

· 中药农业 ·

黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉研究[△]

侯蕾, 王运涛, 范仲学, 赵术珍, 李长生, 王兴军*

(山东省农业科学院 生物技术研究中心/山东省作物遗传改良与生态生理重点实验室, 山东 济南 250100)

[摘要] **目的:** 研究黄河三角洲地区种植管花肉苁蓉的可行性。**方法:** 用挖沟接种方法, 在黄河三角洲盐碱地引种管花肉苁蓉, 调查管花肉苁蓉接种率和生长状况; 收获种子, 用氟啶酮预处理, 测定种子萌发率; 利用色谱法分析黄河三角洲所产的管花肉苁蓉中松果菊苷和毛蕊花糖苷的含量。**结果:** 管花肉苁蓉能在黄河三角洲地区正常生长、开花、结实, 完成生活史。黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉的接种率为 81.9%, 管花肉苁蓉生长状况良好, 能正常开花结果; 收获种子的萌发率在 46~63% 之间; 肉苁蓉中松果菊苷和毛蕊花糖苷含量之和为 22.1%, 符合药典规定。**结论:** 在黄河三角洲盐碱地引种管花肉苁蓉获得成功, 生产的管花肉苁蓉指标成分符合药典要求。

[关键词] 管花肉苁蓉; 黄河三角洲; 山东省; 柽柳; 接种

Study on Feasibility Inoculating *Cistanche tubulosa* to Wild *Tamarix chinensis* in Yellow River Delta

HOU Lei, WANG Yun-tao, FAN Zhong-xue, ZHAO Shu-zhen, LI Chang-sheng, WANG Xing-jun*

(Biotechnology Research Center, Shandong Academy of Agricultural Sciences/Shandong Provincial Key Laboratory on Crop Genetic Improvement, Ecology and Physiology, Jinan 250100, China)

[Abstract] **Objective:** To analyze the feasibility of planting *Cistanche tubulosa* in Yellow River Delta. **Methods:** *C. tubulosa* to the wild *Tamarix chinensis* in Yellow River Delta was inoculated using trenching inoculation, then the inoculation rate and growth status of *C. tubulosa* was investigated. The seeds from the mature inflorescence was harvested and the seeds germination rate after pretreatment with fluoride were investigated. The content of echinacoside and verbascoside in the *C. tubulosa* was analyzed by means of chromatography. **Results:** These results indicated that *C. tubulosa* could ensure normal growth, flowering, fruiting, and complete its lifecycle in the Yellow River Delta region. The inoculation rate of *C. tubulosa* was 81.9%, seed germination rate was between 46~63%. The content of echinacoside and verbascoside together was 22.1%. **Conclusion:** This study successfully inoculated *C. tubulosa* to the wild *T. chinensis* in Yellow River Delta. The content of echinacoside and verbascoside meets the requirement of the Chinese Pharmacopoeia.

[Keywords] *Cistanche tubulosa*; Yellow River Delta; Shandong Province; *Tamarix chinensis*; inoculation

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20171024001

管花肉苁蓉 *Cistanche tubulosa* (Schenk) Wight 属于列当科肉苁蓉属多年生寄生植物, 分布于我国新疆南疆地区, 2005 年被药典收载, 作为肉苁蓉药材的基源植物之一, 有补精血、益肾壮阳、润肠通便之功效^[1-2]。

为保护管花肉苁蓉野生资源, 满足市场对管花肉苁蓉的需求, 从二十世纪初开始了管花肉苁蓉人工接种技术的研究^[3-6]。尽管有多地报道引

种管花肉苁蓉成功, 但是未见异地完成生育周期的报道。本研究团队于 2014 年在黄河三角洲野生柽柳上接种管花肉苁蓉获得成功^[6]; 接种成功的管花肉苁蓉于 2016 年开花结籽。本文调查了黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉的接种率; 并对接种成功的管花肉苁蓉的品质及种子质量做了评价, 以期黄河三角洲引种管花肉苁蓉的可行性提供技术支持。

