

方药纵横

陕西略阳猪苓发展评价*

李晓东 马永升 朱依娜 杜 强 付玉平 毋建民 马 丹 柏文科
(略阳县中药材技术推广服务中心,陕西 略阳 724300)

摘 要:通过对略阳猪苓深入研究和生产实践,实现了猪苓由野生、半野生变人工种植的突破,改变了猪苓供应短缺的局面。随着人工种植猪苓面积增大,市场上将出现大量的人工种植猪苓药材,通过本实验,进行略阳猪苓发展评价,全面了解略阳野生猪苓与人工种植猪苓生物量、灰分、有效成分等方面状况,为猪苓科学发展提供依据。

关键词:猪苓;生物量;评价
中图分类号: R 282. 71 文献标识码: A 文章编号: 1002-168X(2015)06-0115-05
DOI:10. 13424/j. cnki. jsctcm. 2015. 06. 040

On Evaluation of Zhuling's Development in Lueyang

Li Xiaodong, Ma Yongsheng, Zhu Yina, Du Qiang, Fu Yuping, Wu Jianmin, Ma Dan, Bai Wenke
(Technology Promotion Service Center of Lueyang's Chinese Medicine, Lueyang 724300, China)

Abstract The breakthrough of cultivation of the wild and semi wild Zhuling in Lueyang is realized by in-depth research and production practice to improve its situation of short supplication. With the continual enlargement of its artificial cultivation, there will appear a large number of its artificial cultivation in the market. Through this experiment, development evaluation of Lueyang Zhuling is conducted and the biomass, inactive and active ingredients of Lueyang wild and artificial cultivating Zhuling are completely known to provide the basis for its scientific development

Keywords Zhuling, biomass, evaluation

1 引言

猪苓为多孔菌科真菌猪苓[Polyporus umbellatus(Pers.) Fries]的干燥菌核,主产于陕西、云南、河南、山西等省^[1]。陕西略阳地处秦巴山区,是我国野生猪苓的主要分布区和人工主产区之一。该县境内气候温和,年平均降雨量 860 mm,土质疏松、湿润,土地面积大部分在海拔 900 ~ 1100 m 之间,且林业用地 19 万 hm²,占全县总面积的 67 %,天然的主要树种是栎类,华山松,马尾松等,其中栎类以它特有的生物学特性和生态学特性占据着绝对优势^[2],这为猪苓生长创造了优良的基础条件。1997 年陕西略阳引进徐锦堂教授林

地半野生栽培技术并试验。2000 年开始在全县推广种植,截至目前该地区猪苓种植面积已达 130 万窝(145hm²),年产猪苓 298T(鲜),占全国猪苓地存总面积 60 %,是全国最大的猪苓基地县。2009 年国家质量监督检验检疫总局以第 88 号公告对“略阳猪苓”进行了地理标志认证。目前,国内尚未有人开展野生猪苓与人工种植猪苓生长品质综合分析,因此,为了探讨人工种植猪苓与野生猪苓之间生长情况和品质关系以及猪苓高产栽培关键技术,经用 3 年时间在秦巴山区略阳按四个不同海拔区域,测产、检测、分析和总结实验,为人工大面积猪苓高产栽培种植提供科学依据。

* 基金项目:中医院公共卫生专项(财社[2011]-76);中医药行业科研专项(201207002)

2 发展现状

2.1 人工栽培的发展 陕西略阳是猪苓适生区之一,野生猪苓资源比较丰富,每年当地药农都在 6~7 月份进山采挖野生猪苓,以增加其收入。随着猪苓市场需求增加,价格上涨,野生猪苓资源面临枯竭局面。1997 年陕西略阳县引进徐锦堂教授林地半野生栽培技术并试验获得成功,2000 年开始在全县推广种植,在较成熟的技术和市场价格快速上涨的双重因素带动下,特别是在机构整合成立略阳县中药局和县中药材技术中心后,该县充分利用农业财政科技扶贫资金项目开展了中药材猪苓高产栽培技术示范与推广,前后 10 余年间政府相继投入资金 600 余万元,引导群众投入资金 4200 余万元发展猪苓。经过多年发展,逐渐形成以猪苓种植为主的山区“一村一品”特色产业,目前略阳人工栽培猪苓面积达 145hm²,被中国民族医药学会确定为“全国猪苓种子生产基地”,2013 年被中国菌物学会授予“全国猪苓生产先进县”。

