

# 寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

周立刚 郑光植 王世林

(中国科学院昆明植物研究所 昆明 650204)

**摘要** 从黑节草、红花和人参中提取的寡糖素对滇紫草愈伤组织的色素合成均能起促进作用, 当它们单独使用时, 分别找到了它们作用于愈伤组织以生产色素的最适浓度。本研究对将来采用组织培养方法进一步工业化生产紫草素提供了依据。

**关键词** 滇紫草, 愈伤组织, 寡糖素, 紫草素

滇紫草 (*Onasma paniculatum*) 属紫草科 (Boraginaceae) 植物, 其根部皮层富含的紫草素 ( $\alpha$ -萘醌色素) 可用作治疗外伤与痔疮的药物或高级染料以及化妆品<sup>[1]</sup>。滇紫草主产云南, 由于人工栽培困难, 加之不断采挖, 致使这一资源受到严重的破坏, 产品供不应求。寡糖素 (Oligosaccharin) 作为一类新的植物调节因子, 目前已越来越引起人们的重视。郑光植等<sup>[2]</sup>曾报道用从人参 (*Panax ginseng*) 培养细胞获得的寡糖素来培养三七 (*Panax notoginseng*) 细胞, 既能促进三七细胞生长, 又能提高细胞培养物中皂甙的含量。寡糖素对滇紫草色素合成的影响还未见报道。本文报道从高等植物人参、黑节草 (*Denitrobium candidum*) 和红花 (*Cathamus tinctorius*) 中分离的寡糖素对滇紫草愈伤组织培养物中紫草素含量的影响, 以探讨应用组织培养技术工业化生产紫草素的可能性。

## 材料和方法

**实验材料** 实验材料是云南昆明产的滇紫草 (*Onasma paniculatum*), 从其幼苗茎外植体诱导愈伤组织, 诱导培养基为附加 2, 4-D 1ppm、KT 1ppm 的 LS<sup>[3]</sup> 培养基。在 LS 培养上经 8—9 代继代培养后, 用于愈伤组织培养的研究。

**培养条件** 以 LS 培养基为愈伤组织生长和接种物继代培养的培养基, 激素组合为 IAA $10^{-6}$ M 和 KT $10^{-6}$ M。以 M-9<sup>[4]</sup> 培养基为愈伤组织培养以生产紫草素的培养基, 激素组合为 IAA $10^{-6}$ M。均置于 25℃ 恒温条件下暗培养。除接种物继代培养时间为 30 天外, 其它培养时间均为 40 天。

**寡糖素的制备** 寡糖素由人参、黑节草、红花培养细胞的新生细胞壁经水解后制得, 纯度为 95% 以上。

**愈伤组织中紫草素含量的测定** 愈伤组织样品经冰冻干燥后打成细粉, 含量测

定同于 Mizukami 等 (1977) [5]。文中所列结果均来自 4 次重复平均值。将紫草素含量乘以愈伤组织干重即得紫草素产量。

**愈伤组织产量的计算** 50ml 容积的三角瓶内装培养基 20ml, 将收获的愈伤组织干重 (g) 除以培养基体积 (l) 即得愈伤组织产量。

## 结果与讨论

### 1. 黑节草寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

表1 黑节草寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响  
Table 1 Effects of the oligosaccharins from *Dendrobium candidum* on pigments synthesis of *O. paniculatum* callus

培养基	寡糖素浓度 (ppm)	紫草素含量 (%)	愈伤组织产量 (g wt./l)	紫草素产量 (mg/l)
LS	0	0.183±0.0080	9.00	16.43
	5	0.255±0.0072	7.50	19.16
	10	0.222±0.0059	7.38	16.40
	15	0.140±0.0071	9.50	13.26
	20	0.137±0.0099	10.75	14.75
	25	0.180±0.0015	7.81	14.03
M-9	0	1.005±0.0103	8.49	85.30
	5	1.940±0.0072**	9.35	181.39
	10	1.761±0.0009**	10.25	180.50
	15	1.423±0.0082*	9.10	129.49
	20	1.541±0.0024*	8.00	123.28
	25	0.578±0.0237	6.76	39.09

与对照相比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

### 2. 红花寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

红花寡糖素 (CO) 对滇紫草愈伤组织色素合成的影响, 结果如表 2 所示。在 LS 培养基中, 所加入的 CO 浓度 5-25ppm 均能明显地促进紫草素的合成, 当浓度为 10ppm 时, 紫草素产量达最高值为

采用 LS 和 M-9 培养基, 进行了黑节草寡糖素 (DO) 对滇紫草愈伤组织色素合成影响的研究。所加入的黑节草寡糖素浓度为 0ppm、5ppm、10ppm、15ppm、20ppm 和 25ppm, 结果如表 1 所示。在 LS 培养基中, 所加入不同浓度的 DO, 对紫草素含量的影响均不大, 当 DO 为 5ppm 时能轻微地提高紫草素含量, 其余均比对照要差。在 M-9 培养基中, DO 在 5ppm、10ppm、15ppm 和 20ppm 时, 均能明显地提高紫草素含量和产量, 促进色素合成的最适浓度亦为 5ppm。

