1

分类号：R917 密 级：公 开

学 号：111035 学位类型：学术学位



**硕** 士 学 位 论 文



**环境胁迫对红腺忍冬品质的影响及其**

**繁殖的研究**

|  |  |
| --- | --- |
| **研 究 生 ：** | 孙雪林 |
| **导** 师 **：** | 辛 宁 教授 |
| **所 属 学 院 ：** | 药学院 |
| **专** 业 **：** | 药物分析 |
| **研 究 方 向 ：** | 中药商品质量与标准研究 |
| **完 成 日 期 ：** | 2014 年 05 月 30 日 |

**广西﹒南宁**

**基金项目**：广西自然科学基金项目，岩石ft区地质背景环境胁迫与中国地理标志产品忻城金银花品质相关性研究，桂科基 0991012；广西科学研究与技术开发计划项目， 地理标志产品红腺忍冬优良品种选育及繁育关键技术研究，桂科重 1298001-1-7。

**原 创 性 声 明**

本人郑重声明：本人所呈交的学位论文，是在导师的指导下独立进行研究所取得的成果。学位论文中凡引用他人已经发表或未发表的成果、数据、观点等，均已明确注明出处。除文中已经注明引用的内容外，不包含任何其他个人或集体已经发表或撰写过的科研成果。对本文的研究成果做出重要贡献的个人和集体，均已在文中以明确方式标明。

本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名： 日 期：

**关于学位论文使用授权的声明**

本人完全了解广西中医药大学有关保留使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权广西中医药大学可以将学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。

（保密论文在解密后遵守此规定）

论文作者签名： 导师签名：

日 期： 日 期：

**环境胁迫对红腺忍冬品质的影响及其繁殖的研究中 文 摘 要**

**目的**：通过研究红腺忍冬种苗水分和光照对其有效成分及生长状况的影响，初步推断红腺忍冬的抗逆性；通过对红腺忍冬种子萌发特性和嫁接繁殖的研究，筛选出红腺忍冬种苗繁殖的最优组合，改良红腺忍冬品系、提高其繁殖率，为红腺忍冬育种、育苗、和种植提供理论依据， 以期全方位、多层次的合理开发利用这一丰富的资源。

**方法**：1 以土壤含水量 30%±5%为对照，按 20%±5%，15%±5% 和 5%±5%三组实验组进行水分胁迫处理；以全光照为对照，按 50%遮荫，75%遮荫和 90%遮荫三种方式进行处理。2 采用高效液相色谱法测定抗逆性试验后红腺忍冬花、叶、茎中绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量； 3 采用培养皿法、育苗杯法对红腺忍冬种子进行发芽实验；以毛花柱忍冬为砧木，红腺忍冬为接穗，进行红腺忍冬嫁接繁殖实验。将所得数据用 DPS7.05 统计分析软件进行相关性分析。

**结果**：红腺忍冬在水分胁迫下，花、茎、叶的绿原酸含量均先升高后降低，与对照组均达到显著差异水平（*P*＜0.05）。在土壤含水量为 14.55%时，绿原酸含量达最高，花 7.28%、叶 9.13%、茎 1.51%，花中灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量先升高后降低，与对照组均达到显著差异水平（*P*＜0.05），在土壤含水量为 14.55%时，灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量达最大，分别为 4.50％和 6.30%，故由此推断适度的水分胁迫有利于有效成分的合成累积；在光照胁迫下花、茎、叶的绿原酸含量及花中灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量均降低，与对照组均达到显著差异水平（*P*＜0.05），故由此推断充足的光照有利于绿原酸的合成与积累；红腺忍冬种子带果皮储存的千粒重、含水量、可溶性糖含量、粗脂肪含量均大于不带果皮存储的，蛋白质含量小于不带果

皮储存的种子；红腺忍冬种子萌发，最佳的消毒方法为0.5%多菌灵，发芽率达33.33%；光照时间和不同储存方式对种子的萌发没有显著影响；最佳培养基质为红泥土，发芽势达38.33%和发芽率达45.00%；最优盐处理浓度为15%浸泡12h，发芽势和发芽率分别达28.33%和40.56%；单一激素处理较优的为200mg/L 赤霉素浸泡12h，发芽势和发芽率分别达

28.89 %和46.67%；机械破除种皮后较优激素处理为200mg/L赤霉素浸泡

12h, 发芽势和发芽率分别达32.22%和48.89%。红腺忍冬嫁接繁殖，最佳的处理激素为萘乙酸NAA或吲哚乙酸IAA，成活率均达20%，愈伤组织形成率达65%以上；最佳NAA处理浓度为60mg/L，成活率达到25%，愈伤组织形成率达85%。

**结论**：适宜的水分胁迫有利于红腺忍冬等有效成分的合成与积累；充足的光照有利于绿原酸等有效成分的积累；选择适宜的消毒方式，适宜的基质，以及适宜的激素处理，可以提高红腺忍冬种子萌发率；选择适宜的嫁接方法，适宜的接穗，以及适宜的生长激素处理，可以提高红腺忍冬嫁接的成活率。

**关键词**：红腺忍冬；抗逆性；种子繁殖；嫁接繁殖

**Study on Environment Duress changes on quality and breeding research of *Lonicera hypoglauca* Miq.**

**Abstract**

**Objective:** By studying the effects of soil moisture and light stress to changingctiveingredient and growth status of *Lonicera hypoglauca* Miq. Preliminary to inferring resistance of *Lonicera hypoglauca* Miq.

Through the study of seed germination characteristics of *Lonicera hypoglauca* Miq. breeding and grafting, filter out the optimal combination of *Lonicera hypoglauca* Miq. seed breeding, improved

Strains of *Lonicera hypoglauca* Miq. increase it reproductive rate, providing a theoretical basis for the *Lonicera hypoglauca* Miq. breeding, nursery, and planting, with a comprehensive, rational development of multi-level use of this rich resources.

**Methods:** 1 Soil moisture content of 30% to±5% of co ntrol, 20%± 5%, 15%±5% and 5%±5% of the three experimental groups carried water stress; in full sunlight as control, 50% shade, 75% shade and 90% shade handled in three ways. 2 Experimental determination of the resistance of *Lonicera hypoglauca* Miq. using high performance liquid chromatography flowers, leaves and stems of chlorogenic acid content. 2 Using petri dishes, nursery cup *Lonicera hypoglauca* Miq. seed germination experiment; To adopt *Lonicera dasystyla* Rehd. as rootstock, scion with *Lonicera*

*Hypoglauca* Miq. is carried Lonicera hypoglauca Miq. grafting experiments. Results: After the Lonicera hypoglauca Miq. under drought stress, chlorogenic acid of flowers, leaves and stems were first increased and then

Decreased, and the control group were highly significant differences in the level (*P*<0.05), In soil moisture 14.55%, the maximum content of chlorogenic

Acid, flower 7.28%, 9.13% leaves, stems 1.51%, In flowers macranthoides saponin B and B asperosaponin content first and then decreased, and the control group were significant differences in the level (*P*<0.05), the soil moisture was 14.55%, the macranthoides saponin B and B teasel saponin content up to the maximum, respectively 4.50% and 6.30%. Therefore, concluding that moderate drought stress in favor of chlorogenic acid synthesis and accumulation. In light under duress flowers, stems, leaves chlorogenic acid content and in flowers Macranthoides saponin B and B asperosaponin levels were reduced, and the control group were significant differences in the level (*P*<0.05), Therefore, concluding that adequate lighting is conducive to chlorogenic acid synthesis and accumulation; Peel with red gland Lonicera seeds stored grain weight, moisture content, soluble sugar content, fat content greater than the stored without peel, seed protein content is less than the stored without peel; *Lonicera hypoglauca* Miq. seed germination, the best method of disinfection is 0.5% carbendazim, germination rate of 33.33%; illumination time and different storage methods had no significant effect on seed germination; Optimal culture medium red soil, germination potential reached 38.33% and germination rate reached 45.00%; Optimal salt concentration was 15% soaking 12h, germination potential and germination rate respective of 28.33% and 40.56%; Single optimum hormone treatment to 200mg/L GA soaking 12h, germination potential and germination rate respective of 28.89% and 46.67%; Optimum after mechanical break the seed coat hormone treatment was 200mg /L gibberellin soaking 12h, germination potential and germination rate respective of 32.22 % and 48.89%. *Lonicera hypoglauca* Miq. grafting, the best treatment is NAA or IAA, the survival rate reached 20%, callus formation was 65% or more; Best NAA concentration of 60mg/L, the survival rate of 25%, callus formation rate of 85%.

**Conclusions:** When the soil moisture content is 14.55%, the highest *Lonicera hypoglauca* Miq. chlorogenic acid content, indicating that appropriate drought stress in favor of the synthesis and accumulation of red gland Lonicera; Under light stress, *Lonicera hypoglauca* Miq. chlorogenic acid content changes, indicating that adequate lighting is conducive to the accumulation of chlorogenic acid; Select the appropriate disinfection methods, suitable substrates, as well as the appropriate hormone treatment can improve

The germination rate of *Lonicera hypoglauca* Miq.; Select the appropriate

Grafting methods suitable scion and appropriate hormone treatment can improve the survival rate of grafting *Lonicera hypoglauca* Miq.

**Key words:** *Lonicera hypoglauca* Miq.; Stress resistance; Seed propagation; Grafting propagation

目 录

**[Abstract](#_Toc686780506)** 3

[引言](#_Toc686780507) 4

[正文](#_Toc686780508) 5

[第一部分 土壤含水量、光照变化对红腺忍冬品质的影响](#_Toc686780509) 5

**[1](#_Toc686780510)** [水分胁迫实验](#_Toc686780510) 5

**[1.1](#_Toc686780511)** [实验材料](#_Toc686780511) 5

**[1.2](#_Toc686780512)** [实验仪器](#_Toc686780512) 5

**[1.3](#_Toc686780513)** [实验方法](#_Toc686780513) 5

**[1.4](#_Toc686780514)** [调查内容](#_Toc686780514) 6

**[1.5](#_Toc686780515)** [采收样品](#_Toc686780515) 6

**[1.6](#_Toc686780516)** [花长，千蕾重，首日花重和总重测定](#_Toc686780516) 6

**[1.6.1](#_Toc686780517)** [花长测定](#_Toc686780517) 6

**[1.6.2](#_Toc686780518)** [千雷重的测定](#_Toc686780518) 6

**[1.6.3](#_Toc686780519)** [首日花重和总重的测定](#_Toc686780519) 6

**[1.7](#_Toc686780520)** [绿原酸的含量测定](#_Toc686780520) 6

**[1.7.1](#_Toc686780521)** [实验仪器](#_Toc686780521) 6

**[1.7.2](#_Toc686780522)** [实验试剂和药品](#_Toc686780522) 6

**[1.7.3](#_Toc686780523)** [色谱条件](#_Toc686780523) 6

**[1.7.4](#_Toc686780524)** [对照品制备](#_Toc686780524) 6

**[1.7.5](#_Toc686780525)** [供试品溶液的配制](#_Toc686780525) 6

**[1.7.6](#_Toc686780526)** [标准曲线制备](#_Toc686780526) 6

**[1.7.7](#_Toc686780527)** [精密度考察](#_Toc686780527) 8

**[1.7.8](#_Toc686780528)** [重复性考察](#_Toc686780528) 8

**[1.7.9](#_Toc686780529)** [稳定性考察](#_Toc686780529) 10

**[1.7.10](#_Toc686780530)** [回收率考察](#_Toc686780530) 10

**[1.7.11](#_Toc686780531)** [样品的测定](#_Toc686780531) 12

**[1.7.12](#_Toc686780532)** [结果与分析](#_Toc686780532) 14

**[1.8](#_Toc686780533)** [灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量测定](#_Toc686780533) 21

**[1.8.1](#_Toc686780534)** [实验仪器](#_Toc686780534) 21

**[1.8.2](#_Toc686780535)** [实验试剂和药品](#_Toc686780535) 21

**[1.8.3](#_Toc686780536)** [色谱条件](#_Toc686780536) 21

**[1.8.4](#_Toc686780537)** [对照品制备](#_Toc686780537) 21

**[1.8.5](#_Toc686780538)** [供试品溶液的配制](#_Toc686780538) 22

**[1.8.6](#_Toc686780539)** [标准曲线制备](#_Toc686780539) 22

**[1.8.7](#_Toc686780540)** [精密度考察](#_Toc686780540) 22

**[1.8.8](#_Toc686780541)** [重复性考察](#_Toc686780541) 23

**[1.8.9](#_Toc686780542)** [稳定性考察](#_Toc686780542) 25

**[1.8.10](#_Toc686780543)** [回收率考察](#_Toc686780543) 25

**[1.8.11](#_Toc686780544)** [样品的测定](#_Toc686780544) 29

**[1.8.12](#_Toc686780545)** [结果与分析](#_Toc686780545) 30

**[1.9](#_Toc686780546)** [讨论与小结](#_Toc686780546) 31

**[2](#_Toc686780547)** [光照实验](#_Toc686780547) 31

**[2.1](#_Toc686780548)** [实验材料](#_Toc686780548) 32

**[2.2](#_Toc686780549)** [实验仪器](#_Toc686780549) 32

**[2.3](#_Toc686780550)** [实验处理](#_Toc686780550) 32

**[2.4](#_Toc686780551)** [调查内容](#_Toc686780551) 32

**[2.5](#_Toc686780552)** [采收样品](#_Toc686780552) 32

**[2.6](#_Toc686780553)** [花长，千蕾重，首日花重和总重测定](#_Toc686780553) 32

**[2.6.1](#_Toc686780554)** [花长测定](#_Toc686780554) 32

**[2.6.2](#_Toc686780555)** [千雷重的测定](#_Toc686780555) 32

**[2.6.3](#_Toc686780556)** [首日花重和总重的测定](#_Toc686780556) 32

[2.7 绿原酸的含量测定同1.7 项](#_Toc686780557) 33

**[2.7.1](#_Toc686780558)** [结果与分析](#_Toc686780558) 33

[2.8 灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量测定同1.8项测定](#_Toc686780559) 40

**[2.8.1](#_Toc686780560)** [结果与分析](#_Toc686780560) 40

**[2.9](#_Toc686780561)** [讨论与小结](#_Toc686780561) 43

[第二部分 红腺忍冬繁殖研究](#_Toc686780562) 43

**[1](#_Toc686780563)** [红腺忍冬种子形态、生物学和生理指标的研究](#_Toc686780563) 43

**[1.1](#_Toc686780564)** [红腺忍冬种子的形态学与生物学特性的测定](#_Toc686780564) 43

**[1.1.1](#_Toc686780565)** [实验仪器](#_Toc686780565) 43

**[1.1.2](#_Toc686780566)** [实验材料](#_Toc686780566) 43

**[1.1.3](#_Toc686780567)** [实验方法](#_Toc686780567) 43

**[1.1.4](#_Toc686780568)** [结果分析](#_Toc686780568) 43

**[1.2](#_Toc686780569)** [红腺忍冬种子蛋白质的含量测定——采用考马斯亮蓝法](#_Toc686780569)**[[23]](#_Toc686780569)** 44

**[1.2.1](#_Toc686780570)** [实验仪器](#_Toc686780570) 44

**[1.2.2](#_Toc686780571)** [实验试剂和药品](#_Toc686780571) 44

**[1.2.3](#_Toc686780572)** [实验材料](#_Toc686780572) 44

**[1.2.4](#_Toc686780573)** [蛋白质含量提取](#_Toc686780573) 44

**[1.2.5](#_Toc686780574)** [显色方法](#_Toc686780574) 45

**[1.2.6](#_Toc686780575)** [牛血清蛋白标准曲线的制作](#_Toc686780575) 45

**[1.2.7](#_Toc686780576)** [样品测定](#_Toc686780576) 46

**[1.2.8](#_Toc686780577)** [结果分析](#_Toc686780577) 46

**[1.3](#_Toc686780578)** [红腺忍冬种子可溶性糖含量测定——采用蒽酮比色法](#_Toc686780578)**[[23]](#_Toc686780578)** 47

**[1.3.1](#_Toc686780579)** [实验仪器](#_Toc686780579) 47

**[1.3.2](#_Toc686780580)** [实验试剂与药品](#_Toc686780580) 47

**[1.3.3](#_Toc686780581)** [实验材料](#_Toc686780581) 47

**[1.3.4](#_Toc686780582)** [蔗糖标准曲线的制作](#_Toc686780582) 47

**[1.3.5](#_Toc686780583)** [可溶性糖测定](#_Toc686780583) 49

**[2.3.1](#_Toc686780584)** [显色测定](#_Toc686780584) 49

[1.6mL，然后按顺序向试管中加入5mL蒽酮-浓硫酸试剂，充分振荡，立即将试管放入沸水浴中准确保温1min，取出后自然冷却至室温，在620nm波长下测其吸光度，计算可溶性糖的含量。](#_Toc686780585) 49

