

分重要的作用,是完善黄芩离体培养激素调控系统的一种有效的调节剂。

3 讨论

3.1 本研究为应用生物新技术培育黄芩优良品种奠定了基础,同时为培育成功的黄芩优良品种今后在生产上的克隆化快速繁殖和示范推广提供了有效的技术手段。通过对黄芩愈伤组织的诱导、分化,黄芩试管苗的继代扩大繁殖、生根等一系列优化试验,有效地解决了黄芩试管苗大规模克隆化生产的技术难点。在本研究建立的优化了的组织培养克隆技术条件下:(1)黄芩试管苗的节和节间可以大量诱导出愈伤组织,并且愈伤组织保持着较强的再分化能力,能在较短的时间里从愈伤组织再生出苗;(2)在试管苗繁殖中,应用单节培养的方法可以较大幅度地提高黄芩繁殖速度,真正达到大量克隆化生产水平;(3)黄芩试管苗生长培养基中适当添加植物生长延缓剂 PP₃₃₃能显著改善试管苗的素质,可明显提高生根率,改善根的质量和苗的性状,提高移栽成活率,在今后生产上可以有效地应用。

3.2 本实验报道了普通植物生长延缓剂 PP₃₃₃在黄芩组织培养中的重要作用。PP₃₃₃是目前广泛应用于农业和园艺的植物生长调节剂之一,具有明显的增

产效应。其作用机制与 GA₃(赤霉素)有关,通过抑制植株体内贝壳杉烯氧化酶的活力,阻碍 GA₃的生物合成,因而使植株明显矮化^[6]。我们在黄芩的组织培养过程中,应用 PP₃₃₃取得了很好的效果,其与外源性激素的配合使用,能十分有效地调控黄芩试管苗的生长与生根,并能显著提高移栽成活率,因此进一步拓宽了 PP₃₃₃在组织培养中的应用价值。对其他经济作物的组织培养具有一定的参考意义。

References:

- [1] Hisaka Y, Nobuyasu C, Kume W, *et al.* Effect of carbon sources on the growth and flavonoid formation of *Scutellaria baicalensis* stem callus cultures [J]. *J Pharm acol* (生药学杂志), 1986, 40(1): 19.
- [2] Qin J S, Wang L, Chen S P. Preliminary studies on organogenesis in *Scutellaria baicalensis* [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1985(6): 38.
- [3] Pierik R L M. *In Vitro Culture of Higher Plant* [M]. Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987.
- [4] Su C J. Effect of paclobutrazol on growth of *Gypsophila elegans* in vitro [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), 1996, 19(2): 112.
- [5] Shi S E, Ma B K. Application of PP₃₃₃ in rooting and transferring of apple plantlets [J]. *J Hebei Agric Univ* (河北农业大学学报), 1993, 16(3): 76.
- [6] Wang ZX, Duan M Y. Effect of PP₃₃₃ on regeneration of the plantlet of banana [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1994, 30(5): 346.

山银花茎、叶、花中绿原酸分布规律研究

耿世磊^{1,2}, 徐鸿华², 赵 晟¹, 姚飞平¹, 卢章会^{1*}

(1. 华南农业大学生命科学学院, 广东 广州 510642; 2. 广州中医药大学中药学院, 广东 广州 510405)

摘要:目的 揭示山银花茎、叶及花中绿原酸的分布状况,为确定金银花药材合理的药用部位及良种选育特征提供依据。方法 利用荧光显微镜观察山银花茎、叶及花中有效成分绿原酸的分布规律。结果 绿原酸在花中主要分布于萼筒-子房壁外表皮细胞及其下 3~5 层细胞,花冠外表皮细胞及其下 1~2 层细胞和花冠内表皮纤毛细胞;在叶片中主要分布于上表皮细胞和下表皮纤毛细胞;在茎中仅零星分布于次生韧皮部细胞。结论 花中绿原酸分布最为广泛,含量最丰富,叶片次之,茎中最少;花冠内表皮纤毛和花冠外表皮腺毛的密集程度,以及萼筒和花冠的长度可作为山银花的育种特征。

关键词: 绿原酸; 分布; 山银花; 茎; 叶; 花

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)03-0315-04

Distribution of chlorogenic acid in branch, blade, and flower of *Lonicera confusa*

