

灯盏花种质资源遗传关系的 ISSR 分析

杨生超^{1,2}, 文国松¹, 刘雪玲¹, 杨永建¹, 李 元¹, 孟珍贵¹, 杨建文^{2*}

(1 云南农业大学 中药材研究所/ 云南省中药材规范化种植技术指导中心, 云南 昆明 650201;

2 红河州灯盏花研究所, 云南 泸西 652400)

摘要:目的 研究灯盏花种质资源间的遗传关系。方法 对采自云南、贵州和四川等地的 36 份灯盏花种质资源进行 ISSR 遗传多样性分析和 NTSYS2 聚类分析。结果 筛选出的 13 个引物在 36 份种质资源中共产生 125 条 DNA 片段, 其中 103 条带具有遗传多态性, 约占 82.40%。当遗传相似性系数为 0.54 时, 可以把灯盏花分为 5 大类, 第 I 大类包括采自楚雄、昭通、迪庆等地的 7 份种质资源; 第 II 大类可分为 2 个亚类, II A 包括采自滇中及滇西北的 5 份种质资源, II B 包括采自滇东北、贵州、四川的 20 份种质资源; 第 III 大类包括采自文山的 1 份种质资源; 第 IV 大类包括采自曲靖的 1 份种质资源; 第 V 大类包括采自迪庆的 2 份种质资源。结论 灯盏花种质资源遗传变异丰富, 遗传关系与其采集地的地理分布距离具有一定的相关性, 但并非严格按地理界线聚在一起。

关键词: 灯盏花; 种质资源; 遗传关系; ISSR

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2010)09-1523-05

ISSR Analysis on genetic relationships of *Erigeron breviscapus* germplasm resourcesYANG Sheng-chao^{1,2}, WEN Guo-song¹, LIU Xue-ling¹, YANG Yong-jian¹, LI Yuan¹,MENG Zhen-gui¹, YANG Jian-wen²

(1 Institute of Chinese Medicinal Materials of Yunnan Agricultural University/ Yunnan Provincial Center of Chinese Medicinal Materials GAP Technology, Kunming 650201, China; 2 Institute of Herbal Erigerontis of Honghe Prefecture, Luxi 652400, China)

Abstract: Objective To investigate the genetic relationships of *Erigeron breviscapus* at the molecular biology level. **Methods** Thirty six germplasm resources of *E. breviscapus* collected from Yunnan, Sichuan, and Guizhou Provinces in 2005 were analyzed by inter-simple sequence repeat (ISSR) and cluster analysis based on NTSYS2. **Results** A total of 13 primers were screened and 125 bands were amplified, among which 103 bands (82.40%) were found to be polymorphic. Thirty six germplasm resources of *E. breviscapus* were clustered into five groups at genetic distance 0.54, the group I included five germplasm resources collected from Chuxiong, Zhaotong, and Diqing of Yunnan Province; the group II included 25 germplasm resources collected from Guizhou, Sichuan, and Northwest of Yunnan Province; group III included one germplasm resource collected from Wenshan of Yunnan Province; the group IV included one germplasm resource collected from Qujing of Yunnan Province; the group V included two germplasm resources collected from Diqing of Yunnan Province. **Conclusion** There is abundant genetic diversity in the germplasm resources of *E. breviscapus*, and the genetic relationships are closely related to geographical distance where they are collected.

Key words: *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz.; germplasm resources; genetic relationships; ISSR

灯盏花 *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand-Mazz. 又名灯盏细辛或短葶飞蓬, 为菊科(Compositae)飞蓬属多年生草本植物, 主要分布于我国西部和

西南部的云南、四川、贵州、广西、西藏、湖南等省区^[1]。灯盏花具有散寒解表、祛风除湿、舒筋活血、消积止痛等功效, 其主要化学成分灯盏乙素是治疗闭塞

* 收稿日期: 2009-12-12

基金项目: 国家“十五”攻关项目(2004BA721A34); 云南省“十一五”社会发展攻关项目(2006SG016); 国家自然科学基金(30760301, 30660040)

作者简介: 杨生超(1972—), 男, 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事药用植物资源及规范化种植研究。

