

珊瑚菜中香豆素的组织化学定位

辛 华^{1,2}, 丁雨龙¹

(1. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 南京 210000; 2. 青岛农业大学 生命科学学院, 山东 青岛 266109)

摘要: 利用冷冻切片技术和常规石蜡制片技术, 分别通过荧光显微镜和光学显微镜对珊瑚菜的根、叶片、叶柄等部位中的香豆素进行了组织化学定位。研究表明: 香豆素存在于珊瑚菜的分泌道中, 在荧光显微镜下发蓝色荧光; 分泌道广泛分布于植物体中, 在根中, 分布在次生韧皮部中; 在叶片中, 分布在叶脉的薄壁组织中; 在叶柄中, 分布在维管束周围以及厚角组织内侧的薄壁组织中。

关键词: 珊瑚菜; 香豆素; 组织化学定位

中图分类号: Q946.8 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2008)06-0847-04

Histochemical allocation of coumarin in *Glehnia littoralis*

XIN Hua^{1,2}, DING Yu-Long¹

(1. College of Resources and Environment Sciences, Nanjing Forestry University, Nanjing 210000, China;

2. College of Life Sciences, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The histochemical allocation of the coumarin in the root, the blade and the petiole of the *Glehnia littoralis* was studied by using the fluorescent microscopy and the light microscopy. The results show that the coumarin, which releases blue fluorescence under the fluorescent microscopy, exists in secretary canals. Secretary canals distribute everywhere in *G. littoralis*. In the roots, they are in the secondary phloem; in the blades, they are in the parenchyma of the vein; in the petioles, they are in the parenchyma around the vascular and approaching the collenchyma.

Key words: *Glehnia littoralis*; coumarin; histochemical allocation

珊瑚菜(*Glehnia littoralis*)为伞形科珊瑚菜属的多年生草本植物, 分布于北太平洋沿岸, 在我国, 分布于辽宁、山东、江苏等地, 生长于海边沙滩或人工栽培, 原为海滩沙生植物群落的建群种之一, 对海岸固沙和盐碱土改良具有重要作用, 但海滩的滥用开发和对该植物的过度采挖, 使其数量日趋减少, 已处于濒临灭绝的境地, 被列为中国珍稀濒危保护植物(郝日明等, 2000)。珊瑚菜的根俗称北沙参, 既是一种营养价值较高的蔬菜, 也是一种重要中药材(中华人民共和国药事委员会, 2005), 香豆素是其中重要的活性成分(Kitajima等, 1998; Yuan等, 2002), 具抗 HIV、抗癌、抗菌等多种生物活性。目前, 对珊瑚菜中香豆素的研究, 主要集中在对其提取、含量测定

及药理研究方面(徐淑勇等, 2004; 李宝国等, 2005; 蒋小华等, 2006), 关于其组织化学定位的研究至今未见报道。本文运用冰冻切片技术和石蜡切片技术相结合的方法对珊瑚菜中的香豆素进行显微定位, 为其进一步应用提供一定的依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

