

# 宁陕地区生态种植的猪苓药材质量与土壤相关性研究

胡开永<sup>1</sup> 林映仙<sup>1</sup> 赵玉洋<sup>2</sup> 石文超<sup>3</sup> 张敏<sup>1\*</sup>

1. 湖北梦阳药业股份有限公司 湖北荆门 448124

2. 中国中医科学院 中药资源中心 北京 100700

3. 宁陕梦阳药业饮片有限公司 陕西安康 711600

**摘要:** 目的: 研究宁陕地区生态种植模式下猪苓药材质量状况和土壤理化特性的相关性。方法: 采集宁陕地区3个猪苓生态种植基地的猪苓和土壤, 通过原子吸收光谱仪等方法检测土壤的理化性质及养分含量, 同时利用紫外分光光度计、HPLC-DAD等方法测定猪苓药材主要成分猪苓多糖、麦角甾醇的含量, 并结合猪苓种植地土壤理化性质测定结果探讨土壤理化性状对猪苓药材质量的影响。结果: 麦角甾醇含量与土壤中pH值、含水率、有机质、有效磷、速效钾5个因素呈正性影响, 而猪苓多糖则与其呈负性影响。结论: 宁陕地区猪苓生态种植基地猪苓药材质量主要受土壤pH、土壤水分、土壤有机质等因素影响。

**关键词:** 猪苓; 生态种植; 猪苓多糖; 麦角甾醇; 土壤

## Study on the correlation between quality of *Polyporus umbellatus* and soil under ecological planting in Ningshan area

HU Kai-yong<sup>1</sup>, LIN Ying-xian<sup>1</sup>, ZHAO Yu-yang<sup>2</sup>, SHI Wen-chao<sup>3</sup>,  
HUANG Qian<sup>1</sup>, LIU Fen<sup>1</sup>, ZHANG Yuan-yuan<sup>1</sup>, LI Xiang<sup>1</sup>, ZHANG Min<sup>1\*</sup>

1. Hubei Monyan Pharma Co, Ltd, Hubei Jingmen 448124, China

2. National Resource Center for Chinese Meteria Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

3. Ningshan , Shanxi NingShan 711600, China

**Abstract:** Objective: To investigate the correlation between the medicinal material quality of *Polyporus* and its physical and chemical characteristics of soils under the ecological planting mode in Ningshan area. **Methods:** *Polyporus* and soil were collected from three *Polyporus* ecological planting bases in Ningshan area, and the atomic absorption spectrometer was adopted to detect the physical and chemical properties and nutrient contents of soils. Meanwhile, the ultraviolet spectrophotometer and HPLC-DAD were used to measure the contents of polysaccharide and ergosterol in *Polyporus*, and the physical and chemical properties of soils in *Polyporus* plantation was combined to explore the influence of physical and chemical properties of soil on medicinal material quality of *Polyporus*. **Result:** Contents of ergosterol was positively affected by five factors in soil, including pH value, water content, organic matter, available phosphorus, and available potassium, but polysaccharide of *Polyporus* was negative affected by those factors. **Conclusion:** Medicinal material quality of *Polyporus* was mainly affected by pH value, water content, and organic matter in soils under *Polyporus* ecological planting bases in Ningshan area.

**Keywords:** Ningshan area; Physical and chemical properties of soils; *Polyporus* polysaccharide; Ergosterol

**基金项目:** 国家重点研发计划专项 (2017YFC1700706); “科技助力2020”重点专项“提高道地药材猪苓质量的研究及全产业链打造与应用”; 省部共建秦药特色资源研究开发国家重点实验室(培育)开放课题“宁陕猪苓生态种植基地建设”

