

甘草种质资源研究进展

刘洋洋¹, 刘春生¹, 曾斌芳^{2,3}, 范冰冰¹, 李朋收¹, 徐瞰海^{1,2}, 刘铜华¹

1. 北京中医药大学, 北京 100029

2. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830011

3. 新疆维吾尔自治区中医医院肝病科, 新疆 乌鲁木齐 830000

摘要: 甘草为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis*、胀果甘草 *G. inflata* 或光果甘草 *G. glabra* 的干燥根及根茎。甘草主要分布于新疆和内蒙古, 其分布区域越广泛, 形态变异幅度越大, 种质资源的遗传多样性也越丰富。形态的多样性归根结底为遗传基因的多样性, 遗传基因的多样性是种质资源多样性的基础。随着国内外甘草市场需求量猛增, 甘草药材产量和质量急剧下降, 对甘草种质资源进行研究, 培育优质的甘草种质, 可科学地指导优质甘草的栽培生产, 从根本上解决甘草的质量和产量问题。

关键词: 甘草; 种质资源; 遗传多样性; 品种选育; 遗传基因

中图分类号: R932 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2013)24-3593-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.24.029

Research progress on germplasm resources of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*

LIU Yang-yang¹, LIU Chun-sheng¹, ZENG Bin-fang^{2,3}, FAN Bing-duo¹, LI Peng-shou¹, XU Tun-hai¹,
LIU Tong-hua¹

1. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

2. College of Traditional Chinese Medicine of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

3. Liver Diseases Branch of Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, China

Key words: *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma*; germplasm resources; genetic diversity; variety breeding; genetic gene

甘草又名国老、灵通、甜草、棒草, 为豆科植物甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. (也称乌拉尔甘草)、胀果甘草 *Glycyrrhiza inflata* Bat. 或光果甘草 *Glycyrrhiza glabra* L. 的干燥根及根茎^[1]。春秋二季采挖, 除去须根, 晒干。其性味甘平, 归心、肺、脾、胃经, 具有补脾益气、清热解毒、祛痰止咳、缓急止痛、调和诸药的功效; 主要用于脾胃虚弱、倦怠乏力、心悸气短、咳嗽痰多、脘腹和四肢挛急疼痛、痈肿疮毒、缓解药物毒性和烈性。甘草首载于《神农本草经》, 列为上品。《名医别录》: “温中下气, 烦满, 短气, 伤脏咳嗽, 止渴, 通经脉, 利血气, 解百药毒”。现代研究表明, 甘草主要活性成分是三萜皂苷和黄酮类化合物, 具有抗溃疡、抗炎、解痉、抗氧化、抗病毒、抗癌、抗抑郁、保肝、祛痰和增强记忆力等多种药理活性。

甘草最早主产于山西、陕西、山东及东北3省, 现在都已绝迹或甚少, 这是与历代帝王建都中原有关。目前, 宁夏、甘肃、青海、内蒙古、新疆和陕西榆林地区作为甘草大宗商品的供货地, 新疆甘草的蕴藏量较多、种质资源最丰富^[2]。近几年甘草作为药材、食物及烟草添加品的市场需求量猛增, 野生资源的过度采挖导致甘草药材产量和质量急剧下降, 同时也加速了我国北方荒漠化的扩展, 严重影响了生态环境。研究甘草种质资源的遗传多样性, 能够更科学地指导优质甘草的栽培生产, 从根本上解决甘草的质量和产量问题, 保证临床疗效。

1 甘草种质资源的多样性

甘草的种质资源的多样性为甘草及其近缘植物的变异总和, 主要包括物种多样性和遗传多样性2个层次。外在表现为不同区域、不同居群和不同植

收稿日期: 2013-07-26

基金项目: 北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-19)