2007年3月27日, 于山东省莱阳市高格庄乡胡城村采集人工栽培的多年生珊瑚菜作为实验材料。

1.2 实验方法

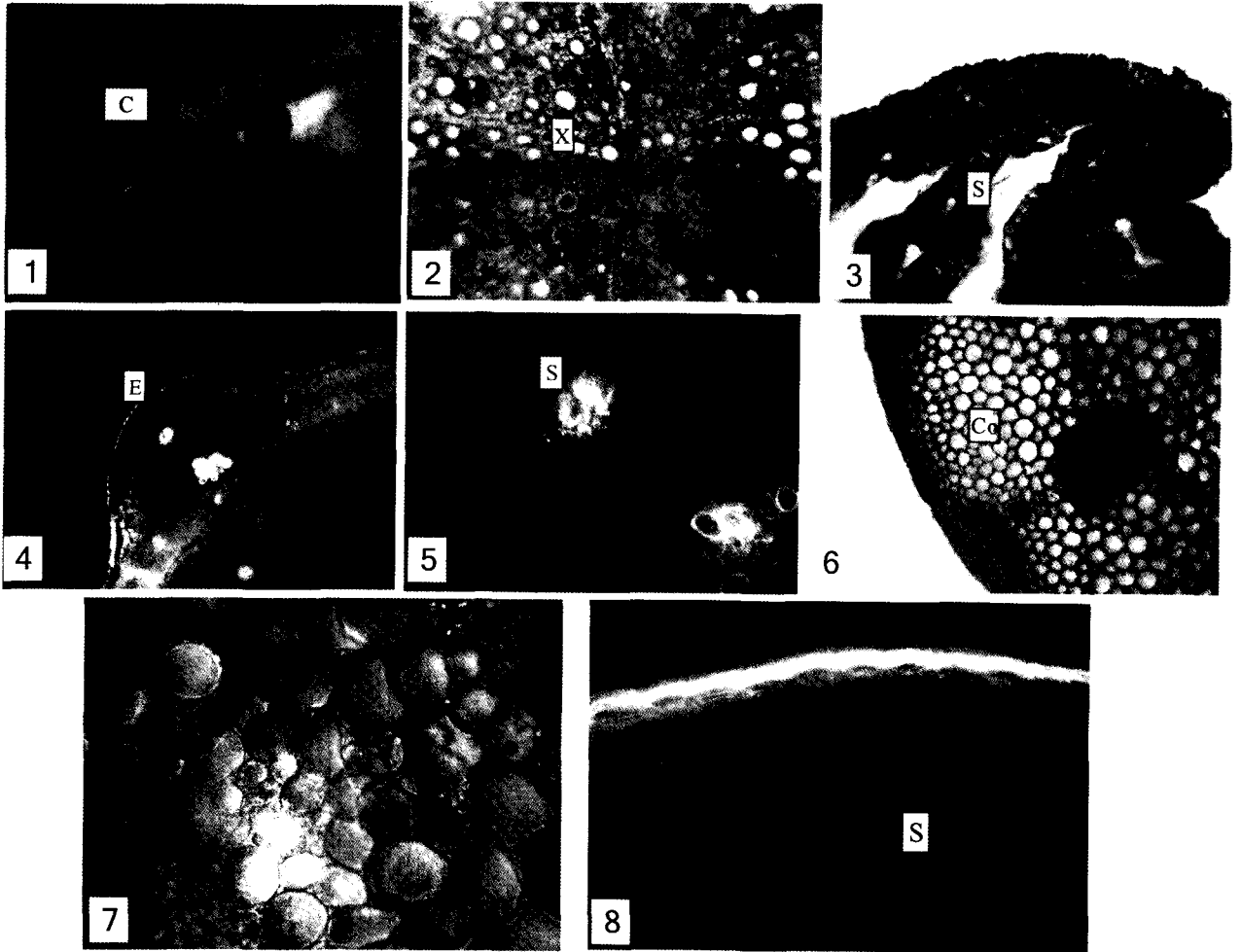
1.2.1 冰冻切片的制作 分别选取生长健壮的珊瑚

收稿日期: 2007-10-25 修回日期: 2008-03-29

作者简介: 辛华(1967-), 女, 山东海阳市人, 在读博士, 教授, 从事植物学研究。

菜的根、叶片、叶柄,截成 0.5 cm 小段,直接用 KD-1508 型冰冻切片机制片,切片厚度为 20~30 μm ,用水制成临时制片后,立即在激发光源为紫外线的 NIKON ECLIPSE80i 荧光显微镜下观察各组织结构所发荧光并照相。

对照材料的制作:选取珊瑚菜的叶柄,截成 0.5 cm 小段,用 KD-1508 型冰冻切片机制片,切片厚度为 25 μm ,将切好的材料置于载玻片上,滴加 70%乙醇配制的 FAA 固定液,固定大约 30 min,依次经过 85%、95%、100%乙醇处理后,用水制成临



