

甘遂乳汁管的解剖学及营养器官 中二萜类化合物分布的研究

李 伟, 蔡 霞*, 王永建

(西北大学 生命科学学院, 西安 710069)

摘 要: 利用石蜡切片、半薄切片及组织化学的方法对甘遂各器官中乳汁管的类型、分布和大小进行了研究。结果表明,甘遂乳汁管为无节分枝型,在各器官中主要分布在维管束韧皮部的外侧或周围,此外,在根的中柱鞘薄壁细胞、叶片的叶肉组织、果实的中果皮及胚乳细胞内也有少量乳汁管的分布。甘遂乳汁管的大小在各器官中略有不同,其中茎中直径最大为 39.79 μm ,块根中直径居中为 36.90 μm ,叶肉组织中直径最小,仅有 8.94 μm ;乳汁管的密度在其营养器官中差异较大,依次为叶>茎>根>块根。组织化学实验结果显示二萜类化合物在甘遂的营养器官中分布广泛。根中柱鞘和韧皮部的薄壁组织细胞,茎皮层、维管形成层和韧皮部的薄壁组织细胞,叶的叶肉细胞以及叶脉中的厚角组织和薄壁组织细胞的腔中都显示不同程度的红色,而乳汁管中乳汁的显色较深。

关键词: 甘遂; 乳汁管; 解剖学; 组织化学

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)02-0176-06

Studies on anatomy of laticifers and localization of diterpene esters in vegetative organs in *Euphorbia kansui*

LI Wei, CAI Xia*, WANG Yong-Jian

(College of Life Sciences, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: The type, distribution and size of laticifers in all organs of *Euphorbia kansui* were observed under light-microscope by the means of paraffin sectioning, semi-thin sectioning and histochemistry. The results were as follows: non-articulated branched laticifers were available in *E. kansui*. The laticifers were mainly distributed around the phloem of the vascular bundle, except that they were also distributed in the pericycle in root tuber, the mesophyll tissues in leaf, the mesocarp and endosperm in fruit. The size of laticifers in *E. kansui* varied slightly in different organs. The diameter of laticifers was largest (39.79 μm) in stem, the medium (36.90 μm) in root tuber and the smallest (8.94 μm) in mesophyll tissues. However, the density of laticifers varied largely in different vegetative organs, whose descending order lists as leaf, stem, root and root tuber. Besides, histochemical results showed that the diterpene esters were distributed widely in the vegetative organs of *E. kansui*. The color showed by the cell cavity of laticifers was the darkest.

Key words: *Euphorbia kansui*; laticifers; anatomy; histochemistry

甘遂(*Euphorbia kansui*)为大戟科(Euphorbiaceae)大戟属(*Euphorbia*)多年生草本植物,主产于

陕西、山西、河南和甘肃等地。甘遂作为药用始载于《神农本草经》,有泻水逐饮、破积通便等功效,主治

收稿日期: 2008-04-15 修回日期: 2008-10-14

基金项目: 陕西省教育厅项目(04JK161)[Supported by Education Department of Shaanxi Province(04JK161)]

作者简介: 李伟(1982-),女,河北承德人,硕士研究生,从事结构植物学的研究。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: caixiah2003@sina.com)

水肿、腹水、大小便不通、咳喘、癫痫、肿瘤等病症。此外,现代研究还发现甘遂有明显的泻下作用、抗生育作用和免疫抑制作用等。而甘遂所具有的多种生物活性与其乳汁中的二萜酯类有着密切的关系,具有非常重要的药用价值。目前,对甘遂的研究主要集中在化学成分(郑维发,2004;潘勤等,2003)和药理学(范越等,2005;郑维发等,2002)等方面,而对其乳汁管的解剖学研究尚未见详细的报道。本文利用解剖学的方法对甘遂各器官中乳汁管的类型、分布和大小进行了观察,并对二萜类化合物进行了组织化学定位,旨在为甘遂乳汁管的进一步研究以及甘遂的合理开发利用提供解剖学依据。

