

浙贝母鳞片细胞内酸性磷酸酶细胞化学的初步研究

中国协和医科大学 药用植物研究所(北京 100094) 高文远* 李志亮 肖培根
中国医学科学院

摘要 浙贝母休眠解除后,鳞片近轴面表皮附近的几层细胞首先衰退,不久形成一条清晰的破碎细胞带。对这些首先衰退的细胞,在休眠解除前后进行了酸性磷酸酶细胞化学定位研究。休眠解除后细胞中酸性磷酸酶的活性明显高于休眠状态的细胞,淀粉粒、细胞核、线粒体和细胞壁上均有酸性磷酸酶的定位,而休眠状态的细胞中则很难发现酸性磷酸酶的定位,其活性较高表明这些细胞即将衰退。

关键词 浙贝母 鳞片 休眠 酸性磷酸酶

浙贝母 *Fritillaria thunbergii* Miq. 是一种常用药用植物,其鳞茎有止咳、化痰等各种功效。用 8℃~10℃ 的低温处理 55 d 左右可以解除其鳞茎夏季的休眠,使之在气候适宜的秋季再长一季,达到一年生长两季的目的^[1]。休眠解除后,鳞片开始降解其自身贮藏的物质供应新生器官的生长。光镜观察表明,鳞片近轴面表皮附近的几层细胞首先衰退,不久形成一条清晰的破碎细胞带,而此时鳞片其它部位的细胞仍保持完好^[2,3]。为深入探讨这种现象形成的内在机制,我们以这几层首先衰退的细胞为材料,采用酸性磷酸酶细胞化学技术研究其在低温解除休眠前后的变化。

1 材料和方法

1.1 材料:实验所用浙贝母取自本所实验地。待夏季浙贝母地上部位倒苗进入休眠状态后,选取大小均匀的鳞茎,用清水洗净后,置于 8℃~10℃ 的低温下进行处理。分别于低温处理前和低温处理 55 d 后取鳞片近轴面表皮附近的贮藏组织进行实验。

1.2 方法:酸性磷酸酶的定位按 Gilk^[4] 的方法:切取小于 0.3 mm³ 的组织块,立即投入用二甲胂酸钠缓冲液(pH7.2)配制的 4%甲

醛和 2.5%戊二醛混合固定液中,室温下固定 1.5 h,用 pH7.2 的二甲胂酸钠缓冲液冲洗 2 次,再用 pH5.2 的 Tris-HCl 缓冲液冲洗 2 次,共历时 3 h 以上。然后转移到反应液中,室温下反应 2 h。反应液中含有 50 mmol/L 的 Tris-HCl 缓冲液,pH5.2,0.1 mol/L 的 β-甘油磷酸钠和 0.02 mol/L 的硝酸铅。对照处理:1)反应液中不加 β-甘油磷酸钠;2)反应液中加入 0.01 mol/L 的氟化钠。反应后用 pH7.2 的二甲胂酸钠缓冲液冲洗 2 次~3 次,历时 1 h,0℃~4℃ 下 2% 饿酸中固定过夜。洗涤后,采用常规方法脱水、包埋,在 LKB 型超薄切片机上切片,醋酸铀-柠檬酸铅染色,JEM-100CX 型,透射电镜上观察照相。

