

带薄壁细胞和分生细胞的组织容易诱导出愈伤组织,并分化不定芽。植物材料的种胚中含有较多的未分化及分化程度较浅的分生细胞,因而是诱导再生合适的外植体。

以 MS 培养基附加 2.0 mg/L 的 GA,杜仲胚轴的伸长生长效果最好。杜仲种胚胚轴具有很强的再生活性,在含有 0.1 mg/L 的 NAA 及 0.8 mg/L 6-BA 的 MS 培养基中,胚龄 20 d 杜仲胚轴伤口处皮层,不经愈伤组织分化可直接形成芽原始体并高频再生不定芽,诱导率达到 47%。与蒋祥娥、陈品良、陈丕铃等人的研究结果有所不同<sup>[7~9]</sup>。在壮芽及增殖培养中,分别采用 MS 培养基附加 1.0 mg/L 6-BA、0.1 mg/L NAA 及 MS 培养基附加 2.0 mg/L 6-BA、0.05 mg/L NAA 的效果最好,经 28 d 芽苗生长系数及增殖系数分别达到 2.48 和 3.64。生根培养基采用 1/2MS 培养基附加 1.5 mg/L IBA 及 20 mg/L 蔗糖,经 14 d 材料的生根率可达 91.7%。本研究建立了稳定高效的杜仲再生体系,为外源基因导入杜仲奠定了基础。

在整个培养诱导过程中内源激素水平、组培材料各细胞所处的状态是在不断变化的;在选择合

适外植体的前提下通过实验筛选出了适合杜仲组培各阶段生长的一系列培养基。目前采用农杆菌介导法对杜仲胚轴的遗传转化已获得转基因再生植株。

References:

[1] Liu H L, Tang M L, An L Y, et al. Study on the optimum extraction technology of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2002, 14(6): 47-50.  
 [2] Zuo C F, Hou Y H, Han W L, et al. Primary report on tissue culture of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1981, 11(10): 437-474.  
 [3] Chen L J, Hu T W, Huang L H. A protocol toward multiplication of the medicinal tree *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *In Vitro Plant*, 1995, 31(4): 193-198.  
 [4] Zhu D Y, Tian H Q, Jiang J H, et al. Callus induction and plant regeneration from mature dry albumen in *Eucommia ulmoides* [J]. *J Agric Biotechnol* (农业技术生物学报), 1998, 6(4): 307-312.  
 [5] Zhu D Y, Tian H Q, Li J M, et al. Callus induction and plant regeneration from leaf and petiole in *Eucommia ulmoides* [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2001, 21(2): 206-209.  
 [6] Yang X, Zhao D G, Zhu D X, et al. Plant regeneration from leaf of *Eucommia ulmoides* [J]. *Mol Plant Breed* (分子植物育种), 2003(z1): 825-826.  
 [7] Chen P L. *Study on E. ulmoides Oliv. of China* (中国杜仲研究) [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Publishing House, 1992.  
 [8] Chen P L. *Study on E. ulmoides Oliv. of China* (中国杜仲研究) [M]. Xi'an: Shaanxi Science and Technology Publishing House, 1992.  
 [9] Jiang X E, Wang J Y. Study on tissue culture of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *Technol Hubei Forest* (湖北林业科技), 2000(C00): 96-98.  
 [10] Yan G H, Zhou Y. High regeneration of adventitious shoots from hypocotyl of peach (*Prunus persica* L.) [J]. *J Fruit Sci* (果树学报), 2002, 19(4): 231-234.

## 人参木质素量与生长年份关系的研究

李靖<sup>1</sup>,程舟<sup>1\*</sup>,杨晓伶<sup>1</sup>,李珊<sup>1</sup>,顾敏<sup>2</sup>,万树文<sup>2</sup>,张文翥<sup>3</sup>,陈家宽<sup>3</sup>

(1. 同济大学生命科学与技术学院,上海 200092; 2. 上海雷允上药业有限公司,上海 200002; 3. 复旦大学生命科学学院生物多样性科学研究所 生物多样性与生态工程教育部重点实验室,上海 200433)

摘要:目的 研究不同生长年份人参中木质素量的变化规律,探讨木质素的量用于判断人参生长年份的可行性。方法 采用紫外分光光度法测定人参木质素的量。结果 人参不同部位和组织的木质素的量存在明显差异;人参根须部的木质素量与生长年份呈极显著负相关( $r=0.986^{**}$ ),可作为判断人参生长年份的指标;根据人参根须部木质素的量估算的人参生长年份与实际生长年份的误差范围小于 2.5 年。结论 紫外分光光度法可快速、准确地测定人参根须的木质素的量,无需破坏人参的外形即可初步估算人参的生长年份,不仅可以作为人参生长年份的鉴定方法,同时也可供中药材年份鉴定借鉴。