1 材料与方 法

本研究所用甘遂的块根、根、茎、叶、花和果实均于2007年5月采自种于西北大学生物园中的健康植株,重复取样5次。实验材料以FAA固定液固定,系列酒精脱水,石蜡包埋,切片厚度为6~12 μm ,番红-固绿染色、苏木精整染或PAS反应显示淀粉粒,中性树脂封固;部分材料用2%戊二醛(pH7.0磷酸缓冲液配制)和1%锇酸双重固定,系列酒精脱水,环氧丙烷过渡,Epon812包埋,奥地利产Reichert Jung半薄切片机制片,厚度为2 μm ,亚甲基蓝染色。所有切片均在Leica-DMLB研究用显微镜下观察摄影。

组织化学是先对材料进行徒手切片,然后放置于载玻片上滴加以等量的5%香草醛-冰醋酸和高氯酸混合试剂,显色后在Leica-DMLB显微镜下观察摄影。

乳汁管直径以同一器官的5个横切面,每一横切面上10个乳汁管直径的平均值(均取长轴值计算)计算。乳汁管密度为单位面积上的乳汁管个数,并为同一器官的5个横切面各5个视野所得的平均值。

2 观察结果

2.1 甘遂各器官的结构及乳汁管的分布情况

甘遂的乳汁管均为单细胞无节分枝乳汁管(图版 I:3,5,8)。在横切面上乳汁管均呈多边形,多为五边形,乳汁管的细胞壁明显加厚,可与周围细胞区分开来(图版 I:6,7;图版 II:13)。

2.1.1 块根 甘遂的块根由外向内依次为周皮、中

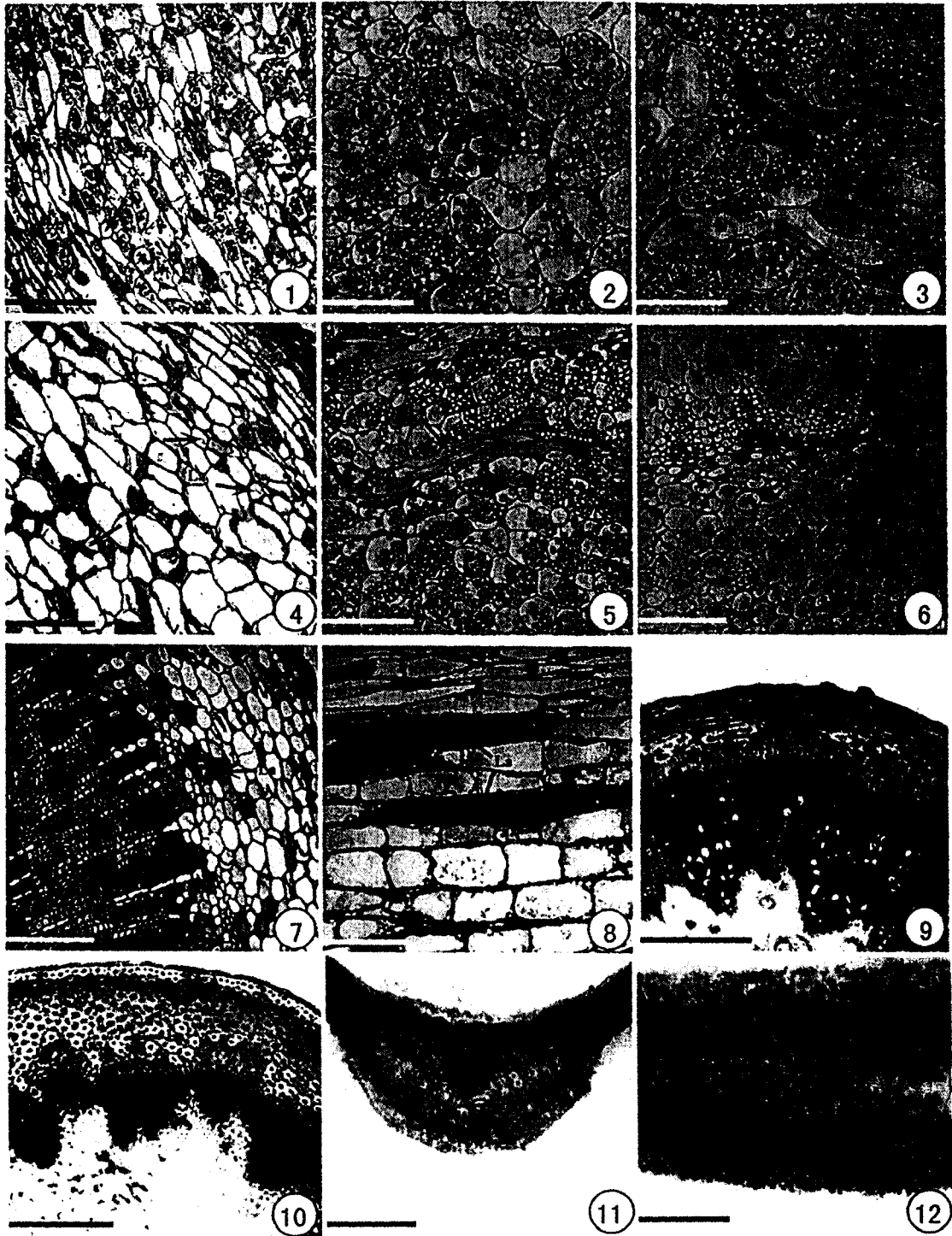
柱鞘薄壁组织和次生维管组织。乳汁管细胞较周围细胞小,染色较深,主要分布在次生韧皮部周围(图版 I:1),并有少量乳汁管从韧皮部伸向中柱鞘薄壁组织,因此,中柱鞘薄壁组织中有少量散生或聚生的乳汁管(图版 I:2)。乳汁管的大小比较均一,直径约36.90 μm ;密度每1 mm^2 为13.13个。纵切面观,乳汁管为单细胞无节分枝乳汁管,较粗短(图版 I:3)。PAS反应显示在块根的薄壁组织内有大量的淀粉粒分布,而乳汁管内没有观察到淀粉粒。

