

# 蔗糖对牛角藓愈伤组织悬浮细胞的生理学影响

高永超, 薛红, 沙伟\*

(齐齐哈尔大学生命科学与工程学院生物系, 黑龙江齐齐哈尔 161006)

**摘要:** 以 MS 培养基为基本培养基, 对牛角藓(*Cratoneuron filicinum*)进行了细胞悬浮培养。研究不同蔗糖浓度对细胞生长规律及其生理生化特性的影响, 结果表明蔗糖是悬浮培养过程中重要的碳源, 是细胞生长的能量来源和构成细胞骨架的主要成分。蔗糖浓度为 30 g/L 对细胞生长最为有利。

**关键词:** 牛角藓; 悬浮培养; 蔗糖

**中图分类号:** Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)05-0464-06

## Physiological effect of sugar on the suspended cell of *Cratoneuron filicinum*

GAO Yong-chao, XUE Hong, SHA Wei\*

(Department of Biology, College of Life Science and Engineering, Qiqihar University, Qiqihar 161006, China)

**Abstract:** In this paper, using MS medium as a basic medium, the author studied the effect of different concentration of sucrose on the physiology and biochemistry of the suspended cell of *Cratoneuron filicinum*. The result shows that sucrose is the important source of carbon. It is the sources of the energy and the main component of cell structure. It is the best for the growth of suspended cell in the concentration of 30 gram per liter.

**Key words:** *Cratoneuron filicinum*; suspension culture; sugar

牛角藓(*Cratoneuron filicinum*)为柳叶藓科(Amblystegium),牛角藓属(*Cratoneuron*)植物。主要分布于我国黑龙江省(大兴安岭、小兴安岭)、吉林、辽宁等地。此藓种是湿生藓类,其植物体较粗壮,羽状分枝,叶基宽大,角部下延角细胞分化明显,稍带黄褐色,常突出。多生于林区塔头沼泽地或沼泽地(敖志文等,1992)。本实验旨在通过对牛角藓细胞进行悬浮培养,以进一步了解培养基中几种成分对苔藓植物悬浮细胞生长情况和一些生理生化特性的影响,并为今后详细研究其次生代谢产物打下基础。

苔藓植物组织培养在国内的研究较落后,利用苔藓植物的愈伤组织进行悬浮培养的报道极少,徐产兴(1986)对地钱(*Marchantia polymorpha*)悬浮

培养物的研究进行了初步的介绍,但未见到相关报道。国外在这方面的报道较多,并且大部分是利用植物细胞悬浮培养的技术研究和生产苔藓植物中含有的特殊的次生代谢产物(Nabeta等,1996;Tazaki等,1996;Matsui等,1996;Matsuo等,1996)。本试验以配子体作为外植体诱导出的愈伤组织作为原料,建立了松散易碎,生长旺盛的悬浮细胞系,对在不同培养基成分上悬浮细胞的生长情况及其生理生化特性进行了较细致的研究。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

试验所用的材料采于大兴安岭克一河杜鹃山

收稿日期: 2002-08-05 修订日期: 2003-01-20

基金项目: 黑龙江省教育厅资助项目(9551093)

作者简介: 高永超(1977-),男,硕士生,主要从事植物遗传学研究。\*为通讯作者

庄,材料采集后用无菌土培养,上面覆盖一层塑料膜,以保持水分。

### 1.2 愈伤组织的诱导与继代

(1)取材:选取室内培养的牛角藓的幼嫩茎段。(2)消毒:用 0.01% 的  $\text{HgCl}_2$  灭菌 10 s,然后用无菌水冲洗 4~5 次。(3)接种:将消毒后的茎段切成 1 cm 左右的小段,接在愈伤组织诱导培养基(MS+2, 4-D 2 mg/L)上,调整 pH 至 5.8,每瓶接 3~4 段。在 24~26 °C 诱导愈伤组织。(4)继代:诱导出愈伤组织后,每隔 2 周继代 1 次,继代时挑选生长状态良好,嫩绿色的愈伤组织。

