

芦荟维管束的结构与芦荟素积累的相关性

王太霞^{1,2}, 李景原¹, 胡正海^{1*}

(1. 西北大学生命科学学院, 西安 710069; 2. 河南师范大学生命科学学院, 河南新乡 453002)

摘要: 应用半薄切片、组织化学、荧光显微镜观察和薄层层析(TLC)相结合的方法研究了中华芦荟(*Aloe vera* L. var. *chinensis*)、木立芦荟(*Aloe arborescens*)叶和茎内维管束的结构及其与芦荟素积累的关系。结果表明,木立芦荟叶内维管束和中华芦荟叶内外轮的维管束中有大型韧皮薄壁细胞,而木立芦荟茎和中华芦荟叶中内轮维管束无大型韧皮薄壁细胞。组织化学结果表明,用醋酸铅处理过的上述材料,大型韧皮薄壁细胞内出现沉淀物;在荧光显微镜下经蓝光激发,大型韧皮薄壁细胞发出桔黄色荧光,都显示出芦荟素反应。薄层层析(TLC)结果证明,木立芦荟和中华芦荟叶含有大型韧皮薄壁细胞的维管束都含芦荟素,而木立芦荟茎及中华芦荟叶中内轮维管束都不含芦荟素。为此,维管束中的大型韧皮薄壁细胞与芦荟素的积累密切相关,维管束中是否有大型韧皮薄壁细胞可作为判断是否含有芦荟素的解剖学指标。

关键词: 芦荟; 维管束; 结构; 芦荟素

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)05-0436-04

Correlation between the structure of vascular bundle and the content of aloin in *Aloe*

WANG Tai-xia^{1,2}, LI Jing-yuan¹, HU Zheng-hai^{1*}

(1. College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China; 2. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453002, China)

Abstract: With the methods of semi-thin section, histochemistry, fluorescent microscope and TLC, the structures of vascular bundles in leaves and stems of *Aloe vera* L. var. *chinensis* and *Aloe arborescens* Mill. were studied. The correlation between the structure of vascular bundle and the content of aloin was also investigated. The results showed that the vascular bundles in the leaf of *Aloe arborescens* and the exterior lane vascular bundles in the leaf of *Aloe vera* L. var. *chinensis* had large phloem parenchymatous cells, whereas there were no large phloem parenchymatous cells in the vascular bundles of the stem of *Aloe arborescens* and the interior lane ones of the leaf of *Aloe vera* L. var. *chinensis*. The investigation of histochemistry showed there were precipitate in large phloem parenchymatous cells when the material was soaked in the liquid of 1% lead acetate ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$). The yellow-green fluorescence appeared in the large phloem parenchymatous cells when the section of life material was observed by fluorescent microscope with blue light. The results of TLC also showed that the leaves of *Aloe vera* L. var. *chinensis* and *Aloe arborescens*, where there were large phloem parenchymatous cells, contained aloin, whereas the stem of *Aloe arborescens* and the interior lane vascular bundles of the leaf of *Aloe vera* L. var. *chinensis*, where there were no large phloem parenchymatous cells, did not contain aloin. So the large phloem parenchymatous cells of vascular bundles were the mainly storage location of aloin. Whether or not with large phloem parenchymatous cells in vascular bundles could be used as the ana-

收稿日期: 2002-12-02 修订日期: 2003-02-20

基金项目: 国家自然科学基金(30270084); 陕西省自然科学基金(2001SM21)。

作者简介: 王太霞(1964-), 女, 河南新乡市人, 博士生, 从事结构植物学研究。* 为通讯作者 E-mail: Huzhenghai@sina.com

tomical index to judge the aloe plant whether or not contain aloin.

