

王伟英, 邹晖, 戴艺民, 等. 瘤菌根菌对铁皮石斛生长和营养成分的影响 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (2): 188–194.

WANG W Y, ZOU H, DAI Y M, et al. Growth and Nutrient Content of *Dendrobium officinale* as Affected by *Epulorhiza* Symbiosis [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (2): 188–194.

瘤菌根菌对铁皮石斛生长和营养成分的影响

王伟英, 邹晖, 戴艺民, 林江波*

(福建省农业科学院亚热带农业研究所, 福建 漳州 363005)

摘要:【目的】了解瘤菌根菌与铁皮石斛建立共生关系后对植株地上部生长和营养物质积累的影响。【方法】通过液体培养瘤菌根菌属菌株, 浇灌无菌盆栽铁皮石斛苗的根部共培养, 观察铁皮石斛植株的农艺性状的变化, 并比较不同年限铁皮石斛鲜条的营养物质含量的变化。【结果】接菌处理的铁皮石斛盆栽苗比未接菌的对照生长旺盛, 叶色浓绿, 植株健壮, 1年条和2年条的有效茎杆数分别增加了65.67%和74.25%, 单茎重分别增加了55.29%和51.45%, 差异显著 ($P<0.05$), 提高了铁皮石斛的产量。接菌后还提高了粗多糖、石斛碱、粗蛋白和氨基酸的含量, 其中接菌后1年条的粗多糖和粗蛋白含量较未接菌的对照分别提高了30.39%和18.7%, 差异显著 ($P<0.05$); 接菌后1年条和2年条的氨基酸总量显著增加, 分别增加了27%和30.25%; 粗纤维和灰分的含量在接菌后减少, 分别减少了17.76%和36.36%, 差异显著 ($P<0.05$)。【结论】接入瘤菌根菌能够显著提高铁皮石斛的产量和营养成分的含量, 说明增加产量与提高营养物质含量并不矛盾, 这对铁皮石斛的有机菌肥的开发应用、人工栽培有机种植以及鲜条采收时间具有重要的指导意义。

关键词: 铁皮石斛; 瘤菌根菌; 营养成分

中图分类号: S 667.9

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 02-0188-07

Growth and Nutrient Content of *Dendrobium officinale* as Affected by *Epulorhiza* Symbiosis

WANG Weiying, ZOU Hui, DAI Yimin, LIN Jiangbo*

(Subtropical Agriculture Research Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou, Fujian 363005, China)

Abstract: 【Objective】Effects of the symbiosis between *Epulorhiza* sp. and *Dendrobium officinale* in a liquid culture medium on the growth and nutrient content of the plant were analyzed. 【Method】In a potted experimentation, the sterile *D. officinale* seedlings were irrigated with a liquid medium as control or one containing *Epulorhiza* sp. for the treatment. Agronomic characteristics and nutrient contents of the stems and leaves from one- and 2-year-old *D. officinale* plantlets were monitored. 【Result】Showing dark green leaves and robust stems, the treatment plantlets grew more vigorously than control. In the presence of *Epulorhiza* sp., on average the girths of the productive stems of one- and 2-year-old plantlets significantly increased by 65.67% and 74.25%, respectively, and the single stem weight by 55.29% and 51.45%, respectively ($P<0.05$). The increases meant improved crop yield. Meanwhile, the contents of polysaccharides, dendrobine, crude protein, and amino acids increased as well. For the one-year-old plantlets, the crude polysaccharides rose significantly by 30.39%, and the crude protein 18.7% ($P<0.05$). For both one- and 2-year-old plantlets, the total amino acids significantly increased by 27% and 30.25%, respectively ($P<0.05$), while the crude fiber and ash significantly decreased by 17.76% and 36.36%, respectively ($P<0.05$). 【Conclusion】Both crop yield and nutrient content of *D. officinale* could be significantly improved by the presence of *Epulorhiza* sp. in medium. It suggested the potential benefits of organic fungi-containing manure utilization, artificial greenhouse operation, and harvest time management for the cultivation of *D. officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale*; *Epulorhiza* sp.; nutritional composition

收稿日期: 2020-07-25 初稿; 2020-08-03 修改稿

作者简介: 王伟英 (1980-), 女, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事农业生物技术研究 (E-mail: weiyangwang178@126.com)

* 通信作者: 林江波 (1976-) 男, 硕士, 副研究员, 主要从事农业生物技术研究 (E-mail: linjiangbo1976@163.com)

基金项目: 福建省农业科学院科技创新项目 (PC2018-13); 福建省自然科学基金项目 (2020J011368)

