

野生中药材资源钩藤种子发芽研究

刘涛, 刘作易*, 贺定祥, 刘黎 (1. 贵州省果树科学研究所, 贵州罗甸550100; 2. 贵州省农业科学院, 贵州贵阳550006; 3. 贵州信邦中药发展有限公司, 贵州贵阳556000; 4. 贵州省土壤肥料研究所, 贵州贵阳556000)

摘要 [目的] 为探明钩藤种子的萌发条件及规律。[方法] 以清水处理作对照, 采用4种化学药剂(NaHCO_3 、 KHCO_3 、 K_2CO_3 、 NaClO)不同浓度的溶液浸种, 并在光照培养箱内进行发芽试验。[结果] 清水处理的钩藤种子发芽数和绝对发芽率(80%以上)均明显高于其他处理。[结论] 钩藤种子成熟胚不存在休眠现象, 种皮也不存在抑制作用, 常规保湿处理即可诱导种子萌发。

关键词 钩藤; 种子; 发芽

中图分类号 S567.1+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)33-14436-02

Study on Germination of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks

LIU Tao et al. (Gizhou Fruit Institute, Luodian, Gizhou 550100)

Abstract [Object] The research aimed to find out seed germination conditions and regulations. [Method] Seeds were soaked by clear water and 4 chemical agents (NaHCO_3 , KHCO_3 , K_2CO_3 , NaClO) of different concentrations for germination test in illumination box. [Result] Seed germination number and absolute germination rate (above 80%) in water treatment group was obviously higher than those of other treatments. [Conclusion] No dormancy phenomenon in mature embryo and no inhibition in seed coat, so conventional moist treatment can induce seed germination.

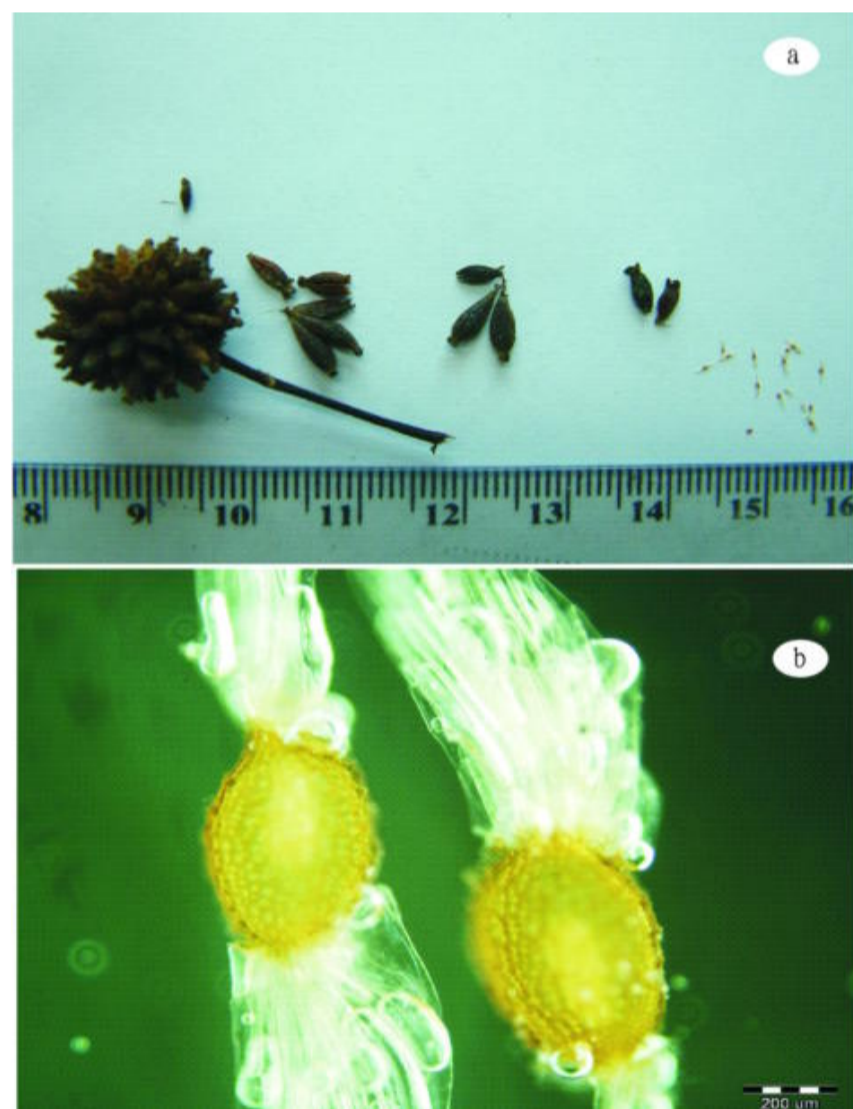
Key words *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks; Seed; Germination

