



应用高通量表型平台分析四种铁皮石斛的表型差异

何红梅,申海燕,顾 群

(上海乾菲诺农业科技有限公司,上海 201209)

摘要:相同环境条件下,不同品种铁皮石斛表现型不同,本研究主要是利用高通量表型成像技术对4种铁皮石斛进行表型差异分析,通过表型差异辅助品种选择。结果表明:应用高通量表型成像技术可以准确的得出不同品种的表型差异,JC品种植株高,水平幅宽宽,植株不紧密,投影面积大,相对含水量较高;叶片短宽,叶周长短,叶投影面积大。GX品种植株高,水平幅宽窄,植株较紧密,投影面积小,相对含水量低;叶片长、窄,叶周长长,叶投影面积大。ZP品种植株较高,水平幅宽较宽,植株较紧密,投影面积较大,相对含水量高;叶片短、窄,叶周长短,叶投影面积小。HN品种植株矮,水平幅宽窄,植株紧密,投影面积小,相对含水量较低;叶片短、窄,叶周长短,叶投影面积小。

关键词:铁皮石斛;投影面积;密度;相对含水量;叶片分析

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)为兰科石斛属多年生草本植物,其化学成分主要是多糖^[1]、生物碱^[2]、氨基酸^[3]、金属元素^[4]等,具有增强免疫力^[5]、抗肿瘤^[6]、抗疲劳^[7]、抗氧化^[8]、抗肝损伤^[9]、抗胃溃疡^[10]、降血糖^[11]等药理作用,被称为九大仙草之一,被用于医用制药和保健养生^[12]。近年来,随着人们生活水平的提高以及对养生的注重,铁皮石斛因其药食两用的特点,越来越

越受到关注,以铁皮石斛为基础的药品、保健品等产品被逐渐开发^[13],市场需求量的增加,使铁皮石斛的人工种植量不断加大,而铁皮石斛的田间表型性状也越来越受到关注^[14]。

植物的表型鉴定,一直是研究领域的热点,传统的植物表型性状测量一般是根据植物生长规律,人为选择几个关键时期进行表型参数的人工测量,不仅工作量大、效率低、受人为因素影响大,而且大部分测量是破坏性的取样,不能连续监测植物性状以及动态变化的特性。随着人们对植株表型测量和分析的时效性、准确性和精度要求的

收稿日期:2018-07-12

第一作者简介:何红梅(1986-),女,硕士,从事作物表型研究。E-mail:hbm283399721@sina.com。

[5] 闵伟,侯振安,冶军,等.灌溉水盐度和施氮量对棉花产量和水氮利用的影响[J].植物营养与肥料学报,2013,19(4):858-867.

[6] 刘球,吴际友,李志辉.干旱胁迫对植物叶片解剖结构影响

研究进展[J].湖南林业科技,2015,42(3):101-104.

[7] 郭改改,封斌,麻保林,等.不同区域长柄扁桃叶片解剖结构及其抗旱性分析[J].西北植物学报,2013,33(4):720-728.

Drought Resistance Analysis of Two Almond Spieces

DONG Xiao-min¹, LIU Wei¹, LI Gui-xiang¹, YANG Bo², ZHANG An-ning¹

(1. Shandong Institute of Pomology, Taian 271000, China; 2. Taishan Academy of Forestry Sciences, Taian 271000, China)

Abstract: In order to explore the relationship between anatomical structure and drought resistance of two almond cultivars, paraffin sections were made from the leaves of two almond cultivars, Nonpareil and Carmel, 5, 10 and 15 days after drought stress. The thickness of cuticle, palisade, sponge, upper and lower epidermis were observed and analyzed by optical microscope. The results showed that the leaf thickness of the two almond varieties was decreased significantly, the thickness of corneous layer was increased, and the epidermal cells became smaller with the increasing duration of drought stress. The mesophyll cells arranged closely, the cell gap became smaller, the thickness of the sponge tissue was decreased. The CTR value and the ratio of thickness between palisade tissue and spongy tissue were increased gradually. Under the drought stress, the leaf structure of almond was changed in the direction of drought resistance, so as to reducing the evaporation of water, enhancing the photosynthetic efficiency and adapting to the environmental changes.