0 引言

【研究意义】铁皮石斛 (*Dendrobium officinale*) 富含多种营养功效成分, 其中铁皮石斛的多糖含量丰富且多为功能性多糖, 具有降血糖、降血脂、抗氧化、抗衰老、增强机体免疫力等生理功能^[1-3]。而石斛倍半萜类生物碱是石斛属植物特有的石斛碱, 石斛碱与非甾体类抗炎药药理作用相似, 具有免疫调节、抗炎、扩张血管等作用^[4-5]; 氨基酸与药效也存在密切关系, 其中谷氨酸、天冬氨酸、亮氨酸、丙氨酸是发挥临床与保健功效的重要成分^[6-7], 对人体也有良好的保健作用。因此, 铁皮石斛的多糖和石斛碱等营养成分在药用和保健上都有很大的应用价值。同时铁皮石斛是一种典型的内生菌根植物, 菌根真菌参与整个生长发育过程, 对种子萌发、植株营养生长、生殖繁育具有促进作用^[8-10]。内生真菌在铁皮石斛的人工栽培、引种驯化以及资源再生和保护等方面也具有重要的应用价值和前景。

【前人研究进展】内生真菌在石斛的生长发育中起着促进生长的作用, 主要表现为提高鲜重、干重、株高、茎长、茎粗、茎节数、节间长、分蘖株数以及新根数等^[11-12], 也可增加 B、Si、Fe、Cu 和 Mn 等营养元素的含量^[13], 还可促进多糖、石斛碱以及氨基酸含量等主要营养成分的积累^[14-15]。【本研究切入点】目前有关瘤菌根菌与铁皮石斛互作的研究主要以组培苗为研究材料^[16], 而对室外的土栽盆苗的研究还较少, 室外的土栽盆苗的种植条件与大棚种植更为接近, 因此对铁皮石斛的种植更具有指导意义。【拟解决的关键问题】本课题组在前期已分离出瘤菌根菌^[17], 并通过与铁皮石斛根共培养后建立共生关系形成菌根且能定殖于根中, 诱导根系结构发生改变生成侧根, 同时也促进铁皮石斛植株的生长^[18]。因此本研究将在瘤菌根菌与铁皮石斛形成互作关系的基础上研究铁皮石斛地上部的农艺性状及其不同生长年限鲜条的营养成分的变化, 为内生真菌在铁皮石斛的人工栽培应用奠定理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为冠豸山野生铁皮石斛, 瘤菌根菌菌种标本保藏于福建省农业科学院亚热带农业研究所。

1.2 仪器

Thermo U-3000 液相色谱仪 (美国 Thermo 公司); L5S 型紫外可见分光光度计 (上海仪电分析仪器有限公司); L-8800 型氨基酸自动分析仪 (日本日立高新

技术公司); UPW-20N 型超纯水机 (北京历元电子仪器有限公司); BS110S 型分析天平 (德国 Sartorius 集团); 101A 型恒温鼓风干燥箱 (上海市实验仪器总厂)。

1.3 试验方法

1.3.1 石斛盆栽苗的准备 泥炭土高温灭菌后装入未使用过的花盆, 在3月份将铁皮石斛组培苗种在花盆中, 每个处理12盆, 每盆种3丛, 每丛3株石斛苗。

1.3.2 菌液培养与接菌处理 配制液体 PDA 培养液, 接入瘤菌根菌, 放入摇床, $180\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$, $28\text{ }^{\circ}\text{C}$, 震荡培养7d后用粉碎机搅碎大块菌丝至均匀, 设置接菌的为处理组 (T), 用5 mL 移液枪将菌液接种在石斛的根基部, 每丛分3点各接5 mL, 接12盆。未接菌的为对照组 (CK), 用5 mL 移液枪将无菌培养液接种在石斛的根基部, 每丛分3点各接5 mL, 接12盆。种后当年的3~6月份每月接菌1次, 接菌4次, 当年封顶的鲜条保留在盆里, 次年铁皮石斛长出芽, 新芽苗生长至封顶后的鲜条为1年条, 而前一年的鲜条为2年条。在花芽分化时分别剪取1年条和2年条, 并分别测定每根鲜条的长度、茎粗、有效茎数、茎重等。

1.3.3 指标测定 水分的测定参考 GB 5009.3—2016《食品安全国家标准食品中水分的测定》^[19]; 粗蛋白含量的测定参考 GB 5009.5—2016《食品安全国家标准食品中蛋白质的测定》^[20]; 灰分的测定参考 GB 5009.4—2016《食品安全国家标准食品中灰分的测定》^[21]; 粗纤维的测定参考 GB/T 5009.10—2003《植物类食品中粗纤维的测定》^[22]; 氨基酸的测定参考 GB 5009.124—2016《食品安全国家标准食品中水分的测定》^[23]; 粗多糖的测定参考 SN/T 4260—2015《出口植物源食品粗多糖的测定》^[24]; 石斛碱测定参考申刚等 HPLC 法^[25]; 长度大于5 cm 的铁皮石斛茎秆为有效茎秆, 统计每盆中的有效茎秆数, 取平均值即为每盆的有效茎数; 称量每根的有效茎秆重量, 取平均值即为平均单茎重。