[△] [基金项目] 国家引进境外技术管理人才项目

* [通信作者] 王兴军, 研究员, 研究方向: 植物生物技术与作物栽培; Tel: (0531)83179470, E-mail: xingjunw@hotmail.com

1 材料与方法

1.1 试验材料和仪器

Agilent 1100 HPLC 色谱仪, 二极管阵列检测器 (DAD), 四元低压梯度泵, 真空脱气机, 柱温箱, 自动进样器。乙腈为色谱纯, 水为二次重蒸水。松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品购自中国药品生物制品鉴定所, 纯度大于 98%。

试验在山东省昌邑市野生柽柳 *Tamarix chinensis* Lour 林进行。土壤类型为盐潮土, 试验田土壤的水解性氮、有效磷、速效钾含量分别为 11.26、9.01 和 126 mg·kg⁻¹, 土壤呈碱性, pH 值为 8.76。

1.2 方法

1.2.1 管花肉苁蓉接种方法 管花肉苁蓉的接种方法, 按照野生柽柳生长的位置, 距离柽柳主干约 25 cm 处, 挖宽 20 cm, 深 40 cm 的沟; 按照每 667 m² 120 g 的种子重量播种。播种后回填土约 20 cm, 浇水; 然后把所有的土回填并踩实^[7]。

1.2.2 接种率计算方法 于接种沟上随机挖取 30 穴, 重复 3 次, 发现肉苁蓉植株即为接种成功; 否则没有成功。计算公式为:

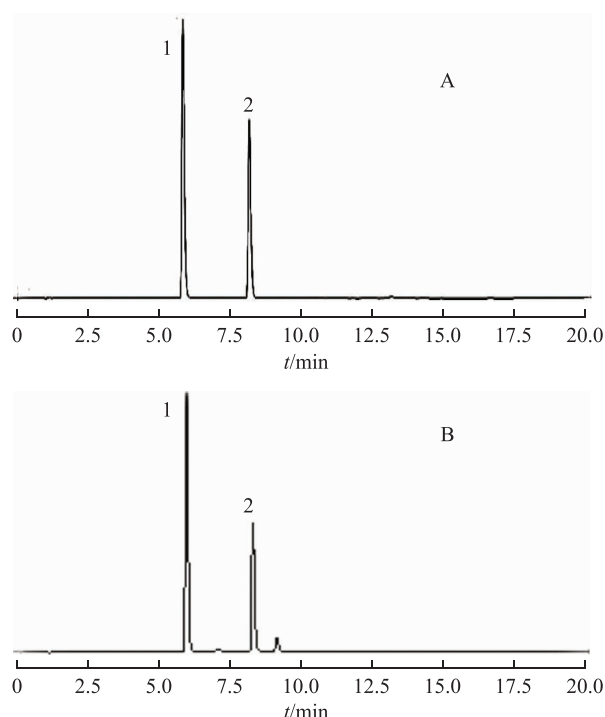
$$\text{接种率} = \frac{\text{接种成功的穴数}}{\text{挖的总穴数}} \times 100\%$$

1.2.3 松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品溶液的制备 精密称取松果菊苷和毛蕊花糖苷对照品适量, 置棕色瓶中, 加 60% 甲醇配制成浓度分别为 0.5 mg·mL⁻¹ 的混合液, 摇匀, 即可。

1.2.4 供试溶液的制备 精密称取管花肉苁蓉粉末 (过 60 目筛) 1.0 g, 置 100 mL 棕色容量瓶中, 精密加入 60% 甲醇 50 mL, 密塞, 摇匀, 称定质量, 浸泡 0.5 h 后超声处理 40 min, 取出, 冷却后再次称量, 用 60% 甲醇补足减少的质量, 摇匀, 静置, 取上清液用 0.2 μm 微孔滤膜滤过, 作为测定松果菊苷、毛蕊花糖苷的供试样品。

