

罗汉果组培繁殖的技术要点

蒋水元¹, 蒋剑刚², 李 锋¹, 覃吉胜², 刘凤英², 黄争艳²

(广西壮族自治区 广西植物研究所, 广西 桂林 541006; 2. 桂林亦元生现代生物技术有限公司, 广西 桂林 541004)
中国科学院

摘要: 报道罗汉果组培繁殖的各项主要技术要点, 包括组培条件、培养基的配制、外植体的选取与消毒、接种与培养、种源保存、炼苗与移栽、苗木包装与运输等。提出了5种培养基参考配方, 即茎段诱导培养: MS+BA0.5~1.0 mg/L+IAA(NAA)0.05~0.1 mg/L+白糖3%+琼脂4.5 g/L, pH5.8; 茎尖诱导培养: MS+BA0.5~1.0 mg/L+NAA0.05~0.1 mg/L+椰子水100 mL+白糖3%+琼脂4.5 mg/L, pH5.8; 继代培养(丛生芽方式): MS+BA0.3~0.7 mg/L+NAA0.05/IAA0.1 mg/L+白糖3%+琼脂4.5 mg/L, pH5.8; 继代培养(微型扦插方式): MS+BA0.1 mg/L+IAA0.3 mg/L+活性炭0.07 g/L+白糖3%+琼脂4.5 mg/L, pH5.8; 生根培养: MS+BA0.07 mg/L+IBA0.15 mg/L+IAA0.1 mg/L+活性炭0.1 g/L+白糖3%+琼脂4.5 mg/L, pH5.8。分析了外植体培养过程中可能出现的不良状况的原因并提出预防措施, 明确了炼苗移栽的适宜条件并制定出相应的管理方法。形成了一套较为完整的罗汉果组培苗繁殖生产技术规程。

关键词: 罗汉果; 组培繁殖; 技术规程

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)06-0827-05

Technology procedure of tissue culture and propagation of *Siraitia grosvenorii*

JIANG Shui-Yuan¹, JIANG Jian-Gang², LI Feng¹, QIN Ji-Sheng²,
LIU Feng-Ying², HUANG Zheng-Yan²

(Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Sciences,
Guilin 541006, China; 2. Guilin Sunnylife Modern Bio-Tech INC., Guilin 541004, China)

Abstract: The primarily technology of tissue culture and propagation of *Siraitia grosvenorii* was reported, contains the condition of tissue culture, confection of medium, selection and sterilization of explant, inoculation and culture, preservation of superior provenance, hardening-seedling and transplanting, plant pack and transportation. And 5 kinds of referenced medium were reported too. The medium of induced stem was MS+BA0.5~1.0 mg/L+IAA(NAA)0.05~0.1 mg/L+sugar 3%+agar 4.5 g/L, pH5.8. The medium of induced stem apex was MS+BA0.5~1.0 mg/L+NAA0.05~0.1 mg/L+coconut milk 100 mL+sugar 3%+agar 4.5 mg/L, pH5.8. The medium of subculture of fasciculate bud was MS+BA0.3~0.7 mg/L+NAA0.05/IAA0.1 mg/L+sugar 3%+agar 4.5 mg/L, pH5.8. The medium of subculture of cutting was MS+BA0.1 mg/L+IAA0.3 mg/L+active carbon 0.07 g/L+sugar 3%+agar 4.5 mg/L, pH5.8. The rooting medium was MS+BA0.07 mg/L+IBA0.15 mg/L+IAA0.1 mg/L active carbon 0.1 g/L+sugar 3%+agar 4.5 mg/L, pH5.8. On the other hand, the cause of ill phenomenon in the process of tissue culture was analyzed, preventive measure was put forward. And feasible condition of hardening-seedling and transplanting was clear, the relevant manage method was formed. The integrated technology procedure of tissue cultured plantlets of *S. grosvenorii* was established.