### 1.3 愈伤组织的悬浮培养

(1)取材:选取继代两次以上、生长旺盛、结构疏松的愈伤组织。(2)接种:用镊子轻轻夹取愈伤组织(注意:不要带有固体培养基),放在含有不同成分的 50 mL MS 液体培养基中,振荡使制成单细胞悬浮液。用灭过菌的吸管吸取 5 mL 悬浮液,加入到 45 mL 液体培养基中,振荡培养。每 50 mL 培养基中加约 0.1 g · DW 愈伤组织(即 2 g · DW/L)。(3)悬浮培养:摇床转速为 100~110 r/min,室温,漫射光下培养。

### 1.4 悬浮细胞生长速率的测定(周春江等,2002)

悬浮细胞生长量测定采用细胞干重法。将 1~2 瓶细胞悬浮液用双层滤纸过滤,60 °C 烘干约 12 h,至恒重,称重后计算干重量。

$$\text{增加干重}(\Delta G_n) =$$

$$\text{测量干重}(G_n) - \text{接种干重}(G_0)。$$

然后换算成每升培养基增加的细胞干重克数。即 g/L,表示细胞生长速率。

### 1.5 可溶性蛋白含量的测定(上海市植物生理学会,1999;段辉国,2000)

(1)取材:细胞悬浮液 3 500 r/min 离心 15 min,弃上清液。(2)可溶性蛋白的提取:取沉淀物 0.5 g · FW,加 5 mL 预冷的 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH6.0)冰浴研磨,10 000 r/min 离心 20 min。保留上清液用于测可溶性蛋白的含量。(3)测量光密度:取 0.5 mL 的可溶性蛋白提取液,加 5 mL 考马斯亮蓝试剂,静止 2 min,用光径为 1 cm 的比色杯,以蒸馏水作空白调零,721 型分光光度计在 595 nm 处读取光密度值,mg/g · FW 表示蛋白质含量。(4)标准曲线的制备:称取 100 mg 牛血清蛋白溶于 0.9% 的生理盐水中,定容至 100 mL,制成 1 000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  母液,再配制成每 0.1 mL 分别含 0、10、20、

30、40、50、60、70、80、90、100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的标准液。准确吸取 0.5 mL 上述 11 种牛血清蛋白标准液,分别放入 10 mL 具塞试管中,加 5 mL 考马斯亮蓝蛋白 G-250 染色剂,放置 2 min,用光径为 1 cm 的比色杯,721 型分光光度计在 595 nm 处读取光密度值,制作标准曲线。(5)计算:依读取的光密度值从标准曲线上查得蛋白提取液中可溶性蛋白浓度,根据以下公式计算悬浮细胞中蛋白质含量。

$$\text{蛋白质含量}(\text{mg}/\text{g}) =$$

$$\frac{\text{蛋白质浓度}(\mu\text{g}/\text{mL}) \times 5 \text{ mL} \times 10^3}{0.5 \text{ g}}$$

### 1.6 叶绿素含量的测定(华东师范大学生物系植物生理教研组,1980)

(1)取材:细胞悬浮液 3 500 r/min 离心 15 min,弃上清液。(2)叶绿素的提取:取沉淀物 0.5 g · FW,置于研钵中,加 5~6 mL 蒸馏水,碳酸钙少许及适量石英砂,仔细研磨成匀浆,用蒸馏水定容至 10 mL。然后用移液管吸取 2.5 mL,置于一大试管中,加入丙酮 10 mL,摇动试管,促使叶绿素溶于丙酮中,静置片刻,过滤后即成为叶绿素丙酮提取液。(3)测量光密度:用光径为 1 cm 的比色杯,以 80% 的丙酮作空白调零,721 型分光光度计在 663 nm 和 645 nm 处读取光密度值,用 mg/g · FW 表示叶绿素含量。(4)计算:根据测量得到的光密度  $D_{663}$ 、 $D_{645}$ ,代入下列公式计算悬浮细胞中叶绿素含量。

$$C_A = 12.7 D_{663} - 2.69 D_{645}$$

$$\text{叶绿素 a 含量}(\text{mg}/\text{g} \cdot \text{FW}) =$$

$$C_A \times \frac{12.5}{1000} \times \frac{10}{2.5} \times \frac{1}{0.5} = 0.1 C_A$$

