

金芪降糖片样品中绿原酸量的80%、100%、120%，然后按“2.4”项下方法提取，并测定，以外标法计算绿原酸的量，得回收率为100.22%，RSD为1.88%。

2.11 金银花药材及金芪降糖片中绿原酸的测定

2.11.1 金银花药材中绿原酸的测定

取不同批号的金银花粉末(过40目筛)0.5g，分别依照“2.3”项下方法提取，在“2.1”项色谱条件下测定，以外标法计算金银花药材中绿原酸的量，结果见表1。

表1 不同批号金银花药材中绿原酸的量(n=3)

批号	绿原酸/(mg·g ⁻¹)
J060615	25.55
J060703	24.50
J060623	24.74

2.11.2 金芪降糖片中绿原酸的测定

取不同批号的金芪降糖片各20片(每片0.42g)，分别按照“2.4”项下方法处理，在“2.1”项色谱条件下测定，以外标法计算金芪降糖片中绿原酸的量，结果见表2。

表2 不同批号金芪降糖片中绿原酸的量(n=3)

批号	绿原酸/(mg·片 ⁻¹)
0610052	8.964
0610054	8.668
0610058	8.696

3 讨论

在实验中发现，绿原酸对照品溶液、金银花药材

提取液、金芪降糖片提取液的稳定性均较差，若放置时间较长或温度过高，会产生分解，使绿原酸的量发生变化，因此在配制相关对照品及供试品时，选用棕色量瓶，避免光照，并在配制后保存于低温条件下，目的在于提高绿原酸在供试品溶液中的稳定性，使之在较长时间内保持稳定。

实验过程中，考察了不同流动相系统对样品的分离效果，如甲醇-水、乙腈-水等。结果显示，以乙腈-0.4%磷酸溶液(13:87)作为流动相分离效果最好，检测波长:327nm;柱温:35℃。此方法专属性强，峰形好，分离度高，实验显示该测定条件也适合金芪降糖片中绿原酸的测定。

以上实验结果表明，本测定方法简便易行，重现性好，为金银花和金芪降糖片的质量控制提供了客观的定量评价方法。

参考文献

- [1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学出版社, 1985.
- [2] 徐国钧, 黄泰康, 丁志遵, 等. 中药辞海[M]. 北京:中国医药科技出版社, 1999.
- [3] 刘明斌, 童巧珍, 谢振宇. HPLC法测定金银花中绿原酸的含量[J]. 医学临床研究, 2006, 23(5): 759-760.
- [4] 曾晓英, 倪龙, 王宝琴. 金银花药材及其制剂中绿原酸的含量测定方法研究[J]. 中国药品标准, 2002, 3(1): 19-22.

(收稿日期 2009-02-13)

莫邪菊的离体培养研究初报

彭晓英¹, 彭尽晖³, 张良波², 黄圣卓¹, 周朴华¹

(1 湖南农业大学生物科学技术学院, 湖南长沙 410128; 2. 湖南省林业科学院, 湖南长沙 410004;

3. 湖南农业大学园艺园林学院, 湖南长沙 410128)

摘要:目的 为建立莫邪菊的离体培养体系。方法 以成熟果实中的种子为外植体, 探讨不同生长调节剂对离体培养中愈伤组织诱导、不定芽的分化和试管苗生根的影响。结果 培养基配方为 MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L 时, 种子破壳萌发率为 70%, 胚轴处愈伤组织诱导率为 100%; MS+6-BA 2.0 mg/L 为合适的丛生芽诱导和增殖培养基配方, 培养基为 MS0 时生根率为 95%, 生根效果好且配方简单, 移栽的试管苗成活率可达 95%。
结论 该试验建立的离体培养体系可用于莫邪菊的离体培养。

关键词:莫邪菊; 离体培养; 愈伤组织; 不定芽; 种子

中图分类号: S336

文献标识码: A

文章编号: 1674-5515(2009)04-0240-04

Primary study on *in vitro* culture of *Carpobrotus edulis*

PENG Xiao-ying¹, PENG Jin-hui³, ZHANG Liang-bo², HUANG Sheng-zhuo¹, ZHOU Pu-hua¹

(1. Bioscience and Biotechnology College, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Hunan Academy of Forest, Changsha 410004, China; 3. College of Horticulture and Gardening,

Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

Abstract: Objective To establish an *in vitro* culture system for *Carpobrotus edulis* L. **Methods** Using *C. edulis* L. seeds in ripe fruits as explants, explore the effects of different plant growth regulators on callus induction, adventitious buds differentiation, and rooting *in vitro*. **Results** When the media was MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L, the germination rate was 70%, and callus induction rate was 100%. The optimum media for caespitose buds induction and proliferation was MS+6-BA 2.0 mg/L. Both plantlets rooting rate and survival rate reached 95% when cultured on simple medium MS0. **Conclusion** The established *in vitro* culture system can be used for *C. edulis* L.

Key words: *Carpobrotus edulis* L.; *in vitro* culture; callus; adventitious buds; seeds

莫邪菊为番杏科(Aizoaceae)日中花属(*Mesembryanthemum* L. sensu lato)多年生多肉植物,又名酸果(sour fig)、霍顿督果(hottentots fig)、海滨苹果(pigface)和冰草(ice plant)等。该植物原产非洲,现被广泛引入美国、英国的海滨和地中海沿岸栽种。莫邪菊叶肥厚多汁、叶形奇特,花色鲜艳多样,在某些干旱地区常被栽培,作为多肉观赏植物;其叶和果除观赏外还可代替菠菜作沙拉食用。其叶和果实还具有重要的药用价值和保健功能:叶中的汁液具收敛性和一定的防腐作用,与水混合食用可治腹泻、痢疾、胃痛和便秘等肠道疾病,口含用于减轻喉炎、咽喉肿痛和唇部感染,外敷可以缓解蚊虫叮咬、皮炎、湿疹等皮肤病,治疗烧伤、砍伤等^[1-2]。果实制成的糖浆可以减轻疲劳和压力。尽管在某些地区(如美国的加州海岸),莫邪菊因繁殖能力极强而被视为入侵植物,但是莫邪菊仍不失为一种极好的贮水地被植物,可有选择性地种植于一些少有植物生长的沙漠荒丘和堤坝上用于防风固堤,还可种植于干旱地带的家居庭院周围作为防火墙。因此,莫邪菊离体培养体系的建立将为莫邪菊在我国的引种栽培和药用成分的提取及开发提供材料并奠定基础。目前番杏科植物的离体培养只见有关冰叶日中花 *M. crystallinum* 的细胞悬浮培养^[3]和离体再生体系建立^[4]的研究,而莫邪菊的离体培养及细胞培养未见报道。

1 材料与试剂

莫邪菊 *Carpobrotus edulis* L. 采自希腊爱琴海沿岸生长的莫邪菊成熟果实中的种子,经湖南农业大学蒋道松教授鉴定。

实验所用主要试剂:2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D);6-苄氨基嘌呤(6-BA); α -萘乙酸(NAA);升汞($HgCl_2$)均为化学纯;MS培养基为配制的 Murashige 和 Skoog 培养基,1/2 MS 即 MS 的大量元素减半而配制的培养基。

2 方法与结果

2.1 培养条件

2.1.1 愈伤组织诱导培养基

添加不同浓度的 2,4-D 和 6-BA 的 MS 基本培养基,蔗糖浓度为 3%,琼脂浓度为 0.65%,观察植物生长调节剂对莫邪菊种子萌发和愈伤组织诱导的影响。结果见表 1。

表 1 植物生长调节剂对莫邪菊种子萌发和愈伤组织诱导的影响

培养基号	浓度/(mg·L ⁻¹)		接种外植体(种子)数	种子萌发数	形成愈伤组织种子数	愈伤组织诱导率/%
	2,4-D	6-BA				
1	0	0	50	18	0	0
2	0	1	50	24	0	0
3	0	2	50	40	0	0
4	1	0	50	28	17	60.7
5	2	0	50	30	30	100
6	2	0.2	50	35	35	100
7	2	1	50	36	33	91.7

