

不同茯苓菌株的菌核产量比较及内在品质评价

徐 雷, 陈 科 力

(湖北中医药大学 药学院, 湖北 武汉 430065)

摘要:以从全国收集的12种茯苓菌株为试材,开展栽培试验,比较不同菌株在罗田种植的菌核产量,并测定多糖含量衡量其内在品质,为筛选适合道地产区罗田栽培的茯苓菌株。结果表明:罗田当地菌株LT菌核产量为每窖1.35 kg,多糖含量为76.22%,综合表现良好。尽管菌株靖州28和YN2项指标均优于LT,但栽培试验中二者均不同程度的出现空窖现象。因此,菌株LT依旧是罗田产区栽培的首选菌株,但通过有效的引种驯化,靖州28和YN有望培育成适宜罗田产区栽培的优良菌株。

关键词:茯苓菌株;栽培;产量;多糖;品质

中图分类号:S 567.3⁺² **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2014)09—0176—03

茯苓(*Poria*)为多孔菌科真菌茯苓(*Poria cocos* (Schw.) Wolf.)的干燥菌核,具有利水渗湿、健脾、宁心等功效^[1],其主要化学成分为多糖,尚含三萜类、甾体类、蛋白质等成分^[2]。现代研究表明茯苓多糖具有抗肿瘤、增强免疫力、保肝与催眠作用、抗衰老、抗炎、抗单纯疱疹病毒、防石消石等药理作用^[3]。因此,茯苓多糖含量是衡量其内在品质的重要指标。

我国茯苓资源丰富,除东北、西北北部、内蒙古、西藏地区外均有分布,作为传统的大宗中药材,在常用中医临床方剂中配伍率很高,是中医临床、中成药的常用品种,也是药膳和其它保健食品的常用原料。野生茯苓多寄生于马尾松、赤松等松属植物的根部,茯苓药材野生供应量很少,主要源自人工栽培,其栽培方式多样,有段木栽培、树蔸栽培等,经过长期的栽培实践与临床应用的选择,形成了以鄂豫皖交界的大别山为中心的茯苓道地产区,包括大别山北部的安徽岳西、霍山、金寨,河南商城等地,以及大别山南部的湖北罗田、英山、麻城等地,所产茯苓质量优良、产品丰硕统领市场^[4]。近些年,全国茯苓年均产量约为19 000 t,湖北产区年平均产量约7 000 t,其中罗田占50%,英山占40%,麻城占10%^[5]。

当前茯苓基础研究比较滞后,遗传特性亦尚未弄

第一作者简介:徐雷(1982-),男,博士研究生,讲师,现主要从事中药资源及其品质等研究工作。E-mail:wuhanxulei@163.com

责任作者:陈科力(1947-),男,教授,博士生导师,现主要从事中药资源及其品质等研究工作。E-mail:kelichen@126.com

基金项目:国家科技重大专项子课题资助项目(2012ZX09304006);湖北中医药大学2013年科研课题青年资助项目。

收稿日期:2013-12-17

清,其交配系统及生活史的研究争议颇大,尚无定论,以此为基础的育种工作严重滞后,生产中的茯苓菌种多是通过种质资源调查利用、不同地域间的引种、驯化以及从现有栽培群体中人工选择培育等途径获得^[6]。为避免湖北省产区菌种专业户盲目引种,给茯苓生产带来损失,该试验研究收集了来自全国的12个茯苓菌株,选择湖北主产区罗田开展栽培试验,比较不同茯苓菌株的产量表现,并以多糖含量为指标衡量其内在品质,以期筛选出适合该产区栽培的具有更高经济效益的茯苓菌株,为茯苓跨地区引种栽培提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在湖北省黄冈市罗田县九资河镇,该县位于大别山区,平均海拔400~600 m,年平均气温12.5℃,最高气温18.7℃,最低气温8.8℃,最冷月(1月份)平均气温0.2℃,最热月(7月份)平均气温23℃,年均降水量1 832.8 mm,日照时数1 400~1 600 h,相对湿度79%,无霜期179~190 d。试验地土壤为砂壤土,弱酸性,地势背风向阳,无大气、土壤、水质等方面的污染源,坡度为15°~25°的未开垦的松林地。

1.2 试验材料

供试茯苓菌株来源见表1。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 采用地窖式段木栽培,每窖段木用量均为(6±0.1)kg,栽培菌种用量为(250±10)g/袋,每个菌株栽培10窖,采收时统计每窖菌核产量,取平均值。

1.3.2 栽培菌种制备 将培养基按松木屑77%,麦麸或米糠20%,糖2%,石膏1%,含水量65%~70%,配制后装袋,0.12 MPa灭菌1.5 h,冷却后接种置25℃培养室

