

何首乌

研究

HESHOUWU YANJIU

赵致○主 编

王华磊 周 英 刘红昌○副主编
李金玲 罗春丽 李 忠



科学出版社

R282.71
20142

阅 览

何 首 乌 研 究

赵 致 主 编

王华磊 周 英 刘红昌

副主编

李金玲 罗春丽 李 忠



科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书依据非常丰富的资源数量、测试数据和图片,较为系统和全面地阐述何首乌植物学分类、地理分布、适宜栽培区域,包括何首乌的生物学特性、生理生态学特性、栽培技术、病虫害防治、采收加工、质量控制等方面的内容。

本书可供药用植物、中药材研究科技工作者,高等院校师生,中药材生产和中药制药企业、行业管理部门工作人员等参考阅读。

图书在版编目(CIP)数据

何首乌研究/赵致编著.—北京:科学出版社,2013.9

ISBN 978-7-03-038398-3

I.①何… II.①赵… III.①何首乌-研究 IV.①
R282.71

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2013) 第 193280 号

责任编辑:杨 岭 孟 锐/封面设计:墨创文化

责任校对:侯彩霞/责任印制:邝志强

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

四川煤田地地质制图印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2013年9月第 一 版 开本:787*1092 1/16

2013年9月第一次印刷 印张:29.75

字数:620千字

定价:80.00元

《何首乌研究》编写委员会

主 副	编 主 编	赵 致			
		王华磊	周 英	刘红昌	李金玲
审 统	稿 稿 委	罗春丽	李 忠		
		冉懋雄	何顺志	孔令中	
编	委	赵 致	王华磊	王文渊	
		(按姓氏拼音排序)			
		柴 锐	陈 刚	冯 敏	胡继田
		胡跃维	黄明进	李金玲	李 燕
		李 忠	李宗豫	刘红昌	刘利波
		刘能贤	陆翔恩	罗春丽	彭礼军
		石 磊	石 洋	宋晓兰	王华磊
		王慧娟	王 珍	徐秋云	杨丽丹
		曾桂萍	张 敏	赵 致	周 英

前 言

本书是根据国家科技支撑计划项目“半夏、何首乌、续断、头花蓼 4 种药材规范化种植关键技术研究与应用示范”(2009BAI74B01)和贵州省重大科技专项项目“半夏、淫羊藿、金钗石斛等 7 种药材规范化种植和野生保护抚育关键技术研究及应用示范(黔科合重大专项字〔2008〕6022)”研究结果,得到贵州省发展和改革委员会高技术项目(黔发改高技〔2009〕2805 号)、贵州省科技厅重点实验室项目(黔科合计 Z 字〔2010〕4015)及贵州省科技厅科技创新人才团队项目(黔科合人才团队〔2010〕4006)支撑,首次利用非常丰富的资源、材料,较为系统和全面地研究了何首乌生物学特性、生理生态学特性、栽培技术、病虫害防治、采收加工技术及质量检验控制等方面的内容。

本书具有先进丰富的研究思想、测试图谱、案例图片、统计图表,研究过程和分析表达充分,内容新颖、非常全面、具发展动态前沿的科技研究成果的表达,对药用植物资源利用的科技进步、产业发展有着重要的指导意义。可供科技工作者,高等院校师生,中药材生产和中药制药企业、行业管理部门的工作人员等参考。

本书的出版得到贵州大学出版基金的资助,在此表示感谢。

何首乌研究项目组

2013 年 1 月 10 日于贵阳

目 录

前言	
第一章 概述	1
参考文献	17
第二章 何首乌的生物学特性和种质资源评价	22
第一节 何首乌种质资源的生物学特性	22
第二节 何首乌种质资源评价	34
第三节 何首乌优良种源筛选	116
第四节 何首乌适生区域和主产区域的研究与划分	124
第五节 何首乌生物学特性观察及良种繁育标准操作技术规程	125
参考文献	133
第三章 何首乌的生理生态学特性	135
第一节 何首乌的生理特性	135
第二节 何首乌的矿质营养	157
第三节 何首乌干物质积累与次生代谢物质积累	219
第四节 何首乌生长发育与环境因子	223
第五节 何首乌的配方施肥	228
第六节 何首乌测土配方施肥及光合作用测定标准操作技术规程	238
参考文献	246
第四章 何首乌的栽培技术研究	248
第一节 何首乌的繁殖技术研究	248
第二节 何首乌扦插苗移栽技术研究	261
第三节 何首乌田间管理技术研究	275
第四节 何首乌大厢高密度种植模式研究	305
第五节 何首乌玉米间作研究	307
第六节 何首乌种子种苗繁育及栽培管理标准操作技术规程	308
参考文献	319
第五章 何首乌的病虫害防治	321
第一节 何首乌病害发生及为害	321
第二节 何首乌虫害发生及为害	324
第三节 何首乌病虫害防治研究	327
第四节 贵州何首乌生产基地病虫害防治实践	335

