

不同株系一年生石斛苗长势及有效成分比较

王 辉¹, 田 娜^{1,2}, 肖小君¹, 齐泽民^{1*}, 黄作喜¹, 张志勇¹

1. 内江师范学院生命科学学院, 四川 内江 641100

2. 重庆医科大学, 重庆 400010

摘要: **目的** 通过比较9个不同株系一年生石斛苗(T5、T3、T2、YD-1、W-3、GDYS、TN、W-1和T4)的生长势及有效成分量, 筛选具有较高开发利用价值的石斛株系。**方法** 采用生理学及生药学常规方法测定石斛苗生长情况和有效成分量, 并用SPSS 11.5统计分析软件对有效成分的测定值进行系统聚类分析。**结果** T4长势最好, T2长势最差, 其余株系介于其间; 聚类分析将9个株系分为3类: 第1类包括GDYS、TN、T5、T4, 该类石斛的多数有效成分的量相近且高于其他株系; 第2类包括W-3、YD-1、T3, 这类石斛的有效成分平均量位于第2位; 第3类包括W-1和T2, 这2个株系的多数有效成分的量较低。**结论** GDYS、TN、T5和T4可作为优良株系进行规模化生产; W-3、YD-1、T3和T2可作为种质资源保存, 不宜大规模种植; W-1的生物碱和灰分量较高, 可作为专门的提取原料, 也可作为回交亲本用于改良优良株系的个别不良性状。**关键词:** 石斛; 有效成分; 石斛多糖; 生物碱; 聚类分析

中图分类号: R282.4

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2015)17-2618-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.17.019

Comparison on growth and active ingredients in different strains of annual *Dendrobii Herba* seedlings

WANG Hui¹, TIAN Na^{1,2}, XIAO Xiao-jun¹, QI Ze-min¹, HUANG Zuo-xi¹, ZHANG Zhi-yong¹

1. College of Life Science, Neijiang Normal University, Neijiang 641100, China

2. Chongqing Medical University, Chongqing 410010, China

Abstract: Objective To screen higher value *Dendrobii* strains for development and utilization, the growth vigor and active ingredient contents of nine annual *Herba Dendrobii* seedlings (T5, T3, T2, YD-1, W-3, GDYS, TN, W-1, and T4) were studied. **Methods** The growth and active ingredient contents were measured by the physiological and pharmacognosical methods. Cluster analysis was carried out by SPSS11.5 statistical analysis software. **Results** The most desirable growth was T4 while that of T2 was the worst, and the other strains were between them. The nine different strains could be divided into three groups by cluster analysis: The first group included GDYS, TN, T5, and T4, in which the most of the active ingredient indicators were similar and higher than other strains. The second group included W-3, YD-1, and T3, in which there were the second average contents. The third group included W-1 and T2, in which there were lower contents in most active ingredients. **Conclusion** GDYS, TN, T5, and T4 could be produced in large scale as good strains, while W-3, YD-1, T3, and T2 could be conserved as germplasm resources, but unfavorable to grow in large scale. The strain of W-1 has a higher content of alkaloids and ash, which could be used as the special extracting materials or the backcrossed parents to improve the individual unfavorable traits of good strains.

Key words: *Dendrobii Herba*; active ingredients; polysaccharide of *Dendrobii Herba*; alkaloids; cluster analysis

石斛为兰科石斛属 *Dendrobium* Sw 多年生草本植物, 是我国传统的名贵中药材。随着人们保健意识的逐渐增强, 目前市场需求量不断扩大。野生石斛多生长在山区高温高湿环境, 生长缓慢、自身繁

殖能力极低, 加上人为采摘破坏严重, 使得野生石斛资源濒临枯竭。随着生物技术的发展, 人工栽培的石斛逐渐占据市场, 已有文献报道对药用石斛的人工栽培技术^[1-3]、药理作用及化学成分^[4-5]等方面

收稿日期: 2015-02-01

基金项目: 四川省教育厅重点项目(13ZA-0007, 14ZA0250); 四川省教育厅高校科研创新团队项目(14TD0025)

