

不同培养条件对勺叶茅膏菜试管苗砒松素含量的影响

赖恭梯, 林玉玲, 赖钟雄*

(福建农林大学园艺植物生物工程研究所, 福州 350002)

摘要: 为探讨培养条件对勺叶茅膏菜(*Drosera spatulata*)试管苗砒松素积累的影响,采用高效液相色谱(HPLC)法测定砒松素含量,对不同器官和不同培养条件下的勺叶茅膏菜试管苗砒松素含量变化进行研究。结果表明,勺叶茅膏菜试管苗根的砒松素含量显著高于叶片;光质和有机物含量对勺叶茅膏菜试管苗砒松素含量的影响不显著,但对试管苗的生长具有显著影响,最佳培养光质为白光,其次为红光和蓝光,最后为绿光;适当降低培养基中有机物含量可促进勺叶茅膏菜试管苗的生长发育;植物生长调节剂对砒松素积累的影响效应依次为 6-BA > NAA > KT > GA₃,而对试管苗生长的影响效应依次为 6-BA > GA₃ > NAA > KT。因此,勺叶茅膏菜试管苗的最佳培养条件为:以 1/2MS 为基本培养基,添加 0 ~ 0.2 mg L⁻¹ 6-BA、0.2 mg L⁻¹ NAA、0.5 mg L⁻¹ KT 和 0.1 mg L⁻¹ GA₃,于白光下培养。

关键词: 勺叶茅膏菜; 砒松素; HPLC; 光质; 有机物; 植物生长调节剂

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.03.006

Effect of *in vitro* Culture Conditions on Content of Plumbagin in Sundew (*Drosera spatulata*) Plantlets

LAI Gong-ti, LIN Yu-ling, LAI Zhong-xiong*

(Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China)

Abstract: In order to understand the effect of different culture conditions on content of plumbagin in sundew (*Drosera spatulata*) plantlets, the changes in plumbagin content were studied by using high performance liquid chromatography (HPLC). The results showed that the content of plumbagin in roots was higher than that in leaves. Light quality and organic element content in medium had no significant differences in plumbagin accumulation in sundew plantlets, but had significant effects on its growth. White light was the best for culture of sundew plantlets, followed by red light, blue light, and green light. Appropriate to reduce the organic matter content in medium could promote the growth and development of sundew plantlets. The effects of different plant growth regulator on plumbagin accumulation were in the order of 6-BA > NAA > KT > GA₃, and those on growth were in descending order: 6-BA > GA₃ > NAA > KT. Therefore, the optimum culture condition for sundew plantlets was 1/2MS as basic medium under white light, supplemented with 0 – 0.2 mg L⁻¹ 6-BA, 0.2 mg L⁻¹ NAA, 0.5 mg L⁻¹ KT and 0.1 mg L⁻¹ GA₃.

Key words: *Drosera spatulata*; Plumbagin; HPLC; Light; Organic matter; Plant growth regulator

勺叶茅膏菜(*Drosera spatulata*)是茅膏菜科(Droseraceae)茅膏菜属小型草本植物,别名“地上明珠”,可用于治疗皮肤瘙痒、跌打损伤等症状,亦有

抗炎、散疮、消肿的功效,药用价值较高^[1]。勺叶茅膏菜含有砒松素、槲皮素、茅膏醌等化学成分^[1-3],其中砒松素是勺叶茅膏菜主要的活性成分,具有抗

收稿日期: 2013-06-21

接受日期: 2013-08-28

基金项目: 福建省农业科技平台项目(2008N2001); 国家级大学生创新性实验项目(091038904)资助

作者简介: 赖恭梯, 硕士研究生, 研究方向为生物技术。E-mail: 442441455@qq.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Laizx01@163.com

菌^[4-5]、抗疟疾^[6]、抗癌^[7]、抗生育^[8]等药理功能。因此,将勺叶茅膏菜开发成为高效生产砒松素的植物资源,拥有广阔的商业前景。

发芽率低,实生苗生长困难,长限制了勺叶茅膏菜作为药用植物的开发和利用。目前,利用勺叶茅膏菜试管苗不定芽直接发生的增殖方式^[9]已能进行勺叶茅膏菜的离体快速繁殖,满足茅膏菜相关研究的试材供给,并有望实现工厂化培育。勺叶茅膏菜中砒松素含量受多种因素影响,除自身组织器官具有不同的合成积累能力,还受生存环境的影响,并且可被一些物质诱导产生。Crouch^[2]的研究表明不同种茅膏菜间的砒松素含量存在较大差异。Hook^[10]采用不同培养基对茅膏菜进行培养,结果表明不同培养基组成显著影响砒松素的含量,Putalun 等^[3]对 *Drosera burmanii* 中砒松素进行诱导处理,结果表明砒松素含量不仅受不同诱导剂作用,还受诱导时间影响。鉴于砒松素积累水平在茅膏菜属植物中可通过多种方式进行调控实现,本研究从勺叶茅膏菜试管苗不同组织器官和不同培养条件等方面,探讨砒松素含量在勺叶茅膏菜试管苗中的变化,并结合勺叶茅膏菜试管苗生长状态,筛选出适于砒松素积累的勺叶茅膏菜试管苗培养方案,为勺叶茅膏菜作为药用植物的开发利用提供科学参考。