Keywords: almond; anatomical structure of leaf; drought resistance

不断提高,以及对测量标准的明确、固定和量化,表型及表型组学快速发展^[15],表型测量仪器大量开发,表型平台迅速建立^[16],高通量、全自动表型成像技术提供了一种准确、快速、标准化的表型研究方法,在植物育种以及农业上逐渐被应用,如逆境胁迫下谷类^[17]、水稻^[18]、玉米^[19]等表型性状比较。基于光学成像和图像分析技术,表型平台很好的克服了传统的人工测量植物表型的缺点,能在稳定的环境下,以定量的方式,客观、准确、快速、无损、连续获取批量植物表型参数^[20],为系统的研究植株表型、加速植物新品种的选育提供可能。

本试验主要是利用上海乾菲诺农业科技有限公司的高通量植物表型平台(AgriPheno™平台)的Scanalyzer3D(德国 LemnaTec)仪器对本公司温室内种植的4种铁皮石斛进行成像,利用得到的参数分析其表型差异,为铁皮石斛新优品种的选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以上海乾菲诺农业科技有限公司温室盆栽种植1年的江西龙虎山丹霞地貌铁皮石斛(JC)、湖南新宁县丹霞地貌铁皮石斛(HN)、广西玉林地区容县丹霞地貌铁皮石斛(GX)和上海恒寿堂珍稀药材种业有限公司栽培种铁皮石斛(ZP)为试材,每个品种选取长势基本一致的20盆,进行表型成像,并每盆随机选取一根长势较好的茎秆,以其上数第二片叶进行叶片表型参数获取。

1.2 方法

1.2.1 图像采集 使用德国 LemnaTec 公司的 Scanalyzer3D 成像软件 Lemna Control 对铁皮石斛植株无损成像,选用可见光(vis)与近红外(nir)双镜头,可见光顶部镜头参数设置为 exposure 20、focus 2000、zoom 2000,侧面设置为 exposure 20、focus 3500、zoom 1500;近红外顶部镜头参数设置为 exposure 30030、focus 500、zoom 1500,侧面设置为 exposure 30030、focus 100、zoom 1500,成像角度设置为顶部、侧面 0°和 90°,成像后获得1张植株顶部、1张植株侧面 0°和1张植株侧面 90°的原始图像^[20],保存至 Lemna Base 中。

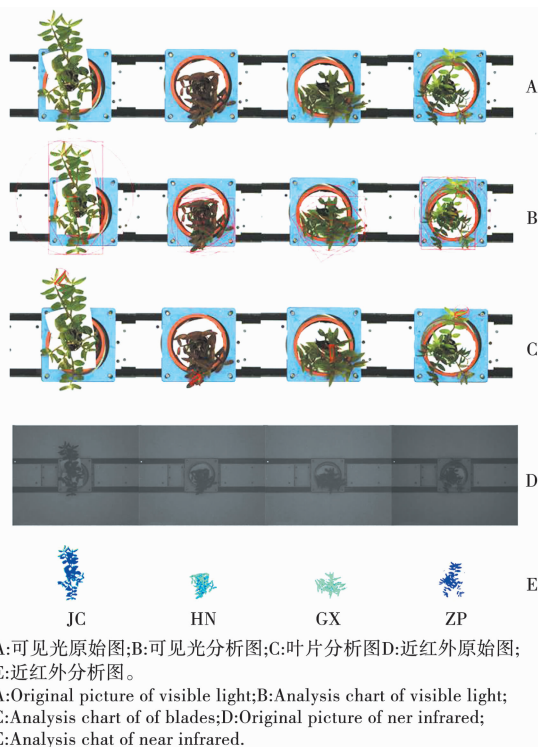
1.2.2 数据分析 利用 LemnaTec Scanalyzer 3D 的分析软件 Lemna Grid 编辑图像处理流程和计算石斛表型数据;使用 Lemna Miner 导出原始数据(以 pixel 为单位);使用像素转换系数(pixel/mm)将原始数据转换为以国标为单位的数据

后,用 Excel 2010 进行整理。侧面数据(株高、幅宽)为侧面 0°与侧面 90°数据的平均值,总数据(总投影面积)为侧面 0°、90°与顶部数据的和,再将所对应的 20 个样本数据去掉 1 个最大值和 1 个最小值后,计算出剩余样本数据的平均值及标准偏差,通过 SPSS 20.0 分析软件,使用 $P < 0.05$ 的差异水平,分析组间数据的差异性,根据计算结果绘制图表。

