

合江金钗石斛不同品系农艺性状比较与品质分析

颜寿^{1,2}, 赵庭梅^{1,2}, 李韵芳^{1*}, 胡亚东¹, 淳泽^{1*}

(1. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

[摘要] 目的:对合江金钗石斛3个品系(JC-1, JC-2, JC-3)主要农艺性状与品质进行比较,为合江金钗石斛生产提供指导,为金钗石斛新品种选育提供参考依据。方法:用直尺、游标卡尺和分析天平测定了合江金钗石斛的主要农艺性状与产量性状;采用苯酚-硫酸比色法和酸性染料比色法分别测定茎中多糖与总生物碱含量。结果:2年生的JC-1在茎节数、节间长、茎鲜重与茎干重方面表现最佳。从茎长来看,无论是1年生,2年生还是3年生,均表现为JC-1 > JC-2 > JC-3。茎粗则随着年龄的增长而增粗,JC-2粗于JC-1和JC-3,且JC-2从2年生到3年生这个阶段增长迅速。折干率均表现为2年生大于1年生与3年生,JC-1的折干率远大于JC-2与JC-3。JC-3株型最小,折干率最低。在有效成分含量方面,多糖质量分数为JC-1(4.64%) > JC-2(3.02%) > JC-3(2.20%);总生物碱质量分数为JC-3(0.59%) > JC-2(0.48%) > JC-1(0.45%),但折算为茎鲜品中多糖与总生物碱含量均为JC-1最高。结论:综合生产及品质等角度,笔者认为合江金钗石斛品系JC-1最适合推广种植。

[关键词] 合江金钗石斛; 品系; 农艺性状; 多糖; 总生物碱

[中图分类号] R284.1; R229; R273 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)02-0039-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018020039

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171102.1811.004.html>

[网络出版时间] 2017-11-02 18:11

Agronomic and Quality Traits of Different *Dendrobium nobile* Lines in Hejiang

YAN Shou^{1,2}, ZHAO Ting-mei^{1,2}, LI Yun-fang^{1*}, HU Ya-dong¹, CHUN Ze^{1*}

(1. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China;

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the main agronomic and quality traits of three *Dendrobium nobile* lines (JC-1, JC-2, and JC-3) in Hejiang, provide guidance for their production, and provide reference for breeding of new varieties. **Method:** The straight ruler, vernier caliper and analytical balance were used to measure the main agronomic and quality traits of *D. nobile* lines in Hejiang; and the contents of polysaccharides and total alkaloids in stems were determined by phenol sulfuric acid colorimetry and acid dye colorimetry respectively. **Result:** The results showed that one-year-old stem had the longest length in each individual plant. Stem diameter increased with the growth of life, and the two-year-old stem had the highest drying percentage. The stem length, stem fresh weight and dry weight of JC-1 and JC-2 were much higher than those in JC-3. As for quality traits, the content of polysaccharide was JC-1 (4.64%) > JC-2 (3.02%) > JC-3 (2.20%), and the total alkaloids content was JC-3 (0.59%) > JC-2 (0.48%) > JC-1 (0.45%). However, the JC-1 with highest amount fresh weight also displayed the highest total alkaloids content by calculating its stem drying percentage. **Conclusion:** In conclusion,

[收稿日期] 20170410(006)

[基金项目] 四川省“十三五”中药材育种攻关项目(2016NYZ0036-1);四川省重点研发项目(2017SZ0022);四川省科技支撑计划项目(2016JZ0015);中国科学院科技服务网络计划(STS计划)区域重点项目;四川省科技基础条件平台项目(2017TJPT0022)

[第一作者] 颜寿,在读硕士,从事中药材的资源收集、评价、利用和分子辅助育种研究, Tel:18202807565, E-mail: yanshou15@mails.ucas.ac.cn

[通信作者] * 淳泽,博士,研究员,从事中药资源研究, Tel:028-82890878, E-mail: chunze@cib.ac.cn

after considering the fresh weight, dry weight, the polysaccharide content and total alkaloids content all at the same time, we suggest JC-1 is the most suitable lines for planting.

