

茉莉酸甲酯对广藿香叶中百秋里醇含量的影响

何梦玲¹, 何芳², 熊洋¹, 马嘉瑜¹, 龚伟骏¹, 严寒静¹

(1. 广东药学院 中药学院, 广东 广州 510240; 2. 广州市海珠区第二人民医院, 广东 广州 510240)

摘要:以广藿香为试材, 采用叶片喷雾法, 外施茉莉酸甲酯于扦插的植株上, 并利用气相色谱法测定叶片中百秋里醇含量, 研究茉莉酸甲酯对广藿香叶中百秋里醇形成和积累的影响。结果表明: 扦插广藿香植株经茉莉酸甲酯喷施处理后, 其叶中百秋里醇含量与对照有显著差异, 以外施 50 mg/L 茉莉酸甲酯时叶中百秋里醇的含量为最高。试验结果表明, 外施一定浓度的茉莉酸甲酯能促进广藿香叶中百秋里醇的产生和积累, 可以考虑在生产中加以应用。

关键词:茉莉酸甲酯; 叶片喷雾; 广藿香; 百秋里醇

中图分类号:R 282.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)05-0147-04

广藿香(*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.) 属唇形科刺蕊草属植物, 味辛, 性微温, 入脾、胃、肺三经, 是常用芳香化湿中药。广藿香有芳香化湿、和中止呕、发表解暑等功效^[1], 现代药理研究表明, 广藿香可以调节胃肠道功能^[2]和具有抗菌作用^[3-4], 是著名成药“藿香正气丸”、“藿胆丸”以及中药制剂“抗病毒口服液”的主要原料。广藿香含有挥发油(广藿香油, patchouli oil), 油中主成分为百秋里醇(广藿香醇, patchouli alcohol)、广藿香酮(pogostone)、广藿香烯醇(patchoulanol)和赛车烯等^[5]。百秋里醇作为指标性成分, 是历版《中华人民共和国药典》规定的用以评价广藿香质量和广藿香油质量的指标。

此外, 百秋里醇气味独特宜人, 并可使香味持久, 是良好的定香剂。百秋里醇单体是法国标准化委员会确定的香精香料中的标志性成分, 被广泛应用于日用品和化妆品中^[6]。

茉莉酸及其甲酯(MJ)是一种广泛存在于植物体内的生长调节物质。有报道认为外源性茉莉酸类化合物能有效刺激植物次生代谢物的生物合成^[7-8], 可引起植物次生代谢产物的迅速积累^[7], 其作用具有广泛性, 能诱导包括萜类、黄酮类、生物碱类等化合物的积累。如烟草外施茉莉酸甲酯可影响烟碱合成关键酶的活性, 从

而促进烟碱和 K 含量的积累^[9]; 而外施于丹参幼苗上, 可促进蔗糖代谢和酚酸类物质的积累^[10]。该试验对广藿香植株外施不同浓度的 MJ, 研究其对广藿香中百秋里醇含量的影响, 以期为提高广藿香生长质量及有效成分含量提供新的研究思路。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试广藿香苗由肇庆市高要县种植农户提供, 经广东药学院严寒静副教授鉴定为唇形科刺蕊草属植物广藿香(*P. cablin*)。扦插盆栽, 3 个月后选取生长状态一致的植株随机分组, 每组 4 株。

茉莉酸甲酯(SIGMA-ALDRICH, 95%); 百秋里醇对照品(含量测定用, 广州市药品检验所, 批号 110772-201206)。

岛津 GC-7890 气相色谱仪(日本岛津); 岛津检测器; 微量进样器(1 μ L, 上海佳安分析仪器厂); 电子分析天平(日本岛津 AY120)。

1.2 试验方法

试验采用随机区组试验, 共设 3 个处理: 叶面喷施浓度为 50、100、150 mg/L 的茉莉酸及其甲酯(MJ), 以喷施清水为对照(CK), 每处理 4 次重复。将配好的各种浓度的 MJ 溶液用喷壶均匀地喷到对应各组叶片上, 每组每株喷 10 mL, 每天喷 2 次(早晚各 1 次), 隔天喷, 持续 12 d, 喷后立即套上保鲜袋。喷施后 48 h 取样, 取叶片洗净阴干后粉碎, 过 50 目筛用棕色广口瓶保存。

1.3 项目测定

1.3.1 广藿香生理指标的测量 分别测量每株植株的株高、叶片数、分株数及节数。喷洒后每隔 1 周测量一次数据, 直至取样。

1.3.2 广藿香叶中百秋里醇的含量测定 色谱条件:

第一作者简介:何梦玲(1975-), 女, 广东梅州人, 博士, 讲师, 现主要从事药用植物组织培养及次生代谢等研究工作。E-mail: hmdl@126.com.

