

0.236%, 但未见后续报道。本实验体系中喜树碱量仍低于野生植株, 因此有必要从改进培养方式和代谢调控等诸多方面对喜树细胞悬浮培养体系进行深入研究以期提高其喜树碱量, 为喜树细胞体外培养生产的工业化提供技术支持。

#### References:

- [1] Wall M E, Wani M C, Cooke C E, et al. Plant antitumor agents, the isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukaemia and tumor inhibitor from *Camptotheca acuminata* [J]. *J Am Chem Soc*, 1966, 88: 3888-3890.
- [2] Hisang Y H, Herizberg R. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260: 14873-14878.
- [3] Hsiang Y H, Hertzberg R, Hecht S, et al. Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I [J]. *J Biol Chem*, 1985, 260: 14873-14878.
- [4] Sudol H, Yamakawa T, Yamazaki M, et al. Bioreactor production of camptothecin by hairy root cultures of *Ophiorrhiza pumila* [J]. *Biotech Lett*, 2002, 24: 359-363.
- [5] Van-Hengel A J, Harkes M P, Wichers H J, et al. Characterization of callus formation and camptothecin production by cell lines of *Camptotheca acuminata* [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1992, 28: 11-18.
- [6] Wiedenfeld H, Furmanowa M, Roeder E, et al. Camp-

tothecin and 10-hydroxycamptothecin in callus and plantlets of *Camptotheca acuminata* [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1997, 49: 213-218.

- [7] Zhang D Y, Zhao X Q, Yu F, et al. Callus induction of *Camptotheca acuminata* and camptothecin production [J]. *J North East Normal Univ: Nat Sci Edit* (东北师大学报:自然科学版), 2002, 34(1): 45-48.
- [8] Zhao D, Huang Y, Jin Z, Qu W, et al. Effect of aggregate size in cell cultures of *Saussurea medusa* on cell growth and jaceosidin production [J]. *Plant Cell Rep*, 2003, 21: 1129-1133.
- [9] López-Meyer M, Nesler C L, McKnight T D. Sites of accumulation of the antitumor alkaloid camptothecin in *Camptotheca acuminata* [J]. *Planta Med*, 1994, 60: 558-560.
- [10] Sun J S, Gui Y L. *Experimental Techniques in Plant Cell Biotechnology* (植物细胞工程实验技术) [M]. Beijing: Science Press, 1992.
- [11] Zhong C J, Li W D, Ge H B. Establishment and some influence factors of suspension cells in strawberry [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 2002, 38(1): 22-24.
- [12] Wu S X, Zu Y G, Wu M. High yield production of salidroside in the suspension culture of *Rhodiola sachalinensis* [J]. *J Biotech*, 2003, 106: 33-43.
- [13] Zhang C R, Li L. Production of puerarin and other isoflavones in cell suspension cultures in leaves of *Pueraria lobata* seedling [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(7): 653-657.

## 罗汉果脱毒苗的快速繁殖研究

付长亮<sup>1</sup>, 马小军<sup>1\*</sup>, 白隆华<sup>2</sup>, 缪剑华<sup>2</sup>, 宋经元<sup>1</sup>

(1. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094; 2. 中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所广西分所 广西药用植物园, 广西南宁 530023)

