

怀地 81 与主栽品种单株鲜质量和指标成分含量比较

李建军¹,王 君¹,任美玲¹,孙树武²

(1. 河南师范大学 生命科学学院 河南省高校地道中药材保育及利用工程技术研究中心,河南 新乡 453007;
2. 河南省百辽怀药科技开发有限公司,河南 焦作 454950)

摘要: 为了选育怀地黄优良新品种,利用高效液相色谱法测定怀地 81 与 5 个怀地黄主栽品种的指标成分——梓醇和毛蕊花糖苷含量,并采用 SPSS 分析其单株鲜质量和指标成分的差异。结果表明,怀地黄单株鲜质量依次为怀地 81 > 85 - 5 > 金九 > 怀丰 > 沁怀 > 北京 3 号,怀地 81 与其他主栽品种差异极显著;梓醇含量依次为北京 3 号(1.601%) > 沁怀(1.588%) > 怀地 81(1.314%) > 金九(1.277%) > 85 - 5(1.073%) > 怀丰(0.924%),怀地 81 梓醇含量与金九差异不显著,与其他主栽品种差异极显著;毛蕊花糖苷含量依次为怀地 81(0.096%) > 沁怀(0.069%) > 85 - 5(0.047%) > 北京 3 号(0.035%) > 怀丰(0.023%) > 金九(0.022%),怀地 81 毛蕊花糖苷含量与 5 个主栽品种差异极显著。说明怀地 81 单株鲜质量和指标成分综合性状较主栽品种有显著优势。
关键词: 怀地黄; 品系; 品种; HPLC; 梓醇; 毛蕊花糖苷
中图分类号: S567.23 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004 - 3268(2015)03 - 0111 - 04

Comparison of Individual Plant Fresh Weight and Contents of Index Components of Huaidi 81 and Main Cultivars of *Rehmannia Glutinaosa*

LI Jianjun¹, WANG Jun¹, REN Meiling¹, SUN Shuwu²

(1. College of Life Science, Henan Normal University/Engineering Technology Research Center of Nursing and Utilization of Genuine Chinese Crude Drugs of Henan Province University, Xinxiang 453007, China;
2. Henan Bailiao Local Medicines Science and Technology Development Co., Ltd., Jiaozuo 454950, China)

Abstract: The contents of catalpol and acteoside of *Rehmannia glutinsa* Huaidi 81 and five major cultivars were measured by HPLC, and the difference of the individual plant fresh weight and the contents of catalpol and acteoside were analyzed by SPSS to breeding new cultivar. The results showed that the individual plant fresh of Huaidi 81 was significantly higher than that of major cultivars, the order of individual plant fresh weight was Huaidi 81 > 85 - 5 > Jinjiu > Huaifeng > Qinhuai > Beijing No. 3. The content of catalpol in Huaidi 81 had no significant difference with Jinjiu, and had significant difference with the other major cultivars, the order of catalpol content was Beijing No. 3 (1.601%) > Qinhuai(1.588%) > Huaidi 81(1.314%) > Jinjiu(1.277%) > 85 - 5(1.073%) > Huaifeng(0.924%). The content of acteoside in Huaidi 81 had significant difference with the five major cultivars, the order of acteoside content was Huaidi 81(0.096%) > Qinhuai(0.069%) > 85 - 5(0.047%) > Beijing No. 3(0.035%) > Huaifeng(0.023%) > Jinjiu(0.022%). In conclusion, the comprehensive characters of the individual plant fresh weight and index components in Huaidi 81 had significant advantages than that of major cultivars.
Key words: *Rehmannia glutinosa*; strain; cultivar; HPLC; catalpol; verbascoside

收稿日期:2014 - 10 - 23
基金项目:中医药公共卫生专项(财社[2011]76号);中医药行业科研专项(201207002);河南省重点科技攻关项目(122102310283);河南省社科规划项目(2013BJJ084);河南省教育厅自然科学研究计划项目(2009B180012)
作者简介:李建军(1964 -),男,河南新乡人,副教授,硕士,主要从事药用植物资源及育种研究。E-mail:043081@htu.cn