责任作者:严寒静(1972-), 女, 重庆人, 博士, 副教授, 现主要从事中药资源与开发等研究工作。E-mail: yanhanjing1211@163.com.

基金项目:广东省科技厅资助项目(粤科规划化字([2012]145)号); 广东省中医药管理局资助项目(20111252); 中山市科技局华南现代中医药城资助项目(20101H019)。

收稿日期:2013-11-11

At-SE54 色谱柱(柱长为 30 cm,内径为 0.32 mm,膜厚度为 0.25 μm)。程序升温:初始温度 170 $^{\circ}\text{C}$,保留 8 min,以 20 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速率升温至 260 $^{\circ}\text{C}$,保持 2 min;进样口温度为 240 $^{\circ}\text{C}$,检测器温度为 270 $^{\circ}\text{C}$ 。分流比为 20:1,理论塔板数按百秋里醇峰计算应不低于 50 000。百秋里醇对照品溶液制备:取百秋里醇对照品 20 mg,精密加入 3 mg/mL 正十八烷内标溶液 1 mL,用正己烷定容至 10 mL,得对照品溶液。供试品溶液的制备:精密称取叶片 0.3 g,置于锥形瓶中,加三氯甲烷 50 mL,超声处理 3 次,每次 20 min,合并滤液,回收溶剂至干,残渣加正己烷溶解,转移至 5 mL 量瓶中,精密加入内标溶液 0.5 mL,加正己烷至刻度,0.45 μm 的滤膜过滤,滤液为供试品溶液。校正因子测定:取百秋里醇对照品溶液 1 μL 注入

气相色谱仪,计算得出校正因子为 1.105875218。线性关系考察:精密量取百秋里醇对照品溶液 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0、4.0 mL 分别置于 5 mL 量瓶中,注入内标溶液 200 μL ,用正己烷稀释至刻度,制得对照品溶液浓度分别为 0.04、0.08、0.20、0.40、0.80、1.60 mg/mL,各取 1 μL 注入气相色谱仪,以峰面积比值(Y)对浓度(X)作回归计算,得回归方程为 $Y=3.6672X-0.0643$, $R^2=0.9998$ 。结果表明,百秋里醇浓度在 0.0408~1.6320 mg/mL 范围内线性关系良好。精密密度试验:精密吸取样品溶液 1 μL ,重复进样 6 次,记录峰面积 RSD=0.92%,重复性良好。稳定性试验:精密吸取样品溶液 1 μL ,分别在制备后 0、2、4、6、8、24 h 测定,记录峰面积 RSD=1.96%,表明 24 h 内溶液稳定。