**摘要:**目的 筛选适宜的罗汉果脱毒苗茎段增殖培养基, 研究培养温度与光照对茎段增殖培养的影响。方法 采用正交试验设计和完全随机实验设计筛选罗汉果脱毒苗茎段增殖培养基。正交  $L_9(3^4)$  实验以在 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 上培养 30 d 的罗汉果脱毒苗单芽姊妹系的单节茎段为外植体, 以培养基中 BA, NAA, IBA 及蔗糖为试验因子, 各因子设 3 个水平, 以在不同处理得到的增殖系数为测定指标; 在此基础上进一步研究了培养基中 BA 和蔗糖质量浓度对增殖效果的影响; 采用完全随机实验设计研究温度, 光照对茎段增殖培养生成试管苗的影响。结果 通过对正交实验结果的极差分析及方差分析表明, 在 4 个因子中, 对罗汉果茎段增殖系数影响最大的是 BA, 其次是蔗糖的 NAA, IBA 的影响最小; BA, NAA, IBA 及蔗糖对增殖系数的影响都达到极显著。根据新复极差检验的结果, 当前研究得到的罗汉果离体茎段的最佳增殖培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖 40 g/L, 罗汉果茎段在此培养基上培养 30 d 后增殖系数为 13.13; 不同浓度 BA 与蔗糖对茎段培养的研究结果表明, BA 在 1.0 mg/L 增殖系数最大。考虑为保持试管苗的遗传稳定性, BA 为 0.5 mg/L 为宜。增殖培养基中的蔗糖适宜质量浓度为 4.0%; 罗汉果茎段培养适宜条件为培养温度 25 °C, 培养光强 1 000~3 000 lx。结论 增殖培养基的成功筛选及培养温度与光强的选择, 有助于实现罗汉果脱毒苗的工厂化生产。

**关键词:** 罗汉果; 脱毒苗; 茎段培养; 快速繁殖

**中图分类号:** R282.21

**文献标识码:** A

**文章编号:** 0253-2670(2005)08-1225-05

### Rapid propagation of *Momordica grosvenori* virus-free plantlets

FU Chang-liang<sup>1</sup>, MA Xiao-jun<sup>1</sup>, BAI Long-hua<sup>2</sup>, MIAO Jian-hua<sup>2</sup>, SONG Jing-yuan<sup>1</sup>

(1. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College,

Beijing 100094, China; 2. Guangxi Branch, Institute of Medicinal Plant, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medicinal Sciences, Nanning 530023, China)

**Abstract: Objective** To sift the fitting shoot segment multiplying culture media of *Momordica grosvenori* virus-free plantlets and to study the effect of temperature and light on the shoot segment multiplying culture. **Methods** The selection of the fitting shoot segment multiplying culture media was studied by orthogonal test design and completely random experimental design. Single nodes of virus-free plantlets from single-bud sibling-line cultured on MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L for one month were used as explants, multiplying coefficient of different treatment as index of the experiment, and the effects of four factors, namely BA, NAA, IBA, and sucrose were evaluated by  $L_9(3^4)$  orthogonal design. On the basis of the result of orthogonal test the different concentration BA and sucrose affecting on the growth of regenerated plantlets were studied, then the effect of temperature and light on the growth of regenerated plantlets were studied. **Results** The extreme deviation analysis and the variance analysis of the orthogonal test results showed that BA, NAA, IBA, and sucrose were very considerable. BA had the greatest effect, followed by sucrose, NAA, and IBA. The further analysis of SSR test appeared the best medium was the combination of  $A_3B_1C_3D_3$  (MS supplemented with 0.5 mg/L BA, 0.01 mg/L NAA, 0.1 mg/L IBA, 40 g/L sucrose, on which *M. grosvenori* could multiply 13.13 times after 30 d. The results of BA affecting on the growth of regenerated plantlet showed that 1.0 mg/L is the most, followed by 0.5 mg/L. To keep the hereditary stability in regenerated plantlets, the optimized concentration of BA should be 0.5 mg/L. The optimized concentration of sucrose was 4%. The optimized temperature and light are 25 °C, 1 000—3 000 lx. **Conclusion** The selection of shoot segment multiplying culture media, temperature, and light helps to produce large-scale virus-free seedlings of *M. grosvenori*.

