

不同附生树种对金钗石斛石斛碱含量的影响

李志平¹, 郑若男¹, 柯伙钊¹, 陈梁军¹, 翁培金²

(1. 福建生物工程职业技术学院, 福建福州 350002; 2. 泉港天马农业综合开发有限公司, 福建泉州 362804)

摘要 [目的]测定不同附生树种金钗石斛中石斛碱的含量。[方法]以贵州赤水仿野生3年苗为试验材料,不同树种继续附生生长1年,采用气相色谱内标法,测定不同附生树种金钗石斛中石斛碱的含量。色谱柱:DB-1(30 m×0.25 mm×0.25 μm);程序升温:初始温度80℃,10℃/min升温至250℃,保持5 min;进样口温度250℃;FID检测器温度250℃。[结果]不同附生树种金钗石斛中石斛碱的含量有明显差异,其中,杉木附生金钗石斛的石斛碱含量最高,为0.932%,枇杷、杨梅、龙眼附生金钗石斛石斛碱含量分别为0.825%、0.790%和0.601%。[结论]不同附生树种的金钗石斛石斛碱含量均符合2015版《中国药典》限量要求,该研究为确定适宜的附生树种提供参考依据。

关键词 金钗石斛;石斛碱;附生树种中图分类号 S718.52⁺1.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)10-0106-03**Effects of Different Epiphyllous Species on Dendrobine of *Dendrobium nobile***

LI Zhi-ping, ZHENG Ruo-nan, KE Huo-zhao et al (Fujian Biological Engineering Career Technical College, Fuzhou, Fujian 350002)

Abstract [Objective] To measure the contents of dendrobine of *Dendrobium nobile* from different epiphyllous trees. [Method] *D. nobile* is a kind of plant found in Chishui of Guizhou Province, which attached to different epiphyllous trees to grow for one more year. Gas chromatography internal standardized method was adopted to determine the contents of Dendrobine. An DB-1 (30 m×0.25 mm×0.25 μm) column was used, with the programming temperature 80℃, and then up to 250℃ keeping 5 min with the increasing rate of 10℃. The injector temperature was 250℃ and the FID detector temperature was 250℃. [Result] The Dendrobine contents of *D. nobile* on *Cunninghamia lanceolata* was 0.932%, 0.825% on loquat, 0.790% on *Myrica rubra*, 0.601% on *Dimocarpus longan*. [Conclusion] The contents of dendrobine of *D. nobile* on different epiphyllous trees can meet the requirement of Chinese Pharmacopoeia(2015), the research offered evidence of ideal habitat for the growth of *D. nobile*.

Key words *Dendrobium nobile*; Dendrobine; Epiphyllous tree

金钗石斛(*Dendrobium nobile*)与铁皮石斛同属附生兰类,又名扁金钗、扁黄草、扁草,是药用范围较广的名贵中药,也是我国古代药书中记载和研究应用最早的石斛类。在列入药典的石斛中,只有金钗石斛才具有主治五脏虚弱羸瘦、强阴益精、久服厚肠胃、补肾益力等功效^[1-3]。后续研究证明,金钗石斛与福建省内普遍种植的铁皮石斛相比,石斛碱含量远高于铁皮石斛,正是石斛碱起到上述功效^[4]。同时,由于其花形奇特、花色艳丽,因而具有较高的观赏价值^[5]。但是金钗石斛自然繁殖率低,加之长期的过度采挖、生态环境的破坏,野生资源逐渐枯竭,我国已将其列为珍稀濒危的中药种类之一。前人对金钗石斛的研究多集中在组培快繁、形态结构、共生真菌、药用功能、成分提取与分析等方面^[6-8]。

近几年来,为提高资源利用率和经济效益,金钗石斛仿野生种植的调查和研究增多^[9-11],其中活树附生栽培是时下石斛种植的一种典型代表,附生种植不破坏原有种植的植物,立体化种植,不消耗土地,在提升资源利用率的同时,其拉动的往往还有旅游业和观光业,既能满足消费者的使用需求,也能满足企业和种植户的经济需求。目前已有关于金钗石斛适宜的种植高度及不同附主对金钗石斛的保存率、萌芽率、萌芽茎条长、萌芽茎条叶片数(新叶片数)等方面影响的研究,然而,关于不同附生树种对金钗石斛有效成分石斛碱含量的影响研究鲜见报道^[12-15]。

