

杨秋悦, 罗影子, 杨 洋, 等. 干旱胁迫对铁皮石斛生理及不同部位活性成分的影响[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(13): 142-149.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.13.022

干旱胁迫对铁皮石斛生理及不同部位活性成分的影响

杨秋悦, 罗影子, 杨 洋, 阮宝丽, 黄明进

(贵州大学农学院/贵州大学石斛研究院/贵州省药用植物繁育与种植重点实验室, 贵州贵阳 550025)

摘要:为了探究干旱胁迫对铁皮石斛生理及品质的影响,为铁皮石斛栽培提供理论基础。试验采用盆栽控水模拟干旱条件,设置4个水分处理,分别为湿润水分处理(CK)、轻度干旱胁迫(H)、中度干旱胁迫(M)、重度干旱胁迫(L),研究不同水分处理下铁皮石斛生理生化指标及活性成分的变化。结果表明,干旱胁迫对茎粗、叶片含水量、丙二醛含量无显著影响,而生物量积累减少;铁皮石斛在干旱胁迫下以叶绿素含量、过氧化氢酶(CAT)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量增加来抵御胁迫,且茎叶不同部位的多糖、总黄酮、总酚、总氨基酸含量均增加,证明胁迫可促进铁皮石斛品质的提升。对指标进行主成分分析可知,株高、茎粗、根鲜质量、叶绿体色素含量、抗氧化酶活性、渗透调节物质、多糖含量、总黄酮含量、总氨基酸含量等可作为铁皮石斛耐旱性的评价指标。研究表明,轻度干旱对铁皮石斛各指标无明显影响,而活性成分含量在重度干旱胁迫下达到峰值,且对生长不造成影响,证明铁皮石斛对于旱有较强的忍耐力,可在采收前进行适度的干旱胁迫从而提高品质。

关键词:铁皮石斛;干旱胁迫;生理;活性成分

中图分类号:S567.23+9.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)13-0142-07

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是兰科(Orchidaceae)石斛属草本植物。石斛属植物主要含有生物碱、多糖、联苳、菲类等药理成分,具有增强免疫力、抗肿瘤、抗炎、抗衰老、抗糖尿病等多种作用^[1]。在自然条件下铁皮石斛主要生长于一些高大乔木阴湿的树干或石灰岩上,主要栽培模式为附树、附石、大棚栽培^[2-3],除了大棚栽培铁皮石斛需定期浇水外,林下仿野生栽培的铁皮石斛在自然生长过程中都经受着干旱胁迫。干旱胁迫会影响植物的各种生理过程,表现上会使植株矮小、叶片萎蔫,还会影响植株的生物量积累、光合作用、渗透调节、次生代谢等过程^[4-6]。植物对于干旱具有一定的耐受力,但在不同的物种间差异较大,水分缺失对植物的生长发育有一定的影响。目前关于铁皮石斛的研究主要在化学成分、药理作用、

人工栽培及加工产品等方面^[7-8]。关于铁皮石斛干旱胁迫,前人曾研究过逆境胁迫下铁皮石斛愈伤组织保护酶系统的抵御能力,结果显示过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、抗坏血酸过氧化物酶(ASP)4种酶活性都呈现适度升高再降低趋势^[9],还探究过内生真菌对干旱胁迫下铁皮石斛生长的影响,研究显示菌根真菌能提高铁皮石斛的抗旱性^[10-11],以及人工补充外源钙能增强铁皮石斛愈伤组织可溶性蛋白的表达,减缓干旱胁迫的伤害^[12]。目前关于铁皮石斛干旱胁迫下生理生化响应研究较多,但结合生理指标和活性成分在干旱胁迫下变化的研究较少,因此本研究以铁皮石斛为研究对象,探索在干旱胁迫下生物量积累、生理及活性成分的变化,以期对铁皮石斛的栽培及利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验材料为来自贵州省黔东南苗族侗族自治州锦屏县铁皮石斛锦斛1号,是已认定品种(认定编号:黔认20210012),经贵州大学黄明进副教授鉴定为兰科植物铁皮石斛。挑选长势一致的一年生铁皮石斛苗,整丛移栽于深17 cm、内径22 cm的白色塑料花盆中,所用基质为树皮、木屑,材料均一。

收稿日期:2022-10-18

基金项目:贵州省教育厅农业重大产业科学研究攻关项目(编号:黔教合KY字[2019]014);贵州省教育厅重点领域项目(编号:黔教合KY字[2021]043);贵州省农村产业革命中药材产业发展专项(编号:黔财农[2020]101号、黔石合2020[2])。

作者简介:杨秋悦(1998—),女,贵州盘州人,硕士研究生,主要从事铁皮石斛栽培与利用研究。E-mail:472551284@qq.com。

通信作者:黄明进,博士,副教授,主要从事药用植物栽培和开发利用研究。E-mail:hmjtc@163.com。

该试验于 2021 年 9—10 月在贵州大学石斛研究院内温室中进行,试验设计参照巫晓璐的方法^[13]:依据基质含水量的不同设置 4 个处理:(1)重度干旱胁迫(L):相对含水率为 25%~30%;(2)中度干旱胁迫(M):相对含水率为 40%~45%;(3)轻度干旱胁迫(H):相对含水率为 55%~60%;(4)湿润水分处理(CK):相对含水率为 70%~75%。每个处理 20 个重复,盆栽于电子秤上称质量浇水,先浇至饱和含水量再逐步控制其达到所设定的水分条件,每天于 17:00 对各花盆进行称质量,并补充水分使盆栽达到所设定的水分范围(所浇的水为沉淀后的清水)。当不同的水分处理达到设定条件后,于胁迫 50 d 后对植株进行采样,每个处理采 3 丛,测定指标。饱和含水量以栽培基质含水量达到饱和状态为准,基质含水量 = (鲜质量 - 干质量) / (饱和含水量 - 干质量) × 100%。

