

铁皮石斛历史沿革及品质形成研究进展*

郑亚倩¹, 曾慧婷², 余 灵², 王小青², 虞金宝^{2**}

(1. 江西中医药大学药学院 南昌 330004; 2. 江西省中医药研究院中药所 南昌 330000)

摘要:铁皮石斛素来享有“中华九大仙草之首”的美名,同时也是珍稀濒危物种之一。古今典籍所载“石斛”为石斛属植物的统称,铁皮石斛一词始见于民国,于2010年从《中国药典》“石斛”项中单列出来。铁皮石斛产地在古今典籍记载颇多,安徽、浙江、广东、江西、云南、四川等地均可作为其产区。关于其品质的评价,历代本草所载“生石上”“色金”“短而中实或细实”“茎小有节”的优质“石斛”应指“铁皮石斛”与“霍山石斛”。现代研究表明,光照、温度、湿度、内生真菌、酶和基因等为影响铁皮石斛中多糖、总生物碱、总黄酮等活性成分合成积累的主要因素。本文拟从铁皮石斛的本草考证、产地沿革、品质评价及影响其品质形成的因素等方面进行综述,以期优化铁皮石斛现代栽培种植模式及提升铁皮石斛质量提供重要参考。

关键词:铁皮石斛 历史沿革 活性成分 影响因素

doi: 10.11842/wst.20230130001 中图分类号: R282 文献标识码: A

铁皮石斛为兰科石斛属植物铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)的干燥茎,是我国传统名贵药材与食材,同时也是《中国植物红皮书》收录的保护物种和国家重点二级保护濒危植物,具有益胃生津、滋阴清热的功效^[1-2]。铁皮石斛由于野生资源存在种子萌发率低、繁殖力弱、生长缓慢等问题,且常生长于温暖湿润的树木或崖壁上,遇自然灾害死亡率高,生长环境易受人类活动破坏,因此其野生资源剧减,甚至濒临灭绝。近年来随着生物技术的发展,组织培养和人工栽培技术广泛用于铁皮石斛育苗和种植,极大地解决了种苗稀缺和成活率低的难题^[3]。目前,市场上铁皮石斛药材多源自崖壁仿野生种植、挂树附生和大棚栽培等人工栽培所得,但与此同时,栽培品种的不良莠不齐、不同规格混用、评价体系不健全等现象也导致其质量参差不齐,严重影响了铁皮石斛产品的开发和利用。

中药材品质是一个综合概念,外观性状是最简单、快速鉴别药材质量的方法,而活性成分作为药材发挥疗效的物质基础,是其质量评价的内在因素^[4]。“道地药材”是古代人们鉴别药材品质的主要依据,即指经长期中医临床验证,产自特定地域,品质好、疗效佳、质量稳定,是公认的优质中药材。现代对药材质量的鉴别则是已深入到分子水平,然而,次生代谢产物的合成和积累非常复杂,受多种因素影响,包括内部发育遗传回路(调节基因、酶)和外部环境因素(光照、温度、水、矿物元素等)^[5]。目前,铁皮石斛的应用已十分广泛,市场上不同人工栽培模式所得的铁皮石斛产生的经济效益相差甚大,存在以次充好、掺伪掺杂和混用的情况,不利于市场优质优价。基于以上背景,本文拟对铁皮石斛历史沿革和影响其品质形成的因素进行综述,以期优化铁皮石斛现代栽培种植模式及提升铁皮石斛品质提供重要参考。

收稿日期:2023-01-30

修回日期:2023-06-04

* 江西省重大科技研发专项(20203ABC28W019):中药材大品种铁皮石斛产业链关键技术研究及应用,负责人:虞金宝;江西省中医药标准化研究项目(2021A18):基于中医药理论的铁皮石斛鲜品规格等级划分标准化研究,负责人:余灵;江西省卫健委科教处课题(202311189):“江西道地药材考证研究-以‘赣十味’‘赣食十味’为例”,负责人:曾慧婷;现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-21)。

** 通讯作者:虞金宝,研究员,主要研究方向:中药资源。

1 历史沿革

1.1 本草石斛

“石斛”首见于《神农本草经》：“味甘，平……久服厚肠胃，轻身延年”，表明石斛在东汉前就已作为药材出现^[6]。《本草经集注》载：“今用石斛出始兴，生石上，细实，桑灰汤沃之色如金，形似蚱蜢髀者为佳”“生栎树上者，名木斛……至虚长”，不仅首次指出了石斛的生长环境和性状，还提出了有别于石斛的木斛^[7]。《本草纲目》载：“石斛短而中实；木斛长而中虚”，进一步指出两者区别^[8]。《本草蒙筌》载：“石斛味甘，气平……茎小有节，色黄类金”^[9]。《本草征要》中载：“形长而细且坚，味甘不苦为真”，推测典籍所载石斛原植物可能为味甘、富含多糖的铁皮石斛、霍山石斛一类，而非生物碱含量高而味苦的金钗石斛^[10-11]。张山雷^[12]在《本草正义》中记载：“必以皮色深绿，质地坚实，生嚼之脂膏粘舌，味厚微甘者为上品，名铁皮鲜斛”，首次明确提出铁皮石斛之称。1963年版《中国药典》记载石斛为“石斛属若干种”；1977年、1985年、1990年、1995年、2000年共五版《中国药典》均记载石斛为“石斛属的环草石斛、马鞭石斛、黄草石斛、铁皮石斛、金钗石斛及其近似种”；2005年版《中国药典》记载石斛为“兰科石斛属的金钗石斛、铁皮石斛或马鞭石斛及其近似种石斛”；2010年版《中国药典》则记载石斛为“金钗石斛、鼓槌石斛或流苏石斛及其同属植物近似种”，同时也是首次把铁皮石斛单列成项^[13]。

