

金银花新品系与主栽品种的表皮毛、 叶色素及光合速率的比较分析

李建军¹, 王君¹, 任美玲¹, 尚星晨¹, 刘保彬², 张光田³

(1. 河南师范大学 生命科学学院; 绿色药材生物技术河南省工程实验室, 河南 新乡 453007;
2. 封丘贾庄金银花种植专业合作社, 新乡 封丘 453312; 3. 泰瑞药业有限公司, 山东 平邑 273300)

摘要:对金银花新品系与主栽品种的叶、茎、花蕾表面腺毛、非腺毛的密度、长度进行观察和分析,并测定其叶的叶绿素、花青素含量和光合速率,为良种的鉴别和鉴定提供依据。结果表明,豫金1号的表皮毛长度、密度均高于对照,豫金2号表皮毛除叶下表面非腺毛长度低于对照亚特红蕾1号,其他均高于对照;豫金1号、豫金2号的叶绿素含量和光合速率分别较对照高,说明在一定范围内,叶片的光合速率随叶绿素含量的增加而提高,叶片花青素含量与光合速率的相关系数达到显著水平($P < 0.05$),花青素含量与光合速率之间呈负相关。结论:表皮毛的长度、密度等可作为金银花新品种鉴别指标的依据。

关键词:金银花;新品系;品种;表皮毛;叶色素;光合速率

中图分类号:Q949.9

文献标志码:A

金银花为忍冬科植物忍冬(*Lonicera japonica* Thunb)的干燥花蕾或带初开的花,具有清热解毒、凉散风热的功效^[1]。除黑龙江、内蒙古、宁夏、青海、新疆、海南和西藏无自然生长外,忍冬在我国大部分地区均有分布,河南、山东、河北等地为金银花的道地产区,河南道地产区包括封丘和密县^[2-3]。金银花表皮毛分为非腺毛和腺毛,李炳生^[4]通过对非腺毛研究比较,认为非腺毛对快速、简便、准确地鉴定原植物品种和中药材品种有着重要的鉴定意义。腺毛分泌的亲脂性物质具有广泛用途^[5-6],对金银花腺毛的研究不仅能品种鉴别,对于其分泌物质的作用研究也具有重要意义^[7]。金银花叶绿素、花青素含量和光合速率是鉴别新品种的依据。

河南道地绿色生产技术团队经过前期试验结果表明,豫金1号、豫金2号的产量和指标成分较高,属优良品系。本文以豫金1号、豫金2号与主栽品种为材料,对叶、茎花蕾表皮毛的密度和长度进行了观察统计分析,并对叶的叶绿素、花青素含量和光合速率进行了测定分析,为金银花新品种选育提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

豫金1号与对照封丘大毛花的新鲜枝条于2015年5月采自河南省封丘县贾庄金银花专业合作社,豫金2号与对照亚特红蕾1号的新鲜枝条于2015年5月采自河南省封丘县应举镇科技局中药材金银花种质资源圃中,药材样品由河南师范大学李发启副教授鉴定为*L. japonica*。

1.2 仪 器 与 试 剂

1.2.1 仪器 UV-1800 紫外-可见分光光度计(北京锐利分析仪器有限公司)、OLYMPUS SZ61 数码体式显微镜、OLYMPUS BX51 研究显微镜、FA2204B 型电子天平、LI-6400 便携式光合仪。

收稿日期:2015-07-23;修回日期:2015-12-17.

基金项目:中医药公共卫生专项(财社[2011]76号);中医药行业科研专项(201207002);河南省重点科技攻关项目(152102210288)。

第1作者简介(通信作者):李建军(1964-),男,河南新乡人,河南师范大学副教授,主要从事药用植物资源及育种研究,
E-mail:043081@htu.cn.

1.2.2 试剂 丙酮、无水乙醇、 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl.

1.3 表皮毛的测定

1.3.1 显微装片的制备 分别选取豫金1号、封丘大毛花、豫金2号、亚特红蕾1号的成熟叶片、茎和花蕾,撕去表面,分别放入载玻片,在载玻片上滴水,制成水装片.

1.3.2 观察及拍照 在装有测微尺的显微镜下观察装片,每张装片观察4个视野,计数 1 mm^2 面积内或视野中腺毛和非腺毛的根数,计算不同叶、茎、花蕾腺毛和非腺毛的平均密度,测量腺毛和非腺毛的长度.并对金银花叶、茎、花蕾水装片进行观察并拍照.