2.1.2 丛生芽诱导培养基

添加不同浓度 6-BA 的 MS 基本培养基,蔗糖浓度为 3%,琼脂浓度为 0.65%,观察 6-BA 对莫邪菊愈伤组织分化丛生芽的影响。结果见表 2。

2.1.3 生根培养基

添加不同浓度 NAA 的 MS 和 1/2MS(除铁盐浓度不变外,其他成分浓度减半)基本培养基,蔗糖

浓度为1.5%,琼脂浓度为0.65%,温度为(26±2)℃,光照时间为12 h/d,光照强度为1 500~200 0 Lx,观察不同培养基对莫邪菊试管苗生根和移栽的影响。结果见表3。

表2 6-BA对莫邪菊愈伤组织分化丛生芽的影响

培养基号	6-BA 浓度/ (mg·L ⁻¹)	愈伤组织数	分化丛生芽 愈伤组织数	丛生芽分 化率/%	增殖 系数
1	0	50	0	0	0
2	1	50	33	66	1.32
3	2	50	50	100	3.5
4	3	50	50	100	3.8
5	4	50	50	100	3.7

表3 不同培养基对莫邪菊试管苗生根和移栽的影响

培养基号	培养基配方	无根苗接种数	生根试管苗数	生根率/%
1	1/2MS0	40	36	90 [#]
2	MS0	40	38	95
3	MS+NAA 0.5 mg/L	40	38	95
4	MS+NAA 1 mg/L	40	38	95

2.2 生长与分化情况

2.2.1 无菌材料的获得

将成熟的莫邪菊果实先用70%乙醇处理30 s后,再用0.1%升汞消毒8 min,无菌水冲洗5次后,切开果实,将其中的种子接种到各诱导培养基1中,每瓶接种5粒,每次处理10瓶。该消毒方法使种子的污染率为5%。5 d后多粒种子陆续破壳萌动,伸出两片亮绿色的子叶,子叶基部的胚轴处膨大,继续培养后长出许多浅黄色蓬松的愈伤组织(图1),15 d后即可转入到新鲜的培养基1中。表1结果显示,6-BA能促进种子的萌发,浓度为2.0 mg/L时种子的萌动率为80%;而2,4-D则对胚轴处愈伤组织的诱导有促进作用。当培养基为MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L时,种子破壳萌动率为70%,胚轴处愈伤组织诱导率为100%,故该培养基为适宜的愈伤组织诱导培养基。其中愈伤组织诱导率为形成愈伤组织的种子数/萌发的种子数×100%。

2.2.2 丛生芽的诱导

将增殖培养的大块疏松愈伤组织分别切割并转移至分化增殖培养基2中,14 d后,愈伤组织上分化绿色的芽点(图2),并长成丛生芽(图3)。丛生芽分化的结果见表2,随着6-BA浓度的增加,丛生芽的分化率提高,增殖系数也随之增加,但当浓度超过2 mg/L时,分化的丛生芽出现叶片畸形和玻璃化现象,故MS+6-BA 2.0 mg/L为合适的丛生芽诱导和增殖培养基。丛生芽分化率为100%,增殖系数为3.5。继代3次后,增殖能力无下降趋势。

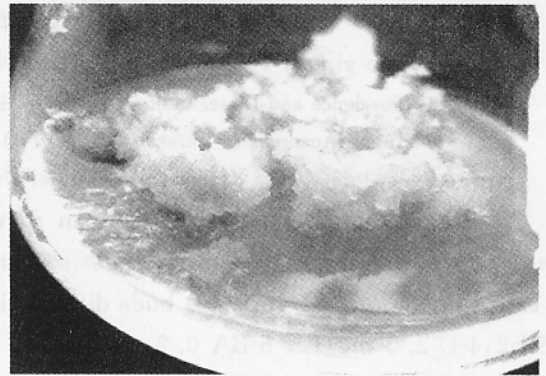


图1 莫邪菊愈伤组织的诱导与增殖



图2 莫邪菊丛生芽的分化



图3 莫邪菊丛生芽的增殖

2.2.3 试管苗的增殖

将具丛生芽的愈伤组织团块切割并转移至新鲜的分化增殖培养基2中,愈伤组织上可继续分化新的绿色芽点,并长大成苗。

2.2.4 生根培养与移栽

将高2.0 cm的丛生芽从茎基部切下,把无根苗转接至生根培养基3、4、5上进行培养,7 d后开始发根。结果如表3所示。其中以培养基3和4上诱导的根最多,生根率达95%,但发出的新根过于粗壮,移栽时容易腐烂;培养基2的生根率为95%,且诱导的根较粗壮,容易成活(图4);培养基1的生根率为90%,诱导的根较粗壮,容易成活。综合考虑,培