**通讯作者简介:** 张敏, 高级工程师, 中国药科大学在读博士; 研究方向: 道地药材种植研究及新药研发方向, E-mail: hz\_zm168@vip.163.com。

**作者简介:** 胡开永, 工程师, 硕士, 研究方向: 药物临床研发及中药材种植研究方向, E-mail: kaiyong8686@163.com。

猪苓为多孔菌科真菌猪苓 *polyporus umbellatus* (Pers.) Fries 的干燥菌核, 又名猪苓花、猪粪菌、猪灵芝, 始载于《神农本草经》, 目前是国家保护的20种中药材之一, 有利水、治水肿作用<sup>[1-2]</sup>。猪苓作为传统中药药材已有两千多年的历史, 近年研究发现猪苓有利尿、保护肝脏、抗辐射、增强免疫功能、抗肿瘤等药理作用, 且有研究表明猪苓对白血病的细胞增殖有抑制作用, 可促进角质层代谢、毛发再生, 这些功效使猪苓的研究备受关注, 其需求量逐年增加<sup>[3-4]</sup>。然而随着猪苓药用范围的不断扩大, 市场价格也随之攀升, 其野生资源受到严重破坏, 导致猪苓资源日益匮乏<sup>[5-6]</sup>, 因此, 猪苓生态种植的相关研究迫在眉睫。

目前, 猪苓生态种植方面做了很多探究, 但仍存在诸多问题, 值得深入研究。如不同环境生态种植下猪苓药材质量良莠不齐, 其中土壤差异性造成猪苓药材质量差异性最主要的原因之一<sup>[7-8]</sup>, 土壤酸碱度、养分环境对猪苓菌丝、菌核形成与发育都有着重要影响, 且间接影响其主要成分含量<sup>[9-13]</sup>。

因此, 本研究应用紫外可见分光光度计、原子吸收光谱仪等对宁陕地区3个种植基地的土壤进行检测, 同时, 通过紫外可见分光光度计、HPLC-DAD等方法对各基地采收的猪苓药材主要成分猪苓多糖、麦角甾醇含量进行测定, 确定土壤因素中对猪苓药材主成分影响较大的因子, 以期为宁陕地区猪苓生态种植提供依据, 提供猪苓药材的品质, 增加种植户的收入。

### 1 仪器与材料

高效液相色谱仪 LC-20AD (日本岛津)、UV 紫外分光光度计 UV-1800 (日本岛津); 纯水仪 (宁波丹斯博顿环保科技责任有限公司); GTSONIC-PX13 超声清洗仪 (广州固特超声股份有限公司); 电热水浴锅 (北京市永光明医疗仪器有限公司); 电子分析天平 AL104 (梅特勒-托利多仪器有限公司) 等。

宁陕地区猪苓生态种植基地土壤样品信息见表1; 猪苓样品信息见表3, 猪苓均经中国中医科学院袁媛研究员鉴定为非褶菌目多孔菌科树花属药用真菌猪苓 *polyporus umbellatus* (Pers.Fries); 麦角甾醇对照品 (批号: 111845-201604, 中检所, 纯度为96.2%)、D-葡萄糖对照品 (批号: 110833-201707, 中检所, 纯度为99.9%)、色谱甲醇 (批号: 0212210306, BCR)、分析甲醇 (批号: 20210414, 广东光华科技股份有限公司); 苯酚 (批号: 20150407, 广东光华科技股份有限公司)、硫酸 (批号: 1903031, 西陇科技股份有限公司)。

## 2 方法与结果

### 2.1 猪苓生态种植不同基地的土壤样品检测

#### 2.1.1 土壤样品的采集和制备

在猪苓生长的土壤中分别选择10左右的样点进行调查, 采用之字型取样, 一般取5个点, 采用点划定后, 用不锈钢挖土器取样。采集的土样风干后倒入钢玻璃底的木盘上, 用木棍研细, 使之全部通过2mm孔径的筛子。样品充分混合后, 用四分法取样<sup>[14]</sup>, 取约1kg土样装入洁净塑料袋内, 进一步研磨混匀过1mm筛, 供作土壤养分分析<sup>[15]</sup>, 土壤样品信息见表1。

