

培养条件对荞麦愈伤组织生长及黄酮合成的影响

王鹏姬 高金锋 苏旺 高小丽 王鹏科 冯佰利

(西北农林科技大学农学院/旱区作物逆境生物学国家重点实验室,陕西 杨凌 712100)

摘要:以荞麦无菌苗胚轴作为外植体诱导愈伤组织,研究了光照、蔗糖、L-苯丙氨酸和植物激素(2,4-D、NAA、6-BA)等因素对荞麦愈伤组织生长及黄酮合成的影响,为荞麦大规模细胞培养和工业化生产黄酮类化合物奠定基础。结果表明:光照对荞麦愈伤组织生长没有明显的影响,但光照和黑暗交替处理能促进愈伤组织黄酮合成;蔗糖质量浓度为4%,荞麦的愈伤组织生物量、黄酮含量和产量达到最高;L-苯丙氨酸能促进荞麦愈伤组织黄酮合成,但对愈伤组织生长有一定的抑制作用,L-苯丙氨酸浓度为 $150\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$,黄酮产量达到最高;在一定浓度范围内,3种植物激素都能促进荞麦愈伤组织生长和黄酮合成,但2,4-D和6-BA的效果要优于NAA,但2,4-D的效果最佳。促进荞麦愈伤组织生长和黄酮积累最佳的激素配比组合为 $1.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D + $0.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA。

关键词:荞麦;培养条件;愈伤组织;黄酮

荞麦是蓼科荞麦属一年生草本植物,生育期短、适应性广,是重要补种救灾作物,在我国西北和内蒙古干旱、高寒地区广泛种植^[1]。荞麦籽粒、茎和叶富含芦丁、金丝桃苷、栲皮素和槲皮素等黄酮类化合物^[2-4]。近些年药学研究结果表明:黄酮类化合物具有超氧化物歧化酶(SOD)的功能,能清除自由基;对脑出血、贫血有良好的预防作用;对高血压症的控制与治疗有积极作用;对降血糖,降血脂效果明显;对肿瘤细胞生长有一定的抑制作用。此外还有抗炎、抗过敏、利尿、解痉、镇咳、强心、祛痰、止咳和平喘等作用^[5-11]。随着荞麦这些药用价值日益得到人们的广泛认同,如何提高荞麦药用成份成为人们研究的重要方向。

黄酮类化合物是植物在长期自然选择过程中产生的一类次生代谢产物,近些年随着全球生物资源环境日益恶化,市场对这些具有生物活性的物质的需求却越来越大,细胞培养技术成为大量生产次生代谢产物的新途径^[12]。乔小燕等^[13]研究表明,植物次生代谢物的合成途径非常复杂,培养体系中细胞生物量及次生代谢产物的增长又受到诸多因素的影响,因此,研究愈伤组织培养的条件并加以优化,是提高次生代谢产物产量的有效技术手段;朱红威等^[14]研究表明,一定

浓度激素、光照、继代和活性炭等处理能促进银杏愈伤组织黄酮积累;李玉平等^[15]研究发现,以大花金挖耳根诱导愈伤组织、NT培养基培养、一定紫外线照射以及继代次数为3~12,黄酮产量较稳定。此外,近些年国内学者对促进甘草、青钱柳、黄芪等植物愈伤组织生长及黄酮积累的因素也做了深入的研究^[16-18]。目前荞麦黄酮研究工作主要集中在根、茎、叶和籽粒中,因此荞麦愈伤组织黄酮研究为荞麦黄酮研究开辟了一个新的思路。在获得高愈伤组织生物量的前提下,又兼顾提高愈伤组织中黄酮含量,最终实现愈伤组织生物量和黄酮含量的同步增长,是黄酮类化合物生产过程中的技术关键。本文研究了光照、蔗糖、L-苯丙氨酸和植物激素(2,4-D、NAA、6-BA)等因素对荞麦愈伤组织生物量、黄酮含量及黄酮产量的影响,旨在探索荞麦愈伤组织生长及黄酮合成的最佳培养条件,为荞麦大规模细胞培养和工业化生产黄酮类化合物奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及其培养

供试材料荞麦品种西农 9976,由西北农林科技大

收稿日期:2012-07-24 接受日期:2013-01-16

基金项目:国家自然科学基金(31071472),唐仲英基金(A212020923)