第五节 何首乌病虫害防治标准操作规程	342
参考文献	358
第六章 何首乌的采收加工	359
第一节 何首乌的合理采收期	359
第二节 何首乌的采收方法	375
第三节 何首乌的加工炮制	376
第四节 何首乌的包装贮运	395
第五节 何首乌采收加工及贮藏运输标准操作规程	397
参考文献	407
第七章 何首乌的质量控制研究	409
第一节 何首乌的鉴别与检查方法	410
第二节 何首乌中有效成分含量测定及方法的建立	419
第三节 何首乌指纹图谱研究	427
第四节 何首乌药材质量标准及起草说明(企业内控)	448
第五节 何首乌药材检验标准操作规程	449
参考文献	464

第一章 概述

何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.), 蓼科多年生缠绕藤本植物(国家药典委员会, 2010), 全株皆可入药。干燥块根称为何首乌, 何首乌的藤茎或带叶藤茎称为夜交藤(*Caulis Polygoni multiflori*), 又名首乌藤(王付荣等, 2007)。国内外对何首乌的研究多集中在本草、资源、组培、加工、药化、药理等方面, 栽培研究较为粗浅, 主要集中在扦插繁殖及常规栽培管理过程上。在何首乌优良种源选择、生理代谢、生物学特性、生态适应性、种植密度、肥水调控等对何首乌块根产量、质量、副产物产量和生长潜力的影响方面研究尚少。

一、本草研究

何首乌始见于唐元和七年李翱所著《何首乌录》(李正等, 2003)。其后, 《本草纲目》、《本草图经》、《证类本草》等本草文献均有记载。宋代《本草图经》一书中有详细记载。何首乌本出顺州南河县, 岭外、江南诸州亦有, 今处处有之, 以西洛、嵩山及南京柘城县者为胜。春生苗, 叶叶相对, 如山芋而不光泽; 其茎蔓延竹木墙壁间, 夏筭开黄花, 似葛勒花; 结子有棱, 似荞麦而细小, 才如粟大。秋冬取根, 大者如拳, 各有五棱瓣, 似小甜瓜。此有二种: 赤者雄, 白者雌。一云: 春采根, 秋采花。九蒸九曝, 乃可服。清代吴其濬(吴其浚)在《植物名实图考》中, 对何首乌的描述及附图均为蓼科植物何首乌(吴其浚, 1956)。在其另一著作《植物名实图考长篇》中记载了何首乌名称的来由: 何首乌本无名, 因何首乌见藤夜交采食有功, 因以采摘人为名, 故又名桃柳藤(吴其浚, 1959)。

赤、白首乌之说。古代本草书籍中所记载的何首乌有“赤、白之分”。“赤者”, 普遍认为是蓼科植物何首乌。“白者”则有两种观点: 一种是现今药材“白首乌”的萝藦科植物大根牛皮消, 因为古人的书中记载均为“叶叶对生”, 而《图经本草》没有插图, 因此无法确认, 现在少数地区将耳叶牛皮消的块根、隔山消的根和青洋参的根作白首乌用; 另一种是周燕华和谢崇源分别对古代所用的白首乌进行了本草考证、原产地的原植物形态调查, 认为“白”首乌为赤首乌的变种——棱枝何首乌(刘寿养, 1991)。赤首乌块根断面为淡紫红色, 而“白首乌”块根断面呈白色, 两种何首乌花的构造、叶色及鲜块根肉色等存在差异。

二、形态特征及生物学特性研究

何首乌为蓼科的多年生缠绕草质藤本植物, 其块根及藤均为名贵的中药材。块根肥厚, 长椭圆形, 黑褐色, 别名: 首乌、红内消(贵州)、铁秤砣(湖南、陕西)、母猪头(甘

肃)。茎缠绕,长2~4 m,多分枝,具纵棱,无毛,微粗糙,下部木质化。单叶互生,卵形或长卵形,长3~7 cm,宽2~5 cm,顶端渐尖,基部心形或近心形,两面粗糙,边缘全缘;叶柄长1.5~3 cm;托叶鞘膜质,抱茎,无毛,长3~5 mm。花序圆锥状,顶生或腋生,长10~20 cm,分枝开展,具细纵棱,沿棱密被小突起;苞片三角状卵形,具小突起,顶端尖,每苞内具2~4花;花梗细弱,长2~3 mm;花被5深裂,白色或淡绿色,花被片椭圆形,大小不相等,外面3片较大,背部具翅,结果时增大,花被果时外形近圆形,直径6~7 mm;雄蕊8,花丝下部较宽;花柱3,极短,柱头头状。瘦果卵形,具3棱,长2.5~3 mm,黑褐色,有光泽,包于宿存花被内。花期8~9月,果期9~10月(郭巧生,2009)。

何首乌喜温好光、怕严寒。温度低于8℃时,块根上的潜伏芽处于休眠状态;温度高于8℃,休眠芽开始萌发;低于12.5℃时,生长不良;气温在14.6℃以上时,生长旺盛;块根膨大期间要求温度在25~30℃;低于10℃时,块根停止膨大。光照充足,有利于苗期形成较大的营养体,合成积累较多的营养物质,有利于块根膨大期间营养物质的转化;光照不足,会使下部叶片早衰。喜湿润,忌积水,在年平均降水量1200 mm左右,相对湿度75%~85%的地区,生长发育良好;水分不足,影响幼苗生长,发棵缓慢;水分过多,特别是块根膨大期间,造成通气不良,影响块根膨大,严重时烂根。何首乌块根可深达土中40 cm以上,含钾和有机质较多的微酸性至中性土壤有利于何首乌块根生长,产量高;土层浅薄、易于板结的土壤,块根生长不正常,产量低;过于肥沃的稻田土容易引起何首乌地上部徒长,块根小,产量不高(郭巧生,2009)。

