

doi:10.11937/bfyy.20170684

重楼属植物组织培养研究进展

周 玲¹, 姚 振¹, 郭永兵², 周存宇¹

(1. 长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025; 2. 神农架林区林业科学研究所, 湖北 神农架 442400)

摘 要: 从外植体选择与处理、种子无菌萌发、再生体系途径(愈伤组织途径、原球茎途径、体细胞胚途径)及目前组织培养中存在的问题等方面综述了近年来重楼属植物组织培养的研究现状, 并对今后的发展提出了建议, 旨在为解决重楼属植物快速繁育问题提供参考依据。

关键词: 重楼属植物; 组织培养; 快繁

中图分类号: S 567.23⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)20-0184-06

重楼属植物(*Paris*)为多年生草本植物, 具肉质根状茎, 茎直立、不分枝, 叶4至多枚轮生于茎顶部, 花单生于叶轮中央。重楼属植物众多, 我国有7种8变种, 也有学者根据不同性状细分为20种以上, 主要分布于云南、四川、广西及贵州等地^[1-4]。作为我国名贵中药材, 以云南重楼(*Paris*

polyphylla Smith var. *yunnanensis* (Franch.) Hand.-Mazz.)和七叶一枝花^[5](*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara)的干燥根茎入药, 具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊等功效, 常用于治疗疔疮痈肿、咽喉肿痛、毒蛇咬伤、惊风抽搐等病症。

重楼属植物的繁殖方式主要有根茎切断繁殖、种子繁殖和组织培养。根茎切断繁殖是重楼属植物生产中最常用的繁殖方式之一, 但根茎本是药用部位, 利用根茎切块生产种苗耗材量大, 增加了生产成本, 且存在种苗退化、切面大而易感染病害、出苗不整齐等问题。重楼属植物种子属于形态生理休眠^[6-7], 种胚发育不完全, 且种子中存在萌发抑制物, 出苗率低, 在自然条件下重楼属

第一作者简介: 周玲(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物资源开发与利用。E-mail: zhoudecember@sina.cn.

责任作者: 郭永兵(1972-), 男, 博士, 副教授, 硕士生导师, 现主要从事野生植物资源开发与利用等研究工作。E-mail: guoyb@scbg.ac.cn.

基金项目: 神农架重楼属植物研究资助项目(YLSN1608)。

收稿日期: 2017-04-06

Research Progress on *Hemerocallis fulva*

REN Yang, LIU Hongzhang, LIU Shuying, LIU Huimin

(College of Life Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: *Hemerocallis fulva* is a traditional Chinese garden plants, and because of its edible and has high economic value. In this study, *Hemerocallis fulva* resources distribution and classification of plants, breeding and reproduction, pharmacological activity and landscaping were summarized, providing reference and comprehensive utilization of resources for the protection of plants of *Hemerocallis fulva*.

Keywords: *Hemerocallis fulva*; pharmacological action; nutritional therapy health care; landscaping

种子需要经过两冬一夏才能完成形态学后熟和生理学后熟^[8-9],现有的报道表明,对种子进行催芽处理也需要4~8个月才会萌发^[10-11]。迄今为止,在如何缩短重楼种胚形态学后熟和生理学后熟期、解除种子休眠、提高种子萌发率等方面研究并没有取得突破性进展。所以,研究重楼属植物的组织培养技术是解决重楼属植物快速繁殖瓶颈的有效途径,且不受地域、季节等因素的限制,可在短时间内大量繁殖性状优良的幼苗。该技术已在铁皮石斛^[12-13]、白芨^[14]、当归^[15]、白背三七^[16]、杜仲^[17]等药用植物上取得成功。然而,就目前已发表文献来看,重楼属植物的组织培养尚未取得突破性进展。现对有关重楼属植物组织培养的文献进行了总结分析,以期为解决重楼属植物外植体快速繁育的瓶颈问题提供参考。

1 重楼种子无菌萌发途径

种子无菌萌发途径是通过层积或结合红外照射等处理方式打破种子休眠后,分别采用不同的培养基探讨无菌状态下种子的发芽率及生长情况。近年来,该方式已逐渐成为建立重楼快速繁育体系的新途径。

