

· 药材 ·

物候对益母草生长和总生物碱积累的影响[△]

浙江省浦江县农业局红壤开发项目办公室 (322200) 张飞联* 赵仕湘 吴爱娟
浙江省中药研究所 徐建中 盛束军

摘要 对益母草 *Leonurus artemisia* (Lour.) S. Y. Hu 开展不同物候期的界定试验,研究不同播种期和收获期对益母草生物学性状、单位产量和总生物碱含量影响的表现效应。结果如下: 1)低温春化处理促进秋播或冬播的益母草抽苔和开花。2)播种期的温度决定着益母草种子的出苗期,播种期和收获期决定着益母草的单位产量,建立了能常年供应鲜益母草原料的播种期和收获期。3)播种期和收获期的界定对益母草总生物碱含量的影响,与播种期的温度和益母草生长周期长、短密切相关。

关键词 益母草 物候 单位产量 总生物碱

Influence on the Growth and Accumulation of Total Alkaloid of Wormwoodlike Motherwort (*Leonurus artemisia*) by Phenology

Office for Red Soil Development, Agricultural Bureau in Pujiang County (Pujiang 322200) Zhang Feilian, Zhao Shixiang and Wu Aijuan

Zhejiang Institute of Chinese Materia Medica Xu Jianzhong and Sheng Shujun

Abstract To study the phenological influence on the growth of *Leonurus artemisia* (Lour.) S. Y. Hu, to obtain an optimum yield of total alkaloid per unit area for the purpose to provide the fresh herbal drug all the year round. The biological characteristics for the sprouting and blooming of *L. artemisia* were investigated after sowing and harvesting at 8 different periods of the seasons and the yield of total alkaloids determined. Results showed that vernalization at low temperature can promote sprouting and blooming of *L. artemisia* sown in Autumn and Winter. The temperature during sowing is the main determining factor influencing the growth of the plant and yield of alkaloids.

Key words *Leonurus artemisia* (Lour.) S. Y. Hu phenology yield per unit area total alkaloid

益母草 *Leonurus artemisia* (Lour.) S. Y. Hu 系唇形科一年生或两年生草本。传统上以开花的地上部分入药,是历代中医使用的妇产科要药,具有调经、行血止血、祛瘀、消水、安胎等功效,其有效成分为益母草碱、水苏碱等多种生物碱,环境条件(如光、温、水等)影响着益母草的生长和总生物碱在植物体内的积累。具体表现在不同物候期的益母草,其生物学性状的表现和总生物碱含量相差甚大^[1,2]。本文着重研究具有不同播种期和收获期的物候期,对益母草生物学性状的表现特征和益母草内总生物碱的环境效应的影响,开展优质、高产益母草原料生产的最佳播种期和收获期的筛选,建立优质、高效的周年能有 10 个月提供新鲜益母草原料的益母草生长周期

模型。

1 材料与方法

1.1 试验材料: 试验地设在浦江县浦阳镇前于村。采用定株试验,小区面积 2 m²,周围设保护行。播前施足基肥^[1]。物候期的界定分: I 期(1997年 9月 7日播种,12月 14日收获); II 期(1997年 11月 7日播种,翌年 5月 23日收获); III 期(1998年 1月 7日播种,8月 7日收获); IV 期(1998年 3月 7日播种,8月 7日收获); V 期(1998年 3月 20日播种,6月 21日收获); VI 期(1998年 5月 7日播种,8月 7日收获); VII 期(1998年 5月 7日播种,9月 30日收获)和 VIII 期(1998年 7月 7日播种,9月 30日收获)。条播播种量 5克/小区。益母草种子的出苗期受当地当时

* Address: Zhang Feilian, Red Soil Developed Item Office, Agricultural Bureau of Pujiang County, Pujiang

张飞联,女,大学本科,理学学士学位,农艺师,一直从事作物栽培、技术推广工作,具有一定的生产实践经验,能独立承担本专业技术工作,主持开展科学试验,引进推广先进技术,注重知识更新。完成各种试验 30余项,推广优良品种 20余个,承担过两个世行贷款开发农业项目的规划、设计和实施;多项课题获县级科技进步奖,省级刊物发表专题论文 5篇,其中 1篇获省级优秀论文三等奖。