T el/ Fax: (0871) 5227160 E-mail: shengchaoyang@163.com

* 通讯作者 杨建文 T el/ Fax: (0873) 6652208 E-mail: lxqssw@163.com

性脑血管疾病和脑溢血后遗症的天然特效药物^[2]。经多年的引种驯化,云南省泸西县实现了灯盏花的规模化种植^[3-4],并建立了 GAP 基地^[5]。灯盏花种质资源是其育种的基础,种质资源间遗传关系的探明有利于促进种质资源保护和利用。目前已有灯盏花种质资源的表型性状^[6]、等位酶^[7]、RAPD 分子^[8-9]、DALP 分子^[10]等方面的遗传多样性与遗传关系的研究报道。采自灯盏花主要分布区的云南、四川和贵州 3 省并保育于昆明种质资源圃的种质资源遗传多样性丰富,种质资源间 RAPD 分子遗传关系与其采集地的地理分布距离密切相关^[9],其灯盏乙素和咖啡酸酯的量变异较大^[11],是灯盏花育种的基因库。简单重复序列区间(inter-simple sequence repeat, ISSR)分子技术

已广泛应用于中药材的分子标记和遗传育种^[12-17]。为进一步了解灯盏花种质资源间的遗传关系,应用 ISSR 分子标记对采自云南灯盏花主要分布区和四川、贵州两省并保育于昆明的 36 份灯盏花种质资源进行遗传关系研究,以期为全面地了解我国灯盏花种质资源的遗传多样性特征,以及灯盏花种质资源的保护、评价和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料:实验材料选自 2005 年采自云南灯盏花主要分布区的昭通、曲靖、红河、文山、昆明、楚雄、大理、丽江、迪庆等 9 个州(市)的 18 个县,四川的 2 个县和贵州的 2 个县,并保育于云南生物谷灯盏花药材业有限公司的 36 份灯盏花种质资源(表 1)。

表 1 灯盏花种质资源及来源

Table 1 Germplasm resources and their original location of *E. breviscapus*

编号	采集地点	海拔/m	编号	采集地点	海拔/m
D32	云南双柏妥甸后山	2 050	D61	云南武定云白药基地	2 500
D33	云南武定岩子头	2 300	D62	云南永仁高山	2 300
D35	云南昭阳靖安松杉	2 200	D63	云南古城雪山村	2 860
D36	云南昭阳靖安西魁	2 200	D65	云南香格里拉	3 350
D37	云南宣威得禄	2 120	D66	云南大理苍山	2 200
D38	云南鲁甸岔口	1 960	D75	云南古城	2 410
D40	云南沾益石合(小个体居群)	2 150	D76	云南香格里拉	3 280
D42	云南沾益石合(大个体居群)	2 150	D77	云南香格里拉	3 280
D43	云南马龙	2 100	D78	云南香格里拉	3 280
D46	贵州印江梵静山山口	900	D79	云南弥勒	1 850
D47	贵州印江梵静山护国寺	1 000	D80	云南弥勒东山	2 100
D48	贵州雷山西江雷公山	1 000	D81	云南砚山阿猛	1 950
D49	贵州雷山西江雷公山	1 100	D82	云南弥勒	1 980
D50	贵州雷山西江雷公山	1 100	D83	云南个旧卡房	2 200
D51	贵州雷山西江雷公山	1 200	D84	云南丘北	1 800
D52	云南大理苍山	2 320	D87	云南会泽	2 600
D59	四川西昌	2 600	D88	云南古城	2 800
D60	四川德昌马鞍山	2 700	D89	云南丘北	1 900

1.2 总 DNA 的提取及检测:用优化后的 CTAB 法提取总 DNA。具体步骤:每份资源取 1~ 12 个单株,每株取 1~ 2 片新鲜叶片,放入预先灭菌、预冷处理过的研钵中,加入液氮研磨成粉状;将细粉末迅速转移到离心管中,加入 1 mL CTAB 提取液,充分混匀,置于 62 ℃水浴中保温 1 h;从水浴中取出离心管,12 000 r/min 离心 10 min,将上清液转移到另一新离心管中;每管中加入 1/2 体积的氯仿-异戊醇(24:1),轻轻地颠倒混匀,12 000 r/min 离心 5 min,上清液转至另一新离心管中;每管中加入 1/10 体积的 7.5 mol/L 醋酸胺和等体积的冰乙醇(100%),混匀,放置在-20 ℃的冰箱中 30 min;12 000 r/min 离心 15 min 获得 DNA 沉淀,70% 的乙醇洗两次,风干沉淀;加入 60 μL TE 缓冲液溶解 DNA,并储存在 4 ℃冰箱中^[9]。将总 DNA 用 0.8%