作者简介: 王 辉(1982—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为药用植物栽培及育种。E-mail: whscnj@126.com

*通信作者 齐泽民, 男, 教授, 主要从事珍稀植物资源保护与利用研究。E-mail: zmin918@sina.com

的一些探讨和研究。但这些研究多集中于金钗石斛、铁皮石斛和齿瓣石斛^[1-2,5]等个别品种上,对人工选育的株系报道较少,特别是人工栽培的株系早期石斛茎中有效成分量的综合研究目前尚未见报道。本实验以9个石斛组培快繁的一年生株系作为实验材料,从多指标角度检测及评价其生物学性状与品质状态,对于一年生组培快繁石斛优良株系的选育及规范化生产具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

选取9个不同生态型的石斛材料,由内江师范学院生命科学学院组培室生产及驯化栽培,分别编号为T5、T3、T2、YD-1、W-3、GDYS、TN、W-1和T4。

1.2 方法

于6月份每个株系选取茎高为1.5 cm的一年生石斛苗10株为观察目标,进行标记,3个月后用直尺测量茎高。采用剪纸称量法测定叶面积和比叶重(单位叶面积的叶片鲜质量)^[6];叶绿素相对量用SPAD-502叶绿素仪测定,根据孙小霞等^[7]方法测定叶绿素的量。采用氯化三苯基四氮唑(TTC)法测定根系活力^[7]。蛋白质质量用考马斯亮蓝法^[7]测定;灰分量参照《中国药典》2010年版一部附录IX K灰分测定法^[8];粗纤维量的测定

参照张志良的方法^[6];石斛多糖量测定参照吴刚等的方法^[9],并在此基础上稍加修改,用722型紫外-可见分光光度计在625 nm处测定吸光度(A)值^[10-11]。以溴甲酚绿酸性染料于620 nm处比色法测定总生物碱量。

1.3 数据分析

采用Excel和SPSS 11.5对实验数据进行处理聚类分析利用组间平均连锁法以欧式距离为测度对样本进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同石斛株系生长情况比较

表1结果表明,T4茎高值最大,达到3.07 cm,T2生长最慢、仅为1.87 cm,两者之间差异显著($P<0.05$);其他株系茎高介于2.40~2.96 cm,差异不显著($P>0.05$)。从叶面积的比较可见,TN、T4、GDYS的叶面积较大,分别为3.42、3.02、2.89 cm²,三者差异不显著,但较其他株系差异显著;T2和YD-1的叶面积较小,分别为1.82和2.00 cm²。叶绿素量显示,T4的叶绿素量最高(4.14 mg/dm²),T2的叶绿素量最低(3.21 mg/dm²),两者之间差异显著;根系活力显示,T4根系活力最高,T2根系活力最低。因此,综合茎高、叶面积、比叶重、叶绿素量以及根系活力5个指标的结果认为,T4的光合作用较强,生长势强,T2长势较差。

表1 不同株系的一年生石斛苗生长情况比较

Table 1 Comparison on growth of different annual *Dendrobii Herba* seedlings

株系名	茎高/cm	叶面积/cm ²	比叶重/(mg·cm ⁻²)	叶绿素量/(mg·dm ⁻²)	根系活力/(μg·g ⁻¹ ·h ⁻¹)
T5	2.96±0.61 a	1.91±0.31 d	20.74±1.89 bc	3.61±0.26 bcde	151.87
T3	2.50±0.56 ab	2.66±0.23 b	22.05±1.10 abc	3.49±0.12 cde	163.92
T2	1.87±0.21 b	1.82±0.15 d	19.97±1.56 bc	3.21±0.16 e	121.10
YD-1	2.53±0.59 ab	2.00±0.23 d	20.03±1.50 b	3.92±0.25 ab	136.74
W-3	2.40±0.62 ab	2.05±0.60 cd	21.94±2.72 abc	3.84±0.31 abc	140.59
GDYS	2.67±0.38 ab	2.89±0.20 ab	25.60±2.70 a	3.75±0.04 abcd	141.87
TN	2.60±0.53 ab	3.42±0.33 a	19.56±2.75 c	3.39±0.32 de	147.77
W-1	2.63±0.35 ab	2.58±0.31 bc	21.80±2.51 abc	4.01±0.18 ab	157.51
T4	3.07±0.21 a	3.02±0.33 ab	24.13±4.27 ab	4.14±0.17 a	168.03