在对本草石斛的考证过程中发现，在很长一段时间内古今典籍所载“石斛”是多种石斛属植物的统称，而铁皮石斛一词是由民国张山雷^[12]在《本草正义》中首次提出，从此铁皮石斛作为区别与其它石斛属的植物单独存在。从《神农本草经》到2005年版的《中国药典》，在近2000年的时间里，铁皮石斛由于药源稀少，影响有限，所以在主流本草经典中一直是归类在“石斛”条目下。近代组织培养技术已广泛应用于铁皮石斛种苗培育，在解决了铁皮石斛资源稀缺的同时，也导致市场上以次充好、鱼目混珠的现象频出，国家药典委员会亟需制定新的规范以保障铁皮石斛产业健康发展和消费者权益，故2010年版《中国药典》把铁皮石斛单列成项。

1.2 产地沿革

陶弘景在《名医别录》和《本草经集注》中记载：“石斛生六安山谷水旁石上”“今用石斛出始兴……近

道亦有，次于宣城者”，表明南北朝时期药用石斛来自六安、宣城和始兴，且此处所产石斛主要为霍山石斛和铁皮石斛^[7,14-15]。《新修本草》记载：“始安亦产，今荆襄及江左又有二种”，表明在当时湖北、贵州地区有石斛产区分布^[16]。《千金翼方》载：“淮南道：寿州、光州、蕲州、黄州、舒州并出生石斛。江南西道：江州、潭州出生石斛。岭南道：广州、韶州、春州、封州、泷州出石斛”，描述石斛的主要产区包括光州、泸州、寿州等大别山区，江州、潭州等江南地区以及广州、春州、韶州、泷州等岭南地区^[17]。《本草图经》记载：“今荆州、光州、寿州、庐州、江州、温州、台州亦有之，以广南者为佳”，表明到宋代石斛产区已扩大到湖南、湖北、安徽、浙江、云南、广西等地^[18]。《通典》载：“江州：葛10匹、生石斛10斤”；《宋史·地理志》载：“江州贡云母、石斛”，表明在唐宋时期的土贡制度中，石斛是作为优质产品和江州地方代表性的物产上贡朝廷^[19-20]。《本草纲目》记载：“颂曰：今荆州、光州、寿州、庐州、江州、温州、台州亦有之”“石斛兰，处处有之，以蜀中为胜”^[8]。近代谢宗万在《中药材品种论述》中记载：“附生树上”，分布于江西、广西、广东、贵州、云南等地^[21]。《中国药材学》记载：铁皮石斛分布于浙江、江西、广西、贵州、云南，附生于树上或岩石上^[22]。

综合历代古籍记载，石斛产地众多并不是集中在某一特定地区，主要包括安徽、浙江、广东、江西、云南、四川等地，与近代典籍和现今铁皮石斛的种植产区分布基本一致，故推测以上地区均可作为现代种植铁皮石斛的产区。各本草典籍所载石斛产区见表1。

1.3 品质评价

古代医家对石斛品质尤为重视，其品质评价在各典籍中多有记载，且多集中在颜色、产地、性味上。《本草经集注》《新修本草》《证类本草》记载：“生石上，细实，桑灰汤沃之，色如金，形似蚱蜢髀者为佳”^[7,16,23]。《本草蒙筌》载：“石斛味甘，气平……茎小有节，色黄类金”^[9]。《本草正义》记载：“必以皮色深绿，质地坚实，生嚼之脂膏粘舌，味厚微甘者为上品，名铁皮鲜斛”^[12]。《本草雅乘半偈》载：“近以温、台者为贵。谓其形似金钗……此即蜀中所产。入药最良”^[24]。胡汝宁在《雁山志》载：“金钗石斛，性寒，生麦（麦）地中，戚（岁）取入贡”^[25]。蒋希召在《雁荡山志》曰：“价贵时，每两售洋一元，视药铺中所售为贱也”^[26]。雁山即浙江温州乐清雁荡山，且调查可得古时金钗石斛实为现代铁皮石斛加

表1 本草典籍中石斛产地记载

朝代	典籍	产地描述	备注
南北朝	《本草经集注》 ^[7]	今用石斛出始兴,生石上……近道亦有,次于宣城者。	始兴:广东韶关;宣城:安徽宣城。
唐代	《新修本草》 ^[16]	始安亦产,今荆襄及江左又有二种。	始安:贵州;荆、襄:湖北。
	《千金翼方》 ^[17]	淮南道:寿州、光州、蕲州、黄州、舒州并出生石斛。江南西道:江州、潭州出生石斛。岭南道:广州、韶州、春州、封州、洸州出生石斛。	寿州:安徽寿县、六安、霍山、霍邱等地;光州:河南横川;蕲州:湖北蕲春;黄州:湖北黄冈;舒州:安徽潜山;江州:江西九江;潭州:湖南长沙;广州:今广州;韶州:广东韶关;春州:广东阳春;封州:广东封开;洸州:广东罗定。
宋代	《本草图经》 ^[18]	今荆州、光州、寿州、庐州、江州、温州、台州亦有之,以广南者为佳。	荆州:湖北北部和湖北东南一带;光州:河南横川;寿州:安徽寿县、六安、霍山、霍邱等地;庐州:安徽合肥;江州:江西九江;温州:浙江温州、永嘉、乐清、瑞安等地;台州:浙江临海;广南:云南和广西接壤一带。
明代	《本草纲目》 ^[8]	今荆州、光州、寿州、庐州、江州、温州、台州亦有之,石斛兰,处处有之,以蜀中为胜。	荆州、光州、寿州、庐州、江州、温州、台州:同上 蜀中:四川。
清代	《本草从新》 ^[27]	石斛味甘者良,温州最上,广西略次,广东最下。	浙江温州、永嘉、乐清、瑞安等地、广西、广东。
近代	《中药材品种论述》 ^[21]	附生树上。分布于江西、广西、广东、贵州、云南等地。	-
	《中国药理学》 ^[22]	铁皮石斛分布于浙江、江西、广西、贵州、云南。附生于树上或岩石上。	-

工而成的铁皮枫斗,即表明当时浙江雁荡山所产铁皮石斛品质佳,深受皇室青睐^[15]。《本草从新》载:“石斛味甘者良,温州最上,广西略次,广东最下”,表明当时石斛品质已有等级划分^[27]。