表 1 供试茯苓菌株

Table 1 The tested strains of *Poria cocos*

编号 No.	菌株 Strain	菌种来源(提供单位) Strain source (Provide unit)
1	GZ	贵州省习水县习酒镇食用菌研究中心
2	靖州 28	陕西省西乡县古城菌研所
3	YN	云南省宝山县
4	ACCC50864	(北京)中国农业微生物菌种管理保藏中心
5	LT	湖北罗田
6	AH	安徽岳西
7	SD	山东省济宁市光大食用菌科研中心
8	GD	广东省广州市微生物研究所菌种保藏中心
9	福建 006	福建农林大学生命科学院
10	茯苓 3 号	河南省西峡县菇源菌物研究所
11	SC	四川省农科院食用菌开发研究中心
12	ZJ	浙江省云和县象山食用菌研究所

内培养,待菌丝长满菌袋即可用于栽培。

1.3.3 开窖 于 5 月下旬在整好的种植场内按照深 20~30 cm、宽 30~40 cm、长 50~60 cm 开窖,将处理好的段木呈“品”字形置入窖内。

1.3.4 接种 每窖用菌种 1 袋,然后覆土 8~10 cm,呈龟背形。15~20 d 左右扒开段木非接种端,观察段木是否上引,若没有成功上引,应及时补接种。

1.3.5 采收加工 10 月底当茯苓菌核裂口处弥合,裂纹不见白色,茯苓皮薄而粗糙,呈棕褐色时可采收。将采收的新鲜茯苓菌核刷去表面泥土,置于不通风的容器内,使其发汗。第 1 周每日翻动 1 次,取出摊放于阴凉处,待其表面干燥后,再堆置发汗。第 2 周后,每 2~3 d 翻动 1 次。如此反复发汗 3~4 次,当表面生出白色绒毛状菌丝时,刷净,发汗后趁湿切制成茯苓块,将切割好的饮片进行晾晒,干燥后备用。

1.4 项目测定

1.4.1 茯苓多糖含量测定 对照品溶液的制备:精密称取 105℃ 干燥至恒重的葡萄糖对照品 50 mg 于 50 mL 容量瓶中,溶解并定容,摇匀。精密吸取 5 mL 于 50 mL 量瓶中,加水至刻度,摇匀,即得 100 μg/mL 的对照品溶液。供试品溶液的制备:茯苓饮片打粉后过 60 目筛,精密称取药材粉末 1.0 g 于具塞三角瓶中,加入 1 mol/L NaOH 溶液 50 mL,于 80℃ 水中超声提取 50 min,过滤,精密吸取续滤液 1 mL 于 50 mL 容量瓶中,加水定容,即得茯苓多糖供试品溶液^[7]。标准曲线的制备:精密吸取对照品溶液 0.0、0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL,分别置具塞试管中,各加水至 1.0 mL,精密加入 5% 苯酚溶液 1.0 mL,摇匀,再精密加入浓硫酸 5 mL,摇匀,100℃ 水浴 20 min,取出,置冷水浴中迅速冷却至室温,在 490 nm 的波长处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,多糖含量(μg)为横坐标,回归方程为 $Y = 0.0084X - 0.0009$, $R^2 = 0.9992$,线性范围 10~100 μg。

1.4.2 精密度试验 分别精密吸取对照品溶液 0.4 mL,

按 1.4.1 项下步骤,测定吸光度 6 次,RSD 值为 0.42%,表明仪器精密度良好。

1.4.3 重复性试验 取茯苓饮片 6 份,按 1.4.1 项下方法制备供试液,分别精密移取 0.2 mL,按 1.4.1 项下步骤,测定吸光度,结果 RSD 为 1.31%,表明该方法重复性良好。

1.4.4 加样回收率测定 采用加样回收方法,精密称取 1.0 g 同一菌株的样品 6 份,分别加入 0.3 mL 葡萄糖对照品溶液,按 1.4.1 项下步骤,测定吸光度,根据回归方程计算糖含量,统计回收率,结果平均回收率为 99.06%,RSD 2.11%,表明此法回收率良好(表 2)。

表 2 多糖加样回收率试验结果

Table 2 Polysaccharide results of recovery test

样品含量 Content of the sample/μg	测得量 Measured content/μg	回收率 Recovery rate/%
35.63	64.98	97.83
37.57	66.87	97.67
36.62	66.81	100.63
34.68	65.26	101.93
36.12	65.29	97.23

1.4.5 样品含量测定 将各菌株的菌核切割成茯苓饮片,按 1.4.1 项下方法制备供试液,分别精密移取 0.2 mL,按 1.4.1 项下步骤,测定吸光度,重复 4 次,通过回归方程计算相应多糖含量(μg),再换算出样品中多糖的百分含量。

2 结果与分析

由图 1 可知,罗田当地菌株 LT 菌核平均产量为每窖 1.35 kg,多糖含量为 76.22%,以该菌株为参比,产量较高的菌株有靖州 28、福建 006、AH、YN,分别为 1.52、1.48、1.39、1.36 kg,多糖含量较高的有 GZ、靖州 28、YN、ACCC50864,分别为 80.11%、78.82%、78.55%、77.89%。

