

· 中药农业 ·

美花石斛和铁皮石斛试管苗物质含量比较[△]

曾宇馨, 张悦, 祝天添, 贺雨馨, 孙志蓉*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

[摘要] 目的: 研究比较美花石斛试管苗和铁皮石斛试管苗物质组分差异, 揭示有效物质动态累积与生长规律的关系, 为石斛培养提供参数支持。方法: 观测2种石斛不同时期生长发育情况, 用HPLC测定糖类、氨基酸及内源激素含量, 进行比较分析。结果: 两者动态积累生物量趋势基本一致; 多糖/总糖值均较大, 美花石斛多糖含量较高, 铁皮石斛单糖种类多且含量高; 氨基酸总量均呈降低趋势; 赤霉素及玉米素含量差异有统计学意义, 生长素及脱落酸变化趋势一致。美花石斛赤霉素含量与苗高、根长及干物质积累速率呈正相关, 生长素含量与分蘖数呈负相关; 赤霉素/脱落酸值高利于植株生长, 生长素/玉米素值低可促进分蘖发生。结论: 铁皮石斛进入生物量快速增长期较美花石斛早, 且持续时间长。铁皮石斛生长量高于美花石斛是由于多时期同时测到多种糖类。美花石斛氨基酸总量高于铁皮石斛, 说明美花石斛营养价值更高。美花石斛赤霉素低而脱落酸高、赤霉素/脱落酸及生长素/玉米素低可能是导致生长慢、纤弱及分蘖多的重要原因。

[关键词] 美花石斛; 铁皮石斛; 试管苗; 生长特性; 物质组分

[中图分类号] R282 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2020)04-0577-08

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20190716006

Comparative Study on Content of Test Tube Seedlings of *Dendrobium loddigesii*Rolfe and *Dendrobium officinale* Kimura et Migo

ZENG Yu-xin, ZHANG Yue, ZHU Tian-tian, HE Yu-xin, SUN Zhi-rong*

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

[Abstract] **Objective:** To study the differences in material composition between *Dendrobium loddigesii* Rolfe and *D. officinale* Kimura et Migo, and to reveal the relationship between the dynamic accumulation of effective substances and the growth law, and provide parameter support for *Dendrobium* culture. **Method:** The growth and development of two species of *Dendrobium* were observed in different periods. The contents of sugar, amino acid and endogenous hormone were determined by HPLC. **Results:** The trend of dynamic accumulation of biomass in both is basically the same. The polysaccharide/total sugar value was larger, the polysaccharide content of *D. loddigesii* Rolfe was higher, and the single sugar content of *D. officinale* Kimura et Migo was high and the content was high. The total amount of amino acids in both groups showed a decreasing trend. The GA₃ and ZR contents of the two were significantly different, and the trends of IAA and ABA were consistent. For *D. loddigesii* Rolfe, there was a positive correlation between GA₃ content and seedling height, root length and dry matter accumulation rate. IAA content was negatively correlated with tiller number; GA₃/ABA value was high for plant growth, and low IAA/ZR value could promote tillering. **Conclusion:** *D. officinale* Kimura et Migo enters the period of rapid growth of biomass, which is earlier than the *D. loddigesii* Rolfe, and lasts for a long time. The growth of *D. officinale* Kimura et Migo is higher than that of *Rhododendron chinensis* because of the simultaneous determination of various sugars in multiple periods. The total amino acid content of *D. loddigesii* Rolfe higher than that of *D. officinale* Kimura et Migo, indicating that the nutritional value of *D. loddigesii* Rolfe higher. Low GA₃ and high ABA, low GA₃/ABA and IAA/ZR may be important reasons for slow growth, weakness and tillering.

[Keywords] *Dendrobium loddigesii* Rolfe; *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; test tube seedling; growth characteristics; material composition

[△] [基金项目] 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-21)

* [通信作者] 孙志蓉, 教授, 研究方向: 中药材质量及调控; Tel: (010)84738334, E-mail: zrs67@126.com

石斛作为名贵中药材,具有养胃生津、滋阴清热、明目等功效^[1]。现代研究表明,石斛含多种有效成分,其中多糖具有增强免疫功能和抗肿瘤作用^[2],且石斛生理活性强弱与其多糖含量呈正相关^[3,4]。质量评价中常以多糖含量高低判断某一石斛类药材质量的好坏^[5]。近年来由于价格高昂和需求量大致使野生石斛采挖过度,石斛已被列为中国三级珍稀濒危保护植物,但人工栽培石斛成活率一直不高,致使石斛类药材需求缺口越来越大。在种苗培育方面,以铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 等的研究报道居多,鲜有美花石斛 *Dendrobium loddigesii* Rolfe 相关报道^[6-7]。为保护并综合利用野生石斛资源,本研究对美花与铁皮石斛试管苗生长发育情况及物质组分含量变化进行对比,目的是揭示其有效成分动态累积随生长情况的变化规律,借鉴铁皮石斛种苗培养研究,为石斛培养提供参数支持。

1 材料

糖类测定仪器: Waters 244 高效液相色谱仪、氨基酸测定仪器: Waters alliance w2695 高效液相色谱仪;内源激素测定仪器: Agilent 1100 高效液相色谱仪;旋转蒸发器(上海亚荣生化仪器有限公司)。