的琼脂糖凝胶电泳检测,用 25、50、75、100 ng 的 λDNA 作为半定量标准。模板 DNA 的质量浓度为 10 ng/μL。

1.3 ISSR-PCR 反应参数优化:扩增反应在 T-Gradient PCR 仪(Biometra,德国)上进行,反应总体积为 20 μL,10 × Buffer 2 μL,25 mmol/L MgCl₂ 1.5 μL,10 mmol/L dNTP(上海生工公司)1 μL,模板 DNA(10 ng/L)0.5 μL,Taq 酶(1 U/L, Promega 公司)0.2 μL,ddH₂O 14.4 μL。进行 PCR 扩增前覆盖一滴石蜡油。预变性 94 ℃,4 min;变性 94 ℃,1 min;退火 50 ℃,1 min;延伸 72 ℃,2 min;重复 2~ 4 步循环 35 次;终延伸 72 ℃,10 min;4 ℃保存。

1.4 PCR 扩增产物的检测:加 2 μL 上样缓冲液于扩增产物中,取 10 μL 扩增产物于 1.5% 琼脂糖凝胶上样孔内电泳检测,所用电泳缓冲液为 0.5 × TBE,电泳

在 140 V 电压下进行 50~ 70 min, 花青素染色, 并于紫外成像系统 UVP-8000G 上观察摄影。

1.5 ISSR 引物的筛选及退火温度的确定: 从 36 份种质资源中随机选取 5 个个体的 DNA 样品进行预

备实验, 选出扩增条带较多的引物, 共从 44 条引物 (上海生工公司) 中筛选出 13 条能够获得清晰条带、重复性好的引物, 并根据各引物的特性, 确定了各引物的退火温度。见表 2。

表 2 筛选出的引物序列及退火温度

Table 2 Screened primers and annealing temperature for PCR

序号	序列(5'-3')	退火温度/℃	序号	序列(5'-3')	退火温度/℃
AW 52480	(AC) ₈ TA	51.00	AW 52499	(AG) ₈ C ₇	53.00
AW 52481	(TG) ₈ GG	55.00	AW 52502	(GACA) ₄	51.55
AW 52482	(AG) ₈ GT	53.00	AW 52507	(AG) ₈ CG	55.00
AW 52486	(GAA) ₆	50.00	AW 52508	(AG) ₇ T	48.10
AW 52493	(AC) ₈ G	54.59	AW 52510	(AC) ₈ (CT)G	54.00
AW 52495	(AC) ₈ YG	55.00	AW 52516	(GA) ₈ C	54.59
AW 52496	(ATG) ₆	48.19			

1.6 数据分析: 根据 ISSR 引物对 36 份灯盏花材料扩增的电泳图谱, 每个条带视为一个位点数, 统计位点总数和多态性位点数, 同一 ISSR 位点上按 DNA 条带的有无分别赋值, 有带的记为“1”, 无带的记为“0”。按照多态性比例= (总谱带数- 共有谱带数)/ 总谱带数 × 100% 计算多态性比例。按文献的方法^[18] 计算遗传相似系数(G_s), 计算公式为: $G_s = 2N_{ij} / (N_i + N_j)$, 其中 N_{ij} 为材料 i 和 j 共有的扩增片段数目, N_i 为材料 i 中出现的扩增片段数目, N_j 为材料 j 中出现的扩增片段数目, 根据 G_s 值按不加权成对群算数平均法(unweighted pair group method with arithmetic means cluster analysis, UPGMA) 建立系统聚类分支树状图。统计分析在 NTSYS

2. 1 统计软件系统中进行。

2 结果与分析

2.1 灯盏花种质资源 ISSR 多态性: 用所选的 13 条 ISSR 引物对 36 份灯盏花种质资源进行扩增, 从表 3 可以看出, 共得到 125 条带可靠、清晰、重复性高的条带, 引物 AW 52516 和 AW 52510 扩增出的条带最多, 分别为 13 条和 12 条, 平均每个引物扩增出 9.6 条带。125 个条带中有 103 条是多态条带, 总的多态条带比率(PPB) 为 82.4%。每个引物平均多态位点数为 7.9, 13 个引物在 36 份灯盏花种质资源中得到的多态性均较高, 平均多态条带率 66.67%~ 92.31%, 引物 AW 52516 多态性最高, 平均多态条带百分率为 92.31%。引物 AW 52496 的扩增结果见图 1。

