

杆菌的银杏悬浮培养细胞系的银杏内酯的含量,分别为 0.065% 和 0.087%^[28]。我国学者刘树楠等用发根农杆菌转化银杏叶片、幼芽和幼茎,建立悬浮培养无性系,再生出毛状根,并且证明毛状根同样具有合成银杏黄酮和银杏内酯的能力^[29],并比较了不同化学因子对发根悬浮培养的影响,指出以 B₅ 培养基为基本培养基,加入 1.0mg/l NAA、15g/l 的蔗糖有利于发根的培养^[30]。

4 前景展望

随着人们生活水平的日益提高,人们对自身健康更加重视,而且伴随心脑血管疾病日益增多,银杏黄酮和内酯的需求量也越来越大。因此,银杏组织培养工厂化生产银杏黄酮和内酯前景广阔。毋庸置疑,在过去的十余年里,利用细胞和组织培养技术生产银杏黄酮类化合物和银杏内酯等次生代谢产物的研究已经取得了较大的进展,但是,仍然面临着诸如生产成本高、离体细胞生长繁殖缓慢、次生代谢产物含量低等多方面的问题,因此,进一步优化银杏细胞组织培养条件、提高细胞生长繁殖速率和次生代谢产物含量、降低生产成本仍然是今后研究的重点方向。

参考文献:

- [1] Jenn M H, Sung S H, Huh H, et al. Ginkgolide B production in cultured cells derived from *Ginkgo biloba* L. leaves[J]. *Plant Cell Report*, 1995, 14(8):501-504.
- [2] Carrier D, archambault J, Heijden R, et al. Formation of terpenoid products in *Ginkgo biloba* L. cultivated cells[J]. *Plant Cell Report*, 1996, 15:888-891.
- [3] 李春斌,王关林,岳玉莲,等.培养条件对银杏悬浮培养细胞黄酮和成的影响[J].大连理工大学学报,2003,43(5):287-291.
- [4] 倪静静,黄学林,冈田芳明,等.银杏愈伤组织培养及其黄酮类化合物的测定[J].热带亚热带植物学报,2001,9(2):163-166.
- [5] 陈发兴,赖钟雄.银杏愈伤组织细胞生长及其黄酮苷含量[J].福建农林大学学报,2004,33(4):456-458.
- [6] 徐利钧,谢永红,甘霖,等.银杏组培繁殖及黄酮糖苷的产生[J].西南农业大学学报,2001,23(4):368-370.
- [7] 刘佳佳,郭勇,郑德平,等.高产黄酮苷银杏悬浮培养细胞系选育和继代稳定性研究[J].生物工程学报,2001,17(1):94-97.
- [8] 杨林.银杏愈伤组织的形成及其中黄酮类化合物的产生[J].天然产物研究与开发,2001,13(3):48-51.
- [9] 杨林,周吉源.银杏细胞悬浮培养及黄酮的产生[J].中央民族大学学报:自然科学版,2002,11(1):55-58,79.
- [10] 莫小路,黄学林,孟辰.银杏悬浮细胞叶绿体的分化与黄酮类产物积累[J].中山大学学报:自然科学版,2003,42(6):94-97.
- [11] 王德强,王晓玲.银杏细胞的悬浮培养研究[J].食品与生物技术学报,2005,24(3):27-29,33.
- [12] 秦卫东,高明侠,苗敬芝,等.固定化银杏克隆细胞悬浮培养产生黄酮的研究[J].食品发酵工业,2005,37(3):45-48.
- [13] 江静,尚富德,高青雨.银杏细胞悬浮培养及其黄酮类物质生产[J].河南大学学报,2002,32(3):20-24.
- [14] 尚富德,马云峰.不同浓度的 La³⁺ 和 Cu²⁺ 对银杏固体培养和液体培养组织中黄酮产量的影响[J].西北植物学报,2003,23(9):1577-1580.
- [15] Carrier D, Chauret N, Mancini M. Detection of ginkgolide A in *Ginkgo biloba* cell cultures[J]. *Plant Cell Report*, 1991, 10(5):256-269.
- [16] Huh H, Staba J. Ontogenic aspects of ginkgolide production in *Ginkgo biloba* [J]. *Plant Med*, 1992, 59:232-240.
- [17] Cartayrade A, Neau E, Sohieer C, et al. Ginkgolide and bilobalide biosynthesis in *Ginkgo biloba*. I: sites of synthesis, translocation and accumulation of ginkgolides and bilobalide[J]. *Plant Physiol Biochem*, 1997, 35(11):859-871.
- [18] 王关林,李春斌,方宏筠.提高银杏悬浮培养细胞内酯合成的研究[J].园艺学报,2002,29(4):321-325.
- [19] 刘佳佳,李晚如,郭勇,等.缺氧胁迫法选育高产银杏内酯悬浮细胞系研究[J].天然产物研究与开发,2001,13(2):1-4.
- [20] 莫小路,黄学林.银杏悬浮培养细胞的生长分化与萜内酯化合物的积累[J].生物工程学报,2004,20(3):445-449.
- [21] 莫小路,黄学林,孟辰.银杏选育悬浮细胞叶绿体的分化与黄酮类产物的积累[J].中山大学学报:自然科学版,2003,42(6):94-97.
- [22] 孟超,徐弘,程克棣.银杏植物各部位及银杏组织培养细胞中银杏内酯 B 和白果内酯含量的初步研究[J].天然产物研究与开发,2005,17(5):603-605.
- [23] 于荣敏,高越,吕华冲,等.银杏细胞固定化培养及其影响因素考察[J].中草药,2004,35(7):803-808.
- [24] 于荣敏,高越,宋丽艳,等.银杏细胞固定化培养及银杏内酯的产生[J].云南植物研究,2004,26(3):338-344.
- [25] 刘佳佳,江文辉,赵国玲,等.银杏致密细胞团颗粒悬浮培养生产银杏内酯研究[J].天然产物研究与开发,2001,13(4):16-19.
- [26] 崔崖兵,张长远,郑德平,等.稀土元素对银杏悬浮培养细胞生长和次级代谢产物积累的影响[J].广东农业科学,2002,5:29-31.
- [27] 戴均贵,朱蔚华,吴蕴祺,等.前体及其真菌诱导子对银杏悬浮培养细胞产生银杏内酯 B 的影响[J].药学学报,2000,35(2):151-155.
- [28] Laurain D, Guiller J, Chenieux J. Production of Ginkgolide and bilobalide in transformed and gametophyte derived cell cultures of *Ginkgo biloba* [J]. *Phyto Chemistry*, 1997, 46(1):127-130.
- [29] 刘树楠,孙天恩,李根保.银杏发根的转化及其悬浮培养无性系的建立[J].武汉大学学报,1998,44(2):238-240.
- [30] 刘树楠,杨春燕,周吉源.不同化学因子对银杏发根悬浮培养生长效应的研究[J].华中师范大学学报:自然科学版,2005,39(3):384-386.