钩藤 *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks] 为茜草科(Rubiaceae)常绿木质藤本植物^[1], 头状花序单个腋生或为顶生的总状花序式排列, 种球由若干蒴果组成, 蒴果倒圆锥形或纺锤形, 2裂, 每室有种子几粒到几十粒, 发育健康的蒴果, 2室的种子数相同。钩藤种子是微小粒种子, 有双翅, 双翅透明, 易脱落。种子千粒重为0.038 g, 每个种球约2 000多粒种子(图1)。钩藤产于我国贵州、湖南、广东、广西、浙江、福建、云南、四川、安徽、江西等省区, 其中贵州省大部分地区有分布, 但主要分布在黔东南州、黔西南州、黔南州、遵义地区、铜仁地区、安顺地区等地^[2]。钩藤是贵州富有的宝贵野生中草药资源, 也是贵州道地中药材, 具有熄风止痉、清热平肝等功效, 用于治疗头痛眩晕、感冒夹惊、惊悸抽搐、妊娠子痫、高血压等症, 尤其对小儿惊风具有独特疗效, 是中医儿科要药。钩藤为贵州省重要的出口药材, 又是地方药业企业的一些主要产品的主要原料^[2]。

近年来钩藤需求量逐渐增加, 野生钩藤资源已不能满足需求, 人为的烂采烂挖给野生钩藤资源造成了严重破坏。为满足日益增长的需求和保护野生钩藤资源, 增加农民收入, 钩藤的人工繁殖及栽种技术日益受到人们的关注。但是, 在钩藤生产中, 种苗生产是一个很难解决的问题。生产中常用的扦插育苗方法对材料的需求量大、成本高且对野生钩藤有一定的破坏作用, 对解决种苗问题有一定的局限性^[3]。钩藤单果种子数较多, 采用种子繁殖育苗是一个很好的途径, 但由于其种子是微小粒种子, 实际生产上很少采用, 且多认为钩藤种子育苗时需要用碱处理^[4]。为探明钩藤种子的萌发条件及规律, 该试验研究了不同种类及浓度的化学药剂处理对其发芽的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 供试种子为在黔东南州剑河县柳川镇采集的野生钩藤成熟种子。所用化学试剂为 NaHCO_3 、 KHCO_3 、 K_2CO_3 和 NaClO 。



注:a. 种球及蒴果;b. 种子显微图片。

Nte :a. Bulb and capsule; b. Micro-picture of seeds.

图1 钩藤果实及种子

Fig.1 The fruit and seeds of *Uncaria rhynchophylla*

1.2 方法 参照相关文献^[4-8]对不同种子萌发的处理, 并结合当地传统栽培时对钩藤种子的处理进行试验设计。试验在贵州大学林学院实验室进行, 配制4种化学试剂溶液, 每种溶液设3种处理浓度, 每个处理浓度5个重复。分别为:A表示种子经 NaHCO_3 处理, 浓度为A1(1%)、A2(2%)、A3