表 3 36 份灯盏花种质资源遗传多样性

Table 3 Genetic diversity on 36 germplasm resources of *E. breviscapus*

序号	总带数	PB	PPB/ %	序号	总带数	PB	PPB/ %
AW 52480	11	9	81.82	AW 52502	10	9	90.00
AW 52481	9	7	77.78	AW 52507	9	8	88.89
AW 52482	9	6	66.67	AW 52508	8	6	75.00
AW 52486	7	5	71.43	AW 52510	12	11	91.61
AW 52493	10	8	80.00	AW 52516	13	12	92.31
AW 52495	9	7	77.78	总数	125	103	82.40
AW 52496	9	8	88.89	平均	9.6	7.9	81.54
AW 52499	9	7	77.78				

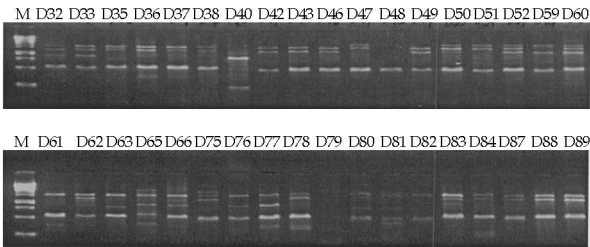


图 1 引物 AW52496 对 36 份灯盏花种质资源扩增的 DNA 指纹图谱

2.2 灯盏花种质资源的遗传相似系数: 对扩增结果采用 Nei-Li 相似系数(G_s) 的计算方法得到遗传相似系数矩阵, 36 份灯盏花材料的 G_s 值在 0.339 8~ 0.796 1, 说明 36 份灯盏花遗传变异较丰富, 其中采自贵州雷山西江雷公山的 D42 与云南沾益的 D50、贵州雷山西江雷公山的 D49 与 D50 的遗传相似系数最大为 0.796 1, 说明它们之间的亲缘关系较近, 遗传差异较小, 四川德昌马鞍山的 D60 与 D78 的遗传相似系数最小, 为 0.339 8, 亲缘关系较远, 具有相对较高的遗传多样性。

Fig. 1 Amplified results on 36 germplasm resources of *E. breviscapus* by Primer AW52496

2.3 聚类分析: 基于遗传相似系数, 利用 UPGMA 法对 36 份灯盏花种质进行聚类分析, 结果见图 2。在相似系数为 0.54 时, 36 份不同产地的灯盏花可聚为 5 大类: 采自云南丘北的 D84、云南宣威的 D37 各聚为一类(第 III IV 类), 采自云南香格里拉的 D65 与 D76 单独聚为 1 类(第 V 类), 在余下的 32 份材料中 D32、D38、D81、D83、D75、D88、D78 7 份材料与其他材料间也具有较大的遗传分化, 聚为第 I 类(I 类), 在剩下的 25 份材料(第 II 类)中, 又可明显地划分为两大亚类(第 II A、II B 类), 其中, 第 II B 类所包含的材料最多, 共 20 份, 材料间的遗传分化也较大。从地理分布来看, 第 I 类材料采自于云南的楚雄、昭通、文山、红河、丽江、迪庆; 第 II A 类材料采自于楚雄、大理、丽江; 第 II B 类材料采自于云南昭通、曲靖、迪庆、红河、文山, 贵州雷山西江、印江, 四川德昌、西昌; 第 III 类材料采自于文山; 第 IV 类材料采自于曲靖; 第 V 类材料采自于迪庆。从以上聚类结果可以看出, 说明各灯盏花种质并不是按地理界线严格聚在一起。聚类结果也表明, 部分灯盏花之间的相似系数非常高, 如云南古城(D75)与云南古城(D88)的完全相同, 它们相互之间的亲缘关系很近, 云南昭阳靖安松杉(D35)与云南昭阳靖安西魁(D36)、云南弥勒(D79)与云南弥勒东山(D80)、云南香格里拉帕纳海(D65)与云南香格里拉(D76)、贵州雷山西江雷公山(D49)与贵州雷山西江雷公山(D50)等来自于同一个县的灯盏花材料之间的亲缘关系也较近。

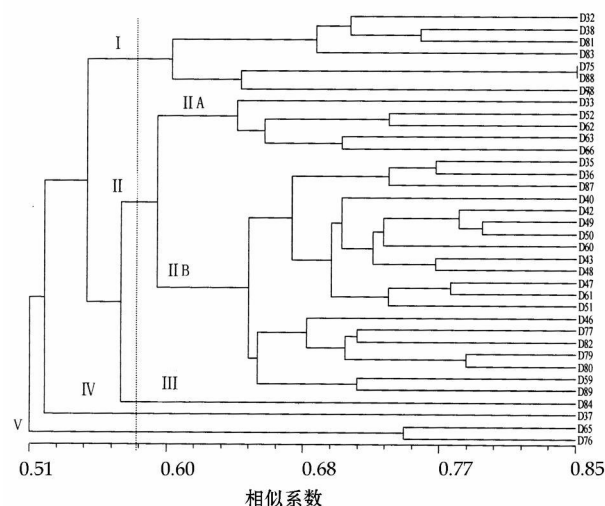


图 2 灯盏花 36 份种质资源的 DNA 多态性聚类分析树型图 (UPGMA)