多糖(以葡聚糖计,相对分子量 10^4)、棉籽糖、麦芽糖、葡萄糖和果糖对照品(北京生物试剂公司,纯度 $\geq 99.0\%$);天冬氨酸、丝氨酸、谷氨酸、甘氨酸、组氨酸、精氨酸、苏氨酸、丙氨酸、脯氨酸、胱氨酸、酪氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、赖氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸及色氨酸对照品(中国食品药品检定研究院,纯度 $\geq 99.0\%$);赤霉素(GA_3)、生长素(IAA)、脱落酸(ABA)和玉米素(ZR)对照品(世纪华林公司,纯度 ≥ 97.0);乙腈、甲醇为色谱纯(美国 Waters 公司);糖类和内源激素测定使用高纯水;氨基酸测定使用去离子水;其他试剂均为分析纯。

美花石斛及铁皮石斛种子(贵州吉仁堂药业公司)经北京中医药大学中药资源系孙志蓉教授鉴定为兰科植物美花石斛 *D. loddigesii* Rolfe 及铁皮石斛 *D. officinale* Kimura et Migo 的种子。无菌种子萌发培养基材料: MS 培养基 + 萘乙酸(NAA) $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 2% 白砂糖 + 15% 马铃薯提取液 + 琼脂粉,生根壮苗

培养基材料: MS 培养基 + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 3% 白砂糖 + 20% 马铃薯提取液 + 1% 活性炭 + 琼脂粉。

2 方法

2.1 试管苗生长调查

消毒后在无菌种子萌发培养基中生长 2 个月,选长势大小一致的幼苗,转接到生根壮苗培养基上,接种密度为 10 株/瓶。培养条件为光照强度 $27 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,最后选取生长 6~10 个月的美花及铁皮石斛试管苗作试验材料,一部分于 60°C 烘干至恒重,用于生长量、生物量、多糖及氨基酸含量测定,另一部分存于 -20°C 冰箱中用于内源激素含量测定。成苗后,对美花和铁皮石斛试管苗取样,各时期随机抽取 5 瓶,从中随机取 30 株,测定其单株生长量及生物量。

2.2 糖类测定

供试品溶液制备:准确称取 $0.3 \sim 0.5 \text{ g}$ 样品,加水定容至 50 mL,高压锅煮沸 1 h,放至室温,将滤液离心后取上清液并通过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜后,取续滤液备用。

色谱条件: Waters Sugar-pak-1 色谱柱($300 \text{ mm} \times 6.5 \text{ mm}$, $10.0 \mu\text{m}$);流动相为水;柱温: 70°C ;检测器: RI4 ×;流速: $0.6 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

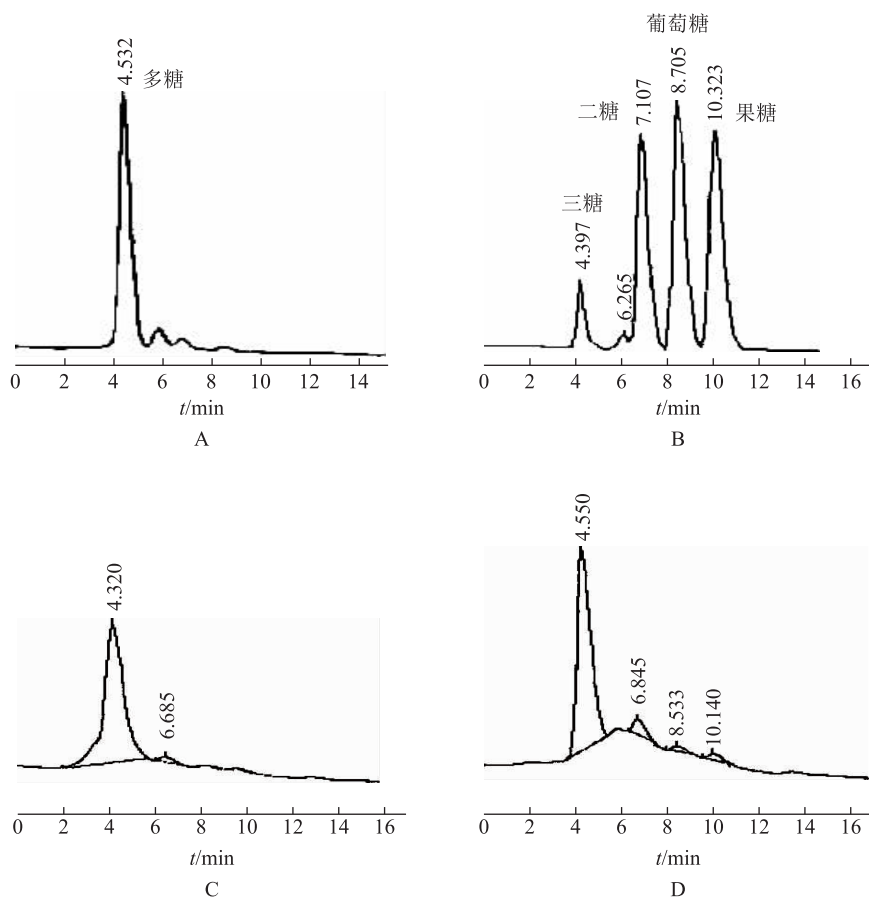
在上述色谱条件下,分别取对照品溶液和样品溶液各 $20 \mu\text{L}$ 进样,外标法进行定量。HPLC 图见图 1。

$$C = \frac{C_1 \times A_2 \times V_2 \times 100}{C_2 \times A_1 \times V_1 \times 1000} \quad (1)$$