作者简介:王鹏姬(1986-),男,江西九江人,硕士研究生,主要从事植物资源开发利用研究。E-mail:wangpengji1986@sina.com

通讯作者:冯佰利(1966-),男,陕西耀县人,教授,博士生导师,主要从事作物高产生态生理技术及小杂粮栽培、育种研究。E-mail:7012766@

学小宗粮豆研究中心提供。

选取籽粒饱满、颜色深黑的成熟种子,剥去种皮,在 75% 乙醇溶液中浸泡 30s,用 0.1% 的 HgCl_2 溶液消毒 12min,再用无菌蒸馏水洗涤 5 次,每次 5min。将灭菌的种子接种到附加 3% 蔗糖、0.7% 琼脂粉无激素的 MS 固体培养基上,每日光照 16h,光照强度 2200lx,置于 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养。

以生长 10d 左右健壮的荞麦无菌苗胚轴为外植体,切成约 0.5cm 的小段,每瓶均匀接种 4 小段,在 MS 固体培养基(附加 2.0mg·L⁻¹ 2,4-D 和 3% 蔗糖)上进行愈伤组织诱导,培养条件:温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,每日提供 2200lx 光照 16h。

培养 2 周后,选取鲜绿色、疏松颗粒状且长势一致的愈伤组织接种到试验处理组三角瓶中。每个三角瓶内接种愈伤组织 $1.0 \pm 0.1\text{g}$ (鲜重),平均分 4 块均匀接种,每个处理 3 次重复(即接种 3 瓶),每 15d 继代一次。35d 后,取出各个处理下 3 瓶愈伤组织,分别测定每瓶愈伤组织生物量和黄酮的含量。

1.2 试验处理

1.2.1 光照处理 光照处理分别为:黑暗 24h、光照 24h、光照/黑暗(16h/8h)。在 MS 固体培养基(附加 2.0mg·L⁻¹ 2,4-D 和 3% 蔗糖)上进行愈伤组织培养,温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ 。

1.2.2 蔗糖处理 蔗糖质量浓度分别设置 1%、2%、3%、4%、5% 5 个水平,在 MS 固体培养基(附加 2.0mg·L⁻¹ 2,4-D)上进行愈伤组织培养,温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,每日提供 2200lx 光照 16h。

1.2.3 L-苯丙氨酸处理 将 L-苯丙氨酸配成不同浓度溶液,调 pH 值为 5.8,无菌过滤后添加到培养基中。L-苯丙氨酸浓度分别设置为 0、50、100、150、200 ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 5 个水平,在 MS 固体培养基(附加 2.0mg·L⁻¹ 2,4-D 和 3% 蔗糖)上进行愈伤组织培养,温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,每日提供 2200lx 光照 16h。

1.2.4 植物激素处理 2,4-D 浓度分别设置为 0、0.5、1.0、1.5、2.0、3.0、4.0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 7 个水平;NAA 浓度分别设置为 0、0.3、0.6、0.9、1.2、1.5、2.0 ($\text{mg}\cdot$

L⁻¹) 7 个水平;6-BA 浓度分别设置为 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5、2.0 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 8 个水平,在 MS 固体培养基(附加 3% 蔗糖)上分别进行愈伤组织培养,温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$,每日提供 2200 lx 光照 16 h。选出每种激素单独处理时效果较好的浓度,将效果最佳激素的浓度分别与另两个激素两两配比组合使用,在相同条件下培养。

1.3 愈伤组织黄酮含量的测定及黄酮产量的计算

愈伤组织生物量和黄酮含量的测定:将每瓶供试愈伤组织放在 60°C 烘箱中烘干至恒重,然后称重,即得到每瓶的干物质获取量(愈伤组织生物量);粉碎烘干的愈伤组织,过 60 目筛,称取 0.2g 干粉,参考 Kim 等^[19] 的甲醇抽提法,70% 甲醇 70°C 水浴提取 3 次,每 2 h 提取一次,每隔 30min 振荡 5min,合并 3 次提取液,0.45 μm 滤膜过滤,用 70% 甲醇定容至 50mL;以芦丁为标样,采用张琪等^[20] 的 AlCl_3 法,测定提取液中的黄酮含量。

根据愈伤组织生物量和黄酮的含量计算出黄酮的产量,愈伤组织黄酮产量($\text{mg}/\text{瓶}$) = 黄酮的含量($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$) × 愈伤组织生物量($\text{g}/\text{瓶}$)。

