

组培广藿香的形态特征及挥发油成分分析

莫小路*, 汪小根, 邱蔚芬, 袁亮, 陈瑜珍

(广东省中药研究所, 广州 510520)

摘要: 对原产于广州石牌和海南的两个广藿香(*Pogostemon cablin*)栽培品种进行组织培养并获得了再生植株。用GC法对广藿香再生植株的挥发油成分进行分析研究。结果表明,广藿香两个品种的再生植株生长2~3个月后形态上有明显的差异。生长3个月的再生植株中,原产于广州石牌的广藿香挥发油含量为1.4%,低于原产于海南的广藿香(2.9%);而挥发油的成分中,广州石牌广藿香的广藿香酮含量为375.76 mg ml⁻¹,显著高于海南广藿香(7.82 mg ml⁻¹)。这说明组织培养获得的再生植株保持了其原植物在形态、挥发油含量和成分上的差异性,为广藿香的品种分类提供了实验依据。

关键词: 广藿香; 形态差异; 广藿香酮; 广藿香醇; 组织培养

中图分类号: Q946

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2008)04-0382-04

Morphological Characters and the Composition of Essential Oil from Regeneration Plant of *Pogostemon cablin*

MO Xiao-lu*, WANG Xiao-gen, QIU Wei-fen, YUAN Liang, CHEN Yu-zhen

(Guangdong Research Institute of Trade Chinese Medicine, Guangzhou 510520, China)

Abstract: Calli from leaf explants of two cultivars of *Pogostemon cablin* (Blance) Benth., which derived from Shipai in Guangzhou and Hainan, respectively, were obtained on Murashige Skoog (MS) medium supplemented with 2,4-D (0.05 mg L⁻¹) and KT (0.5 mg L⁻¹), and plantlets regenerated through callus were obtained on MS medium supplemented with 6-BA (1 mg L⁻¹). Essential oils were extracted from the regenerated plant and the constituents were analyzed using GC method. The results showed that there were obviously morphological differences in regenerated plants of the two cultivars after cultured for 2~3 months. Essential oil content in cultivar from Shipai was 1.4%, lower than that from Hainan, which was 2.9%, but the content of pogostone in cultivar of Shipai, being 375.76 mg ml⁻¹, was significantly higher than that from Hainan, which was 7.82 mg ml⁻¹. These differences existed in the initial plants. This results provided more scientific basis for the classification of *Pogostemon cablin*.

Key words: *Pogostemon cablin*; Morphological difference; Pogostone; Patchoulic alcohol; Tissue culture

广藿香(*Pogostemon cablin* (Blance) Benth.)为唇形科(Labiatae)刺蕊草属(*Pogostemon* Desf.)植物,原产于菲律宾、马来西亚、印度等国。我国在宋代已有引种栽培,而广东地区栽培供药用的历史悠久,故名“广藿香”。中药广藿香来源于广藿香植物全草,是广东省主要的道地药材之一,是“藿香正气丸

(水)”、“藿胆丸”等中成药的重要配方药^[1],具有芳香化浊、开胃止呕、发表解暑的功效^[2-3]。

广藿香主要产于广东的广州石牌、高要、湛江及海南地区,因产地的自然环境条件、种植习惯、栽培管理、采收加工等的不同,其产品形态、气味、质量有所差异,不同产地的广藿香在形态组织学方面

收稿日期: 2007-08-16

接受日期: 2007-12-06

基金项目: 广东省科技厅与广州市科技局联动项目(2004B60302008)资助

* 通讯作者 Corresponding author

的差异的研究报道很多^[4-6]。广藿香的药用成分主要为挥发油,罗集鹏等^[7]对广藿香的精油组分进行了分析研究,认为广藿香可以分为酮型和醇型两个化学型,前者主要产于广州市郊石牌村和肇庆、高要地区,后者主要产于广东湛江和海南万宁地区。药材生产传统上认为产于广州石牌地区的广藿香(简称“牌香”)品质最好,而产于海南万宁地区的广藿香药效最差,但含油量高,主要用于香料工业。