现工作单位:浦江县农业局农技推广中心

△浙江省自然科学基金项目:396240“童子益母草高含量、反季节栽培研究”资助

的气温和土壤水分所决定。种子出苗后加强间苗(株行距 16 cm×16 cm),中耕除草和施肥等田间管理。采收 I~VIII 期收获的新鲜益母草及其烘干品供测定。

1.2 测定方法

1.2.1 株高的测定^[3]: 采收益母草,测量叶柄或茎基部至最高叶叶缘的长度。

1.2.2 分蘖数的测定^[3]: 采收益母草,逐株检查分蘖情况,计算单株平均分蘖数。

1.2.3 地上部分鲜重的测定^[3]: 采收益母草,去除泥土、杂质及根部,分析天平称重,计算地上部分鲜重。

1.2.4 总生物碱含量的测定^[4]

对照品溶液的制备: 精密称取在 105℃干燥至恒重的盐酸水苏碱对照品 25 mg,置 25 mL 量瓶中。加 0.1 mol/L 盐酸溶液使溶解并稀释至刻度,摇匀,即得(每 1 mL 含盐酸水苏碱 1 mg)。

供试品溶液的制备: 取本品粉末(通过三号筛)约 3 g,精密称定,置具塞锥形瓶中。精密加入乙醇 50 mL 超声处理(功率 350 W,频率 35 kHz) 30

min,滤过,弃去初滤液,精密量取续滤液 25 mL 置 100 mL 烧瓶中,于水浴上蒸干,精密加入 0.1 mol/L 盐酸溶液 10 mL 使溶解,加活性炭 0.5 g,置水浴中加热 30 s,搅拌,滤过,滤液置 25 mL 量瓶中,用 0.1 mol/L 盐酸溶液 10 mL 分次洗涤烧杯和滤器,洗涤液并入同一量瓶中,即得。

测定法: 精密量取对照品溶液 10 mL,置 25 mL 量瓶中,吸上述供试品溶液,另取 0.1 mol/L 盐酸溶液 20 mL 置 25 mL 量瓶中,各精密加新制的 2% 硫氰酸铬铵溶液 3 mL,摇匀,加 0.1 mol/L 盐酸溶液稀释至刻度,摇匀,置冰浴中放置 1 h,用干燥滤纸滤过,弃去初滤液,取续滤液,以 0.1 mol/L 盐酸溶液为空白,照分光光度法,在 525 nm 的波长处分别测定吸光度。用空白试剂的吸光度分别减去对照品与供试品的吸光度,计算,即得。

2 结果与分析

2.1 播种期对益母草生物学性状影响的表现特征: 表 1 说明不同播种期对益母草生物学性状影响的不同表现。

表 1 播种期对益母草生物学性状影响的表现

播种期 (月-日)	出苗期 (月-日)	真叶期 (月-日)	抽苔期 (月-日)	花期 (月-日)	株高 (cm)	分蘖数 (个)	叶片数 (张)	统计时间 (月-日)
I 期 (09-07)	09-15	09-19	04-08	06-07	21.90	3.43	38.94	12-14
II 期 (11-07)	11-21	12-07	04-13	06-12	38.46	0	9.30	翌年 05-23
III 期 (01-07)	03-05	03-13			16.61	2.48	20.94	08-07
IV 期 (03-07)	04-03	04-10			16.20	2.40	15.90	08-07
V 期 (03-20)	04-08	04-14			21.40	2.10	10.40	06-21
VI, VII 期 (05-07)	05-17	05-21			23.55	2.73	17.87	09-30
VIII 期 (07-07)	07-12	07-17			23.38	2.25	12.29	09-30

