植物学通报 *Chinese Bulletin of Botany* 2008, **25** (6): 734–740, www.chinbullbotany.com

·组织培养简讯·

茶条槭悬浮培养体系的建立与没食子酸合成的优化条件

董杰, 齐凤慧, 詹亚光*

东北林业大学生命科学学院, 哈尔滨 150040

摘要 初步建立茶条槭(*Acer ginnala*)细胞悬浮培养体系: 以茶条槭子叶为外植体, 接种于WPM培养基中, 对茶条槭愈伤组织进行诱导和继代培养。悬浮培养中, 每代增长指数达到11.6, 没食子酸含量达到1.518%。通过对比NT、IS、WPM、B5和MS培养基所含成分对茶条槭愈伤组织悬浮培养的影响, 综合考虑悬浮细胞的生长速率和有效成分的含量, 确定WPM为基本培养基。WPM培养基大量元素的浓度对细胞的生长和没食子酸的积累有显著影响, 其浓度越高, 促进作用越明显。3倍浓度的大量元素最有利于没食子酸的积累。蔗糖浓度为10 g·L^{-1}最适于没食子酸的积累, 浓度为30 g·L^{-1}最适于茶条槭细胞生长和没食子酸合成。

关键词 茶条槭, 细胞生长, 没食子酸, 悬浮培养

董杰, 齐凤慧, 詹亚光 (2008). 茶条槭悬浮培养体系的建立与没食子酸合成的优化条件. 植物学通报 **25**, 734–740.

茶条槭(*Acer ginnala*)是槭树科的落叶灌木或小乔木。主要分布在中国、日本、朝鲜、蒙古以及俄罗斯的东西伯利亚。茶条槭的树叶中含有大量的没食子酸, 即3, 4, 5-三羟基甲苯酸。没食子酸广泛应用于医药、化工、食品、轻工、印染、军工等方面, 目前销售价格为每吨20-30万元。特别是中国在加入WTO以后, 对外贸易扩大, 没食子酸在国际市场上的价格有望达到每吨50-60万元, 可见其经济价值极大(潘侠, 2005)。但从目前研究状况和国内外的研究趋势来看, 没食子酸主要是从茶条槭的叶中分离获得, 其产量必然受到茶条槭生长发育和环境因素的影响, 而且导致大量茶条槭资源的浪费, 因此通过细胞悬浮培养生产没食子酸将是一个更好的选择。细胞悬浮培养(cell suspension culture)是指将游离的单细胞或细胞团按照一定的细胞密度悬浮在液体培养基中进行培养。这种培养方法能提供同步分裂且增殖迅速的大量细胞, 可用于大规模的工业生产(刘庆昌和吴国良, 2003)。同时该法是在可控和可重复的条件下生产天然产物, 不会受到病虫害、地理、气候和季节等因素的影响, 并且产物分离和提取操作相对简单, 同时因减少砍伐茶条槭而保护了人类的生存环境(方文娟等, 2005)。

茶条槭在组织培养快速繁育技术研究方面已有报道(孟月娥等, 2005; 周音等, 2007; 李海艳等, 2008), 但尚未涉及体细胞培养。而细胞悬浮培养是建立植株再生体系和次生代谢产物生产的基础。本研究初步建立茶条槭细胞悬浮培养体系, 包括愈伤组织的诱导、培养和选择适合于悬浮培养的愈伤组织、悬浮培养基本培养基成分及其中大量元素浓度和蔗糖浓度的选择等技术体系, 以期为茶条槭细胞悬浮培养的相关研究提供技术原理和工艺基础, 为大规模生产茶条槭次生代谢产物——没食子酸创造技术基础条件。

1 材料和方法

1.1 材料

实验选用茶条槭(*Acer ginnala* Maxim.)成熟种子作为材料。

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织的诱导

取成熟的茶条槭种子, 经70%乙醇浸泡40秒, 3%次氯

收稿日期: 2008-02-13; **接受日期**: 2008-05-08
基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金(No.20060225010)
* **通讯作者**。E-mail: yaguangzhan@126.com

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

酸钠溶液消毒15 分钟和无菌水漂洗后, 接种于WPM+0.5 mg·L^{-1} BA 固体培养基中, (25±2)℃ 下培养。当其子叶长到1-2 cm 时, 切下子叶接种于附加不同激素的WPM (woody plant medium)固体培养基上, 诱导愈伤组织。25 天继代1 次。