2.1.2 根 甘遂根的横切面由外向内也依次为周皮、中柱鞘薄壁组织和次生维管组织(图版 I:9)。乳汁管染色深,一般多个聚生在一起,也有的单个散生分布,主要分布在韧皮部的外侧以及韧皮部中(图版 I:4)。乳汁管的直径为38.70 μm ,密度每1 mm^2 为25.11个。在根纵切面上,能明显观察到乳汁管为单细胞分枝型,但较块根中的细长(图版 I:5)。在根的薄壁组织内也有淀粉粒分布,而乳汁管内未发现有淀粉粒分布。

2.1.3 茎 甘遂茎的初生结构由表皮、皮层、维管组织和髓构成(图版 I:6,10)。横切面看,表皮细胞长形并排列紧密,外切向壁上有厚的角质膜;皮层所占面积较大,由外方的厚角组织和内方的薄壁组织细胞组成;维管束内能明显看到2~3层维管形成层细胞,扁平状排列非常整齐,初生韧皮部和初生木质部分别位于其外侧和内侧。此时,茎中的乳汁管集中分布在初生韧皮部的外侧,直径为36.09 μm ,相对较大,密度每1 mm^2 为41.53个;初生木质部和髓内均无乳汁管的分布(图版 I:6)。

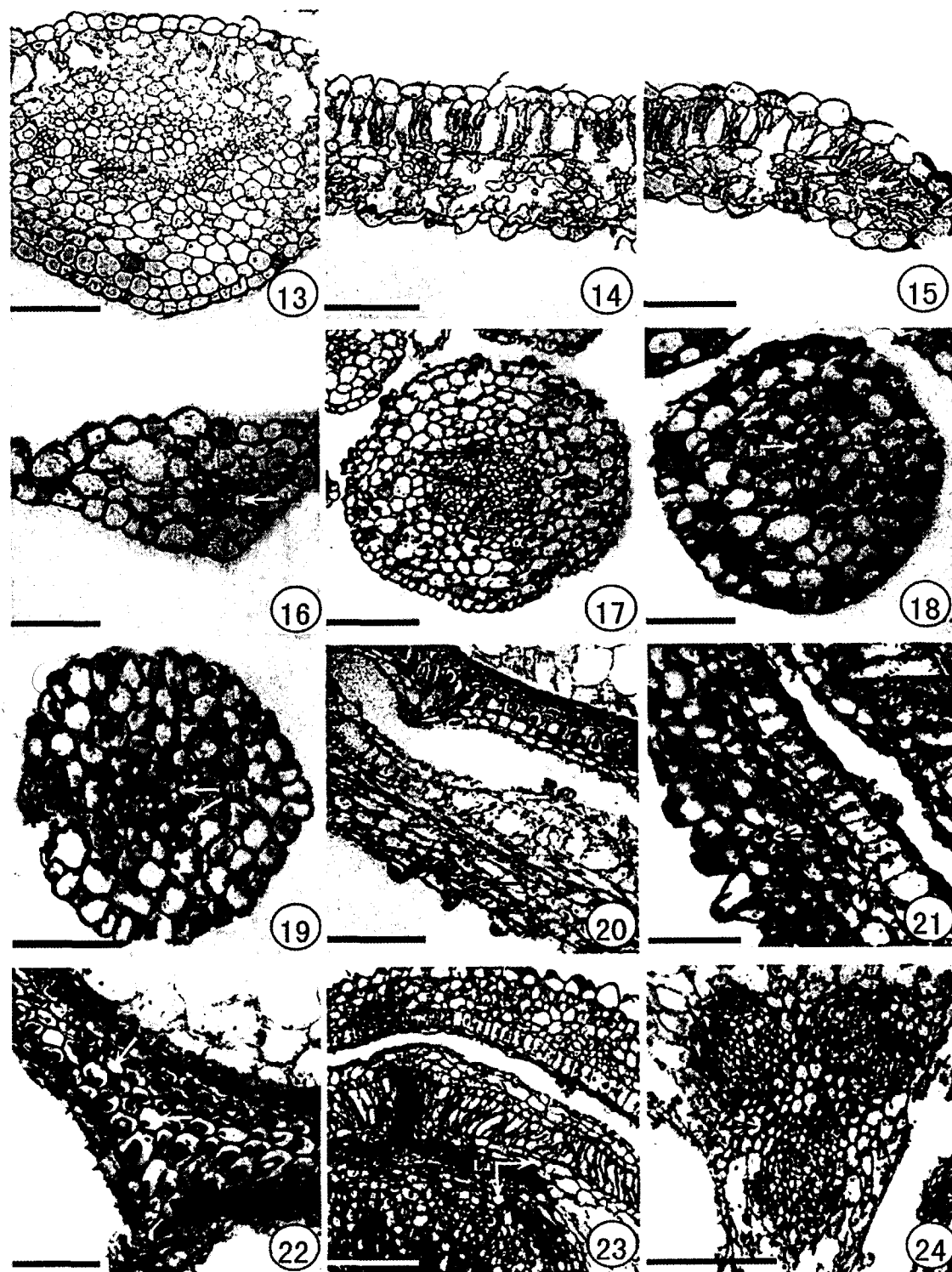
甘遂茎的次生结构由表皮、皮层、维管组织和髓构成(图版 I:7)。横切面看,表皮细胞为短圆形,表皮下有1~2层厚角组织细胞;维管组织包括韧皮部、维管形成层和木质部;髓由薄壁组织细胞组成。茎中乳汁管比较明显,有散生的、也有少数聚生的,主要集中在韧皮部的外侧,在皮层中也有分布(图版 I:7)。在次生木质部和髓内则没有乳汁管的分布。茎皮层中的乳汁管和与韧皮部相连处的乳汁管直径大小差异不大,为39.79 μm ,是甘遂器官中直径最大的乳汁管。茎中乳汁管密度每1 mm^2 为27.34个。茎的纵切面观可见乳汁管为典型的单细胞分枝型(图版 I:8)。

