

· 综述 ·

三七的组织培养研究进展[△]

强宝宝, 梁莹, 侯小利, 秦双双, 韦坤华*, 缪剑华*

广西壮族自治区药用植物园 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室/广西壮族自治区中药资源智慧创制工程研究中心, 广西 南宁 530023

[摘要] 三七是中国传统名贵中药材, 在药品、食品和化妆品领域具有广泛的商业应用。从三七愈伤组织诱导、体细胞胚胎诱导及再培养、细胞悬浮培养和不定根诱导 4 个方面综述了三七组织培养的研究进展, 以期快速获得三七优质苗、提高三七次生代谢产物的含量提供参考, 促进三七资源的开发和可持续利用。

[关键词] 三七; 组织培养; 愈伤组织; 细胞悬浮培养; 不定根

[中图分类号] R286 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2022)08-1582-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20201118003

Recent Advances in Tissue Culture of *Panax notoginseng*

QIANG Bao-bao, LIANG Ying, HOU Xiao-li, QIN Shuang-shuang, WEI Kun-hua*, MIAO Jian-hua*

Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement/Guangxi Engineering Research Center of Traditional Chinese medicine Resource Intelligent Creation, Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plants, Nanning 530023, China

[Abstract] *Panax notoginseng* is a Chinese herbal medicine, which is widely used in the fields of medicine, food and cosmetics. In this paper, the research progress of *P. notoginseng* tissue culture was summarized from four aspects: callus induction, somatic embryo induction and subculture, cell suspension culture and adventitious root induction. This review aimed to provide reference for quickly obtaining high-quality *P. notoginseng* seedlings by tissue culture and increase the content of secondary metabolites of *P. notoginseng*, thus promoting the development and sustainable utilization of *P. notoginseng* resources.

[Keywords] *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen; tissue culture; callus; cell suspension; adventitious root

三七 *Panax notoginseng* (Burk) F. H. Chen、人参和西洋参都是人参属的药用植物, 在传统医学上具有很高的药用价值^[1-3]。三七是中国传统名贵中药材, 主要分布于中国云南省文山, 全草入药, 享有“人参之王的美誉”, 已有 400 多年的栽培历史^[4-5]。现在能查阅的最早使用三七的记录为杨清叟的《仙传外科方集》, 已有 640 多年的历史^[6]。三七有止血化瘀、活血定痛的功效, 被称为“止血之神药”。三七广泛用于治疗心血管疾病、脑血管紊乱、炎症、躯体疼痛、动脉硬化、外伤及损伤引起的内

外出血^[7-12], 还有抗肿瘤和抗衰老的功效^[13]。三七中人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Rd 和人参皂苷 Rg₁ 含量高于人参和西洋参^[14]。

近年来, 在亚洲和世界其他许多国家, 三七广泛应用于药品、食品和化妆品领域。在中国, 三七年需求量约为 5000 t^[15-16], 野生三七远远不能满足需求^[17], 因此, 研究者试图利用组织培养技术来获得三七苗。目前可以通过三七愈伤组织和种胚 2 种途径诱导体细胞胚胎, 经过分化诱导和再培养可以获得大量三七组培苗。此外, 三七细胞悬浮培养和不

[△] **[基金项目]** 中央引导地方科技发展专项 (桂科 ZY20198018); 科技部科技基础资源调查专项 (2018FY100700); 科技部对发展中国家科技援助项目 (KY201904001); “广西八桂学者”专项; 广西科研创新团队建设项目 (桂药创 201905)

* **[通信作者]** 韦坤华, 研究员, 研究方向: 药用植物资源保护与开发; E-mail: divinekh@163.com
缪剑华, 研究员, 研究方向: 药用植物保育学; E-mail: mjh1962@vip.163.com