C: 100 g 样品中各类糖质量(g); C_1 : 对照品进样体积中各糖质量(μg); C_2 : 样品称样量(g); V_1 : 对照品体积(μL); V_2 : 样品定容体积(mL); A_1 : 对照品中各组分峰面积平均值; A_2 : 样品中各相应峰面积平均值。

2.3 氨基酸含量测定

供试品溶液制备:准确称取经烘干粉碎后的样品 0.05 g 于安瓿瓶中,加入 $10 \text{ mL } 6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ HCl}$,抽真空后封口,于 110°C 烘箱中水解 24 h 后,取出冷却,用 25 mL 容量瓶定容,样品液经定量滤纸过滤后取 10 mL 滤液,水浴蒸干,用 5 mL 去离子水洗出,过 $0.45 \mu\text{m}$ 微孔滤膜后备用。



注: A. 葡聚糖对照品; B. 葡萄糖、果糖、二糖、三糖对照品; C. 葡聚糖样品; D. 葡萄糖、果糖、二糖、三糖样品。

图 1 糖类对照品及样品 HPLC 图

色谱条件: Waters AccQ·Tag 氨基酸分析色谱柱 (15 mm × 3.9 mm, 4.6 μm); 以 0.14 mol·L⁻¹ NaAc 溶液 (含 0.017 mol·L⁻¹ 三乙胺, pH = 4.95) 为流动相 A, 以 60% 乙腈水溶液为流动相 B; 梯度洗脱 (0 ~ 0.5 min, 100% ~ 98% A; 0.5 ~ 15 min, 98% ~ 93% A; 15 ~ 19 min, 93% ~ 90% A; 19 ~ 32 min, 90% ~ 67% A; 32 ~ 33 min, 67% A; 33 ~ 34 min, 67% ~ 0% A; 34 ~ 37 min, 0% A; 37 ~ 38 min, 0% ~ 100% A); 柱温: 37 °C; 检测波长 (荧光检测器) Ex: 250 nm, Em: 395 nm; 流速: 1.0 mL·min⁻¹。

在上述色谱条件下, 取溶液 10 μL, 用 AccQ·Fluor 试剂衍生, 外标法定量氨基酸含量。

2.4 内源激素含量测定

供试品溶液的制备: 称取待测样品 1.0 g, 加少量二乙基二硫代氨基甲酸钠, 用 80% 甲醇研磨至匀浆, 冰甲醇清洗, 将研磨好的材料移至小烧杯中, 用锡纸覆盖烧杯口放入冰箱保存一夜; 将烧杯中样品溶液抽滤后, 滤液转移至浓缩瓶, 滴加 1 ~ 2 滴氨

水, 于旋转蒸发仪上 36 °C 浓缩至水相; 浓缩完毕后将水溶液转移至 10 mL 试管, 体积不超过 5 mL; 试管放入冰箱中冻融交替 3 次; 解冻后样品离心 25 min 后将上清液吸至烧杯, 用 2 mol·L⁻¹ HCl 或 NaOH 调整 pH, 将待测 GA₃、IAA、ABA 样品调整到 pH 为 2.5 ~ 3.0, 将待测 ZR 样品调整到 pH 为 7.5 ~ 8.0, 将烧杯中样品溶液移至试管; 待测 GA₃、IAA、ABA 样品用等体积乙酸乙酯萃取 3 次, 每次用滴管转移上清液到浓缩瓶中合并有机相, 滴加 1 ~ 2 滴氨水; 将待测 ZR 样品用 pH 为 8.0 的磷酸缓冲液及饱和正丁醇萃取 3 次, 将上清液转移到浓缩瓶中合并有机相。用旋转蒸发仪浓缩样品溶液至固态; 浓缩后样品用流动相溶解定容至 1 mL 青霉素管中待测。

色谱条件: Agilent 1100 series 色谱柱 (250 mm × 4.0 mm, 5.0 μm); 以甲醇为流动相 A, 以 0.1 mol·L⁻¹ HAc (测 GA₃、IAA、ABA) 及 H₂O (测 ZR) 为流动相 B; 梯度洗脱 (0 ~ 15 min, 3% ~ 40% A;

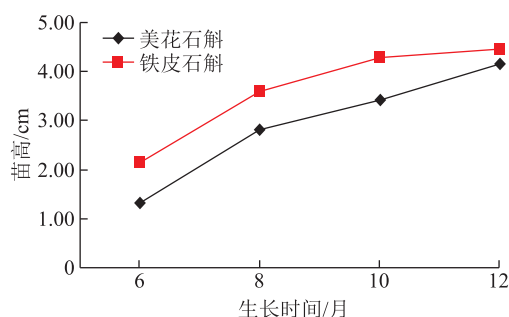
15 ~ 35 min, 40% A; 35 ~ 40 min, 40% ~ 3% A); 流速: $1.0 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$; 检测波长: 254、280、320 nm。

