

不同罗汉果品种组培苗产量与质量性状的比较研究

孙宗喜¹ 王有为^{1,2} 尤敏¹ 王跃进¹ 付慧英¹

(¹ 中国科学院武汉植物园, 武汉 430074; ² 武汉大学药学院, 武汉 430072)

摘要: 以罗汉果组培苗的单株产量、果实大小、罗汉果总皂苷以及皂苷 V 的含量作为罗汉果药材产量和质量的评价指标, 通过田间随机区组试验对不同罗汉果品种组培苗产量进行统计分析, 并采用分光光度法和 HPLC 法分别对罗汉果总皂苷和罗汉果皂苷 V 的含量进行测定。结果显示, 不同罗汉果品种组培苗在产量和质量性状上有显著差异。青皮果组培苗的产量较高, 果实较大, 罗汉果总皂苷和皂苷 V 含量也较高, 适于大面积推广。

关键词: 罗汉果 品种 组培苗

Comparison Study on Yield and Quality in Tissue-cultured Seedling of Different *Momordica grosvenori* Breed

Sun Zongxi¹ Wang Youwei^{1,2} You Min¹ Wang Yuejin¹ Fu Huiying¹

(¹ Wuhan Botanical Garden, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074;

² College of Pharmacy Wuhan University, Wuhan 430072)

Abstract: To evaluate the yield and quality of medical plant *Momordica grosvenori* Swingle, we investigated the single plant yield, fruit size, total saponin and mogroside V of tissue-cultured seedling of different *Momordica grosvenori* breed using random section experiment and then spectrophotometer and HPLC. There are significant differences in yield and quality of the medicinal materials from different breed. The tissue-cultured Qingpiguo seedling that is excellent with yield and quality can be used as origin seeds in wide plantation of *Momordica grosvenori*.

Key words: *Momordica grosvenori* Breed Tissue-cultured seedling

罗汉果为葫芦科植物 (*Momordica grosvenori* Swingle) 的干燥成熟果实, 主产于广西永福、临桂、龙胜等县, 有清热润肺、滑肠通便等功效^[1~3]。现代医学研究发现, 罗汉果还具有抗癌防癌的作用^[4]。罗汉果的主要活性成分是葫芦烷型三萜皂苷类 (cucurbitane glycosides), 其中含量和甜度均较高的成分为罗汉果皂苷 V (mogroside V)^[5~9]。目前, 罗汉果提取物的质量控制指标主要以甜度和罗汉果皂苷含量的多少为依据^[10]。

罗汉果驯化栽培已有一百多年的历史, 其间曾有青皮果、长滩果、拉江果、红毛果、冬瓜果、茶山果等品种用于栽培生产。但由于长期使用压蔓繁殖,

造成了罗汉果栽培品种的种质混杂、退化以及品质、产量降低等问题^[11]。大部分传统的栽培品种已成为濒危品种, 甚至有的品种已经灭绝。目前栽培所用的主流品种是青皮果, 它有结实早、产量高以及适应性较强的优点。自 1998 年中国科学院武汉植物研究所王有为等首次将其组培苗用于大规模栽培生产以来^[12], 青皮果无论是推广区域和栽培面积都发生了巨大的变化, 现除了原主产区永福、临桂县外, 龙胜、灵川、兴安、融安等县均有较大面积的栽培, 栽培面积也由 3 万亩增加到 9 万亩, 产量达到 2.5 亿只果。由于组培技术在罗汉果栽培生产上的应用, 近年又有长滩果、红毛果、冬瓜果等品种的组培苗相

基金项目: 中国科学院知识创新工程所所长基金项目 (K20051137) 资助

作者简介: 孙宗喜 (1979-), 男, 硕士, 研究方向: 药用植物资源学, Tel: 027-87510024, E-mail: zongxisun@126.com

通讯作者: 王有为, Tel: (027) 87510392, E-mail: wyw@wbgeas.cn

继问世,它们对环境的适应性如何,质量和产量水平的高低,至今还未见相关的研究报道。为了研究不同罗汉果品种组培苗在产量和质量性状上的差异,笔者于 2005 年在广西灵川县青狮潭乡桥头村进行了不同罗汉果品种组培苗的小区栽培试验,以期通过比较研究获得有价值的试验结果,为正确评价不同罗汉果品种组培苗的经济学性状提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 仪器与材料

