

· 中药农业 ·

不同生长年限子洲黄芪休眠期的质量差异[△]张花平¹, 崔靖靖², 贺学林^{1*}

1. 榆林学院, 陕西 榆林 719000;

2. 吴起县果业技术发展服务中心, 陕西 延安 717600

[摘要] 目的: 比较不同生长年限子洲黄芪休眠前期和休眠后期的有效成分含量, 揭示子洲黄芪在休眠期各有效成分的变化规律, 确定子洲黄芪的最适采收期。方法: 采用随机取样法收集8批不同生长年限休眠前期及休眠后期的子洲黄芪, 以黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和水溶性浸出物质量分数为指标, 结合聚类分析法分析其质量差异。结果: 各指标含量测定结果显示, 随生长年限的增加, 各成分含量呈规律性动态变化。黄芪甲苷与毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数均在生长5年时达到最高值, 分别为0.166%、0.079%; 水溶性浸出物质量分数在生长7年时达到最高值, 为21.290%。对不同生长年限休眠前期和休眠后期的各成分含量进行对比发现, 休眠后期黄芪甲苷质量分数显著下降, 且下降幅度逐年增大, 生长7年时下降幅度最大, 为54.09%; 毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数增加, 生长5年时增幅最大, 为145.83%; 水溶性浸出物质量分数生长7年时增幅最大, 为18.40%。结论: 子洲黄芪有效成分积累受生长年限及采收时间的影响, 且变化趋势不一致, 如以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为指标, 宜在生长5年休眠后期采收; 如以黄芪甲苷为指标, 宜在生长5年休眠前期采收; 若综合考虑黄芪甲苷及毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量, 宜在生长6年休眠前期采收。

[关键词] 子洲县; 蒙古黄芪; 生长年限; 休眠期; 采收期**[中图分类号]** R282.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2024)04-0672-05**doi:**10.13313/j.issn.1673-4890.20240118003Quality Variation of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* with Different Growing Years in Zizhou CountyZHANG Hua-ping¹, CUI Jing-jing², HE Xue-lin^{1*}

1. Yulin University, Yulin 719000, China;

2. Fruit Industry Technology Development Service Center of Wuqi County, Yan'an 717600, China

[Abstract] **Objective:** To compare the content and reveal the variations of active components at the early and late dormancy stages of *Astragalus membranaceus* var. *mongholicus* growing for different years in Zizhou County, so as to determine the optimal harvesting time. **Methods:** The random sampling method was employed to collect 8 batches of *A. membranaceus* var. *mongholicus* samples in dormancy and growing for different years in Zizhou County. With the content of astragaloside IV, calycosin-7-O-glucoside, and water extract as evaluation indexes, the quality of the samples was compared by the hierarchical cluster analysis (HCA). **Results:** With the increase in growing years, the content of each component presented regularly dynamic changes. The content of astragaloside IV and calycosin-7-O-glucoside peaked in the samples of 5 years old, being 0.166% and 0.079%, respectively. The content of water extract was the highest (21.290%) in the 7-year-old samples. The content of astragaloside IV significantly decreased at the late dormancy stage compared with that at the early dormancy stage, and the decrease rate increased year by year, being the highest (54.09%) in the 7-year-old samples. The content of calycosin-7-O-glucoside and water extract increased at the late dormancy stage, with the largest increases (145.83% and 18.40%, respectively) in the 5-year-old and 7-year-old samples, respectively. **Conclusion:** The accumulation of active components in *A. membranaceus* var. *mongholicus* growing in Zizhou County were affected by the growing years and harvesting time, presenting inconsistent changes. With calycosin-7-O-glucoside as the evaluation index, the 5-year-old

[△] **[基金项目]** 陕西省科技厅自然科学研究计划重点项目 (2021NY-093); 陕西省榆林市科技局产学研合作项目 (CXY-2021-86)

^{*} **[通信作者]** 贺学林, 教授, 研究方向: 特色农产品加工与陕北道地药材产业化技术; E-mail: 381632723@qq.com

A. membranaceus var. *mongholicus* plants at the late dormancy stage were recommended for harvesting. With astragaloside IV as the evaluation index, the 5-year-old plants at the early dormancy stage were recommended for harvesting. With both astragaloside IV and calycosin-7-O-glucoside as evaluation indexes, the 6-year-old plants at the early harvesting stage were recommended for harvesting.