1 材料和方法

1.1 植物材料、主要试剂和仪器

勺叶茅膏菜(*Drosera spatulata*)试管苗由福建农林大学园艺植物生物工程研究所提供。标准砒松素样品由中国药品生物制品检定所提供。HATACHIL-2000 日立高效液相色谱仪配 L-2420 日立 UV-VIS 检测器和 HATACHID-2000ELITE 工作站。

1.2 勺叶茅膏菜试管苗的培养

勺叶茅膏菜试管苗的生根培养 以实验室保存的勺叶茅膏菜试管苗为材料,接种于 1/2MS + 1.0 mg L⁻¹ NAA 生根培养基中,共接种 60 瓶,每瓶接种 3~4 丛勺叶茅膏菜试管苗,生根培养约 60 d 后获得完整植株。将获得的植株按茎叶、根分开,用于测定不同器官和全草中的砒松素含量。

光质处理 将勺叶茅膏菜试管苗接种于

1/2MS + NAA 1.0 mg L⁻¹ 培养基上,分别置于白光、红光、蓝光和绿光下培养,每个处理接种 20 瓶,每瓶接种 3~4 丛勺叶茅膏菜试管苗。

有机元素含量 以 1/2MS 基本培养基所含有机元素含量为基本单位(1×),设置 0.5×、1×、1.5×、2× 和 2.5× 共 5 个梯度的有机元素含量水平。将勺叶茅膏菜试管苗接种于不同有机元素含量的培养基中,每个处理接种 20 瓶,每瓶接种 3~4 丛勺叶茅膏菜试管苗。

植物生长调节剂组合 以 1/2MS 为基本培养基,不同植物生长调节剂组合采用正交设计的方法[L₉(3⁴)],正交设计为 4 因素 3 水平处理,植物生长调节剂组合及浓度见表 1。将勺叶茅膏菜试管苗接种于 9 个处理的培养基中,每个处理接种 20 瓶,每瓶接种 3~4 丛勺叶茅膏菜试管苗。

表 1 植物生长调节剂组合处理 [L₉(3⁴)]

Table 1 Plant growth regulation combination

处理 Treatment	6-BA (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	KT (mg L ⁻¹)	GA3 (mg L ⁻¹)
I	0	0	0	0
II	0	0.2	0.1	0.1
III	0	0.5	0.5	0.5
IV	0.2	0	0.1	0.5
V	0.2	0.2	0.5	0
VI	0.2	0.5	0	0.1
VII	0.5	0	0.5	0.1
VIII	0.5	0.2	0	0.5
IX	0.5	0.5	0.1	0

以上培养基均附加 2.0% 蔗糖和 0.6% 琼脂, pH 为 5.8, 培养温度为(25 ± 2) °C, 无特殊说明下勺叶茅膏菜试管苗为白光培养, 光强为 20 ~ 27 μmol m⁻²s⁻¹, 光照时间为 12 h d⁻¹。接种前分别称量每瓶勺叶茅膏菜试管苗的质量, 生长培养 2 个月后再称量每瓶勺叶茅膏菜质量, 培养过程中观察勺叶茅膏菜生长状况。勺叶茅膏菜试管苗生物量增长系数 = 平均每瓶收获干重 / 平均每瓶接种干重; 茅膏菜砒松素含量(mg g⁻¹) = C₀ × V/m, 其中 C₀ 为 HPLC 测得的砒松素供试液浓度(mg mL⁻¹), V 为供试液总体积(10 mL), m 为勺叶茅膏菜样品质量(0.2 g)。

1.3 砒松素含量的测定

对培养约 2 个月的勺叶茅膏菜试管苗进行采收,在 75℃ 下烘干至恒重。各处理的勺叶茅膏菜样品分别称取 0.2 g,参照赖瑞联等^[11]水浴浸提的方法提取勺叶茅膏菜试管苗中砒松素。每个处理 3 次重复。

精密称取 10 mg 砒松素,以甲醇溶解并定容至 10 mL 得砒松素标准贮备液(1.0 mg mL⁻¹),吸取贮备液 1 mL 于 10 mL 容量瓶中,甲醇定容,即得 0.1 mg mL⁻¹ 的砒松素标准对照液。