综合历代本草典籍“生石上”“色金”“短而中实或细实”“茎小有节”等生长环境和性状的描述与现代本草对铁皮石斛的描述一致,可初步说明本草所述石斛中包括铁皮石斛。本草记载“石斛生六安”“温、台为贵”,结合现代资源调查,安徽仅产石斛、细茎石斛、霍山石斛和铁皮石斛,浙江仅产细茎石斛和铁皮石斛,且石斛“味甘”,可排除味苦的石斛和细茎石斛,故历代本草所指优质“石斛”应指“铁皮石斛”和“霍山石斛”。此外,根据古代及现代本草所载“江州(今江西九江)贡云母、石斛”“分布于江西、广西、广东、贵州、云南等地”等描述,可推测江西自古以来就是铁皮石斛(传统本草中的优质石斛)的主要产区之一。

2 铁皮石斛品质形成影响因素

铁皮石斛中含有多糖类、生物碱类、联苜类、黄酮类、氨基酸、微量元素等多种化学成分,其中多糖是主要的活性成分,具有免疫调节、抗癌、抗氧化、保护胃肠道等药理作用^[28]。研究表明铁皮石斛多糖主要是通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、激活细胞外调

节蛋白激酶(ERK1/2)和核因子- κ B(NF- κ B),促进细胞因子分泌和巨噬细胞吞噬,进而发挥免疫调节作用^[29-30]。另有研究显示,铁皮石斛多糖能抑制细胞生长和活性氧(Reactive oxygen species, ROS),提高凋亡抑制基因(Bax)/凋亡诱导基因(Bcl-2)的比值,从而诱导人肝癌细胞(HepG-2)凋亡^[31]。此外,铁皮石斛多糖能抑制NLRP3炎症小体和 β -arrestin1信号通路,从而达到减轻炎症损伤的目的,还能通过下调Bax/Bcl-2的比值,减少粘蛋白损失,改善胃黏膜损伤,实现对胃肠道的保护作用,这也与铁皮石斛传统的益胃、滋阴功效相符^[32-33]。除多糖外,铁皮石斛中的黄酮类、生物碱类等成分同样具有抗氧化、提高胃肠道及心血管功能等作用。因而探究影响这些代谢产物合成积累的因素对于优化铁皮石斛现代栽培种植模式,提升其质量,有重要意义。铁皮石斛中常见受环境影响的代谢产物见表2。

表2 铁皮石斛代谢产物及其环境影响因子

代谢产物	名称	环境因子
初生代谢产物	多糖	光照强度 ^[34] 、光质 ^[35] 、湿度 ^[36] 、温度 ^[36]
	蛋白质	光质 ^[37]
次生代谢产物	叶绿素	光照强度 ^[38] 、光质 ^[35,38] 、温度 ^[39]
	黄酮类	光强 ^[36] 、湿度 ^[36]
	生物碱类	光质 ^[40] 、温度 ^[36] 、湿度 ^[36]

2.1 铁皮石斛品质形成的外界因素

铁皮石斛适宜生长在温暖、湿润的环境下,为兼性景天酸代谢(CAM)植物,光合途径会随环境变化在CAM和C3途径之间发生转化,且在恶劣的自然条件下多处于CAM途径。在CAM状态下铁皮石斛光能转化率低,光合速率低,光合产物积累效率低,生长缓慢^[41]。根据以上铁皮石斛生长特性可知光照、温度、湿度等是影响其品质的主要环境因子。

2.1.1 光照

铁皮石斛是喜半阴半阳环境的植物,在自然界中多附生在无法接受阳光直射的崖壁上,吸收经过反射和散反射的光照。光照是影响铁皮石斛光合色素和活性成分积累的重要因子,主要是通过调控代谢过程中酶的活性进而影响铁皮石斛品质。

光强是通过调控叶绿素合成中关键酶,从而影响光合产物(多糖)的合成积累。作为光合作用必需物质的叶绿素(Chl),其生物合成始于L-谷氨酰-tRNA,经14步酶促反应形成叶绿素a(Chl a),叶绿素酸酯a(Chlide a)再经叶绿素酸酯a加氧酶(CAO)和叶绿素合酶(CHLG)形成叶绿素b(Chl b)^[42]。王峰等^[38]研究发现,植物中早期光诱导蛋白ELIPs在强光下会迅速增加,进而抑制Chl合成中的关键酶-谷氨酰-tRNA还原酶(GluTR)及编码Mg-螯合酶的CHLH和CHLI的活性,减少Chl的生物合成;且强光会抑制线粒体的抗氧呼吸,导致NADPH/NADP⁺的比值增加,促进NADP⁺-铁氧还蛋白(FNR)与叶绿体膜内的易位子62(Tic62)发生蛋白质相互作用,阻碍叶绿体蛋白、Chl合成酶(如GluTR、PBGD、PPOX等)和香叶酰还原酶GGR向膜内运输,导致Chl的合成过程受阻,含量减少。鲍顺淑等^[34]在采用硫酸-苯酚法测定不同光照强度下铁皮石斛组培苗中多糖含量时发现,在一定范围内多糖含量会随光照强度的增强先增加后减少,在光强为92 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 时,达到峰值,若超过92 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 会出现光抑制现象,进而推测低光照是铁皮石斛糖类成分积累的适宜因子。

光质能通过光受体和钙信号介导光信号的转导过程,调控相关酶的活性,进而影响光合色素和多糖类成分的合成积累。研究表明,红光下,光敏色素B(phyB)能正向调控Chl的生物合成,蓝光下,隐花色素(CRY)及向光色素(PHOT)能介导蓝光,从而诱导Chl合酶基因CLH2的表达,促进Chl的生物合成^[38]。Lei等^[43]研

