

仙茅叶片的组织培养及其细胞学观察

彭海峰, 曹友培, 俞新华, 赵 晟, 黄晓柯

(华南农业大学生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘 要:目的 通过对仙茅叶片组织培养的研究与细胞学观察, 为仙茅的快速繁殖提供技术依据。方法 将仙茅幼叶培养在 MS 培养基, 通过设计不同的光照条件, 附加不同的激素、水解酪蛋白和活性炭成分, 调查出愈率和成苗率。细胞学观察采用石蜡切片法。结果 对仙茅叶片的愈伤诱导, 黑暗的效果好于光照; 在所试验的培养基成分中, 适宜的激素配比是 2.0 mg/L 2, 4-D 或 6-BA 1.5 mg/L+2, 4-D 2.5 mg/L, 并且附加 300 mg/L 水解酪蛋白和 0.2% 活性炭, 对于仙茅叶片的离体成苗较好; 培养后, 愈伤组织主要由叶片的中脉产生, 位于中脉上表皮内侧的薄壁细胞首先启动分裂, 随后维管束鞘薄壁细胞及其外侧的叶肉细胞也启动分裂, 参与愈伤组织的形成。愈伤分化时, 芽发生于愈伤组织的表面, 根发生于愈伤组织的内部。结论 可以通过仙茅幼叶的组织培养进行仙茅的快速繁殖。

关键词:仙茅; 叶片; 组织培养; 细胞学

中图分类号:R282.1

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)02-0265-05

Tissue culture and cytological observations of leaf explants of *Curculigo orchiooides*

PENG Hai-feng, CAO You-pei, YU Xin-hua, ZHAO Sheng, HUANG Xiao-ke

(College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Objective The studies on tissue culture and cytological observations of leaf explants of *Curculigo orchiooides* were conducted in order to provide the basis for the rapid propagation of *C. orchiooides*.

Methods Young leaf explants of *C. orchiooides* were cultured on MS basal media. Differences in the callus induction and plantlet regeneration rate were observed by different light treatment as well as chemical factors like different phytohormones, casein hydrolysate (CH), and activated charcoal (AC) concentrations. Paraffin method was used to cytological observation. **Results** For callus induction of leaf explants of *C. orchiooides*, dark treatment gave better results compared to light treatment; among the media tested, the suitable phytohormone combinations were 2.0 mg/L 2, 4-D or 6-BA 1.5 mg/L+2, 4-D 2.5 mg/L, and 300 mg/L CH+0.2% AC was good for plantlet regeneration from leaf explants. The callus from leaf explants mainly originated from midrib. The parenchyma cells near epicuticle of midrib firstly were initiated to division. Then the parenchyma cells of vascular bundle sheath and mesophyll cells on each side of vascular bundle were also divided to form callus. The buds developed on the peripheral parts of the calli, but the roots developed in the regions deep within the calli. **Conclusion** Tissue culture of young leaf explants of *C. orchiooides* can make the propagation of *C. orchiooides* rapid.

Key words: *Curculigo orchiooides* Gaertn.; leaf explants; tissue culture; cytology

仙茅 *Curculigo orchiooides* Gaertn. 系石蒜科仙茅属多年生草本植物, 其根状茎入药, 是一种传统的中药材。能补肾助阳、益精血、强筋骨、行血消肿。用于肾阳不足、阳痿遗精、腰脊冷痛、尿频尿急、寒虚崩漏、疮疡肿痛、痹虚内伤、筋骨冷痛等临床病症^[1]。随着人们对仙茅药用价值的不断深入认识, 对其开发和应用越来越广泛, 但由于仙茅在自然界的数量有限, 且传统的获取方法又以采集和消耗大量的野生资源为代价, 造成仙茅资源短缺。因此, 有必要对其进行以组织培养为手段的人工繁殖研究。目前, 国内

外关于仙茅组织培养的研究报道较少^[2,3], 且对其形态发生的细胞学研究尚未见报道。本实验以仙茅叶片为外植体, 对其离体成苗的影响因素以及器官发生的细胞学过程进行研究, 以期仙茅快繁体系的建立提供理论依据和技术路线。

1 材料与方法

1.1 仙茅叶片的组织培养: 挑选自然环境下生长健壮的仙茅植株, 取其新长出的长度约为 8 cm 的幼叶, 流水冲洗干净后用 75% 酒精表面消毒 30 s, 无菌水冲洗 1 次, 再用 0.1% 升汞消毒 10~12 min,

