

吲哚丁酸对牛膝生长及主要药用成分积累的影响

李金亭¹, 张元昊¹, 郭晓双¹, 王 灿¹, 李 可¹, 胡正海²

(1. 河南师范大学 生命科学学院, 河南省高校道地性中药保育及利用工程研究中心, 河南 新乡 453007;

2. 西北大学 生命科学学院, 陕西 西安 710069)

摘 要:以牛膝幼苗为试材, 对其叶面喷施不同浓度的吲哚丁酸(IBA), 研究 IBA 对其生长及主要药用成分齐墩果酸、蜕皮甾酮含量的影响。结果表明: 适宜浓度 IBA 处理能促进牛膝地上部分和根的生长, 使根的干重增加, 并能显著提高根中主要药用成分齐墩果酸、蜕皮甾酮含量, IBA 的最佳浓度为 1.0 mg/L。但 IBA 对叶中齐墩果酸含量没有显著影响, 使蜕皮甾酮的含量显著降低。

关键词:牛膝; 吲哚丁酸; 齐墩果酸; 蜕皮甾酮

中图分类号:Q 945 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)20-0153-03

中药牛膝为苋科植物牛膝(*Achyranthes bidentata* Blume)的干燥根, 是著名的四大怀药之一, 其根内含有甾酮类、皂苷类、多糖、甜菜碱和微量元素等多种药用成分, 其中以齐墩果酸型三萜皂苷、蜕皮甾酮、多糖类为其主要活性成分^[1-2], 具有补肝肾、强筋骨、逐瘀通经、引血下行的功效^[3]。但药农在种植中偏施化肥, 使得牛膝枝繁叶茂, 而根部产量却不高, 主要药用成分的含量亦偏低。植物生长激素在植物体内分别或协调的调控着植物的生长发育、代谢及衰老等多种生理过程, 进而影响植物的产量和品质^[4]。国内外研究表明, 外源激素在农作物上的推广应用已产生了巨大的经济效益和社会效益^[5-7]。但植物生长调节剂在药用植物的应用方面尚未形成系统的技术体系, 前人研究多集中于药用植物的快速繁殖和再生体系的建立中使用了植物激素, 对药用植物的品质和活性成分有较明显的影响^[8-9]。但对药用植物的栽培的应用研究, 尤其是对牛膝产量和品质方面的研究甚少。吲哚丁酸(IBA)是一种植物生长调节物质, 可以促进不定根的形成, 多用于植物插条生根^[10], 并能提高植物光合作用和促进抗氧化酶的活性^[11]。据报道, 适量的 IBA 可以促进匍枝筋骨草根的生长, 使匍枝筋骨草组培苗根中 β -蜕皮甾酮量显著提高^[12]。因此, 现以牛膝为试材, 研究了 IBA 对牛膝生长及主要药用成分积累的调控作用, 以期对牛膝药材品质的提高提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料牛膝种子由河南省温县农业科学研究所提供。

试验试剂: 齐墩果酸和蜕皮甾酮标准品购自南京春秋生物工程有限公司(纯度 $\geq 98\%$)。

试验仪器: 安捷伦高效液相色谱仪(LC1200, 美国安捷伦公司), KQ-250B 型超声仪(昆山市超声仪器有限公司), 分析电子天平(北京赛多利斯仪器系统有限公司)。

1.2 试验方法

于 2013 年 4 月 23 日将牛膝种子播种在河南师范大学试验田, 用塑料薄膜覆盖。待幼苗长至 3~5 cm 高时, 行距 20 cm, 株距 5 cm, 并进行正常的大田管护。播种 40 d 后, 分别用浓度为 0.5 (T1)、1.0 (T2)、2.0 (T3)、3.0 (T4)、4.0 (T5) mg/L 的 IBA 对牛膝幼苗进行叶面喷洒, 以同样体积的蒸馏水喷洒为对照(CK), 每处理设置 3 行。40 d 后, 采收植株, 测定其形态指标, 并取全根及每株上部第 2 对叶子干燥后粉碎, 用于齐墩果酸、蜕皮甾酮测定。

