

生态因子对绞股蓝总皂甙含量影响的研究

湖北大学生命科学系(武汉 430062) 王万贤* 杨毅 邓铭 柯文山 定明芹
武汉市医学科学研究所 戴为革

摘要 设计以不同光照强度和 pH 值等生态因子栽培绞股蓝,当相对照度为 39.85%~80.39% 时,为绞股蓝生长发育适宜光照,尤以相对照度为 64.93%~74.51%时,干物质积累最多,总皂甙含量最高,果实和种子量最大;当相对照度>80%或<40%时,干物质积累大幅度下降,总皂甙含量较低,且当年不能开花结果。在 pH 值为 5.5~8.0 的完全培养液(MS)中,绞股蓝茎段均能成活,而以 pH 值为 6.5~7.0 时生长发育最佳,并于秋天开花结果,总皂甙含量较高;而在 pH 值<5.5 或>8.0 时,其插条先后枯黄而死。

关键词 绞股蓝总皂甙 光照强度 pH 值

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. 为葫芦科绞股蓝属植物。目前,国内外学者已从该植物中分离出 84 种总皂甙,总皂甙含量高者达 13.6%,其中 6 种与人参皂甙相同,还有许多绞股蓝皂甙水解产生的次级甙、甙元和次级甙元与人参皂甙水解产物相同,并已证明其优良株系中人参皂甙的含量高于人参中的对应成分^[1],是迄今为止在五加科以外发现含人参皂甙的唯一植物,被誉为“南方人参”。经药理和临床试验显示其具有类似人参抗疲劳、抗衰老等作用,对治疗多种癌症有一定疗效^[2],并且副作用小,作用缓和等优点^[3],其新产品层出不穷。为了保证原料供应,许多地区都在进行人工栽培。为了掌握绞股蓝生长发育的最适条件,探讨人工栽培绞股蓝的质量,本文将我们进行生态因子中的光照强度与 pH 值对绞股蓝影响的初步研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 光照强度对绞股蓝总皂甙含量影响的供试材料的培育:选取长势一致的绞股蓝扦插苗,植入高 20cm,直径 30cm 的花钵(盛有等量、混合均匀的菜园土和渣肥,两者比例为 7:3)中,每钵植入绞股蓝苗 4 株(♀3,♂1),重复 2 组。用厚白布、薄白布、白纱布、白色尼

龙窗纱和镀锌粗、细铁丝网罩住花钵,造成 9 种不同光照强度。按全光照为 100%光强折算,罩内相对照度依次为(%):85.27、80.39、74.51、64.93、49.92、39.85、24.84、11.35 和 7.98(用 ST-80B 照度计测定)。晴天,每日傍晚用喷壶浇水一次。从遮光后 3 个月起,每隔一个月取样测茎粗、节间长、中叶长、中叶宽、总叶柄长和干重。于 11 月上旬收割全部地上部分,并观察记载长势、开花、结果情况,并用红墨水染色法测定种子发芽率,用全株干重为基数测定总皂甙含量。

1.2 pH 值对绞股蓝总皂甙含量影响的供试材料的培育:选取长势一致的藤蔓,截取其中段,每段 3 节,分别扦插于培养缸中进行液体培养,每缸 3 段(♀2,♂1),两组重复,置网房的水泥台上。用 H₂SO₄ 和 NaOH 调整完全培养液(MS)的酸碱度,使之形成从 pH3.5~10.5 的等差系列,定期更换培养液和观察记载。于 11 月上旬收取成活植株,用全株干重为基数测定总皂甙含量。

1.3 绞股蓝总皂甙含量的测定方法:供试材料中绞股蓝总皂甙的鉴定及含量测定参照文献^[4,5]分析人参皂甙的方法。将同一时间收获的全株,分别称鲜重,在 80℃烘箱中烤干 4h,研磨,过 60 目标标准筛,制成粗粉。精密称取粗