**Key words:** *Momordica grosvenori* Swingle; virus-free plantlets; shoot segment culture; rapid propagation

罗汉果 *Momordica grosvenori* Swingle 是我国特有的葫芦科多年生草质藤本植物,以果实入药,具有止咳祛痰,润肠通便等功效。罗汉果是异花授粉植物,在生产中以种植雌株为主。由于种子繁殖后代中雄株比例偏高,因此实际生产中主要采取压蔓等营养繁殖的方式生产种苗,繁殖系数低,且易患病毒病。病毒在植物体内世代累积,导致品种退化,质量下降,产量锐减。离体脱毒培养既能生产大量优质种苗,同时也是解决罗汉果病毒病的根本途径。

前人曾就罗汉果的组织培养进行了多方面的探索<sup>[1~5]</sup>,并进行了茎尖脱毒培养及病毒检测研究<sup>[6,7]</sup>,但对于脱毒苗的快速繁殖未见有系统研究报告。因此,本实验在培养得到罗汉果脱毒苗的基础上,对罗汉果离体茎段增殖培养的影响因素进行了研究,以期从多个因素中找出影响实验结果的各因素的主次顺序,筛选适宜的罗汉果脱毒苗茎段增殖培养基,并在此基础上,进行了不同培养温度,不同培养光强的实验。以期快速生产高质量的罗汉果试管苗,为实现脱毒苗的工厂化生产奠定基础。

## 1 材料与方 法

1.1 实验材料:研究所用材料采自罗汉果主产区广西永福县龙江乡,经马小军研究员鉴定。罗汉果脱毒培养参照相关文献<sup>[6,7]</sup>,经病毒检测筛选得到脱毒苗。

1.2 单芽姊妹系的建立;参照 Hao<sup>[8]</sup>等建立单芽姊妹系的方法,选取生长健壮的罗汉果脱毒苗的单节茎段培养在 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基上,对得到试管苗进行 2 次茎段增殖培养,最终所得试管苗为罗汉果脱毒苗单芽姊妹系。

### 1.3 增殖培养基的筛选

1.3.1 正交实验:选用  $L_9(3^4)$  正交设计(表 1),以 BA(A)、NAA(B)、IBA(C)与蔗糖(D)为试验因子,各因子设 3 个浓度,以培养 30 d 后的增殖系数为考察指标。截取在 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养 30 d 的罗汉果单芽姊妹系的单节茎段,接种至含 30 mL 增殖培养基的 100 mL 锥形瓶中。

1.3.2 BA 及蔗糖质量浓度对茎段培养的影响:在正交实验得到的最佳培养基础上对培养基的 BA 和蔗糖对茎段培养生成试管苗生长的影响进行了进一步分析。

表 1 罗汉果茎段增殖正交试验  $L_9(3^4)$  设计

Table 1 Design of  $L_9(3^4)$  orthogonal test of shoot segment multiplication of *M. grosvenori*

水平	因素/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )			
	A	B	C	D
1	0.1	0.01	0.01	20
2	0.3	0.05	0.05	30
3	0.5	0.10	0.10	40

1.4 培养温度和光强对再生试管苗的影响:在获得适宜的茎段增殖培养基基础上,进行了不同培养温度实验,设 4 个温度处理,分别是 15、20、25、30  $^{\circ}\text{C}$ ;根据不同温度实验结果选择适宜培养温度,进行不同培养光强实验,设 4 个处理,分别是 500、1 000、2 000、3 000 lx。

1.5 培养基及培养条件:本实验以 MS 为基本培养基,附加不同浓度的蔗糖和激素(BA、NAA、IBA)及 8 g/L 琼脂,pH 在加入琼脂及灭菌前调节至 5.9,121  $^{\circ}\text{C}$  灭菌 18 min。除特别注明外,培养温度为 (25 $\pm$ 2)  $^{\circ}\text{C}$ ,光强为 1 500 lx,12 h/d 光照。

1.6 数据分析:上述实验各处理接种 25 个茎段,重复 3 次;在培养 30 d 后记录外植体的增殖系数(以一个单节茎段(茎尖)为一个增殖单位)以及生成试管苗的生长情况;使用 SPSS 11.0 软件对所得数据进行处理:对正交实验结果进行极差分析,多因素方差分析及多重比较(新复极差检验);对其它实验结果的增殖系数进行单因素方差分析及多重比较(新复极差检验)。