关键词:人参;生长年份;木质素;紫外分光光度法

中图分类号:R282.6 文献标识码:A 文章编号:0253-2670(2007)01-0105-04

### Relationship between lignin contents and growth ages of *Panax ginseng*

LI Jing<sup>1</sup>, CHENG Zhou<sup>1</sup>, YANG Xiao-ling<sup>1</sup>, LI Shan<sup>1</sup>, GU Min<sup>2</sup>, WAN Shu-wen<sup>2</sup>, ZHANG Wen-ju<sup>3</sup>, CHEN Jia-kuan<sup>3</sup>

(1. School of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China; 2. Shanghai Leiyunshang

收稿日期:2006-03-19

基金项目:上海市科委中药现代化专项(04DZ19834)

作者简介:李靖(1981—),湖北省荆州市人,同济大学生命科学与技术学院在读硕士,从事药用植物资源保护及利用研究。

\* 通讯作者 程舟 Tel:(021)65985185 E-mail:chengzhou@mail.tongji.edu.cn

Pharmaceutical Co., Ltd., Shanghai 200002, China; 3. Key Laboratory of Biodiversity Science and Ecological Engineering, Ministry of Education, Institute of Biodiversity Science, School of Life Science, Fudan University, Shanghai 200433, China)

**Abstract: Objective** To study the regulation of lignin content changed with the growth ages of *Panax ginseng* and discuss the feasibility of *P. ginseng* growth ages identified by lignin content. **Methods** UV Spectrophotometry was used to determine the lignin content of *P. ginseng*. **Results** The lignin content in different parts or tissues of *P. ginseng* was obvious difference. The lignin content in *P. ginseng* root fibril had extremely negative correlation ( $r=0.986^{**}$ ) with the growth ages of *P. ginseng*. It could be considered as a characteristic indicator to identify the growth ages of *P. ginseng*. The identifying error of growth ages for *P. ginseng* between the reality and the estimated by the lignin content is less than 2.5 years. **Conclusion** This method is rapid and accurate for determining the lignin content in *P. ginseng* root fibril and can be used to estimate approximately the growth ages without breaking the form of *P. ginseng*. It not only can be used for identifying the growth ages of *P. ginseng*, but also for reference for growth age identification of traditional Chinese medicinal materials.

**Key words:** *Panax ginseng* C. A. Meyer; growth ages; lignin; UV spectrophotometry

人参 *Panax ginseng* C. A. Meyer 系五加科 (Araliaceae) 多年生植物, 是我国著名的传统中药材, 被誉为“百草之王”<sup>[1]</sup>。人参的商品种类很多, 仅以生长年限和生长方式就可分为生晒参(园参)、移山参、生晒山参(山参)等规格<sup>[2]</sup>。人参的生长年份被认为是影响和判断人参品质最为重要的因素之一。传统的人参鉴别主要依靠“五行”(须、皮、芦、纹、体)和“六体”(灵、笨、老、嫩、棱、顺), 要求鉴定者有丰富的实践经验, 并且受主观因素影响较大。

人参皂苷是人参的主要活性成分, 肖新月等<sup>[3]</sup>的研究表明 6 种人参单体皂苷量之和在移山参、山参(野山参)和园参(栽培参)主根间无明显差异。而吴广宣等<sup>[4]</sup>测得野山参的总皂苷量高于栽培参, 到目前为止人参皂苷的量尚不能作为判断人参生长年份的指标。

木质素作为植物的化学成分与纤维素及半纤维素共同形成植物体的骨架<sup>[5]</sup>。木质素的积累一般随着植株的大小、部位、品种及收获季节的不同, 呈现有规律的变化, 如红麻<sup>[6]</sup>、丝瓜<sup>[7]</sup>等。本实验通过紫外分光光度法对不同类型人参的木质素的量进行分析和比较, 以期明确人参木质素的量随生长年份的变化规律, 并进一步探讨木质素的量用于判断人参生长年份的可行性。

## 1 材料与方 法

1.1 主要仪器及试剂: 精密天平 (Sartorius), 烘箱 (上海一恒科技), 恒温水浴锅 (上海甲生科技), 紫外光度计 (Hitachi), 抽滤器 (上海豫康), 玻璃器皿。乙酰溴 (AR), 醋酸 (AR), 72% 硫酸, 氢氧化钠 (AR),

