

广藿香挥发油对其组织培养幼苗化感自毒作用的研究

唐 堃, 李 明, 赵 盼, 董 闪, 黄 结 雯, 李 龙 明

(广东药学院 中药学院, 广东 广州 510006)

摘 要:以广藿香挥发油及广藿香组织培养幼苗为试材,采用组织培养法,研究广藿香挥发油对其组织培养幼苗生长的影响。结果表明:广藿香挥发油对其组培苗的株高、主根长、鲜重、干重、生根数等具有不同程度的抑制作用;随挥发油浓度的升高,对扦插苗株高、主根长、鲜重、干重、生根数的抑制作用越明显,并导致其幼苗 POD、CAT 活性的升高和 MDA 含量的增加。

关键词:广藿香;化感自毒作用;挥发油;组织培养

中图分类号:S 567. 239 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)19—0128—04

化感作用(Allelopathy)是指一种活体生物(植物或微生物)产生并通过挥发、淋溶、分泌和分解等方式向环境释放某些化学物质而对周围的生物产生直接或间接有利或不利影响的现象^[1]。自毒作用(Autotoxicity)是化感作用重要形式之一,指植物所释放出的次生代谢物对自身或种内其它植物生长造成危害的一种现象^[2]。国内外研究表明,挥发性成分是植物的重要化感物质之一,且挥发是植物释放化感物质的重要途径^[1],胜红蓟(*Ageratum conyzoides*)^[3]、鼠尾草(*Salvia leucophylla*)^[4]和土荆芥(*Chenopodium ambrosioides* L.)^[5]等植物的挥发性成分均具有明显的化感作用。广藿香来源于唇形科刺蕊草属植物广藿香 [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.] 的干燥地上部分^[6],是常用的芳香化湿类中药,该课题组研究发现广藿香具有化感自毒作用并会对其幼苗造成影响^[7],广藿香药材中含挥发性成分广藿香油,因此,该研究采用组织培养技术研究了广藿香挥发油对其组培幼苗生长的影响,以期为进一步探讨广藿香中存在的化感物质及揭示连作障碍成因及其作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试广藿香取自广东药学院大学城校区药圃,经李明教授鉴定为唇形科植物广藿香 [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.]。

第一作者简介:唐堃(1989-),男,陕西西安人,硕士研究生,研究方向为中药资源及药用植物标准化生产。E-mail: taykun@163.com.

责任作者:李明(1963-),女,黑龙江人,教授,研究方向为药用植物质量控制及生理生态。E-mail: 13539843803@163.com.

基金项目:广东省科技计划资助项目(2011B031700067);广东药学院中药学重点学科专项基金资助项目。

收稿日期:2014-04-21

1.2 试验方法

1.2.1 广藿香挥发油的提取 将供试的广藿香材料采收炮制后,利用水蒸气蒸馏法提取挥发油,将广藿香药材粉碎后置于圆底烧瓶中,加适量水,连接挥发油测定器和回流冷凝管,自冷凝管上端加水,使沸腾的水蒸气和挥发油成分冷凝回流至测定仪中,直至测定仪中油量不再增加后停止加热,放置片刻,开启测定仪下端活塞,缓缓放出水后,收集挥发油成分,并用无水硫酸钠干燥后置于 4℃ 冰箱保存备用。

1.2.2 广藿香无菌试管苗的诱导 采用 MS 培养基加不同诱导激素法诱导广藿香愈伤组织和丛生芽,并将丛生芽转移至壮苗培养基壮苗后备用。

1.2.3 广藿香挥发油对其无菌组培苗化感自毒作用的处理 采用 1/2MS+0.2 mg/L 吲哚丁酸(IBA)培养基对广藿香无菌苗进行生根诱导。取容量为 240 mL 的培养瓶若干,分别加入 30 mL 上述培养基灭菌,将紫外光灭菌的广藿香挥发油按 0.5、1.0、1.5、2.0 μL/30mL 培养基的浓度分别加入未冷却的培养基中混合,以不加广藿香挥发油的培养基作为对照,每个浓度 30 株组培苗,每处理 3 次重复。将培养瓶置于温度(26±1)℃,每天光照 12 h,光照强度 2 000 lx 的培养架上培养,观察生长情况。

