

贝母组织培养研究进展

耿茂林, 马琳, 常莉, 薛建平*

(淮北煤炭师范学院生物系, 安徽 淮北 235000)

摘要: 在查阅国内外相关文献的基础上, 从培养条件、小鳞茎再生、种质低温保存、生物碱积累、多倍体诱导等方面概述了贝母组织培养取得的研究成果, 并提出了贝母组织培养中今后亟需解决的问题。

关键词: 贝母; 植物组织培养; 研究进展

中图分类号: Q 949.71

文献标识码: A

文章编号: 1672-7177(2007)01-0038-05

中药贝母是百合科贝母属(*Fritillaria* L.) 多年生草本植物的鳞茎, 为我国传统中药材。据报道, 目前我国贝母属植物有 61 种, 50 个变种^[1], 其中药用有 25 种和 2 变种, 以四川(8 种)和新疆(6 种)种类最为丰富^[2,3]。按其临床功能分为两大类: 川贝和浙贝。传统医学认为, 川贝和浙贝功效不同, 浙贝母苦寒解毒, 利痰宣肺, 治风火痰咳以浙贝为佳; 川贝母味甘而补肺, 治虚寒咳嗽以川贝为宜。

由于贝母药效好、价值高, 而人工种植难度大、繁殖系数低、生产周期长, 因此商品药材主要依靠采挖野生资源, 造成资源极度匮乏, 产量急剧下降, 长期处于供不应求的状态。为了缩短贝母的生长周期, 提高无性繁殖系数, 加强对野生资源的保护和合理利用, 国内众多工作者对贝母的组织培养进行了大量的研究工作。在培养条件、鳞茎再生、生物碱积累、多倍体诱导等方面取得了大量的成果。目前, 关于贝母快繁技术相继在暗紫贝母^[4]、浙贝母^[5]、平贝母^[6]、康定贝母^[7]、皖贝母^[8]、太白贝母^[9]、川贝母^[10]和伊贝母^[11-13]等种类上有报道。本文综述这些研究, 希望对解决贝母自然资源匮乏及资源的合理开发利用提供参考。

1 培养条件

培养条件, 如培养基、培养温度、光照、植物生长物质的浓度和种类、外植体的取材部位与时间等, 不但影响培养物的生长, 也严重影响次生代谢物的积累。

1.1 培养基的种类

选择合适的培养基是组织培养的首要环节, 不同的外植体, 不同培养阶段和目的, 所需要的培养基均不同。大量的研究表明, MS 培养基为贝母鳞茎组织培养的适宜培养基。苏新^[14]在浙贝母种胚培养中比较了 MS、White、Ls 3 种培养基, 结果表明, 种胚在 3 种培养基上都能够很好的萌发和生长, 其中 MS 培养基对种胚成苗的促进效果优于其它 2 种培养基; 同时他们在研究浙贝母鳞茎切块诱导愈伤组织或小鳞茎时, 发现 MS 培养基诱导效果最好, 其次为 White、N₆ 和 Ls 培养基^[15]。徐德然等^[16]对暗紫贝母鳞茎在 4 种不同培养基上的生长率和产量的研究结果也证实以 MS 培养基为最佳, 在 MS 培养基上的生长量分别为 B₅、SH、67-V 培养基的 1.52、1.57 和 1.67 倍。

1.2 碳源的种类和浓度

植物生长的碳源主要来自于糖类, 糖的浓度和种类都会影响到植物的生长发育及次生代谢物的形成, 因此在植物的组织培养中选择合适的糖类作为碳源至关重要。在贝母的组织培养中, 多采用蔗糖作为碳源, 蔡朝晖等^[17]研究了蔗糖浓度对暗紫贝母组培生长的影响, 结果表明, 培养基中蔗糖浓度为 3%~5% 时, 鳞茎生长率和生物碱含量较高, 尤其是在 5% 浓度时生长率和生物碱含量最高, 过高或过低的蔗糖浓度都会大大影响生物碱的合成。李云等^[18]研究证实平贝母鳞茎生物碱积累的最适蔗糖浓度为 5%。分析原因, 这可能与贝母鳞茎中有机成分主要是淀粉, 而淀粉的合成需要糖的参与有关。为降低贝母组培成本, 徐德然等^[16]尝试