1.2 试剂与仪器

试剂:无水乙醇(购自天津市富宇精细化工有限公司);牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250、芸香苷对照品(均购自罗恩试剂);硫酸、磷酸、氢氧化钠、甲醇(均购自贵州福泉川东化工有限公司);蒽酮、碳酸钠(均购自国药集团化学试剂有限公司);蔗糖对照品、无水葡萄糖对照品(均购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司);亚硝酸钠、硝酸铝、石英砂、碳酸钙、苯酚(均购自成都金山化学试剂有限公司);福林酚溶液购自北京索莱宝科技有限公司;没食子酸对照品购自麦克林试剂公司;所有试剂药品均为分析纯。

仪器:百分之一天平 YP3002N、千分之一天平 JA2003N(上海菁海仪器有限公司),电热恒温水槽 DK-80(上海精宏实验设备有限公司),超声波清洗机 SB-5002DT(宁波新芝生物科技股份有限公司),数显恒温水浴锅 HH-6(常州市华普达教学仪器有限公司),离心机 TDL20M/TD4-WS(盐城市凯特实验仪器有限公司),酶标仪 SpectraMax ABS Plus

[美国美谷分子仪器(上海)有限公司],分光光度计 UV-2600i(日本岛津公司)。

1.3 测定方法

用直尺测定株高;用游标卡尺测定茎粗;叶片含水量采用烘干法测定^[13];生物量用百分之一天平称定;用 96% 乙醇研磨法测定叶绿素含量^[14];CAT 活性用紫外吸收法测定,SOD 活性用氮蓝四唑法测定,POD 活性用愈创木酚法,用北京盒子生工科技有限公司试剂盒进行测定;丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸显色法测定,脯氨酸(Pro)含量采用酸性茚三酮比色法,用北京盒子生工科技有限公司试剂盒进行测定;可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 法测定^[15];可溶性糖含量采用蒽酮-硫酸法测定^[16];多糖含量利用苯酚-硫酸法测定^[17];总黄酮含量采用亚硝酸钠-硝酸铝-氢氧化钠比色法^[18-19]测定;总酚含量采用福林酚法测定^[20];总氨基酸含量采用茚三酮比色法测定^[21]。

1.4 数据处理

采用 Excel 2016 整理数据及绘图,SPSS 26.0 对数据进行方差分析、多重比较。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫处理对锦斛 1 号生物量及叶片含水量的影响

由表 1 可知,不同干旱胁迫处理铁皮石斛株高和茎、叶鲜质量间存在差异,在茎粗、叶片含水量、根鲜质量指标中无显著差异。L 与 H、CK 处理在株高间无显著差异,M 与 L、CK 处理间存在显著差异,M 处理比 L、CK 处理株高分别减少 37.35%、40.28%。茎、叶鲜质量趋势一致,M 与 CK 处理间存在显著差异,其他处理间无显著差异。

2.2 干旱胁迫处理对锦斛 1 号叶绿素含量的影响

由表 2 可知,不同干旱胁迫处理铁皮石斛叶绿素含量无显著差异,但总体呈随着水分减少而增加的趋势。L 处理下叶绿素 a 含量比 M、H、CK 处理分

表 1 干旱胁迫对铁皮石斛株高、茎粗、叶片含水量及生物量的影响

处理	株高 (cm)	茎粗 (mm)	叶片含水量 (%)	单丛鲜质量(g)		
				根	茎	叶
L	17.99 ± 3.76ab	4.87 ± 0.55a	83.95 ± 6.78a	3.17 ± 0.77a	9.98 ± 0.99ab	10.43 ± 2.19ab
M	11.27 ± 2.38c	5.12 ± 0.90a	88.39 ± 6.37a	4.22 ± 1.13a	8.09 ± 1.72b	9.39 ± 0.81b
H	14.72 ± 5.04bc	4.80 ± 0.79a	88.04 ± 5.14a	3.91 ± 0.70a	10.06 ± 1.96ab	12.55 ± 1.32ab
CK	18.87 ± 2.83a	5.09 ± 0.59a	87.51 ± 6.83a	4.09 ± 1.75a	11.57 ± 2.06a	13.54 ± 2.80a

注:表内数据为“平均值 ± 标准差”,同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。表 2、表 3 同。

别增多 12.11%、6.58%、20.64%；L 处理下叶绿素 b 含量比 M、H、CK 处理分别增多 8.19%、2.59%、12.81%；L 处理下类胡萝卜素含量比 M、H、CK 处理

分别增多 15.65%、9.02%、27.88%；L 处理下叶绿体色素含量比 M、H、CK 处理分别增多 10.69%、5.84%、18.85%。

表 2 干旱胁迫对铁皮石斛叶绿素含量的影响

处理组	叶绿素 a 含量 (mg/L)	叶绿素 b 含量 (mg/L)	类胡萝卜素含量 (mg/L)	叶绿体色素含量 (mg/g)
L	7.13 ± 1.32a	3.17 ± 0.36a	1.33 ± 0.26a	1.45 ± 0.24a
M	6.36 ± 0.61a	2.93 ± 0.28a	1.15 ± 0.14a	1.31 ± 0.13a
H	6.69 ± 0.48a	3.09 ± 0.16a	1.22 ± 0.09a	1.37 ± 0.09a
CK	5.91 ± 0.50a	2.81 ± 0.19a	1.04 ± 0.13a	1.22 ± 0.10a