薯蓣植物组织培养的研究进展

蒋玉宝,于元杰*

(山东农业大学农学院,山东泰安 271018)

摘要:该文综述了组织培养在薯蓣植物快速繁殖、诱导多倍体及高产无性系筛选等方面的研究状况。褐化是薯蓣植物组培中常见的一种现象,也是阻碍组培发展的一大因素,为此,该文对褐化的原理作了分析并提出了几点解决方法,旨在使组织培养在薯蓣植物上得到更广阔的应用。

关键词:薯蓣;组织培养;褐变;药用植物

中图分类号:Q813.1*2 文献标识码:A 文章编号:1004-311X(2006)04-0093-04

薯蓣科(*Dioscorea*)是单子叶植物,约有 10 属 650 种,广泛分布于全球热带和温带。薯蓣植物是一类极其重要的经济作

物,其中多数种类的块茎可作食用、药用和工业原料。药用薯蓣体内含有薯蓣皂素(diosgenin)是合成甾体激素类药物的重要原料,其结构经改造和合成后,可得到数千种不同的甾体激素类药物,被医药界称作“药用黄金”。据有关资料介绍,皂素目前国际市场年需求量约为 6 000t,国内年需求量 3 000t,现在全世界年产量约 3 000t,可见市场缺口较大,因此薯蓣资源成为亟待解决的问题。野生薯蓣资源有限,生育期长而且大面积遭到采挖,栽培薯蓣植物可以解决对薯蓣资源的大量需求,经对穿山龙的试验,三年单产可达 30 000kg/hm²,但栽培薯蓣植物仍具有生长周期长和易受环境影响等缺点,因此作为继

收稿日期:2005-11-16;修回日期:2006-04-15

基金项目:山东省科技厅超级小麦育种技术研究与产业化开发项目[鲁科农字(2004)113号]