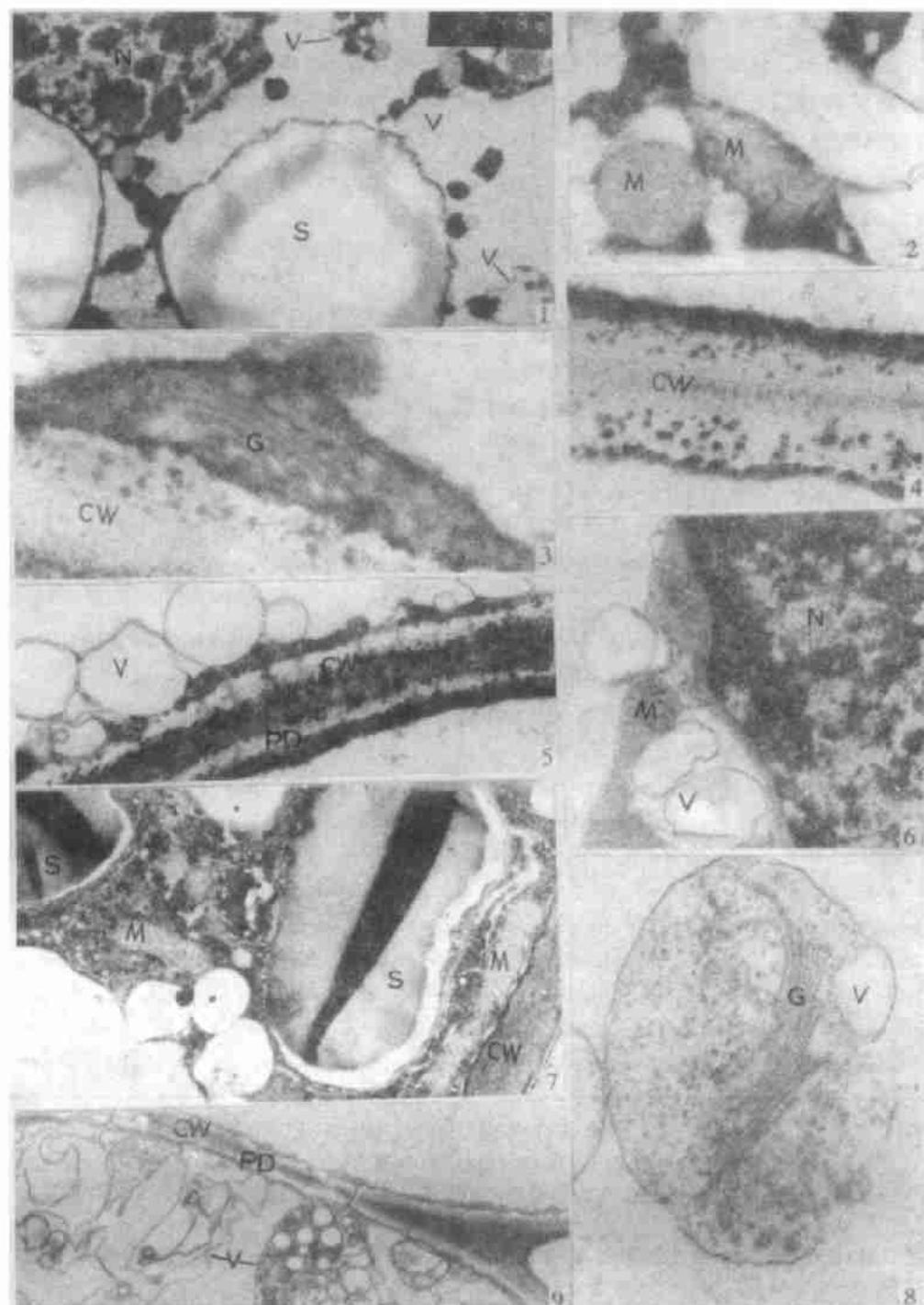
2 结果与讨论

图 1-1~5 为经低温处理,休眠解除后的鳞片细胞中酸性磷酸酶的活性定位情况;图 1-6~9 为休眠状态鳞片细胞中酸性磷酸酶的活性定位情况,可以看出,二者之间有显著差异,休眠解除后的细胞中细胞核与淀粉粒的表面均呈现酸性磷酸酶的活性,一些囊泡的表面和内部也呈现酸性磷酸酶活性(图 1)。这些细胞中线粒体的表面也呈现明显的

* Address: Gao Wenyuan, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing

酸性磷酸酶活性(图2)。而处于休眠状态的细胞中,细胞核表面、淀粉粒表面、线粒体表

面及囊泡上均不呈现明显的酸性磷酸酶活性(图1-6,7)。比较明显的是休眠和解除休眠



1~5-休眠解除后的细胞中酸性磷酸酶的定位情况 6~9-休眠状态的细胞中酸性磷酸酶的定位情况

V-囊泡 S-淀粉粒 M-线粒体 CW-细胞壁 N-细胞核 PD-胞间连丝 G-高尔基体

图1 浙贝母休眠解除前后鳞片细胞内酸性磷酸酶的定位情况

细胞内高尔基体上酸性磷酸酶活性反差很大(图 1-3、8)。解除休眠后细胞的细胞膜上和细胞壁内部均呈现酸性磷酸酶活性,而胞间连丝和细胞壁旁的囊泡上均不呈现酸性磷酸酶活性(图 1-4、5)。休眠状态细胞的细胞膜、细胞壁、胞间连丝及细胞壁旁的囊泡上均不呈现酸性磷酸酶活性(图 1-9)。在对照处理的切片中,均不呈现酸性磷酸酶活性。