[Keywords] Zizhou County; *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao; growing years; dormancy stage; harvesting time

黄芪是豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根^[1], 主要分布在山西、内蒙古、甘肃、陕西等干旱、半干旱地区^[2]。研究表明, 黄芪含有多种化学成分, 多糖类、皂苷类及黄酮类等是其主要有效成分^[3], 也是评价黄芪药材质量的主要依据^[4]。子洲黄芪是产于陕西省榆林市子洲县及其周边生态环境相似地域(如绥德县、清涧县等)的仿野生种植蒙古黄芪的干燥根^[5], 其种植模式的特点为在山地种植、人种天养、不受化肥农药的影响、较少受到病虫害的胁迫。研究表明, 仿野生种植蒙古黄芪的黄酮类及皂苷类等有效成分积累随生长年限的增长而不断增加^[6], 生长7年的蒙古黄芪药材中黄芪甲苷含量高于其他生长年限药材^[7]; 生长5~6年的仿野生种植蒙古黄芪黄酮类及皂苷类成分含量均高于野生蒙古黄芪^[8]; 生长年限达5年的蒙古黄芪种子出苗率及优质种苗率均高于3~4年生药材^[9]。

黄芪药材质量的优劣取决于其有效成分的含量, 生长年限与采收期是影响其质量的重要因素^[10], 杨少杰等^[11]研究生长年限在1~5年的蒙古黄芪质量差异, 结果表明, 3年生蒙古黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量最高, 4年生蒙古黄芪的黄芪甲苷含量最高; 在宁夏六盘山地区, 5月时蒙古黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量较高, 10月时黄芪甲苷与毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量较高^[12]。可见, 对不同产地黄芪采收期的研究多是以生长年限与采收月作为标准, 极少有按物候期研究采收期, 且多集中在休眠期之前的生长发育阶段, 缺少对休眠期间生长发育变化的研究。因黄芪在休眠中期处于深度休眠状态, 代谢基本停滞, 故本研究对休眠前期及休眠后期的子洲黄芪有效成分含量变化进行研究, 相继收集了8批不同生长年限的休眠前期及休眠后期的子洲黄芪, 测定黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及水溶性浸出物的质量分数, 结合聚类分析(HCA)揭示不同生长年限子洲黄芪休眠期间的活性成分差异, 为子洲黄芪适

宜采收期的确定及优质药材筛选提供参考。

1 材料

1.1 样品

样品均为采自陕西省榆林市绥德县四十里铺镇刘家沟村(E110°17'56", N37°36'59", 海拔: 1095 m)不同生长年限休眠前期(秋季)及休眠后期(翌年春萌动前)的子洲黄芪。休眠期平均气温为0.37℃(平均低温为-5.89℃, 平均高温为6.26℃, 极端低温为-20.15℃, 极端高温为22.04℃), 降水量为68.19 mm。同一生长年限子洲黄芪采自同一块种植田。各批次样品选择土壤、坡度、朝向等条件趋于一致的子洲黄芪仿野生种植田, 随机选取有区域代表性的植株, 人工采挖3组, 每组3株。采收的子洲黄芪均无侧根, 去除泥土, 洗净, 剪除芦头及须根, 自然晾干, 备用。不同批次子洲黄芪样品信息见表1。

表1 不同批次子洲黄芪样品信息

编号	采集时间/年-月-日	物候期	生长年限/年
S1	2022-11-02	休眠前期	3
S2	2022-11-02	休眠前期	5
S3	2022-11-02	休眠前期	6
S4	2022-11-02	休眠前期	7
S5	2023-03-25	休眠后期	3
S6	2023-03-25	休眠后期	5
S7	2023-03-25	休眠后期	6
S8	2023-03-25	休眠后期	7