$$C_B = 22.9 D_{645} - 4.68 D_{663}$$

$$\text{叶绿素 b 含量}(\text{mg}/\text{g} \cdot \text{FW}) = 0.1 C_B$$

$$\text{叶绿素总含量}(\text{mg}/\text{g} \cdot \text{FW}) = 0.1 C_T$$

$$= 0.1 \times (C_A + C_B)$$

$$= 0.1 \times (20.2 D_{645} + 8.02 D_{663})$$

### 1.7 总含磷量的测定(张志良,1990)

(1)取材:细胞悬浮液 3 500 r/min 离心 15 min,弃上清液。(2)磷的提取:取沉淀物 0.5 g · FW,加 5 mL 5% 的过氯酸,用研钵于 0 °C 下研磨成匀浆,3 000 r/min 离心 10 min,倾去上清液。用同样的方法再提取 2 次,以完全除去酸溶性蛋白。残渣用乙醇-乙醚-氯仿(2:2:1)混合液,于室温下 3 000 r/min 提取 4 次,每次提取 15 min,以除去磷脂。核酸残渣干燥后加 2.5 mL 5% 的三氯乙酸,放

在 90 °C 恒温水浴中水解 30 min。(3) 测量光密度: 三氯乙酸水解液于 721 型分光光度计在 268.5 nm 处测定 OD 值, 以同样条件下(90 °C, 30 min)处理过的 5% 三氯乙酸作为空白调零, 比色杯光径为 1 cm。(4) 计算:

根据  $\epsilon_{(P)} = 9\ 850$ , 用下列公式计算总磷含量:

$$C = \frac{30.98 \times D_{268.5}}{9\ 850}$$

C 为磷浓度(g/L),  $D_{268.5}$  为样品在 268.5 nm 处测得的光密度,  $\epsilon_{(P)}$  为磷原子的吸收系数。

### 1.8 鲜、干重比例的测定(王东等, 1997)

将细胞悬浮液 3 500 r/min 离心 15 min, 称鲜重, 鲜细胞置于 60 °C 下烘干 12 h 以上, 至恒重, 计算比值:

$$\text{鲜/干重} = \frac{\text{细胞鲜重(g)}}{\text{细胞干重(g)}}$$

## 2 结果与分析

### 2.1 不同蔗糖浓度对牛角蕨悬浮细胞生长及生理影响

2.1.1 不同蔗糖浓度对细胞生长的影响 在无蔗糖的培养基中, 由于细胞得不到足够的碳源, 生长缓慢, 悬浮细胞培养液颜色变化很小, 而且在培养末期细胞的生长量还有下降的趋势。在蔗糖浓度为 15 g/L 的培养基中, 0~4 d 细胞生长十分缓慢, 为停滞期; 第四天后细胞生长速率开始加快; 第八天时细胞干重是接种干重的一倍, 并且细胞始终处于增长阶段。在蔗糖含量为 30 g/L 的培养基中, 细胞增长最快, 仅在第二天细胞干重就增加了 5 倍, 第四至六天是细胞生长的停滞期, 第六天后悬浮细胞的干重量呈直线上升。由图 1 可见, 在所设的 3 个不同的浓度梯度中, 随着培养基中蔗糖含量的增加, 悬浮细胞的生长速率也增加。因为蔗糖作为悬浮细胞所必须的碳源, 对合成悬浮细胞的结构物质有巨大的作用。

2.1.2 不同蔗糖浓度对细胞内可溶性蛋白质含量的影响 由图 2 可见, 在蔗糖含量不同的培养基中, 悬浮细胞中可溶性蛋白质含量也不相同。不加蔗糖的培养基中可溶性蛋白的变化十分剧烈, 前四天细胞内可溶性蛋白的含量剧烈下降, 而后两天又剧烈升高, 随后便急剧下降。而加入蔗糖的培养基中可溶性蛋白的含量却先有所下降, 而后随培养的时间延