收稿日期: 2006-05-05

作者简介: 彭海峰 (1972—), 女, 山西右玉人, 硕士, 讲师, 主要从事植物发育生物学研究。

Tel: (020) 85280193 E-mail: phf72@126.com

无菌水冲洗 5~6 次。然后将叶片切割成 0.5 cm×0.5 cm 的小块接种到 MS 培养基,每瓶接种 4 块。诱导培养基添加的激素见表 1,分化培养基添加的激素为 0.5 mg/L 6-BA。所有培养基除特别说明外,均附加 300 mg/L 水解酪蛋白,3.0% 蔗糖及 0.2% 活性炭,用 0.6% 琼脂固化,pH 值调至 5.86。培养室的温度控制在 26~28℃,在全黑暗、全光照(12 h/d)或先 2 d 黑暗再光照(12 h/d)的条件下进行愈伤组织的诱导培养,绿苗分化在 12 h/d 光照的条件下进行。接种后约 2 个月统计出愈率,并将愈伤组织转移到分化培养基上,1 个月后统计成苗率。

$$\text{出愈率} = \frac{\text{产生愈伤的外植体数}}{\text{接种的外植体数}} \times 100\%$$

$$\text{成苗率} = \frac{\text{分化出的绿苗数}}{\text{接种的外植体数}} \times 100\%$$

1.2 仙茅叶片组织培养的细胞学观察:将培养前的叶片、培养不同时间的叶片以及愈伤组织,用 FAA 固定液固定,按常规石蜡切片法制片。连续横切,切片厚 6~8 μm,用番红-固绿或铁矾-海氏苏木精染色,中性树胶封片。

2 结果与分析

2.1 仙茅叶片的组织培养

2.1.1 激素对仙茅叶片组织培养的影响:由表 1 可知,单独使用 2,4-D 时,在 1.0~3.0 mg/L 的质量浓度范围内,附加 2.0 mg/L 2,4-D 的诱导培养基,其出愈率和成苗率都是最高的,分别达到 80.4% 和 85.7%。而当 2,4-D 质量浓度为 1.0 或 3.0 mg/L 时,出愈率和成苗率均有所下降,且 3.0 mg/L 2,4-D 的下降幅度较大,出愈率和成苗率分别低至 37.5% 和 28.1%;单独使用 6-BA 时,在 0.5~2.0 mg/L 内,出愈率最高的是附加 0.5 mg/L 6-BA 的诱导培养基,而成苗率最高的是附加 1.0 mg/L 6-BA 的诱导培养基,出愈率和成苗率分别为 27.3% 和 50.0%。附加 2.0 mg/L 6-BA 的培养基其出愈率和成苗率都是最低的,出愈率仅为 2.1%,成苗率为 0;2,4-D 与 6-BA 搭配使用时,当 2.0 mg/L 6-BA 配合使用不同质量浓度的 2,4-D (1.5~2.5 mg/L) 时,出愈率和成苗率均随 2,4-D 的升高而增加,并且附加 2.0 mg/L 6-BA 与 2.0 mg/L 2,4-D 的诱导培养基,其出愈率和转分化后的成苗率比单独使用 2.0 mg/L 6-BA 高,却比单独使用 2.0 mg/L 2,4-D 低。而当 2,4-D 为 2.5 mg/L 时,使用 1.5 mg/L 6-BA 的效果又好于 2.0 mg/L 6-BA,成苗率由 31.3% 上升到 50.0%。

表 1 激素对仙茅叶片组织培养的影响

Table 1 Effect of different phytohormone combinations on tissue culture of leaf explants of *C. orchoides*

激素/(mg·L ⁻¹)		接种数/ 块	出愈率/ %	成苗率/ %
6-BA	2,4-D			
0	1.0	40	72.5	50.0
0	2.0	56	80.4	85.7
0	3.0	32	37.5	28.1
0.5	0	44	27.3	15.9
1.0	0	36	22.2	50.0
2.0	0	48	2.1	0
2.0	1.5	52	9.6	1.9
2.0	2.0	60	33.3	30.0
2.0	2.5	80	35.0	31.3
1.5	2.5	44	31.8	50.0

