

# 银杏叶萜内酯含量的变化及其与叶绿素荧光特性的关系

肖强<sup>a,b\*</sup>, 张峥<sup>b</sup>, 周大寨<sup>a</sup>

(湖北民族学院, a. 生物资源保护与利用湖北省重点实验室; b. 林学院园艺学院, 湖北 恩施 445000)

**摘要:** 为探究银杏(*Ginkgo biloba*)叶萜类内酯含量和光合同化作用的关系, 对其内酯含量和叶绿素荧光特性进行了研究。结果表明, 不同采收时间银杏叶中白果内酯和银杏内酯含量有显著差异, 总体上, 5月份含量较低, 此后逐渐升高, 8月份达到高峰, 然后快速下降, 10月底最低; 与此同时, 银杏叶片的光合色素以及叶绿素荧光参数也呈现周期性变化。白果内酯以及萜内酯含量与叶绿素荧光参数Y(NPQ)之间呈极显著正相关关系, 因此, 可以通过银杏叶片的叶绿素荧光参数预测白果内酯和萜内酯含量。

**关键词:** 液质联用; 银杏; 萜内酯; 叶绿素荧光

doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2015.06.013

## Changes in Terpene Lactones of *Ginkgo biloba* and Its Relation with Chlorophyll Fluorescence Characters

XIAO Qiang<sup>a,b\*</sup>, ZHANG Zheng<sup>b</sup>, ZHOU Da-zhai<sup>a</sup>

(a. Key Laboratory of Biological Resources Protection and Utilization of Hubei Province; b. School of Forestry and Horticulture, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, Hubei, China)

**Abstract:** In order to understand the relationship between contents of terpene lactones and photosynthetic characters in *Ginkgo biloba* leaves, the contents of terpene lactones were determined and chlorophyll fluorescence features was studied. The results showed that the changes in terpene lactone contents were significant at different harvest time. In general, bilobalide and ginkgolide contents were low in May, then increased gradually, reached peak in August, and afterwards decreased until the end of October. At the same time, the photosynthetic pigment content and chlorophyll fluorescence parameters in leaves showed periodical changes. The contents of bilobalide and lactone had significant positive correlation with chlorophyll fluorescence index of Y(NPQ). So, it was suggested that bilobalide and lactone contents could be forecasted by chlorophyll fluorescence parameters.

**Key words:** UPLC-MS; *Ginkgo biloba*; Lactone; Chlorophyll fluorescence

银杏(*Ginkgo biloba*)为银杏科(Ginkgoaceae)银杏属落叶乔木, 是我国特有的现存种子植物中最古老子遗植物<sup>[1]</sup>, 具有很高的药用价值, 其主要有效成分为黄酮苷和银杏内酯类化合物; 银杏内酯(分

为A、B、C、J、K、L和M)和白果内酯是目前报道的8种银杏萜类内酯, 其中银杏内酯A、B、C(简称GA、GB、GC)和白果内酯(Bilobalide, 简称BB)在银杏叶中含量最高<sup>[2]</sup>, 他们尤其是GB具

收稿日期: 2015-01-22

接受日期: 2015-05-05

基金项目: 国家自然科学基金项目(31260057, 31460203); 湖北省教育厅教学研究项目(2014336); 生物资源保护与利用湖北省重点实验室开放基金项目(PKLHB1503)资助

作者简介: 肖强(1970~), 男, 副教授, 主要从事植物生理生态与天然产物研究。

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: 275975926@qq.com

有特异性的抗血小板活化因子(PAF)活性<sup>[3]</sup>。银杏叶提取物(简称 GBE)及其制剂在临床上广泛用于治疗老年性痴呆、帕金森病、脑损伤后遗症、神经性疾病及老年性心血管系统机能衰退等症<sup>[4-6]</sup>。有研究表明,不同树龄、性别和采收时间的银杏叶内酯含量具有显著差异<sup>[7-9]</sup>,为筛选优良银杏单株和确定银杏叶的最佳采收时间,通常需要测定叶片的银杏内酯含量,由于含量低,需要对样品进行复杂的前处理,对仪器设备要求也较高,难以满足日常生产需要,因此探索通过其它简便方法来预测银杏内酯含量变化十分必要。近年来,叶绿素荧光动力学作为鉴定植物抗逆性的理想指标和技术已被广泛应用<sup>[10]</sup>。荧光动力学参数在反映叶片光合作用过程中光系统对光能的吸收、传递、分配和耗散等方面具有独特的作用,已成为研究植物光合生理功能及评价植物抗胁迫能力的理想探针<sup>[11]</sup>。植物的光合作用是能量固定和转化的基础,光合作用合成的糖类通过呼吸作用产生的中间产物是各种代谢的中心,由糖类等初生产物衍生出来的物质叫次生产物。光对于黄酮、黄酮醇、花色素苷、蒽醌、多酚、挥发油、萜烯及其他次生代谢物的合成和积累具有重要影响<sup>[12]</sup>。然而,叶绿素荧光参数与银杏主要活性成分含量的关系研究还未见报道。本文采用超高压液相-飞行时间质谱联用(UPLC-TOF-MS)技术对银杏内酯进行测定,同时测定叶片叶绿素荧光参数、光合色素含量,并分析他们的相关性,为实现快速预测银杏内酯含量变化趋势提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