722 型分光光度计(上海第三分析仪器厂),岛津 LC-10A 高效液相色谱仪,岛津 SPD-10Avp 紫外检测器,HPLC 所用试剂甲醇、乙腈为色谱纯,其余试剂均为分析纯。罗汉果皂苷 V 对照品(自制),纯度 98% 以上(归一化法)。

供试品为青皮果、红毛果、长滩果三个罗汉果品种组培苗种植后收获的果实,组培苗均由中国科学院药用植物资源研究室提供,原植物经该室王有为研究员鉴定为葫芦科植物罗汉果 *Momordica grosvenori* Swingle。采集成熟果实后,置于阴凉通风处,自然后熟 10d 左右,再于 70℃ 烘箱中烘干,粉碎,过 40 目筛备用。

1.2 实验方法

1.2.1 田间试验设计 2005 年 4 月中旬将三个品种的组培苗定植于广西灵川县罗汉果种植基地,田间试验为随机区组设计,重复 3 次,小区面积约为 80m²(每小区长 40m,宽 2m),单行定植,行距 2m,株距 2m。在罗汉果整个生长期,各品种的管理措施一致,均按照文献^[12]操作。

1.2.2 产量统计和果实大小比较 2005 年 10 ~ 11 月,每小区随机选取 10 株分别统计单株产量,并测量果实的短径。

1.2.3 罗汉果总皂苷含量测定 对照品溶液的制备 精密称取罗汉果皂苷 V 10mg,置于 10ml 容量瓶中,用甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,备用。

标准曲线的绘制 吸取对照品溶液 60、120、180、240、300μl 分别置于磨口具塞试管中,挥尽溶剂,各加入 5% 香草醛-冰乙酸溶液 0.2ml,高氯酸 0.8ml,60℃ 水浴加热 15min 后,立即以流水冷却,加冰乙酸 5ml 后摇匀,在 590nm 处测定吸光度,以吸光度为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准曲线,回归方程为 Y

$= 10.89X - 0.0005, r = 0.9997$ 。

供试品溶液的制备 称取干燥后的罗汉果粉末 1g,置于圆底烧瓶中,准确加入甲醇 50ml,索氏提取 4h,收集提取液,蒸干,残渣用蒸馏水全部溶解,并全部转移至 D101 型大孔树脂(20g),先用蒸馏水洗去糖类杂质,再用 70% 乙醇 50ml 洗脱,收集醇液,蒸干,残渣用甲醇溶解于 10ml 容量瓶中,并定容至刻度,摇匀,作为供试品溶液。

稳定性试验 取对照品溶液,于 10、20、30、40、50、60min 测定吸光度,计算 RSD 为 1.0%。

精密度试验 取一定浓度的供试品溶液测定吸光度,连续测定 5 次,计算 RSD 为 2.8%,表明仪器精密度良好。

重现性实验 称取同一供试样品 5 份,平行制备供试品溶液,测定总皂苷含量,计算 RSD 为 1.3%,表明本方法具有较好的重现性。

加样回收率试验 称取已知含量的样品 5 份,每份约 1g,分别准确加入罗汉果皂苷 V 对照品适量,按供试品制备方法操作,测定,平均回收率为 96.8%,计算 RSD 为 1.3%。

样品测定 称取不同罗汉果品种样品干燥粉末 1g,精密称定,按供试品溶液制备方法操作。精密吸取样品溶液 30μl,置磨口具塞试管中,挥尽溶剂,按上法显色,分光光度法测定含量。

1.2.4 罗汉果皂苷 V 含量测定 色谱条件 岛津 Hypersil ODS C₁₈ 分析柱(150 × 4.6mm, 5μm);流动相:乙腈:水 = 23:77(v/v);流速 0.5ml/min;检测波长 210nm。灵敏度 0.1000AUFs;柱温为室温;进样量:10μl。

对照品的制备 精密称取罗汉果皂苷 V 对照品 12.5mg,置于 10ml 容量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,混匀,作为母液备用。

供试品溶液的制备 精密称取干燥后的罗汉果样品粉末 0.5g,置具塞锥形瓶中,精密加入甲醇 25ml,摇匀,密塞,称重,超声处理 30min,取出、放冷,再次称重,加甲醇补足减失,摇匀、过滤,滤液再过微孔滤膜(0.45μm),取滤液作为供试品溶液。