1.2.5 松果菊苷和毛蕊花糖苷的色谱条件 色谱柱 Capcell core C18 (150 × 2.1 mm, 2.7 mm); 流动相: 乙腈-0.1% 甲酸水洗脱, 按乙腈-0.1% 甲酸 (10:90), 7 min 内换成 20:80, 保持 8 min, 甲醇-0.1% 甲酸 (10:90) 冲洗柱子 5 min; 体积流量为 0.4 mL·min⁻¹; 进样量 5 μL; 检测波长为 330 nm; 柱温 35 ℃;

理论塔板数按松果菊苷峰计应不低于 3000, 见图 1。



注: 1. 松果菊苷; 2. 毛蕊花糖苷

图 1 松果菊苷对照品和毛蕊花糖苷对照品 (A) 和管花肉苁蓉样品 (B) 的 HPLC 图

1.2.6 种子萌发率测定方法 种子用 70% 酒精消毒 30 s 后, 0.1% 次氯酸钠消毒 15 min, 无菌水洗涤 3~5 次, 备用。取内衬 2 层滤纸、直径为 9 cm 的无菌培养皿, 先加入 10 mg·L⁻¹ 氟啶酮 6 mL, 随后随机取已消毒的种子 100 粒, 放入其中, 封口膜密封, 置于 25℃ 培养箱, 黑暗培养, 24 d 后检查结果, 重复 3 次^[8]。

2 结果与分析

2.1 黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉

接种率是衡量接种成功与否的重要指标之一, 本实验于 2014 年秋季在昌邑野生柽柳林接种管花肉苁蓉, 2015 年春季调查接种率。由表 1 可知, 不同试验小区的平均接种率为 81.9%, 其中最高的高达 86.7%, 最低的接种率也达到了 78.9%。因此, 以接种率为衡量指标, 黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉成功。2016 年 5 月份观察发现, 部分管花肉苁蓉已经开花结实 (图 2), 其花序的总长度可达

90 cm, 我们的实验结果表明, 管花肉苁蓉在黄河三角洲地区可以完成其生活史。

表 1 黄河三角洲野生柽柳管花肉苁蓉的接种率

试验小区序号	接种率 (%)	平均接种率 (%)
1	86.7 ± 2.7	81.9 ± 3.2
2	80 ± 2.7	
3	78.9 ± 4.2	



图 2 管花肉苁蓉花序

2.2 黄河三角洲野生柽柳接种的管花肉苁蓉品质分析

本研究对国家药典规定的指标性成分进行了测定(表 2)。结果表明, 黄河三角洲野生柽柳接种的管花肉苁蓉松果菊苷和毛蕊花糖苷含量分别为 16.5% 和 5.6%, 两者含量之和为 22.1%, 远远大于药典规定的不少于 1.5%^[9]。因此, 黄河三角洲野生柽柳接种的管花肉苁蓉的指标成分含量符合国家药典标准。对管花肉苁蓉干片进行含水量和浸出物分析, 结果表明, 含水量为 6.7%, 稀乙醇浸出物含量为 32.6%。

表 2 黄河三角洲盐碱地生产的管花肉苁蓉指标性

样品名称	成分含量		
	松果菊苷 (%)	毛蕊花糖苷 (%)	松果菊苷 + 毛蕊花糖苷 (%)
管花肉苁蓉	16.5 ± 0.4	5.6 ± 0.2	22.1 ± 0.3

2.3 黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉的种子质量分析

黄河三角洲野生柽柳成功接种管花肉苁蓉, 接种成功并不代表引种成功。只有其能完成生活史, 实现自我繁殖, 才能称为引种成功。因此, 本研究对黄河三角洲野生柽柳接种的管花肉苁蓉种子的发芽率进行了测定, 萌发率在 46 ~ 63% 之间。因此, 黄河三角洲野生柽柳接种管花肉苁蓉能实现自我繁殖。