究发现以红光(R):蓝光(B)=1:3处理铁皮石斛原球茎时,其生物量和多糖积累均会增加,并且发现该现象受钙信号介导。Lei等^[38]推测该机制有两种可能:①R:B=1:3时增强了Ca²⁺-钙调素(CaM)信号对光合结构的控制,提高了Chl含量和光合特性。通过增加CaM含量和Ca²⁺-ATP酶活性,提高光合效率和蔗糖磷酸酶(PPS)的活性,从而使生物量和蔗糖积累量增加。②R:B=1:3时增强了糖代谢过程中Ca²⁺-CaM信号的传导,提高了蔗糖合成酶(SS)的活性,促进蔗糖分解为果糖和葡萄糖,为多糖合成提供了丰富的前体物质,从而增加了多糖的含量。此外蓝光可能会促进生物碱合成酶形成并提高其活性,以及通过提高植物呼吸速率(呼吸产物能为蛋白质类合成提供碳架)和硝酸还原酶(能为蛋白质类合成提供可同化态的氮源)活性,促进生物碱和蛋白质的合成^[37,40]。高亭亭等^[35]采用硫酸-苯酚法及酸性染料比色法测定不同光质对铁皮石斛组培苗活性成分积累的影响时发现,红蓝混光有利于Chl和多糖的合成积累,蓝光有利于生物碱的合成积累,表明红光、蓝光是铁皮石斛活性成分积累的适宜因子。

光周期主要是通过调节铁皮石斛光合途径的转换,从而影响铁皮石斛的生长发育。Cheng等^[44]研究发现光/暗循环对铁皮石斛光合途径转换和CO₂吸收有影响,在正常的12 h/12 h光/暗循环下,铁皮石斛是CAM和C3途径共存,在4 h/4 h光/暗循环时,铁皮石斛的净CO₂交换模式和气孔行为会从CAM转换为类似C3,使净光合速率显著提高,有机物积累增加。Cheng等^[44]推测这可能与铁皮石斛由CAM转换为类似C3途径后,气孔导度增加,胞间CO₂浓度降低有关,因此种植铁皮石斛需注意适当延长光/暗循环周期。

2.1.2 温度和湿度

铁皮石斛是喜温暖、湿润环境的气生根植物,主要是通过吸收空气中的水分和养料获得营养生长,其适宜生长的温度为18-25℃、昼夜温差为10-15℃、湿度为60%-90%^[36]。此外,铁皮石斛是CAM植物,因此在面对寒冷、干旱等自然灾害时有一定的抵抗非生物胁迫的能力。李东宾等^[39]利用目标起始密码子多态性分子标记(SCoT)法筛选出低温胁迫下铁皮石斛相关抗寒基因,获得的基因片段包括膜相关蛋白、渗透调节蛋白、CBF转录因子、抗逆性蛋白和未知序列。阮凌暄等^[45]在研究干旱胁迫和胁迫时间对铁皮石斛的影响时发现,在干旱胁迫下铁皮石斛叶片中会积累大量

的ROS,超过一定范围会对酶促防御系统造成破坏,导致超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)等保护酶丧失有效清除超氧阴离子 O_2^- 、 OH^- 等自由基的能力,使膜系统遭到破坏。此外,干旱胁迫还会破坏叶绿体中的电子传输链,导致叶绿素含量和光合活性下降,同时还会增强叶绿素酶的活性加速其分解。然而环境胁迫也会诱导药用植物产生次生代谢产物,如干旱和高温会促进薄荷、甘草、黄芪等药用植物中黄酮的积累^[46-50]。唐丽^[36]在采用正交试验探究光照、温度、湿度和养分对铁皮石斛生长发育及主要活性成分含量的影响时发现,多糖含量受光照、温度、湿度显著影响,黄酮含量受光照和湿度显著影响,生物碱含量受温度和湿度显著影响,且低光照有利于Chl a和多糖积累,低湿度下黄酮和生物碱含量较高,适中温度有利于多糖积累、高温有利于Chl b和生物碱积累。因此在实际栽培中需同时考虑胁迫的协同效应和时间效应,平衡植物“产量”与“质量”的关系。

2.1.3 内生真菌

内生真菌主要是通过协助铁皮石斛抵抗生物胁迫和调节代谢过程中相关基因的表达,影响其活性成分的合成和积累。方余慧等^[51]研究发现,内生真菌不仅能协助铁皮石斛适应生物胁迫,抵抗病虫害,还能促进铁皮石斛生长,增加其药用成分的合成与累积。沈王琴^[52]研究发现铁皮石斛是通过萜类合成途径—甲羟戊酸途径(MVA)和甲基赤藓-4-磷酸途径(MEP)合成生物碱。王进等^[53]在采用分光光度法测定铁皮石斛幼苗中多糖和生物碱含量和用荧光定量PCR法检测尿苷二磷酸葡萄糖焦磷酸化酶(UGPase)、3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGR)、法尼基焦磷酸合酶(FPS)基因表达变化时发现,在一定程度上,内生真菌GXRz2、GXRz3和GXRz10均能促进铁皮石斛多糖和生物碱积累,其中内生真菌GXRz3和GXRz10能显著提高UGPase、HMGR和FPS基因表达,并推测UGPase、FPS可能分别是铁皮石斛多糖和生物碱合成途径的关键酶,能通过提高表达量,促进铁皮石斛多糖和生物碱的合成积累。

2.1.4 其它

除上述光照、温湿度、内生真菌等主要因素外,铁皮石斛的品质形成还受种植模式、基质、肥料施用等影响。研究显示仿野生栽培的铁皮石斛中多糖和生

物碱含量均高于大棚种植;大棚种植时基质应选用松树皮和碎瓦片、珍珠岩等混合使用;附生树种只是起支撑作用,使铁皮石斛生长量和多糖含量产生差异的根本原因是附生树种对光照调控的生物特性,且以树冠茂盛、透光率均匀、树皮疏松不易脱落、含水量高常伴苔藓植物生长的阔叶树种有利于铁皮石斛生长;附生在灰岩上的铁皮石斛多糖含量要高于其它岩性;有机肥和化肥配合施用有利于铁皮石斛生长^[54-59]。

