

# 不同培养基及其元素组成对西洋参愈伤组织悬浮培养物生长和皂苷含量的影响

张美萍, 王 义, 孙春玉, 李向高

(吉林农业大学, 吉林 长春 130118)

**摘要:** 对 MS、67-V 和 FOX 3 种基本基质对西洋参 (*Panax quinquefolium* Linn.) 愈伤组织悬浮培养物生长和皂苷含量的影响进行了比较。在 3 种基本基质中, 培养物的鲜重和干重增加量差异不大, 而皂苷含量和产量差异较大, 其中 MS 较高, FOX 次之, 67-V 最低。探讨了 MS 基质中,  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{CaCl}_2$  和  $\text{MgSO}_4$  对培养物生长和皂苷含量的影响。 $\text{KNO}_3$  浓度在 237.5 mg/L 时有利于培养物生长, 而浓度在 1 900 mg/L 时有利于皂苷合成;  $\text{CaCl}_2$  浓度在 55.35 mg/L 时有利于培养物生长, 而浓度在 332.1 mg/L 时有利于皂苷合成;  $\text{MgSO}_4$  浓度为 92.50 mg/L 时培养物生长最好, 皂苷产量也最高。

**关键词:** 培养基; 西洋参; 悬浮培养; 生长量; 皂苷

**中图分类号:** S565.7<sup>+</sup> 3; Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0978(2003)02-0014-03

**Effects of different media and some element components on growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn. by callus suspension culture** ZHANG Mei-ping, WANG Yi, SUN Chun-yu, LI Xiang-gao (Jilin agricultural University, Changchun 130118, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2003, 12(2): 14-16

**Abstract:** The effects of three basal media MS, 67-V, FOX and the concentration of  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{MgSO}_4$  in MS on growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn. by callus suspension culture were compared. The results showed that there was no obvious difference on the increase of dry weight and fresh weight among three basal media; from the view of saponin content and yield, MS was the best, FOX was better and 67-V was the last. In MS medium,  $\text{KNO}_3$  237.5 mg/L promoted callus growth,  $\text{KNO}_3$  1 900 mg/L was suitable for saponin formation;  $\text{CaCl}_2$  55.3 mg/L was good for callus growth,  $\text{CaCl}_2$  332.1 mg/L was suitable for saponin formation;  $\text{MgSO}_4$  92.5 mg/L was good for callus growth and saponin yield.

**Key words:** medium; *Panax quinquefolium* Linn.; suspension culture; increase weight; saponin

细胞大规模培养生产有效成分受很多因素的控制, 还未能达到某种规范化程度, 其原因是某些基础性的研究还有待加强。西洋参 (*Panax quinquefolium* Linn.) 细胞培养生产有效成分已有一些研究<sup>[1-3]</sup>, 但基本基质和无机化合物组成对培养物生长和皂苷合成的影响还未见报道。本实验从基本基质入手, 探讨了 3 种不同基本基质对西洋参悬浮培养物生长和皂苷含量的影响, 并以 MS 为基本基质, 分析了培养基中  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{MgSO}_4$  的含量对西洋参培养物生长和皂苷合成的影响, 为西洋参大规模细胞培养生产有效成分降低成本提供参数。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

本实验室 1999 年筛选的西洋参芽胞愈伤组织无性系。

收稿日期: 2003-02-10

基金项目: 国家科技部科技型企业技术创新基金资助项目 (00C26N2210138)

作者简介: 张美萍 (1964-), 女, 吉林长春人, 博士, 副教授, 主要从事药用植物细胞工程学研究。

## 1.2 实验方法

1.2.1 基本基质的筛选 基本基质选用了 MS、67-V 和 FOX,附加 2,4-D 0.5 mg/L、IBA 2 mg/L、BA 0.5 mg/L,在 100 mL 三角瓶内含 20 mL 液体基质,摇床转速为 100 ~ 110 r/min,每瓶接种量 0.8 g,温度(23 ± 2)℃,初始 pH 6.0,暗培养 30 d。

1.2.2 MS 基质中无机化合物的调整 在 MS 基质中,分别降低 KNO<sub>3</sub>、CaCl<sub>2</sub> 和 MgSO<sub>4</sub> 的量至原浓度的 1/2、1/4、1/6、1/8 和 1/10,培养条件同上。

1.2.3 细胞生长量的测定 以鲜重及干重(g/flask) 作生长指标,每处理 5 瓶,重复 2 次,具体方法见文献[4]。

1.2.4 培养物皂苷含量的测定 具体方法见文献[4]。

## 2 结果与分析

### 2.1 基本基质对培养物生长及皂苷含量的影响

3 种基本基质 MS、67-V 和 FOX 对西洋参培养物生长和皂苷含量的影响见表 1。

表 1 不同基本基质对西洋参培养物生长和皂苷含量的影响  
Table 1 Effects of different basal media on callus growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn.