1.4 叶绿素含量的测定

分别取各种样品4片新鲜叶片,洗净,擦干,去掉其主脉,用 0.2 cm^2 的圆形取样器将叶片打成小圆片,混合均匀.准确称取 0.2 g ,放入 25 mL 棕色容量瓶中,加入 25 mL 丙酮-乙醇混合提取液(丙酮与无水乙醇的体积比为 $1:1$).每个品种(系)重复4次.把叶绿素提取物摇匀后倒入比色杯中,分别以提取试剂为对照,测定叶绿素提取液在 645 nm 和 663 nm 波长下的吸光值,利用Arnon公式[叶绿素a质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_a = 12.7 A_{663} - 2.69 A_{645}$;叶绿素b质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_b = 22.9 A_{645} - 4.68 A_{663}$;叶绿素总质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$): $C_{a+b} = C_a + C_b$]计算叶绿素的浓度,并换算成每克鲜重的叶绿素含量(mg/g 鲜重)^[8].

1.5 花青素含量的测定

称取材料 1 g ,用 0.3 cm^2 的圆形取样器将叶片打成小圆片,置于烧杯中,加入 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的HCl 10 mL 于烧杯中,杯口用称量纸盖紧,置于 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温箱中,浸泡 4 h 以上,用定性滤纸过滤,滤液即为花青素提取液.分别以提取试剂为对照,取花青素提取液用分光光度计在波长 530 nm 处读取吸光度值.当吸光度值为 0.1 时的花青素浓度称为1个单位,以比较花青素的相对含量^[9].

1.6 光合速率的测定

采用LI-6400便携式光合仪测定三青期新鲜位叶的光合速率.

1.7 数据处理

采用Excel和SPSS对试验数据进行计算和分析,以平均值±标准差来表示结果.

2 结果与分析

2.1 表皮毛测定结果

金银花新品系与主栽品种表皮毛的长度和密度见表1,表2和图1.

表1 金银花新品系与主栽品种表皮毛长度、密度

品种(系)	花蕾腺毛密度/ (mm^{-2})	花蕾腺毛长度/mm	茎腺毛密度/(根/视野)	茎腺毛长度/mm
豫金1号	$19.6 \pm 0.980^{\text{aA}}$	$0.34 \pm 0.011^{\text{aA}}$	$7.2 \pm 0.212^{\text{aA}}$	$0.23 \pm 0.011^{\text{aA}}$
封丘大毛花	$13.6 \pm 0.812^{\text{bB}}$	$0.19 \pm 0.009^{\text{bB}}$	$5.4 \pm 0.179^{\text{bB}}$	$0.19 \pm 0.012^{\text{bB}}$
豫金2号	$7.52 \pm 0.707^{\text{cC}}$	$0.137 \pm 0.007^{\text{cC}}$	—	—
亚特红蕾1号	$3.11 \pm 0.747^{\text{dD}}$	$0.12 \pm 0.010^{\text{cC}}$	—	—

注:同一列大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平,下同.