Key words: *Aloe*; vascular bundle; structure; aloin

芦荟属(*Aloe* L.)植物隶属于百合科(Liliaceae),原产非洲南部。该属植物内含有多种药用成分,其中芦荟素是主要活性成分之一(Chauser 等,1996,1997; Groom 等,1987; Reynolds 等,1985,1986)。Hausen(1990)曾指出芦荟属植物叶的维管束内都存在大型韧皮薄壁细胞,并认为这些细胞产生芦荟素,称之为大型韧皮薄壁细胞。Bruni 和 Tosi(1982)用荧光显微镜观察了 5 种芦荟叶,发现以小球体形式存在的蒽醌类物质在紫外光下发出橙黄色荧光,而此种橙黄色小球体存在于同化组织和储水组织中。Beaumont 等(1985,1986)和 Reynolds T(1999)则研究报道,维管束的大型韧皮薄壁细胞是芦荟素等蒽醌类物质的合成和储藏场所。胡正海(2001)和 Shen 等(2001)应用植物解剖学、组织化学和植物化学方法结合研究中华芦荟(*A. vera* L. var. *chinensis*)叶,证实维管束的大型韧皮薄壁细胞是芦荟素等蒽醌类物质的储藏场所。因此,目前对于芦荟植物体结构与芦荟素积累关系的看法尚不一致。此外,芦荟茎内维管束及中华芦荟叶的内轮维管束的结构以及其与芦荟素类物质的关系,尚缺乏报道。

我们采用半薄切片、组织化学、荧光显微镜观察和薄层层析相结合的方法研究了芦荟不同器官和不同类型维管束的结构与芦荟素积累的关系。旨在从正、反两方面证明芦荟的解剖结构与芦荟素积累的相关性,同时也为生产上选育芦荟素含量高的品种提供解剖学指标。

1 材料与方 法

1.1 材料

木立芦荟(*Aloe arborescens* Mill.)和中华芦荟(*A. vera* L. var. *chinensis* (Haw)Berg.)。植株于 1998 年起引种栽培在西北大学生命科学学院温室。

1.2 方法

1.2.1 植物解剖学和组织化学方法 分别切取中华芦荟叶、木立芦荟叶和茎具维管束部位的小块,长 2~3 mm、宽 1 mm。在 4℃下先用 3%戊二醛预固定 2 h,然后用 1%的醋酸铅溶液浸泡 6 h,使醋酸铅与蒽醌类物质反应产生沉淀,再用 1%的钨酸固定 4

h。经系列乙醇脱水后用 Epon812 树脂包埋。用 Reichert-Jung 超薄切片机切片,切片的厚度为 950~1 000 nm。亚甲基蓝—天青 II 染色,染色方法同李正理(1987),Leica 显微镜观察并照相。

1.2.2 薄层层析法(TLC) 分别取新鲜的木立芦荟叶的维管束、中华芦荟叶外轮的维管束、中华芦荟叶内轮的维管束和木立芦荟茎的维管束部分,加入甲醇 5 mL 浸提过夜。薄层层析采用硅胶 GF(青岛海洋化工厂)薄层板,以乙酸乙酯-甲醇-水(100:17:13)为展开剂。在 365 nm 紫外光下观察并照相或 10%氢氧化钾甲醇溶液显色后照相。芦荟素标准品购自美国 Sigma 公司。

1.2.3 荧光显微镜的观察方法 分别切取中华芦荟叶、木立芦荟叶和茎的小方块,边长约 5 mm。在-20℃下用 LeicaCM1850 型冰冻切片机切片,切片厚度 40~60 μm(切片较厚,以减少对细胞的损坏和芦荟素从细胞中流出)。切片立即置于 Leica301-185.104-000 型荧光显微镜下,分别在紫外光和蓝光下观察芦荟素等蒽醌类物质在叶中的储藏场所并照相。

2 观察结果

2.1 维管束的结构和组织化学观察结果

木立芦荟和中华芦荟叶的基本结构相同,从横切面观察,都由表皮、同化组织、储水组织和维管束组成(图 1)。两者的主要区别是木立芦荟只有一圈维管束,位于同化组织和储水组织之间(图 1:A),而中华芦荟叶中有两圈维管束,其中一圈位于同化组织和储水组织之间,另一圈维管束位于储水组织之中(图 1:B)。

木立芦荟和中华芦荟叶中的维管束都由维管束鞘、木质部和韧皮部组成,属于并生型维管束。维管束鞘是一层扁平的细胞,包围在木质部和韧皮部的外围。木质部由导管和木薄壁细胞组成,位于维管束的内侧。韧皮部由筛管、伴细胞和韧皮薄壁细胞组成,位于维管束的外侧(图版 I:A,C,D)。在木立芦荟和中华芦荟叶外轮维管束的韧皮部中都有大型韧皮薄壁细胞,细胞直径达 60~80 μm(图版 I:C,D),大型韧皮薄壁细胞占维管束横切面的 70%