1.4 统计分析

试验数据以 3 次重复的平均值表示,求出其标准偏差,用 Microsoft Excel 2003 和 SigmaPlot 10.0 软件处理分析试验数据。

2 结果与分析

2.1 光照对愈伤组织生长和黄酮合成的影响

愈伤组织在光照(24h)处理下为淡绿色,在光照/黑暗(16h/8h)交替处理下为黄绿色,在黑暗(24h)处理下颜色为黄黑色(图 1)。由表 1 可知,光照虽对愈伤组织的生长没有明显影响,但明显促进黄酮的合成,尤其在黑暗/光照(16h/8h)交替处理下,愈伤组织中黄酮的含量和产量是黑暗(24h)处理下的近 2 倍。

2.2 蔗糖对愈伤组织生长和黄酮合成的影响

如图 2、图 3 所示,随着蔗糖质量浓度升高,愈伤

表 1 光照时间对荞麦愈伤组织生长和黄酮合成的影响

Table 1 Influence of light period on biological yield of buckwheat callus and flavonoids synthesis

光照时长 Light period	愈伤组织生物量 Biological yield of callus($\text{g}/\text{瓶}$)	黄酮含量 Flavones content in callus($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)	黄酮产量 Biological yield of flavones in callus($\text{mg}/\text{瓶}$)
黑暗(24h)	1.298 ± 0.041	5.447 ± 0.085	7.066 ± 0.142
光照(24h)	1.271 ± 0.026	6.338 ± 0.371	8.052 ± 0.332
光照/黑暗(16h/8h)	1.245 ± 0.028	10.255 ± 0.189	12.761 ± 0.164

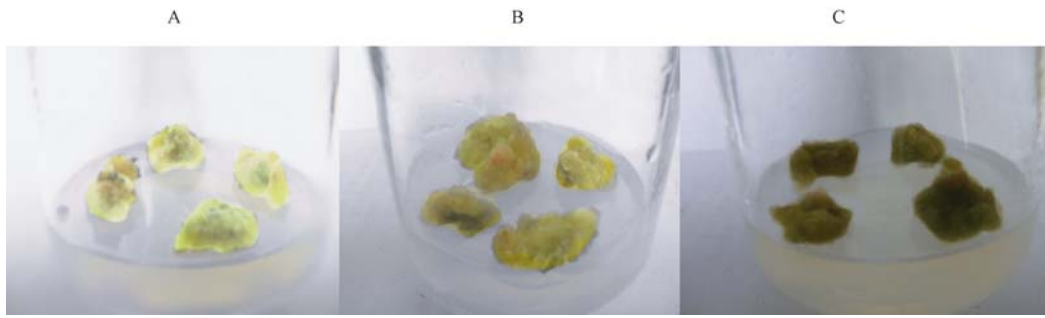


图 1 不同光照处理诱导的愈伤组织

Fig. 1 Callus induced by different light period treatment

A: Callus induced by light condition (24 h) B: Callus induced by light and dark processing alternately (16 h/8 h)
C: Callus induced by dark condition (2 h)

组织生物量、黄酮含量和产量都随之增长;蔗糖质量浓度为 4% 时,愈伤组织生物量、黄酮含量和产量均达到最高值,分别为 1.407g/瓶(干重 DW)、11.822mg·g⁻¹ 和 16.637mg/瓶,增加蔗糖质量浓度至 5%,三者都略有下降。

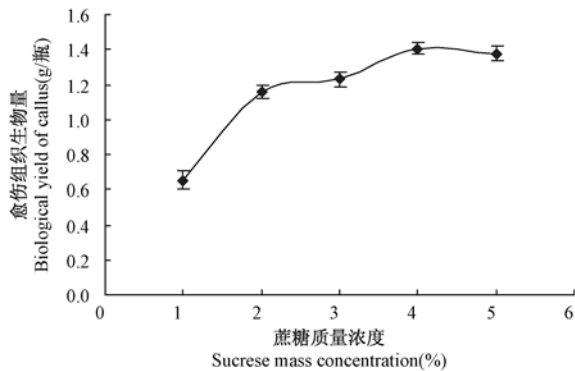


图 2 不同蔗糖质量浓度对荞麦愈伤组织生物量的影响

Fig. 2 Influence of different sucrose mass concentration on biological yield of buckwheat callus