**[1.3.7](#_Toc686780586)** [结果分析](#_Toc686780586) 49

**[1.4](#_Toc686780587)** [红腺忍冬种子粗脂肪含量测定](#_Toc686780587) 49

**[1.4.1](#_Toc686780588)** [实验仪器](#_Toc686780588) 49

**[1.4.2](#_Toc686780589)** [实验试剂](#_Toc686780589) 50

**[1.4.3](#_Toc686780590)** [实验材料](#_Toc686780590) 50

**[1.4.4](#_Toc686780591)** [粗脂肪的提取](#_Toc686780591) 50

**[1.4.5](#_Toc686780592)** [粗脂肪的测定](#_Toc686780592) 50

**[1.4.6](#_Toc686780593)** [结果分析](#_Toc686780593) 50

**[2](#_Toc686780594)** [红腺忍冬种子萌发特性的研究](#_Toc686780594) 50

**[2.1](#_Toc686780595)** [实验仪器](#_Toc686780595) 50

**[2.2](#_Toc686780596)** [实验材料](#_Toc686780596) 50

**[2.3](#_Toc686780597)** [种子前处理和器皿消毒](#_Toc686780597) 50

**[2.4](#_Toc686780598)** [实验设计](#_Toc686780598) 50

**[2.4.1](#_Toc686780599)** [不同消毒方式对种子萌发的影响试验](#_Toc686780599) 50

**[2.4.2](#_Toc686780600)** [不同光照时间对红腺忍冬种子们萌发的影响试验](#_Toc686780600) 50

**[2.4.3](#_Toc686780601)** [不同储存方式对红腺忍冬种子萌发的影响试验](#_Toc686780601) 51

**[2.4.4](#_Toc686780602)** [不同基质对红腺忍冬种子们萌发的影响试验](#_Toc686780602) 51

**[2.4.5](#_Toc686780603)** [不同浓度](#_Toc686780603)**[NaCl](#_Toc686780603)**[溶液浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验](#_Toc686780603) 51

**[2.4.6](#_Toc686780604)** [不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验](#_Toc686780604) 51

**[2.4.7](#_Toc686780605)** [机械破除加不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验](#_Toc686780605) 51

**[2.5](#_Toc686780606)** [结果分析](#_Toc686780606) 51

**[2.5.1](#_Toc686780607)** [不同消毒方式对种子萌发的影响](#_Toc686780607) 51

**[2.5.2](#_Toc686780608)** [不同光照时间对红腺忍冬种子们萌发的影响](#_Toc686780608) 52

**[2.5.3](#_Toc686780609)** [不同储存方式对红腺忍冬种子萌发的影响](#_Toc686780609) 53

**[2.5.4](#_Toc686780610)** [不同基质对红腺忍冬种子萌发的影响](#_Toc686780610) 53

**[2.5.5](#_Toc686780611)** [不同浓度](#_Toc686780611)**[NaCl](#_Toc686780611)**[溶液浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响](#_Toc686780611) 57

**[2.5.6](#_Toc686780612)** [不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响](#_Toc686780612) 58

**[2.5.7](#_Toc686780613)** [机械破除后不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响](#_Toc686780613) 59

**[2.6](#_Toc686780614)** [讨论与小结](#_Toc686780614) 59

**[2.6.1](#_Toc686780615)** [种子萌发特性的讨论](#_Toc686780615) 59

**[2.6.2](#_Toc686780616)** [种子萌发特性的小结](#_Toc686780616) 59

**[3](#_Toc686780617)** [红腺忍冬嫁接繁殖研究](#_Toc686780617) 60

**[3.1](#_Toc686780618)** [实验仪器](#_Toc686780618) 60

**[3.2](#_Toc686780619)** [试剂和药品](#_Toc686780619) 60

**[3.3](#_Toc686780620)** [材料来源和嫁接制作](#_Toc686780620) 60

**[3.4](#_Toc686780621)** [材料的消毒](#_Toc686780621) 60

**[3.5](#_Toc686780622)** [嫁接方法](#_Toc686780622) 60

**[3.6](#_Toc686780623)** [实验设计](#_Toc686780623) 60

**[3.6.1](#_Toc686780624)** [不同激素浓度处理对嫁接成活的影响试验](#_Toc686780624) 60

**[3.6.2](#_Toc686780625)** [不同激素处理对嫁接成活的影响试验](#_Toc686780625) 60

**[3.6.3](#_Toc686780626)** [不同生长时限接穗对嫁接成活的影响试验](#_Toc686780626) 60

**[3.7](#_Toc686780627)** [嫁接与管理](#_Toc686780627) 60

**[3.8](#_Toc686780628)** [观察与记录](#_Toc686780628) 60

**[3.9](#_Toc686780629)** [结果分析](#_Toc686780629) 60

**[3.9.1](#_Toc686780630)** [不同激素浓度处理对嫁接成活的影响](#_Toc686780630) 60

**[3.9.2](#_Toc686780631)** [不同种类激素处理对嫁接成活的影响](#_Toc686780631) 61

**[3.9.3](#_Toc686780632)** [不同生长时限接穗对嫁接成活的影响](#_Toc686780632) 62

**[3.10](#_Toc686780633)** [讨论与小结](#_Toc686780633) 63

**[3.10.1](#_Toc686780634)** [嫁接繁殖的讨论](#_Toc686780634) 63

**[3.10.2](#_Toc686780635)** [嫁接繁殖的结论](#_Toc686780635) 64

[结论](#_Toc686780636) 64

[参 考 文 献](#_Toc686780637) 64

[附录Ⅰ红腺忍冬图片](#_Toc686780638) 64

[附录Ⅱ种子萌发图片](#_Toc686780639) 65

[附录Ⅲ嫁接繁殖图片](#_Toc686780640) 65

**[4](#_Toc686780641)** [化学成分](#_Toc686780641) 65

**[5](#_Toc686780642)** [药理学研究](#_Toc686780642) 65

**[6](#_Toc686780643)** [小结](#_Toc686780643) 66

[参考文献](#_Toc686780644) 66

[个人简历及攻读学位期间获得的科研成果](#_Toc686780645) 67

引言

ft银花为忍冬科植物灰毡毛忍冬*Lonicera* macra nthoides Hand. -Mazz.、红腺忍冬*Lonicera hypoglauca* Miq. 华南忍冬*Lonicera confusa* DC.或黄褐毛忍冬*Lonicera fulvotomenttosa* Hsu et S. C. Cheng*.* 的干燥花蕾或带初开的花，主要含有挥发油、有机酸、黄酮类、三萜皂苷类等多种生物活性成分[1]。ft银花药用价值较高，具有清热解毒、疏散风热、抗病毒、抑菌、增强免疫力、消炎退肿等功效，是多种中成药的主要原料，且有“植物抗生素”的美称，是我国卫生部指定的甲流和非典基本用药之一[2]，被广泛应用于制药、保健品、化妆品、食品、饮料和观赏园艺等各行各业。且远销港、澳、台和东南亚地区，市场前景广阔。

广西是ft银花的主要产区之一。广西红腺忍冬主要分布于宁明、忻城、马ft、横县、隆安、上林、武鸣、龙州、田阳、德保、靖西、那坡、凌云、都安、大化、三江等地区，这些地区大部分为石灰岩喀斯特地貌，石ft多耕地少，九分石头一分土，岩石裸露率高，土层浅薄，地表无沟河，贮水量低的胁迫环境，使玉米等主要农作物产量不高，但当地的ft银花却成为了石缝型农耕地的主要经济作物，其生态环境具有明显的胁迫因素[3]。

从20世纪80年代以来，就有了植物对逆境的反应及机制的相关研究，且在代谢机理、基因定位和遗传研究等方面取得重要进展[4]。而近年来，环境胁迫对植物次生代谢的影响引起国内外逆境生理学研究的重视。人们认识到，植物在受非生物因子（如温度、水分、光照、大气、盐分、养分等）对植物的生长产生各种各样的影响时，植物为了协调适应当前的环境，能通过体内生理代谢，合成并积累次生代谢产物。植物的次生代谢产物在提高生存竞争能力、自身保护和协调与环境关系上充当着重

要的角色[5]。植物除因干旱、淹水、冰冻、高温或是盐碱条件等不良环境作用于植物体时，都可引起水分胁迫，而干旱胁迫是最常见，也是对植物产生影响最大的；光照胁迫主要为在遮阴条件下，植物对光能的利用效率，进而对其生长以及植物体内积累次生代谢物高低的影响。

药用植物体内次生代谢产物通常是中药植物的主要药效成分，如黄酮、蒽醌、生物碱、萜类、酚酸类等[6,7]。环境胁迫对中药植物次生代谢产物的形成和积累的研究较少，且基本集中在环境胁迫对药用植物外部结构，形态，光合特性，以及渗透调节和活性氧化代谢变化等的研究。有关金银花在环境胁迫下的影响研究也有一些报道。柯用春等[8]研究土壤中水分变化对金银花品质的影响；王建伟等[9]研究土壤水分对金银花叶片生理生态特征的影响；夏江宝等[10]研究土壤水分对金银花叶片气体交换及水分利用的影响。但是红腺忍冬在这方面的研究报道较少。陈少容[11]研究干旱胁迫对红腺忍冬叶的生理生化影响。

广西ft银花资源非常丰富[12]，而近年来由于缺乏资源保护及持续性发展[13]，其中忻城金银花（红腺忍冬）于2007年3月被国家质量监督局检验检疫总局正式定位中国地理标志保护产品[14]，当地非常适宜红腺忍冬的生长，但关于其种苗繁殖的成果较少，且种苗繁育较困难。红腺忍冬的繁殖方法有很多种，目前较为常用的繁殖方式主要为扦插繁殖和种子繁殖，陈少容[11]已对扦插繁殖进行了研究，因此本文对红腺忍冬进行种子和嫁接繁殖实验。种子繁殖属于有性繁殖，其具有实生苗生长旺盛、种苗整齐、易驯化的优点，较适于广西石ft地区扩大种植，更重要的是，可通过杂交技术选育出抗病强、优质高产的新品种。采用毛花柱忍冬为砧木，红腺忍冬为接穗进行嫁接，毛花柱忍冬具有扦插成活率高，随插随活，生命力顽强的特点，亦加快ft银花种植栽培技术等方面的研究，既满足了红腺忍冬资源匮乏的市场，又可以合理利用广西大石ft区土地资源；既改善了生态环境，又给广大农民提供良好的经济效益。

# 正文

# 第一部分 土壤含水量、光照变化对红腺忍冬品质的影响

植物的水分代谢、光合作用及其生理生态机理是节水农林业生产的重要理论基础，在最大限度减少人用水的条件下，调控土壤水分和光照强度，使植物品质和水分利用效率的达到最佳组合，是近期生物节水研究中的热点和关键性问题[15-16]。而对水分利用效率及光合生产的研究主要集中在农作物领域，而对药用植物有关适宜水分和光照条件范围确定的研究报道较少。

忻城的红腺忍冬分布区有着典型的喀斯特地貌，其土层浅薄，土壤肥力低，是一种跑水，跑肥，跑土的“三跑地”。这样的坏境地表无河沟，季节性降水分配不均，水资源短缺，日照强。为提高ft银花ft区水分的有效利用，提高土地生产力；使广西ft区ft银花既高产又有良好的品质。红腺忍冬有效成分绿原酸，是其次生代谢产物之一，且绿原酸等有效成分的含量是评价红腺忍冬品质优劣的重要指标。

为此，本实验通过红腺忍冬土壤水分及光强变化对其有效成分的影响，以确定维持红腺忍冬较高光合速率和水分利用效率的适宜土壤水分及光照强度范围，为ft银花规模化栽培管理、干旱瘠薄ft地的荒ft绿化提供科学依据和理论基础。

## **1** 水分胁迫实验

### **1.1** 实验材料

材料：2011年3月从广西来宾市忻城县北更乡加乐村采集的红腺忍冬的枝条，经扦插繁殖而获得的一年生植株，植株移栽入实验花盆中，花盆口径0.25m，高0.3m，内装沙土（取自广西中医药大学药用植物园内）和珍珠岩。经广西中医药大学中药鉴定教研室廖月葵高级实验师鉴定为忍冬科植物红腺忍冬（*Lonicera hypoglauca* Miq.）枝条。

### **1.2** 实验仪器

土壤温湿度计（ZDR--20T杭州泽大仪器有限公司）游标卡尺（上海恒量量具有限公司0-150mm）

天平，塑料花盆，薄膜，剪刀（枝剪）。

### **1.3** 实验方法

水分胁迫处理于2013年春季3月1日开始，处理前一天傍晚，每盆

都充分浇透水后，进行随机分配，平均分成4组，每组3株。经一晚下渗，第二天日出前，采用土壤温湿度计测定对照组（CK）的土壤含水量，随后从第1组到3组依次减少浇水次数，形成轻度胁迫、中度胁迫、重

度胁迫，每组胁迫完第二天，用土壤温湿度计测定4组土壤含水量，形成不同土壤水分梯度（见表1-1）。每天测量土壤含水量以确保各处理的土壤含水量在设定的梯度范围内，其余管理一致相同，花盆均放在搭建的遮雨棚内，以防治雨水影响，花盆底部用花盆底座，以防止水量流失和地面积水渗入盆内，每处理三个重复，单株重复。

表1-1 土壤水分含量表

| 处理 | 对照组 | 轻度胁迫 | 中度胁迫 | 重度胁迫 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 土壤含水量（%） | 25.61 | 19.73 | 14.55 | 2.78 |

注：表中数据为三组重复数据的平均值。

### **1.4** 调查内容

ft银花开花期分为二白期，大白期和开花期。分别随机采摘上述 4

个组的大白期花蕾，每株采鲜花蕾10朵，测定其长度；统计50朵大白

期花蕾重，换算成千蕾重；分别称量4个组花的产量，用首日釆花量占总产量比例来反映红腺忍冬花的发育成熟情况[17]，实验结束后统计数据，以评价植株的生长情况。

### **1.5** 采收样品

在第一茬开花期，采集青花、银花和金花（见附录Ⅰ）叶片、茎。青花：未开放的青花蕾（二白期）；

银花：未开放的银白色的花（大白期）；金花：开放的金色的花（开花期）；

叶片：剪取相同部位上的叶片（成熟的和嫩的叶片）；茎：剪取相同部位上相同长度的枝条（老枝和嫩枝）；

采收的花、叶、茎，进行一分钟杀青，4段升温法烘干（30℃1h、40℃1h、

45℃2h、50℃6h），粉碎后并经过4号筛（直径0.25mm），装入样品袋，放到干燥器中，供含量测定用。

### **1.6** 花长，千蕾重，首日花重和总重测定

#### **1.6.1** 花长测定

分别随机采摘上述4个组的大白期花蕾，每株采鲜花蕾10朵，用游标卡尺测定其长度，计算平均值。结果见表1-7。

#### **1.6.2** 千雷重的测定

分别随机采摘上述4个组大白期花蕾，用分析天平称定50朵花蕾重，记录数据，换算成千蕾重。结果见表1-7。

#### **1.6.3** 首日花重和总重的测定

取首日采摘的上述4 个组的大白期花蕾，用物理天平称定其重量，

记录数据；取整个花期采摘的大白期花蕾，用物理天平称定其重量，记录数据。结果见表1-6。

### **1.7** 绿原酸的含量测定

#### **1.7.1** 实验仪器

Agilent1200高效液相色谱仪，含在线真空脱气机G1322A，高压四元泵G1311A，标准自动进样器G1329A，智能化柱温箱G1316A，二极管阵列检测器G1315D, Agilent Chemistation色谱工作站；

梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；高速冷冻离心机（TGL-20M）；

SB3200T超声波清洗仪；

美国Millipore密理博明澈TMD超纯水系统；容量瓶、锥形瓶、移液管等玻璃仪器。

#### **1.7.2** 实验试剂和药品

绿原酸对照品（四川维克奇生物科技有限公司批号：110325）供含量测定用，乙腈（色谱纯Fisher Scientific），磷酸（分析纯国药集团化学试剂有限公司），甲醇（分析纯国药集团化学试剂有限公司），纯净水

（娃哈哈集团有限公司）。

#### **1.7.3** 色谱条件

采用高效液相色谱法，色谱条件：安捷伦AgilentSB-C18（4.6\*250mm，

5μm）；流动相：乙腈：0.05%磷酸(12: 88)，用前以0.45μm微孔滤膜过滤，超声脱气处理；流速：1.0ml/min；检测波长：327nm；柱温：30℃；进样量：5μl 。理论塔板数＞2000；分离度R＞1.5。

#### **1.7.4** 对照品制备

取绿原酸对照品适量，精密称定，加50%甲醇溶液制备成每1ml 含

0.08mg的溶液，即得。

#### **1.7.5** 供试品溶液的配制

精密称取1.5项下红腺忍冬样品（过四号筛）约0.5g，置100ml具塞

锥形瓶中，精密加入50%甲醇50ml，超声30min，放冷，再次称定重量，用50%甲醇补足减少的重量，摇匀，过滤，精密量取续虑液5ml，置25ml棕色容量瓶中，加50%甲醇定容至刻度，取此溶液于离心机上离心10min，取上清液，得供试品溶液。