2.2 酶和基因对铁皮石斛品质形成的影响

2.2.1 蔗糖代谢酶

蔗糖是植物体内不可或缺的重要物质之一,能调节植物生长发育和抗逆能力,能提供碳源和能量,且能参与多糖的合成过程。严亮^[60]对铁皮石斛进行基因测序,分析后推测蔗糖代谢是铁皮石斛多糖合成途经中的核心环节,蔗糖能转化为单糖,并通过不同的组合形成铁皮石斛多糖。蔗糖合成酶(SS)、蔗糖磷酸合成酶(SPS)和转化酶(Inv)是蔗糖代谢过程中的重要酶,研究显示,SS活性升高时,蔗糖合成效率会随之升高,SPS活性升高时,蔗糖积累量会升高,淀粉积累量会减少。Inv根据pH,可人为的分成酸性转化酶(AI)和中性/碱性转化酶(DoNI),其中DoNI能把蔗糖水解成葡萄糖和果糖,参与多糖的合成过程^[61]。刘博婷等^[62]从铁皮石斛中筛选了4个SS基因,分别为LOC110103989、LOC110110417、LOC11002960和LOC11011733,发现这4个SS基因表达存在明显的组织特异性,其中LOC110110417主要在根中表达,LOC11002960主要在茎、叶中表达,LOC11011733和LOC110103989则是主要在花器官中表达。此外SS能通过两种不同的表达方式,在低温下诱导铁皮石斛多糖合成的代谢过程,并推测SS可以通过调节自身表达量,促进蔗糖代谢,提高多糖合成量。

2.2.2 铁皮石斛多糖合成相关酶和基因

在铁皮石斛中有众多基因会参与多糖代谢过程,如类纤维素合成酶基因(Csl)中的CslA亚家族基因参与甘露聚糖的生物合成;类纤维素合成酶(CsID)参与多糖合成,其中CsID5能够促进铁皮石斛茎生长和多糖合成;UDP-阿拉伯吡喃糖变位酶(UAM)能调控铁皮石斛细胞壁多糖生物合成; β -1,3葡聚糖合成酶(β -1,3-GS)基因、UGPase基因、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)基因和DoNI基因会影响铁皮石斛多糖合成,且多糖含量会随着UGPase基因、 β -1,3-GS基因和DONI基因表达量增加而增加,随着PEPC基因表达量增加而减少^[63-67]。

2.2.3 铁皮石斛生物碱合成相关酶和基因

铁皮石斛中生物碱大多为萜类吲哚生物碱或萜类生物碱,其生物合成均起源于萜类合成途径-甲羟戊酸(MVA)途径和甲基赤藓-4-磷酸途径(MEP),都生成异戊烯基焦磷酸(IPP)及其异构体二甲基烯丙基焦磷酸(DMAPP)的共同前体物质^[52]。萜类吲哚生物碱的生物合成是由上游阶段的吲哚途径(莽草酸途径)生成色胺,类萜途径(甲羟戊酸途径或酮酸/磷酸甘油醛途径)生成裂环马钱子苷,两者在异胡豆苷合成酶的催化下生成生物碱骨架异胡豆苷;下游阶段就是该前体物质经不同的反应合成多种生物碱^[68]。在整个生物碱合成过程中有众多酶和基因参与调控,王晓静等^[69]利用铁皮石斛基因组数据获得了异胡豆苷合成酶(STR)编码序列(DoSTRs),并预测获得了10个STR成员。同时进行qRT-PCR实验,分析DoSTR家族成员在不同组织中的表达,发现DoSTR3、DoSTR7、DoSTR10在铁皮石斛叶中的表达量相对于根、茎较高,推测DoSTR可能参与铁皮石斛生物碱的生物合成。郭淑^[68]通过搜索KEGG数据库找到了吲哚途径关键酶-色氨酸合成酶(TSB)和色氨酸脱羧酶(TDS);类萜途径关键酶-香叶醇-10-脱氢酶(G10H)和裂环马钱子苷合成酶(SCS);合成异胡豆苷关键酶-异胡豆苷合成酶(STR)及其相应的酶基因,同时运用qRT-PCR技术检测上述5个关键酶基因在铁皮石斛茎、叶中的表达情况,发现这5个酶基因的所有独立基因在叶中的表达量均高于茎。萜类合成途径下游阶段是以异戊烯基焦磷酸中间体-法尼基焦磷酸(FPP)、香叶基焦磷酸(GPP)或橙花基焦磷酸(NPP)、香叶基香叶基二磷酸(GGPP)为直接前体,催化生成多种萜类骨架,而萜类合成酶(TPS)正是该阶段的关键酶。沈王琴^[52]采用RACE和PCR技术克隆得到DoSES(属TPSa亚家族,是倍半萜合成酶,能催化FPP形成倍半萜骨架)和DoTPS(属于TPSb亚家族,能催化GPP形成单萜骨架),并在利用qRT-PCR法检测DoSES和DoTPS在铁皮石斛植株茎、叶、花中的表达情况时发现,DoSES在茎中表达量最高,DoTPS在花中的表达量最高,且均高于对照组。研究显示,1-去氧-D-木酮糖-5-磷酸合成酶(DXS)、1-去氧-D-木酮糖-5-磷酸还原异构酶(DXR)、1-羟基-2-甲基-2-(E)-丁烯基-4-焦磷酸还原酶(HDR)是MEP途径中的关键酶,吴秋菊^[70]采用RT-PCR和RACE等技术克隆得到铁皮石斛DoDXS、DoDXR、DoHDR,并通过qRT-

PCR法测定这三者在铁皮石斛根、茎、叶的表达量时发现,DoDXS、DoDXR、DoHDR分别在原球茎、茎和叶中表达量最高。此外,吴秋菊^[70]在利用MVA和MEP途径抑制剂-洛伐他汀和麟胺霉素分别处理铁皮石斛试管苗时发现,麟胺霉素对总生物碱合成的抑制效果强于洛伐他汀,据此推测在铁皮石斛生物碱生物合成中MEP途径起着主导作用。