1.3 项目测定

1.3.1 生物学指标 随机采挖 10 株用刻度尺测定株高、根长; 将植物鲜样品置 105℃ 烘箱中杀青 15 min, 60℃ 烘干至恒重称重。

1.3.2 齐墩果酸测定 参照 Li 等^[13]方法, 分别称取供试样品 0.5 g(每样品 3 份), 加甲醇 10 mL, 超声提取 40 min, 滤去残渣, 并用甲醇洗涤容器和残渣数次, 于旋转蒸发仪减压浓缩滤液。浓缩后样品加 10 mL 4 mol/L 盐酸, 85℃ 水解 2 h, 冷却后加入氯仿 10 mL, 在 60℃ 回流萃取 2 次(15 min/次), 收集下层液并减压浓缩至干, 用甲醇定容至 3 mL, 摇匀, 微孔滤膜(0.22 μ m)过滤, 用于

第一作者简介:李金亭(1962-), 女, 河南新乡人, 博士, 教授, 硕士生导师, 现主要从事药用植物学等研究工作。E-mail: Ljt66882004@126.com

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81274076); 河南省基础与前沿资助项目(122300410430, 132300410214)。

收稿日期:2014-05-27

HPLC 测定。色谱条件: 色谱柱 C_{18} 柱 (4.6 mm × 250 mm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (90 : 10 : 0.1), 流速 0.6 mL/min, 柱温 25℃; 检测波长 210 nm, 进样量 10 μL。以齐墩果酸为标准品, 其回归方程为: $y = 12\,463x - 240.32$, $R^2 = 0.9995$ 。

1.3.3 蜕皮甾酮测定 参照李金亭等^[14]方法, 分别称取供试样品 0.5 g (每样品 3 份), 加甲醇 10 mL, 超声提取 40 min, 滤去残渣, 甲醇洗涤容器和残渣数次, 于旋转蒸发仪减压浓缩至干, 加甲醇定容至 3 mL, 摇匀, 微孔滤膜 (0.22 μm) 过滤, 用于高效液相色谱 (HPLC) 测定。色谱条件: 色谱柱反向碳 18 柱 (4.6 mm × 250 mm); 流动相为甲醇-水-冰醋酸 (45 : 55 : 0.05); 流速 0.9 mL/min; 室温; 检测波长 248 nm。以蜕皮甾酮为标准品, 其回归方程为: $y = 39\,948x - 287.56$, $R^2 = 0.9998$ 。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 和 Excel 软件进行处理和作图。

表 1

外源 IBA 对牛膝生长的影响

Table 1

Effect of exogenous indole butyric acid (IBA) on *Achyranthus bidentata* growth

IBA 浓度 IBA concentration/(mg · L ⁻¹)	株高 Plant height/cm	根长 Root length/cm	根干重 Root dry weight/g
0 (CK)	49.73 ± 4.22 (c)	17.03 ± 2.11 (d)	0.37 ± 0.03 (d)
0.5 (T1)	52.68 ± 0.83 (c)	18.63 ± 1.19 (d)	0.57 ± 0.02 (ab)
1.0 (T2)	64.43 ± 5.09 (ab)	22.70 ± 2.02 (c)	0.62 ± 0.05 (a)
2.0 (T3)	66.43 ± 3.98 (a)	26.13 ± 2.35 (b)	0.56 ± 0.07 (b)
3.0 (T4)	60.45 ± 3.95 (b)	29.20 ± 1.27 (a)	0.48 ± 0.03 (c)
4.0 (T5)	61.48 ± 3.89 (ab)	31.65 ± 1.26 (a)	0.40 ± 0.04 (d)

注: 不同字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异 (n=10), 下同。

Note: Different letters show significant difference at 0.05 level (n=10), the same below.

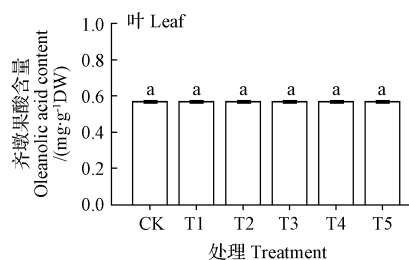
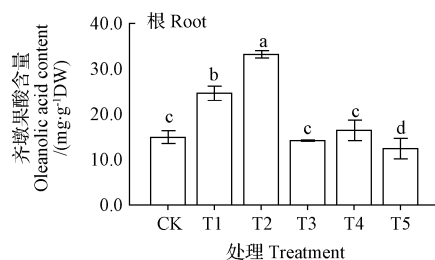


图 1 外源 IBA 对牛膝根和叶中齐墩果酸含量的影响

Fig. 1 Effect of exogenous indole butyric acid (IBA) on the content of oleanolic acid of roots and leaves of *Achyranthus bidentata*