1.4 数据处理

所有数据使用 SPSS 19.0 统计软件, 采用 Student t 检验方法进行检验处理间差异显著性, $P < 0.05$ 表示差异显著。

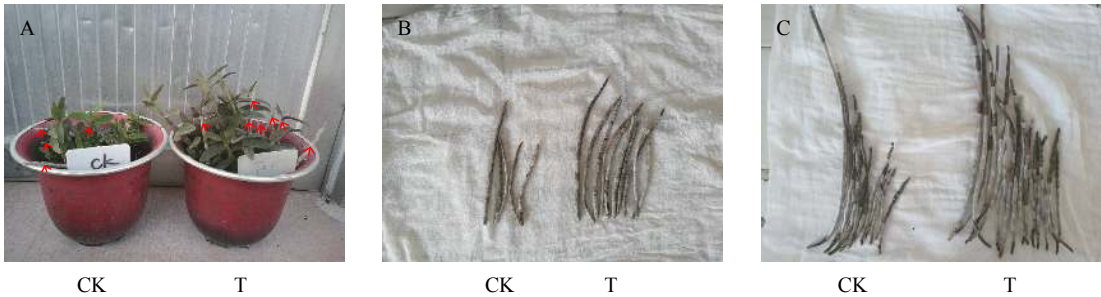
2 结果与分析

2.1 瘤菌根菌对不同生长年限铁皮石斛农艺性状的影响

当石斛盆栽苗经过接菌共培养后, 发现接菌处

理的铁皮石斛盆栽苗长出的新芽苗比对照的新苗多,且新苗生长旺盛,茎粗壮,叶片颜色浓绿,而对照的新苗叶色绿中带黄,生长较慢(图 1-A)。同时还发现接菌后 1 年生和 2 年生的铁皮石斛的有效茎

条都多于对照,且鲜条长度明显长于对照(图 1-B、C)。这表明浇灌瘤菌根菌能促进铁皮石斛新芽的萌发和生长,明显提高了铁皮石斛的有效茎数。



注: A.种植 1 年后的封顶条和长出新芽苗, 箭头标记为封顶条; B.2 年条; C.1 年条
Note: A-capping strip (indicated by arrow) and sprouting seedlings a year after planting; B-stem from 2-year-old plantlet; C-stem from one-year-old plantlet.

图 1 瘤菌根菌对不同生长年限铁皮石斛的农艺性状的影响

Fig. 1 Effect of *Epulorhiza* symbiosis on agronomic characteristics of one- and 2-year-old *D. officinale* plantlets

2.2 瘤菌根菌对不同生长年限的铁皮石斛含水量、茎长、有效茎数、茎径、茎重的影响

石斛产量与有效茎数和单茎重量密切关联,在单位面积内既要足够的有效茎数和茎长,且植株粗壮,才能提高产量。从表 1 可以看出,接菌培养后 1 年条和 2 年条的有效茎秆数都多于未接菌的对照,分别增加了 65.67% 和 74.25%,差异显著。茎长是衡量石斛产量的主要指标,试验发现接菌后的 1 年条和 2 年条的茎长也都长于对照,增幅分别为 43.51% 和 47.85%,差异显著。接菌后的 1 年条和 1 年条的

茎径宽度也都宽于对照,宽度分别增加了 34.21% 和 60.71%,差异显著。接菌后的 1 年条和 2 年条的平均单茎重高于对照,增幅分别为 55.29% 和 51.45%,差异显著。茎重与茎长、茎径成正比关联,其中茎重与茎径的相关系数 r 为 0.95,显著正相关;茎重与茎长的相关系数 r 为 0.84,具有很强的线性正相关。因此从接菌后的铁皮石斛的单茎重、茎长和有效茎数都高于对照的结果可以得出接菌后的铁皮石斛产量也高于对照。

表 1 瘤菌根菌对不同年限铁皮石斛的茎长、有效茎数、茎径、茎重的影响

Table 1 Effect of *Epulorhiza* symbiosis on length, viable stem count, diameter, and weight of one- and 2-year-old *D. officinale* stems

测定指标 Measurement index	2 年条 (Stem of two years)		1 年条 (Stem of one year)	
	CK	T	CK	T
茎长 Stem length/cm	10.48±0.41 c	15.04±0.99 b	13.02±0.47 bc	19.25±0.62 a
有效茎数 Productive stem/stick	5.33±0.46 d	8.83±0.63 c	10.33±0.53 b	18.00±0.97 a
茎径 Stem diameter/cm	0.38±0.09 c	0.51±0.07 a	0.28±0.08 d	0.45±0.03 b
平均单茎重 Stem weight/g	2.08±0.54 b	3.23±0.43 a	2.06±0.42 b	3.12±0.45 a

注:表中数据为平均值±标准误差,同行数据后不同字母表示差异显著 ($P<0.05$),表 2~3 下同。
Note:Data in the table represent average value±standard error, Date followed different letters within row indicate significant difference at 0.05 level. The same as table 2~3.