三、地理分布与起源研究

何首乌资源丰富,主要分布于中国的陕西南部、甘肃南部、云南、贵州、四川、华东、华中、华南和台湾,日本也有(中国科学院中国植物志编辑委员会,1998)。生长于海拔200~3000 m的山谷灌丛、山坡林下和沟边石隙。商品药材主产于我国广东、广西、四川、湖南、贵州、河南等省(自治区)(王婉茹等,2002)。如河南的嵩县、湖北的建始和恩施、广西的南丹和靖西、广东的德庆、贵州的铜仁和黔南、四川的乐山和宜宾、江苏的江宁和江浦等地(周荣汉,1993)。以广东德庆产首乌质量最佳,称为德庆首乌,系广东著名道地药材(李军等,1995)。

周忠泽等(2003)根据蓼科(Polygonaceae)14属166种植物28个花粉类型在中国的地理分布,认为中国西南部是蓼科植物的多度中心和多样化中心,也是中国蓼科植物的起源地,而湖北及邻近省份则是中国蓼科植物的次生分布中心。根据化石花粉资料表明,蓼科植物的起源时间可能是白垩纪末期或第三纪初期。此外,根据叉分蓼型、冰岛蓼型、春蓼型、头状蓼型、多穗蓼型、卷茎蓼型、拳蓼型、木蓼型的地理分布,划分了蓼科植物的6条迁移路线。

四、组织培养研究

国内报道主要有何首乌外植体的诱导及芽的继代增殖培养、何首乌愈伤组织诱导及褐化研究、何首乌毛状根的诱导、何首乌组培苗生根等方面的研究。于荣敏等(1995)在茎段

愈伤组织的诱导中也证实了生长素的重要性,以 MS+2, 4-D(1 mg/L)培养基, 25 °C 暗培养时效果最佳。培养物中有何首乌的主要成分大黄素和大黄酚,但在不同生长调节剂和培养条件下诱导出的愈伤组织中所含成分差异较大,以 IBA 诱导的愈伤组织中含相对较高的大黄素和大黄酚,而 2, 4-D 诱导物中则仅检测出微量的大黄素。邱奉同(2000)选取何首乌茎尖诱导愈伤组织,在该过程中生长素的种类、浓度起关键作用,以 1/2MS+2, 4-D(0.1~0.3 mg/L)为最好。王振华等(2001)用发根农杆菌 Ri15834 菌株感染何首乌茎、叶外植体,均可诱导出毛状根,并能合成大黄酚,采用薄层扫描法测定含量为 0.0164%。王莉等(2002)用含 pRiAb 质粒的发根农杆菌 LBA9402 转化何首乌产生毛状根的诱导率较高,无菌小植株叶可高达 100%,毛状根中大黄酸的含量为 2.49 μg/g,是原植物的 2.85 倍,与愈伤组织的含量相近;大黄素的含量为 79.6 μg/g,为原植物的 25.5%,是愈伤组织含量的 178.1 倍,确立了何首乌毛状根在 MS 培养基中的最佳继代时间为 30 d 左右。杨振德等(2002)对何首乌的组培快繁技术进行了研究。李娟玲等(2003)报道何首乌的茎段离体快速繁殖以 MS 培养基,0.5 mg/L BA(或 0.5 mg/L NAA)及 3% 的蔗糖比较适合。赵云峰等(2004)研究了组培条件对何首乌愈伤组织诱导及生长的影响。龙滢等(2005)以何首乌茎尖、茎段为外植体进行组织培养试验。李凤华等(2005)以何首乌为材料,叶片愈伤组织为外植体,采用正交设计,研究不同因素对降低愈伤组织褐化的作用。王凌晖等(2005)对何首乌茎段快繁技术进行了研究,综述了何首乌的快速繁殖、愈伤组织的诱导和培养、毛状根的诱导和培养及活性成分的产生,并展望了何首乌生物技术的前景。袁红霞等(2006)主要对何首乌块根和幼茎进行了愈伤组织培养,并对何首乌不同外植体的诱导时间进行了比较。刘为军等(2009)以何首乌茎段和顶芽为材料,对何首乌的组培快速繁殖技术进行了研究。

近年来,随着对何首乌开发利用的不断深入,何首乌和何首乌制品的需求量呈猛增趋势,野生资源的日益匮乏与何首乌需求量的日益增长,使何首乌资源的人工培育研究成为人们关注的焦点。何首乌资源的人工培育主要有两种途径:一是利用组织培养和毛状根培养等现代生物技术,直接提取药用有效成分;二是通过何首乌野生变家种研究,进行人工种植生产。在利用生物技术进行何首乌有效成分生产的研究方面,不少学者在愈伤组织培养(于荣敏等,1995)和毛状根培养(王振华等,2001)研究上进行了大量的尝试,何首乌毛状根体系已经建立,多数对何首乌毛状根有效成分分析发现,其能合成多种蒽醌类成分,但尚未有二苯乙烯甙合成的报道。鉴于应用生物技术进行何首乌资源培育的困难和局限性,目前,通过何首乌野生变家种的研究进行人工种植生产仍是何首乌资源人工培育的主要手段。