采用高效液相色谱(HPLC)法测定勺叶茅膏菜试管苗中砒松素的含量,色谱条件参照刘圆等^[12]。

1.4 数据处理和统计

数据处理采用 Excel 软件和 SPSS-PASW 18.0 软件进行单因素和单变量方差分析、方差同质性检验,并采用 LSD 检验进行差异显著性比较。

2 结果和分析

2.1 勺叶茅膏菜试管苗不同器官中的砒松素含量

勺叶茅膏菜试管苗在 1/2MS + NAA 1.0 mg L⁻¹ 上进行生根培养,获得完整的勺叶茅膏菜试管植株。勺叶茅膏菜试管植株挺拔,叶色浓绿,根系发达。基于勺叶茅膏菜植株的生理构造,本研究按全草、根和叶 3 部分对勺叶茅膏菜试管苗的砒松素含量进行分析。勺叶茅膏菜试管苗全草、根和茎叶中的砒松素含量分别为 0.85 mg g⁻¹、0.92 mg g⁻¹ 和 0.83 mg g⁻¹,可见根中的砒松素含量最高,其次是全草,最后是茎叶,且三者之间均达显著差异($P < 0.05$)。这说明勺叶茅膏菜试管苗根和茎叶中砒松素含量的差异较大,根积累砒松素的能力大于茎叶。

2.2 光质对试管苗砒松素含量积累的影响

将勺叶茅膏菜试管苗分别置于白光、红光、蓝光和绿光下培养,勺叶茅膏菜试管苗全草的砒松素含量依次降低(图 1),但是差异不显著,均约为 0.90 mg g⁻¹,因此,光质可能不是调控勺叶茅膏菜砒松素合成和积累的关键因素。不同光质培养下勺叶茅膏菜试管苗的生长状态却相差较大(图 2),白光下试管苗植株挺拔,腺毛鲜红且叶色浓绿;而红光处理下试管苗形态显得皱缩矮小;蓝光和绿光下试管苗鲜绿细长,尤其是绿光培养下,勺叶茅膏菜

试管苗腺毛较短,出现轻微徒长现象。生物量统计结果表明,不同光质培养下,勺叶茅膏菜试管苗的增长系数与生长状态基本保持一致,增长系数最高(8.733, $P < 0.01$)的为白光处理,与其他处理比较达极显著差异,红光(7.742)和蓝光(7.716)次之,绿光最低(6.526)。可见白光能显著促进勺叶茅膏菜试管苗的生长和发育,为最优光质处理。

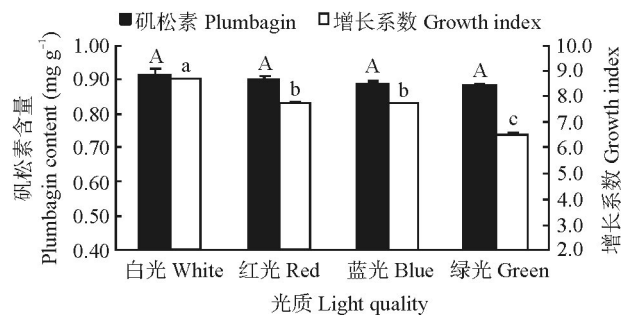


图 1 光质对勺叶茅膏菜试管苗砒松素含量和增长系数的影响。柱上不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下图同。

Fig. 1 Effect of light quality on plumbagin content and growth index of sundew plantlets. Different letters above column indicate significant difference at 0.05 level. The same as following Figures.

2.3 有机元素含量对试管苗砒松素含量的影响

本研究结果表明,勺叶茅膏菜试管苗茎叶中砒松素含量随着培养基中有机元素含量的升高呈先降后升的变化趋势(图 3),当培养基中的有机元素含量仅为基本培养基的一半时,勺叶茅膏菜试管苗茎叶中砒松素含量最高,为 0.83 mg g⁻¹,但分析表明,5 个处理间总体差异并不显著,其中有机元素含量为 0.5 倍时砒松素含量显著高于 2.0 倍处理($P < 0.05$)。可见,有机元素含量在调控勺叶茅膏菜试管苗中砒松素合成和积累过程中起一定作用。由勺叶茅膏菜的生长状态(图 3)可见,5 个处理的勺叶茅膏菜试管苗长势,总体上差异并不明显,但是随着有机元素含量的增加,勺叶茅膏菜试管苗叶色由暗绿色逐渐过渡为黄绿色,叶片由宽渐窄,由厚变偏薄。从增长系数(图 3)可知,当有机元素含量仅为 MS 的 0.5 时,勺叶茅膏菜试管苗增长系数为 8.80,显著高于其他 4 个较高有机元素含量的处理($P < 0.01$)。可见适当降低培养基中的有机元素含量,可提高勺叶茅膏菜试管苗生物量的积累,这与低矿质元素和低有机营养含量可促进勺叶茅膏菜生长发育的研究结论^[13,17]一致,因此可适当降低培