基本基质 Basal media	生长量 Increase weight (g/flask)		皂苷含量 Saponin content (%)	皂苷产量 Saponin yield (g/L)
	鲜重 FW	干重 DW		
MS	5.86	0.34	3.06	1.18
67-V	6.04	0.36	1.43	0.58
FOX	5.27	0.32	1.70	0.63

在 3 种培养基质上,西洋参培养物的收获量不论是鲜重和干重,差异均不明显,说明不同基本基质对西洋参培养物的生长影响不大。但在 3 种基本基质中皂苷含量和产量有一定的差异,其中 MS 较高,FOX 次之,67-V 最低。

### 2.2 MS 基本基质中的 KNO<sub>3</sub> 等 3 种化合物对培养物生长和皂苷含量的影响

在检测基本基质中无机元素消耗时发现,基本基质中无机元素在培养一代时并未全部消耗殆尽,还有剩余,为此,本实验将 MS 基本基质中 KNO<sub>3</sub>、CaCl<sub>2</sub> 和 MgSO<sub>4</sub> 的量分别降低至原浓度的 1/2、1/4、1/6、1/8 和 1/10,观察培养物的生长和皂苷含量,结果见图 1、2 和 3。

从图 1 看到,在一定的浓度范围内,降低 KNO<sub>3</sub> 的含量,有利于细胞生长。如 KNO<sub>3</sub> 的浓度为原浓度的 1/8(237.5 mg/L)时,每瓶培养物的鲜重高达 6.34 g,干重为 0.36 g。但降低 KNO<sub>3</sub> 的浓度,则不利于皂苷积累;而从皂苷产率上看,基本基质中 KNO<sub>3</sub> 的浓度为 1/8 的处理与原处理相近。因此,可采用两步培养法,第一步降低 KNO<sub>3</sub> 浓度,促进细胞生长;第二步增加 KNO<sub>3</sub> 浓度,促进皂苷积累,可望得到较高的皂苷含量。

从图 2 可见,当 CaCl<sub>2</sub> 浓度降低至原浓度的 1/6(55.3 mg/L)时,培养物鲜重和干重增加量最高,但若 CaCl<sub>2</sub> 浓度降低到一定值时(41.5 ~ 33.2 mg/L),鲜重和干重收获量都低。而从皂苷含量上看,CaCl<sub>2</sub> 浓度降低不利于皂苷积累,因此在本实验体系中,培养前期 CaCl<sub>2</sub> 的浓度可降低到 55.3 mg/L,在培养后期可将 CaCl<sub>2</sub> 浓度恢复至原浓度,以促进皂苷合成。

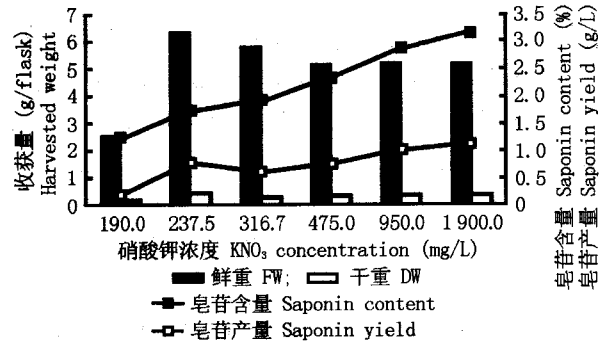


图 1 MS 基本基质中不同浓度的 KNO<sub>3</sub> 对西洋参培养物生长和皂苷含量的影响  
Fig. 1 Effects of different KNO<sub>3</sub> concentrations in MS basal medium on callus growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn.

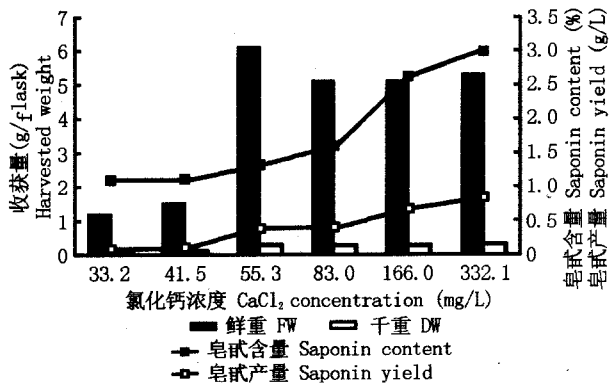


图 2 MS 基本基质中不同浓度的 CaCl<sub>2</sub> 对培养物生长和皂苷含量的影响  
Fig. 2 Effects of different CaCl<sub>2</sub> concentrations in MS basal medium on callus growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn.

