

产生蓝色沉淀,一种不可溶的 5,5'-二溴,4,4'-二氯靛蓝染料。这种染料不是 GUS 直接作用的结果,而是 GUS 水解 X-Gluc 产生无色吲哚衍生物发生氧化二聚作用形成。只有在有 GUS 基因表达的植物组织中,才有阳性反应。本试验通过对生长 5 个月的抗性植株进行 GUS 基因表达活性检测,可以初步说明 GUS 基因导入情况

References

- [1] Lin Z P. *Vegetable Molecular Biochemistry for 21st Century* (走向 21 世纪的植物分子生物学) [M]. Beijing: Science Press, 2000.

- [2] He H. A study on the tissue culture and plant regeneration of Trifoliate-orange (*Poncirus trifoliata*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29 (12): 824-825.
- [3] He H, Pan R C, Han M L, *et al.* *In vitro* culture of ex plants and the *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of *Poncirus trifoliata* [J]. *Acta Bot Yunnan* (云南植物研究), 1998, 20 (4): 459-463.
- [4] Fu R Z, Sun Y R, Jia S R. *Handbook of Plant Genetic Transformation* (植物遗传转化手册) [M]. Beijing: Chinese Science and Technology Press, 1994.
- [5] Sun J S. *Handbook of Plant Cell Engineering*. (植物细胞工程手册) [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 1995.

广藿香药用部位成熟结构及有效成分分布研究

冯承浩,姚 辉,吴 鸿*,赵 晟,孙同兴⁽²⁰⁾

(华南农业大学生命科学学院 药用植物研究中心,广东 广州 510642)

摘要:目的 揭示广藿香根、茎和叶的成熟结构及挥发油在其内的分布部位,为合理的评价和采收该药用植物提供科学的理论依据。方法 石蜡切片法、半薄切片法、组织化学法。结果 在根的成熟结构中,挥发油主要分布在木薄壁组织细胞中;在茎中,主要分布在皮层和韧皮部薄壁细胞中;在叶中,主要分布在叶肉组织和叶脉的韧皮部薄壁细胞中。结论 广藿香全草均含挥发油;另外,根内木质部的粗度、茎皮和叶片的厚度可作为评价广藿香品种优良的 3 个指标。

关键词: 广藿香;成熟结构;有效成分

中图分类号: R282.710.3

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2003)02-0174-03

Studies on mature structures and distribution of active constituent of *Pogostemon cablin*

FENG Cheng-hao, YAO Hui, WU Hong, ZHAO Sheng, SUN Tong-xing

(Research Center of Medicinal Plant Development, College of Life Science,

South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract **Object** To find out the mature medical part structures and the distribution of essential oil of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. and provide thoretical basis for reasonably evaluating and harvesting this medicinal plant. **Methods** Paraffin method, semi-thin sectioning, histochemical method were used. **Results** In the mature structures of *P. cablin* the essential oil was mainly stored in xylem parenchyma cells in root, in phloem and cortex parenchyma cells in stem, and in tissue cells and phloem parenchyma cells in leaf. **Conclusion** The whole herb of *P. cablin* contains essential oil. The thickness of root xylem, the stem skin and mesophyll tissue may be used as three indexes to evaluate *P. cablin*.

Key words *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth; mature structure; active constituent

广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco.) Benth. 为唇形科刺蕊草属植物,是常用的芳香化湿中药,传统以其地上部分入药,有效成分为挥发油^[1],有芳香

化湿、开胃止呕、发表解暑之功效,是著名成药“藿香正气丸(水)”的“君”药。被历代医家视为暑湿时令之要药,在临床上应用广泛。广藿香原产菲律宾^[2],

⁽²⁰⁾收稿日期: 2002-09-11

基金项目: 广东省中医药管理局基金项目 (F01032); 广东省科技攻关项目 (C20147)