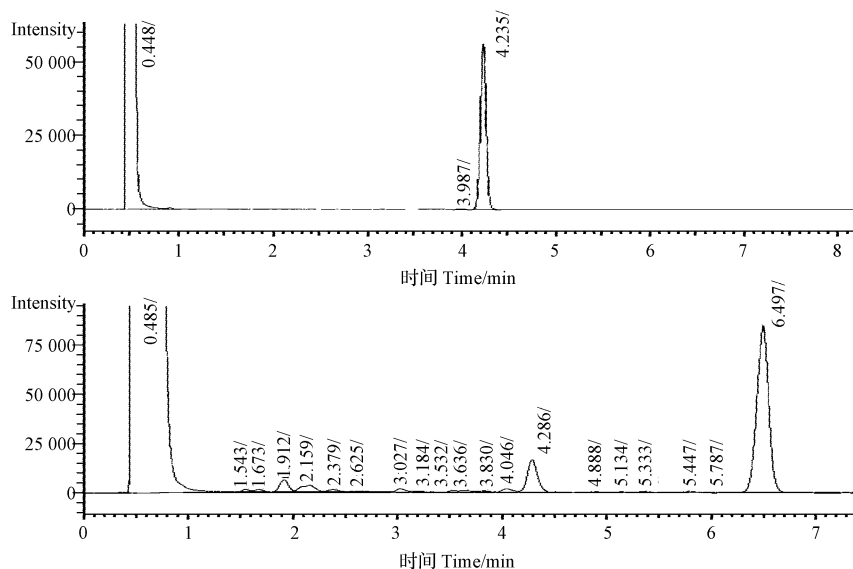


图1 百秋里醇对照品与广藿香叶样品 GC 色谱图

Fig.1 GC of control of patchouli alcohol and leaves of *P. cablin*

1.3.3 含量计算 测得各样品的百秋里醇气相色谱中的峰面积,重复进样 5 次,除去其中的最大值与最小值,取 3 次测定结果的峰面积平均值。将计算所得的峰面积平均值代入回归方程,即可得供试液中的百秋里醇浓度(mg/mL)。将供试液中的百秋里醇浓度(mg/mL)代入下列公式即可计算得出广藿香中百秋里醇的含量(%)。百秋里醇含量=供试液中百秋里醇的浓度 $\times 5/1\ 000 \times$ 取样量 $\times 100\%$ 。

2 结果与分析

2.1 外施不同浓度 MJ 对广藿香生长情况的影响

从图 2 可以看出,喷施茉莉酸甲酯后,各浓度处理组的植株在试验周期中株高变化不大,故没有显著差异性($P>0.05$)。

从图 3 可以看出,外施较高浓度的茉莉酸甲酯能增

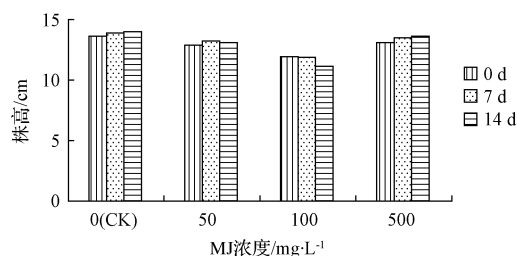


图2 不同浓度 MJ 对广藿香植株株高的影响

Fig.2 Effect of different concentrations of methyl jasmonate on the height of *P. cablin*

加广藿香叶的干质量。试验中发现,喷施初期叶明显增大,有新生叶,但株高、节长、分株数变化不大,但到了后期叶逐渐变薄变黄,有脱落枯萎的现象,推测与茉莉酸甲酯的浓度有关,浓度越大,叶增大的程度越大,而变黄

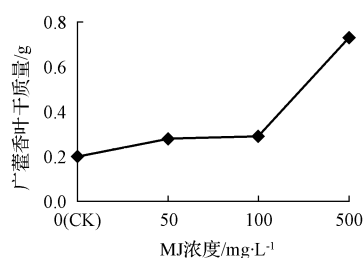


图3 不同浓度 MJ 对广藿香叶干质量的影响

Fig. 3 Effect of different concentrations of methyl jasmonate on the dry weight of *P. cablin*

脱落的速度也越快。

2.2 外施不同浓度 MJ 对广藿香叶中百秋里醇含量的影响

从图 4 可以看出,50 mg/L 的茉莉酸甲酯处理广藿香后,百秋里醇含量相对空白对照组增加了 31.9%,而较高浓度的 MJ 则会抑制广藿香叶中百秋里醇的产生和积累,叶中百秋里醇的含量都较对照低。

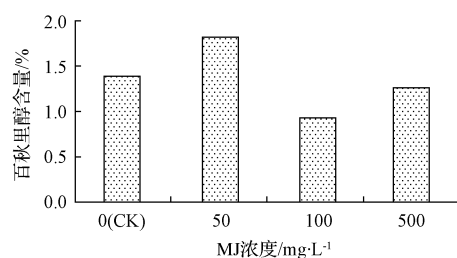


图4 不同浓度 MJ 对广藿香叶中百秋里醇含量的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of methyl jasmonate on the content of patchouli alcohol from the leaves of *P. cablin*