2.2.4 铁皮石斛黄酮类成分合成相关酶和基因

黄酮类化合物的合成起源于苯丙烷类代谢途径,是以苯丙素为起始底物,苯丙氨酸为共同前体,经一系列相关编码酶和调控基因作用后合成。伊秀娟^[71]利用RACE技术对黄酮类成分合成途径中关键酶查尔酮合成酶(CHS)、黄烷酮-3-加氧酶(F3H)、二氢黄酮醇-4-还原酶(DFR)基因进行克隆,并对其在铁皮石斛不同组织中的表达量进行qRT-PCR分析发现,DcCHS、DcF3H和DcDFR三种基因在铁皮石斛叶中表达量均高于茎,并推测控制铁皮石斛黄酮类成分合成的酶基因在叶中表达量高,并且酶催化而生的产物也是在叶中富集。周春花^[72]对不同产地铁皮石斛进行转录组测序,筛选出苯丙氨酸解氨酶(PAL)、香豆酰辅酶A连接酶(4CL)、查尔酮合成酶(CHS)、查尔酮异构酶(CHI)、类黄酮3'-羟化酶(F3'H)、类黄酮3'5'-羟化酶(F3'5'H)、二氢黄酮醇还原酶(DFR)、黄酮醇合成酶(FLS)等13种调控黄酮类成分合成的相关酶,通过比较这13种酶基因在铁皮石斛中的表达量发现,F3'H的低表达能促进黄酮总量积累,且铁皮石斛中芦丁的合成也受F3'H的调控。

3 小结与讨论

铁皮石斛是我国传统名贵药材与食材,同时也是珍稀濒危品种之一。随着组织培养和人工栽培技术广泛应用于铁皮石斛种植,市场上也衍生出铁皮石斛栽培品种良莠不齐、不同规格混用、以次充好等不良现象,导致铁皮石斛质量参差不齐,严重影响了铁皮石斛产品的开发和利用。面对此种现状,亟须探索影响铁皮石斛品质的因素,优化其现代栽培种植模式,从而提升铁皮石斛质量。本文通过对铁皮石斛的相关文献进行查阅,就铁皮石斛的本草考证、产地沿革、品质评价以及影响其品质形成的因素等方面进行综述,得到了以下一些启示。

“石斛”一词首见于《神农本草经》,有众多文献记载了石斛的生境、性状、真伪优劣等,但其所述石斛是

包括铁皮石斛在内的多种石斛属植物的统称,直到民国铁皮石斛才与其他石斛属植物区分开来。从品质评价和产地沿革研究结果来看,铁皮石斛历来是以色金、味甘者为佳品,且浙江、云南、江西、广东、广西、安徽、四川等地均可作为种植铁皮石斛的产区,其中江西自古以来就是铁皮石斛(传统本草中的优质石斛)的主要产区之一。在当代铁皮石斛种植产区是以浙江、云南为主,其中浙江产铁皮石斛品质纯良,最先实现了铁皮石斛产业化开发利用,而云南是凭借气候条件和地理优势成为了种植铁皮石斛最大的产区。有研究显示江西产铁皮石斛在多糖含量上较浙江和云南种都是处于优势地位,虽然江西铁皮石斛种植产业处于起步阶段,种植面积较小(主要为鹰潭、九江、赣州、上饶、抚州等地),但是江西所产铁皮石斛品质上佳(尤以鹰潭产铁皮石斛品质最佳,且鹰潭为我国铁皮石斛主要的自然分布区之一,野生资源较为丰富),可考虑对江西铁皮石斛加大开发力度,推动其规范化种植及产业化^[73]。另本文还探究了光照、温湿度、内生真菌、酶和基因等因素对铁皮石斛中主要活性成分合

成积累的影响机制,并提出了如下3点建议:一是对野生铁皮石斛进行引种、驯化、繁殖等工作;二是优选种质资源,加大对江西铁皮石斛资源的开发利用,根据适地种植原则,着重在鹰潭地区形成规范化种植;三是进行人工栽培铁皮石斛时,不仅要遵循其生长规律,还要注意对生长环境的控制,如大棚种植时,基质可选用松树皮和泥炭土、菌渣、珍珠岩的混合基质,光照保持在 $92\ \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 左右、选用光质转换膜或LED植物补光灯等实现对光质(红光或红蓝混光)的控制,以及适当延长光周期,并注意控制温度(18–25℃)和湿度(60%–90%);仿野生贴树种植和附石种植时,则是需注意附生树种和基岩的选择,建议选用阔叶树种(樟树、枫香等)以及石灰岩,而肥料则是建议有机肥和化肥配合使用。

本文梳理了本草典籍中铁皮石斛一词的起源,厘清了石斛与铁皮石斛的关联与区分,探究了铁皮石斛的产区变化和品质评价依据,并进一步分析了影响铁皮石斛品质形成的主要因素,以期优化铁皮石斛现代栽培种植模式及提升铁皮石斛质量提供科学依据。