2.2 栽培关键技术 20 世纪 80 年代初,徐锦堂教授^[3]用蜜环菌菌材伴栽猪苓种植实验成功,主要是在栽培穴中增放大量树叶的方法,对猪苓产量提高起到很好的效果。其技术是在海拔 1200 m 以上树根下,利用蜜环菌感染活体树根进行寄生特性,开展猪苓半野生人工穴种植。但由于市场价格低、生长周期长、产量低,林地栽培不便等因素影响,群众接受的积极性较差,于是在实践摸索的基础上,略阳县中药材技术推广服务中心对猪苓栽培技术进行了改进,降低海拔,将种植林地变为坡、平地,从立地条件、海拔选择、降雨量、土壤、道路、灌排水等方面进行了规范,并对下种量、种植层、菌棒、栽培深度及管护等方面做了详细的规范,实践总结出一套更加科学符合秦巴山区发展的猪苓栽培技术。2013 年,由略阳县炳臻猪苓合作社和略阳县中药材技术推广服务中心共同申报了“一种猪苓人工高产优质栽培方法”(申请号:201310456020.5)。尚文艳等^[4]提出猪苓栽种在海拔高度 800~1200 m 范围内产量与经济效益均较好。推广实践证明,秦巴山区略阳猪苓栽培方法增产效果明显,能使猪苓生长周期缩短到 3 年,窝产最高达到 1:10。为药农创造了很好的经济效益。

2.3 生物量比较 2011 年春季,实验采用收购野生猪苓和人工种植 6 年以上猪苓作为种源,分别在

略阳县五龙洞(海拔 1607 m),安林沟(海拔 781 m),新店子(海拔 1283 m)和城区(海拔 650 m)四个不同海拔地区同一地块各种植猪苓 7 窝。种植标准:树棒伴蜜环菌种植,每窝用猪苓种 0.5 kg,直径 8~10 cm 长 60 cm 青岗树棒 6 根,树叶、树枝各 1 kg,蜜环菌 2 瓶,蜜环菌来源于略阳汉王科技公司同批次京-235;开展试验,三年后采挖,其结果如下表 1 所示:

表 1 猪苓试验点情况统计

种植地点	海拔(m)	采挖日期	猪苓种子	合计种植量(kg)	产量合计(kg)
五龙洞	1607	2014.3.21	家种	3.5	7.45
			野生	3.5	5.25
安林沟	781	2014.3.26	家种	3.5	11.6
			野生	3.5	12.8
新店子	1283	2014.4.1	家种	3.5	11.0
			野生	3.5	13.1
城 区	650	2014.3.26	家种	3.5	4.51
			野生	3.5	4.92

3 实验检测部分

3.1 仪器与试剂 高效液相色谱仪 1260(德国安捷伦),原子荧光分光光度仪 AFS-230E(北京海光),原子吸收分光光度仪 GGX-600(北京海光),马弗炉 SRJX-4-13(天津泰斯特),高温烘箱 WGL-125B(天津泰斯特),数显水浴锅 HH8(常州国华),超声机 KQ-500DE,水分测定仪 ZDJ-1SX(北京先驱),超纯水机(美国密理博),XT-9900A 型智能微波消解仪(上海新拓),XD-9800 型多用预处理加热仪,万分之一天平。

甲醇、硝酸、盐酸、过氧化氢均为色谱纯,重铬酸钾、硫脲、硼氢化钾、抗坏血酸、氢氧化钠、卡尔费休试剂均为分析纯,铜、镉、砷、汞的标准储备液(北化恒信),麦角甾醇对照品(北化恒信),实验用水为超纯水。