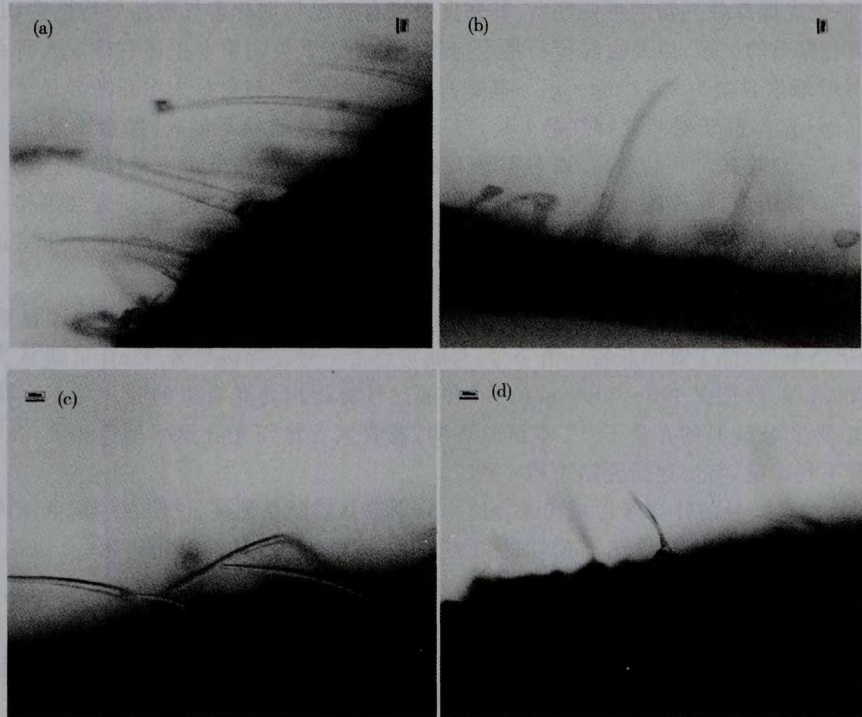
表2 金银花新品系与主栽品种非腺毛密度、长度

品种(系)	叶上表面非腺毛		叶下表面非腺毛		茎非腺毛	
	密度/(根/视野)	长度/mm	密度/(根/视野)	长度/mm	度/(根/视野)	度/mm
豫金1号	—	—	$31.66 \pm 0.640^{\text{aA}}$	$0.39 \pm 0.014^{\text{aA}}$	$39.14 \pm 1.100^{\text{aA}}$	$0.874 \pm 0.027^{\text{aA}}$
封丘大毛花	—	—	$22.53 \pm 0.490^{\text{bB}}$	$0.24 \pm 0.028^{\text{bB}}$	$35.09 \pm 1.400^{\text{aA}}$	$0.63 \pm 0.013^{\text{bB}}$
豫金2号	—	—	$5.63 \pm 0.707^{\text{cC}}$	$0.18 \pm 0.009^{\text{bB}}$	$36.19 \pm 1.500^{\text{aA}}$	$0.19 \pm 0.018^{\text{cC}}$
亚特红蕾1号	—	—	$3.42 \pm 0.447^{\text{cC}}$	$0.21 \pm 0.014^{\text{bB}}$	$33.12 \pm 1.600^{\text{aA}}$	$0.13 \pm 0.011^{\text{cC}}$

由表1,表2可知,花蕾腺毛的密度在 $3.11 \sim 19.6 \text{ mm}^{-2}$,豫金1号为 19.6 mm^{-2} ,较封丘大毛花差异极显著,花蕾腺毛的长度在 $0.12 \sim 0.34 \text{ mm}$,豫金1号最大,为 0.34 mm ,与封丘大毛花差异极显著;叶的非腺毛密度在 $3.42 \sim 31.66$ 根/视野,豫金1号为 31.66 根/视野,与对照封丘大毛花差异极显著,非腺毛长度在 $0.18 \sim 0.39 \text{ mm}$,豫金1号为 0.39 mm ,与封丘大毛花差异极显著;豫金1号茎腺毛密度为 7.2 根/视野,长

度为 0.23 mm,均高于封丘大毛花;茎非腺毛密度在 $33.12\sim 39.14\text{ mm}^{-2}$,豫金 1 号为 39.14 根/视野,与封丘大毛花差异不显著,茎非腺毛长度在 0.13~0.874 mm,豫金 1 号为 0.874 mm,与封丘大毛花差异极显著。

豫金 2 号花蕾腺毛密度为 7.52 mm^{-2} ,与亚特红蕾 1 号差异极显著,花蕾腺毛长度为 0.137 mm,与亚特红蕾 1 号差异极显著;豫金 2 号叶非腺毛密度为 5.63 根/视野,与对照亚特红蕾 1 号差异不显著,非腺毛长度为 0.18 mm,与亚特红蕾 1 号差异不显著;豫金 2 号茎非腺毛密度为 36.19 根/视野,与亚特红蕾 1 号差异不显著,茎非腺毛长度为 0.19 mm,与亚特红蕾 1 号差异显著。



(a)豫金1号花蕾腺毛($\times 40$);(b)封丘大毛花花蕾腺毛($\times 40$);
(c)豫金2号花蕾非腺毛($\times 40$);(d)亚特红蕾1号花蕾非腺毛($\times 40$)