2 实验结果

2.1 增殖培养基的筛选

2.1.1 不同因子对增殖系数影响的分析:增殖培养的正交实验结果如表 2 所示。极差分析结果为  $R_{\text{BA}} = 3.767$ ;  $R_{\text{NAA}} = 2.554$ ;  $R_{\text{IBA}} = 0.717$ ;  $R_{\text{蔗糖}} = 3.612$ ,对罗汉果茎段增殖率影响最大的因素是 BA,其次是蔗糖和 NAA,IBA 的影响最小。

2.1.2 最佳激素组合的选择:为分析各因素水平间差异及选出最优组合,进行了方差分析(表 3)及新复极差检验(表 4、5)。方差分析结果表明,BA、NAA、IBA 及蔗糖对罗汉果茎段培养增殖系数的影

响达到极显著( $P < 0.01$ )。新复极差检验的结果表明,BA 的水平 3 极显著优于水平 1、2;NAA 的水平 1 极显著优于水平 2、3;IBA 的水平 3 极显著优于水平 1、2;蔗糖的水平 3 极显著优于水平 1、2。基于上述分析,当前研究得到的罗汉果茎段快速繁殖的最优组合为  $A_3B_1C_3D_3$ (不在实验出现的处理中),即  $\text{MS} + \text{BA} 0.5 \text{ mg/L} + \text{NAA} 0.01 \text{ mg/L} + \text{IBA} 0.1 \text{ mg/L} + \text{蔗糖} 40 \text{ g/L}$ 。

表 2 罗汉果茎段增殖的正交试验  $L_9(3^4)$  结果

Table 2 Result of shoot segment multiplication of *M. grosvenori* in  $L_9(3^4)$  orthogonal test

试验处理	因素/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )				增殖系数*		
	A	B	C	D	I	II	III
1	0.1	0.01	0.01	20	3.64	3.96	3.93
2	0.1	0.05	0.05	30	5.24	5.68	5.42
3	0.1	0.10	0.10	40	5.66	5.42	5.48
4	0.3	0.01	0.05	40	10.12	10.00	10.14
5	0.3	0.05	0.10	20	6.12	5.92	5.81
6	0.3	0.10	0.01	30	7.08	7.00	6.80
7	0.5	0.01	0.10	30	10.64	10.38	10.64
8	0.5	0.05	0.01	40	10.44	10.68	10.68
9	0.5	0.10	0.05	20	5.00	5.12	4.76

\* 增殖系数 = 增殖节数/接种茎段

\* Multiplying coefficient = total number of multiplying minicuttings/total number of inoculation mini-cuttings

表 3 不同因素对罗汉果增殖研究的方差分析

Table 3 Variance analysis of different factors in multiplication of *M. grosvenori*

试验因素	平方和	自由度	平均平方和	F 值
BA	68.167	2	34.083	1 379.688*
NAA	18.497	2	9.248	374.376*
IBA	1.184	2	0.592	23.973*
蔗糖	40.868	2	20.434	827.172*
Error	0.445	18	2.470 E-02	

\*  $F_{0.01}(2,18) = 6.01$  \*  $P < 0.01$

2.1.3 最佳组合增殖效果的验证:以筛选出的最佳组合配制培养基,对同上述实验所用相同培养条件的材料进行增殖培养,共接种 15 瓶,每瓶接 5 株。30 d 后观察,生成苗植株健壮,统计其增殖系数为 13.13。这一结果表明利用正交设计筛选罗汉果增殖培养基的工作是成功的。

表 4 培养基中 BA 和 NAA 对罗汉果脱毒苗增殖系数影响的新复极差检验

Table 4 Effect of different concentration of BA and NAA on multiplying coefficient by SSR test

