

## 台湾金线兰组织培养及营养成分分析

唐庆九 丁家宜

朱鹿鸣

(中国药科大学组织培养研究室, 南京 210038) (江苏省林业科学研究所, 南京 211153)

**摘要** 用台湾金线兰(*Anoectochilus formosanus* Hay.)的茎段作外植体,比较不同的培养基、蔗糖浓度、有机添加物、pH值、激素等因素对丛生芽生成的影响,实验证明B5及MS较好,蔗糖浓度为2%~3%,在细胞分裂素试验中发现BA作用优于KT和ZT,最适浓度为4 mg/l,还证明4Pu-30在0.5 mg/l浓度下即有很好的作用。台湾金线兰组织培养苗及与同属植物花叶开唇兰(*A. roxburghii* (Wall.) Lindl.)组培苗和野生药材的氨基酸、维生素的含量测定,结果表明台湾金线兰的氨基酸含量较高,并有丰富的VC, VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VE, 尼克酸及胡萝卜素,对进一步直接开发利用金线兰组织培养苗提供了依据。

**关键词** 台湾金线兰;组织培养;营养分析

**Tissue culture of *Anoectochilus formosanus* Hay. and nutritional constituent analysis of cultured seedlings** Tang Qing-Jiu, Ding Jia-Yi (Laboratory of Plant Tissue Culture, China Pharmaceutical University, Nanjing 210038) and Zhu Lu-Min (Forest Research Institute of Jiangsu), *J. Plant Resour. & Environ.* 1996, 5(3): 23~27  
The cluster shoots were obtained by stem segment of *A. formosanus* in tissue culture. Comparison of different media, sucrose concentration, pH value, organic extract and hormone were investigated. It was found that B5 and MS medium with 2%~3% sucrose, 4 mg/l BA or 0.5 mg/l 4Pu-30 showed the ideal result. Compared with cultured seedling and crude drug of wild species (*A. roxburghii*), *A. formosanus* seedling has high content of amino acids and rich in VC, VB<sub>1</sub>, VB<sub>2</sub>, VE, nicotinic acid and carotene. It will provide the basis for further development and utilization of *A. formosanus* from tissue culture.

**Key words** *Anoectochilus formosanus* Hay.; tissue culture; nutritional analysis

台湾金线兰(*Anoectochilus formosanus* Hay.)为兰科(Orchidaceae)开唇兰属(*Anoectochilus* Bl.)植物,又称金线连,民间视为珍贵药材,被誉为“药王”、“药虎”。台湾金线兰性平、微寒、味甘、微苦、无毒,可入心、肝、脾、肺、肾诸经,能清凉润肺,滋补强壮,调和五脏六腑所引起的各种疾病,并有清血、活血的功效,常用于治疗脑炎、高血压、血管硬化、糖尿病及各种脏腑的急慢性疾病,特别对于人体保健调养颇具功效<sup>[1]</sup>。台湾金线兰还可作保健蔬菜,在台湾市场上,鲜品价格达每公斤数千元台币。

台湾金线兰分布范围窄,仅台湾、琉球有生长<sup>[2]</sup>。它对生长环境要求严格,生长缓慢,又因虫、鸟喜食,所以自然资源稀少。近年来,由于人们对这种植物的偏爱而大量采撷,生长环境不断被破坏,导致台湾金线兰越来越少以至于濒临灭绝。台湾金线兰种子不易萌发,自然繁殖

很困难。采用分根或扦插法,需时长且繁殖系数不高,故台湾金线兰资源缺乏的问题急待解决。作者对台湾金线兰进行了培养条件的筛选,以提高繁殖速率。对其营养成分也进行了分析,并与同属植物花叶开唇兰(*A. roxburghii*)的组培苗及野生药材进行比较。

## 1. 材料和方法

### 1.1 组织培养条件的筛选

1.1.1 材料 台湾金线兰试管苗由江苏省林业科学研究所提供。

1.1.2 方法 选取在相同条件下生长的台湾金线兰无菌苗,切取第三、四节茎段作外植体接种于培养基上,进行腋芽的诱导。每个配方接种 10 瓶,每瓶 2 个材料。记录每个外植体生长的芽数、芽高、芽径和根数。