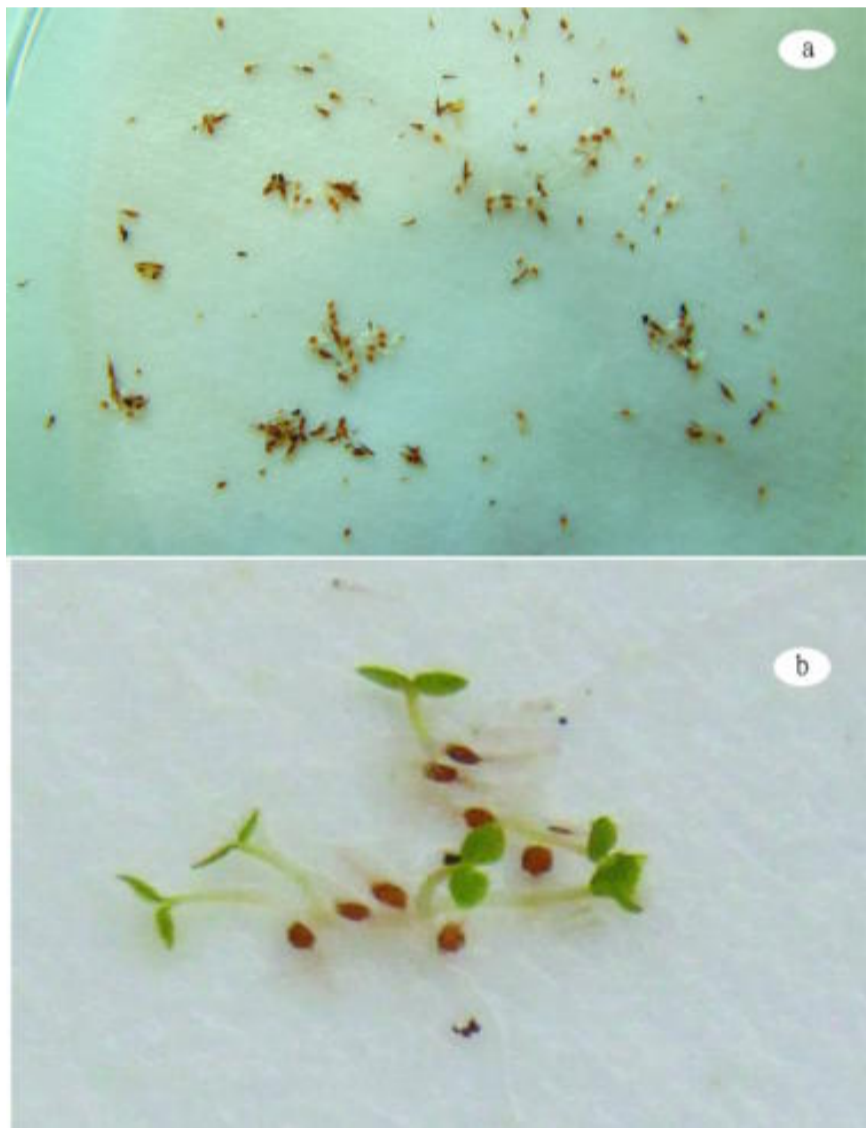
基金项目 贵州省种植业结构调整综合配套技术试验示范项目“贵州道地药材钩藤属植物的分子标记及其高产调控技术研究与示范”(贵州省农业厅农业种植业项目[2005]08号)。

作者简介 刘涛(1982-), 男, 贵州瓮安人, 研究实习员, 从事果树、中药材栽培研究。* 通讯作者。

收稿日期 2008-09-08

(3%) ;B 表示种子经 KHCO_3 处理,浓度为 B1(1%)、B2(5%)、B3(10%) ;C 表示种子经 K_2CO_3 处理,浓度为 C1(1%)、C2(5%)、C3(10%) ;D 表示种子经 NaClO 处理,浓度为 D1(1%)、D2(5%)、D3(10%) ,E 为清水对照处理。每处理 50 粒纯净种子,用滤纸包好,放入配制好的溶液中浸泡 5 min,然后连同滤纸在蒸馏水中洗净,将洗净的种子与滤纸一起平铺在准备好的培养皿中,置于气候培养箱中,温度控制在 (25 ± 2) ,光照周期为 12 h/12 h(L/D),光照强度 1 000 ~ 2 000 lx。试验期间,每天在培养皿中补充等量相应浓度的溶液,滤纸 3 d 换 1 次,以保持其湿润、清洁及水势变动,及时检除腐烂种子,把发霉种子用 75% 的酒精溶液清洗,以防止感染。