水平	BA/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	增殖系数	差异显著性		水平	NAA/( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )	增殖系数	差异显著性	
			$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$				$\alpha = 0.05$	$\alpha = 0.01$
3	0.5	8.704	a	A	1	0.01	8.161	a	A
2	0.3	7.666	b	B	2	0.05	7.539	b	B
1	0.1	4.937	c	C	3	0.10	5.607	c	C

表 5 培养基中 IBA 和蔗糖对罗汉果脱毒苗增殖系数影响的新复极差检验

Table 5 Effect of different concentration of IBA and sucrose on multiplying coefficient by SSR test

水平	IBA/(mg·L <sup>-1</sup> )	增殖系数	差异显著性		水平	蔗糖/(mg·L <sup>-1</sup> )	增殖系数	差异显著性	
			α=0.05	α=0.01				α=0.05	α=0.01
3	0.10	7.548	a	A	3	40	8.736	a	A
2	0.05	6.928	b	B	2	30	7.447	b	B
1	0.01	6.831	b	B	1	20	5.124	c	C

2.2 不同质量浓度 BA 对茎段培养的影响:正交试验结果表明增殖系数随着培养基中 BA 的提高而增加,为此以正交实验得到的最佳增殖培养基为对照,研究了较高质量浓度 BA 对茎段培养生成试管苗生长的影响。不同 BA 对茎段培养生成的试管苗的影响见表 6,结果表明当增殖培养中 BA 达到 1.0 mg/L 时增殖系数达到最大,随着 BA 进一步增加对试管苗的增殖系数和生长都产生了不利影响,特别是 BA 较高时,产生大量的畸形苗,不利于生产,更会影响试管苗的遗传稳定性。基于此考虑,同时因为 BA 为 1.0 mg/L 与 0.5 mg/L 时增殖系数差异不大,罗汉果茎段增殖培养时所用 BA 以 0.5 mg/L 为宜。

表 6 不同 BA 浓度对罗汉果茎段培养生成试管苗生长的影响

Table 6 Effect of different concentration of BA on growth of regenerated plantlets from shoot segment culture of *M. grosvenori*

BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	增殖系数	叶片	植株
0.5	13.17±0.85	绿色	生长较好
1.0	13.95±1.54	翠绿	生长较好,少数矮小,植株生长差异较大
2.0	11.72±0.96	绿色,部分淡黄	多数较矮,部分苗淡黄
3.0	6.35±0.79	淡黄	生长较差,多畸形苗

2.3 不同蔗糖浓度对茎段培养再生试管苗的影响:正交实验结果表明随着培养基中蔗糖质量浓度的提高增殖系数亦增加,为了研究继续提高蔗糖质量浓度能否有利于提高试管苗的增殖系数,在正交实验得到最佳培养基基础上研究了不同蔗糖质量浓度对罗汉果茎段培养的影响。实验结果见表 7,随着蔗糖质量浓度的提高,生成试管苗的增殖系数先增加达到 13.67±0.64,随后较显著降低;当蔗糖较高时,生成较多的畸形苗,试管苗颜色淡黄。当培养两个月时观察,高质量浓度蔗糖处理试管苗死亡率明显高于较低质量浓度处理。综合分析各指标,蔗糖为 4.0% 最适于罗汉果试管苗的增殖繁殖。

2.4 不同培养温度对茎段培养的影响:不同培养温度对罗汉果茎段生成试管苗生长的影响见表 8。温

表 7 不同蔗糖浓度对罗汉果茎段培养生成试管苗生长的影响

Table 7 Effect of different concentration of sucrose on growth of regenerated plantlets from shoot segment culture of *M. grosvenori*

蔗糖/%	增殖系数	叶片	植株
3.0	12.17±0.25	绿色	生长较好,少数矮小
4.0	13.67±0.64	绿色	生长较好
5.0	12.92±0.36	绿色,部分淡黄	多数较矮,部分苗淡黄
6.0	7.76±0.38	淡黄	淡黄,生长一般