地黄(*Rehmannia glutinosa* Libosch)为玄参科多年生草本植物,以道地产区河南“古怀庆府”一带的怀庆地黄栽培历史最长,产量最高,质量最佳,畅销国内外,系著名“四大怀药”之一^[1-3]。根据地黄的不同炮制方法,可分为鲜地黄、生地黄和熟地黄 3 种,三者都有养阴生津的功效,也有较大的差异^[4-5]。鲜地黄甘苦大寒,多用于清热凉血,泻火除烦;生地黄甘寒质润凉,多用于口渴咽干,五心烦热,有补养心肾之阴的效用;熟地黄性味甘温,入肝肾具有非常好的养血滋阴、填精益髓的功效^[6]。

在地黄栽培生产中,因长期无性繁殖造成地黄品种退化,病虫害严重,使得地黄产量和品质下降。因此,河南道地药材绿色生产技术团队于 2006 年春以综合抗性好的 85-5 为母本、北京 1 号为父本通过自然杂交获得杂交种,2006 年 9 月 9 日 15 时种子随实践八号育种卫星进入太空,进行空间环境下的诱变飞行,再经过系统筛选、扩繁获得了综合性状优良的怀地 81。通过怀地 81 与主栽品种的对比试验,为怀地 81 新品种推广提供理论和技术支撑,对于促进地黄产业可持续发展具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

2013 年 4 月 6 日,采用随机区组试验方法,将怀地 81 和 85-5、北京 3 号、沁怀、金九和怀丰 5 个主栽品种种植于怀区武陟地黄试验田中。在同样的环境地块,采用同样栽培管理技术,均于 2013 年 11 月 23 日采收,并采用烘干粉碎方法获得生地黄测试样品。

1.2 主要仪器

安捷伦 1200 系列高效液相色谱仪(安捷伦科技有限公司,配有 G1311 四元梯度泵、自动进样器、VWD 检测器、Agilent1100LC 化学工作站)、Thermo 自动双重纯水蒸馏器(赛默飞世尔科技(中国)有限公司)、DHY-300 超微粉碎机(北京东华原医疗设备有限责任公司)、ZRD-A5110 电热恒温鼓风干燥箱(上海智城分析仪器有限公司)、FA2204 B 电子分析天平(上海菁海仪器有限公司)。

1.3 试剂

乙腈、甲醇为色谱纯,磷酸、醋酸为分析纯,水为超纯水。梓醇标准品和毛蕊花糖苷标准品均购自中国食品药品检定研究院,编号分别为 110808-201210 和 111530-201310。

1.4 单株鲜质量的测定

于收获前在试验田中按照不同品种(系)随机

选取 3 个点,每个点按照行连续选取 10 株,测定单株鲜质量。

1.5 梓醇含量的测定

1.5.1 色谱条件 色谱柱填充剂:十八烷基硅烷键合硅胶;流动相:乙腈-0.1% 磷酸溶液(1:99);检测波长 210 nm;柱温 25 ℃;进样量 10 μ L;体积流量 1.0 mL/min。

1.5.2 标准品溶液的制备 精确称取梓醇标准品 5.70 mg,置 5 mL 容量瓶中,加流动相溶解,并且稀释至刻度,充分摇匀之后即得。

1.5.3 怀地黄梓醇样品溶液的制备 怀地黄切成小块,烘干粉碎呈粉状,分别精密称定怀地黄样品的粉末各 0.8 g,置具塞锥形瓶中,加入 50 mL 甲醇,称质量并记录;加热回流提取 90 min,放冷后再次称质量,用甲醇补足失质量,充分摇匀,滤过,精密量取续滤液 10 mL,浓缩至近干,用梓醇流动相溶解残渣,移液至 10 mL 容量瓶中并定容,摇匀,滤过,将续滤液取出,即可得到。

1.5.4 测定方法 将标准品和供试品溶液分别进样 10 μ L 进行液相色谱分析。按照外标峰面积的方法计算梓醇含量。

1.5.5 线性关系的检验 精确吸取上述梓醇标准品溶液 0.5、1.0、2.0、2.5、3.0 mL,置 5 mL 容量瓶中,加入梓醇流动相稀释到刻度,充分摇匀。精密吸取 10 μ L 梓醇标准品溶液,按照上述色谱条件进行峰面积测定。