收稿日期: 2006-09-08

基金项目: 安徽省“十五”二期重点项目(04013023); 淮北煤炭师范学院 2006 年大学生科技创新项目(0688)

作者简介: 耿茂林(1983-), 男, 安徽六安人; 通讯作者: 薛建平(1966-), 男, 河南温县人, 博士, 教授, 研究方向为植物生物技术。

了用食用白糖代替蔗糖作为碳源,结果表明用食用白糖替代蔗糖后,虽然生长率下降 6%,但生物碱含量却增加了 28%。

1.3 培养温度与光照

在植物的生长过程中,温度和光照是两个非常重要的环境因子,不仅影响细胞增殖和器官分化,而且对次生代谢物的合成也有很大影响。贝母组织培养光照强度 1 000 ~ 3 000 Lx,时间以 12 h 为宜,日光灯和白炽灯均可,室内散光效果也较好。苏新等^[15]在浙贝母组培研究中指出,浙贝母在培养前期光照培养与黑暗培养无明显差异,只是暗培养产生的愈伤组织稍多,而光照培养产生的小鳞茎稍多;在培养分化后期,光的作用非常明显,需要 1 000 ~ 1 500 Lx 的光强,如果光照不足则产生白化苗。

培养温度一般以(20 ± 1) °C 为宜。贝母组织培养的温度在 10 ~ 25 °C 均能诱导出愈伤组织及小鳞茎,但以(20 ± 1) °C 为最适温度,诱导率高达 78.6%;在 20 °C 以下平均生长率稍高于 25 °C 时的生长率,而 15 °C 和 20 °C 的试管小鳞茎中生物碱含量明显高于 25 °C 的生物碱含量^[17]。李强等^[19]报道,组培川贝母的胚状体经低温处理不同的时间,随后转入无激素的 MS 培养基中培养,结果低温处理 40 d 的胚状体成苗率最高。高燕等^[20]研究指出,在对贝母鳞茎外植体适当的低温暗处理后,再转入光下培养,可明显减轻外植体的褐化。这与贝母喜低温阴湿的特性,以及鳞茎在地下不需要光照的特性相一致。

1.4 培养方法

贝母鳞茎培养大多采用固体培养,根据蔡朝晖等^[21]的研究,暗紫贝母鳞茎液体培养的生长率比固体培养的高 31%,生物碱的产量也高出 30%。平贝母的愈伤组织、湖北贝母的一个鳞茎切片在固体培养基上可产生 3 ~ 5 个鳞茎,最多 7 ~ 8 个鳞茎,而在液体培养基上则可产生十几个鳞茎,这可能与在液体培养基上振荡培养,营养元素能够被充分吸收有关。李云等^[18]的研究也表明,液体培养 30 ~ 40 d 时,平贝母鳞茎增殖最快,而在固体培养中,鳞茎增殖高峰期培养 50 ~ 60 d 时,比液体培养推迟 20 d。不过实验也证实,液体培养虽然促进了贝母鳞茎的分化,但固体培养基更利于鳞茎干物质积累,因此,对于生产生物碱来说,固体培养优于液体培养。