2.3 干旱胁迫处理对锦斛 1 号抗氧化酶活性的影响

由图 1 可知,干旱胁迫处理下铁皮石斛 CAT、POD 活性随着水分减少整体呈下降趋势,SOD 活性总体呈增加趋势。L 处理下 CAT 活性与 M、H、CK 处理间均存在显著差异,分别减少 64.65%、

62.16%、61.96%；对于 POD 活性,L 处理与 CK 处理间存在显著差异,其他处理间无显著差异,L 处理下 POD 活性较 M、H、CK 处理分别减少 66.13%、61.11%、86.18%；4 个处理间 SOD 活性无显著差异,L、M、H 处理较 CK 处理分别增加 14.21%、90.86%、29.94%。

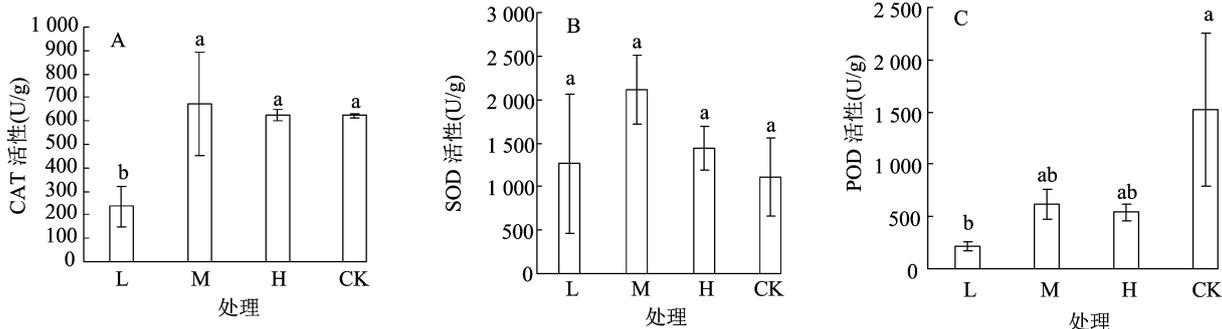


图 1 干旱处理对铁皮石斛抗氧化酶活性的影响

2.4 干旱胁迫处理对锦斛 1 号渗透调节物质及丙二醛含量的影响

由图 2 可知,不同干旱胁迫处理下铁皮石斛可溶性糖含量存在显著差异,可溶性蛋白含量 L 处理与 M、H、CK 处理存在显著差异,脯氨酸和丙二醛含量无显著差异,呈先减后增趋势。可溶性糖含量随着水分含量的减少呈增加趋势,L、M、H 处理较 CK 处理分别增加 24.25%、5.47%、11.48%；L 处理可溶性蛋白含量与其他 3 个处理间存在显著差异,L、M、H 处理较 CK 处理分别增加 73.41%、减少 19.43%、增加 20.70%；脯氨酸含量 L、M、H 处理较 CK 处理分别增加 1.46%、减少 14.60%、减少 29.20%；丙二醛含量 4 个处理间无显著差异。

2.5 干旱胁迫处理对锦斛 1 号不同部位多糖、总黄酮、总酚及总氨基酸含量的影响

由表 3 知,重度干旱胁迫处理下铁皮石斛茎叶多糖、茎叶总黄酮、茎叶总酚含量增加,茎总氨基酸

含量增加,叶总氨基酸含量无明显变化。铁皮石斛茎多糖含量随水分减少呈先减后增趋势,在 L 处理下茎多糖含量最高,叶多糖趋势相同,在 L 处理下有最大值;铁皮石斛茎总黄酮含量随水分的梯度减少先减后增,在 L 处理时含量最高,在 H 处理下含量最高,其中 H 处理和 CK 处理茎叶总黄酮含量差异显著;茎总酚含量在 M 处理下减少,叶总酚含量在 H 处理下最高;茎叶总氨基酸含量随水分减少总体呈增加趋势,其中 M 处理异常,其值略微下降,茎总氨基酸含量在 L 处理时最高,且与其他处理间差异显著,叶总氨基酸含量在 H 处理时最高,与其他处理差异显著。

2.6 干旱胁迫下铁皮石斛各指标间的相关性分析

对铁皮石斛干旱胁迫下测定的 25 个生理及品质指标进行 Person 相关分析,结果如表 4 所示:茎鲜质量与叶鲜质量存在极显著正相关;叶绿素 a 含量与叶绿素 b 含量呈极显著正相关;类胡萝卜素与

