

A Study on Rooting of Cuttings of Maire Yew (*Taxus chinensis* var. *mairi*) in Greenhouse

Wang Zhezhi, Sun Jun, et al

The highest rooting rate was obtained from the annotinous tillering shoots of *Taxus chinensis* var. *mairi*, but this kind of shoot was too scanty to be used as a source of cutting for rapid propagation. On the contrary, numerous annotinous lateral shoots were easy to obtain. The effects of different cutting beds and plant growth regulators on the rooting of annotinous lateral shoots were studied. It was found that more than 60% of rooting cuttings could be obtained on the loam : verculite = 1 : 1 cutting bed supplemented with 50 mg/L NAA + 50 mg/L IBA treated for 8 hours.

雪莲花组织培养的初步研究[△]

中国科学院植物研究所(北京 100093) 赵德修*

摘要 雪莲花种子在 1/2MS 培养基上萌发出幼苗。以不同条件研究了雪莲花愈伤组织诱导及培养。应用高压液相色谱法对培养物中的具有抗癌作用的黄酮 jaceosidin 进行了分析。

关键词 雪莲花 组织培养 黄酮 抗癌活性

雪莲花 *Saussurea involucreta* Kar. et Kir., 又名雪莲, 是我国三类珍稀植物, 民间用于治疗风湿性关节炎, 妇科病等。经药理实验证明, 雪莲具有抗癌、扩张血管、降血压、抗疲劳等作用。其中雪莲中黄酮 jaceosidin 对治疗腹水型肿瘤具有显著疗效^[1,2]。由于雪莲生长环境特异, 人工栽培困难, 致使目前雪莲资源日益匮乏, 雪莲物种濒临灭绝。因此, 试图通过雪莲组织细胞培养, 来探索生产有效成分的可能性。本实验室以不同条件研究了雪莲愈伤组织诱导及培养, 并以高压液相色谱法测定培养物的有效成分。

1 材料与方 法

雪莲种子经 70% 酒精消毒 10 s~1 min, 0.1% 升汞消毒 4~15 min, 无菌水洗 3~4 次, 每次 2~3 min, 消毒后接种于 1/2MS 无激素培养基上, 一周后萌发出幼苗。用得到的幼苗在 MS 附加不同浓度的激素, 蔗糖 3%、

琼脂 0.6%、pH 值 5.8 的培养基上作愈伤组织诱导。用 MS, AG-7, B₅ 3 种基本培养基作愈伤组织培养比较实验。培养条件: 50 mL 三角瓶内含 20 mL 固体培养基, 每瓶接种量为 0.2±0.05 g 鲜重, 温度为 25℃±1℃, 每隔 20 d 继代一次。

2 结果与讨论

2.1 雪莲种子萌发及愈伤组织诱导: 雪莲种子在 1/2MS 无激素培养基上萌发, 酒精消毒时间 40~50 s, 升汞消毒为 7~8 min 为宜。雪莲幼苗作外植体, 在 MS 附加 BA 0.2 mg/L, NAA 2 mg/L 诱导率最高。结果(表 1)表明: 愈伤组织在 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 2 mg/L 的培养基上生长良好。

2.2 不同基本培养基及 NAA 浓度对愈伤组织生长的影响: 愈伤组织同上, 分别选用 MS, AG-7, B₅ 3 种基本培养基, 并各以 BA 0.2 与 NAA 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 组成 4 种组

* Address: Zhao Dexiu, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing

[△]国家自然科学基金和国家教委回国留学人员择优支持基金资助项目
唐定台研究员参加部分工作

合,每组接种 8 瓶,每瓶(50 mL 三角瓶内装 20 mL 培养基)接种愈伤组织鲜重 0.25 ± 0.2 g,该愈伤组织在 MS,AG-7,B₅ 3 种基本培养基上作培养比较实验,结果(表 2)表明,MS+BA 0.2 mg/L+NAA 2 mg/L 的培养基对雪莲愈伤组织生长少为有利,但与 NAA 1.0 mg/L 时相比其细胞增长量不明显。

表 1 不同浓度的 BA、NAA 对雪莲愈伤组织诱导率的影响

培养基 (mg/L)	外植体数(块)		成愈数(块)		诱导率(%)	
	叶	茎	叶	茎	叶	茎
BA0.2+NAA0.5	24	30	12	17	50	57
BA0.2+NAA1.0	20	25	11	20	55	80
MS BA0.2+NAA1.5	20	25	10	22	50	88
BA0.2+NAA2.0	18	20	10	20	56	100

表 2 各基本培养基及 NAA 浓度对愈伤组织生长的影响

激素浓度 (mg/L)	基本培养基 愈伤组织鲜重均数(g/瓶)		
	MS	AG-7	B ₅
NAA 0.5	3.42	2.32	2.70
NAA 1.0	3.68	2.68	3.14
BA 0.2 NAA 1.5	3.66	2.78	3.01
NAA 2.0	3.70	2.64	2.89

2.3.2 不同浓度的蔗糖对愈伤组织生长的影响:用 MS 培养基,调查不同浓度的蔗糖对愈伤组织生长的影响,其结果从表 3 中可以看出,2~4 g/L 的蔗糖浓度对愈伤组织生长较为有利。

表 3 不同浓度的蔗糖对愈伤组织生长的影响(20 d)

蔗糖浓度 (g/L)	细胞增长量(g/瓶)		细胞增长率(%)	
	鲜重	干重	鲜重	干重
1	1.41	0.062	608.2	760
2	2.7	0.12	1200	1262
4	2.5	0.18	1150	1150
6	1.73	0.17	765	767.3