从种子置床之日起观察记录发芽情况,以根长度等于种子长度作为发芽标准^[9],当连续 6 d 不发芽时视为发芽结束(种子发芽试验图片见图 2)。参照《国际种子检验规程》^[10] 计算绝对发芽率。绝对发芽率(%) = $[n/(N-a)] \times 100$ 。其中 n 为供试种子发芽数, a 为供试种子腐烂数, N 为供试种子数。数据采用 SPSS 软件分析。



注:a.播种;b.种子萌发。

Nte:a.Sowing;b.Seed germination.

图2 钩藤种子发芽试验

Fig.2 Sprouting test of *U. rhychophylla* seeds

2 结果与分析

对结果进行方差分析, F 值达极显著标准,说明不同处理之间的平均发芽数存在极显著差异。从处理间多重比较结果(表1)可以看出,清水处理与其余各处理间差异显著,清水处理效果最好。 NaClO 溶液处理和 KHCO_3 处理差异亦达到显著水平。随着化学药剂浓度的升高,发芽数呈下降趋势。

由图3可见,经过清水处理的种子绝对发芽率最高。其次是 NaClO 、 K_2CO_3 、 NaHCO_3 处理, KHCO_3 处理绝对发芽率最低,其中, K_2CO_3 处理和 NaHCO_3 处理的绝对发芽率比较

接近。

从以上结果可以看出,用清水处理的钩藤种子发芽数和其他处理有显著差异,绝对发芽率最高。经过其他溶液处理的种子也能发芽,但发芽率明显低于只经过清水处理的。产生这种现象的原因可能是钩藤种子极为细小,用化学药剂处理时对其产生了一定的伤害。该试验结果可表明,钩藤种子成熟胚不存在休眠现象,种子没有后熟作用,不存在酸性抑制物质,种皮也不存在抑制作用,常规保湿处理就可以诱导种子萌发,萌发率可达 80% 以上。

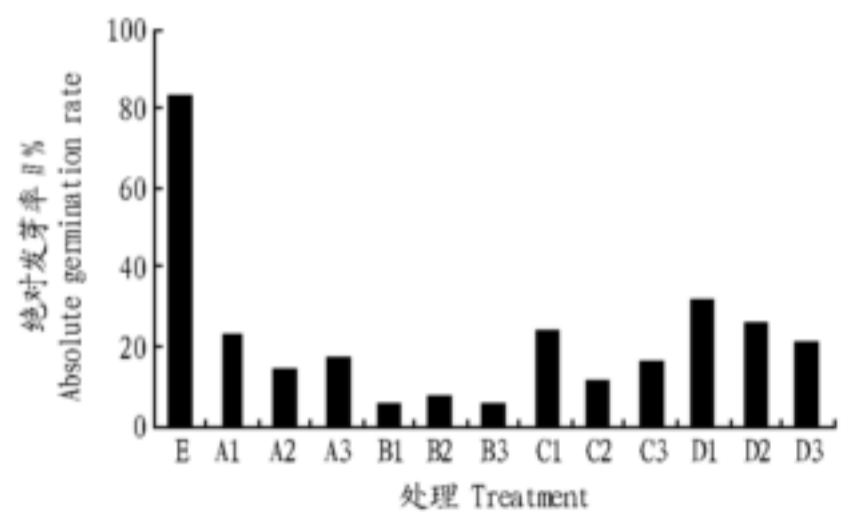
表1 不同溶液处理对钩藤种子发芽数的影响

Table 1 Influences on sprouting number of *U. rhychophylla* seeds with treatments of different solutions

处理 Treatment	浓度 % Concentration	每皿发芽数 Sprouting number per dish
NaHCO_3	1	10.667 b
	2	7.333 cde
	3	8.667 cde
KHCO_3	1	3.000 e
	5	3.667 e
	10	3.000 e
K_2CO_3	1	12.333 bc
	5	5.667 de
	10	8.000 cde
NaClO	1	15.667 b
	5	13.000 bc
	10	10.667 bcd
清水		41.667 a

注:表中数值为5个重复的平均值;同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Nte:The values in the table are the average values for 5 repetitions; Different letters in the same column mean significant difference ($P < 0.05$).