[Key words] Hejiang *Dendrobium nobile*; lines; agronomic traits; polysaccharide; total alkaloids

金钗石斛别名“吊兰花”、“扁黄草”、“扁金钗”、“扁草”，为兰科多年生草本，因茎呈微扁形，中部宽，两头窄；表面金黄色或绿黄色，具有光泽，形如古代人头上的发钗而得名。金钗石斛是我国传统的名贵中药，在《神农本草经》中列为上品，民间有“救命仙草”之称；俗称药黄金，性寒，味甘，淡，微咸。现代医学表明，石斛在抑制肿瘤、抗衰老、提高人体免疫力、补五脏虚劳等方面有明显效果，具有很好的保健功效。赤水金钗石斛于 2006 年被批准实施地理标志产品保护，因此大量研究都集中于赤水金钗石斛。四川省合江县是我国著名的金钗石斛道地产区之一，在明代已广泛栽种^[1]。2015 年 12 月 13 日合江金钗石斛正式成为地理标志产品，成为继赤水金钗石斛之后，我国第二个金钗石斛地理标志产品。通过实地调查，笔者发现合江仿野生栽培的金钗石斛中存在着多种自然变异群体，经过多年选育，筛选出了 3 个稳定的品系，并形成了一定规模。为了探明这 3 个品系金钗石斛的品系特征、生长特性和品质差异，本研究对这 3 个品系的主要农艺性状进行了调查，并对他们的主要品质（多糖、总生物碱含量等）进行了分析，以期为合江金钗石斛的种植提供技术支撑，为金钗石斛的新品种选育奠定理论基础。

1 材料

3 个稳定的品系分别编号为 JC-1, JC-2, JC-3, 在合江当地分别俗称“大竹叶兰”（叶片与竹叶相似，且株型较大），“鱼肚兰”（茎中部宽于两端，类似于鱼的肚子），“小竹叶兰”（叶片与竹叶相似，但叶片及株型较“大竹叶兰”小）。上述品系均由四川省合江县福森种养专业合作社采用仿野生栽培方式种植（东经 106°06'38"，北纬 28°44'11"，海拔 704 m），种植多年且具有较集中的分布范围。于 2016 年 10 月中旬有针对性地选取了部分材料开展研究。以上 3 个品系经中国科学院成都生物研究所淳泽研究员鉴定均为兰科植物金钗石斛 *Dendrobium nobile* 的茎。

2 方法

2.1 农艺性状调查 在集中种植区，每隔 1 m 左右随机选取茎的分蘖数 > 15 的单株。每个品系从同一株中分别取 1 年生，2 年生，3 年生茎各 1 支，不同

年限茎分别取样 20 ~ 30 支。分别测量其茎长、中部茎粗、茎节数，然后取平均值。由于金钗石斛 2 年生茎要落叶^[2]，因此叶长、叶宽、叶厚这 3 个指标仅对 1 年生茎作了统计。测试方法为从顶部开始往下的第三和第四张叶片，用游标卡尺测定其叶长、叶宽和叶厚，再取平均值。

2.2 多糖与总生物碱测定 结合实际生产情况，大量研究表明石斛最适采收期为 2 年生茎^[3-5]。因此，本研究仅选取 2 年生茎进行多糖和总生物碱的测定。其中，金钗石斛多糖的测定采用苯酚-硫酸比色法，回流提取方式^[6]，重复提取 2 次，多糖以无水葡萄糖 (C₆H₁₂O₆) 计；总生物碱含量的测定采用酸性染料比色法^[7]。

2.3 折干率 3 个品系茎采收后，洗净，分别称量其鲜重；剪取 1 年生茎上的所有叶片，洗净，称重。茎切成小段与叶片均在 105 °C 恒温鼓风干燥箱中杀青 30 min，之后 60 °C 烘干至恒重，称重并计算折干率，折干率 = (干重/鲜重) × 100%。

2.4 ITS 序列分析 利用改良 CTAB 法提取 3 个品系石斛新鲜叶片的总 DNA，稀释后通过 PCR 扩增其 rDNA ITS 序列，产物回收后测序，利用 DNASTar-SeqMan 对测序结果进行拼接，用 GenBank 数据库中 BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) 对拼接好的 ITS 序列进行比较鉴定^[8-9]。

2.5 统计分析 运用 Microsoft Excel 进行数据处理，用 Graphpad Prism 5 系统作图，用 SPSS 20.0 进行方差分析，LSD 法进行样本平均数的差异显著性比较。