作者简介: 刘洋洋(1988—), 男, 山东淄博人, 硕士研究生, 主要从事中药活性物质基础研究。E-mail: lyy5563@163.com

*通信作者 徐瞰海, 男, 博士, 教授, 从事中药活性成分研究。E-mail: thxu@163.com。

株甘草的植物形态以及药材有效成分量的差异。

1.1 甘草属物种多样性

全世界甘草属植物 29 种 6 变种, 中国分布 14 种 2 变种, 其中有乌拉尔甘草 *G. uralensis* Fisch.、光果甘草 *G. glabra* L.、胀果甘草 *G. inflata* Bat.、无腺毛甘草 *G. eglandulosa* X. Y. Li、蜜腺甘草 *G. glabra* L. var. *glandulosa* X. Y. Li 及变种、疏小叶甘草 *G. glabra* L. var. *laxifoliolata* X. Y. Li 及变种、黄甘草 *G. eurycarpa* P. C. Li、石河子甘草 *G. shiheziensis* X. Y. Li、粗毛甘草 *G. aspera* Pall.、平卧甘草 *G. prostrata* X. Y. Li、大叶甘草 *G. macrophylla* X. Y. Li、圆果甘草 *G. squamulosa* Franch.、刺果甘草 *G. pallidiflora* Maxim.、云南甘草 *G. yunnanensis* Cheng f. et L. K. Tai ex P. C. Li, 《中国药典》2010 年版收录前 3 种。内蒙古和新疆自治区是甘草适宜和重点分布区域, 其产量约占全国的一半以上。内蒙古自治区天然甘草资源的分布以库布齐沙地和毛乌素沙地为中心, 向周围辐射, 在内蒙古自治区的 10 个盟(市)55 个旗(县)均有分布。甘草是新疆荒漠区最主要的植被物种之一, 分布面积广, 贮藏量大。据调查, 新疆的 82 个县市分布有 9 种^[3]。以吉林省白城市镇赉县、黑龙江省肇东县、内蒙古自治区赤峰市巴林右旗、内蒙古自治区杭锦旗、宁夏回族自治区盐池县为调查地, 发现不同地区甘草物种丰富度变化较大。由东向西, 随着大陆性气候加强, 降水量减少, 甘草群落物种丰富度下降^[4]。

张振巍等^[5]对不同品种甘草的总黄酮量进行对

比分析, 结果发现不同品种甘草中总黄酮的量有较大差异, 其中野生胀果甘草中总黄酮的量最高, 野生光果甘草和野生黄甘草次之, 野生和栽培的乌拉尔甘草总黄酮量最低。

1.2 甘草生物形态的多样性

甘草分布区域越广泛, 其形态变异幅度越大。无论生长年限、土壤类型和生态环境如何, 在茎皮颜色、茎附属物(刺毛)和叶片边缘形状等形态特征均存在显著的变异与分化^[6]。杨全^[7]以人工栽培甘草为系统研究对象, 划分了 8 个形态变异类型, 分别是绿茎茎光滑结果类型、绿茎茎光滑类型、绿茎叶片皱褶类型、普通类型、黄绿茎茎稀刺毛类型、绿茎茎密刺毛类型、紫红茎茎光滑类型和紫红茎茎光滑类型。孙群等^[8]用形态学指标对 34 份乌拉尔甘草种质资源进行遗传多样性分析。结果表明, 甘草在百粒长、千粒质量、叶长、叶宽、叶宽比、根粗和甘草酸量等方面差异均达到了极显著水平, 主要是内蒙古和新疆种源为主的 2 大组群之间形态特性差异明显。马春英等^[9]发现白花和紫花萼类型甘草的甘草酸、甘草苷和异甘草素量均高于普通花色类型。二者在 3-羟基-3-甲基戊二酰辅酶 A 还原酶(HMGR)基因水平上存在碱基差异。甘草农艺性状和品质性状间也存在不同的相关关系^[10]。分布于中国的 3 种药用甘草的主要区别见表 1^[11]。

1.3 遗传基因的多样性

甘草的生物多样性归根结底为遗传基因的多样性。基因组 DNA 序列的变异是物种遗传多样性产

表 1 分布于中国的 3 种药用甘草特征及其区别

Table 1 Characteristics and their differences in three kinds of medicinal species of *Glycyrrhizae Radix et Rhizoma* in China