长逐渐升高。蔗糖的含量越高, 可溶性蛋白的含量升高的也越快。

造成上述结果的原因可能是因为: 在无蔗糖的培养基中, 蛋白质合成受到抑制, 促使细胞本身的可溶性蛋白发生降解, 而使胞内蛋白质含量降低。降解掉的物质又被重新利用来合成可溶性蛋白。后期可溶性蛋白含量降低的原因可能是由于前期合成的可溶性蛋白转化为结构性蛋白的缘故(王东等, 1997); 在蔗糖含量为 15 g/L 的培养基中, 第六天蛋白质含量达到最低, 为 0.31 mg/g; 在蔗糖浓度为 30 g/L 的培养基中, 第四天蛋白质含量稍有下降, 然后一直升高, 在这种培养基中蔗糖含量很高, 细胞始终处于旺盛的生长状态, 因而细胞内蛋白质的合成比较旺盛。细胞中可溶性蛋白含量的变化与图 1 中细胞的生长状况是一致的。

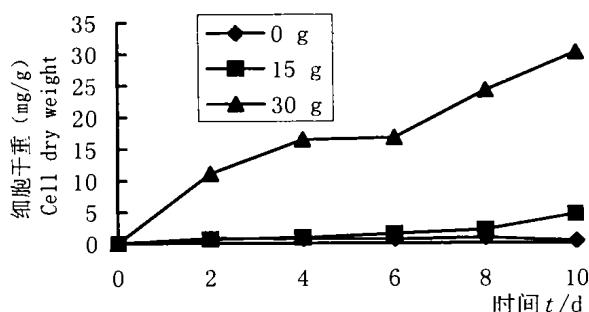


图 1 不同蔗糖浓度对悬浮细胞生长状况的影响(g · DW/L)

Fig. 1 The effect of different concentration of sucrose on the growth of suspended cells

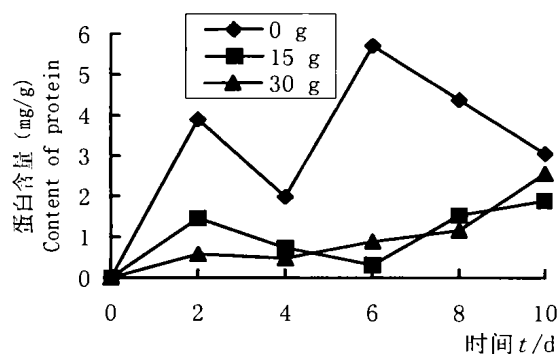


图 2 不同蔗糖浓度对细胞蛋白含量的影响(mg · FW/g)  
Fig. 2 The effect of different concentration of sucrose on the content of soluble protein of suspended cells

2.1.3 不同蔗糖浓度对叶绿素含量的影响 如表 1 所示, 悬浮培养后无蔗糖的培养基中, 叶绿素 a 的含

量相对于培养前有所增加,叶绿素 b 的含量却减少了,而总叶绿素含量基本不变。在蔗糖浓度为 15 g/L 和 30 g/L 的 MS 培养基中,无论叶绿素 a、叶绿素 b 或总叶绿素含量与培养前相比均降低,且蔗糖浓度为 15 g/L 时叶绿素含量最低。

同时亦可发现,无光照条件下叶绿素含量基本保持不变,但叶绿素 a 含量有所增加,叶绿素 b 含量基本保持不变。这说明在这种漫射光下,如果没有碳源和能源的存在,悬浮细胞就会被迫利用自身的光合作用器官合成自身所需的物质,叶绿素 b 基本不变,说明在现有的含量下基本能满足对短波长的

光的吸收,细胞内部叶绿素 a 的量相对增加,促进对长波光更好的吸收。

当培养基中蔗糖含量达到 15 g/L 时,从图 1 可以看到,细胞的生长仍然较为缓慢,细胞的生长悬浮细胞的生长与培养基中能量的供给基本达到平衡状态,细胞基本不用进行光合作用,叶绿素的存在已没有太大的意义,因而,大部分的叶绿素都被分解掉。当培养基中蔗糖含量达到 30 g/L 时,细胞在高浓度的蔗糖的刺激下,细胞生长旺盛,细胞干重增长数十倍,这时,细胞内部的光合作用系统的作用又开始增强,因而叶绿素含量又开始有所增加。

表 1 不同蔗糖浓度下培养前后细胞叶绿素含量比较

Table 1 The comparison of chlorophyll content in different concentration of sucrose(mg/g · FW)