注:A1 ~ A3 表示 1%、2%、3% 的 NaHCO_3 溶液;B1 ~ B3 表示 1%、5%、10% 的 KHCO_3 溶液;C1 ~ C3 表示 1%、5%、10% 的 K_2CO_3 溶液;D1 ~ D3 表示 1%、5%、10% 的 NaClO 溶液;E 表示清水。

Nte:A1 - A3 stand for NaHCO_3 at 1%, 2%, 3% resp.; B1 - B3 stand for KHCO_3 at 1%, 5%, 10% resp.; C1 - C3 stand for NaClO at 1%, 5%, 10% resp.; E stands for water.

图3 不同溶液处理对钩藤种子绝对发芽率的影响

Fig.3 Influences on absolute germination rate of *U. rhychophylla* seeds with treatments of different solutions

3 结论与讨论

该试验结果说明钩藤种子萌发容易,清水处理就可使其

(下转第14549页)

该管所含药物浓度即为试验菌株的最低抑菌浓度(MC),取4次试验的平均值。

2 结果与分析

2.1 纸片法体外抑菌试验结果

2.1.1 对鸡大肠杆菌的抑菌圈直径。3种药物药敏片对鸡大肠杆菌的抑菌圈直径见表1。由表1可见,左氧氟沙星与多黏菌素配伍后对鸡大肠杆菌的抑菌圈直径明显大于各单

药,而且对左氧氟沙星、多黏菌素耐药的菌株对两者配伍后也敏感。

2.1.2 对鸡白痢沙门氏菌的抑菌圈直径。3种药物药敏片对鸡白痢沙门氏菌的抑菌圈直径见表2。由表2可见,左氧氟沙星与多黏菌素配伍后对鸡白痢沙门氏菌的抑菌圈直径明显大于各单药。

表2 3种药物药敏片对鸡白痢沙门氏菌的抑菌圈直径

Table 2 The antibacterial circle diameter of 3 kinds of drug sensitive tablets on *Salmonella pullorum* in chicken

mm

药物名称	试验菌株1	试验菌株2	试验菌株3	试验菌株4	试验菌株5	试验菌株6
Name of drugs	Test strain 1	Test strain 2	Test strain 3	Test strain 4	Test strain 5	Test strain 6
左氧氟沙星 Levofloxacin	20.3	22.5	22.3	21.8	19.0	22.0
多黏菌素 Polymyxin	15.0	15.8	14.0	17.0	14.3	14.3
左氧氟沙星+多黏菌素 Levofloxacin+Polymyxin	24.8	28.5	27.0	26.3	23.3	25.0

2.2 试管稀释法体外抑菌试验结果

2.2.1 对鸡大肠杆菌的最小抑菌浓度。3种药物对鸡大肠杆菌的最小抑菌浓度分别为:左氧氟沙星25.00 $\mu\text{g/ml}$,多黏菌素12.50 $\mu\text{g/ml}$,二者配伍(0.81+0.81) $\mu\text{g/ml}$ 。左氧氟沙星与多黏菌素配伍后对鸡大肠杆菌的最小抑菌浓度明显小于各单药,说明二者配伍后对鸡大肠杆菌的作用显著增强。

2.2.2 对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌浓度。3种药物对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌浓度分别为:左氧氟沙星12.50 $\mu\text{g/ml}$,多黏菌素6.25 $\mu\text{g/ml}$,二者配伍(0.41+0.41) $\mu\text{g/ml}$ 。左氧氟沙星与多黏菌素配伍后对鸡白痢沙门氏菌的最小抑菌浓度明显小于各单药,说明两者配伍后对鸡白痢沙门氏菌的作用显著增强。