在上述色谱条件下, 用外标法定量测定内源激素。

3 结果

3.1 试管苗生长情况分析

由图2~5可知, 美花石斛和铁皮石斛试管苗各生长指标变化趋势基本一致, 仅各项指标测定值及动态变化高峰期有差异。两者苗高均呈增长趋势; 铁皮石斛茎粗增长略快, 两者总趋势一致; 铁皮石斛根长与生长时间呈正相关, 而美花石斛根长呈快-慢-快的增长趋势; 除6个月外, 铁皮石斛分蘖数稍高于美花石斛。整体特征为铁皮石斛苗高、茎粗及分蘖数基本高于美花石斛, 根长低于美花石斛, 说明铁皮石斛苗期生长较好, 形态较美花石斛更粗壮, 美花石斛整体更纤弱。



注: 各月分析 $n = 30$; 2 种石斛种间分析 $n = 240$ 。
下同。

图2 石斛试管苗苗高变化图

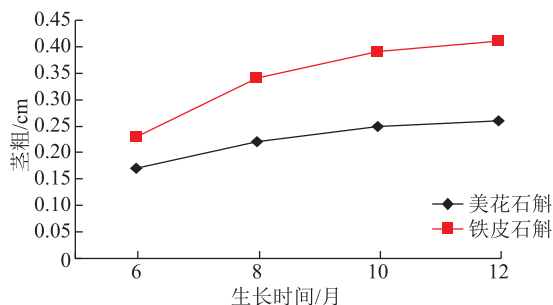


图3 石斛试管苗茎粗变化图

就生物量动态累积而言, 美花和铁皮石斛苗生物量动态累积总趋势基本一致(见图6~7)。在生长发育过程中, 鲜质量变化表现为铁皮石斛动态积累较缓, 而美花石斛动态积累量较迅速; 两者干质量

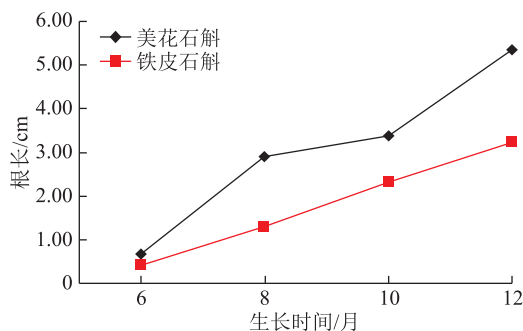


图4 石斛试管苗根长变化图

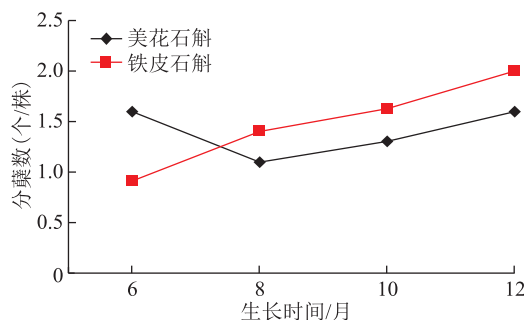


图5 石斛试管苗分蘖数变化图

积累趋势一致, 美花石斛7~8个月积累较快。美花石斛鲜质量及干质量在各时期均低于铁皮石斛, 说明铁皮石斛在整个生长过程中长势优于美花石斛。

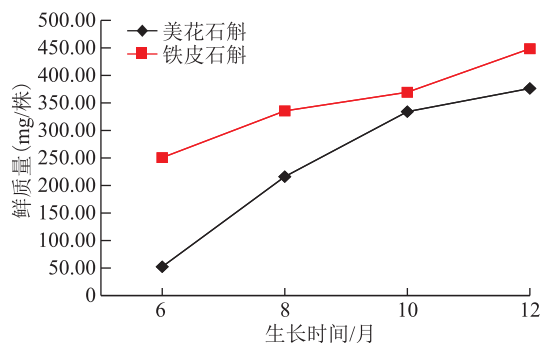


图6 石斛试管苗鲜质量变化图

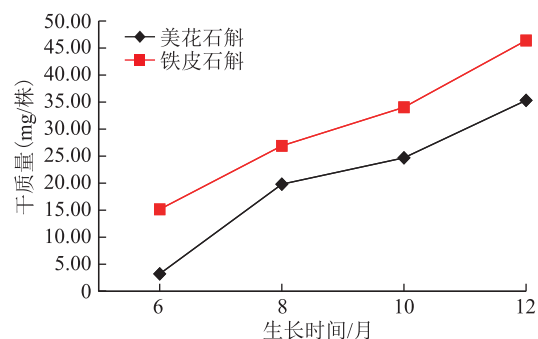


图7 石斛试管苗干质量变化图

3.2 水溶性多糖和单糖含量变化及组分分析

由表1能看出,2种石斛试管苗总糖中多糖比例均较大。其中,美花石斛多糖含量高,而铁皮石斛单糖及二糖含量较美花石斛高。美花石斛苗多糖和总糖含量先升后降,7个月达峰值,并且此时能同时检测到二糖、葡萄糖及果糖,且多糖占总糖百分比大,说明此时正是美花石斛生长和生物量积累的黄金时期。铁皮石斛3个时期也能同时检测到二糖、葡萄糖及果糖,10个月时还能检测到三糖,说明铁皮石斛在生长期代谢活动较旺;除果糖外各糖类均在6个月时含量最高,而后逐渐降低,说明在此过程中铁皮石斛消耗量略大于积累量,各糖类多用于苗期营养生长,也侧面印证了铁皮石斛长势较美花石斛更强。

