

五种果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗促根效果的影响

李国树^{1,2}, 徐成东^{1,2}, 尚正丽¹, 赵仁升¹, 龙雨跃¹

(1. 楚雄师范学院 化学与生命科学系, 云南 楚雄 675000; 2. 滇中高原生物资源开发与利用研究所, 云南 楚雄 675000)

摘要:为探究不同果蔬提取物对铁皮石斛原球茎分化苗的促根效果, 选用 100 g/L 的香蕉、马铃薯、苹果、番茄、椰子 5 种果蔬提取物对铁皮石斛原球茎分化苗进行诱根研究。结果表明: 5 种提取物对铁皮石斛原球茎分化苗均具有促进根系生长的作用, 其中以 100 g/L 的香蕉提取物诱导根效果最佳, 生根时间 30 d, 平均生根条数 8.7 条、平均根系长度达 6.4 cm; 其次是马铃薯和苹果提取物; 番茄与椰子提取物的促根效果相对较差。

关键词:铁皮石斛; 果蔬提取物; 生根培养; 促根效果

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0161-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 属兰科石斛属多年生草本植物, 又名黑节草, 是传统的

名贵中药材, 具有养阴生津、温胃润肺、抗癌防老等功效^[1-3]。近年来由于过量采挖、生境的严重破坏, 造成其野生资源已濒临灭绝, 被列为国家重点保护的药材品种^[4-5]。为保护与利用这一珍稀中药, 国内外科科研机构及有关人员都进行了大量的研究。陈青青等^[6]以铁皮石斛试管苗为试材, 研究了不同 pH、光照强度和温度对铁皮石斛苗长势和生根的影响; 蒋波等^[7]对铁皮石斛原球茎生长分化及生根壮苗进行了研究; 刘骅等^[8]对铁皮石斛试管苗壮苗培养基进行了研究。但是用不同果蔬

第一作者简介:李国树(1969-), 男, 彝族, 云南永仁人, 硕士, 高级实验师, 现主要从事植物学及植物资源开发与利用研究工作。

基金项目:云南省植物学重点学科资助项目; 云南省高校科技创新团队支持计划资助项目; 植物学重点实验室建设资助项目(05YJJXK03); 云南省应用基础研究计划资助项目(2008CD218)。

收稿日期:2012-11-02

[5] Zhang Q Y, Zhu Z J, Yu R Y, et al. Determination of aconitine, mesaconitine, hypaconitine in Radix Aconitilaterialis preparata by IP-LC[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2007, 13(12): 1-3.

[6] Liu Y L, Liu S K, Fei Q, et al. Simultaneous content determination of aconitine, hypaconitine and mesaconitine in Fuzi by HPLC[J]. China Pharmacy, 2006, 17(16): 1255-1257.

[7] Wang R, Sun Y K, Wang Y, et al. Determination of three aconitum alkaloids in Radix Aconiti Lateralis and its prepared materials by HPLC[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007(7): 1078-1080.

[8] Eunhee W W, Richard M, Edward A S, et al. Quantitative determination of perifosine, a novel alkylphosphocholine anticancer agent, in human plasma by reversed-phase liquid chromatography-electrospray mass spectrometry[J]. Journal of Chromatography B, 2001, 759: 247-257.

Study on Content Comparison of Fuziline and Songorine from Daughter Roots of *Aconitum carmichaeli* Produced from Different Areas

JIANG Dang¹, HOU Da-bin¹, DENG Wen-wei¹, LIU Xiang-hong², ZHAO Xiang-sheng³

(1. College of Life Science, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010; 2. Forest Seedling Management Station of Qingyang in Gansu Province, Qingyang, Gansu 745000; 3. Hainan Branch, Medical College of Chinese Medicinal Plant Research Institute, Wanning, Hainan 571533)

Abstract: Taking daughter roots of *Aconitum carmichaeli* produced from different areas as materials, the content of fuziline and songorine were analyzed using HPLC-MS method. The results showed that there had a strong linear correlation between the peak and the concentration of the fuziline and songorine within test ranges, with correlation coefficients 0.9998, 0.9992 and average recovery rates of 99.1%, 99.7% respectively. The content of fuziline and songorine was different in daughter roots of *Aconitum carmichaeli* produced from different areas, among which Jiangyou of Sichuan was the highest, Chenggu of Shaanxi was the lowest. The developed method was sensitive, accurate and suitable for the quality control of daughter roots of *Aconitum carmichaeli*.

