

## 三七体细胞胚发生及植株再生过程中主要皂苷成分的累积

孙凤阳, 胡 盈, 赵 越, 韩东洛, 尹绍鹏, 由香玲\*

东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040

**摘 要:** 目的 分析以栽培三七 *Panax notoginseng* 根为外植体诱导体细胞胚发生及植株再生过程中总皂苷及 3 种人参皂苷 (人参皂苷 R<sub>g1</sub>、Re、R<sub>b1</sub>) 的累积规律。方法 采用分光光度法分析体细胞胚发生发育过程中不同时期的总皂苷累积量; 采用高效液相色谱法测定 3 种人参皂苷 (人参皂苷 R<sub>g1</sub>、Re、R<sub>b1</sub>) 的累积量。结果 体胚苗中的总皂苷质量分数最高, 为 7.79%, 占栽培三七根 (8.61%) 的 90.48%, 质量分数最低的为胚性愈伤组织, 为 2.47%。因材料的比生长速率存在差异, 总皂苷累积效率的顺序为体胚苗 > 前期体胚 > 后期体胚 > 胚性愈伤。对 3 种人参皂苷单体物质的分析显示: 后期体胚中 3 种人参皂苷的总量最大, 为 7.05 mg/g, 胚性愈伤组织的最低, 为 2.78 mg/g; 人参皂苷 R<sub>g1</sub> 在前期体胚时质量分数达到最高, 为 2.24 mg/g; 人参皂苷 R<sub>b1</sub> 在后期体胚中的质量分数达到最高, 为 4.03 mg/g; 人参皂苷 Re 在胚性愈伤组织中的量最高, 为 1.21 mg/g。3 种人参皂苷的总累积效率在前期体胚中达到最大, 为 5.022 5 mg/(g·周), 在体胚苗中最低, 为 1.947 4 mg/(g·周)。结论 总皂苷质量分数及累积效率均在体胚苗中达到最大值; 3 种人参皂苷总量及总累积效率分别在后期体胚和前期体胚中达到最大值。

**关键词:** 三七; 体细胞胚发生; 植株再生; 总皂苷; 人参皂苷

中图分类号: R282.21 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2013)19-2753-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2013.19.023

## Accumulation of main ginsenoside components in somatic embryogenesis and plantlet regeneration of *Panax notoginseng*

SUN Feng-yang, HU Ying, ZHAO Yue, HAN Dong-ming, YIN Shao-peng, YOU Xiang-ling

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

**Abstract: Objective** To investigate the accumulation of total saponins and ginsenosides (R<sub>g1</sub>, Re, and R<sub>b1</sub>) during somatic embryogenesis and plantlet regeneration in *Panax notoginseng*. **Methods** The dynamic accumulation of the total saponins and three components of ginsenosides (R<sub>g1</sub>, Re, and R<sub>b1</sub>) was analyzed by visible spectrophotometry and high-performance liquid chromatography methods, respectively. **Results** The content of total saponins increased from the minimum at embryogenic callus (2.47%) to the maximum at plantlets (7.79%) during somatic embryogenesis development. Because the different specific growth rate of different materials, total saponins accumulation efficiency sort order: plantlets > earlier embryos > later embryos > embryogenic callus. We also found that the total content of the three ginsenosides (R<sub>g1</sub>, Re, and R<sub>b1</sub>) reached the maximum (7.05 mg/g) in the later embryos, and the minimum (2.78 mg/g) was in the embryogenic callus. The contents of ginsenosides R<sub>g1</sub> and R<sub>b1</sub> reached their maximum (2.24 and 4.03 mg/g) respectively in the earlier and later embryos, and the maximum (1.21 mg/g) of ginsenoside Re content was in embryogenic callus. The accumulation (1.947 4 mg/g) of the three ginsenosides minimum occurred in plantlets, and the maximum (5.022 5 mg/g) reached in earlier embryos. **Conclusion** Both total saponin contents and accumulation efficiency reach the maximum in plantlets. Three ginsenoside contents and accumulation reach the maximum in later and earlier embryos, respectively.