表1 土壤样品来源

编号	采样地点	采样时间	采样量 (kg)
1	江口镇	2020年12月	1.47
2	江口镇	2021年5月	1.88
3	江口镇	2021年8月	1.31
4	四亩地镇	2020年12月	1.36
5	四亩地镇	2021年5月	1.29
6	四亩地镇	2021年8月	1.89
7	城关镇	2020年12月	1.61
8	城关镇	2021年5月	1.52
9	城关镇	2021年8月	1.33

#### 2.1.2 土壤养分检测方法及其结果

测定的土壤理化因子项目包括含水率、pH值、含水率、pH值、有机质、全氮、总磷、有效磷、速效钾等。含水率测定依据重量法 CJ/T221-2005; pH值测定使用电位法 HJ962-2018; 土壤有机质、全氮、总磷、有效磷、速效钾测定方法参考《土壤农化分析》<sup>[16]</sup>。其测定结果见表2, 图1。

表2 猪苓种植基地土壤养分分析结果

编号	pH	含水率 (%)	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	总磷 (g/kg)	有效磷 (g/kg)	速效钾 (g/kg)
1	6.14	25.0	21.5	6.688	0.465	0.0228	0.136
2	6.15	24.9	21.9	6.698	0.478	0.0209	0.149
3	6.16	25.8	22.3	6.684	0.458	0.0196	0.141
均值A	6.15	25.2	21.9	6.690	0.467	0.0211	0.142
4	6.65	32.6	96.8	7.440	0.929	0.0569	0.399
5	6.85	33.4	99.8	7.452	0.947	0.0590	0.388
6	6.75	34.5	99.2	7.428	0.935	0.0578	0.398
均值B	6.75	33.5	98.6	7.440	0.937	0.0579	0.395
7	6.29	25.9	96.0	0.966	1.036	0.0322	0.381
8	6.38	24.8	94.0	0.957	1.035	0.0319	0.390
9	6.35	25.5	95.0	0.975	1.049	0.0334	0.378
均值C	6.34	25.4	95.0	0.966	1.040	0.0325	0.383

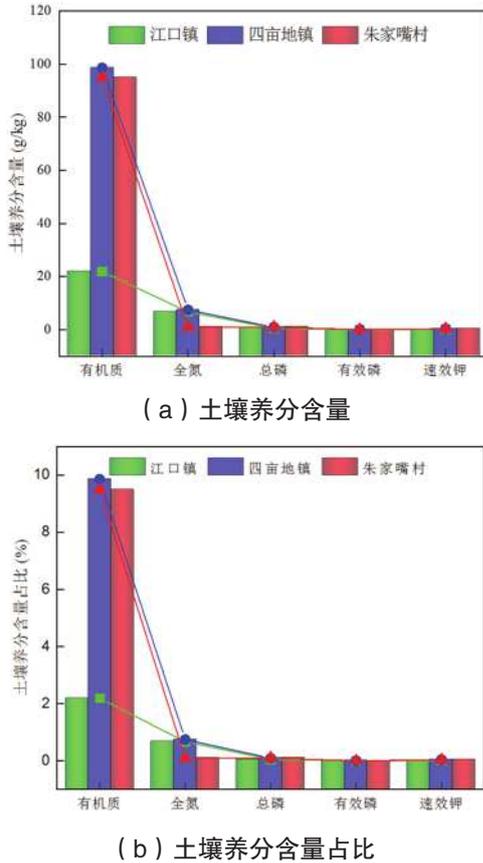


图1 猪苓种植基地土壤养分含量及含量占比

由表2可知, 3个基地的土壤均为弱酸性, 其pH值在6.14~6.85之间, 土壤含水率在25.1%~33.7%之间, 3个基地之间土壤pH值与含水率差异较小, pH值与含水率大小为四亩地镇>城关镇>江口镇; 而3个种植基地间土壤的养分含量差异较大。