作者简介:蒋玉宝(1981-),男,山东曲阜人,在读硕士生,从事生物技术在植物育种上的应用方面研究, E-mail: dragonflyjyb@126.com, Tel: 0538-8242903;通讯作者:于元杰(1953-),男,山东莱州人,硕士生导师,教授,从事生物技术改良作物的理论和应用研究,发表论文 26 篇,获成果 8 项, E-mail: yuanjie@sdau.edu.cn。

野生、栽培之后的第三代植物资源的生产方式——植物组织培养便受到人们的青睐。据估计,一株穿山龙的继代苗理论年增殖数可达530 000株。由此可见组织培养在薯蓣植物上的巨大的应用潜力。本文综述了组织培养在薯蓣植物上的研究状况,旨在使组织培养技术在薯蓣植物上得到更广泛的应用。

1 薯蓣植物组织培养的意义

1.1 薯蓣植物的药用价值

薯蓣植物的价值主要体现在药用方面,30多种药用薯蓣体内含有薯蓣皂苷(dioscin),其配基薯蓣皂苷元(diosgenin)是合成多种甾体激素和甾体避孕药比较理想的前体,世界各国生产的甾体激素60%以上以它为原料,甾体激素应用广泛,目前国内有众多厂家生产甾体激素类药物和甾体口服避孕药,是药品生产中仅次于抗菌素的一个重要领域^[1]。

薯蓣植物中盾叶薯蓣药用价值极高,是制造甾体激素类药物及避孕药的重要原料,特别是其皂苷提取物一皂苷素,是生产盾叶冠心宁、地奥心血康等治疗心血管疾病药物的重要原料,对防治冠心病、高血压及动脉硬化具有独特疗效^[2];穿龙薯蓣能祛风除痹、活血舒筋、消食利水、止咳化痰,临床应用为治疗风湿性关节炎、冠心病、慢性气管炎、急性化脓性骨关节炎、甲状腺腺瘤等疾病^[3]。薯蓣植物的其它种也具有一定的药用价值。

中国和墨西哥是薯蓣植物的主产国,其中墨西哥的菊花薯蓣和多花薯蓣皂苷元(diosgenin)单株含量最高可达13%,而我国湖北武当山地区所产盾叶薯蓣皂苷元含量单株最高可达16.15%,是目前世界上单株皂苷元含量最高的薯蓣种^[4]。部分薯蓣植物的薯蓣皂苷元(diosgenin)含量见表1。

表1 部分薯蓣植物的薯蓣皂苷元(diosgenin)含量

Table 1 The content of diosgenin of some *Dioscorea* plant

植物 Plant name	薯蓣皂苷元含量(%) Content	主要皂苷元 Primary diosgenin	生产应用评价 Evaluate
盾叶薯蓣 <i>D. zingiberensis</i>	1.05 - 16.15	D., zingiberin A, B Proto-zingiberin	I
小花盾叶薯蓣 (<i>D. parviflora</i>)	3.40 - 3.90	D., Y.	I
穿龙薯蓣 (<i>D. nipponica</i>)	1.36 - 4.60	D.	I
柴黄姜(<i>D. nipponica</i> Subsp. <i>rosthornii</i>)	1.25 - 2.55	D.	II
纤细薯蓣 (<i>D. gracillima</i>)	0.44 - 2.90	D., 3-5 - deoxytigogenin	II
叉蕊薯蓣 (<i>D. colletii</i>)	1.70 - 2.70	D., Y., 3-5 - deoxytigogenin, 3-5 - deoxynool - tigog - enin, leonorhogenin	II
粉背薯蓣 (<i>D. colletiif.</i> var. <i>hypogfuaca</i>)	0.45 - 2.02	D., Y.	II
黄山药 (<i>D. paruhaca</i>)	1.70 - 4.20	D., Y. I	
蜀葵叶薯蓣 (<i>D. althaeoides</i>)	0.31 - 2.30	D.	III
三角叶薯蓣 (<i>D. deltoidea</i>)	1.80 - 5.40	D., Y., E., S.	II

注: D - diosgenin; Y - yamogenin; E - epismilagenin; S - samilagenin.

从资源蕴藏量、皂苷元含量、生产工艺等综合考虑的结果, I 最好, II 较好, III 一般。

The results of comprehensive survey from resource reserves and diosgenin content and production technics. I is best, II is better, III is ordinary.