#### **1.7.6** 标准曲线制备

取1.7.4下的对照品溶液，按照1.7.3项下色谱条件进样，绿原酸对照品含量分别为0.16μg、0.32μg、0.48μg、0.64μg、0.80μg、0.96μg，平行进样2针，取平均值计算。以绿原酸峰面积为纵坐标，以绿原酸浓度为横坐标绘制标准曲线，回归方程y=3399.9x-15.013，r=0.9998。表明绿原酸在0.16~0.96μg范围内线性关系良好。结果如表1-2和图1-1。

绿原酸标准工作曲线

3500

3000

2500

2000

1500

1000

500

0

0

0.2

0.4

0.6

绿原酸含量μ g

0.8

1

1.2

表1-2 绿原酸标准工作曲线

| 进样量（μl） | 2 | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 绿原酸含量（μg） | 0.16 | 0.32 | 0.48 | 0.64 | 0.80 | 0.96 |
| 峰面积 | 531.0 | 1052.2 | 1630.9 | 2172.8 | 2712.0 | 3234.6 |

图1-1 绿原酸标准工作曲线

峰面积

#### **1.7.7** 精密度考察

取浓度为0.08mg/ml的绿原酸对照品溶液，按1.7.3项下色谱条件，连续进样6针，测定绿原酸对照品的峰面积，其RSD为0.25%，结果见表1-3，表明仪器精密度良好。

表1-3 绿原酸精密度考察结果

| 进样次数 | 峰面积 | 平均峰面积 | RSD(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 1 | 1436.9 |  |  |
| 2 | 1433.3 |  |  |
| 3  4 | 1430.0  1428.9 | 1430.8 | 0.25 |
| 5 | 1428.4 |  |  |
| 6 | 1427.3 |  |  |

#### **1.7.8** 重复性考察

按1.7.5项下供试品溶液制备方法，取同一份红腺忍冬药材粉末（对

照组茎），平行制备6份，按1.7.3项下色谱条件进样，计算绿原酸含量，

RSD为0.49%，表示重复性良好。结果见表1-4。

表1-4 红腺忍冬茎中绿原酸重复性考察结果

| 序 | 取样量（g） | 峰面积 | 绿原酸含量（mg/g） | 平均含量 | RSD |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 号 |  |  |  | （mg/g） | （%） |
| 1 | 0.5001 | 658.8 | 19.81 |  |  |
| 2 | 0.5003 | 658.5 | 19.80 |  |  |
| 3 | 0.5005 | 666.2 | 20.02 | 19.92 | 0.49 |
| 4 | 0.5003 | 663.7 | 19.95 |  |  |
| 5 | 0.5003 | 665.4 | 20.00 |  |  |
| 6 | 0.5002 | 662.3 | 19.91 |  |  |

#### **1.7.9** 稳定性考察

精密吸取同一份供试品溶液（对照组茎），分别在0h，2h，4h，6h，

8h, 10h进样，按照1.7.3项下色谱条件测定绿原酸峰面积：659.4, 658.8，

651.4, 645.3，652.4，649.2，RSD为0.84%，说明样品在10h内稳定性良好。

#### **1.7.10** 回收率考察

称取已知含量的样品约0.25g，精密称定，共6份，分别加入浓度为

5mg/ml的绿原酸对照品溶液1ml，按照1.7.5项下供试品溶液的制备进行操作，按照1.6.1.3项下色谱条件进样，计算绿原酸含量，测得平均回收率为99.88%, RSD为0.83%。结果见表1-5。

表1-5 加样回收率实验结果

| 编  号 | 取样量（g） | 绿原酸含  量（mg） | 加入量  （mg） | 测得量  （mg） | 回收率（%） | 平均回收  率（%） | RSD  （%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.2505 | 4.99 | 5.00 | 9.99 | 1.00 |  |  |
| 2 | 0.2506 | 4.99 | 5.00 | 9.95 | 0.99 |  |  |
| 3 | 0.2503 | 4.99 | 5.00 | 9.96 | 0.99 | 99.88 | 0.83 |
| 4 | 0.2501 | 4.98 | 5.00 | 10.05 | 1.01 |  |  |
| 5 | 0.2504 | 4.99 | 5.00 | 9.99 | 1.00 |  |  |
| 6 | 0.2504 | 4.99 | 5.00 | 9.94 | 0.99 |  |  |

#### **1.7.11** 样品的测定

按1.7.5项下所述制备供试品溶液，按1.7.3项下色谱条件进样，测定绿原酸峰面积，根据回归方程计算含量，绿原酸对照品及样品HPLC图谱见图1-2~1-7。各组绿原酸含量用DPS7.05 版进行数据处理（采用

Tukey多重比较法），含量数据结果见表1-8~1-11。

4.806

6.833

6.864

7.301

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL201307162013-07-1618-14-49\130716000014.D)

mAU

250

200

150

绿原酸

100

50

0

0

2

4

6

8

10

mi

图1-2 绿原酸对照品HPLC 图

6.888

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL201307152013-07-1516-14-07\130715000004.D)

mAU

250

200

绿原酸

150

100

50

0

0

2

4

6

8

10

mi

图1-3 红腺忍冬对照组青花HPLC 图

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL201307152013-07-1523-50-10\130715000003.D)

mAU

250

200

150

绿原酸

100

50

0

0

2

4

6

8

10

mi

4.837

7.320

10.058

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL201307152013-07-1523-50-10\130715000005.D)

mAU

250

200

150 绿原酸

100

50

0

0

2

4

6

8

10

mi

图1-4 红腺忍冬对照组银花HPLC 图

6.874

图1-5 红腺忍冬对照组金花HPLC 图

4.813

7.314

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL20130723稳定性和重复性2013-07-2312-41-10\130716000002.D)

mAU

250

200

150

绿原酸

100

50

0

0

2

4

6

8

10

mi

图1-6 红腺忍冬对照组茎HPLC 图

4.742

6.792

7.229

DAD1A,Sig=327,4Ref=o**f**(SXL\SXL20130723稳定性和重复性2013-07-2312-41-10\130716000019.D)

mAU

250

200

150

绿原酸

100

50

0

0

2

4

6

8

10

12 mi

图1-7 红腺忍冬对照组叶片HPLC 图

4.796

6.873

7.319

10.058

11.824

#### **1.7.12** 结果与分析

##### **1.7.12.1** 水分胁迫对红腺忍冬发育及产量影响

红腺忍冬花蕾的发育成熟情况用首日采收花量占总产量比例来反映。从表1-6中可看出，重度胁迫处理对红腺忍冬的生长有着很大影响，

重度胁迫处理出现二白期的花蕾要比对照组及其他处理晚2天，且其产量只有对照组的48.76%。轻度胁迫和中度胁迫处理的产量和采摘首日达到采摘标准的红腺忍冬花蕾与对照组无差异。说明轻度胁迫与中度胁迫处理对花蕾的发育成熟影响不大。随胁迫程度的加重，红腺忍冬花的产量逐渐减少。

表1-6 水分胁迫对红腺忍冬发育及产量影响

| 分组 | 首日摘花重  （g） | 首日摘花量占总产量比例（%） | 总产量（g） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 19.90 | 10.29 | 194.20 |
| 轻度胁迫 | 15.80 | 11.09 | 142.40 |
| 中度胁迫 | 12.90 | 9.35 | 138.00 |
| 重度胁迫 | 0 | 0.00 | 94.70 |

##### **1.7.12.2** 水分胁迫对红腺忍冬花蕾生长的影响

红腺忍冬花蕾重和花长，在一定程度上能反映出红腺忍冬花在外部形态的饱满性和品质的优良。从表1-7中可以看出，各处理间均存在显著性差异（*P*＜0.05）；从千蕾重看，重度胁迫处理比对照组减少了5.9230g，中度胁迫处理比对照组增加了3.9970g；随着水分胁迫的加重，千蕾重有先上升后下降的趋势。从花长来看，重度胁迫处理比对照组减少了

0.3010cm，中度胁迫处理比对照组增加了0.4660cm。说明适宜水分胁迫使得红腺忍冬花在外观上显得饱满，且品质优良。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 表 | 1-7 水分胁迫对红腺忍冬花蕾生 | 长的影响（ *X* ±SD ， | n=3) |
| 分组 | 50 朵鲜重（g） | 千蕾重（g） | 平均花长（cm） |
| 对照组 | 3.2844±0.0002b | 65.6880b | 3.8850±0.0153b |
| 轻度胁迫 | 3.2430±0.002b | 64.8600c | 3.7130±0.01c |
| 中度胁迫 | 3.6841±0.0001a | 73.6820a | 4.3510±0.0115a |
| 重度胁迫 | 2.6921±0.0001c | 53.8420d | 3.5840±0.01d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.7.12.3** 水分胁迫对红腺忍冬青花中绿原酸的含量的影响

绿原酸是红腺忍冬体内重要的有效成分，是评价红腺忍冬品质优劣的重要指标。由表1-8可以看出，红腺忍冬青花内绿原酸含量随着水分程度的加深先上升后下降；在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，绿原酸含量达到最大值7.28％，比对照组提高了33.82%，而后随水分胁迫加深而下降。可见，土壤水分对红腺忍冬花体内有效成分的影响较大，适度水分有利于金银花花蕾中有效成分绿原酸的积累。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平。（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 | 1-8 水分胁迫红腺忍 | 冬青花绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量（%） |
| 对照组 | 0.5009 | 54.40 |  | 5.44±0.0083 c |
| 轻度胁迫 | 0.5016 | 62.93 |  | 6.29±0.0047b |
| 中度胁迫 | 0.5008 | 72.82 |  | 7.28±0.001a |
| 重度胁迫 | 0.5007 | 51.57 |  | 5.16±0.001d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.7.12.4** 水分胁迫对红腺忍冬银花中绿原酸的含量的影响

由表1-9可以看出，红腺忍冬银花内绿原酸含量随着水分程度的加深先上升后下降；在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，绿原酸含量达到最大值5.40％，比CK提高了16.63%，而后随水分胁迫加深而下降。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

表1-9 水分胁迫红腺忍冬银花绿原酸含量（X±SD，n=3）

| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量（mg/g） | 平均百分含量  （%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 0.5017 | 46.32 | 4.63±0.0087c |
| 轻度胁迫 | 0.5007 | 49.47 | 4.95±0.0037b |
| 中度胁迫 | 0.5009 | 54.03 | 5.40±0.0033a |
| 重度胁迫 | 0.5005 | 44.34 | 4.43±0.0042d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.7.12.5** 水分胁迫对红腺忍冬金花中绿原酸的含量的影响

由表1-10可以看出，红腺忍冬金花内绿原酸含量随着水分程度的加深先上升后下降；在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，绿原酸含量达到最大值5.32％，比CK提高出25.18%，而后随水分胁迫加深而下降。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

表1-10 水分胁迫下红腺忍冬金花绿原酸含量（X±SD，n=3）

| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） | 平均百分含量  （%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 0.5006 | 42.42 | 4.25±0.01c |
| 轻度胁迫 | 0.5007 | 46.08 | 4.61±0.0008b |
| 中度胁迫 | 0.5013 | 53.17 | 5.32±0.0056a |
| 重度胁迫 | 0.5012 | 41.67 | 4.17±0.0077d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.7.12.6** 水分胁迫对红腺忍冬叶片中绿原酸的含量的影响

由表1-11可以看出，红腺忍冬叶片内绿原酸含量在7.22%-9.14%之间，且其含量随着水分程度的加深先上升后下降，而下降的速度非常平缓，由此可见水分胁迫越严重，在叶片中累积的绿原酸含量越高；在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，绿原酸含量达到最大值9.14％，在重度胁迫即土壤水分含量为2.78％时，绿原酸的含量也高达8.97%，可见，土壤水分对红腺忍冬叶体内有效成分的影响较大，水分有利于红腺忍冬叶片中有效成分绿原酸的积累。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

表1-11 水分胁迫红腺忍冬叶片中绿原酸含量（X±SD，n=3）

| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量（mg/g） | 平均百分含量  （%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 0.5009 | 72.20 | 7.22±0.0029d |
| 轻度胁迫 | 0.5007 | 87.05 | 8.71±0.0052c |
| 中度胁迫 | 0.5016 | 91.39 | 9.14±0.0064a |
| 重度胁迫 | 0.5016 | 89.74 | 8.97±0.007b |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.01的显著水平

##### **1.7.12.7** 水分胁迫对红腺忍冬茎中绿原酸的含量的影响

由表1-12可以看出，红腺忍冬茎内绿原酸含量随着水分程度的加深先上升后下降，含量在0.84%-1.51%之间。在中度胁迫即土壤水分含量为

14.55％时，绿原酸含量达到最大值1.51％，比CK提高出12.69%，而后随水分胁迫加深而下降。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

表1-12 水分胁迫红腺忍冬茎中绿原酸含量（X±SD，n=3）

| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量（mg/g） | 平均百分含量  （%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 0.5002 | 13.39 | 1.34±0.0014b |
| 轻度胁迫 | 0.5004 | 11.48 | 1.15±0.0032c |
| 中度胁迫 | 0.5004 | 15.08 | 1.51±0.0003a |
| 重度胁迫 | 0.5012 | 8.41 | 0.84±0.0023d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.7.12.8** 水分胁迫下红腺忍冬花、叶、茎绿原酸含量比较

从表1-13和图1-7中可以看出，红腺忍冬绿原酸含量随着水分程度的加深先上升后下降，且在中度胁迫即土壤含水量为14.55%时，绿原酸的含量均达到最大值。三个处理和对照组中，叶片的含量最高，均大于青花、银花、金花、茎的含量，青花的含量次之，均大于银花、金花、茎的含量，而且叶片中绿原酸的含量在水分胁迫越严重的情况下，减少的量非常少。



10

9

8

7

6

5

4

青花

银花金花叶 茎

3

2

1

0

0

5

10

15

土壤含水量%

20

25

30

表1-13 水分胁迫下红腺忍冬花叶茎中绿原酸含量的比较

| 土壤含水量（%） | 青花（%） | 银花（%） | 金花（%） | 叶（%） | 茎（%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 25.61 | 5.44 | 4.63 | 4.25 | 7.22 | 1.34 |
| 19.73 | 6.29 | 4.95 | 4.61 | 8.71 | 1.15 |
| 14.55 | 7.28 | 5.4 | 5.32 | 9.14 | 1.51 |
| 2.78 | 5.16 | 4.43 | 4.17 | 8.97 | 0.84 |

图1-7 水分胁迫下红腺忍冬花叶茎中绿原酸含量变化图

绿原酸含量%

### **1.8** 灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量测定

#### **1.8.1** 实验仪器

Agilent1260高效液相色谱仪，高压四元泵G1311C，标准自动进样器

G1329B，智能化柱温箱G1316A，二极管阵列检测器G1315D，蒸发光检测器380-ELSD, Agilent Chemistation色谱工作站；

梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；高速冷冻离心机（TGL-20M）；

SB3200T超声波清洗仪；

美国Millipore密理博明澈TMD超纯水系统；容量瓶、锥形瓶、移液管等玻璃仪器。

#### **1.8.2** 实验试剂和药品

灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙（四川维克奇生物科技有限公司批号：120806）供含量测定用，乙腈（色谱纯Fisher Scientific），磷酸（分析纯国药集团化学试剂有限公司），甲醇（分析纯国药集团化学试剂有限公司），纯净水（娃哈哈集团有限公司）。

#### **1.8.3** 色谱条件

采用高效液相色谱法，色谱条件：安捷伦AgilentXDB-C18

（4.6\*250mm, 5μm）；流动相：乙腈（B）-0.4%醋酸（A）；流速：1.0ml/min；；柱温：25℃；进样量：10μl。梯度洗脱程序如表1-14；蒸发光检测器条件：蒸发温度95℃，雾化温度40℃，空气流速1L/min；理论塔板数＞2000；分离度R＞1.5。

表1-14 梯度洗脱程序

| 时间 min | 流动相 A% | 流动相 B% |
| --- | --- | --- |
| 0~12 | 80 | 20 |
| 12~13 | 67 | 33 |
| 13~30 | 67 | 33 |
| 30~35 | 80 | 20 |

#### **1.8.4** 对照品制备

分别取灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙适量，精密称定，加50%

甲醇溶液制备成每1ml含0.65mg的灰毡毛忍冬皂苷乙溶液和每1ml 含

0.90mg的川续断皂苷乙溶液，即得。

#### **1.8.5** 供试品溶液的配制

精密称取1.5项下红腺忍冬样品（过四号筛）约0.5g，置100ml具塞锥形瓶中，精密加入50%甲醇50ml，超声30min，放冷，再次称定重量，用50%甲醇补足减少的重量，摇匀，过滤，取续虑液离心机上离心10min，取上清液，得供试品溶液。

#### **1.8.6** 标准曲线制备

取1.8.4下的对照品溶液，按照1.8.3项下色谱条件进样，平行进样

2针，取平均值计算。以灰毡毛忍冬皂苷乙峰面积的对数和川续断皂苷乙峰面积的对数为纵坐标，以灰毡毛忍冬皂苷乙含量和川续断皂苷乙含量为横坐标绘制标准曲线。回归方程如表1-15，标准曲线如图1-8，1-9。