广藿香自引种以来极少见开花,主要通过扦插繁殖。由于近年来城市发展、耕地压缩,广州石牌地区广藿香的种植已绝迹,为保护广藿香的种质资源,我们对原产于石牌和原产于海南的两个广藿香栽培品种进行了组织培养,获得了再生植株,并对再生植株的形态及挥发油含量进行分析研究,为广藿香品种分类及资源研究提供更多实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

组培广藿香 实验用两个广藿香品种材料均采自广东省中药研究所药用植物标本园,经本所南药研究室蔡岳文鉴定为广藿香(*Pogostemon cablin* (Blance) Benth.),分属于原产广州石牌和原产海南的两个栽培品种。取幼嫩叶片,用70%的乙醇进行表面消毒30 s,无菌水清洗3次,然后用0.1% HgCl₂消毒13 min,无菌水洗涤5次,用滤纸吸干叶片表面水分,在无激素的MS培养基上预培养7 d后,将无菌叶片外植体切成1 cm²左右的小块,置于愈伤组织诱导培养基上,于28±1℃黑暗培养。愈伤组织诱导培养基为MS基本培养基附加0.05 mg ml⁻¹的2,4-D和0.5 mg ml⁻¹的KT^[8]。培养20 d左右,将愈伤组织转移至含1 mg ml⁻¹6-BA的MS培养基上,诱导成苗,无菌苗经20 d左右的蛭石育苗床练苗后,移栽至地里,生长3个月后,苗高达40~50 cm,收获自然晾干备用,分别记为“组培石牌广藿香”和“组培海南广藿香”。

扦插广藿香 从生长10个月以上的两个栽培品种的广藿香植株上部截取10~15 cm的一段(含顶芽),扦插于蛭石育苗床1个月,生根后,移栽至地里,生长3个月后,苗高达50~60 cm,收获自然晾干备用,分别记为“扦插石牌广藿香”和“扦插海南广藿香”。

上述实验材料全草经自然干燥48 h后,切成1~2 cm长的小段,备用。

1.2 仪器和测定方法

仪器和试剂 TRACE GC 气相色谱仪, Xcalibur 色谱工作站(美国 Finnigan 公司);十万分之一电子天平(德国 Sartorius 公司)。内标物:正十八烷(SIGMA 公司);对照品:广藿香醇(中国药品生物制品检定所,批号:772.200003),广藿香酮(自制,经高效液相色谱法检验,纯度达99.58%)。

色谱条件 DB-1 毛细管柱(30 m × 0.25 mm × 0.25 μm), FID 检测器,进样口温度和检测器温度均为230℃,程序升温:初始温度100℃,停留1 min后以10℃ min⁻¹的速度升至180℃;载气为高纯氦气,流速:1 ml min⁻¹,分流进样,分流比:50:1,进样量1 μl。

挥发油测定 按《中国药典》(2005版)附录XD操作。

对照品溶液的配制 取正十八烷适量,精密称定,加无水乙醇制成4.0 mg ml⁻¹的溶液,作为内标溶液。另精密称取广藿香醇和广藿香酮对照品适量,分别加无水乙醇溶液制成5.0 mg ml⁻¹的对照品溶液,分别精密吸取对照品溶液0.5 ml,内标溶液0.4 ml至2 ml量瓶中,并用无水乙醇定容至量。分别吸取以上溶液1 μl,注入气相色谱仪,连续进样3次,以平均峰面积分别计算广藿香醇和广藿香酮的校正因子。广藿香醇和广藿香酮的校正因子测定结果分别为1.146和1.916。

广藿香醇的测定 分别精密吸取扦插、组培石牌广藿香和海南广藿香挥发油10 μl、50 μl、10 μl和10 μl,内标溶液0.4 ml至2 ml量瓶中,并用无水乙醇定容至量,摇匀。精密吸取以上供试品1 μl,注入气相色谱仪,测定广藿香醇的含量。