2.3 瘤菌根菌对不同年限铁皮石斛的主要营养成分的影响

不同年限铁皮石斛的主要营养成分见表 2。接菌后的铁皮石斛鲜条的含水量、粗蛋白都高于相同年限的对照,说明了接菌后加快铁皮石斛的生长,也加快铁皮石斛的代谢和提高合成物质的能力,提供

较多生长所需的物质。而接菌后的粗纤维、灰分含量低于未接菌的对照,差异显著,远低于 2015 版《中国药典》总灰分含量不得高于占干重 5.0% 的限制要求^[26]。表 2 中还可以得出,2 年条的多糖含量高于 1 年条的多糖含量,且差异显著,其中接菌与未接菌的 2 年条多糖含量较高没有显著差异,但接菌与未接菌的

1 年条的多糖含量差异显著，接菌后比未接菌的对照增加了 30.39%，这说明接菌后既能促进铁皮石斛植株的生长，也不影响多糖的积累。石斛碱是石斛的特征性物质，检测结果可知，石斛碱在所测定的指

标中含量最低，含量占鲜重的 0.03% 左右，符合 2015 版《中国药典》石斛碱含量不得少于占干重的 0.40% 的限量要求^[26]。

表 2 瘤菌根菌对不同年限铁皮石斛的主要营养成分的影响
Table 2 Effect of *Epulorhiza* symbiosis on major nutritional constituents in one- and 2-year-old *D. officinale* (单位: %)

测定指标 Measurement index	2 年条 Stem of two years		1 年条 Stem of one year	
	CK	T	CK	T
含水量 Water content	81.35±1.02 ab	83.12±1.85 a	73.93±1.63 c	80.05±1.84 b
粗蛋白质 Crude protein	1.26±0.06 b	1.19±0.03 b	1.23±0.01 b	1.46±0.08 a
粗纤维 Crude fiber	2.32±0.12 ab	2.18±0.15 b	2.59±0.13 a	2.13±0.14 b
灰分 Ash	0.38±0.02 a	0.23±0.05 b	0.44±0.06 a	0.28±0.04 b
粗多糖 Crude polysaccharides	12.33±0.26 a	12.17±0.14 a	8.528±0.42 c	11.12±0.36 b
石斛碱 Dendrobine	0.032 1±0.001 a	0.033 2±0.001 a	0.032 7±0.001 a	0.033 5±0.001 a

注：试验结果是以鲜重计。
Note: The results were calculated by fresh weight.

2.4 瘤菌根菌对不同年限铁皮石斛的氨基酸组成的影响

氨基酸是一切生命之元，植物在光合作用中在各种酶与酶系统的参与下可经生物化学作用合成氨基酸，对植物本身而言氨基酸能够促进根系生长、壮苗、健株、增强叶片的光合功能及抗病虫害能力，达到增产效果；对人体而言植物氨基酸能提供人体不能自己制造的必需氨基酸，对生命活动发挥着举足轻重的作用。不同年限不同处理的 4 种铁皮石斛氨基酸的测定结果见表 3。由表 3 可知，试验中的 4 种铁皮石斛的氨基酸种类齐全，都检出了 17 种氨基酸。检测发现，相同年限的接菌处理后的铁皮石斛条的氨基酸总量和必需氨基酸都高于对照，差异显著；接菌后的 1 年条的氨基酸总量与未接菌的 2 年条的氨基酸总量相近，而必需氨基酸含量却超过了未接菌的 2 年条的必需氨基酸含量。从必需氨基酸与非必需氨基酸（EAA/NEAA）的比值来看，1 年条的 EAA/NEAA 的比值为 0.61，已达到 FAO/WHO 的理想模式（0.60）。由此可见，接菌后的铁皮石斛尽管产量提高，但氨基酸的含量和 EAA/NEAA 的比值都高于未接菌的对照，表明接菌后的铁皮石斛的氨基酸营养价值高于未接菌的铁皮石斛，接菌后 1 年条的氨基酸营养价值可达到未接菌的 2 年条的氨基酸营养价值水平。从氨基酸组成看，1 年条、2 年条铁皮石斛中氨基酸的种类和含量的高低顺序基本一致，含量最高的是天冬氨酸，其次是谷氨酸、精氨酸、赖氨酸和苏氨酸。其中天冬氨酸和谷氨酸是

呈鲜味的特征氨基酸，两者均占总氨基酸含量的 30% 以上，具有调节口感的作用。

3 讨论与结论

近年来，很多药用植物野生资源不合理的过度开发利用，造成了资源面临枯竭，人工种植成为一条必然之路。但在人工种植中往往会出现生物产量和经济产量的提高与有效成分的含量下降的矛盾^[27]。因此，既要保证较高的有效成分，又要有较高的产量也成了人工种植铁皮石斛的主要难题。但产量与质量不是对抗性矛盾，如果采取特殊的栽培措施，如加强田间管理，及时施肥，促进植株健壮生长，是可以达到产量高有效成分也相对较高的效果。