2 结果与分析

2.1 不同品种铁皮石斛表型及分析图的获得

表型成像后将获得 1 张植株顶部、1 张植株侧面 0°和 1 张植株侧面 90°的 RGB 图像,现以顶部为例,列出 JC、HN、GX 和 ZP 品种相关表型图像及其分析图。



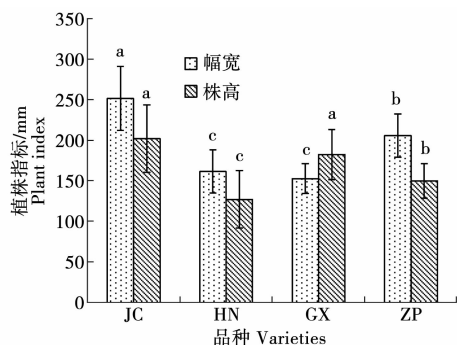
A:可见光原始图;B:可见光分析图;C:叶片分析图D:近红外原始图;E:近红外分析图。
A:Original picture of visible light;B:Analysis chart of visible light;
C:Analysis chart of blades;D:Original picture of ner infrared;
E:Analysis chat of near infrared.

图1 不同品种铁皮石斛的顶部表型及分析图的获得
Fig.1 Different varieties of *Dendrobium officinale* of the top phenotype and analysis graphics

2.2 不同品种铁皮石斛的株高与幅宽分析

株高是指植株根基部到顶部之间的距离;幅宽是指植株水平宽度。株高和幅宽可以衡量植株的高矮和水平宽窄。采用可见光侧面成像,可以得到株高和幅宽。由图 2 可知,JC 品种株高为 201.86 mm,GX 品种株高为 182.33 mm,显著高于 ZP 和 HN 品种,但这两个品种间没有显著差

异;ZP 品种株高为 149.89 mm,HN 品种株高为 126.97 mm,ZP 品种株高显著高于 HN 品种。JC 品种植株幅宽为 251.29 mm,显著宽于 ZP、HN 和 GX 品种;ZP 品种幅宽为 205.46 mm,显著宽于 HN 品种和 GX 品种;HN 和 GX 品种的幅宽分别为 161.19 和 152.61 mm,两者差异不显著。4 种铁皮石斛的株高关系表现为 $JC > GX > ZP > HN$,幅宽表现为 $JC > ZP > HN > GX$,说明 JC 品种植株高,水平幅宽宽,GX 品种植株高,水平幅宽窄,ZP 品种植株较高,水平幅宽较宽,HN 品种植株矮,水平幅宽窄。



不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著性 ($P < 0.05$),下同。

Different lowercase letters mean significant difference at 0.05 level, the same below.

图 2 不同品种铁皮石斛株高与幅宽分析

Fig. 2 Analysis of the height and width of different varieties of *Dendrobium officinale*

2.3 不同品种铁皮石斛的紧密度分析

紧密度为投影面积与最小外接多边形面积的比值,可以衡量石斛植株的紧密程度,值越大,植株越紧密。从图 3 可知顶部紧密度最高的是 HN 品种,为 0.57,显著高于 GX、ZP 和 JC 品种;GX 品种顶部紧密度为 0.48,ZP 品种顶部紧密度为 0.47,显著高于 JC 品种 (0.37),但这两个品种间差异不显著。4 种铁皮石斛顶部紧密度表现为 $HN > GX > ZP > JC$,说明 HN 品种植株紧密,GX 品种和 ZP 品种植株较紧密,JC 品种植株不紧密。

2.4 不同品种铁皮石斛的投影面积分析

投影面积是指光投射在物体上所留下的影子的面积,本试验将侧面 0° 、侧面 90° 以及顶部投影面积之和作为总投影面积^[18]。进行 4 种铁皮石斛总投影面的分析 (图 4) 可知,JC 品种总投影面积最大为 41 913.33 mm^2 ,显著高于 ZP、GX 和 HN 品种,ZP 品种总投影面积为 33 373.77 mm^2 ,显著高于 GX 和 HN 品种;GX 和 HN 品种总投

