

文章编号:1673-1689(2008)01-0117-06

培养基和外源激素对银杏愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

崔刚, 唐蕾, 王武*

(食品科学与技术国家重点实验室 江南大学, 江苏 无锡 214122)

摘要:以银杏胚为外植体,通过应用 MS、WS、White 培养基和不同组合的外源激素研究对愈伤组织的诱导及其叶绿素的含量。结果表明:MS 培养基诱导效果最好;外源激素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为 $KT > 6-BA > NAA > 2,4-D$; $1/4MS + NAA 2 \text{ mg/L} + KT 3 \text{ mg/L}$ 组合由于有很高的诱导率、较高的生长量、最高的叶绿素含量成为最适宜的培养基。

关键词:银杏;愈伤组织;叶绿素;外源激素

中图分类号:Q 813.1

文献标识码:A

Effects of Medium and External Hormone on Inducing, Growth and Chlorophyll Content of *Ginkgo biloba* Callus

CUI Gang, TANG Lei, WANG Wu*

(State Key Laboratory of Food Science and Technology, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

Abstract: In this manuscript, the *Ginkgo biloba* embryo was used as explant for callus induction experiment. Calli were induced from embryos on MS, WS and White medium supplied with various hormone combinations of 2, 4-D, NAA, KT and BA. The induction, growth and chlorophyll content of *Ginkgo biloba* callus were systematically studied. The results listed as follows: 1) MS medium was the best inducing medium for the *Ginkgo biloba* embryos; 2) The effects of external hormone on-chlorophyll content were different and the order is KT, 6-BA, NAA and 2,4-D; 3) 1/4 MS medium supplied with NAA 2 mg/L and KT 3 mg/L was the best medium for its highest chlorophyll content.

Key words: *Ginkgo biloba*; calli; chlorophyll; external hormone

银杏是传统药用植物,目前从银杏叶中分离出的化合物有 140 多种,其中有效成分主要有黄酮类、萜类、酚类,其中以黄酮类化合物的含量最高^[1],约为 2.5%~3.8%^[2]。银杏叶制剂对脑损伤、脑缺血、哮喘、降低血清胆固醇、器官移植排斥

等有显著作用^[3-4],是心脑血管疾病的主要药物之一。目前商品化的银杏黄酮均来源于银杏叶,生产受原料产地、季节等因素的限制,因此通过植物组织培养和细胞工程技术生产银杏黄酮是一条有效途径,国内外均有相关报道^[5-7]。

收稿日期:2007-01-05.

作者简介:崔刚(1977-),男,山东胶州人,发酵工程硕士研究生。Email:curtiscui@163.com

* 通讯作者:王武(1952-),女,福建福州人,教授,博士生导师,主要从事发酵工程、遗传工程的研究。

Email: wangwu@jiangnan.edu.cn

叶绿素与类胡萝卜素在光合作用过程中起吸收光能的作用,直接影响植物光合作用中光能的利用。植物色素含量与其光合能力、发育阶段有较好的相关性^[8],进而影响产量的高低。研究发现,叶绿素的合成与黄酮含量之间存在一定的关系。例如,莫小路等^[9]报道银杏悬浮细胞叶绿体的分化与黄酮类产物积累呈正相关,叶绿体出现是黄酮类化合物产生的结构基础,研究植物叶绿素的含量对进一步提高黄酮产量具有重要意义。对银杏叶绿素研究的报道不多,主要是对银杏叶片中叶绿素的研究,而研究培养基和植物外源激素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响尚未见报道。作者利用 MS 培养基、WS 培养基、White 培养基添加各种植物激素,如生长素:2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)、萘乙酸(NAA);细胞分裂素:6-苄基腺嘌呤(6-BA)、激动素(KT)进行实验,通常生长素和细胞分裂素组合在一起诱导外植体脱分化,获得愈伤组织。研究上述因素对愈伤组织中叶绿素含量的影响,为进一步提高银杏愈伤组织光合产物提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材 料

银杏种子 2005 年 10 月取自江南大学校园内雌树上。黄酮类化合物测定的标准样品为芦丁(生化试剂,江苏省药检所生产),其它试剂均为分析纯。

1.2 愈伤组织的诱导

将贮存一个月后的种子用剪刀破去骨质的中种皮,先用 70% 的酒精表面消毒 2 min,转入含 1~2 滴吐温 80 的 5% 次氯酸钠溶液中消毒 5 min,用无菌水冲洗 2 次,再用无菌滤纸吸干胚乳表面水分,在无菌条件下,用灭过菌的解剖刀切开胚乳,取出胚,切取子叶或胚轴接种到附加激素 2,4-D、NAA、KT、6-BA 和不同浓度的 MS 培养基上诱导愈伤组织。