银杏(*Ginkgo biloba*)种植于恩施州林业科学研究所树木园,土壤类型为黄棕壤,土层深厚,质地疏松,有机质含量为 35.5 g kg<sup>-1</sup>,碱解氮含量为 136.9 mg kg<sup>-1</sup>,有效磷含量为 23.0 mg kg<sup>-1</sup>,速效钾含量为 116.7 mg kg<sup>-1</sup>。当地属典型的中亚热带季风型山地湿润性气候,四季分明,湿润多雨,年降雨量达 1600~1800 mm,相对湿度为 80%~85%;阳光充足,年日照时数达 1300~1400 h;气候温和,年均气温为 16.4℃,极端低温为 -3℃;全年无霜期 265 d;生境非常适于银杏生长。

银杏叶采自 15 年生嫁接树,树势中等,正常挂果。2013 年 5 月至 11 月间,定期于上午 8:00~8:30

采样 1 次,采集树冠外围中部叶片,在各方位选取大小均匀、叶色一致、无伤病的叶片,剪取叶片所在枝条,断端以湿纱布保湿,迅速带回实验室,在 0.5 h 内测定叶绿素荧光参数。摘下叶片洗净,少量鲜叶用于叶绿素提取,其余叶片置 105℃烘箱中杀青 15 min,转至 80℃烘干至恒重,过 40 目筛贮存在干燥器,供内酯提取测定。

### 1.2 仪器、药品、试剂

Agilent 1290 液相色谱和飞行时间质谱仪(6224 型)配有电喷雾电离(ESI)源和大气压化学电离源(APCI);采用 Agilent Masshunter 工作站和数据处理软件对信号进行采集和数据处理。

银杏内酯 A、B 和 C 及白果内酯(BB)对照品均购自中国药品生物制品检定所,批号分别为 110862-201009、110863-200508、110864-200906 和 110865-200605;甲酸和乙腈均为色谱纯,迪马科技有限公司产品;其它试剂为分析纯;实验用水为超纯水(Milipore, Bedford, MA, USA)。

### 1.3 方法

**叶绿素荧光参数的测定** 采用德国 Walze 公司生产的 Mini PAM 型便携式叶绿素荧光仪测定叶片叶绿素荧光参数。测定时选择长势一致的枝条,测定当年生成熟叶,每次测定前叶片暗适应 20 min,先照射检测光(<0.1 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>),再照射饱和脉冲光(3000 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>),测定 F<sub>0</sub>、F<sub>v</sub>/F<sub>m</sub>后,打开内源光化光(33 μmol m<sup>-2</sup>s<sup>-1</sup>),至稳态后照射远红外光,测定 PS II 实际光化学量子效率(Yield),表观光合电子传递速率(ETR)、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(qN),以上参数均直接从仪器上读取。PS II 调节性能量耗散的量子产额[Y(NPQ)]和非调节性能量耗散的量子产额[Y(NO)]分别根据 Y(NPQ)=1-Y(II)-1/[NPQ+1+qL(F<sub>m</sub>/F<sub>0</sub>-1)]和 Y(NO)=1/[NPQ+1+qL(F<sub>m</sub>/F<sub>0</sub>-1)]计算<sup>[13]</sup>。

**叶绿素含量的测定** 取与叶绿素荧光测定相同位置和发育阶段的叶片,用丙酮法提取叶绿素,在紫外分光光度计下测定吸光值,计算叶绿素 a、b、类胡萝卜素和总叶绿素含量<sup>[14]</sup>。

**银杏内酯测定** 精确称取银杏叶片 2.0 g,加入适量 50% 乙醇溶液置于索氏提取器中于 70℃提取 2 h,冷却抽滤,滤渣加入 50% 乙醇溶液再次提取 2 h;合并两次提取液旋转蒸发至干,然后加

10 mL 蒸馏水和 0.3 g 乙酸钠溶解,加入等体积乙酸乙酯萃取 2 次,合并有机相旋转蒸发至干,用甲醇溶解并定容至 10 mL。采用液质联用仪测定,色谱柱购自 Agilent 公司, ZORBAX 2.1×50 mm 1.8 Micron。流动相为乙腈-0.1%(甲酸:水),梯度洗脱,在 5 min 内乙腈体积分数从 20% 线性上升到 45%,柱温 25℃,体积流量 0.2 mL min<sup>-1</sup>。质谱分析条件:ESI 离子源负模式,干燥气温度 350℃,流速 10 L min<sup>-1</sup>;雾化器压力 45 psig,毛细管电压 3500 V,毛细管出口电压 150 V,锥孔电压 65 V,采集速度 1.5 spectra s<sup>-1</sup>,选择离子(EIC)采集方式,分子离子[M-H]<sup>-</sup>的质荷比分别为: GA (407.15)、GB (423.154)、GC (439.12)

和 BB (325.11)。采用外标法进行定量。

## 2 结果和分析

### 2.1 白果内酯和银杏内酯的变化

从表 1 可见,不同采收时间采收的银杏叶片中,白果内酯和萜内酯含量以及总内酯含量存在显著差异( $P<0.05$ ),总体上,5 月份他们的含量均较低,以后逐渐上升,到 8 月份含量达到最高,此后快速下降,到 10 月底降到最低。从图 1 可看出,不同采收时间银杏叶片中白果内酯和萜内酯的比例呈极显著差异( $P<0.01$ ),与此同时,银杏内酯 A、B、