(1) 基本培养基试验:采用 MS、1/2MS、1/3MS、B5、White 5 种培养基。

(2) 蔗糖浓度试验:添加 0~5% 6 个不同的浓度。

(3) 有机添加物试验:加入 0.5% 的蛋白胍、酪蛋白、酵母提取液。

(4) pH 试验:pH 值为 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5。

(5) 激素试验:不同种类及浓度的生长素和细胞分裂素的筛选。

以上条件除试验项外均为 MS+BA 4.0+NAA 0.5, 蔗糖 2%, pH 5.8~6.0。

### 1.2 营养成分分析

1.2.1 材料 台湾金线兰、花叶开唇兰组培苗在 MS+BA 4.0+IBA 0.5 的培养基上培养 4 个月,取出,洗去琼脂,即得。

花叶开唇兰野生药材(多年生)购自福建省药材公司。

#### 1.2.2 方法

##### (1) 氨基酸分析

仪器:日立 835-50 型高速氨基酸自动分析仪。

测试条件:2.6×150 mm 标化分析柱;72 min 标化蛋白水解物分析程序;除氨柱 4.0×5.0 mm;柱温 53±1℃;双波长比色法。

样品处理:分别取台湾金线兰组培苗、花叶开唇兰组培苗和花叶开唇兰药材适量,精密称定,加 6 N HCl 3 ml 充 N<sub>2</sub> 熔封,于烘箱 110±1℃ 水解 22 h,冷却后用 NaOH 中和定容,稀释至上机浓度,上机分析。

##### (2) 维生素分析

仪器:LC-2F 高效液相色谱仪,RF-510 荧光分光光度计。

样品处理:水溶性维生素用弱酸 0.1 N HCl 水解、提取、脱色上机分析;脂溶性维生素用石油醚提取、脱水、浓缩上机分析。

## 2. 结果与分析

### 2.1 台湾金线兰的组织培养

2.1.1 基本培养基对台湾金线兰丛生芽的影响 外植体培养 1 周后,茎节部的腋芽开始突

出,并逐渐长大。3周左右新生腋芽的基部又长出新的腋芽,由于茎节缩短,2个月后形成丛生状的小苗。于5种培养基中生长2个月的情况见表1。结果表明B5和MS生成的芽多,苗亦粗壮,White则营养不良,苗亦呈深红色,1/2MS、1/3MS均不如MS。故B5和MS为丛生芽诱导的适宜的培养基。

表1 基本培养基对台湾金线兰丛生芽的影响

Tab 1 Effect of basic media on cluster shoots of *A. formosanus*

培养基 Media	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds
MS	10.4	2.1
1/2MS	7.4	1.6
1/3MS	5.2	1.3
B5	11.6	1.9
White	5.4	1.7

表2 蔗糖浓度对台湾金线兰丛生芽的影响

Tab 2 Effect of sucrose concentration on cluster shoots of *A. formosanus*

蔗糖浓度(%) Sucrose concentration	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds
CK	2.5	0.7
1	11.2	0.6
2	18.9	1.4
3	13.1	1.9
4	10.0	2.4
5	9.5	2.4

2.1.2 蔗糖浓度对台湾金线兰丛生芽的影响 蔗糖浓度对台湾金线兰丛生芽有明显的影响,培养2个月的情况见表2。当浓度0时,基本上没有生长,附加1%~5%的蔗糖,生长的芽数都较多。其中2%的芽数最多,3%时芽径增粗,4%~5%长出的苗发红,无根。选用2%~3%比较合适。

2.1.3 有机添加物对台湾金线兰丛生芽的影响 添加3种有机添加物培养2个月,其中蛋白胨的影响不大,加入酵母提取液则芽数增加,而酪蛋白可使芽径增粗,酵母提取物、酪蛋白的加入有一定的作用,其生长情况见表3。