2.3 L-苯丙氨酸对愈伤组织生长和黄酮合成的影响

随着外源 L-苯丙氨酸浓度升高,愈伤组织生物量缓缓下降(图 4),但愈伤组织黄酮含量和产量却有所增加(图 5),由此可见,L-苯丙氨酸对愈伤组织的生长有抑制作用,对黄酮的合成有促进作用。由于愈伤组织生物量的下降,L-苯丙氨酸浓度为 150μmol·L⁻¹ 时,黄酮的产量达到最高值 15.403mg/瓶,继续增加 L-苯丙氨酸浓度时,黄酮产量有所下降(图 5)。

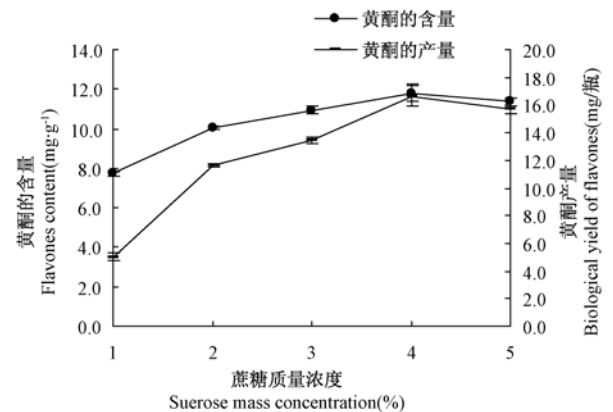


图 3 不同蔗糖质量浓度对荞麦愈伤组织黄酮含量和产量的影响

Fig. 3 Influence of different sucrose mass concentration on content and biological yield of flavones in buckwheat callus

2.4 激素对愈伤组织生长和黄酮合成的影响

由图 6 可见,在一定范围内,随着植物激素浓度升高,愈伤组织生物量升高。2,4-D 浓度为 1.5mg·L⁻¹,愈伤组织生物量达到最高值 1.214g/瓶(DW),之后愈伤组织生物量略有下降;6-BA、NAA 处理在浓度为 0.6mg·L⁻¹ 时愈伤组织生物量最高,分别为 1.204g/瓶(DW)和 1.132g/瓶(DW),之后愈伤组织生物量明显下降。由此可见,在低浓度下,3 种激素均能促进愈伤组织的生长;在高浓度下,6-BA 和 NAA 明显抑制愈伤组织的生长,而 2,4-D 的抑制作用不明显。

如图 9 所示,在较低浓度范围内,植物激素均能促进黄酮含量和产量增加,但 3 种激素处理结果差异明

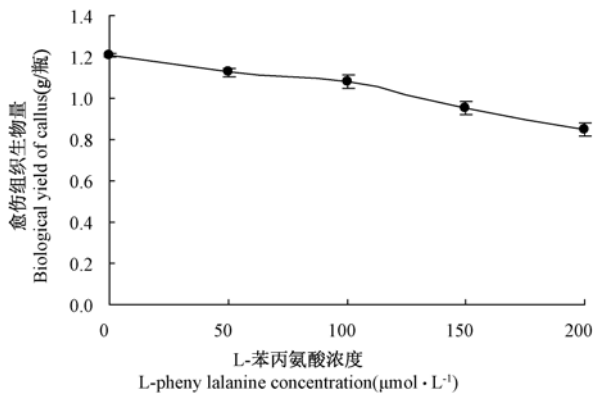


图 4 不同 L-苯丙氨酸浓度对荞麦愈伤组织生物量的影响

Fig. 4 Influence of different L-phenylalanine concentration on biological yield of buckwheat callus

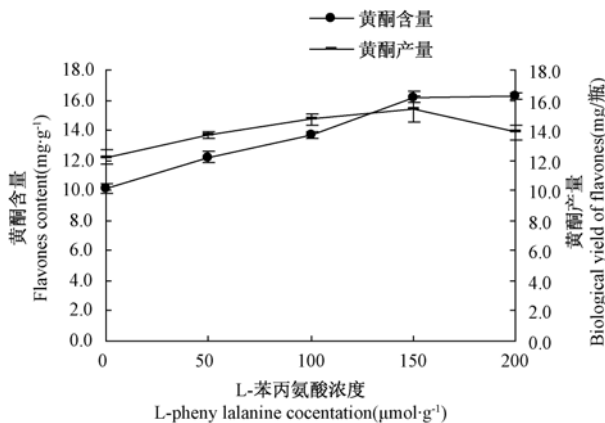


图 5 不同 L-苯丙氨酸浓度对荞麦愈伤组织黄酮的含量和产量的影响

Fig. 5 Influence of different L-phenylalanine concentration on content and biological yield of flavones in buckwheat callus