图1 金银花花蕾表皮毛显微结构

2.2 叶绿素、花青素含量和光合速率测定结果

金银花新品系与主栽品种叶绿素、花青素含量及光合速率结果见下表。

表3 金银花新品系与主栽品种叶绿素、花青素含量及光合速率

品种(系)	叶绿素含量($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 鲜重)	花青素含量	光合速率/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$
豫金 1 号	$2.71 \pm 0.13^{\text{bb}}$	$0.16 \pm 0.04^{\text{cC}}$	$8.02 \pm 0.14^{\text{aA}}$
封丘大毛花	$2.45 \pm 0.07^{\text{cB}}$	$0.18 \pm 0.03^{\text{cC}}$	$6.72 \pm 0.19^{\text{bb}}$
豫金 2 号	$3.64 \pm 0.00^{\text{aA}}$	$0.69 \pm 0.03^{\text{bb}}$	$4.4 \pm 0.22^{\text{cC}}$
亚特红蕾 1 号	$3.62 \pm 0.08^{\text{aA}}$	$0.92 \pm 0.02^{\text{aA}}$	$4.08 \pm 0.12^{\text{dc}}$

注:同一列大小写字母分别表示差异达 0.01 和 0.05 显著水平。

由表 3 可知,豫金 1 号叶绿素含量为 $2.71\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,高于对照封丘大毛花,豫金 1 号花青素含量为 0.16 个单位,低于对照封丘大毛花。

豫金 2 号叶绿素含量为 $3.64\text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,高于对照亚特红蕾 1 号,豫金 1 号花青素含量为 0.67 个单位,低于对照亚特红蕾 1 号。

豫金 1 号光合速率为 $8.02\text{ umol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,高于对照封丘大毛花,豫金 2 号光合速率为 $4.4\text{ umol} \cdot$

$\text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 高于对照亚特红蕾1号。

3 总结与讨论

1) 金银花不同种质的形态差异较大, 究其原因是由于忍冬的品种、生长环境、栽培措施等综合因素造成的^[10-13]。河南道地产区封丘县特有的自然地理条件与生态环境非常适宜金银花的生长^[14]。

2) 豫金1号的表皮毛长度、密度均高于对照, 豫金2号表皮毛除叶下表面非腺毛长度低于对照亚特红蕾1号, 其他均高于对照; 豫金1号、豫金2号腺毛分布分别较对照密且长, 说明其抗虫害能力较强。据文献报道, 烟叶腺毛是合成烟草香气物的主要场所, 其密度及发育状况与烟叶香气等品质特性密切相关^[15-16]。金银花芳香类物质与腺毛的关系, 以及虫媒传粉是否与其分泌的芳香类物质有关还有待深入研究。

3) 豫金1号叶绿素含量为 $2.71 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 高于对照封丘大毛花, 与封丘大毛花差异显著, 豫金2号叶绿素含量为 $3.64 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 高于对照亚特红蕾1号, 与亚特红蕾1号差异不显著。豫金1号、豫金2号的叶绿素含量和光合速率分别较其对照品种高。魏书奎等认为, 叶绿素含量的高低可直接反映光合作用的强弱^[17]。本试验表明, 在一定范围内, 叶片的光合速率随叶绿素含量的增加而提高, 与上述研究结果相一致。本课题组通过对其产量测定, 结果表明豫金1号、豫金2号均较对照产量高, 说明叶绿素含量与产量呈正比, 对其产量有直接的影响。

4) 豫金1号花青素含量为 0.16 个单位, 低于对照封丘大毛花, 与封丘大毛花差异不显著; 豫金2号花青素含量为 0.67 个单位, 低于对照亚特红蕾1号, 与亚特红蕾1号差异极显著。Pietrini 等认为, 玉米叶片中的花青素能吸收大量的波长在 $400 \sim 700 \text{ nm}$ 的光, 并通过计算得出含花青素的叶片与不含花青素的相比, 同化等量的 CO_2 要多需 60% 的光量子^[18]。本试验表明, 花青素含量与光合速率呈负相关, 花青素的大量存在对光合作用有不利影响, 与上述研究结果相一致。

5) 豫金1号、豫金2号的叶绿素含量和光合速率分别较其对照品种高, 说明在一定范围内, 叶片的光合速率随叶绿素含量的增加而提高, 二者有密切的相关关系。通过 SPSS 计算分析得出, 金银花新品系与主栽品种花青素含量与光合速率的相关系数为 -0.95 , 达到显著水平 ($P < 0.05$), 花青素含量与光合速率之间呈负相关, 说明花青素的大量存在对光合作用有不利影响。