1.3 项目测定

将广藿香组培苗培养 20 d 后测定其生长指标包括幼苗的株高(cm)、主根长(cm)、平均生根数(条),将 5 株组培苗的总体鲜重和总干重分别记为幼苗的鲜重(g)和干重(g),并测定组培苗全株的过氧化物酶(POD)活性、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量。组培广藿香幼苗的株高、主根长和鲜重均采用常规方法测定;将组培苗在 105℃ 的烘箱中杀青 0.5 h 后置于 65℃ 的烘箱中烘至恒重,测定幼苗的干重。参考张志良^[8]的方法测定扦插苗 POD、CAT 的活性和 MDA 含量,每组数据

3次重复,取平均值。

1.4 数据分析

广藿香挥发油对其幼苗生长的影响用化感作用效应指数(response index, RI)衡量,当 $T \geq C$ 时, $RI = 1 - C/T$; 当 $T < C$ 时, $RI = T/C - 1$ 。其中: C 为对照值, T 为处理值, RI 为化感效应指数 ($RI > 0$ 为促进作用, $RI < 0$ 为抑制作用, 绝对值大小与作用强度一致)^[9]。

采用 Excle 2007 和 SPSS 19.0 软件对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 广藿香挥发油对其组培苗生长的影响

培养中发现处理后第 3~5 天时, 添加 2 μL 挥发油培养基处理组的广藿香组培幼苗逐渐发白, 第 7 天后幼苗几乎全部死亡(图 1)。第 20 天时进行观察统计, 与对照组相比, 随着向培养基中添加挥发油剂量的增加, 各浓度处理组广藿香组培幼苗植株与叶片逐渐发黄变小, 根基部发黄, 1.5 μL 剂量处理的部分幼苗基部倒数第 1、2 片叶片明显发黄。

由表 1 可知, 随着向培养基中添加挥发油剂量的增加, 广藿香组培苗的生长均受到抑制, 与对照组相比, 广藿香组培苗的株高依次分别降低了 10.94%、23.87% 和 44.79%, 其中 1.0 μL 和 1.5 μL 剂量处理组较对照组差异显著 ($P < 0.05$), 主根长较对照组相比分别降低了 12.70%、50.79% 和 68.25%, 其中 1.0 μL 和 1.5 μL 剂量处理组较对照组差异显著 ($P < 0.05$), 鲜重较对照组

分别降低了 23.5%、32.55% 和 46.06%, 干重较对照组分别降低了 9.43%、18.87% 和 26.42%, 组培苗的平均生根数较对照组相比分别降低了 25%、40.9% 和 59.1%, 广藿香组培苗的鲜重、干重和平均生根数均随着向培养基中添加挥发油剂量的增加而受到了显著地抑制 ($P < 0.05$)。综合分析广藿香挥发油对其组培苗生长的化感效应指数, 由表 2 可知, 随着向广藿香组培苗培养基中添加挥发油的剂量增加, 广藿香组培苗的株高、主根长、鲜重、干重和平均生根数等生长指标均受到了抑制作用 ($RI < 0$), 说明广藿香挥发油对其组培苗的生长产生了抑制效应, 且随着剂量的增加, 抑制效应明显。



图 1 2.0 μL 广藿香挥发油剂量处理的广藿香组培幼苗生长影响

Fig. 1 Effect of volatile oil of *Pogostemon cablin* (2.0 μL) on seedling growth of its tissue culture seedlings

表 1

广藿香挥发油对其组培苗生长的影响

Table 1 Effect of volatile oil of *Pogostemon cablin* on seedling growth of its tissue culture seedlings

挥发油剂量 Volatile oil dose/ μL	株高 Plant height/cm	主根长 Root length/cm	鲜重 Fresh weight/g	干重 Dry weight/g	生根数 Root number/条
CK	3.84 \pm 0.02a	1.26 \pm 0.06a	0.851 \pm 0.008a	0.053 \pm 0.002a	17.6 \pm 1.14a
0.5	3.42 \pm 0.05ab	1.10 \pm 0.03a	0.651 \pm 0.002b	0.048 \pm 0.003b	13.2 \pm 1.79b
1.0	3.10 \pm 0.01b	0.62 \pm 0.05b	0.574 \pm 0.003c	0.043 \pm 0.001c	10.4 \pm 1.13c
1.5	2.12 \pm 0.01c	0.40 \pm 0.07b	0.459 \pm 0.005d	0.039 \pm 0.003d	7.2 \pm 1.48d

