

陈铁柱,文飞燕,夏燕莉,等. 生长年限对七叶一枝花植株、根系、产量和皂苷含量的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(10):122-125.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.10.032

生长年限对七叶一枝花植株、根系、产量和皂苷含量的影响

陈铁柱¹, 文飞燕¹, 夏燕莉¹, 杨玉霞¹, 方清茂¹, 张 浩², 薛 丹²

(1. 四川省中医药科学院, 四川成都 610041; 2. 四川大学华西药学院, 四川成都 610041)

摘要:为研究种子繁殖的七叶一枝花中的植株、根系、产量和皂苷含量与其生长年限的关系,探索七叶一枝花的最适宜采收年限,对1~8年生七叶一枝花的植株生长、根系性状、产量性状进行测定;采用HPLC对不同年限七叶一枝花药材样品进行重楼皂苷Ⅶ、偏诺皂苷-3-O-β-D-葡萄糖(1→3)[α-L-鼠李糖(1→2)]-β-D-葡萄糖(PGGR)、重楼皂苷H、重楼皂苷Ⅵ、重楼皂苷Ⅱ、重楼皂苷Ⅰ、纤细薯蓣苷和重楼皂苷Ⅴ含量测定,用SPSS 22.0分析软件进行方差分析。随着年限的增长,七叶一枝花植株性状、根系性状、单株产量呈逐渐增长趋势。种植后5年是七叶一枝花快速生长期,从种植后6年开始生长放缓,尤其在种植后7、8年表现得更为明显;不同生长年限的药材中的重楼皂苷主要以偏诺皂苷为主;整体上,重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼皂苷含量呈现一个大致“V”字形的变化趋势。从生长规律来讲,用种子繁殖的实生苗在种植6年后可以采收;从质量角度来讲,并不是生长年限越高越好。

关键词:七叶一枝花;植株生长;根系性状;产量;皂苷含量;生长年限;HPLC;生长规律

中图分类号: S567.23⁺9.04 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)10-0122-04

七叶一枝花 [*Paris polyphylla* Smith var. *chinensis* (Franch.) Hara] 是2015年版《中国药典》收录的重楼药材的2种基原植物之一^[1],别称华重楼,属二级濒危物种。其根状茎入药,是传统的中藏彝傣医药体系常用的大宗药材,具有清热解毒、消肿止痛、凉肝定惊之功效,为云南白药系列产品、沈阳红药系列、季德胜蛇药片等20多个国家重点保护重要的主

要原料药。其供需矛盾尖锐、市场缺口巨大,导致野生资源遭遇掠夺式采挖,致使许多未达入药年限的药材资源被仓促采挖,药材质量下降。再者,七叶一枝花的人工规模化种植业尚未形成规模^[2-4],种源多来自野生混杂群体,在全国多数地区为从当地山上野生直接采挖移栽,由于野生生长年限不一,难以对栽培效果进行评价,种苗的混乱不堪更加剧了药材质量的参差不齐。

对于多年生重楼来讲,其药材质量受品种、产地和采收年限等多种因素的影响,已有研究证实随生长年限的增加,重楼地下根茎中甾体皂苷的含量呈现总体升高的趋势^[5-7]。而对七叶一枝花植株性状、根系发育、产量及皂苷成分含量动态研究尚不清楚,因此合理的采收年限尚不能确定。四川的龙门山脉地区是七叶一枝花的主产区,笔者在该地区构建了七叶一枝花种质资源圃,进行了摸索性试验研究。用种子繁育出大量的实生苗,已经连续进行了8年,得到了1~8年生的七叶一枝花植株和材料。本试验研究用种子繁殖的七叶一枝花的植株、

收稿日期:2016-12-02

基金项目:中央本级重大增减支项目(编号:2060302);四川省中医药管理局科技专项(编号:2010-46);四川省科技厅应用基础研究项目(编号:2016JY0081);四川省公益性科研院所基本科研业务专项(编号:2016YSKY0084);四川省科技厅科技扶贫专项(编号:2016NFP0073);四川省科技厅科技创新苗子工程项目(编号:2017RZ0051)。

作者简介:陈铁柱(1983—),男,吉林长春人,博士,副研究员,主要从事中药资源、栽培、品种与质量研究。E-mail:945734@qq.com。

参考文献:

- [1] 张世生. 竹林的开花枯死和恢复的办法[J]. 四川林业科技通讯,1977(4):19-21.
- [2] 周芳纯. 竹林培育学[M]. 北京:中国林业出版社,1998.
- [3] 徐昌荣,陈伟国. 鄞县较大面积淡竹开花[J]. 竹子研究汇刊,1992(1):97.
- [4] 范方礼,王雪东,谈丽华. 淡竹开花的原因与对策[J]. 南方林业科学,2006(5):51-53.
- [5] 袁晓亮. 雷竹花期生物学特性与花发育解剖学研究[D]. 杭州:浙江林学院,2007.
- [6] 李 洁. 孝顺竹的生殖生物学研究[D]. 南京:南京林业大学,2013.

- [7] 黄新红. 巨龙竹生殖生物学研究[D]. 昆明:西南林学院,2008.
- [8] 陆时万. 植物学(上册)[M]. 北京:高等教育出版社,1982.
- [9] Allred K W,李阳春. 禾本科植物花序的描述[J]. 国外畜牧学(草原与牧草),1984(1):23-26.
- [10] 耿伯介. 试论竹类的花序及其演变[J]. 植物科学学报,1986,4(4):323-336.
- [11] 张文燕,马乃训. 竹类植物花粉的生活力和自然授粉[J]. 林业科学研究,1990,3(3):250-255.
- [12] 林树燕,丁雨龙. 刚竹属3个竹种的开花生物学特性[J]. 林业工程学报,2007,21(5):52-55.
- [13] 林树燕. 鹅毛竹和异叶苦竹的生殖生物学研究[D]. 南京:南京林业大学,2009.
- [14] 刘 静. 月月竹开花生物学研究[D]. 南京:南京林业大学,2008.

根系、产量和皂苷含量与其生长年限的关系,明确七叶一枝花生长趋势曲线,探明皂苷类化学成分含量是否受到生长年限的影响,探索七叶一枝花最适宜的采收年限,为七叶一枝花规范化栽培的次生代谢调控与采收年限的确定提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药材来源 在四川省彭州市七叶一枝花种植基地于 2007—2014 年连续 8 年进行七叶一枝花实生苗的试验研究,实生苗经四川大学生药教研室张浩教授鉴定为七叶一枝花。基地海拔高度 1 020 m,位于 103.930°E、30.980°N,土壤为黑壤土。栽培过程中进行常规的田间管理。

1.1.2 仪器与试剂 岛津 LG-10A 高效液相色谱仪,DAD 检测器;DI810D 自动纯水蒸馏器。乙腈和甲醇均为色谱纯,水为双蒸水。重楼皂苷 I (111590-200402)、重楼皂苷 II (111591-200402)均购于中国药品生物制品检定所;重楼皂苷 VII、偏诺皂苷-3-O- β -D-葡萄糖(1 \rightarrow 3)[α -L-鼠李糖(1 \rightarrow 2)]- β -D-葡萄糖(PGGR)、重楼皂苷 H、重楼皂苷 VI、纤细薯蓣苷和重楼皂苷 V 这 6 个对照品都由笔者所在课题组提取分离所得,纯度超过 98%。

1.2 方法

1.2.1 植株形态、根系、单株产量数量性状的测定 于 2014

年 10 月中旬七叶一枝花地上部分停止生长后,在试验基地定株测定植株的株高、茎粗、叶片数、叶片长和叶片宽;同时采集地下根茎,其中 1 年生七叶一枝花植株 60 株,2~8 年生年限植株各 30 株,测定主根长、根茎直径、须根数、须根长、须根宽、鲜质量、干质量等数量性状。