高氯酸 (AR)。

1.2 人参样品: 4 年生栽培人参 (园参) 采自辽宁省新宾满族自治县红升乡张家村, 8、12、16、20 年生移山参采自辽宁省桓仁满族自治县四平乡巨户沟村, 30 年生野山参由上海雷允上药业有限公司提供。将 8 年生移山参分成芦头、根上部、根中部和根须 4 个部位, 测定各部位的木质素的量。将 4 年生栽培人参和 8 年生移山参的韧皮部和木质部分别取样测定木质素的量。

1.3 Klason 法测定人参木质素的量<sup>[8]</sup>: 称取人参粉末约 0.5 g ( $W_1$ ) 放入研钵中, 加入 72%  $H_2SO_4$  20 mL, 用研磨棒搅拌至无块状, 室温静置 4 h, 将该混合液移至 1 000 mL 的三角烧瓶中, 加水 765 mL, 在电炉上回流煮沸 2 h 后, 用已恒重 ( $W_2$ ) 的砂芯漏斗 (规格 G4) 抽除过滤, 再将盛有木质素的漏斗放在烘箱中以 105 °C 的温度烘至恒重, 取出称质量 ( $W_3$ ) 并计算, 重复 3 次。Klason 法测得的木质素的量由下式计算。

$$\text{木质素} = (W_3 - W_2) / W_1 \times 100\%$$

1.4 紫外分光光度法测定人参木质素的量<sup>[8]</sup>: 称取人参粉末约 6 mg 放入 20 mL 试管中, 加入 25% 溴乙酰-醋酸溶液 5 mL 和高氯酸 0.2 mL, 将管口加木塞并密封, 于 70 °C 恒温水浴 30 min, 每隔 10 min 振荡试管。将反应液完全移入已装有 10 mL 2 mol/L NaOH 和 25 mL 冰醋酸混合液的容量瓶内, 振荡充分混匀并用冰醋酸定容至 100 mL。以纯冰醋酸为空白对照, 用紫外分光光度计测定样品溶液 260 nm 处吸光度。溶液吸光率由下式计算。以多次算得的

吸光率取平均值作为标准吸光率,计算木质素的量:

$$\text{吸光率} = A \times V / (W_s \times K_1)$$

$$\text{木质素} = A \times V / (W_s \times A_s) \times 100\%$$

A 为样品溶液木质素吸光度, V 为样品溶液定容体积(L), W<sub>s</sub> 为所取材料质量(g), K<sub>1</sub> 为 Klason 法所测得的人参木质素的量, A<sub>s</sub> 为人参木质素标准吸光率

## 2 结果与分析

2.1 人参木质素量的测定:用 Klason 法测得的 4 年生栽培人参根须的木质素的量为 1.69%, 根据 Klason 法测得的木质素的量及其在 260 nm 处的吸光度, 得出人参木质素的标准吸光率为 440 L/(g · cm)。以该标准吸光率和样品在 260 nm 处的吸光度计算人参的木质素的量, 即紫外分光光度法测得的 4 年生栽培人参的木质素的量为 2.47%。

2.2 人参不同部位的木质素的量:紫外分光光度法测得的 8 年生移山参不同部位的木质素的量存在明显差异, 以根须部的量最高, 为 2.27%, 其次为芦头, 主根中部和上部的量最小(表 1)。通常植物不同部位的木质素的量不同, 且其木质素的组成也不同<sup>[10,11]</sup>。鉴于人参不同部位间木质素的量变化幅度较大, 确定取样部位对研究不同生长年份人参木质素量的变化至关重要。选取直径相近的根须用于紫外分光光度法测定微量人参的木质素的量, 不仅能保证取样部位的一致性, 而且可避免对人参整体形态的破坏。

表 1 人参不同部位的木质素的量

Table 1 Lignin contents of various parts in *P. ginseng*

部位	木质素/%	标准差 SD(×10 <sup>-4</sup> )
芦头	1.56	9.33
上部	1.20	6.51
中部	1.23	11.41
根须	2.27	9.35

2.3 不同生长年份人参的木质素的量:用紫外分光光度法对不同生长年份人参的木质素的量的测定结果表明, 随着人参生长年份的增加, 人参根须部的木质素的量呈下降的趋势(表 2)。木质素是一种含有羟基和甲氧基的高分子芳香族化合物, 是苯丙烷的衍生物<sup>[12]</sup>。通常随着植物组织的不断成熟, 植物细胞的木质化程度越高, 木质素的量也会增加, 而人参根须部的木质素的量变化恰好相反。木质素作为一种复杂的高分子聚合物, 在同一组织的不同细胞甚至同一细胞中木质素的结构也可能表现出明显的不同<sup>[13]</sup>。本研究中, 无论是栽培参还是移山参其根部的韧皮部木质素的量均高于木质部(表 3), 这也与韧皮纤维植物红麻等的结果相反<sup>[6]</sup>。通过对不同生