| 类别 | 产地 | 种子 | 果实 | 花序 | 叶 | 茎 |
|-------|-----------------------|-------------------------------------|---|--------------------------------|-------------------|---------------|
| 乌拉尔甘草 | 东北、华北、西北各省区及山东 | 暗棕绿色, 直径约 2.3~4.6 mm | 荚果, 镰刀状, 长约 3.1~4.6 cm, 有皱褶, 密被有柄腺毛, 脱落后呈刺状 | 总状花序, 密集头状, 较叶短, 长 4~12 cm | 奇数羽状复叶, 小叶 2~8 对 | 茎高在 35~120 cm |
| 胀果甘草 | 主要分布于新疆, 内蒙、甘肃、宁夏零星分布 | 黄绿色, 直径约 0.8~2.5 mm | 浅棕绿色, 直径约 1.5~3.0 mm | 总状花序, 疏穗状, 与叶等长, 长 5~16 cm | 奇数羽状复叶, 小叶 1~4 对 | 茎高 50~150 cm |
| 光果甘草 | 仅产于新疆 | 荚果, 长椭圆形, 长约 0.8~2.5 cm, 明显膨胀, 略被腺瘤 | 荚果, 圆柱形, 长约 2.0~3.6 cm, 光滑无毛 | 总状花序, 密穗状, 较叶略长或等长, 长 10~19 cm | 奇数羽状复叶, 小叶 3~10 对 | 茎高 45~180 cm |

生的基础。近年来,分离差异表达基因的技术不断发展与完善,基于PCR的DNA分子标记尤其是随机扩增多态性DNA标记(RAPD)、简单序列重复区间(ISSR)分子标记技术被广泛的用于遗传多样性的分析。实验结果是以用凝胶电泳分析扩增产物DNA片段,经过统计得出结论,研究结果几乎都能反映药用植物种群间的基因分化。

1.3.1 不同产地的遗传基因多样性 甘草属植物具有丰富的遗传多样性。同种内不同居群间的遗传分化较大,产地相距越远,群体间相似性程度越低。人工栽培种与同一产地野生种具有相似的遗传特性。以人工栽培品种为对照,采用20个10碱基随机引物对新疆产甘草6个不同地理群体的基因组DNA进行RAPD分析。结果共扩增出175个位点,其中多态性位点102个,占58.28%。应用RAPD技术分析甘草属植物类群的遗传差异和几个争议种的分类地位,共扩增出250条带,多态性条带204条,约占总数的81.7%。聚类法统计结果显示黄甘草、胀果甘草和乌拉尔甘草三者亲缘关系较近,平卧甘草与粗毛甘草存在很大的遗传变异^[12-13]。

利用扩增片段长度多态性(AFLP)分子标记对来自中国甘草主产区的16个野生种群共320个单株进行遗传多样性研究。利用15对引物共扩增出759条谱带,其中多态性谱带527条,多态性条带百分率为69.43%。宁夏地区甘草种群遗传多样性水平最高,甘肃酒泉种群的遗传多样性水平最低。甘草种群间的遗传变异占总变异的18.64%,种群内变异占67.16%。聚类结果表现出明显的地域性^[14]。

应用ISSR分子标记法对内蒙古、宁夏、甘肃及陕西4省区共12个野生乌拉尔甘草居群的遗传多样性进行了分析。利用筛选出的14条引物,从12个居群232份样品中共扩增出287条条带,其中多态性条带236条,多态性条带百分率为98.61%^[15]。甘草酸生物合成的关键酶基因 β -香树酯醇合成酶基因第1外显子序列在甘草种内不同种源间存在变异^[16]。用表达序列标签(EST)分子标记技术,3个非重复序列控制细胞色素P450和6个非重复序列控制葡萄糖基转移酶的合成,这几个基因可能与甘草酸的生物合成有较紧密的联系^[17]。佟汉文^[18]从形态、同工酶和ISSR分子标记不同层次上揭示了乌拉尔甘草的遗传多样性。

除了不同产地各因素对甘草的基因造成影响外,不同产地的外部环境也会造成甘草中有效成分

生物合成相关酶基因表达的差异。尚晓娜等^[19]研究了甘草质量与土壤因子的相关性,筛选了影响其质量的主导因子,通过HPLC法测定甘肃不同产地甘草6种有效成分的量,采用理化分析法进行土壤因子(有机质、pH、全氮、铵态氮、硝态氮、全磷、速效磷、全钾和速效钾)的测定,应用相关分析及灰色关联度分析进行综合分析。结果表明,甘草酸与速效磷的相关系数为0.519,甘草次酸与铵态氮的相关系数为-0.411。速效钾、铵态氮及pH对甘草黄酮类成分的合成代谢起了关键性作用。无论选择土壤,还是生产中施肥,应重视土壤中N、K量和pH值对甘草质量的影响。因此,环境综合机制对甘草中有效成分量的影响也是比较明显的。宋平顺等^[20]评价了甘肃不同产地乌拉尔甘草的质量,发现由于甘肃生态条件及种植技术等原因,各地乌拉尔甘草质量存在差异,甘草酸质量分数1.82%~8.25%,甘草苷质量分数0.83%~6.09%。