定根培养也能生产可控制的活性代谢产物。本文将对近年来国内外三七组织培养的研究进展进行综述。

1 愈伤组织诱导

通过愈伤组织建立的组织培养技术不仅是植物快速繁殖的手段,也是植物遗传改良、品种选育和提高次生代谢产物的理想途径。郑光植等^[18]研究表明,三七愈伤组织在MS培养基中比Heller、Miller、B5和B5+N中的培养效果好。Zhou等^[17]以MS培养基+3%蔗糖+10%椰奶+2 mg·L⁻¹2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)+0.1 mg·L⁻¹激动素(KT)作为培养条件,研究了低聚糖(铁皮石斛、人参和天竺葵幼细胞壁的酸水解产物)对三七愈伤组织的影响。结果发现三者质量浓度分别为15、15、20 mg·L⁻¹时有益于三七愈伤组织皂苷的产生。王定康等^[19]分别以2、3年生三七的花药作为外植体,在MS+2.0 mg·L⁻¹2,4-D+1.5 mg·L⁻¹6-BA+1.0 mg·L⁻¹3-吲哚乙酸(IAA)+6%蔗糖的条件下,成功诱导了愈伤组织,诱导率分别为43.0%、55.0%,表明3年生三七花药愈伤组织的出愈率和质量均优于2年生花药。因此,进行三七花药培养以3年生花药为外植体较合适。有研究对诱导三七花药愈伤组织的因素进行了研究^[20],结果表明,在MS+2.0 mg·L⁻¹2,4-D+1.5 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹IAA+6%蔗糖的培养基上,发育期处于单核中期的花粉诱导率最高,可达50%;在以上激素配比条件下,比较了MS、B5和N6培养基的愈伤组织诱导效果,发现MS培养基的诱导率较高,且愈伤组织易增殖;6%蔗糖能产生较高的诱导率,后期长势良好;将花药在低温3~4、7~8℃条件下分别处理4~6、6~8 d,均可以提高愈伤组织诱导率。

黄天卫等^[21]用三七的幼嫩花蕾在MS+1.0 mg·L⁻¹2,4-D+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹IAA+30 g·L⁻¹蔗糖的条件下成功诱导出了愈伤组织,诱导率可以达到55.6%。张铁等^[22]研究表明,三七无菌苗的嫩芽、叶、叶柄、不定根和主根均能诱导出愈伤组织,尤以三七叶柄为外植体诱导出的愈伤组织质量较好,最容易增殖,较适合的培养基为MS+0.5 mg·L⁻¹6-BA+2.0 mg·L⁻¹2,4-D+3%蔗糖。李涛等^[23]采用文山三七块根作为外植体,研究获得了最佳愈伤组织诱导条件为MS+1.0 mg·L⁻¹KT+1.0 mg·L⁻¹2,4-D+30 g·L⁻¹蔗糖。

许鸿源等^[24]研究了5组培养基对三七茎段愈伤组织发生和增殖的影响,发现在MS+2 mg·L⁻¹2,4-D的培养基上添加2 mg·L⁻¹灵发素(LFS)可以促进茎段愈伤组织早发生1~2周,诱导率达81%,比2,4-D高出30%以上,而添加了6-BA、KT和玉米素(ZT)的培养基作用不明显,而且LFS可以促进愈伤组织增殖,40 d后收获干质量为81.5 mg·g⁻¹,是不含LFS的3~4倍。此研究结果利用LFS建立了高效的三七愈伤组织生产模式。Li等^[25]研究表明,三七的根在MS+2.0 mg·L⁻¹2,4-D+1.5 mg·L⁻¹6-BA的培养基中暗培养,4周后可得到愈伤组织,诱导率可达到100%,是最佳的诱导条件。齐琳琳等^[26]研究表明,激素对比对愈伤组织中皂苷含量的影响最大,在0.5 mg·L⁻¹2,4-D+1.0 mg·L⁻¹6-BA组合下,培养物中总皂苷质量分数最多,达到(4.72±0.29)%;在总氮量为60 mmol·L⁻¹条件下,45 mmol·L⁻¹硝酸钾+7.5 mmol·L⁻¹硝酸氢铵(NO₃⁻:NH₄⁺为7:1)时,愈伤组织皂苷质量分数最多,达到(4.71±0.17)%;分别在1000、500 lx光强下每天光照12 h的愈伤组织皂苷含量均低于黑暗培养的愈伤组织,三者皂苷质量分数分别为(1.94±0.31)%、(2.38±0.12)%和(3.57±0.27)%。光照引起愈伤组织表面变绿及细胞分化,可能是抑制愈伤组织中皂苷合成与积累的主要原因。

2 胚胎诱导及再培养

体细胞胚胎的发生是建立植物无性繁殖可靠的再生方法^[27-28]。目前,可以通过三七的愈伤组织和种胚2种途径诱导三七产生体细胞胚胎。张琪等^[29]对沙藏后三七种子的种胚进行研究,发现在MS+1 mg·L⁻¹IAA或萘乙酸(NAA)的培养基上暗培养可诱导产生胚状体,继而转入MS+1 mg·L⁻¹赤霉素(GA₃)+0.5 mg·L⁻¹IAA培养基上光照培养,大约80%的胚状体可发育成小植株。