蔗糖浓度 Sucrose content (g/L)	叶绿素 a 含量 Chlorophyll a content		叶绿素 b 含量 Chlorophyll b content		叶绿素总含量 Total content of chlorophyll	
	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture
	0	—	0.200	—	0.090	—
15	0.163	0.046	0.109	0.025	0.270	0.071
30	—	0.093	—	0.085	—	0.178

2.1.4 鲜/干重和总含磷量的变化 我们还对培养前后鲜/干重和总含磷量进行比较。得到结果如下,在无蔗糖和 15 g/L 蔗糖的培养基中,培养后鲜/干重比值均升高。在液体培养基中,蔗糖含量越低,溶液的渗透势越低,从而有可能导致细胞含水量增加,尤其是在无蔗糖的培养基中,其渗透势极低,细胞被迫吸收了培养基中大量的水分,以至于鲜/干重(11.10)大大高出培养前(3.33)。而蔗糖浓度为 15 g/L 的培养基中培养的细胞鲜/干重(5.02)相对于培养前也提高了很多。在全蔗糖的培养基中,细胞鲜/干重(3.29)与培养前相当。由此可见,随着蔗糖浓度的加大,鲜、干重比值趋于稳定,在所设的三个浓度梯度中,蔗糖浓度为 30 g/L 时对维持细胞的渗透压最为有利。

另外,在这三种培养基中培养后的总磷含量相对于培养前均大大降低,但在不同蔗糖浓度的培养基之间差距并不显著(表 2)。因而,蔗糖对细胞内核酸含量无直接影响。王东等(1997)在对粉叶小檗细胞悬浮培养时发现,随着细胞生长的进行总磷含量急剧下降,到第 7 d 时几乎在培养液中检测不到磷的存在。在细胞培养中高水平的磷含量通常对细胞生长有促进作用,而对次生产物的生产有抑制作用(Staffoed 等,1986)。造成这种抑制作用的原因可能是细胞内过高的能量水平会抑制次生代谢产物

合成途径中酶的活性。当外界磷水平下降时,便会导致细胞内磷的消耗,从而对细胞生长造成抑制。在其实验结果中可以看到,在细胞培养到 7~13 d 时细胞内的总磷含量降到最低,而后再逐渐升高,这与本文中对培养 10 d 后的细胞测得的结果相吻合,但与蔗糖含量无相关性。

表 2 不同蔗糖浓度下培养前后鲜/干重及总磷含量比较

Table 2 The comparison of flesh-to-dry-weight ratio and general phosphorus content between before culture and after culture in different concentration of sucrose (mg/g · FW)

蔗糖浓度 Sucrose concentration (g/L)	鲜重/干重 Flesh-to-dry- weight ratio		总磷含量(mg/g) General phosphorus content	
	培养前 Before culture	培养后 After culture	培养前 Before culture	培养后 After culture
	0	—	11.11	—
15	3.33	5.02	0.362	0.121
30	—	3.29	—	0.114

### 3 讨 论

碳源是细胞生长的能量来源和构成细胞骨架的重要成分(邢建民等,1998)。植物细胞培养一般采用蔗糖、果糖、葡萄糖为碳源,而蔗糖是生长效果最

好的(侯学文等,2000)。很多实验已证明高浓度的蔗糖能提高培养细胞中次生代谢产物的含量,其原因之一是提高了培养基的渗透压,因而刺激次生产物的形成(甘烦远等,1997)。培养液中的蔗糖是通过植物细胞壁上的转化酶在微酸的环境中迅速分解为等分子的葡萄糖和果糖,而后培养细胞优先利用葡萄糖,然后利用果糖。侯学文等(2000)在使用不同浓度蔗糖对玫瑰茄细胞进行悬浮培养时发现,加入的蔗糖量为 20 g/L 时不利于细胞的生长,当加入的量达到 30~40 g/L 时,基本能满足玫瑰茄细胞的生长,而当浓度达到 50 g/L 时,细胞生长出现明显的基质抑制效应,其原因可能是因为在这种高渗环境中细胞的活力受到抑制。甘烦远等(1997)在培养云南红豆杉时发现,当蔗糖浓度为 20~30 g/L 时培养的细胞生长良好,当低于此浓度时细胞生长速度急剧下降。这与本文中的结果相符。