表 1 不同采收时间银杏叶片的白果内酯和银杏内酯含量( $\mu\text{g g}^{-1}$ )

Table 1 Bibobalide and ginkgolide contents ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) in leaves of *Ginkgo biloba* at different harvest time

时间 Date (M/D)	白果内酯 Bilobalide	银杏内酯 Ginkgolide			总和 Total
		A	B	C	
5/15	112.4±8.4d	71.3±3.2c	55.7±2.4c	99.9±7.5b	339.3±21.5c
5/30	159.4±13.1c	85.2±5.6ab	79.1±4.6a	128.7±8.8a	452.5±31.7ab
6/14	195.3±6.8ab	83.5±2.4ab	64.0±2.4bc	104.9±2.8b	447.8±14.0ab
7/14	160.8±4.8c	80.5±1.8bc	58.6±2.2bc	103.0±5.8b	402.8±13.8b
7/29	207.7±5.4ab	77.5±1.2bc	57.4±2.1bc	106.8±2.5b	449.4±11.3ab
8/28	225.6±16.1a	92.6±6.8a	65.5±4.4b	108.5±8.5b	492.3±35.3a
9/12	193.6±8.5b	83.8±3.2ab	57.5±2.2bc	103.4±6.8b	438.4±20.5ab
9/27	111.8±11.1d	48.5±2.2d	46.4±3.7d	97.5±8.4b	304.3±24.4cd
10/12	91.5±5.8d	34.1±3.9e	38.1±4.8d	67.6±7.2c	231.3±20.1e
10/27	84.9±8.1d	41.0±4.0de	44.1±4.7d	95.0±11.2b	265.0±27.9de

同列数据后不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

Data followed different letters indicate significant difference at 0.05 level. The same is following Tables.

C 的比例也随采收时间发生显著变化( $P<0.05$ )。

### 2.2 光合色素的变化

由表 2 可见,不同采收时间银杏叶片的光合色素含量差异极显著( $P<0.01$ ),其中叶绿素 a 含量在 6 月到 10 月中旬基本维持在相对稳定水平,10 月底出现显著下降;叶绿素 b 含量在 5 月较低,其后逐渐上升,到 9 月中达最高,此后逐渐下降;而叶绿素 a/b 则在整个采收期呈下降趋势。类胡萝卜素含量变化与叶绿素 b 的不一样,7 月前含量较低,其后显著上升,直到 10 月中旬均维持在一个较高水平,然后下降。

### 2.3 叶片荧光参数的变化

最大光化学效率( $F_v/F_m$ )反映 PS II 反应中心的

原初光能转换效率,常被用来作为环境胁迫程度的指标<sup>[11]</sup>。实际光化学效率( $\Phi\text{PS II}$ )表示在环境胁迫时 PS II 反应中心部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率,反映电子传递活性与传递速率<sup>[11]</sup>。从图 2 可见,不同采收时间银杏叶片的  $F_v/F_m$  虽存在一定差异,但变化幅度不超过 10%。和  $F_v/F_m$  不同,不同采收时间银杏叶片的( $\Phi\text{PS II}$ )则存在显著差异( $P<0.05$ ),从 5 月的较低水平开始上升,6 月中旬达到最高,此后显著下降,到 8 月初最低。不同采收时间银杏叶片的电子传递速率(ETR)差异极显著( $P<0.01$ ),7 月底达到最高,然后缓慢下降,到 10 月份降到最低。