灰毡毛忍冬皂苷乙的标准曲线图

9

8

7

6

5

4

3

2

1

0

-1

-0.5

0

0.5

1

1.5

2

灰毡毛忍冬皂苷乙含量对数值

表1-15 灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙回归方程

灰毡毛忍冬皂苷乙峰面积对数值

| 成分 | 方程范围(μg) | 回归方程 | R(n=6) |
| --- | --- | --- | --- |
| 灰毡毛忍冬皂苷乙 | 0.65~6.50 | lgY=1.5388lgX+5.5409 | 0.9999 |
| 川续断皂苷乙 | 0.90~6.60 | lgY=1.5662lgX+5.4949 | 0.9996 |

川续断皂苷乙的标准曲线图

9

8

7

6

5

4

3

2

1

0

-0.5

0

0.5

1

1.5

2

川续断皂苷乙含量对数值

图1-8 灰毡毛忍冬皂苷乙的标准曲线图

川续断皂苷乙峰面积对数值

#### **1.8.7** 精密度考察

图1-9 川续断皂苷乙的标准曲线图

取轻度度胁迫下青花按照1.8.5项下配置供试品溶液，按1.8.3项下

色谱条件，连续进样6针，测定灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的峰面积。灰毡毛忍冬皂苷乙的含量分别为：3.37%，3.42%，3.39%，3.42%，

3.39%，3.38%，RSD为0.68%；川续断皂苷乙的含量分别为：3.08%，3.10%，

3.12%，3.14%，3.09%，3.11%, RSD为0.73%，表明仪器精密度良好。

#### **1.8.8** 重复性考察

按1.8.5项下供试品溶液制备方法，取同一份红腺忍冬药材粉末（轻

度胁迫组青花），平行制备6份，按1.8.3项下色谱条件进样，计算灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量，RSD分别为0.49%、0.47%，表示重复性良好。结果见表1-16，1-17。

表1-16 红腺忍冬灰毡毛忍冬皂苷乙重复性考察结果

| 序  号 | 取样量（g） | 灰毡毛忍冬皂苷乙  含量（mg/g） | 平均含量  （mg/g） | 平均含量  （%） | RSD  （%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.5005 | 25.27 |  |  |  |
| 2 | 0.5007 | 25.11 |  |  |  |
| 3 | 0.5004 | 24.91 | 25.11 | 2.51 | 0.49 |
| 4 | 0.5003 | 25.13 |  |  |  |
| 5 | 0.5009 | 25.03 |  |  |  |
| 6 | 0.5008 | 25.19 |  |  |  |

表1-17 红腺忍冬川续断皂苷乙重复性考察结果

| 序号 | 取样量（g） | 川续断皂苷乙含量  （mg/g） | 平均含量  （mg/g） | 平均含量  （%） | RSD  （%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.5005 | 29.02 |  |  |  |
| 2 | 0.5007 | 28.97 |  |  |  |
| 3 | 0.5004 | 29.16 | 28.98 | 2.90 | 0.47 |
| 4 | 0.5003 | 28.75 |  |  |  |
| 5 | 0.5009 | 28.98 |  |  |  |
| 6 | 0.5008 | 29.03 |  |  |  |

#### **1.8.9** 稳定性考察

精密吸取同一份供试品溶液（轻度胁迫青花），分别在0h，4h，8h，

12h，16h，20h进样，按照1.8.3项下色谱条件，测定灰毡毛忍冬皂苷乙的含量分别为：3.08%，3.07%，3.12%，3.10%，3.12%，3.12%，RSD

为0.66%；川续断皂苷乙的含量分别为：2.90%，2.86%，2.88%，2.86%，

2.86%，2.91%，RSD为0.85%；说明样品在20h内稳定性良好。

#### **1.8.10** 回收率考察

称取已知含量的样品约0.25g，精密称定，共6份，分别加入浓度为6.5280mg/ml的灰毡毛忍冬皂苷乙对照品溶液1ml和6.5280mg/ml的川续断皂苷乙对照品溶液1ml，按照1.8.5项下供试品溶液的制备进行操作，按照1.8.3项下色谱条件进样，计算灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量，测得灰毡毛忍冬皂苷乙平均回收率为99.87%, RSD为1.88%；测得川续断皂苷乙平均回收率为100.40%, RSD为1.43%；结果见表1-18，1-19。

表1-18 灰毡毛忍冬皂苷乙加样回收率实验结果

| 编号 | 取样量(g) | 灰毡毛忍冬皂苷乙含量(mg) | 加入量  （mg） | 测得量  （mg） | 回收率  （%） | 平均回收率(%) | RSD (%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.2514 | 6.31 | 6.336 | 12.61 | 99.35 |  |  |
| 2 | 0.2508 | 6.29 | 6.336 | 12.52 | 98.51 |  |  |
| 3 | 0.2512 | 6.31 | 6.336 | 12.74 | 101.46 | 99.87 | 1.88 |
| 4 | 0.2508 | 6.29 | 6.336 | 12.61 | 99.57 |  |  |
| 5 | 0.2514 | 6.31 | 6.336 | 12.82 | 102.68 |  |  |
| 6 | 0.2508 | 6.29 | 6.336 | 12.48 | 97.62 |  |  |

表1-19 川续断皂苷乙加样回收率实验结果

| 编号 | 取样量(g) | 灰毡毛忍冬皂苷乙含量(mg) | 加入量  （mg） | 测得量(mg) | 回收率  （%） | 平均回收率(%) | RSD (%) |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 1 | 0.2514 | 7.29 | 6.528 | 13.69 | 98.18 |  |  |
| 2 | 0.2508 | 7.27 | 6.528 | 13.83 | 100.51 |  |  |
| 3 | 0.2512 | 7.28 | 6.528 | 13.94 | 101.98 | 100.40 | 1.43 |
| 4 | 0.2508 | 7.27 | 6.528 | 13.75 | 99.22 |  |  |
| 5 | 0.2514 | 7.29 | 6.528 | 13.88 | 101.04 |  |  |
| 6 | 0.2508 | 7.27 | 6.528 | 13.89 | 101.45 |  |  |

#### **1.8.11** 样品的测定

按1.8.5项下所述制备供试品溶液，按1.8.3项下色谱条件进样，测定灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙峰面积，根据回归方程计算含量，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙对照品及样品HPLC图谱见图1-10~1-14。各组绿原酸含量用DPS7.05版进行数据处理（采用Tukey 多

ELS1A,ELSDSignal(E:\CHEM32\1\DATA\SXL\SXL加样1308132013-08-1315-05-55\201308130000004.D)

mV

600

500

400

300

川续断皂苷乙

200

100

0

2.5

5

7.5

10

12.5

15

17.5

20

22.5

mi

重比较法），含量数据结果见表1-25~1-27。

18.212

图1-10 灰毡毛忍冬皂苷乙对照品的HPLC 图

17.087

ELS1A,ELSDSignal(E:\CHEM32\1\DATA\SXL\SXL加样1308132013-08-1312-01-34\201308130000004.D)

mV

600

500

400

灰毡毛忍冬皂苷乙

300

200

100

0

2.5

5

7.5

10

12.5

15

17.5

20

22.5

mi

图1-11 川续断皂苷乙对照品的HPLC 图



ELS1A,ELSDSignal(E:\CHEM32\1\DATA\SXL\SXL201307152013-07-1521-44-06\201307150000006.D)

mV

700 灰毡毛忍冬皂苷乙

川续断皂苷乙

600

500

400

300

200

100

0

2.5

5

7.5

10

12.5

15

17.5

20

22.5

mi

图 1-12 中度胁迫红腺忍冬青花的HPLC 图



ELS1A,ELSDSignal(E:\CHEM32\1\DATA\SXL\SXL201305232013-07-1512-09-55\201307150000006.D)

mV

600

灰毡毛忍冬皂苷乙

500

400

川续断皂苷乙

300

200

100

0

2.5

5

7.5

10

12.5

15

17.5

20

22.5

mi

图 1-13 中度胁迫红腺忍冬银花的HPLC 图



ELS1A,ELSDSignal(E:\CHEM32\1\DATA\SXL\SXL201305232013-07-1512-09-55\201307150000007.D)

mV

600

500

400 灰毡毛忍冬皂苷乙

300 川续断皂苷乙

200

100

0

2.5

5

7.5

10

12.5

15

17.5

20

22.5

mi

图 1-14 中度胁迫红腺忍冬金花的HPLC 图

#### **1.8.12** 结果与分析

##### **1.8.12.1** 水分胁迫对红腺忍冬青花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙是红腺忍冬重要的成分，是《中国药典》规定的质量控制指标。由表1-20可以看出，红腺忍冬青花内灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量随着水分程度的加深先上升后下降。在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量均达到最大值，分别是4.50％和6.30%，而后随水分胁迫加深而下降。可见，土壤水分对红腺忍冬花体内有效成分的影响较大，适度

水分有利于金银花花蕾中有效成分的积累。经方差分析得出，对照组与各处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 1- | 20 水分胁 | 迫青花中灰毡毛忍冬皂苷乙、 | 川续断皂苷乙含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 称样量  （g） | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) |  | 平均百分含量和  （%） |
| 对照组 | 0.5009 | 2.87 | 4.76 |  | 7.63±0.0115c |
| 轻度胁迫 | 0.5006 | 3.35 | 5.08 |  | 8.43±0.0056b |
| 中度胁迫 | 0.5008 | 4.50 | 6.30 |  | 10.80±0.0033a |
| 重度胁迫 | 0.5007 | 2.70 | 3.02 |  | 5.72±0.0077d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **1.8.12.2** 水分胁迫对红腺忍冬银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

由表1-21可以看出，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的百分含量和符合《中国药典》要求大于5%，红腺忍冬银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量随着水分程度的加深先上升后下降。在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量均达到最大值，分别是2.84％和2.72%，而后随水分胁迫加深而下降。经方差分析得出，对照组与各处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 1-21 水 | 分胁迫银花中灰毡 | 忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量（ | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 称样量  (g) | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) |  | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) |
| 对照组 | 0.5017 | 2.54c |  | 1.71±0.0029c |
| 轻度胁迫 | 0.5007 | 2.66b |  | 2.00±0.0032b |
| 中度胁迫 | 0.5009 | 2.84a |  | 2.72±0.0003a |
| 重度胁迫 | 0.5005 | 2.34d |  | 1.73±0.001c |

毛

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **1.8.12.3** 水分胁迫对红腺忍冬金花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

由表1-22可以看出，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的百分含量和符合《中国药典》要求大于5%，红腺忍冬银花内灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量随着水分程度的加深先上升后下降。在中度胁迫即土壤水分含量为14.55％时，灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量均达到最大值，分别是2.84％和2.72%。经方差分析得出，对照组与各处理组存在显著性差异，各处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 1-22 水 | 分胁迫金花中灰毡 | 忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙含量（ | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 称样量  (g) | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) |  | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) |
| 对照组 | 0.5006 | 2.51c |  | 2.20±0.0077b |
| 轻度胁迫 | 0.5007 | 2.73b |  | 1.76±0.0015d |
| 中度胁迫 | 0.5013 | 2.90a |  | 2.58±0.001a |
| 重度胁迫 | 0.5012 | 2.46d |  | 1.89±0.004c |

毛

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

### **1.9** 讨论与小结

适度的水分胁迫能够增加红腺忍冬中绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量。红腺忍冬绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的的含量随水分胁迫的加强呈先增高后下降趋势，适宜土壤含水量为14.55%。水分是植物生长发育的必要条件，土壤中水分含量的高低都会影响植物的次生代谢。水分胁迫通常会使药用植物体内的次生代谢物质浓度升高，如萜类、皂苷类、生物碱、有机酸等。水分对次生代谢物

含量的影响通常与水分胁迫的程度、发生的时间长短有关。短时间或适度的水分胁迫，可使次生代谢物的含量增加，但长时间的胁迫，会得到相反的结果。因为在适度的水分条件下，植物的生长受到限制，大量的光合产物在体内积累，植物利用这些“过剩”的光合产物合成含碳次生化合物，从而提高了组织细胞中次生代谢产物的浓度，而绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙就是红腺忍冬的次生代谢产物。忻城县岩石

ft区区属喀斯特地貌，是广西有名的石ft地区，一般在大石块的周围或石缝中挖穴进行栽培，以大石块作为藤蔓攀援的支架，海拔分布在200～

700m。而这些地区，大部分为喀斯特地貌的岩石ft区，九分石头一分土，土层浅薄，地表无河沟，水源奇缺，其生长环境具有明显的水分胁迫，故在这种环境下生长的红腺忍冬，绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙含量较高，品质较优。

## **2** 光照实验

### **2.1** 实验材料

材料：2011年3月从广西来宾市忻城县北更乡加乐村采集的红腺忍冬的枝条，经扦插繁殖而获得的一年生植株，植株移栽入广西农业科学院实验田中，经广西中医药大学中药鉴定教研室廖月葵高级实验师鉴定为忍冬科植物红腺忍冬（*Lonicera hypoglauca* Miq.）枝条。

### **2.2** 实验仪器

光度计（HIOKI3423日置电机株式会社）

游标卡尺（上海恒量量具有限公司0-150mm）天平，塑料花盆，薄膜，剪刀（枝剪）。

### **2.3** 实验处理

2012年春季将2.1项下的植株移栽到广西农业科学院实验田间，每

株红腺忍冬植株间距1m。光照实验于2013年3月1日开始，胁迫前一

晚将其进行统一修剪灌溉之后做光照胁迫试验，平均分成4组，每组6株，其中4组分别放在自然光照下（光照强度为100%,即全日照）、覆盖半层遮阳网下、覆盖1层遮阳网下、覆盖1层半遮阳网下进行栽培，其

它管理相同。每处理6株，三次重复，每周上午10点左右采用光度计测量光照强度，直至采样结束，结果见表2-1。

表 2-1 光照强度表

| 分组 | 全日照 CK | 半层遮阳网 | 一层遮阳网 | 一层半遮阳网 |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 相对阳光强度（%） | 100 | 35.79 | 24.31 | 11.16 |

注：表中数据为三组重复数据的平均值。

### **2.4** 调查内容

ft银花开花期分为二白期，大白期和开花期。分别随机采摘上述 4

个组的大白期花蕾，每株采鲜花蕾10朵，测定其长度；统计50朵大白

期花蕾重，换算成千蕾重；分别称量4个组花的产量，用首日釆花量占总产量比例来反映红腺忍冬花的发育成熟情况[17]，实验结束后统计数据，以评价植株的生长情况。

### **2.5** 采收样品

在第一茬开花期，采集青花、银花和金花（见附录Ⅰ）叶片、茎。青花：未开放的青花蕾（二白期）；

银花：未开放的银白色的花（大白期）；金花：开放的金色的花（开花期）；

叶片：剪取相同部位上的叶片（成熟的和嫩的叶片）；茎：剪取相同部位上相同长度的枝条（老枝和嫩枝）；

采收的花、叶、茎，进行一分钟杀青，4段升温法烘干（30℃1h、40℃1h、

45℃2h、50℃6h），粉碎后并经过4号筛（直径0.25mm），装入样品袋，放到干燥器中，供含量测定用。

### **2.6** 花长，千蕾重，首日花重和总重测定

花长，千蕾重，首日花重和总重、绿原酸的含量测定和灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量测定。

#### **2.6.1** 花长测定

分别随机采摘4个组的大白期花蕾，每株采鲜花蕾10朵，用游标卡尺测定其长度，计算平均值。

#### **2.6.2** 千雷重的测定

分别随机采摘4个组大白期花蕾，用分析天平称定50朵花蕾重，记录数据，换算成千蕾重。

#### **2.6.3** 首日花重和总重的测定

取首日采摘的4个组的大白期花蕾，用物理天平称定其重量，记录数据；取整个花期采摘的大白期花蕾，用物理天平称定其重量，记录数据。

### 2.7 绿原酸的含量测定同1.7 项

#### **2.7.1** 结果与分析

##### **2.7.1.1** 光照强度对红腺忍冬发育及产量影响

从表2-2可以看出，随着光照的减弱，红腺忍冬花的产量逐渐减少，首日摘花量也逐渐减少，且重度光照胁迫处理植株花蕾的采收期比对照组及其他组晚1周。说明光照的减少对红腺忍冬花蕾的发育进程有明显的抑制作用。

表2-2 光照胁迫对红腺忍冬发育及产量影响

| 分组 | 首日摘花重  （g） | 首日摘花量占总产量比例  （%） | 总产量  （g） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 58.00 | 14.15 | 410.00 |
| 半层遮阳网 | 19.00 | 5.96 | 319.00 |
| 一层遮阳网 | 8.60 | 4.92 | 175.00 |
| 一层半遮阳网 | 0 | 0.00 | 89.00 |

##### **2.7.1.2** 光照强度对红腺忍冬花蕾生长的影响

从表2-3可以看出，随光照胁迫的加强，红腺忍冬的千蕾重和花长均逐渐减小，光照胁迫使红腺忍冬花在外观上显得弱小不饱满，进而影响其商品品质。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理之间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