1.5 植物生长物质的种类和浓度

植物生长物质是植物生命活动中不可缺少的活性物质,能够有效地促进细胞分裂、诱导器官形成和促进次生代谢产物的生物合成。在植物组织培养中应用最为广泛的生长物质有萘乙酸(NAA)、吲哚乙酸(IAA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、激动素(KT)、6-苄基氨基嘌呤(6-BA)、赤霉素(GA)和噻二唑苯基脲(TDZ)等。苏新等^[15]的研究发现,浙贝母鳞茎切块在不加任何植物生长物质的 MS 培养基上,鳞茎切块不能形成愈伤组织和小鳞茎,培养基中只加入 2,4-D、KT 或 NAA 中的一种时,虽能诱导出愈伤组织及小鳞茎,但诱导效果不佳;这说明在贝母的组培中,只加入生长素或激动素是不够的,只有当生长素与激动素配合使用才能有效地提高贝母鳞茎的诱导率。周光来^[22]通过不同浓度的生长素与不同浓度的细胞分裂素配比研究了湖北贝母愈伤组织的诱导,发现以 6-BA 1.0 mg/L + NAA 2.0 mg/L 的诱导效果为最好。高燕等^[20]研究发现,诱导贝母愈伤组织的最佳培养基 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L,诱导不定芽的最佳培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + 2,4-D 0.1 mg/L,平均每个外植体均产生 2 ~ 3 个不定芽,且粗壮、移栽成活率高。刘帆等^[23]的研究也证实,6-BA 和 NAA 配合使用有利于小鳞茎的诱导与增殖,以培养基 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的诱导和增殖效果较好,小鳞茎的生长状况表现为:出芽快,分化多,健壮。樊军等^[24]在研究 GA 对伊贝母休眠外植体诱导愈伤组织的作用时发现,单独使用 GA 处理休眠芽不能形成愈伤组织,与 2,4-D、KT 配合使用,对于诱导休眠外植体形成愈伤组织以及促进生长有良好的效果。刘亚菊等^[25]研究了 TDZ 在平贝母组织培养中的作用,结果表明 TDZ 在浓度很低(0.005 mg/L)时便具有很强的细胞分裂素活性,可刺激平贝母外植体脱分化和再分化,抑制生根;随后他们又研究了 TDZ 在平贝母脱分化过程中引起的生理生化变化,发现平贝母鳞茎切块在含有 TDZ 的培养基上脱分化过程中,表现出比 KT 更强的细胞分裂素活性^[26]。李云等^[18]研究发现,病毒唑能明显提高鳞茎的增殖倍数,添加 5 mg/L 病毒唑的增殖倍数最高。

1.6 外植体与取材时间

植物组织培养由于材料来源不同,取材部位以及取材时间不同,培养结果也不一样。从现有资料看,贝母组织培养中,使用最多的外植体是鳞茎,也有以根、叶片以及种胚等为材料的。蔡朝晖等研究发现,采集鳞茎的时间与小鳞茎再生频率及数量有密切关系,生根期采集的鳞茎再生率为 7.8%,出苗盛期为 48.3%,开花盛期为 15.9%,果熟期为 0.1%;苗期鳞茎培养两个月后再生的小鳞茎为原接种数的 12.3 倍,而生根期和花期鳞茎再生的小鳞茎分别为原接种数的 6.8 倍和 5.3 倍^[27];以种胚为外植体时,培养基中要加 GA 解除

休眠才能形成愈伤组织^[19]。苏新等^[15]的研究表明,浙贝母苗期不同部位的诱导效果也存在较大的差异,其中用鳞茎作为外植体时小鳞茎的诱导率高达75.5%,茎段作为外植体时小鳞茎的诱导率为31.4%,叶片与根的诱导率最差。赵玉宏^[28]发现,湖北贝母鳞茎的诱导率较高,达77%,茎的诱导率为35%,而叶片与根的诱导效果较差,差异比较明显;采集外植体的生长年龄与再生愈伤组织或鳞茎的数量有密切的关系,出苗期诱导愈伤组织的效果最好,诱导率为74.1%,而开花期诱导愈伤组织的效果相对较差,诱导率为45.8%,因此,湖北贝母组织培养应在植株营养生长期取材。