3.3 氨基酸含量变化及组分分析

随生长时间增加,两者试管苗中氨基酸总量均呈降低趋势。前3个时期美花石斛氨基酸总量高于铁皮石斛,10个月时铁皮石斛略高于美花石斛(见图8)。植物氨基酸种类、含量及组成比是评价营养价值的重要指标,因此比较了两者8种必需氨基酸(色氨酸、苏氨酸、蛋氨酸、缬氨酸、赖氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸)之和。两者必需氨基酸之和与半必需氨基酸之和变化不明显,美花石斛必需氨基酸峰值在8个月,铁皮石斛苗呈缓降趋势;铁皮石斛半必需氨基酸峰值在7个月,美花石斛呈降-平-降的缓降趋势(见图9~10)。两者非必需氨基酸之和的变化趋势同总氨基酸(见图11)。总体来说美花石斛氨基酸量高于铁皮石斛,营养价值会更高。

天冬氨酸和谷氨酸能降低植物体内无机氮含量,主要作用是植物将氮从源向库转移,同时在氮源充

足条件下储存氮,以备植物体生长、防御和繁殖之需。两者之和均随生长时间增加而减少(见图12),

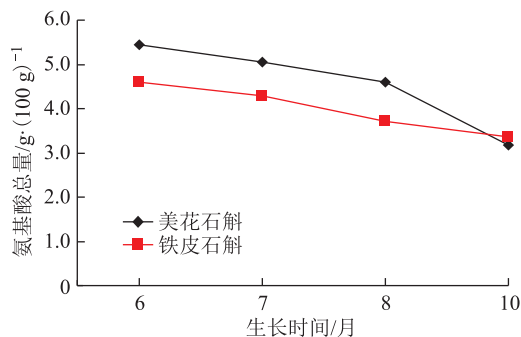


图8 石斛试管苗氨基酸总量变化图

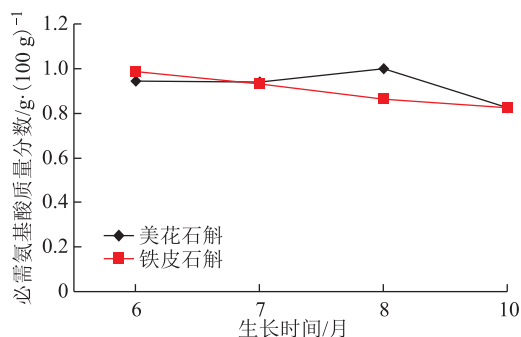


图9 石斛试管苗必需氨基酸含量变化图

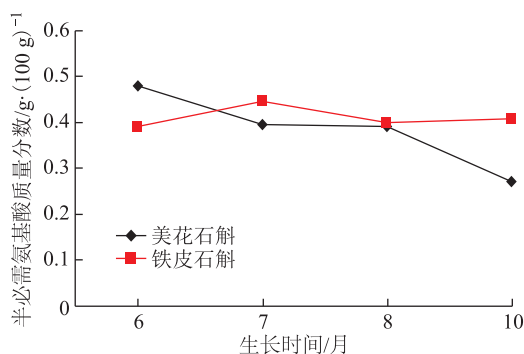


图10 石斛试管苗半必需氨基酸含量变化图

表1 石斛试管苗生长发育过程中糖类成分质量分数

石斛种类	生长时间/月	质量分数						多糖/ 总糖/%
		总糖/ g·(100 g) ⁻¹	多糖/ g·(100 g) ⁻¹	三糖/ g·(100 g) ⁻¹	二糖/ g·(100 g) ⁻¹	葡萄糖/ g·(100 g) ⁻¹	果糖/ g·(100 g) ⁻¹	
美花石斛	6	29.775	28.347	—	1.000	—	0.428	95.2
	7	38.946	37.502	—	0.829	0.307	0.308	96.3
	8	35.830	32.281	—	0.549	—	—	90.1
	10	30.743	29.488	—	0.996	0.259	—	95.9
铁皮石斛	6	32.712	29.265	—	2.115	0.708	0.624	89.5
	7	31.142	27.87	—	1.503	0.970	0.799	89.5
	8	19.549	18.448	—	0.779	0.322	—	94.4
	10	24.764	21.560	0.36	1.631	0.560	0.653	87.1

