

# 不同红花品种的组织培养及油脂含量的比较

魏 健<sup>1</sup>, 王文慧<sup>2</sup>, 王 沥浩<sup>2</sup>, 王 旺<sup>1</sup>, 盖玉红<sup>3</sup>, 杨 晶<sup>2</sup>

(1. 长春师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学, 生物反应器与药物开发教育部工程研究中心, 吉林 长春 130118; 3. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

**摘 要:**以 5 个不同品种的红花为试材, 研究比较了其种子萌发率, 组织培养过程中的污染率、分化率和生根率, 以及籽粒含油率和可溶性蛋白质含量等。结果表明:“吉红早熟”的种子萌发率高, 分化率相对较高, 尤其生根率较其它几个品种均较高, 所以此品种适合作为红花组织培养的基因型, 另外, “吉红早熟”品种的种子含油量较高, 适合开发成为红花油类产品。

**关键词:**红花; 组织培养; 油脂含量

**中图分类号:**S 503.53 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)19-0106-04

红花(*Carthamus tinctorius* L.) 属菊科(Compositae) 红花属(*Carthamus* L.) 1~2 a 生草本植物, 又名草红花、黄兰花、菊红花。红花是红花属中唯一的栽培种, 它原产大西洋东部、非洲西北的加那利群岛及地中海沿岸<sup>[1]</sup>。根据著名植物学家虎克(Hooker)与杰克逊(Jackson)的论著, 红花属全世界共 60 种, 后经分类学家进一步研究和归类, 现在一般认为约有 20~25 种<sup>[2]</sup>。Knowles 于 20 世纪 70 年代对美国、印度等 49 个国家进行了考察, 收集红花资源达 1 500 余份, 并按染色体数目分成 4 组<sup>[3]</sup>。随后, 印度和墨西哥等主要红花生产国也进行了资源的收集。在全世界范围内, 红花主要栽培于亚洲的印度、北美的墨西哥和美国、北非的埃塞俄比亚、欧洲的西班牙和大洋洲的澳大利亚。在我国迄今已有 2 100 多年的栽培历史, 主要分布于新疆、四川、云南、河南、浙江、江苏、安徽等省。

红花的细胞和组织培养多集中在次生代谢产物的生产, 如红色素<sup>[4]</sup>及  $\alpha$ -生育酚<sup>[5-11]</sup>; 对于红花的组织培养脱分化及再分化的器官发生途径方面, 靳占忠等<sup>[12]</sup>对酯酶同工酶与红花愈伤组织的形成及再分化的关系进行了研究, 并将其作为生化指标; 侯占铭等<sup>[13]</sup>对红花组织培养中细胞分化的超微结构进行了研究; George 等<sup>[14]</sup>对印度产红花 cv. NP-9 black 和 Th-10 black 的器官发生进行了研究, 表明可形成丛生芽, 但较弱小, 大多数不能长成正常植株。

现代研究表明, 红花集药用、食用、染料、油料和饲料于一身。红花油是世界公认的具有食用、保健、美容功用的功能性食用油, 在国际上被作为“绿色食品”, 其亚油酸含量是所有已知植物中最高的, 达 80%, 号称“亚油酸之王”。并且在医药工业上, 红花油常常用作血液胆固醇调整、动脉粥样硬化治疗剂及预防剂的原料。红花籽油的不饱和脂肪酸含量高达 80%, 其中亚油酸又占不饱和脂肪酸的 80% 左右, 并含有丰富的维生素 E 和其它营养成分, 红花籽的含油量一般为 27%~45%, 有的高达 50% 以上。研究发现, 非洲、中东和印度的红花含油量较高, 平均在 30% 以上, 而欧洲、东亚和美国的红花含油量较低, 多数在 25% 以下<sup>[15]</sup>。该试验以 5 个不同品种的红花为试材, 研究比较了其种子萌发率, 组织培养过程中的污染率、分化率和生根率, 以及含油率和可溶性蛋白质含量等, 以期为大规模生产红花提供技术支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试红花品种为:“吉红早熟”、“吉红 1 号”、“云南红花”、“吉红油姊妹”、“新疆塔城”, 种子均由新疆塔城种子公司提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 红花种子萌发 红花种子经 70% 酒精清洗 30 s 后用 0.1% 升汞表面灭菌 10 min, 无菌水洗 4~5 次后接种到种子萌发培养基 1/2MS+1.5% 蔗糖+0.8% Agar 中, 计算种子萌发率和污染率。