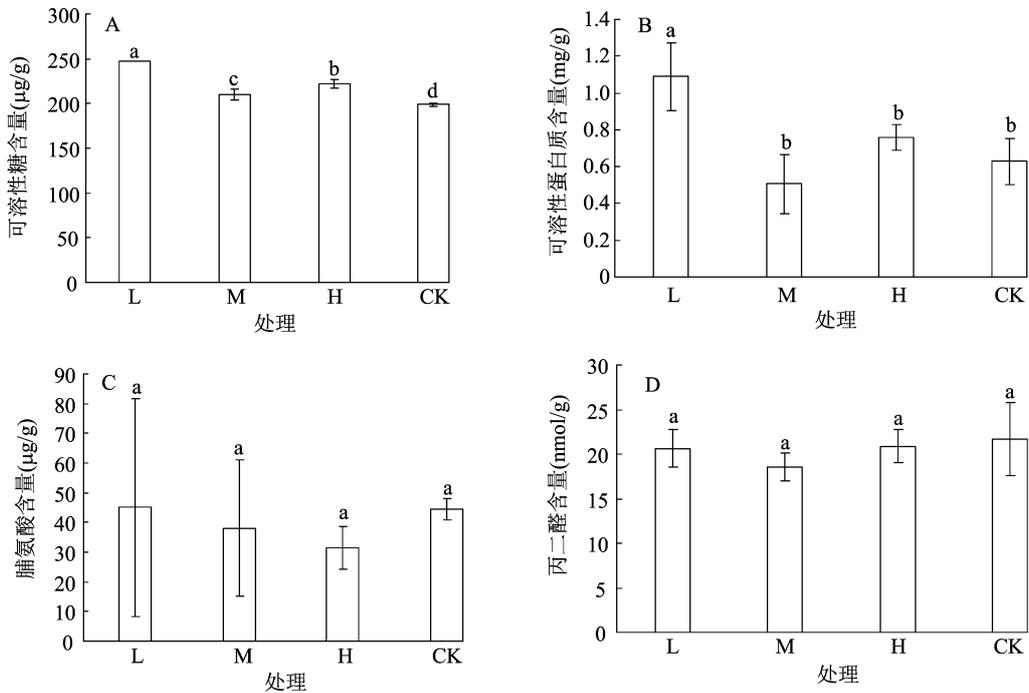


图2 干旱胁迫对铁皮石斛渗透调节物质和丙二醛含量的影响

表3 干旱胁迫对铁皮石斛不同部位活性成分的影响

部位	处理组	多糖含量 (%)	总黄酮含量 (%)	总酚含量 (%)	总氨基酸含量 (%)
茎	L	20.63 ± 9.06a	0.58 ± 0.02a	0.33 ± 0.04a	0.031 ± 0.000 5a
	M	15.27 ± 3.24a	0.54 ± 0.11a	0.26 ± 0.02ab	0.025 ± 0.000 3d
	H	12.62 ± 1.25a	0.41 ± 0.02b	0.33 ± 0.01a	0.027 ± 0.000 1b
	CK	17.60 ± 3.04a	0.55 ± 0.04a	0.31 ± 0.03ab	0.026 ± 0.000 8c
叶	L	19.17 ± 4.59a	0.48 ± 0.02ab	0.30 ± 0.01a	0.024 ± 0.000 4b
	M	15.38 ± 2.99ab	0.47 ± 0.01ab	0.32 ± 0.01a	0.023 ± 0.000 3c
	H	9.25 ± 0.79b	0.52 ± 0.04a	0.33 ± 0.02a	0.025 ± 0.000 2a
	CK	14.64 ± 4.39ab	0.45 ± 0.04b	0.27 ± 0.07a	0.024 ± 0.000 7b

叶绿素 a、叶绿素 b 含量呈极显著正相关;叶绿体色素含量与叶绿素 a、叶绿素 b、类胡萝卜素含量呈极显著正相关;SOD 活性与株高呈极显著负相关;POD 活性与茎鲜质量呈显著正相关,与叶鲜质量呈极显著正相关;CAT 活性与叶绿素 a 含量呈显著负相关;可溶性糖含量与 CAT 活性呈极显著负相关;可溶性蛋白含量与叶片含水量呈极显著负相关,与可溶性糖含量呈极显著正相关;茎多糖含量与叶绿素 a、类胡萝卜素、叶绿体色素含量呈显著正相关,与 CAT 活性呈显著负相关;叶总黄酮含量与茎粗呈显著负相关;茎总酚含量与茎粗、叶片含水量呈显著负相关,与可溶性蛋白含量呈显著正相关;叶总酚含量与 POD 活性呈显著负相关;茎总氨基酸含量与叶片含水量呈显著负相关,与 CAT 活性呈极显著负相关,与可溶性糖、可溶性蛋白含量呈极显著正相关;

叶总氨基酸含量与茎粗呈极显著负相关,与茎总黄酮呈显著负相关,与茎总酚含量呈极显著正相关。

2.7 干旱胁迫下铁皮石斛各指标间的主成分分析

对铁皮石斛干旱胁迫下的 25 个生理及品质指标进行主成分分析,结果如表 5 所示,提取 3 个主成分因子,累计贡献率达 89.271%。第 1 主成分的贡献率为 47.483%,其主要影响因子包括根鲜质量、叶绿素 a 含量、叶绿素 b 含量、类胡萝卜素含量、叶绿体色素含量、PRO 含量、可溶性糖含量、可溶性蛋白含量、茎多糖含量、茎总氨基酸含量,主要反映干旱胁迫对叶绿素含量、渗透调节物质及茎活性成分的影响;第 2 主成分的贡献率为 30.127%,其主要影响因子包括株高、茎粗、SOD 活性、茎总黄酮含量、叶总氨基酸含量,主要反映干旱胁迫对农艺性状、酶活性及活性成分的影响;第 3 主成分的贡献率

