

施满容. 金线莲组织培养条件优化对其有效成分含量的影响 [J]. 福建农业学报, 2018, 33 (5): 495—501.

SHI M R. Optimizing Tissue Culture of *Anoectochilus roxburghii* for a Maximized Content on Effective Components [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 33 (5): 495—501.

金线莲组织培养条件优化对其有效成分含量的影响

施满容

(宁德职业技术学院, 福建 福安 355000)

摘要: 为研究金线莲组织培养中有效成分含量积累的有效培养条件, 以金线莲试管苗为材料, MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为基础培养基, 采用正交设计试验, 研究不同有机添加剂、不同活性炭含量、不同光质等对金线莲试管苗生长过程中多糖、总黄酮含量积累的影响。结果表明, 影响金线莲多糖、总黄酮含量的顺序为光质>有机添加剂>活性炭。光质中蓝光的均值最大, 并且蓝光与白光和红光之间具有显著性差异 ($P<0.05$); 添加剂中香蕉泥的均值最大, 并且香蕉泥与苹果汁和胡萝卜汁之间具有显著性差异 ($P<0.05$); 活性炭中浓度为 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的均值最大, 与 $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭对比有显著性差异 ($P<0.05$)。综合 3 个因素对金线莲组培苗生长状况和多糖、总黄酮含量的影响, 优化金线莲有效成分含量积累的培养条件为 MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉泥 + $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭 + 蓝光。

关键词: 金线莲; 组织培养; 多糖; 总黄酮

中图分类号: S 567

文献标识码: A

文章编号: 1008—0384 (2018) 05—495—07

Optimizing Tissue Culture of *Anoectochilus roxburghii* for a Maximized Content on Effective Components

SHI Man-rong

(Ningde Vocational and Technical College, Fu'an, Fujian 355000, China)

Abstract: Conditions of tissue culture for *Anoectochilus roxburghii* were optimized to maximize the content of effective substances in the plantlets. The tissues were cultivated in test tubes containing a basal medium of MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + glucose $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. Effects of various organic additives, activated carbon additions and light exposures on the accumulation of polysaccharides and total flavonoids during the growth periods of the plantlets were studied using a L9 (3^4) orthogonal experimental design. It was found that the treatment effects were in the order of: light > additives > activated carbon. The average increases on the target substances by the blue light exposure were significantly higher than those by the white or red light ($P<0.05$). The increases by adding banana mud to the basal medium were significantly greater than the addition of either apple juice or carrot juice ($P<0.05$). And, the gains by inclusion of $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ of activated carbon in the medium were significantly higher than those at $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ level ($P<0.05$). Thus, it was concluded that an optimal production of polysaccharides and flavonoids in the plantlets could be achieved by a combination of the following ingredients in the medium under blue light: MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + glucose $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + banana puree $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + activated carbon $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: *Anoectochilus roxburghii*; tissue culture; polysaccharides; flavonoids

花叶开唇兰 *Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. 俗称金线莲, 同时拥有药用、食补和观赏三大价值。福建省金线莲产业规模持续快速扩大, 已经成为福建省特色中草药产业之一。金线莲多糖、

总黄酮含量是金线莲产品质量标准的重要控制成分, 不同培养条件会影响金线莲多糖、总黄酮含量变化。黄瑞平等^[1]通过对不同金线莲组培苗 0、4 月龄多糖和总黄酮含量测定结果表明, 金线莲总黄

收稿日期: 2018-01-30 初稿; 2018-03-18 修改稿

作者简介: 施满容 (1965—), 女, 副教授, 研究方向: 植物生理与生物技术 (E-mail: shimanrong@163.com)

基金项目: 宁德市科研计划项目 (20130024); 宁德职业技术学院育研计划项目 (ZR2013YY04)