参考文献

- 李晖. 铁皮石斛立体栽培技术研究. 杭州: 浙江农林大学硕士学位论文, 2014.
- 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 中国医药科技出版社, 2020:1088.
- 温明霞, 聂振朋, 林媚, 等. 铁皮石斛组织培养与快速繁殖研究进展. 广西农业科学, 2007, 27(3):227–230.
- 王小青, 何小群, 曾慧婷, 等. 江西铁皮石斛鲜品等级划分标准研究初探. 实用中西医结合临床, 2021, 21(3):154–156.
- Jia Y, Liu J, Xu M Y, et al. Light and potassium improve the quality of *Dendrobium officinale* through optimizing transcriptomic and metabolomic alteration. *Molecules*, 2022, 27(15):4866.
- 神农本草经. 北京: 人民卫生出版社, 1955:32.
- 梁·陶弘景. 本草经集注. 北京: 人民卫生出版社, 1994:208.
- 明·李时珍. 本草纲目. 北京: 人民卫生出版社, 1982:1383.
- 清·陈嘉谟. 本草蒙筌. 北京: 人民卫生出版社, 1988:19–20.
- 李中梓. 本草征要. 北京: 中国中医药出版社, 1999:117.
- 赵菊润, 赵佳琛, 王艺涵, 等. 经典名方中石斛的本草考证. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28(10):215–228.
- 张山雷. 本草正义. 太原: 山西科学技术出版社, 2013:326–327.
- 斯金平, 张媛, 罗毅波, 等. 石斛与铁皮石斛关系的本草考证. 中国中药杂志, 2017, 42(10):2001–2005.
- 梁·陶弘景. 名医别录. 北京: 人民卫生出版社, 1986:12.
- 姜武, 吴志刚, 陶正明. 铁皮石斛的本草考证. 中药材, 2014, 37(4):697–699.
- 唐·苏敬等. 新修本草. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1981:162.
- 唐·孙思邈. 千金翼方. 北京: 人民卫生出版社, 1955:20.
- 宋·苏颂. 本草图经. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1994:93.
- 杜佑. 通典. 北京: 中华书局, 1998:112.
- 祝碧衡. 《宋史·地理志》补正三则. 中国历史地理论丛, 1999, 4:3–5.
- 谢宗万. 中药材品种论述. 上海: 上海科学技术出版社, 1984:210–212.
- 徐国钧. 中国药材学. 北京: 中国医药科技出版社, 1996:118–120.
- 宋·唐慎微. 重修政和经史证类备用本草. 北京: 人民卫生出版社, 1957:164.
- 清·卢之颐. 本草乘雅半偈. 北京: 中国医药科技出版社, 2014:29.
- 朱谏. 雁山志. 台北: 明文书局印行, 1980:169.
- 蒋叔南. 雁荡山志. 北京: 线装书局, 2009:153.
- 清·吴仪洛. 本草从新. 北京: 中医古籍出版社, 2001:99.
- 陶泽鑫, 陆宁妹, 吴晓倩, 等. 石斛的化学成分及药理作用研究进展. 药学研究, 2021, 40(1):44–51.
- Chen W H, Wu J J, Li X F, et al. Isolation, structural properties, bioactivities of polysaccharides from *Dendrobium officinale* Kimura et Migo: A review. *Int J Biol Macromol*, 2021, 184:1000–1013.
- Ma S B, Wu Q, Zhao Z L, et al. Mechanisms of *Dendrobium officinale* polysaccharides in repairing gastric mucosal injuries based on mitogen-