熊海浪等^[18]采用变温层积结合红外照射解除种子休眠后,接种于MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+IAA 0.5 mg·L⁻¹培养基上培养30 d后长成具有单叶的完整植株;蒙爱东等^[19]采用自然湿沙层积3个月后,用0.05%高锰酸钾溶液浸泡30 min在MS+2%蔗糖+0.5%琼脂培养基上从接种至出苗历时1年;杨淋等^[20]研究不同培养基及不同培养条件对滇重楼种子无菌萌发的影响,结果表明将种子在4℃湿沙层积2个月后接种于附加30 g·L⁻¹蔗糖和8 g·L⁻¹琼脂的Knudson C培养基上,发现萌动率为91.0%、萌发率为76.7%,同时发现B5培养基适宜胚根的生长,15℃/25℃变温培养能促进种子萌发,20℃/25℃变温培养适宜胚根生长,750~1 500 lx弱光照适宜种子萌发,750 lx弱光照胚根生长迅速,3 000 lx强光照对种子萌发和胚根生长有一定的抑制作用。

从上述研究结果可以看出,通过该途径获得完整植株的最短时间为1个月,然而,在研究结果中均未进行组培苗的快速繁殖试验,相对于其它再生途径,这一技术效率较高,可在短时间内快速

获得质量较好的无菌幼苗,这一技术也在白芨^[21-23]、独蒜兰^[24]、天麻^[25]、青天葵^[26]、怀地黄^[27]等其它药用植物上得到广泛的应用。但利用种子进行组培繁育时,无法预计培育的后代性状是否优良,可能产生变异,而用其它营养器官可使幼株有效地保持母株的优良性状。

2 愈伤组织途径

近年来,为了建立重楼属植物的无菌培养体系,提高繁殖速度,以植株的各器官为试材进行了愈伤组织途径的研究。

2.1 无菌培养体系的建立

无菌培养体系的建立主要是对外植体的处理方式进行研究。通过研究不同浓度百菌清、羧苄西林钠、头孢唑林钠对污染率的影响,李群等^[28]发现200 mg·L⁻¹羧苄西林钠和头孢唑林钠的抑菌效果较好,外植体的污染率可控制在20%以下,不同浓度的百菌清无抑菌效果;王跃华等^[29]用0.5%消清灵液消毒10 min,70%酒精消毒30 s后,再用0.1% HgCl₂处理去芽鞘8 min、不去芽鞘12 min的效果最好,污染率分别为(11.97±0.91)%和(12.26±0.98)%、启动率分别为(84.82±2.59)%和(71.62±1.17)%;王岚等^[30]比较不同浓度HgCl₂与NaClO的消毒效果,发现0.2% HgCl₂消毒8 min效果最好,而用NaClO消毒无法获到无菌材料。

2.2 愈伤组织诱导培养

2.2.1 外植体的选择

重楼属植物组织培养过程中,决定组织培养成功与否的一个关键因素是外植体的选择,它直接关系到重楼属植物培养过程的难易程度和培养的方向。应用于重楼属植物组培的外植体来源较为广泛,主要有种胚^[31]、种子^[32]、子房^[33]、根状茎^[31,33-36]、茎尖^[28]、茎段^[28,31,35]、芽^[29,35,37]、叶片^[31,33,35]、根^[31,33,35]、芽鞘^[35]等,但就目前已有的报道显示,仅有重楼的芽、根茎和子房易于培养,能不同程度的诱导愈伤组织,但大多遇到污染严重、愈伤组织诱导率低、增殖困难等问题。此外,李群等^[28,33]认为生长期的幼芽组织是较适宜的培养器官,愈伤诱导率大小顺序为根茎<子房<幼芽,且外植体取材的最佳时期为展叶期,萌芽期

次之,在花冠露白期和倒苗期根茎则很难诱导产生愈伤组织。

2.2.2 培养基的筛选

影响愈伤组织诱导的另一关键因素是培养基的筛选。在重楼属植物的组织培养中主要以 MS 为基本培养基,再附以不同配比的激素组合进行无菌培养,其不仅关系到整个试验成功与否,也影响培养物的诱导效率、增殖效率和生长速度等。