当前茯苓产区栽培菌种多由当地菌种专业户从当地采收的菌核中优选后进行分离制得,可能正是基于这种反复的人工选择,使得在当地具有良好适应性和综合表现的种质资源被大面积栽培,故而试验结果显示罗田当地菌株 LT 在参试菌株中表现出较高的产量和多糖含量。与 LT 相比,参试菌株靖州 28 和 YN 在产量和多糖含量上均表现出优势,尽管如此,但在栽培试验中发现二者均不同程度的出现空窖现象,可能是由于这些菌株长期在原产地栽培使用而产生了对该特定条件的稳定性适应,而对突然改变的环境条件或栽培方式缺乏很好适应性而表现出不稳定性。鉴于各菌株的综合表现,菌株 LT 当前应该依旧是湖北省茯苓主产区罗田栽培的首选菌株,但通过有效的引种驯化,有望将靖州 28 和 YN 培育成适宜罗田茯苓产区栽培的优良菌株。

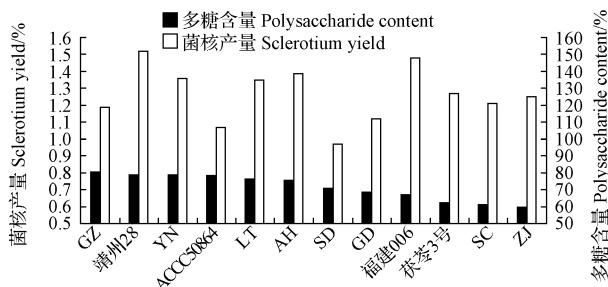


图 1 不同茯苓菌株菌核产量和多糖含量

Fig. 1 The column chart of different strains sclerotium yield and polysaccharide content

3 讨论

菌种是茯苓生产中最重要的生产资料,优良菌株的培育和推广,是提高其产量和品质最有效且经济的途径。我国幅员辽阔、气候复杂,野生茯苓资源分布较广,多样性的自然条件塑造了丰富的茯苓种质资源,为开展茯苓遗传多样性研究,优良菌株选育以及产品开发利用奠定了重要基础。但当前对茯苓生物学的基础研究滞后,现有遗传系统的研究结论差异颇大,育种工作的滞后和种质创新的不足,已成为制约茯苓产业发展的重大瓶颈。尽管我国科学工作者采用理化诱变及原生质体融合等技术,对茯苓菌种选育进行了一些开创性的探索,但是有性杂交育种工作基本是空白,因此很难创造出符合生产中多样性需求的优良菌株,所以目前生产中的茯苓菌株多源于各地野生资源的选择利用。因此,为推动茯苓栽培产业的持续健康发展,以茯苓遗传特性的研究为前提,以我国丰富的种质资源为重要保障,开

展高产、稳产、优质、适应性强、高生物学效率的茯苓种质创新是重要突破口。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典[S]. 1 部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010:224.
- [2] 沈玉萍, 李军, 贾晓斌. 中药茯苓化学成分的研究进展[J]. 南京中医药大学学报, 2012, 28(3):297.
- [3] 张璐, 刘强. 茯苓多糖制备工艺及药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006, 12(4):61.
- [4] 王克勤, 傅杰, 苏玮, 等. 道地药材茯苓疏[J]. 中药研究与信息, 2002(6):16-17.
- [5] 王克勤, 尹旭仁, 黄鹤, 等. 湖北茯苓生产现状及产业化发展对策[J]. 中国现代中药, 2012, 14(12):24-27.
- [6] 刘常丽, 徐雷, 解小霞, 等. 湖北茯苓生产中存在的主要问题探讨[J]. 湖北中医药大学学报, 2013, 15(5):42-44.
- [7] 蔡光先, 谢昭明, 黄丹, 等. 不同产地茯苓中茯苓多糖的比较研究[J]. 湖南中医杂志, 2012, 28(1):102, 126.

Sclerotium Yield Comparison and Internal Quality Evaluation of Different *Poria cocos* Strains

XU Lei, CHEN Ke-li

(Pharmacy College, Hubei University of Chinese Medicine, Wuhan, Hubei 430065)

Abstract: Taking twelve screened *Poria cocos* strain from nationwide as material, planting experiment was carried out to compare the sclerotium yield of different strains that cultivated in Luotian and determine the polysaccharide content to measure their intrinsic quality. In order to screen out suitable *Poria cocos* strains for genuine producing area in Luotian. The results showed that the Luotian local strains LT sclerotium yield was 1.35 kg per cellar, the content of polysaccharide was 76.22%, comprehensive performance was excellent. Jingzhou 28 and YN the two indicators were better than LT, but both varying degrees appeared empty cellar phenomenon in cultivation experiment. Therefore, currently strain LT should still be preferred strains for cultivation in Luotian region, but through effective introduction and domestication, Jingzhou 28 and YN were expected to grow into excellent strains that suitable for cultivation in Luotian region.

Key words: *Poria cocos* strains; cultivation; yield; polysaccharide; quality