影面积分别为 28 204.59 和 23 627.57 mm^2 ,二者差异不显著。

2.5 不同品种铁皮石斛的相对含水量分析

近红外成像主要是获得植株相对含水量^[21],近红外分析图中植物颜色越深,相对含水量越高,灰度分级也就越低。顶部近红外成像分析的灰度值为 50~100,共分 3 级,从图 5 侧面成像可知,ZP 品种和 JC 品种,1 级所占的百分比高,其次为 HN 品种,GX 品种 1 级所占的百分比最低。侧面近红外成像分析的灰度值为 20~130,共分 10 级,从图 5 顶部成像可知 ZP 品种 2 级所占的百分比最高,JC 品种 2 级所占的百分比高,其次为 HN 品种,GX 品种最低。4 种铁皮石斛相对含水量表现为 $ZP > JC > HN > GX$,说明 ZP 品种含水量高,其次为 JC 品种,GX 品种含水量最低,其次为 HN 品种。

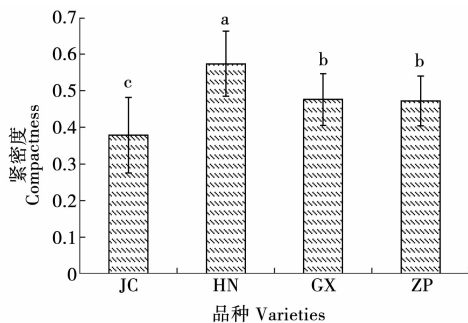


图 3 不同品种铁皮石斛紧密度分析

Fig. 3 Analysis of compactness of different varieties of *Dendrobium officinale*

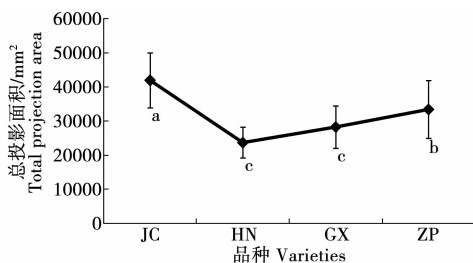


图 4 不同品种铁皮石斛的投影面积分析

Fig. 4 Analysis of projected area of different varieties of *Dendrobium officinale*

2.6 不同品种铁皮石斛叶片的分析

本试验选取每盆石斛长势较好的一根茎条,并选取此茎条顶部第二片叶进行叶片分析,分析结果如图 6 所示,GX 品种叶长为 54.65 mm,周长为 122.82 mm,均显著长于 JC、HN、ZP 3 个品种,而其它 3 个品种之间的周长和叶长虽有差异,但都不显著。JC 品种叶宽最宽,为 15.18,显著

大于其它 3 个品种,而其余 3 个品种之间叶宽虽有差异,但并不显著。GX 品种叶片投影面积为 547.66 mm²,JC 品种为 524.52 mm²,显著高于 ZP 和 HN 品种叶片的投影面积,但这两个品种间无显著差异;ZP 和 HN 品种叶片投影面积分别为 456.27 和 455.42 mm²,二者差异也不显著。则说明 GX 品种叶片长、窄,周长长,投影面积大;JC 品种叶片短、宽,周长短,投影面积大;ZP 和 HN 品种叶片短、窄,周长短,投影面积小。

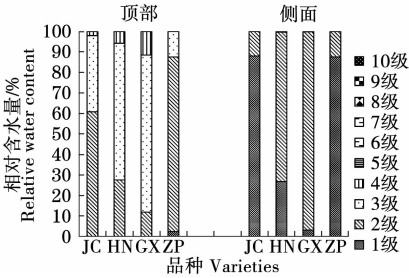


图 5 不同品种铁皮石斛含水量分析

Fig. 5 Water content analysis of different varieties of *Dendrobium officinale*

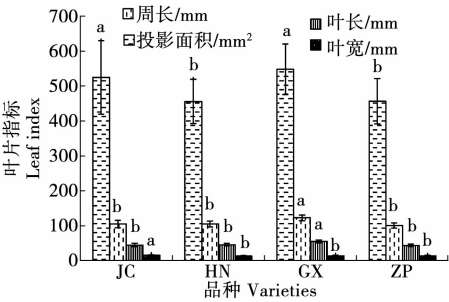


图 6 不同品种铁皮石斛叶片分析

Fig. 6 Analysis of the blades of different varieties of *Dendrobium officinale*

3 讨论与结论

3.1 讨论

铁皮石斛是中国传统的中草药,它的药用价值以及其药食两用的特点受到人们的喜爱,随着国内外市场需求的急剧增加,石斛的温室种植量以及研究越来越受到关注,但铁皮石斛的研究主要集中在栽培管理、化学成分以及临床应用上^[22],表型研究很少。本试验利用 AgriPhenoTM表型平台的温室型 Scanalyzer3D 仪器对正常条件栽培下的 4 种铁皮石斛进行表型分析。