苔藓植物为典型的阴生植物,它适应在荫蔽的环境中生存。以光饱和点来说,阳生植物的光饱和点是全光照的 100%,而阴生植物的则是全光照的 10%~50%。另外,阴生植物的基粒较大,基粒片层数较多,叶绿素含量较高,这使得阴生植物特别适于吸收漫射光中较短的波长。而叶绿素 a 在红光部分的吸收带偏向长光波方面,而叶绿素 b 在蓝紫光部分的吸收带较宽。阴生植物的叶绿素 a 和叶绿素 b 的比值小,即叶绿素 b 的含量相对较多,所以阴生植物便能强烈地利用蓝紫光,而适应于在遮蔽处生长(潘瑞炽等,1995)。Takami 等(1988)在对角苔(*Anthoceros punctatus*)培养时发现,在暗处培养的细胞叶绿素含量很高,并且光合作用活性很强。从表 3 中可以看到,在漫射光下细胞内叶绿素种类及含量的变化是与叶绿素的吸收波长紧密相关的,培养基中蔗糖的浓度会对其产生直接的影响。

细胞内的可溶性蛋白含量与细胞的生长状况密切相关,培养基中能量高,细胞生长快,细胞内各种物质合成速度相应加快,因而细胞内蛋白含量会持续的升高。但是,在培养期间究竟可溶性蛋白为何会出现先下降而后升高的现象却难以解释。王东等(1997)在对粉叶小檗细胞悬浮培养时发现,悬浮培养的前期,蛋白质含量显著增加,到第 7 d 达到最大值。他认为这是与延迟期细胞旺盛的代谢和指数生长期细胞的分裂有关,而此时细胞的生长尚未达到最大峰值,前期合成的可溶性蛋白可能转化为了结构性蛋白。

Katoh 在对地钱进行悬浮培养时发现,地钱悬浮培养物在不同的培养基上营养方式可以分为 2 类:一,光混合营养(photomixotrophic);二,光自养(photoautotrophic)。在两种不同的培养基 MSK-1 和 MSK-2 对地钱进行悬浮培养时发现,地钱悬浮培养细胞叶绿体发育较好,叶绿素含量高,其中在 MSK-1 上的培养的地钱悬浮培养物叶绿素的含量是原来细胞的两倍,但是这种情况的出现依赖于光的存在,在暗处则停止生长。MSK-2 上地钱细胞营养方式是光混合营养的,地钱细胞所需的能量主要来源于非循环光合磷酸化,其细胞所需能量主要是提供进一步生化反应的底物,而不是主要提供能量。另外,地钱细胞还可在仅含有 2,4-D 的培养基上生长,地钱细胞能单一地利用大气中的 CO<sub>2</sub> 作为碳源,行光自养生长。

从以上的讨论中可以得出,在牛角藓悬浮培养中蔗糖是一种不可缺少的成分,它对于细胞的分裂生长具有很强的促进作用。在所设的三个浓度梯度下,浓度为 30 g/L 时细胞生长旺盛,细胞的鲜/干比值比较稳定,细胞内可溶性蛋白含量持续保持增长,细胞处于一种很好的生长状态。核酸含量与培养基中蔗糖含量无明显相关性。

#### 参考文献:

- 上海市植物生理学会. 1999. 现代植物生理学实验指南 [M]. 北京: 科学出版社, 37-38.
- 华东师范大学生物系植物生理教研组. 1980. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 88-90.
- 张志良. 1990. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 高等教育出版社, 183-184.
- 敖志文, 高 谦. 1992. 黑龙江省大兴安岭藓类植物 [M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1-2.
- 潘瑞炽, 董愚得. 1995. 植物生理学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 74-79.
- Duan HG(段辉国). 2000. The effect spermidine on the content of protein and the protease in the leaves of wheats(亚精胺对小麦离体叶片中蛋白质含量与蛋白酶的影响) [J]. *Journal of Sichuan Normal College (Natural Science Version)* (四川师范学院学报(自然科学版)), 21(1): 17-19.
- Gan FY(甘烦远), Zheng GZ(郑光植), Peng LP(彭丽萍), et al. 1997. Suspension culture of the cells of Yunnan yew(云南红豆杉细胞的悬浮培养) [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*(植物生理学报), 23(1): 43

