

· 药材 ·

铁皮石斛居群差异的研究(I) ——植物体形态结构的差异

丁小余^{1,2}, 徐珞珊¹, 王峥涛¹, 施国新², 徐红^{1*}

(1. 中国药科大学中药学院 生药学教研室, 江苏 南京 210038; 2. 南京师范大学生命科学学院, 江苏 南京 210097)

摘要: 目的 比较分析广西、贵州、云南三省区的铁皮石斛主要居群形态结构的差异。方法 运用光镜对铁皮石斛茎进行比较解剖。结果 将采集到的我国铁皮石斛主产区的主要居群分为二种类型: F型和 H型。F型植株的茎相对短而柔软, 具粘性, 适宜加工成铁皮枫斗; 其中广西西林居群和云南广南居群茎的表皮具较丰富的蜡质, 不具下皮层, 横切面上维管束密度小, 维管束内外侧纤维群不发达, 茎尤为柔软, 是加工铁皮枫斗的优质居群。H型植株的茎较长、质地较硬、粘性差, 不适宜加工成铁皮枫斗。结论 F型和 H型居群铁皮石斛茎的形态结构具有明显差异, 弄清铁皮石斛居群差异对指导铁皮石斛的采收、加工以及大面积人工繁殖具有重要意义。

关键词: 铁皮石斛; 形态结构; 居群差异

中图分类号: R282. 710. 3 文献标识码: A 文章编号: 0253- 2670(2001)09- 0828- 04

Studies on population difference of *Dendrobium officinale*

I. Differences in morphological structure

DING Xiao-yu^{1,2}, XU LUO-shan¹, WANG Zheng-tao¹, SHI Guo-xin², XU Hong¹

(1. Department of Pharmacognosy, School of Chinese Materia Medica, China Pharmaceutical University, Nanjing Jiangsu 210038, China; 2. College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing Jiangsu 210097, China)

Abstract **Object** To study the different morphological structure of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo collected from different habitats in Guangxi, Yunnan, and Guizhou provinces. **Methods** The stems of *D. officinale* were studied by phytotomy under optical microscope. **Results** The main population of *D. officinale* obtained from different habitats can be differentiated into two different types: the F-type with sticky, flexible stems can be processed into “Tiepi Fengdou”, while the H-type with a more rigid stem is not suitable for such processing. **Conclusion** The morphology of F-and H-type *D. officinale* are significantly different which provide a valuable reference during harvesting, processing and extensive cultivation of the herbal drug.

Key words *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; morphological structure; population difference

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 以其味甘、质重、柔韧和粘性大等优良品质被人们加工成铁皮枫斗, 视为药材珍品被销往国内外。《中国药典》亦规定铁皮石斛在烘软干燥后可加工成耳环石斛即铁皮枫斗^[1]。然而, 通过对我国枫斗的主要加工基地——浙江省乐清市各枫斗加工场的调查以及野外追踪考察, 我们发现并不是所有的铁皮石斛都适宜加工成枫斗, 适宜加工成枫斗的铁皮石斛主要分布于广西、云南、贵州等省区 (浙江天台山有

一定规模的人工栽培), 其茎大多柔软、味甘、具粘性, 鲜药材价格昂贵。不适宜加工成枫斗的铁皮石斛主要分布于广西环江、融江一带, 其茎较长质硬、粘性小、不能被烘软, 鲜药材价格便宜。

关于铁皮石斛, 前人曾对其结构解剖^[2]、化学成分^[3]、组织培养^[4-7]、栽培管理^[4,8,9]等多方面进行了研究。然而, 有关不同分布地的铁皮石斛居群差异及其检验方法, 《中国药典》^[1]及许多兰科植物相关文献对此并没有记载报道^[10-12]。在铁皮石斛的人工繁

* 收稿日期: 2000-12-26

作者简介: 丁小余 (1965-), 男, 江苏省靖江市人, 1989年毕业于南京师范大学生命科学学院植物学专业, 获硕士学位。1989年起在该院植物教研中心工作, 现为副教授、硕士生导师、教研中心主任。1998年起至今在职攻读中国药科大学药学博士学位。Tel 13951737066(手机) Email Dingxy 2000@ 263.net