药用植物的产量是指单位土地面积上药用植物群体的产量，即由个体产量和个体数量构成。铁皮石斛产量与在单位面积内的有效茎数和单茎重量密切相关，既要足够的有效茎数和茎长，且植株粗壮，才能提高产量。目前已发现多种能促进铁皮石斛生长提高产量的内生真菌，本试验中的瘤菌根菌与铁皮石斛盆栽苗共培养后，可以促进植株生长，增加有效茎秆和茎秆长度，提高了产量。这一结果与其他研究者的结果一致，其中金辉等^[13]分离出的瘤菌根菌与组培苗共同培养 60 d 后，接菌组培苗平均鲜重增长率比对照苗高出了 84.8%，俞婕等^[28]发现菌株 ZJSH1 对铁皮石斛植株苗有显著的促生作用，董金海等^[29]发现菌株 NL-215 对铁皮石斛试管苗

表 3 瘤菌根菌对不同年限铁皮石斛的氨基酸组成的影响
Table 3 Effect of *Epulorhiza* symbiosis on amino acid composition of one- and 2-year-old *D. officinale*

(单位: %, 以干基计)

氨基酸 Amino acid	2年条 Stem of two years		1年条 Stem of one year	
	CK	T	CK	T
必需氨基酸 Essential amino acid				
苏氨酸 Threonine	0.258 4±0.023 b	0.338 3±0.028 a	0.198 8±0.018 c	0.257 8±0.021 b
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.251 1±0.015 c	0.347 8±0.014 a	0.200 7±0.017 d	0.271 5±0.018 b
赖氨酸 Lysine	0.365 4±0.0233 b	0.464 3±0.0188 a	0.280 1±0.0245 c	0.368 4±0.0164 b
缬氨酸 Valine	0.251 3±0.0151 b	0.345 3±0.0135 a	0.202 9±0.0166 c	0.271 3±0.0173 b
蛋氨酸 Methionine	0.034 8±0.0054 b	0.029 4±0.0035 c	0.041 9±0.0078 a	0.035 7±0.0054 b
异亮氨酸 Isoleucine	0.243 9±0.0233 b	0.326 4±0.0114 a	0.192 8±0.0164 c	0.255 0±0.0135 b
亮氨酸 Isoleucine	0.526 0±0.0236 b	0.673 0±0.0295 a	0.409 5±0.021 6 c	0.529 8±0.0303 b
非必需氨基酸 Nonessential amino acid				
天门冬氨酸 Aspartic acid	1.061 9±0.1236 b	1.208 7±0.0853 a	0.701 4±0.0735 d	0.914 8±0.0892 c
酪氨酸 Tyrosine	0.195 8±0.0191 b	0.313 5±0.0253 a	0.163 8±0.0128 c	0.154 4±0.0142 c
丝氨酸 Serine	0.205 4±0.0172 c	0.292 3±0.0153 a	0.169 7±0.0178 d	0.234 0±0.0116 b
谷氨酸 Glutamic acid	0.784 7±0.0895 b	1.009 5±0.0617 a	0.540 6±0.0591 c	0.738 1±0.0453 b
甘氨酸 Glutamic acid	0.270 7±0.0120 b	0.364 1±0.0046 a	0.210 2±0.0131 c	0.278 6±0.087 b
丙氨酸 Alanine	0.238 1±0.0106 c	0.319 8±0.0107 a	0.185 6±0.0238 d	0.260 8±0.062 b
胱氨酸 Cystine	0.038 6±0.0046 b	0.050 0±0.0040 a	0.021 5±0.0013 d	0.026 2±0.0018 c
组氨酸 Histidine	0.097 0±0.0054 c	0.142 8±0.0036 a	0.081 3±0.0068 d	0.109 9±0.0051 b
精氨酸 Arginine	0.423 0±0.0082 b	0.452 9±0.0112 a	0.246 1±0.0043 d	0.284 2±0.0103 c
脯氨酸 Proline	0.215 7±0.0059 b	0.318 6±0.0062 a	0.163 0±0.0040 c	0.219 5±0.0093 b
氨基酸总量 Total amino acid,EAA, TAA	5.461 8±0.2426 b	6.940 1±0.5769 a	4.003 8±0.3163 c	5.210 0±0.4216 b
必需氨基酸总量 Essential amino acid,EAA	1.933 4±0.1581 b	2.567 8±0.1834 a	1.521 4±0.1735 c	1.979 8±0.1088 b
非必需氨基酸总量 Nonessential amino acid,NEAA	3.528 4±0.2193 b	4.372 3±0.1532 a	2.479 7±0.2353 c	3.230 2±0.2014 b
必需氨基酸含量/氨基酸总量 Essential amino acid/ Total amino acid (EAA/TAA)	0.35±0.01 b	0.37±0.01 a	0.38±0.01 a	0.38±0.01 a
必需氨基酸总量/非必需氨基酸总量 Essential amino acid/ Nonessential amino acid (EAA/NEAA)	0.55±0.04 a	0.59±0.06 a	0.61±0.07 a	0.61±0.08 a