酮含量随着金线莲栽培月龄的增加而上升,多糖含量则随着金线莲栽培月龄的增加而降低。杨翠芹等^[2]研究表明,4%的蔗糖浓度对金线莲多糖积累最有利;随继代天数的延长,多糖含量表现出先减少后增加的趋势。牛蓓等^[3]在同一光照强度、不同温度下对金线莲进行处理,结果显示金线莲多糖含量在 25℃时最大,35℃时最小。为了研究影响金线莲多糖、总黄酮含量变化的因素,本试验在原有试验配方基础上,采用天然有机添加物、光质、活性炭等 3 个因素进行正交设计试验,旨在探索有利于金线莲组织培养过程中多糖、总黄酮含量积累的有效培养条件,为生产上提高金线莲有效成分含量提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为福建闽东金线莲组培苗,利用 MS 为基础培养基,25 g·L⁻¹ 蔗糖为碳源,7 g·L⁻¹ 琼脂为凝固剂,pH5.8,添加 6-BA 2.0 mg·L⁻¹、NAA 0.2 mg·L⁻¹、KT 1.5 mg·L⁻¹作为继代培养基,对金线莲试管苗进行扩繁。

1.2 试验方法

根据正交试验设计 $L_9(3^4)$ (表 1)得到的 9 个处

理进行试验,以 MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+KT1.5 mg·L⁻¹+7 g·L⁻¹ 琼脂+25 g·L⁻¹ 蔗糖为基础培养基,每处理接种 10 瓶,每瓶接 6 段带 1 个茎节长 1 cm 的金线莲茎段,重复 3 次。材料接种后放在培养室内培养,培养温度 (25±2)℃,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h·d⁻¹。培养 90 d 时,利用苯酚-硫酸法测多糖含量,超声波-乙醇提取法测定总黄酮含量。

表 1 金线莲不同培养条件正交试验因子水平

Table 1 Levels of orthogonal test on varied conditions for in vitro cultivating *A. roxburghii* tissue

水平	光质	活性炭 (g·L ⁻¹)	有机添加物 (g·L ⁻¹)
1	蓝光	0.5	100 苹果汁
2	白光	1.0	100 香蕉泥
3	红光	1.5	100 胡萝卜汁

1.3 多糖含量的测定

1.3.1 标准曲线的制作 以葡萄糖为标准品,在 490 nm 处测定吸光度,以葡萄糖浓度为横坐标,吸光度为纵坐标,得到回归方程 $y=1.4089x-0.0368$, $R^2=0.9937$ 。 R^2 值接近 1 说明葡萄糖含量和吸光值有良好的线性关系(图 1)。

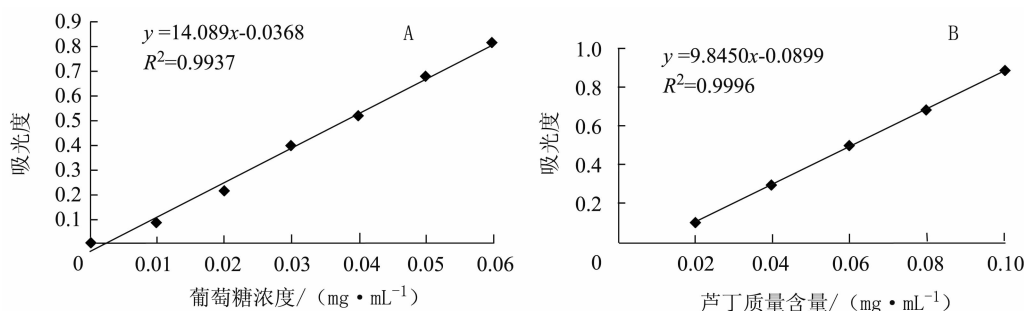


图 1 葡萄糖、芦丁标准曲线

Fig. 1 Standard curves of glucose and rutin

1.3.2 多糖样品溶液制备 多糖样品溶液制备参照杨翠芹等^[2]、秦朋等^[4]报道的苯酚-硫酸法,制备粗多糖样品溶液。按 1.3.1 的方法计算多糖样品溶液的多糖含量。以转换系数 0.9 校正多糖含量,根据公式计算多糖含量。计算公式:多糖含量= $C \times 0.9 \times V_r \times N / (W \times V_s \times 1000) \times 100\%$

