

红花细胞和组织培养研究进展

李爱新^{1,2}, 王晓东², 汪莉¹, 王玉春²

(1. 北京科技大学土木与环境工程学院, 北京 100083; 2. 中国科学院过程工程研究所生化工程国家重点实验室, 北京 100080)

摘要: 红花是重要的油药两用作物, 本文对红花细胞和组织培养的国内外研究进展进行了综述, 主要包括愈伤组织的诱导、次生代谢产物的合成及细胞的大规模培养、器官发生、体细胞胚胎发生等几个方面, 并对该领域的发展前景进行了展望。

关键词: 红花; 次生代谢物; 器官发生; 体细胞胚发生; 细胞培养; 组织培养

中图分类号: R282.71 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-606X(2006)01-0156-05

1 前言

红花(*Carthamus tinctorius* L.)为菊科(Compositae)红花属一年生草本植物, 又名红花草、川红花、刺红花, 因其叶似蓝靛, 又名红蓝花, 又因花中带有黄色而称为黄蓝花^[1]。原产埃及, 在巴基斯坦、印度等地均有栽培, 汉代初传入我国, 始载于《开宝本草》, 列为中品^[2], 迄今已有 2100 多年的栽培历史。我国红花产区主要集中在新疆, 其次为四川和云南等省。红花是油药两用作物, 其干燥管状花是一味常用中药, 性辛、温, 具有活血通络、祛瘀止痛之功效。临床上常用来治疗子宫充血、心血管、血栓等疾病, 也作止痛、消炎剂^[3]。红花中含有丰富的红花黄色素和少量的红色素, 经提取后广泛用于糖果、糕点、饮料、香料、酒类、面食等各类食品及化妆品着色, 是一种天然的食用色素。红花籽油除因富含亚油酸而作为高级烹饪油外, 还广泛用于医药和化工工业^[4]。目前, 尽管红花作为一种很有前途的经济作物, 已得到大面积种植, 但是球腐病、叶斑病、根腐病、锈病、疫病、叶枯病、白粉病等病害影响着红花的生产。为获得高产、优质、抗病虫、抗逆性强的油花兼用的品种, 可以利用植物组织培养技术, 通过对培养条件的调控及高产细胞系的筛选, 生产有用的天然化合物(包括药物、色素、香料和食品添加剂等)以及得到再生植株。本文结合国内外最新研究成果, 对红花愈伤组织的诱导、次生代谢产物的合成及细胞的大规模培养、种苗快繁等几个方面进行了综述。

2 愈伤组织的诱导

红花愈伤组织的诱导国内外已做了一定程度的研究, 不同品种、同一品种的不同部位诱导愈伤组织的诱导率不同, 最高诱导率达 95%~100%。

靳占忠等^[5]从红花根、胚轴、子叶中诱导出愈伤组织, 并对愈伤组织的形成与过氧化物酶和酯酶同工酶的关系进行了研究。结果表明, 随外植体子叶脱分化过程的进行, 过氧化物酶同工酶酶带逐渐增多, 而酯酶同工酶酶带则逐渐减少, 并出现特异的诱导谱带。由此可见, 酯酶同工酶可望作为红花愈伤组织的形成和再分化的生化指标。进一步研究得出, 不同激素作用下, 红花子叶外植体的转化酶活性不同, 酶活性的高峰恰与子叶膨胀生长速度的高峰一致^[6]。因此推测, 各种激素是通过某种机制调节转化酶活性来调控离体子叶的膨胀生长。超微结构研究揭示, 红花子叶脱分化过程中的细胞代谢极其活跃, 贮藏的脂类在诱导的初期即被利用, 叶绿体也产生质体分裂或出芽增殖的脱分化过程^[7]。Nikam 等^[8]对印度产的红花品种 Bhima 愈伤组织的诱导、生长进行了研究, 表明不同外植体诱导愈伤的能力不同, 生长所需的最适激素种类及配比亦不同。此外, Rani 等^[9]对印度产的红花另一品种愈伤组织的诱导及其生长进行了研究, 所得结果与前者亦不同。这再一次说明了不同品种红花、同一品种不同外植体诱导愈伤的能力不同, 也就决定了其以后再分化能力的不同。