左右。中华芦荟叶中的内轮维管束的结构也是由维管束鞘包围着韧皮部和木质部组成的外韧维管束,但无大型韧皮薄壁细胞(图版 I:A)。木立芦荟茎中维管束有两类:初生结构中为外韧维管束,由维管束鞘包围韧皮部和木质部组成(图版 I:B₁);异常次生加厚的组织内为周木维管束,由导管和木纤维组成的木质部包围在韧皮部的外围,韧皮部由筛管和伴细胞组成(图版 I:B₂)。两类维管束内部都无大型韧皮薄壁细胞(图版 I:B₁,B₂)。

芦荟素属于蒽醌类物质,其与醋酸铅反应产生

沉淀。从图版 I 可见,只有在木立芦荟和中华芦荟叶外轮维管束的大型韧皮薄壁细胞中有沉淀物(图版 I:C,D)。而中华芦荟叶中内轮维管束和木立芦荟茎的两类维管束中无大型韧皮薄壁细胞,也没有沉淀物(图版 I:A,B₁,B₂)。

2.2 薄层层析实验结果

薄层层析结果显示,木立芦荟叶的维管束和中华芦荟叶外轮的维管束中有芦荟素, $R_f = 6.2$ (图版 I:E₂,E₄)。而木立芦荟茎的维管束和中华芦荟叶内轮的维管束中无芦荟素(图版 I:E₃,E₅)。

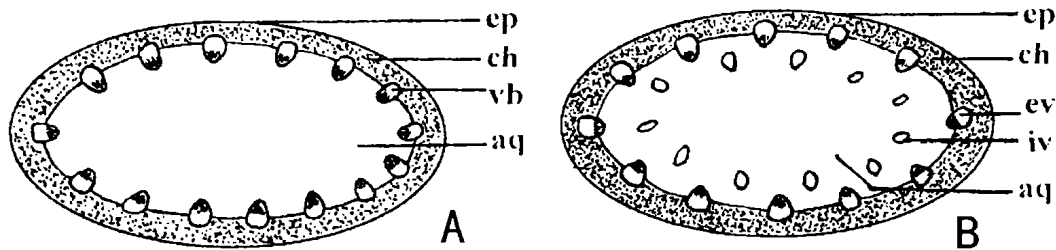


图 1 芦荟叶横切面轮廓图

Fig. 1 Diagram of cross-section of *Aloe* leaves

A: 木立芦荟叶横切面轮廓图; B: 中华芦荟叶横切面轮廓图; ep: 表皮; ch: 同化组织; vb: 维管束; aq: 贮水组织; ev: 外轮维管束; iv: 内轮维管束。

A: Diagram of cross-section of leaf of *Aloe arborescens*; B: Diagram of cross-section of leaf of *Aloe vera* L. var. *chinensis*; ep: epidermis; ch: chlorenchyma; vb: vascular bundle; aq: aquiferous tissue; ev: exterior lane vascular bundle; iv: interior lane vascular bundle.

2.3 荧光显微镜的观察结果

在荧光显微镜下,同化组织呈红色,木立芦荟叶的维管束和中华芦荟叶外轮的维管束呈黄色荧光(图版 II:A,B)。贮水组织、中华芦荟叶内轮的维管束和木立芦荟茎的维管束无色。

3 讨论

芦荟素是芦荟属植物主要药用成分之一,探讨芦荟植物的结构与芦荟素积累的关系,总结其规律,可以根据芦荟植物的结构判断其是否含有芦荟素。对于芦荟的开发利用有一定参考价值。Bruni 和 Tosi(1982)用荧光显微镜观察了 5 种芦荟叶,发现以小球体形式存在的蒽醌类物质在紫外光下发出橙黄色荧光,而此种橙黄色小球体存在于同化组织和储水组织中,并认为芦荟的同化组织和储水组织与芦荟素积累相关。但本研究结果表明,在荧光显微镜下同化组织呈红色,贮水组织无色。只有木立芦荟叶的维管束和中华芦荟叶外轮的维管束呈黄色荧

