

· 药材与资源 ·

不同染色体数目鱼腥草挥发油成分的薄层色谱分析

陈黎, 吴卫, 郑有良*

(四川农业大学农学院, 四川雅安 625014)

摘要: 目的 研究鱼腥草染色体数目与挥发油成分的关系, 比较鱼腥草鲜草与干草及其不同部位的挥发油成分差异。方法 对不同染色体数目的鱼腥草鲜草地上和地下及其阴干地上部分挥发油成分进行了薄层色谱分析。结果 按挥发油 TLC 图谱斑点数目和清晰度不同, 20 份鲜草材料地上部分大致呈现 5 种类型, 地下部分挥发油大致呈现 3 种类型, 19 份干草材料大致呈现 4 种类型。结论 鲜草地上和地下部分挥发油、鲜草与干草挥发油在化学成分上均有较大差异, 材料间挥发油成分差异鲜草大于干草, 地上大于地下, 并且鲜草挥发油有染色体数目增加同时斑点数增多的趋势; 峨眉蕺菜同蕺菜在挥发油成分上并无显著差别。

关键词: 鱼腥草; 染色体数目; 挥发油; 薄层色谱

中图分类号: R282.6 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2004)12-1399-04

TLC analysis on essential oil in *Houttuynia cordata* with different chromosome numbers

CHEN Li, WU Wei, ZHENG You-liang

(Agronomy College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: **Object** To study the relationship between the essential oil constituents and the chromosome numbers of *Houttuynia cordata* and compare the difference of the essential oil constituents from the fresh and the dried ones, aerial and underground parts of the fresh plant. **Methods** The essential oil constituents of *H. cordata* with different chromosome numbers from the aerial and underground parts of the fresh, and the aerial parts dried in shade as well were analyzed by TLC. **Results** According to the difference of the spot number and definition of the essential oil TLC pattern, the essential oil constituents in the aerial parts of 20 fresh plants were classified into five types, those in their underground parts into three types, and those in 19 dried plants into four types. **Conclusion** There is obvious difference in the essential oil constituents between the fresh aerial and underground parts, and between the fresh and dried plants. The difference among the fresh plants is more significant than that of the dried ones. And the difference among the aerial parts of the fresh plants is more significant than that of the underground parts. There is a tendency that the spot numbers increase with the chromosome numbers. The difference of essential oil constituents in *H. emeiensis* and *H. cordata* is insignificant.

Key words: *Houttuynia cordata* Thunb.; chromosome numbers; essential oil; TLC

鱼腥草为三白草科蕺菜属蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 的全草, 其茎叶搓碎后有鱼腥味, 故名鱼腥草。味辛、性寒, 具有清热解毒、消肿排脓、利尿通淋之功效。药理研究表明其有效成分具有抗菌、抗病毒、增强机体免疫功能、利尿平喘等作用。挥发油为其主要有效成分, 包括癸酰乙醛(即鱼腥草素)、甲基正壬酮、 α -蒎烯、月桂烯、癸酸、香叶醇、香茅醇、芳樟醇、癸醛、月桂醛等, 其中甲基正壬酮为现行的质

量控制成分。据《中国植物志》和《四川植物志》, 蕺菜属仅蕺菜 *H. cordata* Thunb. 1 种。2001 年在四川峨眉山发现蕺菜属一新种峨眉蕺菜 *H. emeiensis* Z. Y. Zhu et S. L. Zhang^[1]。

最近的研究发现鱼腥草染色体数目有较大的变异, 呈现多倍性特点^[2]。在通常情况下, 染色体倍性的增加会使得植株抗性增强, 次生代谢产物含量和种类增加, 如对蔓陀罗、怀牛膝、小天蓝绣球、菘蓝等

* 收稿日期: 2004-03-12

基金项目: 四川省教育厅重点资助项目(01LA 06)

* 通讯作者 Tel: (0835) 2882336 Fax: (0835) 2882336 E-mail: grmb@sicau.edu.cn

的研究均表明了这一观点^[3-5]。目前,鱼腥草作为药用植物,其利用情况既有鲜草,如鱼腥草注射液的生产常使用鲜草(包括地上和地下部分)为原料,又有干草,如药店主要销售的是鱼腥草地上部分阴干品。因此,为了研究染色体数目与鱼腥草挥发油成分的关系,同时也为了比较鱼腥草鲜草与干草及其不同部位的挥发油成分差异,本实验对不同染色体数目鱼腥草的挥发油进行了薄层色谱分析。