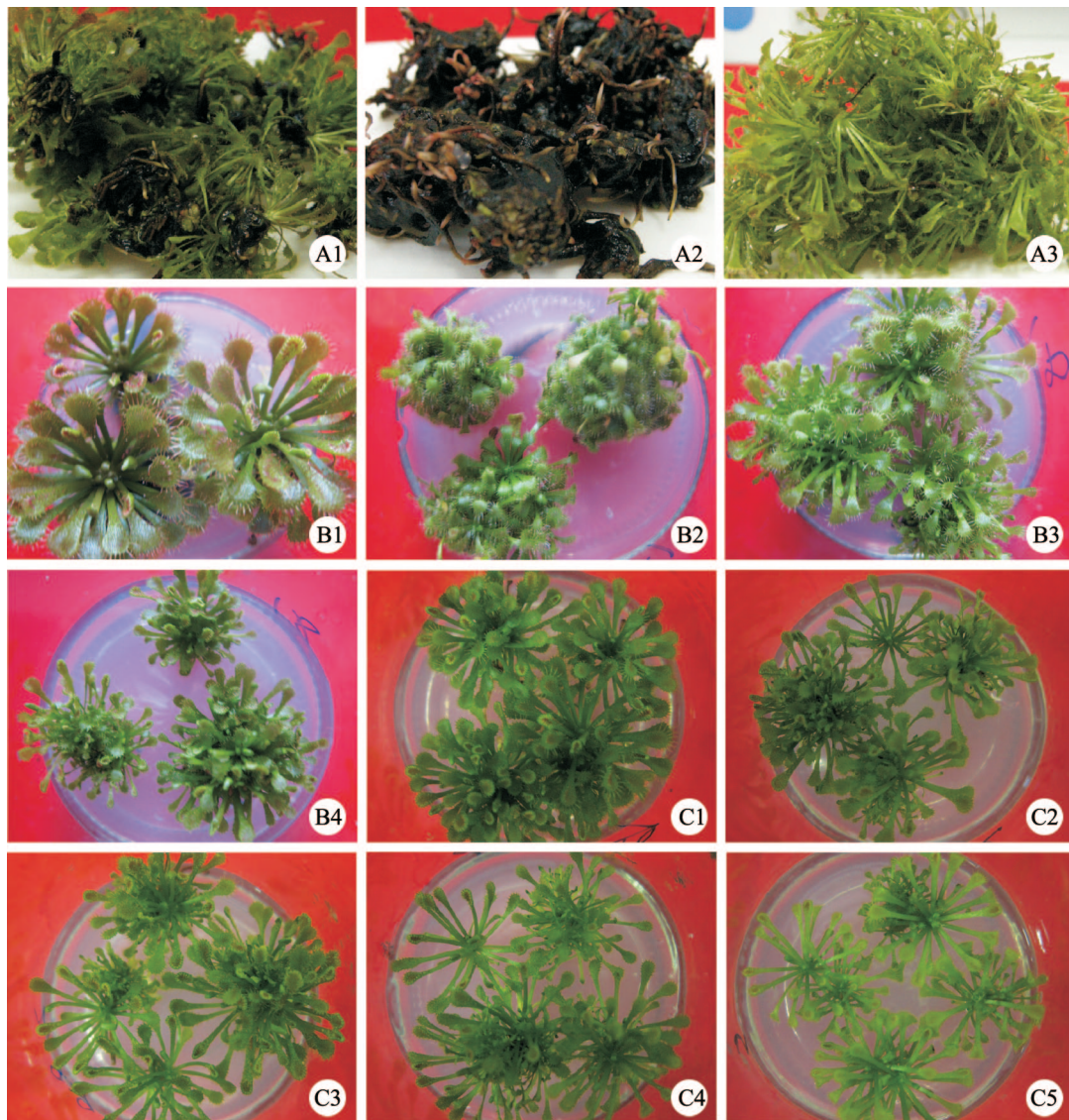


图2 培养条件对勺叶茅膏菜试管苗生长的影响。A1: 全草; A2: 根; A3: 叶; B1: 白光; B2: 红光; B3: 蓝光; B4: 绿光; C1~C5 表示 MS 培养基中有机元素含量分别为 0.5、1.0、1.5、2.0 和 2.5 倍。

Fig. 2 Effects of culture conditions on the growth of sundew plantlets. A1: Whole plantlets; A2: Roots; A3: Leaves; B1: White light; B2: Red light; B3: Blue light; B4: Green light; C1 – C5: MS medium with 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 and 2.5 times of organic element, respectively.