表 8 不同培养温度对罗汉果茎段培养生成试管苗生长的影响

Table 8 Effect of different temperature on growth of regenerated plantlets from shoot segment culture of *M. grosvenori*

温度/℃	增殖系数	叶片	植株
15	3.66±0.12	淡黄,较小	矮小,节间距很小
20	6.84±0.37	绿色,较小	较矮,生长一般
25	12.97±0.48	绿色,叶片较小	健壮,长势好
30	10.70±0.99	翠绿,叶片较大	健壮,生长很好

度对茎段培养影响很大,不同温度培养条件下得到的增殖系数差异达到极显著( $P<0.01$ )。较低培养温度下,生成试管苗矮小,节间距很小,不利于下一步继代培养,且生成畸形苗较多;较高温度(30℃)生成试管苗生长较好,特别是叶片较大,但是此温度培养试管苗增殖系数低于 25℃ 培养试管苗增殖系数。综合分析,25℃ 左右是较适宜的培养温度。

2.5 不同光强对茎段培养的影响:不同光强对罗汉果茎段生成试管苗生长的影响见表 9。培养光强较低时,生成试管苗较高,叶片较小,节间距明显大于其他处理( $P<0.05$ ),造成这一现象的原因应是由于培养光强低,造成试管苗的徒长。光强的增加有利于茎段生成试管苗的生长,3 000 lx 培养条件下的试管苗生长最健壮。考虑到 3 000 lx 时试管苗生长为 1 000、2 000 lx 增殖系数差异较小,在实际工作中根据最大限度降低成本以获得最大收益的原则,可依具体培养条件在 1 000~3 000 lx 范围选择适当的光强。

### 3 讨论

3.1 建立罗汉果单芽姊妹系的意义:本研究在获得

表9 不同培养光强对罗汉果茎段培养生成  
试管苗生长的影响

Table 9 Effect of different light intensity on growth  
of regenerated plantlets from shoot segment  
culture of *M. grosvenorii*

光强/lx	增殖系数	叶片	植株
500	10.38±0.49	较小,淡黄	苗较高
1 000	11.58±0.47	黄绿	生长较好
2 000	13.10±0.36	绿色	较好,部分苗淡黄
3 000	12.95±0.39	翠黄	健壮

罗汉果脱毒苗基础上,建立了脱毒苗的单芽姊妹系,以保证实验材料的遗传一致性,减少对实验结果的干扰,并有利于进一步开展试管苗遗传稳定性研究。

3.2 正交试验的优点:本研究表明正交试验是一种理想的优化试验设计方案,采用正交试验,能够以较少的次数,从多个因素中找出影响试验结果的各因素的主次和最优结果。本实验得到的最优结果不在所设计的9种培养基中,进一步证明了采用正交试验,有利于以较少试验次数从较多组合中筛选罗汉果茎段最优增殖培养基。

3.3 适宜浓度的细胞分裂素的选择:带节茎段的离体快繁一般采用两种方法,一种是采用较高浓度的细胞分裂素诱导从生芽,一种是利用低浓度细胞分裂素诱导腋芽生成单苗。前者繁殖系数较高,但高浓度的细胞分裂素导致生成芽易于畸变,发生变异可能性较大,且对芽的生长有一定抑制作用<sup>[9]</sup>,特别是有些培养物生成的丛生芽生长缓慢,需要转移至“芽生长培养基”才能成苗<sup>[10,11]</sup>;后者采用较低浓度的细胞分裂素,试管苗生长较高,更适合工厂化生产。本研究在对这两种方法进行了研究,结果表明较低质量浓度BA对增殖效果有利,培养的试管苗生长也很好,而高质量浓度BA不利于茎段增殖培养,生成畸形苗较多,对生成的试管苗生长不利。因此,为保证遗传稳定性及利于工厂化生产高质量的种苗,罗汉果脱毒苗的快速繁殖应使用较低浓度细胞分裂素。