许鸿源等^[30]以三七茎段愈伤组织,在MS+1.5 mg·L⁻¹2,4-D+2 mg·L⁻¹LFS的培养基,暗培养2~3个月,胚状体发生率高达90%左右。将胚状体转移至上述培养基光照条件下进行培养,大约30%胚状体可以发育完整的苗。这些现象表明,IAA、NAA、6-BA、KT和LFS等都可以在三七胚状体发生的诱导中发挥作用,但是作为单一激素的报道,目前还只有LFS。LFS诱导三七茎段愈伤组织发生胚状体

非常适宜,但是对于促进胚状体成苗效果一般。

You等^[11]以三七不定根在MS+1.0 mg·L⁻¹ 2,4-D的固体培养基中暗培养5周,得到乳白色、易碎、快速增值的愈伤组织。再将其转移到MS+0~1.0 mg·L⁻¹ 2,4-D的固体培养基中,4周后,在含有0.5 mg·L⁻¹ 2,4-D的条件下,体细胞胚胎发生率可达100%,平均每个愈伤组织有32.7个体细胞胚。将获得的体细胞胚胎在不添加任何植物生长调节剂的1/2 MS培养基上再培养,2周后生根,8周后发芽。体细胞胚胎发芽缓慢,而且尚不能完全转化为同时具有根和芽的完整小苗,推测可能是其仍然保持休眠^[31-32]。添加0~4 mg·L⁻¹的GA₃能很好地促进体细胞胚胎发芽,并能分化为同时具有适宜根和芽的完整小苗,此现象在人参和西洋参体细胞胚胎的培养中也有报道^[33-34]。

3 细胞悬浮培养

进行植物细胞悬浮培养研究是植物组织培养向工业化生产转化的重要步骤。植物细胞悬浮培养所用的细胞来自愈伤组织,或直接来自植物的器官及组织的外植体。植物细胞液体培养具有繁殖速度快的特点,可大规模培养,甚至可能实现工业化生产。在人参属植物的悬浮培养中,碳源、氮源和磷酸盐源等培养基成分对植物细胞中人参皂苷的生物量和产量均有显著影响。

在三七的组织培养中,蔗糖质量浓度从20 g·L⁻¹增加到40 g·L⁻¹,总皂苷的含量提高了2.3倍^[35]。在三七悬浮培养中,较高的氮源也可以提高人参皂苷的产量。Zhang等^[36]研究表明,随着硝酸盐浓度从0增加到60 mmol·L⁻¹,三七细胞生物量从4.9 g·L⁻¹增加到10.9 g·L⁻¹。适当的磷酸盐浓度也可以影响三七悬浮培养中皂苷的含量。Zhong等^[37]研究发现,三七悬浮液中磷酸盐添加量为1.25 mmol·L⁻¹时,人参皂苷的产率最佳。

植物细胞培养是一种替代自然植物获得有价值次生代谢产物的有效途径^[38]。Wang^[39]等研究表明,三七细胞在MS+2 mg·L⁻¹ 2,4-D+0.7 mg·L⁻¹ KT培养基中以110 r·min⁻¹,黑暗条件下悬浮培养4 d后,加入200 μmol·L⁻¹ 茉莉酸2-羟乙基酯(HEJA),能更有效地刺激人参皂苷的生物合成,改变其多样性。在第13天,获得最高的人参皂苷含量,与茉莉酸甲酯(MJ)相比,HEJA诱导的人参皂苷总含量和人

参皂苷Rb与人参皂苷Rg的比率分别提高了约60%、30%。Zhong等^[40]利用生物反应器研究表明,在三七细胞悬浮培养中的第8天,添加200 μmol·L⁻¹ MJ,最终可促使人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re和人参皂苷Rb₁质量浓度分别从(42±8)、(42±9)、(41±6) mg·L⁻¹增加到(104±6)、(71±5)、(95±6) mg·L⁻¹,分别提高了150%、70%、130%。