由图1可知, 3个基地土壤测定的养分因子中有机质、全氮含量差异较明显。根据一般农田土壤肥力的标准, 在氮素营养方面, 常常以全氮含量作为土壤氮素的丰缺指标, 土壤全氮含量一般分为<0.05%、0.05%~0.09%、0.1%~0.19%、0.2%~0.29%、>0.3%5个等级, 全氮<0.05%属于土壤严重缺氮<sup>[14]</sup>。由此可知, 3个宁陕地区猪苓种植基地的土壤的氮素营养均属于中等偏上水平, 其中城关镇猪苓种植基地土壤氮素含量较低, 而四亩地镇猪苓种植基地的土壤含氮素最丰富。氮素是食药菌生长发育的重要营养需求, 猪苓的生长与质量和氮素关系密切, 所以在种植过程中加强氮素营养的补充极为重要。

## 2.2 猪苓多糖含量测定

### 2.2.1 葡萄糖对照品溶液制备

取D-无水葡萄糖对照品, 105℃烘箱内烘干至恒重, 精密称取25.27mg, 置于50ml容量瓶中, 加蒸馏水溶解至刻度, 即得, 4℃保存备用。

### 2.2.2 线性关系考察

精密量取0.0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0ml“2.2.1”项下对照品溶液至50ml容量瓶中, 分别取2ml上述溶液于试管中, 加4%苯酚溶液1ml, 摇匀, 迅速加入浓硫酸5ml, 放置5min, 置于25~30℃水浴锅中水浴15min, 取出冷却至室温。采用紫外-可见分光光度法在490nm波长处测定吸光度。以吸光度为纵坐标(Y), 质量浓度为横坐标(X), 绘制标准曲线, 见图2。

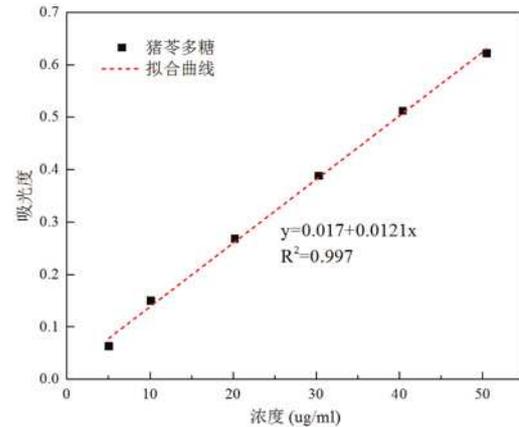


图2 猪苓多糖含量测定线性关系图

由图2可知, 线性方程为 $y=0.0121x+0.017$  ( $R^2=0.998$ ), 在5~50mg/ml范围内线性关系良好。

### 2.2.3 猪苓药材采集

在上述3个基地采收3年生猪苓, 每个基地采集5个批次, 除去泥沙, 烘干, 称重, 猪苓样品信息见表3。

表3 猪苓样品信息

编号	基地名称	批号	色泽	重量 (g)	生长期
1	江口镇	210517001	黑色	252.47	黑苓
2		210517002	黑色	239.88	黑苓
3		210517003	灰黑色	301.31	黑苓
4		210517004	棕黑色	210.40	黑苓
5		210517005	黑色	250.87	黑苓
6	四亩地镇	210518001	灰黑色	241.31	黑苓
7		210518002	灰黑色	292.45	黑苓
8		210518003	黑色	212.09	黑苓
9		210518004	黑色	254.87	黑苓
10		210518005	灰黑色	200.25	黑苓
11	城关镇	210516001	灰黑色	185.19	黑苓
12		210516002	黑色	197.81	黑苓
13		210516003	棕黑色	193.39	黑苓
14		210516004	黑色	192.45	黑苓
15		210516005	黑色	197.81	黑苓