1.2.2 细胞悬浮培养

悬浮培养采用的基本培养基为WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA, 起始蔗糖浓度为20 g·L^{-1}, pH 5.6-6.0。将5 种不同类型的愈伤组织接种于装有50 mL 培养基的100 mL 三角瓶中, 每瓶接种1 g 愈伤组织。将三角瓶在(25±1)°C、每天光照12 小时的条件下以每分钟120 转进行振荡培养。每个实验重复3 次。培养7 天后转入新鲜培养基中继代培养。培养28 天后, 测定细胞生长量和没食子酸含量。

选择适合于悬浮培养的愈伤组织类型。将愈伤组织接种于分别附加0.008 mg·L^{-1} TDZ+0.1 mg·L^{-1} BA 的NT、IS、WPM、B5、MS 液体培养基中, 其它条件同上进行悬浮培养。然后分别采用起始蔗糖浓度为10、20、30 和40 g·L^{-1} 进行悬浮培养。

1.2.3 悬浮培养茶条槭细胞鲜重和干重测定及没食子酸提取和含量测定

将培养细胞用200 目筛过滤, 用滤纸吸干水分, 称得鲜重。然后置于60°C 烘箱中烘至恒重后称得干重。

将茶条槭待测样品的干燥细胞粉碎后用100 目筛过滤, 精确称取茶条槭细胞粉末0.1 g, 置于5 mL 容量瓶中, 加2 mL 甲醇, 在超声仪中处理2 分钟, 再加入10% 硫酸2 mL, 60°C 水浴1 小时, 然后用甲醇定容至5 mL, 室温沉淀1 小时, 离心取上清液, 用0.45 μm 膜过滤, 置于液相色谱专用样品管中, 采用液相色谱法测定没食子酸含量。

色谱条件为: 色谱柱HiQ sil C18W 4.6 mm ϕ×250 mm; 流动相为甲醇:水=4:6(v:v); 流速0.5 mL·min^{-1}; 检测波长270 nm。

1.2.4 数据处理

(1)计算增长指数。增长指数 =W_1/W_2, 其中, W_1 为收获时悬浮细胞的质量, W_2 为接种愈伤组织的质量。(2)计算没食子酸含量。采用液相色谱法绘出没食子酸含量标准曲线, 得到峰面积与没食子酸含量的关系式

$$y=90\,000\,000x+707\,103 \quad (a)$$

式中, x 为没食子酸含量, y 为峰面积。R^2=0.999 4

$$\text{没食子酸含量}(\%)=5x\times100\% \quad (b)$$

根据测得的峰面积代入公式(a)求出没食子酸含量, 再根据公式(b)求出没食子酸的百分含量。(3)计算没食子酸生产量。没食子酸生产量(g·L^{-1})= 生长后测得干重(g·L^{-1})× 没食子酸含量(%)

2 结果与分析

2.1 适合悬浮培养的愈伤组织类型

将茶条槭的子叶分别在WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ+0.1 mg·L^{-1} BA(A 和C 培养基)、WPM+0.010 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA(B 培养基)、WPM+1.0 mg·L^{-1} 2, 4-D +0.25 mg·L^{-1} KT(D 培养基)和WPM+1.0 mg·L^{-1} 2, 4-D +0.10 mg·L^{-1} KT(E 培养基)5 种固体培养基中诱导愈伤组织及继代培养, 得到5 种不同类型的愈伤组织(图1A-E)。

观察愈伤组织悬浮培养28 天后的细胞, 发现A 类翠绿松散的愈伤组织经悬浮培养后长势好, 生长量大, 呈翠绿色; B 类绿色松散的愈伤组织经悬浮培养后呈绿色, 长势较好; C 类红色松散的愈伤组织经悬浮培养后呈褐色, 多数死亡, 有的生长出小苗; D 类白色透明松散的愈伤组织经悬浮培养后呈黄白色, 部分褐化死亡, 长势一般; E类黄白色致密的愈伤组织长势一般, 部分褐化死亡。