近年来,有研究表明,细胞外Ca²⁺影响植物次生代谢物的产生^[41]。Yue等^[42]研究发现,在三七细胞悬浮培养的3 d内,人参皂苷Rb₁的合成依赖于培养基所含Ca²⁺浓度。当Ca²⁺的浓度为8 mmol·L⁻¹时,人参皂苷Rb₁的含量达到最大(1.88±0.03) mg·g⁻¹,比Ca²⁺的浓度为0、3 mmol·L⁻¹时高出60%和25%。在植物的组织培养过程中,添加溶菌酶具有防止污染的作用,其对三七皂苷的合成和细胞生长也具有促进作用。周立刚等^[43]以MS+1 mg·L⁻¹ 2,4-D+0.05 mg·L⁻¹ KT+10%椰乳,120 r·min⁻¹下进行三七愈伤组织暗培养,在诱导的第10天加入100 mg·L⁻¹溶菌酶能明显促进皂苷合成,皂苷产率为1.62 g·L⁻¹,比对照组提高63.48%。

王艳等^[44]以三七种子剥取子叶,以MS+2 mg·L⁻¹ 2,4-D+1 mg·L⁻¹ KT为培养基诱导愈伤组织,并在此培养基中进行愈伤组织悬浮培养,100 r·min⁻¹测定悬浮培养过程中皂苷生物合成的动力学变化。结果表明,人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rh₁、人参皂苷Rb₁初始培养值分别为3.63、2.34、0.42、0.24 mg·g⁻¹,培养25~30 d后增至最高,分别为9.72、7.02、2.37、1.86 mg·g⁻¹,而人参皂苷Rh₂、人参皂苷F₁含量无明显变化,即三七愈伤组织生物合成过程中原人参三醇型皂苷(人参皂苷Rg₁、人参皂苷Re、人参皂苷Rh₁)增长显著,并表明七愈伤组织培养25 d,总皂苷质量分数达到最高,为20.58 mg·g⁻¹,主要为原人参三醇型皂苷。

4 不定根诱导

植物不定根是不按正常时序发生,出现在非正常位置的根。大多数情况下,不定根的发生是由于植物器官受伤或植物激素等外界刺激,通过植物的茎、叶、节、愈伤组织诱导而产生^[45]。如今,人参不定根培养已成功实现了工业化,反应器规模达到10 000 kg^[46],而三七在这方面还处于起步阶段。

Gao等^[47]以3年生三七的叶、叶柄和根,在MS

固体培养基中暗培养诱导不定根,发现侧根外植体在第10天出现愈伤组织,第35天出现不定根,不定根诱导率为44%。叶柄外植体在第14天出现愈伤组织,第45天出现不定根,诱导率为37%,诱导不定根最佳条件为MS+3 mg·L⁻¹IBA。在培养的第35天,不定根中的皂苷质量分数达到最大值(46 mg·g⁻¹),并表明2,4-D只是诱发愈伤组织的形成,IBA是诱发三七形成不定根的有效激素,在人参的组织培养研究中也发现相似的结果^[48-49]。

如今,利用茉莉酸(JA)、MJ和二氢茉莉酸甲酯(MDJ)等茉莉酸信号化合物,在植物组织培养中刺激次生代谢产物的生物合成,越来越受到研究者的关注^[50-51]。Qiang等^[52]总结发现,茉莉酸类化合物具有促进西洋参细胞和不定根培养物中皂苷含量积累的作用。研究表明,诱导处理后,可以诱导植物抗氧化酶活性增强,保护植物免受活性氧的损害并减少次生代谢产物的损失^[53-55]。JA及其衍生物可以调控抗氧化酶活性,提高植物的广泛防御反应和次生代谢物含量^[46,56]。淡墨^[57]研究了MJ对三七不定根次生代谢产物的影响,表明MJ刺激后,三七不定根的次生代谢产物与天然三七根的次生代谢产物更为相似,证明MJ可以作为三七不定根有价值的诱导剂。Li等^[25]将诱导得到的三七愈伤组织接种于MS+5 mg·L⁻¹IBA培养基,在黑暗条件下暗培养,4周后可得到不定根。不定根的最优培养条件为摇床培养120 r·min⁻¹,5/4 SH培养基+4%蔗糖+3.0 mg·L⁻¹IBA+1.0 mg·L⁻¹NAA。并在此培养条件加下,加入不同浓度的JA和MDJ,分别接种已获得的根。发现接种后5 d,获得最高多糖产量。接种后7 d,可获得最高皂苷产量,5 mg·L⁻¹JA处理后皂苷总质量分数最高(71.94 mg·g⁻¹),比自然生长的根高出2.09倍,比对照组高8.45倍,多糖质量分数为140.20 mg·g⁻¹,比对照组高1.60倍。MDJ处理后,皂苷质量分数为20.88 mg·g⁻¹,比对照组高2.45倍,多糖质量分数为139.05 mg·g⁻¹,比对照组高1.59倍。可见,JA和MDJ都能刺激三七代谢产物的积累,JA处理后的效果优于MDJ。