1.2.2 红花的组织培养 取 5 个不同品种的 7 日龄红花无菌苗子叶作为外植体, 接种至含分化培养基中(MS+1.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA); 培养一段时间后, 观察不定芽的形成情况及分化情况。待不定芽形成以后, 将其移至生根培养基中(MS+1.0 mg/L IAA+

**第一作者简介:**魏健(1980-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为药用植物组织培养。E-mail:148050459@qq.com.

**责任作者:**杨晶(1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向为植物生物反应器与代谢工程。E-mail:xiziyang512@163.com.

**基金项目:**吉林省教育厅资助项目(吉教科合字[2012]第 59 号; 吉教科合字[2011]第 191 号)。

**收稿日期:**2013-05-14

0.5 mg/L NAA),每 20 d 继代 1 次,观察生根情况,计算生根率。

1.2.3 油脂含量测定 样品的准备:将采回的新鲜的各个时期的红花籽粒放于 105℃烘箱中杀青 1 h,以后维持在 70~80℃烘干至恒重。样品提取:向提取杯中加入 30~60 mL 的溶剂,将提取杯装入仪器,在煮沸的溶剂中浸提 15 min,回流淋洗 30 min,溶剂回收。称重:称量包含提取物的提取杯,在相同条件下对提取后的样品重复提取 3 次。结果计算:脂肪百分含量(%)=提取物的重量/样品重量×100%。

1.2.4 可溶性蛋白质含量测定 取 6 个带盖的 1.5 mL 离心管,编好号后,按表 1 顺序加入试剂。每管加入碱性铜试剂工作液后需立即混匀,20~25℃放置 10 min 后加入 Folin-酚试剂,混匀后,20~25℃放置 30 min 后在 750 nm 下比色测定(1 mL 比色杯,1 cm 光径测定),绘制标准曲线。

表 1 可溶性蛋白质含量测定试剂添加

管号	0	1	2	3	4	5
0.25 mg/L 蛋白质标准工作液/ $\mu\text{L}$	0	40	80	120	160	200
蒸馏水/ $\mu\text{L}$	200	160	120	80	40	0
碱性铜试剂工作液/ $\mu\text{L}$	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000	1 000
1N Folin-酚试剂/ $\mu\text{L}$	100	100	100	100	100	100
可溶性蛋白质含量/ $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25

2 结果与分析

2.1 不同品种红花种子萌发情况比较

由表 2 可知,“吉红早熟”在升汞处理 15 min 时,萌发率达到 98%,污染率为 2%;“新疆塔城”红花种子升汞消毒 10 min 即可,发芽率达到 100%,污染率仅为 1%;其它品种的红花种子萌发率均没有“吉红早熟”和“新疆塔城”红花的萌发率高。

表 2 不同红花品种红花种子萌发情况比较

品种	升汞处理 时间/min	种子数量 /粒	发芽数量 /粒	萌发率 /%	污染率 /%
“吉红早熟”	10	100	95	95	5
	15	100	98	98	2
“吉红 1 号”	10	100	85	85	12
	15	100	78	78	10
“云南红花”	10	100	93	93	5
	15	100	85	85	0
“吉红油姊妹”	10	100	87	87	12
	15	100	85	85	8
“新疆塔城”	10	100	100	100	1
	15	100	95	95	2

2.2 不同品种红花分化情况比较

由图 1 可以看出,5 个品种红花的分化率以“吉红早熟”的最高,分化率为 65%，“新疆塔城”的分化率为 60%，“吉红 1 号”的分化率 55%;而“云南红花”的分化率较低,仅为 25%。

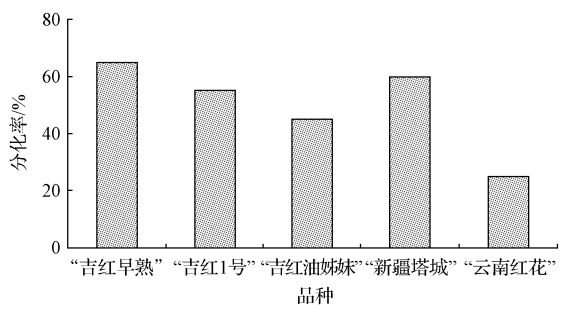


图 1 不同品种红花的分化率比较

由图 2 可以看出,“新疆塔城”红花的分化苗与“吉红早熟”红花的分化苗长势很好,“吉红 1 号”与“吉红油姊妹”红花苗生长 15 d 以后,叶片变黄,随后慢慢枯萎;“云南红花”分化的苗多数不长主茎,无法伸长。