1.5.6 精密度试验 量取同一标准品的溶液,按照含量测定方法(将标准品溶液进样 10 μ L 进行液相色谱分析)和色谱条件测定,连续重复 5 次测定梓醇峰面积,测得 RSD 平均值为 0.20%,表明仪器精密度良好。

1.6 毛蕊花糖苷含量的测定

1.6.1 色谱条件 色谱柱填充剂:十八烷基硅烷键合硅胶;流动相:乙腈-0.1% 醋酸溶液(16:84);检测波长 334 nm;柱温 35 ℃;进样量 10 μ L;体积流量 1.0 mL/min。

1.6.2 标准品溶液的制备 精密称取毛蕊花糖苷标准品 9 mg,定容至 25 mL 容量瓶中,加流动相溶解并且稀释至刻度,充分摇匀之后即得。

1.6.3 怀地黄梓醇样品溶液的制备 制备方法同 1.5.3,充分摇匀,滤过之后精密量取续滤液 20 mL,浓缩至近干,之后用毛蕊花糖苷流动相将残渣溶解,移液至 5 mL 容量瓶中并定容,摇匀,滤过,将续滤液取出,即得。

1.6.4 测定方法 将标准品和供试品溶液分别进

样 10 μL 进行液相色谱分析。按照外标峰面积的方法计算毛蕊花糖苷含量。

1.6.5 线性关系 吸取毛蕊花糖苷标准品溶液(务必精确)0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置于 10 mL 容量瓶中,加入毛蕊花糖苷流动相稀释至刻度,充分摇匀。精密吸取 10 μL 毛蕊花糖苷标准品溶液,按照上述色谱条件进行峰面积测定。

1.6.6 精密度试验 量取同一标准品的溶液,按照含量测定方法(将标准品溶液进样 10 μL 进行液相色谱分析)和色谱条件来进行测定,连续重复 5 次测定毛蕊花糖苷的峰面积,测得 RSD 平均值为 0.97%,表明仪器精密度良好。

1.7 数据处理

采用 Excel 和 SPSS 对试验数据进行计算和分析,以平均值 ± 标准差来表示结果。

2 结果与分析

2.1 怀地黄 81 与主栽品种单株鲜质量比较

按 1.4 试验方法测定怀地 81 与 5 个主栽品种的单株鲜质量,详见图 1。由图 1 可知,地黄单株鲜质量表现为,怀地 81 > 85 - 5 > 金九 > 怀丰 > 沁怀 > 北京 3 号,怀地 81 和其他 5 个主栽品种差异极显著($P < 0.01$),说明怀地 81 具有极显著优势。

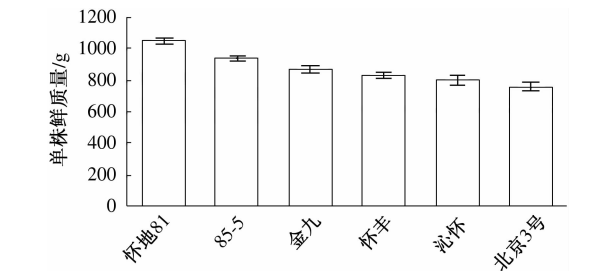


图 1 怀地 81 与主栽品种单株鲜质量比较

2.2 怀地 81 与主栽品种指标成分的比较

按 1.5 试验方法对怀地 81 与 5 个主栽品种样品的梓醇含量进行测定,以相同的色谱条件对梓醇标准品分析,以梓醇标准品的质量浓度为横坐标,梓醇标准品的峰面积为纵坐标,绘制出标准曲线,得到线性回归方程: $Y = 1.9967X - 45.21$, $R^2 = 0.9999$,梓醇在 114 ~ 1140 g/L 线性关系良好。