图版 I 1—8. 珊瑚菜各部分的荧光显微图。1. 根,示木栓层 $\times 118$; 2. 根,示木质部 $\times 49$; 3. 根,示韧皮部和分泌道 $\times 49$; 4. 叶片 $\times 49$; 5. 叶片主脉,示分泌道 $\times 151$; 6. 叶柄,示表皮 $\times 99$; 7. 叶柄,示维管束和分泌道 $\times 196$; 8. 乙醇处理后的叶柄,示表皮和分泌道 $\times 205$; C:木栓层; Co:厚角组织; E:表皮; P:韧皮部; Pa:薄壁组织; Pal:栅栏组织; S:分泌道; V:维管束; X:木质部。

Plate I 1—8. The transverse sections of many parts of *Glehnia littoralis* investigated with fluorescent microscopy. 1. Root, showing the cork $\times 118$; 2. Root, showing the xylem $\times 49$; 3. Root, showing the phloem and the secretory canal $\times 49$; 4. Blade $\times 49$; 5. Leaf vein, showing the secretory canal $\times 151$; 6. The petiole, showing the epidermis and the secretory canal $\times 196$; 7. The petiole, showing the vascular bundle and the secretory canal $\times 196$; 8. The petiole impregnated with the alcohol, showing the epidermis and the secretory canal $\times 205$; C: Cork; Co: Collenchyma; E: Epidermis; P: Phloem; Pa: Parenchyma; Pal: Palisade tissue; S: Secretory Canal; V: Vascular bundle; X: Xylem.

时制片后,在荧光显微镜下观察并照相。

1. 2. 2 石蜡切片的制作 选取珊瑚菜的根、叶片、叶柄,用 FAA 固定液固定,常规石蜡法制片,LEICA RM 2126RT 型切片机上切片,切片厚度为 8~10 μm ,番红—固绿双重染色,最后在 Nikon ECLIPSE80i 显微摄影系统下观察并照相。

2 结果观察

2.1 珊瑚菜荧光显微观察

(1) 根:在根的木栓层(图版 I:1)、木质部(图版 I:2)以及次生韧皮部中的分泌道(图版 I:3),有明显

蓝色荧光发生,分泌道为一圈分泌细胞围绕一腔道组成。(2)叶片:叶的表皮、叶脉的木质部(图版 I:4)以及叶脉薄壁组织中的分泌道(图版 I:5),有明显的蓝色荧光发生。(3)叶柄:在叶柄的表皮、木质部(图版 I:6)以及维管束周围的薄壁组织中的分泌道和靠近厚角组织的薄壁细胞中的分泌道(图版 I:7),有明显的蓝色荧光。