的鲜重、株高、叶绿素和糖等各项表观及内含物指标上都有明显的促进作用。菌根真菌的促生作用的原因可能是菌根真菌与根系共培养后形成和建立了互惠共生关系诱导产生植物激素，促进了根系侧根和根毛的生成，进而形成了发达的地下部系统，能更好地吸收营养物质来供地上部茎和叶的生长^[18]，促进了植株高度、叶片数和叶宽的增加^[17]。其中根系所吸取的营养物质一部分来自菌丝圈和菌丝结逐渐降解形成的菌体的营养物质，为植物提供维生素B₁、维生素的前体 PABA 氨基酸、生长调节剂和生

长所需的多种微量元素^[30]；另外一部分营养物质来自根系周围的培养基成分或者土壤储存的水分、空气和矿质元素。

菌根真菌不仅能促进生长提高产量，还能提高多糖、蛋白质、氨基酸及生物碱等代谢成分的积累^[31]。王秋霞等^[12]通过¹⁵N 稳定同位素标记发现瘤菌根菌和胶膜菌能显著促进金钗石斛对有机氮的利用和石斛碱的积累；朱波等^[16]研究结果：通过接种铁皮石斛内生真菌可以提高多糖含量，促进甘露糖和醇溶性浸出物积累。本试验发现接菌后 1 年条的多糖含量

显著提高,增幅达到30.39%;接菌后的1年条的氨基酸总量与未接菌的2年条的氨基酸总量相近,而必需氨基酸含量却超过了未接菌的2年条的必需氨基酸含量。试验结果与龚记熠^[14]等研究结果相似,其认为内生真菌能减少金钗石斛幼苗叶绿素SPAD值的降低,保证光合作用有序进行,促进有机物的合成,增加干物质量;帅红艳^[30]认为瘤菌根菌一定程度上影响了调控系统,使得物质代谢、光合作用等增强,促进初级代谢产物(多糖、氨基酸)和次生代谢产物(生物碱)的合成和积累。

另外,影响有效成分的积累与生长年限和采收时间有关,唐丽等^[32]认为总多糖主要集中于茎,以2年龄茎的含量最高,且随着生长龄的增加而逐渐减少。而总生物碱主要集中于叶片,以1年龄叶的含量最高。吴经耀^[33]研究得出铁皮石斛头年10月到翌年3月多糖含量最高,为最佳采收期。封顶后的石斛叶片会慢慢衰老脱落,在叶片脱落前其所含的营养物质一部分以氨基酸的形式转移进茎干,此时茎干的氨基酸含量较高。因此适时采收也是提高药用植物质量的至关重要的因素,在封顶之后开花之前是铁皮石斛的最适采收期,所以在每年的3月采收更科学合理,此时口感和风味最好。这是由于铁皮石斛鲜条每年在11~12月份封顶而停止生长,3~5月份为新芽和花芽分化,会消耗其积累的营养物质,且粗纤维的含量增加,影响咀嚼口感和风味。而当粗纤维较高时会降低养分的消化率以及肠道对小分子养分物质的吸收。

从当前的林下种植、仿野生种植来看,铁皮石斛的有机种植将会是一种主要的种植模式,而铁皮石斛内生真菌的开发和应用是解决铁皮石斛有机种植产量问题的重要措施。本试验中铁皮石斛与瘤菌根菌建立共生关系后根系发达且根系活力增强,能吸收较多的营养物质供地上部生长,茎秆饱满,茎皮薄,粗纤维少,粘汁多;叶数增多,叶面积增大且叶色浓绿,合成代谢物的能力增强,积累更多的多糖、蛋白质、氨基酸及生物碱,即提高了产量也提高了有效成分的含量,其中接菌后的1年条茎秆的营养价值与正常条件生长的2年条茎秆营养价值相近。因此,本试验所用的瘤菌根菌在石斛的生产和种植上具有较大的应用前景,为实现高产优质的目的提供一条重要的途径。

参考文献:

- [1] 谭青云,袁永俊,王丹,等.不同提取方式对铁皮石斛多糖及体外降血糖的影响[J].食品科技,2019,44(6):202-206.
TAN Q Y, YUAN Y J, WANG D, et al. Effects of different extraction methods on polysaccharide from *Dendrobium candidum* and