注: 添加 2.0 μL 挥发油的处理植株死亡, 故不进行数据分析, 同组不同字母表示差异达到 0.05 显著性水平, 下同。

表 2

广藿香挥发油对其组培苗生长的化感作用效应指数

Table 2 Allelopathy of volatile oil of *Pogostemon cablin* on seedling growth of its tissue culture seedlings

挥发油剂量 Volatile oil dose/ μL	株高 Plant height	主根长 Root length	鲜重 Fresh weight	干重 Dry weight	生根数 Root number
0.5	-0.11	-0.13	-0.23	-0.09	-0.25
1.0	-0.19	-0.51	-0.32	-0.19	-0.41
1.5	-0.45	-0.68	-0.46	-0.26	-0.59

2.2 广藿香挥发油对其组培苗 POD 活性的影响

由图 2 可知, 经广藿香挥发油处理 20 d 后, 组培苗 POD 活性均高于对照组, 与对照组相比, 在向培养基中添加挥发油处理组的组培苗 POD 活性分别提高了 2.48%、13.2% 和 21.2%, 其中添加 1.0 μL 和 1.5 μL 剂量处理组较对照组差异显著 ($P < 0.05$)。

2.3 广藿香挥发油对其组培苗 CAT 活性的影响

由图 3 可知, 经广藿香挥发油处理 20 d 后, 组培苗

CAT 活性均高于对照组, 与对照组相比, 向培养基中添加挥发油处理组的组培苗 CAT 活性分别提高了 17.5%、27.3% 和 42.9%, 组培苗 CAT 活性随着挥发油剂量的增加而显著增强 ($P < 0.05$)。

2.4 广藿香挥发油对其组培苗 MDA 含量的影响

MDA 是膜脂氧化的最终分解产物, 其含量可以反映植物遭受逆境伤害的程度, 由图 4 可知, 经广藿香挥发油处理 20 d 后, 组培苗 MDA 含量均高于对照组,

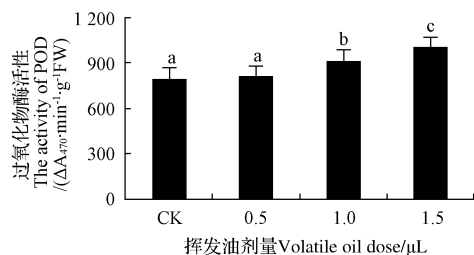


图2 广藿香挥发油对其组培苗 POD 活性的影响

Fig. 2 Effect of volatile oil of *Pogostemon cablin* on the activity of POD in its tissue culture seedlings

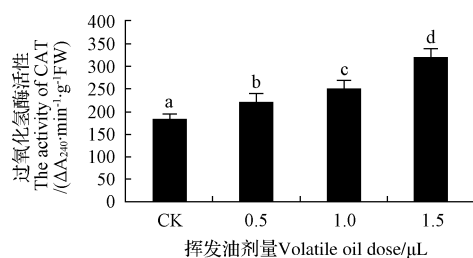


图3 广藿香挥发油对其组培苗 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of volatile oil of *Pogostemon cablin* on the activity of CAT in its tissue culture seedlings

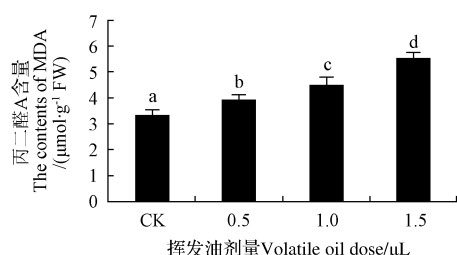


图4 广藿香挥发油对其组培苗 MDA 含量的影响

Fig. 4 Effect of volatile oil of *Pogostemon cablin* on the contents of MDA in its tissue culture seedlings