Key words: *Siraitia grosvenorii*; tissue culture and propagation; technology key points

收稿日期: 2007-09-21 修回日期: 2008-03-28

基金项目: 广西科技攻关项目(0630002-3F); 桂林科技攻关项目(20060101-1); 国家科技支撑计划项目(2006BAI06A11-01)[Supported by Key Technologies Research and Development of Guangxi(0630002-3F); Supported by Key Technologies Research and Development of Guilin(20060101-1); Supported by National Key Technology R&D Program(2006BAI06A11-01)]

作者简介: 蒋水元(1972-), 男, 广西全州人, 副研究员, 从事中药材良种繁育研究。

罗汉果(*Siraitia grosvenorii*)属葫芦科多年生草质藤本植物,其果实是我国著名的中药材和传统的出口商品。20世纪80年代以来,前人对罗汉果的组织培养技术已有较系统而深入的研究,从胚轴、茎尖、茎段、叶片均已获得再生植株(林荣等,1980,1981;邹琦丽等,1989;桂耀林等,1984;苏明申等,2002);用热处理和微茎尖进行了脱除花叶病毒的研究(林治良等,1995);通过增殖培养基和培养温度、光强的优化,开展了脱毒苗的快速繁殖研究(杭玲等,1999;付长亮等,2005)。近年来,从事罗汉果工厂化育苗的企业已达十余家,分布于桂林、南宁、柳州和武汉等地,组培苗栽培面积达3万余亩,年供苗量300~500万株。罗汉果组培苗相对于传统压蔓繁殖的薯苗表现出了繁殖系数高、不携带病毒、生长势强、适应性较广等优势,推进了罗汉果种植业的发展。但是不同公司或批次的苗木存在着定植成活率、开花结果株率等方面的不稳定性,造成了不同程度的经济损失,增加了种植风险,并对整个罗汉果产业持续发展产生了不良影响。当前,为了实施组培苗标准化工程,规范种苗市场,适应罗汉果规范化生产要求,本文试对罗汉果组培苗繁殖技术的几个要点提出建议,以期对罗汉果种苗的标准化和市场的规范化提供依据,并为罗汉果分子育种、细胞育种等现代技术的深入开展提供基础。

1 总则

繁殖罗汉果组培苗,应在具备洁净、无菌、调光、控温、除湿条件的组培室进行;应选择性状优良,无病虫害的健壮植株作为外植体,经灭菌、脱毒处理后才能进行诱导培养扩繁;通常增殖培养不超过6倍,继代培养不超过12代。培养基的激素浓度以增殖和生根培养时不产生丛生芽为准,确保种苗的遗传稳定性;瓶苗要移至温室大棚内炼苗,才能转至营养杯内培养;温室大棚应具备控制温度、光照、喷淋的条件,移栽所用的基质须经消毒灭菌、灭虫处理。所生产的组培苗应长势健壮,根系发达,经检验不带病虫害后才能供应市场。

2 组培室应具备的条件

组培室应建在采光好、干燥洁净、空气流通的地方。有配套的洗涤室、药品储藏室、称量室、培养基

配制室、灭菌室、更衣室、接种室、培养室。杜绝一切与组培无关的物品进入组培室。(1)洗涤室:主要是用来清洗组培用的各种玻璃仪器,和临时放置清洗好的玻璃仪器的地方。应具备供水设施、洗涤池、洗涤设备、洗涤剂 and 洗涤工具,还应设置有放器皿的架子。(2)药品储藏室和称量室:药品储藏室和称量室可设在同一间室内,要求通风、干燥、避免阳光直射,室内有存放各种药品试剂的药品柜、冰箱,有固定的平台置放电子天平,配有电源插座。(3)培养基配制室:培养基配制室是进行培养基配制、分装的场所。要求有各种试管、烧杯、量筒、吸管等玻璃仪器,有操作台以及放置器皿的各种橱柜、纯净水处理器、供水、排水设施。(4)培养基灭菌室:配制分装好的培养基都要在灭菌室经高温、高压灭菌后才能进行材料接种。室内要有灭菌消毒用的方型卧式高压灭菌锅或手提式灭菌锅、运送培养基的推车,供水、排水设施。(5)更衣室:是工作人员更换经消毒的工作服、鞋、帽子、口罩,进入组培室的过渡空间,应安装紫外灯、挂钩、橱柜,门口安装风帘装置。(6)无菌接种操作室:是材料分离、转接的场所,室内要随时保持干净无菌。安装滑动门以免造成空气流动过快引起污染,安装紫外灯照射灭菌,安装排风装置、空气净化器,确保室内空气及时更新。室内放置有超净工作台,器械灭菌器、冷暖空调、抽湿机、接种用的小推车,装有酒精的瓶子,接种刀、剪刀、镊子等接种工具。为避免工作人员进出时带进杂菌,进出接种间要随手把门关上。接种间要定期用紫外灯和空气净化器进行灭菌。(7)培养室:是将接种到培养容器的培养材料进行培养的场所,要求洁净无菌。同时还需要考虑温度、湿度和光照的影响,培养室的温度应保持在24~28℃,光照强度在 $18\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 以上。湿度控制在60%左右,室内必须设有培养架,培养架设计5~7层,每层间隔30cm左右,在每层的上方安装日光灯供培养材料采光。室内还应安装有空调、吊扇、抽湿机、空气消毒净化机。

