

· 资源与质量评价 ·

玄参组织培养及炼苗技术

刘应蛟^{1,2,3}, 楚世峰³, 曾婷^{1,2}, 罗飘^{1,2}, 胡耀梅^{1,2}, 陈乃宏^{1,2,3*}

1. 湖南中医药大学药学院, 长沙 410208;
2. 湖南省中药饮片标准化及功能工程技术研究中心, 长沙 410208;
3. 中国医学科学院北京协和医学院药物研究所, 北京 100050)

[摘要] 目的:以玄参茎段、叶柄、带腋茎段和叶片为外植体,筛选出适宜的植株再生体系以及最佳的炼苗条件。方法:通过 $L_{16}(4^5)$ 正交试验研究玄参不同外植体、不同激素和不同浓度对丛生芽的诱导和增殖;采用单因素方差分析不同浓度激素对不定芽生根的诱导;同时选择不同基质、不同浇水周期和不同过渡方式对玄参生根苗炼苗关键技术的优选。结果:带腋茎段为最佳外植体,其次依次为茎段,叶片和叶柄;其在MS+6-苄氨基腺嘌呤(6-BA) $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 萘乙酸(NAA) $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中不定芽诱导率和芽增殖倍数分别为100%和9.84;适宜不定芽生根的培养基为1/2 MS+吲哚-3-丁酸(IBA) $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,生根率100%,根数为39.45条;就基质而言,以营养土-蛭石-珍珠岩(5:2:1)为移栽基质,可保持基质中肥力、透气性与保水性适当搭配;浇水周期选择每2 d浇1次水,过渡方式为室内炼苗20 d,室外遮阴大棚炼苗10 d后移栽大田,成活率可达到95%以上。结论:建立玄参无性快速繁殖体系,为提供玄参高效、快速、稳定的植株再生,优质的种苗繁育以及适宜的炼苗条件提供了有效途径。

[关键词] 玄参;带腋茎段;炼苗;无性快速繁殖;植株再生

[中图分类号] R284.1;R22;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2019)15-0168-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20190912

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20190117.1139.009.html>

[网络出版时间] 2019-01-17 17:56

Tissue Culture and Exercising Seedlings in *Scrophularia ningpoensis*

LIU Ying-jiao^{1,2,3}, CHU Shi-feng³, ZENG Ting^{1,2}, LUO Piao^{1,2},
HU Yao-mei^{1,2}, CHEN Nai-hong^{1,2,3*}

1. College of Pharmacy, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;
2. Engineering Technology Research Center of Traditional Chinese Medicine Decoction Pieces Standardization and Function in Hunan Province, Changsha 410208, China;
3. Institute of Materia Medica, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China)

[Abstract] **Objective:** Stems, petioles, stem sections with axillary and leaves of *Scrophularia ningpoensis* were taken as the material *in vitro* to screen out the suitable plantlet regeneration system and optimal exercising seedling conditions. **Method:** Different explants, hormones and concentrations on the induction and proliferation of cluster bud were studied by $L_{16}(4^5)$ orthogonal test. One factor analysis of variance (ANOVA) was made on the induction of adventitious buds rooted with different concentrations of hormones. At the same time, different substrates, watering cycles and transition modes were selected to optimize key technologies of exercising

[收稿日期] 20180816(022)

[基金项目] 国家中医药管理局中医药标准化项目(ZYBZH-Y-HUN-24,ZYBZH-Y-HEB-16)

[第一作者] 刘应蛟,在读博士,从事中药质量标准与活性研究工作,E-mail:liuyingjiaojiao@sina.com

[通信作者] *陈乃宏,博士,研究员,博士生导师,从事中药药理学、神经药理学工作,Tel:010-63165177,E-mail:chennh@imm.ac.cn