殖过程中,由于所选铁皮石斛品种的质量直接关系到组培苗的品质,进而决定所获铁皮石斛药材能否加工成优质贵重的铁皮枫斗,因此,很有必要对铁皮石斛的居群差异进行比较研究,为指导铁皮枫斗的采收加工以及大面积人工繁殖提供理论根据

1 材料和方法

1.1 实验所用的铁皮石斛材料采自我国铁皮石斛主产区:云南广南、广西西林、天峨、环江、融江、贵州三都等地的原始森林,分别代表 6 个自然居群,每个居群至少取 2 个样本,详见表 1。作者根据铁皮石斛花序轴回折状弯曲,每个花序具 2~5 朵花,药帽顶端深

表 1 铁皮石斛茎的形态及花部特征的居群差异

居群名称	产地	茎的长度 (cm)	茎中部直径 (mm)	花被颜色	唇瓣色斑
西林居群	广西西林	5~30	3.6	黄绿色	鲜红色
广南居群	云南广南	5~30	4.8	黄绿色	鲜红色
三都居群	贵州三都	20~40	3.5	黄绿色	深红色
天峨居群	广西天峨	30~40	3.6	黄绿色	深红色
环江居群	广西环江	50~150	4.0	淡紫红色	深紫红色
融江居群	广西融江	15~60	4.0	淡紫红色	深紫红色

2.2 铁皮石斛茎的解剖结构的居群差异: 鉴于石斛属植物茎的基部和中部茎的节间结构较稳定,因此本文着重对各居群铁皮石斛茎的这两部分横切面进行了观察比较。铁皮石斛茎具有以下共同特点: 1) 表皮由一层细胞组成,细胞为砖形。表皮外具有一层较厚的角质层并含一定的蜡质,金黄色。2) 有些居群的表皮细胞内具下皮层,下皮层细胞具有次生增厚的壁(图 1-5~7)。3) 表皮或下皮层内为基本组织和维管束,基本组织由薄壁细胞组成,其细胞内除具淀粉粒外,有些居群的个体还具丰富的多糖性粘液成分, PAS 染色时呈樱桃红色。4) 维管束散生,外韧型,茎基部横切面上维管束的数目较为稳定。维管束具内侧纤维群和外侧纤维群,且相互连成环状纤维鞘,不同居群类型具有不同发达程度的纤维鞘(图 1-1~8)。

不同居群铁皮石斛茎节间的横切面除了具有以上共同的结构特征外,基部和中部节间还具有各自的解剖学特点。现将铁皮石斛各居群茎的基部和中部结构比较如下,详见表 2,3。

3 讨论

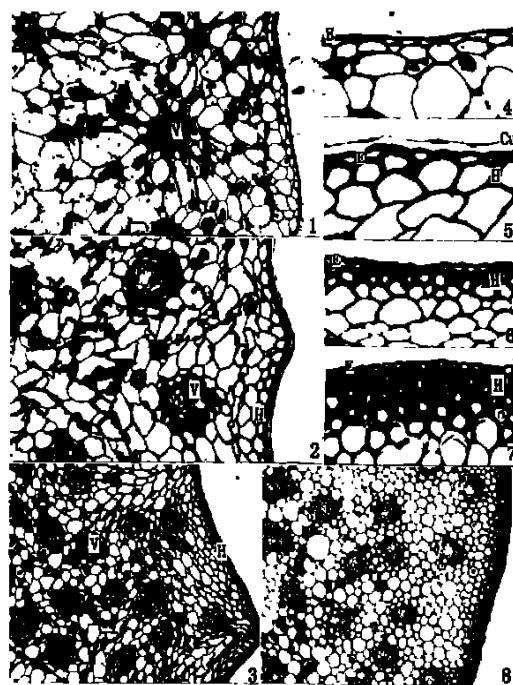
在铁皮枫斗的加工过程中,鲜药材茎上的叶片均被去除。较短的茎一般为当年生的,短而粗壮且粘性大,加工时茎不剪断,茎基部和不定根(龙头)以及茎尖(凤尾)均被保留,可加工成名贵的“龙头凤尾型”铁皮枫斗,在国际市场上价格在 3 000 美元左右。对于较长的茎,无论是当年生的还是次年生的,加工时均需剪断。加工时,均需在灼热的无明火的木