3 培养基

诱导、增殖、生根的配方各异,要根据材料需要和工作环节来确定。初代培养时激素浓度应能让茎尖诱发丛芽,茎段诱发单芽。在继代培养时看苗的长势调节生长素和细胞分裂素的浓度来达到所要的增殖倍数,控制好苗的长势。各类培养基的参考配

方如下:茎段诱导培养:MS+6-BA0.5~1.0 mg/L+IAA(NAA)0.05~0.1 mg/L+蔗糖 3%+琼脂 4.5 g/L,pH5.8;茎尖诱导培养:MS+6-BA0.5~1.0 mg/L+NAA0.05~0.1 mg/L+椰子水 100 mL+蔗糖 3%+琼脂 4.5 mg/L,pH5.8;继代培养(丛生芽方式):MS+6-BA0.3~0.7 mg/L+NAA0.05/IAA0.1 mg/L+蔗糖 3%+琼脂 4.5 mg/L,pH5.8;继代培养(微型扦插方式):MS+6-BA0.1 mg/L+IAA0.3 mg/L+活性炭 0.07 g/L+蔗糖 3%+琼脂 4.5 mg/L,pH5.8;生根培养:MS+6-BA0.07 mg/L+IBA0.15 mg/L+IAA0.1 mg/L+活性炭 0.1 g/L+蔗糖 3%+琼脂 4.5 mg/L,pH5.8。

4 外植体

(1)植株的选择:在罗汉果无检疫性病虫害的 original 种苗圃或果园内,选择无病虫害、性状优良的罗汉果植株为采集对象。(2)取材前的准备工作:用 75% 的酒精消毒剪刀;准备装材料的保鲜膜、保温容器、保温材料(冰袋,冰块)和标签。(3)外植体的采集:在罗汉果生长旺盛期选择在晴天的上午 10:00 以前采集外植体,在采集的头天下午及采集的前 2 h,对选定好的植株用杀菌剂喷雾灭菌。选取长势强壮,无病虫害,已现蕾的嫩枝 20~30 cm,剪除部分叶子保留叶柄,整齐放入保鲜袋内封口,然后放入已放置冰块或冰袋的保温容器中,材料与冰块之间用纸隔开,避免冻伤材料,并要防止冰块融化的水进入保鲜膜内。以最快的方式运回组培室进行消毒灭菌。取材时需要两人以上配合工作,一人取材料,一人随时把所取的材料挂好标签,做好记录。包括品种名称、种植地点、种植户、海拔高度、田间环境简况、取材时间、取材人等,以便跟踪观察。(4)外植体消毒灭菌:茎段消毒灭菌:把取回的材料直接拿回实验室,冲洗干净,用手术刀把多余的叶子切去,再切成 3~5 cm 带腋芽的茎段,按老嫩程度分别放入灭菌过的玻璃瓶内,每瓶材料所占空间不超过瓶子容积的 1/3。再放入 0.1% 升汞溶液放在振荡器上进行振荡消毒 6~8 min。然后用无菌水冲洗四次以上。茎尖消毒灭菌:将茎尖取 0.5 cm 长剪下,放在另一灭菌好的无菌瓶中用 0.1% 升汞消毒 3 min,无菌水冲洗 4 次以上。消毒液液必须加“吐温-80”等表面活性剂,以加强消毒效果。在消毒和冲洗过程中要不断摇动。用升汞消毒时注意带上防护胶手