由图2 可明显看出A 类和B 类茶条槭愈伤组织最适合于进行悬浮培养, 增长指数最高, 干重增长指数分别达到11.6 和9.5(图2A)。而茶条槭没食子酸含量最高的是C 类, 达到2.283%(图2B), 这可能是由于分化状态下的愈伤组织次生代谢产物含量较高的缘故。但由于C 类愈伤组织培养时间长, 获得困难, 且进行悬浮培养容易褐化死亡, 因此综合考虑细胞生长和没食子酸生产(图2C), 应选择A 类愈伤组织进行后续实验。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

2.2 基本培养基的选择和没食子酸含量的比较

5种基本培养基对茶条槭悬浮细胞生长的影响不同，其中WPM培养基中茶条槭鲜重和干重增长指数最大，分别达到12.43和10.75，MS培养基中悬浮细胞增长指数最小(图3A)。而对于次生代谢物——没食子酸的含量来说，在WPM培养基中细胞没食子酸含量最高(图3B)，没食子酸生产量也最高(图3C)。综合考虑细胞生长速率和没食子酸的含量，应选用WPM培养基。

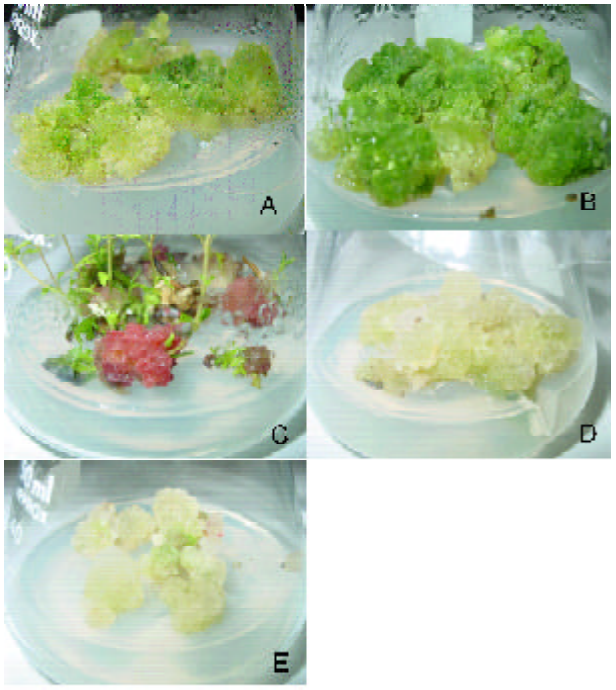

图1 5种不同类型的茶条槭愈伤组织

(A) WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA 诱导，继代3-5次；**(B)** WPM+0.010 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA 诱导，继代3-5次；**(C)** WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA诱导，继代多次，直到有分化苗长出；**(D)** WPM+1.0 mg·L^{-1}2, 4-D +0.25 mg·L^{-1} KT诱导，继代2次；**(E)** WPM+1.0 mg·L^{-1}2, 4-D +0.10 mg·L^{-1} KT 诱导，继代2次

Figure 1 Five different types of *Acer ginnala* callus

(A) Callus induced using WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA, proliferated 3-5 times; **(B)** Callus induced using WPM+0.010 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA, proliferated 3-5 times; **(C)** Callus induced using WPM+0.004 mg·L^{-1} TDZ +0.1 mg·L^{-1} BA, proliferated several times until adventitious buds differentiated from callus; **(D)** Callus induced using WPM+1.0 mg·L^{-1}2, 4-D +0.25 mg·L^{-1} KT, proliferated 2 times; **(E)** Callus induced using WPM+1.0 mg·L^{-1}2, 4-D +0.10 mg·L^{-1} KT, proliferated 2 times

2.3 悬浮培养基中大量元素对茶条槭细胞生长和没食子酸含量的影响

以WPM为基本培养基，改变其大量元素的含量。从图4A可以看出：在大量元素浓度为0.2-1倍的培养基中，细胞的增长量随大量元素浓度的增加而增加；在大量元素浓度为1-3倍时，细胞增长量相差不明显，所以大量元素在1-3倍时有利于细胞生长。在大量元素浓度从0.2倍增长到3倍时，没食子酸含量随大量元素浓度的增加而增加，在3倍时没食子酸含量增加到最大值，达到2.288%(图4B)，没食子酸生产量也为最大(图4C)。推测可能是大量元素中无机盐能促进没食子酸的合成。