式中, C 为从标准曲线查得的糖量 (mg); 0.9 为葡萄糖转化系数; V_r 为提取液体积 (mL); N 为稀释倍数; W 为测定时取用的样品重量 (g); V_s 为测得时取用的样品体积 (mL)。

1.4 总黄酮含量的测定

1.4.1 标准曲线的制作 以芦丁为标准品,在 420 nm 波长下测定吸光度,最终以芦丁含量 (mg·mL⁻¹) 为纵坐标,吸光值 (Abs) 为横坐标,得到总黄酮的标准曲线方程为: $y=9.8450x-0.0899$, $R^2=0.9996$, 见图 1。

1.4.2 总黄酮样品溶液制备 总黄酮含量提取和测定参考关璟等^[5]、同时结合秦朋^[4]的优化法使用超声波-乙醇提取法,根据公式计算总黄酮含量。总黄酮含量=样品中总黄酮含量/(样品含量/样品

稀释倍数) ×100%

1.5 数据统计与分析

采用 SPSS 22.0 数据分析软件进行数据分析, LSD 法进行差异显著性比较, 优选出有利于金线莲组培苗多糖、总黄酮积累的最佳试验因素组合。

2 结果与分析

2.1 对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量的影响

正交试验得到的 9 个样品金线莲, 进行多糖、总黄酮含量测定, 结果见表 2。从表 2 可知, 第 2 组(蓝光+1.0 g·L⁻¹活性炭+100 g·L⁻¹香蕉泥)多糖含量最高为 22.36%、总黄酮含量最高为 1.64%, 3 种因素对金线莲多糖、总黄酮含量影响

的大小顺序为: 光质>有机添加物>活性炭。

运用 SPSS 软件对数据进行分析, 主效应方差分析结果(表 3)表明: 各处理的 *P* 值除了黄酮组活性炭 *P* 值>0.05 外, 其他各组 *P* 值<0.05, 说明光质、活性炭、有机添加物对金线莲多糖含量影响显著; 光质、有机添加物对金线莲总黄酮含量影响显著。比较 3 个因素的 *F* 值可以看出, 影响金线莲多糖含量、总黄酮含量的主次顺序均为光质>添加物>活性炭。试验结果说明, 3 个因素中光质对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量的影响表现最为明显, 其次是有机添加物, 主效应方差分析结果与表 2 中的极差分析一致。

表 2 正交试验结果
Table 2 Results of orthogonal test

组合	光质	活性炭	有机添加物	多糖含量 1/%	多糖含量 2/%	多糖含量 3/%	多糖均值 /%	总黄酮含量 1/%	总黄酮含量 2/%	总黄酮含量 3/%	总黄酮均值 /%
1	1	1	1	19.12	18.22	18.56	18.63	1.52	1.56	1.48	1.52
2	1	2	2	22.54	22.48	22.36	22.46	1.61	1.68	1.64	1.64
3	1	3	3	19.16	18.40	18.28	18.61	1.48	1.46	1.44	1.46
4	2	1	2	19.46	18.86	18.42	18.91	1.54	1.52	1.58	1.55
5	2	2	3	18.22	18.48	18.26	18.32	1.46	1.50	1.46	1.47
6	2	3	1	17.86	18.42	18.24	18.17	1.40	1.38	1.54	1.44
7	3	1	3	17.24	17.16	16.92	17.10	1.38	1.34	1.36	1.32
8	3	2	1	17.88	17.86	18.20	17.98	1.32	1.28	1.35	1.36
9	3	3	2	17.24	17.46	18.10	17.60	1.43	1.38	1.37	1.39
K1	59.70	54.64	54.78								
K2	55.4	58.76	58.97								
K3	53.68	54.38	54.03								
\bar{k}_1	19.90	18.21	18.26								
\bar{k}_2	18.46	19.58	19.65								
\bar{k}_3	17.56	18.12	18.01								
R1	2.34	1.46	1.64								
M1	4.62	4.39	4.32								
M2	4.46	4.47	4.58								
M3	4.07	4.29	4.25								
\bar{m}_1	1.54	1.46	1.44								
\bar{m}_2	1.49	1.49	1.53								
\bar{m}_3	1.36	1.43	1.42								
R2	0.18	0.06	0.11								