以贵州赤水金钗苗为样本,针对泉州地区4个主要人工

林树种开展试验研究,旨在探究附主树种对附生金钗石斛药用有效成分石斛碱含量的影响,筛选优质附主树种,为其林下栽培提供科学依据,既可保持和推动泉州固有的水果产业的发展,又可获得现在倍受市场推崇的养生保健中草药——金钗石斛的附加高价值收益。

1 材料与方法

1.1 研究地概况 研究地点位于种植地点泉州市泉港天马农业综合开发有限公司农场,泉州地处闽南地区,属亚热带海洋季风气候,冬短而无严寒,年平均气温18~20℃,无霜期310 d以上,年降雨量1 000~1 800 mm,年平均日照达1 900~2 000 h,主要种植枇杷、杨梅、龙眼、杉木等植物。

1.2 植物材料 试验选用的附生树种主要有杉木、杨梅、枇杷、龙眼活体树4个树种(表1)。仿野生环境生长的金钗石斛3年生药材采自贵州省赤水市旺隆镇云集村,试验材料于2016年4月铺设完成。

1.3 林下栽培管理条件 栽培基质选用木屑、水草、农家肥3种,3:3:1配比,塑料网兜固定于不同树种。种植高度为树干中部距离地面1.2~1.5 m处,金钗石斛喜温暖、湿润、阴凉的生长环境,其附生栽培中要特别注意光照和水分控制。光照以55%~70%的遮光度为宜,光照不合适要进行人工调节。水分管理以基质不干不涝、保持湿润为度,栽培初期对叶面施NPK促根肥(9:45:15)2 500倍液1~2次以促进生根,当出现新根后开始根部施肥,以加快石斛根系的生长,提高产量和质量,30 d后自然生长,持续附生生长360 d。

金钗石斛的生长总体而言,病虫害发生较轻,其防治应采取预防为主、综合治理的策略,因此移栽后每3~5 d喷1 000倍多菌灵预防病害^[10,14,16]。

基金项目 泉州市科学计划项目(2016N0014);福建生物工程职业技术学院科研项目(2016KJ01)。**作者简介** 李志平(1982—),女,河北保定人,讲师,硕士,从事植物生理生化、兰科植物组培及栽培相关研究。**收稿日期** 2018-01-17

表 1 各树木生长状况
Table 1 Stand growth status

附主 Epiphyte	树龄 Tree age a	密度 Density m × m	胸径 Diameter cm	郁闭度 Canopy density
龙眼 <i>Dimocarpus longan</i>	14	3 × 4	10	0.80
杨梅 <i>Myrica rubra</i>	15	3 × 4	8	0.80
枇杷 Loquat	10	3 × 3	3	0.85
杉木 <i>Cunninghamia lanceolata</i>	18	2 × 2	12	0.75

1.4 石斛碱含量检测^[1]

1.4.1 仪器与试剂。检测仪器与试剂:日本岛津 GC-14C 气相色谱仪;FID 检测器;Starsorius BT125D1/10 万电子分析天平;高纯氮(含量 99.99%);石斛碱对照品(购自中国标准品中心,批号:BW5537);所用试剂(萘、甲醇、甲酸等)均为分析纯。

1.4.2 色谱条件。色谱柱:DB-1(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm);程序升温:初始温度 80 °C,10 °C/min 升温至 250 °C,保持 5 min;进样口温度 250 °C;检测器温度 250 °C。

载气 N₂,流速 1 mL/min,进样量 1 μL。按上述色谱条件进行分析得其色谱图(图 1)。

1.4.3 溶液的制备。①内标溶液:称取萘对照品(纯度 99.9%)适量,配制 25 μg/mL 萘-甲醇溶液作为内标液。②对照品溶液:称取石斛碱对照品(纯度 99.6%)适量,配制 50 μg/mL 石斛碱-甲醇溶液作为对照品液。③上机溶液:一是样品上机溶液。取样品过滤液 2 mL,加入 1 mL 内标溶液,加入 2 mL 甲醇,混匀,过膜。二是对照品上机溶液。取对照品溶液 2 mL,加入 1 mL 内标溶液,加入 2 mL 甲醇,混匀,过膜。④供试品溶液的制备:鲜叶样品 105 °C 杀青 1 h,60 °C 烘干至恒重(连续 2 次称量质量差 < 0.2 mg),用粉碎机粉碎,过 3 号筛。称取约 0.25 g 样品粉末,置于 100 mL 圆底烧瓶中,加含 0.05% 甲酸的甲醇溶液 25.00 mL,称定质量 m_1 ,水浴加热回流 3 h,冷却至室温,称重 m_2 。用 0.05% 甲酸-甲醇溶液补足溶液直至质量为 m_1 ,过滤,备用。