2.1.4 pH值对台湾金线兰丛生芽形成的影响 在pH值4.0~6.5之间形成的芽数和芽径均相差不大,在pH值5.8~6.0时培养基凝固较好,松软比较适宜,结果见表4。

表3 有机添加物对台湾金线兰丛生芽的影响

Tab 3 Effect of organic additives on cluster shoots of *A. formosanus*

有机添加物 Organic additives	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds
CK	12.0	1.3
蛋白胨 Peptone	12.1	1.4
酪蛋白 Casein	10.6	1.9
酵母提取物 Yeast extract	16.5	1.3

表4 pH值对台湾金线兰丛生芽的影响

Tab 4 Effect of pH value on cluster shoots of *A. formosanus*

pH value	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds
4.0	12.4	1.7
4.5	13.5	1.9
5.0	13.3	1.7
5.5	12.7	1.9
6.0	13.0	1.8
6.5	11.7	1.7

2.1.5 激素的种类及浓度对台湾金线兰丛生芽的影响 常用的细胞分裂素有KT、ZT及BA,将这3种激素进行比较,并观察苯基脲类细胞分裂素4Pu-30对台湾金线兰丛生芽的诱导情况,见表5。结果表明BA与4Pu-30的作用较好,形成的芽多。BA在4 mg/l能打破顶端优势,形成丛生芽。4Pu-30 0.5 mg/l即有很好的作用,为一种很有前途的激素。生长素的种类相差不大,0.2~0.6 mg/l范围内效果均较好,其结果见表6。

## 2.2 营养成分分析

由于组培苗干后 Vc 易失活, 所以用组培苗新鲜材料进行测定, 在计算时均折合成干重计算。

表 5 细胞分裂素对台湾金线兰丛生芽的影响  
Tab 5 Effect of cytokinins on cluster shoots of *A. formosanus*

细胞分裂素 Cytokinins	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds	芽高(cm) High of buds	根数(个) No. of roots	
BA	0	1.0	1.0	0.6	1.0
	3	7.2	1.6	0.7	1.6
	4	12.0	1.3	0.8	0.9
	5	10.7	1.6	0.8	1.0
	KT	2	0.6	1.2	0.6
KT	4	2.9	1.4	0.9	2.4
	6	4.4	1.2	0.8	1.3
	ZT	0.5	2.0	1.2	0.8
ZT	1.0	4.2	1.4	0.6	2.1
	1.5	5.0	1.6	0.5	1.7
	4Pu-30	0.5	11.6	1.9	0.6
4Pu-30	1.0	10.8	2.0	0.5	1.2
	1.5	11.9	1.6	0.9	1.3

\* 各类细胞分裂素加 NAA 0.5 mg/l

表 6 生长素对台湾金线兰丛生芽的影响  
Tab 6 Effect of auxins on cluster shoots of *A. formosanus*

生长素 Auxins	芽数(个) No. of buds	芽径(mm) Diameter of buds	芽高(cm) High of buds	根数(个) No. of roots	
IBA	0.2	14.4	1.4	0.5	1.7
	0.6	11.4	1.3	0.6	1.5
NAA	0.2	9.6	1.4	1.1	1.7
	0.6	13.6	1.5	0.7	1.8
2.4-D	0.2	8.2	1.3	0.6	0.4
	0.6	9.9	1.2	0.7	0.5

\* 各类生长素加 BA 4 mg/l

台湾金线兰和花叶开唇兰组培苗及野生药材的氨基酸和维生素的测定结果见表 7 和表 8。从表中可以看出台湾金线兰组培苗的氨基酸的含量很高, 其总氨基酸和必需氨基酸的含量分别为 32.01% 和 7.47%, 其维生

表 7 台湾金线兰和花叶开唇兰的氨基酸含量  
Tab 7 The amount of amino acids in *A. formosanus* and *A. roxburghii*

种类 Species	总氨基酸(%) Total amino acid	必需氨基酸(%) Essential amino acid
花叶开唇兰(野生) <i>A. roxburghii</i>	13.440	3.996
花叶开唇兰(组培苗) <i>A. roxburghii</i>	20.813	3.646
台湾金线兰(组培苗) <i>A. formosanus</i>	32.011	7.472