套,手不能与升汞直接接触以免对人体造成伤害。

5 接种

茎段接种:将灭菌好的茎段切成 1~2 cm 长的带芽茎段,用镊子夹起斜插入诱导培养基上,腋芽朝上,尽量让腋芽刚好与培养基表面接触,拧紧瓶盖。及时放入培养室进行暗培养。茎尖接种:将消毒好的茎尖放在解剖镜上,用解剖刀进行剥离,切取 0.2 mm 长茎尖放入瓶中的诱导培养基表面,盖好瓶盖。瓶盖不可盖得太紧,应留有空气交换的余地。及时放入培养间进行暗培养。

6 培养

6.1 诱导培养

从外界取回的外植体经灭菌处理和剪切后,把茎段和茎尖接种在诱导培养基中,放入培养间暗培养一周左右,当外植体材料长出无菌芽后每天给予一定的光照,无菌芽长到相当高度时剪成带一个腋芽的茎段接种于继代培养基中,茎尖接种于诱导培养基中。在接种 3~5 d 后检查培养材料有无真菌和细菌污染。待苗长出 3 片以上功能叶时进行是否带毒检测。及时清除带病小苗。茎尖长势太慢时,应及时的变换配方诱导出芽。

6.2 继代培养

把诱导培养的材料剪取每个节间及顶芽用微型扦插的方法转入增殖培养基中。在暗室培养 5~7 d 长出愈伤组织和芽 1~1.5 cm 时逐渐加强光照,每天开荧光灯照射 1~2 h,在材料长至 2~3 cm 时每天光照 4~5 h,当材料达到所需高度时,每天光照 10 h,强度为 $36 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。培养间的温度应白天保持在 24~28 °C,夜间保持在 20~24 °C。当苗势弱时,应马上进行转接,并适当加大激素浓度。

6.3 生根培养

把继代培养好的材料剪取每个节间及顶芽用微型扦插的方法接入生根培养基后,放入暗室中带盘堆放 5 d,翻堆清除污染苗,再培养 3 d,待其根系长出时移至培养架上摆放,根据苗的长势,逐步加强光照,至叶绿茎粗。培养前期温度白天保持在 30 °C 左右,夜间保持 20~24 °C,以利根原基的形成。当苗高达 3 cm 以上时,逐步降低培养间温度至 15 °C,再把苗移至大棚炼苗。

7 培养过程中不良状况及其改进措施

7.1 诱导培养阶段

培养物水浸状、变色、坏死、茎段面附近干枯。可能因为表面杀菌过量、消毒时间过长,外植体选用不当,应选择其它杀菌剂或降低浓度、缩短消毒时间、选择适当外植体。培养物长期无反应。可能是基本培养基不适应,生长素不当或用量不足温度不适宜,应采用正交实验法筛选适宜培养基。

7.2 继代培养阶段

苗分化数量少、生长速度慢、分枝少。可能是由于细胞分裂数用量不足,温度偏高、光照不足。苗生长慢、畸形、节间极短、苗丛密集。多缘于细胞分裂数用量过大、温度不适宜造成。苗分化率低、畸形、愈伤组织化。常与生长素用量偏高、温度偏高有关。预防措施:选择适当的培养基,调节好分裂素和生长素的比例,选择瓶苗长势旺盛时期转接,给予适宜的光照、温度条件。

7.3 生根培养阶段

培养物久不生根,基部切口没有适宜的愈伤组织。可能因为生长素种类用量不适宜,pH值不适宜,无机盐浓度及配比不当等原因。愈伤组织生长过快、过大、根茎部肿胀或畸形,几条根并联或愈合。可能因为生长素种类不适或用量过高、细胞分裂素用量过高,植物体材料和pH值不适宜。预防措施:选择适当生根培养基,在瓶苗旺盛时期转入生根,在生根前一次培养降低激素浓度适当给予瓶苗暗培养一段时间。

7.4 真菌污染

在培养基表面或培养物上出现黄、黑、白等霉状物或粉状物属真菌污染。出现真菌污染一般与培养材料本身、接种人员操作及接种空间有关。预防措施:选择正确的采集时期、规范工作人员的操作、严格控制接种空间的洁净度,减少真菌污染。如有发现应及时处理,以免污染空间;诱导培养时要选择正确的消毒剂和掌握消毒时间。

7.5 细菌污染

在培养基表面出现白色脓状黏状液属细菌污染。一般与接种人员呼吸、器具消毒不彻底、材料本身带菌有关。预防措施:工作人员在操作过程中不得交头接耳说话、接种工具每用一次消毒一次、穿好工作服,必要时,外植体消毒加200 mg/L浓度的硫

