

少[NO₃⁻]的量有利于营养物质向腋芽运输和转化^[10],从而更利于块茎形成。关于这方面的机制还有待于进一步的研究。

通过本项研究,建立了一套山药微型块茎诱导形成的培养程序,即将带芽茎段先在繁殖培养基中培养一个月后,再转入含60 g/L白砂糖或60 g/L蔗糖、总氮量为30 mmol/L、[NO₃⁻]/[NH₄⁺]为3:1的MS培养基中培养2个月,即可高频率地诱导微型块茎的形成。该体系的建立为山药微型块茎的工厂化生产奠定了技术基础。

参考文献:

[1] 李明军. 怀山药组织培养及其应用 [M]. 北京, 科学出版社, 2004.

[2] 彭晓英, 周朴华, 张良波, 等. 盾叶薯蓣试管株芽的诱导 [J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13(4): 319-323.

[3] Bazabakana R, Wattiez R, Baucher M, et al. Effect of

jasmonic acid on developmental morphology during *in vitro* tuberization of *Dioscorea alata* (L.) [J]. *Plant Growth Regulat*, 2003, 40: 229-237.

[4] Jova M C, Kosky R G, Pe'rez M B, et al. Production of yam microtubers using a temporary immersion system [J]. *Plant Cell, Tiss Org Cult*, 2005, 83: 103-107.

[5] 党玉丽, 刘忠玲, 宁爱民, 等. 不同苗龄及碳源对马铃薯试管薯诱导的影响 [J]. 河南农业大学学报, 2004, 38(3): 292-295.

[6] 崔 瑾, 李式军. 水杨酸对芋试管球茎发育的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2003, 26(1): 97-99.

[7] Krauss A. Tuberization and abscisic acid content in *Solanum tuberosum* as affected by nitrogen nutrition [J]. *Potato Res*, 1978, 21: 183-193.

[8] 徐向丽. 薯蓣植物组织培养研究进展 [J]. 湖南林业科技, 2000, 27(1): 5-9.

[9] 全 锋, 张爱霞, 曹先维. 植物激素在马铃薯块茎发育过程中的作用 [J]. 中国马铃薯, 2002, 16(1): 29-32.

[10] 胡云海, 蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(4): 199-203, 238.

射干试管根茎诱导的研究

张耀华¹, 张慧英^{2*}, 薛艳霞²

(1. 中北大学化工与环境学院 中北大学图书馆, 山西 太原 030051; 2. 广西大学农学院, 广西 南宁 530004)

摘要:目的 研究离体条件下射干试管根茎诱导的最适培养基。方法 利用植物组织培养技术,研究了碳源种类和质量浓度, NAA质量浓度和活性炭对射干试管根茎诱导的影响。结果 射干试管根茎诱导的最佳培养基是MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+白糖6%,培养基中不宜添加活性炭。试管根茎接入培养基MS+BA 2.0 mg/L+白糖3%上,发芽率达61.03%。结论 糖质量浓度是影响射干试管根茎诱导的主要因素。

关键词:射干;根茎;诱导

中图分类号:R282.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2008)06-0910-04

Rhizomatous induction of *Belamcanda chinensis in vitro*

ZHANG Yao-hua¹, ZHANG Hui-ying², XUE Yan-xia²

(1. Chemical Industry and Ecology Institute of North University of China, Library of North University of China, Taiyuan 030051, China; 2. College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Abstract: Objective To optimize the medium for rhizomatous induction of *Belamcanda chinensis in vitro*. **Methods** By plant tissue culture technology, the effects of various carbon source, NAA, and active carbon at different concentration on the rhizomatous formation of *B. chinensis in vitro* were studied. **Results** MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+6% white sugar was the optimal medium for the rhizomatous formation of *B. chinensis in vitro*. Active carbon should not be added to the medium. The germination rate of rhizomatous *in vitro* was 61.03% on the MS + BA 2.0 mg/L+3% white sugar. **Conclusion** Sugar concentration is the main factor of the influence on the rhizomatous formation of *B. chinensis in vitro*.