34.03mg/l, 是对照 (16.43mg/l) 的 2.2 倍。在 M-9 培养基中, 当 CO 浓度为 5ppm、10ppm 和 15ppm 时, 能有效地提高紫草素的含量。当 CO 浓度为 20ppm 和 25ppm 时, 对愈伤组织生长呈现轻微的抑制效应。

### 3. 人参寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

人参寡糖素 (GO) 对滇紫草愈伤组织色素合成的影响, 结果见表 3。在 LS 培养基中, 5-15ppm 的 GO 浓度, 能抑制紫草素的合成, 在 GO 浓度较高时, 对紫草素的合成不呈现抑制作用。在 M-9 培养基中, 5-25ppm 均能提高紫草素的含量和产量。

表2 红花寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

Table 2 Effects of the oligosaccharins from *Cathamus tinctoris* on pigments synthesis of *O. paniculatum* callus

培养基	寡糖素浓度 (ppm)	紫草素含量 (%)	愈伤组织产量 (g wt./l)	紫草素产量 (mg/l)
LS	0	0.183±0.0080	9.00	16.43
	5	0.213±0.0024*	10.94	23.30
	10	0.363±0.0013**	9.38	34.03
	15	0.330±0.0091**	9.69	31.97
	20	0.274±0.0079*	9.31	25.52
	25	0.210±0.0149	9.25	19.43
M-9	0	1.005±0.0103	8.49	85.30
	5	1.142±0.0409*	9.86	112.63
	10	1.282±0.0091*	9.38	120.18
	15	1.469±0.0066*	8.88	130.37
	20	1.006±0.0108	7.90	79.47
	25	1.122±0.0189	7.64	85.69

与对照相比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

表3 人参寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成的影响

Table 1 Effects of the oligosaccharins from *panax ginseng* on pigments synthesis of *O. paniculatum* callus

培养基	寡糖素浓度 (ppm)	紫草素含量 (%)	愈伤组织产量 (g wt./l)	紫草素产量 (mg/l)
LS	0	0.183±0.0080	9.00	16.43
	5	0.078±0.0066**	9.81	7.67
	10	0.034±0.0011**	11.63	3.93
	15	0.051±0.0028**	10.63	6.43
	20	0.159±0.0059**	10.00	15.90
	25	0.205±0.0010	8.06	16.53
M-9	0	1.006±0.0103	8.49	85.30
	5	2.103±0.0312**	9.64	202.68
	10	2.200±0.0545**	11.03	242.55
	15	2.557±0.00513**	9.89	252.82
	20	0.921±0.0055	11.55	106.41
	25	1.001±0.0136	8.88	88.84

与对照相比 \*P<0.05, \*\*P<0.01

## 结 论

以上三种寡糖素在 LS 培养基中对紫草素的合成效应, CO 的作用最为明显, 所加入不同浓度的 CO 均能提高色素含量和产量, DO 的作用不明显, GO 则呈现轻微的抑制作用。DO、CO 和 GO 在 M-9 培养基中对紫草素合成影响, 其最适浓度分别为 5ppm、15ppm 和 20ppm, 紫草素的产量分别为 181.39mg/l、130.37mg/l 和 252.82mg/l, 是对照 (85.38mg/l) 的 2—3 倍, 以 GO 的作用最为明显, 三种混合寡糖素在 M-9 培养基中对愈伤组织的生长均呈现轻微的促进作用, 这是与在 LS 培养基中所不同的。从表中还不难看出, 不论在 LS 培养基中还是在 M-9 培养基中, DO 在低浓度 (5ppm) 下就能提高紫草素的产量, 而 GO 要在比较高的浓度 (20ppm) 下才能明显地促进紫草素的合成。总之, 寡糖素对滇紫草愈伤组织色素合成影响是明显的, 对提高色素产量不失为一个很有效的方法。寡糖素的种类不同, 作用效果会差

别很大, 一些寡糖素甚至还有抑制细胞生长和色素合成的作用。寡糖素对培养细胞的作用机理、合适的使用时期以及使用方法等还有待进一步研究。相信寡糖素的应用, 对植物细胞培养及其次生物质 (包括色素) 生产的研究会产生深远的影响。

## 参 考 文 献

- [1] Fujita, Y. and Tabata, M., *Plant Tissue and Cell Culture* New York: Alan R. Liss, Inc., 167—185 (1987) .
- [2] 郑光植等: 云南植物研究, 11(1): 97—102 (1989) .
- [3] Linsmaier, E. F. and Skoog, F., *Physiol. Plant*, 18, 100 (1965) .
- [4] Fujita, Y. et al., *Plant Cell Reports*, 1, 59—60 (1981) .
- [5] Mizukami, H. et al., *Phytochemistry*, 16 (8): 1183—1186 (1977) .

## EFFECTS OF OLIGOSACCHARINS ON PIGMENTS OF ONASMA PANICULATUM CALLUS

Zhou Ligang, Zheng Guangzhi, Wang Shilin

(Kunming Institute of Botany, Academia Sinica, Kunming 650204)

### Abstract

Oligosaccharins which were from *Dendrobium candidum*, *Cathamus tinctoris* and *Panax ginseng* cells could stimulate the pigments synthesis of *Onasma paniculatum*. The appropriate concentration were found when they were used respectively. The results could well be employed to produce shikonins by using tissue culture method on an industrial scale in the future.

Key words *Onasma paniculatum*, Callus, Oligosaccharin, Shikonin