综上所述, 表皮毛的长度、密度可作为金银花新品种鉴别指标, 叶绿素、花青素及光合速率可作为品种选育的生化生理指标, 为优良品种的选育和鉴定提供依据。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 205-206.
- [2] 中国科学院中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1988: 236.
- [3] 李建军, 贾国伦, 李军芳, 等. 豫道地金银花化学指纹图谱研究[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2013, 41(1): 130-133.
- [4] 李炳生. 利用非腺毛鉴定中药品种[C]//全国中药研究与开发学术研讨会论文摘要集, 2001.
- [5] 吴姝菊, 于丽杰, 艾燕. 唇形科植物腺毛发育及腺毛分泌功能的研究进展[J]. 北方园艺, 2010(10): 194-196.
- [6] 胡正海. 植物分泌结构解剖学[M]. 上海: 科学技术出版社, 2012: 58.
- [7] 李建军, 李军芳, 贾国伦, 等. 金银花不同种质叶形态特征比较[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2012, 40(3): 119-123.
- [8] 曾建敏, 姚恒, 李天福, 等. 烤烟叶片叶绿素含量的测定及其与 SPAD 值的关系[J]. 广西师范大学学报: 自然科学版, 2009, 7(1): 56-62.
- [9] 刘萍, 李明军. 植物生理学实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 39-88.
- [10] 邢俊波, 李萍, 温德良, 等. 不同物候期金银花中总绿原酸的积累动态研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(7): 457-459.
- [11] 彭菊艳, 刘燕. 不同干燥技术对金银花药用品质的影响[J]. 西北植物学报, 2006, 26(10): 2044-2050.
- [12] 李强, 任茜, 张永良. 生境、采收期、贮藏时间等因素对秦岭金银花绿原酸含量的影响[J]. 中国中药杂志, 1994, 19(10): 594-595.
- [13] 兰华, 申鸿, 高丹, 等. 金银花不同贮藏时期有效成分与抗氧化力的研究[J]. 中国食品学报, 2008, 6: 44-46.
- [14] 姬万里. 药铺小神仙—封丘金银花[N]. 经济视点报, 2013-06-27(6).
- [15] 刘燕, 孙焕良, 李辉, 等. 烟草腺毛密度和分泌物与烟草品质的关系[J]. 作物研究, 2012, 26(6): 737-739.
- [16] 史宏志. 烟草香味学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [17] 魏书奎, 于继洲, 宣有林, 等. 核桃叶片的叶绿素含量与光合速率关系的研究[J]. 北京农业科学, 1994, 12(5): 31-33.
- [18] Fabrizio Pietrini, Angelo Massacci. Leaf anthocyanin content changes in L. Grown at low temperature: Significance for the relationship

between the quantum yield of PS II and the apparent quantum yield of CO₂ assimilation[J]. Photosynth Res, 1998, 58: 213-219.

Comparison of Epidermal Hair, Chromophyll and Photosynthetic Rate of *Lonicera Japonica* New Strain and Major Cultivars

LI Jianjun¹, WANG Jun¹, REN Meiling¹, SHANG Xingchen¹, LIU Baobin², ZHANG Guangtian³

(1. Henan Normal University College of Life Sciences, Engineering Laboratory of Biotechnologies for Green Medicinal Plants, Henan Province, Xinxiang 453007, China; 2. Jiazhuang Honeysuckle Planting Professional Cooperatives in Fengqiu Country, Fengqiu 453311, China; 3. Tai Rui Pharmaceutical co., LTD., Pingyi 273300, China)

Abstract: By observing and comparing the density length of glandular hairs non-glandular hairs on *Lonicera Japonica* new strain and major cultivars' leaves stem and bud surface, and measure their leaves' chlorophyll anthocyanin content and photosynthetic rate, which can provide support for improved varieties identification. The results show that, the density length of epidermal hair are higher than its check variety on Yujin No. 1. The density length of epidermal hair were higher than its check variety except the length of non-glandular hairs under the leaf surface on Yujin No. 2. The chlorophyll and photosynthetic rate of Yujin No. 1 Yujin No. 2 are respectively higher than their own check variety, it was showed that leaves' photosynthetic rate increased with chlorophyll content within limits. The correlation coefficients of leaves' anthocyanin content has significant difference with photosynthetic rate, there exists negative correlation between them. Conclusion: The length density of epidermal hair can provide the basis for *Lonicera Japonica* identifying index.

Keywords: *Lonicera japonica*; new strain; cultivar; epidermal hair; chlorophyll; photosynthetic rate