表2-3 光照胁迫对红腺忍冬花蕾生长的影响（X±SD，n=10）

| 分组 | 50 朵鲜重(g) | 千蕾重(g) | 平均花长(cm) |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组 | 4.1526±0.0015a | 83.0520a | 5.3530±0.002a |
| 半层遮阳网 | 3.5220±0.0001b | 70.4400b | 4.6650±0.01b |
| 一层遮阳网 | 3.2690±0.0010c | 65.3800c | 4.3070±0.0001c |
| 一层半遮阳网 | 2.2446±0.0002d | 44.8920d | 4.0780±0.01d |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.7.1.3** 光照胁迫下红腺忍冬青花中绿原酸的含量测定结果

光照胁迫下红腺忍冬青花中绿原酸含量结果见表2-4，随着光照强度的加强，绿原酸含量呈上升趋势，含量在3.59%~6.03%之间，可见，光照变化对红腺忍冬花体内有效成分的影响较大，在自然光照射下有利于金银花有效成分绿原酸的积累，对照CK组即全日照组的绿原酸含量最大，达6.03％。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理之间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2- | 4 光照胁迫下红腺 | 忍冬青花中绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量  （%） |
| 全日照 | 0.5007 | 60.33 |  | 6.03±0.0037a |
| 半层遮阳网 | 0.5009 | 43.01 |  | 4.30±0.0216b |
| 一层遮阳网 | 0.5006 | 39.56 |  | 3.96±0.0066c |
| 一层半遮阳网 | 0.5011 | 35.87 |  | 3.59±0.0031d |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.7.1.4** 光照胁迫下红腺忍冬银花中绿原酸的含量测定结果

由表2-5可以看出，光照胁迫下红腺忍冬银花中绿原酸含量，随着光照强度的加强，绿原酸含量呈上升趋势，含量在3.25%~5.15%之间。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理之间差异均达显著水平（*P*＜0.05），全日照组（CK）的绿原酸含量最大，达5.15％。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-5 | 光照胁迫下红腺 | 忍冬银花中绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量  （%） |
| 全日照 | 0.5007 | 51.47 |  | 5.15±0.0077a |
| 半层遮阳网 | 0.5009 | 41.19 |  | 4.12±0.0004b |
| 一层遮阳网 | 0.5007 | 37.58 |  | 3.76±0.001c |
| 一层半遮阳网 | 0.5001 | 32.54 |  | 3.25±0.004d |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.7.1.5** 光照胁迫下红腺忍冬金花中绿原酸的含量测定结果

由表2-6可以看出，光照胁迫下红腺忍冬金花中绿原酸含量，随光照强度的加强，含量呈上升趋势，含量在2.87%~4.51%之间。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理之间差异均达显著水平

（*P*＜0.05），对照CK组即全日照组的绿原酸含量最大，达4.51％。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-6 | 光照胁迫下红腺 | 忍冬金花中绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量  （%） |
| 全日照 | 0.5002 | 45.14 |  | 4.51±0.0039a |
| 半层遮阳网 | 0.5006 | 39.09 |  | 3.91±0.0091b |
| 一层遮阳网 | 0.5007 | 36.33 |  | 3.63±0.0035c |
| 一层半遮阳网 | 0.5012 | 28.66 |  | 2.87±0.0083d |

注：表中小写字母表示两两比较*P* <0.05的显著水平

##### **2.7.1.6** 光照胁迫下红腺忍冬叶片花中绿原酸的含量测定结果

由表2-7可以看出，光照胁迫下红腺忍冬叶片中绿原酸含量，随着光照强度的加强，绿原酸含量呈下降趋势，在4.18%~6.30%之间。经方差分析得出，对照组与处理组存在显著性差异，各处理之间差异均达显著水平（*P*＜0.05），对照CK组即全日照组的绿原酸含量最大，达6.30％。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-7 | 光照胁迫下红腺 | 忍冬叶片中绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量  （%） |
| 全日照 | 0.5008 | 41.84 |  | 4.18±0.0033d |
| 半层遮阳网 | 0.5001 | 52.87 |  | 5.29±0.0015c |
| 一层遮阳网 | 0.5008 | 57.54 |  | 5.75±0.0004b |
| 一层半遮阳网 | 0.5007 | 63.02 |  | 6.30±0.0145a |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.7.1.7** 光照胁迫下红腺忍冬茎中绿原酸的含量测定结果

由表2-8可以看出，光照胁迫下红腺忍冬茎中绿原酸含量，随着光照强度的加强，绿原酸含量呈上升趋势，含量在0.97%~2.16%之间。对照

CK组即全日照组的绿原酸含量最大，达2.16％，符合中国药典规定的不低于2.0%，其他组（半层遮阳网、一层遮阳网、一层半遮阳网）绿原酸的含量均低于《中国药典》规定的不低于2.0%。经方差分析得出，全日照、半层遮阳网、一层遮阳网三组处理间差异均达显著水平（*P*＜0.05），一层遮阳网与一层半遮阳网组间无显著性差异（*P*＞0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-8 | 光照胁迫下红腺 | 忍冬茎中绿原酸含量( | *X* | ±SD ，n=3） |
| 分组 | 取样量  （g） | 平均绿原酸含量  （mg/g） |  | 平均百分含量  （%） |
| 全日照 | 0.5001 | 21.64 |  | 2.16±0.004a |
| 半层遮阳网 | 0.5002 | 11.44 |  | 1.14±0.0077b |
| 一层遮阳网 | 0.5000 | 9.94 |  | 0.99±0.0112c |
| 一层半遮阳网 | 0.5001 | 9.72 |  | 0.97±0.0094c |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.7.1.8** 光照胁迫下红腺忍冬花、叶、茎中绿原酸的含量比较

由表2-9和图2-1可以看出，光照胁迫下红腺忍冬花、茎中绿原酸含量，随着光照强度的加强，绿原酸含量呈上升趋势，而叶片中绿原酸含量与花、茎中绿原酸的含量呈相反趋势，即随着光照强度的加强，绿原酸含量呈下降趋势，且除对照组（全日照）外，其他组（半层遮阳网、一层遮阳网、一层半遮阳网）绿原酸含量均大于花、茎中绿原酸的含量。对照组（全日照）绿原酸的含量，青花＞银花＞金花＞叶＞茎。



7

6

5

4

3

2

青花

银花金花叶茎

1

0

0

20

40

60

光照强度%

80

100

120

表 2-9 光照胁迫下红腺忍冬花、叶、茎中绿原酸的含量比较

| 光照强度（%） | 青花（%） | 银花（%） | 金花（%） | 叶（%） | 茎（%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 100.00 | 6.03 | 5.15 | 4.51 | 4.18 | 2.16 |
| 35.79 | 4.30 | 4.12 | 3.91 | 5.29 | 1.14 |
| 24.31 | 3.96 | 3.76 | 3.63 | 5.75 | 0.99 |
| 11.16 | 3.59 | 3.25 | 2.87 | 6.30 | 0.97 |

图2-1 光照胁迫下红腺忍冬花、叶、茎中绿原酸含量变化图

绿原酸含量%

### 2.8 灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的含量测定同1.8项测定

#### **2.8.1** 结果与分析

##### **2.8.1.1** 光照胁迫对红腺忍冬青花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

由表2-10可以看出，光照胁迫下红腺忍冬青中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量，随着光照强度的加强，含量呈上升趋势，含量和在1.95%~4.93%之间。对照CK组即全日照组的毡毛忍冬皂苷乙、川续断

皂苷乙的含量最大，分别达2.54％和2.39%，符合《中国药典》规定的不低于5.0%，经方差分析得出，全日照、半层遮阳网、一层遮阳网三个处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05），一层遮阳网与一层半遮阳网处理组间无显著性差异（*P*＞0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-10 光 | 照胁迫青花 | 中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续 | 断皂苷乙含量（ *X* ±SD | ，n=3） |
| 分组 | 称样量  （g） | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) | 百分含量和  （%） |
| 全日照 | 0.5007 | 2.64±0.0087a | 2.49±0.01a | 5.13 |
| 半层遮阳网 | 0.5009 | 1.34±0.002b | 1.39±0.0008b | 2.73 |
| 一层遮阳网 | 0.5006 | 1.09±0.0033c | 1.13±0.0024c | 2.22 |
| 一层半遮阳网 | 0.5011 | 0.93±0.0032c | 1.02±0.0023c | 1.95 |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.8.1.2** 光照胁迫对红腺忍冬银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

由表2-11可以看出，光照胁迫下红腺忍冬银中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量，随着光照强度的加强，含量呈上升趋势，含量和在2.02%~3.49%之间。对照CK组即全日照组的毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量最大，分别达1.92％和1.57%，低于《中国药典》规定的含量和不低于5.0%，经方差分析得出，全日照、半层遮阳网、一层遮阳网三个处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-11 光 | 照胁迫银花 | 中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断 | 皂苷乙含量（ *X* ±SD ， | n=3) |
| 分组 | 称样量  （g） | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) | 百分含量和（%） |
| 全日照 | 0.5007 | 1.92±0.0077a | 1.67±0.0037a | 3.59 |
| 半层遮阳网 | 0.5009 | 1.20±0.0015b | 1.17±0.0004b | 2.37 |
| 一层遮阳网 | 0.5006 | 1.10±0.0033c | 1.19±0.0035b | 2.29 |
| 一层半遮阳网 | 0.5011 | 0.94±0.0033c | 1.08±0.0035c | 2.02 |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

##### **2.8.1.3** 光照胁迫对红腺忍冬银花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量的影响

由表2-12可以看出，光照胁迫下红腺忍冬银中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量，随着光照强度的加强，含量呈上升趋势，含量和在1.97%~3.69%之间。对照CK组即全日照组的毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量最大，分别达2.19％和1.50%，低于《中国药典》规定的含量和不低于5.0%，经方差分析得出，全日照、半层遮阳网、一层遮阳网三个处理组间差异均达显著水平（*P*＜0.05），一层遮阳网与一层半遮阳网处理组间无显著性差异（*P*＞0.05）。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 表 2-12 光 | 照胁迫金花 | 中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断 | 皂苷乙含量（ *X* ±SD ， | n=3) |
| 分组 | 称样量  （g） | 平均灰毡毛忍冬皂苷乙百分含量(%) | 平均川续断皂苷乙百分含量(%) | 百分含量和（%） |
| 全日照 | 0.5002 | 2.19±0.0087a | 1.50±0.0029a | 3.69 |
| 半层遮阳网 | 0.5006 | 1.43±0.0042b | 1.42±.0.0112b | 2.85 |
| 一层遮阳网 | 0.5007 | 1.19±0.0002c | 1.17±0.0066c | 2.36 |
| 一层半遮阳网 | 0.5012 | 0.97±0.0002c | 1.00±0.0066c | 1.97 |

注：表中小写字母表示两两比较*P*<0.05的显著水平

### **2.9** 讨论与小结

充足的光照有利于绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的合成与积累。红腺忍冬花、茎中绿原酸及花中灰毡毛忍冬皂苷乙、川续断皂苷乙的含量随光照强度的加强，绿原酸含量呈曲线上升趋势，说明充足的光照有利于绿原酸的合成与积累。光照时间、强度与纬度、坡向、季节有密切关系[18]，如在一定范围内，随纬度的升高，日照时间相应延长，光照强度的加强，对于药用植物的某些有效成分的积累产生积极的

影响。植物通过光合作用制造有机物，经过植物体内的运输和转化产生各级代谢产物，而绿原酸是由咖啡酸与奎尼酸生成的缩酚酸，是植物体在有氧呼吸过程中经莽草酸途径产生的一种苯丙素类化合物。而红腺忍冬叶片中绿原酸含量，随光照强度加强呈下降趋势，说明其叶片中累积合成的绿原酸较多。因为植株不同部位对次生代谢产物积累存在差异，鞣质、蒽醌、总黄酮、生物碱、绿原酸等次生代谢产物，其主要由叶片合成，可通过茎运输到其他器官，但多数仍贮存在叶片中。忻城县岩石

ft区较该地区的平原地区，海拔较高，且许多红腺忍冬种植区域为向阳坡，光照时间、光照强度相对较长或较强，此外，红腺忍冬植株攀援覆盖在岩石上，除了照射在植株表面的自然光照外，岩石反射出来的散射光也照射到植株上，多角度照射，扩大植株的受光面，从而提高光照利用率，光合作用得到加强，有机物合成增多，有氧呼吸得到加强，故而合成的绿原酸也会增多。因此，在生产栽培种植中，可以通过调整植株的种植密度的措施来改变光强，从而达到最佳的种植效果，获得最大收益。

光照和水分作为生态因子一部分，对植物生长发育和有效成分的形成与积累的有着重要的影响，在引种或大量栽培时为寻求产量与质量的最佳结合，应注意选择适宜的光照、水分等环境条件，这在中药的规范化生产管理中有举足轻重的意义。

# 第二部分 红腺忍冬繁殖研究

广西ft银花野生种质资源虽然十分丰富，然而近年来由于缺乏资源保护及持续发展[13]，仅靠野生资源已难以满足市场需求，必须快速发展人工种植。红腺忍冬的繁殖方法有种子，扦插，分株，压条和嫁接繁殖，生产上常采用扦插和播种方式，但繁殖率低，难以满足市场对大量种苗的需求，且有关红腺忍冬种苗的研究报道不多。吴庆华[11]等在对广西ft银花资源调查报告中，对红腺忍冬繁育技术通过比较不同的繁育方法，提出用于大批量生产以种子繁育为优。种子繁殖的优点是：一次播种可获得大量苗木，种子采集、贮存、运输方便，生长旺盛，抗逆性强，易驯化。种子育苗是一种常用的繁殖方式，很多药用植物的种子繁殖技术比较成熟[19~21]，但红腺忍冬的种子繁殖，及其种子萌发特性方面的研究鲜见报道，本文首次从生物学角度对红腺忍冬的种子萌发特性进行研究，探索不同基质、温度、光照（光照强度和光照时间）、pH值和水分、盐分胁迫等条件对红腺忍冬种子萌发的影响；以期提高种子的萌发率和成活率，为缩短红腺忍冬种子的萌发时间，提高种子的发芽率，扩大红腺忍冬种源奠定基础。

虽然毛花柱忍冬*Lonicera dasystyla* Rehd.自2005版《中国药典》不再收载，但其适应性强，扦插成活率高，随插随活，因此，本研究以红腺忍冬为接穗，毛花柱忍冬为砧木进行嫁接，探索不同植物激素、不同激素的浓度和不同年限接穗等对嫁接成活的影响，以期提高红腺忍冬嫁接成活率，为选育出一个既具有红腺忍冬高产、稳产、品质优、抗逆性和抗病虫害、适应性强等特性，又具有毛花柱忍冬易于繁殖特性的新品种（系）的研究提供基础研究。

## **1** 红腺忍冬种子形态、生物学和生理指标的研究

### **1.1** 红腺忍冬种子的形态学与生物学特性的测定

#### **1.1.1** 实验仪器

显微镜（上海长方光学仪器有限公司XTL-240）；游标卡尺（上海恒量量具有限公司0-150mm）；梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；研钵；称量瓶等。

#### **1.1.2** 实验材料

采自广西来宾忻城县北更乡加乐村的红腺忍冬种子，去掉果皮阴干储存和带果皮阴干储存。

#### **1.1.3** 实验方法

##### **1.1.3.1** 种子形态学的测定

随机选取去掉果皮晾干的种子30粒，分成3组，在实体解剖镜下观

察种子的型态、色泽；并用游标卡尺测量10粒均匀饱满的种子种子的纵轴与长轴的长度，计算平均值。

##### **1.1.3.2** 千粒重的测定

随机选取1.1.2项下的种子各100粒，用电子天平称重，精确到0.01g，

重复8次，记录数据，换算成1000粒种子的重量[22]。结果见表1-1。

##### **1.1.3.3** 种子含水量的测定

随机选取1.1.2项下的种子约2g，研成粉末（直径小于3mm），平铺于干燥恒重的称量瓶中，盖紧，每个处理平行2份，精密称定，置于105℃恒温干燥箱中烘5小时，取出盖好，在干燥器中冷却至室温，精密称定，直至连续两次称重的差异不超过5mg为止。根据减失的重量，计算供试品的含水量。结果见表1-2。

#### **1.1.4** 结果分析

##### **1.1.4.1** 种子形态学的结果

由观察和测定可知，成熟的红腺忍冬种子为褐色，长椭圆形，表面粗糙，种皮革质，中部有一条突起的纵脊，自纵脊向外有放射状细凸纹。

纵轴长(3.466±0.003) mm，横轴长（2.365±0.003）mm。

##### **1.1.4.2** 种子千粒重的测定结果

由表1-1可以看出，带果皮储存的种子千粒重比不带果皮储存的种子重。

表1-1 红腺忍冬种子千粒重

| 分组 | 平均百粒重（g） | 平均千粒重（g） |
| --- | --- | --- |
| 带皮储存种子 | 0.4140 | 4.1400 |
| 不带皮储存种子 | 0.3939 | 3.3939 |