五、栽培理论与技术研究

何首乌几年前野生资源还比较丰富,药源主要来自野生资源,近几年由于何首乌的保健、日化用途的逐步研究及开发,对何首乌的需求日益增加,人工繁殖和栽培逐渐受到重视。目前在贵州、广西、广东、河南、江苏等省(自治区)有一定规模的人工栽培,已经审定出一些高产品种,各地应用的栽培种源混杂,良种选育和丰产栽培技术的研究相对滞后,药材质量不高。人工种植 2~3 年的何首乌即可进行收获,当秋冬叶子枯萎时采收。

虽然我国在何首乌野生变家种研究上取得了初步成功,但是人工种植何首乌产量和质量低下又为何首乌种植技术体系研究提出了更高的要求,如何提高种植何首乌的产量和质量必将成为今后何首乌种植研究的重点。优质人工何首乌资源培育技术体系的研究需要栽培学和药学交叉学科的知识体系协同完成。因为何首乌栽培与农业上的作物栽培和林业上林木栽培一样,都需要来自栽培学、土壤学、植物生理学、植物营养与肥料等一系列与栽培相关的基础理论和研究方法作指导,同时作为以生产优质药材为目的的何首乌栽培又与农业和林业上的栽培生产有很大区别,那就是在常规农林业的栽培生产上,人们最为关注的是产量的高低;而对于何首乌栽培药材质量应该放在第一位,而药材质量的优劣则需要用药学的质量指标体系和分析手段来评价分析。综合栽培学和药学的相关研究方法,提高人工栽培何首乌质量的途径主要有以下3种:一是通过改善栽培技术措施;二是进行遗传改良和实现适地适种;三是通过改善采集、加工、炮制及贮藏方法。目前,国内对何首乌栽培方面的研究都是很粗犷的,在细节方面存在着许多问题,例如,关于何首乌肥水搭配方面的研究几乎是空白的,因此,对何首乌栽培技术的深入研究势在必行。

何首乌生长期较长、生长量大,需要较多的营养供给。何首乌前期发根长蔓,枝叶扩展,需要较多的氮磷肥,以搭好架子;中后期糖类转化为淀粉,块根膨大迅速,需要较多的钾肥(蔡秀民等,1986;赵军等,1994)。在我国,何首乌人工种植历史可追溯到明代,广东德庆县早在明代就开始种植何首乌,被誉为“何首乌之乡”(方清茂等,2009)。近代,何首乌作为人工栽培的药用植物研究报道,最早是1977年(上海市农科院园艺所,1977)。迄今,国内外对何首乌的研究多集中在药理、药效等方面,栽培研究在一般的栽培过程、田间管理等方面有一些报道(汪仁美,2005;刘运华等,2007;陈晓玲等,2010;闫士珍,2010),但水肥搭配技术是研究中的薄弱环节,报道尚少,不同营养元素与水的配合对何首乌生理代谢的影响需深入研究。

(一)人工繁殖方式研究

何首乌的繁殖方式有扦插繁殖、种子繁殖、块根繁殖、压条繁殖等繁殖方式,目前比较常用的主要是扦插繁殖和种子繁殖。

1. 扦插繁殖

4~7月是何首乌藤茎扦插的最佳季节,采集2~3年生生长健壮无病的中间段红色藤茎作插穗。取过冬的成熟枝条(最好有2~3个节),剪成10~15 cm作插穗,上端平口,下端楔形口,在最下一个分枝下面2 cm处。插穗要做到随采随用,用适量生根粉加泥土配制成糊状泥浆,将插穗下段放入泥浆中浸1 h,取出晾干使泥浆粘在插穗上,促进快生根。剪好后直接插入大田或花盆中,扦插深度以埋住插穗的最上一个分枝为好。插后用地膜覆盖,一次性浇透水。约1个月可生根(周久安等,2006)。

2. 种子繁殖

于10~11月种子成熟采集,用手搓去皮壳,装入皮袋放于阴凉干燥处,也可沙藏:1份种子与2份细土或半干湿的细沙拌匀,放于容器中贮藏。播种方法3~4月挖穴播种,

穴深约 10 cm, 穴距 25 cm, 行距 30 cm, 错开挖穴, 每穴播种 6~10 粒, 每亩^①约 6000 穴, 用种约 200 g。播后浇施清水粪, 然后盖细土厚 1~2 cm, 适时浇水保持土壤湿润。易思荣等提出何首乌因种子细小, 应以撒播为宜, 播种量为 4~6 g/m² (易思荣等, 2008)。

3. 块根繁殖

可用整块繁殖也可以切块繁殖, 切块繁殖每块至少要留一个芽。切块的何首乌要用水清洗, 再用托布津 1000~2000 倍液浸泡 3 h, 并用草木灰涂抹刀口, 放背阴通风处, 而后在大田或花盆定植。

