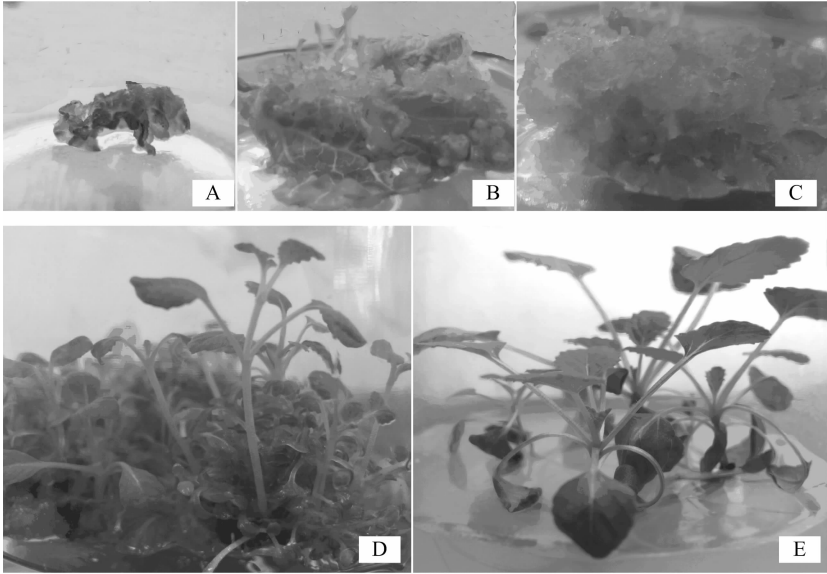
从表 2 可见,不同外源激素和相同外源激素的不同比例处理时,外植体的生长情况有较大差异,当用 6-BA 单因素处理时,随着浓度的增加,外植体增长较快且芽的分化率较

高,同时有的叶片在接触培养基的部位可不经明显的愈伤组织阶段而直接分化出芽,表明细胞分裂素可明显促进芽的分化及生长。将 6-BA 与 NAA 配合使用,在适宜浓度下培养 7 d 左右,可见叶片皱缩增大,中部隆起,叶缘及切口处开始膨大,叶片颜色变浅,外植体进入脱分化阶段(图 1-A)。至 15 d 时,整个叶片呈黄白色,切口处形成无固定形态的细胞团,并有少量不定芽形成(图 1-B)。30 d 时叶片基本完全脱分化形成愈伤组织,具少数丛生芽(图 1-C)。最佳的激素组合是 2.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA,出愈率达到 96.7%。生长素浓度过低时叶片脱分化较缓慢,可见生长素在叶片脱分化过程中起着至关重要的作用。这可能与生长素可启动细胞中 DNA 的转录与翻译,活化细胞代谢,启动细胞分裂有关。6-BA 与 2,4-D 搭配使用,外植体未明显长大且形成少量愈伤组织,培养过程中逐渐褐化、死亡。这可能是因为 2,4-D 诱导愈伤组织中的多酚氧化酶活性升高,或是对外植体的毒害作用导致其褐化<sup>[10]</sup>。

表 2 不同外源激素对丹参愈伤组织形成的影响

编号	外源激素 (mg/L)			接种数 (块)	愈伤数 (块)	出愈率 (%)	生长情况			
	6-BA	NAA	2,4-D				颜色	质地	体积	丛生芽
1	1.0			30	27	90.0	黄绿色	较密	+	大量短小丛芽
2	1.5			30	28	93.3	淡绿色	较密	+	大量瘦高丛芽
3	2.0			30	28	90.3	黄绿色	致密	++	大量瘦高丛芽
4	2.0	1		30	29	96.7	淡绿色	较密	+++	少量粗壮丛芽
5	1.0	0.5		30	24	80.0	淡绿色	较密	++	少量瘦高丛芽
6	2.0	0.2		30	28	93.3	淡绿色	致密	+++	大量玻璃化幼芽
7	0.5		2.0	30	4	13.3	黄褐色	疏松	-	未分化变褐
8	1.0		1.0	30	6	20.0	浅褐色	疏松	+	边缘分化微褐化
9	1.0		0.5	30	9	30.0	浅褐色	较密	+	全分化并微褐化

注：“+++”表示愈伤体积增大3倍以上，“++”表示愈伤体积增大2~3倍，“+”表示愈伤体积增大1~2倍，“-”表示愈伤组织增大小于1倍；“大量”指分化丛生芽明显超过愈伤一半，“少量”指分化丛生芽明显少于愈伤一半。表3同。



A~C—丹参嫩叶诱导愈伤组织的形成过程；D—愈伤组织诱导丛生芽；E—无根苗生根

图1 丹参愈伤组织的诱导及植株再生

2.3 外源激素对芽分化的诱导

愈伤组织分割成约 0.5 × 0.5 cm<sup>2</sup> 的小块后, 转移到 6-BA、NAA 和 2,4-D 不同组合的培养基上继续培养, 20 d 后观察组织块的生长状态, 结果见表 3。