3 结果与分析

3.1 测序结果分析 通过 BLAST 比对，发现 3 个品系石斛与 NCBI 已有金钗石斛 AB593619.1 同源性均达 99%，可以得出 3 个品系均为金钗石斛正品。通过多重比对后发现 3 个品系在 7, 9, 14, 22, 51, 711, 726, 729 位存在一定差异，见图 1。

3.2 茎农艺性状

3.2.1 茎长 3 个品系之间茎长差异显著，无论是 1 年生，2 年生还是 3 年生茎长均呈现为 JC-1 > JC-2 > JC-3。1 年生茎长最能反映金钗石斛的株高特性，1 年生 JC-1 茎长最高达到了 49.0 cm，平均茎长为 43.5 cm。1 年生 JC-2 和 JC-3 平均茎长分别为

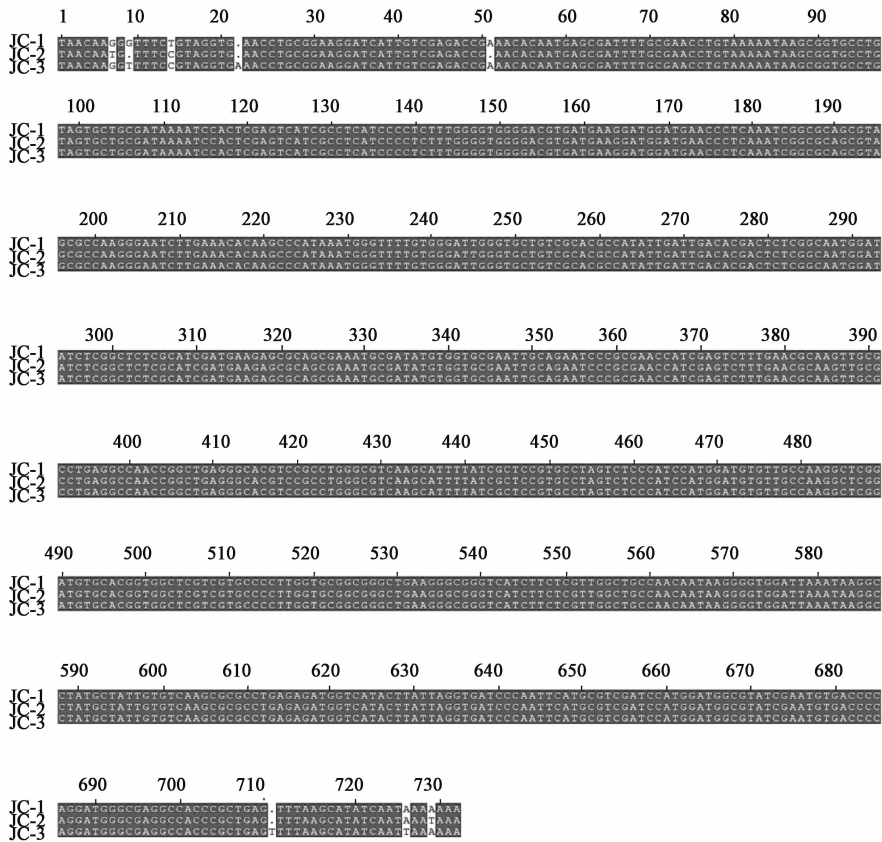


图 1 不同品系金钗石斛 ITS 序列测序结果比对

Fig.1 Comparison of ITS sequencing results of different lines of *Dendrobium nobile*

33.01, 16.07 cm。从生产的角度来讲, JC-1 与 JC-2 的株高较高, 更有利于干物质的积累。同一品系

同一株石斛不同生长年限的茎长均表现为 1 年生 > 2 年生 > 3 年生。见表 1。

表 1 不同品系不同生长年限茎农艺性状 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Table 1 Characteristics of stem of different lines in different growth years ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

