

# 石斛原球茎的组织培养研究进展

徐路加, 华允芬

(浙江工业大学 药学院, 浙江 杭州 310000)

**摘要:**石斛是名贵的中草药之一,含有多糖、生物碱、氨基酸和微量元素等多种成分,具有增强免疫、抗肿瘤、抗疲劳、降血糖和养阴生津等多种生物活性。现对影响石斛原球茎增殖和分化的培养基、植物生长调节剂、金属元素与附加物、碳源和多胺、培养方式等因素以及原球茎的保存和有效成分积累进行了综述;总结了石斛原球茎多糖的生物活性作用;并对今后的研究重点进行了展望,建议应该在寻找影响石斛原球茎生长速度和生物产量的各种理化因素上进行深入研究。

**关键词:**石斛;原球茎;组织培养;研究进展

**中图分类号:**R 931.71 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)06-0191-05

石斛属是兰科植物中的第二大属,全世界约有1 400多种<sup>[1]</sup>。在我国传统医学中,石斛属多种植物的新鲜或干燥茎被作药用,统称石斛。由于石斛在自然条件下生长的环境较为苛刻,加上生态环境的日益恶化和人们的过度采挖,导致野生石斛资源濒临灭绝。利用植物细胞培养技术获得组织培养物来替代原植株作为药源,是可持续利用石斛资源的有效方式之一。通过原球茎(PLBs)途径进行石斛兰组培扩繁,具有与植株同样的物质代谢和形态发育潜能,不仅繁殖倍数高,生长迅速,而且基本不会导致品种变异,可以保持品种的稳定性,具备大规模生产的潜力<sup>[2]</sup>。该文综述了影响石斛原球茎增殖、分化、保存及有效成分积累的因素,并介绍了石斛原球茎多糖的生物活性作用,为后续石斛的生产和应用提供参考。

## 1 影响石斛原球茎增殖、分化及保存的因素

### 1.1 影响原球茎增殖的因素

1.1.1 培养基 不同的培养基对原球茎增殖效率是不同的。莫昭展等<sup>[3]</sup>选取相同条件下生长良好的原球茎接种于1/2MS、MS、改良MS(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>减少50%,其余与MS相同)、B5、N6等5种基本培养基上,以固体培养方式进行培养,45 d后观察原球茎的增殖情况,结果发现铁皮石斛原球茎在改良MS培养基中的增殖倍数最

高,1/2MS、MS次之,N6最差。在对流苏石斛原球茎增殖的研究中发现了类似情况,对5种培养基成分进行分析发现,原球茎增殖与大量元素无机盐含量有关<sup>[4]</sup>;魏小勇<sup>[5]</sup>首次建立了铁皮石斛原球茎悬浮培养体系,将PLBs接种于6种培养基中,于恒温摇床上以50 r/min的摇速进行培养,结果不同的培养基对悬浮培养的铁皮石斛体细胞增殖差异显著,无论是PLBs的数量还是鲜重,均以1/4MS培养基最优。

1.1.2 植物生长调节剂 植物生长调节剂即植物激素与原球茎增殖有很大关联。以MS为基本培养基,附加不同浓度的NAA、6-BA、2,4-D、KT,观察不同植物激素对原球茎的增殖影响。张桂芳等<sup>[6]</sup>发现2,4-D对原球茎的生长和增殖不利,但是附加一定浓度的6-BA、KT、NAA则有利于原球茎的增殖,增殖效果最好的是1.0 mg/L KT和0.2 mg/L NAA配合使用,原球茎颜色深绿,增殖倍数最高且生长健壮而未分化;杨柳平等<sup>[7]</sup>研究了不同激素对比对原球茎增殖的影响,结果原球茎增殖在较低浓度的NAA、KT及6-BA配合使用培养效果较好,并且无畸形原球茎产生;戴传云等<sup>[8]</sup>用6-BA、NAA及KT进行3因素3水平正交实验,得出对原球茎增殖影响的大小顺序为NAA、6-BA、KT,筛选出了最优培养基激素组合为2.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L KT。ABA即脱落酸也是一种重要的植物激素,将原球茎接种到8种不同浓度的ABA培养基中,发现在低浓度条件下,随激素浓度的增加,原球茎的增殖速度加快;当ABA浓度为0.5 mg/L时,原球茎增殖速度最大;继续提高激素浓度,抑制原球茎的增殖,有利于原球茎的分化<sup>[9]</sup>。