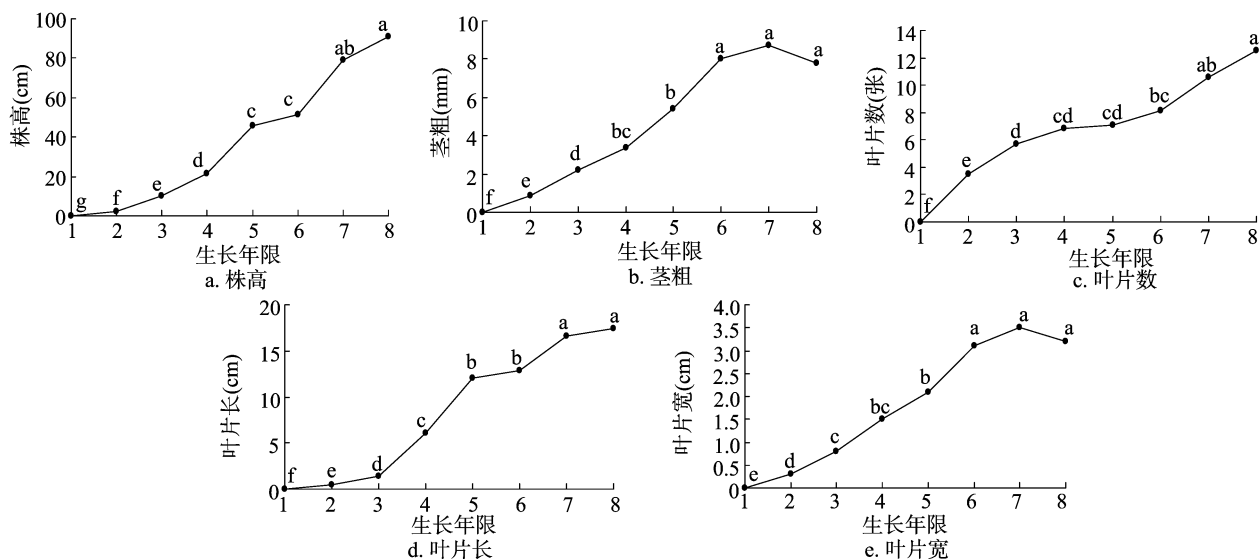
1.2.2 药材中皂苷类成分的测定 采集到的药材低温干燥后打粉过筛(40 目),应用 HPLC 法进行皂苷类成分的测定。色谱条件的确立、对照品和供试品溶液的制备、线性关系的考察、精密度试验、重复性试验、稳定性试验、加样回收试验、样品测定的具体方法见陈铁柱等介绍的方法^[8]。药材留样凭证标本存放于四川省中医药科学院标本室,所有样品均有原植物数码照片及原植物标本。

1.2.3 数据分析 方差分析使用 SPSS 22.0 数据处理软件。

2 结果与分析

2.1 生长年限对七叶一枝花植株性状的影响

不同生长年限七叶一枝花的株高、茎粗、叶片数、叶片长、叶片宽有显著差异(图 1)。随着年限的增长,株高不断增加;1~5 年生的茎粗增粗明显,随后的 3 年增粗不明显;叶片数随着年限不断增加,8 年生叶片数平均达 12.5 张;叶片长也在不断增长,其中 1~4 年生的叶片长增长明显;叶片宽在 1~5 年生前增宽明显,随后 3 年增宽不明显。



相同字母表示差异不显著($P>0.05$),不同字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

图1 不同生长年限七叶一枝花植株生长曲线

2.2 不同生长年限七叶一枝花的根系性状分析

不同生长年限七叶一枝花根系数据呈显著差异(图 2)。随着年限的增长,主根长逐渐增长,其中 1 年生和 2 年生、3 年生和 4 年生、5 年生和 6 年生、7 年生和 8 年生的主根长差异均不显著,但是每相隔 2 年其主根长差异均显著;主根直径随着年限的增长不断增大,但 5~8 年的主根直径增大差异不显著;须根数逐渐增多,其中 2 年生与 3 年生、5 年生和 6 年生、7 年生和 8 年生的须根数差异不显著;1~3 年生的须根长和须根直径差异不显著,须根直径从 4 年生开始每相邻的 2 年之间差异不显著(6~7 年生除外)。

2.3 不同生长年限七叶一枝花的单株产量分析

不同生长年限七叶一枝花的鲜质量、干质量、折干率、增质量倍数均差异显著(图 3)。1 年生和 2 年生、3 年生和 4 年生、6~8 年生的鲜质量差异不显著,随着年限的增长,根茎鲜质量在不断增加。1~3 年生的干质量差异显著,3 年生和 4 年生、6~8 年生的干质量差异均不显著,根茎干质量不断累积增长。1~3 年生的折干率差异显著,随后的 5 年折干率差异均不显著。5 年生的年增质量倍数要显著高于其他年生的增质量倍数,达到 7.1 倍左右。