seedlings of *S. ningpoensis*. **Result:** Stem sections with axillary was the best explant, which was followed by stems, leaves and petioles. The suitable media for the induction of adventitious buds was MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.2 mg·L⁻¹, with the induction rate of 100.0% and the proliferation multiple of 9.84. The suitable media for root induction was 1/2 MS + IBA 0.2 mg·L⁻¹, with the rooting rate of 100.0% and the number of roots of 39.45. For matrix, they were transplanted with nutrient soil, vermiculite and perlite (5:2:1) as the media, to keep proper matching of fertility, permeability and water retention. The container seedlings can grow well, and the survival rate was more than 95% when they were watered every 2 days, the acclimatization of plantlets took 20 days indoor and 10 days in shaded greenhouses. **Conclusion:** The clonal propagation system of *S. ningpoensis* was established to provide an effective way for the efficient, rapid and steady plantlet regeneration, the breeding of high-quality seedlings and the suitable exercising seedling conditions of *S. ningpoensis*.

[**Key words**] *Scrophularia ningpoensis*; stem section with axillary; exercising seedlings; clonal propagation; plantlet regeneration

玄参始载于《神农本草经》，列为中品，又名元参、黑参等，历版《中国药典》均有收载^[1]。其性微寒，味甘、苦、咸，归肺、脾、肾经，具有清热凉血、滋阴降火、解毒散结的功效^[2]。玄参为我国特产，现主要分布贵州、浙江、陕西南部、湖南、四川、湖北、江苏等地，以及欧、亚大陆的温带，地中海地区。研究表明玄参含有环烯醚萜类、苯丙素类、黄酮类以及挥发油等多种成分。具有降压强心及降血糖，解热消炎等药理作用。临床上广泛用于治疗感染性疾病，慢性咽炎，习惯性便秘，慢性前列腺炎，淋巴结肿大，小儿高热等疾病^[3]。玄参作为清热凉血类常用中药^[4]，使用量日益增加，随着种植面积日趋扩大，生境差异增多而引起变异种增加，进而影响植物体内的次生代谢^[5]。因而高效快速、遗传稳定的繁育变得至关重要。玄参传统繁殖方法有压条、扦插、种子和带芽的根状茎繁殖等，用种子发芽率较低，扦插和压条的方式生根缓慢。目前主要用带芽的根状茎繁殖，在一定程度上病毒累积增加，病虫害发生率上升，并且中药玄参的入药部位为根，产量明显受到影响。而组织培养可以解决这一问题，可以快速获得大量优良品种，保持亲本的性状。王泽均^[6]仅对玄参幼叶和芽进行培养，近年来对玄参的组织培养报道甚少。本实验首次对玄参不同部位为材料，通过正交试验建立玄参丛生芽高效、快速的诱导与繁殖，筛选出不定芽生根的植株再生途径，得到最佳外植体以及激素组合。组培苗能否大量应用于生产，移栽成活率尤为重要，因而炼苗则是关键步骤，逐步改变生长条件，以适应外界环境。本实验也首次采用不同基质、不同浇水周期和不同过渡方式对玄参生根苗炼苗关键技术的探讨，为种苗快速繁殖、品种优选以及资源保护提供科学依据。

1 材料

LDZX-75KBS型高压湿热灭菌锅(上海申安); SJ-CJ-2F型洁净台(苏州苏洁); SPX-250B-G型光照培养箱(上海博迅)。MS培养基(批号20180312)和1/2MS培养基(批号20161018)购自青岛海博生物技术有限公司; 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA, 批号20170223), 萘乙酸(NAA, 批号20170926), 吡啶-3-丁酸(IBA, 批号20150814)和2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D, 批号20170605)均购自国药集团化学试剂有限公司。玄参植株于2018年3月采自湖南中医药大学含浦校区松霖药植园, 经湖南中医药大学中药鉴定教研室刘塔斯教授鉴定为玄参科植物玄参 *Scrophularia ningpoensis*。

2 方法

2.1 组织培养

2.1.1 外植体的选择及其消毒 选取无病虫害的健壮的玄参植株, 分别取其茎段、叶柄、带腋茎段和叶片为材料, 洗净后流水冲洗30 min, 于洁净台内用75%乙醇溶液消毒30 s, 用无菌水冲洗5次, 然后用0.1%升汞溶液消毒约5~8 min, 最后用无菌水冲洗5次。