3.2 材料 猪苓样品为随机抽取三个试验区采挖野生与人工种植三年的猪苓(城区未检出),烘干至恒重,备用。

3.3 实验方法

3.3.1 猪苓折干率、水分测定 折干率的测定:将猪苓洗净,精确称定重量,于 60℃烘箱内烘至恒重,记录数据。

水分的测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 0.1 g,

精密称定,利用水分测定仪测定,记录数据。

3.3.2 灰分、酸不溶性灰分测定 灰分测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 3 g,精密称定,置炽灼至恒重的坩埚中,称定重量,用电炉缓慢炽热至完全碳化,转入马弗炉逐渐升高温度至 600 ℃,完全灰化并至恒重,称重后,计算供试品中总灰分的含量。

酸不溶性灰分测定:取上项所得的灰分,缓慢加入稀盐酸 10 mL,用表面皿覆盖坩埚,置水浴锅上加热 10 min,表面皿用 5 mL 热水冲洗,洗液并入坩埚中,用无灰滤纸滤过,坩埚内的残渣用水洗于滤纸上,并洗至洗液不显氯化物反应为止。滤渣连同滤纸移至同一坩埚中,干燥,炽灼至恒重,称重后,计算供试品中酸不溶性灰分的含量。

3.3.3 麦角甾醇含量测定

3.3.3.1 色谱条件 C₁₈ 色谱柱(150 mm×2.5 mm,5 μm);流动相为甲醇;检测波长 283 nm;柱温 25 ℃;流速 1.0 mL/min;进样量 10 μL。

3.3.3.2 对照品溶液的制备 取麦角甾醇对照品适量,精密称定,加甲醇制成每 1 mL 含 50 μg 的溶液,即得。

3.3.3.3 供试品溶液的制备 取猪苓粉末(过四号筛)约 0.5 g,精密称定,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 10 mL,称定重量,超声处理(功率 220 w,频率 50 kHz)1 小时,放冷,再称定重量,用甲醇补足减失的重量,摇匀,滤过,取续滤液,即得。

3.3.3.4 麦角甾醇图谱与标准曲线 按上述色谱条件进行单针进样,麦角甾醇对照品在 7 分钟左右出峰,重现性好,分离度高,峰型尖锐且无拖尾。见图 1。

继续按上述色谱条件测定不同浓度麦角甾醇溶液,横坐标为浓度(X),纵坐标为峰面积(Y),回归方程为 $Y = 27.322X - 4.6485$, $R^2 = 0.9999$,结果表明麦角甾醇浓度在 50.1–216.0 μg/mL 范围内与峰面积呈良好的线性关系,标准曲线见图 2。