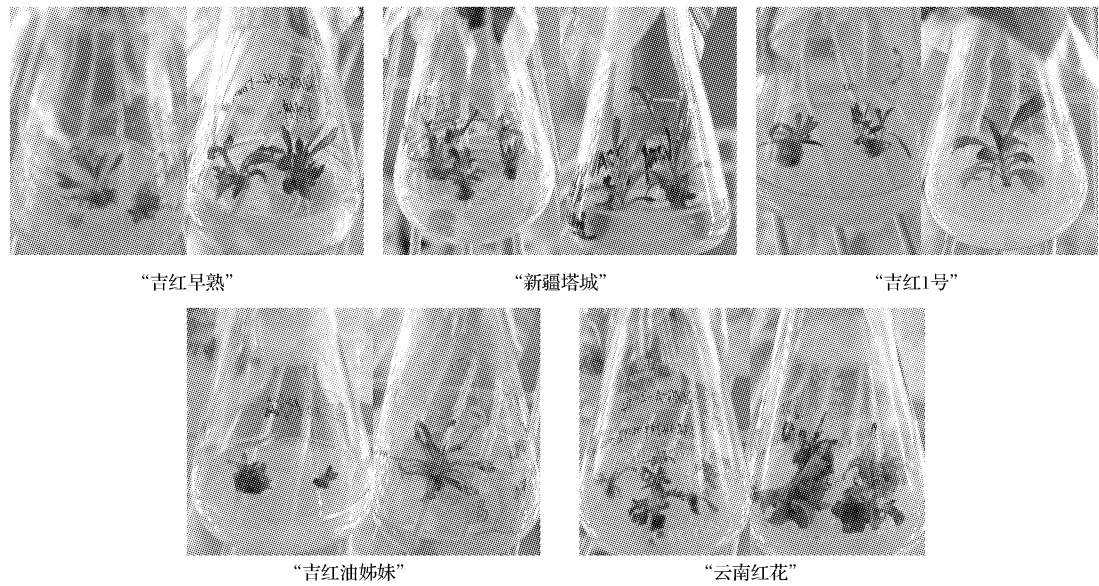


图 2 不同品种红花分化苗的长势



2.3 不同红花品种的生根情况比较

由表 3 可以看出,“吉红早熟”红花分化的 30 棵苗中有 9 棵生根,生根率达到 30%，“吉红 1 号”红花生根率为 10%，“新疆塔城”和“吉红油姊妹”均仅为 6%，“云南红花”生根率最低,为 3%;红花分化苗在培养过程中,转入生根培养基初期,在根源基部位长出 4~5 个弱小根系,7 d 以后,根逐渐变长,在主根两侧长出许多侧根,经过 25 d 的培养后红花的根系长而密集,易于移栽成活(图 3)。



图 3 “吉红早熟”红花生根情况

2.4 不同品种红花油脂含量比较

由表 4 可知,“新疆塔城”红花的平均油脂含量 23.96%，“吉红早熟”红花的油脂含量较高为 29.80%，“云南红花”的油脂含量最低仅为 12.90%。提取了 5 个

表 3 不同红花品种的生根情况比较

品种	接种芽数	生根数量	生根率/%
“吉红早熟”	30	9	30
“吉红 1 号”	30	3	10
“吉红油姊妹”	30	2	6
“新疆塔城”	30	2	6
“云南红花”	30	1	3

品种红花种子的油脂后对其进行镜检观,由图 4 可知,“吉红早熟”、“吉红 1 号”、“新疆塔城”、“吉红油姊妹”红花的油体大小相近,只有“云南红花”种子中油体很小,这与油脂含量高低明显相关。

表 4

不同红花品种油脂含量比较

品种	“新疆塔城”			“吉红早熟”			“云南红花”			“吉红 1 号”			“吉红油姊妹”		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3
样品重量/g	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
油脂重量/g	0.67	0.72	0.77	1.11	0.80	0.77	0.30	0.41	0.45	0.68	0.61	0.72	0.78	0.75	0.75
油脂含量/%	22.3	24.0	25.6	37.0	26.7	25.7	10.0	13.7	15.0	22.7	20.3	24.0	26.0	25.0	25.0
平均含量/%	23.96			29.80			12.90			22.30			25.30		