2 结果与分析

2.1 生长情况 附生生长 30 d 后,长出新叶片及新芽,生长 90 d 后,新茎明显长出,在生长 180 d 后,金钗石斛的根部明显附着于树皮上,同时叶片和茎水分饱满,未发现明显病虫害,解开塑料网兜,检查根部,也未发现明显病虫害,生长 1 年后,茎明显增粗变长。附生金钗石斛的保存率、株高、根数、茎杆数、茎粗见表 2。

表 2 不同附生树种对金钗石斛的保存和生长的影响

Table 2 Effects of different epiphyllous species on survival and growth of *Dendrobium nobile*

附主 Epiphyte	保存率 Preserving rate // %	株高 Plant height // cm	根数 Root // 条	茎杆数 Stem number	茎粗 Stem diameter // cm
龙眼 <i>Dimocarpus longan</i>	0.92	21.9	10.4	10.6	1.02
杨梅 <i>Myrica rubra</i>	0.93	22.0	11.4	10.8	1.10
枇杷 Loquat	0.98	21.8	11.8	11.1	1.08
杉木 <i>Cunninghamia lanceolata</i>	1.00	22.0	12.1	12.0	1.13

2.2 检测结果

2.2.1 计算校正因子。对照品上机溶液:取对照品溶液 2 mL,加入 1 mL 内标溶液,加入 2 mL 甲醇,混匀,过膜,上机,计算公式如下:

$$f = \frac{As/Cs}{Ar/Cr} \quad (1)$$

式中,As 为萘的峰面积;Ar 为石斛碱的峰面积;Cs 为萘的浓度(μg/mL),Cr 为石斛碱浓度(μg/mL)

经计算,校正因子 $f = 0.656$ 。

2.2.2 石斛碱含量。在龙眼、杨梅、枇杷、杉木不同附生树种条件下,金钗石斛中石斛碱含量分别为 0.601%、0.790%、0.825%、0.932%。由检测结果可知,石斛碱含量均符合 2015 版《中国药典》限量要求,不同附生树种金钗石斛中石斛碱的含量有明显差异,其中,杨梅、杉木、枇杷较龙眼树的石斛中石斛碱含量高,杉木附生的金钗石斛石斛碱含量比最低的龙眼附生要高出 50%,有明显差异,在种植环境的温度、湿度、施肥情况相同的前提下,考虑是由于不同树种的遮阴