从表 3 可见, 6-BA 与 NAA 组合应用时, 可促进愈伤组织的生长, 且当 6-BA 与 NAA 浓度比值较大时可明显地诱导愈伤组织分化产生丛生芽, 甚至长成无根幼苗, 这与 Skoog

提出的细胞分裂素和生长素比例较高时利于芽生长, 而比值较低时有利于根的分化相一致。但 1 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA 与 2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 组合试验中发现, 高浓度诱导的丛生芽分化较快, 玻璃化严重而变脆, 芽丛叶片大而密集, 生根培养难以成活。且激素用量较大会增大植株的变异概率, 不利于保持试管苗的遗传稳定性<sup>[11]</sup>。而低浓度组合诱导丛生芽生长正常, 且有少数无根苗(图 1-

表 3 不同外源激素对芽分化的效应

编号	外源激素 (mg/L)			生长状态			
	6-BA	NAA	2,4-D	颜色	状态	体积	芽生长状况
1	1	0.5		黄白	较密	++	少量瘦高芽丛
2	1	0.1		淡绿	较密	+++	大量健壮芽丛, 少数无根苗
3	2	0.2		淡绿	致密	+++	大量瘦高芽丛, 叶大且玻璃化
4	1		0.5	浅黄	疏松		未见芽的分化, 愈伤微褐化
5	1		0.1	黄白	疏松	+	未见芽的分化, 愈伤稍增大
6	2		0.2	浅黄	较疏松	+	少量黄绿瘦高幼芽
7			1.0	黄白	松散		未见芽的分化, 愈伤增大不明显
8			2.0	浅黄	松散		未见芽的分化, 愈伤增大不明显

D)。相同比例的 6-B A 和 2,4-D 搭配后加入到增殖培养基中,未见芽的分化,愈伤组织增大不明显,但愈伤组织呈疏松的黄白色。可见,2,4-D 并不能诱导愈伤组织分化出芽丛,甚至抑制了 6-B A 的诱导效果,但明显地改善了其生长状态,这有利于在悬浮培养时得到均一分散的细胞悬浮液。因此在丛生芽的诱导时,以 1.0 mg/L 6-B A 与 0.1 mg/L N A A 配合使用效果更佳,这与李明军等报道的裕丹参愈伤组织诱导最佳激素比相同<sup>[12]</sup>。而当需要将培养的愈伤组织进行细胞悬浮培养时,可考虑将生长良好的愈伤组织块接种于

含 1.0 mg/L 6-B A 和 0.1 mg/L 2,4-D 的培养基上预培养一段时间,待愈伤组织呈疏松易分散状态时再进行悬浮培养,可获得较好的效果。

2.4 外源激素对根发生的影响

将 2~3 cm 的无根苗茎尖及幼芽分别接种于 N A A 与 I B A 不同组合的培养基上诱导生根,总共设计 5 组激素组合,观察不同激素条件下最早的生根时间、生根率及根和幼苗的生长情况,结果见表 4。

表 4 不同浓度 N A A 和 I B A 对丹参生根培养的影响

编号	外源激素(mg/L)		最早生根时间 (d)	生根率 (%)	根生长情况	
	N A A	I B A			无根苗茎尖	幼芽
1	0.5	0.5	13	77	根较粗具黄褐毛,苗瘦高	幼芽水渍状,基部脱分化并褐化
2	0.5	0.2	15	92	根灰褐粗壮,苗叶小瘦高	幼芽水渍状,基部脱分化并褐化
3	0.2	0.5	10	94	根黄白色,苗健壮	幼芽水渍状,基部脱分化并褐化
4		0.5	12	94	根细长,苗瘦高	幼芽底部叶片增大,水渍状
5			20	85	根黄白色,苗健壮	幼芽叶片枯萎死亡

注:因幼芽生根培养时多数死亡,所以最早生根时间及生根率是无根苗的统计结果。

将芽和无根苗接种到同样的培养基上诱导生根时,大多幼芽均基部褐化死亡,而无根幼苗的茎尖多数能产生根,说明丹参无根苗比幼芽更容易生根。这可能是由于幼芽分化程度相对较低,其内源激素水平及对外界环境的适应力较差,使其不能正常分化产生根,而丹参苗具有完整的顶芽、叶片,有较强的适应能力,能合成自身所需的生长素,从而促进茎的基部生根。因此,在生根培养时以无根苗的茎尖扦插可提高成活率。当以 N A A 和 I B A 配合使用诱导生根时,比值较高时则会诱导产生不正常幼根,表面微褐化,极易脱落,最早生根时间较长,且移栽成活率低;比值较低时则可诱导产生较多幼根,其中最佳组合为 0.2 mg/L N A A + 0.5 mg/L I B A,最早生根,