3 讨论与结论

广藿香是一种全草类药材,根、茎、叶均可入药,但以往的研究表明,叶中含有大量的挥发油成分,其含量分布均为叶>全草>茎,故某些制剂(如藿胆丸)仅以广藿香叶入药;且叶片的多少,即叶片的生物量往往作为评价药材质量好坏的指标之一^[11],因此课题组直接选择广藿香叶作为试验对象。茉莉酸类物质(包括茉莉酸和茉莉酸甲酯)在植物中普遍存在,是高等植物体内的内源生长调节物质,具有广泛的生理功能。此外,其本身也是病原物、诱导子及创伤植物防卫基因表达的信号分子,并且其本身也可作为诱导子^[12]。有试验证明,茉莉酸甲酯能调节相应的基因表达以影响植物生长和发育以及获得抗性^[13]。应用外源茉莉酸甲酯能直接引发抗性^[14]和多种生物合成途径中蛋白酶抑制子及酶基因的表达^[15]。该试验结果显示,茉莉酸甲酯能够促进次生代谢产物百秋里醇的产生。Choi 等^[15]报道低浓度的 MJ

能与伤害协同作用,导致甾体类甘油生物碱的积累,而高浓度的 MJ 却抑制这种积累。在 MJ 对白木香中色酮化合物的诱导产生试验中,也是低浓度的效果最好^[16]。该研究中也得到相似的结果。高浓度(500 mg/L)处理中,百秋里醇含量稍高于 100 mg/L 处理,这可能是因为高浓度处理能在短时间内迅速增加叶面积,从而相应增加了百秋里醇含量的缘故。但试验中发现,高浓度 MJ 处理后随着生长时间的延长,叶会变黄脱落,但低浓度组却避免了这一负面效应,因此在实际应用中,还是应选择低浓度 MJ 进行处理。综上所述,建议在广藿香的种植中可外施低浓度 MJ 以促进百秋里醇的产生。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典第一部[M]. 9 版. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 42.
- [2] 陈小夏, 何冰, 李显奇, 等. 广藿香三种提取物对肠道功能作用的比较[J]. 中药药理与临床, 1998(4): 31-33.
- [3] 杨得坡, Chmont J, Millet J. 藿香和广藿香挥发油对皮肤癣菌和条件致病真菌的抑制作用[J]. 中国药理学杂志, 2000, 35(1): 9-11.
- [4] 莫小路, 严振, 王玉生, 等. 广藿香精油对植物病原真菌的抑菌活性研究[J]. 中药材, 2004, 27(11): 805-807.
- [5] 张广文, 蓝文键, 苏镜娱, 等. 广藿香精油化学成分分析及其抗菌活性(II)[J]. 中草药, 2002, 33(3): 210-212.
- [6] 吴友根, 吴连花, 何际婵. 广藿香遗传基础及生物技术研究进展[J]. 热带生物学报, 2010, 1(3): 288-292.
- [7] Mueller M J, Brodschelm W, Spannagl E, et al. Signaling in the elicitation process is mediated through the octadecanoid pathway leading to jasmonic acid [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90: 7490.
- [8] Tamogami S, Rakwal R, Kodama O. Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves (*Oryza sativa* L.) is under the control of cytokinins and ascorbic acid[J]. FEBS Lett, 1997, 412: 61.
- [9] 吴道铭, 徐锋, 贾志红, 等. 植物激素对烟叶烟碱和 K 含量的影响[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(33): 18790-18791.
- [10] 王春丽, 梁宗锁, 李殿荣, 等. 茉莉酸甲酯和水杨酸对丹参幼苗中蔗糖代谢和酚酸类物质积累的影响[J]. 西北植物学报, 2011, 31(7): 1405-1410.
- [11] 冯乘浩, 吴鸿. 广藿香叶的发育及不同发育期挥发油的分布[J]. 韶关学院学报, 2003, 24(12): 74-78.
- [12] Creelman R A, Mullet J E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants[J]. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1997, 48: 355-381.
- [13] Creelman R A, Tierney M L, Mullet J E. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89: 4938-4941.
- [14] Ellard-Ivey M, Douglas C J. Role of jasmonates in the elicitor- and wound-inducible expression of defense genes in parsley and transgenic tobacco [J]. Plant Physiol, 1996, 112(1): 183-192.
- [15] Choi D, Bostock R M, Avdiushko S, et al. Lipid-derived signals that discriminate wound- and pathogen-responsive isoprenoid pathways in plants: Methyl jasmonate and the fungal elicitor arachidonic acid induce different 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase genes and antimicrobial isoprenoids in *Solanum tuberosum* L. [J]. Proc Natl Acad Sci, 1994, 91(6): 2329-2333.
- [16] 何梦玲, 何芳, 孟京兰, 等. 3 种诱导子对白木香根悬浮培养细胞中 2-(2-苯乙基)色酮化合物形成的影响[J]. 中成药, 2013, 35(7): 1367-1371.