1.2 仪器

AUW220D型分析天平、SPD-M40/RID-20型高效液相色谱仪均购自日本岛津公司; KQ-250DB型超声波清洗器(昆山舒美超声仪器公司); DK-98-II A型恒温水浴锅(天津泰斯特仪器公司)。

1.3 试药

对照品黄芪甲苷(批号: SI23010, 纯度: 98%, 西安优博生物科技有限公司)、毛蕊异黄酮葡萄糖

苷(批号:111920-201606,纯度:98%,中国食品药品检定研究院);甲醇、甲酸、乙腈均为色谱纯;其他试剂均为分析纯;水为超纯水。

2 方法与结果

2.1 黄芪甲苷与毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量测定

将完全干燥后的子洲黄芪条切碎打粉,按《中华人民共和国药典》(以下简称《中国药典》)2020年版^[1]方法进行含量测定,高效液相色谱图见图1。不同生长年限子洲黄芪黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数均超出《中国药典》2020年版规定标准,如图2所示,不同生长年限子洲黄芪中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数存在差异。黄芪甲苷质量分数随生长年限的增加呈先增加后减少的趋势,生长5年时达到峰值,7年时最低,质量分数为0.143%~0.166%;毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数随生长年限的增加呈先增加后减少的趋势,5年时达到峰值,3年生时质量分数最低,质量分数为0.039%~0.079%。这表明生长年限对子洲黄芪中黄芪甲苷与毛蕊异黄酮葡萄糖苷的积累均有影响。

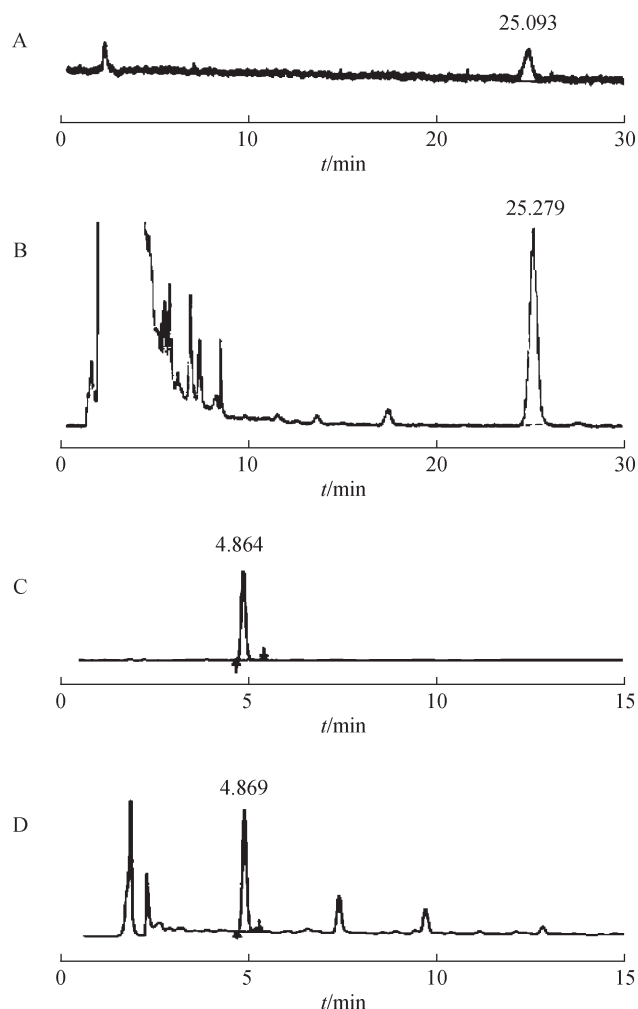
2.2 水溶性浸出物测定

按《中国药典》2020年版通则2201^[13]冷浸法测定水溶性浸出物的质量分数,结果见图2。8批子洲黄芪水溶性浸出物质量分数随生长年限的增加逐年增加,在生长3年时最低、7年时最高,质量分数为19.391%~21.290%,变化幅度不大。