作者简介: 冯承浩 (1973-) 男, 山东省泰安市人, 华南农业大学在读硕士研究生, 主要从事药用植物方面的研究。

Tel (020) 85280193 E-mail fchenghao@163.com

* 通讯作者

宋朝时引入我国,在岭南一带引种成功,且普遍种植,故有南药之称,且是著名的“十大南药”之一。其中尤以广州和高要产者为优^[3]。以前的学者^[4]曾在广藿香的临床应用、药理作用、剂型和挥发油的成分分析^[3]等方面作了大量的研究工作,但未见对药用部位结构及其与有效成分分布关系的研究报道。为揭示其有效成分在药用部位中的分布情况,本实验对广藿香根、茎、叶的结构及其有效成分的分布特点进行了系统研究。旨在为南药广藿香的质量鉴定和采收加工提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 组织学:材料于 2001 年 8 月 28 日取自广东省高要市莲塘镇西坑村,经广东药学院罗集鹏教授鉴定为正品。分割后于 FAA 中固定,系列酒精脱水,二甲苯透明,石蜡法制片,切片厚度 6~10 μm ,用苏木精及番红固绿染色,LEICA DMLB 显微镜观察并照相。

1.2 组织化学:材料为引种至校园内栽培的广藿香植株,取根、茎、叶发育成熟部位,分割成 1 mm³ 左右小块,迅速固定于 0.2 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0) 配制的 5% 戊二醛中,在 4℃ 固定 4 h,磷酸缓冲液冲洗 3 次,再用 1% 钼酸 4℃ 条件下固定,过夜后用去离子水冲洗,系列酒精脱水,LEICA HISTORESIN 树脂渗透,包埋,LEICA RM 2155 切片机制片,厚度 2~3 μm 苏丹黑 B 染色,显示挥发油滴分布^[5],染色步骤与胡适宜的相同^[6],但染色时间有所改变,根的材料染色 30 min,茎的染色 1 h,叶的染色 45 min,LEICA DMLB 显微镜观察并照相。

2 结果

广藿香成熟的根、茎、叶中均含有挥发油,但挥发油在不同器官或同一器官的不同组织中的分布均有差异。

2.1 根:广藿香根的成熟结构由表皮、皮层和中柱 3 部分构成。表皮由一层细胞组成,体积较大,排列紧密,但表面不规则,高低不平;皮层由 5~8 层薄壁细胞组成,细胞近砖形,排列紧密;中柱由中柱鞘、韧皮部、木质部和髓组成。中柱鞘内对称分布着 4 束初生韧皮纤维,韧皮部细胞体积较小,排列紧密,形状不规则;木质部导管口径较大,成辐射状排列,与木薄壁细胞相间分布;中间为几列排列紧密、近圆形的薄壁细胞,组成髓部 (图 1-1)。

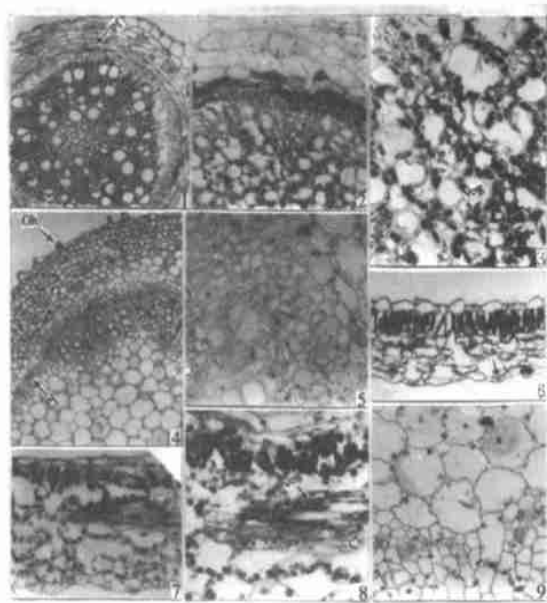
从经苏丹黑 B 染色的根横切面观察,中柱鞘以外部分所含挥发油滴极少,中柱鞘和韧皮部部分含许多小油滴 (图 1-2),木质部中,挥发油只存在于木薄壁组织细胞中,每个细胞均含有 1~5 个体积较大的挥发油滴 (图 1-3)。