5 问题及展望

三七作为传统名贵中药材,应用价值巨大。但其生长周期长、对生长条件要求苛刻、地理分布狭窄且面临病虫害的侵扰,这些给三七的种植业带来了严峻挑战。组织培养技术不仅可以克服这些弊端,

还是植物快速繁殖的最佳途径。通过对三七组织培养的研究,既可以实现快速繁殖,又可以生产主要的药用成分,将补充和替代三七现有资源并继续造福人类的有效途径。目前,在三七的组织培养中发现两大问题:一是愈伤组织增殖过程中使用传统的固体培养基时,三七愈伤组织生长比较缓慢;使用悬浮培养时,虽然可以快速繁殖但是又容易形成团块状的聚集体。二是三七愈伤组织形成的体细胞胚胎分化率低,不能全部分化成同时具有根和芽的完整植株,所以成苗率较低。如何有效解决这些问题,仍是未来需要继续研究的方向。

参考文献

- [1] CHAN T W, BUT P P, CHENG S W, et al. Differentiation and authentication of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius*, and ginseng products by using HPLC/MS[J]. Anal Chem, 2000, 72(6):1281-1287.
- [2] CHOI K T. Botanical characteristics, pharmacological effects and medicinal components of Korean *Panax ginseng* CA Meyer[J]. Acta Pharmacol Sin, 2008, 29(9):1109-1118.
- [3] KIM J H, JUNG J Y, CHOI H I, et al. Diversity and evolution of major *Panax* species revealed by scanning the entire chloroplast intergenic spacer sequences[J]. Genet Resour Crop Evol, 2013, 60(2):413-425.
- [4] 褚建君,刘丽,华修国.三七和三七产业概况[J].当代生态农业,2001(增2):116-121.
- [5] DONG L L, CHENG R Y, XIAO L N, et al. Diversity and composition of bacterial endophytes among plant parts of *Panax notoginseng*[J]. Chin Med, 2018, 13:41.
- [6] 许珈欢.三七的组织培养与多倍体诱导初步研究及三角槭的叶绿体全基因组测序[D].昆明:昆明理工大学,2017.
- [7] LI L X, WANG Z C, LI S Q, et al. Effects of *Panax notoginseng* saponins on hemorrhagic shock in rabbits[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 1988, 9(1):52-55.
- [8] MA L Y, WANG C L, ZHANG Q, et al. Effects of *Panax notoginseng* saponins on blood supply and energy metabolism of brain tissues[J]. Chin Pharmacol Bull, 1998, 14: 27-29.
- [9] JIA W, GAO W Y. Therapeutic transdermal agents for pain containing Chinese medicinal herbs[J]. J Plant Biotechnol, 2003, 5(1): 7.
- [10] XU Z, XU Y, XIE X, et al. Anti-platelet aggregation of *Panax notoginseng* triol saponins by regulating GP1BA for ischemic stroke therapy[J]. Chin Med, 2021, 16(1):