光化学猝灭系数(qP)反映了 PS II 电子传递活性<sup>[15]</sup>。从图 3 可见,不同采收时间银杏叶片的 qP

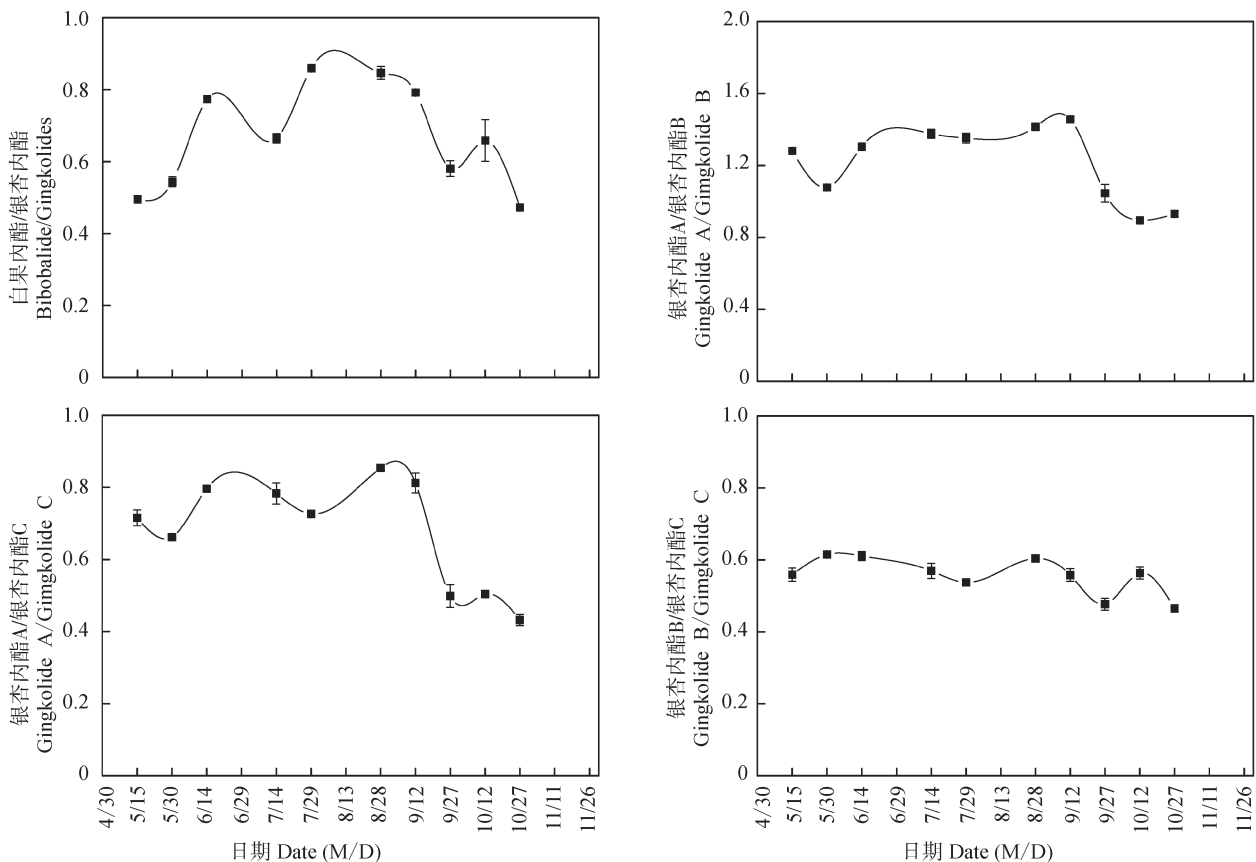


图1 不同采收时间银杏叶片的白果内酯和银杏内酯的比例

Fig. 1 Ratio of bibobalide and ginkgolides in leaves of *Ginkgo biloba* at different harvest time

表2 不同采收时间银杏叶片光合色素含量( $\text{mg g}^{-1}$ )

Table 2 Photosynthetic pigment content ( $\text{mg g}^{-1}$ ) in the leaves of *Ginkgo biloba* from different harvest time

时间 Date (M/D)	Chl a	Chl b	Chl a+b	Chl a/b	类胡萝卜素 Carotenoid
5/15	1.33±0.05ab	0.37±0.02c	1.70±0.06ab	3.64±0.10b	0.29±0.01cd
5/30	0.98±0.02d	0.26±0.01d	1.24±0.03c	3.84±0.06a	0.24±0.01e
6/14	1.26±0.02bc	0.39±0.01bc	1.65±0.03ab	3.25±0.02c	0.28±0.01cd
7/14	1.42±0.04a	0.41±0.01bc	1.83±0.05a	3.49±0.03b	0.33±0.01a
7/29	1.36±0.06ab	0.42±0.02b	1.78±0.08ab	3.23±0.03c	0.34±0.02a
8/28	1.30±0.04bc	0.41±0.01bc	1.71±0.05ab	3.22±0.04c	0.32±0.01ab
9/12	1.28±0.02bc	0.47±0.01a	1.75±0.02ab	2.72±0.05e	0.22±0.02e
9/27	1.26±0.05bc	0.40±0.02bc	1.66±0.07ab	3.18±0.05c	0.33±0.01a
10/12	1.20±0.07c	0.40±0.02bc	1.59±0.10b	3.02±0.02d	0.32±0.02ab
10/27	0.94±0.06d	0.30±0.02d	1.24±0.08c	3.15±0.01cd	0.28±0.02d

值差异不大(0.7左右),说明 PS II 电子传递活性在银杏叶采收期维持在较高水平。

非光化学猝灭系数(qN)反映了 PS II 天线色素吸收的光能以热能耗散掉的能力。图3显示,不同采收时间的 qN 差异极显著( $P<0.01$ ), 5月中到6月中 qN 显著下降,然后缓慢回升并维持在较稳定