### 2.2.4 供试品溶液制备

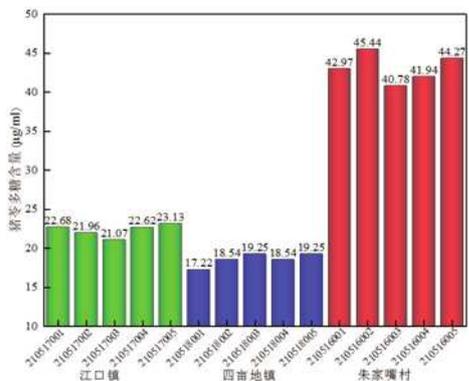
将干燥后的猪苓打成粉末(过60目筛), 取猪苓粉

末0.1g, 精密称定, 水浴加热2次, 合并滤液, 减压回收至干, 加入乙醇沉淀15min, 抽滤, 将沉淀物依次用丙酮、乙醚2000r/min离心10min, 干燥, 得猪苓粗多糖。

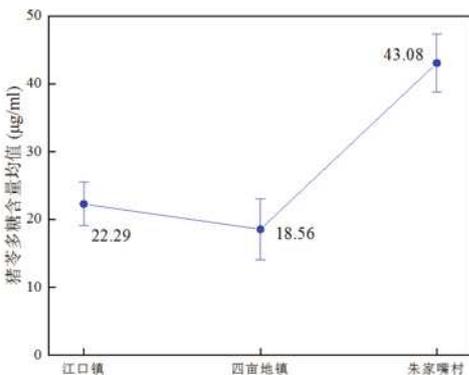
取上述猪苓粗多糖适量, 加纯化水溶解, 即得供试品溶液。精密量取供试品溶液2ml, 按“2.2.2”项下方法测定吸光度, 结果见表4、图3。

表4 猪苓多糖含量测定结果

编号	基地名称	批号	猪苓多糖含量 (μg/ml)	均值 (μg/ml)	RSD值 (%)
1	江口镇	210517001	22.68	22.29	3.20
2		210517002	21.96		
3		210517003	21.07		
4		210517004	22.62		
5		210517005	23.13		
6	四亩地镇	210518001	17.22	18.56	4.46
7		210518002	18.54		
8		210518003	19.25		
9		210518004	18.54		
10		210518005	19.25		
11	城关镇	210516001	42.97	43.08	4.28
12		210516002	45.44		
13		210516003	40.78		
14		210516004	41.94		
15		210516005	44.27		



(a) 猪苓多糖含量



(b) 猪苓多糖含量均值

图3 猪苓多糖含量测定结果

由表4可知, 宁陕地区3个种植基地的猪苓多糖含量存在一定差异, 其中江口镇种植基地猪苓多糖含量最高, 城关镇种植基地多糖含量次之, 四亩地镇种植基地的猪苓多糖含量较低。

### 2.3 麦角甾醇含量测定

#### 2.3.1 色谱条件

色谱柱: C18色谱柱 (250mm × 4.6mm, 5μm); 甲醇为流动相, 检测波长为283nm, 流速为1ml/min, 柱温40℃, 进样量20μl。

#### 2.3.2 对照品溶液制备

精密称取麦角甾醇对照品 (纯度为96.2%) 9.93mg于50ml容量瓶中, 加甲醇定容得191.06 μg/ml麦角甾醇标准品母液, 取2.5ml麦角甾醇标准品母液于10ml容量瓶中, 加甲醇定容, 即得47.76 μg/ml标准品溶液。

#### 2.3.3 供试品溶液制备

取猪苓粉末0.5g, 置于锥形瓶中, 精密加入甲醇10ml, 称定重量, 超声1h, 放冷, 再称重, 用甲醇补足失重, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 即得猪苓供试品溶液。

#### 2.3.4 标准曲线绘制

分别精密移取对照品溶液1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、8.0ml置于10ml容量瓶中, 甲醇定容, 用0.45 μm微孔滤膜滤过, 注入液相色谱仪, 以峰面积为纵坐标 (Y), 以对照品溶液浓度为横坐标 (X) 作图, 见图4。