Key words: HPLC-MS; *Aconitum carmichaeli* Debx; fuziline; songorine; quantitative determination

提取物替代植物生长调节剂,诱导铁皮石斛茎叶分化苗的根系生长及其活力研究的相关内容尚鲜见报道。因此,现采用5种果蔬提取物对铁皮石斛原球茎分化苗的诱导根系效果进行了研究,既可以减少组培快繁中的激素种类和用量、降低石斛苗的生产成本,还可为植物组织培养快速繁殖技术创新体系提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛茎叶分化苗由楚雄师范学院化学与生命科学系植物组织培养实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 培养条件 培养温度 28℃,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h/d;各培养基琼脂均为 7.0 g/L,蔗糖 25 g/L,pH 为 5.8。

1.2.2 茎叶分化促根培养基的筛选 分别在①号:MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L、②号 1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L、③号 N_6 +NAA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L 培养基中接入长势相同、苗高约 2.0 cm、有 2~3 片真叶分化的无根丛生苗 5 丛(大小相近)后培养观察,90 d 时比较 3 种促根培养基的平均根长,筛选最佳诱根培养基。

1.2.3 不同果蔬提取物的制备 从市场上买回充分成熟的香蕉、苹果、番茄、椰子、马铃薯,洗净去皮、准确称量各浓度的果肉质量(椰子取鲜椰汁),用刀将果肉切成小块放入榨汁机,加入少量的蒸馏水,充分轧碎成汁后再用纱布过滤,保留滤液;滤渣再次轧碎取汁后过滤,将 2 次滤液混合后放入冰箱冷藏备用。

1.2.4 不同果蔬提取物的诱导根系效果研究 在诱导根系生长的基本培养基中,不添加 NAA 和 IBA,而是分别加入 100 g/L 的香蕉、苹果、番茄、椰子、马铃薯提取液^[6-7],每组 20 瓶,每瓶接入苗高约 2.0 cm、有 2~3 片真叶分化的无根丛生苗 5 丛(大小相近)后培养观察,90 d 时观察比较 5 种果蔬提取物的诱导根系效果。

1.2.5 不同果蔬提取物诱导根系的活力研究 根系的生长发育情况和活力水平影响植物个体的移栽成活率、地上部分的生长情况、营养水平、产量与品质。完成诱导根系培养后,用氯化三苯基四氮唑(TTC)对不同果蔬提取物诱导后得到的根系进行活力测定。具体操作方法是:将 1%的 TTC 溶液、0.4 mol/L 的琥珀酸钠和磷酸缓冲液(pH=7)按 1:5:4 混合^[9]。将待测根系仔细洗净后小心吸干,浸入盛有反应液的锥形瓶中,置于 37℃ 暗处 3 h,观察着色情况,着色深者,其根系活力较大^[9]。

2 结果与分析

2.1 促根培养基的筛选结果

选取大小相近、长势相同、苗高约 2.0 cm、有 2~3

片真叶分化的无根丛生苗,分别接种于 3 种培养基中,每种培养基接种 30 瓶,每瓶接种 5 丛,培养 90 d 后观察比较 3 种培养基对铁皮石斛茎叶分化苗的平均根长。由表 1 可知,在 3 种培养基中促根培养 90 d 后,②号培养基的平均根长、平均促根条数、根系形态、幼苗叶片生长形态等各方面都优于①号和③号培养基,从而确定②号培养基 1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L 可作为铁皮石斛茎叶分化苗的最佳诱导生根培养基。

表 1 3 种培养基对铁皮石斛茎叶分化苗的促根效果

Table 1 The influence of three kinds of mediums on the root-inducing effect of seedlings differentiated from *Dendrobium officinale* stem

培养基	平均生根数/条	平均根长/cm	根系形态	茎叶片生长形态
①	4	2.1	根系稀疏、呈白色、无侧根	茎细、叶狭长、绿色
②	11	7.9	根系密集、呈绿色、有侧根	茎粗、叶宽厚、脆绿色
③	7	4.6	根系均匀、呈绿色、无侧根	茎粗、叶狭长、浅绿色