1.2 薯蓣植物组织培养的特点

基于薯蓣植物极为重要的药用价值,以薯蓣植物为原料来生产各种甾体激素类药物的工厂不断增加,使得野生薯蓣

植物日趋减少。据张健夫(2004)报道,长期以来我国穿龙薯蓣的原料主要来源于野生,但由于有些产区逐年采挖,成片的景象已不复存在,有些地区甚至连成龄的植株已很少见^[5];赵钢(2003)等报道经过30余年的大量采挖,我国本来丰富的野生薯蓣资源已越来越少,有的地区已近枯竭^[6]。为此,人工栽培薯蓣植物便显得极为重要。张大军等对野生穿龙薯蓣和栽培穿龙薯蓣作了研究,结果表明两者在薯蓣皂苷元含量和总皂苷元含量方面无差异,表明穿龙薯蓣人工栽培完全可行^[7],但栽培品种有生长周期长(一般为3-5年),块茎生长速度慢,易受环境、季节、病虫害等影响,块茎不规则,不利于收获的缺点,为此自20世纪70年代中期国内外一些研究者利用植物组织培养技术进行薯蓣植物快速繁殖和品种改良^[8]。与传统的生产方式相比,组织培养具有以下几个方面的优点^[9,10]:

1.2.1 繁殖系数大,短期满足大量需求

组织培养所需要的材料只是植株的一部分甚至不到1mm就可获得大量的植株个体。在细胞及原生质体培养时,所需材料更少。组织培养的环境条件是人为控制的,10~40d就可以完成一个繁殖周期。每个周期,被繁殖材料的数量可按几何级数几倍、几十倍,甚至上百倍的增加。

1.2.2 可为植物次生代谢物的生产提供有效途径

植物次生代谢物是许多医药、食品、香料、色素、农药和化工产品的重要原料,其需求量逐年增加,组织培养技术对植物次生代谢物的生产提供了有效的途径,因为任何植物的离体细胞在人工培养下同样具有它们“母体”植物的那种合成药物成分的能力,并能通过改变和调节培养条件,有效的提高其含量和质量。

1.2.3 获得脱毒苗

一些植物用常规无性繁殖,如扦插、嫁接、分株及埋条等有可能携带一种甚至多种病毒或类似病毒,对苗木的生长、产品的质量和产量都有不良影响,而在植物组织培养中,利用脱毒技术生产的脱毒苗,表现为植株生长快、抗逆性强、结果早、产量高、品质好等优势。

1.2.4 科学生产,条件可控误差小

组织培养中用培养基代替了土壤,各种营养成分、环境条件等完全可控,试验处理易于安排调配,处理间误差很小;而且进行无菌生产,摆脱了微生物的侵袭及各种化学物质残留,生产的药材是真正无公害药材。

1.2.5 周年生产,不受季节限制

组织培养是在人为提供的培养基质及小气候环境条件下进行生产的,摆脱了大自然中四季、昼夜变化及灾害性气候的影响,温度、光照等完全可控,条件均一,对植物生长有利。

另外,组织培养可以对植物进行集约化生产,实现植物的工厂化生产,使生产微型化、精密化,节约空间,节省人力物力,管理方便,大大提高了经济效率,利于自动化控制;组织培养还有利于种质资源的保存,解决了很多植物因没有种子供长期保存的问题;在组织培养中控制或添加诱变因素,常获得突变体、多倍体等新品种,目前这种用试管苗筛选植物突变体的方法在生产及育种中被广泛应用。

2 组织培养技术在薯蓣植物上的应用

2.1 运用组织培养技术进行快速繁殖

组织培养最大的优点在于短期内用较少的材料繁殖大量优质种苗,而找寻合适的培养体系则成为快速繁育的前提与关键。近几年,经过不少学者的努力,多种薯蓣植物的培养体系已经建立,为其快速繁育奠定了基础。表2列出了部分薯蓣植物的离体培养体系。

2.2 在组织培养条件下诱导产生多倍体

薯蓣植物的药用价值主要体现在块茎上,如果能得到薯蓣植物的多倍体且能稳定遗传,在薯蓣植物的产量上将产生重要的意义。常规的繁殖方式得到多倍体的概率极低,而在

组织培养条件下诱导产生多倍体则具有很大的可能性。据徐向丽报道^[8],秋水仙素处理过的 *D. floribunda* 离体腋芽可获得四倍体,与二倍体相比较而言,生长旺盛,茎粗壮,叶片较大,皂素含量高。李涵等^[11]在盾叶薯蓣的组织培养条件下对其进行了多倍体诱导的研究,结果表明,用 0.15% 的秋水仙素处理茎段 24h 后,诱导率可达 50%,效果较好,变异株与正常的二倍体植株相比,植株粗壮,叶片变大变厚,叶色浓绿,部分还出现畸形叶,经细胞学研究发现变异植株为四倍体。虽然多倍体的诱导已经成功,但在遗传稳定性上还需要进一步的研究。