2.4 不同生长年限七叶一枝花皂苷含量分析

不同年限的七叶一枝花药材中的皂苷含量的测定结果见表 1。1~8 年生的七叶一枝花药材中均没有检测到重楼皂苷

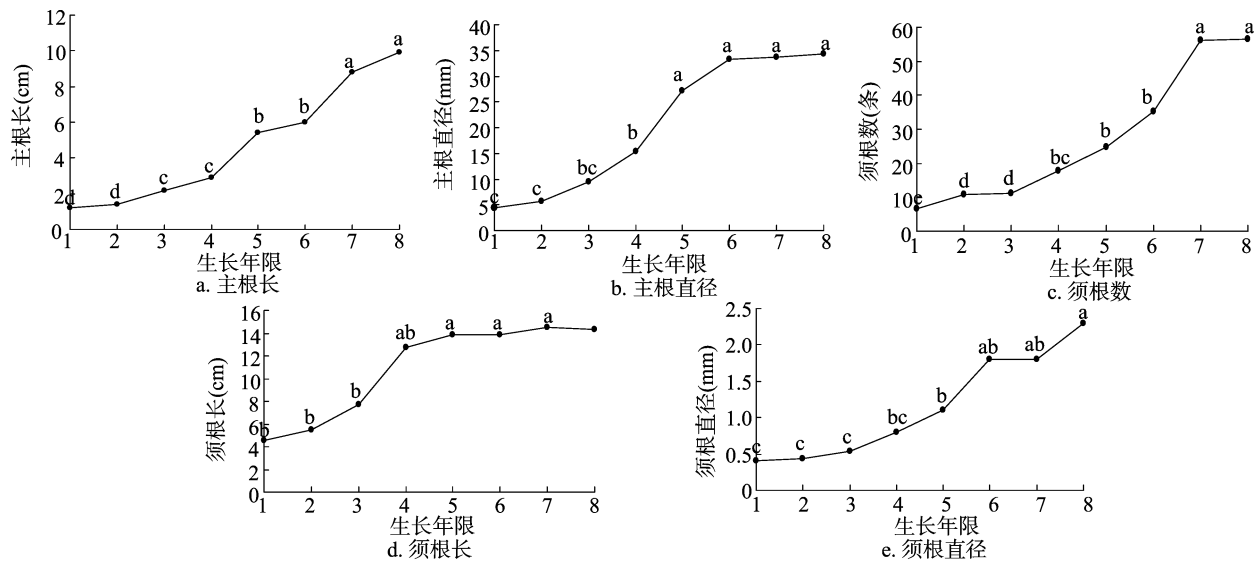


图2 不同生长年限七叶一枝花根系生长曲线

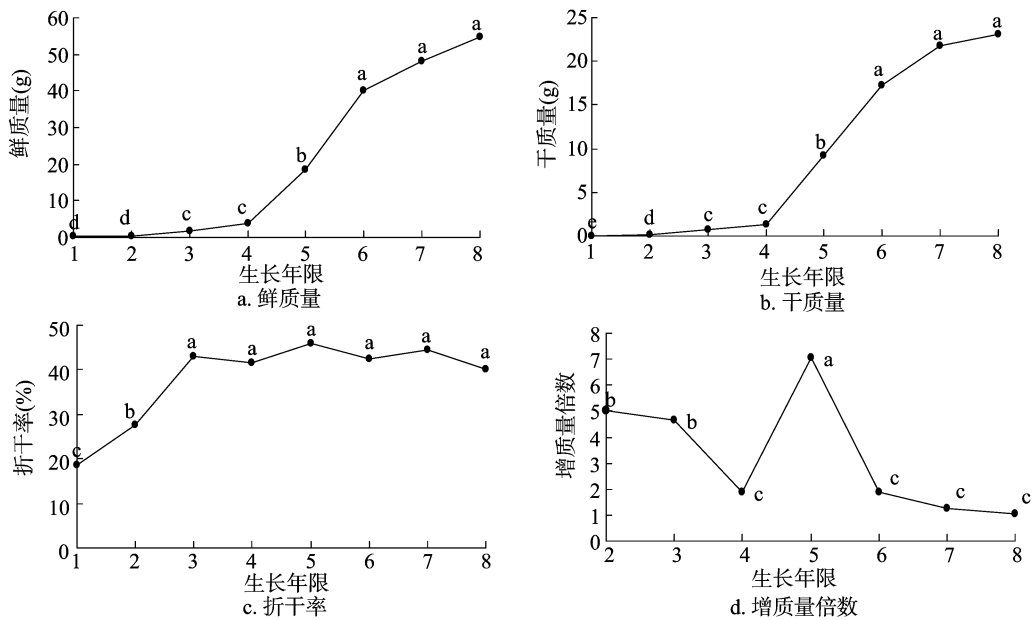


图3 不同生长年限七叶一枝花单株产量生长曲线

I;1~7年生七叶一枝花中均没有检测到皂苷Ⅱ、纤细薯蓣皂苷和重楼皂苷V,尽管8年生药材中检测到皂苷H、纤细薯蓣皂苷和重楼皂苷V,但含量甚微。从不同生长年限药材中的重楼皂苷I、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼总皂苷含量变化曲线(图4)可以看出,1~5年生的重楼皂苷I、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼总皂苷含量呈现逐年下降的趋势;5~8年生的重楼皂苷I、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼总皂苷含量逐年上升。

3 讨论与结论

3.1 不同生长年限的七叶一枝花植株性状、根系性状、单株产量分析

七叶一枝花作为历版《中国药典》收录的法定品种,但研究相对较少,前人研究基础薄弱。七叶一枝花是多年生植物,植株生长缓慢,生长年限较长,研究周期也比较长^[9-10]。同时七叶一枝花种子具有生理后熟和形态后熟的特征,自然条

件下至少2年后才能发芽,而且出苗后当年幼苗会长出主根和萌发的芽鞘,叶片也只有1张,要用于大田栽培至少要等到出苗后2~3年,可见育苗周期长。因此,现有关七叶一枝花的实生苗的相关报道非常有限。本试验对用种子繁殖的1~8年不同生长年限的七叶一枝花植株进行了研究,得到了1~8年的生长变化曲线。结果显示,随着年限的增长,七叶一枝花植株性状、根系性状、单株产量数据呈逐渐增长的趋势。其中,5年生的七叶一枝花单株质量增质量倍数要显著高于其他年生,达到7.1倍左右,说明种植后5年是七叶一枝花快速生长期。