且生根率达 94%(图 1-E)。而当单独使用 0.5 mg/L I B A 时,虽诱导生根较快,但苗瘦高,移栽时易受损伤而难以成活。试验中未添加激素的空白组也能诱导无根苗生根,但较为缓慢,生根率较低,这可能是其内源激素促进其自发生根,与蔡朝晖等的试验现象相同<sup>[13]</sup>。

2.5 不同种源丹参组培苗的性状比较

3 个不同种源的丹参外植体均能适应优选的最佳组培条件,实现丹参无菌组培苗的快速繁殖,但不同种源丹参组培苗性状及移栽成活率有所不同(表 5)。于四川省中江县石泉乡大田栽培后,不同种源丹参植株生物学性状差异较大(表 6、图 2、图 3)。

表 5 不同地理种源丹参组培苗性状比较

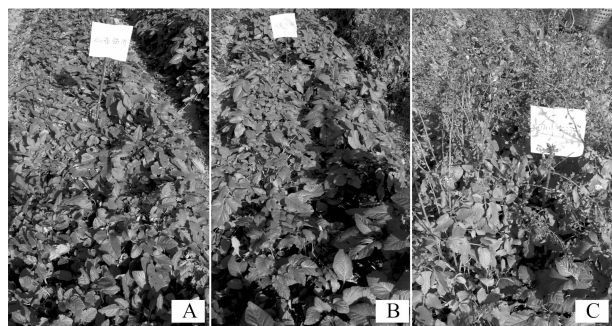
种源	组培苗		组培根		移栽存活情况		
	大小	叶片	数目(条/苗)	形态	栽培数(株)	存活数(株)	存活率(%)
山东临朐	中等	叶中等,表面光滑薄纸质	3~5	中等,较长	64	24	37.5
河南方城	较粗壮	叶大,表面微皱稍厚	8~15	粗大	34	22	64.7
四川中江	稍瘦小	叶稍小,表面光滑薄纸质	8~15	细长,侧根多	45	19	42.2

表 6 不同种源丹参开花期及收获期的性状特征观察

种源	开花期地上部分特征			收获期根部特征		
	植株形态	叶片	花	大小	颜色	患病情况
山东临朐	茎极矮,叶铺地莲座状,冠幅较小	叶小,多 5 羽状复叶,深绿色,卵形,叶缘圆锯齿,背部多绒毛	不开花	主根大,侧根纤细	红色	根结线虫病严重
河南方城	茎矮壮,茎叶繁多,冠幅较大	叶较大,多 5 羽状复叶,深绿色,卵状披针形,叶缘圆锯齿,叶轴多绒毛	不开花	主根大,不规则,侧根稍小	浅红色,部分红白相间	无根结线虫病
四川中江	茎高大,侧芽发育,冠幅大	叶大,多 7 羽状复叶,嫩绿色,卵形,叶缘圆锯齿,绒毛较少	开花,花序圆锥状,花冠蓝紫色	主根大,侧根稍小,表面较光滑	浅红色,大部分红白相间	无根结线虫病

虽然 3 个不同种源丹参的遗传特性有所不同,但试验中筛选的最佳组培条件成功应用于 3 种丹参的组培快繁,说明所获得的最佳激素比例具较广适用性,可用于丹参无菌组培苗的大量繁育。但经四川中江大田栽培存活率均较低,可能与丹参组培苗过于幼小及一直处于室内环境炼苗有关,建议后期大田移栽前进行室外炼苗以增强组培苗的适应能力。河南方城丹参组培苗存活率最高(64.7%),其次是四川中江组

培苗(42.2%),山东临朐组培苗最低(37.5%)。这与不同种源丹参组培苗的性状也有关,四川中江丹参组培苗虽较瘦高,但根多,且其外植体本身来源于当地栽培的丹参植株,因此移栽后仍具较强的适应性,苗成活率较高;河南方城丹参组培苗根多且较粗,茎较粗壮,适应性强,成活率高;而山东临朐丹参组培苗根少,成活率最低。开花期,发现山东与河南丹参第一年均不开花,这与当地丹参栽培情况相同,而于药植园进行多



A—山东临朐; B—河南方城; C—四川中江

图2 3个种源丹参组培苗大田栽培的地上部特征



A—山东临朐; B—河南方城; C—四川中江

图3 3个种源丹参大田栽培后根形态特征

年栽培发现,山东、河南丹参第二年均开花,可能与其“生理记忆”相关。收获期,山东临朐丹参根结线虫病极严重,呈红色,而河南临朐和四川中江丹参均无根结线虫病发生,但根呈浅红色,部分呈红白相间。其根颜色的变化和发病情况是否与药材有效成分含量及植株本身的抗病性有关,还有待进一步研究。