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同

Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 levels respectively, the same as below

2.2 不同株系石斛可溶性蛋白质质量的比较

蛋白质是构成植物细胞的基本物质之一,也是人体必需的重要营养成分之一。在植物生长过程中,植物的茎叶部分在不断的合成蛋白质,供构建新的组织和器官需要。从图1可知,9个石斛株系的蛋

白质量依次为T4>T5=TN=GDYS>T3>W-3>YD-1>W-1>T2。T4的蛋白质量最高,达564 μg/g;其次分别是TN、GDYS、T5,蛋白质量均为480 μg/g,与T4的蛋白质量差异不显著($P>0.05$),但与T2的蛋白质量差异显著,T2蛋白质量最低,为100.8 μg/g,

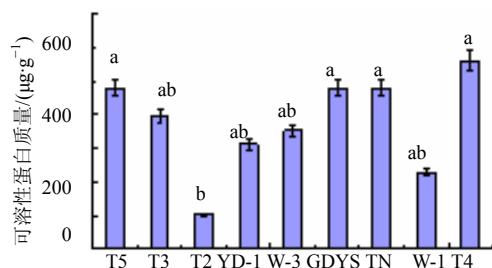


图1 不同石斛株系可溶性蛋白质量的比较

Fig. 1 Comparison on soluble protein contents of different strains in annual *Dendrobii Herba* seedlings

仅为 T4 的 17.7%。

2.3 不同株系石斛苗灰分量的比较

由图2可知, 9个株系的灰分量依次为 T4>W-1>GDYS>TN>T5>YD-1>T3>W-3>T2, T4和W-1的灰分量最高, 分别为 3.102%、3.089%, 较其余株系差异显著 ($P<0.05$); 其次为 GDYS 和 TN, 量分别为 2.503%和 2.361%; T5、T3、YD-1 和 W-3 4个株系之间灰分量差异较小; T2 的灰分量最低 (1.903%), 且较其他株系差异显著 ($P<0.05$)。因此认为, T4 和 W-1 中无机盐量较高, 植株营养价值较佳, T2 株系营养价值最差。

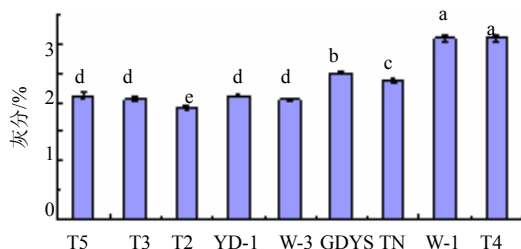


图2 不同株系石斛苗总灰分量的比较

Fig. 2 Comparison on total ash contents of different strains in annual *Dendrobii Herba* seedlings

2.4 不同株系石斛苗粗纤维量的比较

粗纤维是膳食纤维的一部分, 具有重要的保健功能, 能延缓碳水化合物的吸收, 有利于防治肥胖、便秘、心血管疾病、结肠癌和保健^[12-13]。图3结果表明, 9个石斛株系的粗纤维量依次为 GDYS>YD-1>T4>T5>TN>T3>W-1>W-3>T2。GDYS的粗纤维量最高, 达到 10.50%, 其次为 YD-1 和 T4, 量分别为 9.70%、9.65%; T2 粗纤维量最低, 为 6.35%; 其他株系的石斛苗粗纤维量均在 6.50%~9.00%。