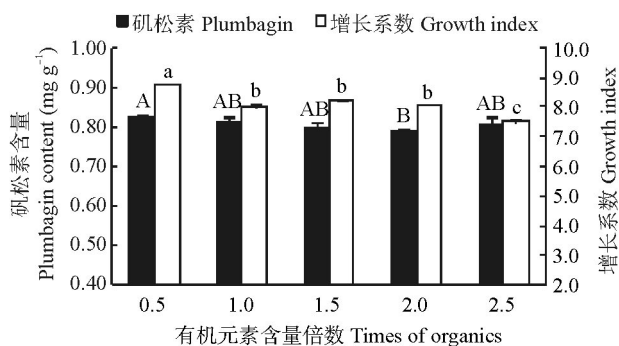


图3 培养基中有机元素含量对砷松素含量和增长系数的影响
Fig. 3 Effect of organics concentration on plumbagin content and growth index

培养基中的有机元素含量,提高勺叶茅膏菜试管苗的砷松素含量和生物量积累,从而提高砷松素产量。

2.4 植物生长调节剂组合对试管苗砷松素含量的影响

通过正交设计研究不同植物生长调节剂组合对勺叶茅膏菜试管苗茎叶中砷松素含量的影响(图4)。结果表明4个因素的影响效应从大到小依次为6-BA、NAA、KT和GA₃,其中6-BA与NAA、KT和GA₃的差异达极显著水平($P < 0.01$), NAA与KT和GA₃的差异达显著水平($P < 0.05$),而KT和GA₃间差异不显著。前6组处理(I~VI)的勺叶

茅膏菜试管苗砒松素含量在 0.8 mg g^{-1} 以上,而后3组处理(VII~IX)的含量则比较低,砒松素含量最高的是处理V (0.843 mg g^{-1}),含量最低的是处理VII (0.744 mg g^{-1})。当6-BA和NAA的浓度均为

0.2 mg L^{-1} 时,勺叶茅膏菜试管苗中砒松素含量显著提高($P < 0.05$)。

在试管苗生长状态方面,处理间的差异较大(图5),前3个处理(I~III)试管苗植株健壮,叶片舒

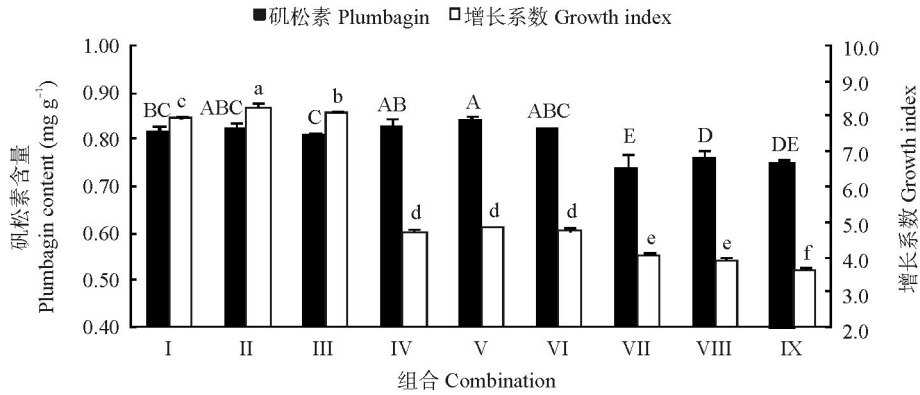


图4 不同植物生长调节剂浓度组合对勺叶茅膏菜试管苗砒松素含量和增长系数的影响。I~IX 见表1。

Fig. 4 Effects of hormone combination on plumbagin content and growth index of sundew plantlets. I – IX see Table 1.