注: K1、K2、K3 分别代表 3 因子 3 水平对金线莲多糖含量的影响, \bar{k}_1 、 \bar{k}_2 、 \bar{k}_3 分别为 K1、K2、K3 的平均值, R1 为多糖极差; M1、M2、M3 分别代表 3 因子 3 水平对金线莲黄酮含量的影响, \bar{m}_1 、 \bar{m}_2 、 \bar{m}_3 分别为 M1、M2、M3 的平均值, R2 为黄酮极差。

2.2 光质对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量影响

不同光质处理金线莲组培苗多糖、总黄酮含量测定结果见表 4、5。表 4 可以看出, 不同光处理

对金线莲多糖、总黄酮均值影响大小顺序为: 蓝光>白光>红光。表 5 可以看出, 不同光质之间显著性检验 *P*<0.05, 可见不同光质之间都具有显著的

差异性，蓝光与白光和红光之间差异显著，白光和红光之间也具有显著性差异。

结果表明：蓝光最有利于金线莲多糖、总黄酮含量积累。在培养过程发现，蓝光下培养的金线莲比较矮壮，叶色暗绿叶脉清晰漂亮，白光下培养的

金线莲植株粗壮、叶面积比较大，红光下培养的金线莲植株较为瘦弱叶较小，叶色较淡，外部形态特征表现红光最不利于金线莲组培苗的生长。总结果表明蓝光对组培苗生长状况及有效成分积累有利。

表 3 金线莲多糖和总黄酮含量主效应方差分析
Table 3 Effects of major factors on polysaccharide and total flavonoids content in *A. roxburghii*

源	多糖含量主效应方差分析					总黄酮含量主效应方差分析				
	平方和	自由度	方差	<i>F</i>	<i>P</i>	平方和	自由度	方差	<i>F</i>	<i>P</i>
光质	25.056	2	12.528	33.359	0.000	0.162	2	0.081	43.524	0.000
活性炭	12.021	2	6.010	16.004	0.000	0.012	2	0.006	3.359	0.055
添加物	14.141	2	7.071	18.827	0.000	0.059	2	0.030	16.013	0.000
误差	7.511	20	0.376			0.037	20	0.002		

表 4 光质、添加物、活性炭统计
Table 4 Estimated marginal means induced by light exposures, additives and AC

	光质			添加物/(g·L ⁻¹)			活性炭/(g·L ⁻¹)		
	蓝光	白光	红光	苹果汁	香蕉泥	胡萝卜汁	0.5	1.0	1.5
多糖均值	19.902±0.204	18.469±0.204	17.562±0.198	18.262±0.204	19.658±0.204	18.013±0.204	18.218±0.204	19.587±0.204	8.129±0.204
黄酮均值	1.541±0.014	1.487±0.014	1.357±0.014	1.426±0.014	1.528±0.014	1.431±0.014	1.476±0.014	1.487±0.014	1.431±0.014

表 5 不同光质多重比较
Table 5 Multiple comparisons on exposures of different light sources