2.1.2 外植体的接种及丛生芽的诱导 将消毒过的4种不同部位外植体分别切成5 mm × 5 mm大小, 采用L₁₆(4⁵)正交试验。设置培养条件为24.5℃, 光照2 000 LX, 光照14 h。培养30 d后计算诱导率和增殖倍数。诱导率=(长出不定芽的外植体数/接种的外植体数) × 100%; 增殖倍数=不定芽个数/接种的外植体数。

2.1.3 不定根的诱导 将不定芽的苗长至3~5 cm高时, 转移到不同质量浓度IBA的1/2MS生根培养基上。观察生长状况并每周记录生根数量,

35 d 后计算其生根率。生根率 = 生根株数/总的株数 × 100%。

2.2 炼苗与移栽 待幼苗长至 6~8 cm 高时,将培养瓶于室温炼苗 1 周,然后松盖 2 d,再完全揭去盖室内静置 3 d,其间注意向瓶内喷少量水保湿。此过程主要是保证组培苗逐渐适应外界环境,同时以防止培养基水分蒸发过快。然后用长镊子将试管苗从琼脂培养基中小心移出,彻底清洗干净根部琼脂,并且避免损坏根系。本实验采用不同基质、不同浇水周期和不同炼苗方式 3 因素分别对玄参组培苗进行对比研究。

2.2.1 不同基质类型 试验前采用高压灭菌锅 121 ℃,20 min 对基质进行灭菌,设定三组基质(Ⅰ)营养土;(Ⅱ)营养土-蛭石-珍珠岩(5:2:1);(Ⅲ)蛭石-珍珠岩(1:1)进行比较。20 d 后对植株生长状况及成活率进行统计分析。

2.2.2 不同浇水周期处理 移栽于营养土-蛭石-珍珠岩(5:2:1)基质上,前 5 d 每天不定时对幼苗进行喷雾处理,保持周围环境相对湿度,以防缓叶片水分蒸发太过导致叶片萎蔫。5 d 后分别设一下 3 组不同浇水周期处理,①每 2 d 浇 1 次水;②每 5 d 浇 1 次水;③每 10 d 浇 1 次水。每次浇水量以浇透基质为准。20 d 后对植株生长状况及成活率进行

统计分析。

2.2.3 不同过渡方式处理 室内炼苗温度恒定 25 ℃,基质为营养土;室外遮阴棚,基质为大田土壤,温度同外界温度(最低温 10 ℃,最高温 25 ℃)。①室内 30 d 后移栽;②室内 20 d,室外遮阴棚 10 d 后移栽大田;③室外遮阴棚炼苗 30 d 后移栽。30 d 后对植株生长状况及成活率进行统计分析。成活率 = (成活的苗数/移栽苗数) × 100%。

3 结果与分析

3.1 不同生长调节剂对玄参不同外植体不定芽诱导的影响 不定芽诱导率极差分析显示 $R_{\text{外植体}} > R_{\text{NAA}} > R_{6\text{-BA}} > R_{2,4\text{-D}}$,说明对于玄参不同部位的外植体的不定芽诱导来说,外植体占最主要因素,带腋茎段为最适宜诱导。对于激素 NAA, $B_2 > B_3 > B_4 > B_1$,水平 1(0.0 mg·L⁻¹)较其他 3 个水平要差,具明显差异($P < 0.05$),说明没加激素 NAA,外植体的不定芽诱导率明显降低。而激素 6-BA 和 2,4-D 各水平之间 K 值相差不大,对不定芽诱导无明显差异,通过正交试验方差分析,玄参不定芽诱导的最适宜的外植体为 A_3 ,即带腋茎段,最佳激素组合为 $B_2C_1D_3$,即 0.5 mg·L⁻¹6-BA + 0.2 mg·L⁻¹NAA。见表 1,2。

表 1 生长调节剂对不同外植体不定芽诱导和增殖 L₁₆(4⁵) 正交试验

Table 1 Results of plant growth regulators on induction and proliferation of different explants by L₁₆(4⁵) orthogonal test