**Key words:** *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen; somatic embryogenesis; plantlet regeneration; total saponins; ginsenosides

三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen 是五加科人参属多年生宿根性草本植物, 又称为田七、三七参、金不换等, 是我国传统的名贵药材之一<sup>[1]</sup>,

具有滋补强壮、止血化瘀、消肿镇痛、抗肝炎、降血压、抗衰老、抑癌等作用<sup>[1-5]</sup>, 其主要有效成分为皂苷类物质<sup>[6]</sup>。由于三七对生长条件要求苛刻, 适

收稿日期: 2013-05-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (J1210053); 黑龙江省博士后科研启动基金资助项目 (LBH-Q10184)

作者简介: 孙凤阳 (1989—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向为药用植物细胞工程。Tel: (0451)82191752 E-mail: daisynefu@163.com

\*通信作者 由香玲 Tel: (0451)82191752 E-mail: yxiangling@yahoo.com

宜栽种地域狭小<sup>[7]</sup>, 产量有限; 加之三七生长周期长、病虫害严重、连作障碍等<sup>[8]</sup>原因导致三七资源在市场上供不应求。

解决上述资源问题可以通过无性繁殖获得大量组培苗进行快繁, 也可以通过组培大量生产组培体, 再从中提取有效物质用于需求。利用植物组织培养技术, 对其进行无性快繁的研究已取得了很大成功。刘瑞驹等<sup>[9]</sup>首次利用三七幼苗的茎、叶柄和叶片作为外植体, 成功诱导胚性愈伤组织并分化形成体细胞胚, 进而发育成完整植株。陈伟荣等<sup>[10]</sup>利用幼嫩花序通过体细胞胚发生途径获得了三七再生植株。桂进等<sup>[11]</sup>通过三七体细胞胚成功研制出人工种子, 并获得了正常小苗。而通过大量生产组培体获取有效物质的研究还不多, 仅张以恒等<sup>[12]</sup>用三七悬浮细胞高密度培养生产人参皂苷和多糖。本研究主要利用已建立的三七体细胞胚发生途径再生植株体系<sup>[13]</sup>, 分析其体细胞胚发生及植株再生过程中皂苷累积效率, 选择累积效率较高的体细胞胚发育时期, 为规模化生产三七皂苷确定良好的外植体。

## 1 材料

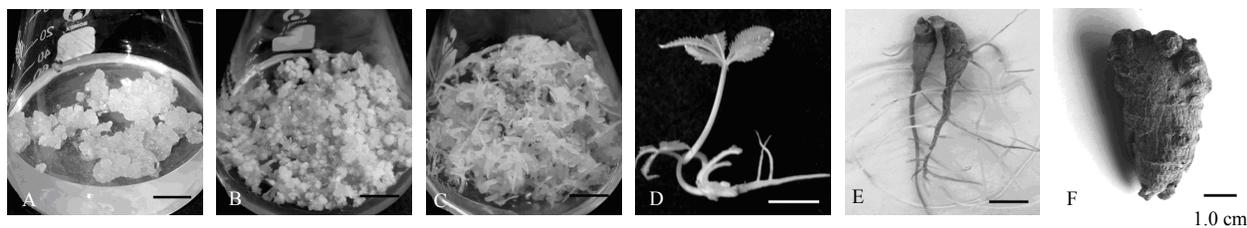
取云南文山生长状态良好的三七根, 由东北林业大学园林学院植物学科王菲副教授鉴定为五加科人参属植物三七 *Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen, 以其作为外植体。人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 对照品 (质量分数 ≥ 98%, 批号 110703-200424)、人参皂苷 Rb<sub>1</sub> (质量分

数 ≥ 98%, 批号 110704-200420)、三七总皂苷对照品 (质量分数 ≥ 95%, 批号 110870-200001) 均购自中国药品生物制品检定研究院; 人参皂苷 Re (质量分数 ≥ 98%) 购自上海顺勃生物工程有限公司。