培养条件:25 ℃,光照 14 h/黑暗 10 h,光照强

度 2 000 Lux,诱导 15 d,转接后再培养 25 d。

1.3 愈伤组织的诱导率和生长量的测定

胚接种 7 d 后计算愈伤组织的诱导率。愈伤组织的诱导率=出现愈伤组织的外植体数/总的接种外植体数×100%。收获量=收获前瓶重-收获后瓶重

1.4 叶绿素含量测定

称取 0.1 g 样品,以 80% 丙酮提取,按 Arnon 方法测定叶绿素 a 和 b 的总量^[10]。UV2000 型紫外可见分光光度计检测,分别在波长 663,645 nm 处测定吸光值(D),按下式计算:叶绿素质量浓度 c (mg/L) = ca + cb = 20.2D₆₄₅ + 8.02D₆₆₃;叶绿体色素的含量 = 色素的浓度 × 提取液体积 × 稀释倍数/样品鲜重。

2 结果与讨论

2.1 培养基种类对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

为了研究银杏子叶外植体脱分化生长所需最适营养条件,选用 3 种具有一定代表性的培养基,即 MS、WS 和 White 培养基,附加的外源激素相同,均为 NAA 2 mg/L + KT 3 mg/L,结果见表 1。

由表 1 可知,MS 诱导效果最好,WS 次之,White 培养基诱导效果最差。分析这 3 种培养基的无机物质成分发现,MS 无机盐含量高,特别是总氮量高,为 3 550 mg/L,而 WS、White 无机盐含量低,总氮量分别为 645 mg/L 和 368 mg/L。MS、WS 培养基中氮由硝态氮和铵态氮组成,铁盐为 Fe₂SO₄ · 7H₂O 和 Na-EDTA,而 White 仅为硝态氮,铁盐为 Fe₃(SO₄)₂,含量低,WS 无甘氨酸。

由此看来,银杏愈伤组织诱导及生长状况与培养基中无机盐含量、特别是总氮量有关,铵态氮及充足的铁离子供给对愈伤组织及叶绿体生长有利,而甘氨酸并非必需,因此选用 MS 作为以下研究的基础培养基。

表 1 培养基对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 1 Effect of medium on induction, growth and chlorophyll content

编号	培养基中激素 质量浓度/(mg/L)	诱导 率/%	生长量/ mg	叶绿素 质量分数/(mg/g)	生长情况
1-1	MS+NAA2+KT3	100	826.6	0.070	快,较疏松,浅绿
1-2	WS+NAA2+KT3	50	610.5	0.068	慢,较致密,黄绿
1-3	White+NAA2+KT3	30	564.5	0.049	慢,致密,黄色

2.2 MS 质量浓度对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

采用不同质量浓度的 MS 培养基,把大量元素质

量浓度按原质量浓度的 1/4、1/2 和 1 配置成 1/4MS、1/2MS 和 1MS 培养基,其它成分相同,以考察 MS 培养基质量浓度对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响。

接种后 5~10 d, 胚开始脱分化, 愈伤组织一般为绿色、浅绿色或浅黄色。培养 20 d 后生长速度降低, 25 d 后部分愈伤组织开始出现褐变。MS 质量浓度对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响见表 2。

表 2 MS 质量浓度对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 2 Effect of MS concentration on the induction and growth of callus and chlorophyll content

编号	培养基中激素 质量浓度/(mg/L)	诱导 率/%	生长量/ mg	叶绿素 质量分数/(mg/g)	生长情况
1-1	1/4MS+NAA2+KT3	95	1 226.6	0.095	较致密, 小颗粒, 绿色
1-1	1/4MS+NAA2+KT3	95	2 829.5	0.112	较疏松, 大颗粒, 浅绿
1-1	1/4MS+NAA2+KT3	100	1 311.5	0.101	较疏松, 大颗粒, 绿色
1-2	1/2MS+NAA2+KT3	85	2 110.5	0.078	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-2	1/2MS+NAA2+KT3	85	2 242.4	0.077	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-2	1/2MS+NAA2+KT3	90	3 571.6	0.075	较致密, 大颗粒, 浅绿
1-3	1MS+NAA2+KT3	95	864.5	0.059	较疏松, 大颗粒, 黄色
1-3	1MS+NAA2+KT3	100	726.6	0.064	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-3	1MS+NAA2+KT3	80	747.4	0.068	较致密, 小颗粒, 浅绿