2.5 不同株系石斛苗多糖量的比较

石斛茎中多糖量被认为是评价石斛品质的重要

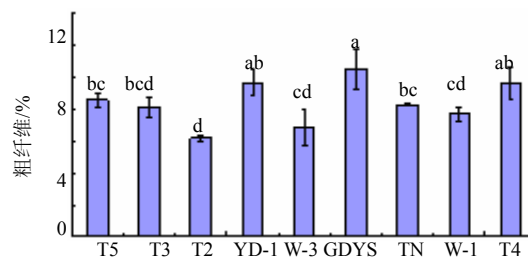


图3 不同株系粗纤维量的比较

Fig. 3 Comparison on the crude fiber contents of different *Dendrobii Herba* seedlings

指标之一, 石斛药用价值的高低, 在很大程度上取决于石斛多糖量的高低。由图4可知, 9个石斛株系的多糖量依次为 GDYS>TN>W-1>T3>YD-1>T2>T5>T4>W-3, GDYS 的石斛多糖量最高, 达到 29.24%, 且较其他株系差异显著 ($P<0.05$); 其次为 TN、W-1 和 T3, 多糖量分别为 26.92%、26.86%、26.70%, 三者差异不显著; W-3 多糖量最低, 仅为 13.35%, 并且较其他株系差异显著 ($P<0.05$)。由此认为, 9个株系的石斛苗中, 以石斛多糖量为指标评价指标时, GDYS 的药用价值较好, W-3 的药用价值较差。

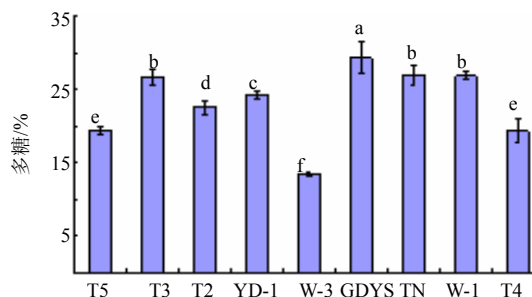


图4 不同株系石斛多糖量的比较

Fig. 4 Comparison on polysaccharide contents of different strains in annual *Dendrobii Herba* seedlings

2.6 不同株系石斛总生物碱量的比较

据报道, 石斛属植物的生物碱相对于多糖而言量较低, 但生物碱具有抗肿瘤、抗氧化^[14]、退烧止痛、抑制血管和胃肠道疾病^[15-16]等重要的生理功能。由图5可知, 9个株系的石斛总生物碱量依次为 W-1>YD-1>GDYS>TN>T4>T5>T3>T2>W-3。W-1 总生物碱量最高, 达 0.348%, 显著高于其他株系的石斛, YD-1、GDYS、TN 量分别为 0.32%、0.291%、0.283%, 三者之间差异显著 ($P<0.05$); T4 量略高于 T5, 但无显著差异 ($P>0.05$); T3、T2 茎总生物碱量较低, 分别为 0.151%、0.147%;

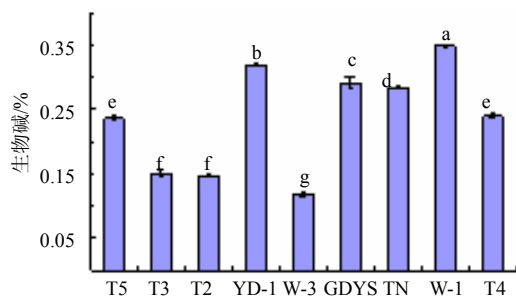


图 5 不同石斛株系生物碱量的比较

Fig. 5 Comparison on total alkaloids contents of different strains in annual *Dendrobii Herba* seedlings

W-3 茎总生物碱量最低为 0.119%，与其他株系差异显著，仅为 W-1 生物碱量的 34.2%。

2.7 不同株系石斛苗的聚类分析

为了更全面地比较 9 个株系营养成分的差异，筛选出较好的石斛种质资源，掌握各株系之间的亲缘关系。对石斛的可溶性蛋白质质量、粗纤维量、石斛多糖量、石斛碱量和灰分量进行聚类分析，结果表明（图 6），9 个株系石斛可分为 3 类，第 1 类包括 GDYS、TN、T5 和 T4，该类株系的典型特征是可溶性蛋白质、灰分、粗纤维量较高，石斛碱量也相对较高，另外，GDYS、TN 和 T5 之间的亲缘关系较近；第 2 类包括 YD-1、W-3 和 T3，该类群的多数营养指标均低于第 1 类，YD-1 和 W-3 的亲缘关系较近；第 3 类包括 T2 和 W-1，其多数性状均表现为最差，但 W-1 石斛碱、灰分和石斛多糖量较高，对于改良优良株系的个别不良性状时（针对石斛碱、灰分和石斛多糖量较低的株系），是优良的回交亲本；T2 株系综合量均较差，可作为种质资源保存，不宜直接开发利用。