1 仪器与试剂

ZDHW 型调温电热套(河北省中兴仪器有限公司);939 型全自动薄层铺板仪(重庆贝尔德仪器公司);甲基正壬酮对照品(中国药品生物制品检定所);硅胶 G(青岛海洋化工有限公司);其余试剂均为分析纯。

2 材料与方法

2.1 材料: 试验材料包括 18 份蕺菜 *Houttuynia cordata* Thunb. 和 2 份峨眉蕺菜 *H. emeiensis* Z.

Y. Zhu et S. L. Zhang, 所有材料均由四川农业大学生命科学与理学院植物教研室杨瑞武鉴定。材料来源及染色体数目见表 1, 均栽培于四川农业大学小麦研究所。

2.2 方法

2.2.1 供试样品的制备: 采收于 2002 年 6 月的阴干鱼腥草地上部分(W01-96 缺失)和采收于 2003 年 6 月的新鲜鱼腥草地上、地下部分分别提取挥发油。干草粉碎, 过 20 目筛, 称取 20 g 置圆底烧瓶中, 加入蒸馏水 400 mL, 接挥发油提取器, 收集管内加入醋酸乙酯 1 mL, 微沸提取 4 h, 取醋酸乙酯层, 定容至 10 mL 作为供试样品。鲜草剪碎, 称取 100 g 置圆底烧瓶中, 加入蒸馏水 1 000 mL, 接挥发油提取器, 收集管内加入醋酸乙酯 1 mL, 微沸提取 4 h, 取醋酸乙酯层, 用醋酸乙酯清洗收集管, 合并, 定容至 10 mL 作为供试样品。

2.2.2 甲基正壬酮对照品与空白对照的制备: 取甲基正壬酮对照品 1 mL 置 2 mL 量瓶中, 加醋酸乙酯至刻度, 即得甲基正壬酮对照品溶液。不加样品, 余同供试样品的制备空白对照。

2.2.3 薄层色谱鉴别: 照薄层色谱法^[6]以正己烷-醋酸乙酯(9:1)为展开剂; 2 μL 甲基正壬酮对照品与 20 μL 样品点于同一板上, 上行展开 40 min, 取出, 挥干, 喷 2, 4-二硝基苯肼试液。

3 结果与分析

3.1 鲜草挥发油

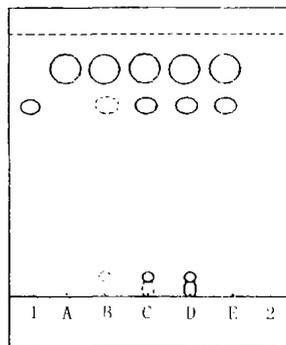
3.1.1 地上部分挥发油: 20 份鲜草材料地上部分

表 1 材料来源及染色体数

Table 1 Sources of materials and chromosome numbers

材料号	品名	来源地	染色体数目
W01-1	峨眉蕺菜	四川乐山九峰乡	36
W01-86	峨眉蕺菜	四川峨眉山	36
W01-5	蕺菜	四川犍为县清溪	36
W01-48	蕺菜	四川内江市中区	36
W01-39	蕺菜	重庆彭水县汉邻区	54
W01-43	蕺菜	四川马尔康县马尔康镇	54
W01-81	蕺菜	四川荥经县太湖寺	72
W01-16	蕺菜	四川宜宾市宜宾县	80
W01-80	蕺菜	四川绵阳市槐树乡	80
W01-6	蕺菜	四川犍为县九井乡	81
W01-71	蕺菜	四川巴中市磨子乡	81
W01-37	蕺菜	重庆酉阳县中都区	82
W01-96	蕺菜	四川峨眉山中锋寺	82
W01-46	蕺菜	四川都江堰市紫坪	84
W01-92	蕺菜	四川资阳	84
W01-34	蕺菜	重庆秀水县峻岭乡	86
W01-98	蕺菜	四川雅安和龙乡	86
W01-99	蕺菜	四川资阳	88
W01-94	蕺菜	四川雅安望渔乡	90
W01-100	蕺菜	四川邛崃	90