3 讨论

用纸片法和试管稀释法测定的左氧氟沙星与多黏菌素配伍的体外抗菌活性结果一致,即对鸡大肠杆菌和鸡白痢沙门氏菌均表现出明显的抗菌协同作用。其原因可能是由于两者的作用机理不一样,并相互影响。硫酸黏菌素首先吸附在细菌细胞壁上,结合细胞膜中脂蛋白的游离磷酸盐,使细胞成分(呤和)脱逸,从而导致细胞死亡,故具有杀菌作用;而左氧氟沙星的作用机理是能与细菌DNA回旋酶A

亚基结合,从而抑制酶的切割与连结功能,阻止细菌DNA的复制,呈现抗菌作用。也许正是因为硫酸黏菌素引起细胞壁的破损,为左氧氟沙星进入细胞内提供了条件,从而导致其抗菌作用明显提高。左氧氟沙星与多黏菌素配合的临床应用效果如何,还有待于进一步试验证明。

参考文献

(上接第14437页)

萌芽。在种苗生产中可直接采用种子繁殖,只需创造适合的温、湿度和养分条件即可使其萌芽生长,不需利用酸碱等物质处理。

钩藤规范化种植技术研究刚刚起步,许多工作有待进行,在生产中采用何种育苗方式进行种苗繁殖仍需深入研究。为了充分发挥贵州道地野生中药材资源优势,并保证其可持续性开发,对野生中草药资源进行计划合理的利用、繁殖和保护具有重要意义。

参考文献

[1] 吴绪祥. 妙用钩藤[J]. 中华实用中西医杂志,2002,2(15):1616.
[2] 贵州省中药资源普查办公室,贵州省中药研究所. 贵州中药资源[M].

[1] 唐映红,吴参荣,魏云,等. 盐酸左氧氟沙星体内外抗菌作用研究[J]. 医药导报,2007,26(9):983-985.
[2] 朱模忠. 兽药手册[M]. 北京:化学工业出版社,2002:84.
[3] 吴俊伟,杨俊卿. 恩诺沙星与硫酸粘菌素联合抗菌活性的研究[J]. 西南农业大学学报,2006,28(4):558-561.
[4] 尹孝仁,朴胜春,姜成哲,等. 诺氟沙星和几种抗生素的联合应用效果的研究[J]. 延边农学院学报,1995,17(3):133-138.
[5] 安丽英. 兽医实验诊断[M]. 北京:中国农业大学出版社,2000:423-426.

[6] Q L Y, LIU L, YUP R, et al. Preliminary studies on antifungal activity of *Xanthium sibiricum* and the endophytic fungi[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(4):144-148.

[7] 陈敏芳,刘文斌,宣天芝,等. 左氧氟沙星对牙周炎需氧及厌氧菌抗菌活性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2003,13(2):165-167.

[8] PENG Y, HUANG Y C, CAI Y M, et al. Screening for *Streptomyces hygroscopicus* strains with high production of agricultural antibiotics by streptomycin resistance[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(1):146-149.

[9] 李从荣,李红霞,施菁玲,等. 盐酸左氧氟沙星对眼部感染细菌的体外抗菌活性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2002,12(4):310-311.

北京:中国医药科技出版社,1992.

[3] LIU T, LIU Z Y, HE D X, et al. Study on Germination Rate of *Uncaria rhynchophylla* (Miq.) Jacks[J]. Agricultural Science & Technology, 2008, 9(4):96-98,117.

[4] 杨俊轶. 钩藤的种子育苗技术[J]. 中国野生植物资源,2007,1(26):66-67.

[5] 黄燕,郁韶明. 16种药用植物种子发芽的研究概况[J]. 现代中药研究与实践,2006,2(20):61-63.

[6] 王瑛. 促进特殊种子发芽的处理方法[J]. 种子科技,2006(2):48-49.

[7] 林纬,吴煜,谢建玲,等. H^+ 和对蒺藜种子发芽的影响[J]. 福建热作科技,2006,4(31):7-11.

[8] 张建成. 不同芽床对花生种子发芽试验结果影响初探[J]. 种子,2005,7(24):81-82.

[9] 中华人民共和国林业部科技司. 中国林业标准汇编 种苗卷[M]. 北京:中国林业标准出版社,1998.

[10] 国际种子检验协会(ISTA). 国际种子检验规程[M]. 北京:农业出版社,1985:54-57.