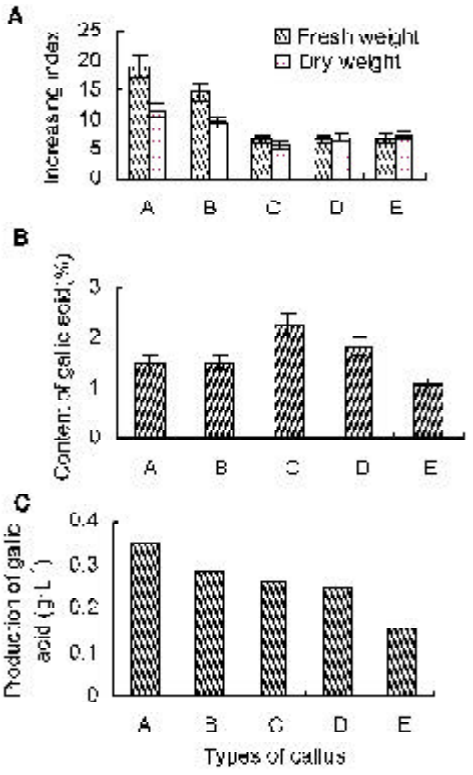

图2 根据细胞增长指数(A)、没食子酸含量(B)和没食子酸生产量(C)选择适于悬浮培养的茶条槭愈伤组织类型

A-E同图1。

Figure 2 Choosing appropriate types of *Acer ginnala* callus based on increasing index **(A)**, content of gallic acid **(B)** and production of gallic acid **(C)**

A-E as same as figure 1.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

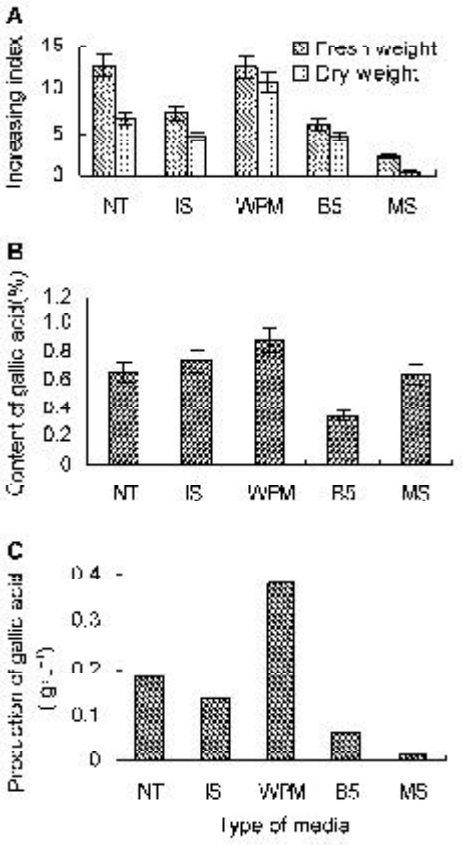

图 3　根据细胞增长指数(A)、没食子酸含量(B)和没食子酸生产量(C)选择基本培养基

Figure 3　Choosing media based on increasing index **(A)**, content of gallic acid **(B)** and production of gallic acid **(C)**