按 1.6 试验方法以相同色谱条件对毛蕊花糖苷标准品和样品分析,以毛蕊花糖苷标准品的质量浓度为横坐标,以毛蕊花糖苷标准品的峰面积为纵坐标,绘制出标准曲线,得到线性回归方程: $Y = 52.578X - 39.223$, $R^2 = 0.9999$,毛蕊花糖苷在 3.3 ~ 23.5 g/L 线性关系良好。

由表 1 可知,怀地黄梓醇含量依次为北京 3 号(1.601%) > 沁怀(1.588%) > 怀地 81(1.314%) > 金九(1.277%) > 85 - 5(1.073%) > 怀丰(0.924%),怀地 81 梓醇含量远远高于 2010 年版《中华人民共和国药典》规定的梓醇含量不得少于 0.20% 的标准,低于主栽品种北京三号和沁怀,高于主栽品种金九、母本 85 - 5 和怀丰。怀地 81 与主栽品种金九差异不显著,与其他主栽品种差异极显著,说明怀地 81 的梓醇含量与主栽品种比较具有相对优势;怀地黄毛蕊花糖苷含量依次为怀地 81(0.096%) > 沁怀(0.069%) > 85 - 5(0.047%) > 北京 3 号(0.035%) > 怀丰(0.023%) > 金九(0.022%),怀地 81 毛蕊花糖苷含量远远高于 2010 年版《中华人民共和国药典》规定的毛蕊花糖苷含量不得少于 0.020% 的标准。怀地 81 与 5 个主栽品种毛蕊花糖苷含量差异极显著,说明怀地 81 的毛蕊花糖苷含量较主栽品种有极显著优势。

表 1 不同品种(系)怀地黄梓醇、毛蕊花糖苷含量比较 %		
品种(系)	梓醇含量	毛蕊花糖苷含量
怀地 81	1.314 ± 0.02bB	0.096 ± 0.005aA
85 - 5	1.073 ± 0.02cC	0.047 ± 0.001cC
金九	1.277 ± 0.02bB	0.022 ± 0.001eE
怀丰	0.924 ± 0.06dD	0.023 ± 0.002eE
沁怀	1.588 ± 0.01aA	0.069 ± 0.001bB
北京 3 号	1.601 ± 0.03aA	0.035 ± 0.001dD

注:不同大、小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。

3 结论与讨论

由于地黄产量和指标成分与品种、生长环境、栽培措施及加工方法等因素有关^[7-8],本试验将怀地 81 与 5 个主栽品种同时栽种于同一试验田进行统一管理,按照 2010 版《中华人民共和国药典》方法及其相关文献,采用 HPLC 测其成分,尽量避免客观因素对试验造成的影响,测定的产量和指标成分能更客观、更真实地反映品种(系)间的差异。

本试验结果表明,地黄单株鲜质量依次为怀地 81 > 85 - 5 > 金九 > 怀丰 > 沁怀 > 北京 3 号,怀地 81 单株鲜质量最高且与其他 5 个主栽品种差异极显著,说明怀地 81 的单株鲜质量较其他主栽品种具有极显著优势。怀地 81 梓醇含量低于主栽品种北京三号和沁怀,高于主栽品种金九、母本 85 - 5 和怀丰。怀地 81 与主栽品种金九差异不显著,与其他主栽品种差异极显著,说明怀地 81 梓醇含量具有相对优势。毛蕊花糖苷含量依次为怀地 81(0.096%) > 沁怀(0.069%) > 85 - 5(0.047%) > 北京 3 号

(0.035%) > 怀丰(0.023%) > 金九(0.022%)。怀地 81 与 5 个主栽品种毛蕊花糖苷含量差异极显著,说明怀地 81 毛蕊花糖苷含量较主栽品种具有极显著优势。

综上可知,怀地 81 的单株鲜质量、毛蕊花糖苷含量(0.096%)与 5 个主栽品种差异极显著,梓醇含量(1.314%)具有相对优势,且指标成分远远高于 2010 年版《中华人民共和国药典》规定的梓醇含量不得少于 0.20%、毛蕊花糖苷含量不得少于 0.020% 的标准。说明怀地 81 可以在生产中推广应用,为地黄的可持续发展奠定良种物质基础。

参考文献:

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010:115-117.
[2] 王太霞,司源,李景原,等. 怀地黄块根内含梓醇结构的组织化学和超微结构研究[J]. 西北植物学报,

2005,25(5):928-931.