Fig. 2 Dendrogram (UPGMA) on DNA polymorphism of 36 germplasm resources in *E. breviscapus*

3 讨论

本研究利用 ISSR 标记检测到 36 份灯盏花种质资源总的多态性条带百分率 82.40%, 遗传相似系数在 0.339 8~0.796 1, 表明 36 份灯盏花种质资源表现出了较高的遗传多样性, 亲缘关系较远。此前与该试验共享 26 份种质资源, 基于 RAPD 分析总的多态性条带百分率 87.85%, 遗传相似系数 0.480 5~0.976 1 的研究结果相近^[9]。继续支持基于 RAPD 和 DALP 分析, 认为灯盏花遗传变异丰富, 遗传分化剧烈, 种内分化突出的观点^[8-10], 而与对云南 3 个灯盏花居群的核型和等位酶分析认为灯盏花遗传一致度高的观点^[7]不同。

本研究基于 ISSR 的聚类分析结果把 36 份种质资源分为 5 类, 灯盏花遗传多样性较丰富, 对来自同一地区的亲缘关系较远的种质, 如贵州雷山西江雷公山的 D49 与 D50, 或来自不同地区亲缘关系较远的种质, 如贵州雷山西江雷公山的 D42 与云南沾益的 D50, 应作进一步的深入研究。这一聚类结果与此前共享 26 份种质资源的 RAPD 分析结果^[9]相比较, 在第 II 类与 RAPD 聚类共享 16 份种质资源中, 有 12 份种质资源属于 RAPD 聚类的第三类群, 另有采自弥勒的 D80 和 D82, 采自香格里拉的 D77 和四川德昌的 D79 则分属于其他类群; 第 V 类的 D65 和 D76 均属于 RAPD 聚类的第 I 类群; 第 I 类的 6 份种质资源分散在 RAPD 聚类所分的 3 个类别中; 其余原 RAPD 聚类未单独聚类的 D84(云南丘北)、D37(云南宣威)均分别聚为一类。两种分子标记方法的聚类结果, 有 18 份种质资源的聚类具有一致性, 占共享种质资源数的 69.2%, 有 8 份种质资源的聚类存在差异。这可能主要是由于两种标记方法的引物系列差异所引起的 DNA 位点不同。

参考文献:

- [1] 林 谔, 陈艺林, 石 铸. 中国植物志 [M]. 第 74 卷. 北京: 科学出版社, 1985
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2005
- [3] 俞宏渊, 陈宗莲. 灯盏细辛的家化栽培 [J]. 云南植物研究, 2002, 24(3): 115-120
- [4] 杨生超, 杨忠孝, 张乔芹, 等. 灯盏花种植技术初探 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 318-321
- [5] 杨生超, 吴道聪, 王平理, 等. 红河灯盏花 GAP 基地环境质量评价 [J]. 现代中药研究与实践, 2006, 20(1): 9-11
- [6] 杨生超, 徐绍忠, 文国松, 等. 灯盏花种质资源群体表型多样性研究 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(8): 1573-1579
- [7] 冯定霞, 陈 勃, 党承林, 等. 短葶飞蓬云南三个种群的核型和等位酶分析 [J]. 云南植物研究, 2002, 24(6): 754-758
- [8] 周利杰, 陆永武, 虞 泓, 等. 云南灯盏花遗传变异的 RAPD 分析 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(1): 59-65
- [9] 杨生超, 李永芳, 赵 峰, 等. 灯盏花种质资源遗传关系的 RAPD 分析 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(13): 1532-1535
- [10] 刘 洁. 云南灯盏花居群遗传学研究 [D]. 昆明: 云南大学, 2006
- [11] 杨生超, 张雪峰, 李 黎, 等. 灯盏花种质资源灯盏乙素和