GENG Shi-lei^{1,2}, XU Hong-hua², ZHAO Sheng¹, YAO Fei-ping¹, LU Zhang-hui¹

(1. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. College of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Object To show the distribution of chlorogenic acid in branch, blade, and flower of

* 收稿日期: 2003-07-09

基金项目: 国家科技部重大专项(2001BA701A23-03); 广东省科技攻关项目(2KB01201S); 华南农业大学校长基金项目(4600-K03156)

作者简介: 耿世磊(1965—),男,华南农业大学生命科学学院副教授,现于广州中医药大学在职攻读中药学博士学位,主要从事中药资源开发与利用方向的研究和教学工作。Tel: (020)85280193

Lonicera confusa (Sweet) DC. and provide the evidence for determining reasonable medicinal parts and features of selected elite species of *Flos Lonicerae*. **Methods** The distribution of chlorogenic acid in branch, blade, and flower were observed by fluorescence microscope. **Results** In flower, chlorogenic acid is mostly distributed in outer epidermal cells of calyx tube-ovary wall and the next 3—5 layer cells, outer epidermal cells of corolla and the next 1—2 layer cells, and inner epidermal cilium cells of corolla; in blade, it is mainly distributed in outer and inner epidermal cilium cells; while in branch, scarcely distributed in phloem cells. **Conclusion** Chlorogenic acid is stored mainly in flower, then blade and little is stored in branch. The density of inner epidermal cilium cells and outer epidermal glandular hair cells of corolla and the length of calyx tube and corolla can be used as two major features to select elite species.

Key words: chlorogenic acid; distribution; *Lonicera confusa* (Sweet) DC.; branch; blade; flower

金银花是一常用大宗的中药材,具有悠久的药用历史。《中华人民共和国药典》^[1]规定忍冬科忍冬属植物忍冬 *Lonicera japonica* Thunb.、红腺忍冬 *L. hypoglauca* Miq.、山银花 *L. confusa* (Sweet) DC. 和水忍冬(毛花柱忍冬) *L. dasystyla* Rehd. 4种植物干燥的花蕾(有些带有初开的花)为法定的金银花药材,具有清热解毒、凉散风热的作用。而其茎、叶入药,则称为忍冬藤,作用与金银花相似,除具有清热解毒功能外,还具有通经活络的功能。绿原酸是金银花药材的主要有效成分之一,目前多以绿原酸含量作为金银花药材的质量控制指标。前人虽已对金银花原植物茎、叶、花各部位的绿原酸开展了含量测量研究^[2,3],但未能进一步明确绿原酸在植物体各器官组织中的分布状况,由此影响了一系列规范化种植措施(如育种、剪枝、施肥、合理采收、贮藏等)的科学实施。本研究利用荧光显微镜观察研究了山银花茎、叶、花各部位组织中绿原酸的具体积累场所和分布规律,为科学地确定金银花药材合理的药用部位及优良品种育种特征提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料:均取自华南农业大学药用植物研究中心药圃,经广州中医药大学徐鸿华教授鉴定为忍冬科忍冬属植物山银花(华南忍冬) *Lonicera confusa* (Sweet) DC.。分别选取健康植株中部的成熟叶片、二年生茎以及即将开放呈淡白色的花蕾(分别取萼筒和花冠筒中部)。

1.2 石蜡切片法:将采集的叶片、茎、花蕾等材料清洗干净,分别取叶片中部主脉至叶缘以及叶片主脉部分,切成约 1 cm^2 小块;茎和花蕾则切成长 1 cm 的小段;FAA 固定,酒精系统脱水,石蜡包埋,切片厚度约 $15\text{ }\mu\text{m}$,番红—固绿染色。在 Leica DMLB (德国莱卡公司)显微镜下观察、照像。

1.3 荧光显微镜观察:分别取新鲜的茎、叶和花蕾,经滑走切片或徒手切片,制成装片;将 Leica DMLB

显微镜设置为紫外光源(波长 $340\sim 380\text{ nm}$),把装片置于其下进行观察、照像。绿原酸在紫外光下呈现出蓝色荧光^[4,5]。

2 观察结果

2.1 花蕾的解剖结构特征及绿原酸分布规律:分别从萼筒中部和花冠筒中部 2 个部位的横切面,对花蕾的解剖结构和绿原酸的分布规律进行了观察。

2.1.1 萼筒部位的解剖结构特征及绿原酸分布规律:萼筒中部结构特征:由于忍冬属的花为下位子房,萼筒与子房壁愈合在一起。因此,在横切面上由外至内,该部位的结构可分为萼筒-子房壁、子房室、中轴胎座和胚珠几个部分(图 1-1)。其中萼筒-子房壁包括内、外表皮、基本组织及维管束,萼筒外表皮覆盖着较密集的单细胞纤毛。