以上结果表明单独使用 2,4-D 和 6-BA 时,2,4-D 的效果比 6-BA 好;2,4-D 和 6-BA 搭配使用时,较高质量浓度的 2,4-D 有利于仙茅叶片的愈伤诱导及进一步分化成苗,而较高质量浓度的 6-BA 对仙茅叶片的愈伤诱导及成苗具有一定的抑制作用。形态学观察还发现,单独附加 6-BA 的诱导培养基获得的愈伤组织分化的绿苗数较少,多数为 1~2 棵苗;而单独使用 2,4-D 以及 6-BA 与 2,4-D 搭配使用时,诱导产生的愈伤组织容易增殖,且获得的愈伤组织分化的绿苗数较多,但单独使用 2,4-D 获得的试管苗由于数量较多而生长相对较弱。

2.1.2 水解酪蛋白和活性炭对仙茅叶片组织培养的影响:由表 2 可知,在 MS+0.5 mg/L 6-BA 的培养基上加入 0.2% 活性炭后仙茅叶片的出愈率明显升高,达到 59.1%,是不加活性炭的 1.7 倍,形态学观察表明这与活性炭有效防止褐变有关。当再加入 300 mg/L 水解酪蛋白后则出愈率下降,但成苗率却由 11.4% 提高到 37.5%,这可能与水解酪蛋白改善了愈伤质量有关。

表 2 水解酪蛋白和活性炭对仙茅叶片组织培养的影响

Table 2 Effect of CH and AC on tissue culture of leaf explants of *C. orchoides*

活性炭/ %	水解酪蛋白/ (mg·L ⁻¹)	接种数/ 块	出愈率/ %	成苗率/ %
0	0	32	34.3	—
0.2	0	44	59.1	11.4
0.2	300	48	43.8	37.5

2.1.3 光照条件对仙茅叶片组织培养的影响:将仙茅叶片接入 MS+0.5 mg/L 6-BA+300 mg/L 水解酪蛋白+0.2% 活性炭的培养基,在 3 种光照条件下进行诱导培养。由表 3 可知,3 种光照条件均能诱导仙茅叶片产生愈伤组织并分化成苗,其中全黑暗条件对仙茅叶片的诱导效果较好,出愈率高且愈

表 3 不同光照条件对仙茅叶片组织培养的影响
Table 3 Effect of different light treatments on tissue culture of leaf explants of *C. orchiorides*

光照条件	接种数/ 块	出愈率/ %	成苗率/ %
全黑暗	48	43.8	37.5
全光照 (12 h/d)	44	22.7	25.0
2 d 黑暗再光照 (12 h/d)	44	27.3	15.9

伤质量好,成苗率达到 37.5%;2 d 黑暗再光照虽然诱导愈伤组织反应快,但出愈率不高,且愈伤组织质量较差,成苗率仅为 15.9%;全光照条件则出愈率低且愈伤组织容易褐变而死亡,但其成苗反应快。

2.1.4 炼苗与移栽的条件:对不同大小的试管苗进行炼苗移栽的结果表明,当试管苗长到 6 cm 时打开瓶盖,在培养室放置 3~5 d,然后将试管苗从培养瓶中取出,用清水洗净根系上的培养基,移栽到无菌沙土里,10 d 后将小苗移到自然环境中的存活率较高,可达 85% 以上 (图 1-5)。

2.2 仙茅叶片组织培养的细胞学观察:培养前的仙茅幼叶由表皮、叶肉和叶脉组成。表皮是单层细胞,分上、下表皮。叶肉无栅栏组织和海绵组织的分化,叶肉细胞内含大量叶绿体。叶脉为平行脉,中脉由维管束、厚壁组织和薄壁组织组成。维管束的木质部近叶腹面,韧皮部近叶背面,维管束鞘由 2 层细胞组成,内层是较小的厚壁细胞,外层是较大的薄壁细胞。维管束的上下方是厚壁纤维细胞,其中下方(即近背面)的厚壁纤维细胞木化程度高而层数多,直接与下表皮相接;上方(即近腹面)的厚壁纤维细胞木化程度低而层数少,与上表皮之间还有薄壁细胞 (图 1-6)。这些维管束上方的厚壁纤维细胞及其与上表皮之间的薄壁细胞的层数会随着叶片的发育而变化,在成熟叶片中全部为厚壁纤维细胞 (图 1-7)。