3.4 蔗糖在离体培养中的作用:过去一般认为,蔗糖在培养基中的作用是提供营养成分及调节渗透压。已有研究证明,培养基中蔗糖质量浓度可调节试管内源激素的水平和比例,从而影响器官的分化和生长<sup>[12]</sup>。Liao等<sup>[13]</sup>在研究中国芦荟的离体增殖培养时发现,蔗糖是BA、NAA及蔗糖3因素中对增殖系数影响最大的因素。笔者的研究结果也证明蔗糖对罗汉果茎段增殖培养具有非常重要的作用,建议

在组织培养研究中应重视蔗糖的作用。

3.5 畸形苗问题:在此提出的畸形苗是指茎段增殖培养生成的植株矮小(培养一个月苗高度小于0.5 cm),茎膨大,节间距极短,不适于继代培养的试管苗(相关研究另文报道)。为保证试管苗的遗传稳定性,以得到优质的罗汉果种苗,在培养中应采取适宜的条件,尽可能降低畸形苗的发生率,同时对生成的畸形苗及时发现、清除。

罗汉果脱毒快繁的系统研究为脱毒苗的快速繁殖,特别是为优良单株的快速繁殖提供了有效的技术手段。其在生产上的应用和推广,以及简化培养基从而降低生产成本,有待于进一步研究。

#### References:

- [1] Lin R, Wang R Z. *In vitro* culture of *Siraitia grosvenorii* [J]. *Guihaia* (广西植物), 1980, 1: 11.
- [2] Lin R, Wang X Q. Tissue culture of leaf of *Siraitia grosvenorii* [J]. *Guihaia* (广西植物), 1981, 1(1): 18-24.
- [3] Gui Y L, Gu S R. Organogenesis of leaf explants of *Momordica grosvenorii* Swingle *in vitro* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1984, 26(2): 120-125.
- [4] Zhou Q L, Lin R. The callus and axillary shoot formation of *Luohanguo in vitro* [J]. *Guihaia* (广西植物), 1989, 9(2): 103-104.
- [5] Su M S, Lin S Q. The tissue culture of *Momordica grosvenorii* Swingle [J]. *South China Fruits* (中国南方果树), 2002, 31(3): 43-44.
- [6] Lin Z L, Lin R. The culture of *Siraitia grosvenorii* Mosaic disease free plant [J]. *J Fujian Agric Univ* (福建农业大学学报), 1995, 24(2): 162-166.
- [7] Hang L, Chen L J. A rapid propagation technique of de-virus shoot tip of *Thlacliantha grosvenorii* (Swingle) C. Jeffrey [J]. *Southwest China J Agric Sci* (西南农业学报), 1999, 12(3): 125-127.
- [8] Hao Y J, Liu Q L, Deng X X. Effect of cryopreservation on apple genetic resources at Morphological, Chromosomal, and molecular level [M]. *Cryobiology*, 2001, 43: 46-53.
- [9] Hu C Y, Wang P J. Meristem, shoot tip and bud culture [A]. In: Evans DA, Sharp WR, Ammirato PV & Yamada Y *Handbook of Plant Cell Culture* [M]. New York: Mac Millan Publisher, 1983.
- [10] Kaur K, Verma B. Plants obtained from the Khair tree (*Acacia catechu* Willd.) using mature dodeca segments [J]. *Plant Cell Rep*, 1998, 17: 427-429.
- [11] Barve D M, Mehta A R. Clonal propagation of mature elite trees of *Commiphora wightii* [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 1993, 35: 237-244.
- [12] Khuri S, Moorby J. Investigation into the role of sucrose in potato cv. Estima microtuber production *in vitro* [J]. *Ann of Bot*, 1995, 75: 295-303.
- [13] Liao Z H, Chen M, Tan F, et al. Micropropagation of endangered Chinese aloe [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 2004, 76: 83-86.