* Address: Wang Wanxian, Department of Life Sciences Hubei University, Wuhan

粉 0.5g,置 50ml 磨口具塞圆底烧瓶中,精确加入甲醇 25ml,摇匀,称重,冷浸过液后在恒温水浴加热微沸 6h。滴加甲醇至原重,离心,吸取上清液置磨口具塞刻度试管中备用。绞股蓝总皂甙的分离采用 D 型大孔树脂吸附法。吸附柱直径为 1cm。用微量进样器吸取上述供试绞股蓝粗粉的甲醇提取液 200 μ l,加入吸附柱顶端,用 20ml 蒸馏水从上端冲洗吸附柱,然后改用 20ml 70%的乙醇洗脱,洗脱液全部收集至具刻度试管中,挥干乙醇。加 5%香荚兰醛-冰醋酸试剂 0.2ml,高氯酸 0.8ml,于 60 $^{\circ}$ C 恒温水浴中加热 15min,立即冷却,加 5ml 冰醋酸稀释,摇匀,于波长 560nm 处比色测定。由人参二醇的微克数(A),利用下式计算含量:

$$\text{生药中总皂甙含量}(\%) = \frac{A \times 2.5 \times 100}{W}$$

其中:W:点样量相当于生药微克数。2.5:R_b组皂甙平均分子量与人参二醇分子量之比

表 1 光照强度对绞股蓝生长发育和总甙含量的影响

相对照度(%)	干物质累积量(g/株)	茎均粗(mm)	节间均长(cm)	中叶均长(cm)	中叶均宽(cm)	总叶柄均长(cm)	果实数(个/株)	种子数(粒/株)	种子发芽率(%)	总甙含量(%)
85.27	39.13	2.14	2.34	3.91	1.42	3.87	154	301	94	3.22
80.39	51.42	2.89	2.71	4.24	1.59	4.29	157	309	95	3.31
74.51	93.60	2.87	3.10	4.35	1.62	4.31	163	317	100	3.87
64.93	114.56	2.85	3.28	4.81	1.96	4.96	159	315	100	3.92
49.92	85.71	2.20	3.40	5.27	2.05	5.58	118	218	93	3.18
39.85	52.57	1.51	4.12	5.78	2.24	5.92	31	53	81	2.97
24.84	31.62	1.28	4.43	6.01	2.39	6.17	0	0	0	2.51
11.35	11.13	1.19	5.08	6.21	2.59	6.51	0	0	0	2.32
7.98	8.58	1.03	5.48	6.39	2.60	7.36	0	0	0	2.11

当相对照度 \geq 39.85%时,当年栽培的绞股蓝均能开花结果,形成发育完全的种子,而以相对照度在 64.93%~74.51%之间时,结果最多,种子量最大,发芽率最高;当相对照度 \geq 64.93%时,不同光照梯度下绞股蓝的果实和种子量以及种子发芽率虽显示一定差异,但却相互接近;当相对照度 \leq 24.84%时,则当年均未开花结果。

2.2 生态因子中 pH 值对绞股蓝生长发育的影响:绞股蓝茎段扦插在 pH 值为 5.5~8 的培养液中均能成活,但以 pH6.5~7.0 培

标准曲线制作方法和条件同测定总皂甙的方法和条件。人参二醇标准品购自卫生部药品生物制品检定所,绞股蓝总皂甙标准品由湖南省中医药研究院李若存同志提供。

2 结果与讨论

2.1 生态因子中光照强度对绞股蓝生长发育的影响:试验结果表明,当相对照度为 40%~80%时,绞股蓝生长发育较好,而以相对照度在 65%左右时绞股蓝的干物质积累最多。当相对照度低于 40%时,干物质积累大幅度下降;当相对照度高于 85%时,绞股蓝生长缓慢,干物质积累量也呈明显下降趋势,且茎蔓纤细,叶片小而多毛。当相对照度在 40%~80%之间时,绞股蓝地上茎的节间长、中叶长与宽、总叶柄长,随光照强度的增强而递减,呈负相关,而茎粗则随光照强度的加强而递增,呈正相关(表 1),且角质化、木质化程度也呈增强趋势(横切面观)。

养液中的生长发育最好,扦插后 27d 检查,生不定根 23~29 根/株,分枝 1~3 条/株,展新叶 3~11 片/株;继续培养,均于秋天开花结果。当 pH $<$ 5.5 或 $>$ 8 时,其插条则先后枯黄而死(表 2)。绞股蓝适生于 pH6.5~7.0 的中性或微酸性生境,人工栽培繁育绞股蓝时,其栽培基质的酸碱度不可 $<$ 5.5 或 $>$ 8。这与我们对自然分布的绞股蓝生境中土壤 pH 值的调查、测定情况相吻合。