注:—表示未发现。

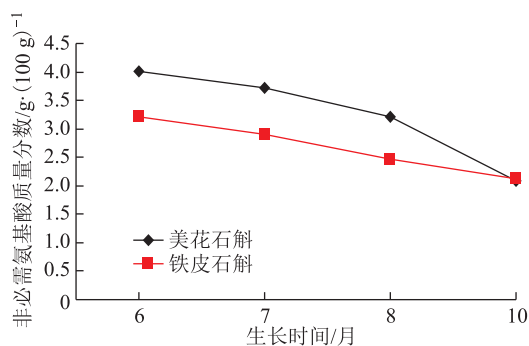


图11 石斛试管苗非必需氨基酸含量变化图

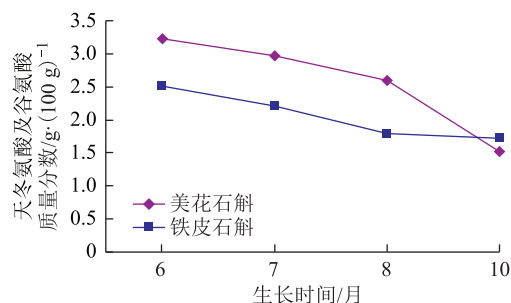


图12 石斛试管苗天冬氨酸及谷氨酸之和含量变化图

10个月时铁皮石斛含量略高于美花石斛。支链氨基酸(异亮氨酸、亮氨酸和缬氨酸)属8种必需氨基酸,在营养学中也占重要地位,同时也是植物次生代谢不可或缺的前体物质。如图13所示,美花石斛、铁皮石斛支链氨基酸含量峰值分别在8个月和7个月,而在10个月时差异不明显,美花石斛、铁皮石斛10个月支链氨基酸占必需氨基酸比例为53.7%和57.2%。

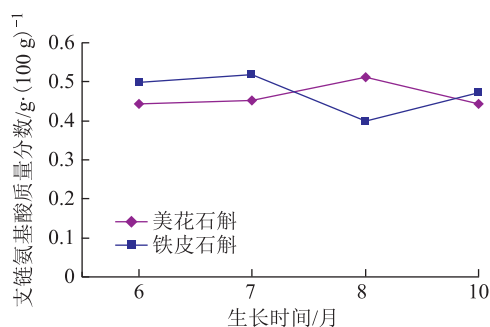


图13 石斛试管苗支链氨基酸含量变化图

脯氨酸与植物抗逆性有关,一般来说植物内脯氨酸含量很低;但遭遇干旱、低温、盐碱等胁迫时,脯氨酸含量便会骤增^[8-9]。同时,脯氨酸代谢是耐胁迫代谢工程中的靶向标,利用遗传工程可改造脯氨酸的合成及分解,以便增强植物抗逆性。2种石斛苗中铁皮石斛脯氨酸波动大,峰值在8个月,美花石斛脯氨酸含量波动小,总体低于铁皮石

斛。说明铁皮石斛在生长中较美花石斛的抗逆性略有优势。

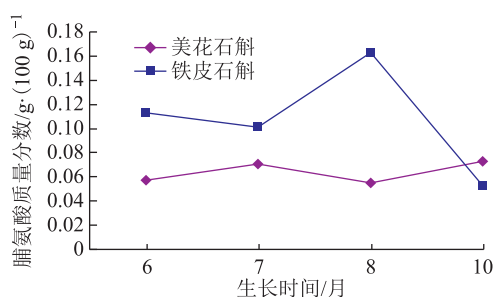


图14 石斛试管苗脯氨酸含量变化图

3.4 内源激素含量变化及组分分析

3.4.1 试管苗内源激素含量变化比较 对2种石斛试管苗6、8、10月内源激素含量进行统计分析。其中,GA₃及ZR含量差异最为显著。GA₃能促进植物茎叶生长,加速细胞伸长生长。由图15可知,美花石斛呈缓降趋势,而铁皮石斛则为上升趋势,且含量数倍高于美花石斛,佐证了该生长时间内铁皮石斛苗高及茎粗高于美花石斛的现象。ZR可促进植物细胞分裂,阻止叶绿素和蛋白质降解而使呼吸作用减弱。由图16可知,美花石斛ZR含量虽呈缓降趋势,但显著高于铁皮石斛,生长量上体现为美花石斛根长大于铁皮石斛,由于呼吸作用消耗减少,多糖及蛋白质含量也高于铁皮石斛。

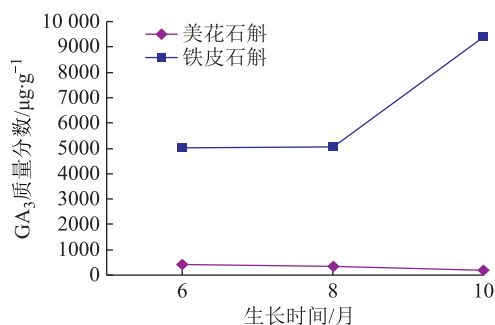
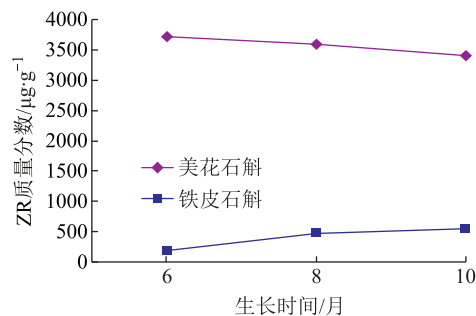
图15 石斛试管苗GA₃含量变化图