4. 压条繁殖

当枝条长到 30 cm 以上时, 在枝条 20 cm 处固定并埋土, 随着枝条不断生长进行压条, 直到枝条停止生长为止 (桑本春, 2002)。

(二)栽培技术与田间管理

1. 搭架

何首乌缠绕性强, 藤茎可生长至 10 m 以上, 田间栽培采用搭架栽植, 有利于通风透光。可打桩拉绳; 也可立水泥杆, 水泥杆间顺行用 4~5 根铁丝连接; 或行间套种高干作物。苗高 30 cm 时应搭架, 架高 1.5~2.2 m (蔡秀民等, 1986;; 梅青辉, 1986; 赵军等, 1994; 罗梅兰等, 2009)。

2. 施肥

肥料应掌握早施提苗肥、轻施发棵肥、重施膨大肥的原则 (罗梅兰等, 2009)。生长期每年结合除草追肥施肥 2~3 次, 5~6 月开花前施有机肥, 10~11 月以施磷钾肥为主 (易思荣等, 2008)。

3. 松土、除草与培土

何首乌的苗期长、草害严重, 全苗后应及早除草松土, 深度 3~6 cm, 以后每隔 10~15 d 进行一次, 主藤蔓长到 1 尺^②以上时停止松土除草。何首乌定植后, 应勤中耕除草, 特别春夏之际, 杂草生长旺盛 (易思荣等, 2008; 罗梅兰等, 2009)。何首乌生长年限比较长, 栽培后地面经雨水淋溶、冲刷, 表土流失, 根系暴露出来, 这样的情况下会影响其正常生长, 特别不利于何首乌块根的膨大, 所以可结合中耕除草将植株周围的表土培在根的基部。

4. 浇水灌溉与排水

何首乌定植后, 宜小水勤浇, 一般在上午 10 点前或下午 4 点后。苗期需经常保持田间湿润, 以利成活, 待成活后可少浇水。雨后注意排除积水, 高温多雨季节, 注意排水防涝, 以防块根腐烂 (易思荣等, 2008)。

5. 修枝与打顶

何首乌成活后如藤蔓过长, 每季度修剪一次, 割去一部分茎叶, 通风透光, 以利于根生长。一般只留一藤, 多余的分芽苗剪掉, 到 1 m 以上才保留分枝, 这样利于植物下层通风透光。如果藤蔓生长过旺, 可适当打顶。大田生产每年修剪 4~6 次。

① 1 亩≈667 m²。

② 1 尺≈0.333 m。

6. 病虫害防治

何首乌主要病害有根腐病、叶斑病、锈病,虫害主要有蚜虫、红蜘蛛、地老虎、金龟子等。

根腐病:发病初期及时用药剂防治,要拔除感病植株,穴内撒生石灰消毒或用2%生石灰浇灌病区,也可用50%甲基托布津800倍液或50%多菌灵1000倍液浇灌根部(卢隆杰等,2008)。

叶斑病:清洁田园,保持通风、增强透光;发病初期喷1:1的120倍波尔多液,每7~10 d喷1次,连续2~3次;发病后立即剪除病叶,再喷65%代森锌500倍液防治(桑维钧等,2007;易思荣等,2008)。

锈病:清除田间遗落地上的病残株叶,一旦发现病叶,可及时摘去;发病初期可喷75%敌锈钠300~400倍液,或喷0.2~0.3波美度的石硫合剂,每隔7~10 d喷药一次,连续2~3次,可控制本病发展。使用75%百菌清100倍液,75%甲基托布津100倍或200倍液,隔7~10 d喷药一次,连续两次,可有效减少夏孢子的产生,有效率在60%以上(廖寿南等,1986)。

蚜虫:利用天敌如食蚜瓢虫、食蚜蝇、蚜茧蜂、草蛉等在苗畦上覆盖40~45筛目的白色或银灰色网纱,以杜绝蚜虫接触首乌苗;可用剪裁成5 cm的银灰色塑料条,拉挂于田间架杆上或铺于田间,以减轻蚜害;选用抗虫品种,及时中耕除草,清除田间杂草,处理残株落叶,剪去带虫嫩枝并销毁;可选用40%乐果1000倍液或50%敌敌畏乳油1500~2000倍液等防治,为防止蚜虫产生抗药性,应轮换用药(卢隆杰等,2008)。

金龟子:为鞘翅目金龟子科,以成虫危害叶片,可用75%或90%敌百虫1000倍液喷杀。

中华甘薯叶甲:属鞘翅目叶甲科,以成虫和幼虫取食叶片,可用5%的西维因粉喷洒叶面或地面,也可喷洒50%马拉硫磷、二溴磷和亚胺硫磷乳剂800倍液防治(莫昭展,2004)。

地老虎和蛴螬:可用75%辛硫磷制成的诱饵诱杀或用毒土杀。

六、生药研究

(一)基原鉴定

《中华人民共和国药典》历版所刊载的何首乌均为蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)的块根。该植物为多年生缠绕性草本,块根呈纺锤形,表面显红棕色至暗褐色,断面显紫红色,又称为赤首乌。