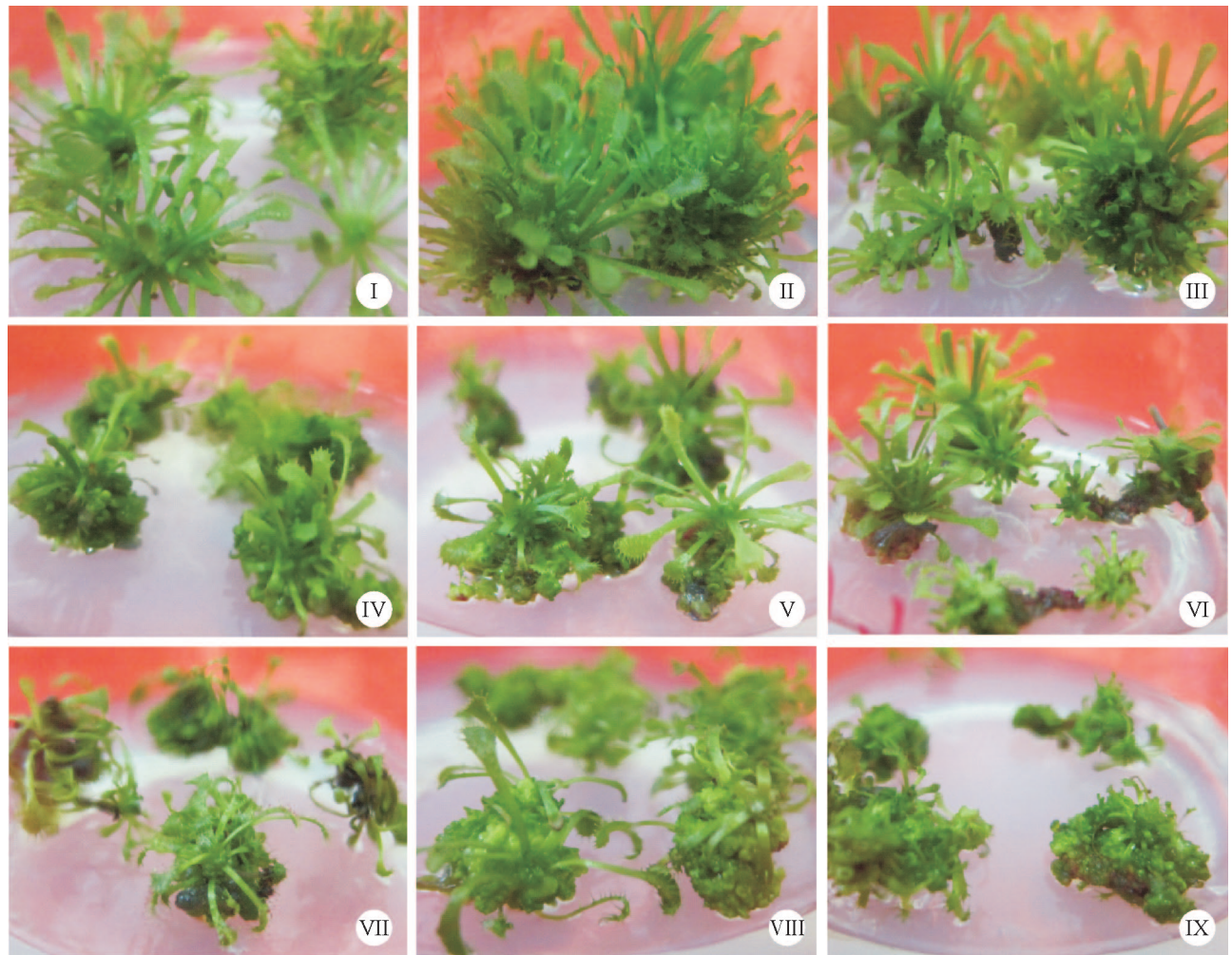


图5 不同植物生长调节剂组合对勺叶茅膏菜试管苗生长的影响。I~IX 见表1。

Fig. 5 Effects of hormone combination on the growth of sundew plantlets. I – IX see Table 1.

展,叶色浓绿,以处理 II 的生长状态最佳,其植株叶片浓密,叶片厚实,而处理 I 的叶片较稀且较薄,处理 III 的试管苗生长不均一,并且基部伴有少许愈伤组织生成。后 6 个处理(IV ~ IX)的试管苗基部生成大量翠绿色愈伤组织,处理 IV ~ VI 生成的愈伤组织顶部有苗长出,而处理 VII ~ IX 接种的丛生芽大部分被诱导形成愈伤组织,基本无正常幼苗,而且呈水渍状。可见,勺叶茅膏菜试管苗的生长状态优劣依次是 II > I > III > (IV、V、VI) > (VII、VIII) > IX。对勺叶茅膏菜增长系数的影响效应由大到小依次是 6-BA、GA₃、NAA 和 KT,并且当这些植物生长调节剂浓度分别为 0 mg L⁻¹、0.1 mg L⁻¹、0.2 mg L⁻¹ 和 0.5 mg L⁻¹ 时,勺叶茅膏菜试管苗的增长系数也显著提高($P < 0.01$)。综上所述,筛选的最佳勺叶茅膏菜试管苗生长和砷松素积累的培养基组合为:1/2MS + (0 ~ 0.2 mg L⁻¹) 6-BA + 0.2 mg L⁻¹ NAA + 0.5 mg L⁻¹ KT + 0.1 mg L⁻¹ GA₃。