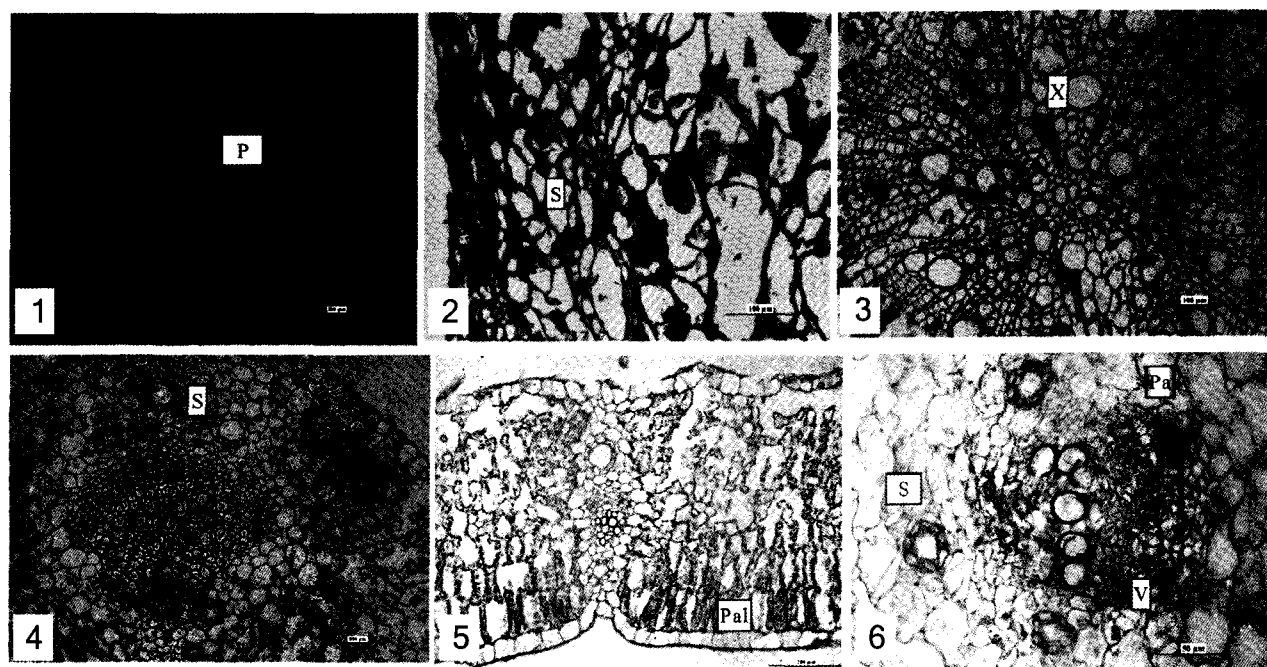
2.2 乙醇处理后的珊瑚菜荧光显微观察

将珊瑚菜叶柄切片经过乙醇处理后,在荧光显微镜下观察,对照结果显示,表皮、木质部处仍有明显蓝

色荧光发生,但分泌道处的蓝色荧光消失(图版 I:8)。

2.3 珊瑚菜各器官的结构及其中分泌道的分布

2.3.1 根的显微观察 珊瑚菜的根最外为周皮,主要由5~6层扁长形的木栓层细胞组成,周皮的内侧,次生韧皮部占较大比例,其中薄壁细胞非常发达,排列疏松,其间分布有分泌道,而且,在靠近周皮的次生韧皮部中就有分泌道的分布(图版 II:2)。形成层细胞较小,排列紧密。木质部位于根的中央(图版 II:3),其中无分泌道分布。射线由几层薄壁细胞组成,较宽(图版 II:1)。



图版 II 1—3. 珊瑚菜根的横切图 1. 根的结构,2. 靠近周皮的分泌道,3. 示次生木质部; 4—5. 珊瑚菜叶片的横切图 4. 主脉的维管束及分泌道,5. 叶肉; 6. 珊瑚菜叶柄的横切图,示维管束和分泌道; C:木栓层; Co:厚角组织; E:表皮; P:韧皮部; Pa:薄壁组织; Pal:栅栏组织; S:分泌道; V:维管束; X:木质部。

Plate II 1—3. The transverse sections of root of *Glehnia littoralis* 1. showing the secondary structure,2. showing the secretory canal approaching the cork,3. showing the secondary xylem; 4—5. The transverse sections of blade of *G. littoralis* 4. showing the vascular bundle and the secretory canals in leaf vein,5. showing mesophyll; 6. The transverse section of petiole, showing the vascular bundle and secretory canals; C: Cork; Co, Collenchyma; E, Epidermis; P, Phloem; Pa, Parenchyma; Pal, Palisade tissue; S, Secretory Canal; V, Vascular bundle; X: Xylem.

2.3.2 叶片的显微观察 珊瑚菜叶片由表皮、叶肉和叶脉组成,为两面叶(图版 II:5)。上、下表皮均由单层细胞组成,细胞近方形,排列紧密。叶肉分化成栅栏组织和海绵组织。栅栏组织靠近上表皮,有2~3层细胞。海绵组织位于栅栏组织和下表皮之间,由一些不规则形状的薄壁细胞组成。叶片主脉和较大的侧脉由维管束、薄壁组织和机械组织构成,维管束位于叶脉中央部位,由木质部、形成层和韧皮部组成,维