Key words: *Belamcanda chinensis* (L.) DC.; rhizome; induction

收稿日期:2007-10-09

作者简介:张耀华(1979-),男,山西省浮山县人,助教,2006年毕业于广西大学获硕士学位,现工作于中北大学,研究方向为生物工程。E-mail:zhangboy302@163.com

* 通讯作者 张慧英 E-mail:zhanghy955@sina.com

射干别名蝴蝶花、扁竹,为鸢尾科射干属射干 *Belamcanda chinensis* (L.) DC. 的根茎,是国家中医药管理局推荐的39种重点发展的药材之一。其主治咽喉肿痛、痰咳气喘、扁桃体炎、咽喉炎、关节炎、牙痛、月经不调等症。近年来临床上以射干为主要成分的复方有:射干口服液(具有清热化痰、止咳平喘的功效),射干麻黄汤(治疗支气管炎、支气管哮喘),射干麻黄冲剂(治疗寒饮型哮喘),加味射干麻黄汤等^[1]。但其常规繁殖分割根茎费时费力,用种量大,长期用根茎进行无性繁殖易感染病毒,导致种群退化、产量下降和品质变劣^[2,3]。近年来,随着植物生物技术的发展,人们先后在试管中诱导出马铃薯^[4~6]、大岩桐^[7]、芋^[8]、半夏^[9]、地黄^[10]等,但关于射干试管根茎诱导的研究尚未有文献报道。本实验进行了射干试管根茎诱导的研究,可为今后在该方面的研究提供可参考的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料:由广西药用植物园提供的鸢尾科鸢尾属射干 *B. chinensis* (L.) DC.。经中国医学科学院药用植物研究所马小军教授鉴定。

1.2 射干试管根茎的诱导

1.2.1 材料预处理:取带腋芽的茎段和带芽点的新鲜根茎,经常规灭菌后,接种于MS基本培养基上获得无菌芽,将无菌芽在MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+蔗糖3%的继代培养基中继代3代获得大量的无菌苗。

1.2.2 糖不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响:待无菌苗长至约2~3 cm时,将无菌苗接种在以MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为基本培养基,添加不同质量浓度食用白糖(2%、4%、6%、8%)的根茎诱导培养基上,每个处理接5瓶,每瓶接3株,每3天观察一次,50 d后观察射干试管根茎诱导情况,统计结根茎数、结根茎率及根茎平均鲜质量。

1.2.3 不同碳源对射干试管根茎诱导的影响:将株高2~3 cm的无菌苗接种在以MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为基本培养基,添加不同碳源(食用白糖6%、蔗糖6%、葡萄糖6%)的根茎诱导培养基上,每个处理接5瓶,每瓶接3株,每3天观察一次,50 d后观察射干试管根茎诱导情况,统计结根茎数、结根茎率及根茎平均鲜质量。

1.2.4 NAA不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响:将无菌苗接种在以MS+BA 2.0 mg/L+食用白糖6%为基本培养基,添加NAA不同质量浓度(0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L)的根茎诱导培养基上,每

个处理接5瓶,每瓶接3株,每3天观察一次,统计结根茎的时间、结根茎数、结根茎率及根茎平均鲜质量。

1.2.5 活性炭对射干试管根茎诱导的影响:将无菌苗接种MS+BA 2.0 mg/L+食用白糖6%+NAA 0.5 mg/L为基本培养基,添加不同质量浓度活性炭(0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L)的根茎诱导培养基上,每个处理接5瓶,每瓶接3株,每3天观察一次,50 d后统计结果。

1.2.6 试管根茎发芽试验:将以上试验诱导出的试管根茎接种到MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+糖3%的继代培养基上,统计发芽率。

以上试验所用培养基均添加0.5 mg/L琼脂,pH值为5.8。

1.3 培养条件:光强1 500~2 000 lx,培养温度均采用(28±2)℃。

2 结果与分析

2.1 糖不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响:将无菌苗接种于糖不同质量浓度的根茎诱导培养基上进行试管根茎诱导,50 d后观察并记录数据,得表1和图1。

表1 糖不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响

Table 1 Effects of white sugar at different concentration on rhizomatous formation of *B. chinensis* in vitro

外植体	糖/%	原接种株数/株	结根茎数/个	结根茎率/%	平均根茎鲜质量/mg	苗生长势
根茎	2.0	15	0	0	0	较好
	4.0	15	0	0	0	较好
	6.0	15	38	52.0	57.7	良好
	8.0	15	13	18.1	32.0	良好
腋芽	2.0	15	0	0	0	较好
	4.0	15	0	0	0	较好
	6.0	15	27	41.5	45.6	良好
	8.0	15	8	13.1	30.6	良好