酸性磷酸酶是一类专一性较低的水解酶,参与各种生物大分子和降解^[5]。Rehana 等^[6、7]的研究表明,细胞中的高尔基体和内质网是酸性磷酸酶分泌的重要场所,由这里分泌的酶贮存在溶酶体、小囊泡和蛋白体中,呈酶原或不活跃状态,当大分子物质降解时,这些酶被活化释放出来。对浙贝母鳞片酸性磷酸酶的活性测定结果表明,休眠状态时酶的活性很低,低温解除休眠后酶的活性迅速提高^[8]。本文的酶活性超微结构定位结果与这

一致。实验所取的细胞是鳞片上首先衰退的细胞,这些细胞内部酸性磷酸酶活性的明显增加,为鳞片一定区域内贮藏物质的降解作好了准备。定位于淀粉粒表面的酸性磷酸酶显然与淀粉的降解有关。而定位于细胞核、线粒体、高尔基体及细胞壁上的酸性磷酸酶可能与解除休眠后细胞中活跃的周转代谢及大分子物质的降解密切相关。

参 考 文 献

- 1 李志亮,等. 中草药,1985;16(1):17
- 2 高文远,等. 广西植物,1994;14(1):65
- 3 高文远,等. 植物学报,1995;37(11):885
- 4 孙敬三,等主编. 植物细胞学研究方法. 北京:科学出版社,1987:31
- 5 Mittle P. The Lyeic Compartment of Plant Cells. New York, Springer, 1975:4
- 6 Rehana A, et al. Amer J Bot, 1992;79:1134
- 7 Chandara K N, et al. Can T Bot, 1989;67:1096
- 8 高文远,等. 中国中药杂志,1996;21(5):272

(1997-12-29 收稿)

A Cytochemical Study of Acid Phosphatase in the Scale Cells of Thunberg Fritillary (*Fritillaria thunbergii*) before and after Relieving Dormancy

Gao Wenyuan, Li Zhiliang and Xiao Peigen (Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Chinese Xiehe Medical University, Beijing 100094)

Abstract Several layers of store cells near the adaxial cortex in scale of *Fritillaria thunbergii* Miq. degraded at the outset and forming a clear broken cell zone as the scale began to degrade after dormancy relieving. A cytochemical study was carried out in these cells which would degrade at the outset to examine the changes of acid phosphatase activity before and after dormancy relieving. Acid phosphatase activity was significantly higher in the dormancy relieving cells as compared to the dormant cells. Acid phosphatase was localized on starch grain, nucleus, mitochondrion and cell wall in the dormancy relieving cells, but the acid phosphatase localization was difficult to find in the dormant cells. High acid phosphatase activity in the dormancy relieving cells indicates that these cells are going to degrade.

Key words *Fritillaria thunbergii* Miq. dormancy acid phosphatase

《中药新药与临床药理》杂志 1999 年征订启事

本刊是卫生部药政局主管的一份全国性杂志。以《药品管理法》和《新药审批办法》为依据,报道和宣传中药新药及临床药理的研究成果和进展,并为中药的研究、生产和应用部门提供有关的药品法规和技术开发的信息。

主要栏目:论坛、专家笔谈、临床研究、药效及毒理学研究、质量分析研究、新药介绍、新技术与新方法、中药不良反应、讲座、学术探讨、综述、国外药事、论著摘要、药政法规、简讯等。

本刊为双月刊,每期 5.50 元(含平邮寄费),全年 33 元。本刊自办发行,订阅者请从邮局寄款至广州市机场路 12 号广州中医药大学《中药新药与临床药理》编辑部,邮政编码:510407,电话:(020)86591233-2483 或 86552367;若信汇,请汇款至本刊开户银行:广州市农业银行景泰营业所,帐号 111-0801003316。国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京 399 信箱,代号 4647Q)。