水平,到9月中显著下降,10月底降到最低。这表明6-8月间叶片具有较强的保护能力;9月后叶片耗散多余光能的能力下降,而此时叶片发育也从成熟走向衰老阶段。

PS II 调节性能量耗散的量子产额Y(NPQ)较大,表明光是过剩的,且植物有能力通过自身的调

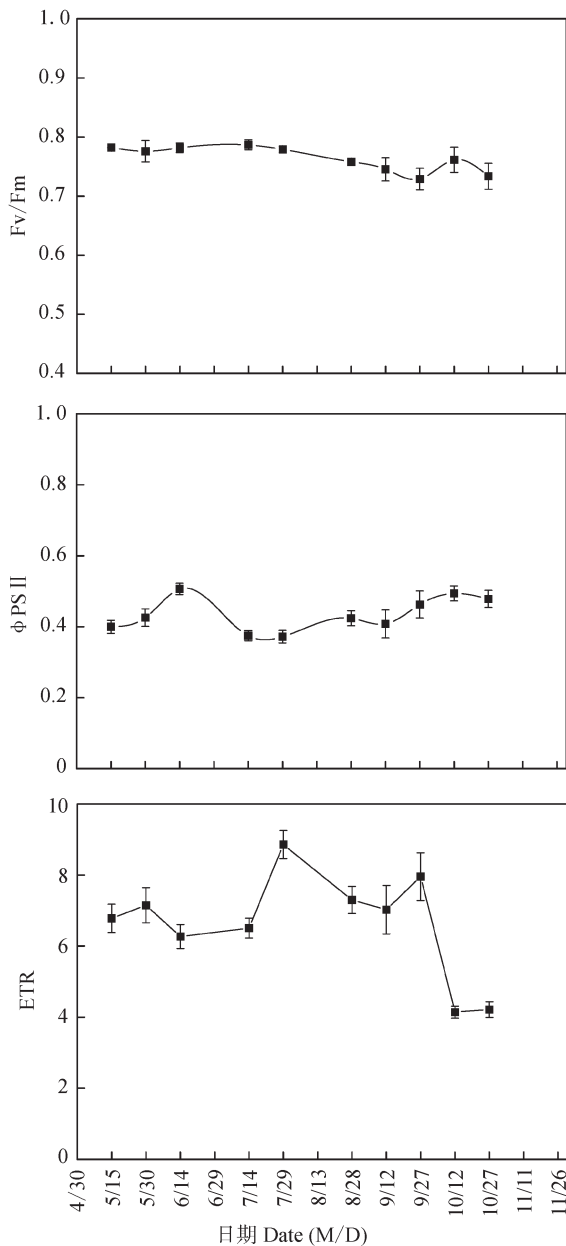


图2 银杏叶片的最大光化学效率( $F_v/F_m$ )、实际光化学效率( $\Phi PS II$ )和光合电子传递速率(ETR)的变化

Fig. 2 Changes in photochemical maximum efficiency ( $F_v/F_m$ ), actual photochemical efficiency ( $\Phi PS II$ ) and apparent photosynthetic electron transport rate (ETR) of leaves of *Ginkgo biloba*

节机制耗散掉过剩的光能而自我保护。从图4可见,  $Y(NPQ)$ 在5月中到6月中呈下降趋势,然后迅速上升并维持在较高水平,到8月底又迅速下降并维持在较低水平。

PS II 非调节性能量耗散的量子产额 $Y(NO)$ 是反映植物已经受到伤害或者即将造成光损伤的指标。 $Y(NO)$ 较大,一方面说明光化学能量转换和自

我保护调节机制比较弱,另一方面说明植物无法耗散过多的光能。图4显示,  $Y(NO)$ 几乎与  $Y(NPQ)$ 呈现完全相反的变化趋势,7月底开始逐渐升高,表明银杏叶自我保护机制逐渐降低。

## 2.4 银杏叶的内酯含量与光合参数的相关性

从表3可见,白果内酯含量与叶绿素a和总叶绿素含量间有极显著正相关性( $P < 0.01$ ),与荧光参数ETR、 $Y(NPQ)$ 、 $qN$ 间也呈极显著正相关性( $P < 0.01$ ),但与 $Y(NO)$ 呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。白果内酯含量还与叶绿素b、 $F_v/F_m$ 呈显著正相关( $P < 0.05$ ),而与 $\Phi PS II$ 呈显著负相关( $P < 0.05$ )。

银杏内酯含量与叶绿素a、b和总叶绿素含量间无明显相关性,但与类胡萝卜素含量呈显著负相关( $P < 0.05$ );与ETR、 $Y(NPQ)$ 、 $qN$ 间呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),与 $Y(NO)$ 则呈极显著负相关( $P < 0.01$ );与 $F_v/F_m$ 呈显著正相关( $P < 0.05$ )。

总银杏内酯含量与叶绿素a、总叶绿素含量间呈显著正相关性( $P < 0.05$ );与ETR、 $Y(NPQ)$ 、 $qN$ 间呈极显著正相关性( $P < 0.01$ ),与 $Y(NO)$ 呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。

银杏内酯/白果内酯与叶绿素a、b含量和总叶绿素含量间呈极显著正相关( $P < 0.01$ );与ETR和 $Y(NPQ)$ 呈极显著正相关( $P < 0.01$ ),与 $qN$ 呈显著正相关性( $P < 0.05$ ),但与 $Y(NO)$ 呈极显著负相关( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

目前普遍认为 GBE 的有效成分为黄酮类化合物和萜类内酯,而它们在叶中的含量与季节和植株性别有较大差异。关于银杏叶萜类内酯含量季节性变化的研究结果不一致,有的认为萜类内酯含量最大主要集中在9月<sup>[7-8,16-17]</sup>;而周恩丽等<sup>[18]</sup>认为,5-7月采集的银杏叶中的总内酯含量较高;范怡梅等<sup>[9]</sup>对南京大学校园内约10年生雌性银杏树的研究表明,5-10月的内酯含量呈显著增高的趋势,10月最高,随后显著降低,11月底落叶中内酯含量最低。而王先荣等<sup>[5]</sup>认为银杏幼苗叶的总萜类内酯含量以8月份最高,10、11月急剧下降。本研究结果与此类似,8月份总萜类内酯含量达最高,9、10月份急剧下降。廖咏玲等<sup>[19]</sup>对总萜内酯含量的