表4 干旱胁迫下铁皮石斛各指标间相关性

指标	相关系数																										
	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10	V11	V12	V13	V14	V15	V16	V17	V18	V19	V20	V21	v22	V23	V24	V25		
V1	1.000																										
V2	0.174	1.000																									
V3	0.034	0.181	1.000																								
V4	0.145	0.198	0.086	1.000																							
V5	0.313	-0.056	-0.023	0.321	1.000																						
V6	0.083	-0.168	-0.020	0.420	0.798**	1.000																					
V7	0.160	-0.043	-0.241	-0.095	-0.016	-0.360	1.000																				
V8	0.088	-0.102	-0.273	-0.036	-0.015	-0.271	0.979**	1.000																			
V9	0.105	-0.130	-0.369	-0.164	-0.071	-0.415	0.987**	0.968**	1.000																		
V10	0.138	-0.068	-0.268	-0.093	-0.024	-0.351	0.999**	0.987**	0.990**	1.000																	
V11	-0.956**	0.254	0.182	-0.062	-0.694	-0.458	-0.291	-0.288	-0.206	-0.280	1.000																
V12	0.105	0.489	0.292	0.652	0.736*	0.912**	-0.551	-0.478	-0.641	-0.552	-0.368	1.000															
V13	-0.574	-0.181	0.327	0.636	-0.164	0.364	-0.709*	-0.562	-0.700	-0.682	0.453	0.425	1.000														
V14	0.491	-0.362	-0.227	-0.458	0.225	-0.040	0.048	0.018	0.136	0.055	-0.468	-0.076	-0.247	1.000													
V15	-0.491	-0.151	-0.849	-0.274	-0.269	-0.055	0.030	0.078	0.093	0.049	0.443	0.022	0.155	-0.249	1.000												
V16	-0.069	-0.302	-0.549	-0.442	-0.081	-0.280	0.519	0.466	0.557	0.516	-0.195	-0.195	-0.853**	0.051	-0.011	1.000											
V17	0.031	-0.458	-0.861**	-0.188	0.077	0.046	0.367	0.388	0.424	0.382	-0.119	-0.355	-0.493	-0.050	0.565	0.745**	1.000										
V18	0.458	0.298	-0.103	-0.341	-0.088	-0.474	0.612*	0.530	0.586*	0.594*	-0.205	-0.424	-0.732*	0.078	0.252	0.233	0.203	1.000									
V19	-0.313	0.294	-0.232	-0.509	-0.272	-0.302	-0.216	-0.252	-0.179	-0.219	0.141	-0.364	-0.629	-0.014	0.403	0.353	0.249	0.229	1.000								
V20	0.088	0.410	-0.155	-0.147	0.254	-0.162	-0.050	-0.203	-0.035	-0.080	-0.015	0.061	-0.493	0.094	0.100	0.166	0.076	0.318	0.456	1.000							
V21	-0.402	-0.655*	-0.118	-0.098	0.138	0.187	0.233	0.270	0.287	0.250	0.179	-0.271	0.169	0.435	0.088	0.309	0.206	-0.469	-0.432	-0.272	1.000						
V22	-0.020	-0.684*	-0.678*	-0.553	-0.056	0.166	-0.027	0.043	0.056	-0.001	-0.095	-0.226	-0.124	0.371	0.434	0.386	0.626*	-0.060	0.144	-0.325	0.333	1.000					
V23	-0.396	-0.512	0.226	-0.472	-0.506	-0.499	0.003	0.006	0.109	0.019	0.604	-0.742*	0.067	0.202	-0.077	0.121	-0.122	-0.159	-0.009	-0.244	0.354	0.221	1.000				
V24	0.086	-0.352	-0.778*	-0.476	0.050	-0.155	0.400	0.367	0.453	0.403	-0.284	-0.599	-0.847**	0.220	0.180	0.890**	0.866**	0.374	0.492	0.237	0.084	0.552	0.019	1.000			
V25	0.094	-0.807**	-0.079	-0.335	0.064	0.235	0.154	0.228	0.185	0.175	-0.085	-0.340	-0.008	0.306	0.061	0.195	0.265	-0.127	-0.414	-0.653*	0.546	0.729**	0.401	0.207	1.000		

注: **表示在0.01级别(双尾)相关性显著; *表示在0.05级别(双尾)相关性显著。V1:株高;V2:茎粗;V3:叶片含水量;V4:根鲜质量;V5:茎鲜质量;V6:叶鲜质量;V7:叶绿素a含量;V8:叶绿素b含量;V9:类胡萝卜素含量;V10:叶绿体色素含量;V11:SOD活性;V12:POD活性;V13:CAT活性;V14:MDA含量;V15:脯氨酸含量;V16:可溶性糖含量;V17:可溶性蛋白含量;V18:茎多糖含量;V19:叶多糖含量;V20:茎总黄酮含量;V21:叶总黄酮含量;V22:茎总黄酮含量;V23:叶总黄酮含量;V24:茎总氨基酸含量;V25:叶总氨基酸含量。

为 11.661%，其主要影响因子包括 MDA 含量，主要反映干旱胁迫对膜脂过氧化的影响。综上所述，株高、茎粗、叶绿体色素含量、可溶性蛋白含量、茎总黄酮含量、茎总氨基酸含量、叶总氨基酸含量这几个指标的影响比较大，可以作为铁皮石斛耐旱性的鉴定指标。