2.3 高产无性系的筛选

薯蓣植物的愈伤组织培养后对其进行高产无性系的筛选具有重要的意义,可以为栽培和育种提供优良的种质资源,同时还是进入发酵培养的关键。谢碧霞、何业华等^[21]对盾叶薯蓣的愈伤组织进行了高产系的筛选,指出在筛选高产系时,以选为主,同时将继续代培养与测定皂苷元含量相结合,用目视法选择颜色淡或淡黄、质地疏松、生长速度快的组织块,结合色谱检测,筛选出了优良无性系。

表2 部分薯蓣植物的组织培养体系

Table 2 Tissue culture system of part of yams

植物	外植体	研究成果	参考文献
盾叶薯蓣	茎段、叶柄、叶	诱导愈伤组织培养基: MS+2,4-D 2.0mg/L(单位下同)+BA 0.5;分化培养基: MS+BA 3.0+NAA 0.2;继代培养基: MS+BA 1.0+NAA 0.2;生根培养基: MS+NAA 1.0。	[11]
藤蓣嫩茎		诱导愈伤组织用 MS+2,4-D 3.0;诱导愈伤组织分化用 MS+6-BA 2.0+NAA 0.1;诱导再生丛生芽的生长用 MS+6-BA 1.0+NAA 0.2;诱导生根用 1/2MS+NAA 0.2+IBA 1.0。	[12]
单节茎段		诱导愈伤培养基: MS+6-BA 1.0+2,4-D 4.0;诱导芽培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 0.2 或 MS+6-BA 2.0+NAA 0.5。	[13]
根状茎、茎段、叶柄、幼叶		诱导愈伤培养基: LS+6-BA 0.5+2,4-D 0.5-1.0 或改良 MS+6-BA 0.5+2,4-D 2.0;分化培养基: 改良 MS+6-BA 2.0+Vc 0.5。	[14]
穿龙薯蓣	带腋芽茎段	扩繁继代培养基为: MS+BA 3.0mg/l+NAA 0.3;生根培养基: MS+NAA 1.0。	[15]
幼嫩节间茎段		诱导芽和微块茎的培养基为 MS+6-BA 1.0-2.0+NAA 0.5-1.0;生根的优化培养基则为 1/2MS+6-BA 1.0-2.0+NAA 0.5-1.0+活性炭 1.0%。	[16]
小花盾叶薯蓣	茎段	诱导及增殖培养基: W+6-BA 2.0+IAA 0.2;壮苗培养基: W+NAA 2.0mg/l;生根培养基: 1/2MS(大量元素减半)+IBA 2.0mg/l+0.04%活性炭。	[17]
黄山药	带芽茎段	芽诱导培养基: MS+6-BA 2.0+NAA 0.5-1.0;继代增殖培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 0.5-1.0;诱导生根培养基: 1/2MS+IBA 0.5。	[18]
茎段、叶片		诱导愈伤培养基: MS+2,4-D 2.0+6-BA 2.5;诱导生根培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 0.5+蔗糖 2%;诱导生根培养基: MS+6-BA 1.0+NAA 0.1+蔗糖 3%。	[19]
菊叶薯蓣嫩茎段	带芽的茎段	诱导愈伤组织的培养基为 MS+IAA 0.2+6-BA 2.0;壮苗培养基为 MS+NAA 5.0+6-BA 0.5;芽诱导培养基为 MS+2,4-D 4.0+KT 0.2;生根诱导培养基为 MS+6-BA 0.2+NAA 2.0。	[20]

3 薯蓣植物组织培养中的褐变现象及对策

3.1 褐变及其机理

在薯蓣植物组织培养过程中,褐变是一个普遍而严重的问题。谢碧霞等报道^[21]盾叶薯蓣块茎组织移植在培养基上会逐渐褐变,这种褐变状况将维持 50~60d,在继代培养也有褐变现象;在穿龙薯蓣的愈伤组织培养过程中也出现了严重的褐变现象。