为 1.0 mg/L (T2) 时, 齐墩果酸含量达到最大值, 比对照提高 121.9% ($P < 0.05$)。

2.3 外源 IBA 对蜕皮甾酮含量的影响

由图 2 可知, IBA 对牛膝叶和根中蜕皮甾酮积累的影响完全相反。不同浓度 IBA 均能显著促进蜕皮甾酮在根中的积累 (图 2A), 而叶中蜕皮甾酮含量随 IBA 浓度的增高而减少 (图 2B)。当 IBA 浓度为 1.0 mg/L (T2) 时, 根中蜕皮甾酮含量达到最大值, 比 CK 提高 40.7% ($P < 0.05$)。

3 讨论与结论

药用植物的活性物质大多是次代谢产物, 探讨次级

2 结果与分析

2.1 不同浓度 IBA 对牛膝生物学性状的影响

由表 1 可知, 不同处理对牛膝株高、根长、根干重均较 CK 有不同程度的增加。牛膝株高和根长增高幅度分别为 5.93%~33.58%、9.40%~85.85%, 除低浓度处理 (IBA 0.5 mg/L) 外, 其余各处理均与 CK 之间达到了显著差异 ($P < 0.05$), 其中 IBA 2.0 mg/L (T3) 处理对牛膝株高的促进作用最大, 而高浓度的 IBA (4.0 mg/L) 最有利于根的增长。与 CK 比较, 各浓度 IBA 处理均有利于牛膝地下部分生物量积累, 其中 1.0 mg/L IBA 处理最利于牛膝药用部分根生物量的积累 ($P < 0.05$)。

2.2 外源 IBA 对齐墩果酸含量的影响

不同浓度 IBA 处理对牛膝叶中齐墩果酸含量均无显著的影响 (图 1B), 但对牛膝根中齐墩果酸的积累影响较大 (图 1A)。根中齐墩果酸含量随 IBA 浓度的升高而变化, 低浓度的 IBA 能促进齐墩果酸的积累, 而高浓度的 IBA 则不利于牛膝根中齐墩果酸的积累, 当 IBA 浓度

代谢产物在植物体内合成的影响因素, 在栽培生产过程中采取有效措施对其加以调控, 以达到提高有效成分含量, 提高药材的品质, 具有重要意义。植物激素作为外源调节因子在药用植物的大田栽培上的应用报道较少。IBA 是一种生长类植物生长调节剂, 对植物生长发育的许多过程具有一定的调控作用, 能影响细胞的伸长、分裂和分化^[15]。该研究表明, 各浓度 IBA 处理均有利于牛膝地上部分及根的生长, 其中 1.0 mg/L IBA 处理对牛膝药用部分根生物量的积累最佳 ($P < 0.05$)。

植物激素不仅是调节植物生长的关键因子, 还能影响细胞次级代谢产物的合成^[16]。低浓度的 IBA 能显著

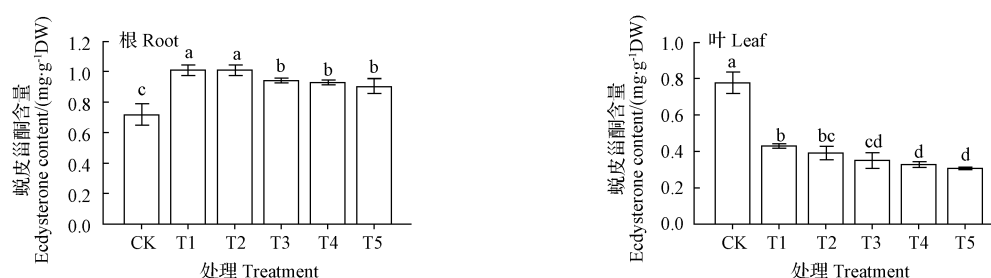


图2 外源 IBA 对牛膝根和叶中蜕皮甾酮含量的影响

Fig. 2 Effect of exogenous indole butyric acid (IBA) on the content of ecdysterone of roots and leaves of *Achyranthus bidentata*