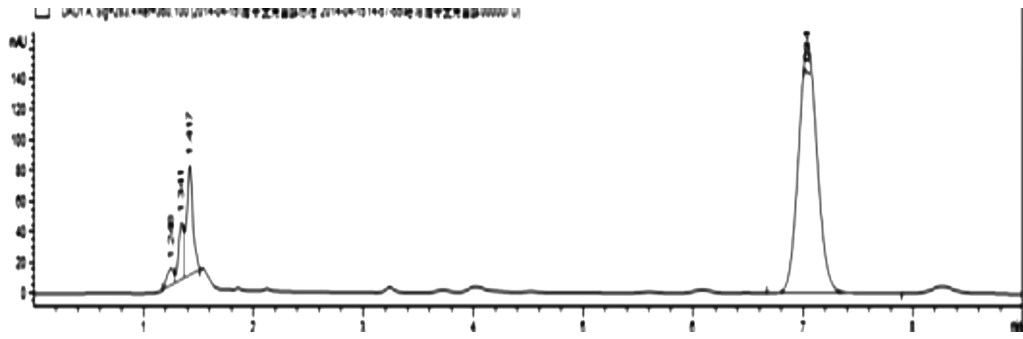


图1 麦角甾醇液相图谱

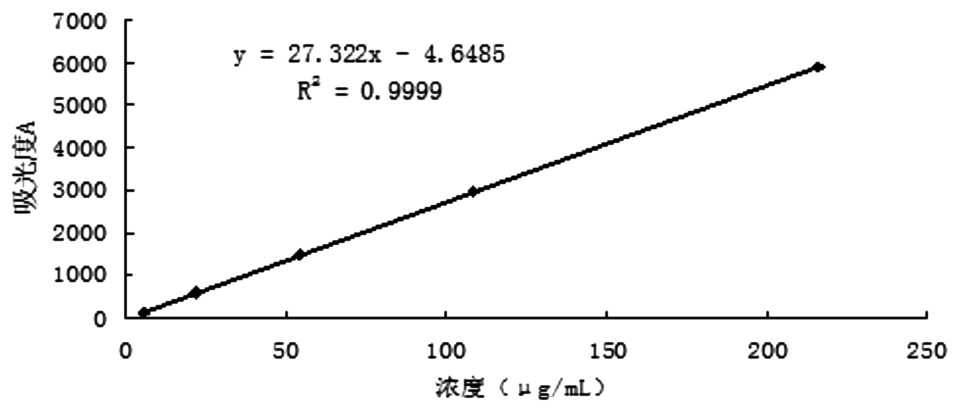


图2 麦角甾醇标准曲线

3.3.4 铜、镉、砷、汞含量测定

3.3.4.1 标准溶液的制备 配制一系列不同浓度的待测元素的标准溶液,在一定条件下测定其吸光度 A 或荧光强度 If,并以吸光度 A 或荧光强度 If 对溶液浓度 C 绘制标准曲线,各元素线性回

归方程和相关系数见表 5。

3.3.4.2 供试品溶液的制备 铜的测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 0.5 g,精密称定,置于消解罐中,加 5 mL 硝酸和 1 mL 过氧化氢进行微波消解,放置至室温,转移至 25 mL 容量瓶中,用 1 % 硝酸

定容至刻度,用原子吸收分光光度计测定。

镉的测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 0.5 g,精密称定,置于消解罐中,加 5 mL 硝酸和 1 mL 过氧化氢进行微波消解,放置至室温,转移至 10 mL 容量瓶中,用 1 % 硝酸定容至刻度,用原子吸收分光光度计测定。

砷的测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 0.2 g,精密称定,置于消解罐中,加 4 mL 硝酸和 1 mL 过氧化氢进行微波消解,放置至室温,转移至 25 mL 容量瓶中,用介质(5 % 盐酸+1 % 抗坏血酸+1 % 硫脲)定容至刻度,用原子荧光分光光度计测定。

汞的测定:取猪苓粉末(过二号筛)约 0.2 g,精密称定,置于消解罐中,加 4 mL 硝酸和 1 mL 过氧化氢进行微波消解,放置至室温,转移至 25 mL

容量瓶中,用超纯水定容至刻度,用原子荧光分光光度计测定。

4 结果与讨论

4.1 栽培关键技术 通过总结得出生长与生境的关系,秦巴山区略阳猪苓栽培关键技术是:选择在年均降雨量≥800 mm;坡度为 15 ~ 30°,海拔 900 ~ 1200 m 气候凉爽的山沟林缘坡地或者山坡平地,pH 值为 6 ~ 8 之间的黑沙腐殖质土。提前一年培育菌材,每窝用苓种 0.5 kg,一层播种,时间选择在当年春季 3 ~ 4 月或者秋季 10 月后期种植,在春季或秋季低温下,可采用地膜覆盖增加地温以增加生长周期。