2 小鳞茎再生途径

20世纪90年代以来,关于贝母组织培养的研究主要以直接获取药用鳞茎为目的。众多研究结果显示,贝母外植体再生小鳞茎有三条途径:一是外植体先形成愈伤组织,再由愈伤组织分化发育形成不定芽,如陈敏等^[29]将川贝母的鳞茎、花茎、叶片及种子接种到MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 4 mg/L培养基中,一个月左右形成愈伤组织,将愈伤组织转入MS+6-BA 4 mg/L+NAA 4 mg/L的培养基上培养,约一个月诱导出小鳞茎;二是由外植体表面直接长出小鳞茎或小芽,如暗紫贝母,以NAA 1.5 mg/L+KT0.105 mg/L组合诱导产生小鳞茎效果较好^[21];三是愈伤组织表层和内层一些特化了的胚性细胞经多次分裂发育形成胚状体,进而再由胚状体形成小鳞茎,如中华贝母等^[30]。目前,第一和第二两条途径较为普遍,尤其是第二条途径,在短时间内可以得到大量鳞茎;若以再生植株为目的,第三条途径较为适合。

3 贝母组织培养与种质超低温保存

超低温保存不仅能长期保存无性优良品系和纯系,还可解决组织和细胞继代培养中的变异,保存稀有珍贵和濒危的种质资源。据报道,目前已有近40多种植物进行了超低温保存,包括愈伤组织、悬浮细胞、原生质体、茎尖分生组织等^[31]。但到目前为止,对贝母进行超低温保存的研究还很少,仅有苏新等对浙贝母愈伤组织^[32]及花粉^[33]的超低温保存的报道。苏新等的研究结果表明,培养30~35 d的愈伤组织适于低温保存,较好的冷冻剂是10%二甲基亚砷+5%甘油,较佳的冷冻程序是以每分钟1~5℃的降温速度从0℃降至-8℃,停留1 h,再降至-40℃停留2 h,然后投入液氮中贮存;解冻方法以采用40℃水浴迅速化冻效果较好,解冻后的愈伤组织在暗培养中生长良好,存活率高,经过解冻后的浙贝母愈伤组织可以成功地增殖及再生植株。

4 组培试管小鳞茎的生物碱积累和药理作用

贝母的有效药用成分主要为甾体类生物碱,一些学者尝试利用组织培养技术诱导形成试管小鳞茎,再以小鳞茎提取生物碱,发现组培鳞茎与原种鳞茎有相似的生物碱和皂甙组成,且一般总生物碱含量比原种鳞茎高。李玉峰等^[34]对浓蜜贝母愈伤组织在不同时期生物碱的积累研究结果表明,愈伤组织形成后20 d左右的生物碱含量高,且愈伤组织生物碱含量比原种鳞茎高,最高可达1.8倍。贾延耀等^[35]对伊贝母次生代谢产物的积累研究之后发现,组织培养中含有与栽培贝母中同样的主要成分西贝素,继代培养8代的不定芽和小鳞茎中贝母碱的含量分别高于栽培5年的贝母鳞茎的含量。

高山林等^[36]采用氨水引咳法对组培暗紫贝母鳞茎的祛痰作用进行了研究,发现组培贝母和原种贝母鳞茎均具有明显的祛痰和镇咳作用。因此认为组培贝母鳞茎能够替代原种贝母鳞茎。

5 贝母多倍体诱导

多倍体育种日益受到重视,在农作物中已取得可喜成果,药用植物多倍体诱导也有报道,经染色体加倍后,生物产量和有效成分含量明显增加,有的甚至成倍增加^[37]。自王志安等^[38]初次对诱导浙贝母多倍体研究以来,至今仅有王强等^[39]利用秋水仙素诱导川贝母愈伤组织多倍体研究的报道。王志安等^[38]的研究结果表明,用0.2%的秋水仙素处理湿种子和干种子的成功率最高,多倍体诱导率分别为33.52%和10.17%,变异体具有典型的多倍体特性,植株生长旺盛,叶片明显增厚,叶色深绿,叶片表皮气孔增大。细胞学观察结果表明,变异株的染色体数已加倍成 $4x=48$ 。王强等^[39]对川贝母愈伤组织多倍体诱导的研究表明,将川贝母愈伤组织在培养基中添加1000 mg/L秋水仙素处理5 d,多倍体诱导效率最高可达70%。关于多倍体的有效成分的含量是否变化,至今还未见报道。