2.3 休眠前期、休眠后期子洲黄芪化学成分的差异

由表2知,4个生长年限的子洲黄芪中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、水溶性浸出物质量分数差异有统计学意义($P<0.05$)。对4个生长年限子洲黄芪休眠前期、休眠后期有效成分质量分数的最大变化幅度进行统计分析,结果表明,在休眠前期最大变化幅度分别为11.58%、76.92%、10.21%,休眠后期的最大变化幅度分别为37.36%、210.53%、8.91%,可见,生长年限对子洲黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷的积累影响最大、黄芪甲苷次之、水溶性浸出物最小。

同一生长年限,黄芪甲苷质量分数在休眠后期低于休眠前期,4个生长年限子洲黄芪的黄芪甲苷年均质量分数降幅分别为34.21%、43.87%、45.45%、53.09%,降幅逐年增大,生长3年时降幅



注: A. 黄芪甲苷; B. 样品(示黄芪甲苷); C. 毛蕊异黄酮葡萄糖苷; D. 样品(示毛蕊异黄酮葡萄糖苷)。

图1 对照品及子洲黄芪样品的HPLC图

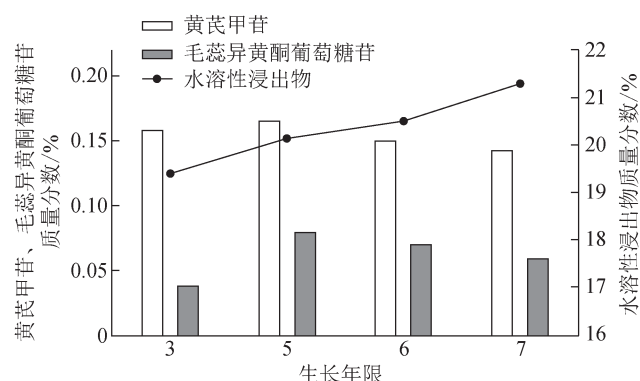


图2 不同生长年限子洲黄芪黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、水溶性浸出物的质量分数变化

最小、生长7年时降幅最大,后者是前者的1.55倍;毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数休眠后期高于休眠前期(除3年生外),4个生长年限毛蕊异黄酮葡萄糖

表2 不同生长年限子洲黄芪休眠前、后期黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷、水溶性浸出物质量分数 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

%

生长年限/年	休眠前期			休眠后期		
	黄芪甲苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	水溶性浸出物	黄芪甲苷	毛蕊异黄酮葡萄糖苷	水溶性浸出物
3	0.190±0.02b	0.039±0.01c	18.085±0.99c	0.125±0.01c	0.038±0.02c	20.697±0.83ab
5	0.212±0.09a	0.048±0.01c	19.931±1.03bc	0.119±0.02c	0.118±0.06a	21.344±2.38ab
6	0.198±0.15ab	0.069±0.02bc	19.656±1.53bc	0.108±0.03d	0.076±0.02b	21.409±1.06ab
7	0.194±0.11ab	0.052±0.04bc	19.038±0.68bc	0.091±0.06d	0.065±0.05b	22.541±1.10a

注: 同列小写字母表示 $P<0.05$ 。

糖苷质量分数年均增长率分别为-2.56%、145.83%、10.14%、25.00%，生长3年时毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数略有下降，生长5年时增长最多，其质量分数接近《中国药典》2020年版标准的6倍；水溶性浸出物质量分数在休眠后期高于休眠前期，4个生长年限年均增长率分别为14.44%、7.09%、8.92%、18.40%，生长5年时增幅最小，生长7年时增幅最大。可见，子洲黄芪有效成分积累在休眠后期发生了明显变化，其中，生长5年的子洲黄芪毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量变化幅度最大。

2.4 系统HCA

为观察子洲黄芪化学成分与采收时间的关系，采用SPSS 27.0软件中组间连接法，以平方欧式距离为度量对8批不同采收时间的子洲黄芪中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷和水溶性浸出物质量分数进行系统HCA，结果见图3。当平方欧氏距离为20时，S1~S4、S5~S8样品各自聚为一类，表明不同生长年限子洲黄芪在休眠前期与休眠后期的质量存在差异；当平方欧氏距离为15时，S1~S4、S5、S7、S8、S6分别聚为一类，说明S6与其他子洲黄芪质量有差异。可见，不同生长年限与采收时间子洲黄芪品质存在差异。