褐变是指在组织培养过程中,由培养材料向培养基中释放褐色物质,致使培养基逐渐变成褐色,培养材料也随之慢慢变褐死亡的现象。其发生是由于建立外植体无菌系时,切口附近的细胞受到伤害,破坏了酚类化合物和多酚氧化酶的

隔状态,使得酚类化合物和多酚氧化酶相遇,被氧化成褐色的醌类化合物,醌类化合物在酪氨酸酶的作用下,进一步与外植体中的蛋白质发生聚合,引起酶系统失活,导致组织代谢活动紊乱,生长受阻,最终衰老死亡。

褐变的产生受诸多因素的影响,主要有:植物种类、基因型、外植体的生理状态(材料的年龄、组织木质化程度)、外植体的种类和大小、培养条件(光照、温度、CO₂浓度)、培养基成分、外植体的消毒方式等。

褐变分为酶促褐变和非酶促褐变 2 种,目前认为组织培养中的褐变主要是由酶催化引起的。关于其机理可由 3 种假说来解释^[22]:(1)酚、酚酶的区域分布假说:多酚类物质分布在细胞的液泡中,而 PPO(多酚氧化酶)多分布在各种质体或细胞质内。在正常发育的植物组织中,这种区域性分布使底物与 PPO 不能接触,而当细胞膜的结构发生变化和破坏时,两者接触,在氧存在下,经过一系列反应引起褐变。(2)自由基伤害假说:自由基是机体正常的代谢产物,正常情况下其代谢保持平衡,在干旱、高盐分等逆境下时,自由基产生过多,平衡体系被打破,导致植物细胞受到伤害,从而引起褐变。(3)保护酶系统假说:在通常情况下,组织中有较高的还原势,正常的氧化还原代谢平衡使已经氧化的醌类物质通过还原氧化或转化而未聚合。在逆境条件下,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)三者作用失调,导致 H₂O₂ 积累,引起褐变。

3.2 减少褐变的措施

国内外不少学者对褐变提出了解决措施。不同的植物解决的措施不同,同一种方法在不同的植物上效果不同,甚至产生相反的作用。在薯蓣植物上,还未见到有关解决其褐变的报道,笔者参阅了其它植物中解决褐变的方法,认为可以从以下几个方面尝试:

3.2.1 选择合适的外植体

成功的经验表明,选择适当的外植体是克服材料褐变的重要手段。吴晓霞等^[23]认为处于旺盛时期的外植体,具有较强的分裂能力,其褐变能力低。陈正华^[24]认为,胚培养较少褐变,而叶片等高度分化的组织容易褐变。

3.2.2 改善培养条件

无机盐成分、激素水平、温度、光照等都可以影响褐变。刘兰英^[25]发现,将 DKW 培养基的无机盐浓度减少一半,核桃外植体的褐变率由 55.8% 降至 32.5%;培养基中某些激素水平明显影响褐变的发生,刘兰英^[25]在核桃的组织培养中发现 6-BA 和 KT 的含量显著影响褐变的发生;高温能促进氧化酶的活性,从而引起酚类物质的氧化;光照能促进植物组织培养中酚的氧化,因此将培养物在低光照或暗光中培养一段时间能减轻褐变^[26]。

3.2.3 加入抑制剂

许多报道认为,在培养基中加入抗氧化剂可以明显减少褐变现象。刘兰英^[25]在核桃组织培养中发现,当培养基中 Vc 含量为 0.5g/L 时,褐变率为 68.4%,5.0g/L 时则为 55.4%。何琼英^[27]认为,Vc 在 PPO 的作用下能将醌还原成酚,同时还发现,当培养基中 Na₂S₂O₃ 为 0.5g/L 时,褐变率为 73.8%,5.0g/L 时,褐变率为 8.9%。David 等对蘑菇 PPO 体外研究发现,HSO₃⁻ 能使 PPO 受到不可逆抑制,从而抑制褐变。

3.2.4 加入吸附剂

在培养基中加入吸附剂可抑制褐变。常用的吸附剂有活性炭(AC)和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)。汪秀峰^[28]在蚕豆的组织培养中发现 PVP 的抗褐能力明显强于 AC,但都具有抗褐能力,然而有些学者通过试验证明了 PVP 没有防止褐变的效果,原因是在植物体内存在着不同的酚类物质^[29]。在薯蓣植物的组织培养过程中不妨加入这两种物质,有可能起到抗褐的作用。