从表1和图1可以看出:糖质量浓度对射干试管根茎诱导的影响有明显差异,不同类型外植体的试管苗,在糖为2.0%和4.0%时,根茎诱导率均为0;当糖为6.0%时,根茎诱导率最高,达40%以上,平均根茎鲜质量达45.0 mg。但随着糖质量浓度的提高,根茎的诱导率下降,当糖提高到8%时,诱导率下降了15%~25.7%,平均根茎鲜质量也下降10 mg左右。

当糖达到6.0%后,以根茎和腋芽为外植体均能诱导出试管根茎,但诱导率和平均根茎重有差异,糖为6.0%时,以根茎为外植体时,结根茎率为52.0%,平均根茎质量为57.7 mg,比腋芽为外植体时结根茎率增长了10.5%,平均根茎重增加12.1 mg。糖为

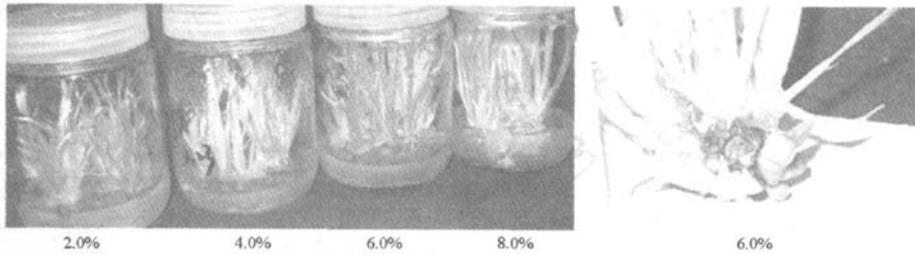


图1 不同质量浓度糖对射干试管根茎诱导的影响(根茎)

Fig. 1 Effects of white sugar at different concentration on rhizomatous formation of *B. chinensis* in vitro (rhizome)

8.0%时,以根茎为外植体的诱导率也高于腋芽。

结果表明:射干试管根茎的形成最合适的糖质量浓度是6.0%,利用根茎更有利于试管根茎的诱导。

2.2 不同碳源对射干试管根茎诱导的影响:将无菌苗接种于以MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为基本培养基,添加不同碳源的根茎诱导培养基上进行试管根茎诱导,接种后每3天观察一次,50 d后统计数据见表2。不同碳源对射干试管根茎的形成的诱导率无明显影响,均达45.0%以上。但不同碳源对结根茎天数有影响,用葡萄糖做碳源时需要35 d才能结出小根茎,比蔗糖和白糖所需时间分别长14、9 d。平均根茎鲜质量受碳源的影响较大,用白糖比葡萄糖的平均根茎鲜质量多9.40 mg。但用食用白糖和蔗糖对试管根茎的诱导率、结根茎天数和平均根茎鲜质量的影响不明显。因此,射干试管根茎的形成可以用白糖代替蔗糖,从而降低生产成本。

表2 不同碳源对射干试管根茎诱导的影响

Table 2 Effects of various carbon source on rhizomatous formation of *B. chinensis* in vitro

碳源种类	原接种株数/株	结根茎数/个	结根茎率/%	结根茎天数/d	平均根茎鲜质量/mg
食用白糖	15	36	48.6	26	54.3
蔗糖	15	32	45.3	21	52.2
葡萄糖	15	33	47.1	35	45.9

2.3 NAA 不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响:将生根后的试管苗接种在以MS+BA 2.0 mg/L+食用白糖6%为基本培养基,添加不同质量浓度NAA的根茎诱导培养基上进行试管根茎诱导,接种后观察根膨大日期和结根茎需要的天数,两个月后统计数据见表3。NAA的质量浓度对结根茎的速度和结根茎率都有明显的影响,随着NAA的升高,根茎形成的时间逐渐缩短,当NAA为0 mg/L时,根20 d后膨大,41 d后结根茎,结根茎率只有13.3%;NAA为0.5 mg/L时,结根茎只需要16 d,