与对照组相比,在向培养基中添加挥发油处理组的组培苗 MDA 含量分别提高了 15.4%、25.7% 和 39.99%,组培苗 MDA 含量随着挥发油剂量的增加而显著增加 ($P < 0.05$)。

3 结论与讨论

试验结果表明,随着广藿香挥发油剂量的增加,其组培幼苗的株高、根长、鲜重、干重和生根数均受到了抑制,组培苗的生根和生长受到了抑制,高浓度的挥发油甚至直接造成了组培苗的死亡,结果表明广藿香挥发油中可能含有某些化感自毒物质,影响了其组培幼苗的正常生长。POD 和 CAT 是清除 H_2O_2 的重要保护酶,广泛存在于植物的各个组织器官中,其活性的大小可反映植物对逆境的适应性表现,该试验随着广藿香挥发油剂量的增加,幼苗 POD、CAT 活性增加,推测可能是广藿香挥发油中的化感物质使其组培苗发生了氧化胁迫,导致了其 POD 和 CAT 活性升高,以减轻其化感物质对植株的伤害;MDA 是膜脂氧化的最终分解产物,其含量

可以反映植物遭受逆境伤害的程度,试验结果显示,随着广藿香挥发油剂量的增加,幼苗 MDA 含量增加,表明其受到的伤害程度也越明显。

国内外研究表明,植物的挥发油以及其中的某些单萜类化合物能够强烈抑制植物种子的萌发和幼苗的生长已被公认,张凤云等^[10]研究核桃鲜叶挥发油化感作用发现核桃鲜叶的挥发油对黄瓜、小麦、绿豆和萝卜 4 种作物的种子萌发和幼苗生长均具有抑制作用,且随着挥发油浓度的增大其抑制作用逐渐增强;周天等^[11]研究发现黄蒿挥发油对萝卜、白菜、苜蓿等植物的种子萌发和幼苗生长具有不同程度的抑制作用;Nesrine 等^[12]研究发现胡椒木(*Schinus molle*)叶片及果实中的挥发油物质对小麦的种子萌发和幼苗生长具有化感作用且具有浓度效应,曹崇岚等^[13]研究麻疯树叶片的化感作用时发现其叶片水浸液、挥发物质和叶腐解液对紫茎泽兰的幼苗生长均具有化感作用,其中化感效应最强的是其挥发性物质的水溶液。

该试验中广藿香挥发油对其组培苗的化感自毒作用可能为广藿香挥发油中某些化感自毒物质抑制了组培苗的生长,因此,广藿香的化感自毒作用可能与其挥发油中存在某些化感物质并会对其幼苗的生长造成影响有关,而广藿香挥发油中萜类化合物与化感自毒物质是否具有同源性,相关研究仍将进行并进一步报道。

(该文作者还有黎韵琪,单位同第一作者。)

参考文献

- [1] 孔垂华,胡飞.植物化感(相生相克)作用及其应用[M].北京:中国农业出版社,2001:12.
- [2] 张重义,林文雄.药用植物的化感自毒作用与连作障碍[J].中国生态农业学报,2009,17(1):189-196.
- [3] Kong C H, Hu F, Xu T, et al. Allelopathic potential and chemical constituents of volatile oil from *Ageratum conyzoides* [J]. Journal of Chemical Ecology, 1999, 25: 2347-2356.
- [4] Nami N, Satoshi T, Noriko N, et al. Allelopathic effects of volatile monoterpenoids produced by *Salvia leucophylla*: inhibition of cell proliferation and DNA synthesis in the root apical meristem of *Brassica campestris* seedlings [J]. Journal of Chemical Ecology, 2005, 31(5): 1187-1202.
- [5] 王晶蓉,马丹炜,唐林.土荆芥挥发油化感作用的初步研究[J].西南农业学报,2009,22(3):777-780.
- [6] 国家药典委员会.中国药典I部[S].北京:中国医药科技出版社,2010:30.
- [7] 李玲梅,李明.广藿香根系分泌物的化感自毒作用研究[J].湖北农业科学,2011,50(24):5168-5171.
- [8] 张志良.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2003.
- [9] Williamson G B, Richardson D. Bioassays for allelopathy: Measuring treatment responses with independent controls [J]. J Chem Ecol, 1988, 14(1): 181-187.
- [10] 张凤云,翟梅枝,贾彩霞,等.核桃鲜叶挥发油化感作用初步研究[J].西北林学院学报,2005,20(2):144-146.
- [11] 周天,胡勇军,韩德复,等.黄蒿挥发油的化感作用研究[J].草业科学,2008,25(12):41-45.