编号	A 外植体	B 6-BA /mg·L ⁻¹	C 2,4-D /mg·L ⁻¹	D NAA /mg·L ⁻¹	误差	芽诱导率 /%	芽增殖倍数
1	茎段	0.2	0.0	0.0	1	67.73	6.17
2	茎段	0.5	0.1	0.1	2	90.12	7.45
3	茎段	1.0	0.2	0.2	3	88.56	8.03
4	茎段	1.5	0.5	0.5	4	71.35	6.37
5	叶柄	0.2	0.1	0.2	4	62.11	5.04
6	叶柄	0.5	0.0	0.5	3	65.17	5.23
7	叶柄	1.0	0.5	0.0	2	52.74	3.59
8	叶柄	1.5	0.2	0.1	1	54.58	4.57
9	带腋茎段	0.2	0.2	0.5	2	88.97	8.78
10	带腋茎段	0.5	0.5	0.2	1	95.26	8.95
11	带腋茎段	1.0	0.0	0.1	4	100.00	9.68
12	带腋茎段	1.5	0.1	0.0	3	79.24	7.68
13	叶片	0.2	0.5	0.1	3	60.69	5.04
14	叶片	0.5	0.2	0.0	4	54.73	4.65
15	叶片	1.0	0.1	0.5	1	65.28	4.68
16	叶片	1.5	0.0	0.2	2	69.86	5.65

表 2 芽诱导率方差分析

Table 2 Variance analysis of shoot induction rate

来源	Ⅲ型平方和	均方	F	P
A	2 646.406	882.135	55.789	0.004
B	181.164	60.388	3.819	0.150
C	89.355	29.785	1.884	0.308
D	493.834	164.611	10.411	0.043
误差	47.436	15.812		

注:df 均为 3(表 3 同)。

不定芽增殖倍数极差分析表明,外植体亦是愈伤组织或芽点再分化成芽丛最主要的因素, $R_{\text{外植体}} > R_{\text{NAA}} > R_{2,4\text{-D}} > R_{6\text{-BA}}$; 激素 6-BA 和 2,4-D 与对照项 0.40 相差不大,说明附加的激素 6-BA 和 2,4-D 对芽增殖发生的效应不明显。芽增殖倍数方差分析结果显示,外植体各水平间对芽增殖倍数具极显著的影响 ($P < 0.001$),激素 NAA 各水平间对芽增殖倍数有明显的影 响 ($P < 0.05$),而激素 6-BA 和 2,4-D 各水平之间无明显差异。通过正交试验方差分析,带腋茎段是玄参芽增殖的最佳来源,其次依次为茎段,叶片和叶柄;最佳激素组合亦为 $B_2C_1D_3$,即 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。见表 3。对正交设计的最优组合即 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

表 4 不同培养基不定芽生根的影响

Table 4 Effect of different medium on adventitious buds rooting

组别	培养基	生长激素 IBA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	根数/条	生根率/%	生根情况
1	MS	-	3.12	20.8	根白色,较细、短,生长特别慢
2	MS	0.1	4.41	33.3	根白色,较细、短,生长慢
3	MS	0.2	4.64	35.4	根白色,较细,生长较慢
4	MS	0.3	4.23	31.3	根白色,较细,生长较慢
5	1/2MS	-	6.76	46.7	根黄白色,细,生长较慢
6	1/2MS	0.1	23.14	89.3	根黄白色,粗壮,生长快
7	1/2MS	0.2	39.45	100.0	根黄白色,较粗,生长较快
8	1/2MS	0.3	27.89	92.6	根黄白色,粗壮,生长快

3.3 不同基质对生根苗移栽成活率的影响 3 个不同处理水平对于玄参生根苗移栽成活率的差异较大,处理水平 II 即营养土-蛭石-珍珠岩(5:2:1)成活率最高,高达 97%;处理水平 I 成活率稍低,水平 III 成活率最低。就基质而言,营养土,肥力较高,能为玄参生长发育提供充分的营养,但透气性差;而珍珠岩透气性好,能够疏松土壤,保水性差;蛭石保水性好,透气性差,三者适当比例相互配合,以充分保证玄参生长发育。同时该基质中玄参冠幅最大,株高