1.3.2 同一产地甘草遗传基因的多样性 甘草遗传多样性可能与环境的选择有关。刘娟等^[21]采用ISSR-PCR技术对6组24个栽培甘草样品进行遗传多样性分析,用6条引物对24个样品DNA进行PCR扩增,共得到43条条带,其中29条具有多态性,多态性百分比为67.45%。聚类分析显示,同一产地的甘草由于不同的栽培代数遗传多样性有所改变。对同一栽培条件下的同一品种49份乌拉尔甘草的不同个体进行研究,发现甘草酸的量差异较大,进一步研究发现甘草酸的量与rbcL、trnL内含子、IGS(trnL-trnF基因间隔区)和matK基因具有相关性^[22]。

1.3.3 诱导变异后遗传基因的多样性 利用返回式卫星搭载甘草的种子,返回地面后与对照组在相同条件下培养,取其叶采用ISSR分析,在所选取的22个随机引物中,有6个引物产生了不同的DNA片段类型^[23]。采用返回式卫星搭载甘草种子生长3年的甘草叶子进行ISSR分析,太空飞行组与地面对照组的相似系数分别为0.8868和0.8723,遗传距离分别为0.1201和0.1366,基因组的多态性频率为20.3%和20.7%,多态性片段大小在200~1900bp^[24]。

2 甘草的品种选育

对甘草进行优良品种选育是提高和稳定甘草药材产量和品质的重要途径。其中,选择与评价是甘草育种工作的主要部分。选择不仅作为独立的育种手段,而且也是其他各种育种途径不可缺少的重要环节。

2.1 直接选择自然优良品种

甘草生长性状及有效成分各指标间均存在不同程度的相关关系^[5]。对不同甘草植株根及地上部分药用成分甘草酸、甘草黄酮和甘草多糖的量进行比较分析。结果表明,不同甘草植株根及地上部分 3 种药用成分量差异显著。根中甘草酸的量最高为最低的 13 倍以上,甘草黄酮的量最高为最低的 1.6 倍以上,甘草多糖的量最高为最低的 2.5 倍以上。认为甘草酸、甘草黄酮和甘草多糖的量均较高的 3 个植株可作为优良类型培育优质的甘草栽培品种。甘草酸、甘草黄酮和甘草多糖量的高低与甘草植株高矮和茎表皮颜色没有必然联系^[25]。以内蒙古杭锦旗栽培甘草为主要实验材料,通过形态学观察,主要药用活性成分定量测定,以及基因克隆等方法,对甘草的有性生殖特性、种质资源筛选和甘草酸代谢途径中关键酶 HMGR 基因的克隆和表达特征 3 部分内容进行了研究,发现白花类型的甘草药材质量较好^[26]。

通过观察从野生甘草中选育出的新品种甘草(乌新 I 号)的发芽率、可溶性蛋白量和过氧化物酶活性,并与对照组进行基因组多态性比较,乌新 I 号可溶性蛋白量产生了变化,过氧化物酶活性显示乌新 I 号具有较高活性^[27]。栽培甘草群体中,鲨烯合成酶(SQS)基因序列变异和表达量变异均对甘草酸的量变异产生影响。但 SQS 基因的序列差异和表达差异在甘草酸量的变异中的贡献率还需进一步研究^[28]。

于福来^[29]分析了甘草数量性状间遗传变异与相互关系,并建立目标性状间接选择指标体系,发现种质和环境因素对甘草主要数量性状影响各异,且与气候因子关系密切。不同变异类型甘草生长及光合性能存在一定变异,且指标间相互关系密切;并且对不同类型甘草进行了综合评价,依据不同育种目标建立相应的评价指标体系;最后对甘草传粉生物学特性进行了研究,对甘草品种选育与扩繁途径进行了探讨。

2.2 杂交育种

杂交育种是将基因型不同的个体之间进行杂交,在其杂交后代中选育出纯合优良品种的方法。由于杂交引起基因重组,杂交后代会出现组合亲代优良性状的基因型,并可能通过某些基因互作,形成具有超亲优势的新个体,为选择提供了物质基础。甘草的杂交育种工作刚刚起步,目前对于甘草属的