裂呈齿状等主要特征,鉴定了铁皮石斛原植物,并将铁皮石斛与细茎石斛 *Dendrobium moniliforme* 齿瓣石斛 *D. devonianum* 等易混种区别开来。

1.2 光镜观察材料为冬季取自 1~2 年生铁皮石斛茎基部节间及茎中部的节间。用 FAA 固定,聚乙二醇 2000 包埋, AO 切片机切片,切片厚度 15 μ m 左右。PAS 染色法染色, Olympus BH 显微镜检视摄影。

2 结果

2.1 铁皮石斛茎的形态及花部特征的居群差异: 铁皮石斛茎的形态及花部特征的居群差异见表 1。



cu 角质层 E 表皮 H 下皮层 V 维管束

- 1-F 型茎基部节间横切面, 示维管束及薄壁组织;
- 2-F 型, 3-H 型茎中部节间横切面, 示维管束及薄壁组织;
- 4-F 型茎中部节间横切面, 示无下皮层结构;
- 5-F 型, 7-H 型茎基部节间横切面, 示表皮及下皮;
- 6-H 型茎中部节间横切面, 示表皮及下皮;
- 8-H 型茎基部节间横切面, 示维管束及薄壁组织。

图 1 铁皮石斛茎的解剖结构

炭上烘烤,温度保持在 70℃~80℃左右,缓缓烘软后,用手搓揉成螺旋形,再用稻草捆扎定型方能成铁

表 2 铁皮石斛各居群茎基部横切面的解剖学特征

组织结构特征	西林居群	广南居群	三都居群	天峨居群	环江居群	融江居群
角质层厚 (μ m)	4~ 6	5~ 7	4~ 6	5~ 7	4~ 6	5~ 6
表皮细胞	1层,壁厚	1层,壁厚	1层,壁厚	1层,壁厚	1层,壁厚	1层,壁厚
下皮层细胞 (μ m)	1层,壁厚 3~ 4	1层,壁厚 3~ 4	1~ 2层,壁厚 6~ 7	1~ 2层,壁厚 6~ 7	3~ 4层,壁厚 6~ 7	3~ 4层,壁厚 6~ 7
基本组织的内含物	淀粉粒,多糖 类粘液	淀粉粒,多糖 类粘液	淀粉粒,多糖 类粘液	淀粉粒,多糖 类粘液	淀粉粒	淀粉粒
维管束的相对密度 (个 毫米 ²) [*]	9	9	11	11	19	19
维管束的总数 (个) [*]	48	48	56	56	84	84
外侧纤维群细胞层数	2~ 3	2~ 3	2~ 3	2~ 3	3~ 4	3~ 4
内侧纤维群细胞层数	2~ 3	2~ 3	2~ 3	2~ 3	3~ 4	3~ 4

* 组数据为 10组样本的平均值,且 4舍 5入取整,下同.

表 3 铁皮石斛各居群茎中部横切面的解剖学特征

组织结构特征	西林居群	广南居群	三都居群	天峨居群	环江居群	融江居群
角质层厚 (μ m)	5~ 7	5~ 7	5~ 7	5~ 7	5~ 6	5~ 6
表皮细胞	1层,壁薄	1层,壁薄	1层,壁薄	1层,壁薄	1层,壁厚	1层,壁厚
下皮层细胞 (μ m)	无	无	无或 1层 壁厚 3~ 4	无或 1层 壁厚 3~ 4	2~ 3层,壁厚 6~ 7	2~ 3层,壁厚 6~ 7
基本组织的内含物	淀粉粒,多 糖类粘液	淀粉粒,多 糖类粘液	淀粉粒,多 糖类粘液	淀粉粒,多 糖类粘液	淀粉粒,少量 多糖颗粒	淀粉粒,少量 多糖颗粒
维管束的相对密度 (个 毫米 ²) [*]	6	6	9	9	14	14
维管束的总数 (个) [*]	52	52	65	65	96	96
外侧纤维群细胞层数	2~ 3	2~ 3	2~ 3	2~ 3	3~ 4	3~ 4
内侧纤维群细胞层数	2~ 3	2~ 3	2~ 3	2~ 3	3~ 4	3~ 4