2.2 茎:广藿香茎横切面由外到里可分为表皮、厚角组织区 (环)、皮层、维管组织区和髓部。表皮由 1 层近方形、小而排列紧密的细胞组成,排列较整齐,外被角质层,着生有腺毛和非腺毛两种表皮毛,腺毛头部圆形,由 1~2 个细胞组成,柄由 1~4 个细胞组成,非腺毛头部渐尖,由 1~5 个细胞组成,部分非腺毛细胞间连接处膨大成“节”;表皮下为 4~6 层厚角组织细胞,形状不规则,于四棱处发达;皮层由数层薄壁组织细胞组成,内含叶绿体,其间零星分布有油细胞;韧皮纤维成束,断续排列成环;韧皮部狭窄;形成层可见;木质部于四棱处发达,由导管、木薄壁细胞及木纤维组成 (图 1-4);维管区域以内的部分为髓部,占茎横切面的较大比例,均为大型薄壁组织细胞,生长期间储有大量水分,并含有针状或片状草酸钙结晶。

广藿香的挥发油在茎中的相对含量较少,从茎的横切面上看,仅在皮层和韧皮部薄壁细胞中分布有被染成黑色的圆形小油滴 (图 1-5) (注:位于厚角组织区、皮层和维管区域的大量体积较大、形状不规则、着色较浅者为叶绿体),在韧皮部薄壁细胞中,紧贴于细胞壁上的油滴成串珠状 (图 1-5)。

2.3 叶:广藿香的叶片由上、下表皮、叶肉组织和维管束组成。上表皮由一层排列紧密、形状不规则的细胞组成,密被腺毛和非腺毛两种表皮毛,有少量气孔器分布;下表皮密被表皮毛,分布着大量的气孔器,气孔器呈突起状,有很大的气孔下室,致使整个下表皮细胞成波状排列。叶肉由 1 层栅栏组织和数层海绵组织组成,两种组织中均含有大量的叶绿体,栅栏组织排列整齐、致密,约占叶片厚度的 1/3,海绵组织排列疏松,有很大的细胞间隙 (图 1-6);叶脉的内部结构随脉的大小而有所不同。主脉或大的侧脉含有 1~2 个维管束,其中木质部位于上方,韧皮部位于下方,木质部与韧皮部之间存有形成层,维管束的周围是多层薄壁细胞。

在叶中,由于富含叶绿体,加之叶绿体着色,所以易与挥发油滴混淆。但仔细观察,两者具明显差异。叶绿体形状不规则,着色较浅,且隐约可见其内部有结构区的划分;而挥发油滴着色较深且均匀,通体不透明,形状为圆形。在叶肉横切面上,挥发油滴比较多而且体积较大,在栅栏组织中比在海绵组织中稍密集 (图 1-7, 8);在叶脉中,木质部和薄壁组织细胞中所含挥发油滴极少 (图 1-9),韧皮部中有大量挥发油滴分布,从侧脉纵切面观察非常清楚 (图 1-8)。



Pf-韧皮纤维 V_{og}-挥发油滴 Oc-油细胞 Sa-气孔器 Cl-叶绿体 1-示根结构 2-示根内挥发油滴的分布情况 3-示木薄壁细胞中的挥发油滴的分布情况 4-示茎内结构 5-示茎内挥发油滴的分布情况; 6-示叶片中结构 7-示叶片中挥发油滴分布情况 8-示支脉中挥发油滴的分布 9-示主脉中挥发油滴的分布

Pf-phloem fiber V_{og}-volatile oil guttula Oc-oil cell Sa-stomatol apparatus Cl-chlorophyll 1-showing the structure of root; 2-showing the distribution of volatile oil guttula in root; 3-showing the distribution of volatile oil guttula in xylem parenchyma cells; 4-showing the structure of stem; 5-showing the distribution of volatile oil guttula in stem; 6-showing the structure of leaf; 7-showing the distribution of volatile oil guttula in leaf; 8-showing the distribution of volatile oil guttula in venula; 9-showing the distribution of volatile oil guttula in primary vein.