4.2 生物量 根据生物量数据,生成折线图如图 3。

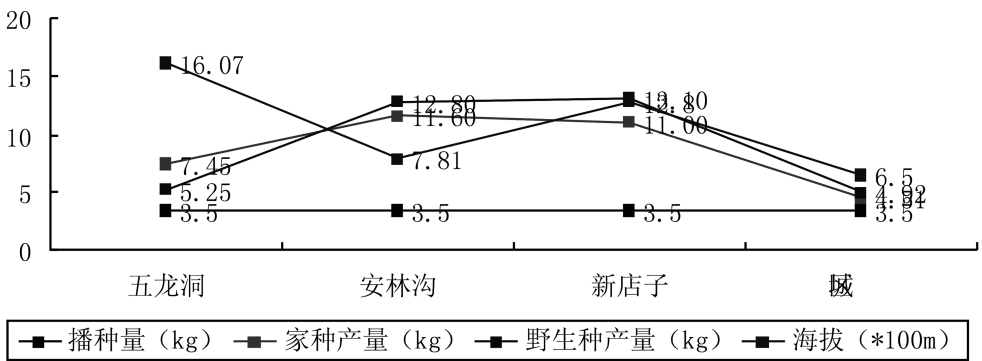


图 3 猪苓试验点折线图

通过图表,可以看出安林沟和新店子海拔适中,在同等条件下,两处增幅最大,而城区由于海拔低、夏季气温高,不论家种还是野生种子,其总增幅只有 28 % ~ 40 %,年均增加 7 % ~ 13 %;其他几个地区家种总增幅达 186.2 %,年均 62.1 %,野生总增幅 196.7 %,年均 65.5 %。

4.3 含水量及折干率 见表 2。

表 2 略阳猪苓样品含水量、折干率检测结果

地名	人工猪苓(%)		野生猪苓(%)	
	含水量	折干率	含水量	折干率
五龙洞	11.320	46.05	9.622	51.86
新店子	11.424	35.23	10.188	35.71
安林沟	11.320	35.39	11.688	38.02
总量/	34.064/	111.67/	31.498/	125.59/
平均值	11.355	38.89	10.499	41.86

从上表可以看出,野生猪苓大都含水率较低,平均略低于人工种植 0.856 个百分点;野生猪苓的平均折干率也高于家种猪苓 2.97 个百分点。

4.4 灰分、酸不溶性灰检测结果 见表 3。

表 3 略阳猪苓样品灰分、酸不溶性灰分检测结果

地名	人工猪苓(%)		野生猪苓(%)	
	灰分	酸不溶性灰分	灰分	酸不溶性灰分
五龙洞	8.20	1.30	6.76	2.66
新店子	7.09	3.28	6.23	0.73
安林沟	5.45	1.01	5.43	0.71
总量/平均值	20.74/6.913	5.59/1.863	18.42/6.14	4.1/1.366

从上表可以看出,陕西略阳猪苓不论是野生猪苓还是人工种植 6 年以上的猪苓所含灰分均未超过 10 %,符合国家药典(2010 版)规定。人工种植多年猪苓灰分含量均高于野生猪苓,平均高出 0.773,酸不溶性灰分平均高出 0.497。同时,通过比较文献报道的关于不同产地猪苓含水量、灰分及酸不溶性灰分含量检测的数据,发现略阳的猪苓中水分、灰分含量低于其他地区,酸不溶性灰分高于个别文献值^[5],认为与猪苓生长环境土壤有关。

4.5 有效成分及重金属

4.5.1 麦角甾醇含量 见表 4。

表 4 略阳猪苓麦角甾醇检测结果

地名	人工猪苓(%)	野生猪苓(%)
五龙洞	0.1447	0.1380
新店子	0.1342	0.1477
安林沟	0.1274	0.1377
总量/平均值	0.4063/0.1354	0.4234/0.1411

从表中可以看出,略阳猪苓有效成分含量都高于中国药典规定标准(0.07%),其野生猪苓与人工种植 6 年以上的猪苓有效成分含量相当。其中:五龙洞和新店子野生猪苓中麦角甾醇含量是药典标准的 2 倍,比较发现河北承德猪苓中麦角甾醇含量高于略阳猪苓,云南大理、甘肃康县、陕西留坝等地猪苓中麦角甾醇含量明显低于略阳地区^[6],推测猪苓中麦角甾醇含量高低可能与蜜环菌、生长环境和生长时间都有一定关系。

4.5.2 猪苓样品中砷、铜、汞、镉检测结果 见表 6。

表 5 标准品线性回归方程和相关系数

元素	线性范围	回归方程	相关系数
As	1.0-10.0 ng/mL	If=63.651C+31.115	0.9999
Hg	1.0-3.0 ng/mL	If=104.873C-77.528	0.9993
Cu	0.05-0.6 μg/mL	A=0.201C+0.001	0.9997
Cd	0.01-0.04 μg/mL	A=0.430C+0.002	0.9993