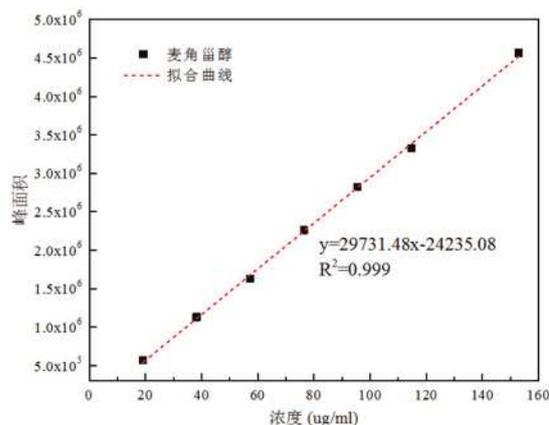


图4 麦角甾醇含量测定线性关系图

由图4可知, 线性回归方程 $Y=29731X-24235$  ( $R^2=0.999$ ), 线性关系在20~150 μg/ml良好。

#### 2.3.5 方法学考察

通过对仪器精密度、方法重复性、稳定性、加标回收率进行考察, 得RSD值分别为0.18%、2.05%、0.53%、3.01%, 表明方法学良好。

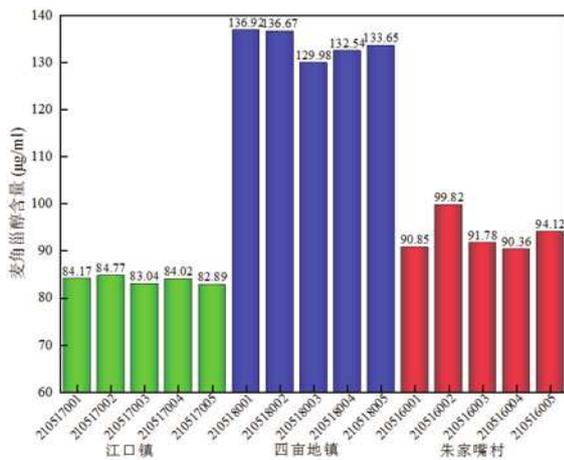
#### 2.3.6 供试品溶液测定

取“2.3.3”项下猪苓供试品溶液, 用0.45 μm微孔

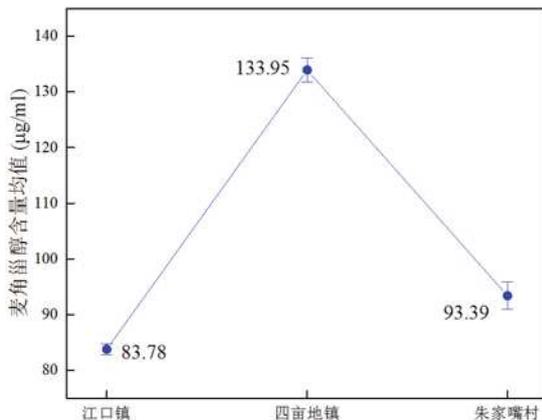
滤膜滤过, 注入液相色谱仪, 结果见表5、图5。

表5 猪苓麦角甾醇含量测定结果

编号	基地名称	批号	麦角甾醇含量 (μg/ml)	均值 (μg/ml)	RSD值 (%)
1	江口镇	210517001	84.17	83.78	0.95
2		210517002	84.77		
3		210517003	83.04		
4		210517004	84.02		
5		210517005	82.89		
6	四亩地镇	210518001	136.92	133.95	2.18
7		210518002	136.67		
8		210518003	129.98		
9		210518004	132.54		
10		210518005	133.65		
11	城关镇	210516001	90.85	93.39	2.47
12		210516002	99.82		
13		210516003	91.78		
14		210516004	90.36		
15		210516005	94.12		