长年份人参的组织解剖学观察发现, 随着人参生长年份的增加, 人参侧根组织中木质部与韧皮部的比例有变大的趋势(表 2)。苏红文等<sup>[14]</sup>对 1~4 年生西洋参根的组织发育研究中也得出同样的结论。因此, 人参根的组织发育及结构变化可能是造成其木质素的量变化的重要因素。

表 2 不同生长年份人参的木质素的量及估算生长年份

Table 2 Lignin contents between different growth ages and estimated growth ages of *P. ginseng*

不同生长年份人参	木质素/%	标准差 (×10 <sup>-4</sup> )	木质部: 韧皮部	估算生长年份
栽培人参 4	2.47	1.40	1:1	4.6
移山参 8	2.32	8.67	1.86:1	9.6
12	2.24	9.39	2.8:1	12.3
16	2.18	6.59	3:1	14.3
20	2.07	7.06	3.5:1	17.9
野山参 30	1.67	4.50	4.2:1	31.3

表 3 人参木质部和韧皮部的木质素的量

Table 3 Lignin contents of xylem and phloem in *P. ginseng*

部位	木质素	标准差(×10 <sup>-4</sup> )
4 年生栽培人参木质部	1.89	35.91
4 年生栽培人参韧皮部	2.02	37.15
8 年生移山参木质部	1.04	13.03
8 年生移山参韧皮部	1.40	15.52

4、8、12、16、20、30 年生人参根须部的木质素的量分别为 2.47%、2.32%、2.24%、2.18%、2.07% 和 1.67%, 呈极显著负相关( $r=0.986^{**}$ )(表 2, 图 1)。据此, 获得人参生长年份与人参根须木质素的量的线性回归方程  $Y = -33.317X + 86.909$  (Y 为人参生长年份, X 为木质素的量)。用该方程估算出的上述人参的生长年份分别为 4.6、9.6、12.3、14.3、17.93、31.3 年。

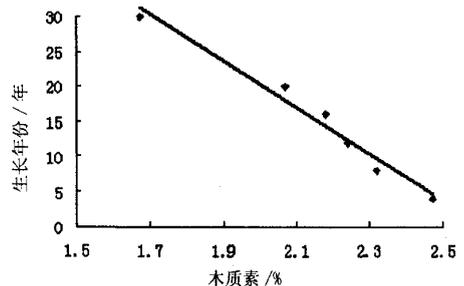


图 1 人参生长年份与根须木质素量的关系

Fig. 1 Relationship between *P. ginseng* growth ages and lignin contents of *P. ginseng* fibril

用该回归方程估算辽宁省宽甸县振江乡石柱沟

村产移山参的生长年份,结果估算出的年份与实际生长年份也大致相符。辽宁省宽甸县产的 8、12、16 年生移山参根须部的木质素的量分别为 2.44%、2.24% 和 2.06%,根据回归方程估算出的生长年份分别为 5.6、12.3、18.3 年,与实际生长年份相差 0.3~2.3 年。可见,用木质素的量可以估算人参的生长年份,其误差范围小于 2.5 年,以估算实际生长年份为 12 年的移山参时最为准确。但在估算同为 8 年生的辽宁桓仁产和辽宁宽甸产的移山参的生长年份时,两者的估算生长年份差异极大,分别为 9.6 年和 5.6 年,相差 4 年。这可能与不同产地和栽培管理等的影响有关。因此,需综合考虑产地等因素完善估算方程,以进一步提高人参生长年份估算的准确性。

### 3 结论

人参不同部位的木质素的量差异明显,确定取样部位至关重要。人参根的韧皮部木质素的量均高于木质部,随着人参生长年份的增加,人参根组织中木质部与韧皮部的比例不断变大,木质素的量呈下降的趋势。人参生长年份与其根须部木质素的量呈极显著性负相关,计算其一元线性回归方程可用于移山参的年份鉴定。用该回归方程可初步估算移山参生长年份,其估算误差范围小于 2.5 年。紫外分光光度法可快速、准确地测定人参根须的木质素的量,无需破坏人参的外形即可估算人参的生长年份,不仅可以作为人参生长年份的鉴定方法,同时也可供中药材年份鉴定借鉴。