开花习性、雌雄蕊发育特点、授粉方式以及杂交技术等还没有进行系统的研究^[30]。张新玲等^[31]对新疆甘草属 7 个种进行了甘草属的种间人工杂交工作,通过对种间杂交结实量和亲本种平均结实量的分析比较,测出相应的杂交结实指数,初步了解了种间杂交亲和性的大小。其中蜜腺甘草与乌拉尔甘草的杂交亲和性最高,光果甘草与乌拉尔甘草的杂交亲和性相对较低。鉴于杂交育种的必要性,在今后的育种工作中应该从甘草花器官的发育开始,开展授粉受精方式、自交与杂交亲和性、自交技术研究,首先提高自交和杂交结实率,进一步开展基因的连锁、互作等遗传学效应研究,重点关注配合力和遗传力分析,为杂交育种奠定理论和技术基础^[32]。

2.3 太空育种

探讨空间环境对甘草的诱变效应,可为筛选优质甘草种子,提高甘草的人工栽培的质量提供依据。对返回式卫星搭载乌拉尔甘草(WG1)种子(18 d)的生理生化、基因组以及根中有效成分的量进行了系统的研究,并与地面对照组和人工选育组(WX1)进行了对比,结果表明空间搭载影响种子萌发率和胚根长势。在水分充足的条件下,WX1 可溶性蛋白的量和变化较地面对照组和 WG1 有明显差异;在干旱胁迫下,WG1 种子可溶性蛋白质量在种子萌发 3 d 后,过氧化物酶和过氧化氢酶在萌发 5 d 后均明显高于地面对照组和 WX1。高效液相色谱法分析 WG1 根甘草中主要有效成分,表明 WG1 甘草酸和甘草苷的量明显高于地面对照组^[32]。

甘草经过卫星搭载后,甘草酸相关基因 ITS 序列没有发生变化,而甘草酸生物合成关键基因 β -香树酯醇合成酶某些位点呈现了差异性,并且太空环境对甘草酸合成关键酶基因 β -香树酯醇合成酶表达有一定影响^[33]。

2.4 人工诱导多倍体育种

多倍体育种是获得新品种的重要途径之一。李文文^[34]使用 0.2%秋水仙素、0.1%琼脂和二甲基亚砷混合液处理植株生长点,分别处理 1、2、3、4 d。结果,对乌拉尔甘草处理 3 d 时的诱变率最高,诱变率达到 80.39%。多倍体植株与原二倍体植株相比,在形态上多倍体植株变矮,叶片皱缩,气孔明显变大,茎尖染色体数目为 $2n=4x=32$ 。在组织培养条件下,用秋水仙素溶液浸泡乌拉尔甘草试管苗茎尖进行同源四倍体诱导。结果表明,秋水仙素质量分数为 0.1%,浸泡时间为 12 h 时,茎尖的存活

率和变异率分别为 52.3%和 22.1%^[35]。

2.5 组织培养育种

以内蒙古杭锦旗的野生乌拉尔甘草为材料, 适合甘草丛生芽诱导的外植体为生长 4~7 d 的无菌苗子叶节。将带 1 叶的茎段在改良的培养基中培养, 其增殖倍数可稳定达到 25 倍。在 1/2 MS+核黄素 2.0 mg/L 中生根, 炼苗 3 d 移栽到蛭石中, 成活率达 96%以上。1 个带腋芽茎段培养 3 个月可获得 13 906 棵生根试管苗, 成活 13 350 株, 繁殖效率高达 85%^[35]。

采用无菌苗茎段直接生根成苗途径更加适合乌拉尔甘草快繁体系的建立。组培苗无性快繁的主要因素是苗的生长速度和丛生侧芽的数量, 控制这 2 个因素完全依靠调节培养基中的激素种类和数量来实现^[36]。以甘草下胚轴为外植体, 对影响下胚轴离体再生不定芽的因素进行研究, 发现氯吡脲 (KT) 具有显著作用, 与 6-苄氨基腺嘌呤 (6-BA) 和 3-吲哚丁酸 (IBA) 结合, 可高效诱导下胚轴直接产生不定芽, 优化的分化培养基下芽苗分化率平均为 41.5%。同时, 进一步研究了不同基因型和预培养处理对甘草下胚轴再生的影响, 结果胀果甘草下胚轴离体再生频率最高, 达 44.7%。预培养 4 d 对甘草下胚轴再生不定芽具有促进作用^[37]。