种胚^[31]只有在胚乳存在时于培养基 MS+6-BA 0.02 mg·L⁻¹+IAA 2 mg·L⁻¹上诱导出愈伤组织,诱导频率高达 53.3%。黄宗华^[32]研究发现种子诱导愈伤组织初期对培养基的要求较低,胚乳可提供种子所需养分,诱导愈伤组织的适宜培养基为 1/2MS+6-BA 0.1 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。

芽在培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IAA 2.0 mg·L⁻¹和 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+IAA 1.0 mg·L⁻¹上诱导愈伤组织的频率分别为 26.70%和 21.95%,且诱导的愈伤组织质地较坚硬,呈淡黄色,展示较好的保持潜力,同时在这 2 个培养基的处理下,从幼芽基部还能诱导出几个小球茎^[33];在 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+IAA 2.0 mg·L⁻¹上诱导愈伤组织的频率为(31.35±1.28)%,且在培养基 MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹上增殖快、质地较紧密,增殖倍数最高为(2.38±0.11)倍^[29];在培养基 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹上诱导的愈伤组织淡黄色表面粗糙,突起质地较

硬^[37];在培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 1.5 mg·L⁻¹+2,4-D 3.0 mg·L⁻¹诱导的愈伤组织质地紧密,诱导率高达 41.08%^[36]。

根状茎在培养基 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+IAA 2.0 mg·L⁻¹上诱导形成的愈伤组织启动快、生长速度快,诱导率为(33.5±1.6)%,经检测结果显示,多次继代培养的华重楼愈伤组织中含有薯蓣皂苷或其类似物^[35];于培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 1.5 mg·L⁻¹+2,4-D 3.0 mg·L⁻¹上诱导出的愈伤组织有较好的增殖分化能力^[36]。

2.2.3 细胞分裂素和生长素比对愈伤组织诱导的影响

在植物组织培养中除了基本培养基的选择外,最重要就是生长调节物质的筛选及配比。不同生长调节物质的不同配比均会直接影响外植体的分化途径及诱导生长。在重楼属植物组织培养试验中常用的生长调节剂主要有细胞分裂素和生长素。细胞分裂素包括 6-BA 和 KT,促进细胞分裂、调节细胞分化;生长素包括 IAA、IBA、NAA 和 2,4-D,可诱导愈伤组织、促进根的形成。

王跃华等^[35]研究结果显示,隐芽、根茎和预处理后的根茎愈伤组织的诱导率分别为(12.8±1.3)%、(19.3±1.3)%、(31.35±1.28)%,表明不同来源的愈伤组织的诱导率及保持能力差异较大,细胞分裂素与生长素比对愈伤组织诱导的影响见表 1。

表 1 细胞分裂素/生长素及其对愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of cytokinins/auxin on callus induction

时间 Time	作者 Authors	细胞分裂素/生长素及其对愈伤组织诱导的效果 Effects of cytokinins/auxin on callus induction	文献 References
2003	李群等	≥1, 茎尖启动率 30%, IAA 可能比其它生长素如 IBA、2,4-D 和 NAA 更有利于材料的启动 =1, 诱导率 28.89%, 但增殖较慢、质地疏松、易褐变、寿命较短	[28]
2006	李群等	>1, 诱导率 21.95% <1, 诱导率 26.7%, 愈伤组织较好, 并出现小球茎	[33]
2008	杨丽云等	>1, 40 d 后形成了淡黄色表面粗糙突起质地较坚硬的愈伤组织	[37]
2012	熊海浪等	<1, 诱导率 53.3%, IAA 诱导愈伤组织的作用最大, 6-BA 对重楼愈伤组织分化的调节作用较好	[31]
2012	王跃华等	<1, (31.35±1.28)%, 愈伤增殖倍数可达(2.38±0.11)倍, 且质地坚硬、呈淡黄色, 具较好的保持潜力	[29]
2013	宋发军等	>1, 诱导率低至 13.3%	[34]
2014	王跃华等	=1, 诱导率最高为(31.35±1.28)% =1, 启动率 35% >1, 少量细胞团	[35]
2015	王岚等		[30]
2015	刘银花等	<1, 愈伤质地紧密、增殖较快, NAA>2,4-D>6-BA	[36]