3.2.5 其他防止褐变的措施

在防止植物褐变的报道中还有其它一些措施,比如进行连续转移、对外植体进行预处理、应用不同的消毒方式等,这些措施也应该在薯蓣植物的组织培养中进行试验,以找到防止褐变的最佳方法。

4 薯蓣植物组织培养的发展前景

从 1902 年 Haberlandt 开始植物组织培养技术的研究至今的 100 多年里,组织培养技术取得了令人瞩目的发展,越来越多的药用植物开始进行组织培养并显示出巨大的应用潜力,作为药用植物中占有重要地位的薯蓣植物,越来越受到组织培养者的青睐,有着广阔的发展前景。鉴于目前薯蓣植物组织培养的研究现状以及组织培养的发展趋势,笔者认为在以下几个方面应加强研究:(一)将薯蓣植物组织培养技术与其它生物技术相结合,如与基因工程相结合,将抗病、抗虫等基因转移到薯蓣品种中,提高品种的抗性,也可与分子生物技术结合,在细胞水平上进行遗传改良;(二)通过对愈伤组织或悬浮细胞的大量培养,从细胞或培养基中直接提取药物,或通过生物转化、酶促反应生产药物;(三)继续对其它薯蓣种进行多倍体诱导,并对其遗传稳定性进行鉴定,力求获得能稳定遗传的多倍体;(四)深入研究薯蓣植物的褐变问题,找出影响其发生褐变的主要因素,并对其采取措施进行克服。

参考文献:

- [1] 宋发军. 甾体药物源植物薯蓣属中薯蓣皂苷元的研究及生产状况[J]. 中成药, 2003, 3(25): 232-235.
- [2] 袁绍杰, 梁艳丽, 赵庆云, 等. 盾叶薯蓣的研究进展[J]. 西南农业学报, 2004, 17: 355-358.
- [3] 庞晓东, 庞发忠, 林耀庚, 等. 穿地龙的成分、药理及临床应用[J]. 山西中药, 2002, 18(5): 50-52.
- [4] 宋发军. 甾体药物源植物薯蓣属中薯蓣皂苷元的研究及生产状况[J]. 天然产物研究与开发, 2001, 14(3): 89-91.
- [5] 张健夫. 穿龙薯蓣高产栽培技术研究[J]. 长春大学学报, 2004, 2(14): 83-86.
- [6] 赵钢, 唐宇, 王安虎. 薯蓣的药用及高产栽培技术[J]. 药用植物, 2003, 4: 28-30.
- [7] 张大军, 王兆华, 徐国经, 等. 长白山北坡穿龙薯蓣野主和栽培品的含量研究[J]. 长春中医药大学学报, 2002, 18(3): 54-58.
- [8] 徐向丽. 薯蓣植物组织培养研究进展[J]. 湖南林业科技, 2000, 1(27): 5-8.
- [9] 许继宏, 马玉芳, 陈锐平, 等. 药用植物组织培养技术[M]. 中国农业科学技术出版社, 2003.
- [10] 张淑红. 植物组织培养及其发展方向[J]. 垦殖与稻作, 2003, 6: 43-47.
- [11] 李涵. 盾叶薯蓣组织培养及四倍体诱导技术的初步研究[J]. 中国农学通报, 2004, 3(20): 33-35.
- [12] 唐君海, 蓝庆江, 陆祖正, 等. 盾叶薯蓣的组织培养研究初报[J]. 广西热带农业, 2004, 3: 7-8.
- [13] 刘贵周, 谢世清. 盾叶薯蓣良种离体快繁关键技术研究[J]. 中国种业, 2005, 6: 36-37.
- [14] 邱玲燕, 毛益绒, 夏振国, 等. 盾叶薯蓣组织培养技术的优化[J]. 生物学杂志, 2005, 24(4): 23-27.
- [15] 罗凤霞, 祝朋芳, 周广柱, 等. 穿龙薯蓣的组织培养研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(1): 4-6.
- [16] 陈凤清, 付杨, 孙冬雪. 穿龙薯蓣的块茎离体诱导及再生植株的建立[J]. 东北师大学报: 自然科学版, 2005, 37(4): 90-93.
- [17] 李运合, 姚家玲, 张友德, 等. 小花盾叶薯蓣的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(5): 469-471.
- [18] 马林, 张玲, 李卫锋. 黄山药丛生芽诱导与植株快速繁殖[J]. 生物技术, 2004, 14(2): 53-54.
- [19] 张玲, 马林, 杨国涛. 黄山药愈伤组织诱导与分化[J]. 生物技术, 2005, 15(3): 70-73.
- [20] 何惠英, 兰芹英, 张艳军. 菊叶薯蓣的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(4): 337-338.
- [21] 谢碧霞, 何业华, 易志军. 盾叶薯蓣愈伤组织培养及其高产系的筛选[J]. 中南林学院学报, 1999, 19(4): 18-20.
- [22] 叶梅, 王伯初, 段传人. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 生物技术通讯, 2004, 15(4): 425-428.
- [23] 吴晓霞, 陈刚, 张彪, 等. 植物组织培养中褐变的研究进展[J]. 河北林果研究, 2002, 17(3): 284.
- [24] 陈正华. 木本植物组织培养[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 34-36, 408-419, 456-465, 466-480.
- [25] 刘兰英. 核桃组织培养中的褐变及防止措施研究[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 171-172.
- [26] 庞勇. 果树组织培养中褐化现象的研究进展[J]. 甘肃林业科技, 2004, 29(1): 16-18.
- [27] 何琼英. 抗坏血酸预处理防止香蕉吸芽外植体褐变的研究初报[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(3): 79-82.
- [28] 汪秀峰. 植物组织培养“抗褐”之初探[J]. 安徽农业科学, 1999, 27(4): 325-326.
- [29] 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(3): 78-84.