由表 2 可知, 1/4MS+NAA2+KT3 组合的诱导率最高, 生长也较快。1/4MS+NAA2+KT3 组合诱导的愈伤组织叶绿素含量最高, 平均质量分数为 1.03 mg/g, 是 1/2MS+NAA2+KT3 和 1MS+NAA2+KT3 平均含量的 1.34 倍和 1.61 倍。在其他条件不变的情况下, 叶绿素含量随着 MS 培养基质量浓度的增加而降低, 因此以下实验选 1/4MS 培养基为基础培养基。

2.3 外源激素对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

单一的植物激素(生长素和细胞分裂素)虽然可以诱导愈伤组织, 但诱导效果不如生长素和细胞分裂素配合使用效果好^[1], 以下实验采用生长素和细胞分裂素组合。

表 3 KT、2,4-D 组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 3 Effect of KT, 2,4-D combination on induction and growth of callus and chlorophyll content

编号	培养基中激素 质量浓度/(mg/L)	诱导 率/%	生长量/ mg	叶绿素 质量分数/(mg/g)	生长情况
1-1	1/4MS+KT1+2,4-D0.5	45	1 226.6	0.079	较致密, 小颗粒, 绿色
1-2	1/4MS+KT1+2,4-D1	95	884.7	0.058	较疏松, 大颗粒, 浅绿
1-3	1/4MS+KT1+2,4-D2	95	716.8	0.075	较疏松, 小颗粒, 浅绿
1-4	1/4MS+KT3+2,4-D0.5	55	2 230.5	0.074	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-5	1/4MS+KT3+2,4-D1	45	830.3	0.098	较疏松, 大颗粒, 浅绿
1-6	1/4MS+KT3+2,4-D2	55	737.6	0.061	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-7	1/4MS+KT5+2,4-D0.5	65	455.3	0.070	较致密, 小颗粒, 浅绿
1-8	1/4MS+KT5+2,4-D1	100	3 214.6	0.076	较致密, 大颗粒, 浅绿
1-9	1/4MS+KT5+2,4-D2	40	2 324.8	0.116	较疏松, 大颗粒, 绿色

由正交分析结果得出: 对愈伤组织中叶绿素含量影响为 $KT > 2, 4-D$ 。最佳组合: 1/4MS+5 mg/L KT+2 mg/L 2,4-D。

2.3.1 KT、2,4-D 组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响 接种 4 d 后, 下部开始膨大、脱分化。少数未诱导出愈伤组织的外植体周围一周左右出现透明黏液, 然后逐渐变成黄褐色, 最后死亡。多数外植体 10 d 以后都能诱导出愈伤组织, 诱导率均在 50% 以上。作者在诱导 7 d 后计算诱导率, 因此有些组合诱导率较低。诱导出的愈伤组织一般为绿色、浅绿色。细胞颗粒大的呈水泡状, 较疏松; 小的呈花粉状, 较致密。由表 3 可知, 1/4MS+KT 5 mg/L+2,4-D 1 mg/L 组合诱导率最高, 适宜做诱导培养基, 生长也较快。1/4MS+KT 5 mg/L+2,4-D 2 mg/L 组合时愈伤组织中叶绿素含量最高, 生长量也较高。

2.3.2 KT、NAA 组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响 同前两组相比, 该组诱导较慢, 但后劲较足, 生长持续时间长, 生长量大。接种后 4

d开始脱分化,愈伤组织疏松,多为黄色,少量为绿色。1/4MS+1 mg/L KT+2 mg/L NAA、1/4MS+3 mg/L KT+2 mg/L NAA、1/4MS+3 mg/L KT+3 mg/L NAA、1/4MS+5 mg/L KT+3 mg/L NAA 都有很好的诱导率,其中1/4MS+5 mg/L KT+3 mg/L NAA 组合诱导愈伤组织最快(5 d),是适宜的诱导培养基,1/4MS+3 mg/L KT

+1 mg/L NAA 生长量最高,是适宜的继代培养基。愈伤组织继代培养15 d左右生长速度较快,20 d以后生长速度减慢,25 d部分组合出现不同程度褐变,1/4MS+1 mg/L KT+3 mg/L NAA 褐变较快。由正交分析结果得出:对愈伤组织中叶绿素含量影响KT>NAA。最佳组合:1/4MS+3 mg/L KT+2 mg/L NAA,见表4。