促进人参毛状根中人参皂苷的积累^[17],促进使匍枝筋骨草根中蜕甾酮含量显著提高^[12]。该试验结果表明,低浓度的 IBA 处理能促进牛膝根中齐墩果酸和蜕皮甾酮的积累,其中 IBA 为 1.0 mg/L 时根中齐墩果酸和蜕皮甾酮含量最高,分别达到 33.0、1.0 mg/g,分别是 CK 的 2.2、1.4 倍。不同浓度 IBA 对叶中齐墩果酸的含量没有显著性影响,而对蜕皮甾酮量呈负效应,叶中蜕皮甾酮量随 IBA 浓度的增加而降低。表明适量的 IBA 处理有利于牛膝根中齐墩果酸、蜕皮甾酮的积累。大田栽培中激素作用的外界条件非常复杂,因此有关 IBA 对牛膝的生长及主要药用成分含量的影响还有待进一步研究。该研究结果为 IBA 在牛膝栽培上的应用及其对牛膝次生代谢产物齐墩果酸和蜕皮甾酮积累影响提供了基础研究。

参考文献

- [1] 孟大利,李铤,熊印华,等. 中药牛膝化学成分研究[J]. 沈阳药科大学学报,2002,19(1):27-30.
- [2] Nicolov S, Thuan N, Zheljazlov V. Flavonoids from *Achyranthes bidentata* Bl[J]. Acta Hort, 1996, 426: 75-78.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京:人民卫生出版社,2010:67-68.
- [4] Bowman J L, Floyd S K. Patterning and polarity in seed plant shoots[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59: 67-88.
- [5] Li X Y, Qian Q, Fu Z M, et al. Control of tillering in rice[J]. Nature, 2003, 422(10): 618-621.
- [6] Li X Y, Wang C, Nie P P, et al. Characterization and expression analysis of the SNF2 family genes in response to phytohormones and abiotic stresses in rice[J]. Biologia Plantarum, 2011, 55(4): 625-633.
- [7] Nie P P, Li X Y, Liu Y G, et al. Expression analysis of nuclear W2-containing homologs of eukaryotic initiation factors in rice[J]. Biologia, 2011, 66(5): 828-832.
- [8] 徐立新,赵寿经,梁彦龙,等. 外源调节物质对人参毛状根生长及皂苷合成的影响[J]. 吉林大学学报(工业版), 2010, 40(6): 1619-1623.
- [9] 李志良,李干雄,饶秋容,等. 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[J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(1): 62-65.
- [10] 朱惠香,张宗俭,陈虎保,等. 常用植物生长调节剂应用指南[M]. 北京:化学工业出版社,2002:5-57.
- [11] 何生根,乔爱民,肖桂深,等. 吡啶丁酸对水栽黑美人根系生长的影响[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2002, 15(2): 1-4.
- [12] 赵晓杰,李晓灿,宇佳. 生长调节剂和培养方式对匍枝筋骨草根及β-蜕皮激素量的影响[J]. 中草药, 2011, 42(9): 1828-1832.
- [13] Li J T, Hu Z H. Accumulation and dynamic trends of triterpenoid saponin in vegetative organs of *Achyranthus bidentata* [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2009, 51(2): 122-129.
- [14] 李金亭,滕红梅,胡正海. 牛膝营养器官中蜕皮甾酮的积累动态研究[J]. 中草药, 2007, 38(10): 1570-1573.
- [15] 赵普庆,童富淡,王俏梅. 生长素信号转导研究进展[J]. 细胞生物学杂志, 2004, 26(2): 113-118.
- [16] Meyer H J, Standen J. The in vitro production of an anthocyanin from cell cultures of *oxalis linearis* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1995, 40: 55-58.
- [17] 徐立新,赵寿经,梁彦龙,等. 外源调节物质对人参毛状根生长及皂苷合成的影响[J]. 吉林大学学报(工学版), 2010, 40(6): 1619-1623.

Effect of IBA on Growth of *Achyranthus bidentata* and the Accumulation of Major Medicinal Components

LI Jin-ting¹, ZHANG Yuan-hao¹, GUO Xiao-shuang¹, WANG Can¹, LI Ke¹, HU Zheng-hai²

(1. Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs, College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang, Henan 453007; 2. College of Life Science, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069)

Abstract: Taking seedlings of *Achyranthus bidentata* as material, the effect of indole butyric acid (IBA) with different concentrations on the growth of *Achyranthus bidentata* and content of oleanolic acid and ecdysterone were studied. The results showed that 1.0 mg/L IBA treatment significantly increased plant height, root length, root dry weight, and improved the accumulation of oleanolic acid and ecdysterone in the root of *Achyranthus bidentata*. The influence of IBA on content of oleanolic acid was not significant, but IBA significantly inhibited the ecdysterone in leaves.

Keywords: *Achyranthus bidentata*; indole butyric acid (IBA); oleanolic acid; ecdysterone