##### **1.1.4.3** 种子水分测定结果

由表1-2知，带果皮储存的种子含水量略多于不带果皮储存的种子，但是差异不明显。

表1-2 红腺忍冬种子含水量

| 分组 | 含水量 1(%) | 含水量 2(%) | 平均含水量(%) |
| --- | --- | --- | --- |
| 带果皮种子 | 12.10 | 11.81 | 11.96 |
| 不带果皮种子 | 11.21 | 11.20 | 11.21 |

### **1.2** 红腺忍冬种子蛋白质的含量测定——采用考马斯亮蓝法**[23]**

#### **1.2.1** 实验仪器

岛津UV160紫外可见分光光度计；梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；高速冷冻离心机（TGL-20M）；研钵；试管；15ml离心管。

#### **1.2.2** 实验试剂和药品

二硫苏糖醇、考马斯亮蓝G-25、95%乙醇、磷酸（国药集团化学试剂有限公司）；石英砂（天津市科密欧化学试剂有限公司）；牛血清蛋白

（上海万安生物科技有限公司）；去离子水。

考马斯亮蓝溶液配制：称取考马斯亮蓝G-250 100mg，加入95%乙

醇50ml，和85%磷酸100ml，然后定容至1000ml。

牛血清蛋白标准母液配制：用去离子水配成200μg/ml。

#### **1.2.3** 实验材料

同1.1.2

#### **1.2.4** 蛋白质含量提取

称取1.1.2项下的种子约0.5g置于研钵中加蒸馏水2ml，加入少量石英砂，在冰浴中快速研磨成匀浆，匀浆倒入离心管中，再用6ml提取液

（分两次）将研钵中的匀浆洗入离心管，然后在10000r/min，4℃条件下离心20min，上清液即为可溶性蛋白质提取液。

#### **1.2.5** 显色方法

上述上清液取1ml放入试管中，以空白对照管加蒸馏水1ml，然后分别加入考马斯亮蓝染色液5ml，摇匀，在595nm波长处测定其吸光度（A）值。

#### **1.2.6** 牛血清蛋白标准曲线的制作

取6支试管，编号，按照下表配制每管含量为0~100μg的牛血清蛋白标准液。

表1-3 牛血清蛋白质曲线制作表

| 试剂 |  |  | 试管编号 | |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 200ug/ml 牛血清蛋白质标准液  （ml） | 0 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.6 | 0.7 |
| 去离子水(ml) | 1 | 0.8 | 0.7 | 0.6 | 0.4 | 0.3 |
| 考马斯亮蓝溶液(ml) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 每管牛血清蛋白含（μg） | 0 | 40 | 60 | 80 | 120 | 140 |

加入表中的试剂后，摇匀，以0号管为空白对照，在595nm波长处测定其吸光度（A）值。

表1-4 牛血清蛋白质曲线数值

| 试管编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蛋白质含量（μg） | 40 | 60 | 80 | 120 | 140 |
| 吸光度（A）值 | 0.1202 | 0.226 | 0.3181 | 0.532 | 0.6355 |

牛血清蛋白质标准工作曲线

0.7

0.6

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

0

0

50

100

150

牛血清蛋白质含量

以牛血清蛋白含量为横坐标，吸光度值为纵坐标，绘制标准曲线。线性方程为Y=0.0051X-0.0868，R=0.9998，表明蛋白质含量在40μg~140μg范围内线性关系良好。

吸光度

图1-1 牛血清蛋白的标准曲线图

#### **1.2.7** 样品测定

按1.2.4项下方法提取蛋白质溶液，每个样品平行制备2份，于595nm

波长下测定吸光度，根据回归方程计算含量。

#### **1.2.8** 结果分析

由表1-5可见，带果皮储存的种子蛋白质含量低于不带果皮储存的种子。

表1-5 红腺忍冬种子蛋白质的含量

| 分组 | 蛋白质含量（μg·g-1）1 | 蛋白质含量（μg·g-1）2 | 平均蛋白质含量  （μg·g-1） |
| --- | --- | --- | --- |
| 带果皮种子 | 122.544 | 148.208 | 135.376 |
| 不带果皮种子 | 162.272 | 159.344 | 160.808 |

注：表中数据为三组重复数据的平均值

### **1.3** 红腺忍冬种子可溶性糖含量测定——采用蒽酮比色法**[23]**

#### **1.3.1** 实验仪器

岛津UV160紫外可见分光光度计；梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；水浴锅；刻度试管；移液管。

#### **1.3.2** 实验试剂与药品

蔗糖（国药集团化学试剂有限公司，批号20120827）；蒽酮、浓硫酸

（国药集团化学试剂有限公司）。

蒽酮-浓硫酸试剂：称取分析纯蒽酮200mg，溶于100ml浓硫酸中，贮于棕色瓶中，在黑暗中可保存数星期。浓硫酸（比重1.84）。

1%蔗糖标准液：将分析纯蔗糖在80℃下烘至恒重，精确称取1.0g，加入少量水溶解。转入100ml容量瓶中，用蒸馏水定容至刻度。

100μg/ml蔗糖标准液：用移液管精确量取1%蔗糖标准液1mL加入

100mL容量瓶中，加水至刻度。

#### **1.3.3** 实验材料

同1.1.2

#### **1.3.4** 蔗糖标准曲线的制作

取20ml刻度试管6支，从0~5分别编号，按下表加入溶液和蒸馏水。

表1-6 可溶性糖标准曲线制作试剂量

| 试剂 |  |  | 试管编号 | |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 100μg/ml 蔗糖标准液 | 0 | 0.2 | 0.6 | 0.8 | 1.0 | 1.6 |
| 蒸馏水（mL） | 2 | 1.8 | 1.4 | 1.2 | 1.0 | 0.4 |
| 蒽酮浓硫酸试剂(mL) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 蔗糖含量（μg） | 0 | 20 | 60 | 80 | 100 | 160 |

按上表向试管中加入溶液，充分振荡，立即将试管放入沸水浴中，逐管准确保温1min，取出后自然冷却至室温，以空白作参比，在620nm波长下测其吸光度，以吸光度为纵坐标，以糖含量为横坐标，绘制标准曲线，并求出标准线性方程，Y=0.0046X﹢0.0458，R=0.9997。

0.9

0.8

0.7

0.6

0.5

0.4

0.3

0.2

0.1

0

0

20

40

60

80

100

120

140

160

180

蔗糖含量μ g

表1-7 蔗糖标准曲线值

| 试管编号 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 蔗糖含量（μg） | 20 | 60 | 80 | 100 | 160 |
| 吸光度 | 0.14181 | 0.321047 | 0.406603 | 0.495003 | 0.78191 |

图1-2 蔗糖标准工作曲线图

吸光度

#### **1.3.5** 可溶性糖测定

取1.1.2项下种子，用研钵研碎，各称取0.5g，平行2份，分别放入

2支试管中，加入10mL蒸馏水，加盖封口，于肺水中提取30min（提取2次），提取液过滤入50mL容量瓶中，反复漂洗试管及残渣，定容至刻度，即为种子可溶性糖的样品提取液。

#### **2.3.1** 显色测定

吸取样品提取液0.4mL于20mL刻度试管中（重复2次），加蒸馏水

#### 1.6mL，然后按顺序向试管中加入5mL蒽酮-浓硫酸试剂，充分振荡，立即将试管放入沸水浴中准确保温1min，取出后自然冷却至室温，在620nm波长下测其吸光度，计算可溶性糖的含量。

#### **1.3.7** 结果分析

由表1-8可以看出，带果皮储存的种子可溶性糖含量高于不带果皮储存的种子。

表1-8 红腺忍冬种子可溶性糖含量

| 分组 | 平均可溶性糖含量（μg·g-1） | 平均可溶性糖含量（%） |
| --- | --- | --- |
| 带果皮种子 | 31497.81 | 3.1498 |
| 不带果皮种子 | 26849.56 | 2.6850 |

注：表中数据为三组重复数据的平均值

### **1.4** 红腺忍冬种子粗脂肪含量测定

#### **1.4.1** 实验仪器

索氏提取器；恒温水浴锅；恒温鼓风干燥箱（上海精宏实验设备有限公司）；梅特勒-托利多AE100电子分析天平（瑞士梅特勒-托利多公司）；陶瓷研钵；称量瓶；脱脂滤纸；定量滤纸。

#### **1.4.2** 实验试剂

乙醚（国药集团化学试剂有限公司）。

#### **1.4.3** 实验材料

同1.1.2

#### **1.4.4** 粗脂肪的提取

随机取1.1.2项下红腺忍冬种子约7g，于研钵中充分研细，放入称量瓶中，置100℃温度烘3-4小时，放入干燥器中冷却。精密称取研细烘干的样品5g，再用已烘干称重的定量滤纸（称重）把样品包成小包，称重，放人索氏抽提器中，在抽提器冷凝管上端放一脱脂棉球，以防水分进入和乙醚挥发，在70℃左右，进行索氏提取6～12小时。

#### **1.4.5** 粗脂肪的测定

将上述提取后样品包放于称量瓶中（已经干燥至恒重），于干燥器内放置30分钟挥掉乙醚，再于95~105℃烘1～2小时，放入干燥器内冷却

30min，称定样品包的重量，直至恒重。通过重量差异法，计算红腺忍冬种子中粗脂肪的含量。

#### **1.4.6** 结果分析

由表1-9可以看出，带果皮储存的种子粗脂肪含量高于不带果皮储存的种子。

表1-9 红腺忍冬种子粗脂肪含量

| 分组 | 样品重  （g） | 实验前样品包重  （g） | 实验后样品包重  （g） | 粗脂肪含量（%） |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 带果皮种子 | 5.0240 | 5.9969 | 4.7220 | 25.3762 |
| 不带果皮种子 | 5.0604 | 6.0414 | 4.8668 | 23.2116 |

## **2** 红腺忍冬种子萌发特性的研究

### **2.1** 实验仪器

人工气候培养箱（LRH-250-GSI）、蒸湿机；PH计（PHS-25）；培养皿；镊子；烧杯。

### **2.2** 实验材料

采自广西来宾忻城县北更乡加乐村，去掉果皮阴干、均匀饱满的红腺忍冬种子。

### **2.3** 种子前处理和器皿消毒

种子用无菌水浸泡24h后，用0.5%的多菌灵浸泡30min进行消毒，用无菌水清洗5遍，待用。

在培养的前一天，将培养皿、镊子、纱布和烧杯等，采用高温消毒灭菌；培养箱用75%酒精进行消毒。

### **2.4** 实验设计

#### **2.4.1** 不同消毒方式对种子萌发的影响试验

随机选取红腺忍冬种子，采用不同消毒试剂（0.5%高锰酸钾、0.5%硫酸铜、10%双氧水、0.5%多菌灵、50℃煮沸过的水）进行消毒，浸泡时间为0.5h，于培养箱中培养，温度25℃，湿度65%。试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复50粒。

#### **2.4.2** 不同光照时间对红腺忍冬种子们萌发的影响试验

随机选取2.3项下的红腺忍冬种子，培养时采用不同光照时间（24h光照、12h光照、全黑）进行培养，温度25℃，湿度65%。试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复50粒。

#### **2.4.3** 不同储存方式对红腺忍冬种子萌发的影响试验

随机选取带果皮储存和不带果皮储存的红腺忍冬种子，清水浸泡24h，用0.05%多菌灵消毒0.5h，无菌水清洗干净，于培养箱中培养，温度25℃，湿度65%。试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复

50粒。

#### **2.4.4** 不同基质对红腺忍冬种子们萌发的影响试验

培养基质为细河沙；红泥土；土；细河沙：红泥土=1: 2；细河沙：土

=1: 2. 分别将基质装入黑色育苗杯中，培养前用0.5%多菌灵对基质进行消毒，随机选取2.3项下处理后的种子，进行培养，试验采用完全随机区组设计，4个重复，每个重复20粒。

#### **2.4.5** 不同浓度**NaCl**溶液浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验

随机选取2.3项下的红腺忍冬种子，用不同浓度NaC（l 3%、6%、10%、

15%、20%）浸泡12h，无菌水清洗干净，培养基质采用细河沙：土=1: 2

（0.5%多菌灵消毒），进行培养，试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复20粒。

#### **2.4.6** 不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验

随机选取2.3项下的红腺忍冬种子，用不同浓度赤霉素（100mg/L、200 mg/L、400 mg/L、600 mg/L）浸泡12h，无菌水清洗干净，于培养箱中培养，温度25℃，湿度65%。试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复30粒。

#### **2.4.7** 机械破除加不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响试验

随机选取红腺忍冬种子，清水浸泡24h，用砂纸磨破其种皮，0.5%

多菌灵消毒后，用不同浓度赤霉素（100mg/L、200 mg/L、400 mg/L、600

mg/L）浸泡12h，无菌水清洗干净，于培养箱中培养，温度25℃，湿度

65%。试验采用完全随机区组设计，3个重复，每个重复30

粒。

### **2.5** 结果分析

#### **2.5.1** 不同消毒方式对种子萌发的影响

由表1-10可以看出，红腺忍冬种子用0.5%多菌灵进行消毒后的发芽势和发芽率都达到最好，分别为26.67%和33.33%。其次是用0.5%高锰酸钾，发芽势和发芽率分别为20.67%和34.00%。多重比较发现，从发芽势来看，除0.5%硫酸铜外，其他处理组均与对照组没有达到显著性差异

（*P*＞0.05）。从发芽率来看，除0.5%硫酸铜处理与50℃无菌水外、其他处理组均与对照组存在显著性差异（*P*＜0.05）。

表1-10 不同消毒溶液对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 消毒试剂 | 处理时间（h） | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 无菌水（对照） | 0.50 | 16.00bc | 24.50c |
| 0.5%高锰酸钾 | 0.50 | 20.67ab | 34.00a |
| 0.5%硫酸铜 | 0.50 | 12.67c | 24.67c |
| 10%双氧水 | 0.50 | 18.00bc | 32.67ab |
| 0.5%多菌灵 | 0.50 | 26.67a | 33.33a |
| 50℃无菌水 | 0.50 | 18.67bc | 27.33bc |

不同消毒试剂对种子萌发的影响

40

35

30

25

20

15

10

5

0

平均发芽势

平均发芽率

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

图1-3 不同消毒溶液对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.2** 不同光照时间对红腺忍冬种子们萌发的影响

由表1-11可以看出，不同光照时间对红腺忍冬种子的发芽势和发芽率的影响无显著差异水平（*P*＞0.05），可能与红腺忍冬种子光敏性弱的特性有关。

表1-11 不同光照时间对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- |
| 24h 光照 | 22.67 a | 24.00a |
| 全黑暗 | 20.67 a | 22.67 a |
| 12h 光照 | 18.67a | 22.00 a |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

不同光照时间对红腺忍冬种子萌发的影响

30

25

20

15 平均发芽势（%）

平均发芽率（%）

10

5

0

24h光照 全黑暗 12h光照

图1-4 不同光照时间对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.3** 不同储存方式对红腺忍冬种子萌发的影响

由表1-12可以看出，带果皮储存方式和不带果皮储存方式对红腺忍冬种子的发芽势和发芽率无显著差异水平（*P*＞0.05）。

表1-12 不同储存方式对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- |
| 带果皮 | 15.33a | 26.67a |
| 不带果皮 | 14.00a | 25.33a |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

不同存储方式对红腺忍冬种子萌发的影响

30

25

20

15

10

平均发芽势（%）

平均发芽率（%）

5

0

带果皮

不带果皮

图1-5 不同储存方式对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.4** 不同基质对红腺忍冬种子萌发的影响

由表1-13可以看出，红腺忍冬种子用红泥土作为基质的发芽势和发芽率都达到最好，分别为38.33%和45.00%。多重比较发现，从发芽势来看，除河沙处理组外，其他处理组与红泥土处理组均存在显著性差异（*P*＜

0.05）；从发芽率来看，河沙和红泥土：河沙（2: 1）处理组与红泥土处理组无显著性差异（*P*＞0.05），说明此三处理组均能使红腺忍冬达到较好的发芽率。

表1-13 不同基质对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- |
| 土 | 25.00d | 30.00c |
| 红泥土 | 38.33a | 45.00a |
| 河沙 | 35.00ab | 43.33ab |
| 土：河沙（2: 1） | 26.67cd | 36.67bc |
| 红泥土：河沙（2: 1） | 31.67bc | 40.00ab |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | | | | | | | | | | | | | | | |
|  | | | | |  |  | |  |  | | | | | | |
|  | | | |  |  | |  | |  |  | |  |  |
|  | | | |  |  |  | |  |  |  |  |
|  | |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

不同基质对红腺忍冬种子萌发的影响

50

45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

平均发芽势（%）

平均发芽率（%）

图1-6 不同基质对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.5** 不同浓度**NaCl**溶液浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响

由表1-14可以看出，红腺忍冬种子用3%NaCl和15%NaCl溶液侵泡后的发芽势都达到最好，分别为30.00%和28.33%；而用15%NaCl溶液侵泡后的发芽率达到最好，发芽率为40.56%。多重比较发现，从发芽势及发芽率来看，除10%NaCl外，其他处理组与对照组均无显著性差异

