

胡萝卜细胞培养产胡萝卜素的研究*

84-88

杨宁 郭勇

(华南理工大学食品与生物工程学院, 广州 510641)

S631.20's

S631.2-1

摘要 从鲜红胡萝卜主根部选取外植体, 用 MS 型培养基诱导出愈伤组织, 继代培养, 周期 22 d, 接着进行细胞的液体悬浮培养, 液体培养 20 d 时, 测定 β -胡萝卜素含量达 41.7 mg/L, 占细胞干重的 0.35%, 培养细胞中含胡萝卜素是胡萝卜根部的 3.38 倍, 色素比产率提高 15.4 倍。

关键词 细胞培养; β -胡萝卜素; 愈伤组织; 固体培养; 悬浮培养

胡萝卜

Studies on the formation of β -carotene in cell suspension cultures of *Daucus carota*

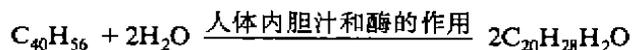
Yang Ning Guo Yong

(College of Food Engineering and Biotechnology, South China University of Technology, Guangzhou 510641)

Abstract The callus was derived from the explants, selected from the main root of *Daucus carota*, in MS medium. One growth period was about 22 days for proliferation, and then callus was subcultured into suspension culture. The optimum period of harvesting in cell suspension culture was 20 days. The result showed that the content of β -carotene can reach 41.7 mg/L and is 0.35% of dry cell weight. The pigment content of moist cell in suspension culture is 3.38 times of that of main root of *Daucus carota* and β -carotene yield increase 15.4 fold.

Key words Cell culture; β -carotene; callus; callus culture; suspension culture

胡萝卜素又称维生素 A 原 (Provitamin A), 理论上, 一个分子的 β -胡萝卜素可转化为两个分子的维生素 A。



而维生素 A 对人体有很好的保健作用和治疗作用, 可作为营养增补剂, 同时也是一种天然着色剂, 能产生自然醒目的黄-橙-红色。在一般食品的 pH 值范围内能稳定保存⁽¹⁾。

目前, 天然胡萝卜素产品 (主要是 β -胡萝卜素) 的制法有: 从植物, 如胡萝卜、盐生杜氏藻等含天然胡萝卜素高的植物中提取, 由于生产成本低, 目前市场上天然 β -胡萝卜素的价格较高。

国外在用胡萝卜细胞培养产生次级代谢物的研究有: 有霉菌菌丝体细胞作刺激剂, 可诱导壳多糖

1998-05-22 收稿

第一作者简介 杨宁, 男, 1964 年出生, 工学硕士, 工程师, 发酵工程专业, 现工作在广东省生产力促进中心。

* 国家自然科学基金资助项目

酶的产生^[2], 胡萝卜细胞悬浮培养产生花色苷、蔗糖酶等方面的研究^[3]。本文研究了从胡萝卜培养长期的主根部诱导出愈伤组织, 经液体悬浮培养到产生胡萝卜素的整个过程, 试图用植物细胞培养方法探索出高产胡萝卜素的一条新途径, 降低生产成本, 以适应当今国内外市场发展之需求。

1 材料与方 法

1.1 材 料

生长接近成熟的鲜胡萝卜, MS 型愈伤组织培养基, 液体悬浮培养基, 生长调节剂等。

1.2 愈伤组织诱导方法

无菌条件下, 从胡萝卜主根部选取 2 mm 厚 4 mm 见方的外植体, 接种于固体培养基表面。在 25 ℃、黑暗条件下培养。

1.3 悬浮培养方法

无菌条件下, 取培养 18 d 种龄的愈伤组织, 每瓶 1 g 接种于 25 mL 培养液中 (100 mL 三角瓶), 25 ℃、黑暗条件下, 100 rpm 振荡培养。

1.4 细胞生长曲线的测定^[4]

每批以 18 d 为细胞生长周期, 每隔 48 h 取出其中一瓶测细胞生长的干重, 湿重 (g/L), 对培育时间作图。

1.5 色素定量测定^[5,6]

样品测定时, 称取 1 g 湿细胞, 避光情况下, 65 ℃ 烘干 4 h, 除部分水份, 将细胞浸泡于 10 mL 三氯甲烷中, 用超声波破碎仪破碎细胞, 然后将其静置 8 h, 得收集滤液, 用 721 型分光光度计测定 A_{465} 值, 并与标准曲线比较, 用分光光度法可计算出胡萝卜素的浓度。

2 结果与讨论

2.1 外植体对愈伤组织形成的影响^[7]

分别从胡萝卜的茎切段, 根部的皮层、木质部及韧皮部选取外植体, 在 MS 固体培养基上做诱导愈伤组织的试验, 结果如下:

由表 1 知, 从韧皮部诱导出的愈伤组织有较好的生长效果, 可作为继代培养的细胞。

2.2 植物生长激素对愈伤组织生长的影响

本试验采用生长素 2,4-D 和分裂素 KT 配合使用, 作以下系列试验 (表 2), 并观察生长结果。

结果显示: 胡萝卜的愈伤组织增殖培养中调节剂用量: 2, 4-D 0.5 mg/L, KT 0.2 mg/L 为合适。

2.3 高产胡萝卜细胞的选育^[8]

试验用二次继代培养后的愈伤组织, 采用优化法连续继代培养 8 次, 优选含胡萝卜素量高的细胞

表 1 胡萝卜不同部位诱导出愈伤组织的情况
Table 1 Situation of callus induction from different parts of *Daucus carota*

	茎切断 Stem chips	皮层 Cortex	木质部 Xylem	韧皮部 Phloem
愈伤组织的生长情况 Situation of callus growth	诱导出愈伤组织, 表面浅绿或乳白, 量少, 疏松状。	诱导出少量愈伤组织, 表面乳白, 颗粒状。	诱导出较多的愈伤组织, 乳白色, 疏松状。	诱导出较多的愈伤组织, 淡黄色, 表面疏松, 呈突出状。
胡萝卜素的干重含量 (mg/g DW) Total carotene (mg/g DW)	0.27	0.10	0.35	0.96

表 2 增殖培养中调节剂的用量试验
Table 2 Usage test of growth regulators in solid proliferation culture

	KT (mg/L)					
	0.2	0.5	0.8	1.0	1.5	
2, 4-D (mg/L)	0.2	++	++	+	+	+
	0.5	+++	++	+	+	+
	0.8	++	+	+	+	+
	1.0	+	+	-	-	---
	1.5	+	+	-	-	---

表中说明: "+++" 为愈伤组织生长情况最好, 量多, 表面突出状, 淡黄色, 均匀; "++" 生长量尚可, 表面突出状, 黄色; "+" 部分增殖, 颗粒状, 不均匀; "-" 基本无增长, 干枯; "--" 培养一段时间后, 愈伤组织不生长, 变黄褐色。
Note: "+++" the best situation of callus growth, a large number, projecting, light yellow; "++" fairly good situation of growth, projecting, light yellow; "+" part growth, granular, uneven; "-" only a little growth, dry, "----" no growth, yellow brown.