(I) 光质	(J) 光质	均值差值 (I-J)		标准误差		显著性 (<i>P</i>)	
		多糖	总黄酮	多糖	总黄酮	多糖	总黄酮
蓝光	白光	1.4333 *	0.0544 *	0.28889	0.02031	0.000	0.014
	红光	2.3400 *	0.1844 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000
白光	蓝光	-1.4333 *	-0.0544 *	0.28889	0.02031	0.000	0.014
	红光	0.9067 *	0.1300 *	0.28889	0.02031	0.005	0.000
红光	蓝光	-2.3400 *	-0.1844 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000
	白光	-0.9067 *	-0.1300 *	0.28889	0.02031	0.005	0.000

注：* 表示在 0.05 水平上差异显著。下表同。

2.3 添加物对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量影响

不同添加物对金线莲多糖、总黄酮含量的影响见表 4、6。表 4 可以看出，添加物对金线莲多糖含量影响顺序是：香蕉泥>苹果汁>胡萝卜汁；对总黄酮含量的影响顺序是：香蕉泥>胡萝卜汁>苹果汁。香蕉泥对金线莲多糖、总黄酮影响最大，均值分别为 19.658 和 1.528，胡萝卜汁对多糖影响表现较差，苹果汁对总黄酮影响表现较差。表 6 多重比较可看出，添加物对金线莲多糖或总黄酮含量的影响，苹果汁和胡萝卜汁之间显著性概率 *P*>

0.05，说明两者之间不存在显著性的差别，其他添加物之间显著性概率均为 0，说明各水平之间具有显著性差异 (*P*<0.05)。结果表明选择香蕉泥作为有机附加物对金线莲多糖、总黄酮积累有利，同时香蕉泥与苹果汁和胡萝卜汁之间差异显著。

试验过程发现，添加胡萝卜汁的金线莲在白光下培养会引起茎段下端褐化现象。同样添加胡萝卜汁的金线莲在蓝光和红光下培养则不发生褐化现象。这说明金线莲组织培养中胡萝卜汁可能不是理想的有机附加物，特别不适合在白光下培养。

表 6 添加物多重比较
Table 6 Multiple comparisons on additives

(I)添加物	(J)添加物	均值差值 (I-J)		标准误差		显著性(P)	
		多糖	总黄酮	多糖	总黄酮	多糖	总黄酮
苹果汁	香蕉泥	-1.3956 *	-0.1022 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000
	胡萝卜汁	0.2489	-0.0056	0.28889	0.02031	0.399	0.787
香蕉泥	苹果汁	1.3956 *	0.1022 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000
	胡萝卜汁	1.6444 *	0.0967 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000
胡萝卜汁	苹果汁	-0.2489	0.0056 *	0.28889	0.02031	0.399	0.787
	香蕉泥	-1.6444 *	-0.0967 *	0.28889	0.02031	0.000	0.000

2.4 活性炭对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量影响

添加不同浓度活性炭培养的金线莲苗,多糖、总黄酮含量测定结果见表 4、7。从表 4 和表 7 可以看出,不同浓度活性炭对金线莲多糖、总黄酮含量均值影响大小顺序为:活性炭 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}>0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}>1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,活性炭 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的均值最大分别为 19.587 和 1.487。多糖除了活性炭 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$

与 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间无显著性差异 ($P>0.05$),其他各水平之间差异显著 ($P<0.05$);总黄酮除了 $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭与 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭之间无显著性差异 ($P>0.05$),其他各水平之间差异显著 ($P<0.05$)。结果表明培养基添加浓度 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭对金线莲多糖、总黄酮含量积累有利。

表 7 活性炭多重比较
Table 7 Multiple comparisons on activated carbon additions

(I)活性炭 /($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	(J)活性炭 /($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	均值差值 (I-J)		标准误差		显著性(P)	
		多糖	总黄酮	多糖	总黄酮	多糖	总黄酮
0.5	1.0	-1.3689 *	-0.0022	0.28889	0.02031	0.000	0.914
	1.5	0.0889	0.0444 *	0.28889	0.02031	0.761	0.041
1.0	0.5	1.3689 *	0.0022	0.28889	0.02031	0.000	0.914
	1.5	1.4578 *	0.0467 *	0.28889	0.02031	0.000	0.033
1.5	0.5	-0.0889	-0.0444 *	0.28889	0.02031	0.761	0.041
	1.0	-1.4578 *	-0.0467 *	0.28889	0.02031	0.000	0.033