广藿香酮的测定 分别精密吸取扦插、组培石牌广藿香和海南广藿香挥发油10 μl、2 μl、0.2 ml和0.5 ml,内标溶液0.4 ml至2 ml量瓶中,并用无水乙醇定容至量,摇匀。精密吸取以上供试品1 μl,注入气相色谱仪,测定广藿香酮的含量。

2 结果和分析

2.1 形态差异

来源于石牌和海南的广藿香再生植株在试管苗阶段并没有明显的形态差异,而移栽至地里后,生长迅速,2个月后,植株的外形就呈现了明显的差异:石牌广藿香的再生植株株型较散生,老枝稍带紫色,嫩枝青绿色,叶面叶脉深陷,叶肉向上凸,

叶色黄绿;而海南广藿香的再生植株株型较密集,茎部呈紫红色,叶面平整,叶色嫩绿(图版 I:1~4)。

2.2 挥发油含量

分别测定广藿香两个栽培品种的组培苗和扦插苗的挥发油含量,并与相同生长时间的传统扦插苗进行比较。结果表明,原产于海南的广藿香,无论是组织培养获得的再生植株 $[(2.9 \pm 0.05)\%]$ 还是扦插植株 $[(0.76 \pm 0.14)\%]$,其挥发油含量都显著高于原产于石牌的广藿香[分别为 $(1.4 \pm 0.03)\%$ 和 $(0.3 \pm 0.21)\%$],而同一栽培品种中,组培石牌广藿香的挥发油含量是扦插的 4.6 倍,而组培海南广藿香是扦插的 3.8 倍。

2.3 挥发油成分分析

广藿香挥发油中的化学成分很多,本实验以广藿香醇和广藿香酮为主要指标成分,比较这两种成分在两个组织培养的广藿香栽培品种间的差异。结果表明:组培的石牌广藿香挥发油中含有较多的广藿香酮 $(375.76 \pm 0.12 \text{ mg ml}^{-1})$,而海南广藿香的广藿香酮极低 $(7.82 \pm 0.28 \text{ mg ml}^{-1})$,石牌广藿香挥发油中的广藿香醇含量 $(231.93 \pm 0.03 \text{ mg ml}^{-1})$ 低于海南广藿香的 $(598.85 \pm 0.08 \text{ mg ml}^{-1})$,而它们的广藿香醇和广藿香酮的总量却很接近(分别为 607.69 、 $606.67 \text{ mg ml}^{-1}$),这一特点与原植物,即扦插的石牌广藿香和海南广藿香的挥发油成分差异一致,扦插石牌广藿香的广藿香醇含量 $(68.31 \pm 0.18 \text{ mg ml}^{-1})$ 低于海南的 $(675.0 \pm 0.06 \text{ mg ml}^{-1})$,而其广藿香酮含量 $(604.09 \pm 0.22 \text{ mg ml}^{-1})$ 则高于海南的 $(19.63 \pm 0.08 \text{ mg ml}^{-1})$,但它们的这两种成分之和却相近(为 $673.40 \sim 694.63 \text{ mg ml}^{-1}$)。

3 讨论

文献报道栽培于广东和海南不同地区的广藿香,其主要药用成分挥发油的含量及挥发油中广藿香酮和广藿香醇的含量有很大差异^[7,9],而药材生产上一直认为原产于广州石牌地区的广藿香为上品,其中的药用成分广藿香酮的含量高于其他产区的,并且由于其某些形态上的特征与其他产地的广藿香不同,因此,有研究者认为应将广藿香分为 3 个栽培品种^[10]。然而也有研究者认为广藿香不同产地之间的差异是由于环境和土壤、气候条件造成的,就其种源来说,都应该是同一种,即 *P. cablin*,而目前中国药典记载的也只是一种。本研究通过组