1.1.3 金属元素与附加物 林丛发等<sup>[10]</sup>通过单因素浓

**第一作者简介:**徐路加(1990-),男,硕士研究生,研究方向为天然产物化学。E-mail:657608499@qq.com.

**责任作者:**华允芬(1978-),男,副教授,硕士生导师,研究方向为天然产物化学。E-mail:huayf@zjut.edu.cn.

**基金项目:**浙江省自然科学基金资助项目(LQ12CO2003)。

**收稿日期:**2013-12-12

度试验和正交实验研究了 5 种金属离子、不同天然附加物对铁皮石斛类原球茎增殖的影响。结果表明,5 种金属离子对类原球茎增殖的影响大小顺序为  $Mg^{2+} > Fe^{2+} > Ca^{2+} > Mn^{2+} > Zn^{2+}$ , 3 种天然附加物马铃薯汁、苹果汁及香蕉汁,对 PLBs 增殖的影响差异显著,其中以马铃薯汁和苹果汁对 PLBs 增殖促进作用最大。在研究不同浓度的 PP<sub>333</sub> (多效唑)和腺嘌呤对原球茎增殖影响中发现,PP<sub>333</sub> 和腺嘌呤对原球茎的增殖均有明显的促进作用,当 PP<sub>333</sub> 浓度为 1.5 mg/L、腺嘌呤浓度为 3 mg/L 时,原球茎增殖量最大且原球茎大而健壮<sup>[4]</sup>。

1.1.4 培养方式 沐德俊等<sup>[11]</sup>研究了霍山石斛原球茎在不同培养方式下的生长情况,结果表明增殖情况光培养明显优于暗培养,原因是植物生长需要充足的光照和养分,充足的光照给予植物体必需的生长条件,使其能进行光合作用,有助于霍山石斛原球茎的增殖;液体静态培养优于固体培养和液体振荡培养,原因可能是液体静态培养比固体培养在营养分布上更加均匀,养分的吸收面积也更大,而液体振荡作用可能会使尚处于幼体期,各组织发育尚未成熟的原球茎发生碰撞、挤压等导致此种方式未能加大增殖量;表面培养的生长情况比埋入培养好,推断其原因在于表面培养原球茎可以得到充分的氧气、受光面积,养分调配组合也比较适当。魏小勇<sup>[12]</sup>通过固体静置、液体静置、液体振荡(50 r/min)3 种培养方式考察 PLBs 的增殖情况,仅从鲜重来看液体静置的培养方式增殖最快,而振荡培养形成的 PLBs 较易脱落而分散,使振荡培养的 PLBs 数量最多,说明液体振荡培养更适合铁皮石斛 PLBs 数量的增加。然而液体静置培养的原球茎容易腐烂,培养一段时间后有恶臭味,原因可能是原球茎浸泡在培养基中不能与空气充分接触,导致增殖受到抑制,这与沐德俊等<sup>[11]</sup>的研究结果不相符。