品系	年限	茎长/cm	茎节数/节	节间长/cm	茎粗/mm
JC-1	1 年生	43.50 ± 5.50 ^a	11.86 ± 1.08 ^a	3.67 ± 0.23 ^a	10.48 ± 1.32 ^d
	2 年生	42.18 ± 4.43 ^a	11.80 ± 1.40 ^a	3.57 ± 0.19 ^{a,b}	11.62 ± 1.20 ^c
	3 年生	32.72 ± 4.38 ^b	10.12 ± 1.20 ^{b,c}	3.23 ± 0.16 ^c	11.85 ± 1.05 ^c
JC-2	1 年生	33.01 ± 4.18 ^b	9.63 ± 1.08 ^c	3.43 ± 0.28 ^b	12.22 ± 1.41 ^{b,c}
	2 年生	31.78 ± 4.95 ^b	10.81 ± 1.65 ^b	2.94 ± 0.31 ^d	12.77 ± 1.49 ^b
	3 年生	27.94 ± 4.77 ^c	10.39 ± 1.92 ^{b,c}	2.69 ± 0.29 ^e	15.14 ± 1.77 ^a
JC-3	1 年生	16.07 ± 2.44 ^d	7.10 ± 1.10 ^d	2.26 ± 0.30 ^f	10.60 ± 1.08 ^d
	2 年生	13.45 ± 3.08 ^d	6.29 ± 0.76 ^d	2.14 ± 0.28 ^f	12.01 ± 1.24 ^{b,c}
	3 年生	12.57 ± 3.03 ^d	6.14 ± 0.73 ^d	2.03 ± 0.26 ^f	12.77 ± 1.33 ^b

注:同一列不同小写字母表示具有显著性差异, $P < 0.05$ (表 2 ~ 4 同)。

3.2.2 茎节数与节间长 在茎节数方面, 整体上讲, JC-1 与 JC-2 的茎节数均高于 JC-3。1 年生 JC-1 茎节数最高为 14 节, 平均节数为 11.86 节; 而 1 年生 JC-3 的茎节数最高为 9 节, 平均节数仅 7.10 节。从不同年限茎节数差异情况来看, JC-1 与 JC-3 均为

1 年生 > 2 年生 > 3 年生, 而 1 年生 JC-2 的茎节数低于 2, 3 年生的茎节数。相同年限, 不同品系茎节数均为 JC-1 > JC-2 > JC-3。在节间长方面, 同一品系, 节间长均为 1 年生 > 2 年生 > 3 年生。不同品系之间, 相同年限的节间长均为 JC-1 > JC-2 > JC-3。

3.2.3 茎粗 整体而言,不同品系不同生长年限的茎粗差异明显。不同生长年限茎粗为 JC-2 显著高于 JC-1 与 JC-3。1 年生,2 年生的 JC-1 与 JC-3 茎粗差异不显著,3 年生的 JC-3 茎粗则显著高于 JC-1。3 个品系茎粗均随着年限的增长而增粗。JC-2 在 2 年生到 3 年生这一过程中茎粗急剧增大,由 12.77 mm 增长到 15.14 mm。

3.3 茎产量性状 在茎鲜重方面,1 年生,2 年生 JC-1 与 3 年生 JC-2 的单茎鲜重较大,超过了 16 g,不同年限 JC-3 的茎鲜重均不超过 10 g。在茎干重方面,也是 JC-1 显著高于 JC-2,JC-3 的茎秆干重最低。就茎折干率而言,不同品系不同生长年限茎折干率均表现为 JC-1 高于 JC-2,JC-2 高于 JC-3。1 年生,2 年生的 JC-1 较 JC-2 折干率分别高 4.40%,4.12%,3 年生的 JC-1 较 JC-2 折干率也高 2.9%,充分表明 JC-1 的干物质积累特性优于 JC-2 和 JC-3。同一品系,不同生长年限茎折干率均呈现先增后减的趋势,2 年生茎折干率最大。见表 2。

3.4 叶特征 不同品系叶片特征差异较大。从外观形态来看,JC-2 的叶为长圆形,而 JC-1 与 JC-3 的叶则相对细长,与竹叶类似。单茎的叶片数与茎节

表 3 不同品系叶片农艺性状比较($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Table 3 Comparison of agronomic traits of leaves in different lines($\bar{x} \pm s, n = 30$)