2.3 供试材料中绞股蓝总皂甙的定性分析:通过薄层层析,发现所有供试绞股蓝总皂甙

均与对照品呈现明显而等 R_f 值的 7 个斑点(图)。说明生态因子中无论光照强度的变化,还是 pH 值的改变对绞股蓝总皂甙的成分均未产生大的影响。

表 2 pH 值对绞股蓝生长发育和总皂甙含量的影响

pH 值	根长 (cm/d)	根数 (根/d)	株高 (cm/d)	分枝数 (条/d)	叶数 (片/d)	总甙含量 (%)
5.5	0.18	0.33	0.07	0	0.02	1.57
6.0	0.20	0.84	0.53	0.03	0.21	2.31
6.5	0.31	0.91	0.60	0.07	0.34	2.73
7.0	0.37	1.13	0.62	0.06	0.36	2.61
7.5	0.42	1.51	0.24	0.02	0.10	2.20
8.0	0.29	0.72	0.01	0.01	0.05	1.59

注:当 pH<5.5 或>8 时插条逐渐死亡,所测数据未列入。

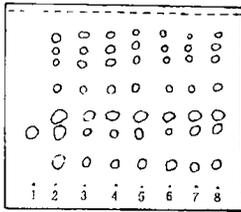


图 薄层层析图谱

1-人参二醇标准品 2-绞股蓝总皂甙 3-7.98%光照品 4-64.93%光照品 5-85.27%光照品 6-pH5.5 品 7-pH7 品 8-pH8.0 品
薄层吸附剂:硅胶 G,湿法铺板,105℃烤 30min
展开剂:正丁醇-醋酸-水(4:1:5)
显色剂:饱和碘蒸气

2.4 生态因子对绞股蓝总皂甙含量的影响:从表 1 可知,当相对照度在 65%左右时,绞股蓝总皂甙含量最高,而当相对照度低于 50%或高于 85%时,绞股蓝总皂甙含量均呈降低趋势。但由于相对照度高于 85%时绞股蓝生长缓慢,低于 40%时,干物质积累量大大幅度下降,而在 65%左右时,干物质积累量最多。由此推论,单位面积上收得较多总皂甙产量的最宜光照为 65%~75%。又从表 2 可知,当培养基 pH 值为 6.5~7.0 时,绞股蓝

总皂甙含量较高,低于 6.5 或高于 7.0 时,其含量均呈下降趋势;而在 pH6.5~7.0 时,植株最长,分枝数最多,叶片数最大,因此,在栽培以收获地上部分为产品的多年生绞股蓝时,土壤 pH 值应调整到 6.5~7.0 之间为宜。

3 小结

3.1 绞股蓝属阴性植物,适于林下栽培和高秆农作物间作。林下栽培或间作时,其相对照度应稳定在 40%~80%之间,并应尽可能造成相对照度为 65%~75%的光照条件,以获得高产、优质的绞股蓝生药材和种子,从而可大大提高立体栽培的综合经济效益和生态效益、社会效益。

3.2 绞股蓝对生境 pH 的适应范围较宽。人工栽培绞股蓝时,土壤最适 pH 为 6.5~7.0,也可在 pH5.5~8 的生境中生长,但土壤和 pH 不应<5.5 或>8。这与文献报道大致吻合^[6,8]。

3.3 生态因子中的光照强度、pH 值变化对绞股蓝总皂甙成分未发现其影响;但对绞股蓝的生长发育、干物质的积累和总皂甙含量的影响较大。因此,人工栽培绞股蓝时,尽可能地选择与造就最宜生态条件是完全必要的。

致谢:湖北大学生命科学系郭文源、杨毅、陈建平同志参加部分试验工作。

参考文献

- 覃章铮,等.天然产物研究与开发,1992(1):83
- 公开特许公报(日)昭 58-59921
- US Patent 1982. 4339442
- 王慕邹,等.药学学报,1979,14(5):311
- 章观德,等.药学学报,1980,15(3):175
- 邢泽田.陕西中医医学报,1985,8(1):39
- 方涌泉,等.中药材,1987(4):6
- 阎善行.农村科学,1987(3):14

(1995-03-23 收稿)

*
* 欢迎订阅 1997 年《中草药》杂志 *
*