## 1.2 影响原球茎分化的因素

1.2.1 培养基与植物生长调节剂 采用 MS、1/2MS、全 1/2MS 和 67-V 培养基研究其对原球茎分化的影响,侯丕勇等<sup>[13]</sup>发现全 1/2MS 和 67-V 培养基均不利于原球茎分化成苗,而 MS 培养基上的部分原球茎容易分化成苗。促进原球茎生长和分化的激素有 NAA、IBA、IAA 和 GA,其中 GA 促进分化的作用较强,在探讨铁皮石斛原球茎再生的理想培养基中发现添加 NAA 和 KT 均能促进原球茎分化,通过组合使用得出的铁皮石斛原球茎较理想的分化培养基为 MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L<sup>[14]</sup>;邵世光等<sup>[15]</sup>对 6-BA、BA 及 pH 值 3 因素 3 水平进行正交实验,研究其对原球茎分化的影响得出,原球茎分化程度的因素为 BA 浓度>6-BA 浓度>pH 值。在产生的结果相差不大的情况下,应选择低浓度的激素组合,以免扰乱植物体内的激素水平,造成细胞的

变异,产生畸形苗<sup>[16]</sup>。不同的培养阶段选择不同的培养基对植物培养的效果有一定的影响,包英华等<sup>[17]</sup>将美花石斛原球茎培养于含有不同生长调节物质的 SH 培养基上,结果发现,美花石斛原球茎分化的不同阶段,不同生长调节物质产生的影响不同,含有香蕉提取物和 BAP 2.0 mg/L+KT 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 的 SH 培养基对鲜重增加影响较显著;白萝卜汁对叶片分化有一定的促进作用;含有酵母提取物的 SH 培养基对增殖芽和不定根分化效果最好。

1.2.2 碳源和多胺 碳源对原球茎分化生芽的影响大小取决于碳源的类型和浓度。Luo 等<sup>[18]</sup>将蔗糖、麦芽糖、葡萄糖和果糖 4 种不同碳源添加到 1/2MS 培养基中,研究对原球茎分化的影响,发现浓度范围在 5.0~40.0 g/L 对原球茎分化具有不同的影响,其中以添加 10 g/L 的麦芽糖分化效果最显著;从远海梭子蟹中提取到的 6 种壳聚糖分别用 P-70、P-80、P-90、O-70、O-80 和 O-90 表示,并以不同的浓度添加到培养基中,对石斛原球茎分化生芽效果最佳的是 10 mg/L 或 20 mg/L 的壳聚糖 O-80,并在一定程度上可以提高原球茎移植的存活率<sup>[19]</sup>。多胺促进原球茎分化与内源激素水平的改变存在一定的联系。增加外源多胺含量,主要是亚精胺和腐胺,在浓度为 2.0 mM 时,可以显著促进原球茎分化生芽,并伴随着内源多胺含量的升高和总细胞分裂素(CTKs)和生长素(IAA)的比率增大,分析酶活性显示多胺抑制了解 CTKs 的氧化酶活性,却提升了分解 IAA 的氧化酶活性;通过多胺的运用,可以调节内源激素水平,特别是 CTKs 和 IAA,它们在原球茎分化中扮演着重要角色<sup>[20]</sup>。Wei 等<sup>[21]</sup>在培养基中添加 1.5 mM 的腐胺,显著促进了铁皮石斛原球茎分化生芽,并伴随着胞内总胺含量的升高,作用机制相类似。

1.2.3 其它因素 不同光照条件对石斛原球茎分化也会产生不同影响,Lin 等<sup>[22]</sup>将铁皮石斛原球茎分别置于暗处、白色荧光、红色 LEDs、蓝色 LEDs、红蓝(1:1)LEDs、红蓝(2:1)LEDs、红蓝(1:2)LEDs 等不同光照条件下,研究其对分化的影响,在蓝色 LEDs 光照下,原球茎的分化率最高,达到 85%,在红色 LEDs 光照下分化率最低,分化率的大小是随着蓝光比例增大而增大,原因可能是蓝光可以调节激素水平从而影响原球茎分化。将原球茎超声处理,可以改变原球茎的内源激素水平和抗氧化酶活性,从而影响原球茎分化,研究发现超声功率为 300 W,处理 5 min,促进原球茎分化的效果最好,并伴随着内源生长素(IAA)的降低和总细胞分裂素(CTKs)的升高,原因是由于超声抑制了解 CTK 的氧化酶活性,而加强了分解 IAA 的氧化酶活性,这些酶可以通过影响激素水平从而影响分化效率<sup>[23]</sup>。用低温处理原球茎 1~2 周也可以显著提高原球茎的分化率,原