2.1.4 叶 叶的横切面由表皮、叶肉组织和维管束构成。甘遂叶的上、下表皮细胞均为卵圆形,排列比较整齐;叶肉组织分化为栅栏组织和海绵组织(图版



图版 I La. 乳汁管(箭头); 1-3. 甘遂块根的乳汁管 1. 横切面, 中柱鞘内分布的乳汁管, 标尺=400 μm ; 2. 靠近韧皮部的乳汁管, 标尺=100 μm ; 3. 纵切面, 无节分枝乳汁管, 标尺=100 μm ; 4-5. 甘遂根的乳汁管 4. 横切面, 根中的乳汁管, 标尺=200 μm ; 5. 纵切面, 根中无节分枝乳汁管, 标尺=200 μm ; 6. 幼茎中的乳汁管, 标尺=200 μm ; 7. 茎中韧皮部外侧的乳汁管, 标尺=200 μm ; 8. 纵切面, 茎无节分枝乳汁管, 标尺=100 μm ; 9. 甘遂根中四环二萜类化合物的组织化学定位, 标尺=400 μm ; 10. 甘遂茎中四环二萜类化合物的组织化学定位, 标尺=400 μm ; 11. 甘遂叶片主脉中四环二萜类化合物的组织化学定位, 标尺=400 μm ; 12. 甘遂叶肉组织中乳汁管的分布, 标尺=200 μm .

Plate I La. Laticifer(Arrows); 1-3. Laticifers in the root tuber of *Euphorbia kansui* Liou 1. Transverse section, laticifers in pericycle, bar=400 μm ; 2. Laticifers near phloem, bar=100 μm ; 3. Longitudinal section, nonarticulated branched laticifers, bar=100 μm ; 4-5. Laticifers in the root of *Euphorbia kansui* 4. Transverse section, laticifers in the root, bar=200 μm ; 5. Longitudinal section, nonarticulated branched laticifers in the root, bar=200 μm ; 6. Laticifers in immature stem, bar=200 μm ; 7. Laticifers outside phloem in the stem, bar=200 μm ; 8. Longitudinal section, nonarticulated branched laticifers in the stem, bar=100 μm ; 9. Histochemical localization of diterpene esters in the root, bar=400 μm ; 10. Histochemical localization of diterpene esters in the stem, bar=400 μm ; 11. Histochemical localization of diterpene esters in the midvein, bar=400 μm ; 12. Longitudinal section of laticifers in mesophyll tissues, bar=200 μm .



图版 II 13-15. 甘遂叶片横切面; 13. 叶中脉内乳汁管, 标尺=100 μm ; 14. 脉区间及栅栏组织和海绵组织内的乳汁管, 标尺=100 μm ; 15. 小脉乳汁管, 标尺=100 μm ; 16-19. 甘遂花横切面 16. 苞片维管束周围的乳汁管, 标尺=50 μm ; 17. 子房基部乳汁管, 标尺=100 μm ; 18. 花丝下面变态梗的乳汁管, 标尺=50 μm ; 19. 花药药隔内乳汁管, 标尺=50 μm ; 20-24. 甘遂果实横切面 20. 中果皮内乳汁管, 标尺=100 μm ; 21. 图 8 的部分放大, 标尺=50 μm ; 22. 胚乳内乳汁管, 标尺=50 μm ; 23. 胚中乳汁管, 标尺=100 μm ; 24. 果实中轴内乳汁管, 标尺=100 μm .

Plate II 13-15. Transverse section of the leaf 13. Laticifers in midvein, bar=100 μm ; 14. Laticifers between veins and between palisade and spongy parenchyma, bar=100 μm ; 15. Laticifers in small vein, bar=100 μm ; 16-19. Transverse section of the flower 16. Laticifers near the vascular bundle in bract, bar=50 μm ; 17. Laticifers in bottom of ovary, bar=100 μm ; 18. Laticifers of metamorphic receptacle below filament, bar=50 μm ; 19. Laticifers in connective of anther, bar=50 μm ; 20-24. Transverse section of fruit 20. Laticifers in mesocarp, bar=100 μm ; 21. Enlarged view of a part of Fig. 20, bar=50 μm ; 22. Laticifers in endosperm, bar=50 μm ; 23. Laticifers in embryo, bar=100 μm ; 24. Laticifers in axile of fruit, bar=100 μm .