山丁子提取物的抑菌作用研究

付荣霞, 崔艳, 杨树成, 宋佳

(天津市农副产品深加工技术工程中心, 天津农学院 食品科学与生物工程学院, 天津 300384)

摘要:以山丁子果实粉末为原料, 水为提取剂, 选择不同的物质料液比、超声提取时间、微波提取功率、提取温度进行试验, 研究提取物对不同种菌(大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母)的抑菌效果。结果表明: 抑菌成分最佳提取工艺条件为物质料液比 0.16 g/mL, 超声时间 80 s, 微波功率 100 W, 提取温度 80℃。山丁子提取物中抑菌活性成分对大肠杆菌的抑制作用较明显, 其次是枯草芽孢杆菌, 对酿酒酵母的抑菌性较弱, 该研究为山丁子提取物作为天然防腐剂应用于食品提供了理论依据。

关键词:山丁子; 提取物; 抑菌活性

中图分类号:S 661.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)19-0131-03

山丁子(*Malus baccata* Borkh.)多生长于大兴安岭山区杂木林中, 在西南地区也有野生分布。喜光, 耐寒性极强, 耐贫瘠, 不耐盐碱, 寿命长。山丁子味甘酸、性凉、无毒, 营养成分高于苹果, 其中有机酸含量超过苹果 1 倍以上, 可用于加工蜜饯、果丹皮、罐头、果酱和酿酒等, 也可直接晒干, 捆成小捆常年食用。果实也可入药, 用于治疗肠疾患和各种感染^[1]。

根据山丁子的特点推断果实提取物中抑菌活性成分具有一定的抗氧化作用和抑菌效果并可作天然绿色

的食品添加剂^[2]。该文研究了山丁子提取物中抑菌活性成分的抑菌性, 探讨其作为天然防腐剂应用于食品的可能性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试山丁子产自内蒙古根河市满归林业局。

试验试剂: 牛肉膏、蛋白胨、琼脂等。

供试菌种: 大肠杆菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母, 均为天津农学院食品科学系生物工程教研室保藏菌种。

试验仪器: WG700CTL2011 型超声-微波协同萃取仪; HHSZ1-N14 型电热恒温水浴锅; YLE-2000 型电热恒温培养箱; SW-CJ-2FD 型净化工作台; LDZX-50KB 型立

第一作者简介:付荣霞(1972-), 女, 湖南汨罗人, 博士, 副教授, 研究方向为食品营养与生物技术。E-mail: furongxia@sina.com.

收稿日期:2014-06-24

[12] Nesrine Z, Karim H, Nadia B B, et al. Allelopathic effect of *Schinus molle* essential oils on wheat germination [J]. Acta Physiol Plant, 2010, 32: 1221-1227.

[13] 曹慕岚, 王亚男, 李洁, 等. 麻风树叶片化感作用对入侵植物紫茎泽兰幼苗生长的影响[J]. 西南农业学报, 2012, 25(6): 2300-2304.

Allelopathy of Effect Volatile Oil from *Pogostemon cablin* to Its Tissue Culture Seedlings

TANG Kun, LI Ming, ZHAO Pan, DONG Shan, HUANG Jie-wen, LI Long-ming, LI Yun-qi

(School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: Taking volatile oil from *Pogostemon cablin* and its tissue culture seedlings as materials, using tissue culture method, the effect of volatile oil on growth of its tissue culture seedlings was studied. The results showed that volatile oil from *Pogostemon cablin* showed inhibiting effect on plant height, root length, fresh weight, dry weight and root number, and the degree of inhibition increased with increasing of extract concentration. Under the action of volatile oil, the contents of MDA increased, and the activities of POD and CAT increased too.

Keywords: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; allelopathy autotoxicity; volatile oil; tissue culture