3 器官发生和体细胞胚胎发生

形态发生就是生物个体发育或再生过程中, 机体及其器官形态结构的形成过程。植物组织或细胞离体培养中的形态发生有器官发生和体细胞胚胎发生两种途径形成再生植株, 都是以细胞分化为基础的, 它包含了组织和器官的形成, 形态发生的最后结果是形成一个发育成熟的完整植株。

3.1 器官发生

利用器官发生途径形成再生植株包含两种方式, 一种是在外植体上直接分化出芽; 另一种是在外植体上先

形成愈伤组织, 再进行芽的分化, 然后再把芽转到生根培养基上, 从而长成正常植株。

3.1.1 器官发生直接途径

1982年, George等^[10]对印度产红花的器官发生进行了研究, 其中P-9 black和Th-10 black两个品种的胚轴和子叶外植体, 在MS+NAA(0.5 mg/L)+6-BA(0.2~2 mg/L)上, 约有40%形成丛生芽, 而Partial hull black品种则仅有10%的外植体产生丛生芽, 不过芽都很小, 大多数不能长成正常植株。只有在高蔗糖浓度(6%, 7%或8%)的MS培养基上, 才有50%的芽(NP-9 black和Th-10 black)产生根。1983年, Goyol等^[11]将印度产红花茎尖切片培养在配方为MS+0.04 mg/L KT+3 mg/L NAA的培养基上, 形成大量的负向地性和向地性的根。随后, Tejovathi等^[12]在添加不同激素的MS培养基上, 观察到印度产红花品种Mangira和A-1的子叶内表皮出现花头诱导。一个花头的小花在移植的55 d和90 d内开花, 小花的花粉能育率为90%~95%, 胚发育正常, 并重新获得少量种子。Orlikowska等^[13]对美国产红花品种Centennial和Montola的研究表明, 从外植体直接诱导发芽的最佳培养基配方为: MS+NAA(0.1 mg/L)+6-BA(0.5 mg/L)或TDZ(0.1 mg/L)。发芽后再把它转接到1/2MS+NAA(1 mg/L)上生根, 芽的生根率分别为31%和67%, 最后成功地把它移植到温室中。此外, 在含有NAA和TDZ的MS培养基上观察到了从未成熟的胚直接发芽再生的现象。Baker等^[14]改善生根培养基的配方, 在1/2MS+10 mg/L IBA中培养7 d, 再转入15 g/L蔗糖+1 g/L活性炭培养基中培养21 d, 不但使Centennial品种再生芽玻璃化现象减少, 还使生根率高达76%。

3.1.2 器官发生间接途径

从红花愈伤组织间接器官发生种苗快繁途径则相对困难得多。Tejovathi等^[15]报道的印度产红花品种Mangira和A-1从愈伤组织诱导出的再生芽发生的频率非常低, 且重复性差。20世纪90年代, Prasad等^[16]对Mangira的单倍体再生植株进行了研究, 发现MS培养基易于单倍体愈伤的诱导, 当附加2.0 mg/L 6-BA和0.5 mg/L NAA时能从单倍体愈伤长出丛生芽, 把此芽转到1/2MS+0.1 mg/L NAA+1%蔗糖上能长出根, 从而长成正常植株。Ying等^[17]则利用根瘤农杆菌介导形成转基因美国产的红花品种Centennial, 并对其植株的再生进行了研究, 芽从子叶和叶子诱导出的愈伤中得到, 发芽率为26%, 尝试生根没有成功。Orlikowska等^[18]对根瘤农杆菌介导转基因Centennial芽的再生影响因子进行了研究。Sankara等^[19]研究了印度产的红花品种A-1和A-300的根瘤农杆菌介导的转基因芽再生, 在富含0.1 g/L NAA