II:14,15);维管束中木质部位于近轴面,韧皮部位于远轴面(图版 II:13)。主脉中,乳汁管主要集中在韧皮部外侧,在木质部上侧也有少量分布,其乳汁管直径相对较大为 $23.87\ \mu\text{m}$,接近周围的叶肉细胞(图版 I:11;图版 II:13);叶肉组织中,乳汁管在栅栏组织和海绵组织内均有分布(图版 I:12),叶肉组织中乳汁管直径最小为 $8.94\ \mu\text{m}$ (图版 II:14);此外,在叶片的小脉的韧皮部外方及脉区间也有乳汁管的分布(图版 II:15),两者直径分别为 $12.47\ \mu\text{m}$ 及 $16.93\ \mu\text{m}$ 。主脉乳汁管的密度每 $1\ \text{mm}^2$ 为 152.31 个,脉区间及叶肉组织中密度每 $1\ \text{mm}^2$ 为 107.07 个,小脉密度每 $1\ \text{mm}^2$ 为 113.47 个,叶中乳汁管的密度在营养器官中最大。主脉乳汁管直径和密度均较小脉大。

2.1.5 花 甘遂花黄色,为单性花,由多朵雄花和一朵雌花构成一个杯状聚伞花序,以此再成多歧聚伞状顶生的花序。花的横切面上,苞片中乳汁管仅分布于维管束中韧皮部的外方,数量较少,直径也较小为 $14.30\ \mu\text{m}$ (图版 II:16);雌花花瓣退化,乳汁管在子房柄中,围绕维管束一周,数量相对较苞片和雄花多,但直径相差不大,约为 $11.21\ \mu\text{m}$ (图版 II:17);花丝下面的变态梗也具乳汁管的分布,同样分布于维管束周围,数量少,直径为 $13.44\ \mu\text{m}$ (图版 II:18);甘遂花药为 2 室开裂,乳汁管分布于药隔中的维管束韧皮部外侧,直径较小为 $9.87\ \mu\text{m}$ (图版 II:19)。

2.1.6 果实 甘遂果实为蒴果,子房三心皮三室,果皮由外向内分为外果皮、中果皮、内果皮,其中外果皮乳突状,中果皮薄壁状,内果皮大多为石细胞。横切面观,果实中果皮有零星散布的乳汁管,直径为 $14.15\ \mu\text{m}$ (图版 II:20,21);甘遂种皮也分为外种皮、中种皮和内种皮,内种皮内侧为种子的胚乳细胞,染色较深,其最外侧有少量乳汁管分布,直径较中果皮大,为 $16.43\ \mu\text{m}$,与胚乳细胞相差不大,其内含物较少,染色浅易区别开来(图版 II:22);甘遂胚早期由薄壁细胞组成,无乳汁管的分布,但当胚比较成熟时,可见乳汁管分布在胚根、胚轴的维管束外侧,数量较少,直径也较小为 $11.76\ \mu\text{m}$,在胚中也有少量淀粉粒分布(图版 II:23);三心皮子房的中轴内,乳汁管在中轴维管束的内侧分布有一圈乳汁管,直径为 $14.02\ \mu\text{m}$ (图版 II:24)。

2.2 甘遂营养器官中四环二萜类化合物的组织化学定位

甘遂乳汁的主要成分为四环二萜类化合物,本研究使用萜类物质的显色剂 5% 香草醛—冰醋酸和高

氯酸的混合试剂处理各器官的新鲜材料,观察乳汁管的定位情况。

2.2.1 四环二萜类化合物在甘遂根中的组织化学定位 甘遂根的新鲜切片,经 5% 香草醛—冰醋酸和高氯酸的混合试剂处理后,根的周皮及周皮以内 5~6 层中柱鞘薄壁细胞迅速呈红棕色反应,而其余中柱鞘细胞和韧皮部细胞呈红色反应,木质部及木射线细胞为墨绿色。乳汁管细胞由于其中萜类含量极多且物质成分比较复杂,所以大部分乳汁管腔内显示的红色极深,在低倍镜下观察极易与周围细胞区别开来(图版 I:9)。