表4 KT、NAA组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 4 Effect of KT, NAA combination on induction and growth of callus and chlorophyll content

编号	培养基中激素 质量浓度/(mg/L)	诱导 率/%	生长量/ mg	叶绿素 质量分数/(mg/g)	生长情况
2-1	1/4MS+ KT1+ NAA1	35	1 847.8	0.083	致密,小颗粒,绿色
2-2	1/4MS+ KT1+ NAA2	100	4 020.3	0.068	较疏松,大颗粒,黄色
2-3	1/4MS+ KT1+ NAA3	75	2 290.9	0.074	较疏松,大颗粒,黄色
2-4	1/4MS+ KT3+ NAA1	35	5 396.0	0.087	较疏松,大颗粒,绿色
2-5	1/4MS+ KT3+ NAA2	100	2 294.0	0.129	较疏松,大颗粒,黄色
2-6	1/4MS+ KT3+ NAA3	100	2 705.3	0.066	较疏松,大颗粒,黄色
2-7	1/4MS+ KT5+ NAA1	75	2 207.7	0.067	较疏松,大颗粒,绿色
2-8	1/4MS+ KT5+ NAA2	60	2 004.6	0.068	较疏松,大颗粒,黄色
2-9	1/4MS+ KT5+ NAA3	100	2 192.8	0.092	较致密,大颗粒,黄色

2.3.3 6-BA、2,4-D组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响 此组合诱导愈伤组织较快,接种后2 d下部就开始膨大,脱分化。但颜色较浅,以黄绿色为主,少量为浅绿色。愈伤组织前期生长快,但后劲不足。10 d左右可见明显生长,15 d以后生长速度减慢,20 d部分组合出现不同程度褐变,25 d褐变严重,如1/4MS+2 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D,所以愈伤组织培养最好加入抗褐变因

子。1/4MS+1 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D叶绿素含量最高。1/4MS+3 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D诱导愈伤组织迅速,诱导率最高,是适宜的诱导培养基。1/4MS+1 mg/L BA+0.5 mg/L 2,4-D的生长量最高,是适宜的继代培养基。由正交分析结果得出:叶绿素含量的影响因素为6-BA>2,4-D,最佳组合:1/4MS+1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L 2,4-D,见表5。

表5 6-BA、2,4-D组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 5 Effect of 6-BA, 2,4-D combination on induction and growth of callus and chlorophyll content

编号	培养基中激素 质量浓度/(mg/L)	诱导 率/%	生长量/ mg	叶绿素 质量分数/(mg/g)	生长情况
3-1	1/4MS+ BA1+2,4-D0.5	85	4 954.3	0.084	较疏松,大颗粒,浅绿
3-2	1/4MS+ BA1+2,4-D1	35	2 475.5	0.058	较致密,小颗粒,浅绿
3-3	1/4MS+ BA1+2,4-D2	95	2 655.4	0.060	较疏松,大颗粒,浅绿
3-4	1/4MS+ BA2+2,4-D0.5	65	3 781.7	0.044	较疏松,大颗粒,黄色
3-5	1/4MS+ BA2+2,4-D1	45	1 632.5	0.058	较致密,小颗粒,黄色
3-6	1/4MS+ BA2+2,4-D2	55	1 764.8	0.062	较疏松,大颗粒,黄色
3-7	1/4MS+ BA3+2,4-D0.5	100	3 998.7	0.036	较疏松,大颗粒,黄色
3-8	1/4MS+ BA3+2,4-D1	45	2 374.6	0.036	较致密,小颗粒,黄色
3-9	1/4MS+ BA3+2,4-D2	95	2 334.1	0.028	较疏松,大颗粒,黄色

2.3.4 6-BA、NAA组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响 与前3组相比,诱导和生长较快,愈伤组织疏松,多为黄色或浅绿色。愈伤组织继代培养7 d左右生长速度快,20 d以后生长速度减慢,25 d时部分组合出现褐变,但叶绿素含量差别不大。1/4MS+1 mg/L BA+1 mg/L NAA 诱导

的愈伤组织中叶绿素含量最高。1/4MS+1 mg/L BA+3 mg/L NAA、1/4MS+3 mg/L BA+3 mg/L NAA 都有很好的诱导率,是适宜的诱导培养基,1/4MS+3 mg/L BA+1 mg/L NAA 生长量最高,是适宜的继代培养基。