（*P*＞0.05），但15%NaCl处理组的发芽势和发芽率均高于对照组。

表 1-14 不同浓度NaCl溶液侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 处理时间(h) | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组（清水） | 12.00 | 26.67ab | 35.00ab |
| 3%NaCl | 12.00 | 30.00a | 35.00ab |
| 6%NaCl | 12.00 | 23.33ab | 33.33ab |
| 10%NaCl | 12.00 | 11.67c | 21.11c |
| 15%NaCl | 12.00 | 28.33a | 40.56a |
| 20%NaCl | 12.00 | 18.33bc | 26.67bc |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

不同NaCl浓度溶液对红腺忍冬种子萌发的影响

45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

平均发芽势（%）

平均发芽率（%）

清水 3%NaCl 6%NaCl 10%NaCl 15%NaCl 20%NaCl

图1-7 不同浓度NaCl溶液侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.6** 不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响

由表1-15可以看出，红腺忍冬种子200mg/L赤霉素溶液侵泡后的发芽势及发芽率都达到最好，分别为28.89%和46.67%。多重比较发现，从发芽势及发芽率来看，200mg/L赤霉素处理组与对照组有显著性差异（*P*

＜0.05），其他处理组与对照组均无显著性差异（*P*＞0.05）；而从发芽率来看，200mg/L赤霉素处理组与400mg/L赤霉素处理组无显著性差异（*P*

＞0.05），200mg/L赤霉素处理组与100mg/L、600 mg/L赤霉素两处理组和对照组均存在显著性差异（*P*＜0.05）。

表 1-15 不同浓度赤霉素侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 处理时间(h) | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 对照组（清水） | 12.00 | 20.00bc | 34.44bc |
| 100mg/L 赤霉素 | 12.00 | 16.67c | 37.78c |
| 200mg/L 赤霉素 | 12.00 | 28.89a | 46.67a |
| 400mg/L 赤霉素 | 12.00 | 24.44ab | 42.22ab |
| 600mg/L 赤霉素 | 12.00 | 23.33abc | 38.89bc |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

不同浓度赤霉素对红腺忍冬种子萌发的影响

50

45

40

35

30

25

20

15

10

5

0

平均发芽势（%）

平均发芽率（%）

清水 100mg/L 200mg/L 400mg/L 600mg/L

图1-8 不同浓度赤霉素侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

#### **2.5.7** 机械破除后不同浓度赤霉素浸泡后对红腺忍冬种子萌发的影响

由表1-16可以看出，红腺忍冬种子机械破除后200mg/L赤霉素溶液侵泡的发芽率达到最好，48.89%。多重比较发现，从发芽势来看，100mg/L赤霉素、200mg/L赤霉素和400mg/L赤霉素三个处理组间无显著性差异

（*P*＞0.05），但均与对照组存在显著性差异（*P*＜0.05），且都高于对照组；从发芽率来看，200mg/L赤霉素处理组与100mg/L赤霉素处理组无显著性差异（*P*＞0.05），但其与其他处理组和对照组均存在显著性差异（*P*＜0.05）。

表 1-16 机械破除后不同浓度赤霉素侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较

| 分组 | 处理时间(h) | 平均发芽势（%） | 平均发芽率（%） |
| --- | --- | --- | --- |
| 机+清水 | 12.00 | 23.33b | 34.44c |
| 机+100mg/L | 12.00 | 32.22a | 44.44ab |
| 机+200mg/L | 12.00 | 32.22a | 48.89a |
| 机+400mg/L | 12.00 | 32.22a | 40.00bc |
| 机+600mg/L | 12.00 | 27.78ab | 34.44c |

注：表中数据为三组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05的显著水平

机械破除后不同浓度赤霉素对红腺忍冬种子萌发的影响

60

50

40

30

20

10

0

机+清水 机+100mg/L 机+200mg/L 机+400mg/L 机+600mg/L

平均发芽势（%） 平均发芽率（%）

图1-9 机械破除后不同浓度赤霉素侵泡后对红腺忍冬种子萌发影响的比较图

### **2.6** 讨论与小结

#### **2.6.1** 种子萌发特性的讨论

红腺忍冬种子带果皮储存的蛋白质含量小于不带果皮储存的种子，而千粒重、含水量、可溶性糖含量、粗脂肪含量均大于不带果皮存储的种子，这可能是带果皮储存的种子里含水量高，微生物容易在其生长，消耗种子内蛋白质，使其蛋白质减少的原因；ft银花种子有光敏性较弱的特性，以致在萌发是光照对其影响较少；萌发过程选用0.5%多菌灵消毒种子，激素和盐处理种子，有助于打破种子的休眠，使种子的发芽率得到提高，考虑其安全、有效、方便、实惠等因素，选择最优方法在广西ft区农民种植ft银花大量推广应用。

#### **2.6.2** 种子萌发特性的小结

红腺忍冬种子带果皮储存的千粒重、含水量、可溶性糖含量、粗脂肪含量均大于不带果皮存储的，蛋白质含量小于不带果皮储存的种子；光照时间和不同储存方式对种子的萌发没有显著影响；红腺忍冬种子萌发，最佳的消毒方法为0.5%多菌灵，消毒0.5h，发芽率达33.33%；最佳培养基质为红泥土，发芽势达38.33%和发芽率达45.00%；最优盐处理浓度为15%浸泡12h，发芽势和发芽率分别达28.33%和40.56%；单一激素处理较优的为200mg/L赤霉素浸泡12h，发芽势和发芽率分别达28.89%

和46.67%；机械破除种皮后较优激素处理为200mg/L赤霉素浸泡12h, 发芽势和发芽率分别达32.22%和48.89%。综上单因素考察推断出最佳红腺忍冬种子萌发方案：0.5%多菌灵消毒0.5h，用红泥土作为培养基质，机械破除种皮后用200mg/L赤霉素浸泡12h。

## **3** 红腺忍冬嫁接繁殖研究

### **3.1** 实验仪器

嫁接刀（日本佐川吉200T）；剪刀（枝剪）；嫁接薄膜；

### **3.2** 试剂和药品

萘乙酸（上海强顺化学试剂有限公司）；吲哚乙酸（天津市科密欧化学试剂有限公司）；吲哚丁酸天津市科密欧化学试剂有限公司）；赤霉素

（成都市科龙化工试剂厂）；75%酒精。

### **3.3** 材料来源和嫁接制作

本试验的嫁接材料的砧木为毛花柱忍冬，来自于广西农业科学院苗圃园内，为一年生苗木。接穗为采自广西来宾忻城县红腺忍冬的枝条经扦插成活的1~2年生苗木。

选择阴天采集接穗枝条，在红腺忍冬母株上选取生长健壮，无病虫害，带饱满芽的3~5个月生的枝条，注意保湿；采用劈接法嫁接，先削砧木后削接穗；根据试验接穗削成楔形，有2个对称削面，长1～2cm，接穗的内外厚度一致或内侧稍厚，削面要求平直光滑，保留2-3个芽胞，叶子全部剪掉，保留小部分叶柄。砧木在嫁接部位剪断，截口表面光滑，纹理通直，至少在上下4cm内无伤疤，待嫁接部位选好剪断后，用劈刀在砧木中心纵劈1刀，使劈口深约与接穗长度相近2～3cm。砧木嫁接处以下的芽胞要求剔除。

### **3.4** 材料的消毒

嫁接前一周，对嫁接用砧木的苗木和接穗的苗木用1/3000多菌灵进行喷洒消毒。

嫁接用的嫁接刀和剪刀（枝剪）用75%酒精进行消毒灭菌，待晾干后再进行剪枝和嫁接。

### **3.5** 嫁接方法

采用劈接法嫁接，砧木植入盆栽中，嫁接长度为接穗长度的3/5。每株毛花柱忍冬砧木嫁接2枝，用嫁接膜捆绑结实，洒水。

### **3.6** 实验设计

#### **3.6.1** 不同激素浓度处理对嫁接成活的影响试验

选取半年生的红腺忍冬枝条，制成接穗，用不同浓度的萘乙酸NAA

（激素浓度为: 30mg/L、60mg/L、80mg/L、100mg/L）处理接穗，浸蘸时间为5s，试验采用完全随机区组设计，2个重复，每个处理10枝。

#### **3.6.2** 不同激素处理对嫁接成活的影响试验

选取半年生的红腺忍冬枝条，制成接穗，用不同激素种类（吲哚乙酸IAA、吲哚丁酸IBA、萘乙酸NAA、赤霉酸GA），激素浓度选用80mg/L处理接穗，浸蘸时间为5s，试验采用完全随机区组设计，2个重复，每个处理10枝。

#### **3.6.3** 不同生长时限接穗对嫁接成活的影响试验

选取一个月生、半年生和一年生的红腺忍冬枝条，制成接穗，激素选用80mg/L的NAA萘乙酸处理接穗，浸蘸时间为5s，试验采用完全随机区组设计，2个重复，每个处理10枝。

### **3.7** 嫁接与管理

接穗制成后，立即接入削好的砧木中，使其接触紧密，用嫁接膜捆绑结实，时间越短越好。

在水分管理方面，天气较水分，嫁接枝条有萎蔫现象时，每天早上8点至晚上7点，每隔2h喷洒一次，使枝条挂满水珠，且盆栽中也保持湿润；天气为阴天时，空气湿度达70%以上的，每天早中晚各喷洒一次。

### **3.8** 观察与记录

嫁接完1-2周后嫁接口处会有愈伤组织形成，一个月后开始从接穗节

结处长芽，待其长至15cm左右，将嫁接膜的解开，变为轻微绑缚。对每个处理进行愈伤组织形成率和发芽率等指标的测定和记录，并用DPS7.05版进行数据处理。

### **3.9** 结果分析

#### **3.9.1** 不同激素浓度处理对嫁接成活的影响

从表3-1可以看出，不同浓度NAA处理对红腺忍冬嫁接成活率各不相同，且高浓度（100mg/L）的成活率低于对照组（清水）。多重比较发现，从发芽率来看，NAA60mg/L与每个处理均达到显著水平，且其发芽率最高，达25%; NAA60mg/L和NAA80mg/L与对照组没有达到显著水平（*P*＜0.05）。从愈伤组织形成看，NAA60mg/L和NAA80mg/L与对照组均达到显著水平，且形成率都高于对照组。

表2-1 不同激素浓度处理对红腺忍冬嫁接成活率的影响

| 激素种类 | 激素浓度  （mg/L） | 处理时间  （s） | 发芽总数  （个） | 平均发芽率  （%） | 平均愈伤组织形成率  （%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 清水 | 0 | 5 | 2 | 10ab | 45bc |
| NAA | 30 | 5 | 2 | 10ab | 45bc |
| NAA | 60 | 5 | 5 | 25a | 85a |
| NAA | 80 | 5 | 4 | 20ab | 70ab |
| NAA | 100 | 5 | 1 | 5b | 35c |

注：表中数据为二组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05显著水平

不同浓度激素对嫁接成活的影响

90

80

70

60

50

40

30

20

10

0

发芽率%

愈伤组织

清水 NAA30 NAA60 NAA80 NAA100

图2-1 不同激素浓度处理对红腺忍冬嫁接成活率影响的比较图

#### **3.9.2** 不同种类激素处理对嫁接成活的影响

从表3-2可以看出，不同激素处理对红腺忍冬嫁接成活的影响不同，

NAA80mg/L 和IAA80mg/L 的成活率达20%，但是愈伤组织的形成

NAA80mg/L比IAA80mg/L的略高。IBA80mg/L和GA80mg/L的成活率比对照组（清水）的都要低。故NAA或IAA两种激素对红腺忍冬嫁接成活均有较好的效果。

表2-2 不同激素种类处理对红腺忍冬嫁接成活率的影响

| 激素种类 | 激素浓度  （mg/L） | 处理时间  （s） | 发芽总数  （个） | 平均发芽率  （%） | 平均愈伤组织形成率  （%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 清水 | 0 | 5 | 2 | 10ab | 45ab |
| NAA | 80 | 5 | 4 | 20a | 70a |
| IAA | 80 | 5 | 4 | 20a | 65a |
| IBA | 80 | 5 | 1 | 5b | 50ab |
| GA | 80 | 5 | 0 | 0b | 35b |

注：表中数据为二组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05显著水平

不同激素类型对红腺忍冬嫁接成活率的影响

80

70

60

50

40

30

20

10

0

发芽率%

愈伤组织形成率

清水 NAA IAA IBA GA

图2-2 不同激素种类处理对红腺忍冬嫁接成活率影响的比较图

#### **3.9.3** 不同生长时限接穗对嫁接成活的影响

从表3-3可以看出，不同生长时限的接穗对嫁接的成活的影响各不相同。半年生的接穗成活率最高，达20%，而一年生的接穗成活率为0，说

明半年生的接穗做嫁接较好。

表2-3 不同生长时间接穗对嫁接成活率的影响

| 分组 | 激素种类 | 激素浓度  （mg/L） | 处理时间  （s） | 发芽总数  （个） | 平均发芽  率（%） | 平均愈伤组织  形成率（%） |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 一年 | NAA | 80 | 5 | 0 | 0b | 25b |
| 半年 | NAA | 80 | 5 | 4 | 20a | 70a |
| 一个月 | NAA | 80 | 5 | 1 | 5b | 35b |

注：表中数据为二组重复数据的平均值，小写字母表示两两比较*P*＜0.05显著水平

不同生长时间接穗对红腺忍冬嫁接成活率的影响

80

70

60

50

40

30

20

10

0

发芽率%

愈伤组织形成率%

一年 半年 一个月

图2-3 不同生长时间接穗对红腺忍冬嫁接成活率影响的比较图

### **3.10** 讨论与小结

#### **3.10.1** 嫁接繁殖的讨论

植物生长调节剂能够促进细胞分裂和增大，促进茎、叶的伸长生长，对愈伤组织的形成有促进作用[24]，选用生长素处理接穗，以促进嫁接口形成愈伤组织，加速愈合，提高嫁接成活率和成苗率。在生产实践中，人们常用生长调节剂来处理植物的接穗或砧木，发现它们有促进愈合、提高成活率的作用[24]。但是植物生长素浓度的大小对植物嫁接的愈合和成活影响不同，考察浓度的大小就显得非常必要了，本实验中

100mg/LNAA成活率只有5%，比对照组（清水）低，说明浓度高对植物生长有抑制作用。不同植物生长素对嫁接口愈合和植物成活率影响有差

异，NAA和IAA较好，成活率达到20%以上，

#### **3.10.2** 嫁接繁殖的结论

红腺忍冬嫁接繁殖，最佳的处理激素为萘乙酸NAA或吲哚乙酸IAA，成活率均达20%，愈伤组织形成率为65%以上；最佳NAA处理浓度为

60mg/L，成活率达到25%，愈伤组织形成率为85%。

结**论**

1. 水分是植物生长发育的必要条件，土壤中水分含量的高低都会影响植物的次生代谢。适宜的水分胁迫有利于红腺忍冬绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙等有效成分的合成与积累，且红腺忍冬绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙的的含量随水分胁迫的加强呈先增高后下降趋势。光照时间、强度与纬度、坡向、季节有密切关系[18]，如在一定范围内，随纬度的升高，日照时间相应延长，光照强度的加强，对于药用植物的某些有效成分的积累产生积极的影响。充足的光照有利于绿原酸、灰毡毛忍冬皂苷乙和川续断皂苷乙等有效成分的积累。光照和水分作为生态因子一部分，对植物生长发育和有效成分的形成与积累的有着重要的影响，在引种或大量栽培时为寻求产量与质量的最佳结合，应注意选择适宜的光照、水分等环境条件，这在中药的规范化生产管理中有举足轻重的意义。

2. 由于激素和盐具有打破种子休眠的作用，使种子的发芽率得到提高，因此选择适宜的消毒方式，适宜的基质，以及适宜的激素处理，可以提高红腺忍冬种子萌发率；植物生长调节剂能够促进细胞分裂和增大，促进茎、叶的伸长生长，对愈伤组织的形成有促进作用[24]，选用生长素处理接穗，以促进嫁接口形成愈伤组织，加速愈合，提高嫁接成活率和成苗率。在生产实践中，人们也常用生长调节剂来处理植物的接穗或砧木，发现它们有促进愈合、提高成活率的作用[25]。选择适宜的嫁接方法，适宜的接穗，以及适宜的生长激素处理，可以提高红腺忍冬嫁接的成活率，为选育出一个既具有红腺忍冬高产、稳产、品质优、抗逆性和抗病虫害、适应性强等特性，又具有毛花柱忍冬易于繁殖特性的新品种

（系）的研究提供基础研究。

参 考 文 献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 化学工业出版, 2010: 28, 205.

[2] 单爱莲, 权菊香, 钱丽奇, 等. 对预防与治疗非典型肺炎的中药处方情况调查分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 19(30): 289-300．

[3] 黄大勇, 周全连, 李文付, 等. 广西喀斯特峰丛洼地ft区竹产业现状与可持续性发展措施[J]. 竹子研究汇刊, 2006, 25(1): 43-48.