因都是由于外界因素改变了内源激素水平从而影响原球茎分化<sup>[18]</sup>。

### 1.3 原球茎的保存

超低温是一种保存原球茎的常用方法,王君晖等<sup>[24]</sup>采用快速脱水干冻法、玻璃化法和缓慢脱水干冻法对原球茎的超低温保存进行了研究,用玻璃化保护剂 PVS2 处理 15 min,冷冻后的存活率可达 88%,类原球茎体的含水量干燥至 30%左右,其冻后存活率可达 48%~80%,3 种冻存方法的实质都是通过合适的脱水方式,使样品的胞内含水量达到玻璃化的条件,避免投入液氮贮存时胞内冰晶损伤。与低温保存相比,常温保存更加方便廉价,常温保存主要是通过改变培养基的成分,以减缓生长,延长继代时间而达到保存的目的,在对铁皮石斛原球茎的常温保存研究中发现,在常温 25℃,以 1/2MS 为基本培养基,蔗糖浓度为 1%,继代周期可达 10 个月,原球茎 5 a 内保持增殖和分化的能力<sup>[25]</sup>。

## 2 影响石斛原球茎有效成分积累的因素

### 2.1 石斛碱

石斛碱<sup>[26]</sup>是石斛属植物所特有的,认为是其主要有效成分之一,药理试验发现其有一定的止痛退热作用。石斛碱属于次生代谢产物,而诱导子的添加可以有效增强次生代谢产物的合成,它能快速、专一、有选择性的诱导某些特定基因的表达,通过改变次生代谢途径中催化酶的活性来达到提高次生代谢产物积累的目的。黄蓓等<sup>[27]</sup>添加诱导子植酸(PA)、硝普钠(SNP)和水杨酸(SA)发现 3 种诱导子均可促进霍山石斛原球茎中生物碱的积累,分别用 7.5 g/L PA、0.1 mmol/L SNP 和 100 mmol/L SA 处理的原球茎,其生物碱含量分别为不做处理的 1.84、2.02、1.62 倍,并提高了苯丙烷代谢途径中相关酶的活性,即可诱发霍山石斛原球茎中 PAL 的活化,从而提高生物碱的含量。而诱导子的处理方法、加入剂量、加入时间和作用时间等条件的不同对原球茎中生物碱的含量也会产生影响,通过酸性染料比色法测定铁皮石斛原球茎总生物碱含量得到的最优条件是将 MF24 液体发酵的发酵液作为诱导子,剂量为 250 mg/L,在第 16 周加入,继续培养 6 周后收获;但是具体产生诱导作用的物质基础还需要进一步的确证<sup>[28]</sup>;姚睿等<sup>[29]</sup>为大量快速生产多糖和石斛碱提供了一种新方法,即利用 3 L 气升式生物反应器,通过优化接种量、通气量和光照强度等条件来达到石斛碱产量的最大值。

### 2.2 多糖

2.2.1 培养基与培养方式 多糖也是石斛主要有效成分之一,很多时候我们用多糖含量的高低来衡量石斛材料的好坏。固体培养和液体培养是培养原球茎的 2 种常用培养方式,苏江等<sup>[30]</sup>研究发现液体培养在生物量、

多糖产量上均优于固体培养;韦晓新等<sup>[31]</sup>发现 MS、1/2MS、B5、N6 和 White 5 种培养基对原球茎的生长和多糖积累有不同的影响,其中 N6 培养基培养的原球茎多糖含量最高,最适合培养原球茎以获得多糖组分,在以转速、接种量、pH 3 因素 4 水平的  $L_{16}(4^3)$  正交实验中,发现各因素对石斛原球茎多糖积累的影响大小依次为转速、pH、接种量。