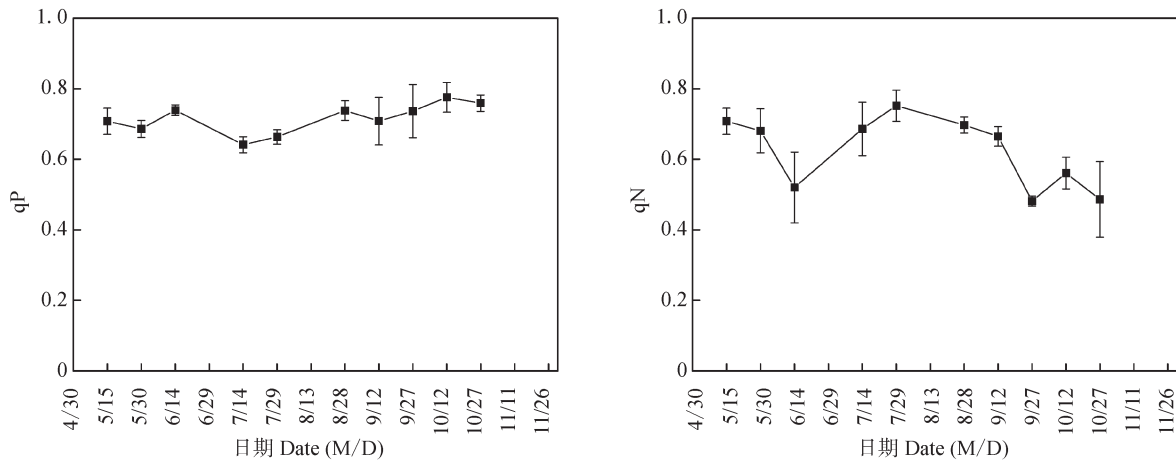


图3 银杏叶片的光化学猝灭系数(qP)和非光化学猝灭系数(qN)的变化

Fig. 3 Changes in photochemical quenching coefficient (qP) and non-photochemical quenching coefficient (qN) in leaves of *Ginkgo biloba*

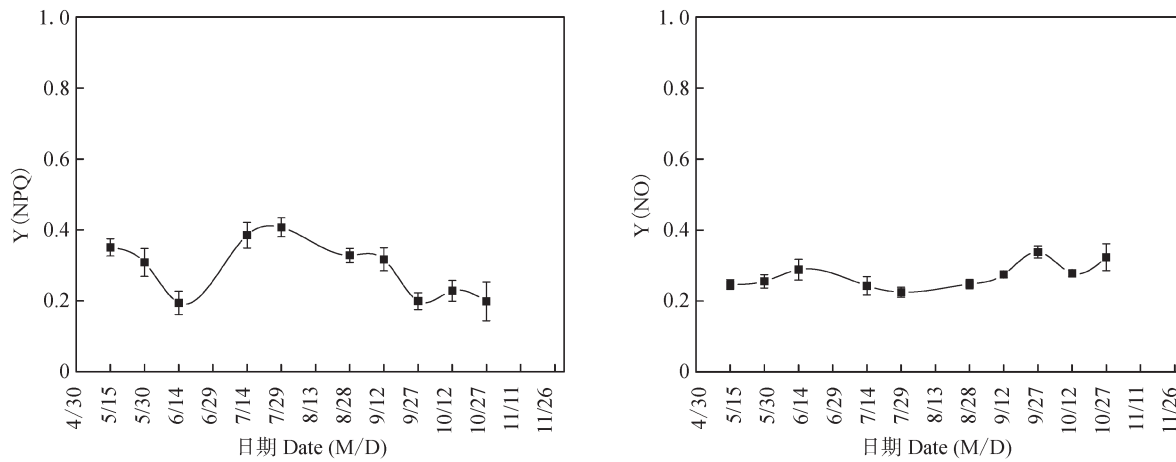


图4 银杏叶片PS II的调节性能量耗散的量子产额[Y(NPQ)]和非调节性能量耗散的量子产额[Y(NO)]的变化

Fig. 4 Changes in quantum yield of adjustment of energy dissipation [Y(NPQ)] and quantum yield of non-adjustment energy dissipation [Y(NO)] in leaves of *Ginkgo biloba*

表3 银杏叶片的内酯含量与光合参数间的相关性

Table 3 Correlation between lactone contents and photosynthetic parameters in leaves of *Ginkgo biloba*

	白果内酯 Bilobalide	银杏内酯 Ginkgolides	总银杏内酯 Total terpene lactones	银杏内酯/白果内酯 Ginkgolides/Bilobalide
Chl a	0.443**		0.312*	0.558**
Chl b	0.342*			0.516**
Chl a+b	0.463**			0.626**
类胡萝卜素 Carotenoid		-0.279*		
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	0.302*	0.353**	0.346*	
ΦPS II	-0.370*	-0.419**	-0.417**	
ETR	0.585**	0.581**	0.618**	0.391**
Y(NPQ)	0.470**	0.462**	0.494**	0.333*
Y(NO)	-0.532**	-0.481**	-0.537**	-0.424**
qN	0.515**	0.508**	0.542**	0.365*
qP		-0.394**	-0.347*	

