

培养基中有机物组份对人参细胞生长 及其皂甙、多糖含量的影响

丁家宜 蔡军 陈齐

(中国药科大学组织培养研究室, 南京 210038)

摘要 本文研究了培养基中肌醇、烟酸、甘氨酸、维生素 B₆、维生素 B₁等有机物组份对人参细胞生长及其皂甙、多糖含量的影响。结果表明, 只有维生素 B₁是人参细胞生长必需的, 缺少其他有机物组份对其皂甙、多糖含量无不利影响。

关键词 人参; 细胞培养; 有机物; 维生素 B₁; 皂甙; 多糖

Effects of organic compositions of medium on the growth and the saponins and polysaccharides contents of *Panax ginseng* cell Ding Jia-Yi, Cai Jun and Chen Qi (Laboratory of Plant Tissue Culture, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038), *J. Plant Resour. & Environ.* 1994, 3(1): 33~35

This paper deals with the effects of organic compositions of medium e. g. inositol, nicotinic acid, glycine, VB₆ and VB₁, etc. on the growth and the saponins and polysaccharides contents in cell culture of *Panax ginseng*. The results showed that only VB₁ is necessary for the growth of *Panax ginseng* cell and for the saponins and polysaccharides contents. No unfavourable effect if the other organic compositions of medium are absent.

Key words *Panax ginseng* C. A. Mey; cell culture; organic compositions; VB₁; saponins; polysaccharides

现代植物组织和细胞培养中, 往往添加如肌醇、维生素等多种有机物成分^[1], 常用培养基如 MS、B₅、N₆等均含有机成分, 其用量还有增长的趋势。仅以肌醇而言, 目前常用量为100 mg/L, 而且价格比较昂贵。这些有机物组份对植物细胞生长、有用物质生物合成及含量的影响, 目前尚未见报道。本文在人参(*Panax ginseng* C. A. Mey)细胞大量培养中研究有机物组份对其细胞生长和皂甙、多糖含量的影响, 以探讨进一步降低培养基成本等有关问题。

材料与方 法

1. 材料 SI-781-2人参细胞株。

2. 方法 培养基以 MS+IAA 1.75 mg/L+IBA 2.03 mg/L+KT 0.1 mg/L 为对照, 有机物组份试验处理见表1。

培养基中其它添加物如蔗糖、IAA、IBA、KT 与对照相同。试验在500 ml 克氏瓶内加入200 ml 培养基, 每组10瓶以上。在各自处理上连续转代4次以上, 每次培养40天(21°+1℃, 暗培

养)。计算第4、第5代细胞产量,并且测定其皂甙及多糖含量。

表1 有机物组份试验处理*

Tab 1 Organic combinations in medium

试验组 Combination	肌醇 Inositol 100 mg/L	烟酸 Nicotinic acid 0.5 mg/L	甘氨酸 Glycine 2 mg/L	维生素 B ₆ VB ₆ 0.5 mg/L	维生素 B ₁ VB ₁ 0.1 mg/L
1	+	+	+	+	+
2	-	+	+	+	+
3	+	-	+	+	+
4	+	+	-	+	+
5	+	+	+	-	+
6	+	+	+	+	-
7	-	-	-	-	+
8	-	-	-	-	-

*“+” to put in a certain organic combination “-” to lack a certain organic combination

人参皂甙的提取用常规方法,含量以重量法^[7]和比色法^[2,3,7]测定。比色法用标准品制作标准曲线,样品与香兰素-高氯酸-冰醋酸试剂反应显色,在波长560 nm处进行比色,得回归方程: $y = 0.002667x + 0.009679$, $r = 0.9997$ ($n = 8$)。待测物皂甙含量按同法进行比色测定,通过回归方程计算得人参总皂甙含量。

粗多糖的提取参照文献^[4],将提尽皂甙后的人参培养细胞用沸水提取3次,每次1 h,提取液离心弃去残渣,适当浓缩后加入3~4倍量95%乙醇静置过夜,沉淀经丙酮、乙醚洗涤干燥,即得可溶性粗多糖。粗多糖中总糖含量测定采用蒽酮法^[5],配制不同浓度的葡萄糖标准液,测吸光度,得回归方程 $y = 0.008050118x - 0.0066176$, $r = 0.9998$ ($n = 6$)。样品按同法进行测定,通过回归方程计算得总糖含量。