由正交分析结果得出:对愈伤组织中叶绿素含

量影响为 6-BA > NAA; 最佳组合为 1/4MS + 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA, 见表 6。

表 6 6-BA、NAA 组合对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响

Tab. 6 Effect of 6-BA, NAA combination on induction and growth of callus and chlorophyll content

编号	培养基中激素		诱导率/%	生长量/mg	叶绿素		生长情况
	质量浓度/(mg/L)				质量分数/(mg/g)		
4-1	1/4MS+ BA1+ NAA1		90	3 387.1	0.092		较致密,小颗粒,浅绿
4-2	1/4MS+ BA1+ NAA2		50	22 751.8	0.076		较疏松,大颗粒,黄色
4-3	1/4MS+ BA1+ NAA3		100	2 622.8	0.083		较疏松,大颗粒,黄色
4-4	1/4MS+ BA2+ NAA1		50	2 049.6	0.082		较疏松,大颗粒,浅绿
4-5	1/4MS+ BA2+ NAA2		80	3 678.8	0.079		较致密,小颗粒,浅绿
4-6	1/4MS+ BA2+ NAA3		65	3 332.6	0.074		较疏松,大颗粒,浅绿
4-7	1/4MS+ BA3+ NAA1		70	6 409.5	0.065		较疏松,大颗粒,浅绿
4-8	1/4MS+ BA3+ NAA2		45	2 323.8	0.078		较疏松,大颗粒,黄色
4-9	1/4MS+ BA3+ NAA3		100	3 391.8	0.081		较疏松,大颗粒,黄色

2.3.5 KT、6-BA 相同的情况下,比较 2,4-D 和 NAA 对叶绿素含量的影响

由表 7 可知,在相同的 KT、6-BA 情况下,添加 NAA 得到的愈伤组织中,叶绿素平均含量比添加 2,4-D 高,几乎每一组合叶绿素含量都要高,由此可见,生长素 2,4-D 和 NAA 对愈伤组织中叶绿素含量影响为 NAA > 2,4-D。

2.3.6 2,4-D、NAA 相同的情况下,比较 KT 和

6-BA 对叶绿素含量的影响程度 由表 8 可知,相同的 2,4-D、NAA 情况下,添加 KT 得到的愈伤组织中叶绿素平均含量比添加 6-BA 高,除最后一组 (0.077 mg/g) 略低于添加 6-BA (0.079 mg/g) 以外,其它组均高于添加 6-BA 组合,由此可见,细胞分裂素 KT 和 6-BA 对愈伤组织中叶绿素含量影响为 KT > 6-BA。

表 7 KT、6-BA 相同情况下比较 2,4-D 和 NAA 对叶绿素含量的影响

Tab. 7 Comparison of effect of 2,4-D and NAA on chlorophyll content with the same concentration of KT and 6-BA

细胞分裂素	生长素			
	2,4-D 质量浓度/(mg/L)	叶绿素质量分数/(mg/g)	NAA 质量浓度/(mg/L)	叶绿素质量分数/(mg/g)
KT	0.5	0.071	1	0.075
	1	0.078	2	0.094
	2	0.079	3	0.076
6-BA	0.5	0.057	1	0.084
	1	0.055	2	0.078
	2	0.033	3	0.074
平均值	—	0.062	—	0.080

表 8 2,4-D、NAA 相同情况下比较 KT 和 6-BA 对叶绿素含量的影响程度

Tab. 8 Comparison effect of KT and 6-BA on chlorophyll content with the same concentration of 2,4-D and NAA

生长素	细胞分裂素			
	KT 质量浓度/(mg/L)	叶绿素质量分数/(mg/g)	6-BA 质量浓度/(mg/L)	叶绿素质量分数/(mg/g)
2,4-D	1	0.074	1	0.055
	3	0.077	2	0.041
	5	0.084	3	0.050
NAA	1	0.079	1	0.079
	3	0.088	2	0.078
	5	0.077	3	0.079
平均值	—	0.081	—	0.064

由以上实验可知,外源激素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为:KT>2,4-D;KT>NAA;6-BA>2,4-D;6-BA>NAA,可见细胞分裂素比生长素影响程度大。细胞分裂素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为KT>6-BA;而生长素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为NAA>2,4-D。综合以上实验得出,外源激素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为KT>6-BA>NAA>2,4-D。