## 2 方法

### 2.1 诱导体细胞胚发生、发育及植株再生

按照前期研究中建立的三七再生体系<sup>[13]</sup>, 以 75% 乙醇和次氯酸钠消毒处理外植体后, 用手术刀切成长度为 1 cm 左右的小段接种于胚性愈伤组织诱导及增殖固体培养基 (MS+1.0 mg/L 2, 4-D+0.2 mg/L KT+30 g/L 蔗糖) 上进行愈伤组织的诱导, 5 周后长出白色的愈伤组织。将诱导出的愈伤组织在相同培养基中增殖, 每 4 周继代 1 次。增殖的胚性愈伤组织 (图 1-A) 移入体细胞胚发生诱导培养基 (MS+0.5 mg/L 2, 4-D+30 g/L 蔗糖) 上诱导体胚发生。4 周后将愈伤组织上生长的前期体胚 (球形胚和心形胚, 图 1-B) 接种入体细胞胚发育固体培养基 (1/2 MS+20 g/L 蔗糖) 中诱导其发育。6 周后将发育良好的后期体胚 (鱼雷形胚和子叶形胚, 图 1-C, 长度 1.5~2.0 cm) 接入体细胞胚萌发固体培养基 (1/2 MS+2.0 mg/L GA<sub>3</sub>+20 g/L 蔗糖), 放入挖孔箱子中光下培养, 2 周后即生长为体胚苗 (图 1-D)。萌发的体胚苗接种于不添加任何植物生长调节剂的 1/2 MS 培养基中, 8 周后其根部隆起变粗呈块状根 (图 1-E)。



A-胚性愈伤 B-前期体胚 C-后期体胚 D-体胚苗 E-体胚苗块状根 F-栽培三七块状根  
A-embryogenic callus B-earlier embryos C-later embryos D-plantlet E-tuberous roots of plantlet F-cultivated tuberous roots of *P. notoginseng*

图 1 三七体细胞胚的发生发育

Fig. 1 Somatic embryogenesis development of *P. notoginseng*

### 2.2 不同发育时期体胚的生长量测定

分别接种胚性愈伤组织和前期体胚于其相应增殖培养基中, 4 周后取样; 接种前期体胚于体细胞胚发育培养基中, 6 周后取样发育为后期体胚 (鱼雷形胚和子叶形胚) 的材料; 挑取生长 6 周后发育成熟的子叶形胚 (长度 1.5~2.0 cm) 接种入体细胞胚萌发培养基, 5 周后收获。以上实验各设 5 次重复。

接种前及取样后分别测定实验材料鲜质量, ( $60 \pm 1$ ) °C 烘箱中烘干 48 h 至恒质量后测定干质量, 按照下列公式计算生长量及比生长速率。

$$\text{生长量} = \text{收获量} - \text{接种量}$$

$$\text{比生长速率} = \text{生长量} / (\text{接种量} \times \text{培养时间})$$

### 2.3 三七体细胞胚发生发育过程中总皂苷的测定

总皂苷的测定参考刘旭等的方法<sup>[14]</sup>。皂苷分子

上的糖基能够被浓硫酸氧化脱水形成糠醛衍生物，在 277 nm 处紫外吸收，吸收强度与糠醛的浓度成正比，无需加入任何显色剂和其他试剂处理，可以利用此法快速测定总皂苷的量。

**2.3.1 标准曲线的制备** 精密称取三七总皂苷对照品 10.2 mg，加甲醇稀释至 100 mL，制成对照品溶液。分别精密量取对照品溶液 0.0、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5、4.0 mL 置于 10 mL 量瓶中，挥干溶剂，加入 1 mL 浓硫酸，在 80 °C 恒温水浴中加热反应 1 h，反应后立即放置于冰水中冷却 5 min，分别添加 75% 乙醇稀释至 10 mL 刻度，摇匀，静置 30 min，以空白试剂作对照，在波长 277 nm 处测定吸光度 (A)。平行操作 3 次，结果取平均值。以 A 值为纵坐标 (Y)，总皂苷量为横坐标 (X)，绘制标准曲线，得到回归方程为  $Y = -0.0314 + 0.0030X$ ， $r = 0.9964$ ，线性范围为 10.2~40.8 mg。

**2.3.2 样供试品溶液的制备** 精密称取 (60±1) °C 干燥至恒质量的实验室组织培养的三七胚性愈伤组织、前期体胚、后期体胚、体胚苗以及野生三七根粉末各 0.5 g，以 5 mL 75% 乙醇浸泡过夜，次日以 75% 乙醇室温超声提取 3 次，每次 5 mL，每次提取 30 min，合并提取液，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，75% 乙醇定容至 25 mL，摇匀，即得供试品溶液。