和1 g/L 6-BA的MS培养基上, 仅在“A-300”子叶诱导的愈伤组织上长出丛生芽, 诱导率最高为34%, 把它转到含有0.1 g/L NAA的MS培养基上观察到生根现象, 不过频率非常低。Orlikowska等^[13]研究Centennial从愈伤组织诱导出的芽没有生根现象, 对于红花品种从愈伤组织诱导出的芽的生根问题一直没有得到有效解决。

3.2 细胞胚胎发生

体细胞胚胎发生途径再生植株的过程不仅能充分说明植物细胞的“全能性”, 而且还由于其具有繁殖速度快、殖系数高、染色体稳定及单细胞起源等特点而受到普遍关注。体细胞胚胎发生途径可分为直接途径和间接途径, 直接途径就是从外植体某些部位直接分化出体细胞胚; 间接途径指外植体脱分化形成愈伤组织, 再由愈伤组织的某些细胞分化出体细胞胚, 进而发育成再生植株。在1995年, Mandal等^[20]首次对印度产红花品种Girna的体细胞胚胎发生直接途径再生植株进行了研究, 结果表明在MS+1.0~2.0 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA的培养基上子叶能够长出发芽的胚胎, 把它转移到1/2MS+0.2 mg/L NAA上能够长成正常植株。他们又进一步研究了基因型、外植体苗龄、碳源、乙烯抑制剂等因子、不同激素种类、不同激素浓度对红花体细胞胚胎发生的影响, 发现Girna体细胞胚胎发生最优条件为: 10 d苗龄的子叶外植体在含有30 g/L蔗糖和50 μ mol/L AgNO₃的1 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA的MS培养基上培养^[21,22]。

4 次生代谢产物的合成及细胞大规模培养

植物的有效成分大多为一些次生代谢产物。目前, 已从红花细胞培养物中得到 α -生育酚等生物抗氧化剂类物质、红花黄色素、红色素等。其中 α -生育酚具有很强的抗氧化性能, 有防止衰老和防老年病的作用, 与化学合成的生育酚相比其活性更大。红花黄色素和红色素不但是红花药理作用的有效成分, 还可作为食品添加剂、染色剂被广泛地用于工业生产中。通过组织培养生产 α -生育酚、红花黄色素和红色素既不受季节性影响, 又可对细胞生长和代谢过程进行合理调控, 从而达到减少劳动成本、提高生产效率的目的。

4.1 α -生育酚的合成

甘烦远等^[23,24]研究证明, 从红花无菌苗的胚根、胚轴、子叶和花蕾中诱导出的愈伤组织均具有合成 α -生育酚的能力, 其中以胚轴产生的愈伤组织和悬浮培养细胞的生长速率及 α -生育酚的含量较高。对红花细胞生长较适宜的培养基为MC培养基, 附加2 mg/L 2,4-D, 0.1

mg/L KT, 0.45%~0.55%肌醇及 10%椰子汁、0.1%~0.5%蛋白氨基酸、30 g/L 蔗糖和 10 g/L 的葡萄糖时, 细胞的生长速率、 α -生育酚含量和产率分别是对照的 1.88, 2.03 和 3.30 倍。王锴等^[25]从红花的子叶中诱导出的愈伤组织, 合成生育酚的最优配方是在 MS 培养基上添加 0.1%酪蛋白, 并将生长调节剂浓度调整为 0.30 mg/L 2,4-D, 1.80 mg/L 6-BA, 可使 α -, β -, γ -生育酚的含量分别达到 4.1706, 0.3120 和 0.1650 $\mu\text{g/g}$ 鲜重。其有效生育酚含量达 4.4091 $\mu\text{g/g}$ 鲜重, 是对照的 57 倍。刘继红^[26]也从红花花蕾诱导出的愈伤组织中得到了生育酚。以上结果的差异可能缘于实验所用红花品种及外植体部位的不同。