2.2.2 碳、氮源 不同种类和不同浓度的碳源对多糖产率的影响很大,何铁光等<sup>[32]</sup>发现果糖、乳糖、葡萄糖、蔗糖 4 种碳源,葡萄糖和蔗糖对原球茎生长和多糖积累的影响优于乳糖和果糖,在以蔗糖为碳源的基础上,铁皮石斛原球茎生长和多糖积累所需的最佳蔗糖浓度是不同的,30 g/L 的蔗糖浓度对多糖积累最为适合。蔗糖不仅为原球茎提供了碳源,而且还调节了培养液的渗透压,高渗透压下有利于次生代谢产物的合成和积累,在培养第 20 天添加 5 g/L 蔗糖对原球茎多糖积累最为有利,干重量及多糖产量最高,原球茎的活力最强<sup>[33]</sup>。氮源是细胞生长所需的另一个重要营养物质。宋经元等<sup>[34]</sup>利用正交设计研究了不同浓度的硝态氮和铵态氮对原球茎生物量积累的影响,最佳组合为 100 mg/L  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  + 800 mg/L  $\text{KNO}_3$ 。氮源浓度过高,原球茎生长和代谢物的积累量则呈下降趋势,可能是氮素同化会与糖类物质的合成竞争碳骨架,在一定范围内,氮源的浓度越高,氮代谢越旺盛,所需碳骨架的量越大,较多的碳用于合成含氮有机化合物,多糖的积累将受到影响<sup>[35]</sup>。

2.2.3 植物激素、附加物与诱导子 苏江等<sup>[36]</sup>在研究植物激素对原球茎多糖合成的影响中发现,KT 对铁皮石斛原球茎多糖产量的影响达极显著水平,3 种植物生长调节剂对多糖合成的影响效果大小顺序为  $\text{KT} > \text{BA} > \text{NAA}$ ,最佳配比组合为  $\text{NAA} 0.6 \text{ mg/L} + \text{BA} 0.5 \text{ mg/L} + \text{KT} 1.5 \text{ mg/L}$ 。而在培养基中单独添加土豆汁、香蕉汁、芋头汁、蛋白胨和酵母粉,原球茎多糖含量有不同程度的提高,添加香蕉汁和芋头汁的培养基对原球茎生长和多糖合成效果均较好;同时添加土豆汁与香蕉汁混合物时,原球茎多糖合成效果好于单独添加,可能各有机物彼此之间存在一定的协同效应<sup>[37]</sup>。真菌诱导子由于在植物细胞培养生产次生产物过程中具有重要的调控作用而被广泛应用,不同真菌诱导子的作用不同,有的促进多糖合成,有的抑制多糖合成,研究 14 种真菌对多糖合成的影响,发现通过真菌诱导子 g6、g14、g5、g4 处理的原球茎,可使多糖含量分别提高 14%、9%、6%、4%<sup>[34]</sup>。