图16 石斛试管苗ZR含量变化图

两者 IAA 及 ABA 含量变化趋势基本一致, 3 个时期含量均为美花石斛略高于铁皮石斛。IAA 对植物顶部芽端形成有促进作用, 与植物生长密切相关。如图 17、18, 铁皮石斛较美花石斛含量较低, 而 IAA 低浓度时有促进生长作用, 较高浓度则会抑制生长, 一定程度上说明了铁皮石斛生物量及生长量略高于美花石斛的生理现象。ABA 可抑制整株植物生长, 与 GA_3 、ZR 及 IAA 作用相反, 对细胞的分裂与伸长有抑制作用。美花石斛 ABA 含量明显高于铁皮石斛, 表明美花石斛苗期生长可能受到了 ABA 调控, 导致生物量及生长量不及铁皮石斛。

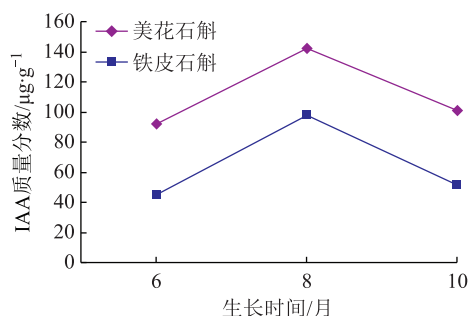


图 17 石斛试管苗 IAA 含量变化图

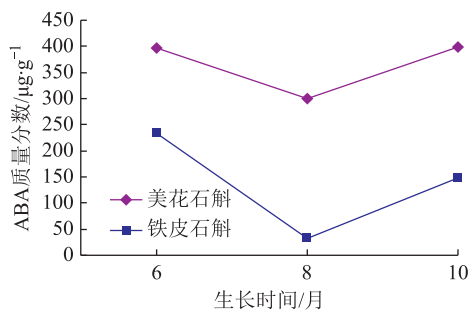


图 18 石斛试管苗 ABA 含量变化图

3.4.2 美花石斛激素含量与生物量相关性分析 对美花石斛试管苗 6、7、8、10 月内源激素含量进行分析。 GA_3 含量呈递减趋势, 6~8 个月时 GA_3 含量较高, 相对应的 6~8 个月苗高、根长及干物质积累

速率较快; 但在 10 个月时, GA_3 含量骤降后干质量积累速率也减缓。ABA 含量不断升降, 8 个月时苗高及干质量积累速率达最高, 而此时 ABA 含量最低; 在 8~10 个月时 ABA 含量增高, 对应的苗高、根长及干质量积累速率降低。在 8 个月时 GA_3 /ABA 比值高, 此时正是试管苗生长发育最旺盛时期, 除根长外各积累速率也达峰值。8 个月后的 GA_3 /ABA 比值下降, 可能是试管苗后期生长缓慢的原因之一。

IAA 含量先升后降, 8 个月时 IAA 含量达到峰值, 此时试管苗生长快, 分蘖少; IAA 含量与分蘖数总体呈负相关。ZR 含量不断升降变化, 前期 ZR 含量较高, 7 个月出现最低值, 而后维持较高水平; 6 个月分蘖高峰时, ZR 含量最高, 而后迅速降低。6 个月时试管苗分蘖数量最多, 此时期 IAA/ZR 比值较低, 7~8 个月分蘖少但 IAA/ZR 比值却很高, 说明前期 IAA/ZR 比值低一定程度上促进分蘖发生。

4 结论与讨论

铁皮石斛进入生物量快速增长期较美花石斛早, 且生物量快速积累持续时间长。同时, 试管苗生长发育受遗传特性和环境因素两方面影响, 美花石斛试管苗出现茎细弱、生长缓而不齐、分蘖数多等现象与其自身生长发育特性相关。

糖类为植物生长发育提供了大量物质基础, 且单糖在光合作用和呼吸作用中起着重要的作用, 而多糖分子量较大, 以葡聚糖计较为准确^[10-12]。美花石斛试管苗多糖和总糖含量于 7 个月时为最, 可同时测到二糖、葡萄糖及果糖, 说明此时期试管苗代谢活动较为复杂。铁皮石斛苗大部分时期能同时检测到多种糖类, 说明铁皮石斛试管苗的代谢活动比美花石斛更加旺盛。这也是铁皮石斛苗苗高、茎粗等生长量显著高于美花石斛苗的生理原因。

表 2 美花石斛试管苗 GA_3 及 ABA 含量变化与苗高、根长及干质量积累速率关系

生长时间/月	GA_3 质量分数/ $\mu g \cdot g^{-1}$	ABA 质量分数/ $\mu g \cdot g^{-1}$	GA_3 /ABA	单株茎叶干质量积累速率/ $mg \cdot d^{-1}$	单株根干质量积累速率/ $mg \cdot d^{-1}$	单株干质量积累速率/ $mg \cdot d^{-1}$	单株苗高增长速率/ $mg \cdot d^{-1}$	单株根长增长速率/ $mg \cdot d^{-1}$
6	433.230	396.590	1.090	0.070	0.000	0.070	0.077	0.123
7	356.390	629.910	0.570	0.170	0.040	0.210	0.113	0.393
8	345.160	300.230	1.150	0.270	0.070	0.340	0.390	0.350
10	206.860	399.020	0.520	0.070	0.015	0.085	0.100	0.077