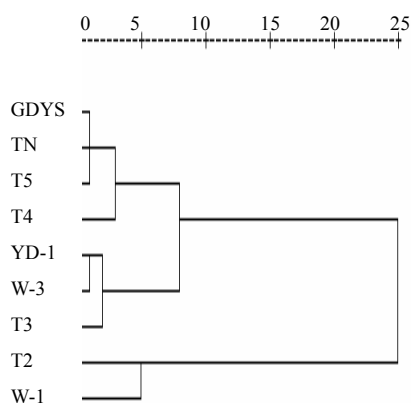


图 6 不同株系石斛的聚类分析

Fig. 6 Cluster analysis on different strains in annual *Dendrobii Herba* seedlings

3 讨论

石斛茎被认为是药用价值最高的部位，而石斛多糖和石斛生物碱是石斛最重要的药用成分，是评价石斛品质的主要指标，两者的评价角度不同，其药用价值也不同。研究证明，石斛多糖具有增强免疫^[17]、抗衰老和抗氧化^[18]、抗肿瘤^[19]以及祛痰镇咳、降血压^[20]清除氧自由基等^[21-22]作用。生物碱则具有兴奋肠管、促进胃液分泌^[23]等功能。此外，可溶性蛋白、粗纤维和灰分量也是植物体中具有品质判定意义和卫生检验意义的重要化学指标^[24]。陆礼和等^[25]研究测定了金钗石斛的灰分量，并且从金钗石斛的灰分中鉴定出 Ca、Mg、P、S、Fe 等 8 种重要的无机元素，证明了石斛灰分量与营养价值密切相关。

本研究通过比较 9 个石斛株系一年生幼苗的长势及有效成分，并且对 5 种主要有效成分的量进行了 SPSS 聚类分析，结果表明，9 种石斛可分为 3 类：第一类包括 GDYS、TN、T5 和 T4，结合有效成分量的柱状图可知，该类 4 个株系的多数有效成分指标相近且较其他株系高，其中 T4 的长势、蛋白质量及矿物质等方面较佳，具有栽培优势和一定营养价值；而从石斛粗纤维量和多糖量这一角度比较，GDYS 显著高于其他石斛，从亲缘关系来看，GDYS、TN 和 T5 之间的亲缘关系较近；第 2 类包括 W-3、YD-1 和 T3，这类石斛的有效成分平均量位于第 2 位，可作为种质资源保存，不利于大规模开发，YD-1 和 W-3 的亲缘关系较近；第 3 类包括 W-1 和 T2，这 2 个株系的多数有效成分水平表现较低，但 W-1 的石斛碱和灰分量较高，具有良好的药用价值，可进行选择性的开发利用，也可作为回交亲本用于改良优良株系的个别不良性状时；T2 长势较差，可作为种质资源保存，不宜直接开发利用。

前人研究以及本实验得出的结论都表明，对于有效成分而言，各有侧重点，不是每个株系都同时含有较高的多糖和生物碱，在进行石斛药用价值评价以及开发利用前景判断时，应从不同的角度评价和选择。因此，本实验研究结果为指导石斛杂交和扩大优良石斛株系的市场开发提供了理论参考依据，也对种质资源的保护起到积极作用。对 2~4 年生石斛苗的生长和药用成分的动态变化情况，研究将持续进行。