2.2 不同果蔬提取物的促根效果

将大小相近、长势相同、苗高约 2.0 cm、有 2~3 片真叶分化的无根丛生苗接种于含不同果蔬提取物的培养基中培养,30 d 后,茎基长出白色至绿色新根,培养 90 d 后,从 100 g/L 的香蕉、苹果、番茄、椰子、马铃薯提取物各处理样中随机取 5 瓶、每瓶取 5 株,测定不同果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗根系的根系发达程度、平均发根数、平均新根长度、平均苗高、根的粗细等的影响。由表 2 可知,不同果蔬提取物对铁皮石斛均有一定的促根作用,不论从发根时间的早晚、发根数量、根系长度和幼苗高度等方面均优于对照。其中香蕉提取物在第 30 天诱发出根系,第 90 天时平均根数达 8.7 条、平均根系长度达 6.4 cm、平均苗高达 5.1 cm,诱根效果是对照组的 2 倍以上。

表 2 不同果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗的促根效果

Table 2 The influence of two kinds of mediums on the root-inducing effect of seedlings differentiated from *Dendrobium officinale* stem

果蔬提取物	生根时间/d	平均根数/条	平均根长/cm	平均苗高/cm	根系生长情况
CK	61	2.1	1.1	1.7	新根系粗短、乳白色、稀疏
香蕉	30	8.7	6.4	5.1	新根系粗大、深绿色、密集
马铃薯	37	7.6	5.4	4.2	新根系纤细、绿色、密集
苹果	40	3.9	2.0	3.3	新根系粗短、绿色、密集
番茄	45	3.1	1.8	3.1	新根系粗短、绿色、稀疏
椰子	49	2.9	1.7	2.6	新根系粗短、乳白色、稀疏

2.3 根系活力的测定

完成不同果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗的促根效果测定后,各处理每组随机取 10 株观察茎叶形态,每株随机选取 3 条根系,每个处理共 30 条根系用 TTC 进行根系活力测定,测定时间为 30 min。由表 3 可知,5 种果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗诱根后,植物

幼苗的茎叶形态和根系活力不同。从幼苗的茎、叶、根的生长形态表现和根系活力测定结果来看,100 g/L 的香蕉提取物诱根后,茎叶形态表现为茎粗、叶片宽厚、叶色浓绿,用 TTC 进行根系活力表现在根尖呈暗红色、整条根系着色均呈深红色,说明其根系活力最强;其次是马铃薯>苹果>番茄≈椰子≈CK 组。

表 3 不同果蔬提取物诱根后的根系活力的测定

Table 3 The results of root vitality of different fruit and vegetable extracts

提取物类型	茎叶形态	根系活力测定结果
CK	茎细、叶片细长、呈浅绿色	着色浅、除根尖呈红色外其它部分不明显着色
香蕉	茎粗、叶片宽厚、呈浓绿色	着色深、整条根系呈深红色、根尖呈暗红色
马铃薯	茎粗、叶片宽厚、呈绿色	着色深,根系呈浅红色、根尖呈暗红色
苹果	茎细、叶片细长、呈浅绿色	着色浅、根尖变红、其余部分不均匀着色
番茄	茎粗、叶片宽厚、呈绿色	着色浅、除根尖变红外无变化
椰子	茎粗、叶片细长、呈绿色	着色浅、除根尖变红外无变化

3 结论与讨论

3.1 5 种果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗均有促根效果

在不添加任何外源激素的条件下,5 种果蔬提取物中可能有某些物质对铁皮石斛的生根壮苗起到一定的促进作用,无论是开始诱发根系的时间,还是发生数量、平均根长及幼苗生长高度方面均优于对照组,说明这 5 种果蔬提取物均含有一定的植物生长调节剂,并且均能促进石斛苗生根。但从 5 种果蔬提取物的相互对比来看,100 g/L 的香蕉提取物对石斛的发根时间最早、发根数量最多、生根效果最好,分别是对照的 2 倍以上;马铃薯提取物发根时间为 37 d,幼根密集,但根系较纤细;其次是苹果提取物;番茄、椰子提取物也促进长根,但与对照组相比,整体保根效果与对照相近;即从这 5 种提取物的促根效果来看:香蕉>马铃薯>苹果≈番茄>椰子>对照 CK。