3 讨论与结论

3.1 有机添加物对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量的影响

香蕉泥、苹果汁、胡萝卜汁、番茄汁、椰乳、马铃薯汁等是植物组织培养中常用的天然有机添加物。这些添加物都是一些成分较为复杂的天然复合物,含有氨基酸、酶、激素等化学成分,其营养丰富,但不稳定,主要作用是植物生长提供生理活性物质,补充未知的微量成分。许多报道表明香蕉泥在兰科植物培养过程中具有一定的刺激生长作用,能够使植株生长健壮,株型端正,减少植株玻璃化,抑制徒长,其中富含的 K 和 P 元素在培养过程中容易被金线莲吸收。郭捷华^[6]研究了金线莲壮苗过程中的不同组合,发现香蕉泥是影响壮苗的主要因子,而且所有组合中必然添加的有机物。

但有机附加物对金线莲试管苗多糖、总黄酮含量的影响还未见报道。

本试验结果表明,香蕉泥对金线莲多糖、总黄酮合成具有显著促进作用,胡萝卜汁与苹果汁对金线莲多糖、总黄酮的积累效果不理想,同时香蕉泥与胡萝卜汁或苹果汁之间差异显著,这可能是香蕉泥对 pH 具有较大的缓冲作用,并富含一些微量营养成分、生理活性物质和生长激素等,对金线莲多糖、总黄酮的合成有促进作用;而苹果汁与胡萝卜汁可能不含或较少含有促进多糖、总黄酮合成的物质,或含有的天然有机物质经高压灭菌而变性,从而失去影响效果。

3.2 蓝光最有利于提高金线莲试管苗多糖、总黄酮的含量

影响植物体内有效化合物含量的因素很多,如生长状态、光照、温度和提取方法等。环境因子变

化可诱发植物碳代谢途径的转变^[7-9]。光质对植物生长及有效成分含量的影响已形成共识。有较多研究表明,光质对高等植物的碳水化合物和次生代谢产物有调节作用。多糖是细胞中的一种碳水化合物,黄酮是植物体内一种次生代谢产物。

不同光质处理可以影响药用植物有效成分的含量。相关研究发现,蓝光对生物碱、黄酮、糖苷、萜类内酯等次生代谢物质有影响。范桂枝等^[10]研究表明蓝光对白桦愈伤组织三萜含量的积累有促进作用;郭捷华^[6]研究结果表明蓝光最有利于白马山金线莲总黄酮积累,红光最有助于白马山金线莲多糖含量的积累,蓝光、绿光对多糖也有增效作用,白光效果相对较差;王智杰^[11]的研究也表明蓝光最有利于金线莲总黄酮积累,而红光表现较差;林小苹等^[12]等研究表明蓝光能促进铁皮石斛生物碱的合成,白光和红光有利于多糖含量增加,绿光则不同程度地抑制多糖和生物碱的积累;高亭亭等^[13]研究表明红光有利于铁皮石斛种苗根系与苗高生长,蓝光有利于种苗增粗与生物碱积累,红蓝混合光有利于叶绿素与多糖含量增加;徐茂军^[14]等报道蓝光促进发芽大豆类黄酮合成;赵德修等^[15]研究表明,水母雪莲体内类黄酮合成在红光下受到抑制,而蓝光则有效促进类黄酮的合成;任锦等^[16]证明蓝光能有效促进植物类黄酮合成;朱旭丹等^[17]研究结果表明白光下布朗葡萄藻多糖含量最高;郝俊江等^[18]研究表明蓝光处理可以提高灵芝多糖含量;刘敏玲^[19]的研究结果表明蓝光、绿光有助于促进金线莲总黄酮、多糖和阿魏酸等物质合成。