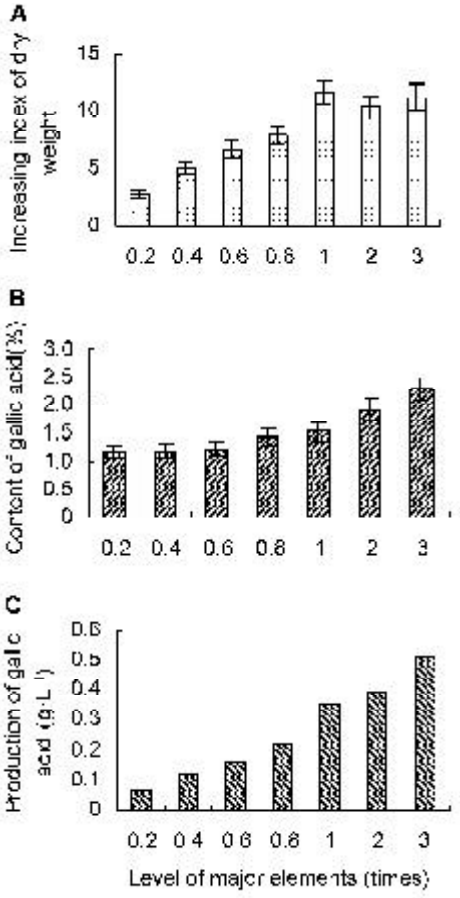

图 4　根据细胞增长指数(A)、没食子酸含量(B)和没食子酸生产量(C)选择悬浮培养基中大量元素的浓度

Figure 4　Choosing the levels of major elements in basic media based on increasing index **(A)**, content of gallic acid **(B)** and production of gallic acid **(C)**

2.4　蔗糖浓度对茶条槭细胞生长和没食子酸含量的影响

以WPM为基本培养基, 选用3倍浓度的大量元素, 改变蔗糖浓度。由图5A可以看出: 蔗糖浓度在10-30 g·L^{-1}范围内, 细胞增长指数随蔗糖浓度的升高而升高, 30 g·L^{-1}浓度下细胞干重达最大生长指数, 为13.47。蔗糖浓度超过30 g·L^{-1}时, 细胞生长量明显下降, 茶条槭悬浮细胞的生长受到抑制, 这可能与高糖带来的培养基低渗透压有关。相对于培养基, 细胞内的高渗透压将抑制细胞对营养物质的吸收, 还可以造成细胞内含水量下降, 从而也影响了细胞内某些功能的正常进行。茶条槭没食子酸含量随蔗糖浓度的增加而降低(图5B), 其生理机制需要进一步的研究和探讨。没食子酸生产量在蔗糖浓度为30 g·L^{-1}时达到最高值(图5C), 因此蔗糖浓度为30 g·L^{-1}是生产没食子酸最适宜的碳源浓度。

3　讨论

利用细胞的自然变异性, 筛选植物次生代谢产物产量高, 同时自身生长速度快的细胞系具有筛选量大和操作简便等优势。本文着重研究了不同激素组合诱导得到的不同类型、不同生长状态的愈伤组织在悬浮培养过程中的细胞生长速率及其次生代谢物含量的差异。长势较

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

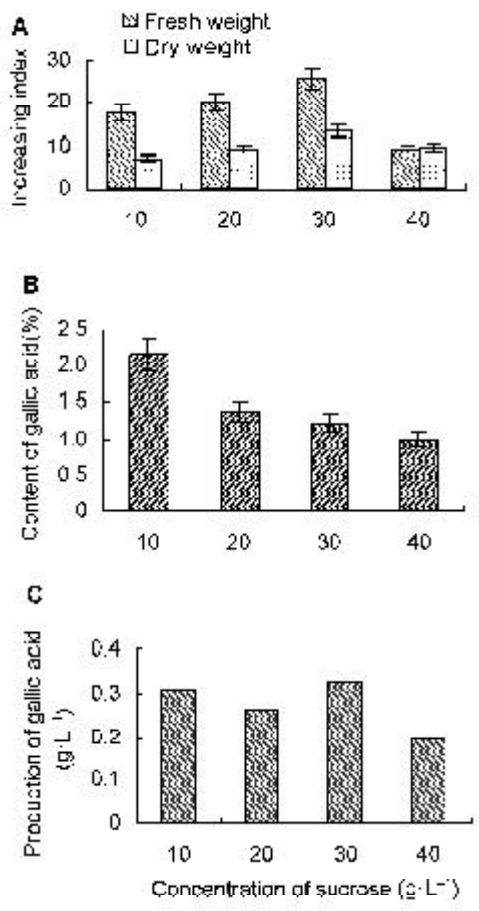

图 5　根据细胞增长指数(A)、没食子酸含量(B)和没食子酸生产量(C)选择最适蔗糖浓度

Figure 5　Choosing the optimal concentration of sucrose based on increasing index **(A)**, content of gallic acid **(B)** and production of gallic acid **(C)**