可见光表型数据分析可以得到铁皮石斛植株的高度、幅宽、紧密度等指标^[23],从这 3 个指标可以获得铁皮石斛植株株型的基本情况。分析数据显示,JC 品种植株高,水平幅宽宽,植株不紧密;

GX 品种植株高,水平幅宽窄,植株较紧密;ZP 品种植株较高,水平幅宽较宽,植株较紧密,HN 品种植株矮,水平幅宽窄,植株紧密。株型的分析可以辅助温室种植石斛的品种选择,如温室面积有限可以选择植株高、水平幅宽窄、株型紧密的品种。

可见光表型数据分析可以得到铁皮石斛植株的投影面积,本试验分析了 4 种铁皮石斛的总投影面积,JC 品种总投影面积大,ZP 品种总投影面积较大,GX 品种和 HN 品种总投影面积相对较小。有研究表明,不同角度的投影面积可以简单的评估植株的生物量或叶面积^[18],本试验有待进一步进行投影面积与生物量相关性研究。

近红外表型数据分析可以得到铁皮石斛植株的相对含水量,分析得出 ZP 品种相对含水量高,其次为和 JC 品种,GX 品种相对含水量最低,其次为 HN 品种。铁皮石斛的含水量可以反映铁皮石斛的品质,含水量高,品质差,含水量低,品质好^[24]。则从相对含水量分析结果来看 GX 品种和 HN 品种品质好于 ZP 和 JC 品种。

光表型数据分析可以得出铁皮石斛叶片的相关指标,分析结果表明 GX 品种叶片是细长型的,周长长,投影面积大;JC 品种叶片是短宽型的,周长短,投影面积大;ZP 和 HN 品种叶片是又细又短型的,周长短,投影面积小。叶片相关参数的分析,可以得出叶片的性状和投影面积的大小,但叶片参数与产量的相关性并未进行分析,有待进一步深入研究。

本试验使用温室型 Scanalyzer3D 仪器进行铁皮石斛表型差异分析,在得到的较多参数中选择了株高、幅宽、紧密度、投影面积和植株含水量几个指标来表示植株的表型差异,本研究的结果表明表型仪器及其分析软件可用于铁皮石斛植株表型差异的分析、鉴定和辅助温室种植石斛品种的选择,从而促进石斛产业的发展。但表型仪器的使用,表型分析获得的相关参数有待进一步研究,更好地为石斛植株差异分析以及其它植物研究提供理论依据。

3.2 结论

JC 品种植株高,水平幅宽,植株不紧密,投影面积大,相对含水量较高;叶片短宽,叶周长短,叶投影面积大。GX 品种植株高,水平幅宽窄,植株较紧密,投影面积小,相对含水量低;叶片长、窄,叶周长长,叶投影面积大。ZP 品种植株高,水平

幅宽较宽,植株较紧密,投影面积较大,相对含水量高;叶片短、窄,叶周长短,叶投影面积小。HN品种植株矮,水平幅宽窄,植株紧密,投影面积小,相对含水量较低;叶片短、窄,叶周长短,叶投影面积小。

参考文献:

- [1] 黄民权,蔡体育.铁皮石斛多糖的提取、分离和分析[J].中草药杂志,1994,25(3):128-129.
- [2] 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.
- [3] 黎万奎,胡之璧,周吉燕,等.人工栽培铁皮石斛与其他来源铁皮石斛中氨基酸与多糖及微量元素的比较分析[J].上海中医药大学学报,2008,22(4):80-83.
- [4] 诸燕,苑鹤,李国栋,等.铁皮石斛中11种金属元素含量的研究[J].中国中药杂志,2011,36(3):356-360.
- [5] 余琪,毛培江,姜建民,等.4种药用石斛对增强小鼠免疫功能效果的比较研究[J].中国现代应用药学,2017(2):191-195.
- [6] 施仁潮,竹剑平,李明焱.铁皮石斛抗肿瘤作用的研究进展[J].中国药学杂志,2013,48(19):1641-1644.
- [7] 鹿伟,陈玉满,徐彩菊,等.铁皮石斛抗疲劳作用研究[J].中国卫生检验杂志,2010,20(10):2488-2450.
- [8] 查学强,王军辉,潘利华,等.石斛多糖体外抗氧化活性的研究[J].食品科学,2007,28(10):90-92.
- [9] Yao P, Song F F, Li K, et al. Ginkgo biloba extract prevents ethanol induced dyslipidemia [J]. The American Journal of Chinese Medicine, 2007, 35(4): 643-652.
- [10] 梁楚燕,李煥彬,侯少贞,等.铁皮石斛护肝及抗胃溃疡作用研究[J].世界科学技术(中医药现代化),2013,15(2):233-237.
- [11] 吴昊姝,徐建华,陈立钻,等.铁皮石斛降血糖作用及其机制的研究[J].中国中药杂志,2004,29(2):160-163.
- [12] 叶信,陈勇,魏中璇,等.铁皮石斛的临床应用与保健养

生[J].大众科技,2017,19(212):54-56.

- [13] 朱启发,黄娇丽.铁皮石斛产品开发研究进展[J].现代农业科技,2015(9):70-71.
- [14] 张振臣,陈俊标,马柱文,等.铁皮石斛种质资源主要表型性状的差异与相关分析[J].广东农业科学,2010(8):78-80.
- [15] 玉光惠,方宣钧.表型组学的概念及植物表型组学的发展[J].分子植物育种,2009(7):639-645.
- [16] 段凌凤,杨万能.水稻表型组学研究概况和展望[J].生命科学,2016,28(10):1129-1137.
- [17] Rajendran K, Tester M, Roy S J. Quantifying the three main components of salinity tolerance in cereals[J]. Plant, Cell and Environment, 2009, 32: 237-249.
- [18] Hairmansis A, Berger B, Tester M, et al. Image-based phenotyping for non-destructive screening of different salinity tolerance traits in rice[J]. Rice, 2014, 7(1): 16.
- [19] Neilson E H, Edwards A M, Blomstedt C K, et al. Utilization of a high-throughput shoot imaging system to examine the dynamic phenotypic responses of a C4 cereal crop plant to nitrogen and water deficiency over time[J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 66(7): 1817-1832.
- [20] Berger B, Regt B, Tester M. High-throughput phenotyping of plant shoots [J]. High-Throughput Phenotyping of Plants Shoots, 2012, 918(918): 20.
- [21] Kobori H, Tsuchikawa S. Prediction of water content in Ligustrum japonicum leaf using near infrared chemometric imaging[J]. Journal of Near Infrared Spectroscopy, 2009, 17(3): 151-157.
- [22] 邵华,张玲琪,李俊梅,等.铁皮石斛研究进展[J].中草药杂志,2004,35(1):109-112.
- [23] 陈丽,魏攀蕾,周慧斌,等.铁皮石斛的研究与应用[J].亚太传统医药,2013,9(1):51-53.
- [24] 杨洋.不同种植方式铁皮石斛品质对比研究[D].贵阳:贵州师范大学,2016:20-34.

Phenotypic Difference Analysis by High-throughput Phenotypic Platform of Four Varieties of *Dendrobium officinale*

HE Hong-mei, SHEN Hai-yan, GU Qun

(Zealquest AgriPheno Co., Ltd, Shanghai 201209, China)

Abstract: Under the same environmental conditions, different varieties of *Dendrobium officinale* have different phenotypes. This study mainly used high-throughput phenotype imaging technology to analyze the phenotypic differences of four varieties of *Dendrobium officinale* and assisted the selection of varieties through phenotypic differences. The results showed that the high-throughput phenotype imaging technology could accurately obtain the phenotype differences of different varieties. And it indicated that the JC varieties were higher and wider, and scattered shape with a larger projection area and high relative water content; the blades were short and wide with short perimeter and large projected area. The GX varieties were higher and narrow, and closely shaped, with small projection area and lower relative water content; the blades were long and narrow with long perimeter and large projected area. The ZP varieties were high and wide, and closely shaped with large projected area and higher relative water content; the blades were short and narrow with short perimeter and small projected area. The HN species were short and narrow and more closely shaped with small projected area and low relative water content; the blades were short and narrow with short perimeter and small projected area.

Keywords: *Dendrobium officinale*; projected area; compactness; relatively water content; leaf analysis