6 今后亟待解决的问题

自1977年首次以浙贝母为材料进行组织培养以来,国内外学者在贝母组培快繁方面已做了大量的研究工作,但市场上贝母商品药材仍然短缺.究其原因,在贝母试管苗应用于大田生产时,需要严格的驯化条件和管理操作,且驯化过程中,试管苗在离体条件下形成的根系往往不能发挥作用而需要重新生根,造成移栽成活率低,实际生产中难以应用.近年来,随着植物生物技术的发展,人们先后在试管中诱导出了马铃薯^[40]、半夏^[41]、地黄^[42]、芋^[43]等营养繁殖器官,试图尝试来代替试管脱毒苗,其中试管马铃薯和试管半夏的培养技术日趋成熟,完全可以替代试管苗作为商品供应.关于贝母试管鳞茎的诱导前人进行了较深入的研究,可望成为贝母试管苗和大田生产的对接技术.至今,贝母试管鳞茎的形成机理尚不清楚,导致生产效率不高,因此,关于贝母试管鳞茎的形成机理和高频诱导技术仍需进行深入细致的研究工作.另外,贝母试管鳞茎在有菌条件下萌发率不高,直接影响到大田的推广和生产应用,今后在贝母试管鳞茎的人工包衣、大田驯化及贮藏技术等方面也应进行重点攻关研究,探清不同的包衣种皮基质对贝母试管鳞茎大田萌发和成苗的影响,必将对贝母试管鳞茎的工厂化生产和大田应用起到积极的作用.

贝母是一种中药材,其有效成分虽主要是甙体类生物碱,但其疗效可能是鳞茎中各种化学成分共同作用的结果,所以组培贝母鳞茎是否能够完全替代野生贝母鳞茎,也需要进一步研究.

现在保留了许多优良的贝母栽培品种,这是在长期栽培生产中人为选择和选育的结果,但在人工育种和保种中,人们仅注意到高产这一遗传性状,而其他遗传性状在特殊的环境下可发挥独到的作用(如抗病)^[44].因而,从种质资源保存的角度来看,任何一种稳定的遗传性状都有必要保存,目的是为了今后的选种育种^[45].种质资源的保存分为原位保存和异位保存,对于营养繁殖的贝母来讲,异位保存又分为田间保存和离体保存.由于田间保存不仅需要大量的人力、物力和财力,而且不可避免地受到各种自然灾害(如干旱、洪涝、病虫害等)和人为失误(疏于管理、挂错标签、忘记收获等)的影响,最终可能造成珍贵品种资源的遗失或混杂.贝母种质资源的离体保存目前仅有贝母愈伤组织超低温保存的报告,但是大量实验表明,愈伤组织在再生植株时往往存在着变异,不利于遗传稳定性的保持^[46-49].而植物变态器官的离体保存则兼收了材料和方法上的优势,变态器官即有较强的抗逆性,又可以直接形成完整的小植株,减少了材料的遗传变异^[50].因而,建立适于贝母试管鳞茎的离体保存体系对贝母种质资源的保存具有重要的现实意义.

综上所述,深入研究贝母试管鳞茎的形成机理、人工包衣和大田驯化栽培技术,建立贝母试管鳞茎的保存体系,进一步探讨贝母多倍体和试管鳞茎的有效成分,是今后研究工作的重点.

参考文献:

- [1] 朱四易. 中国贝母属植物研究[M]. 西安: 西北大学出版社, 1995.
- [2] 杨永康, 吴家坤. 国产贝母属的新分类群[J]. 西北植物学报, 1985, 15(1): 19-47.
- [3] 蔡佩欣, 胡学善, 黄文秀, 等. DNA芯片技术用于贝母的基因分型和种类鉴别[J]. 药学学报, 2003, 38(3): 185-190.
- [4] 朱丹妮, 高山林, 蔡朝晖. 暗紫贝母鳞茎器官营养生长特征和生物碱积累研究[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(3): 144-147.
- [5] 苏新, 赵岚. 浙贝母鳞茎的定向组培(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1990, 26(5): 19-21.
- [6] 周宝钧. 平贝母鳞茎组织培养的研究[J]. 植物生理学通讯, 1983, 19(1): 30.
- [7] 李隆云, 周裕书, 付善会, 等. 康定贝母离体繁殖研究[J]. 中药材, 1994, 17(12): 5-7.
- [8] 沈淑瑜, 程莉莉. 皖贝母的组织培养简报[J]. 植物生理学通讯, 1986, 23(1): 32.
- [9] 袁维纲, 刘素珍, 杨观梅, 等. 太白贝母鳞茎切片的组织培养[J]. 中草药, 1982, 13(9): 40-42.
- [10] 乔蕙琳, 麻秀芳, 李灵玉. 川贝母鳞茎室内生产研究初探[J]. 中药通报, 1986, 11(3): 10-11.
- [11] 郝玉蓉, 李明世, 吴跃武. 伊贝母愈伤组织诱导和植株再生的研究[J]. 西北植物学报, 1982, 2(1): 38-43.
- [12] 郝玉蓉, 李明世, 齐远兰. 伊贝母细胞无性系的建立及胚状体发生[J]. 西北植物学报, 1989, 9(4): 233-238.
- [13] 王仑山, 杨汉民, 王亚馥, 等. 伊贝母组织培养中体细胞胚的形成及细胞组织学研究. 植物细胞工程应用基础研究进展[M]. 北京: 学术期刊出版社, 1988.
- [14] 苏新. 浙贝母种胚的离体培养[J]. 中药材, 1995, 18(2): 62-67.
- [15] 苏新, 江建铭. 浙贝母组织培养中一些因素的研究[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(11): 655-657.
- [16] 徐德然, 高山林, 蔡朝晖, 等. 暗紫贝母鳞茎培养中培养基的选择和简化试验[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(5): 304-306.
- [17] 蔡朝晖, 朱丹妮, 陶金来, 等. 培养基中蔗糖浓度及添加氨基酸对组培暗紫贝母生长的影响[J]. 中国药科大学学报, 1996, 27(1): 1-3.
- [18] 李云, 梁庆丰, 曹改义, 等. 离体培养条件对平贝母生物碱含量的影响[J]. 核农学报, 2005, 19(3): 175-180.