2.2.4 温度

刘银花等^[36]将接种于诱导愈伤组织培养基上的根茎先置于6℃低温处理15 d;再置于22℃,每天光照6 h,光照强度为1 000 lx条件下培养,认为低温可促进根茎外植体细胞打破休眠和完成脱分化,进行快速分裂,从而增大愈伤组织诱导率、防止褐化。

2.3 不定芽诱导培养

对愈伤组织增殖分化的研究结果显示,在培养基MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+IAA 0.5 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹^[37]和MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+IAA 0.3 mg·L⁻¹+KT 1.0 mg·L⁻¹+头孢曲松钠 300 mg·L⁻¹上能分化出不定芽^[36]。

当细胞分裂素/生长素>1时,杨丽云等^[37]发现当愈伤组织培养210 d后,其颜色由淡黄色逐步变为白色,愈伤组织表面由粗糙突起逐步变为平滑,分化形成一个芽;王跃华等^[29]发现愈伤组织的增殖倍数可达(2.38±0.11)倍;刘银花等^[36]愈伤组织经60 d的培养后,不定芽的诱导率最高为49.05%,影响不定芽诱导率因素由高到低依次为6-BA>头孢曲松钠>IAA>KT。

2.4 不定根诱导培养

对不定根诱导的结果显示,在培养基1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+IAA 0.5 mg·L⁻¹上的生根率为76.3%^[37];在培养基1/2MS+IBA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+0.5%活性炭上诱导率高达100%^[36]。

就目前已报道出的成功试验分析,杨丽云等^[37]与刘银花等^[36]使用的生根培养基均采用了1/2MS加不同浓度的生长素,但培养基配方略有不同。前者仅在1/2MS培养基中加入了NAA 0.5 mg·L⁻¹和IAA 0.5 mg·L⁻¹,生根率为76.3%;而后者除了加入IBA 0.5 mg·L⁻¹和NAA 0.1 mg·L⁻¹,还加入了0.5%活性炭,不定根的诱导率最高为100%,且认为影响不定根诱导率因素由高到低依次为IBA>活性炭>NAA。

3 类原球茎途径

原球茎(protocorm)是指由种子离体培养产生的胚性组织,通过诱导适宜外植体产生的类似于球茎的组织称为类原球茎或拟原球茎(proto-

corm like bodies),简称PLBs^[38]。原球茎发生途径是通过适宜外植体诱导产生胚性愈伤组织并增殖,随后形成类胚组织原球茎而发育成完整的再生植株,该途径在铁皮石斛等兰科植物中使用较多。李群等^[33]通过研究不同器官、不同取材时期的重楼外植体愈伤组织诱导时发现,生长期的重楼幼芽组织能从幼芽基部诱导出小球茎。

4 体细胞胚途径

体细胞胚是指由体细胞发育成的胚,体细胞胚途径即利用个体细胞组织,通过组织培养方式,诱导产生体细胞胚,促进其分化发育、发芽和成长为幼苗的过程和技术^[39]。刘银花等^[40]对华重楼的体细胞胚发生途径进行了试验研究,发现将华重楼芽轴接种于培养基LS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹+头孢曲松钠 400 mg·L⁻¹上,体细胞胚诱导频率最高为40.16%,并且发现试验中对体细胞胚的诱导产生影响最大的是6-BA,其次是NAA,影响最小的是头孢曲松钠。