光。根据芦荟素经紫外光或蓝光激发后能发出橙黄色荧光这一特征,我们认为维管束与芦荟素的积累有直接关系,而同化组织和储水组织与芦荟素积累没有直接关系。同时我们分析,Bruni 和 Tosi 之所以在同化组织和储水组织中观察到橙黄色小球体,可能是切片太薄,芦荟素从维管束中扩散到同化组织和储水组织中的原因。

比较木立芦荟和中华芦荟不同部位的维管束结构表明,木立芦荟和中华芦荟叶的外轮维管束含有大型韧皮薄壁细胞,而木立芦荟茎的两类维管束和中华芦荟叶中内轮维管束内都无大型韧皮薄壁细胞。实验证明,具有大型韧皮薄壁细胞的维管束,荧光显微镜下有桔黄色荧光,薄层层析(TLC)结果也证明其也含有芦荟素。而无大型韧皮薄壁细胞的维管束,荧光显微镜下没有桔黄色荧光,薄层层析(TLC)结果证明其不含有芦荟素。组织化学实验结果进一步证明大型韧皮薄壁细胞内充满颗粒状沉淀物。综合以上组织化学、薄层层析和荧光显微镜观察结果可以看出,在芦荟植物体中凡是维管束内有

大型韧皮薄壁细胞的部位都含有芦荟素;维管束内没有大型韧皮薄壁细胞的部位都不含有芦荟素,维管束内的大型韧皮薄壁细胞与芦荟素等蒽醌类物质的积累密切相关。从而认为维管束内大型韧皮薄壁细胞的有无及其发达程度可作为选育芦荟素高含量品种的解剖学指标。

参考文献:

- 李正理. 1987. 植物制片技术[M]. 北京: 科学出版社, 86.
- Beaumont J, Cutler DF, Reynolds T, *et al.* 1985. The secretory tissues in the leaves of aloes and their allies [J]. *Israel J Bot*, **34**: 265—282.
- Beaumont J, Cutler DF, Reynolds T, *et al.* 1986. Secretory tissues in the East Africa shrubby aloes[J]. *Bot J Linn Soc*, **92**: 399—403.
- Bruni A, Tosi B. 1982. A method for the pharmacognostic study of *Aloe* species using fluorescence microscopy [J]. *Int J Crude Drug Res*, **20**: 127—131.
- Chausser Volfson E, Gutterman Y. 1996. The barbaloin content and distribution in *Aloe arborescens* leaves according to leaf part, age, position and season[J]. *Israel J Plant Sci*, **44**: 289—296.
- Chausser Volfson E, Gutterman Y. 1997. Content distribution of the secondary phenolic compound homonatalion in *Aloe hereroensis* leaves according to leaf part, position and monthly changes[J]. *J Arid Environments*, **37**: 115—122.
- Groom QJ, Reynolds T. 1987. Barbaloin in *Aloe* species [J]. *Planta Med*, **53**: 345—348.
- Hausen E. 1900. Morphologie und anatomie der aloineae [J]. *Verh Bot Ver Prov Brandenb*, **42**: 1—53.
- Hu ZH(胡正海), Shen ZG(沈宗根), Li JY(李景原). 2001. Relationship between leaf structure of *Aloe L.* and its anthraquinone content(芦荟属植物叶的结构与蒽醌类物质含量的关系)[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*(中草药), **32**(4): 347—350.
- Reynolds T. 1985. The compounds in *Aloe* leaf exudates: a review[J]. *Bot J Linn Soc*, **90**: 157—177.
- Reynolds T, Nicholls E. 1986. An examination of phytochemical variation in *Aloe elgonica* Bullock[J]. *Bot J Linn Soc*, **92**: 393—397.
- Reynolds T, Dweck AC. 1999. *Aloe vera* leaf gel; a review update[J]. *J Ethnopharmacology*, **68**: 3—37.
- Shen ZG, Elena Chausser volfson, Yitzchak Gutterman, *et al.* 2001. Anatomy, histochemistry and phytochemistry of leaves in *Aloe vera* var. *chiensis*[J]. *Acta Bot Sin*, **43**(1): 780—787.