表 8 台湾金线兰和花叶开唇兰的维生素含量  
Tab 8 The amount of vitamins in *A. formosanus* and *A. roxburghii* (mg/100g·dry weight)

种类 Species	维生素 C Vc	维生素 B <sub>1</sub> VB <sub>1</sub>	维生素 B <sub>2</sub> VB <sub>2</sub>	尼克酸 Nicotinic acid	维生素 E VE	胡萝卜素 Carotin	叶酸 Folacin
花叶开唇兰(野生)	8.324	1.012	1.076	5.965	8.063	3.734	-
花叶开唇兰(组培苗)	22.878	0.985	1.004	6.436	8.333	3.097	-
台湾金线兰(组培苗)	111.501	2.007	1.627	8.074	9.180	3.065	-

素种类齐全, 含量很高, 特别是 Vc 的含量高达 115 mg/100g。

经 4 个月培养的台湾金线兰和花叶开唇兰的组培苗, 氨基酸和维生素含量差别很大, 台湾金线兰的总氨基酸含量明显高于花叶开唇兰, 必需氨基酸是花叶开唇兰的 2 倍, Vc 含量是花叶开唇兰的 5 倍, 其他维生素含量也高于花叶开唇兰。从维生素和氨基酸的含量来看, 台湾金线兰组培苗的营养价值高于花叶开唇兰。

从表中可以看出, 经 4 个月培养的花叶开唇兰组培苗中氨基酸和维生素的含量均高于或

接近野生材料。由于 Vc 易失活,野生材料的含量已很少,故无法比较,但从其他维生素和氨基酸含量来看,经 4 个月培养的花叶开唇兰组培苗,其营养成分已与野生材料相当。

### 3. 讨 论

(1) 实验发现 MS 和 B5 为合适的基本培养基,蔗糖浓度和细胞分裂素是影响繁殖系数的主要因素。在实验中应用了新型细胞分裂素 4Pu-30,它是苯基脲类激素中活性较高的一种。4Pu-30 在台湾金线兰丛生芽的诱导中,0.5 mg/l 即显示很好的活性,其诱导丛生芽的能力明显强于 BA。4Pu-30 同时具有合成容易,价格低廉的优点,是一种很有前景的植物生长调节剂。

(2) 台湾金线兰资源少,分布窄,材料不易得。在自然条件下生长缓慢,每年仅生长 7~10 cm。而在培养条件下生长的组培苗,由于温度和湿度适宜,生长较快。营养成分分析表明,台湾金线兰的组培苗也有高含量的氨基酸和维生素,这为直接利用组培苗进行研究应用提供了依据。

(3) 台湾金线兰不仅有营养保健作用,还是一种疗效很好的中草药。有必要从化学和药理方面进行深入研究。

### 参 考 文 献

- 1 邱年永. 1992;明医通药(8):30~32.
- 2 吴青昌. 1984;中国本草原色图谱,台湾药草出版社,台北. 14.

(责任编辑:盛国英)

---

### 《生态农业研究》1997 年征订启事

《生态农业研究》系中国科学院石家庄农业现代化研究所和中国生态经济学会联合主办的生态学与大农业相结合的综合学术刊物,由科学出版社出版。本刊旨在探索和研发生态农业的理论、方向与内容等,推动学科发展。主要刊登有关生态农业及其相关农业的综合性论文、研究报告、研究简报、生态农业县建设方面的典型经验,适合国内外从事生态学、生态经济学、农、林、牧、副、渔、资源与环境保护等科研、教学和管理决策工作者及高等院校的有

关师生阅读。

1993 年创刊,国内外公开发行,季刊,季末出版,16 开本,80 页,定价 4 元/册,全年 4 册 16 元(含邮资)。从邮局汇款订购,请寄 050021 河北省石家庄市槐中中路 39 号《生态农业研究》编辑部。从银行汇款订购,收款单位:中国科学院石家庄农业现代化研究所;开户银行:河北省石家庄市工商银行裕华路办事处,帐号:215-02640007-803。