品系	叶片数/片	叶长/cm	叶宽/cm	叶厚/mm	叶鲜重/g	折干率/%
JC-1	10.09 ± 1.38 ^a	8.96 ± 0.7 ^b	2.35 ± 0.28 ^b	0.52 ± 0.09 ^a	0.64 ± 0.08 ^b	15.75 ± 1.04 ^a
JC-2	8.30 ± 1.23 ^b	10.00 ± 1.11 ^a	2.81 ± 0.25 ^a	0.49 ± 0.06 ^b	0.88 ± 0.09 ^a	14.58 ± 0.96 ^b
JC-3	5.70 ± 0.67 ^c	7.90 ± 0.55 ^c	2.28 ± 0.2 ^b	0.47 ± 0.05 ^c	0.55 ± 0.07 ^c	14.84 ± 0.95 ^b

3.5 多糖与总生物碱 多糖与总生物碱含量是评价石斛品质的重要指标,3 个品系之间多糖与总生物碱含量差异较大。在多糖含量方面,JC-1 含量最高为 4.64%,显著高于 JC-2 和 JC-3。JC-3 含量最低仅 2.20%。在总生物碱含量方面,JC-3 显著高于 JC-1 与 JC-2,JC-1 与 JC-2 之间差异不显著。然而,2 年生 JC-1,JC-2,JC-3 茎折干率分别为 13.12%,9.00%,7.65%,如果折算为茎鲜重中多糖与总生物碱的含量,JC-1 便具有绝对性优势,见表 4。

3.6 相关性分析 3 个品系茎折干率、叶折干率、多糖含量和总生物碱含量 4 个指标之间的相关性见表 5。同一品系茎与叶的折干率呈高度正相关,相关系数为 0.899。多糖含量与茎折干率显著正相关,相关系数高达 0.995。总生物碱含量与多糖含量呈负相关关系,相关性不显著,相关系数为 -0.875。

表 2 不同品系不同生长年限茎产量性状比较($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Table 2 Comparison of stem yield traits in different growth years of different lines($\bar{x} \pm s, n = 30$)

品系	年限	茎鲜重/g	茎干重/g	茎折干率/%
JC-1	1 年生	16.15 ± 1.21 ^{a,b}	2.02 ± 0.14 ^b	12.492 ± 0.61 ^b
	2 年生	16.28 ± 1.17 ^a	2.14 ± 0.17 ^a	13.122 ± 0.72 ^a
	3 年生	13.40 ± 1.09 ^d	1.49 ± 0.12 ^c	11.09 ± 0.67 ^c
JC-2	1 年生	14.70 ± 1.18 ^c	1.19 ± 0.13 ^c	8.09 ± 0.58 ^f
	2 年生	14.70 ± 1.32 ^c	1.32 ± 0.15 ^d	9.00 ± 0.63 ^d
	3 年生	16.03 ± 1.35 ^b	1.31 ± 0.14 ^d	8.19 ± 0.59 ^e
JC-3	1 年生	4.52 ± 0.77 ^e	0.33 ± 0.07 ^b	7.22 ± 0.55 ^h
	2 年生	5.76 ± 0.83 ^e	0.44 ± 0.08 ^f	7.65 ± 0.60 ^e
	3 年生	5.27 ± 0.81 ^f	0.38 ± 0.07 ^e	7.18 ± 0.54 ^h

数有关,表现为 JC-1 > JC-2 > JC-3,其中 JC-1 的叶片数平均为 10.09 片,JC-3 的叶片数仅为 5.70 片。在叶长与叶宽方面,均为 JC-2 > JC-1 > JC-3,因此,JC-2 的叶面积最大。然而,JC-2 的叶片并不是最厚的,JC-1 的叶厚最大,达 0.52 mm。由于叶长与叶宽的差异较大,最终呈现的叶片鲜重也是 JC-2 > JC-1 > JC-3。叶片的折干率与茎的折干率趋势大体一致,也是 JC-1 叶片折干率最大,为 15.75%。见表 3。

表 4 不同品系多糖与总生物碱比较($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Comparison of polysaccharides and total alkaloids in different lines($\bar{x} \pm s, n = 3$)

品系	多糖	总生物碱
JC-1	4.64 ± 0.24 ^a	0.45 ± 0.01 ^b
JC-2	3.02 ± 0.18 ^b	0.48 ± 0.02 ^b
JC-3	2.20 ± 0.17 ^c	0.59 ± 0.02 ^a