3 讨论

已有研究表明,茅膏菜属植物离体培养生长迅速,增殖效率高,周期短^[9,13],可为茅膏菜属植物后续研究和工厂化培育奠定良好基础。另外,茅膏菜中砷松素含量的积累受多种因素影响,首先是茅膏菜的品种,不同品种的砷松素积累能力有所差异;其次是同一植株的不同器官中的砷松素含量也各不相同;最后是受不同培养条件的影响,包括光照、温度、水分、营养供给、植物生长调节剂、诱导因子等。Crouch 等^[2]研究了不同种茅膏菜活体和离体培养下的砷松素含量,结果表明好望角茅膏菜(*D. capensis*)在活体培养下砷松素含量是 *D. natalensis* 的近 2 倍,而离体培养下两者砷松素含量的差异与活体培养恰恰相反。本研究结果表明,勺叶茅膏菜试管苗不同器官中的砷松素含量差异较大,勺叶茅膏菜试管苗根部的砷松素含量(0.92 mg g⁻¹)显著高于叶片(0.83 mg g⁻¹)。这说明勺叶茅膏菜砷松素的积累受品种、器官、培养方式的影响,因此可选择合适的勺叶茅膏菜品种,采用适宜的培养方式,通过离体培养诱导相应的组织器官,来提高勺叶茅膏菜中砷松素含量。

勺叶茅膏菜试管苗中砷松素含量与其生长发育状态既统一又对立。本研究结果表明,勺叶茅膏菜试管苗中砷松素含量最高的处理与生长状态最

佳的处理往往不一致,因此筛选最佳培养方案时必须综合考虑。茅膏菜属植物生长环境一般是阳光充足、湿度较高,无高大树木的沼泽或水体边缘^[14],因此,光照是其生长重要的影响因素,研究表明不同光质能影响植物的生长、生物量及次生代谢物的积累^[15-16]。本研究中白光下勺叶茅膏菜试管苗生长状态最好,生物量积累最多,而且砷松素含量也较高,是理想的培养光质,此结果同赖瑞联等^[11]的研究结果一致。随着培养基中有机元素含量的增加,勺叶茅膏菜试管苗的砷松素含量和生物量的积累并没有升高,勺叶茅膏菜试管苗生物量的增加与有机元素含量呈负相关,较低的有机元素含量能促进勺叶茅膏菜试管苗的生长发育,当有机元素含量较低时,生物量积累增加,可提高单位培养容器内勺叶茅膏菜试管苗砷松素的含量,此结果与勺叶茅膏菜试管苗适宜较低矿质元素和有机营养培养的生物学特性一致(一般为基本培养基的 1/2 或 1/4^[13,17])。植物生长调节剂对植物的生长发育有重要调节作用,本研究中 6-BA 和 NAA 能显著影响勺叶茅膏菜中砷松素含量,KT 和 GA₃ 的作用不显著,但 4 种植物生长调节剂对勺叶茅膏菜试管苗植株的生长发育均具有显著影响,其中 6-BA 对植物生长和砷松素含量的影响效应均最大,当浓度为 0.2 mg L⁻¹ 时能显著促进砷松素积累,但抑制了勺叶茅膏菜试管苗的生长,诱导试管苗产生愈伤组织。Kim 等^[18]的研究也表明 6-BA 含量越高,对盾叶茅膏菜(*D. peltata*)试管苗生长的抑制作用越强。茅膏菜属植物中砷松素含量同样受其他因子的影响,Putalun 等^[3]的研究表明,50 μL 的茉莉酸甲酯、0.5 mg 酵母提取粉和 100 mg 的壳聚糖可有效促进 *D. burmanii* 产生砷松素,并且诱导时间也是重要因素之一。然而前人的研究均把砷松素与生物量两方面割裂开来,不利于最佳方案的筛选,结合本研究的结果表明,适当的培养条件可有效提高勺叶茅膏菜植株中砷松素水平,而且可通过增加生物量的积累提高勺叶茅膏菜试管苗砷松素的含量。

综合勺叶茅膏菜试管苗的生长状态、生物量合成和砷松素的积累,从光质、培养基中有机元素含量和植物生长调节剂等方面考虑,最佳培养方案为:以 1/2MS(大量元素和有机元素含量减半)为基本培养基,添加 0 ~ 0.2 mg L⁻¹ 6-BA、0.2 mg L⁻¹ NAA、0.5 mg L⁻¹ KT 和 0.1 mg L⁻¹ GA₃,于白光下培养。