- hypoglycemic effect in vitro [J]. *Food science and technology*, 2019, 44(6):202-206. (in Chinese)
- [2] 汤志远,周晓宇,冯健,等.铁皮石斛多糖降血糖作用研究[J].南京中医药大学学报,2016,32(6):566-570.
TANG Z Y, ZHOU X Y, FENG J, et al. The hypoglycemic activity of homogeneous polysaccharides from *Dendrobium officinale* [J]. *Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine (Natural Science)*, 2016, 32(6):566-570. (in Chinese)
- [3] XIA L J, LIU X F, GUO H Y, et al. Partial characterization and immunomodulatory activity of polysaccharides from the stem of *Dendrobium officinale* (Tiepishihu) in vitro [J]. *Journal of Functional Foods*, 2012, 4(1):294-301.
- [4] 葛颖华,王杰,周萃,等.铁皮石斛中石斛碱、多糖的含量测定[J].中国中医药科技,2015,22(5):527-528,602.
GE Y H, WANG J, ZHOU C, et al. Determination of dendrobine and polysaccharide in *Dendrobium officinale* [J]. *Chinese Journal of Traditional Medical Science and Technology*, 2015, 22(5):527-528,602. (in Chinese)
- [5] 邵日凤,胡粉青,邹澄,等.石斛属植物化学成分和药理活性研究现状[J].天然产物研究与开发,2012,24(B12):152-157,121.
SAO R F, HU F Q, ZOU C, et al. Advances on studies of chemical constituents and pharmacology of plants from *Dendrobium sw* [J]. *Natural Product Research and Development*, 2012, 24(B12):152-157,121. (in Chinese)
- [6] 张爱莲,魏涛,斯金平,等.铁皮石斛中基本氨基酸含量变异规律[J].中国中药杂志,2011,36(19):2632-2635.
ZHANG A L, WEI T, SI J P, et al. Study on basic amino acid contents in *Dendrobium officinale* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36(19):2632-2635. (in Chinese)
- [7] 刘振鹏,郭英英,刘京晶,等.铁皮石斛品系与部位对氨基酸含量的影响[J].中国中药杂志,2015,40(8):1468-1472.
LIU Z P, GUO Y Y, LIU J J, et al. Effect of strains and parts on amino acids of *Dendrobium officinale* [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2015, 40(8):1468-1472. (in Chinese)
- [8] 喻静,蒋海侠,张保钱,等.两株铁皮石斛内生真菌对组培苗和原球茎生长的影响[J].植物病理学报,2017,47(4):541-550.
YU J, JIANG H X, ZHANG B Q, et al. Characterization of endophytic fungi from *Dendrobium officinale* and study of their influence on growth of seedling and protocorm [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2017, 47(4):541-550. (in Chinese)
- [9] 李明.兰科菌根的特点及其菌根真菌在兰花培育中的应用[J].云南师范大学学报,2001,12(4):68-71.
LI M. The characteristics of orchidaceous mycorrhiza and application of mycorrhizal fungi in orchid culture [J]. *Journal of Yunnan Normal University*, 2001, 12(4):68-71. (in Chinese)
- [10] 盖雪鸽,邢晓科,郭顺星.兰科菌根的生态学研究进展[J].菌物学报,2014,33(4):753-767.
GAI X G, XING X K, GUO S X. Ecological research of orchid mycorrhizae: A review [J]. *Mycosystema*, 2014, 33(4):753-767. (in Chinese)
- [11] 王秋霞,胡虹.菌根共生对铁皮石斛生长发育的影响[J].山东农业科学,2019,51(1):55-60.
WANG Q X, HU H. Effects of mycorrhizal symbiosis on growth and development of *Dendrobium officinale* [J]. *Shandong Agricultural*