3 讨论和结论

3.1 黄河三角洲盐碱地成功引种管花肉苁蓉

管花肉苁蓉是否能异地种植一直是肉苁蓉专家探讨的一个问题。一些专家认为, 管花肉苁蓉可以异地种植, 依据是管花肉苁蓉在内蒙古、河北省和山东省接种成功^[4,5]; 另一些专家则持不同的观点, 依据是管花肉苁蓉种植到异地后, 未见完成生活史的报道, 相反, 有异地引种接种的管花肉苁蓉腐烂现象比新疆道地产区腐烂现象严重的报道^[10]。本文作者认为, 首先应该把接种成功和引种成功区分开: 只要接种后肉苁蓉的接种率高, 就可以认为接种成功。但是, 因为肉苁蓉没有完成生活史, 不能称为引种成功。引种成功不仅要有高的接种率, 而且肉苁蓉能够在引种地完成其生活史。

本研究结果中, 黄河三角洲野生柽柳挖沟法接种管花肉苁蓉有较高接种率与前人的研究结果相似^[4,5], 说明黄河三角洲盐碱地野生柽柳接种肉苁蓉成功。我们的实验进一步表明了, 黄河三角洲柽柳生产的管花肉苁蓉能够完成生活史, 从而证明了黄河三角洲盐碱地成功引种管花肉苁蓉。

3.2 黄河三角洲野生柽柳生产的管花肉苁蓉指标成分符合药典要求

黄河三角洲盐碱地成功引种管花肉苁蓉, 为管花肉苁蓉种质资源异地保存奠定了基础。本研究测定了黄河三角洲生产的肉苁蓉的指标性成分的含量。结果表明, 松果菊苷和毛蕊花糖苷含量之和远远高于药典要求。因此, 黄河三角洲野生柽柳生产的管花肉苁蓉指标性成分符合国家药典要求。本文的研究结果表明, 黄河三角洲盐碱地野生柽柳接种管花

肉苁蓉的接种率高、品质好并且能完成自我繁殖。因此,利用黄河三角洲盐碱地野生怪柳接种和生产管花肉苁蓉是可行的。

山东省潍坊市昌邑北部沿海地带的黄河三角洲莱州湾分布有天然怪柳林 2000 多公顷,是我国唯一以怪柳为主要保护对象的国家级海洋生态特别保护区,但是受自然因素和人为干扰的影响,怪柳林分质量不断下降,低效怪柳林面积逐步扩大^[11]。该地区天然怪柳林成功接种管花肉苁蓉,实现以药养林,为本地区建设怪柳林示范区及国家级海洋生态保护区提供了新思路。

参考文献

- [1] 王文采,潘开玉,张志耘. 中国植物志:第 69 卷[M]. 北京:科学出版社,1990:82-89.
- [2] 田海舟,赵忠久,周新和,等. 管花肉苁蓉生物学特性研究[J]. 新疆农业科技,2004(5):34-35.
- [3] 刘铭庭,刘兵,刘军. 红柳大芸人工栽培与推广//第二届肉苁蓉暨沙生药用植物学术研讨会论文集[C]. 中国药学会,2002.
- [4] 李天然,曹瑞,马虹,等. 管花肉苁蓉(*Cistanche tubulosa*)在内蒙古栽培成功[J]. 中国野生植物资源,2002,21(5):54.
- [5] 杨太新,杜艳华,刘金娜,等. 管花肉苁蓉不同生长时间和部位的有效成分含量分析[J]. 时珍国医国药,2014(5):1191-1193.
- [6] 王运涛,王兴军. 山东省东营怪柳接种管花肉苁蓉获得成功[J]. 山东农业科学,2015,47(8):157-157.
- [7] 屠鹏飞,陈庆亮,姜勇,等. 管花肉苁蓉及其寄主怪柳栽培技术[J]. 中国现代中药,2015,17(4):349-358.
- [8] Chen Q L, Jiang Y. A convenient and accurate seed germination assay for root parasitic plants[J]. SEED SCI TECHNOL, 2016, 44(1):2012-217.
- [9] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[S]. 北京:中国医药科技出版社,2010:126.
- [10] 杨太新,王华磊,郭玉海,等. 华北平原管花肉苁蓉寄生环境研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(17):1380-1383.
- [11] 夏江宝,刘玉亭,朱金方,等. 黄河三角洲莱州湾怪柳低效次生林质效等级评价[J]. 应用生态学报,2013,24(6):1551-1558.

(收稿日期 2017-10-24)