[4] 黄璐琦, 郭兰萍. 环境胁迫下次生代谢产物的积累及道地药材的形成[J]. 中国中药杂志, 2007, 32(4): 277-280.

[5] 阎秀峰, 王洋, 李一蒙. 植物次生代谢及其与环境的关系[J]. 生态学报, 2007, 27( 6): 2554-2562.

[6] Chen X Y, Ye H C. Plant secondary metabolism and its regulation. In: Li C S ed. Advances in plant sciences(Vo. l 1). Beijing: Higher Education Press, 1998. 293 -304.

[7] WangW, ZhongY C. A review on taxolbiosynthesis[J]. Chinese Bulletin ofBotany, 1999, 16: 138 -149.

[8] 柯用春, 王建伟, 周凌云, 等. 土壤中水分对金银花品质的影响[J], 中草药, 2005, 36(10): 1557-1558.

[9] 王建伟, 周凌云. 土壤水分变化对金银花叶片生理生态特征的影响[J], 土壤, 2007, 39(3): 479-482 .

[10] 夏江宝, 张淑勇, 张光灿, 等. 土壤水分对金银花叶片气体交换参数及水分利用效率的影响[J] 林业科学研究2008, 2 1 ( 6 ): 803～807.

[11] 陈少容. 红腺忍冬的种源筛选、抗旱性及其扦插繁殖研究[D]. 广西: 广西中医药大学, 2012.37-82.

[12] 吴庆华, 黄宝优. 广西ft银花种质资源调查报告[J], 时珍国医国药, 2008, 19(2): 394-395.

[13] 李文付, 黄大勇. 广西喀斯特峰丛地区金银花产业开发与可持续利用[J], 广西林业科学, 2006, 35(1): 46-48.

[14] 中国地理标志产品保护网, http//[www. chinapgi. org/index. asp.](http://www.chinapgi.org/index.asp) [15] Joshua L A, Ann S E. Physiological variation among *Populus fremotii* populations: shortandlong-termrelationshipsbetweenδ13andwater availability[J]. Tree Physiol, 2001, 21: 1149-1155 .

[16] 王会肖, 刘昌明. 作物光合、蒸腾与水分高效利用的试验研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(10): 1632-1636 .

[17] 徐迎春, 张佳宝, 蒋其鳌, 周凌云, 缪恒彬. 水分胁迫对忍冬生长及金银花质量的影响[J]. 中药材2006, 29 (5): 420-423.

[18] 黄泰康, 赵海保, 刘道荣. 天然药物地理学[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 1993, 297.

[19] 汪之波, 豆强红, 马全林. 药用植物防风种子萌发特性研究[J], 种子, 2008, 27(10): 85-88, 90.

[20] 赵贯志, 刘庆华, 王奎玲, 等. 玉竹种子萌发特性研究[J], 中国农学通报, 2008, 24(12): 360-362.

[21] 张跃进, 李永刚, 王维. 黄精种子形态及发芽特性研究[J], 种子, 2009, 28(12): 28-31.

[22] 贾文秀, 王俊杰. 蒙古黄芪重量及种子含水量测定方法研究[J]. 内蒙古古草叶, 2011, 23(1): 38-41.

[23] 李和生主编, 植物生理生化实验原理和技术[M]. 高等教育出版社, 2000, 258-268. [24] 梁丽兰. 细胞分裂素及其应用[J]. 生物学杂志, 1993, (6): 7-9. [25] 杨晓盆, 王跃进. 吲哚丁酸对高接酥梨成活率及新梢生长的影响[J]. ft西农业大学学报, 1996, 16 (4): 408-410 .

附录Ⅰ红腺忍冬图片



红腺忍冬青花



红腺忍冬银花红腺忍冬金花

附录Ⅱ种子萌发图片





附录Ⅲ嫁接繁殖图片





**综**述

**ft银花的研究进展**

ft银花为忍冬科植物灰毡毛忍冬*Lonicera macra nthoides* Hand. -Mazz.、红腺忍冬*Lonicera hypoglauca* Miq.或华南忍冬*Lonicera confusa* DC.或黄褐毛忍冬*Lonicera fulvotomenttosa* Hsu et S. C. Cheng*.* 的干燥花蕾或带初开的花[1]。

ft银花的药用价值极高，具有清热解毒、抑菌、抗病毒、消炎退肿、增强免疫力等功效，有“植物抗生素”的美称，是我国卫生部指定的甲流和非典基本用药之一[2]。特别是近年来，各种病毒性疾病的发生和流行，如SRAS、禽流感、H1N1，为ft银花带来了巨大的市场空间。此外，ft银花是药用经济型与水保生态型植物，享有“国宝一枝花”的美誉，种植在我国西南部可保持水土，集保健、药用、观赏及生态功能于一体，是国务院确定的名贵中药材之一。广泛应用于制药、食品、饮料、化妆品、观赏园艺等领域，远销港、澳、台，在东南亚市场很受欢迎，开发潜力巨大。 **1种质资源**

ft银花为2010年版《中国药典》收载的由原《中国药典》金银花项下分离出来的新增品种。在全国大部分地区均有分布，在我国西南、中南地区主要以大量栽培为主。其中，灰毡毛忍冬的产地为广东、湖南、四川、重庆、贵州、广西、安徽、福建、浙江、江西、湖北等省区[3-6]。华南忍冬的产地为广东、广西、浙江、江西、福建、湖南和海南等。按

《中国植物志》记载，红腺忍冬产于安徽南部，浙江，江西，福建，台湾北部和中部，湖北西南部，湖南西部至南部，广东（南部除外），广西，四川东部和东南部，贵州北部、东南部至西南部及云南西北部至南部。 **2生长繁殖**

红腺忍冬生长在灌丛和疏林中，海拔200-700米（西南部可达1500

米），与环境相互作用，有其独特的环境适应性。其为藤本植物，多攀附于在岩石上；在温暖湿润的气候条件下和在土层深厚、肥沃、疏松、排水良好的砂质土壤上生长较好，产量较高；但因红腺忍冬根系较发达，适应能力较强，且具有耐寒，耐盐碱，耐旱，耐涝，耐瘠薄的性质，还具有顽强的生命力、抗逆性和再生能力。据报道，金银花的优质品质与生态因子有关，未见有红腺忍冬的相关报道。

近年来，ft银花的种植受到广西各级政府的关注与扶持，忻城、马

ft、百色等地大力推广种植ft银花。但ft银花的种苗来源却非常复杂，栽培技术尚不完善。吴庆华等[7-8]研究表明，广西ft银花野生种质资源较为丰富，在忻城、马ft、资源等地都有栽培，但栽培地区的品种较为杂乱，种苗不纯，许多为毛花柱忍冬以及一些未定种的种，因此良种繁育势在必行。 **3质量控制**

ft银花的质量控制除了药典规定的外观、性状鉴别及以绿原酸含量为指标进行质量控制外，还进行了指纹图谱研究。杨翠玲[9]曾对新版《中国药典》中的ft银花项的几个物种和忍冬进行性状和显微鉴别。王柳萍等[10]对广西不同产地与加工方法ft银花中绿原酸的含量进行了比较，发现南宁九塘、罗城怀群乡、融水杆桐乡的ft银花绿原酸的含量较高；并以脱水加工的ft银花中绿原酸含量最高。辛宁等[11]建立了HPLC法测定广西红腺忍冬中绿原酸含量。[高凤兰](http://www.cqvip.com/asp/vipsearch.asp?Query=%B8%DF%B7%EF%C0%BC&amp;Type=A)等[12]对忍冬质量进行研究，认为ft东的金银花与广东、广西、贵州的红腺忍冬的绿原酸含量和产量均较高。杨军娣[13]对购自湖南隆回及重庆秀ft等地的10批灰毡毛忍冬药材进行了灰毡毛忍冬的高效液相色谱指纹图谱研究。未见有对红腺忍冬指纹图谱的研究。耿世磊等[14]完成了ft银花不同发育阶段花结构与绿原酸含量变化关系研究。

## **4** 化学成分

ft银花的化学成分复杂，目前已发现的化学成分主要有挥发油类、

黄酮类、有机酸类和三萜类等。关于红腺忍冬（*Lonicera hypoglauca* Miq）

（忻城金银花的来源物种）的研究已有一些报道，多集中于成分、药理等方面。

苟占平等[15]通过的采用GC-MS法分是析红腺忍冬丰富干燥花蕾的挥发油成分，经计算机质谱库检索，结果仍然共分离鉴定出21个化合物，占挥发油总量的91.17％。其中仍然含量达到最高探讨的化合物为棕榈酸，占49.27％，其次亚油酸占16.97％，(z, z, z) -9, 12, 15-十八碳三烯酸甲酯占

11.63％。贺清辉等[16]从红腺忍冬藤茎似乎乙醇提取物中分离轻轻得到7个成分：地榆皂苷Ⅱ、灰毡毛忍冬皂苷甲、灰毡毛忍冬皂苷乙、绿原酸、东莨菪素、β谷甾醇，胡萝卜苷、其中地榆皂苷Ⅱ为首次从方法忍冬属中分离得到，其他均为首次方法从该种分离得到。贺清辉等[17]从红腺忍冬藤茎方法乙醇提取物的正丁醇部位萃取分离得方法到5个环烯醚萜苷的等类化合物，经波谱学等方法鉴定为：獐牙菜苷、马钱子苷、secoxyloganin、

vogeloside、secologanin，均为首次从该种分离得到。

## **5** 药理学研究

ft银花以绿原酸为其主成分之一，有研究表明绿原酸及其衍生物显示出在治疗糖尿病方面的良好前景[18-19]。王柳萍等[20]对广西红腺忍冬与

ft东忍冬总黄酮提取物的抗氧化作用研究，结果表明广西红腺忍冬总黄酮提取物亦有很好的抗氧化作用。采用连续稀释法探讨红腺忍冬的抑菌作用，结果表明红腺忍冬在体外对多种病原菌有明显的抑制作用[21]。丘岳等

[22]对广西ft银花红腺忍冬提取物绿原酸抗炎作用及其分子机制研究表明

提取物对急性炎症有明显抑制作用且毒性低。且其主要成分绿原酸具有体外抗炎作用。其抗炎作用可能通过抑制TNF-α、IL-6等炎症因子的活化以及影响花生四烯酸（AA）代谢途径的COX-2 活性来发挥抗炎作用。

## **6** 小结

ft银花种质资源丰富，其所含化学成分复杂，质量可控，药理作用多样，安全无毒，广西是ft银花的主要产区之一，忻城金银花（红腺忍

冬）于2007年3月被国家质量监督检验检疫总局正式定为地理标志保护产品，是全国实施地理标志三个金银花品种之一，但广西急缺本地的ft银花当家品种，拓宽对其繁殖育苗的研究范围和加大优质品种的选育，提高大石ft区ft银花的种植和更好地利用该药用资源，对改良生态环境和帮助农民脱贫致富，有着巨大的经济效益、社会效益及生态效益。

参考文献

[1] 国家药典委员会编. 中华人民共和国药典一部[S]. 北京: 化学工业出版, 2010: 28, 205.

[2] 单爱莲, 权菊香, 钱丽奇, 等. 对预防与治疗非典型肺炎的中药处方情况调查分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2003, 19(30): 289-300．

[3] 周日宝, 贺又舜, 罗跃龙． 湖南省大宗道地药材的资源概况[J]． 世界科学技术中医药现代化, 2003, 5(2): 71.

[4] 苟占平, 万德光. 四川忍冬属药用植物资源调查[J]. 华西药学杂志, 2005, 20(6): 480．

[5] 苟占平, 万德光. 重庆忍冬属药用植物资源研究[J]. 贵阳中医学院学报, 2005, 27(4): 10．

[6] 童巧珍, 周日宝, 罗跃龙, 等. 湖南3个产地灰毡毛忍冬花蕾的挥发油成分分析[J]. 中成药, 2005, 27(1): 52．

[7] 吴庆华, 黄宝优, [蓝祖栽](http://www.cqvip.com/asp/vipsearch.asp?Query=%C0%B6%D7%E6%D4%D4&amp;Type=A). ft银花栽培生产技术研究进展[J]. 大众科技, 2009, (1): 141-142.

[8] 吴庆华, 黄宝优. 广西ft银花种质资源调查报告[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(2): 395.

[9] 杨翠玲. 易混品金银花与ft银花的鉴别[J]. ft西中医学院学报, 2006, 7(4), 48.

[10] 王柳萍, 辛宁, 张守平, 等. 广西不同产地与加工方法ft银花中绿原酸的含量比较[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(6): 1370-1371.

[11] 辛宁, 王柳萍, 张守平, 等. HPLC法测定广西红腺忍冬中绿原酸含量[J]. 药物分析杂志2009, 29 (5): 849-851.

[12] [高凤兰](http://www.cqvip.com/asp/vipsearch.asp?Query=%B8%DF%B7%EF%C0%BC&amp;Type=A), [杨敏](http://www.cqvip.com/asp/vipsearch.asp?Query=%D1%EE%C3%F4&amp;Type=A). 忍冬质量的研究[J]. 中国林副特产, 1997, (1): 25.

[13] 杨军娣. 灰毡毛忍冬的高效液相色谱指纹图谱研究[J]. 药学与临床研究, 2007, 15(1): 42-44．

[14] 耿世磊, 宁熙平, 吴鸿, 等. ft银花不同发育阶段花结构与绿原酸含量变化关系研究[J]. 云南植物研究, 2005, 27(3): 279．

[15] 苟占平, 万德光. 红腺忍冬干燥花蕾挥发油成分研究[J]. 中国现代应用药学, 2005, 22(6): 475．

[16] 贺清辉, 李会军, 毕志明, 等. 红腺忍冬藤茎的化学成分[J]. 中国天然药物, 2006, 4(5): 385.

[17] 贺清辉, 田艳艳, 李会军, 等. 红腺忍冬藤茎中环烯醚萜苷类化合物的研究[J]. 中国药学杂志, 2006, 41(9): 656-658.

[18] HenaerleH, BergerHJ, BelowP, el, a1. Chlorogenicacidandsynthetic chlorogenicacidderivatives: novelinhibitorsofhepaticglueose-6-phos phatetrans locas[J]. JMed Cherni, 1997, 40(2). [19] SchinklerPW, BelowP, H~nmerleH, eta1. Identificationoftwoflewinhibittors hepatic glucose-6-phosphate transloease [J]. JMed Chemi, 1994, 37 (Supp1.1): A134．

[20] 王柳萍, 辛宁, 丘岳, 等. �广西红腺忍冬与ft东忍冬总黄酮提取物的抗氧化作用研究[J]. 广西医科大学学报, 2010, 27(5): 681-683.

[21] 蔡宏亚, 何宁先, 王泽平, 等. 连续稀释法研究红腺忍冬体外抑菌作用, 2007, (20) 5: 448-449.

[22] 丘岳. 广西ft银花提取物绿原酸抗炎作用及其分子机制研究[D]. 广西: 广西医科大学, 2009.

致**谢**

本论文是在导师辛宁教授的悉心指导和严格要求下完成的，从论文的选题，实验设计到论文的书写及修改定稿，都汇集了导师大量的心血。导师的理论指导，使我在科研和理论方面得到了很大的提高，感谢导师给予我的诸多关心与教导，此外在生活上，导师给予我诸多的关怀和照顾。在此向辛勤栽培我的导师辛宁教授致以最诚挚的谢意和最崇高的敬意。

感谢药学院李耀华老师的指导和帮助，感谢陈少容和程若敏等师兄师姐及师弟给予的无私帮助，感谢同门李运容，在实验和生活中的帮助和关怀。感谢我的父母、朋友、舍友在学习生活中给予我的支持，理解，鼓励和无微不至的关怀，你们是我一直向前的坚强动力和此生最宝贵的财富。

感谢答辩委员会的各位老师在百忙之中为我的论文提出宝贵的评审意见。祝各位老师工作愉快，阖家幸福。

最后向所有帮助过我的人们致以最诚挚的谢意！

# 个人简历及攻读学位期间获得的科研成果

姓名：孙雪林性别：女出生年月：1987年7月民族：汉族籍贯：广西桂林政治面貌：党员

求学经历：

2007年9月～2011年7月：广西中医药大学药学医学学士

2011年9月～2014年7月：广西中医药大学药物分析学理学硕士

科研及工作情况：

2012年3月～2014年4月，红腺忍冬抗逆性研究及繁育研究。

2012年9月～2013年9月，参与广西中医药大学教学实践，讲授药学文献检索实验课。

2012年9月～2013年1月参与中药炮制实验课的讲授

2012年12月，参与玉林药市见习活动。

2012年5月和2013年5月参加靖西药市学习

研究生期间发表的论文：

[1]孙雪林,陈少容,程若敏,等.水分胁迫对红腺忍冬种苗的生理的影响[J].

广西农学报,2013,28(6):9-13

[2]陈少容，黎颖菁，王语梦，程若敏，孙雪林，辛宁.红腺忍冬的扦插繁殖体系研究[J]中国农学通报，2013,29(22)：135-141