表3 美花石斛试管苗 IAA 及 ZR 质量分数变化与分蘖数关系

生长时间/月	IAA 质量分数/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	ZR 质量分数/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	IAA/ZR	分蘖数 (个/株)
6	92.21	3 713.12	0.02	1.60
7	135.56	2 296.70	0.06	1.10
8	142.50	3 589.62	0.04	1.10
10	101.07	3 396.63	0.03	1.30

植物氨基酸种类、含量及组成是评价营养价值的重要指标,2种石斛试管苗中氨基酸总量逐渐降低,在测定4时期内,美花石斛苗氨基酸总量均高于铁皮石斛。两者必需氨基酸及非必需对比结果为美花石斛大部分时期高于铁皮石斛苗,说明美花石斛部分营养价值较铁皮石斛苗更高。

内源激素是植物体内微量信号分子,同时也是代谢反应产物,能够调节植物生命活动周期,因此,探讨内源激素变化规律与石斛试管苗生长发育间的关系尤为重要,并能借此来揭示内源激素对石斛试管苗生长调控的生理机制。两者 GA_3 及 ZR 含量差异显著,铁皮石斛 GA_3 高而 ZR 很低,美花石斛则相反,说明2类激素在试管苗植株内可能存在拮抗作用,且 GA_3 促进生长作用更为显著;两者 IAA 和 ABA 含量变化趋势一致,美花石斛均高于铁皮石斛,也侧面证明 ABA 含量对试管苗生长的抑制作用。美花石斛,苗高、根长及干物质积累速率与 GA_3 呈正相关,而与 ABA 含量大致呈负相关。分蘖数与 IAA 含量负相关, GA_3/ABA 比值高于美花石斛试管苗茎及根生长, IAA/ZR 比值低利于根分蘖。由此可得,内源激素在规律变化的同时,也有相反情况出现,这说明试管苗生长发育过程中的生理特性既是内源激素生理功能专一性的体现,也是激素协调作用后的结果^[13]。试管苗生长发育不仅需要内源激素含量达到一定水平,还需要不同内源激素间相互作用及相互平衡^[14-15]。 GA_3 含量低、ABA 含量较高、 GA_3/ABA 及 IAA/ZR 比值低可能是导致美花石斛试管苗长势不如铁皮石斛,且生长缓慢、纤弱、分蘖多的重要原因。

综上所述,铁皮石斛生长状态优于美花石斛,而营养价值则为美花石斛更高,植物激素对石斛苗

的影响既有专一性也有多样性。不同种类石斛苗生长发育规律不同,导致石斛试管苗出现这些现象的详细原因还有待深入探究。本研究揭示了石斛试管苗有效物质动态累积与生长规律的关系,为石斛的培养提供了参数支持与参考依据。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:92-93.
- [2] 邓银华,徐康平,谭桂山. 石斛属植物化学成分与药理活性研究进展[J]. 中药材,2002,25(9):677-680.
- [3] 张红玉,戴关海,马翠,等. 铁皮石斛多糖对 S180 肉瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 浙江中医杂志,2009,44(5):380.
- [4] 蒋玉兰,罗建平. 药用石斛多糖药理活性及化学结构研究进展[J]. 时珍国医国药,2011,22(12):2986-2988.
- [5] 张宇,高飞,王向军,等. 铁皮石斛主要化学成分及生物活性研究进展[J]. 药物生物技术,2015,22(6):557-561.
- [6] 郭冕,江吉富. 石斛多糖药理作用的研究概况[J]. 医学综述,2015,21(24):4525-4528.
- [7] 孙志蓉,陈明颖,王美云,等. 美花石斛试管苗生长节律及分级标准研究[J]. 中草药,2009,40(3):443-447.
- [8] 张基德,李玉梅,陈艳秋,等. 梨品种枝条可溶性糖、脯氨酸含量变化规律与抗寒性的关系[J]. 延边大学农学报,2004,26(4):281-285.
- [9] 林定波,颜秋生. 柑桔抗腥膻氨基酸细胞变异系的选择及其抗寒性研究[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),1999,25(1):94-98.
- [10] 韩振泰. 高效液相色谱法测定葛根样品中淀粉含量[J]. 现代科学仪器,2004(6):40-41.
- [11] 韩振泰,赵玉娟,刘惠文,等. 高效液相色谱法测定灵芝多糖含量[J]. 中国农业科技导报,2009,11(S1):65-67.
- [12] 高文远,肖培根. 芦荟叶肉组织糖的高效液相色谱分析[J]. 中国中药杂志,1997,22(10):590-592.
- [13] 刘兴梁. 甘蓝型油菜 * 埃塞俄比亚芥杂种苗快速繁殖及激素效应[J]. 植物生理学通讯,1992,28(2):97-99.
- [14] 李胜,武季玲,李唯,等. 初代和继代培养葡萄试管苗的内源 IAA、ZR 和 ABA 含量变化及其与生根的关系[J]. 植物生理学通讯,2005,41(3):286-288.
- [15] 贺丹,王政,何松林. 牡丹试管苗生根过程解剖结构观察及相关激素与酶变化的研究[J]. 园艺学报,2011,38(4):770-776.

(收稿日期:2019-07-16 编辑:戴玮)