NAA 进行芽诱导,置于芽诱导率和芽增殖最佳组合的培养基,并进行计算,分别为 100% 和 9.84。表明正交试验可以得出最佳组合。

表 3 芽增殖倍数方差分析

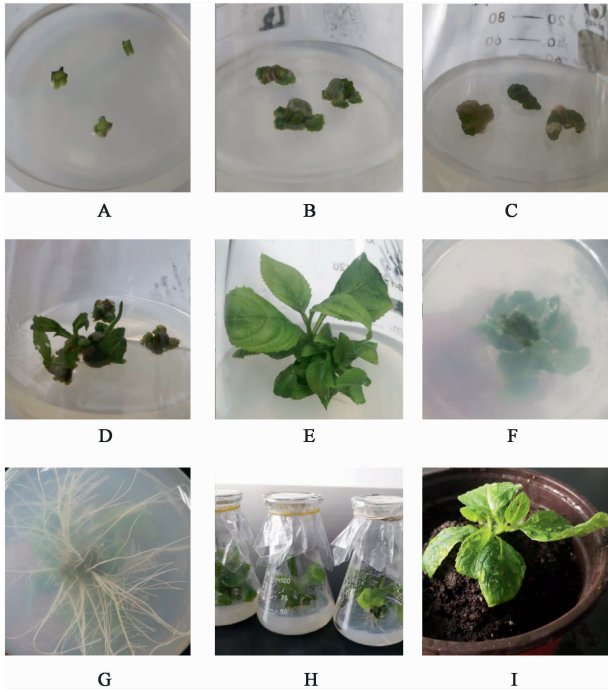
Table 3 Variance analysis of shoot proliferation multiples

来源	Ⅲ型平方和	均方	F	P
A	44.571	14.857	117.494	0.001
B	0.631	0.210	1.664	0.343
C	1.143	0.381	3.012	0.195
D	4.505	1.502	11.875	0.036
误差	0.379	0.126		

3.2 不同培养基对玄参不定芽生根的诱导的影响 经不同配方的培养基诱导不定根结果发现,以 MS + IBA 组合的培养基诱导率普遍较低,最低只有 20.8%,约需两周才长出须根,较细、短,生长缓慢。而经 1/2MS 附加 IBA 培养基不定根较长且粗壮,生根率均达到 89.3% 以上,8 d 左右即可长出。实验表明,适宜生根的培养基为 1/2 MS + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA,见表 4。经组培苗在此培养基中,7 d 基部切口处即有不定根长出,2 周内可见不定根的生长量具显著性的增加,30 d 后可培育成根系发达粗壮且生长健壮的生根苗。见图 1。

最高,叶片大且数目最多。仅有营养土基质中,土壤极易板结,且透水性差,成活率稍低。珍珠岩和蛭石组合的基质中,植株生长缓慢,叶片很小,冠幅也较小,可能由于基质中营养物质的缺乏,导致植株生长缓慢,成活率最低。可见肥力、透气性与保水性对于玄参的生长特性尤为重要。见表 5。

3.4 不同浇水周期对生根苗移栽成活率的影响 处于缓苗期的幼苗,对于土壤适应能力弱,再加上叶片的蒸腾作用,若不及时补充水分,植株极易萎焉。



A. 无菌外植体; B. 芽点; C. 愈伤组织; D. 不定芽的诱导; E, F. 壮苗; G. 不定根; H. 炼苗; I. 成活的组培苗

图 1 玄参的不定芽诱导和植株再生
Fig. 1 Adventitious buds induction and plant regeneration of *Scrophularia ningpoensis*

表 5 不同基质对生根苗成活率的影响

Table 5 Effect of different substrates on survival rate of rooted plantlets

组别	基质	成活数 / 株	成活率 / %	生长状况
1	I	24	80	长势一般, 须根稍少(III)
2	II	29	97	苗健壮, 长势快, 须根多, 叶片多且大(IIII)
3	III	19	63	苗弱小, 长势慢, 须根少, 叶片小(III)