显。2,4-D 浓度为 $1.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 黄酮含量和产量均达到最高值, 分别为 $11.207 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $13.605 \text{mg}/\text{瓶}$; 6-BA 浓度为 $0.4 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 黄酮含量达到最高值 $11.465 \text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 6-BA 浓度为 $0.6 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 黄酮产量达到最高值 $13.054 \text{mg}/\text{瓶}$; NAA 浓度为 $0.6 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 黄酮含量和产量均达到最高值, 分别为 $9.847 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $11.143 \text{mg}/\text{瓶}$ 。由此可见, 在各激素最佳浓度下, 2,4-D 和 6-BA 的效果要优于 NAA; 2,4-D 的浓度为 $1.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 效果最佳, 能够实现愈伤组织黄酮含量和产量同步

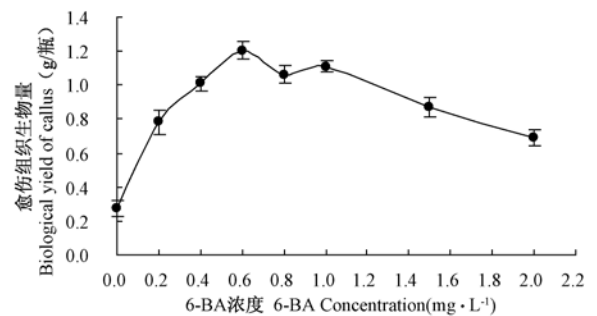
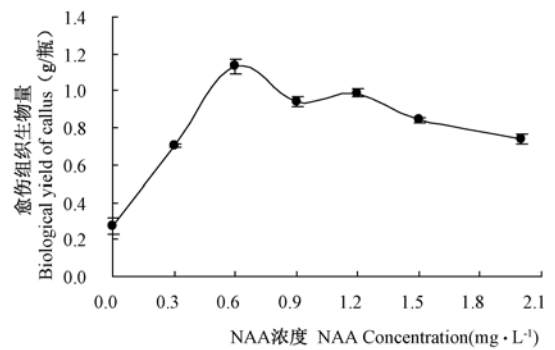
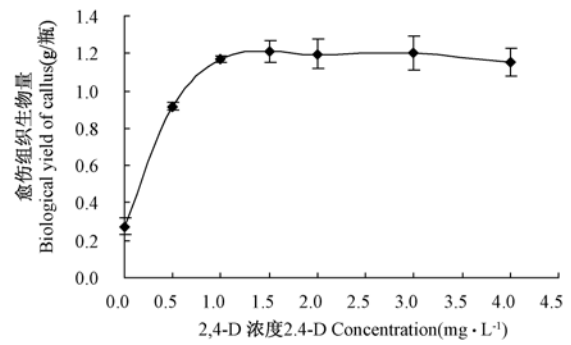


图 6 不同植物激素浓度对荞麦愈伤组织生物量的影响

Fig. 6 Influence of different plant hormone concentration on biological yield of buckwheat callus

达到最高值。

以单独使用最佳浓度 $1.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 为对照, 由表 2 可见, $1.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 与 NAA 和 6-BA 配比组合, 促进了愈伤组织生长和黄酮合成, 其中促进荞麦愈伤组织生长和黄酮积累最佳的激素配比组合为 $1.5 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D + $0.6 \text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA。

3 讨论

光照条件下, 愈伤组织为绿色, 这与光合作用产生叶绿素有关。彭昕^[21]等研究表明, 间断性光照最有利于三叶青愈伤组织的生长, 也有研究表明黑暗有利于

表 2 不同激素配比对荞麦愈伤组织生长和黄酮合成的影响

Table 2 Influence of different phytohormone mixture ratio on biological yield of buckwheat callus and flavonoids synthesis

培养基编号 Number	植物激素 Phytohormone ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)			愈伤组织生物量 Biological yield of callus ($\text{g}/\text{瓶}$)	黄酮含量 Flavones content in callus ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	黄酮产量 Biological yield of flavones in callus ($\text{mg}/\text{瓶}$)
	2,4-D	NAA	6-BA			
1	1.5	—	—	1.214 ± 0.057	11.207 ± 0.221	13.605 ± 0.194
2	1.5	0.6	—	1.287 ± 0.050	11.308 ± 0.106	14.553 ± 0.272
3	1.5	0.9	—	1.224 ± 0.040	11.263 ± 0.085	13.786 ± 0.053
4	1.5	—	0.4	1.278 ± 0.039	11.516 ± 0.176	14.717 ± 0.258
5	1.5	—	0.6	1.311 ± 0.032	11.316 ± 0.418	14.835 ± 0.730