好且绿色松散的愈伤组织适合于进行液体悬浮培养，其它类型愈伤组织在进行悬浮培养过程中有不同程度的褐化现象，不利于进行悬浮培养。

植物组织培养中常用的培养基主要区别在于无机盐的种类和含量。选择基本培养基时，除应考虑待培养植物的基因型外，还应考虑培养基的种类及其总离子浓度、总氮水平、氮源种类(硝态氮和氨态氮)与比例、钙和氯化物的含量等。MS 培养基为富盐平衡培养基，无机盐浓度较高，元素间的比例适当，离子平衡较好，具有较强的缓冲性，因而在培养过程中可维持较好的稳定性，广泛应用于草本植物组织培养中。B5 培养基是高硝态氮培养基，硝酸钾含量高，氨态氮含量低，含有较高量的盐酸硫胺素，比较适合于要求较高氮素营养同时氨态氮对其生长又有抑制作用的植物培养(谢从华和柳俊，2004)。NT 培养基是 1970 年设计的适用于烟草等原生质体培养的培养基(郭勇等，2004)。木本植物培养基(WPM)是低盐培养基，适合于木本植物培养。不同基因型植物可能需要不同的基本培养基，但同一种植物在培养的不同阶段或培养目的不同时，所需基本培养基也不同(刘进平和莫饶，2006)。本研究选择 NT、IS、WPM、B5 和 MS 5 种培养基，探讨了它们对茶条槭培养物生长和没食子酸合成的影响。结果表明，各培养基对细胞生长和代谢物积累的作用不同，WPM 培养基最适合进行茶条槭细胞悬浮培养，其结果与李海艳等(2008)的茶条槭愈伤组织再生体系中所采用的基本培养基种类相同。将 WPM 基本培养基中大量元素(NH_4NO_3、KH_2PO_4、K_2SO_4 和 $MgSO_4$)浓度由 0.2 倍增加到 3 倍时，对茶条槭悬浮培养物的生长和次生代谢物的积累有一定的促进作用，说明本实验体系中培养细胞在代谢过程中对大量元素的需求较大。高永超等(2003)以 MS 培养基为基本培养基，对牛角蕨(*Cratoneuron filicinum*)进行细胞悬浮培养的结果表明，大量元素明显促进细胞的生长发育，且其浓度越高，促进作用就越明显。这可能与这些元素在代谢过程中的作用有关。没食子酸是酚类化合物，通过莽草酸途径合成，大量元素中的成分可能为没食子酸合成提供前体和物质基础。本实验表明提高大量元素的浓度有利于没食子酸的合成，还表明无机离子对没食子酸代谢有调控作用，这与张美萍等(2003)对西洋参(*Panax quinquefolius*)愈伤组织悬浮培养生产皂苷的结果相同，但具体调控机制有待进一步研究。

无论何种培养基都需要碳源为细胞提供合成新化合物的碳骨架，为细胞的呼吸代谢提供底物与能源，以及维持一定的渗透势。常用的碳源是蔗糖，浓度为 2% - 5%。无机盐和蔗糖的浓度对渗透压起主导作用，渗透压在 50.7 - 202.7 kPa 适于植物组织生长。尤其在花粉或原生质体培养时渗透压太高会抑制组织的生长和分

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

化。无机盐和糖的浓度越大, 渗透压就越低, 植物细胞失水; 反之, 无机盐和糖的浓度越小, 渗透压越高, 植物细胞就吸水。如果细胞失水或吸水太多就会破裂, 造成培养失败。一般靠改变糖含量来调节渗透压, 无机盐的配方比较固定, 糖浓度有 20、30、40 和 70 g·L^{-1} 不等。大多数情况下, 以茎、茎尖、叶片、花瓣及胚等组织或器官作材料时, 最适糖浓度为 20-40 g·L^{-1}(张敦方, 2004)。糖浓度对次生代谢物的合成有一定的影响, Feria-Romero 等(2005)对钩藤(*Uncaria rhynchophylla*)细胞进行悬浮培养, 当蔗糖浓度由20 g·L^{-1}增加到 50 g·L^{-1}, 石竹酸和对苯二胺酸含量增加了 4 倍。李娟等(2006)对肉苁蓉(*Cistanche deserticda*)细胞进行悬浮培养, 当蔗糖浓度为 30 g·L^{-1}有利于肉苁蓉细胞生长和苯乙醇苷的生产, 这与本实验结果相同。

同时本研究发现, 在固体培养时没食子酸含量较高的细胞株, 在多次继代培养过程中没食子酸的含量存在一定的不稳定性, 再进行悬浮培养时细胞中的没食子酸含量也具有不稳定性, 其机理还不明确。这种现象也出现在红豆杉(*Taxus chinensis*)细胞培养生产紫杉醇(李志良等, 2007)和银杏(*Ginkgo biloba*)悬浮细胞生产黄酮苷中(刘佳佳等, 2001)。因此要获得稳定高产没食子酸的茶条槭悬浮细胞系, 还需要进一步筛选与研究。

参考文献

方文娟, 韩烈保, 曾会明 (2005). 植物细胞悬浮培养影响因子研究. 生物技术通报 **5**, 11-15.