结根茎率高达71.2%,比质量浓度为0.2 mg/L结根茎的时间缩短半个月左右,诱导率提高了24%,但鲜质量降低了6.6 mg。但当NAA提高到1.0 mg/L时,苗的生长势减弱,结根茎率也比0.5 mg/L时降低了9.1%。因此,诱导射干试管根茎的最佳NAA质量浓度为0.5 mg/L。

表3 NAA 不同质量浓度对射干试管根茎诱导的影响

Table 3 Effects of NAA at different concentration on rhizomatous formation of *B. chinensis* in vitro

NAA/(mg·L ⁻¹)	接种株数/株	根膨大日/d	结根茎天数/d	结根茎率/%	平均根茎鲜质量/mg	苗生长势
0	15	20	41	13.3	60.2	良好
0.2	15	14	25	47.2	52.2	较好
0.5	15	8	16	71.2	45.6	较好
1.0	15	6	18	60.1	50.2	一般

2.4 活性炭对射干试管根茎诱导的影响:将单株无菌苗接种MS+BA 0.2 mg/L+食用白糖6%+NAA 0.5 mg/L为基本培养基,添加不同活性炭(0.5,1.0,1.5,2.0 mg/L)的根茎诱导培养基上,50 d后只见大量的须根,没有见根膨大,也无诱导出根茎,苗长势较好。因此,活性炭不利于试管根茎的诱导和形成。

2.5 试管根茎发芽试验:将以上试验诱导出的试管根茎接种到MS+BA 2.0 mg/L+白糖3%的继代培养基上,一周后培养基褐化,连续转两次后无褐化现象,经过两月后的试管根茎发芽率达61.03%(图2)。

3 小结

本实验以食用白糖、蔗糖和葡萄糖作为碳源,发现用白糖和蔗糖对射干试管根茎的诱导率、结根茎天数和平均根茎鲜质量的影响差异不明显,但糖质量浓度的高低对其诱导率等均有明显的影响,最合适的糖质量浓度是6.0%;活性炭不利于试管根茎的诱导和形成;NAA的质量浓度对结根茎的速度和结根茎率都有明显的影响,根茎的平均鲜质量随着根茎诱导率的增加而降低,其原因还有待进一步



图2 试管根茎的发芽率

Fig. 2 Germination rate of rhizome in vitro

研究。

本实验初步探索出射干试管根茎诱导的最佳培养基为MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L+白糖6%。发芽率可以达到61.03%。研究数据为今后相关方面的研究和射干工厂化生产育苗提供理论依据。

参考文献:

[1] 姚宗凡, 黄英姿, 姚晓敏. 药用植物栽培手册 [M]. 上海: 上海中医药大学出版社, 2001.
 [2] 高文远, 贾伟. 药用植物大规模组织培养 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
 [3] 刘合刚, 刘国社. 射干速生高效栽培技术 [J]. 中草药, 2001, 32(8): 749-751.
 [4] 崔翠, 王季春, 何凤发, 等. 光照时间和碳源对试管薯形成的影响 [J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(6): 547-548.
 [5] 史玮, 王蒂. 马铃薯试管薯诱导影响因素的研究 [J]. 甘肃科技, 2007, 23(2): 204-206.
 [6] 白淑霞, 安忠民, 冯学赞, 等. 马铃薯试管薯诱导因子研究 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(5): 271-273.
 [7] 戴黎明, 周伟, 陈军峰, 等. 影响大岩桐试管块茎形成的若干因素 [J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 2006, 35(5): 71-75.
 [8] 刘玉平, 柯卫东, 黄新芳, 等. 试管芋诱导的研究 [J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 43-46.
 [9] 何奔昆, 朱长甫, 何孟元, 等. 半夏小块茎的形态发生及人工种子制作 [J]. 作物学报, 1997, 23(4): 482-485.
 [10] 薛建平, 石乐义, 张爱民. 试管地黄诱导技术的研究 [J]. 中国中药杂志, 2001, 27(11): 824-827.