## 3 石斛原球茎多糖的生物活性作用

石斛多糖具有较强的抗氧化作用,何铁光等<sup>[38-39]</sup>分别对铁皮石斛原球茎多糖粗品(DCPP)和纯品(DCPP3c-



1、DCPP1a-1)的体外抗氧活性进行研究,发现其对自由基均有较好的去除作用,并呈现良好的量效关系,能有效抑制小鼠肝组织自发性氧化和  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{H}_2\text{O}_2$  诱导的脂质过氧化,小鼠肝线粒体脂质过氧化物 MDA 的产生以及减轻肝线粒体肿胀度。在抗肿瘤作用上,铁皮石斛原球茎多糖(DCPP1a-1)的 3 个剂量组 50、150、250 mg/g 对  $\text{H}_{22}$  肝癌小鼠有不同程度的抑瘤作用,抑瘤率分别为 28.6%、19.3%和 15.7%,以低剂量组抑瘤作用最为显著,多糖抑瘤率与剂量呈负相关,并增加了小鼠的胸腺和脾指数,增强了小鼠的机体免疫力,同时多糖对小鼠的体重变化影响不大<sup>[40]</sup>;李胜立等<sup>[41]</sup>发现霍山石斛类原球茎多糖具有相似的作用,可以促进 ConA 诱导的小鼠脾淋巴细胞的增殖反应和免疫器官指数的增加,且具有浓度依赖性,对小鼠进行解剖检查,肝、脾、肾、胃、肠、心、肺等主要脏器未见明显异常改变,表明多糖无毒,无致突变作用;林宏等<sup>[42]</sup>从铁皮石斛原球茎中分离得到 1 个分子量为  $1.55 \times 10^4$  Da 的酸性半乳聚糖 D-02C,其抑制补体活性的经典途径的  $\text{CH}_{50}$  为 1.573 mg/mL,具有较弱的抗补体活性。通过对野生霍山石斛多糖和类原球茎多糖组分和生物学活性进行比较发现,类原球茎多糖经纤维素柱分离后得到了与野生霍山石斛多糖相同的 5 个组分,并能明显刺激小鼠脾细胞和腹腔巨噬细胞,促进肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )与干扰素(IFN- $\gamma$ )的释放,2 种来源多糖的活性相当<sup>[43]</sup>;陈程等<sup>[44]</sup>从不同发育阶段的霍山石斛组织培养物中提取分离多糖,比较多糖的理化性质和免疫活性,发现不同发育阶段的霍山石斛多糖在分子量分布、单糖组成方面有差异,但活性差异不大,均具有一定的免疫活性。

#### 4 展望

近年来石斛的组织培养技术取得了重大进展,组织培养物其有效成分与原药材在生物活性作用上的相似性,使得其替代整棵植株作为药源成为了可能,不仅解决了野生资源稀少的问题,更带来了巨大的经济效益。今后的研究重点应该更多的放在寻找影响石斛原球茎生长速度和生物产量的各种理化因素,促进石斛合成药用成分的关键酶,诱导剂等,研究其具体的作用机理,探索在组织培养过程中石斛产量与药用成分含量最高的培养阶段,尽可能提高培养物中的药用成分含量及缩短培养周期,设计适合石斛类原球茎发酵培养的生物反应器,建立配套的培养模型,并更多的将研究方向和成果与石斛的大田移栽联系起来,从而真正实现石斛资源的产业化生产和可持续利用。

#### 参考文献

- [1] 刘莉,萧凤回. 石斛属药用植物多糖研究进展[J]. 现代中药研究与实践,2009,23(1):77.
- [2] 郑泉,郭维明,郑勇平,等. 超声波辅助诱导春石斛原球茎途径再生

体系的建立[J]. 江西农业大学学报,2009,31(6):1019.