高永超, 薛红, 沙伟, 张晗 (2003). 大量元素对牛角藓愈伤组织悬浮细胞的生理效应. 植物生理学通讯 **39**, 595-598.

郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯 (2004). 植物细胞培养技术与应用. 北京: 化学工业出版社. pp. 96-96.

李海艳, 宋继园, 董杰, 詹亚光 (2008). 茶条槭愈伤组织的再生体系建立及其没食子酸含量的测定. 植物学通报 **25**, 212-219.

李娟, 李春, 沈慧慧, 易丽娟, 刘慧英 (2006). 蔗糖对悬浮培养肉苁蓉细胞的生长及苯乙醇苷合成的影响. 石河子大学学报(自然科学版) **24**, 30-33.

李志良, 李干雄, 饶秋容, 黄巧明, 曾腾 (2007). 红豆杉细胞培养中紫杉醇高产细胞株的筛选及其稳定性分析. 植物资源与环境学报 **16**, 62-65.

刘佳佳, 郭勇, 郑穗平, 张明浩 (2001). 高产黄酮苷银杏悬浮培养细胞系选育和继代培养稳定性研究. 生物工程学报 **17**, 94-97.

刘进平, 莫饶 (2006). 热带植物组织培养. 北京: 科学出版社. pp. 38-38.

刘庆昌, 吴国良 (2003). 植物细胞组织培养. 北京: 中国农业大学出版社. pp. 78-78.

孟月娥, 周子发, 李艳敏, 赵秀山 (2005). 茶条槭的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯 **41**, 790-790.

潘侠 (2005). 经济植物茶条槭的开发利用及其展望. 防护林科技 **7**, 68-72.

谢从华, 柳俊 (2004). 植物细胞工程. 北京: 高等教育出版社. pp. 79-79.

张美萍, 王义, 孙春玉, 李向高 (2003). 不同培养基及其元素组成对西洋参愈伤组织悬浮培养物生长和皂苷含量的影响. 植物资源与环境学报 **12**, 14-16.

张敦方 (2004). 植物组织培养技术. 哈尔滨: 东北林业大学出版社. pp. 49-51.

周音, 张智奇, 张建军, 顾佳清, 顾旭忠, 徐桂林 (2007). 3种抗氧化剂对茶条槭(*Acer ginnala* Maxim.)组织培养污染及褐化的影响. 上海农业学报 **23**, 5-7.

Feria-Romero I, Lazo E, Ponce-Noyola T (2005). Induced accumulation of oleanolic acid and ursolic acid in cell suspension cultures of *Uncaria tomentosa*. *Biotechnol Lett* **27**, 839-843.

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734

Establishment of the Suspension Culture System and Optimization of Biosynthesis of Gallic Acid in *Acer ginnala*

Jie Dong, Fenghui Qi, Yaguang Zhan*

College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract Suspension culture of *Acer ginnala* was established with cotyledons used as explants. WPM was used for callus induction and callus proliferation. In suspension culture, dry weight increased to 11.6 and gallic acid content to 1.518%. The effects of the media NT, IS, WPM, B5 and MS on growth and gallic acid content of *A. ginnala* in callus suspension culture were compared. WPM was best for growth of suspension cells and accumulation of gallic acid. The effect increased with the levels of major elements, and a three-fold increase in level of major elements gave the best result. Sucrose at 10 $g \cdot L^{-1}$ was suitable for the accumulation of gallic acid, and 30 $g \cdot L^{-1}$ was optimal for cell growth and production of gallic acid.