**2.3.3 供试液中总皂苷的测定** 吸取各样品供试液 100~500 μL 置于 10 mL 量瓶中，按标准曲线制备项下方法测定 A 值，根据标准曲线计算样品中总皂苷的量。平行操作 3 次，结果取平均值。结合不同发育时期体胚的比生长速率，按照下列公式计算总皂苷的累积效率。

$$\text{总皂苷累积效率} = \text{比生长速率} \times \text{总皂苷质量分数}$$

## 2.4 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的测定

**2.4.1 色谱条件** Waters 1525 高效液相色谱仪 (2707 自动进样器，Waters 2489 紫外检测器)。色谱柱为 Waters XTerra C<sub>18</sub> (250 mm×4.6 mm，5 μm)。色谱分析参考崔翰明等<sup>[15]</sup>的方法，流动相：乙腈-水线性，梯度洗脱；体积流量 1.0 mL/min；检测波长 203 nm；柱温 25 °C；进样量 20 μL。

**2.4.2 标准曲线的制备** 精密称取人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 对照品各 4.0 mg，以 20% 乙腈溶解并定容至 2.0 mL，混匀，即得人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 和 Rb<sub>1</sub> 质量浓度为 2.0 mg/mL 的混合对照品溶液。精密量取对照品溶液并稀释成人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 和 Rb<sub>1</sub> 质量浓度为 0.025、0.05、0.1、0.2、0.6、0.8、1.0、2.0 mg/mL

的各梯度混合对照品溶液。精密吸取各梯度对照品溶液 20 μL，注入高效液相色谱仪，按“2.4.1”项下条件测定。以峰面积为纵坐标，对照品中人参皂苷质量浓度为横坐标，绘制标准曲线，得到人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re 和 Rb<sub>1</sub> 的回归方程见表 1。

表 1 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的回归方程  
Table 1 Regression equations of ginsenosides (Rg<sub>1</sub>, Re, and Rb<sub>1</sub>) of *P. notoginseng*

成分	回归方程	相关系数	线性范围 / (μg·mL <sup>-1</sup> )
人参皂苷 Rg <sub>1</sub>	$Y = 4288.8X + 15376$	0.9997	0.025~2.000
人参皂苷 Re	$Y = 5622.9X + 25158$	0.9999	0.025~2.000
人参皂苷 Rb <sub>1</sub>	$Y = 4924.3X - 49153$	0.9994	0.025~2.000

**2.4.3 供试品溶液的制备** 精密称取 (60±1) °C 干燥至恒质量的实验室组织培养的三七胚性愈伤组织、前期体胚、后期体胚、体胚苗以及野生三七根粉末各 0.5 g，按照“2.3.2”项下提取人参皂苷。合并提取液，以 0.45 μm 微孔滤膜滤过后，80 °C 水浴减压蒸干溶剂，以 20% 乙腈复溶并定容至 2.0 mL，摇匀，再次以 0.45 μm 微孔滤膜滤过，即得供试品溶液。

**2.4.4 稳定性试验** 精密称取培养体胚粉末 0.5 g，按“2.4.3”项下样品供试液的制备方法制备样品溶液。将该样品溶液放在室温保存，分别于 0、2、4、6、8、12、16、24 h 测定 3 种皂苷的 HPLC 峰面积值，测得的 3 种皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的 RSD 分别为 1.08%、1.14%、1.22%，表明供试样品溶液在 24 h 内稳定性良好。

**2.4.5 加样回收率试验** 精密称取已经测定的培养体胚粉末样品 5 份 (人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的质量分数分别为 2.24、0.83、2.67 mg/g)，按“2.4.3”项下方法制备样品溶液。分别精密量取 0.5 mg/mL 的人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 对照品溶液 1 mL 加入供试样品溶液，HPLC 测定。计算人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 的加样回收率分别为 98.33%、98.35%、98.6%；三者的 RSD 分别为 0.73、0.75%、0.81%。