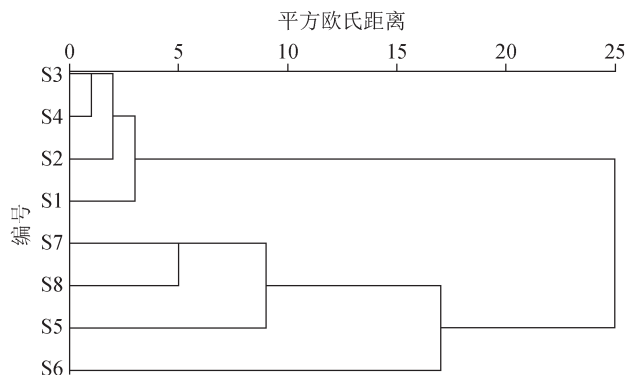


图3 不同批次子洲黄芪样品成分HCA

3 讨论

采收期是影响子洲黄芪品质的重要因素之一，《中国药典》2020年版（一部）规定，黄芪药材采收期为春、秋两季^[1]，但季节跨度较大，指导性意义较弱，前人的研究^[14-16]多集中在黄芪种子萌发至地上部分枯萎时，即休眠期之前，对黄芪在休眠期的生长发育情况报道较少。本研究结果表明，不同生长年限休眠前期及休眠后期的子洲黄芪样品中黄芪甲苷、毛蕊异黄酮葡萄糖苷及水溶性浸出物质量分数存在差异，有一定的变化规律。黄芪甲苷质量分数随生长年限的增加而缓慢升高，生长5年时达到峰值，之后缓慢下降，这与文献[6,17]的结果相似，且在休眠后期均低于休眠前期，这与当地人的认识一致，但与王玲玲等^[18]的研究结果相反，这可能与产地、生长年限、采收时间等因素有关；毛蕊异黄酮葡萄糖苷质量分数随生长年限的增加呈先升高后下降趋势，生长5年时最高，与刘淑霞等^[8]的研究结果相似，且在休眠后期积累多于休眠前期。有研究表明，黄酮类物质在植物抵抗低温胁迫方面有重要的作用^[19]。在受到低温胁迫时，植物通过调节黄酮类物质合成酶基因的表达^[20]，产生大量黄酮类物质，消除自由基，保护细胞免受氧化损伤^[21]，增强对低温胁迫的抗性；水溶性浸出物质量分数随生长年限逐年增加，且休眠后期高于休眠前期。推测子洲黄芪在应对休眠期低温胁迫时，为维持细胞膜结构的稳定^[22]，不断积累可溶性多糖及蛋白质等（水溶性浸出物主要成分）来保护黄芪细胞免受损伤。同时，可溶性糖为维持细胞代谢提供能量，也促进了其含量的增加。可见，生长年限与休眠期的低温胁迫对子洲黄芪的生长发育及有效成分积累有重要影响。