- 46.
- Hou XW(侯学文), Guo Y(郭 勇). 2000. The effect of the quantity of inoculation and the concentration of sugar on the growth speed of the cells of the rose eggplant (接种量及蔗糖浓度对悬浮培养玫瑰茄细胞生长的影响)[J]. *Journal of South China Agricultural University*(华南农业大学学报), **21**(4): 51—54.
- Matsui K, Kaji Y, Kajiwara T, *et al.* 1996. Developmental changes of lipoxygenase and fatty acid hydroperoxidase lyase activities in cultures cells of *Marchantia polymorpha*[J]. *Phytochemistry*, (41): 177—182.
- Matsuo A, Ono K, Hamasaki K, *et al.* 1996. Phaeophytins from a cell suspension culture of the liverwort *Plagiochila ovalifolia*[J]. *Phytochemistry*, (42): 427—430.
- Nabeta KT, Ohata T, Sato S, *et al.* 1996. (Spiro-lactone diterpenes from *in vitro* cultures of the liverwort, *Heteroscyphus planus*[J]. *Phytochemistry*, (41): 581—587.
- Stafford AM, Smith L. 1986. Effects of modification of the primary precursor level by selection and feeding on idolealkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. In Morris P, Scragi AH, Stafford AM, *et al.* (eds). *Secondary Metabolism in Plan Cell Culture*[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 250.
- Tazaki H, Soutome K, Nabeta H, *et al.* 1996. Pinguicoline derivatives from an axenic culture of the liverwort *Aneura pinguis*[J]. *Phytochemistry*, (42): 465—468.
- Takami T, Yasunaga M, Takio S, *et al.* 1988. Establishment of suspension cultures of cells from the hornwort *Anthoceros punctatus*[J]. *J Hattori Bot Lab*, **64**: 429—435.
- Wang D(王 东), Li QR(李启任), Wang JH(王建华). Suspension culture of the cells of *Berberis Pruinosa* Franch and correlative physiological and biochemical speciality(粉叶小檗细胞的悬浮培养及某些相关的生理生化特性)[J]. *Plant Physiology Communication*(植物生理学通讯), 1997, **33**(2): 91—94.
- Xing JM(邢建民), Zhao DX(赵德修), Li MY(李茂寅), *et al.* 1998. The culture of the suspended cells of *Acetabularia* snow lotus and the synthesis of the active component of flavone(水母雪莲悬浮培养细胞生长和黄酮类活性成分合成)[J]. *Acta Botanica Sinica*(植物学报), **40**(9): 836—841.
- Xu CX(徐产兴). 1986. Studies on the cultured *Marchantia polymorpha* and the DNA of its chloroplast(地钱培养物及其叶绿体 DNA 的研究)[J]. *Journal of Cell Biology*(细胞生物学杂志), **8**(3): 100—110.
- Zhou CJ(周春江), Li WD(李卫东), Ge HB(葛会波). 2002. The constitution of strawberry' suspended cells and the influence of some factors(草莓悬浮细胞系的建立及某些影响因素)[J]. *Plant Physiology Communication*(植物生理学通讯), **38**(1): 22—24.

(上接第 463 页 Continue from page 463)

用的 ZT、KT 和 N<sup>6</sup>-BA 等有些独特的活性(另文报告)。所以值得进一步深入研究。

#### 参考文献:

- 西北农学院, 山东农学院. 1980. 植物生理学实验指导 [M]. 济南: 山东科技出版社, 60—63.
- Xu HY(许鸿源). 1986. Isolation and primary identification of the substances capable of sustaining green coloration in root exudates of sugar-cane(甘蔗伤流液中保绿

活性物质的分离与初步鉴定)[J]. *Guihaia*(广西植物), **6**(3): 230—234.

- Xu HY(许鸿源), Zhou QW(周歧伟), Yang MC(杨美纯), *et al.* 1995. Effect of PGR-08 on wheat seeds germination and seedlings growth. (PGR-08 对小麦种子萌发与幼苗生长的影响)[J]. *Journal of Guangxi Agricultural University*(广西农业大学学报), **14**(3): 213—216.