酸链霉素浸泡培养材料3~4 min。

7.6 玻璃化

试管苗叶、嫩梢呈水晶透明或半透明、水浸状、植株矮小肿胀、失绿、叶片卷曲、畸形、脆弱易碎,在培养过程中称为生理失调,也称为玻璃化。发生玻璃化苗与温度、琼脂、蔗糖、6-BA浓度有关。预防措施:增加琼脂浓度、降低6-BA浓度、避免过高的培养温度、增加自然光照。

7.7 褐变

由于组织中的多酚氧化酶被激活,使细胞代谢发生变化。酚类物质被氧化后产生的醌类物质颜色为棕褐色,它们会逐渐扩散到培养基中,抑制其他酶的活性,毒害培养基的材料。褐变的影响因素是复杂,随植物种类、基因型外植体的部位及生理状况、培养基浓度、成分、培养时间过长等不同而危害的过程也有区别。罗汉果一般嫩梢易变褐。预防措施:选择适当的外植体和培养条件,选择抗氧化剂(抗坏血酸、PVP等)连续转接。

8 种源的保存

用同一茎尖所产种苗扩繁,才能保持种性一致;育成的组培苗经试种成功后才能大面积推广。而初代培养需时过长、当年很难实现规模化生产,所以必须将头年取的外植体没经过扩繁的,继代数1~2代的无菌苗作为种源保存到第二年使用。(1)小筒培养法:用草炭、蛭石、珍珠岩各1/3拌匀,淋入1/5MS+NAA0.1营养液,湿度以抓起来成团不散为标准,后装入培养杯中,经过高温灭菌冷却之后再将要保存的已生根种源接种在里面。让其缓慢生长,以减少保存代数,保持种源的遗传稳定性。(2)低温保存法:利用低温把需要做种的品种放在温度较低和干燥的地方,使其在低温阶段处于休眠状态抑制其生长,等到需要扩繁时再把温度慢慢的提高,恢复了正常生长状态后再进行扩繁。

9 炼苗与移栽管理

罗汉果组培苗应在温室大棚内炼苗,然后移栽至营养杯培养,根多苗壮后才能供应市场。(1)选址:温室大棚应选择背风向阳、地势高、供排水良好、便于管理、交通方便、无任何污染的地方构建。(2)大棚设备:温室大棚应采用透光性强、保温性好

的塑料薄膜或阳光板作为覆盖材料。棚内应有配套的喷淋设备、控温设备、调湿设备、遮阳设备、防虫网。大棚及棚内设施,要在 12 月初构建完毕。(3) 苗床的构建:苗床宽 1.2 m,高于地面 10 cm,各苗床之间应留有 0.3 m 宽的工作通道。苗床表面铺一层隔离物(煤渣、板材)将营养杯与地面隔开,避免苗床积水以及线虫危害。加温设施的管线放在隔离物下面,苗床每亩撒用 400 kg 石灰消毒。于元月初应完成本项工作。(4) 基质准备:1 月 15 日前取土质疏松、透气、透水、肥效好的水库泥与鸡粪生物肥充分拌匀制作营养土(比例为 7:3),保证土壤湿度在 60% 以内,避免结块。用板材做成多孔模具装杯,摆放整齐,数量一致,提高工作效率。定植前 5 天再用生物类制剂按比例兑水浇透营养杯土,消毒灭菌,杀灭线虫。(5) 灭菌:大棚密闭用熏蒸剂消毒处理。(6) 炼苗:二月上旬将瓶苗移进大棚,按一定距离摆放在大棚里进行为期 15 d 的炼苗,避免强烈阳光直射,避免过高、过低温度的出现,让其逐步适应自然条件。在移栽前 3 d 将瓶盖打开,用杀菌剂对小苗喷雾。防止小苗受细菌、真菌的危害而染病。移栽的前一天给瓶苗内淋入少许纯净水使培养基软化。(7) 移栽:用镊子将瓶苗夹入水盆中,用吸水球将根部黏附的培养基清洗干净,按高度将种苗分等级放开,栽种不宜过深,以固定好植株不倒,根不外露为宜。栽种做到根土密接,浇透定根水。苗床每隔 1 m 撑一根骨架。用塑料薄膜覆盖成小拱棚,薄膜 4 周压实,大棚用遮阳网遮阴,避免光照过强灼伤幼苗。(8) 温度管理:前期室内温度保持在 24~30 ℃。白天温度控制在 35 ℃ 以下。温度过高时启动降温设备,并将小拱棚开口通风。夜间保持 20 ℃ 左右,最低不低于 5 ℃。为保证室内温度变化平缓,低温天气应加温。后期应去掉小棚,去掉大棚遮阳网,让其适应外界气温变化。温度过高时采取通风降温措施。(9) 湿度的管理:苗床以控为主,幼苗移栽后维持在相对湿度为 80% 环境中,发现基叶片较干时,可进行适当的喷雾,在定植后的 7 d 内应苗床密闭,此后可逐渐多开口通风、或使用抽湿机降低湿度,后期揭开小棚适应外部环境。(10) 光照的管理:保持大棚薄膜的清洁,增加透光度。前期要拉上遮阳网,避免阳光直射。在确保苗床温度的前提下,小拱棚中期要少揭多盖。后期全部揭开小拱棚、去掉大棚遮阳网,延长光照时间,增加光照强度。(11) 水肥管理:度过缓苗期后,用叶面肥、稀土微肥交替喷淋,每