表 6 略阳猪苓样品重金属含量检测结果

样品名称	As(mg/kg)	Cu(mg/kg)	Hg(mg/kg)	Cd(mg/kg)
五龙洞家种	0.245	7.57	0.133	0.31
五龙洞野生	0.361	7.60	0.127	0.52
新店子家种	0.008	5.39	0.122	0.42
新店子野生	0.040	6.28	0.138	0.34
安林沟家种	0.173	9.10	0.129	0.47
安林沟野生	0.038	6.04	0.127	0.44

目前国内没有明确规定猪苓重金属含量标准,国家 2010 版《中国药典》中针对重金属只明确检测方法,以国家《药用植物及制剂外经贸绿色行业标准(WM/T2-2004)》作为参考,标准中规定中药材重金属的限量为:镉(Cd)≤0.3 mg/kg,汞(Hg)≤0.2 mg/kg,铜(Cu)≤20 mg/kg,砷(As)≤2.0 mg/kg^[7]。由表 6 可看出略阳地区的猪苓样品中砷、铜、汞含量均符合国家绿色中药材标准规定,其中金属镉略有超标,可能与局部生长环境有关。

5 讨论

5.1 野生与家种猪苓比较 从种植技术和生物量实验,可以确定秦巴山区略阳猪苓在海拔 900 ~ 1200 m 气候凉爽的山沟林缘坡地或者山坡平地种植最佳,海拔影响温度,温度影响产量,三年平均投入产出比为 1:3;同时,可以初步确定家种猪苓和野生猪苓种子在同等条件下生长,其生物量相当。所以,无论用家种猪苓或者野生猪苓都是可以做种源。

5.2 含水量及水分 分析认为人工种植猪苓多在疏松土壤和丰富蜜环菌树棒等人工创造的优越环境下,水、营养源充足,生长迅速,含水率普遍有所增高。

5.3 灰分、酸不溶性灰分 在相同条件下,人工种植 3 ~ 4 年为一个采挖周期,采挖后药农会将生命力的猪苓继续做种种植,种植年限越多,猪苓的菌核在生长过程中将会包裹一定的砂石,增加了灰分的含量,而野生种植由于不存在翻栽,且生长环境土壤基本不变,所以在猪苓种植过程中,考虑选择土壤疏松透气的沙土地时,一定要选择含沙量少、腐殖质多的土壤,以减少商品苓的杂质。

5.4 根据 2010 版《中国药典》的规定,猪苓药材含水量不能超过 13%,灰分不超过 10%,酸不溶性灰分不超过 5%,麦角甾醇含量不低于 0.07%。根据检测和生产实验结果可以确定陕西略阳猪苓均符合药典标准,无农残、重金属含量较低,且品质优良,栽培环境优越,适宜猪苓生长。这也印证了“略阳猪苓”地理标志产品的道地性。

参考文献

[1] 李香串,梁文仪.不同产地野生猪苓多糖与麦角甾醇的含量分析[J].中国野生植物资源,2014,33(4):11-16.
[2] 曲式曾,张文辉,李景侠.陕南栎类资源现状调查[J].西北林学院学报,1990,5(1):75-81.
[3] 徐景堂,郭顺星,肖根培.猪苓生物学特征的研究进展[J].中国药学杂志,1996,21(9):515-517.
[4] 尚文艳,赵丽萍,许志兴,等.不同海拔高度对半野生栽培猪苓产量的影响[J].北方园艺,2012,(15):181-183.
[5] 鲁文静.猪苓质量标准的完善与干燥标准方法的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2013.
[6] 李江林,田飞,康联伟,等.不同产地猪苓麦角甾醇含量的测定[J].光谱实验室,2012,(29):52818-2822.
[7] 樊莎.猪苓种质资源评价及菌核形成初探[D].杨凌:西北农林科技大学,2010.