2.4 光、暗培养条件对愈伤组织生长的影响:光对愈伤组织生长的影响是一个重要的因子,通过我们的调查发现(表 4):光照培养对愈伤组织生长的影响大大有利于暗培养。

2.5 培养物中抗癌黄酮 jaceosidin 的含量测定

表 4 光、暗培养对愈伤组织生长的影响(20 d)

	细胞增长量(g/瓶)		细胞增长率(%)	
	鲜重	干重	鲜重	干重
光	3.67	0.18	1735	1736.7
暗	2.48	0.13	1140	1138

2.5.1 样品提取:10 g 干重细胞粉碎,按文献^[3]方法提取总黄酮。

2.5.2 HPLC 分离:仪器:Waters 244 型,柱: BCC₁₈ (0.4 × 30 cm);流动相:90% CH₃OH,10% H₂O;流速:0.7 mL/min;检测器:UV 365 nm × 0.1AuFs;标准样品:jaceosidin(4',5,7-三羟基-3,6-二甲氧基黄酮。以外标法,用峰高计算含量。

用 HPLC(图 1)定量定性分析,其结果表明,培养物中含有的抗癌有效成分 jaceosidin 的含量为 0.04 mg/g 干重细胞,是天然雪莲原植物含量的 25%^[3]。不同的培养途径不仅影响细胞生长,而且对代谢产物的生物合成途径有直接的影响^[4]。雪莲培养物中有效成分黄酮的含量比原植物偏低,可能是培养条件或其它因素所致,有待继续研究。

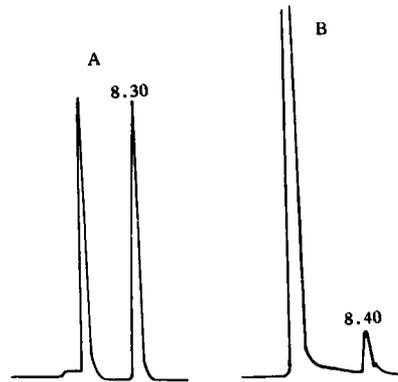


图 1 HPLC 测定图谱
A-标准品 B-培养细胞样品

致谢:标准品 4',5,7-三羟基-3,6-二甲氧基黄酮(jaceosidin)是兰州大学贾忠建教授提供,HPLC 工作是中国林业科学研究院王文芝所长代做,一并致谢。

参考文献

1 刘力生,等.兰州大学学报(自然科学版)1985,21(4):80

Initial Studies on Tissue Culture of Snow Lotus (*Saussurea involucreata*)

Zhao Dexu

Seedlings were germinated from seeds of *Saussurea involucreata* in 1/2MS medium. Different conditions for the inducement of calli and tissue culture in *S. involucreata* were investigated. A sensitive and rapid high-performance liquid chromatographic method has been used for detecting the jaceosidin with anticancer activity.

镧和铈对灵芝菌丝生长的影响

中南民族学院(武汉 430074) 何冬兰* 温川蓉

摘要 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 和 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 在浓度不同时对灵芝菌丝的生长及其培养液中的残糖量的影响不同。2 mmol/L La^{3+} 和 Ce^{3+} 能抑制灵芝菌丝的生长,抑制率分别为 32.58% 和 42.76%;低浓度 (≤ 1 mmol/L) 的 La^{3+} 和 Ce^{3+} 能促进菌丝生长,以 0.5 mmol/L La^{3+} 和 Ce^{3+} 的促进率最高,分别达到 35.21% 和 57.01%,且随浓度的降低这种促进作用逐渐降低。菌丝生长量与培养液中的残糖量没有明显的相关,只有生长量最大的 0.5 mmol/L 的 La^{3+} 和 Ce^{3+} 的培养液中的残糖量比对照低,其余皆比对照高。

关键词 镧 铈 灵芝 生长量 残糖量

稀土元素由于其特殊的物理化学性质,在农业、工业、医药等行业应用广泛。稀土元素对动植物影响的研究较多^[1~3],在食用菌生产中的应用也日趋广泛^[4~7]。灵芝作为一种名贵的中草药,除了其子实体供药用外,目前已开始探索深层发酵法培养菌丝^[8]。为此,本实验拟添加不同浓度的 $\text{La}(\text{NO}_3)_3$ 、 $\text{Ce}(\text{NO}_3)_3$ 培养灵芝菌丝,寻求最佳培养条件。

1 材料和方法

1.1 菌种:红芝 *Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst. 由湖北省农科院食用菌种中心提供。

1.2 培养条件

1.2.1 菌种培养基成分(g/L):去皮马铃薯 200(水煮 30 min 后取滤液),蛋白胨 1, KH_2PO_4 1, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, VB_1 0.01, 自然 pH, 68.6~78.4kPa 压力下灭菌 30 min。

1.2.2 发酵培养液成分(g/L):蔗糖 40, 豆饼粉 20, KH_2PO_4 1.5, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.75, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5, CaCO_3 1, 灭菌前调 pH 至 6.5, 68.6~78.4kPa 压力下灭菌 30 min, 分别加入经滤除菌的 0.1 mol/L 稀土元素溶液使稀土元素浓度(mmol/L)分别为 2、1、0.5、0.25、0.125、0.0625, 不加稀土者为对照。

* Address: He Donglan, South-Central College of Nationalities, Wuhan

何冬兰 女 获农学硕士学位,主攻生物化学。近几年来,作者在人绒毛膜促性腺激素(HCG)的提取及制备(国家民族事务委员会资助项目)、固酶法生产 L-氨基酸的工艺研究(与企业联合攻关项目)、稀土对生物的生理生化效应及其机理、利用味精废液生产酵母单细胞蛋白(本院自然科学基金资助后两项课题)等项目进行了一些探索性研究。已发表学术论文 11 篇,另有 3 篇已被有关刊物录用待发表。