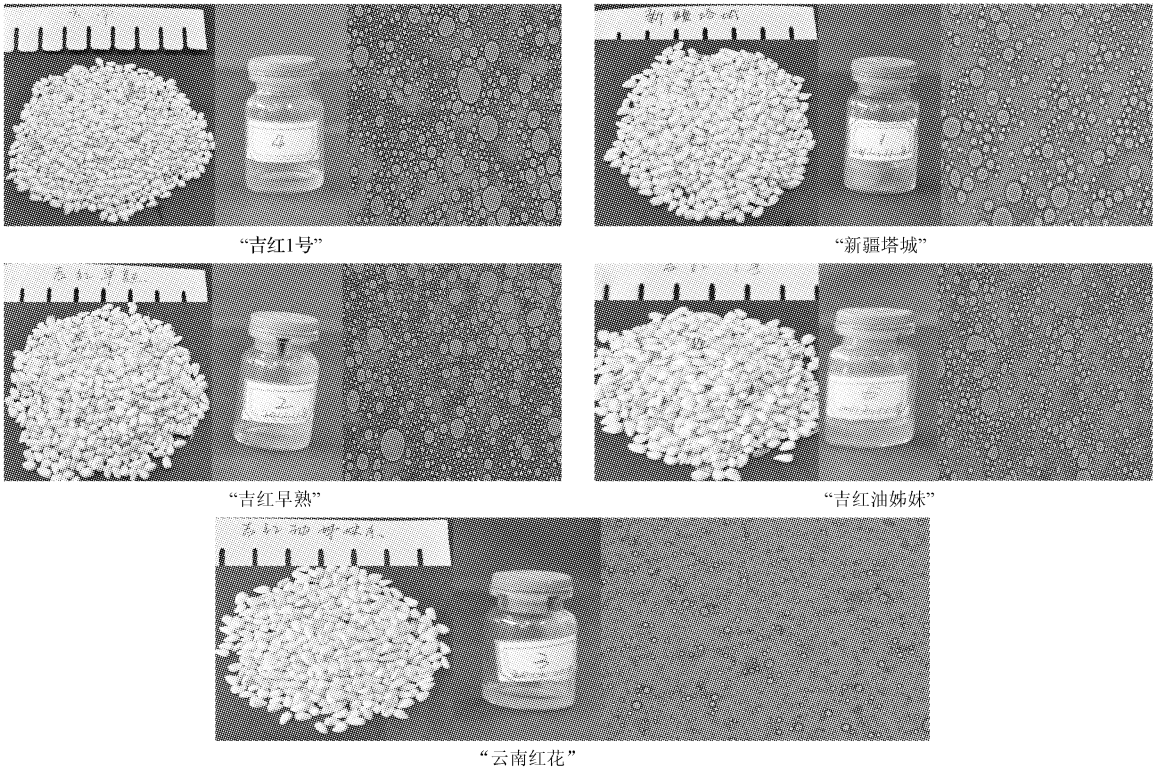


图 4 5 个品种红花的油体大小镜检观察

### 2.5 不同品种红花可溶性蛋白质含量比较

籽粒中蛋白质的含量是衡量种子品质的重要指标,积累量受自身合成代谢活性的调控和品种物质调运能力的影响。由图 5 可知,“吉红油姊妹”的可溶性蛋白质含量最高,为 0.896 mg/mL,“云南红花”中可溶性蛋白质含量相对略低,为 0.664 mg/mL,“吉红早熟”、“吉红 1 号”与“新疆塔城”红花种子中的可溶性蛋白质含量相近。

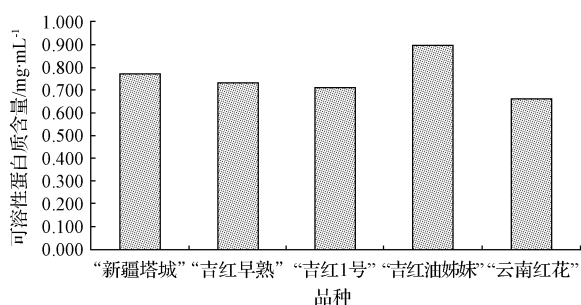


图 5 5 个品种红花可溶性蛋白质含量比较

### 3 结论

该试验结果表明,“吉红早熟”的种子萌发率高,分化率相对较高,尤其生根率较其它几个品种均较高,所以此品种适合作为红花组织培养的基因型,有利于红花的无性扩繁,为大规模生产红花提供技术支撑。另外,“吉红早熟”品种的种子含油量较高,适合开发成红花油类产品。