5 组培中存在的问题

5.1 污染及防治

重楼在组织培养过程中污染率较高,一般是人为污染和内生菌污染。人为污染包括操作污染和环境污染,如外植体、组培间、超净工作台、接种工具的消毒不彻底,以及在试验过程中操作不规范等均会导致污染率高,甚至培养失败;内生菌污染主要为内生细菌和内生真菌污染,由于内生菌存在于植物细胞内或细胞间隙,不能像表面细菌一样被一般的表面消毒方法所杀死,常使外植体在培养3~5 d后不断出现明显或不明显的菌落而导致污染^[41]。王世林等^[42]从滇重楼地下茎中分离出了2种细菌(蜡状芽孢杆菌和产碱假单胞菌)和3种真菌(黑团孢霉、白色厚顶孢霉和重楼索霉),之后的研究者从重楼属植物中分离鉴定出了芽孢杆菌属、肠杆菌属、假单胞杆菌属等至少29种内生细菌,以及包括小囊菌属、团黑孢霉属、索霉属等在内的至少41种内生真菌^[43-47]。克服人为污染首先试验员要严格操作,再而定期对组培室进行消毒,如70%酒精喷雾消毒、紫外灯照射消毒、臭氧以及甲醛加少量高锰酸钾熏蒸灭菌

等消毒措施均可^[48];对于内生菌污染,首先要选择合适的外植体以及取材时间,植物的胚、茎尖是相对较好的材料;其次使用合适的消毒剂 and 消毒方法,通过在培养基中添加抗菌素、降低 pH 等措施防治和减少内生菌污染^[49-50]。

5.2 愈伤组织诱导和增殖分化率低

目前,重楼的愈伤组织诱导率低,呈颗粒状、质地较疏松,较易分散,培养时间过长,导致愈伤组织易褐变、纤维化,失去增殖分化能力。分析原因除了与其在组织培养过程中外植体的选择、消毒和培养基的筛选等方面有关,可能还受到重楼属植物本身如组织细胞脱分化的能力较低、细胞分裂速度慢等因素的影响^[29],这可能也与重楼属植物的生态环境和自生遗传特性等因素有关。

6 建议

利用组织培养来繁殖重楼的难度很大,就目前已报道的文献而言,重楼种子通过无菌萌发获得组培苗的周期短,但种子具有二次休眠的特性,且后代可能会产生较高的变异率;地上茎、根、叶和花等外植体均未能诱导出愈伤组织、小球茎或体细胞胚,虽然根状茎、芽和子房能不同程度的诱导出愈伤组织,但愈伤组织诱导和增殖分化率低,基于以上问题,提出以下建议。

第一,选择合适的外植体及取材时间,将整株挖取后,于实验室培养一定时间后,在其上取外植体进行组培试验;第二,筛选合适的消毒方式,合理使用抗菌素。污染细菌主要为芽孢杆菌、肠杆菌和黄单胞菌等,污染真菌主要为芽枝霉、黑曲霉、青霉和酵母,可根据不同的污染真菌有针对性的施用抗菌素,以防止或减少染菌率;第三,探索新的再生体系或培养方式,如丛生芽诱导途径。这一技术已在结球甘蓝^[51]、大豆^[52]、小麦^[53-54]、甜叶菊^[55]、红厚壳^[56]等植物上获得成功。侯玉平等^[57]从淀粉粒在滇重楼的端向性聚集分布推测,滇重楼的根茎具有顶端优势,其切块繁殖的机理是打破顶端优势。不定芽仅在根状茎的节上发生,在植物器官离体培养过程中,根状茎切块后打破顶芽的顶端优势,根状茎的薄壁组织细胞不经过愈伤组织阶段直接脱分化,发生不定芽,这一试验结果也为外植体其它途径的发生提供了参考依据。