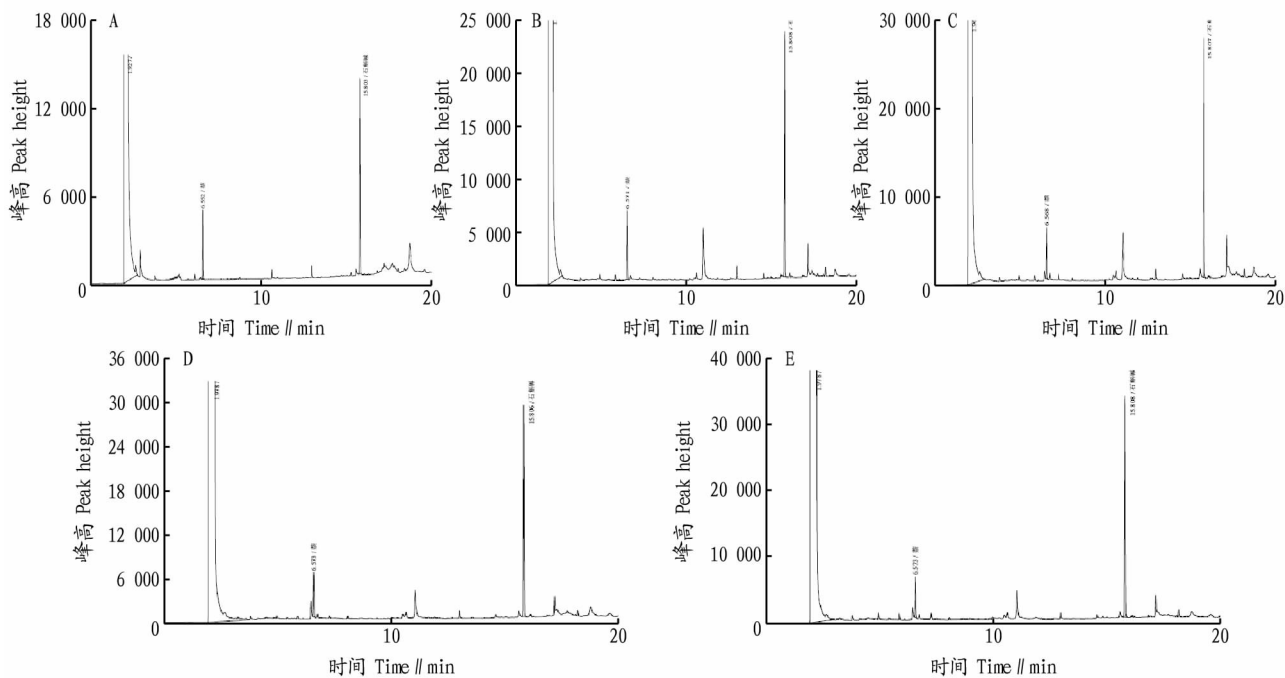
度不同,使得石斛碱含量出现差异。不同附生树种条件下金钗石斛中石斛碱的 GC 色谱图见图 1。

3 结论

活体树干可为石斛的根系生长提供有利条件,减少栽培成本,简单易行,“以林养林”的方式增加当地林农经济收入的同时,提高其生态保护意识,并能缓解长周期林木投入与短周期经济效益的矛盾,是解决生态效益与经济矛盾的有效方法。

泉州地处闽南地区,属亚热带海洋季风气候,适合金钗石斛生长。同时泉州市也是著名的亚热带果蔬产地,如龙眼、杨梅等,但近年来面临东南亚一些国家的冲击及自身发展的局限性,相关产业受到冲击。金钗石斛产量高,药用价值高,金钗石斛平均市场价为 600 元/kg,如每年果园种植金钗石斛获得 750 kg/hm² 产量,则种植户每年至少可获得 45 万元/hm² 石斛鲜品收益。开展金钗石斛与果树的仿野生附生栽培技术研究,有助于提高空间利用率,减少栽培成本,增加金钗石斛资源,缓解长周期林木投入与短周期经济效益

的矛盾,促进其可持续利用^[17-18]。



注:A. 对照品;B. 龙眼;C. 杨梅;D. 枇杷;E. 杉木

Note: A. reference substance, B. *Dimocarpus longan*, C. *Myrica rubra*, D. Loquat, E. *Cunninghamia lanceolata*

图1 石斛碱的GC色谱

Fig.1 GC of Dendrobine

参考文献

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 92-93.

[2] 黄琦, 廖鑫, 吴芹, 等. 金钗石斛生物总碱对糖尿病大鼠血糖及肝脏脂肪变性的影响[J]. 中国新药与临床杂志, 2013, 32(6): 490-493.

[3] 马伟凤, 徐勤. 金钗石斛提取物对晶状体上皮细胞氧化损伤防护作用[J]. 国际眼科杂志, 2010, 10(4): 650-652.

[4] 陈晓梅, 肖盛元, 郭顺星. 铁皮石斛与金钗石斛化学成分的比较[J]. 中国医学科学院学报, 2006, 28(4): 524-529.

[5] 龚建英, 王华新, 龙定建, 等. 石斛观赏利用价值综合评价[J]. 广东农业科学, 2015, 42(20): 19-25.

[6] 张明, 陈仕江, 李泉森, 等. 金钗石斛驯化栽培的基质研究[J]. 中药材, 2001, 24(9): 628.

[7] 黄小燕, 乙引. 气相色谱法测定金钗石斛中石斛碱的含量[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2007, 25(4): 92-94.