萼筒及子房中绿原酸分布:在萼筒-子房壁的外表皮及其下的 3~5 层细胞、子房室内表皮以及胚珠和胎座的部分薄壁组织细胞中可观察到蓝色荧光(图 1-5),其中以花萼-子房壁外表皮及其下的 3~5 层细胞中的荧光最为集中和强烈,是绿原酸分布的主要场所。

2.1.2 花冠筒部位的解剖结构特征及绿原酸分布规律:花冠筒中部结构特征:在横切面上,由外至内该部位的结构可分为外表皮、基本组织、维管束、内皮表、花丝和花柱等部分(图 1-2)。其中外表皮上覆盖着较密集的单细胞纤毛和零星分布着多细胞大头状腺毛,而内表皮上则覆盖着密集的多细胞纤毛(图 1-6)。

花冠中绿原酸的分布:在花冠外表皮及其下的 1~2 层细胞、内表皮细胞、花冠外表皮腺毛的柄部、内表皮细胞、内表皮纤毛及花柱表皮细胞中可以观察到蓝色荧光分布(图 1-6)。其中,花冠外表皮细胞及其下的 1~2 层细胞和花冠内表皮纤毛细胞中的荧光最为集中,是绿原酸分布的主要场所。

2.2 叶片的解剖结构特征及绿原酸分布规律:山银

花叶片的解剖结构由上、下表皮、栅栏组织、海绵组织、叶脉几部分组成。其上、下表皮均为一层细胞，上表皮细胞比下表皮细胞明显较大(图 1-3)；上、下表皮均被纤毛，但上表皮的纤毛较稀疏，而下表皮的纤毛则较为密集，明显比上表皮多(图 1-7)。叶肉中栅栏组织为 1 层细胞，排列紧密，约占叶肉的 1/3 左右；而海绵组织细胞排列疏松，有较大的细胞间隙，只有大小不等的含晶细胞。主脉处上下表皮以内依次为厚角组织、基本组织和维管束(图 1-3)。

在荧光显微镜下，可观察到叶片中绿原酸发出的蓝色荧光主要分布于上、下表皮细胞、表皮纤毛细胞中，在部分栅栏组织、海绵组织细胞以及叶脉基本组织、韧皮部中亦可观察到蓝色荧光(图 1-7)。但就蓝色荧光强弱和分布的广泛程度而言，则上表皮细胞和下表皮纤毛细胞是绿原酸分布最为集中的部分。

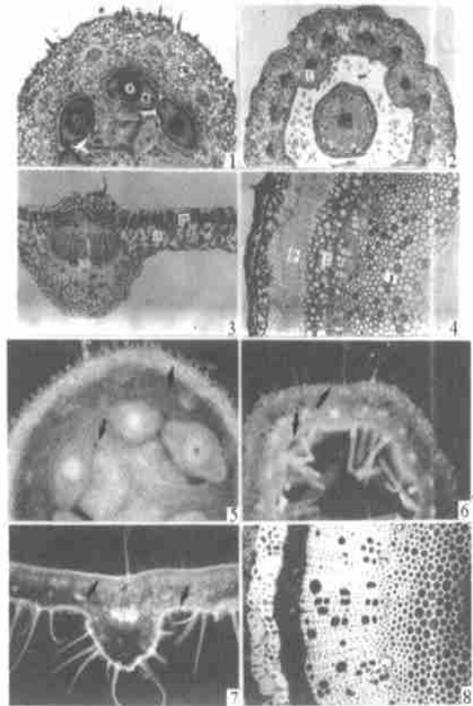
2.3 茎的解剖结构特征及绿原酸分布规律：山银花茎的解剖结构由外至内依次包括周皮、残留的皮层(中间有 3~4 层呈带状连续分布的纤维层)次生韧皮部、维管形成层、次生木质部、初生木质部、髓和髓腔(图 1-4)。