李军等(1995)对全国22个省市何首乌类进行了原植物调查和商品鉴定,河北邯郸等地区曾有将蓼科植物翼蓼的块根误用为何首乌,河南延津、驻马店、卢氏及甘肃西河、天水等地区曾将蓼科植物毛脉蓼[*Polygonum cillinerve* (Nakai) Ohwi]的块根混淆作何首乌使用,甘肃城固地区曾经将蓼科植物木茎蓼的块根混淆为何首乌。防己科植物地不容(*Stephania delavayi* Fr.)、薯蓣科植物黄独(*Dioscorea bulbifera* L.)、葡萄科植物白蔹[*Ampelopsis japonica* (Thunb.) Makino]的地下部分也有混淆为何首乌使用。除蓼科植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)外各种均视为混伪品。

伪品有 6 科 9 种植物的根和根茎(赵华英等, 1998b; 陈吉炎等, 1999a; 夏从龙等, 2003; 程仁云等, 2005; 阮细发, 2007), 包括: 毛脉蓼 [*Polygonum cillinerve* (Nakai) Ohwi.], 蓼科翼蓼 (*Pteroxygonum giraldii* Damm. et Diels.), 萝藦科耳叶牛皮消 (*Cynanchum auriculatum* Royle ex Wight.), 酱头 (*Polygonum subertii* L. Henry.), 隔山消 [*Cynanchum wilfordii* (Maxim.) Hemsl.], 头花千金藤 (金线吊乌龟) (*Stephania cepharantha* Hayata), 芭蕉科芭蕉 (*Musa basjoo* Sieb. et Zucc.), 虎耳草科鬼灯檠 (*Rodgersia aesculifolia* Batal.), 薯蓣科黄独 (*Dioscorea bulbifera* L.)。

(二) 显微鉴定

谭凯丽等(2010)采用石蜡切片法对何首乌的组织结构进行了研究, 认为何首乌块根是在根正常次生结构的形成后产生的。相隔相同距离的 4~8 个韧皮薄壁细胞恢复分裂能力转变为三生形成层。三生形成层向内分裂产生三生木质部, 向外分裂产生三生韧皮部。三生韧皮部、三生形成层和三生木质部共同构成了异常维管束, 异常维管束的中央为木质部, 周围是韧皮部, 韧皮薄壁细胞含有大量的淀粉粒。

李军等(1995)研究了何首乌的组织构造, 认为何首乌栽培品块根中部(直径 1.5 cm)横切面与野生品种不同, 木栓组织内侧宽广的薄壁组织中异常维管束排列成一圈, 大的异常维管束 4~6 个, 分布于棱脊处, 棱脊之间有少数发生较晚的小维管束。次生维管组织由射线分割成 30 余束; 木质部中央导管群较为发达, 因此栽培品块根横断面常常可见木心。

有研究报道, 何首乌横切面组织具次生或三生构造; 保护组织为木栓组织; 内皮层不明显; 薄壁组织含草酸钙簇晶或方晶。皮层宽广; 有 4~12 个异型维管束, 形成层环状; 无髓部; 薄壁细胞含草酸钙簇晶直径约 80 μm ; 淀粉粒多为类圆形, 复粒少见。粉末鉴别时, 有木栓组织; 薄壁细胞含草酸钙簇晶, 或方晶、小棒晶; 具网纹导管, 无石细胞; 淀粉粒单粒类球形或椭圆形, 直径大者可达 40 μm , 复粒多见, 导管为网状具缘纹; 木栓组织含棕色块(陈吉炎等, 1999b)。

(三) 理化鉴别

红外光谱法 (IR): 采用 IR 法对何首乌及伪品的氯仿和乙醇提取液进行鉴别, 在与药材对照品相同的试验条件下, IR 中吸收峰的位置、峰形、峰强度等特征具有较强的种属特异性, 可作为鉴别何首乌及其混伪品的依据(陈黎等, 1999)。

薄层色谱法: 以苯: 无水乙醇(2: 1)和苯: 无水乙醇(4: 1)为展开剂, 两次上行展开, 展距分别为 10 cm、15 cm。取出晾干, 置紫外光灯(365 nm)下检视, 再喷以磷钼酸硫酸溶液显色, 可作为鉴别何首乌与混伪品(陈吉炎等, 1999)。

紫外光谱法: 有文献报道对何首乌醇溶液进行紫外光谱鉴定, 显示两个最大吸收峰波长相差在 80 nm 以上, λ_1 为 222.5 nm, λ_2 为 307 nm; A1/A2 比值为 1.56 时为何首乌(陈吉炎, 1999)。

凝胶电泳法: 有文献报道对何首乌和 5 种混伪品进行了可溶性蛋白质电泳鉴别研究, 发现电泳谱带有明显差异, 可作为何首乌及其混伪品的鉴别依据(陈吉炎等, 1998)。

(四)采收加工

何首乌从栽培后次年开始,每年落叶后,可割下其藤蔓,然后清除残叶和杂质,最后晒干即为中药夜交藤。栽培3~4年后,可采收块根,以秋冬季叶片脱落或者春末萌芽前采收为宜,先拔除支架,割除藤蔓,再将块根挖起,洗净,除去尖头和木质部分。按大小进行分级,直径或长度达15 cm或以上的块根,可切成厚5 cm左右、长8~9 cm的块状或切成厚3.3 cm、长和宽5 cm的厚片,分别摊放在瓷盘内,厚度约15 cm,用50~55℃烘烤,每隔7~8 h翻动1次,连续烘烤4~5 d,待七成干时取出,在室内堆放回润24 h,使药材内部的水分向外渗透,再入烘箱烤至充分干燥。