- [3] 莫昭展,贝学军. 铁皮石斛原球茎增殖条件的研究[J]. 福建林业科技,2007,34(4):55-58.
- [4] 莫昭展,贝学军,符韵林,等. 流苏石斛原球茎增殖研究[J]. 林业科技,2008,33(6):59.
- [5] 魏小勇. 铁皮石斛种胚原球茎液体悬浮培养研究[J]. 中国现代应用药学,2005,22(6):471-473.
- [6] 张桂芳,关杰敏,黄松,等. 铁皮石斛原球茎的诱导与增殖影响因素研究[J]. 中药材,2011,34(8):1172.
- [7] 杨柳平,刘畅庆,赵仁发,等. 铁皮石斛种子诱导原球茎组培快繁体系的研究[J]. 广东农业科学,2012,39(7):54-57.
- [8] 戴传云,刘腾飞,管天冰,等. 铁皮石斛原球茎增殖培养基配方的优化[J]. 安徽农业科学,2011,39(10):5788-5789.
- [9] 莫昭展,贝学军,韦江萍,等. 不同培养条件对铁皮石斛原球茎增殖的影响[J]. 安徽农业科学,2007,35(22):6835-6836.
- [10] 林丛发,钟爱清,林云斌,等. 铁皮石斛类原球茎增殖和分化的研究[J]. 江西农业学报,2007,19(1):84-86.
- [11] 沐德俊,高剑英. 霍山石斛原球茎在不同培养方式下生长状态的研究[J]. 上海农业科技,2011(3):19-21.
- [12] 魏小勇. 铁皮石斛原球茎悬浮培养研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(4):7-11.
- [13] 侯丕勇,郭顺星. 悬浮培养的铁皮石斛原球茎在固体培养基上生长和分化的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(10):729-732.
- [14] 尹明华,聂凤琴,胡文韬,等. NAA 和 KT 对铁皮石斛原球茎增殖与分化的影响[J]. 黑龙江农业科学,2011(8):25.
- [15] 邵世光,侯北伟,周琪,等. 基于正交实验法的铁皮石斛原球茎分化和生根条件研究[J]. 南京师大学报,2009,32(4):98.
- [16] 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.
- [17] 包英华,白音,何清清. 美花石斛原球茎增殖及分化的研究[J]. 安徽农业科学,2007,35(3):675-677.
- [18] Luo J P, Christoph W, Brigitte K. Enhanced micropropagation of *Dendrobium huoshanense* C Z Tang et S J Cheng through protocorm-like bodies: The effects of cytokinins, carbohydrate sources and cold pretreatment[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 123:258-262.
- [19] Panisa P, Ronnawich S, Pongsathorn C. Improving the micropropagation efficiency of hybrid *Dendrobium* orchids with chitosan [J]. Scientia Horticulturae, 2010, 124:490-499.
- [20] Wang Y, Luo J P, Wu H Q. Conversion of protocorm-like bodies of *dendrobium huoshanense* to shoots: The role of polyamines in relation to the ratio of total cytokinins and indole-3-acetic acid/indole-3-acetic acid[J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166:2013-2022.
- [21] Wei M, Wei S H, Yang C Y. Effect of putrescine on the conversion of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* to shoots[J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2010, 102:145-151.
- [22] Lin Y, Li J, Li B. Effects of light quality on growth and development of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* in vitro [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 2011, 105:329-335.
- [23] Wei M, Yang C Y, Wei S H. Enhancement of the differentiation of protocorm-like bodies of *Dendrobium officinale* to shoots by ultrasound treatment [J]. Journal of Plant Physiology, 2012, 169:770-774.
- [24] 王君晖,张毅翔,刘峰等. 铁皮石斛种子、原球茎和类原球茎体的超低温保存研究[J]. 园艺学报,1999,26(1):59-61.
- [25] 蒙爱东,余丽莹,董青松,等. 铁皮石斛原球茎常温保存研究[J]. 广西植物,2009,29(6):808.