Effect of Five Kinds of Fruit and Vegetable Extracts on the Root-inducing Effect of Seedlings Differentiated from *Dendrobium officinale* Stem

LI Guo-shu^{1,2}, XU Cheng-dong^{1,2}, SHANG Zheng-li¹, ZHAO Ren-sheng¹, LONG Yu-yue¹

(1. Department of Chemistry and Life Science, Chuxiong Normal University, Chuxiong, Yunnan 675000; 2. Institute for Bio-resources Research and Development of Central Yunnan Plateau, Chuxiong, Yunnan 675000)

Abstract: Taking roots of banana, potatoes, apples, tomato, coconut for 100 g/L as material, the effect of five kinds of fruit and vegetable extracts on the root-inducing of seedlings differentiated from *Dendrobium officinale* stem were studied. The results showed that five kinds of extracts of sheet iron *Dendrobium protocorm* differentiated seedlings had promote root growth effect, among which 100 g/L banana extracts had the best root-inducing effect, with root time 30 d, the average number of root article 8.7, average root length of 6.4 cm; followed by potato and apple extracts. Root-inducing effect of tomatoes and coconut extracts was relatively poor.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; fruit and vegetable extracts; rooting culture; root-inducing effect

3.2 5 种果蔬提取物对铁皮石斛茎叶分化苗生长效果不同

植物组织培养是利用植物细胞的全能性及再生作用,在适当的条件下不断分裂、繁殖并发育成完整植株的潜力,因此,除了外植体的种类、类型及培养基外,培养基中外源激素的种类、浓度与对比对愈伤组织、不定芽、不定根等器官诱导形成均有影响。在该研究中发现,石斛茎叶分化苗生根过程中需要的外源激素相对较少,即使在 1/2MS 培养基中不加入任何激素,也能生根,但生根时间较长,生根数量少,但加入 100 g/L 的香蕉、马铃薯、苹果、番茄、椰子提取物后,均能促进石斛的生根和茎叶分化,其中,香蕉汁对原球茎增殖有抑制作用,但诱导根系生长效果最好、根系活力最强;马铃薯能促进原球茎的分化,但对芽苗的生长有抑制作用;苹果汁和番茄汁对原球茎的增殖效果较好、并促进原球茎的分化、根系生长较粗壮;椰子汁对石斛的诱根效果不明显。

参考文献

- [1] 王宪楷,赵同方. 石斛属植物的化学成分与中药石斛[J]. 药学通报, 1986, 21(11): 666-669.
- [2] 马国祥,徐国钧,徐璐珊. 鼓槌石斛及其化学成分的抗肿瘤活性研究[J]. 中国药科大学学报, 1994, 25(3): 24-26.
- [3] 蔡体育. 石斛多糖对 T 细胞巨噬细胞活性的影响[J]. 中山医科大学学报, 1989, 10(2): 66-69.
- [4] Zhao P, Wang W, Sheng F F, et al. High-frequency shoot regeneration through transverse thin cell layer culture in *Dendrobium candidum* Wall, ex Lindl[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2007, 90: 131-139.
- [5] 魏凤娟. 铁皮石斛组织培养与栽培技术研究进展[J]. 广东农业科学, 2010(4): 81-85.
- [6] 陈青青,赖钟雄,朱金秀. 铁皮石斛试管苗生根影响因素研究[J]. 福建农业科学, 2010, 25(5): 602-605.
- [7] 蒋波,杨存亮,黄捷,等. 铁皮石斛原球茎生长分化及生根壮苗研究[J]. 玉林师范学院学报, 2005, 26(3): 66-69.
- [8] 刘骅,张治国. 铁皮石斛试管苗培养基的研究[J]. 中国中药杂志, 1988, 23(11): 654-702.
- [9] 郑坚,陈秋夏,金川,等. 不同 TTC 法测定枫香等阔叶树容器苗根系活力探讨[J]. 浙江农业科学, 2008(1): 39-41.