注: 每种处理移栽 30 株, 长势 IIII > III > II > I (表 6, 7 同)。

故实验前 5 d 每天不定时补充水分, 渡过缓苗期后, 分 3 个处理水平进行试验, 3 个不同处理水平差异显著, 其中以每 2 d 浇一次成活率达到 95% 以上, 且长势好, 而以每 10 d 浇一次水成活率最低, 同时植株生长弱, 叶片变黄。说明保持基质中的水分对于玄参根系生长有促进作用, 能够提高生根苗移栽的成活率。见表 6。

3.5 不同过渡方式对生根苗移栽成活率的影响

室内炼苗 20 d + 室外遮阴棚炼苗 10 d 移栽成活率最高, 长势好。直接遮阴棚炼苗成活率最低。可能是由于在室内散射光下, 对于植株蒸腾作用和光合

表 6 不同浇水周期对生根苗成活率的影响

Table 6 Effect of different watering cycle on survival rate of rooted plantlets

组别	周期	成活数 / 株	成活率 / %	生长状况
1	①	30	100	长势好, 叶片多且大, 根系多且健壮(IIII)
2	②	22	73	长势一般(III)
3	③	13	43	长势弱, 叶片变黄, 根系少(III)

作用比较弱, 须经过遮阴棚进行缓冲以逐渐适应室外温差的变化以及光照强度的增强, 植株的主根逐渐变粗壮, 移栽到大田时经过 2 ~ 3 d 的缓苗期便可适应外界的环境。组培苗由于一直生长在恒定适宜且无菌的条件下, 炼苗移栽过程中, 植株要由异养转为自养, 环境的剧烈变化, 因而适宜的过渡条件是影响成活率的关键。见表 7。

表 7 不同过渡方式对生根苗成活率的影响

Table 7 Effect of different ways of transition on survival rate of rooted plantlets

组别	过渡方式	成活数 / 株	成活率 / %	生长状况
1	①	24	80	长势一般(III)
	②	29	97	长势好, 叶片多且绿, 根系发达(IIII)
3	③	14	47	长势弱, 叶片发黄(III)

4 讨论

由于不同植物(单子叶、双子叶植物), 以及同一植物不同部位(根、茎和叶等)的分化能力各不相同。因此, 外植体的选择是组织培养中关键技术之一^[7]。目前在玄参科的组织培养中已有报道的有地黄采用茎段^[8]、北玄参采用叶片^[9]为外植体, 而玄参的组织培养鲜有报道。因而本实验采用 4 种外植体, 带腋茎段为玄参最佳的外植体材料, 其次依次为茎段、叶片和叶柄。这与不同部位的分化能力有关, 说明带腋茎段是玄参离体快速繁殖的主要途径。

组织培养快速繁殖技术的关键在于不定芽是否诱导成功, 而不定芽诱导成功的关键是植物激素, 包括激素的浓度、种类以及不同激素的组合方式, 大多数科研中常选用 2 种或 3 种植物激素配合使用诱导不定芽, 少数只使用 1 种或使用 3 种以上植物激素诱导获得再生植株^[10-11]。本实验选用 6-BA, 2, 4-D 和 NAA 通过正交设计, 计算其芽诱导率和芽增殖倍数, K 值分析 0.5 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.2 mg · L⁻¹ NAA 芽诱导率达 100%, 芽增殖倍数高达 9.84。由于 6-BA

难溶于水,本实验分别采用弱酸、弱碱进行溶解,发现用 1% 稀盐酸溶解的 6-BA 其不定芽及生根诱导率高,这可能与玄参喜微酸的环境有关。表 2 中选择 2,4-D 的外植体对愈伤组织的诱导作用增强,因而不定芽诱导出现 2 条途径,经愈伤组织和不经愈伤组织(直接出芽),经愈伤组织后整个外植体的细胞经分化生长成淡绿色的细胞团(图 1C),整个细胞团均可产生芽点长出不定芽;而不经愈伤组织的外植体主要是在叶片的伤口处吸收营养物质,从而膨大长出芽点(图 1B)。实验表明,缺乏 2,4-D 是导致直接出芽的原因,这与任如意等^[12]研究的结论一致,认为 2,4-D 对不定芽的诱导与增殖没有很大的促进作用,可能是抑制作用。本实验选择 30 d 玄参离体快速繁殖,不经愈伤组织要优于经愈伤组织,因为芽诱导率和芽增殖倍数比较高,并且周期要缩短 20~30 d,但是要面对不定芽主要局限于外植体的切口处这一不足之处。不定芽生根诱导也是组织快速繁殖的关键步骤,本实验比较了 MS 和 1/2MS 附加 IBA 培养基,得到 1/2MS 适于生根培养,吴秀华等^[13]、朱桥等^[14]也得出同样结论,认为这可能是培养基中无机盐成分降低有助于外植体生根。