\*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

研究结果相似,但本研究的总内酯以白果内酯(BB)含量最丰富,而后者则以 GA 的含量最丰富。朱灿灿等<sup>[20]</sup>对银杏‘泰兴大白果’(‘Taixing Dabaigu’) 2年生实生苗的研究表明,不同生长季节银杏叶 BB 含量总体呈现“升高-降低-升高”的趋势,其含量与苗木生长具有对应性,即银杏苗 4 月份开始萌芽,叶的 BB 含量较低,苗木进入快速生长期, BB 含量逐渐升高,在 5-7 月 BB 含量达最高;8 月份叶片停止生长 BB 含量急剧下降。本研究结果与其完全不同,可能与树龄、地理和气候等因素有关。

许锋等<sup>[21]</sup>的研究表明,银杏叶萜类内酯含量与叶绿素含量呈显著正相关。本研究结果也表明,白果内酯含量与叶绿素 a 和总叶绿素含量间呈极显著正相关性,总内酯含量与叶绿素 a 和总叶绿素含量呈显著正相关。内酯作为银杏叶主要产生代谢产物,合成的起始物质是丙酮酸和三磷酸甘油醛<sup>[22]</sup>,其合成需要消耗碳和能量以及相关合成酶。根据代谢溢流学说,当含碳化合物超过植物生长所需时,过量的碳水化合物就会转向用于植物次生代谢产物的合成<sup>[4]</sup>,叶绿素含量与内酯含量间的关系尚需进一步研究。

叶绿素荧光技术作为植物抗逆性指标已被广泛应用,是评价植物耐逆境能力的探针;而次生代谢产物与植物对环境胁迫应答也具有密切关联。根据植物次生代谢的碳素/营养平衡假说,植物体内以碳(C)为基础的次生代谢产物(如酚类、萜烯类等)与植物体内的 C/N(碳素/营养)比呈正相关,而内酯化合物均是以碳为基础的次生代谢物<sup>[22]</sup>,在植物营养变化不大的情况下,一旦受到环境胁迫或者光合机构受损时,植物光合能力降低,碳同化能力下降,造成 C/N 降低,从而导致内酯合成减少。本研究结果表明,ETR 作为表观电子传递速率及 Y(NPQ)作为反映植物对过剩光能保护能力的指标,可以较好反映不同采收期银杏叶片中 BB 及总银杏内酯含量水平,而 Y(NO)作为光损伤指标,也可以较好揭示内酯代谢与叶绿素荧光参数间的关系(极显著负相关);提示叶片衰老和光抑制、损伤都可以显著降低次生代谢物合成;而叶绿素荧光参数可以利用便携式设备迅速进行原位测定,这一技术应用于萜类内酯含量预测具有重要生产和科研价值。

## 参考文献

[1] Shi Q W, Liu S Y, Zhang W S, et al. The survey of the research

and development of the leaves of *Ginkgo biloba* L. [J]. Nat Prod Res Dev, 1995, 7(1): 70-76.

史清文, 刘素云, 张文素, 等. 银杏叶的研究开发概况 [J]. 天然产物研究与开发, 1995, 7(1): 70-76.

[2] Shao S R. Study on the technique of extraction, purification, preparation and quality control of the bio-active constituents from *Ginkgo biloba* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005: 1-83.

邵胜荣. 银杏叶活性成分提取纯化、制剂工艺及质量研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2005: 1-83.

[3] Braquer P. Ginkgolides: potent platelet activating factor antagonists isolated from *Ginkgo biloba* L.: Chemistry, pharmacology and clinical applications [J]. Drug Future, 1987, 12(7): 643-699.

[4] Leng P S. Biosynthesis of pharmacological second metabolites as well as effects of culture on them and leaf yield in *Ginkgo biloba* L. [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2005: 1-79.

冷平生. 银杏药效次生物合成及其栽培措施调控 [D]. 北京: 北京林业大学, 2005: 1-79.

[5] Wang X R, Zhou Z H, Du A Q, et al. Content of the total terpene lactones in *Ginkgo biloba* L. leaves in relation to the various seasons and tree's ages [J]. J Chin Pharm Univ, 2000, 31(2): 88-90.

王先荣, 周正华, 杜安全, 等. 不同生长季节及生长年限银杏叶总萜内酯含量的相关性研究 [J]. 中国药科大学学报, 2000, 31(2): 88-90.

[6] Zhong Y, Tang W Z, Ding X B, et al. Changes in contents of total flavonoids and total lactone in *Ginkgo biloba* L. leaves in different growth seasons at different ages [J]. Chin Trad Herb Drug, 1999, 30(12): 909-910.

仲英, 唐文照, 丁杏苞, 等. 不同树龄的银杏叶在不同生长季节中银杏总黄酮和总内酯的含量变化 [J]. 中草药, 1999, 30(12): 909-910.

[7] Qi X Y, Chen W J, Xie B J. Study on the development variation of the content of terpene lactones of *Ginkgo biloba* leaves [J]. Chin Trad Patent Med, 2003, 25(6): 445-448.

戚向阳, 陈维军, 谢笔钧. 银杏叶中萜内酯含量的动态变化的研究 [J]. 中成药, 2003, 25(6): 445-448.

[8] Qian D W, Ju J M, Zhu L Y, et al. Study on changing rules for total flavonoids and total terpene lactones in *Ginkgo biloba* leaves at different ages of tree and collecting seasons [J]. Chin Trad Herb Drug, 2002, 33(11): 1025-1027.