- Sciences, 2019, 51 (1): 55–60. (in Chinese)
- [12] WANG Q X, YAN N, JI D G, et al. Mycorrhizal fungi promote growth and nitrogen utilization by *Dendrobium nobile* (Orchidaceae) [J]. *Journal of plant classification and resources*, 2014, 36 (3): 321–330.
- [13] 金辉, 许忠祥, 陈金花, 等. 铁皮石斛组培苗与菌根真菌共培养过程中的相互作用 [J]. *植物生态学报*, 2009, 33 (3): 433–441.
JIN H, XU Z X, CHEN J H, et al. Interaction between tissue-cultured seedlings of *Dendrobium officinale* and mycorrhizal fungus (*Epulorhiza* sp.) during symbiotic culture [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2009, 33 (3): 433–441. (in Chinese)
- [14] 龚记熠, 李菲, 孙威, 等. 内生真菌对营养亏缺下金钗石斛幼苗生长的影响 [J]. 云南农业大学学报: 自然科学, 2019, 34 (1): 110–115.
GONG J Y, LI F, SUN W, et al. Effects of endophytic fungi on the seedling growth characteristics of *Dendrobium nobile* under nutritional deficiency [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University(Natural Science)*, 2019, 34 (1): 110–115. (in Chinese)
- [15] 闫浩利, 陈晓梅, 廖方华, 等. 菌根真菌对金钗石斛幼苗生长及石斛碱和多糖积累的影响 [J]. 中国药理学杂志, 2016, 51 (17): 1450–1454.
YAN H L, CHEN X M, LIAO F H, et al. Effects of mycorrhizal fungi on the growth and dendrobine and polysaccharide accumulation of *Dendrobium nobile* lindl seedlings [J]. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2016, 51 (17): 1450–1454. (in Chinese)
- [16] 朱波, 刘京晶, 斯金平, 等. 铁皮石斛内生真菌对宿主组培苗生长与代谢成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41 (9): 1602–1607.
ZHU B, LIU J J, SI J P, et al. Effects of endophytic fungi from *Dendrobium officinale* on host growth and components metabolism of tissue culture seedlings [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2016, 41 (9): 1602–1607. (in Chinese)
- [17] 王伟英, 邹晖, 戴艺民, 等. 一株铁皮石斛内生真菌的鉴定及对株型的影响 [J]. 福建农业学报, 2019, 34 (7): 837–841.
WANG W Y, ZOU H, DAI Y M, et al. Identification and effect on the plant type of an endophytic fungus of *Dendrobium officinale* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 34 (7): 837–841. (in Chinese)
- [18] 王伟英, 邹晖, 戴艺民, 等. 瘤菌根菌对铁皮石斛根系形态的影响及其共生关系的研究 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2020, 28 (2): 124–130.
WANG W Y, ZOU H, DAI Y M, et al. Effect of *Epulorhiza* sp. on root morphology of *Dendrobium officinale* and their symbiotic relationship [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2020, 28 (2): 124–130. (in Chinese)
- [19] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准食品中水分的测定: GB 5009.3-2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [20] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安全国家标准 食品中蛋白质的测定: GB 5009.5—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [21] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品中灰分的测定: GB 5009.4—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [22] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 植物类食品中粗纤维的测定: GB/T 5009.10—2003[S]. 北京: 中国标准出版社, 2004.
- [23] 国家卫生和计划生育委员会, 国家食品药品监督管理总局. 食品安
- 全国家标准 食品中氨基酸的测定: GB 5009.124—2016[S]. 北京: 中国标准出版社, 2017.
- [24] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. 出口植物源食品中粗多糖的测定 苯酚-硫酸法: SN/T 4260—2015[S]. 北京: 中国标准出版社, 2016.
- [25] 申刚, 乙引, 张习敏, 等. HPLC法测定金钗石斛中石斛碱含量 [J]. *安徽农业科学*, 2009, 37 (31): 15248–15249.
SHEN G, YI Y, ZHANG X M, et al. Determination on dendrobine content in *Dendrobium nobile* by HPLC method [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2009, 37 (31): 15248–15249. (in Chinese)
- [26] 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.
- [27] 谭嘉娜, 陈月桂, 罗剑飘, 等. 不同来源金线莲生长与品质对比分析 [J]. 热带农业科学, 2016, 36 (6): 62–65.
TAN J N, CHEN Y G, LUO J P, et al. Comparison of Growth and Quality of *Anoectochilus roxburghii* from different regions [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2016, 36 (6): 62–65. (in Chinese)
- [28] 俞婕, 赵凯鹏, 董飞, 等. 野生铁皮石斛内生菌的分离及促生作用研究 [J]. *现代农业科技*, 2010 (9): 96–97.
YU J, ZHAO K P, DONG F, et al. Separation and growth-promoting study of endophyte in wild *Dendrobium candidum* [J]. *Xiandai Nongye Keji*, 2010 (9): 96–97. (in Chinese)
- [29] 董金海, 王广林. 内生菌NL-215对霍山铁皮石斛试管苗生长的影响 [J]. 现代中药研究与实践, 2013, 27 (3): 11–13.
DONG J H, WANG G L. Effects of the endophytic fungi NL-215 on tube plants growth of *Dendrobium officinale* kimura et migo from Huoshan [J]. *Research and Practice on Chinese Medicines*, 2013, 27 (3): 11–13. (in Chinese)
- [30] 帅红艳. 广西环江产铁皮石斛内生真菌的分离鉴定及其生物活性的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2008: 3-8.
SHUAI H Y. Studies on isolation, identification and bioactivity of endophytic fungi from *Dendrobium candidum* grew in Huanjiang of Guangxi[D]. Nanning: Guangxi University, 2008: 3-8. (in Chinese).
- [31] 高川, 郭顺星, 张靖, 等. 福建金线莲与菌根真菌互作过程中的蛋白质组研究 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (24): 3717–3722.
GAO C, GUO S X, ZHANG J, et al. Proteome analysis on interaction between *Anoectochilus roxburghii* and Mycorrhizal fungus [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2012, 37 (24): 3717–3722. (in Chinese)
- [32] 唐丽, 李菁, 龙华, 等. 不同生长龄铁皮石斛茎与叶中总多糖、总生物碱及总黄酮含量的差异 [J]. *广东农业科学*, 2015, 42 (8): 17–21.
TANG L, LI J, LONG H, et al. Content differences of total polysaccharides, total alkaloids and total flavonoids from stems and leaves of *Dendrobium candidum* at different growth ages [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015, 42 (8): 17–21. (in Chinese)
- [33] 吴经耀, 冯瑛. 不同采收期铁皮石斛主要成分含量测定及比较 [J]. 中国民族民间医药, 2019, 28 (10): 39–42.
WU J Y, FENG Y. The determination and comparison of main components of *Dendrobium officinale* in different harvesting periods [J]. *Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy*, 2019, 28 (10): 39–42. (in Chinese)

(责任编辑: 黄爱萍)