* 3个重复, 10株平均值

2.1.1 播种期对益母草株型的影响: 低温春化对益母草翌年的生长和株型的形态建成的影响至关重要。具体表现在 II 期播种的益母草,翌年植株高大,分蘖数为零,叶片较少抽苔,并进入生殖生长;而 I 期, III~VIII 期播种的益母草,生物学性状发生歧变,株型矮化,分蘖数和叶片多,植株当年未能抽苔和正常开花结实(表 1)。上述播种期对益母草生物学性状影响的表现特征,正是益母草鲜用和反季节栽培的理论基础。

2.1.2 播种期对益母草种子出苗的影响: I 期和 II 期播种的益母草,当年即能出苗,且随着播种期的推迟,出苗期和真叶期也相应延迟; III 期播种的益母草,鉴于当时地温较低(<10℃),至 3月 5日才出苗,该阶段是否进行春化处理,取决于当地的温度条件; IV~VIII 期播种的益母草,播种愈早,出苗所需时

间愈长,随着播种期的延迟,出苗期相应缩短,但对真叶期无多大影响(表 1),以上现象的形成与当地气温及土壤湿度密切相关。

2.2 播种期和收获期的界定对益母草地上部分鲜重和单位产量的影响: 表 2 反映了益母草反季节栽培所选的适宜播种期。其中, IV 期播种的春播益母草(3月 7日播种), 8月 7日收获,鲜益母草单位产量很低,仅 319.5 g/m²; 而 V 期播种的春播益母草(3月 20日播种), 6月 21日收获,鲜益母草单位产量高达 1562.7 g/m²,说明安全越夏对鲜益母草单位产量影响甚大,主要是春播的益母草,夏季时益母草群落内种群密度高,散热不良,易导致鲜益母草叶片发黄、霉烂和发病死亡,导致减产,因此,春播益母草应该在越夏前收获。VI~VIII 期播种的夏播益母草,分别在 8月 7日和 9月 30日收获,单位产量高达

1 677.5 g/m²和 1 615.9 g/m²。I 期播种的秋播益母草,当年 12月 14日收获,单位产量达 1 083.4 g/m²。II 期播种的冬播益母草,翌年 5月 23日收获,抽苔的益母草单位产量虽达 1 138.2 g/m²,但不宜鲜用;III 期播种的冬播益母草,8月 7日收获,经高温越夏,鲜草的单位产量仅 269.6 g/m²。

表 2 播种期和收获期的界定对益母草地上部分鲜重和单位产量的影响

播种期 (月-日)	地上部分鲜重 (公斤/小区)	单位产量 (g/m ²)	收获期 (月-日)
I 期 (09-07)	1.81	1 083.4	12-14
II 期 (11-07)	2.05	1 138.2	翌年 05-23
III 期 (01-07)	0.54	269.6	08-07
IV 期 (03-07)	0.64	319.5	08-07
V 期 (03-20)	3.13	1 562.7	06-21
VI, VII 期 (05-07)	3.36	1 677.5	08-07
VIII 期 (07-07)	3.27	1 615.9	09-30

2.3 播种期和收获期的界定对益母草总生物碱含量的影响:播种期和收获期的界定对益母草总生物碱含量的影响与播种时的气温和益母草生长周期长、短有关

I 期和 II 期播种的益母草,当年即能出苗, I 期播种的益母草总生物碱含量 1.12%, 而 II 期播种的益母草经低温春化处理, 翌年抽苔, 5月 23日收获, 总生物碱含量仅 0.54%, 说明益母草内总生物碱含量与益母草的株型或是否抽苔有很大关系, II 期播种的益母草植株高大, 叶片稀少, 抽苔, 孕花蕾。VI 期播种的益母草, 总生物碱含量为 1.46%, VII 期播种的益母草, 总生物碱含量 1.77%, 说明同一时期播种的益母草, 当年生长周期越长, 含量越高; 延迟至翌年抽苔后收获, 益母草内总生物碱含量下降, 仅为 0.62% (盛束军, 1998)。III 期、IV 期和 VI 期播种的益母草, 具有相同的收获期, 植物体内总生物碱含量分别为 1.92%, 1.55% 和 1.46%, 对益母草内总生物碱含量而言, 生长周期长的明显高于生长周期短的。