但6、7、8年生之间的茎粗、叶片宽、主根直径、须根数和须根长之间的差异不显著,尤其是7年生和8年生植株的株高、茎粗、叶片数、叶片长、叶片宽、主根长、根茎直径、须根数、须根长、须根宽、鲜质量、干质量没有显著差异。说明从种植后6年开始,七叶一枝花植株生长开始放缓,尤其在7年生和8年生表现得更为明显,其8年生七叶一枝花平均每株干质

表 1 不同生长年限对七叶一枝花 8 种重楼皂苷含量的影响

生长年限	各重楼皂苷含量(%)									总皂苷
	重楼皂苷Ⅶ	PGGR	重楼皂苷 H	重楼皂苷Ⅵ	重楼皂苷Ⅱ	纤细薯蓣皂苷	重楼皂苷Ⅰ	重楼皂苷Ⅴ	I + Ⅱ + Ⅵ + Ⅶ	
1	0.755	—	0.126	—	—	—	—	—	0.755	0.880
2	0.556	—	0.029	0.008	—	—	—	—	0.564	0.593
3	0.178	0.001	0.062	0.008	—	—	—	—	0.186	0.249
4	0.201	—	0.047	—	—	—	—	—	0.201	0.248
5	0.045	—	0.032	—	—	—	—	—	0.045	0.077
6	0.060	0.028	0.078	—	—	—	—	—	0.060	0.165
7	0.192	0.009	0.081	—	—	—	—	—	0.192	0.281
8	0.397	0.518	0.313	—	0.001	0.074	—	0.004	0.398	1.307

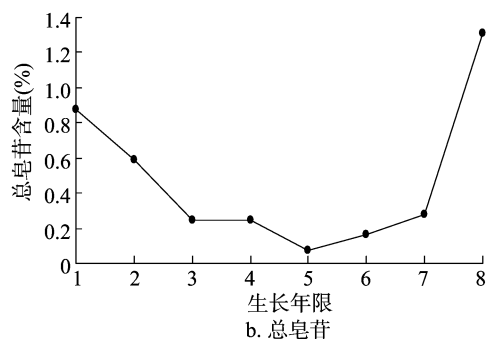
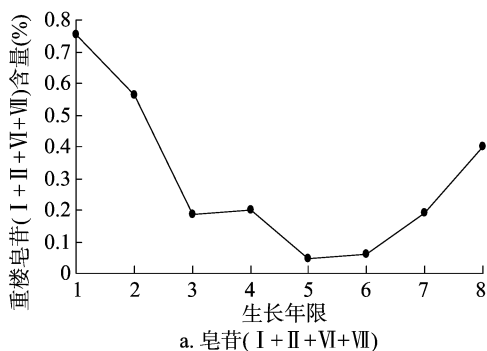