**2.4.6 样品供试液中 3 种人参皂苷的测定** 精密吸取供试品溶液 20 μL，注入高效液相色谱仪，按“2.4.1”项下条件测定，根据标准曲线计算样品中 3 种人参皂苷的量。平行操作 3 次，结果取平均值。结合三七体胚不同发育时期的比生长速率，按照下列公式计算 3 种人参皂苷的累积效率。

$$\text{人参皂苷累积效率} = \text{人参皂苷质量分数} \times \text{比生长速率}$$

### 3 结果与分析

#### 3.1 不同发育时期体胚的生长动力学分析

胚性愈伤组织和前期体胚在不同培养基中增殖、发生发育及萌发后，对其生长动力学的分析结果见表 2。三七体胚的比生长速率随其不断发育而降低，胚性愈伤组织和前期体胚的比生长速率差异不显著，前者达到最大值 0.997 5 g/周；后期体胚和体胚苗的比生长速率差异不显著，但与前 2 个时期相比差异显著。由于体胚苗的生长动力学分析经历了 2 个时期，分别为从前期体胚发育的后期体胚和从后期体胚萌发的体胚苗，所以体胚苗的总体生长发育时间应该是 11 周，其整个生长周期中的比生长速率为生长经历的 2 个时期中体胚比生长速率的平均值，即 0.579 6 g/周。

#### 3.2 三七体胚发生发育过程中的总皂苷量和累积分析

测定三七体胚不同发育时期中总皂苷的量和累积效率，结果显示，总皂苷量随体胚的发育呈逐渐

表 2 体细胞胚不同发育时期的生长动力学分析 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Growth dynamic analysis of somatic embryos in different development stages ( $\bar{x} \pm s$ )

实验材料	生长时间 / 周	生长量 / g	比生长速率 / (g·周 <sup>-1</sup> )
胚性愈伤	4	0.08±0.01 b	0.997 5±0.024 6 a
前期体胚	4	0.14±0.02 a	0.875 0±0.013 7 a
后期体胚	6	0.15±0.02 a	0.625 1±0.015 1 b
体胚苗	5	0.08±0.01 b	0.533 4±0.010 2 b

不同字母为差异显著 ( $P < 0.05$ )

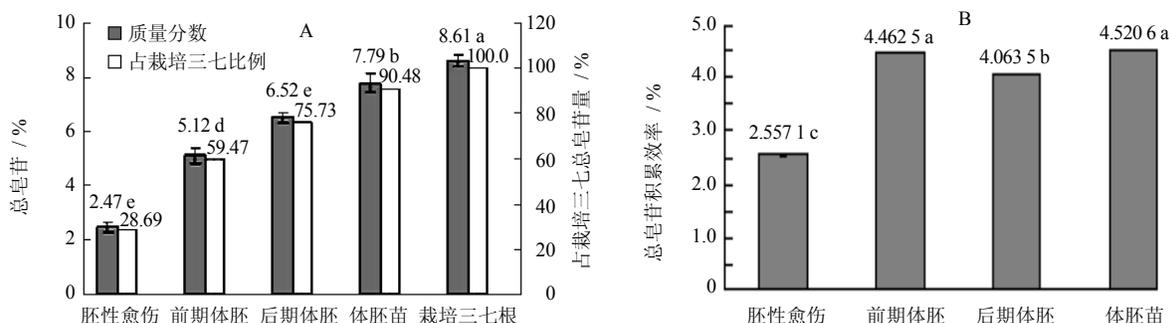
Different letters within each column are significant difference at  $P < 0.05$

增加的趋势。体胚苗中的总皂苷量达到最大值 7.79%，占栽培三七根（8.61%）中的比例高达 90.48%，为质量分数最低的胚性愈伤组织（2.47%）的 3.15 倍（图 2-A）。但是由于比生长速率的差异，不同发育时期的体胚中总皂苷的累积效率与其量的变化趋势并不一致。体胚发育过程中比生长速率逐渐降低，不同材料中总皂苷累积效率的顺序为体胚苗 > 前期体胚 > 后期体胚 > 胚性愈伤；前期体胚和体胚苗的总皂苷累积效率差异不显著，胚性愈伤组织的总皂苷累积效率达到最低值 2.557 1%，仅占体胚苗的 55.20%（图 2-B）。