表 3 播种期和收获期的界定对益母草总生物碱含量的影响

播种期 (月-日)	收获期 (月-日)	总生物碱含量 (%)
I 期 (09-07)	12-14	1.12
II 期 (11-08)	翌年 05-23	0.54
III 期 (01-07)	08-07	1.92
IV 期 (03-07)	08-07	1.55
V 期 (03-20)	06-21	1.77
VI 期 (05-07)	08-07	1.46
VII 期 (05-07)	09-30	1.77
VIII 期 (07-07)	09-30	1.49

3 讨论

3.1 物候对益母草生长的调控效应: 有关物候对药用植物生长的影响, 前人报道甚多^[5]。物候通过环境诸条件的综合效应, 尤其是温度和土壤湿度对益母草种子发芽的调控。一般而言, 益母草种子在 > 10℃ 的温度条件下, 种子就能发芽。主要表现在: 春、夏季 (3月上旬~ 7月下旬) 播种, 播种愈早, 出苗所需时间愈长, 播种愈晚, 出苗时间愈短; 秋、冬季 (9月上旬~ 1月上旬) 播种, 播种愈早, 出苗时间愈短, 播种愈晚, 出苗时间愈长。从而调控益母草的生长周期, 这与种子播种后的温度和土壤湿度密切相关。秋季或冬季播种的益母草种子发芽后, 幼苗经冬季低温春化作用, 诱导益母草翌年抽苔、开花, 这是益母草鲜用和反季节栽培的理论基础。避开低温春化作用, 生产矮化莲座状、多叶片、不抽苔, 且具高总生物碱含量的鲜用益母草原料; 利用低温春化作用, 在初春播种前收获抽苔的益母草嫩苗, 提高土地资源的利用率^[6]。

3.2 温度对益母草总生物碱积累的影响及机制: Weeks 等 (1970, 1974) 在 16℃、21℃、27℃ 和 32℃ 不同温度条件下, 测定烟草幼苗内总生物碱的含量, 结果表明 27℃ 是烟草总生物碱合成的最适宜温度, 说明温度对总生物碱积累的影响无专一性的作用。低温的春化作用诱导莲座状益母草的抽苔, 并随生长周期的延长, 气温的升高, 益母草内总生物碱含量逐渐减低^[7], II 期播种的益母草, 其植物体内总生物碱活动的表现正说明这个问题。其次, 温度对益母草总生物碱的影响无专一性作用, III 期、IV 期和 VI 期播种的益母草, 在 8月 7日同时收获, 益母草内总生物碱的积累, 随生长周期的缩短, 含量逐渐减少; 同一播种期 (VI 期和 VII 期) 播种的益母草, 不同收获期收获, 其总生物碱的积累也有类似的表现, 这是植物体内次生物质积累的时间效应性。此外, 对 24 h 内益母草总生物碱含量小时变化的跟踪试验, 表明中午 12 时和次日凌晨 4 时表现为益母草总生物碱积累的最高峰, 晚 22 时表现为最低峰, 高、低峰相差 0.81 个百分点 (盛束军, 1998)。说明温度的极端性对益母草总生物碱积累的影响无专一性。

3.3 益母草反季节栽培物候学的建立以及在土地资源利用上的意义: 益母草反季节栽培利用了低温对益母草的春化作用, 种植高含量、高产量的益母草原料, 在土地资源充分利用的前提下, 建立了反季节栽培益母草的物候学理论。

常年反季节栽培益母草的种植周期为: 3 月上、中旬播种, 6 月下旬收获; 6 月下旬播种, 9 月下旬或

10月上旬收获,这两季种植可获得 1.5 kg/m^2 益母草。此外,9月下旬或 10月上旬播种,12月下旬至 2月下旬收获,可作为春化作物的补充,但这一季种植必须建立在暖冬的气候条件下或大田塑料薄膜覆盖保温