### 3 讨论

植物组织培养中影响因素很多,有物种的遗传特性及生理状态,植株的基因型及所处的发育阶段等内在因素,也包括激素、碳源、氮源、诱导因子等化学因素及光照、湿度、温度等物理因素,还有共生菌等生物因素,均会影响植物组织培养的难易程度<sup>[14-17]</sup>。无菌外植体的获得是建立无菌体系的关键,外源激素是诱导外植体分化的重要因素<sup>[11]</sup>。因此,本试验着重对其灭菌条件及组培各阶段的最佳激素组合进行优化,并以不同地理种源的同一丹参植株为材料,以避免不同植株间的遗传变异,同时获得适应3个不同种源丹参组培快繁的最佳培养条件,实现丹参组培苗的快速繁殖。

不同丹参的差异性比较多见于不同种质间<sup>[18]</sup>,或者与人工诱导多倍体植株间的对比<sup>[19]</sup>,而不同地理种源丹参组培苗大田栽培过程中的生物学性状差异未见报道。研究发现,不同产地的野生丹参,其生物学性状并不完全一致,如辽宁丹参复叶为3出,少数5出,花冠深蓝紫色,冠幅平均34.6 cm;陕西商洛丹参复叶变化较大,为3~7出,花冠蓝紫色,冠幅47.8 cm<sup>[18]</sup>。同一野生丹参与其组培再生苗相比,其株高、冠

幅、叶片等均有较大差异,有些变异甚至超出生态型的变异范围<sup>[20]</sup>。可见,产地不同、生长环境不同均会造成物种部分生物学性状变异。本研究同样发现不同地理种源丹参组培苗间及大田栽培植株间均有一定差异,这些差异是否稳定传递,并与其丹参药材的产量及有效成分的积累有关,还需进一步观察研究。

### 参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国中医药出版社,2015.
- [2] 彭成. 中华地道药材[M]. 北京:中国中医药出版社,2011:892-893.
- [3] 杨新杰,万德光,林贵兵,等. 丹参脂溶性成分的地域分布特点分析[J]. 中草药,2010,41(5):809-813.
- [4] 杨新杰,万德光,刘敏,等. 丹参水溶性成分的地域分布特点分析[J]. 天然药物研究与利用,2011,23(4):684-688.
- [5] 杜雪玲,张振霞,余如刚,等. 植物组织培养中的污染成因及其预防[J]. 草业科学,2005,22(1):24-27.
- [6] 周建国,刘珊珊,毛志远,等. 丹参组织培养技术的初步研究[J]. 食品与药品,2015,17(2):93-95.
- [7] 蔡月琴,陆鉴眉,黄志丹,等. 火焰树的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报,2015,51(5):709-714.
- [8] 刘学安. 丹参组织培养技术研究及组培苗生产试验[D]. 四川农业大学,2004:1-28.
- [9] 柳福智,董娟娥,梁宗锁. 不同生长调节物质对丹参愈伤组织的诱导效应[J]. 中国农学通报,2005,21(11):202-204.
- [10] 胡彦,赵艳. 植物组织培养技术的应用以及在培养过程中存在的问题[J]. 陕西师范大学学报:自然科学版,2004,32(增刊1):130-134.
- [11] 潘瑞炽. 植物生理学[M]. 高等教育出版社,1995.
- [12] 李明军,刘杰,周娜,等. 裕丹参愈伤组织诱导、继代及植株再生的研究[J]. 中草药,2008,39(7):1078-1081.
- [13] 蔡朝晖,高山林,徐德然. 丹参组织培养快速繁殖技术的研究[J]. 中国药科大学学报,1991,22(2):65-68.
- [14] 王兴翠,曹逼力. 光质对生姜试管苗生长及微型姜诱导的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(7):142-146.
- [15] 张丽珍,杨冬业,袁盼盼. 红果罗莱木植物组织培养及快速繁殖[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):44-46.
- [16] 黎海利,谭飞理,刘楷栋,等. 聚花过路黄的组织培养和快速繁殖[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):51-53.
- [17] 苏江,韦剑锋,岑忠用,等. 水晶布兰卡百合花器官的组织培养[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):56-58.
- [18] 舒志明,梁宗锁,孙群,等. 不同丹参种质生物学性状比较与评价[J]. 西安文理学院学报:自然科学版,2007,10(2):24-29.
- [19] 高山林,朱丹妮,蔡朝晖,等. 丹参多倍体性状和药材质量的关系[J]. 植物资源与环境,1996,5(2):1-4.
- [20] 赵东利,王术烽,关玉伟,等. 丹参组织培养再生苗性状变异[J]. 北京农学院学报,2012,27(3):7-9.