- 1-14.
- [11] 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(2): 333-338.
- [12] XIE G X, QIU Y P, QIU M F, et al. Analysis of dencichine in *Panax notoginseng* by gas chromatography-mass spectrometry with ethyl chloroformate derivatization [J]. J Pharm Biomed Anal, 2007, 43(3): 920-925.
- [13] CHEN F D, WU M C, WANG H E, et al. Sensitization of a tumor, but not normal tissue, to the cytotoxic effect of ionizing radiation using *Panax notoginseng* extract [J]. Am J Chin Med, 2001, 29(3/4): 517-524.
- [14] ZHU S, ZOU K, FUSHIMI H, et al. Comparative study on triterpene saponins of Ginseng drugs [J]. Planta Med, 2004, 70(7): 666-677.
- [15] DUAN L, XIONG X J, HU J Y, et al. *Panax notoginseng* saponins for treating coronary artery disease: A functional and mechanistic overview [J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 702.
- [16] LIU J J, WANG Y T, QIU L, et al. Saponins of *Panax notoginseng*: Chemistry, cellular targets and therapeutic opportunities in cardiovascular diseases [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2014, 23(4): 523-539.
- [17] ZHOU L, ZHENG G, WANG S, et al. Effects of oligosaccharins on callus growth and saponin content of *Panax notoginseng* [J]. Cell Res, 1992, 2(1): 83-87.
- [18] 郑光植, 王世林, 甘烦远, 等. 三七组织培养的建立 [J]. 生物工程学报, 1989, 5(1): 64-69.
- [19] 王定康, 孙桂芳, 郭志明, 等. 2~3年生三七花药愈伤组织诱导的比较研究 [J]. 安徽农业科学, 2007, 35(31): 9915-9916.
- [20] 王定康, 孙桂芳, 郭志明, 等. 影响三七花药愈伤组织诱导的几个因素 [J]. 江苏农业科学, 2007, 35(6): 236-238.
- [21] 黄天卫, 杨莉, 韦美丽, 等. 不同激素配比对诱导三七花蕾愈伤组织影响 [J]. 文山学院学报, 2014, 27(3): 5-6.
- [22] 张铁, 杨本恒, 杨永超. 三七不同外植体愈伤组织诱导研究 [J]. 云南农业科技, 2019(5): 15-17.
- [23] 李涛, 李小清, 张智慧, 等. 文山三七块根的植物组织培养研究 [J]. 西北民族大学学报(自然科学版), 2016, 37(3): 62-66.
- [24] 许鸿源, 蒙爱东, 李春霞, 等. 灵发素对三七愈伤组织发生和增殖的影响 [J]. 中药材, 2004, 27(1): 1-3.
- [25] LI J X, WANG J, WU X L, et al. Jasmonic acid and methyl dihydrojasmonate enhance saponin biosynthesis as well as expression of functional genes in adventitious roots of *Panax notoginseng* F. H. Chen [J]. Biotechnol Appl Biochem, 2017, 64(2): 225-238.
- [26] 齐琳琳, 李刚, 刘志伟, 等. 培养条件对三七愈伤组织生长和皂苷积累的影响 [J]. 广西植物, 2017, 37(8): 1035-1042.
- [27] PERCY R E, KLIMASZEWSKA K, CYR D R. Evaluation of somatic embryogenesis for clonal propagation of western white pine [J]. Can J For Res, 2000, 30(12): 1867-1876.
- [28] VENDRAMÉ W, HOLLIDAY C P, MERKLE S A. Clonal propagation of hybrid sweetgum (*Liquidambar styraciflua* x *L. Formosana*) via somatic embryogenesis for ornamental application [J]. Acta Hort, 2003 (625): 241-247.
- [29] 张琪, 佟曦然, 张昭, 等. 三七胚培养中的胚胎发生 [J]. 植物学通报, 1989, 24(4): 236-239.
- [30] 许鸿源, 蒙爱东, 李春霞, 等. 灵发素对三七胚状体发生及其成苗的影响 [J]. 中药材, 2004, 27(10): 711-712.
- [31] CHOI Y, JEONG J. Dormancy induction of somatic embryos of Siberian ginseng by high sucrose concentrations enhances the conservation of hydrated artificial seeds and dehydration resistance [J]. Plant Cell Rep, 2002, 20(12): 1112-1116.
- [32] YOU X L, HAN J Y, CHOI Y E. Plant regeneration via direct somatic embryogenesis in *Panax japonicus* [J]. Plant Biotechnol Rep, 2007, 1(1): 5-9.
- [33] CHOI Y E, YANG D C, YOON E S, et al. High-efficiency plant production via direct somatic single embryogenesis from preplasmolysed cotyledons of *Panax ginseng* and possible dormancy of somatic embryos [J]. Plant Cell Rep, 1999, 18(6): 493-499.
- [34] PUNJA Z K, FEENEY M, SCHLUTER C, et al. Multiplication and germination of somatic embryos of American ginseng derived from suspension cultures and biochemical and molecular analyses of plantlets [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 2004, 40(3): 329-338.
- [35] ZHANG Y H, ZHONG J J, YU J T. Enhancement of ginseng saponin production in suspension cultures of *Panax notoginseng*: Manipulation of medium sucrose [J]. J Biotechnol, 1996, 51(1): 49-56.
- [36] ZHANG Y H, ZHONG J J, YU J T. Effect of nitrogen source on cell growth and production of ginseng saponin and polysaccharide in suspension cultures of *Panax notoginseng* [J]. Biotechnol Prog, 1996, 12(4): 567-571.
- [37] ZHONG J J, ZHU Q X. Effect of initial phosphate concentration on cell growth and ginsenoside saponin production by suspended cultures of *Panax notoginseng* [J]. Appl Biochem Biotechnol, 1995, 55(3): 241-247.