2.6 生物转化菌种选育

全艳玲等^[38]通过初筛、复筛, 分离纯化出甘草生物转化菌, 经过形态鉴定, 有根霉、青霉、米曲霉和黑曲霉。用筛选到的霉菌对甘草煮提液和甘草酸进行液体发酵转化, HPLC 检测结果表明, 甘草酸经米曲霉和黑曲霉生物转化后, 甘草酸波峰变小, 有甘草次酸产生。

3 前景与展望

3.1 遗传多样性

甘草属是一个分类争议较多的属, 具有丰富的遗传多样性,《中国植物志》收录甘草属有 8 种植物, 而有的学者认为甘草属植物种类有 18 种 3 变种, 其中存在争议的物种主要分布在新疆地区, 因此, 今后对甘草遗传多样性的研究重点应放在新疆地区。

甘草的分布区较广, 生态环境较为复杂, 物种分布区重叠, 导致甘草存在丰富的形态多样性, 但这些形态多样性的形成原因尚不清楚, 今后应通过不同形态类型甘草种质资源同地栽培、异地栽培, 并和 DNA 分析技术、化学分析技术相结合, 发现具有遗传基础的甘草形态变异类型, 为甘草优良品

种选育奠定基础。

3.2 品种选育

在甘草栽培过程中, 良种是核心, 良法是手段, 但调控甘草有效成分的遗传基础尚不清楚, 已经成为良种选育的瓶颈, 今后甘草品种选育研究的重点应放在调控甘草有效成分的遗传基础方面, 从广义的遗传多样性切入, 集中研究甘草三萜或黄酮类化合物的分子调控机制, 丰富基于有效成分量的药用植物品种选育理论。

随着甘草市场需求的发展, 今后甘草品种选育应重视品种的多样化。常规甘草品种选育应以甘草药材主要性状指标、成分指标与野生甘草药材接近为目标。除此之外, 还应重视制药行业需求的变化, 如选育甘草酸、甘草黄酮量高的品种满足甘草浸膏提取工业的需求, 选育地上部分繁茂的治沙甘草优良品种等, 通过品种选育满足市场对甘草的需求。

参考文献

- [1] 中国药典 [S]. 二部. 2010.
- [2] 李学禹. 中国甘草属 (*Glycyrrhiza* L.) 植物种质资源 [A] // 第二届中国甘草学术研讨会暨第二届新疆植物资源开发、利用与保护学术研讨会论文集摘要集 [C]. 石河子: 中国植物学会, 2004.
- [3] 白可喻, 戎郁萍, 徐斌. 甘草和麻黄资源的生物多样性价值和保护 [J]. 中国农业资源与区划, 2009, 30(4): 64-69.
- [4] 尚辛亥, 阎玉凝, 王文全. 甘草 (*Glycyrrhiza uralensis*) 不同分布区群落物种多样性及其生长特征比较 [J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(2): 13-16.
- [5] 张振巍, 张娜娜, 李月梅. 不同品种甘草中总黄酮的含量考察 [J]. 中国药师, 2013, 16(1): 49-51.
- [6] 周应群, 陈士林, 赵润怀. 药用甘草植物资源生态学探讨 [J]. 中草药, 2009, 40(10): 1668-1671.
- [7] 杨全. 甘草黄芩种内变异及选种基础研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [8] 孙群, 佟汉文, 吴波, 等. 不同种源乌拉尔甘草形态和 ISSR 遗传多样性研究 [J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(1): 56-63.
- [9] 马春英, 梁虹, 王文全. 不同花色甘草种质的质量分析及其 HMGR 基因特征研究 [J]. 河北农业大学学报, 2011, 34(3): 28-32.
- [10] 代少山. 乌拉尔甘草种质资源与药材质量研究 [D]. 石家庄: 河北农业大学, 2011.
- [11] 李学斌, 陈林, 李国旗, 等. 中国甘草资源的生态分布及其繁殖技术研究 [J]. 生态环境学报, 2013, 22(4):