在荧光显微镜下，可观察到茎中绿原酸发出的蓝色荧光仅零星分布于次生韧皮部细胞中(图 1-8)。而皮层的纤维层、次生木质部、初生木质部及髓部的细胞壁上所发出的亮蓝色荧光，应是细胞壁中所含木质素和纤维素产生的荧光。

3 讨论

在植物体中，绿原酸属于一种酚类植色素^[6]，用以防御病原菌等微生物的侵袭。对山银花茎、叶、花蕾中绿原酸分布规律的观察结果表明：绿原酸主要分布于这 3 种器官的表层及其以内的几层细胞中(图 1-5~8)，即绿原酸往往分布于植物器官外围的组织细胞中，对植物器官起着保护作用。但是绿原酸作为金银花药材的一种重要有效成分，我们不仅关注绿原酸在植物器官中具体的分布场所，同时更加关注绿原酸在哪些部位的组织细胞中分布最广泛、含量最丰富。据此可为进一步明确药材最佳的药用部位，以及确定优良品种的育种特征提供理论依据。

利用荧光显微镜对山银花花蕾、叶、茎 3 种器官的观察显示，在花蕾和叶片的多个部位均发出较强烈的蓝色荧光，表明花蕾和叶片中的绿原酸分布较广泛、含量较丰富。其中，绿原酸在花蕾中比在叶片中的分布范围更广。若以单位质量计，则花蕾中的绿原酸含量应比叶片中的更丰富；而茎中的蓝色荧光



1~4 光镜下山银花茎、叶和花的解剖特征：1-萼筒-子房横切面，58X 2-花冠筒横切片，58X 3-叶片横切面，58X 4-茎横切面，58X

5~8 荧光显微镜下山银花茎、叶和花蕾中绿原酸的分布：5-萼筒-子房横切面，58X 6-花冠筒横切面，58X 7-叶片横切面，58X 8-茎横切片，58X

co-萼筒-子房壁 ct-花冠筒 f-花丝 o-胚珠 p-髓 ph-叶脉
维管束韧皮部 pt-栅栏组织 sp-次生韧皮部 st-海绵组织
sx-次生木质部

荧光显微镜下绿原酸呈现出的蓝色荧光

1—4 Anatomical features of branch, blade, and flower of *L. confusa* under LM: 1-cross section of calyx tube-ovary, 58X 2-cross section of corolla tube, 58X 3-cross section of blade, 58X 4-cross section of branch, 58X

5—8 Distribution of chlorogenic acid in branch, blade, and flower of *Lonicera confusa* under fluorescence microscope: 5-cross section of calyx tube-ovary, 58X 6-cross section of corolla tube, 58X 7-cross section of blade, 58X 8-cross section of branch, 58X

co-calyx tube-ovary wall ct-corolla tube f-filament o-ovule
p-pith ph-phloem of vascular bundle in vein pt-palisade tissue
sp-secondary phloem st-spongy tissue sx-secondary xylem

Blue fluorescence emitted from chlorogenic acid under fluorescence microscope

图 1 荧光显微镜下解剖特征及绿原酸分布

Fig. 1 Anatomical features and distribution of chlorogenic acid under fluorescence microscope

仅零星分布于次生韧皮部细胞中(图 1-8)，绿原酸含量应较为有限。张永清^[2]和张雁斌^[3]等分别利用紫外分光光度计，对忍冬茎、叶、花等不同器官中的绿原酸含量进行了测定，其结果与此相一致。同时，亦进一步验证了传统上以花蕾作为主要药用部位有着科学依据。就山银花叶、茎的利用而言，若以提取

绿原酸为目的, 则应以叶为主, 茎无太多利用价值, 去除为宜, 以提高提取效率。

花器官萼筒和花冠筒这 2 个部位的解剖结构完全不同, 绿原酸分布的场所也不尽相同。萼筒处以花萼-子房壁外表皮及其下的 3~ 5 层细胞中的荧光最为集中和强烈(图 1-5), 而花冠筒处以花冠外表皮细胞及其下的 1~ 2 层细胞和花冠内表皮纤毛细胞中的荧光最为集中(图 1-6)。从这 2 个部位的荧光分布范围和强度来比较, 萼筒处的绿原酸含量似乎更加丰富, 但需进一步做定量测定方面的工作来验证。若果如此, 在研制金银花药材的特殊剂型(如粉针剂)时, 可考虑以萼筒部作为主要原料。