[8] 唐金刚, 卢文芸, 乙引, 等. 药用金钗石斛快速繁殖的研究[J]. 贵州科学, 2007, 25(1): 59-62.

[9] 江濛, 黄厚今. 金钗石斛研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(1): 77-78.

[10] 郑建铃. 金钗石斛种苗快繁及林下栽培技术的初步研究[J]. 福建林业, 2015(3): 36-38.

[11] 唐德英, 李荣英, 李学兰, 等. 金钗石斛试管苗仿野生栽培技术研究[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(10): 1208-1210.

[12] 付芳婧, 刘政. 金钗石斛优良种源的适生条件及仿野生栽培的关键技术[J]. 种子, 2012, 31(7): 137-139.

[13] 梁欢, 胡志刚, 卢金清, 等. 不同生长年限和不同部位金钗石斛中石斛碱含量比较与分析[J]. 世界科学技术—中医药现代化, 2014, 16(2): 335-338.

[14] 肖玉, 杨曾奖, 林国雄, 等. 不同附主树种对金钗石斛生长的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(9): 2410-2414.

[15] 姜朝林, 曹朝奎, 毛生华, 等. 赤水地区金钗石斛全石原生态集约化栽培技术[J]. 现代农业科技, 2015(1): 123-124.

[16] 余家辉. 金钗石斛林下栽培移栽遮阴度试验报告[J]. 农技服务, 2014, 31(12): 69.

[17] 李明元, 邓维泽, 唐显福, 等. 金钗石斛功能性成分及保健食品开发研究现状[J]. 食品与生物技术学报, 2014, 33(12): 1233-1238.

[18] 陈玉祥. 我省实施六大工程建设民族医药产业集聚区[N]. 贵州日报, 2016-10-27(001).

(上接第96页)

[2] SABLIN E P, KULL F J, COOKE R, et al. Crystal structure of the motor domain of the kinesin-related motor ncd[J]. Nature, 1996, 380(6574): 555-559.

[3] ASBURY C L, FEHR A N, BLOCK S M. Kinesin moves by an asymmetric hand-over-hand mechanism[J]. Science, 2003, 302(5653): 2130-2134.

[4] SINGH R, LEE M O, LEE J E, et al. Rice mitogen-activated protein kinase interactome analysis using the yeast two-hybrid system[J]. Plant Physiol, 2012, 60(1): 477-487.

[5] YILDIZ A, TOMISHIGE M, VALE R D, et al. Kinesin walks hand-over-hand[J]. Science, 2004, 303(5658): 676-678.

[6] 李芬, 吴秀丽, 郭君丽. 新基因 *NtTKR* 及其同源物 *LeTKR* 的生物信息学分析[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2014, 42(5): 110-115.

[7] 李芬, 任向波, 腾飞, 等. 烟草新驱动蛋白 *NtTKR* 过表达对酵母生长的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2014, 42(6): 97-102.

[8] FIELDS S, SONG O. A novel genetic system to detect protein-protein inter-

actions[J]. Nature, 1998, 340(6230): 245-246.

[9] BENDIXEN C, CANGLOFF S, ROTHSTEIN R. A yeast mating-selection scheme for detection of protein-protein interactions[J]. Nucleic Acid Res, 1994, 22(9): 1778-1779.

[10] HUBSMAN M, YUDKOVSKY G, ARONHEIM A. A novel approach for the identification of protein-protein interaction with integral membrane proteins[J]. Nucleic acids research, 2001, 29(4): 1-6.

[11] KHAZAK V, GOLEMIS E A, WEBER L. Development of a yeast two-hybrid screen selection of human Ras-Raf protein interaction inhibitors[J]. Methods Mol Biol, 2005, 310: 253-271.

[12] ZHENG Y, TAN X Y, PYCZEK J, et al. Generation and characterization of yeast two-hybrid cDNA libraries derived from two distinct mouse pluripotent cell types[J]. Mol Biotechnol, 2013, 54(2): 228-237.

[13] TIAN S J, WU J J, LIU Y, et al. Ribosomal protein NtRPL17 interacts with kinesin-12 family protein NtKRP and functions in the regulation of embryo/seed size and radicle growth[J]. J Exp Bot, 2017, 68(20): 5553-5564.