(五)炮制方法

何首乌的炮制方法有多种,如净制、切制、润制、火制等。

净制:何首乌净制法主要是去泥。可不除去黑皮,只需“除去杂质、洗净、润透、切片和干燥”。研究表明,何首乌去皮后的部分及其两端化学成分存在一定的差异,并认为应去除两端,可不去除外皮(李林福等,2007)。

切制:药材切制时,除鲜切、干切外,须经浸润使其柔软者,应少泡多润,防止有效成分流失。软化处理方法有喷淋、水洗、浸泡、润、漂、蒸,并应按药材的大小、粗细、质地等分别处理。注意掌握气温、水量、时间等条件。切后应及时干燥,以保证质量。研究表明,何首乌饮片按《中华人民共和国药典》要求切成2~4 mm的厚片或者1~2 mm的薄片(国家药典委员会,2010),有效成分在蒸制时既不流失,又能在煎煮时较完全地被溶出。而采用在产地趁新鲜直接加工切制成何首乌饮片的形状,既简便、节约成本,同时又能防止水溶性有效成分的流失。

润制:蒸制之前首先对生何首乌进行润制,润制的方法和程度是保证何首乌饮片质量的关键。润制不透,其后的蒸制难以达到要求;润制用液体量过大,易造成有效成分的溶解流失,较为适宜的用水量为何首乌:润制用水量为1:1。润制时间过长,易滋生微生物,引起药材质量变化。何首乌饮片室温润制过程中,润制时间一般为12 h,在此条件下饮片完全润透,可达到工艺要求。

黑豆制:取黑豆10 kg,加水适量,约煮4 h,熬成汁约15 kg;黑豆渣再加入水煮约3 h,熬汁约10 kg,合并得黑豆汁约25 kg(国家药典委员会,2010)。取生首乌片或块,用黑豆汁拌匀,润湿,置非铁质的适宜容器内,密闭,蒸或炖至汁液吸入药材,待药物呈棕褐色时,取出,干燥。每100 kg何首乌片或块用黑豆10 kg(叶定江,1996)。

清蒸法:取何首乌片,稍润,置蒸锅内密闭,隔水分别蒸至药物内外显棕褐色,取出,干燥(国家药典委员会,2010)。有研究者经实验后建议采用何首乌饮片加豆浆拌匀后,于蒸气灭菌锅中,1 kg压力蒸4 h,然后再闷4 h,此法可替代原来的蒸制法(蒋纪洋,1997)。

从唐代开始便使用辅料和采用不同的炮制方法,以后历代有所继承和发展,其中黑豆拌蒸法从唐代一直沿用至今,应用历史最长。由于炮制后的化学成分变化从而会导致其药理作用的变化,生用泻下作用强;炮制后的泻下作用弱,而补益的作用增强,这与传统观

点符合。现代炮制方法有多种,包括酒制、酒蒸、单蒸、黑豆酒蒸、黑豆蒸、黑豆煮、单煮。不同的炮制方法直接影响药材的成品收率及其内在质量,而以上方法中,《中华人民共和国药典》2010年版仅收录了黑豆制法和清蒸法。

(六)分子生物学

王凌晖(2005)从300对引物中筛选出40对重复性及稳定性好的引物进行扩增,从中发现31个野生何首乌种源具有较高的多态性;所检测到的228条多态位点的平均有效等位基因数目为1.46,平均基因多样性为0.28,平均信息指数为0.43。研究表明,何首乌野生种源具有较为丰富的遗传多样性;应用聚类分析,可以得到基于叶性状的何首乌野生种质资源之间的亲缘关系。由于前3个主成分值已经把何首乌叶的主要特征信息综合反映出来,因此可将其作为何首乌种源聚类分析的综合指标。叶性状的聚类分析表明,地理位置靠近的种源能聚在一起,这与各种源间的亲缘关系与地理分布相符。

(七)染色体核型

刘聪莉(1998)从何首乌的大量制片中观察了50个根尖细胞的中期染色体,确定其染色体数目为 $2n=22$,未发现有非整倍性变异和多倍体现象,也未发现有B染色体。核型分析一共测量了5个分散良好,且着丝点清晰的中期细胞染色体。按着丝点位置划分染色体的类型,何首乌染色体的核型公式应为: $K(2n)=22=14m+2m(SAT)+6sm$,属于“2A”类型,是一个较不对称的核型,染色体相对长度组成为 $2n=22=2L+8M^2+12M1$,从测得的何首乌染色体体积来看,比一般的植物染色体体积大,为 $231.90\mu m^3$,可显示其含有较多的DNA遗传物质,在进化上处于比较进化的状态。