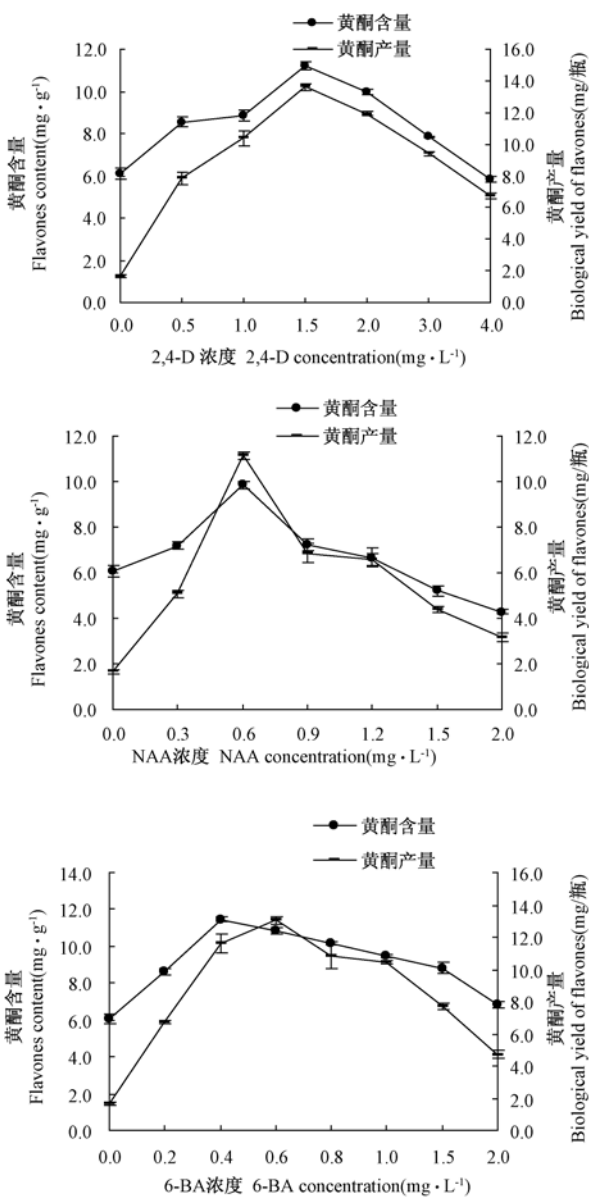


图 7 不同植物激素浓度对荞麦愈伤组织黄酮含量和产量的影响

Fig. 7 Influence of different plant hormone concentration on content and biological yield of flavones in buckwheat callus

银杏愈伤组织的生长^[14],而本研究也发现黑暗(24h)处理下最有利于荞麦愈伤组织的生长,可见光照对愈伤组织生长的影响,因植物种类不同而不同。大量研究表明,光照对愈伤组织黄酮合成有明显的促进作用^[14,21-22],与本研究结果相一致。光照条件下愈伤组织黄酮含量较高,可能由于光照条件下叶绿体分化,而叶绿体分化与黄酮积累有关^[23],或是因为光照对苯丙氨酸解氨酶的激活作用^[24]。但本研究发现黑暗/光照(16h/8h)交替处理最有利于黄酮的积累,而彭昕^[21]等研究表明连续24h光照最有利于三叶青愈伤组织中黄酮的积累,可见光照对愈伤组织中黄酮积累的影响,也因植物种类不同而不同。

何含杰等^[25]研究发现,在三裂叶野葛毛状根愈伤组织生长过程中,蔗糖一方面可以提供碳骨架和能源物质,促进愈伤组织的生长;另一方面浓度过大时导致渗透压增大,影响细胞的分化,进而对细胞生长及次生代谢产物积累产生重大影响。本研究发现,在培养基中添加一定浓度蔗糖能明显地促进愈伤组织的生长及黄酮合成;浓度过大时,黄酮含量和产量反而有所下降,这与何含杰等研究结论相一致。