从优良品种选育的角度来分析, 花蕾各处表皮附属的毛细胞中均发出蓝色荧光(图 1-5~ 6), 显示其中含有较丰富的绿原酸, 这是一值得关注的现象^[7]。由此提示在育种时应选择花蕾上毛被密集, 特别是花冠内表皮纤毛和花冠外表皮腺毛密集的植株作为优良品种选育的一个方向, 由此可期望获得绿原酸含量更高的优质金银花药材。同时, 由于绿原酸

多分布于器官的表皮细胞中, 表面积大的花蕾其绿原酸含量也应更加丰富。因此, 萼筒和花冠筒这 2 个部位的表面积大小也可作为山银花育种的指标之一。

References:

[1] Ch P (中国药典) [S]. 2000 ed. Vol I.

[2] Zhang Y Q, Xu L C, Wang L P. Detemination of chlorogenic acid content in different parts of *Lonicera japonica* Thunb. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1996, 21(4): 204-205.

[3] Zhang Y B, Kou X, Wang G H, et al. Chlorogenic acid content detemination in branches, leaves and flowers of *Lonicera japonica* from Mi County [J]. *J Henan Med Univ* (河南医科大学学报), 1999, 34(2): 36-37.

[4] Lin H, Liang S M, Cheng J H. Detemination of chlorogenic acid in Yinju Shufu distillate by TLC scanning [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med* (广州中医药大学学报), 1998, 15(6): 133-135.

[5] Yuan K, Li H Y. Studies on quality control of virustatic granule [J]. *Chin Pham J* (中国药学杂志), 2000, 35(2): 345-348.

[6] Ouyang G C, Xue Y L. Physiological role and regulation of phenylpropanoid metabolism in plant [J]. *Plant Physiol* (植物生理学通讯), 1988(3): 9-16.

[7] George K, George K, Costas F. Polyphenol deposition in leaf hairs of *Olea europaea* (Oleaceae) and *Quercus ilex* (Fagaceae) [J]. *Am J Bot*, 1998, 85(7): 1007-1012.

灯盏花种植技术初探

杨生超¹, 杨忠孝², 张乔芹², 王平理^{2*}

(1. 云南农业大学, 云南 昆明 650201; 2. 红河千山生物工程有限公司, 云南 泸西 652400)

摘要: 目的 筛选灯盏花优质种源, 研究其种植技术及栽培习性。方法 观测了 6 份灯盏花种源的主要经济性状、种子发芽、出苗与大田生育进程及其不同生育期的灯盏花乙素含量。结果 种源 QS-3、QS-6 和 QS-1 在产量和含量方面表现较好, 其大棚种植条件下的产量均高于露地; 种子发芽率和出苗率均较低, 出苗时间较长; 引种栽培后的灯盏花个体较野生条件下大; 不同生育期的灯盏花乙素含量不同, 其中初花期含量最高。并针对上述特征, 提出相应栽培技术措施。结论 通过人工种植灯盏花前景是广阔的。

关键词: 灯盏花; 种源; 繁殖; 栽培

中图分类号: R 282. 21

文献标识码: A

文章编号: 0253 - 2670(2004)03 - 0318 - 04

Preliminary studies on growing of *Erigeron breviscapus*

YANG Sheng-chao¹, YANG Zhong-xiao², ZHANG Qiao-qin², WANG Ping-li²

(1. Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Honghe Qianshan Bioengineering Co., Ltd., Luxi 652400, China)

Abstract: **Object** To select quality species of *Erigeron breviscapus* (Vant.) Hand. Mazz. and study its growing practice and cultural habit. **Methods** The yield and content of breviscapinun of six species of *E. breviscapus*, the process of geminating and sprouting of its seeds, growing in the field, and content of breviscapinun of dry *E. breviscapus* in different growth duration were observed. **Results** The yield and content of breviscapinun of QS-3, QS-6, and QS-1 of *E. breviscapus* species were higher than that in oth-

* 收稿日期: 2003-07-03

基金项目: 云南省中药现代化产业(云南)基地建设项目(2002ZY-3)

作者简介: 杨生超(1972—), 男, 云南腾冲人, 云南农业大学农学与生物技术学院副教授, 硕士, 主要从事作物栽培等方面的研究。
Tel: (0871)5227704(Fax) E-mail: shengchaoyang@163.com