管束外围的薄壁组织中分布有分泌道(图版 II:4)。2.3.3 叶柄的显微观察 珊瑚菜叶柄由表皮、机械组织、薄壁组织和维管束组成。表皮由一层细胞组成,其内为多层厚角组织,有的部位成群分布。薄壁组织一直分布到叶柄中央,细胞排列疏松,有胞间隙。维管束在薄壁组织内分散排列,由韧皮部、形成层和木质部组成,为外韧无限维管束。叶柄中的分泌道分布在维管束的周围(图版 II:6)以及靠近厚角组织群的

薄壁组织中。

3 讨论

香豆素是邻羟基桂皮酸的内酯,芸香科和伞形科植物为多。其能溶于沸水,难溶于冷水,易溶于甲醇、乙醇、氯仿和乙醚;在可见光下为无色或浅黄色结晶,在紫外线照射下易产生蓝色荧光(杨红,2004)。新鲜材料的荧光性很少变化,因此,我们采用冷冻制片技术直接将珊瑚菜的新鲜材料制片后进行荧光观察。

在对珊瑚菜中香豆素的荧光显微观察中,发现表皮、木质部、木栓层发出的荧光与分泌道发出的荧光均为蓝色,难以明确香豆素的位置。为此,我们利用香豆素易溶于乙醇的性质,用叶柄切片作对照,经乙醇处理后,除去香豆素,从而确定出香豆素在植物组织结构中的位置。对照结果显示,除去香豆素后,表皮和木质部仍发出明显蓝色荧光,而分泌道处的蓝色荧光很快消失。这说明,分泌道处的荧光由香豆素产生,香豆素仅存在于分泌道处。珊瑚菜的分泌道是由一层分泌细胞围绕一腔道组成的,在根和叶中广泛存在。分泌道在根中,分布在次生韧皮部中;在叶片中,分布在叶脉的薄壁组织中;在叶柄中,分布在维管束周围以及厚角组织内侧的薄壁组织中。

食用或药用的北沙参通常使用传统的方法进行加工,即用沸水烫后、去皮,主要是因为去皮后外观好看(李宝国等,2002),但是,在去皮的过程中,不仅仅去掉了周皮,还会去掉部分次生韧皮部。本实验发现,在根中,靠近周皮的次生韧皮部中分布有分泌道,这样在去皮、清洗过程中很容易破坏次生韧皮部中的

分泌道,导致香豆素流失。因此,在北沙参的制作过程中,最好不要去皮,尽量保持根部原状,带根皮使用,这样既可以省工省时,又可以减少加工中活性物质香豆素的损失。

参考文献:

- 中华人民共和国药事委员会. 2005. 中华人民共和国药典一部[M]. 北京:化学工业出版社:66
- 李宝国,石俊英. 2002. 近几十年来北沙参的研究概况[J]. 时珍国医国药,13(5):309-311
- 李宝国,石俊英. 2005. HPLC法测定不同产地北沙参药材中香豆素的含量[J]. 中药材,28(6):475-476
- 杨红. 2004. 中药化学实用技术[M]. 北京:化学工业出版社
- Hao RM(郝日明),Huang Z Y(黄志远),Liu XJ(刘兴建),et al. 2000. The natural distribution and characteristics of the rare and endangered plants in Jiangsu,China(中国珍稀濒危保护植物在江苏省的自然分布及其规律)[J]. Biodiversity Sci(生物多样性),8(2):153-162
- Jiang XH(蒋小华),Xie YC(谢运昌),HuangYL(黄永林). 2006. Analysis of coumarin in *Peristrophe baphica* by RP-HPLC(RP-HPLC测定红丝线中香豆素的含量)[J]. Guihaia(广西植物),26(4):451-452
- Kitajima J,Okamura, Ishikawat, et al. 1998. Coumarin glycosides of *Glehnia littoralis*[J]. Chem Pharm Bull, 46(9): 1 404-1 407
- Xu SY(徐淑勇),Zeng HP(曾和平),Wei CW(魏传晚),et al. 2004. Progress in the study of bioactive coumarins(生物活性香豆素的研究进展)[J]. Chin J Synthetic Chem(合成化学),4:340-347
- Yuan Z,Tezuka Y,Fan WZ,et al. 2002. Constituents of the underground parts of *Glehnia littoralis*[J]. Chem Pharm Bull,1:73-77