- activated protein kinases (MAPK) signaling pathway. *Bioengineered*, 2022, 13(1):71-82.
- 31 Wei Y, Wang L W, Wang D J, *et al.* Characterization and anti-tumor activity of a polysaccharide isolated from *Dendrobium officinale* grown in the Huoshan County. *Chin Med*, 2018, 13:47.
- 32 Zeng Q, KO C H, Siu W S, *et al.* Polysaccharides of *Dendrobium officinale* Kimura & Migo protect gastric mucosal cell against oxidative damage-induced apoptosis *in vitro* and *in vivo*. *J Ethnopharmacol*, 2017, 208:214-224.
- 33 Liang J, Chen S, Chen J, *et al.* Therapeutic roles of polysaccharides from *Dendrobium Officinale* on colitis and its underlying mechanisms. *Carbohydr Polym*, 2018, 185:159-168.
- 34 鲍顺淑, 贺冬仙, 郭顺星. 铁皮石斛在人工光型密闭式植物工厂的适宜光照强度. *中国农学通报*, 2007, 23(3):469-473.
- 35 高亭亭, 斯金平, 朱玉球, 等. 光质与种质对铁皮石斛种苗生长和有效成分的影响. *中国中药杂志*, 2012, 37(2):198-201.
- 36 唐丽. 不同生境因子组合对铁皮石斛生长发育及药效成分含量的影响. 吉首: 吉首大学硕士学位论文, 2015.
- 37 蔡辉儒. 光质对光合作用的影响. *生物学教学*, 2013, 38(4):56-57.
- 38 王峰, 闫家榕, 陈雪玉, 等. 光调控植物叶绿素生物合成的研究进展. *园艺学报*, 2019, 46(5):975-994.
- 39 阮凌暄, 马骁勇, 林秀莲, 等. 干旱胁迫对铁皮石斛叶片活性氧清除系统与叶绿素荧光特性的影响. *西部林业科学*, 2017, 46(6):103-107.
- 40 李馨芸. 光质对绞股蓝生长、光合作用及次生代谢产物积累的影响. 吉首: 吉首大学硕士学位论文, 2012.
- 41 苏文华, 张光飞. 铁皮石斛叶片光合作用的碳代谢途径. *植物生态学报*, 2003, 27(5):631-637.
- 42 李佳佳, 于旭东, 蔡泽坪, 等. 高等植物叶绿素生物合成研究进展. *分子植物育种*, 2019, 17(18):6013-6019.
- 43 Lei T, Gao S P, Lin X, *et al.* Calcium signalling mediated the regulation of growth and polysaccharide accumulation by light quality in *Dendrobium officinale* protocorms. *Horticulture Environment Biotechnol*, 2021, 62(2):287-297.
- 44 Cheng Y S, He D X, He J, *et al.* Effect of light/dark cycle on photosynthetic pathway switching and CO₂ absorption in two *Dendrobium* species. *Front Plant Sci*, 2019, 10:659.
- 45 李东宾, 高燕会, 斯金平. 冷胁迫下铁皮石斛抗寒相关基因的SCoT差异表达分析. *中国中药杂志*, 2013, 38(4):511-515.
- 46 孟祥才, 王喜军. 活性氧促进道地药材质量形成的假说及其探讨. *中草药*, 2011, 42(4):799-804.
- 47 郭兰萍, 周良云, 康传志, 等. 药用植物适应环境胁迫的策略及道地药材“拟境栽培”. *中国中药杂志*, 2020, 45(9):1969-1974.
- 48 朱丹, 赵宝林, 韩科学, 等. 水分及高温环境胁迫对薄荷幼苗活性氧代谢与总黄酮累积的影响. *北京师范大学学报(自然科学版)*, 2020, 56(4):600-605.
- 49 高慧如, 王佳慧, 关瑜, 等. 高温对甘草黄酮类成分的影响. *中药材*, 2019, 42(3):524-529.
- 50 李光跃, 罗晓雅, 孙窗舒, 等. 干旱胁迫对黄芪植株生长中黄酮类成分积累的影响. *西北植物学报*, 2017, 37(1):138-143.
- 51 方余慧, 曹鹏, 邹慧熙, 等. 铁皮石斛内生真菌及其代谢产物研究进展. *浙江农业科学*, 2023, 64(3):688-693.
- 52 沈王琴. 铁皮石斛DoSES和DoTPS的克隆与功能验证. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2018.
- 53 王进, 李俊峰, 张婷婷, 等. 内生真菌对铁皮石斛多糖和生物碱合成关键酶基因表达的影响. *中草药*, 2019, 50(23):5838-5846.
- 54 杨洋. 不同种植方式铁皮石斛品质对比研究. 贵阳: 贵州师范大学硕士学位论文, 2016.
- 55 陈宜均, 李康琴, 邓绍勇, 等. 铁皮石斛栽培基质研究进展. *南方林业科学*, 2021, 49(3):57-60.
- 56 郭英英, 诸燕, 斯金平, 等. 铁皮石斛附生树种对多糖含量的影响. *中国中药杂志*, 2014, 39(21):4222-4224.
- 57 陈长远. 铁皮石斛活树附生栽培树种选择. *福建林业科技*, 2016, 43(2):137-140.
- 58 杜光映, 杨瑞东, 何卫军, 等. 贵州喀斯特地区不同附生基岩仿野生石栽铁皮石斛多糖含量及适生地质环境分析. *中药材*, 2021, 44(4):780-786.
- 59 康专苗, 王晓敏, 周玉飞, 等. 不同肥料对铁皮石斛生长的影响. *安徽农业科学*, 2017, 45(11):109-110.
- 60 严亮. 中国传统兰科药用植物铁皮石斛基因组及其生物学特性研究. 长春: 吉林大学博士学位论文, 2014.
- 61 刘晨. 铁皮石斛多糖代谢途径关键催化酶中性/碱性转化酶DcN14的挖掘与功能研究. 杭州: 浙江农林大学硕士学位论文, 2021.
- 62 刘博婷, 吴洋, 刘宇, 等. 铁皮石斛蔗糖合成酶基因家族鉴定及表达分析. [2024-01-04] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20220305.1801.015.html>.
- 63 He C M, Zhang J X, Liu X C, *et al.* Identification of genes involved in biosynthesis of mannan polysaccharides in *Dendrobium officinale* by RNA-seq analysis. *Plant Mol Biol*, 2015, 88(3):219-231.
- 64 奚航献. 铁皮石斛葡甘聚糖生物合成途径关键催化酶类纤维素合成酶CslD的挖掘与功能分析. 杭州: 浙江农林大学硕士学位论文, 2021.
- 65 龚廷锋, 文国松, 赵明富. 铁皮石斛DoUAM基因克隆及转化拟南芥. *分子植物育种*, 2019, 17(23):7733-7743.
- 66 Saqib A, Scheller H V, Fredslund F, *et al.* Molecular characteristics of plant UDP-arabinopyranose mutases. *Glycobiology*, 2019, 29(12):839-846.
- 67 谢腾飞, 赖增哲, 唐雄, 等. 不同来源铁皮石斛多糖积累相关基因表达差异研究. *热带农业科学*, 2020, 40(5):42-47.
- 68 郭淑. 基于转录组测序的石斛生物碱和人参皂苷生物合成相关基因的发掘、克隆及鉴定. 北京: 北京协和医学院博士学位论文, 2013.
- 69 王晓静, 梁立雄, 李潞滨, 等. 铁皮石斛异胡豆苷合成酶基因STR序列结构及表达模式分析. *生物资源*, 2020, 42(4):404-413.
- 70 吴秋菊. 铁皮石斛DXS、DXR、HDR的克隆与功能分析. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2015.
- 71 伊秀娟. 基于转录组测序的石斛黄酮类化合物生物合成相关基因的克隆与表达分析. 上海: 上海师范大学硕士学位论文, 2016.
- 72 周春花. 道地产地铁皮石斛转录组测序及其黄酮成分分析. 广州: 广州中医药大学硕士学位论文, 2018.
- 73 左珺花. 铁皮石斛种质资源主要成分差异分析及遗传多样性研究. 南昌: 江西师范大学硕士学位论文, 2020.

Research Progress on the Historical Evolution and Quality Formation of *Dendrobium Officinale*

ZHENG Yaqian¹, ZENG Huiting², YU Jiong², WANG Xiaoqing², YU Jinbao²

(1. Jiangxi University of Chinese Medicine's School of Medicine, Nanchang 330004, China; 2. Jiangxi Provincial Institute of Traditional Chinese Medicine's Institute of TCM, Nanchang 330004, China)

Abstract: *Dendrobium officinale* has always enjoyed the reputation of "the head of the nine immortal grasses in China", and is also one of the rare and endangered species. "*Dendrobium*" in ancient and modern classics is the general name of *Dendrobium* plants. The term *D. officinale* first appeared in the Republic of China and was listed separately from the "*Dendrobium*" in the Chinese Pharmacopoeia in 2010. The origin of *D. officinale* is well documented in ancient and modern classics, with Anhui, Zhejiang, Guangdong, Jiangxi, Yunnan, Sichuan, and other regions being all suitable for its production. Evaluation on its quality the high-quality "*Dendrobium*" with "green stone", "color gold", "short and medium fruit or fine fruit", "small and knotted stem" in the traditional Chinese medicine of all dynasties should refer to "*D. officinale*" and "*D. huoshanense*". Modern research has shown that light, temperature and humidity, endophytic fungi, enzymes, and genes are the main factors affecting the synthesis and accumulation of active components such as polysaccharides, total alkaloids, and total flavonoids in *D. officinale*. This article aims to provide an overview of *D. officinale* from the aspects of herbaceous research, origin evolution, quality evaluation, and factors affecting its quality formation, in order to provide important references for optimizing modern cultivation and planting modes of *D. officinale* and improving its quality.

Keywords: *Dendrobium officinale*, Historical evolution, Active ingredients, Influence factor

(责任编辑: 刘玥辰)