### References:

- [1] Ch P (中国药典) [S]. Vol 1. 2000.
- [2] Zeng Y K. *The Commodities of Chinese Traditional Medicine* (中药商品学) [M]. Beijing: China Commercial Publishing House, 1994.
- [3] Xiao X Y, Yin J F, Zhang N P, et al. Study on the relation between duration of cultivation of plant and contents of the eight kinds of ginsenoside in the *Panax ginseng* by RP-HPLC [J]. *Chin J Pharm Anal* (药物分析杂志), 2004, 24(3): 238-244.
- [4] Wu G X, Wei Y D, Mo C C, et al. Compared analysis of ginsenoside content in wild and cultivated *Panax ginseng* [J]. *Bull Pharm Sin* (药学通报), 1988, 23(7): 397-398.
- [5] Qiu Z C, Wang H Y. Research status and progress on application of lignin [J]. *South West Pulp Paper* (西南造纸), 2004, 33(3): 29-33.
- [6] Cheng Z. Studies on production management indicators of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) whole stalk for papermaking [J]. *Bull Kochi Univ Forest*, 2000, 26: 63-136.
- [7] Zhu H Y, Li R G, Wang L H, et al. Study on the physiology and biochemistry of lignin metabolism and tracheary-element differentiation during the fruit development of *Luffa cylindrical* [J]. *J East Normal Univ: Nat Sci* (华东师范大学学报:自然科学版), 1997, 31(1): 87-93.
- [8] "Acid-insoluble Lignin in Wood and Pulp" [S]. 1988.
- [9] Iiyama K, Wallis A F A. An improved acetyl bromide procedure for determining lignin in woods and wood pulps [J]. *Wood Sci Tech*, 1988, 22: 271-280.
- [10] Seca A M L, Cavaleiro M, Greppin H, et al. Structural characterization of the lignin from the nodes and internodes of *Arundo donax* reed [J]. *J Agric Food Chem*, 2000, 4(3): 817-824.
- [11] Rodriguez A, Jimenez A, Guillen R, et al. Postharvest changes in white asparagus cell wall during refrigerated storage [J]. *J Agric Food Chem*, 1999, 47(9): 3551-3557.
- [12] Jiang S J, Wu H L, Li Z Z, et al. Investigation of method for quantitative analysis of chemical composition of oil-flax fiber and its properties [J]. *J Lanzhou Univ Technol* (兰州理工大学学报), 2005, 31(1): 78-81.
- [13] Fu W, Liao X R, Wang J F, et al. Research on botanic lignin [J]. *Bull Biol* (生物学通报), 2004, 39(2): 12-14.
- [14] Su H W, Hu Z H. Development anatomical studies on the root of *Panax quinquefolium* L. [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin* (西北植物学报), 1994, 14(2): 77-83.

## 内蒙两种源甘草种子生物学特性及播种苗生长状况的研究

孙志蓉<sup>1</sup>, 王文全<sup>1</sup>, 张吉树<sup>2</sup>, 吕银霞<sup>2</sup>, 张锐锋<sup>3</sup>

(1. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102; 2. 亿利科技实业股份有限公司甘草分公司, 内蒙古 杭锦旗 017400;

3. 北京奇源益德药物研究所, 北京 100070)

**摘要:**目的 研究种源对甘草种子生物学特性及播种苗生长的影响,揭示种源在中药材规范化生产实践应用中的重要作用。方法 采用常规方法测定不同来源甘草种子的千粒质量、含水量、种皮透性、发芽率、发芽势,播种后测定幼苗和一年生苗的生长指标。结果 上海庙种源种子的千粒质量大于巴音乌素种源,上海庙种源和巴音乌素种源种子的单粒质量分别为 12.3 和 11.7 mg。巴音乌素种源种子种皮的透水性较上海庙种源强,电导率测定值是上海庙种源的 2 倍。上海庙种源种子的硬实率较高,种子耐贮藏性和种子活力较强。巴音乌素种源未处理种子的发芽率和发芽势高于上海庙种源,但处理后的种子发芽率和发芽势均低于上海庙种源。两种源未处理和处理过的种子均以小粒种子的发芽率和发芽势最高。两种源幼苗生长指标之间的差异达到了显著和极显著水平。上海庙种源一年生播种苗的多数生长指标略高于巴音乌素种源,但两种源之间的差异未达到显著水平。结论 种源对甘草种

收稿日期:2006-02-12

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30171141)

作者简介:孙志蓉(1967—),女,山东诸城市人,博士,研究方向为林药复合经营、药用植物资源和规范化栽培的研究。

Tel:(010)84738623 E-mail:zrs67@126.com