参考文献

- [1] Li L, Huang J, Xu X H, et al. Study on chemical constituents of *Drosera peltata* var. *multisepala* [J]. Chin J Chin Mat Med, 2012, 37(2): 222–225.
李琳, 黄靖, 徐翔华, 等. 茅膏菜化学成分的研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(2): 222–225.
- [2] Crouch I J, Finnie J F, van Staden J. Studies on the isolation of plumbagin from *in vitro* and *in vivo* grown *Drosera* species [J]. Plant Cell Tiss Org, 1990, 21(1): 79–82.
- [3] Putalun W, Udomsin O, Yusakul G, et al. Enhanced plumbagin production from *in vitro* cultures of *Drosera burmanii* using elicitation [J]. Biotechn Lett, 2010, 32(5): 721–724.
- [4] Didry N, Dubreuil L, Pinkas M. Activity of anthraquinonic and naphthoquinonic compounds on oral bacteria [J]. Die Pharmazie, 1994, 49(9): 681–683.
- [5] Krolicka A, Szpitter A, Gilgenast E, et al. Stimulation of anti-bacterial naphthoquinones and flavonoids accumulation in carnivorous plants grown *in vitro* by addition of elicitors [J]. Enzyme Microb Techn, 2008, 42(3): 216–221.
- [6] Likhitwitayawuid K, Kaewamatawong R, Ruangrunsi N, et al. Antimalarial naphthoquinones from *Nepenthes thorelii* [J]. Planta Med, 2007, 64(3): 237–241.
- [7] Parimala R, Sachdanandam P. Effect of plumbagin on some glucose metabolising enzymes studied in rats in experimental hepatoma [J]. Mol Cell Biochem, 1993, 125(1): 59–63.
- [8] Bhargava S K. Effects of plumbagin on reproductive function of male dog [J]. Ind J Exp Biol, 1984, 22(3): 153–156.
- [9] Lai G T, Liu H L, Guo Z C, et al. Study on proliferation in different ways of *Drosera spatulata* [J]. Subtrop Agri Res, 2011, 7(1): 57–63.
赖恭梯, 刘海林, 郭栳超, 等. 茅膏菜试管苗不同增殖方式研究 [J]. 亚热带农业研究, 2011, 7(1): 57–63.
- [10] Hook I L. Naphthoquinone contents of *in vitro* cultured plants and cell suspensions of *Dionaea muscipula* and *Drosera* species [J]. Plant Cell Tiss Org, 2001, 67(3): 281–285.
- [11] Lai R L, Lai G T, Zhang Z H, et al. Effects of light qualities on growth and accumulation of quercetin of *in vitro* plantlets in sundew (*Drosera spatulata*) [J]. Subtrop Agri Res, 2012, 8(4): 231–236.
赖瑞联, 赖恭梯, 张梓浩, 等. 光质对茅膏菜试管苗生长和槲皮素含量的影响 [J]. 亚热带农业研究, 2012, 8(4): 231–236.
- [12] Liu Y, Deng F, Liu C, et al. Determination of plumbagin in different parts of *Plumbago zeylanica* by RP-HPLC [J]. Chin J Chin Mat Med, 2006, 31(20): 1684–1686.
刘圆, 邓放, 刘超, 等. RP-HPLC测定民族药材白花丹不同药用部位中白花丹醌的含量 [J]. 中国中药杂志, 2006, 31(20): 1684–1686.
- [13] Grevenstuk T, Coelho N, Gonçalves S, et al. *In vitro* propagation of *Drosera intermedia* in a single step [J]. Biol Plant, 2010, 54(2): 391–394.
- [14] Zhang Y W, Wang H Y. Studies on the biology of insectivorous plant *Drosera peltata* var. *glabrata* [J]. J Wuhan Bot Res, 1999, 17(4): 345–349.
张彦文, 王海洋. 食虫植物光萼茅膏菜的生物学研究 [J]. 武汉植物学研究, 1999, 17(4): 345–349
- [15] Liu Y, Li S, Ma S Y, et al. Effects of light quality on the growth and development of *in vitro* cultured grape plantlets [J]. Acta Hort Sin, 2009, 36(8): 1105–1112.
刘媛, 李胜, 马绍英, 等. 不同光质对葡萄试管苗离体培养生长发育的影响 [J]. 园艺学报, 2009, 36(8): 1105–1112.
- [16] Leng P S, Su S C, Wang T H, et al. Effects of light intensity and light quality on photosynthesis, flavonol glycoside and terpene lactone contents of *Ginkgo biloba* L. seedlings [J]. J Plant Resour Environ, 2002, 11(1): 1–4.
冷平生, 苏淑钗, 王天华, 等. 光强与光质对银杏光合作用及黄酮苷与萜类内酯含量的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2002, 11(1): 1–4.
- [17] Jayaram K, Prasad M N V. Rapid *in vitro* multiplication of *Drosera indica* L.: A vulnerable, medicinally important insectivorous plant [J]. Plant Biotechn Rep, 2007, 1(2): 79–84.
- [18] Kim K S, Jang G W. Micropropagation of *Drosera peltata*, a tuberous sundew, by shoot tip culture [J]. Plant Cell Tiss Org, 2004, 77(2): 211–214.