接种后几天,叶片伸展增大,中脉慢慢变白,培养至 3~4 周左右,中脉膨大处产生白色的愈伤组织 (图 1-1)。组织切片观察表明,上表皮内侧的薄壁细胞首先启动分裂 (图 1-8),形成愈伤组织 (图 1-9),随后维管束鞘薄壁细胞也启动分裂参与愈伤组织的形成 (图 1-10)。培养后期,中脉两侧的叶肉细胞经多次横向分裂后呈放射状整齐排列,也形成愈伤组织的一部分 (图 1-11)。愈伤组织细胞的增殖方式有无丝分裂和有丝分裂 (图 1-12~14),但主要是无丝分裂,有劈裂 (图 1-15、16)、碎裂 (图 1-17)、缢裂 (图 1-18)、出芽 (图 1-19) 等多种方式,其中以劈裂的方式较为常见。由于核分裂较胞质分裂快,也经常可见到双核细胞 (图 1-9)。

随着愈伤组织的增殖,下表皮被愈伤组织形成的突起撑破,在维管束近腹面一侧的愈伤组织中开始出现成团的分生细胞群,也称为分生组织结节 (图 1-20),分生组织结节可以成为愈伤组织的生长中心,也可以进一步分化出成群的管状分子,形成鸟巢状的维管组织结节 (图 1-21)。近维管束的维管组织结节进一步向着叶背面侧发育成根 (图 1-22),而在远离根的另一端的愈伤表面形成芽,芽与根之间有维管组织相连 (图 1-23),并可进一步发育成完整的小植株 (图 1-2、4)。此外,上表皮内侧的薄壁细胞启动分裂后不久形成的愈伤组织,也可不经过明显的增殖阶段进行器官发生,分化出根和芽 (图 1-24、25),在中脉切口处成苗 (图 1-3)。

3 讨论

关于植物叶片组织培养的愈伤组织起源和形成已有一些报道。许智宏等^[4]对烟草叶片(切去主脉及大的侧脉)培养的细胞学观察,认为诱导愈伤组织形成的是两类细胞,即叶肉细胞,以及小维管束中的韧皮薄壁细胞和维管束鞘细胞。过全生^[5]对含主脉的杨树叶薄层培养的细胞组织学研究表明,愈伤组织主要由维管束鞘薄壁细胞,以及与其邻接的一些栅栏组织细胞和韧皮薄壁细胞分裂而来。陈明霞等^[6]对怀山药叶片(试管苗叶片)脱分化过程的细胞学研究,指出愈伤组织起源于切口附近的叶肉细胞。暨淑仪等^[7]对茶叶片(芽下第 1、2 片叶)愈伤形成的组织细胞学观察,认为叶外植体叶肉中的小叶脉周围以及主脉中的薄壁细胞首先启动脱分化,分裂形成分生细胞团,继而形成愈伤组织。王文和等^[8]对草莓叶片培养的组织学研究,表明愈伤组织是由维管束周围的薄壁细胞和叶肉细胞脱分化形成的分裂中心进一步发育而成的。而对于单子叶植物,陈惠民等^[9]报道小麦幼叶(发芽第 4 天的第 1 片幼叶)愈伤组织最初起源于维管束鞘细胞,而且从靠近韧皮部的位置开始,继而扩展至整个周圈及束内,维管束以外的细胞未见分裂。李春瑶^[10]报道甘蔗幼叶(高约 2 m 成长蔗的蔗尾-1 及-2 叶)的愈伤组织起源于两小维管束或小维管束与下表皮之间的薄壁细胞。实验对单子叶植物仙茅叶片(8 cm 长幼叶)培养的细胞学观察表明,其愈伤组织首先起源于中脉维管束与上表皮之间的薄壁细胞,以后扩展至维管束鞘薄壁细胞及其外围的叶肉细胞,韧皮薄壁细胞未参与愈伤组织的形成。与前人研究结果的差异,可能与植物种类、叶片结构与发育阶段以及叶片接种部位的不同有关。



图 1 仙茅叶片培养的形态学及细胞学观察

Fig. 1 Morphological and cytological observations on tissue culture of leaf explants of *C. orchoides*