(a) 猪苓麦角甾醇含量



(b) 猪苓麦角甾醇含量均值

图5 猪苓麦角甾醇含量测定结果

由表5、图5可知, 宁陕地区生态种植猪苓麦角甾醇含量均符合2020版《中国药典》要求, 其中四亩地镇猪苓种植基地麦角甾醇含量最高, 城关镇种植基地次之, 江口镇种植猪苓麦角甾醇含量较低。

### 3 讨论与结论

宁陕地区的猪苓种植基地土壤肥力水平较高, 土壤养分基本满足药材的生长发育, 但种植基地之间的养分因子差异较大, 且在全氮、总磷、有机质、有效磷、速效钾5个养分指标中除总磷含量为城关镇>四亩地镇>江口镇, 全氮含量为四亩地镇>江口镇>城关镇外, 其余3个指标含量次序均为四亩地镇>城关镇>江口镇; 3个基地采集的猪苓样本猪苓多糖检测结果为江口镇>城关镇>四亩地镇, 而麦角甾醇检测结果为四亩地镇>城关镇>江口镇。

依据上述检测结果发现: 麦角甾醇含量与土壤中pH值、含水率、有机质、有效磷、速效钾5个因素呈正性影响, 而猪苓多糖则与其呈负性影响, 推测猪苓药材质量受pH值、含水率、有机质、有效磷、速效钾影响较大。因此, 今后的实验可以根据此线索再深入研究。

猪苓生态种植除了要求土壤提供良好的营养环境外, 还要求土壤能提供充足的水分和空气。土壤有机质、土壤水分、土壤酸碱度等因素对猪苓药材的生长发育和产品质量产生影响。

### 参考文献:

- [1]陈靳松.猪苓种质量、接菌技术及不同采收期产量质量的研究[D].河北农业大学, 2019.
- [2]王有军.猪苓仿野生栽培技术[J].现代农村科技, 2015(13): 15.
- [3]夏琴, 周进, 李敏, 等.猪苓种植生产的研究进展[J].中药与临床, 2015, 6(02): 119-123.
- [4]田硕, 苗明三.中药原生态种植研究[J].中医学报, 2014, 29(09): 1339-1341.
- [5]鲁文静, 周密, 梁宗锁.猪苓药材质量影响因素及质量评价的研究进展[J].中国实验方剂学杂志, 2013, 19(17): 366-370.
- [6]郭顺星, 徐锦堂, 肖培根.猪苓生物学特性的研究进展[J].中国中药杂志, 1996(09): 3-5.
- [7]李建鸽, 刘涛, 杨振兴, 等.不同生长年限人参的农艺性状品质及土壤理化分析[J].中国现代中药, 2021, 23(01): 99-105.
- [8]李梦.道地药材药性与生长环境关联关系研究[D].北京中医药大学, 2020.

- [9]任丽丽, 赵志红, 杨洋, 等.不同产地猪苓中药效组分与无机元素含量相关性研究[J].辽宁中医药大学学报, 2020, 22 (09): 49-53.
- [10]刘国库.国内主产区猪苓指纹图谱特征及菌丝体外多糖活性研究[D].西北农林科技大学, 2020.
- [11]陈靳松.猪苓苓种质量、接菌技术及不同采收期产量质量的研究[D].河北农业大学, 2019.
- [12]郭宁, 武泽宇, 王建刚, 等.不同产地、生长年限、采收期猪苓中三种有效成分的含量分析[J].特产研究, 2019, 41 (01): 72-77+94.
- [13]王天媛.猪苓原药材质量评价[D].吉林农业大学, 2017.
- [14]蒋国斌, 谈献和, 张瑜, 等.白花蛇舌草栽培地土壤的分析检测[J].南京中医药大学学报, 2008 (03): 180-182.
- [15]焦峰, 温仲明, 焦菊英, 等.黄土丘陵区退耕地土壤养分变异特征[J].植物营养与肥料学报, 2005 (06): 18-24.
- [16]鲍士旦.土壤农化分析[M].北京: 中国农业出版社, 2000.