周平等^[27,28]、甘烦远等^[29]为了得到高产的细胞系, 建立了红花单细胞克隆体系, 利用细胞平板培养技术和 HPLC 法测定培养细胞中 α -生育酚的含量, 对 200 多个单细胞或小细胞团发育而来的细胞克隆进行了筛选, 筛选到 1 个合成 α -生育酚较稳定的高产克隆系 CT-289, 其 α -生育酚平均含量为 114.4 $\mu\text{g/g}$ (干重), 是原始株系(15.83 $\mu\text{g/g}$)的 7.2 倍。

诱导子和前体是提高组织培养中次级代谢产物含量的重要手段。甘烦远等^[30-32]研究了诱导子人参寡糖对红花培养细胞的生理效应, 从人参培养细胞中分离纯化出不同寡糖, 在红花细胞悬浮培养过程中同时加入 2 mg/L 寡糖 VI 和寡糖 VII 及 1 mg/L 寡糖 VIII, 可使红花细胞生长速率提高 18.11%, α -生育酚含量比对照提高 3.5 倍, 其产率比对照提高 4.3 倍。人参寡糖素 M 能提高红花培养细胞的生长速率和培养细胞中代谢产物 α -生育酚的含量, 其最适作用浓度在愈伤组织中为 5 mg/L。加入人参寡糖素 M 可缩短红花悬浮培养细胞生长的延缓期, 并于指数生长期作用最明显; 另外可使细胞生长及 α -生育酚积累同时提前达到最高值, 因而缩短了细胞收获时间。进一步研究^[33]得出, 在红花悬浮细胞培养基中同时加入 15 mg/L 的寡糖 F-(II)和 75 mg/L 的植醇、100 mg/L 的角鲨烯, 细胞生长速率可提高 23.81%, α -生育酚含量及产量分别比对照提高 2.8 倍和 3.6 倍。

4.2 红花色素的合成

在 20 世纪 80 年代后期, 日本就开始研究利用红花细胞培养生产红花色素。日本专利记载, 可以用红花花蕾的细胞或花蕾的细胞团块进行组织培养生产红花甙, 先将细胞或细胞团块放在改良的 MS 培养基上, 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 培养 20 d, 再将形成的愈伤组织 1.5 g 于 25 $^{\circ}\text{C}$ 在 MS 液体培养基中黑暗培养 4 d, 获得 50 mg 红花甙。也可在液体培养基中加聚氨基葡萄糖和纤维素, 从完成培养的组织培养液中滤取已变色的纤维素, 再从纤维素提取红色

或黄色色素。如果在液体培养基中加入 NAA(10^{-5} ~ 10^{-6} mol/L)和 6-BA(10^{-6} mol/L), 将形成的愈伤组织培养 14 d, 则 1 g 干愈伤组织可得 40 mg 红花黄色素。在改良的 H 液体培养基中, 25 $^{\circ}\text{C}$ 下培养愈伤组织 3 d, 可获得较高产量的红色红花色素。在培养基中加有红花甙前体(黄色的红花浸液), 更能保证红花甙产量的提高^[34]。

Hanagata 等^[35-37]的两步培养法生产红色素是先在富含高浓度生长素的 MS 培养基上让细胞高度生长, 再将其转到富含高浓度细胞分裂素的改良 White 培养基上, 以产生红花红色素。子叶诱导产生的愈伤组织先让其在 MS+1 mg/L NAA+1 mg/L KT 培养基上生长, 再转到添加 1 mg/L NAA+10 mg/L KT 的 White 培养基培养产生红色素, 液体培养以 RPP-1 培养基为宜。Wakayama 等^[38,39]在改良后的 MS 培养基上利用两步培养法产生 Kinobion A(红花红色素中的一种成分)。Kanehira 等^[40]比较了其与木脂体和槲黄素另两种自然抗氧化剂功效的异同, 发现它的细胞保护作用更强。