七、化学成分

何首乌主要含有蒽醌类化合物、二苯乙烯甙类化合物及磷脂等,此外何首乌中还含有大量的多种微量元素。何首乌中最重要的二苯乙烯类化合物是2,3,5,4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-葡萄糖苷,简称二苯乙烯甙;蒽醌类衍生物主要为大黄素、大黄素甲醚,其次为大黄酚、大黄酚蒽酮等。蒽醌衍生物的药理作用主要在于消炎、抗菌、利尿、降低胆固醇和抗肿瘤等。块根含卵磷脂约3.7%,有抗衰老、降血脂、防治心血管疾病的作用。《中华人民共和国药典》2010年版何首乌项下以二苯乙烯甙和结合蒽醌作为定量指标。

(一)二苯乙烯甙类

周立新等(1994)从乙酸乙酯不溶部分分离得到了2,3,5,4'-四羟基反式二苯乙烯-2,3-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,命名为何首乌丙素。Grech等(1994)分离得到了2,4,6,4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷,Nonaka等(1982)分离得到了2,3,5,4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O-(2''-O-没食子酰)- β -D-吡喃葡萄糖苷与2,3,5,4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O-(3''-O-没食子酰)- β -D-吡喃葡萄糖苷。Xiao等(2002)分离得到了2,3,5,4'-四羟基顺式二苯乙烯-2-O- β -D-吡喃葡萄糖基-(1,6)- β -D-吡喃葡萄糖苷。陈万生等(2000)从制首乌中分离得到了2,3,5,4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O-(2''-O-阿魏酰)- β -

D-吡喃葡萄糖苷、2, 3, 5, 4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O-(2''-O-对香豆酰)- β -D-吡喃葡萄糖苷及2, 3, 5, 4'-四羟基反式二苯乙烯-2-O-(6''-O- α -D-吡喃葡萄糖)- β -D-吡喃葡萄糖苷。

(二) 蒽醌类

何首乌中蒽醌类有效成分主要为大黄素、大黄素甲醚。李建北等还从何首乌块根的乙酸乙酯部分得到了 X-羟基大黄素、X-羟基大黄素-8-甲醚、大黄素-1, 6-二甲醚、大黄素-8-甲醚、2-乙酰基大黄素、大黄素甲醚-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、大黄素-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(李建北等, 1993)。杨秀伟等还分离得到了大黄酚-8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷(杨秀伟, 1996)。陈万生等从制首乌中分离得到了大黄素乙醚(陈万生等, 1999)。另外, 何首乌中还含有洋地黄蒽醌(李建北等, 1993)。张志国从何首乌中分离得到了迷人醇、大黄素-6, 8-二甲醚和大黄素-8-O-(6'-O-乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷(张志国等, 2006)。

(三) 磷脂类

磷脂类主要有磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、磷脂酸、双磷脂酰甘油。许益民等(1990)报道何首乌中含有磷脂类成分, 并从中检测到磷脂酰乙醇胺、磷脂酰甘油、双磷脂酰甘油、磷脂酸、磷脂酰肌醇等。陈万生等(2000)从何首乌中分离得 1-O-正十八烷酰-2-O- Δ -4', 7'-正十二碳二烯酰-3-O-磷脂酸-O- β -D-葡萄糖苷, 1-O-正十八烷酰-2-O- Δ -4', 7'-正十二碳二烯酰-3-O-磷脂酸-O-(6'-O- α -D-葡萄糖) β -D-葡萄糖苷。李军等(1994)采用钼蓝比色法, 用 721 分光光度计进行测定, 结果显示采收时对磷脂类成分有较大影响。许益民等(1990)采用薄层法测定磷脂成分。选用对磷脂成分提取效率高且对磷成分无干扰的 Folch 试剂, 采用二次同相展层法; 再用磷脂专属 Vaskovsky 显色剂显色, 磷脂类呈蓝色。袁海龙等(1999)采用超临界流体萃取法对磷脂进行了提取, 通过对萃取条件的考察确定了萃取压力、温度和改性试剂量。

(四) 酚类

李续娥等运用 HPLC、质谱和红外光谱等方法对广东德庆何首乌块茎的化学成分进行了分离, 据波谱数据鉴定有 8 个化合物, 分别为大黄-3-甲醚-8- β -D-葡萄糖苷、physcion-8- β -D-(6'-O-acetyl)-ghcoside、大黄素、决明酮 8-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、表儿茶素-2, 3, 5, 4'-tetrahydroxystilbene-2-O- β -D-glucopyranoside、5-羧甲基-7-羟基-2-甲基色原酮和对羟基苯甲醛(李续娥等, 2009)。

(五) 糖苷类

孙晋苓等采用液相色谱/离子阱质谱(HPLC/IT-MS)联用技术研究何首乌中糖苷类化合物, 采用反相 C_{18} 色谱柱, 二元线性梯度洗脱, 分离出 12 个主要化合物, 通过对化合物的紫外光谱信息及一级质谱、二级质谱的裂解信息, 并结合文献报道对提取物中的糖苷成分进行了结构解析, 鉴定出 9 种糖苷的化学结构: 顺式-2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、反式-2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O-(6''-O-乙酰基)- β -D-吡喃葡萄糖苷、反式-2, 3, 5, 4'-四羟基二苯乙烯-2-O- β -D-吡喃葡萄糖苷、决明酮-8-O- β -D-吡喃