- 718-722.
- [12] 吴霞, 刘庆华, 马永红, 等. 新疆产甘草 6 个不同地理群体遗传关系的 RAPD 分析 [J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(4): 191-193.
- [13] 陆嘉惠, 李学禹, 马森, 等. 国产甘草属植物的 RAPD 分析及其分类学研究 [J]. 西北植物学报, 2006, 26(3): 527-531.
- [14] 葛淑俊, 李广敏, 马峙英, 等. 甘草野生种群遗传多样性的 AFLP 分析 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(1): 47-54.
- [15] 姚辉. 乌拉尔甘草遗传多样性与品质评价及槲寄生抗氧化活性成分 [D]. 上海: 复旦大学, 2006.
- [16] 刘春生, 王文全, 魏胜利. 甘草 β -amyrin 合成酶基因在甘草种质资源中的变异研究 [A] // 中华中医药学会第九届中药鉴定学术会议论文集 [C]. 建德: 中华中医药学会, 2008.
- [17] Li Y, Luo H M, Sun C, *et al.* EST analysis reveals putative genes involved in glycyrrhizin biosynthesis [J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 268-278.
- [18] 佟汉文. 乌拉尔甘草种质资源遗传多样性研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [19] 尚晓娜, 宋平顺, 杨锡, 等. 甘肃不同地域甘草有效成分含量与土壤因子关系的研究 [J]. 中国农学通报, 2012, 28(28): 245-249.
- [20] 宋平顺, 卫玉玲, 赵建邦, 等. 甘肃不同地域乌拉尔甘草质量的化学模式评价 [J]. 中国中医药信息杂志, 2012, 19(8): 61-63.
- [21] 刘娟, 李贝宁, 刘春生, 等. 环境对栽培甘草遗传多样性的影响研究 [J]. 时珍国医国药, 2011, 2(2): 473-475.
- [22] 荣齐仙. 甘草药材中甘草酸含量变异的分子标记研究—*rbcL*、*trnL* 内含子、*IGS* 和 *matK* [D]. 北京: 北京中医药大学, 2007.
- [23] Gao W Y, Li K F, Yan S, *et al.* Effects of space flight on DNA mutation and secondary metabolites of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) [J]. *Sci Chin Ser C-Life* *Sci*, 2009, 52(10): 977-981.
- [24] 严硕, 高文远, 路福平, 等. 卫星搭载甘草遗传变异的 ISSR 分析 [J]. 中国药理学杂志, 2009, 44(18): 1377-1380.
- [25] 柴娜, 张颖, 王景安. 不同甘草植株品质的比较研究 [J]. 天津农业科学, 2011, 17(2): 116-119.
- [26] 马春英. 甘草品种选育基础及 HMGR 基因克隆研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2009.
- [27] 严硕, 高文远, 路福平, 等. 选育甘草乌新 I 号的生理特性和基因多态性研究 [J]. 中草药, 2010, 41(1): 126-129.
- [28] 张燕洁. 基于 ISSR 和 SQS 基因的甘草酸含量变异的机制研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2008.
- [29] 于福来. 甘草优良种质遴选指标与传粉特性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- [30] 安金翠, 葛淑俊, 盖庆荣, 等. 甘草属种质资源与品种选育方法研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(22): 9603-9606.
- [31] 张新玲, 李学禹. 新疆甘草属的种间杂交 [J]. 西北植物学报, 1998, 18(1): 132-135.
- [32] 李克峰. 卫星搭载对甘草种质影响的研究 [D]. 天津: 天津大学, 2007.
- [33] 严硕, 高文远, 路福平, 等. 太空环境对甘草中甘草酸生物合成相关基因的诱变作用分析 [J]. 中国中药杂志, 2009, 34(21): 2721-2724.
- [34] 李文文. 新疆特色药用植物多倍体的诱导与鉴定 [D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2008.
- [35] 葛淑俊, 袁静娅, 武晓阳, 等. 秋水仙素诱导乌拉尔甘草同源四倍体的研究 [J]. 作物杂志, 2009(3): 8-11.
- [36] 葛淑俊, 李广敏, 马峙英, 等. 乌拉尔甘草组培再生体系的研究 [J]. 草业学报, 2007, 16(6): 107-112.
- [37] 刘晓丹, 王琪, 赵东昱. 乌拉尔甘草组培快繁技术研究 [J]. 现代农业科技, 2011(15): 109-110.
- [38] 全艳玲, 刘贻胜, 徐云剑, 等. 甘草生物转化菌种选育 [J]. 中国酿造, 2013, 32(4): 123-125.