半夏新品系 BY-1 的选育

魏莉霞, 王国祥, 彭云霞, 蔡子平, 王宏霞, 李玉萍

(甘肃省农业科学院 经济作物与啤酒原料研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: BY-1 是以甘肃省半夏主产区西和县的栽培半夏为种质资源, 采用经典的系统选育与现代生物技术相结合的方法, 通过组织培养扩繁成系, 然后进行鉴定比较选择, 历经 7 a 选育而成的形态特征明显、生长整齐健壮、抗病性强、药用成分含量符合《中华人民共和国药典》要求、遗传性状稳定的半夏新品系。

关键词: 半夏; 新品系; 育种; BY-1

中图分类号: R 285 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2014)05-0150-02

半夏(*Pinellia ternata* (Thunb) Breit) 是一种常用中药材, 具有燥湿化痰、降逆止呕、消痞散结之功效, 主治咳嗽、气喘痰多、反胃呕吐等症状^[1]。半夏的人工栽培历史不长, 目前还没有形态特征明显、遗传性状稳定的半夏品种, 生产中长期依赖采挖野生半夏块茎作种用, 致使半夏种茎混杂退化、病害严重、野生资源濒临枯竭^[2], 因此, 半夏优良品种的选育, 成为半夏产业发展亟待解决的问题^[3]。甘肃省农业科学院通过常规筛选法选择出优良的半夏种质资源, 再利用组培快繁技术进行扩繁, 继而选育出形态特征明显、生长整齐健壮、抗病性强、药用成分含量符合《中华人民共和国药典》要求、遗传性状稳定的半夏新品系 BY-1。

传性状稳定的半夏新品系 BY-1。

1 亲本来源及选育过程

BY-1 采用经典的系统选育与现代生物技术相结合的方法, 以原产于甘肃省半夏主产区西和县的栽培半夏为种质资源, 选择符合育种目标的单株, 通过组织培养扩繁成系, 然后进行鉴定比较选择, 历经 7 a 选育而成。2006 年主要进行资源材料收集, 建立快繁体系, 2007 年开始品系筛选, 2008 年进行半夏品系鉴定试验, 2009~2010 年开展半夏品系比较试验, 2011~2012 年在西和县半夏产区进行 BY-1 区域试验, 2012~2013 年进行生产试验示范。

2 BY-1 产量

2.1 品鉴试验

在 2007~2008 年度的品系筛选鉴定试验中, BY-1 表现出性状整齐一致, 生长旺盛, 块茎相对较大, 形成珠芽数

第一作者简介: 魏莉霞(1976-), 女, 本科, 副研究员, 现主要从事中药材栽培及育种等工作。E-mail: 546210983@qq.com。

基金项目: 甘肃省中药材产业科技攻关资助项目(GYC12-07)。

收稿日期: 2013-11-29

Effect of Methyl Jasmonate on the Content of Patchouli Alcohol From the Leaves of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.

HE Meng-ling¹, HE Fang², XIONG Yang¹, MA Jia-yu¹, GONG Wei-jun¹, YAN Han-jing¹

(1. Department of Chinese Traditional Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510240; 2. The Second People Hospital of Haizhu District in Guangzhou, Guangzhou, Guangdong 510240)

Abstract: Taking *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. as material, the cutting plants from *P. cablin* were foliar sprayed with MJ and the content of patchouli alcohol from the leaves of *P. cablin* was determined by GC. The effect of methyl jasmonate (MJ) on the content of patchouli alcohol from the leaves of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth were researched. The results showed there was significant difference in the contents of patchouli alcohol between the control and the cutting plant treated by MJ and the best concentration was 50 mg/L. This study showed the content of patchouli alcohol in the leaves of *P. cablin* could be promoted by MJ, and this method should be considered in cultivated planting of *P. cablin*.

Key words: methyl jasmonate (MJ); foliar spray; *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; patchouli alcohol