标准曲线的制备 用母液分别配制成 1.25、1.00、0.75、0.50、0.05mg/ml 的对照品溶液,进样量 10μl,以峰面积为纵坐标,浓度为横坐标,绘制标准

曲线,回归方程为 $Y = 221571X - 1807.7$, $r = 0.9996$ 。

稳定性试验 取供试品溶液,在 0、0.5、1、2、4、8、12h 时分别进样,记录峰面积,计算 RSD 为 2.3%,表明供试品溶液在 12h 内稳定。

精密度试验 取一定浓度的罗汉果皂苷 V 对照品溶液,吸取 10 μ l 进样,重复 5 次,记录峰面积,计算 RSD 为 1.9%。

重现性试验 取同一供试样品 5 份,精密称定,制备供试品,进样,测定罗汉果皂苷 V 含量,计算 RSD 为 2.8%。

回收率试验 取含量已知的样品 5 份,每份约 0.5g,分别精密加入罗汉果皂苷 V 对照品适量,按供试品制备方法操作,进样测定,结果平均回收率为 95.8%,计算 RSD 为 1.7%。

样品测定 取不同罗汉果品种样品干燥粉末 0.5g,按供试品溶液制备方法操作,HPLC 法测定含量。

2 结果与分析

2.1 不同罗汉果品种组培苗的单株产量

在相同的栽培管理条件下,三个罗汉果品种组培苗的单株平均产量在 56 ~ 117 个果实之间(表 1)。方差分析表明三个罗汉果品种组培苗在产量上有显著差异($p < 0.05$,表 2)。青皮果组培苗平均单株产量最高,为 105 个。若以每亩 180 株植株计算,青皮果、红毛果和长滩果组培苗的亩产量分别达到 18 900 个、16 740 个、11 880 个。

表 1 不同罗汉果品种组培苗单株产量(个)

品种	小区重复			平均值
	重复 I	重复 II	重复 III	
青皮果	103	95	117	105
红毛果	92	85	101	93
长滩果	68	56	73	66

表 2 不同罗汉果品种组培苗单株产量方差分析

	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间 s	2428.222	2	1214.111	13.762	0.006
组内	529.333	6	88.222		
总变异	2957.556	8			

* 显著性表示 $Pr \geq F$ 的概率

2.2 不同罗汉果品种组培苗的果实大小

三个不同罗汉果品种组培苗的果实短径长度在 4.89 ~ 5.29cm 之间(表 3)。方差分析表明三个罗汉果品种组培苗的果实短径有显著差异($p < 0.05$,表 4)。青皮果组培苗的果实中,大果、中果所占比例比其他两个品种组培苗高,达到 70% 以上。

表 3 不同罗汉果品种组培苗的果实短径比较(cm)

品种	小区重复			平均值
	重复 I	重复 II	重复 III	
青皮果	5.20	5.18	5.29	5.22
红毛果	5.11	5.09	5.04	5.08
长滩果	4.95	4.96	4.89	4.93

* 表内数据为每个小区随机选取 10 株,每株选 15 个果实,3 次重复测定的平均值

表 4 不同罗汉果品种组培苗的果实短径方差分析

	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	0.126	2	0.063	30.686	0.001
组内	0.012	6	0.002		
总变异	0.138	8			

* 显著性表示 $Pr \geq F$ 的概率

2.3 不同罗汉果品种组培苗总皂苷的含量

三个罗汉果品种组培苗的总皂苷含量在 3.91% ~ 4.32% 之间(表 5),稍高于常琪报道的总皂苷含量^[13]。方差分析表明三个罗汉果品种组培苗的总皂苷含量有显著差异($p < 0.05$,表 6)。其中青皮果组培苗总皂苷的含量比其他两个品种组培苗的含量高,为 4.25%。

表 5 不同罗汉果品种组培苗总皂苷含量(%)

品种	小区重复			平均值
	重复 I	重复 II	重复 III	
青皮果	4.17	4.26	4.32	4.25
红毛果	4.18	4.20	4.13	4.17
长滩果	4.09	3.94	3.91	3.98