参考文献

- [1] 徐作英, 严伟, 廖小康, 等. 栽培金钗石斛形态鉴别和总生物碱量研究 [J]. 四川师范大学学报: 自然科学版, 2010, 33(3): 361-465.
- [2] 孙永玉, 咎少军, 徐永艳, 等. 齿瓣石斛栽培基质筛选及栽培方式研究 [J]. 林业科学研究, 2007, 20(4): 506-509.
- [3] 李娟, 李顺祥, 黄丹, 等. 铁皮石斛资源、化学成分及药理作用研究进展 [J]. 科技导报, 2011, 29(18): 74-79.
- [4] 凌志扬, 房玉良. 石斛的化学成分及药理作用 [J]. 中国当代医药, 2012, 19(5): 13-16.
- [5] 陆礼和, 杜艳妮, 张艳, 等. 金钗石斛营养成分分析研究 [J]. 云南师范大学学报, 2013, 33(1): 60-63.
- [6] 张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 第3版. 北京: 高等教育出版社, 2003.
- [7] 孙小霞, 邓家耀, 江宝月, 等. 水稻生育后期叶绿素量的 QTLs 及其与环境的互作分析 [J]. 应用生态学报, 2008, 19(12): 2651-2655.
- [8] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [9] 吴刚, 季祥彪, 康冀川, 等. 石斛中多糖和石斛碱的量测定 [J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(3): 274-278.
- [10] 李满飞, 徐国钧, 平田义正. 中药石斛类多糖的量测定 [J]. 中草药, 1990, 21(10): 12.
- [11] 范传颖, 陶正明, 吴志刚, 等. 苯酚硫酸法与蒽酮硫酸法测定铁皮石斛中多糖量的比较 [J]. 浙江农业科学, 2013(7): 799-801.
- [12] 闵锐. 膳食纤维的研究现状与展望 [J]. 上海师范大学学报: 自然科学版, 1998(3): 68-74.
- [13] 刘志皋. 食品营养学 [M]. 第2版. 北京: 中国轻工业出版社, 2010.
- [14] 魏小勇, 马伟凤, 方花, 等. 不同极性石斛生物碱的提取分离及对人晶状体上皮细胞增殖的影响 [J]. 广州中医药大学学报, 2010, 27(4): 362-366.
- [15] 郭勇, 程晓磊. 石斛在恶性肿瘤治疗中的作用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2007, 17(7): 454-455.
- [16] 张沂平, 马胜林, 朱远. 铁皮枫斗精对肿瘤患者放疗辅助治疗的疗效观察 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2000, 12(8): 628.
- [17] 黄民权, 蔡体育. 铁皮石斛多糖对小白鼠白细胞数和淋巴细胞移动抑制因子的影响 [J]. 天然产物研究与开发, 1996, 8(3): 39-41.
- [18] Zha X Q, Luo J P, Jiang S T. Induction of immunomodulating cytokines by polysaccharides from *Dendrobium huoshanense* [J]. *Pharm Biol*, 2007, 45(1): 71-76.
- [19] 陈晓梅, 郭顺星. 石斛属植物化学成分和药理作用的研究进展 [J]. 天然产物研究与开发, 2001, 13(1): 70-74.
- [20] 吴人照, 杨兵勋, 李亚萍, 等. 铁皮石斛多糖对 SHR-sp 大鼠抗高血压中风作用的实验研究 [J]. 中国医药科技, 2011, 18(3): 204-205.
- [21] Saltman P. Oxidative stress: a radical view [J]. *Semin Hemato*, 1989(26): 249.
- [22] Berdanier C D, Everts H B. Mitochondrial DNA in aging degenerative disease [J]. *Mutat Res*, 2001, 475(2): 169-184.
- [23] 郭勇, 程晓磊. 石斛在恶性肿瘤治疗中的作用 [J]. 浙江中西医结合杂志, 2007, 17(7): 454-455.
- [24] 童小麟. 茶叶灰分及其控制措施 [J]. 福建茶叶, 2004(10): 20-22.
- [25] 陆礼和, 杜艳妮, 张艳, 等. 金钗石斛营养成分分析研究 [J]. 云南师范大学学报, 2013, 33(1): 60-63.