#### 3.3 三七体胚发生发育过程中的 3 种人参皂苷量和累积分析

体胚发育过程中，3 种皂苷的总量呈先增后减的趋势。后期体胚中 3 种人参皂苷的总量达到最大值 7.05 mg/g，是总量最低的胚性愈伤组织（2.78 mg/g）的 2.54 倍；体胚苗中 3 种皂苷的总量（3.36 mg/g）仅略高于胚性愈伤组织。3 种皂苷的总累积效率在前期体胚中达到最大值 5.022 5 mg/(g·周)，在体胚苗中为最低值 1.947 4 mg/(g·周)，仅为前期体胚的 38.77%。但是，单体皂苷量的变化趋势并不一致。人参皂苷三七体胚中 3 种人参皂苷数据统计分析结果见表 3，HPLC 图谱见图 3。

人参皂苷 Rg<sub>1</sub> 和 Rb<sub>1</sub> 的量均在体胚发育过程中先增加后降低，分别在前期和后期体胚中达到最大值 2.24 mg/g 和 4.03 mg/g；人参皂苷 Re 的量基本呈逐渐降低的趋势，在胚性愈伤组织中量最高达到 1.21 mg/g。



不同字母为差异显著 ( $P < 0.05$ )

Different letters mean significant difference at  $P < 0.05$

图 2 三七体胚发生发育过程中总皂苷的量、占栽培三七总皂苷比例 (A) 及累积效率 (B)

Fig. 2 Total saponins contents in somatic embryos in different development stages and proportions in roots of cultivated *P. notoginseng* (A) and their accumulation efficiencies (B)

表 3 三七体胚发生发育过程中 3 种人参皂苷量和累积分析

Table 3 Analysis on three ginsenoside contents and accumulation during somatic embryogenesis of *P. notoginseng*

样品	人参皂苷量 / (mg·g <sup>-1</sup> )			人参皂苷累积效率 / (mg·g <sup>-1</sup> ·周 <sup>-1</sup> )			Rg <sub>1</sub> +Re+Rb <sub>1</sub> / (mg·g <sup>-1</sup> )	Rg <sub>1</sub> +Re+Rb <sub>1</sub> 累积效率 / (mg·g <sup>-1</sup> ·周 <sup>-1</sup> )
	Rg <sub>1</sub>	Re	Rb <sub>1</sub>	Rg <sub>1</sub>	Re	Rb <sub>1</sub>		
胚性愈伤	1.24±0.17 c	1.21±0.15 b	0.33±0.14 e	1.236 9±0.011 5 b	1.206 8±0.012 5 a	0.329 0±0.012 7 d	2.78±0.19 e	2.773 4±0.017 5 c
前期体胚	2.24±0.11 b	0.83±0.13 c	2.67±0.22 c	1.960 0±0.010 9 a	0.726 6±0.009 7 b	2.336 6±0.011 6 b	5.74±0.21 c	5.022 5±0.020 9 a
后期体胚	2.15±0.09 b	0.87±0.09 c	4.03±0.18 b	1.344 0±0.014 3 ab	0.543 9±0.020 3 c	2.519 3±0.018 6 a	7.05±0.25 b	4.407 2±0.015 3 b
体胚苗	0.52±0.07 d	0.49±0.07 d	2.35±0.11 d	0.301 7±0.015 6 c	0.284 2±0.018 6 d	1.362 2±0.017 7 c	3.36±0.17 d	1.947 4±0.014 6 d
栽培三七根	93.33±0.20 a	3.94±0.17 a	34.26±0.23 a	—	—	—	131.53±0.28 a	—

不同字母为差异显著 ( $P < 0.05$ )

Different letters within each column show significant difference at  $P < 0.05$

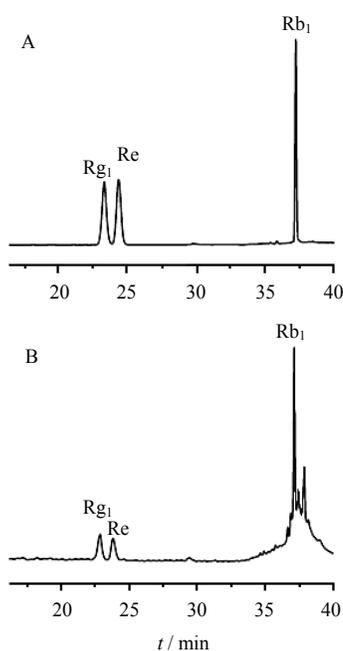


图 3 人参皂苷 Rg<sub>1</sub>、Re、Rb<sub>1</sub> 对照品 (A) 和样品 (B) 的 HPLC 图谱

Fig. 3 HPLC chromatograms of ginsenosides Rg<sub>1</sub>, Re, and Rb<sub>1</sub> of reference substances (A) and samples (B)