钱大玮, 鞠建明, 朱玲英, 等. 不同树龄银杏叶在不同季节中总黄酮和总内酯的含量变化 [J]. 中草药, 2002, 33(11): 1025-1027.

[9] Fan Y M, Wang Y, Zhang Z X, et al. Studies on correlation between terpene lactone content in leaves of *Ginkgo biloba* and growth season and plant sex [J]. Chin J Chin Mat Med, 1999, 24(2): 82-83.

范怡梅, 王勇, 张祖暄, 等. 银杏叶中萜类内酯含量与生长季节及植株性别的相关性研究 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(2):

- 82–83.
- [10] Scott T L, Janusz A, Perkins M V, et al. Effect of amphetamine precursors and by-products on soil enzymes of two urban soils [J]. *Bull Environ Contam Toxicol*, 2003, 70(4): 824–831.
- [11] Zhang S R. A discussion on chlorophyll fluorescence kinetics parameters and their significance [J]. *Chin Bull Bot*, 1999, 16(4): 444–448.  
张守仁. 叶绿素荧光动力学参数的意义及讨论 [J]. *植物学通报*, 1999, 16(4): 444–448.
- [12] Li X L. The effect of light and nitrogen on biomass and secondary metabolites of *Catharanthus roseus* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2010: 1–64.  
李锡龙. 光和氮素对长春花形态及次生代谢产物的影响 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2010: 1–64.
- [13] Kramer D M, Johnson G, Kiirats O, et al. New fluorescence parameters for the determination of QA redox state and excitation energy fluxes [J]. *Photosynth Res*, 2004, 79(2): 209–218.
- [14] Arnon D I. Copper enzymes in isolated chloroplasts: Polyphenoloxidase in *Beta vulgaris* [J]. *Plant Physiol*, 1949, 24(1): 1–15.
- [15] Li X F, Hou R X, Zhu Y Y, et al. Effects of heat stress on chlorophyll fluorescence characteristics of Chinese cabbages [J]. *Transact CSAE*, 2009, 25(S1): 49–54.  
李晓锋, 侯瑞贤, 朱玉英, 等. 高温胁迫对大白菜叶绿素荧光特性的影响 [J]. *农业工程学报*, 2009, 25 (增刊1): 49–54.
- [16] Chen X S, Zhang W C, Deng X X. Seasonal changes of the content of flavonoids and ginkgolides in the leaves of *Ginkgo biloba* and their changes at different stages of development of the tree [J]. *J Fruit Sci*, 1997, 14(4): 226–229.  
陈学森, 章文才, 邓秀新. 树龄及季节对银杏叶黄酮与萜内酯含量的影响 [J]. *果树科学*, 1997, 14(4): 226–229.
- [17] Huang X H, Liao Y L, Xu F, et al. Annual cycle law of terpene lactones contents in leaves from different types of branches in *Ginkgo biloba* [J]. *Nonwood For Res*, 2013, 31(1): 48–52.  
黄小花, 廖咏玲, 许锋, 等. 银杏不同类型枝条叶片萜内酯含量年周期变化规律 [J]. *经济林研究*, 2013, 31(1): 48–52.
- [18] Zhou E L, Li X F, Wang W, et al. Effects of different tree ages, harvest seasons, and drying methods on total lactones in *Ginkgo biloba* leaves [J]. *Drugs Clinic*, 2012, 27(4): 380–382.  
周恩丽, 李雪峰, 王伟, 等. 树龄、采收期和干燥方法对银杏叶中总内酯的影响 [J]. *现代药物与临床*, 2012, 27(4): 380–382.
- [19] Liao Y L, Cheng S Y, Xu F, et al. Annual variation and distribution rule of terpene lactone content in *Ginkgo biloba* among leaves from different positions of female long-branch [J]. *J CS Univ For Techn*, 2013, 33(11): 47–52.  
廖咏玲, 程水源, 许锋, 等. 银杏雌树长枝不同叶位萜内酯含量变化及分布规律 [J]. *中南林业科技大学学报*, 2013, 33(11): 47–52.
- [20] Zhu C C, Cao F L, Wang G B, et al. Effects of drought stress on annual dynamic changing pattern of the terpene lactones content in *Ginkgo biloba* leaves [J]. *For Sci Techn*, 2011, 25(6): 15–20.  
朱灿灿, 曹福亮, 汪贵斌, 等. 干旱胁迫对银杏叶萜内酯年动态变化的影响 [J]. *林业科技开发*, 2011, 25(6): 15–20.
- [21] Xu F, Zhang W W, Sun N N, et al. Effects of chlorocholine chloride on photosynthesis metabolism and terpene trilactones biosynthesis in the leaf of *Ginkgo biloba* [J]. *Acta Hort Sin*, 2011, 38(12): 2253–2260.  
许锋, 张威威, 孙楠楠, 等. 矮壮素对银杏叶片光合代谢与萜内酯生物合成的影响 [J]. *园艺学报*, 2011, 38(12): 2253–2260.
- [22] Liu W H, Chen M, Liao Z H, et al. Advances in studies on biosynthetic pathway and biotechnology of ginkgolides [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 2007, 38(6): 941–945.  
刘万宏, 陈敏, 廖志华, 等. 银杏内酯的生物合成途径及生物技术研究进展 [J]. *中草药*, 2007, 38(6): 941–945.