表 5 干旱胁迫下铁皮石斛各指标的主成分分析

指标	载荷值			
	第 1 主成分	第 2 主成分	第 3 主成分	第 4 主成分
株高	0.009	0.993	0.040	-0.108
茎粗	-0.259	-0.963	-0.016	-0.068
叶片含水量	-0.795	-0.347	-0.389	-0.311
根鲜质量	-0.829	0.281	-0.437	0.205
茎鲜质量	-0.441	-0.178	0.355	0.805
叶鲜质量	-0.489	0.718	0.037	0.494
叶绿素 a 含量	0.958	0.144	-0.128	0.215
叶绿素 b 含量	0.855	0.404	-0.134	0.296
类胡萝卜素含量	0.948	0.170	-0.004	0.271
叶绿体色素含量	0.940	0.209	-0.112	0.243
SOD 活性	0.247	-0.832	-0.430	0.249
POD 活性	-0.758	0.038	0.630	0.167
CAT 活性	-0.753	0.649	0.107	0.014
MDA 含量	-0.326	0.395	0.858	0.048
PRO 含量	0.893	-0.114	0.434	0.031
可溶性糖含量	0.828	-0.168	-0.377	-0.381
可溶性蛋白含量	0.975	0.220	-0.021	0.028
茎多糖含量	0.864	-0.299	0.283	0.290
叶多糖含量	0.522	-0.777	0.350	-0.035
茎总黄酮含量	0.021	-0.923	0.370	0.104
叶总黄酮含量	-0.026	0.602	0.253	-0.757
茎总酚含量	0.713	0.666	0.208	-0.071
叶总酚含量	-0.460	0.287	-0.501	0.674
茎总氨基酸含量	0.999	0.026	0.001	0.022
叶总氨基酸含量	0.374	0.905	-0.201	-0.014
特征值	11.871	7.532	2.915	2.682
贡献率(%)	47.483	30.127	11.661	10.729
累计贡献率(%)	47.483	77.610	89.271	100.00

3 讨论

本研究发现干旱胁迫对铁皮石斛的茎粗、叶片含水量无显著影响，随着水分含量的减少，茎、叶鲜质量都减少，表明干旱胁迫能抑制生物量积累，根鲜质量在 L 处理下出现最小值，应该这是由于基质水分含量低，根系水分吸收少。茎和叶鲜质量则是在 M 处理下出现最小值，这和紫花苜蓿、毛竹中的研究结果相同，干旱胁迫下地上和地下部分的生物量减少，阻碍根系对水分养分的吸收^[22-23]。

对于干旱胁迫对叶绿素含量变化的影响，有相

当一部分研究发现干旱胁迫下叶绿体色素含量降低，干旱抑制光合色素的生成，甚至在重度干旱下色素会分解^[24-25]，但也有部分研究证实在干旱胁迫下叶绿素含量不降反升^[5,26]。本研究中干旱胁迫下铁皮石斛光合色素含量，随着基质水分的减少而增加，目前关于水分胁迫对叶绿素含量的影响机制尚不清楚，但本现象的出现可能是水分胁迫减弱了植物光合作用，植物通过提高叶绿素含量来维持光合速率^[27]，这种现象在耐旱性强的植物中较为常见，保持高叶绿素含量能够维持生长速率，也有可能是干旱胁迫后产生应激反应，通过增加叶绿素含量来缓解和抵御干旱胁迫对植株的伤害^[28]。

抗氧化酶系统能有效清除多余活性氧(ROS)是植物适应逆境胁迫的主要机制之一，前人研究证实植物在胁迫状态下，保护酶活性一般随胁迫加剧而升高，或表现为先升高后下降的趋势^[5,29]。本研究中 CAT 活性在轻中度干旱胁迫下增强，但在重度干旱胁迫下下降；SOD 活性在干旱胁迫下均增加，在中度干旱胁迫下达到峰值，证明铁皮石斛通过增加 CAT、SOD 活性来清除体内活性氧，以此适应干旱；而 POD 活性则在干旱胁迫下减少，或许是由于胁迫时间较长，使保护酶失活，因此其活性降至对照水平以下。

前人多项研究曾表明，干旱胁迫会引起生理生化物质的增加来增强抗逆性，如增加脯氨酸、可溶性糖、可溶性蛋白等渗透调节物质的含量^[30]，在甜高粱幼苗中渗透调节物质含量的增加是其响应干旱胁迫的重要表现^[31]。本研究中可溶性糖含量在干旱胁迫下均增加，且各处理间差异显著；可溶性蛋白含量仅在中度干旱胁迫下减少，在轻度及重度胁迫下均增多；脯氨酸含量在轻度、中度干旱胁迫下减少，当水分减少至重度胁迫后含量增加，证明铁皮石斛具有抵抗干旱胁迫的能力，且在重度干旱胁迫下较为明显。丙二醛作为膜脂过氧化的产物，会对细胞膜造成损坏，其含量反映膜脂过氧化的受损程度^[32]。本研究中不同干旱胁迫下的 MDA 含量与对照相比无显著差异，没有明显增多，表明铁皮石斛对干旱胁迫具有较强的抵御能力，能够将 MDA 含量控制在较低的范围从而不对细胞膜造成影响，这和在藜蕾草、抗旱型结缕草、谷子中的研究结果相同^[33-35]。

对于药用植物而言，其活性成分的含量比较重要，研究发现胁迫能够促进植物次级代谢产物的增

加,有利于药材品质的提高,这一点在党参^[36]、紫苏^[6]、银柴胡^[37]等药材中均得到了验证。前人的研究中发现总酚和总黄酮是其重要的次生代谢产物,总酚可以提高植物对干旱的耐受性,而总黄酮的抗氧化能力会缓解植物细胞的膜脂过氧化情况^[38]。本研究中,茎叶多糖、总黄酮、总酚含量整体在干旱胁迫下增加,茎总氨基酸含量在干旱胁迫下整体增多。由此可以看出,铁皮石斛在经受干旱胁迫后,其多糖、总黄酮、总酚含量整体均上升,在抵御干旱的同时还提升了药材的品质,因此在栽培中可以进行适度的干旱胁迫来提升药材的品质含量,且随外界环境而改变其水分含量。