织培养技术获得的广藿香再生植株,其外部形态保留了原植物的特点,组织培养获得的再生植株移栽到地里 2~3 个月后,从外形上就可区分出来(图版 I:3,4)。此外,再生植株中的挥发油含量及挥发油的主要成分在两个栽培品种间有明显差异:海南广藿香的挥发油含量显著高于石牌广藿香;石牌广藿香的广藿香酮含量高于广藿香醇;而海南广藿香的广藿香酮含量极低,仅为 7.82 mg ml^{-1} 。由此可见,组织培养获得的广藿香再生植株中,保留了不同产地原植物广藿香栽培品种在外部形态和挥发油的含量、挥发油主要成分含量上的特点。本所标本园内的广藿香,在离开原产地的环境中经过十多年的栽培(每年以扦插的方式繁殖),在植株外部形态及内部挥发油含量及成分上仍然保持了原产地品种的特点,因此,原产于广州石牌与海南的广藿香之间可能存在一定的遗传差异,这种差异可作为广藿香品种分类及药材品质评价的重要依据。

参考文献

- [1] 广东中药志编委会. 广东中药志(第一卷) [M]. 广州: 广东科技出版社, 1994: 13-16.
- [2] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2000: 33.
- [3] 任守忠, 靳德军, 张俊清. 广藿香药理作用研究进展 [J]. 中国现代中药, 2006, 8(8): 27-29.
- [4] Luo J P(罗集鹏), Zeng M H(曾梅华). Study on morphological and histological identification of herba pogostemonis [J]. J Chin Med Mat(中药材), 2002, 25(3): 166-171.(in Chinese)
- [5] Li W(李薇), Pan C M(潘超美), Xu L(徐良), et al. The observation and comparison of *Pogostemon cablin* from different habitats [J]. J Chin Med Mat(中药材), 2002, 25(7): 463-465.(in Chinese)
- [6] Li W(李薇), Pan C M(潘超美), Song L F(宋力飞), et al. Observation and comparison of the flowers of *Pogostemon cablin* from different habitats [J]. J Chin Med Mat(中药材), 2003, 26(2): 79-81.(in Chinese)
- [7] Luo J P(罗集鹏), Liu Y P(刘玉萍), Feng Y F(冯毅凡), et al. Two chemotypes of *Pogostemon cablin* and influence of region of cultivation and harvesting time on volatile oil composition [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2003, 38(4): 307-310.(in Chinese)
- [8] Zhang J M(张家明), Zheng X Q(郑学勤), Sun X P(孙雪飘). Plant regeneration from somatic cells of *cablin* patchouli (*Pogostemon cablin* (Blance) Benth. [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 1994, 15(1): 73-77.(in Chinese)
- [9] Li W(李薇), Wei G(魏刚), Pan C M(潘超美), et al. Investigation on the influential factors of the volatile oil and main constituent content in *Pogostemon cablin* [J]. Chin J Chin Mat Med(中国中药杂志), 2004, 29(1): 28-31.(in Chinese)
- [10] Xu S J(徐颂军), Wang X F(王晓峰), Xu J H(徐祥浩), et al. The

classification of cultivars of *Pogostemon cablin* cultivated in Guangdong Province of China [J]. J South China Norm Univ (Nat Sci)(华南师范大学学报: 自然科学版), 2003 (1): 82 - 86. (in Chinese)

[11] Liu Y P(刘玉萍), Luo J P(罗集鹏), Feng Y F(冯毅凡), et al. DNA profiling of *Pogostemon cablin* chemotypes differing in essential oil composition [J]. Acta Pharm Sin(药学学报), 2002, 37 (4): 304-308. (in Chinese)

[12] Cao L Y(曹柳英), Li J P(李劲平), Liang R Y(梁瑞燕), et al. RAPD analysis of *Pogostemon cablin* from different habitats [J]. Trad Chin Drug Res Clinic Pharmacol(中药新药与临床药理), 2006, 17(3): 209-211. (in Chinese)

图版说明

图版 I

1. 石牌广藿香试管苗;
2. 海南广藿香试管苗;
3. 移栽2个月的石牌广藿香;
4. 移栽2个月的海南广藿香。

Explanation of plate

Plate I

1. Plantlet of *P. cablin* derived from Shipai;
2. Plantlet of *P. cablin* derived from Hainan;
3. *P. cablin* derived from Shipai transplanted for 2 months;
4. *P. cablin* derived from Hainan transplanted for 2 months.



莫小路等:图版 I

MO Xiao-lu, et al.: Plate I