图 1 广藿香根、茎、叶成熟结构及挥发油滴的分布

Fig. 1 Mature structures of root, stem, leaf and distribution of volatile oil guttula of *P. cablin*

3 结论和讨论

挥发油为一类脂性混合物,苏丹黑 B 能使脂类化合物染成黑色^[5],经这种染色剂处理后,在光镜下观察到的被染成黑色的圆形颗粒即为挥发油滴。作者曾试图利用广藿香活体材料进行组化反应,但由于广藿香植物体中挥发油含量相对较少,如时间太短,反应不明显;时间稍长,油滴则会随细胞液的运动而漂移。而且,苏丹类染色剂还可使油滴聚合^[7]。因此,活体材料染色很难准确定位挥发油的分布情况。Witztum 和 Zamski (1969)指出经戊二醛-钨酸固定的材料所保存的油滴最接近于生活细胞中

的情况^[7]。在本研究中我们使用了戊二醛-钨酸双固定材料,因此观察结果能够反映挥发油在根、茎和叶中分布的真实情况。

从经苏丹黑 B 染色的半薄切片中可以观察到,在根中,挥发油主要分布在木薄壁组织细胞中,在茎中,挥发油主要分布在韧皮部和皮层中;在叶中,挥发油主要分布在叶肉组织和叶脉韧皮部中。这 3 种组织均为生活薄壁组织,由此可以启示我们,在评价和选育广藿香的优良品种时,可以把根内木质部的粗细、茎皮和叶片的厚薄作为 3 个重要的指标。

从组化反应结果中可看到,根、茎、叶中均有挥发油的分布。由此可见,传统的只取地上部分的采收方式不尽合理,既耗费工时,又浪费了资源,所以应当予以改进。同时可以观察到,在叶内,挥发油滴密集且体积较大,根内次之,茎内挥发油滴最小,而且仅局限在占茎比例小的皮层和韧皮部中。因此,挥发油在叶内的相对含量最高,根内次之,茎内最低。罗集鹏等^[3,8]也曾报道广藿香根含油率为 0.2%,茎含油率约为 0.1%,叶含油率约为 0.4%,所以我们的结论与前人的是相符的。正因如此,广藿香的叶应是药用的重点部位,叶片的多少也可作为评价广藿香药材的一个重要指标。

References

- [1] Du Y M, Chen L Z, Hu B R. Study development of chemical component and pharmacologic action of *Pogostemon cablin* [J]. *Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol* (中药新药与临床药理), 1998, 9 (4): 238-241.
- [2] Hao J D, Xie Z W. Linger and development of medicine breed of *Pogostemon cablin* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1994, 17 (8): 44-47.
- [3] Luo J P, Feng Y F, Guo X L. Analysis of volatile oil of *Pogostemon cablin* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2001, 32 (4): 299-302.
- [4] Jiang Q L. Pharmacologic action, clinical application and component of Huoxiang Zhengqi Solution [J]. *Chin Tradit Pat Med* (中成药), 1992, 14 (7): 40-44.
- [5] Jensen W A. *Botanical Histochemistry* [M]. San Francisco: Freeman, 1962.
- [6] Hu S Y, Xu L Y. A cytochemical technique for demonstration of lipids, polysaccharides and protein bodies in thick resin sections [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1990, 32 (11): 841-846.
- [7] Witztum A, Zamski G. Methods for observations on resin droplets in resin duct cells of *Pinus halepensis* Mill [J]. *Israel J Bot*, 1969, 18: 55-59.
- [8] Luo J P, Feng Y F, Guo X L. Study of volatile oil of roots and rhizome of *Pogostemon cablin* [J]. *Natl Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2000, 12 (4): 66-70.