2.2.2 四环二萜类化合物在甘遂茎中的组织化学定位 甘遂茎的横切片经 5% 香草醛—冰醋酸和高氯酸的混合试剂处理后,表皮和皮层细胞迅速呈淡红色反应,其维管形成层为红色反应,木质部仍为墨绿色,髓中的薄壁细胞由于含有丰富的内含物,当用强酸试剂处理后极易破裂。乳汁管在茎中分布在韧皮部外侧,显色与根一样呈现深红色,易与其他细胞区分,乳汁管排列比较密集(图版 I:10)。

2.2.3 四环二萜类化合物在甘遂叶中的组织化学定位 甘遂叶的新鲜切片经 5% 香草醛—冰醋酸和高氯酸的混合试剂处理后,叶脉维管束并无明显变化,仍为墨绿色,但叶片表皮细胞及叶肉细胞均呈鲜红色反应,其中上表皮较下表皮显色深,叶肉细胞较主脉处细胞显色深。乳汁管主要分布在远轴面的韧皮部外方(图版 I:11),在叶的中脉处分布密集。叶肉组织经 5% 香草醛—冰醋酸和高氯酸的混合试剂处理后,可看到其中有呈现棕色的乳汁管分布,排列比较密集,它们纵向延伸(图版 I:12)。

3 总结与讨论

3.1 甘遂各器官的乳汁管分布情况

乳汁管是一种特殊的细胞或一系列含有乳汁的细胞(Fahn,1979),在大约 20 个科的大多数种属中均有乳汁管的分布(Metcalfe,1967)。根据 Rudall(1987)的研究,大戟科的无节乳汁管通常是具有分枝的。Blaser(1945)曾指出,大戟科的某些种的叶子中,乳汁细胞可以达到表皮,在此与角质层接触。Fineran(1982)对一品红(*Euphorbia pulchenima*)叶中的无节分枝乳汁管进行了比较详细的研究,认为叶脉中乳汁管分布在维管组织的两边和韧皮部内,叶片栅栏组织和海绵组织中具有乳汁管分布,且栅栏组织中乳汁管

数量比海绵组织中多。Rosowski(1968)还发现在仅具有无节分枝乳汁管的大戟属的 *Euphorbia supina* 茎中,乳汁管通常是与韧皮部相连接,但是也会分枝与管胞相连。我们对甘遂块根、根、幼茎、茎、叶、花和果实中乳汁管的类型和分布进行观察,发现在甘遂中,乳汁管是无节分枝类型,乳汁管在块根和根中主要分布于韧皮部的外侧,在中柱鞘薄壁组织细胞之间也有少量分布;在茎中主要分布在韧皮部外侧,少数分布于皮层;在叶中分布于叶脉韧皮部的外侧和叶肉组织中,木质部上方也有少量分布;在苞片中仅分布于维管束中韧皮部的外侧,数量较少;在雌花的子房柄中围绕维管束一周分布,在子房的中轴内分布于维管束的内侧;在雄花花丝下面的变态梗中也分布于维管束周围,数量少,在花药的药隔中分布于维管束周围;在果实的果皮中有零星散布的乳汁管;在种子胚乳的外侧有少量乳汁管零星分布;在胚中分布在胚根、胚轴的维管束外侧。另外,任毅等(1995)指出甘遂的根具无节分枝的乳汁管,和大戟属其他植物的情况相同,且甘遂乳汁管属于不含淀粉粒类型。在我们的研究也可以明显看到,甘遂乳汁管细胞中没有淀粉粒的分布。

刘焕芳等(2006)在研究麻疯树(*Jatropha curcas*)茎、叶脉、叶柄、花梗和果柄中的乳汁管时,发现在麻疯树中存在直径大小差异较大的乳汁管,靠近维管组织的皮层中的乳汁管直径较大,靠近表皮的皮层中的乳汁管直径较小,且无节乳汁管位于皮层组织细胞的细胞间隙中。本研究发现在甘遂的器官内部乳汁管直径存在较小的差异,但是器官之间则差异比较明显,其中茎中所含乳汁管的直径最大,然后是根、块根、幼茎及叶片主脉中,叶肉组织中所含乳汁管的直径最小。此外,乳汁管的密度在各营养器官中差异较大,叶的各部分的密度最大,每 1 mm^2 均大于 100 个;其次为幼茎和茎的乳汁管密度每 1 mm^2 分别为 41.53 个、27.34 个;接着为根,其乳汁管的密度每 1 mm^2 为 25.11 个;最小的为块根,密度每 1 mm^2 仅为 13.13 个。块根面积最大,所以乳汁管密度相对最小。