参考文献

- 1 中国医学科学院药用植物资源开发研究所主编. 中国药用植物栽培学. 北京: 农业出版社, 1991: 1065
- 2 盛束军,等. 植物资源与环境, 1998, 7(1): 31

- 3 赵增煜主编. 常用农业科学试验法. 北京: 农业出版社, 1986: 12, 46
- 4 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典. 一部. 广州: 广州科技出版社, 1965: 261
- 5 G. R. 沃勒,等著. 朱太平,等译. 生物碱的生物学及其在植物中的代谢作用. 北京: 科学出版社, 1984: 89
- 6 刘玉亭. 中药通报, 1987, 12(9): 14
- 7 盛束军,等. 生命科学探索与进展(下册). 杭州: 杭州大学出版社, 1998: 632

(1999-06-25收稿)

金钱白花蛇可溶性蛋白凝胶电泳图谱的研究[△]

湖北中医学院药学系(武汉 430061) 陈振江* 陈科力 王曦** 吴和珍
湖北荆州市第一人民医院药学部 姚明全

摘要 对金钱白花蛇进行几种凝胶电泳研究,根据聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)谱带的位置和数目进行品种鉴别;用改进的十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)测定其主要蛋白质成分分子量;用等电聚焦电泳(IFE)测定其主要蛋白质成分的等电点(PI)。清晰的电泳谱带及相应数据为商品蛇真伪鉴别提供了科学依据。

关键词 金钱白花蛇 PAGE SDS-PAGE IFE

Studies on Gel Electrophoresis Atlas of Soluble Protein in *Bungarus*

Department of Pharmacy, Hubei College of TCM (Wuhan 430061) Chen Zhenjiang, Chen Keli, Wang Xi and Wu Hezheng

Department of Pharmacy, Jingzhou No. 1 Peoples Hospital Yao Mingquan

Abstract Disc polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) was performed to detect systematically the soluble proteins in *Bungarus*. Different species were identified according to the position and number of PAGE bands. Molecular weights of the soluble proteins were measured by a modified sodium dodecyl sulfonate (SDS) procedure. Isoelectric focusing electrophoresis (IFE) was used to determine the isoelectric point of the main protein of *Bungarus*. Results showed that the IFE bands were always quite distinct, which can be used as a scientific basis to distinguish the genuine snakes from its confusable or faked varieties.

Key words *Bungarus* polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) sodium dodecyl sulfonate (SDS) isoelectric focusing electrophoresis (IFE)

蛇类药材种类很多,其中金钱白花蛇为贵重药材,时有伪品现象发生。传统的鉴别主要依据药材的外形、鳞片、色斑、骨骼及某些器官的特征。目前,商品蛇中常见用游蛇科或其它科的幼蛇充真,本文采用 PAGE 技术鉴别金钱白花蛇的品种;用改进的 SDS-PAGE 技术测定金钱白花蛇蛋白质成分分子量,用 IFE 技术测定金钱白花蛇蛋白质成分等电点(PI) 结果满意,从而为蛇类药材及其制剂的生产、

贮藏提供有价值的参考数据和图谱。

1 实验材料

1.1 水赤链游蛇: *Natrix annularis* (Hallowell) 幼蛇。

1.2 金钱白花蛇: 为眼镜蛇科动物银环蛇 *Bungarus multicinctus* Blyth 幼蛇 (购自湖北省中药材公司)

1.3 黄链蛇: 为游蛇科动物黄链蛇 *Dinodon*

* Address: Chen Zhenjiang, Department of Pharmacy, Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan

陈振江 1953年 8月出生,武汉大学化学学院毕业,现任湖北中医学院药学系副教授,药学系基础实验室主任兼基础课教研室副主任,主要从事中药新剂型研究开发和中药及制剂质量分析,在国家级学术期刊上发表论文 20多篇,有多篇论文获奖(包括美国柯尔比科学文化信息中心医学部优秀论文奖及湖北省 98 优秀自然科学论文一等奖),并被《美国化学文摘》、《中国药文摘》等刊物录用。

** 武汉市一医院药剂科

△湖北省教委自然科学基金项目