结果与讨论

1. 结果

实验结果如表2所示。实验组2~5,在培养基中分别只缺少肌醇(试验组2)、烟酸(试验组3)、甘氨酸(试验组4)、维生素 B₆(试验组5),对人参细胞增长倍数、产量和皂甙、多糖等有效成分含量在第4代中没有任何影响,仅在第5代培养中维生素 B₆对细胞增长倍数略有影响。其上述4种有机物全缺的情况下(试验组7)在第4代培养中未见不利影响,仅在第5代对细胞产量略有影响,与分组试验组结果相同。反之,在培养基中添加肌醇、烟酸、甘氨酸、维生素 B₆,仅缺少维生素 B₁(试验组6)对细胞增殖的影响甚大,与完全不加有机物(试验组8)结果一致,细胞几乎不能正常生产,产量极低。由此证明,在有机物组份中,只有维生素 B₁是必需的;而缺少肌醇、烟酸、甘氨酸、维生素 B₆,无论是单位缺少,还是复合缺少,对人参细胞产量、增长倍数影响不大,并对有效的代谢产物皂甙、多糖等含量无不利影响。

2. 讨论

(1) 植物体在自然条件下,有机物成分是依靠自身的代谢加以调节的。植物离体组织、细胞以及原生质的培养必须提供必要的有机营养,才能生长。SI-781-2是经多年驯化和选择所获得的生长较快的人参细胞株,在其培养中维生素 B₁是必需的。

(2) 培养基中缺少肌醇、烟酸、甘氨酸、维生素 B₆时,对人参细胞鲜重影响甚小,而对细胞

干重略有影响。缺少上述有机物组份,每升培养基要减少1~2g的细胞干重产量,但总细胞产量仍在16~17.5g.GW/L之内。因此,肌醇、烟酸、甘氨酸、维生素B₆虽能促使细胞分生,但对其产量影响不大。至于人参细胞株781-2在上述有机物的自养程度方面尚待进一步研究。

(3)结果表明,缺少上述有机物组份对人参皂甙及多糖的含量无不利影响。

植物细胞培养工业生产和产品商业化一直受到国内外学术界及有关产业的关注,如何降低培养成本是实现这一目标的必备条件之一。作者在前文^(1,7)中已证明,普通食糖代替分析纯蔗糖,自来水代替蒸馏水等对人参细胞产量和皂甙含量无不利影响;加之本文所述结果,可以使培养基成本大幅度下降,为人参细胞培养工业化生产和产品商业化提供依据。

表2 有机物组份对人参细胞产量和皂甙、粗多糖含量的影响

Tab 2 Effects of organic compositions of medium on the cell outputs and the saponins and crude polysaccharides contents

处理组 Combination	接种量 Inoculated Wt. gFW/bottle	细胞产量 Cell output		增长倍数 Growth rate (cultured 40 days)	皂甙含量 Saponins content (%)		粗多糖含量 Crude polysaccharides content	
		gFW/ bottle	gDW/ bottle		Weight analysis	Colorimetric analysis	Collecting rate (%)	Total sugar (%)
第四代 Generation 4								
1	10	110	17.0	11.0	5.0		12.10	30.86
2	10	114	16.0	11.4	5.0		12.07	30.96
3	10	114	16.5	11.4	6.0		11.86	31.15
4	10	127	14.5	12.7	5.5		11.72	31.20
5	10	124	14.5	12.4	5.5		12.08	29.98
6	10	14.6		1.4				
7	10	110	16.0	11.0	6.5		12.18	32.10
8	10	17.2		1.7				
第五代 Generation 5								
1	10	128	19.2	12.8	5.0	3.2	12.11	30.42
2	10	120	16.2	12.0	5.8	3.0	12.05	29.87
3	10	130	17.3	13.0	5.2	3.3	11.84	31.21
4	10	141	17.7	14.1	5.2	3.2	12.10	31.84
5	10	105	18.3	10.5	5.2	3.2	11.87	30.70
6	10	20		2.0				
7	10	112	17.5	11.2	6.0	3.5	11.92	31.18
8	10	20		2.0				

参 考 文 献

- 1 罗士伟,许智宏. 1988: 经济植物组织培养, 科学出版社, 北京. 18~20, 141~152页.
- 2 章观德,周志华,王慕邹等. 1980: 药学学报 15(3): 175~181.
- 3 徐缓绪,王乃利,李冰等. 1986: 沈阳药学院学报 3(3): 173~177.
- 4 李润秋,张翼伸. 1985: 中草药 16(9): 389~391.
- 5 北京大学生物系生物化学教研室. 1981: 生物化学实验指导, 人民教育出版社, 北京. 30页.
- 6 丁家宜,耿惠兴,张恩汉. 1981: 南京药学院学报 (2): 61~67.
- 7 难波恒雄,吉崎正雄,富森毅等. 1974: 药学杂志(日) 94(2): 252~260.

(责任编辑: 罗 董)