本试验研究结果表明,蓝光最有利于提高金线莲总黄酮的含量,红光表现较差,这个结果与多数研究者一致,可能是由于红光抑制苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性,蓝光增强了PAL的活性,苯丙氨酸解氨酶是黄酮合成关键酶之一,蓝光通过影响PAL活性,从而促进了黄酮类物质的合成。研究结果表明蓝光同时有利于金线莲多糖的合成,这个结论与多数研究者不同,但与郝俊江和刘敏玲研究结果一致,可能是植物处在不同的生长阶段,光质对植株体内多糖积累不同有关,也可能与植物材料、培养基成分以及多糖提取和测定方法不同有关。

3.3 活性炭对金线莲多糖、总黄酮含量的影响

活性炭有很强的吸附作用,在植物组织培养中通常用于吸附非极性物质和色素等大分子物质,包括琼脂中所含的杂质、培养物分泌的酚、醌类物质

以及蔗糖在高压消毒时产生的 5-羟基糖醛及激素等^[20]。甘艳等^[21]研究结果表明:对改善香樟试管苗继代培养基配方效果最佳的活性炭质量浓度是 $1.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,香樟组培苗的生根率最高,褐变率最低,同时平均株高随着活性炭浓度的升高而上升。王景飞等^[22]研究结果表明:培养基添加活性炭 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,对淮山茎段分化、增殖和生根的效果最好。甘勇辉等^[23]以台湾金线莲和福建金线莲为材料,研究表明:添加活性炭的各处理培养物节间均明显,比不添加活性炭的对照组节间长,且叶片基本完全展开、叶片较大,不长小侧芽。胡佳丽等^[24]研究结果表明:培养基中添加 10% 香蕉汁和 0.5% 活性炭有利于铁皮石斛芽苗的壮苗生根。段文武等^[25]对蝴蝶兰组织培养褐化抑制研究结果表明:活性炭能显著抑制褐化且对褐化的影响最大,各因素对褐化影响效应大小排序为活性炭>转接周期>温度>椰子汁。

本研究结果表明,活性炭对金线莲组培苗多糖含量有显著影响,但对金线莲组培苗总黄酮含量影响不显著。试验结果表明活性炭 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对金线莲组培苗多糖、总黄酮积累效果最好。其可能原因是加入适量的活性炭,植株生长过程中产生的一些有毒代谢物被活性炭有效吸附,并且各种激素的含量得到了有效平衡,保持培养基 pH 值在一定合理范围内,为植株创造了最适宜的生长环境,在促进植株生长的同时也促进了有效物质的合成。

综上所述,3 个因素中光质对金线莲多糖、总黄酮的影响最大,其次是有机附加物。在 $\text{MS} + 6\text{-BA} 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂 + $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, pH 值 5.8, 培养温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度 $2\,000 \text{ lx}$, 光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 的同等条件下,培养基中添加 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉泥, $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ AC, 采用 LED 蓝光照射最有利于促进金线莲组培苗多糖、总黄酮含量的积累。

多糖、黄酮类化合物是植物天然活性产物,是金线莲的重要药用成分。因此,利用金线莲组织培养体系,进行不同光质、添加物、活性炭处理,探究如何提高其生长速率和有效成分的积累,可以直接用于金线莲制品的生产,提高其产量和质量,以满足不断扩大的市场需求,提高经济效益。

参考文献:

- [1] 黄瑞平, 黄颖桢, 陈菁瑛, 等. 不同月龄金线莲多糖和总黄酮含量的比较 [J]. 热带生物学报, 2012, 3 (2): 174—176.