4.3 细胞大规模培养

植物细胞培养的目的之一是实现次级代谢产物的工业化生产, 生物反应器技术则是植物组织和细胞培养生产次级代谢产物实现产业化的关键因素之一。在 1994 年 Hanagata 等^[37]首次利用鼓泡式生物反应器(Bubble column bioreactor)进行红花细胞培养, 不过此反应器容积仅有 3 L, 仅仅用于产生红花红色素。到 2000 年, Gao 等^[41]不仅研究了蔗糖浓度和光照对细胞培养色素产生的影响, 还把 10 L 的气球型气升式生物反应器(Balloon-type airlift bioreactor)和 5 L 的柱型生物反应器(Column-type bioreactor)用于两步培养法产生红花色素, 结果表明蔗糖浓度为 8%~12%, 光照增加有利于红花色素的产生, 红花细胞先在 1/2MS+2 mg/L NAA+0.2 mg/L KT 的培养基生长, 再转到 White+0.2 mg/L NAA+4 mg/L KT 培养基上, 红花色素含量达到最高。

5 结论与展望

目前, 红花组织培养主要集中在两方面, 一是利用细胞培养技术生产有用成分, 这方面国内外已取得了一定进展, 能够筛选出高产生育酚的细胞株。此外, 细胞培养产生红花黄色素和红色素以及利用生物反应器生产红花色素也有报道, 但技术还不够成熟, 红花细胞大规模培养生产生育酚则未见报道。所以如何应用现代生物学技术筛选出遗传性状稳定的高产细胞系, 并与工程学相结合, 利用生物反应器大规模培养, 实现红花细胞培养生产有用次级代谢产物的工业化、商品化也将成为今后研究的重要方向。另一方面红花组织培养再生植株

国内几乎没有什么报道,国外也只是在利用器官发生和体细胞胚胎发生直接途径再生植株方面有一些报道,而由愈伤组织诱导体细胞胚发育成再生植株的间接途径未见报道。不同的红花品种、同一品种的不同外植体的再生植株的诱导条件不同,诱导的难易程度也不同,由此可见植株再生中外植体的基因型有着重要的影响,红花器官发生途径再生植株的系统研究应进一步加强。红花传统育种方法中杂交百分率高的品系或组合难以获得,通过组织培养的手段进行育种,有望解决这一问题。尽管红花已经成功地通过器官发生得到了完整的再生植株,但是器官发生中根与芽要分别在不同的培养基上诱导,为了获得完整的植株需要变换培养基,此过程不仅耗费人力、物力,而且增加污染几率;而体细胞胚发生的途径不仅不存在这样的问题,且形成的再生植株的变异性小于器官发生途径得到的植株,可以固定杂种优势。目前对体细胞胚胎发生途径再生植株的研究刚刚起步,所以体细胞胚发生途径获得再生植株值得进一步研究,这不仅有望解决红花传统栽培选育存在的问题,也可作为植物体细胞胚的发生机制的探索提供理论基础。

参考文献:

- [1] 榕嘉. 红花素的化学结构和相关性能 [J]. 丝绸, 2002, 3: 23-25.
- [2] 郭美丽, 张汉明, 张美玉. 红花本草考证 [J]. 中药材, 1996, 19(4): 202-203.
- [3] 江西新医学院. 中药大词典, 上册 [M]. 上海: 上海人民出版社, 1975. 992.
- [4] 袁国弼, 韩孕周, 黎大爵, 等. 红花种质资源及其开发利用 [M]. 北京: 科学出版社, 1989. 1-29.
- [5] 靳占忠, 侯占铭, 韩碧文. 红花愈伤组织诱导及其与过氧化物酶和酯酶同工酶的关系 [J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(3): 15-18.
- [6] 靳占忠, 侯占铭, 韩碧文. 不同激素对红花子叶外植体过氧化物酶、酯酶同工酶和过氧化物酶转化酶活性的影响 [J]. 北京农业大学学报, 1990, 16(1): 39-44.
- [7] 侯占铭, 韩碧文. 红花组织培养中细胞分化的超微结构研究 [J]. 植物学报, 1994, 36(增刊): 61-66.
- [8] Nikam T D, Shitole M G. In vitro Culture of Safflower L. cv. Bhima: Initiation, Growth Optimization and Organogenesis [J]. Plant Cell Tiss. Organ Culture, 1999, 55: 15-22.
- [9] Rani K J, Rao T N, Raghunatham G, et al. Studies on Callus Growth and Differentiation in Safflower [J]. J Genet. Psy., 1996, 56(4): 458-461.
- [10] George L, Rao P S. In vitro Multiplication of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through Tissue Culture [J]. Biol. Sci., 1982, 48(6): 791-794.
- [11] Goyol S C, Pillai A. Formation of Negatively and Geotropic Roots in Shoot Apex Cultures of *Carthamus tinctorius* L. [J]. Curr. Sci., 1983, 52(22): 1061-1062.
- [12] Tejovathi G, Anwar S Y. In vitro Induction of Capitula from Cotyledons of *Carthamus tinctorius* L. (Safflower) [J]. Plant Sci. Lett., 1984, 36: 165-168.
- [13] Orlikowska T K, Dyer W E. In vitro Regeneration and Multiplication of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) [J]. Plant Sci., 1993, 93: 151-157.
- [14] Baker C M, Dyer W E. Improvements in Rooting Regenerated Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Shoots [J]. Plant Cell Rep., 1996, 16: 106-110.
- [15] Tejovathi G, Anwar S Y. Plantlet Regeneration from Cotyledonary Cultures of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) [A]. Reddy G M. Symposium: Proceedings, Plant Cell and Tissue Culture of Economically Important Plants [C]. India: Hyderabad, 1987. 347-353.
- [16] Prasad B R, Khadeer M A, Seeta P, et al. In vitro Induction of Androgenic Haploids in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) [J]. Plant Cell Rep., 1991, 10: 48-51.
- [17] Ying M, Dyer W E, Bergman J W. Agrobacterium Tumefaciens-mediated Transformation of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cv. Centennial [J]. Plant Cell Rep., 1992, 11: 581-585.
- [18] Orlikowska T K, Cranston H J, Dyer W E. Factors Influencing Agrobacterium Tumefaciens-mediated Transformation of the Safflower Cultivar Centennial [J]. Plant Cell Tiss. Organ Culture, 1995, 40: 85-91.
- [19] Sankara Rao K, Rohini V K. Gene Transfer into Indian Cultivars of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Using Agrobacterium Tumefaciens [J]. Plant Biotechnology, 1999, 16: 201-206.
- [20] Mandal A K A, Chatterji A K, Dutta Gupta S. Direct Somatic Embryogenesis and Plantlet Regeneration from Cotyledonary Leaves of Safflower [J]. Plant Cell Tiss. Organ Culture, 1995, 14: 197-206.
- [21] Mandal A K A, Gupta S D, Chatterji A K. Factors Effecting Somatic Embryogenesis from Cotyledonary Explants of Safflower [J]. Biologia Plantarum, 2001, 44(4): 503-507.
- [22] Mandal A K A, Gupta S D. Somatic Embryogenesis of Safflower: Influence of Auxin and Ontogeny of Somatic Embryos [J]. Plant Cell Tiss. Organ Culture, 2003, 72: 27-31.
- [23] 甘烦远, 郑光植. 红花愈伤组织诱导、生长及其 α -生育酚的产生 [J]. 云南植物研究, 1991, 13(2): 189-195.
- [24] 甘烦远, 郑光植. 各种因素对红花培养物中细胞生长及 α -生育酚含量的影响 [J]. 植物学报, 1991, 33(7): 516-522.
- [25] 王锴, 邵鸥, 岑沛霖. 红花细胞培养条件的优化及其胞内产物生育酚的积累 [J]. 生物工程学报, 1999, 15(4): 444-449.
- [26] 刘继红. 红花细胞培养产生维生素 E 的研究 [J]. 中国药学杂志, 1992, 27(8): 468.
- [27] 周平, 郑光植. 红花单细胞克隆的建立 [J]. 植物学报, 1989, 31(9): 661-667.
- [28] 周平, 郑光植. 红花细胞克隆的平板培养 [J]. 植物学报, 1989, 31(7): 505-511.
- [29] 甘烦远, 郑光植. 红花细胞培养中高产 α -生育酚克隆系的筛选 [J]. 云南植物研究, 1992, 14(3): 289-294.
- [30] 甘烦远, 郑光植, 王世林, 等. 诱导子人参寡糖对红花培养细胞的生理效应 [J]. 植物学报, 1992, 34(3): 208-213.
- [31] 甘烦远, 徐纯, 郑光植. 人参寡糖素 M 对红花培养细胞生长与 α -生育酚形成的影响 [J]. 植物生理学报, 1992, 18(4): 355-360.
- [32] 甘烦远, 徐纯, 郑光植. 寡糖素对红花及三七培养细胞的生理作用 [J]. 植物学通报, 1995, 12(3): 36-40.
- [33] 甘烦远, 徐纯, 郑光植. 植醇与寡糖对红花悬浮培养细胞的生长及 α -生育酚积累的效应 [J]. 植物生理学报, 1990, 16(4): 361-366.
- [34] 钟朝杰, 李隆云. 红花化学成分和色素提取的研究概述 [J]. 四川中草药研究, 1992, (33-34): 73-79.
- [35] Hanagata N, Ito A, Fukuju Y, et al. Red Pigment Formation in Cultured Cell of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) [J]. Biosci. Biotechnol. Biochem., 1992, 56: 44-47.
- [36] Hanagata N, Ito A, Uehara H. Behavior of Cell Aggregate of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cultured Cell and Correlation