甘草酸抗病毒作用研究进展

刘圣君¹, 金湘¹, 毛培宏^{1,2*}

(1. 新疆大学离子束生物技术中心, 新疆 乌鲁木齐 830008; 2. 新疆特殊环境微生物重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要: 综述了近年来甘草酸抗艾滋病病毒(HIV)、SARS 病毒(SARS-CoV)和乙型肝炎病毒(HBV)的研究进展。

关键词: 甘草酸; 艾滋病病毒; SARS 病毒; 乙型肝炎病毒

中图分类号: O629.9; Q939.4 文献标识码: A 文章编号: 1004-311X(2006)04-0096-03

在过去 100 年间给人类带来巨大灾难的病毒主要有三种, 分别是: 导致西班牙流感的 H1N1 型、导致亚洲流感(1957 年)的 H2N2 型以及导致香港流感(1968 年)的 H3N2 型。目前的 H5N1 型病毒是堪与它们相提并论的强毒型病毒^[1]。近年来的药理和临床研究证明, 甘草酸(glycyrrhizic acid, GA)是一种具有广谱抗病毒活性的天然产物。GA 是药用植物甘草地部分最重要的五环三萜皂苷类天然生理活性物质, 由 1 分子甘草次酸和 2 分子葡萄糖醛酸组成, 其钾盐称为甘草甜素(glycyrrhizin, GL)。甘草酸还具有抗炎、抗癌、增强免疫功能等作用, 此外, 甘草酸钾的甜度为蔗糖的 500 倍, 目前主要作为无热

量、高强度的食品甜味剂, 并赋予食品防病治病功能。不仅如此, 甘草酸还广泛应用于烟草、化工、酿造、国防等行业。作者主要综述甘草酸抗艾滋病病毒(HIV)、SARS 病毒(SARS-CoV)和乙型肝炎病毒(HBV)的研究进展。

1 甘草酸抗病毒作用机理

GA 或 GL 表现出抗病毒的活性, 且其抗病毒的活性随细胞谱系而不同, 被证明是在将来可控性流行病中能更有效对付病毒的单一或联合药物。GA 对 HIV、SARS-CoV 和 HBV 这三种病毒均有抑制作用, 其机理主要表现为对病毒的间接作用, 其共同点是 GA 抑制病毒复制的效果和它的使用剂量密切相关。若要维持其在病毒感染者血液中的有效浓度, 需持续大量给药。这种有效浓度高、变化范围窄的特点也是 GA 在抗病毒方面的不足之处。

GA 对 HIV 反转录酶没有直接的抑制作用, 而是通过降低蛋白激酶 C 的活性从而间接抑制 HIV。GA 还可通过降低膜的

收稿日期: 2006-04-01; 修回日期: 2006-06-16

基金项目: 国家自然科学基金项目(30560182)

作者简介: 刘圣君(1981-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 离子束生物技术。* 通讯作者, E-mail: phmao@xju.edu.cn