隔 7 d 一次。无论人工、半自动喷灌都要求喷洒均匀,水滴成雾状,避免过大水滴击伤幼苗或冲走营养土。20 d 左右,待新根新叶长出后补充硼、钙肥。应将死苗、病株及时剔除,及时补苗。(12) 病虫害的管理:密切注意温度、湿度和光照的变化,防止高温高湿引起病害。每隔 7 d 喷施 50% 的多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液或 1 000 倍猝枯灵。视苗的状态喷施霜霉威、广枯灵、翠贝防治炭疽病,疫病、霜霉病。视虫害情况喷施富华农叶面清洁剂,防治害虫。

10 装筐出苗

育苗时间达到 45 d 以上时(一般为 4 月上旬),将茎秆粗壮、叶色浓绿的健康苗按高矮分别装入竹筐或塑料筐,每筐苗数一致,及时浇透水,做好种子标签,运输前做好植物检疫,手续随车同行。运输车应有车箱遮避风雨,运输宜在夜间进行,避免高温烧苗。

参考文献:

- Fu CL(付长亮), Ma XJ(马小军), Bai LH(白隆华), et al. 2005. Rapid propagation of *Momordica grosvenorivir* free plantlets (罗汉果脱毒苗的快速繁殖研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs* (中草药), 36(8): 1 225—1 229
- Gui YL(桂耀林), Gu SR(顾淑荣), Xu TY(徐廷玉), et al. 1984. Organogenesis of leaf explants of *Momordica grosvenori* in vitro (罗汉果叶组织培养中的器官发生)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), 26(2): 120—125
- Hang L(杭玲), Chen LJ(陈丽娟), Chen SZ(陈少珍). 1999. A rapid propagation technique of de-virus shoot tip of *Thlactiantha grosvenorii*(罗汉果茎尖脱毒快繁技术)[J]. *Southwest China Agric Sci*(西南农业科学), 12(3): 125—127
- Lin ZL(林治良), Chen ZG(陈振光). 1995. The culture of *Siraitia grosvenorii* Mosaic disease free plant(罗汉果无花叶病苗的培育)[J]. *Fujian Agric Univ*(福建农业大学学报), 24(2): 162—166
- Lin R(林荣), Wang RZ(王润珍). 1980. In vitro culture of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果组织培养获得完整植株)[J]. *Guihaia* (广西植物), (1): 11
- Lin R(林荣), Wang X Q(王秀琴). 1981. Tissue culture of leaf of *Siraitia grosvenorii*(罗汉果叶组织培养的研究)[J]. *Guihaia* (广西植物), 1(1): 18—24
- Su MS(苏明申), Lin SQ(林顺权), Chen ZG(陈振光), et al. 2002. The tissue culture of *Momordica grosvenori*(罗汉果的组织培养)[J]. *South China Fruits*(中国南方果树), 31(3): 43—44
- Zhou QL(周琦丽), Lin R(林荣). 1989. The callus and axillary shoot formation of *Luohanguo* in vitro(罗汉果组织培养中的愈伤组织和腋生枝的形成研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), 9(2): 103—104