参考文献

- [1] 李恒. 重楼属植物[M]. 北京:科学出版社,1998:23-64.
- [2] 杨光义,胡培,叶方. 重楼资源分布与可持续利用研究进展[J]. 中国药师,2016,19(1):159-162.
- [3] 李恒,苏豹,张兆云,等. 中国重楼资源现状评价及其种植业的发展对策[J]. 西部林业科学,2015,44(3):1-7.
- [4] 成莉,甄艳,陈敏,等. 扩大重楼药用资源研究进展[J]. 中国中药杂志,2015,40(16):3121-3124.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2015:260.
- [6] 黄玮,孟繁蕴,张文生,等. 滇重楼种子休眠机理研究[J]. 中国农学通报,2008,24(12):242-246.
- [7] 陈伟,杨奕,马绍宾,等. 滇重楼种子休眠类型的研究[J]. 西南农业学报,2015,28(2):783-786.
- [8] 李运昌. 重楼属植物引种栽培的研究[J]. 云南植物研究,1982,4(4):429-431.
- [9] 任永权,田茂美,李娇梅,等. 促进华重楼种子萌发和出苗的技术研究[J]. 种子,2015,34(6):88-91.
- [10] 谷海燕,谢孔平,张国珍,等. 促进华重楼种子快速萌发因素的研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(11):2774-2776.
- [11] 陈翠,康平德,杨丽云,等. 云南重楼种苗繁育技术[J]. 中国现代中药,2007,12(2):23-28.
- [12] 常美花,金亚征,王莉. 铁皮石斛快繁技术体系研究[J]. 中草药,2012,43(7):1412-1417.
- [13] 朱庆竖,陈勇,余花,等. 铁皮石斛组织培养及快繁技术研究[J]. 中国农学通报,2015,31(31):19-24.
- [14] 石云平,李锋,凌征柱,等. 白芨组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 广西农业科学,2009,40(11):1408-1410.
- [15] 左利娟,石进朝. 当归组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(1):171-173.
- [16] 姚静雯,李颖,徐玮婷,等. 白背三七的组织培养和高频再生[J]. 植物生理学报,2012,48(11):1091-1097.
- [17] 李俊红,张焕玲,李周岐. 杜仲组织培养再生体系的优化[J]. 西北林学院学报,2008,23(4):97-100.
- [18] 熊海浪,易继财,张宗申. 滇重楼种子萌发及组织培养[J]. 广东农业科学,2011,38(21):47-49.
- [19] 蒙爱东,闫志刚,余丽莹,等. 七叶一枝花种子无菌萌发观察[J]. 江苏农业科学,2012,40(11):258-260.
- [20] 杨淋,胡侃,赵昱,等. 滇重楼种子无菌萌发及植株形态发生的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(3):151-154.
- [21] 杨平飞,张金霞,罗鸣,等. 不同处理对白芨种子无菌萌发及培养与驯化的影响[J]. 时珍国医国药,2016,27(8):1988-1990.
- [22] 李雨晴,杨嘉伟,王康才,等. 白芨种子无菌萌发特性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):253-255.
- [23] 张燕,黎斌,李汝娟,等. 白芨种子的无菌萌发过程观察和组织快繁研究[J]. 北方园艺,2013(3):158-160.
- [24] 张燕,李思锋,黎斌. 独蒜兰种子无菌萌发过程中观察和萌发培养基筛选[J]. 西北农业学报,2010,19(1):136-139.