- with Red Pigment Formation [J]. *Biotechnology*, 1993, 30: 259–269.
- [37] Hanagata N, Karube I. Red Pigment Production by Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Cell in a Two-stage Culture System [J]. *Biotechnology*, 1994, 31: 59–65.
- [38] Wakayama S, Kusaka K, Kamehira T, et al. Kinobion A, a Novel Red Pigment Produced in Safflower Tissue Systems [J]. *Zeitschrift für Naturforschung*, 1994, 49c: 1–5.
- [39] Wakayama S. A Novel Red Pigment, Kinobion A Produced by the Culture of Composite Plants [J]. *Shokubutsu Soshiki Baiyo*, 1995, 12: 297–302.
- [40] Kanehira T, Takekoshi S, Nagata H, et al. A Novel and Potent Biological Antioxidant, Kinobion A, from Cell Culture of Safflower [J]. *Life Sci.*, 2003, 74: 87–97.
- [41] Gao W Y, Fan L, Paek K Y. Yellow and Red Pigment Production by Cell Cultures of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) in a Bioreactor [J]. *Plant Cell Tiss. Organ Culture*, 2000, 60: 95–100.

Advances in Cell and Tissue Culture of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.)

LI Ai-xin^{1,2}, WANG Xiao-dong², WANG Li¹, WANG Yu-chun²

(1. College Civil & Environ. Eng., University of Science and Technology Beijing, Beijing 100083, China;

2. State Key Lab. Biochem. Eng., Inst. Process Eng., Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

Abstract: Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) is a traditional medicinal herb and also an important oilseed crop. In this paper, the callus induction, large scale cell culture, secondary metabolite, synthesis, somatic embryogenesis and organogenesis of safflower are briefly reviewed, and the prospect of this research field is also discussed.

Key words: safflower (*Carthamus tinctorius* L.); secondary metabolites; organogenesis and somatic embryogenesis; cell and tissue culture