- [2] 杨翠芹, 秦耀国, 曾富春, 等. 不同培养条件对金线莲多糖与总生物碱含量的影响 [J]. 中国农学通报, 2010, 26 (23): 259—262.
- [3] 牛蓓, 傅华龙, 卿人韦, 等. 温度对组培金线莲生理生化影响的研究 [J]. 四川大学学报, 2004, 41 (4): 842—844.
- [4] 秦朋. 金线莲遗传多样性和有效成分分析 [D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [5] 关璟, 王春兰, 郭顺星, 等. 福建金线莲总黄酮提取工艺的研究 [J]. 中国药学杂志, 2008, 43 (21): 1615—1617.
- [6] 郭捷华. 白马山金线莲组培快繁关键技术研究及其药用成分比较 [D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [7] MARKOVSKA Y K, DIMITROV D S. The effect of leaf age on gas exchange and malate accumulation in C3-CAM plant *Marrubium frivaldszkyanum* (Lamiaceae) [J]. *Photosynthetica*, 2001, 39: 191—195.
- [8] KOWALLIK W. Blue light effects on respiration [J]. *Annual review of Plants Physiology*, 1982, 33: 51—72.
- [9] KOWALLIK W. Blue light effects on carbohydrate and protein metabolism [M]. Senger H ed. *Blue Light Responses: Phenomena and Occurrence in Plants and Microorganisms* (Vol 1). Boca Raton Florida: CRC Press, 1987: 7—16.
- [10] 范桂枝, 詹亚光, 王博, 等. 光质、光周期对白桦愈伤组织生长和三萜质量分数的影响 [J]. 东北林业大学学报, 2009, 37 (1): 1—3.
- [11] 王智杰. LED光质对金线莲组培苗形态及生理特征的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [12] 林小苹, 赖钟雄. 不同光质对铁皮石斛原球茎增殖及有效成分含量的影响 [J]. 热带作物学报, 2015, 36(10): 1796—1801.
- [13] 高亭亭, 斯金平, 朱玉球, 等. 光质与种质对铁皮石斛种苗生长和有效成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 37 (2): 198—201.
- [14] 徐茂军, 朱睦元, 顾青. 发芽大豆中异黄酮积累的光诱导作用研究 [J]. 中国粮油学报, 2003 (1): 74—77.
- [15] 赵德修, 李茂寅, 邢建民, 等. 光质、光强和光期对水母雪莲愈伤组织生长和黄酮生物合成的影响 [J]. 植物生理学报, 1999, 25 (2): 127—132.
- [16] 任锦, 郭双生, 沈锡颀. LED光质对紫背天葵挥发油和酚类成分积累的影响 [J]. 载人航天, 2014 (4): 386—392.
- [17] 朱旭丹, 叶岚, 许建香, 等. 不同光质对布朗葡萄藻生长、有机物质积累的影响 [J]. 生物过程, 2013, 6(2): 17—22.
- [18] 郝俊江, 陈向东, 兰进. 光质对灵芝生长与灵芝多糖含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35 (17): 2242—2245.
- [19] 刘敏玲. LED不同光质对金线莲生理特征及品质的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2013: 43—48.
- [20] 黄晓梅. 植物组织培养 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2013: 21.
- [21] 甘艳, 莫开敏, 廖仁财. 不同活性炭成分对香樟组织培养的影响 [J]. 内蒙古林业调查设计, 2017, 40 (1): 89—91.
- [22] 王景飞, 戚华莎, 潘梅, 等. 淮山组织培养的多因子正交试验研究 [J]. 园艺与种苗, 2015 (11): 7—8, 21.
- [23] 甘勇辉, 郑加协. 添加物对金线莲离体培养生长量的影响 [J]. 漳州职业技术学院学报, 2011, 13 (4): 30—34.
- [24] 胡佳丽, 戚正华, 马美兰, 等. 铁皮石斛种子组织培养条件的优化 [J]. 浙江农业学报, 2015, 27 (8): 1399—1402.
- [25] 段文武, 蒋祖丰, 伍芬桂, 等. 蝴蝶兰组织培养褐化抑制研究 [J]. 现代农业科技, 2017 (14): 137—138, 140.

(责任编辑: 黄爱萍)