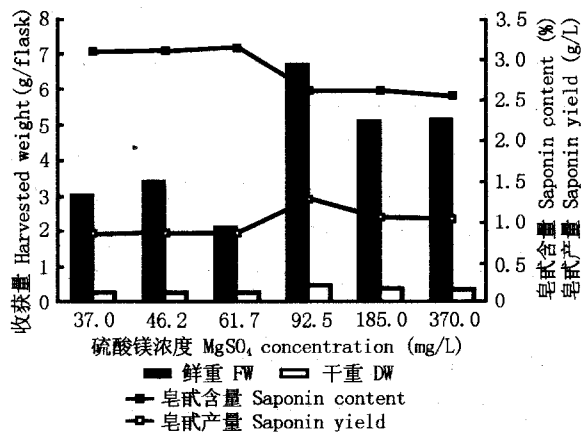


图3 MS基本基质中不同浓度的MgSO<sub>4</sub>对西洋参培养物生长和皂苷含量的影响

Fig. 3 Effects of different MgSO<sub>4</sub> concentrations in MS basal medium on callus growth and saponin content of *Panax quinquefolium* Linn.

从图3可以看出,适当降低MgSO<sub>4</sub>的浓度,有利于培养物生长和皂苷积累。当MgSO<sub>4</sub>的浓度在92.5 mg/L时,鲜重和干重收获量最高,皂苷产量也最高,分别为6.7 g/flask、0.4 g/flask和1.3 g/L。这与范代娣的结论相似<sup>[5]</sup>。但MgSO<sub>4</sub>浓度降低至61.7~37.0 mg/L时,对培养物生长不利。

### 3 讨论

本实验选择MS、67-V和FOX 3种基本基质,探讨了对西洋参培养物生长和皂苷合成的影响,结果表明,各种成分对细胞生长和代谢产物的积累综合作用不尽相同,机理尚需进一步探讨。

将MS基本基质中KNO<sub>3</sub>、CaCl<sub>2</sub>和MgSO<sub>4</sub>的浓度分别降低至原来浓度的1/8、1/6和1/4对西洋参培养物的生长有促进作用,说明本实验体系中培养细胞在代谢过程中对K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>和Ca<sup>2+</sup>的需求量不大,从基质消耗中也看到这一点。这可能与K<sup>+</sup>、Mg<sup>2+</sup>和Ca<sup>2+</sup>在代谢过程中的作用有关。K<sup>+</sup>主要与运输有关,愈伤组织是一团细胞,物质运输途径较短,K<sup>+</sup>的消耗不大,Ca<sup>2+</sup>对细胞的伸长生长有作用;而Mg<sup>2+</sup>是叶绿素的组成成分。在MS配方中K<sup>+</sup>:Mg<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup>的重量比为1:6.6:0.5,而降低各元素浓度的基质配方中K<sup>+</sup>:Mg<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup>的重量比值为1:7:0.7,2类基质中它们比值接近,说明西洋参培养物细胞生长需要一个较稳定的K<sup>+</sup>:Mg<sup>2+</sup>:Ca<sup>2+</sup>的比值范围。可见,这些无机元素间的配比是有一定规律的,而且对培养物的生长所起的作用不是孤立的,是一种协同作用。在皂苷合成方面,降低KNO<sub>3</sub>和CaCl<sub>2</sub>的浓度不利于皂苷合成,但适当降低MgSO<sub>4</sub>的浓度利于皂苷合成,可见无机离子对皂苷代谢有调控作用,其调控机制有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] 朱蔚华,李新兰,齐玲敏,等. 西洋参组织培养初报[J]. 中草药,1980,11(10):471-472.
- [2] 周立刚,郑光植,王世材. 西洋参细胞大量培养的研究[J]. 生物工程学报,1990,6(4):316-321.
- [3] 刘本叶,张艳萍. 西洋参组织和细胞培养研究进展[J]. 中草药,1995,26(11):611-613.
- [4] 张美萍,王义,李向高. 西洋参组织培养及皂苷含量分析[J]. 吉林农业大学学报,1999,21(1):12-15.
- [5] 范代娣,李宝璋. 西洋参组织培养及MgSO<sub>4</sub>含量对培养结果的影响[J]. 生物技术,1994,4(3):23-25.