对8个批次的子洲黄芪进行HCA表明，生长年限与采收时间均会影响子洲黄芪的有效成分含量。5年生休眠后期的子洲黄芪（S6）中毛蕊异黄酮葡

葡萄糖苷含量最高,这可能是为抵御冬季低温而表现出的适应机制。

黄芪药效物质成分复杂、结构多变,随时间的推移呈动态变化且变化趋势不一致,这使其品质产生了较大差异。采收期的确定应优先考虑有效成分含量,以便更好地发挥其药用价值。本研究结果表明,子洲黄芪各成分的积累受生长年限及采收时间的影响,若以黄芪甲苷为指标,宜在生长5年休眠前期采收;若以毛蕊异黄酮葡萄糖苷为指标,宜在生长5年休眠后期采收;若综合考虑黄芪甲苷及毛蕊异黄酮葡萄糖苷含量,宜在6年生休眠前期采收,以实现子洲黄芪资源药用价值的科学利用。本研究结果可为区域特色药材子洲黄芪产业的持续稳定发展提供参考。不足之处是未在同一地域采集到生长4年的子洲黄芪,下一阶段将补充这方面的研究内容,并进一步对子洲黄芪在休眠期低温胁迫下的代谢途径及耐受机制进行研究,揭示子洲黄芪的冷适应机制。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:315.
- [2] 秦雪梅,李震宇,孙海峰,等. 我国黄芪药材资源现状与分析[J]. 中国中药杂志,2013,38(19):3234-3238.
- [3] 童丹,王芳. HPLC-UV法测定黄芪中黄酮类化合物含量[J]. 中兽医医药杂志,2022,41(3):84-87.
- [4] 张淑娟,张育贵,牛江涛,等. 黄芪的研究进展及其质量标志物预测分析[J]. 中华中医药学刊,2022,40(2):151-155.
- [5] 中华中医药学会. 子洲黄芪药材质量等级标准:T/CACM 1329.2—2020[S]. 北京:中华中医药学会,2020.
- [6] 辛博,马生军,谢景,等. 生长年限对黄芪药材中黄酮及皂苷类成分含量积累的影响[J]. 中药材,2015,38(7):1366-1369.
- [7] 王宗权,贾继明,裴彩云,等. 不同生长年限和采收期黄芪药材中3种黄芪皂苷的动态积累研究[J]. 中华中医药学刊,2013,31(7):1503-1505.
- [8] 刘淑霞,魏国江,郭永霞,等. 黑龙江大庆地区野生与仿野生栽培蒙古黄芪的品质研究[J]. 化学试剂,2020,42(6):681-685.
- [9] 王慧杰,冯瑞云,梅超,等. 野生抚育蒙古黄芪生长年限对植株性状与种子质量的影响研究[J]. 中药材,2021,44(10):2257-2261.
- [10] 姚雪莲,裴彩云,王宗权. 不同产地、不同采收期黄芪药材及饮片中毛蕊异黄酮葡萄糖苷及芒柄花素含量测定[J]. 药物分析杂志,2012,32(5):797-801,805.
- [11] 杨少杰,樊良帅,晋小军,等. 生长年限对蒙古黄芪质量的影响[J]. 中国野生植物资源,2021,40(1):60-64.
- [12] 马燕,李芯国,毛福英,等. 采收期对宁夏六盘山冷凉地区黄芪质量的影响研究[J]. 中国农学通报,2022,38(10):149-156.
- [13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:四部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:232.
- [14] 荆志宇. 蒙古黄芪适宜施肥量及种子采收期研究[D]. 兰州:甘肃农业大学,2011.
- [15] 王玲玲,杨路存,熊丰,等. 不同栽培密度和采收期对蒙古黄芪生长发育和产量的影响[J]. 分子植物育种,2019,17(23):7962-7968.
- [16] 李冰圳,李国斌,苏优拉,等. 蒙古黄芪不同生育期黄酮类成分积累及其根际微生物多样性研究[J]. 西北植物学报,2020,40(5):828-837.
- [17] 雒阳阳,张璇,张福生,等. 仿野生与平栽蒙古黄芪中黄芪甲苷含量差异的分子机制研究[J]. 中国中药杂志,2022,47(13):3463-3474.
- [18] 王玲玲,杨路存,熊丰,等. 青海省东部不同产地和春秋季节蒙古黄芪化学成分差异性[J]. 分子植物育种,2021,19(10):3441-3447.
- [19] 刘佳佳. 低温诱导喜马拉雅茉莉类黄酮等次生代谢产物合成的分子调控研究[D]. 北京:北京林业大学,2020.
- [20] 肖晓燕,朱成磊,杨克彬,等. 低温促进毛竹叶片类黄酮合成及相关基因的表达模式分析[J]. 热带亚热带植物学报,2024,32(1):101-110.
- [21] 陈星宇,谭魏,汪虹,等. 黄芪黄酮抗氧化活性的构效关系分析[J]. 广州化工,2021,49(24):26-30.
- [22] 佟岩,黄荟,王辉,等. 铁皮石斛多糖合成相关基因在不同组织及低温胁迫下的表达分析[J]. 西部林业科学,2021,50(3):20-27.

(收稿日期:2024-01-18 编辑:戴玮)