- [25] 沈栋侠,张恩汉,丁家宜,等.天麻种子无菌萌发的研究[J].南京药学院学报,1979(1):88-93.
- [26] 杜勤,程凤丽,龚雪梅.青天葵种子无菌萌发试验研究[J].广州中医药大学学报,2013,30(2):233-235.
- [27] 李明军,王凤娟,张晓丽,等.航天搭载的怀地黄种子无菌萌发及试管苗快繁[J].核农学报,2009,23(2):274-278.
- [28] 李群,葛芳兰,王丽,等.重楼属植物初代培养过程中无菌培养物的建立[J].四川师范大学学报(自然科学版),2003,26(6):624-626.
- [29] 王跃华,蒋婷婷,付伟,等.重楼植物的组织培养研究[J].时珍国医国药,2012,23(8):2014-2016.
- [30] 王岚,付素静,李艺,等.梵净山七叶一枝花组织培养技术初探[J].农技服务,2015,32(2):66-67.
- [31] 熊海浪,于振艳,张宗申,等.影响濒危药用植物滇重楼愈伤组织发生的因素[J].时珍国医国药,2012,23(6):1372-1374.
- [32] 黄宗华.七叶一枝花种子萌发和组织培养[J].安徽农业科学,2016,44(27):118-121.
- [33] 李群,陈丽萍,葛芳兰,等.重楼属植物愈伤组织的诱导和培养[J].四川师范大学学报(自然科学版),2006,29(1):120-122.
- [34] 宋发军,黄宗华.七叶一枝花组织培养和种子萌发条件的研究[J].中南民族大学学报(自然科学版),2013,32(2):51-54.
- [35] 王跃华,陈燕,张珏,等.华重楼愈伤组织培养及薯蓣皂苷含量测定[J].湖北农业科学,2014,53(8):1936-1940.
- [36] 刘银花,王跃华,唐旭,等.华重楼植株的快速繁殖研究[J].中草药,2015,46(19):2925-2931.
- [37] 杨丽云,陈翠,吕丽芬,等.云南重楼的组织培养与植株再生[J].植物生理学通讯,2008,44(5):947-948.
- [38] 王凯基.植物生物学词典[M].上海:上海科技教育出版社,1994.
- [39] 沈海龙.植物组织培养[M].北京:中国林业出版社,2005:107-123.
- [40] 刘银花,王跃华,彭世明,等.华重楼体细胞胚诱导研究[J].中草药,2015,38(7):1355-1357.
- [41] 周俊辉,周厚高,刘花全.植物组织培养中的内生细菌污染问题[J].广西植物,2003,23(1):41-47.
- [42] 王世林,周立刚,李英,等.滇重楼寄生菌的研究[J].微生物学报,1999,39(2):160-163.
- [43] 方丽,王连平,茹水江,等.植物组织培养过程中污染微生物种类及其季节性的变化[J].浙江农业学报,2013,25(2):284-287.
- [44] 任智,张晓喻,祝凯,等.产薯蓣皂甙重楼内生菌的筛选与鉴定[J].微生物杂志,2007,27(2):6-9.
- [45] 施蕊,夏菁,王娟,等.滇重楼内生真菌的分离及其抗菌活性分析[J].贵州农业科学,2016,44(7):69-71.
- [46] 魏娟,何东旭,李国红,等.云南重楼内生细菌的分离鉴定及系统发育树分析[J].食品与生物技术学报,2015,34(2):165-169.
- [47] 何秀丽,丁嫚嫚,叶芳,等.重楼植物中内生菌的研究进展[J].中国药师,2016,19(5):970-972.
- [48] 巩健.植物组织培养快繁中存在的主要问题及防止措施[J].科技信息,2008(3):214-215.
- [49] 李春燕,李颖.组织培养中青霉素对细菌污染的抑制作用[J].东北林业大学学报,2000,28(5):97-98.
- [50] 杨国泰,李亮,张冬敏,等.克服植物组织培养中内生菌污染的研究[J].中国园艺文摘,2011(12):180-182.
- [51] 李树贤,陈远英.结球甘蓝下胚轴组织培养形态发生的组织学研究[J].西北植物学报,1993,13(4):271-275.
- [52] 聂王星,於丙军.TDZ和6-BA对大豆叶子节再生体系中丛生芽诱导的效应[J].南京农业大学学报,2012,35(4):130-134.
- [53] 张杰,李和平,廖玉才,等.小麦茎尖丛生芽诱导及植株再生[J].华中农业大学学报,2010,29(4):403-407.
- [54] 张月琴,陈耀锋,王晶晶,等.植物生长调节剂对小麦幼胚茎尖丛生芽诱导的影响[J].核农学报,2015,29(9):1641-1648.
- [55] 赫福霞,于晶,李芒雪,等.多因子正交试验对甜叶菊丛生芽诱导条件的筛选[J].中国农学通报,2005,21(7):79-81.
- [56] 许德成,王小青.红厚壳茎段丛生芽诱导与植株再生[J].植物学报,2014,49(2):167-172.
- [57] 侯玉平,胡晓立,杨斌,等.滇重楼切块繁殖不定芽发生的组织学研究[J].云南大学学报(自然科学版),2004,26(6):544-547.

Progress on Tissue Culture of *Paris* spp.

ZHOU Ling¹, YAO Zhen¹, GUO Yongbing², ZHOU Cunyu¹

(1. College of Horticulture & Landscape Architecture, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025; 2. Forestry Research Institute of Shennongjia, Shennongjia, Hubei 442400)

Abstract: In this study we reviewed the development of tissue culture of *Paris* spp. in recent years, including the explant selection and treatment, seed aseptic germination, establishment of regeneration system (route of callus, route of protocorm-like bodies, route of somatic embryos), etc., so as to give some advices for its further study and application.

Keywords: *Paris* spp.; tissue culture; rapid propagation