烟草悬浮培养细胞对呋喃甾吾酮的生物转化研究

严春艳^{1,2}, 于荣敏^{2*}, 吕华冲¹, 张德志¹

(1. 广东药学院药科学院, 广东 广州 510006; 2. 暨南大学药学院, 广东 广州 510632)

摘要:目的 研究烟草悬浮培养细胞对呋喃甾吾酮(I)的生物转化。方法 将外源底物呋喃甾吾酮乙醇液投入预培养10 d的烟草悬浮培养细胞中,共培养4 d后终止转化,通过HPLC检测方法,并利用各种色谱技术分离纯化转化产物,最后根据其理化性质和光谱数据进行结构鉴定。此外,实验还考察了共培养时间对转化率的影响。结果 呋喃甾吾酮(I)在烟草细胞中发生了转化,分离鉴定出两个转化产物:3-oxo-eremophila-1, 7(11)-dien-12, 8-olide (I)和3-oxo-8-hydroxyeremophila-1, 7(11)-dien-12, 8-olide (II)。转化的最佳共培养时间为5 d,此时总的摩尔转化率最高(53.1%)。结论 首次利用烟草悬浮培养细胞转化倍半萜类化合物呋喃甾吾酮并获得成功。

关键词:烟草;悬浮培养;生物转化;呋喃甾吾酮

中图分类号:R282.1 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2008)06-0913-04

Biotransformation of furannoligularenone by cell suspension cultures of *Nicotiana tabacum*

YAN Chun-yan¹, YU Rong-min², LÜ Hua-chong¹, ZHANG De-zhi¹

(1. College of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China;

2. College of Pharmacy, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Objective To investigate the biotransformation of furannoligularenone by cell suspension cultures of *Nicotiana tabacum*. **Methods** Furannoligularenone was added to the medium of the suspension cells of *N. tabacum* after precultured for 10 d, then they were co-cultured for another 4 d. The biotransformed products were detected with HPLC and isolated by various chromatographic methods. The chemical structures of biotransformed products were elucidated on the basis of their physicochemical properties and spectroscopic data. Otherwise, the influence of co-cultured time on conversion ratio was investigated either. **Results** The substrate, furannoligularenone (I), was successfully biotransformed

收稿日期:2007-09-26

作者简介:严春艳(1978-),女,吉林人,博士,研究方向为天然药物活性成分的生物合成与生物转化。E-mail:ycybridge@163.com

*通讯作者 于荣敏 Tel:(020)85220386 E-mail:tyrm@jnu.edu.cn

射干试管根茎诱导的研究

作者: [张耀华](#), [张慧英](#), [薛艳霞](#), [ZHANG Yao-hua](#), [ZHANG Hui-ying](#), [XUE Yan-xia](#)
作者单位: [张耀华, ZHANG Yao-hua \(中北大学化工与环境学院, 中北大学图书馆, 山西, 太原, 030051\)](#),
[张慧英, 薛艳霞, ZHANG Hui-ying, XUE Yan-xia \(广西大学农学院, 广西, 南宁, 530004\)](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2008, 39(6)

参考文献(10条)

1. [姚宗凡;黄英资;姚晓敏](#) [药用植物栽培手册](#) 2001
2. [高文远;贾伟](#) [药用植物大规模组织培养](#) 2005
3. [刘合刚;刘国杜](#) [射干速生高效栽培技术](#)[期刊论文]-[中草药](#) 2001(08)
4. [崔翠;王季春;何风发](#) [光照时间和碳源对试管薯形成的影响](#)[期刊论文]-[西南农业大学学报\(自然科学版\)](#) 2001(06)
5. [史玮;王蒂](#) [马铃薯试管薯诱导影响因素的研究](#)[期刊论文]-[甘肃科技](#) 2007(02)
6. [白淑霞;安忠民;冯学赞](#) [马铃薯试管薯诱导因子研究](#)[期刊论文]-[中国马铃薯](#) 2001(05)
7. [戴黎鸣;周伟;陈军峰](#) [影响大岩桐试管块茎形成的若干因素](#)[期刊论文]-[上海师范大学学报\(自然科学版\)](#) 2006(05)
8. [刘玉平;柯卫东;黄新芳](#) [试管芋诱导的研究](#)[期刊论文]-[园艺学报](#) 2003(01)
9. [何弈昆;朱长甫;何孟元](#) [半夏小块茎的形态发生及人工种子制作](#)[期刊论文]-[作物学报](#) 1997(04)
10. [薛建平;石乐义;张爱民](#) [试管地黄诱导技术的研究](#)[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2001(11)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200806037.aspx