(该文作者还有金潇、方锐、李宏博、王刚,单位同第一作者。)

### 参考文献

- [1] Li D, Mundel H H. Safflower, *Carthamus tinctorius* L. promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops[J]. Gatersleben/IPCRI, Rome, 1996, 5(3): 119-132.
- [2] 杨晶, 李海燕, 付红歧, 等. 红花遗传转化受体系统的建立及转酸性成纤维细胞生长因子 aFGF 的初步研究[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4): 411-414.
- [3] 王兆木. 红花[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 148-180.
- [4] 花方信孝, 培养红花细胞产生红花色素[J]. 廖系哈, 译. 四川中草药研究, 1992, 3(6): 33-34.
- [5] 甘烦远, 郑光植. 植醇与寡糖对红花悬浮培养细胞的生长及  $\alpha$ -生育酚积累的效应[J]. 植物生理学报, 1990, 16(4): 361-366.
- [6] 王镨, 邵鸥, 岑沛霖. 红花细胞培养条件的优化及其胞内产物生育酚的积累[J]. 生物工程学报, 1999, 15(4): 444-449.
- [7] 周平, 郑光植. 红花细胞克隆的平板培养[J]. 植物学报, 1989, 31(7): 505-511.
- [8] 周平, 郑光植. 红花单细胞克隆的建立[J]. 植物学报, 1989, 31(9): 661-667.
- [9] 甘烦远, 郑光植. 红花愈伤组织诱导、生长及其  $\alpha$ -生育酚的产生[J]. 云南植物研究, 1991, 13(2): 189-195.
- [10] 甘烦远, 郑光植. 各种因素对红花培养物中细胞生长及  $\alpha$ -生育酚含量的影响[J]. 植物学报, 1991, 33(7): 516-522.
- [11] 甘烦远, 郑光植. 红花细胞培养中高产  $\alpha$ -生育酚克隆的筛选[J]. 云南植物研究, 1992, 14(3): 289-294.
- [12] 靳占忠, 侯占铭, 韩碧文. 红花的愈伤组织诱导及其与过氧化物酶和酯酶同工酶的关系[J]. 植物生理学通讯, 1989(8): 15-18.
- [13] 侯占铭, 韩碧文. 红花组织培养中细胞分化的超微结构研究[J]. 植物学报, 1994, 36(增刊): 61-66.
- [14] George L, Rao P S. *In vitro* multiplication of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) through tissue culture[J]. Biol Sci, 1982, 48(6): 791-794.
- [15] 刘仁建. 红花种子醇溶蛋白及其含油率和脂肪酸分析[D]. 雅安: 四川农业大学, 2006.

## Comparison of Tissue Culture and Oil Content on Different Varieties of Safflower

WEI Jian<sup>1</sup>, WANG Wen-hui<sup>2</sup>, WANG Li-hao<sup>2</sup>, WANG Wang<sup>1</sup>, GAI Yu-hong<sup>2</sup>, YANG Jing<sup>2</sup>,  
JIN Xiao<sup>1</sup>, FANG Rui<sup>1</sup>, LI Hong-bo<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>1</sup>

(1. Department of Life Sciences, Changchun Normal University, Changchun, Jilin 130118; 2. Ministry of Education Engineering Research Center of Bioreactor and Pharmaceutical Development, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118; 3. College of Agriculture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

**Abstract:** Taking 5 different varieties of safflower as materials, the seeds germination rate, the contamination rate, differentiation rate and rooting rate in the process of tissue culture and oil content and protein content in seed were studied and compared. The results showed that ‘Jihongzaoshu’ safflower had high seed germination rate and differentiation rate, especially the rooting rate compared with several other varieties was higher, so this breed was suitable as tissue culture genotype. ‘Jihongzaoshu’ safflower seed had high oil content, so it was suitable for the development of a number of safflower oil products.

**Key words:** safflower; tissue culture; fat content