皮枫斗。因此,从铁皮枫斗的加工过程来看,衡量铁皮石斛优劣的一个重要标准是其茎能否容易被烘软加工成枫斗。有关铁皮石斛的最佳采收期,丁亚平等^[9]曾通过比较不同生长时期铁皮石斛的化学成分,并根据不同的药用目的确定了铁皮石斛的最佳采收期。但作者从枫斗加工的角度分析,用作加工枫斗的铁皮石斛的最佳采收期应为当年植株,这主要是由于铁皮石斛当年的植株含有丰富的多糖、质地柔软、且可选拔出经济价值极高的“龙头凤尾型”个体。

根据铁皮石斛茎的形态结构和我国铁皮枫斗加工的具体情况,并结合 rDNA ITS序列的居群差异(另文发表),作者认为可将所收集到的 6个具有代表性的铁皮石斛居群分为二种类型:(1)F型铁皮石斛居群:包括西林居群、广南居群、三都居群、天峨居群。(2)H型铁皮石斛居群:包括环江居群、融江居群。F为“枫斗-Fergdou”的首字母,H为“硬的-hard”的首字母。F型铁皮石斛因其茎圆,叶鞘具紫斑,与节部常有一黑褐色的环状间隙,因而被人们称为黑节草。H型铁皮石斛的茎较长、质硬,不适合于加工成铁皮枫斗,民间称之为“硬铁皮”,仅煮水服用。

关于铁皮石斛具有居群差异的现象,前人的研

究中尚未见报道^[10~ 12]。如上文所述,根据铁皮石斛形态结构的居群差异及铁皮枫斗加工的具体情况,广西、贵州、云南的铁皮石斛居群被划分为二种居群类型。在铁皮枫斗加工时,只有 F型居群的铁皮石斛适宜被烘软加工成铁皮枫斗,而 H型居群的铁皮石斛因其茎杆较硬不适宜加工成铁皮枫斗。在 F型铁皮石斛居群中,广西西林居群和云南广南居群因其茎的柔软性强且角质层中具有较丰富的蜡质,所加工成的铁皮枫斗因而具有一定光泽,被传统认为是 F型铁皮石斛居群中品质最优的居群。贵州三都居群和广西天峨居群的植株也用于加工成铁皮枫斗,但因其茎的柔软性及角质层中的蜡质较广西西林居群及云南广南居群少,所加工成的铁皮枫斗光泽稍差、价格较便宜。

铁皮石斛 F型居群与 H型居群在解剖结构方面表现出一定的差异: F型茎的中部节间不具或只具 1~ 2层由厚壁细胞组成的下皮层,基本组织含有多糖,有些个体粘液丰富,横切面上维管束总数较少,维管束鞘纤维不发达;而 H型茎的中部节间具有由 3~ 4层厚壁细胞组成的下皮层,横切面上维管束总数较多,且维管束鞘纤维发达,粘性差。由于 H型茎具发达的厚壁的下皮层,且维管束的数目较多、维管束鞘纤维发达,故 H型的茎杆较硬,不易被烘

软加工成枫斗;而 F型铁皮石斛居群的植株因其茎秆柔软可被加工成铁皮枫斗。

优质的铁皮枫斗味甘富粘性,被传统认为是枫斗药材的上乘品质特征。经过观察,铁皮石斛的粘性成分属基本组织细胞中的多糖类成分。前人通过研究认为石斛多糖具有显著的养阴生津功效^[3]。F型居群铁皮石斛的茎秆粗壮柔软,细胞含有丰富的粘性多糖成分,因此,由它加工成的铁皮枫斗具增强人体免疫功能、防癌抗癌、恢复嗓音等显著功效^[4],价格昂贵。H型铁皮石斛,虽不适宜加工成铁皮枫斗,但因其细胞中也含有一定的淀粉及少量多糖成分而被民间煮水饮服,具有一定的功效且价格便宜,在开发利用时应予以重视

参考文献:

[1] 中国药典[S]. 2000年版。

- [2] 徐珞珊,徐国钧,沙文兰,等. 中药石斛显微鉴定研究 II[J]. 南京药学院学报, 1980, (2): 1-4.
- [3] 王宪楷,赵同芳. 石斛属植物化学成分与中药石斛研究[J]. 药学通报, 1986, 21(11): 666-669.
- [4] 付开聪,连守臣,冯德强,等. 黑节草资源的应用与开发[J]. 中草药, 1999, 30(9): 708-711.
- [5] 刘瑞驹,蒙爱东,邓锡青,等. 铁皮石斛试管苗快速繁殖的研究[J]. 药学报, 1988, 23(8): 636-640.
- [6] 刘 骅,张治国. 铁皮石斛试管苗壮苗培养基的研究[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(11): 654-656.
- [7] 王光远,许智宏,蔡德发,等. 铁皮石斛的离体开花[J]. 中国科学(C辑), 1997, 27(3): 229-234.
- [8] 丁亚军,吴庆生,于力文. 铁皮石斛最佳采收期的理论探讨[J]. 中国中药杂志, 1998, 23(8): 458-460.
- [9] 王康正,高文远. 石斛属药用植物研究进展[J]. 中草药, 1997, 28(10): 633-635.
- [10] 陈心启,吉占和,罗毅波. 中国野生兰科植物彩色图鉴[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [11] 陈心启,吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.
- [12] 吉占和. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999.

银杏悬浮细胞系选育及继代培养中银杏内酯合成稳定性研究

刘佳佳¹,江文辉¹,郭 勇²,郑穗平^{2*}

(1. 中南大学 中药现代化研究中心 岳麓校区,湖南 长沙 410083 2. 华南理工大学 食品与生物工程学院,广东 广州 510641)

摘 要: 目的 选育高产银杏内酯悬浮细胞系,并对其在继代培养过程中银杏内酯 B合成的稳定性进行研究。方法 以银杏优良品种的种子萌发幼苗诱导愈伤组织,考察了不同培养基对愈伤组织生长和银杏内酯 B产生的影响,采用缺氧胁迫法从诱导的愈伤组织中选育高产银杏内酯 B悬浮细胞系,并进行驯化培养。结果 选出了 7个细胞系,其合成银杏内酯 B的能力比选育前的愈伤组织有了显著提高,其中细胞系 M H-3培养周期 18 d,细胞生物量增加 3.71倍,银杏内酯 B含量达到 $302\mu\text{g/g DW}$,比选育前提高了 172.7%,为国内领先水平。在摇瓶培养时其合成银杏内酯的能力稳定,连续培养 6代,银杏内酯 B的平均含量为 $291\mu\text{g/g DW}$,变异系数为 0.131。结论 采用该路线选育的银杏悬浮细胞系银杏内酯 B产量高,在继代培养过程中合成代谢较稳定。

关键词: 银杏内酯;悬浮细胞系;继代培养;稳定性

中图分类号: R282.13 文献标识码: B 文章编号: 0253-2670(2001)09-0831-04

Selection of *Ginkgo biloba* cell line for suspension culture and studies on stability of ginkgolide B in subculture

LIU Jia-jia¹, JIANG Wen-hui¹, GUO Yong², ZHENG Sui-ping²

(1. Centre of Traditional Chinese Medicine Modernization, Central-South University, Changsha Hunan 410083, China; 2. College of Food Engineering and Biotechnology, South China University of Technology, Guangzhou Guangdong 510641, China)

Abstract Object To select the cell line of *Ginkgo biloba* L. that may produce high yield of ginkgolide B (GB) in suspension culture and to study the stability of GB in subculture. **Methods** Calculus was induced with stem, root and leaf of selected elite species and high yield suspension cell lines chosen by hypoxia stress. **Results** Seven suspension cell lines with improved yield of GB were obtained. Among which cell line M H-3 gave a 3.71 fold increase of cellular bioproduct with an increased content up to $302\mu\text{g/g}$

* 收稿日期: 2000-10-27

基金项目: 广东省自然科学基金(No. 990865)和中南大学科研基金资助项目

作者简介: 刘佳佳(1963-),男,工学博士,副教授。从事天然产物的研究与开发。研究方向: 次生代谢物的代谢调控与结构修饰,活性成分的筛选与提取分离工艺。Tel (0731) 8836125