- 咖啡酸酯含量 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(2): 239-240.
- [12] 邵清松, 郭巧生, 张志远. 药用菊花种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2009, 40(12): 1971-1975.
- [13] 郭丁丁, 马逾英, 唐琳, 等. 白芷种质资源遗传多样性的 ISSR 研究 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1627-1630.
- [14] 张春平, 何平, 胡世俊, 等. 黄连遗传多样性 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1630-1634.
- [15] 廖丽, 郭巧生. 夏枯草 ISSR 分子标记技术的建立与体系优化 [J]. 中草药, 2009, 40(7): 1131-1135.
- [16] 张春平, 何平, 王瑞波, 等. 三角叶黄连 ISSR 反应体系的建立与优化 [J]. 中草药, 2009, 40(2): 280-284.
- [17] 罗明信, 伍贤进, 彭帅, 等. 12 种翻白草种质资源遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2008, 39(5): 748-751.
- [18] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 1979, 76: 5269-5273.

北柴胡移栽试管植株与种子植株中皂苷的动态分析

郝建平¹, 王丽荣¹, 徐笑飞¹, 秦雪梅², 张丽增², 赵玉臣^{3*}

(1 山西大学 生命科学学院, 山西 太原 030006; 2 山西大学中医药现代研究中心, 山西 太原 030006;
3 山西省药物培植场, 山西 绛县 043610)

摘要:目的 为应用离体快速繁殖技术进行北柴胡优良种质选育提供实验依据。方法 应用分光光度法测定北柴胡移栽试管植株不同生长期的根、茎叶中柴胡总皂苷的量, 应用柱前衍生化 HPLC-UV 法测定柴胡皂苷 a 和 d 的量, 并以同型、同时的种子植株作为对照。结果 北柴胡试管植株根、茎叶中柴胡总皂苷及皂苷 a 和 d 的量在试管苗阶段最低, 在一年生植株中最高, 在两年生植株中的营养生长期次高, 在花期、果期、枯萎期依次降低; 在根中的量远高于茎、叶; 引种自山西左权的移栽试管植株的量均高于引种自山西陵川和万荣的类型; 移栽试管植株根、茎叶中的量均高于相同类型的种子植株中的量。结论 离体快速繁殖是纯化北柴胡种质和提升药材品质、提高药材产量的有效方法; 快速繁殖植株具有优良的遗传稳定性, 选择综合性状好的种质作为繁殖的起始材料, 能够保证后代性状的优良和整齐一致; 果期二级花序的种子成熟期为移栽试管植株根的适宜采收期。

关键词: 北柴胡; 试管植株; 种子植株; 柴胡皂苷

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2010)09-1527-04

Dynamic analysis of saikoside in test-tube plants of *Bupleurum chinense* compared with seeding plants

HAO Jian-ping¹, WANG Li-rong¹, XU Xiao-fei¹, QIN Xue-mei², ZHANG Li-zeng², ZHAO Yu-chen³

(1 School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2 Modern Research Center for Traditional Chinese Medicine, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 3 Cultivating Herbs Farm of Shanxi Province, Jiang County 043610, China)

Abstract: **Objective** To provide a scientific basis for breeding on *Bupleurum chinense* by rapid propagation method *in vitro*. **Methods** Pre-column derivatization HPLC-UV and visible-spectrophotometry methods were used to determine the contents of saikosaponin a, saikosaponin d, and saikosaponins in the root and aerial part of test-tube plants of *B. chinense* in different growing periods, and compared with seeding plants of same breeding and growing periods. **Results** The contents of saikosaponins, saikosaponin a, and saikosaponin d were minimum in roots, stems, and leaves of plantlets. They were the uppermost in annual test-tube plants, and were the second at vegetative growth phase of biennial test-tube plants. The contents were reduced ordinally at bud forming phase, seed ripening phase, and wilting phase of biennial test-tube plants. The content in the root was much higher than that in aerial part of test-tube plants. The contents of test-tube plants which were introduced from Shanxi Zuoquan were higher than which from Shanxi Wanrong and Lingchuan. The content in method of *B. chinense* breeding was an effective way to maintain and improve the yield in roots, stems, and leaves of test-tube plants were higher than those in seeding plants. **Conclusion** The rapid propagation *in vitro* is an effective method for purifying germplasm of *B. chinense* and ascending honewort medicinal material quality and yield. The genetic stability of rapid

* 收稿日期: 2009-11-11

基金项目: 山西省科技攻关计划项目(20100311091)

作者简介: 郝建平(1959-), 男, 山西省忻州市人, 山西大学生命科学学院副教授, 硕士研究生导师, 主要从事植物细胞工程的教学和研究工作, 已发表相关研究论文 70 余篇。E-mail: jphao@sxu.edu.cn