由于仙茅叶片的愈伤组织形成与器官发生部位主要集中分布在中脉维管束附近,特别是维管束与上表皮之间的薄壁细胞在此过程中起了非常重要的作用,但这些薄壁细胞会随着叶片的成熟逐渐分化为厚壁纤维细胞而失去脱分化能力。因此,对于仙茅叶片的组织培养,取材时应选取长度不超过 8 cm 的幼叶,并切取带有中脉的叶块,以提高仙茅的离体成苗率。另外,综合本研究中光照条件、培养基成分及炼苗移栽条件对仙茅叶片离体培养成苗影响的研究结果,可初步建立了一套仙茅快繁的技术体系:首

先将幼叶(长度不超过 8 cm)的带中脉叶块,接入诱导培养基($MS+1.5\text{ mg/L } 6\text{-BA}+2.5\text{ mg/L } 2,4\text{-D}$ 或 $MS+2.0\text{ mg/L } 2,4\text{-D}$,并附加 300 mg/L 水解酪蛋白和 0.2% 活性炭),在 $26\sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的黑暗条件下进行诱导培养;当愈伤组织大小长到 $2\sim 3\text{ mm}$ 时转入分化培养基($MS+6\text{-BA } 0.5\text{ mg/L}+300\text{ mg/L}$ 水解酪蛋白+ 0.2% 活性炭),在 $26\sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 12 h/d 光照的条件下进行愈伤增殖及绿苗分化培养;当试管苗生长至 6 cm 高时,打开瓶盖 $3\sim 5\text{ d}$,然后将小苗移栽到无菌沙土里, 10 d 后将小苗移

1-叶片中脉处诱导出愈伤 2-愈伤增殖并分化出芽 3-中脉切口处成苗,未见明显的愈伤 4-分化出芽和根的试管苗 5-移栽的组培苗 6、7-仙茅叶片横切面(6 幼叶,7 成熟叶,Ph 韧皮部,Xy 木质部,VBS 维管束鞘,S 厚壁组织,P 薄壁组织) 8-上表皮内侧的薄壁细胞分裂($\uparrow$) 9-刚产生的愈伤组织 10-维管束鞘薄壁细胞分裂形成的细胞团($\uparrow$) 11-中脉两侧的叶肉细胞经多次横向分裂呈放射状排列 12~14-有丝分裂方式(12 中期,13 前期,14 后期) 15~19-无丝分裂方式(15 劈裂,16 劈裂,17 碎裂,18 缢裂,19 出芽) 20-分生组织结节($\uparrow$) 21-维管组织结节 22-维管组织结节分化出根 23-愈伤组织的表面分化出芽,内部分化出根 24-初始愈伤的芽原基分化 25-不经明显愈伤阶段的根芽分化($\uparrow$)

1-callus induced from midrib of leaf explants 2-adventitious buds developed from multiplicative calli of the midrib 3-midrib of leaf explants showing organogenesis without evident calli 4-fully grown *in vitro* plant showing multiple shoots 5-plantlets transferred to soil 6, 7-transverse section of leaf with midrib (6 young leaf, 7 mature leaf, Ph Phloem, Xy Xylem, VBS vascular bundle sheath, S sclerenchyma, P parenchyma) 8-parenchyma cells near epicuticle begin to divide 9-calli of early phase 10-cell groups from parenchyma cells of vascular bundle sheath (arrow) 11-regular rows of calli formed as a result of consecutive fissura transversa of mesophyll cells 12-14-mode of mitosis (12 metaphase, 13 prophase, 14 anaphase) 15-19-mode of amitosis (15 fissurate division, 16-fissurate division, 17-fragmentation division, 18-constriction division, 19-budding division) 20-meristem nodule (arrow) 21-vascular nodules 22-root developed from nodular vascular tissue (arrow) 23-buds developed on peripheral parts of the calli, but roots in regions deep within the calli 24-initiation of bud primordium on peripheral parts of calli at early phase 25-differentiation of root and bud without evident calli

栽到自然环境中生长。

致谢:在切片观察中曾得到华南农业大学生命科学院严学成教授的热心帮助。

References:

- [1] Ding A W. *Clinical Handbook of Modern Chinese Traditional Medicine* (现代中药临床手册) [M]. Nanjing: Jiangsu Publishing House of Science and Technology, 2000.
- [2] Dhenuka S, Balakrishna P, Ajith A. Indirect organogenesis from the leaf explants of medicinally important plant *Curculigo orchoides* Gaertn. [J]. *J Plant Biochem Biotechnol*, 1999, 8(2): 113-115.
- [3] Prajapati H A, Patel D H, Mehta S R, et al. Direct *in vitro* regeneration of *Curculigo orchoides* Gaertn., an endangered anticarcinogenic herb [J]. *Curr Sci*, 2003, 84(6): 747-749.
- [4] Xu Z H, Liu G Y. Histo-cytological observations on callus and bud formation in cultures of *Nicotiana tabacum* L. [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1980, 22(1): 1-5.
- [5] Guo Q S. Cytohistological study on morphogenesis of the adventitious bud in the *in vitro* culture of micro-cross sectioned leaf midveins from hybrid *Populus* [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1997, 39(12): 1131-1137.
- [6] Chen M X, Li M J, Guo J L, et al. A study on early changes of cotyledon cells of *Dioscorea opposita* Thunb. in the process of dedifferentiation [J]. *J Jilin Agric Univ* (吉林农业大学学报), 2003, 25(5): 517-519.
- [7] Ji S Y, Yan X C, Wang Y J. Cytohistological observations on callus formation from leaf cultures in *Camellia sinensis* (L.) O. Ktze. [J]. *J Tea* (茶叶), 1995, 21(2): 11-13.
- [8] Wang W H, Deng X, Hu W Y, et al. Histological study on the formation of callus and the differentiation of the regenerated bud in tissue culture of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) [J]. *J Shenyang Agric Univ* (沈阳农业大学学报), 1998, 30(4): 430-433.
- [9] Chen H M, Teng S Y, Yu J J. Callus induction and organ formation from young leaf of wheat (*Triticum aestivum*) [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1980, 22(1): 112-115.
- [10] Li C Y. The morphology and histology of callus formation in cultured sugarcane leaf sheath and leaf blade [J]. *J Guangxi Normal Univ* (广西师范大学学报), 1994, 12(2): 65-69.

防己药材的 HPLC 指纹图谱研究

崔金国^{1,2}, 饶毅^{1*}, 魏惠珍¹, 黎莉², 刘隆洪³, 王跃生¹, 杨世林¹

(1. 中药固体制剂制造技术国家工程研究中心, 江西 南昌 330006; 2. 江西中医学院, 江西 南昌 330006;
3. 江西翔云生物药业有限公司, 江西 遂川 343900)

摘要:目的 用 HPLC 法对防己药材指纹图谱进行研究。方法 采用色谱条件: Shimadzu VP-ODS 柱(250 mm×4.6 mm); 流动相为乙腈-0.1%磷酸溶液, 梯度洗脱进行色谱分离; 检测波长为 282 nm; 以防己诺林碱作为参照物。结果 初步建立了防己药材的 HPLC 指纹图谱, 并进行相似度评价。结论 方法简单可行, 能够有效地控制防己药材的内在质量。

关键词:防己; 指纹图谱; HPLC; 相似度

中图分类号:R282.7 R286.02 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2007)02-0269-04

HPLC Fingerprint of *Radix Stephaniae Tetrandrae*

CUI Jin-guo^{1,2}, RAO Yi¹, WEI Hui-zhen¹, LI Li², LIU Long-hong³,
WANG Yue-sheng¹, YANG Shi-lin¹

(1. National Pharmaceutical Engineering Center (NPEC) for Solid Preparation in Chinese Materia Medica, Nanchang 330006, China; 2. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330006, China;
3. Jiangxi Xiangyun Biology Pharmaceutical Co., Ltd., Suichuan 343900, China)

Abstract: Objective To study the fingerprint of *Radix Stephaniae Tetrandrae* by HPLC. **Methods** HPLC condition: column Shimadzu VP-ODS (250 mm×4.6 mm); the mobile phase was acetonitrile with 0.1% phosphoric acid and the gradient elution mode was applied in chromatographic separation; the detection wavelength was 282 nm; fangchinoline was used as the reference compound. **Results** HPLC Fingerprint of *Radix Stephaniae Tetrandrae* was established and the similarity of the fingerprint was compared.

收稿日期: 2006-04-25

作者简介: 崔金国(1978—), 男, 江西中医学院药物分析专业硕士研究生。E-mail: lan_shu_2005@163.com

* 通讯作者 饶毅 Tel: (0791) 7119609 E-mail: raoyi99@126.com