3.2 甘遂营养器官中四环二萜类化合物的组织化学定位

大戟属植物多含有二萜类化合物,如巨大戟烷、瑞香烷、巴豆烷、大环大戟醇等,它们具有很好的抗癌活性。因此,我们根据二萜类化合物的显色特性对甘遂各营养器官中四环二萜类化合物进行了组织化学定位。

甘遂中的二萜类化合物能与 5% 香草醛—冰醋酸和高氯酸的混合试剂发生反应,呈现出淡红—红—紫红的颜色变化,通过实验发现,根中柱鞘和韧皮部的薄壁组织细胞,茎皮层、维管形成层和韧皮部的薄壁组织细胞,叶的叶肉细胞以及叶脉中的厚角组织和薄壁组织细胞的腔中都显示不同程度的红色,说明在甘遂的营养器官中,二萜类化合物的分布很广泛。此外,还可以看到在根、茎和叶脉中乳汁管细胞较大,为多角形,分布于韧皮部的外侧,其中的乳汁显色较深。

参考文献:

- 范越,蔡定芳,顾喜喜,等. 2005. 大剂量甘遂治疗急性肠梗阻[J]. 中国中医急症,14(3):278—279
- Blaser HW. 1945. Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with special reference to the latex[J]. *Amer J Bot*,32:135—141
- Esau K. 1962. Plant Anatomy[M]. Beijing:Science Press,239
- Fahn A. 1979. Secretory Tissues in Plants[M]. London:Academic Press,223—243
- Fineran BA. 1982. Distribution and organization of non-articulated laticifers in mature tissues of *Poinsettia Euphorbia pulcherrima* Willd[J]. *Ann Bot*,50:207—220
- James R, Rosowski JR. 1968. Laticifer morphology in the mature stem and leaf of *Euphorbia supina*[J]. *Bot Gaz*,129(2):113—120
- Liu HF(刘焕芳),Liao JP(廖景平),Tang YJ(唐源江). 2006. Anatomy of laticifers in *Jatropha curcas*(麻疯树乳汁管的解剖学研究)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报),14(4):294—300
- Metcalfe CR, Chalk L. 1950. Anatomy of The Dicotyledons[M]. Oxford:Coarendon Press,1 227—1 230
- Metcalfe CR. 1967. Distribution of latex in the plant kingdom[J]. *Econ Bot*,21:115—127
- Pan Q(潘勤),Min ZD(闵知大). 2003. Studies on ingenol-type diterpene esters in root tuber of *Euphorbia kansui*(甘遂中巨大戟萜醇型二萜酯类化学成分的研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),35(1):65—68
- Ren Y(任毅),Jin YJ(金玉姬),Hu ZH(胡正海). 1995. The developmental anatomy on the root tuber of *Euphorbia kansui*(甘遂块根的发育解剖学研究)[J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*(西北植物学报),15(2):104—109
- Rudall PJ. 1987. Laticifers in Euphorbiaceae—a conspectus[J]. *Bot J Linn Soc*,94:143—163
- Scharffstein G. 1932. Untersuchungen an ungegliederten Milchrohren[J]. *Beih Bot Zbl*,49(1):197—220
- Zheng WF(郑维发),Chen CF(陈才法),Zhu AH(朱爱华),et al. 2002. Screening for antiviral fractions from ethanlo extract of *Euphorbia kansui*(甘遂醇提物抗流感病毒 FM1 有效部位的筛选)[J]. *Chin Trad Patent Med*(中成药),24(5):362—365
- Zheng WF(郑维发). 2004. Study on *in vivo* antiviral activity of four diterpenoids from ethanol extracts of *Euphorbia kansui*(甘遂醇提物中 4 种二萜类化合物的体内抗病毒活性研究)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药),35(1):65—68