- [38] STICHER O. Getting to the root of ginseng [J]. Chemtech, 1998, 28(4): 26-32.
- [39] WANG W, ZHAO Z J, XU Y F, et al. Efficient induction of ginsenoside biosynthesis and alteration of ginsenoside heterogeneity in cell cultures of *Panax notoginseng* by using chemically synthesized 2-hydroxyethyl jasmonate [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2006, 70(3): 298-307.
- [40] ZHONG J J, ZHANG Z Y. High density cultivation of *Panax notoginseng* cell cultures with methyl jasmonate elicitation in a centrifugal impeller bioreactor [J]. Eng Life Sci, 2005, 5(5): 471-474.
- [41] NAKAO M, ONO K, TAKIO S. The effect of calcium on flavanol production in cell suspension cultures of *Polygonum hydropiper* [J]. Plant Cell Rep, 1999, 18(9): 759-763.
- [42] YUE C J, ZHONG J J. Impact of external calcium and calcium sensors on ginsenoside Rb₁ biosynthesis by *Panax notoginseng* cells [J]. Biotechnol Bioeng, 2005, 89(4): 444-452.
- [43] 周立刚, 郑光植, 甘烦远, 等. 三七细胞悬浮培养的研究 [J]. 植物学报, 1992, 34(8): 609-613.
- [44] 王艳, 武阳阳, 葛锋, 等. 三七细胞悬浮培养过程中皂苷生物合成的动力学变化 [J]. 中药材, 2013, 36(7): 1059-1062.
- [45] 魏丽, 蒋湘宁, 裴东. 不定根发生分子调控机制的研究进展 [J]. 生命科学, 2006, 18(3): 266-272.
- [46] YU K W, GAO W Y, HAHN E J, et al. Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of *Panax ginseng* C. A. Meyer [J]. Biochem Eng J, 2002, 11(2/3): 211-215.
- [47] GAO X F, ZHU C B, JIA W, et al. Induction and characterization of adventitious roots directly from the explants of *Panax notoginseng* [J]. Biotechnol Lett, 2005, 27(22): 1771-1775.
- [48] HAHN E J, KIM Y S, YU K W, et al. Adventitious root cultures of *Panax ginseng* CV Meyer and ginsenoside production through large-scale bioreactor system [J]. J Plant Biotechnol, 2003, 5(1): 1-6.
- [49] SEO J W, SHIN C G, CHOI Y E. Mass production of adventitious roots of *Eleutherococcus sessiliflorus* through the bioreactor culture [J]. J Plant Biotechnol, 2003, 5(3): 187-191.
- [50] MUELLER M J, BRODSCHHELM W, SPANNAGL E, et al. Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(16): 7490-7494.
- [51] TAMOGAMI S, RAKWAL R, KODAMA O. Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves (*Oryza sativa* L.) is under the control of cytokinins and ascorbic acid [J]. FEBS Lett, 1997, 412(1): 61-64.
- [52] QIANG B B, MIAO J H, PHILLIPS N, et al. Recent advances in the tissue culture of American ginseng (*Panax quinquefolius*) [J]. Chem Biodivers, 2020, 17(10): e2000366.
- [53] THULKE O, CONRATH U. Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley [J]. Plant J, 1998, 14(1): 35-42.
- [54] CHEN J Y, WEN P F, KONG W F, et al. Effect of salicylic acid on phenylpropanoids and phenylalanine ammonia-lyase in harvested grape berries [J]. Postharvest Biol Technol, 2006, 40(1): 64-72.
- [55] ZHAO J, DAVIS L C, VERPOORTE R. Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites [J]. Biotechnol Adv, 2005, 23(4): 283-333.
- [56] VENKATACHALAM K, MEENUNE M. Effect of methyl jasmonate on physiological and biochemical quality changes of longkong fruit under low temperature storage [J]. Fruits, 2015, 70(2): 69-75.
- [57] 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.

(收稿日期: 2020-11-18 编辑: 王笑辉)