Keywords *Acer ginnala*, cell growth, gallic acid, suspension culture

Dong J, Qi FH, Zhan YG (2008). Establishment of the suspension culture system and optimization of biosynthesis of gallic acid in *Acer ginnala*. *Chin Bull Bot* **25**, 734-740.

* Author for correspondence. E-mail: yaguangzhan@126.com

(**责任编辑**: **白羽红**)

致谢审者

编辑部特向为我刊审稿的专家表示衷心的感谢！(统计时间: 2007-11-01 ー 2008-10-31)(**以下按姓氏拼音排序**)

阿不都拉·阿巴斯	安利佳	曹洪发	曹晓风	柴团耀	陈保善	陈　凡	陈根云	陈　珈	陈明生
陈善娜	陈世苹	陈受宜	陈小勇	陈晓玲	陈晓亚	陈晓阳	陈学森	陈贻竹	陈之端	陈仲新
程祝宽	种　康	储成才	崔素霞	戴绍军	戴思兰	邓　馨	丁圣彦	董金皋	杜林方	段　俊
樊大勇	范六民	付玉杰	高辉远	高荣孚	高润宏	高贤明	高　岩	高彦祥	葛　颂	巩志忠
顾红雅	顾明华	顾铭洪	郭　勇	郭友好	郭振飞	韩建国	韩天富	何奕昆	贺新强	胡适宜
胡玉欣	胡赞民	华学军	黄大年	黄　芳	黄宏文	黄建辉	黄巨富	黄敏仁	黄荣峰	黄双全
黄学林	黄雪梅	黄振英	吉成均	季孔庶	贾继增	贾敬芬	姜孝成	蒋德安	蒋高明	景蕊莲
康振生	雷建军	李传友	李洪清	李华平	李火根	李家儒	李建强	李建生	李景文	李景原
李钧敏	李　俊	李　玲	李美茹	李韶山	李世晋	李　霞	李晓兵	李杨瑞	李银心	李玉花
李　云	李振基	李振宇	梁国华	梁炫强	梁银丽	粱计南	廖伯寿	廖　红	廖万金	林金星
林植芳	林忠平	凌宏清	刘保东	刘春明	刘　栋	刘　凡	刘公社	刘国振	刘洪涛	刘　慧
刘建国	刘健全	刘庆昌	刘全儒	刘胜毅	刘兆普	卢宝荣	卢孟柱	卢　山	鲁迎青	陆树刚
陆旺金	路安民	吕应堂	骆世明	麻　密	马国华	马力耕	马庆虎	马正强	孟金陵	孟庆伟
孟　征	米华玲	倪乐意	欧阳剑	潘延云	庞基良	彭长连	漆小泉	钱　前	瞿礼嘉	曲乐庆
饶广远	任东涛	任　毅	荣廷昭	桑卫国	尚富德	沈世华	师生波	施和平	施卫明	石东乔
石贵阳	石　雷	石培礼	宋纯鹏	宋松泉	宋艳茹	宋永昌	苏培玺	苏　震	孙传清	孙国荣
孙蒙祥	孙勇如	唐定中	陶跃之	田秋英	田世平	汪　矛	汪俏梅	汪小全	王　红	王利军
王亮生	王宁宁	王全喜	王　台	王　玮	王锡锋	王小菁	王晓茹	王秀娥	王秀杰	王印政
王英典	王英强	王幼平	王哲之	王政权	魏　伟	魏孝义	吴　鸿	吴鹏程	吴　燕	夏光敏
夏惠君	夏　凯	夏念和	肖笃宁	谢　旗	谢宗强	辛志勇	邢福武	徐凤霞	徐世昌	徐云远
许大全	许鸿源	许亦农	薛红卫	严长杰	严重玲	阎秀峰	晏月明	阳成伟	杨　持	杨亲二
杨世雄	杨维才	杨跃生	叶　德	叶和春	尹林克	应俊生	于顺利	余龙江	袁　明	张爱民
张大兵	张大明	张凤兰	张金屯	张　力	张立新	张　鹏	张其德	张奇宾	张　泉	张守仁
张淑敏	张天真	张文浩	张宪省	张学勇	张增艳	张志毅	张志耘	赵德修	赵可夫	赵敏桂
赵翔宇	郑元润	周广胜	周世良	周雪平	周浙昆	朱根发	朱相云	朱　祯	左开井	

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t2008-734