[3] 温学森,杨世林,魏建和,等. 地黄栽培历史及其品种考证[J]. 中草药,2002,33(10):946-949.
[4] 李先恩,杨世林,杨峻山. 地黄不同品种经济和产量性状的比较研究[J]. 中国中药杂志,2001,26(9):596-597.
[5] 周俊英. 中药地黄的染色体研究[J]. 山东科学,2002,15(1):20-22.
[6] 温学森,赵华英,李先恩,等. 地黄病毒病在不同品种中的症状表现[J]. 中国中药杂志,2002,27(3):225-227.
[7] 李建军,王莹,周延清,等. 地黄不同种质资源产量和指标成分 HPLC 测定比较[J]. 郑州大学学报,2012,44(2):102-107.
[8] 李建军,王莹,陈小洁,等. 不同产区地黄产量及指标成分的 HPLC 测定[J]. 河南农业大学学报,2011,45(4):13-16.

(上接第 110 页)

微酸性根际环境,在栽培中随着灌水量的增加及基质中钙、镁等盐基的溶出,pH 值有增大的趋势。陈双臣等^[7]认为,基质的容重过大或过小,均会对其持水力和引水力产生一定影响,易于易渍,从而影响到植株的生长。据报道,基质的容重标准为 0.1 ~ 0.8 g/cm³,总孔隙度为 54% ~ 96%^[4],而本试验中各处理组的容重和总隙度分别在 0.31 ~ 0.36 g/cm³和 72% ~ 76%,均在适宜范围内。因此,植株生长较健壮,产量提高较为明显。

不同基质的主要成分、配比和理化性状不同,对番茄果实的营养和适口性品质指标的影响程度有一定差异^[8-12]。本试验中腐熟羊粪:菇渣:珍珠岩 = 1:2:1(体积比)的基质,既能有效改善番茄果实的营养品质,又能改善适口性。由于复合基质在使用过程中有自身有机物的降解,再加上与作物的交互影响,其成分和结构也不断发生变化,如何维持基质理化性质的相对稳定和养分的转化还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 刘伟,余宏军,蒋卫杰. 我国蔬菜无土栽培基质研究与应用进展[J]. 中国农业生态学报,2006,14(3):4-7.
[2] 李秀启,马朝喜,陈坤,等. 几种有机基质栽培番茄效

果的比较[J]. 长江蔬菜,2008(8):39-41.

[3] 肖艳辉,何金明,陈明威,等. 不同栽培基质对番茄植株长势果实品质及产量的影响[J]. 北方园艺,2011(4):9-11.
[4] 薛书浩,孟焕文,程智慧,等. 复合基质在大棚番茄无土栽培上的应用研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2009,37(11):109-112.
[5] 曹云娥,张学忠,杨世红,等. 不同农业有机废料发酵基质栽培番茄试验[J]. 北方园艺,2012(10):24-28.
[6] 李胜利,孙治强. 几种复合基质番茄无土栽培的比较研究[J]. 中国农学通报,2006,22(10):254-258.
[7] 陈双臣,刘爱荣,郑继亮,等. 不同有机基质对番茄生长的影响[J]. 北方园艺,2008(8):1-3.
[8] 王子崇,杨红丽. 菇渣复合基质在番茄穴盘育苗中的应用[J]. 北方园艺,2008(3):50-51.
[9] 冯志威,巫东堂,赵乘风,等. 不同基质配比对番茄育苗质量的影响[J]. 山西农业科学,2014,42(5):460-462,469.
[10] 洪春来,朱凤香,陈晓阳,等. 不同菇渣复合基质对番茄育苗效果的影响[J]. 现代农业科技,2011(1):123-124,126.
[11] 王爱华,曹帆. 不同基质配比对番茄幼苗生长的影响[J]. 现代农业科技,2013(5):95.
[12] 张国新,王秀萍,鲁雪林,等. 冀东滨海区无土栽培基质配方试验[J]. 现代农业科技,2009(16):67.