4 结论

综上所述,干旱胁迫对植物的影响是一个复杂的过程,对于铁皮石斛而言,通过增加叶绿素含量、渗透调节物质、次生代谢产物和抗氧化酶活性来抵御干旱胁迫,同时抑制丙二醛的过度形成来保护细胞膜维持正常生理活动。通过对各指标的分析,发现轻度胁迫与对照间差异不显著,而有些指标在重度干旱下达到峰值(可溶性糖、可溶性蛋白、多糖、总黄酮含量等),因此在实际生产中可以动态化控制栽培铁皮石斛的水分含量来提高其品质,平时可控制在轻度干旱水平,采收前可进行适度的干旱来提升药用品质。

参考文献:

- [1]张雪琴,赵庭梅,刘静,等. 石斛化学成分及药理作用研究进展[J]. 中草药,2018,49(13):3174-3182.
- [2]李泽生,李桂林,白燕冰,等. 铁皮石斛仿野生栽培技术规程[J]. 中国热带农业,2017(5):62-67.
- [3]杨红旗,许兰杰,李磊,等. 药用石斛仿野生栽培关键技术[J]. 林业科技通讯,2022(6):91-94.
- [4]Chiappero J, Cappellari L, Alderete L, et al. Plant growth promoting rhizobacteria improve the antioxidant status in *Mentha piperita* grown under drought stress leading to an enhancement of plant growth and total phenolic content[J]. Industrial Crops and Products,2019,139:111553.
- [5]侯舒婷,张倩,刘思岑,等. 黄金香柳对水分胁迫的生长与生理响应[J]. 西北植物学报,2014,34(12):2491-2499.
- [6]易家宁,王康才,张琪琦,等. 干旱胁迫对紫苏生长及品质的影响[J]. 核农学报,2020,34(6):1320-1326.
- [7]斯金平,王琦,刘仲健,等. 铁皮石斛产业化关键科学与技术的突破[J]. 中国中药杂志,2017,42(12):2223-2227.
- [8]严静,蔡易熹,陈燕兰,等. 铁皮石斛茎、叶、花的活性成分及综合利用研究进展[J]. 食品与发酵工业,2021,47(17):299-306.
- [9]徐小蓉,何小红,乙引. 钙离子对干旱胁迫下铁皮石斛愈伤组织保护酶系统的影响[J]. 分子植物育种,2019,17(11):3709-3716.
- [10]邹晖,林江波,戴艺民,等. 干旱胁迫下内生真菌对铁皮石斛抗旱性的影响[J]. 北方园艺,2020(6):119-125.
- [11]魏明,童秦怡,柴瑞娟,等. 兰科菌根真菌对干旱胁迫下铁皮石斛生长和抗氧化能力及相关基因表达的影响[J]. 西北植物学报,2018,38(10):1905-1912.
- [12]徐小蓉,张宇斌,张习敏,等. 钙离子对干旱胁迫下铁皮石斛愈伤组织可溶性蛋白表达的影响[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版),2019,37(2):83-86,92.
- [13]巫晓璐. 干旱胁迫与复水对细茎石斛生理及次生代谢产物的影响[D]. 雅安:四川农业大学,2017:9-10.
- [14]邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,2000:72-73.
- [15]李慧杰,齐家兴,单冬冬,等. 转 AAPI 基因玉米游离氨基酸与可溶性蛋白质含量变化关系的研究[J]. 玉米科学,2017,25(1):39-44.
- [16]蔡永萍. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业大学出版社,2014:67-70.
- [17]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,2020:295.
- [18]吴建国,林柳悦,吴岩斌,等. 5种不同种质来源铁皮石斛茎含水量、总黄酮及多糖含量分析[J]. 福建中医药,2019,50(2):43-45.
- [19]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.
- [20]韩姝亭,王婉馨,袁国强,等. 干燥方式对铁皮石斛品质的影响[J]. 食品科学,2019,40(3):142-148.
- [21]王斌,张腾霄,宋相周,等. 不同产地板蓝根中多糖及总氨基酸含量的分析比较[J]. 南方农业学报,2014,45(1):23-27.
- [22]Pirnajmedin F, Majidi M M, Gheysari M. Root and physiological characteristics associated with drought tolerance in Iranian tall fescue[J]. Euphytica,2015,202(1):141-155.
- [23]高歌,李正才,葛晓改,等. 施氮对干旱胁迫下毛竹幼苗生物量和根系形态的影响[J]. 生态学杂志,2022,41(5):858-864.
- [24]李洁,张小宁,晋凡生,等. 普通菜豆种质资源苗期抗旱性综合评价[J]. 核农学报,2022,36(8):1516-1529.
- [25]魏晓凯,景延秋,何信弦,等. 外源亚精胺对烤烟幼苗干旱胁迫的缓解效应研究[J]. 作物杂志,2022(3):143-148.
- [26]张丽霞,郭晓彦,史鹏飞,等. 旺长期水分胁迫对红麻叶片中叶绿素和胡萝卜素含量的影响[J]. 中国麻业科学,2021,43(2):80-87.
- [27]张家琦,郑冬梅,朱凯. 干旱胁迫对沙米叶片结构性状与光合色素含量的影响[J]. 林业资源管理,2022(2):157-163.
- [28]弓萌萌,张瑞禹,刘洋,等. 干旱胁迫对红树莓幼苗生长及根系酶活性变化的影响[J]. 经济林研究,2022,40(2):232-240.
- [29]王丹丹,王鹏,韩智阳,等. 干旱胁迫对赤芍生理特性影响及相关基因的克隆表达[J]. 干旱地区农业研究,2022,40(5):71-80.