表 5 不同品系各性状相关系数

Table 5 Correlation coefficient of different traits of different lines

指标	茎折干率	叶折干率	多糖	总生物碱
茎折干率	1			
叶折干率	0.899	1		
多糖	0.995 ¹⁾	0.853	1	
总生物碱	-0.824	-0.493	-0.875	1

注:表示相关性具有显著性差异¹⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

前人研究表明,茎的折干率、多糖含量与总生物碱含量的高低,很大程度上与不同产地和采收月份有关^[10-11,2]。本研究中多糖含量偏低,这可能与是否计算葡萄糖换算为多糖的换算因子 f 有关。如王再花等^[12]测定的金钗石斛多糖含量的换算因子为2.711,最终质量分数为10%,本研究则未计算换算因子,直接以无水葡萄糖计。关于金钗石斛生物学特性的研究结果表明^[12-13],当年生茎8~10月就停止伸长生长,之后长度几乎不再增加。2年生茎主要进行笋芽萌发及笋芽的养分供给,2年生茎越健壮,养分含量越多,笋芽长势越好。这从一方面可以帮助解释本研究中相同植株中新抽茎的茎长往往高于头年老茎的茎长。就茎折干率而言,1年生石斛茎刚停止伸长生长,可能水分含量高;2年生茎则可能在内部物质积累,所以折干率升高;而3年生的茎,可能由于开花消耗了大量营养物质,因此较2年生茎折干率又有所降低。相关性分析显示,多糖与总生物碱含量在一定程度上呈负相关,与前人报道一致^[7,14]。

从生产的角度讲,JC-1与JC-2都具有较高的茎鲜重与茎折干率,适合大面积栽种推广。而JC-3株型偏小,且茎杆折干率太低,不利于干物质的积累,可以考虑作为园艺盆景。从品质含量的角度来说,JC-1多糖含量显著高于JC-2与JC-3。JC-1干品总生物碱虽然最低,但是折算为鲜重含量却是最高的。因此,综合生物产量和品质两个角度,优先推荐JC-1进行大规模生产种植。

[参考文献]

[1] 胡加玺. 合江金钗石斛[J]. 食品安全导刊, 2015(23):80.
[2] 唐德英, 杨春勇, 段立胜, 等. 金钗石斛生物学特性研

究[J]. 时珍国医国药, 2007, 18(10):2586-2587.
[3] 包英华. 铁皮石斛种质资源的鉴定与评价研究[D]. 广州:广州中医药大学, 2014.
[4] 诸燕, 斯金平, 郭宝林, 等. 人工栽培铁皮石斛多糖含量变异规律[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(4):427-430.
[5] 刘宁. 金钗石斛质量控制方法研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2009.
[6] 罗傲雪, 范益军, 罗傲霜, 等. 不同提取方法对石斛多糖含量测定的影响[J]. 中国药房, 2010, 21(7):601-602.
[7] 黄明进, 罗春丽, 赵致, 等. 贵州兴义四种石斛的多糖和总生物碱含量分析[J]. 时珍国医国药, 2014, 25(6):1359-1361.
[8] 栗丹, 李振坚, 毛萍, 等. 基于ITS序列石斛材料的鉴定及系统进化分析[J]. 园艺学报, 2012, 39(8):1539-1550.
[9] 陈士林, 姚辉, 韩建萍, 等. 中药材DNA条形码分子鉴定指导原则[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2):141-148.
[10] 王燕燕, 徐红, 施松善, 等. 不同产地金钗石斛多糖的含量比较研究[J]. 中药材, 2009, 32(4):493-495.
[11] 章金辉, 操君喜, 朱根发, 等. 春石斛杂交种多糖及生物碱含量比较研究[J]. 热带作物学报, 2013, 34(4):727-731.
[12] 王再花, 李杰, 章金辉, 等. 石斛属植物多糖与生物碱含量的比较研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(24):242~246.
[13] 周侯光. 金钗石斛茎生长变化规律观察初报[J]. 中国热带农业, 2012(4):37-39.
[14] 何涛, 邓丽, 林源, 等. 叠鞘石斛不同品系农艺性状比较及品质分析[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(16):2124-2128.

[责任编辑 顾雪竹]