3 结 语

讨论了在调节愈伤组织生长的基础上叶绿素的合成,由生长情况可以看出,光照和温度等条件相同,脱分化时间、生长快慢、形态、叶绿素含量相差很大。从培养基种类实验可以看出,愈伤组织的诱导生长需要相当质量浓度的无机盐,所以选用MS培养基。但从MS质量浓度对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响实验得出:无机盐浓度并不是越高越好。愈伤组织在1/4MS培养基上比MS培养基上生长的好的,叶绿素含量也高。1/2MS培养基质量浓度适中,生长最好,但叶绿素含量低,生长的速度大于叶绿素合成的速度。1/4MS培养基生长速度一般,但愈伤组织中叶绿素含量最高。

外源激素是培养基中不可缺少的关键物质,其用量极少,但它们对外植体愈伤组织的诱导起着重要作用^[11],其中以生长素和细胞分裂素最为常用。从外源激素对愈伤组织诱导、生长及叶绿素含量的影响实验中可以看出,其影响程度确实很大。在光照、温度条件相同的情况下,愈伤组织中叶绿素含量最高达0.129 mg/g,是最低含量(0.028 mg/g)的5倍。作者对这些外源激素的影响程度又做了比较,得出外源激素对银杏愈伤组织叶绿素含量的影响程度为:KT>6-BA>NAA>2,4-D。

以诱导率为考察因素,适宜的培养基组合很多,如1/4MS+2 mg/LNAA+3 mg/L KT、1/4MS+5 mg/L KT+1 mg/L 2,4-D、1/4MS+1 mg/L KT+2 mg/L NAA等。以生长量为考察因素,1/4MS+3 mg/L 6-BA+3 mg/L NAA最适宜,生长量最高为6407.5 mg。以叶绿素含量高低为考察因素,1/4MS+2 mg/L NAA+3 mg/L KT叶绿素含量最高,达到0.129 mg/g。综合考虑上述3个因素得出:1/4MS+2 mg/L NAA+3 mg/LKT组合因为有很高的诱导率、较高的生长量、最高的叶绿素含量因而是最适宜的培养基。

参考文献(References):

- [1] Sticher O. Quality of Ginkgo preparations[J]. *Planta Med*, 1993,59:2-11.
- [2] 庄向平,虞杏英,杨更生,等. 银杏叶中黄酮含量的测定和提取方法[J]. *中草药*,1992,23(3):122-124.
ZHUANG Xiang-ping, YU Xing-ying, YANG Geng-sheng, et al. The method of assaying and abstracting flavone in Ginkgo biloba[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1992,23(3):122-124. (in Chinese)
- [3] 刘玲玲,余心若. 银杏药用价值[J]. *中草药*,1994,4:45-46.
LIU Ling-ling, YU Xin-ruo. The medicine value of Ginkgo[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 1994,4:45-46. (in Chinese)
- [4] 史清文,银杏叶的研究开发概况[J]. *天然产物研究与开发*,1995,7(1):70-76.
SHI Qing-wen. Summary of the study and development of Ginkgo leaf[J]. *Natural Product Research and Development*, 1995,7(1):70-76. (in Chinese)
- [5] 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):27-33.
WANG De-qiang, WANG Xiao-ling. Callus suspension culture of Ginkgo biloba[J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2005,24(3):27-33. (in Chinese)
- [6] Carrier D J, Cosentino G, Neufeld R, et al. Nutritional and hormonal requirements of Ginkgo biloba embryo-derived callus and suspension cell culture [J]. *Plant Cell Report*, 1990,8:635-638.
- [7] Camper N D, Coker P S, Wedge D E, et al. In vitro culture of ginkgo[J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 1977,33:125-127.
- [8] Filella D, Penuelas J. The red edge Pksition and shape as indicators of plant chlorophyll content, biomass and hydricstatue [J]. *Int J Remote Sens*, 1934,15(7):1459-1470.
- [9] 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*,2003,42(6):94-97.
MO Xiao-lu, HUANG Xue-lin, Meng Chen. Differentiation of chloroplast of suspension cell from Ginkgo and accumulation of flavone[J]. *Journal of Sun Yatsen University*, 2003,42(6):94-97. (in Chinese)
- [10] 苏正淑,张宪政. 几种测定植物叶绿素含量的方法比较[J]. *植物生理学通讯*,1989,5:77-78.
SU Zheng-shu, ZHANG Xian-zheng. Comparison of several methods about assaying chlorophyll[J]. *Plant Physiology Communications*, 1989,5:77-78. (in Chinese)
- [11] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京:高等教育出版社,1986:24-74.

(责任编辑:李春丽)