李辉平, 骆昕, 马林, 等. 草菇栽培过程中培养料养分和微生物群落结构的动态特征[J]. 江苏农业科学, 2023, 51(13): 149-157.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.13.023

草菇栽培过程中培养料养分和微生物群落结构的动态特征

李辉平¹, 骆昕¹, 马林¹, 姜雅², 王琳³, 杨华平², 曲绍轩¹

(1. 江苏省农业科学院蔬菜研究所/江苏省高效园艺作物遗传改良重点实验室, 江苏南京 210014;

2. 江苏江南生物科技有限公司, 江苏丹阳 212364; 3. 江苏省丹阳市园艺技术指导站, 江苏丹阳 212300)

摘要:为研究草菇生产过程中不同阶段培养料中的养分和微生物群落结构组成的变化特征,以二次发酵结束后、发菌期和出菇期等 3 个不同栽培阶段培养料为研究对象,测定培养料中有机质、全氮、全磷、全钾、有效磷、速效钾、水解性氮含量和 pH 值。同时,基于 16S 和 18S rDNA 序列研究同批次的培养料在 3 个不同栽培阶段的细菌和真菌等生物群落的组成时空动态特征。在此基础上,还对比了同批次和非同批次未正常结实培养料与正常结实培养料的生物群落差异特征,以揭示培养料养分含量和生物群落中优势种群组成与草菇结实之间的关系。结果表明,二次发酵后的培养料中有机质、全氮、水解性氮、全钾和速效钾养分含量以及 pH 值在发菌期和出菇期均明显上升,而全磷和有效磷含量在发菌期显著上升后在出菇期下降。与正常结实的培养料相比,同批次未正常结实草菇培养料的全氮、水解性氮、全磷、全钾和速效钾养分含量均存在显著性差异;生物群落 α 多样性指数表明,培养料中真核生物群落的 Chao1、Ace 指数随着草菇的定植、生长和子实体形成而下降,细菌群落的 Chao1、Ace、香农指数呈现一直增加的趋势;发酵料随着草菇生长发育其生物群落在门水平上优势菌群组成和相对丰度差异较大,厚壁菌门、放线菌门、子囊菌门、毛霉菌门是二次发酵后培养料的优势菌群,草菇菌丝定植后变形菌门、担子菌门和褐藻门的相对丰度提高;不能结实培养料与正常结实培养料的生物菌落结构存在显著差异,其优势菌群的相对丰度下降以及可能缺少出菇期特有的微生物菌群是造成出菇异常的重要因素。本研究结果对揭示草菇出菇异常的形成机制具有一定的参考价值。

关键词:发酵料;出菇异常;群落结构;聚类分析;多样性分析

中图分类号:S646.1⁺30.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2023)13-0149-09

草菇 (*Volvariella volvacea*) 是世界重要的可栽培

草腐食用菌之一,以作物秸秆(如稻草、麦秆、玉米秸秆等)发酵后的腐殖质作为主要营养来源^[1]。自然分布于热带、亚热带地区,是一种高温型食用菌,其人工栽培最早起源于我国,因此又被称为“中国蘑菇”,在我国和东南亚地区栽培广泛,我国是全球最大的草菇生产国^[2-3]。

草菇的栽培方式以培养料经一次发酵或二次

收稿日期:2023-01-18

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号:CX(21)2021]。

作者简介:李辉平(1982—),男,江苏丹阳人,硕士,副研究员,主要从事食用菌遗传育种与高效栽培研究。E-mail:lhq211@163.com。

通信作者:曲绍轩,博士,研究员,主要从事食用菌遗传与病虫害防控研究。E-mail:quxs@jaas.ac.cn。

[30]何风,刘攀峰,王璐,等. 干旱胁迫及复水对杜仲苗生理特性的影响[J]. 植物生理学报,2021,57(3):661-671.

[31]王志恒,赵延蓉,黄思麒,等. 外源海藻糖影响甜高粱幼苗抗旱性的生理生化机制[J]. 植物生理学报,2022,58(4):654-666.

[32]Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges[J]. Analytical Biochemistry, 2017,524:13-30.

[33]陈意兰,刘东明,王俊,等. 干旱胁迫下藜雷草的生理响应[J/OL]. 热带亚热带植物学报:1-8. [2023-01-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1374.Q.20220829.1139.002.html>

[34]汪毅,郭海林,宗俊勤,等. 干旱胁迫及复水条件下 2 种抗旱

性不同结缕草种质的生长和生理响应[J]. 江苏农业科学, 2022,50(9):159-168.

[35]于国红,刘朋程,郝洪波,等. 不同基因型谷子对干旱胁迫的调控机制[J]. 植物营养与肥料学报,2022,28(1):157-167.

[36]刘付松,张开弦,姚秋阳,等. 干旱后复水对党参农艺性状、生理生化及代表组分的影响[J]. 中国药理学杂志,2022,57(13):1081-1088.

[37]周丽,王永明,周达,等. 干旱胁迫对银柴胡药材活性成分含量的影响研究[J]. 时珍国医国药,2015,26(6):1463-1465.

[38]李捷,崔永涛,柏延文,等. 两种枸杞对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[J]. 甘肃农业大学学报,2019,54(5):79-87,99.