图4 莫邪菊试管苗的生根

培养基为MS0时生根效果好,且配方简单,节约成本。待根长至2.0~3.0 cm时,打开瓶盖,室内自然光照下炼苗1 d后可将小苗取出,用自来水冲洗掉附着在苗根部的培养基,再放入装有少量自来水的培养瓶中培养4 d,待小苗根部发出白色新根后移栽入沙土中培养,注意保持沙土的湿润,但空气湿度不能过大,且不能叶面喷水,否则叶片易腐烂(图5)。按此方法移栽的试管苗成活率可达95%。

3 结论

本试验结果表明:培养基配方为MS+2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L时,种子破壳萌发率为70%,胚轴处愈伤组织诱导率为100%;MS+6-BA 2.0 mg/L为合适的丛生芽诱导和增殖培养基;培养基为MS0时生根率为95%,移栽的试管苗成活



图5 莫邪菊试管苗的移栽

率为95%。这就说明试验中建立的离体培养体系可用于莫邪菊的离体培养。

参考文献

- [1] van der Watt E, Pretorius J C. Purification and identification of active antibacterial components in *Carpobrotus edulis* L. [J]. J Ethnopharmacol, 2001, 76(1):87-91.
- [2] Roberts M. Indigenous healing plants [M]. South Africa: Halfway House, 1990.
- [3] Meiners M S, Thomas J C, Bohnert H J, et al. Regeneration of multiple shoots and plants from *Mesembryanthemum crystallinum* [J]. Plant Cell Rep, 1991, 9(10): 563-566.
- [4] Thomas J C, DeArmond R L, Bohnert H J. Influence of NaCl on growth, proline, and phosphoenolpyruvate carboxylase levels in *Mesembryanthemum crystallinum* suspension cultures [J]. Plant physiology, 1992, 98(2): 626-631.

(收稿日期 2009-03-30)

关于召开“第5届华人药师临床药学专题研讨会”征文的通知

由《中国新药与临床杂志》社主办、上海市药学会协办的“第5届华人药师临床药学专题研讨会”拟于2009年11月下旬在上海市召开。届时将邀请国内各省市和我国台湾、香港地区,以及欧美、新加坡等地区的医学家、药学家参加此次大会,并进行精彩的学术报告和学术交流。热烈欢迎所有相关领域的专家学者和同道踊跃投稿并参加会议,现将征文相关事项通知如下:

1 会议主题:抗肿瘤药物临床药学监护实践

2 征文内容:(1)抗肿瘤药物静脉注射液配制要求与管理;(2)抗肿瘤药物品种配制的配伍及稳定性;(3)抗肿瘤治疗方案的解读;(4)各种新问世抗肿瘤药物的介绍;(5)抗肿瘤药物治疗的新思维与进展;(6)药师在姑息疗法中的作用与地位;(7)抗肿瘤药物临床药学监护实践。

3 论文要求:未在国内外公开刊物上发表的论文。论文要有创新性,引证资料可靠。字数一般在5000字以内,并附400字以内的摘要。请务必附通讯地址、联系电话、手机、E-mail,以便及时联系。论文入选后,将统一编印论文集。

4 论文截止日期:2009年9月15日。

5 投稿方式:本次大会只接收网上投稿收集论文,E-mail:xyylc_tougao@126.com,来稿请注明“CCPF会议投稿”。

6 联系方式:《中国新药与临床杂志》编辑部,电话:021-61673763(办),E-mail:xyylc_ldl@126.com

《中国新药与临床杂志》编辑部