杨英等^[26]在对甘草黄酮类化合物积累的研究中证实,外源添加苯丙氨酸可增强苯丙氨酸解氨酶活性,促进合成黄酮的重要中间产物——查尔酮的合成,进而促进黄酮的合成;吕东平^[27]等对水母雪莲悬浮细胞黄酮合成的研究中发现,前体物质L-苯丙氨酸存在最佳添加浓度OCPF(Optimum Concentration for Precursor Feeding),超过最佳添加浓度 $100\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$,黄酮的积累会下降。本研究发现L-苯丙氨酸能促进黄酮的合成,且浓度为 $150\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时黄酮产量最高,是最佳添加浓度,这与前人的研究结论一致,只是最佳添加浓度不同,这与植物种类不同有关。随着L-苯丙氨酸浓度增加,黄酮含量增加,但其对愈伤组织生长的抑制作用更显著,导致黄酮产量反而下降,这可能是

L-苯丙氨酸存在最佳添加浓度的原因所在。

本研究发现,2,4-D、6-BA 和 NAA 能促进愈伤组织生长和黄酮合成,且表现出明显的浓度效应,即在低浓度下才会促进愈伤组织生长和黄酮合成,高浓度起抑制作用。在各激素最佳处理浓度下,2,4-D 和 6-BA 效果要优于 NAA,而 2,4-D 效果最佳。朱红威^[14]等对银杏愈伤组织研究表明,培养基中加入 $2.0\text{m}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D 和 $0.3\text{m}\cdot\text{L}^{-1}$ BA,生长量较大,同时黄酮含量达到最高;本研究发现,促进荞麦愈伤组织生长和黄酮积累最佳的激素配比组合为 $1.5\text{m}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D + $0.6\text{m}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA。由于植物种类不同,最佳激素配比有所不同,但是研究都表明,以各激素最佳浓度配比组合使用,对愈伤组织生长和黄酮合成的促进作用比单独使用各激素时更显著。

参考文献:

- [1] 林如法. 中国荞麦[M]. 北京:中国农业出版社,1994:2-11
- [2] 杜敏华,高宛莉,王庆林. 苦荞麸皮黄酮类化合物的微波辅助提取和 HPLC-ESI-MSⁿ测定[J]. 核农学报,2008,22(4):469-473
- [3] Zhanaeva T A. Tissue-specific distribution of rutin and rutin-degrading enzyme in buckwheat leaves[J]. Russian Journal of Plant Physiology,1998,45:63-66
- [4] Kimura Y, Sumiyoshi M. Effects of various flavonoids isolated from *Scutellaria baicalensis* roots on skin damage in acute UVB-irradiated hairless mice[J]. The Journal of Pharmacy Pharmacology,2011,63(12):1613-1623
- [5] 方芳,黄卫东. 食品中黄酮醇的组成、性质及其检测方法[J]. 核农学报,2011,25(2):313-316
- [6] 何永艳,冯佰利,邓涛,安守强,高金锋,柴岩. 荞麦提取物抗氧化活性研究[J]. 西北农业学报,2007,27(2):307-311
- [7] 张灿,张海晖,武妍,段玉清,张瑞,邵婷婷,陈杰华. 马兰黄酮类化合物的提取及其抗氧化活性[J]. 农业工程学报,2011,16(6):76-79
- [8] 朱文振,马龙,李国荣. 黄酮类化合物的抗癌作用及作用机制[J]. 生命科学,2012,24(5):444-449
- [9] Xiao Z P, Peng Z Y, Peng M J. Flavonoids health benefits and their molecular mechanism[J]. Mini-reviews in Medicinal Chemistry, 2011,11(2):169-177
- [10] 姜妍,赵慧芹,王健行,韩淑英. 荞麦黄酮复方剂对大鼠 2 型糖尿病心脏病小血管病变的保护作用[J]. 中国现代医学杂志, 2011,21(30):3741-3745
- [11] 廷玺,刘会青,邹永青,任占华. 黄酮类化合物生理活性及合成研究进展[J]. 有机化学,2008,28(9):1534-1544
- [12] 罗凯,胡廷章,罗建平. 植物细胞培养生产次生代谢产物的研究进展[J]. 时珍国医国药,2007,18(10):2338-2340
- [13] 乔小燕,马春雷,陈亮. 植物类黄酮生物合成途径及重要基因的调控[J]. 天然产物研究与开发,2009,21:354-360
- [14] 朱红威,邵菊芳,李庆,王丹. 不同培养条件对银杏愈伤组织生长及黄酮含量的影响[J]. 食品科学,2007,28(11):102-105
- [15] 李玉平,姜在民,冯俊涛,徐珊,张兰. 不同培养条件对大花金挖耳愈伤组织生长及黄酮产量的影响[J]. 核农学报,2008,22(3):286-290
- [16] 杨世海,刘晓峰,马秀华,果德安,郑俊华. 不同理化因子对甘草愈伤组织生长和黄酮类化合物合成的影响[J]. 吉林农业大学学报,2006,28(1):47-50
- [17] 郭春兰,上官新晨,蒋艳,杨武英. 不同不同理化因子对青钱柳愈伤组织生长和黄酮类化合物合成的影响[J]. 安徽农业大学学报,2008,35(3):430-435
- [18] 步营,陈显化,张宗申. 影响黄芪愈伤组织生长和黄芪黄酮合成的因素[J]. 时珍国医国药,2008,19(3):561-563
- [19] Kim S J, Zaidul I S M, Suzuki T. Comparison of Phenolic compositions between common and tartary buckwheat (*Fagopyrum*) sprouts[J]. Food Chemistry,2008,110(4):814-820
- [20] 张琪,刘慧灵,朱瑞,陈建民. 苦荞麦中总黄酮和芦丁的含量测定方法的研究[J]. 食品科学,2003,24(7):113-116
- [21] 彭昕,林言娜,何军邀,凌庆枝. 培养条件对三叶青愈伤组织生长及总黄酮含量的影响[J]. 药物生物技术,2012,19(2):138-141
- [22] 秦公伟,曹小勇,张静,张威威,张艳妮. 银杏叶片愈伤组织培养及光暗条件对黄酮含量的影响[J]. 陕西理工学院学报:自然科学版,2011,27(1):71-76
- [23] 崔刚,唐蕾,王武. 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[J]. 食品与生物技术学报,2008,27(2):117-122
- [24] 谢灵玲,赵武玲,沈黎明. 光照对大豆叶片苯丙氨酸解氨酶(PAL)基因表达及异黄酮合成的调节[J]. 植物学通报,2000,17(5):443-449
- [25] 何含杰,梁朋,施和平. 蔗糖和光对三裂叶野葛毛状根生长及次生物质产生的影响[J]. 生物工程学报,2005,21(6):1003-1008
- [26] 杨英,何峰,季家兴,雷晶,陈雪红,余龙江. 四种前体对胀果甘草细胞悬浮培养生产甘草黄酮的调控效果评价[J]. 武汉植物学研究,2007,25(5):484-489
- [27] 吕东平,赵德修,黄艳,赵乔. 前体对水母雪莲悬浮培养细胞黄酮合成的影响[J]. 云南植物研究,2001,23(4):497-503

Influence of Culture Condition on Callus Growth and Flavonoids Biosynthesis of Buckwheat

WANG Peng-ji GAO Jin-feng SU Wang GAO Xiao-li
WANG Peng-ke FENG Bai-li

(College of Agronomy, Northwest A&F University/State Key Laboratory
of Crop Stress Biology in Arid Areas, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: Buckwheat callus induced from the hypocotyl of its sterile seedling were cultivated in different light period treatment, different concentration of sucrose, L-phenylalanine and phytohormone to study the influence of different culture conditions on the growth of buckwheat callus and their flavonoids synthesis, those laid to a foundation for mass buckwheat cell culture and industrialized mass production of flavones. The result showed that: Light period treatment had no obvious effect on biological yield of buckwheat callus, but the light and dark processing alternately could promote the flavonoid synthesis; When the sucrose concentration was 4%, the biological yield of buckwheat callus, content and biological yield of flavones was reached maximum value; L-phenylalanine could promote the flavonoid synthesis in buckwheat callus, but inhibit the growth of buckwheat callus, when the L-phenylalanine concentration was $150\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, biological yield of flavones was reached maximum value; In certain range of concentration, three kinds of phytohormone could promote the buckwheat callus growth and flavonoid synthesis, the effect of 2,4-D and 6-BA was superior to NAA, the effect of 2,4-D was the best, the best phytohormone mixture ratio of promoting biological yield of buckwheat callus and flavonoids synthesis was $1.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D + $0.6\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA.

Key words: Buckwheat; Culture condition; Callus; Flavones