图4 不同生长年限七叶一枝花的重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼总皂苷含量变化曲线

量达到 23.1 g,其质量与中药材市场上流通的中小规格的重楼质量相近。因此,用种子繁殖的实生苗,可在种植 6 年后进行采收。同时,建议继续深入开展七叶一枝花根茎种苗繁育及栽培技术研究,进行更长生长年限的研究,确定其更完善的技术体系,从而保障七叶一枝花栽培的技术的成熟度,实现规范化栽培。

3.2 不同生长年限的七叶一枝花药材中的皂苷种类和含量分析

生长年限为影响七叶一枝花药材质量的重要因素之一,搞清楚七叶一枝花化学成分含量随年限的变化规律,对其合理采收种植有很大意义。本研究连续测定了 1~8 年生的七叶一枝花药材中的皂苷类成分含量,结果发现,不同生长年限的七叶一枝花中重楼皂苷主要以偏诺皂苷为主,几乎没有检测到薯蓣皂苷成分重楼皂苷Ⅱ、纤细薯蓣皂苷、重楼皂苷Ⅰ和重楼皂苷Ⅴ。整体上看,重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼总皂苷含量呈现一个大致“V”字形的变化趋势,即 1~5 年生重楼皂苷含量逐年下降,可能由于这 5 年属于七叶一枝花的快速生长期(从单株根茎干质量的增质量比率也可以看出是快速增长期),随年限的增长,体内积累淀粉等物质呈倍数显著增长,从而导致其皂苷含量逐渐降低;从种植后 5 年开始,根茎干质量增质量倍数降低,体内淀粉等物质含量增速放缓,从而导致其皂苷含量逐渐升高。

七叶一枝花的皂苷类成分含量随生长年限的变化而变化,大部分皂苷类含量并不是随着生长年限的增长而不断增加,6 年生的重楼皂苷Ⅰ、Ⅱ、Ⅵ、Ⅶ的总量和重楼皂苷总含量反而不如 4 年生,从这个角度看 4 年生七叶一枝花质量较 6 年生更好。所以,从质量角度来讲,并不是生长年限越长越好。所有生长年限的药材样品中,均检测到重楼皂苷Ⅶ和重

楼皂苷 H,作为《中国药典》考察的成分指标重楼皂苷Ⅶ,其含量从种植后 1 年一直连续下降到种植后 4 年,从种植后 5 年开始连续上升到种植后 8 年,种植 8 年之后是否还会继续上升有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:化学工业出版社,2015:260.
- [2] 陆 辉,许继宏,陈锐平,等. 云南重楼属植物资源现状与保护对策[J]. 云南林业,2006,28(S1):307-310.
- [3] 李 恒,苏 豹,张兆云,等. 中国重楼资源现状评价及其种植业的发展对策[J]. 西部林业科学,2015,44(3):1-7,15.
- [4] 陈铁柱,林 丹,汪 瑶,等. 四川省具有子根茎重楼的资源调查及品质研究[J]. 安徽农业科学,2015,43(23):82-85.
- [5] 李燕敏,丁立帅,王晶晶,等. 基于茎痕判定的不同生长年限重楼药材中皂苷含量分析[J]. 中国实验方剂学杂志,2016,22(12):42-46.
- [6] 刘立敏,赵志莲,韩 多,等. 不同生长年限滇重楼干物质积累量及活性成分的积累规律考察[J]. 中国医药工业杂志,2016,47(6):706-710.
- [7] 赵庭周,王卜琼,马 青,等. 滇重楼采收期研究[J]. 中国野生植物资源,2014,33(5):61-63,66.
- [8] 陈铁柱,文飞燕,张 涛,等. 华重楼子根茎种苗规格对植株生长,根系,产量,质量影响研究[J]. 时珍国医国药,2016,27(9):2259-2262.
- [9] 王 岚,张宇斌,李建新. 不同栽培基质对七叶一枝花光合特性、生理特性的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(1):216-219.
- [10] 梁 娟,易 涛,叶 漪. 遮阴对七叶一枝花光合特性及皂苷含量的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(4):265-267.