炼苗是组培苗向外界环境过渡的工序,炼苗成功与否与移栽成活率密切相关。因此在炼苗过程中,要充分考虑到植株本身的生长特性,据此以制定相对适宜的条件,以防止土壤板结,增加保水性以及基质空隙^[15]。本实验通过对不同基质类型、不同浇水周期和不同过渡方式进行处理,考察基质中肥力、透气性与保水性情况,以及浇水周期和缓苗期过渡方式的影响。实验结果表明,以营养土-蛭石-珍珠岩(5:2:1),炼苗的前 5 d,每天对基质浇水,同时不定时对植株叶片进行喷雾处理,然后每 2 d 浇一次水,室内炼苗 20 d,室外遮阴大棚炼苗 10 d 后移栽大田,成活率可达到 96% 以上。

综上所述,本研究对玄参进行无性快速繁殖体系,为提供玄参高效、快速、稳定的植株再生以及优质种苗繁育提供了科学依据。

[参考文献]

[1] 刘树民,张宁,于卉,等.玄参性味的本草考证[J].中

华中医药杂志,2017,32(2):429-431.

- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国中国药典一部.[M].北京:中国医药科技出版社,2015:117.
- [3] 许福泉,许旭东,陈士林.玄参化学成分及药理活性研究进展[J].中国现代中药,2013,15(9):752-759.
- [4] 俞静静,陈素红,吕圭源.玄参“凉血滋阴”药效相关研究概况[J].中国实验方剂学杂志,2007,13(9):63-66.
- [5] YANG S T, CHEN C, ZHAO Y P, et al. Association between chemical and genetic variation of wild and cultivated populations of *Scrophularia ningpoensis* Hemsl [J]. *Planta Med*, 2011, 77(8): 865-871.
- [6] 王泽均.玄参组织培养植株再生[J].植物生理学通讯,1983(6):42.
- [7] 李浚明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,1996:345.
- [8] 陈敏艳,梁宗锁,王喆之,等.地黄组织培养及植株再生的研究[J].西北植物学报,2004,24(6):1083-1087.
- [9] 任如意,薛巨坤,李艳萍,等.药用植物北玄参高频再生体系建立[J].植物生理学报,2014,50(12):1816-1820.
- [10] 任继文,雷颖,李晓玲.款冬叶柄愈伤组织培养与再生体系建立[J].中国中药杂志,2017,42(20):3895-3900.
- [11] WANG C L, DONG X N, DING M Q, et al. Plantlet regeneration of tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum* Gaertn.) *in vitro* tissue cultures[J]. *Protein Pept Lett*, 2016, 23(5): 468-477.
- [12] 任如意,薛巨坤,国会艳,等.北玄参毛状根诱导及其植株再生[J].植物学报,2017,52(6):783-787.
- [13] 吴秀华,张艳玲,周月,等.‘海沃德’猕猴桃叶片高频直接再生体系的建立[J].植物生理学报,2013,49(8):759-763.
- [14] 朱桥,丁俊伟,杨学文,等.血叶兰的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学报,2014,50(6):805-809.
- [15] Thaniarasu R, Senthil Kumar T, RAO M V, et al. Mass propagation of *Plectranthus bourneae* Gamble through indirect organogenesis from leaf and internode explants [J]. *Physiol Mol Biol Plants*, 2016, 22(1): 143-151.

[责任编辑 顾雪竹]