表 6 不同罗汉果品种组培苗皂苷含量的方差分析

	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	0.115	2	0.058	10.620	0.011
组内	0.033	6	0.005		
总变异	0.148	8			

* 显著性表示 $Pr \geq F$ 的概率。

2.4 不同罗汉果品种组培苗皂苷 V 的含量

三个罗汉果品种组培苗的罗汉果皂苷 V 含量在 0.95% ~ 1.30% 之间(表 7),与李典鹏和 Helena C. Makapugay 报道的罗汉果皂苷 V 含量相近^[14~15]。方差分析表明三个罗汉果品种组培苗的罗汉果皂苷 V 含量有显著差异($P < 0.05$,表 8)。其中长滩果组培苗的罗汉果皂苷 V 含量为 1.26%,比其他两个品种组培苗高。

表 7 不同罗汉果品种组培苗皂苷 V 的含量(%)

品种	小区重复			平均值
	重复 I	重复 II	重复 III	
青皮果	1.11	1.13	1.18	1.14
红毛果	0.95	1.06	1.08	1.03
长滩果	1.30	1.23	1.25	1.26

表 8 不同罗汉果品种组培苗皂苷 V 含量的方差分析

	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
组间	0.079	2	0.040	15.880	0.004
组内	0.015	6	0.003		
总变异	0.094	8			

* 显著性表示 $Pr \geq F$ 的概率

3 讨论

3.1 从经济性状比较来看,青皮果组培苗比其他两个品种组培苗高产,大、中果所占比例较高,罗汉果总皂苷和皂苷 V 含量也较高,因此,建议在罗汉果生产上将青皮果组培苗作为优良种质加以大面积推广栽培。

3.2 罗汉果传统繁殖方法分为有性繁殖和无性繁殖。前者又称种子繁殖,即利用罗汉果种子播种获得苗木;后者包括嫁接繁殖和压蔓繁殖两种方法,其中压蔓繁殖在罗汉果育苗上应用最广。但是,长期不加选择的无性繁殖和人工授粉,造成了罗汉果品种混杂、种性退化、产量下降等诸多问题。借助于现代生物技术从现有的栽培品种或类型中选择优良单

株进行组培繁殖,可以当年挂果且进入丰产期,高产性状非常突出。根据生产实际调查表明,与压蔓苗相比较,罗汉果组培苗挂果株率达到 95% 以上,产量提高 5 ~ 10 倍。

3.3 本研究对广西三个常见栽培品种组培苗的产量和质量性状进行了初步的分析,还需对引起各个栽培品种组培苗之间的产量和质量差异的原因以及各性状特别是果实性状之间的相关性作进一步的研究。

参考文献

- 1 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第 30 卷), 1986, 162 ~ 163.
- 2 肖培根. 新编中药志(第二卷), 2002, 386 ~ 389.
- 3 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部, 2005, 147.
- 4 Midori Takasaki, Takao Konoshima, Yuji Murata, et al. *Cancer letters* 2003, 198(1): 37 ~ 42.
- 5 Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1151 ~ 1154.
- 6 Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1155 ~ 1166.
- 7 Takemoto T, Arihara S, Nakajima T, et al. *Yakugaku Zasshi*, 1983, 103(11): 1167 ~ 1173.
- 8 斯建勇, 陈迪华, 常琪, 等. *植物学报*, 1996, 38(6): 489.
- 9 陈维军, 张俐勤, 戚向阳, 等. *中药材*, 2005, 28(7): 559 ~ 561.
- 10 李锋, 李典鹏, 蒋水元, 等. 罗汉果栽培与开发利用, 2003, 145 ~ 147.
- 11 陶丽, 王有为, 王跃进, 等. *武汉植物学研究*, 2005, 23(1): 77 ~ 80.
- 12 王有为, 王庆, 尤敏, 等. *中国中药杂志*, 2000, 25(增刊): 25 ~ 26.
- 13 常琪, 陈迪华, 斯建勇, 等. *中国中药杂志*, 1995, 20(9): 554 ~ 555.
- 14 李典鹏, 方宏, 梁小燕, 等. *中国中药杂志*, 2000, 25(增刊): 58 ~ 59.
- 15 Helena C. Makapugay, N. P. Dhammika Nanayakkara, Djaja D. Soejarto, et al. *Agric Food Chem*, 1985, 33: 348 ~ 350.