#### 4 讨论

胚性愈伤和三七体细胞胚发育过程中总皂苷量随体胚的发育呈逐渐增加的趋势, 体胚苗中的总皂苷量达到最大值 7.79%; 而 3 种皂苷的总量呈先增后减的趋势, 在后期体胚中 3 种人参皂苷的总量达到最大值 7.05 mg/g, 体胚苗中 3 种皂苷的总量 (3.36 mg/g) 仅略高于胚性愈伤组织中。体胚苗中总皂苷量和 3 种人参皂苷总量之间的差异可能是由于体胚苗中含有其他单体皂苷, 这些皂苷在体细胞胚发育的其他时期不含有或量较低。

由于比生长速率的差异, 不同材料中总皂苷累积效率与其量的变化并不一致, 其顺序为体胚苗 > 前期体胚 > 后期体胚 > 胚性愈伤; 3 种皂苷的总累积效率排序为前期体胚 > 后期体胚 > 胚性愈伤 > 体胚苗。前期体胚总皂苷的累积效率仅略低于体胚苗, 但其生长快速, 生长周期远远短于体胚苗和栽培三七 (体胚苗生长周期 10~14 周, 栽培三七生长 3 年以上, 前期体胚的生长只需 4~6 周), 材料较易获得, 更利于规模化培养, 通过其工业化培养实现皂苷的生产具有绝对的优势。

因此, 综合考虑皂苷累积效率和材料生长周期, 本课题组认为, 三七前期体胚是生产人参皂苷最有价值的实验材料, 可用于进一步皂苷积累的研究。

#### 参考文献

- [1] 赵瑞强. 三七 SE 基因克隆及转化烟草、绞股蓝的初步研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2007.
- [2] 淡 墨. 应用代谢组学策略研究茉莉酸甲酯对三七不定根次生代谢产物的影响 [D]. 上海: 上海交通大学, 2008.
- [3] 江 洁, 陈 跃. 三七研究进展概述 [J]. 云南农业科技, 1998(5): 8-12.
- [4] 李冠烈. 三七的现代研究与进展 (二) [J]. 世界中西医结合杂志, 2008, 3(11): 687-690.
- [5] 张智慧, 文国松, 萧凤回, 等. 三七组织与细胞培养研究进展 [J]. 云南农业大学学报, 2004, 19(4): 369-372.
- [6] 鲍建才, 刘 刚, 丛登立, 等. 三七的化学成分研究进展 [J]. 中成药, 2006, 28(2): 246-253.
- [7] 石 磊, 葛 锋, 刘迪秋, 等. 三七总皂苷生物合成与关键酶调控的研究进展 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(11): 2358-2364.
- [8] 黄 勇, 张 铁, 张文生, 等. 三七组织培养研究综述 [J]. 文山学院学报, 2012, 25(6): 13-15.

- [9] 刘瑞驹, 蒙爱东, 李春霞, 等. 三七胚状体发生和植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 1991, 27(3): 210.
- [10] 陈伟荣, 简玉瑜. 三七试管苗繁殖技术的研究 [J]. 华南农业大学学报, 1992, 13(3): 69-75.
- [11] 桂进, 桂耀林, 郭仲琛. 三七体细胞胚胎发生及人工种子研制 [J]. 实验生物学报, 1992, 25(2): 139-142.
- [12] 张以恒, 钟建江, 俞俊棠. 三七悬浮细胞高密度培养生产人参皂苷和多糖 [J]. 华东理工大学学报, 23(3): 310-314.
- [13] You X L, Tan X, Dai J L, *et al.* Large-scale somatic embryogenesis and regeneration of *Panax notoginseng* [J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult*, 2012, 108: 333-338.
- [14] 刘旭, 付青姐, 李明春, 等. 三七总皂苷含量的紫外分光光度法测定 [J]. 实用医药杂志, 2008, 25(4): 452.
- [15] 崔翰明, 张春光, 林海, 等. HPLC 法测定三七不同药用部位中有效成分含量 [J]. 中药材, 2009, 32(12): 1810-1813.