- [19] 李强,凌丽俐. 低温诱导对组培川贝母胚状体成苗的影响[J]. 四川大学学报:自然科学版, 2003, 40(2): 367-370.
- [20] 高燕,贺宾,范弢,等. 贝母愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 新疆农业科学, 2005, 42(1): 35-37.
- [21] 蔡朝晖,高山林,徐德然,等. 不同培养条件及方法对组培暗紫贝母生长的影响[J]. 中国药科大学学报, 1992, 23(6): 367-369.
- [22] 周光来. 湖北贝母愈伤组织诱导条件的研究[J]. 湖北民族学院学报:自然科学版, 2004, 22(4): 39-41.
- [23] 刘帆,倪苏,李方安. 提高卷叶贝母组织培养的植株再生率的研究[J]. 植物生理学通讯, 2006, 4(1): 169-170.
- [24] 樊军,朱四易,李宝璋. GA对伊贝母休眠外植体诱导愈伤组织的作用[J]. 中药材, 1992, 15(4): 6-7.
- [25] 刘亚菊,殷红,朱四易. 噻二唑苯基脲在平贝母组织培养中的作用[J]. 西北大学学报:自然科学版, 2000, 30(2): 139-142.
- [26] 刘亚菊,殷红,朱四易. 噻二唑苯基脲在平贝母脱分化过程中引起的生理生化变化[J]. 西北植物学报, 2003, 23(3): 433-437.
- [27] 蔡朝晖,李萍,高山林. 中药贝母的组织培养研究概况[J]. 中草药, 1998, 29(4): 274-277.
- [28] 赵玉宏. 湖北贝母组织培养中外植体选择的研究[J]. 湖北民族学院学报:自然科学版, 2004, 22(4): 37-38.
- [29] 陈敏,陈和蓉,钟凤林,等. 川贝母组织培养的研究[J]. 中国中药杂志, 1995, 20(8): 461-462.
- [30] 张浩,陈泽彬,杨亮先. 中华贝母幼茎培养及器官与体细胞胚的发生[J]. 华西医科大学学报, 1995, 26(1): 33-37.
- [31] 薛建平,张爱民,柳俊,等. 玻璃化法超低温保存地黄茎尖[J]. 农业生物技术学报, 2003, 11(4): 430-431.
- [32] 苏新,方坚. 浙贝母愈伤组织超低温保存的研究[J]. 中药材, 1990, 13(12): 3-5.
- [33] 苏新. 浙贝母花粉超低温保存方法的研究[J]. 中国中药杂志, 1991, 16(7): 399-402.
- [34] 李玉峰,颜钊,唐琳,等. 浓蜜贝母的组织培养条件及不同时期生物碱积累的研究[J]. 中草药, 2002, 33(5): 458-459.
- [35] 贾廷耀,丁蕙宾,王仑山. 伊贝母组织培养中次生代谢物的研究[J]. 西北植物学报, 1999, 19(1): 127-131.
- [36] 高山林,夏艳,谭丰苹. 组织培养暗紫贝母的药理作用[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(1): 4-8.
- [37] 张爱民,常莉,薛建平,等. 药用植物多倍体诱导研究进展[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(9): 645-649.
- [38] 王志安,许复华. 诱导浙贝母多倍体的研究初报[J]. 浙江农业大学学报, 1991, 17(1): 89-92.
- [39] 王强,兰利琼,傅华龙. 秋水仙素诱导川贝母愈伤组织多倍体的研究[J]. 武汉植物学研究, 2002, 20(6): 449-452.
- [40] 柳俊,谢从华. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 531-539.
- [41] 张爱民,杨生玉,薛建平,等. 多种因素对半夏外植体直接诱导形成试管小块茎的影响[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(8): 576-579.
- [42] 薛建平,石乐义,张爱民. 试管地黄诱导技术的研究[J]. 中国中药杂志, 2002, 27(11): 824-827.
- [43] 刘玉平,柯卫东,黄新芳,等. 试管芋诱导的研究[J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 43-46.
- [44] 马小军,肖培根. 种质资源遗传多样性在药用植物开发中的重要意义[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(10): 579-581, 600.
- [45] 肖培根,王永炎. 中药资源与科学发展观[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(5): 385-386.
- [46] 王仑山,王亚馥,杨汉民. 不同激素对伊贝母组织培养中染色体不稳定性的影响. 植物细胞工程应用基础研究进展[M]. 北京:学术期刊出版社, 1988.
- [47] 王仑山,丁蕙宾,王亚馥,等. 伊贝母愈伤组织在继代培养过程中的染色体变异. 植物细胞工程应用基础研究进展[M]. 北京:学术期刊出版社, 1988.
- [48] 徐刚标,易文,李美娥,等. 银杏愈伤组织超低温保存的研究[J]. 林业科学, 2001, 37(3): 30-34.
- [49] MOUKADIRI O, DEMING J, O'CONNOR J E, et al. Phenotypic characterization of the progenies of rice plants derived from cryopreserved calli[J]. Plant Cell Rep, 1999, 18: 625-632.
- [50] 徐培文,曲士松,刘恒英,等. 中国大蒜种质资源离体保存初步研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(3): 314-319.

Progress on Research of Tissue Culture of *Fritillaria*

GENG Mao-lin, MA Lin, CHANG Li, XUE Jian-ping

(Department of Biology, Huaibei Coal Industry Teachers College, 235000, Huaibei, Anhui, China)

Abstract: The paper is a review of the achievement in the plant tissue culture of *Fritillaria*. documentaries at home and abroad were consulted. The results of the studies on *Fritillaria*. Tissue culture were summarized including cultural conditions, bulb reproduction, germ plasm conservation at low temperature, alkaloid accumulation, polyploid inducement, and the problems of tissue culture of *Fritillaria* were also pointed out.

Key words: *Fritillaria* L.; plant tissue culture; research progress