- [26] 涂红艳,刘伟,叶庆生. 细茎石斛拟原球茎生长与有效成分积累的关系[J]. 生物磁学,2004,4(3):37-41.
- [27] 黄蓓,洪萨丽,金青,等. 硝普钠、植酸和水杨酸对悬浮培养的霍山石斛原球茎生长和生理活性的影响[J]. 植物生理学通讯,2010,46(5):423.
- [28] 陈晓梅,孟志霞,郭顺星. 真菌诱导子与铁皮石斛原球茎作用条件的优化[J]. 中国药理学杂志,2008,43(20):1545-1549.
- [29] 姚睿,朴炫春,李铁军,等. 利用气升式生物反应器培养铁皮石斛原球茎[J]. 中国中药杂志,2012,37(24):3763-3767.
- [30] 苏江,罗兴录,何铁光,等. 铁皮石斛原球茎固体培养和液体悬浮培养动力学研究[J]. 西北农业学报,2007,16(4):161-165.
- [31] 韦晓新,苏江,何铁光. 几种因素对铁皮石斛原球茎生长和多糖积累的影响[J]. 广西农业科学,2008,39(5):601.
- [32] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 蔗糖对铁皮石斛原球茎生长与多糖积累的影响[J]. 安徽农业科学,2007,35(13):3817-3819.
- [33] 苏江,岑忠用,何铁光. 中途添加不同浓度蔗糖对铁皮石斛原球茎多糖积累的影响[J]. 广东农业科学,2010,37(9):65.
- [34] 宋经元,郭顺星,肖培根. 氮源和真菌诱导子对铁皮石斛原球茎悬浮培养的影响[J]. 云南植物研究,2008,30(1):105-109.
- [35] 查学强,罗建平,姜绍通. 悬浮培养霍山石斛原球茎合成活性多糖的研究[J]. 食品科学,2005,26(4):41-44.
- [36] 苏江,岑忠用,邓晰朝. 基于正交试验法的铁皮石斛原球茎生长和多糖合成研究[J]. 作物杂志,2013(2):84-90.
- [37] 王增利,史昊,张宗申. 铁皮石斛原球茎悬浮培养及其多糖积累的研究[J]. 河南农业科学,2012,41(2):129-131.
- [38] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCP1a-1 对氧自由基和脂质过氧化的影响[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(3):410-414.
- [39] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 铁皮石斛原球茎多糖粗品与纯品的体外抗氧活性研究[J]. 中成药,2007,29(9):1265-1269.
- [40] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCP1a-1 的理化性质及抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发,2007,19(4):578-583.
- [41] 李胜立,陈程,杨思林,等. 霍山石斛类原球茎免疫调节活性的有效部位及其毒理安全性评价[J]. 药物评价研究,2012,35(5):321-327.
- [42] 林宏,施松善,王顺春. 铁皮石斛原球茎多糖 D-02C 的结构特征及其抗补体活性[J]. 福建中医药,2012,43(3):54-57.
- [43] Zha X Q, Luo J P, Jiang S T. Enhancement of polysaccharide production in suspension cultures of protocorm-like bodies from *Dendrobium huoshanense* by optimization of medium compositions and feeding of sucrose[J]. Process Biochemistry, 2007, 42:344-351.
- [44] 陈程,吴胡琦,查学强,等. 霍山石斛组织快繁中不同发育阶段多糖理化性质和免疫活性的比较研究[J]. 中药材,2012,35(8):1195-1199.

## Research Advances on the Tissue Culture of Protocorm of *Dendrobium*

XU Lu-jia, HUA Yun-fen

(College of Pharmaceutical Science, Zhejiang University of Technology, Hangzhou, Zhejiang 310000)

**Abstract:** *Dendrobium* is one of the valuable chinese herbal medicine. It contains polysaccharides, alkaloids, amino acids, trace elements and other ingredients, which have many biological activities, such as strengthening immunity, anti-tumor, anti-fatigue, hypoglycemic and regenerating body fluid. Currently affecting protocorm proliferation and differentiation medium, plant growth regulators, metallic elements and appendages, carbon and polyamines, training methods and other factors and the preservation and accumulation of the active ingredients of the protocorm were reviewed; the biological activity polysaccharide of protocorms were summarized. And future research priorities were discussed, the proposal should be looking at a variety of physical and chemical factors affecting protocorm growth rate and biomass yield in-depth study.

**Key words:** *Dendrobium*; protocorm; tissue culture; research advance

## 石斛的功效

石斛药用历史悠久,是我国久享盛名的名贵常用中药,具有药用和保健作用。石斛茎中含有多种生物碱、多糖、氨基酸及淀粉等,具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳、明目强身等功效。石斛还具有抗肿瘤、抗衰老、增强机体免疫力、扩张血管及抗血小板、治疗白内障等作用。正宗的石斛是多年生草本植物,茎丛生,圆柱型,高 10~30 cm,粗 3~8 mm。干后呈青灰色,叶纸质,长圆状披针形。叶梢下延时留 1 个环状间隙,形成“黑节”。略具有青草香气,嚼之味淡,初有粘滑感,久之则有浓厚粘滞感。安徽省霍山县的霍山石斛是铁皮石斛中的极品,胶质饱满、久嚼无渣、个头沉实、功效最佳。

(来源:百度百科)