挥发油按斑点数目和清晰度不同大致呈现为 5 种类型, 见图 1, 其中 W01-1、W01-86、W01-48、W01-39、W01-43、W01-46 的图谱呈现 A 类, W01-5、W01-81、W01-96、W01-94 的图谱呈现 B 类, W01-16、W01-80、W01-71、W01-92、W01-34、W01-98、W01-99 的图谱呈现 C 类, W01-6、W01-37 的图谱呈现 D 类, W01-100 的图谱呈现 E 类。



1-甲基正壬酮 2-空白

1-undecanone 2-blank

A ~ E-分别为鲜草地上挥发油的 5 种图谱

A ~ E-five types of TLC pattern of essential oil in aerial part of fresh plant

图 1 鲜草地上挥发油薄层图谱

Fig. 1 TLC pattern of essential oil in aerial parts of fresh plant

从图 1 中可以发现, 不同材料鱼腥草地上部分挥发油成分具有较大的不同, 反映出较为丰富的变异。多数染色体数目较少的材料其地上部分挥发油

中甲基正壬酮含量较少,以至于有的材料不能检出甲基正壬酮。2 份峨眉蕺菜(染色体数目均为 36)地上部分也未检出甲基正壬酮。

3.1.2 地下部分挥发油: 20 份鲜草材料地下挥发油按斑点数目和清晰度不同大致呈现为 3 种类型,见图 2,其中 W01-1、W01-86、W01-48、W01-39、W01-43、W01-46、W01-5、W01-81、W01-16、W01-80、W01-71、W01-92、W01-34、W01-98、W01-99、W01-6、W01-37 的图谱呈现 A 类, W01-96、W01-94 的图谱呈现 B 类, W01-100 的图谱呈现 C 类。

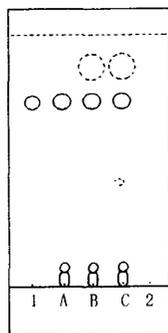
从图 2 中可以发现,不同材料鱼腥草挥发油成分较为相似,变异不大,大多数材料都为 A 类图谱。所有材料地下部分挥发油中均检出较多甲基正壬酮,且染色体数目的变异对甲基正壬酮含量影响不明显。

3.1.3 地上与地下部分挥发油的比较: 由图 1、2 可以看出,不同材料间地上部分挥发油的成分组成比地下部分具有更大的变化,即地下部分挥发油的成分组成更加稳定;所有材料其各自的地上地下两部分挥发油的成分也都存在差异。

3.2 干草挥发油: 19 份材料干草挥发油按斑点数目和清晰度不同大致呈现为 4 种类型,见图 3,其中 W01-1、W01-48、W01-37 的图谱呈现 A 类, W01-86、W01-5、W01-43、W01-81、W01-16、W01-46、W01-34、W01-92、W01-99 的图谱呈现 B 类, W01-71、W01-80、W01-94 的图谱呈现 C 类, W01-6、W01-39、W01-98、W01-100 的图谱呈现 D 类。

由图 3 可知,干草挥发油的 4 种图谱中 A 类与其余 3 类在成分种类上有较大差别, B、C、D 类型间成分种类上差异不大。所有材料均可检出甲基正壬酮,但均为模糊的微弱斑点,说明干草挥发油中甲基正壬酮含量很少。2 份峨眉蕺菜同其余 17 份蕺菜的挥发油成分并无显著区别,分别属 A、B 两类。

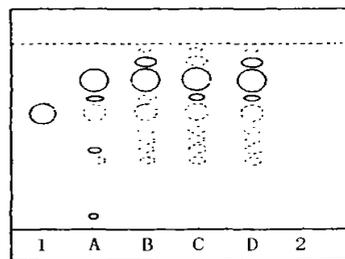
3.3 鲜草与干草挥发油比较: 从图 1、3 可看出鲜草



1-甲基正壬酮
2-空白
A~C-分别为鲜草地上挥发油的 3 种图谱
1-2-undecanone
2-blank
A~C-three types of TLC pattern of essential oil in underground parts of fresh plant

图 2 鲜草地下部分挥发油薄层图谱

Fig. 2 TLC pattern of essential oil in underground part of fresh plant



1-甲基正壬酮 2-空白
1-2-undecanone 2-blank
A~D-分别为干草地上挥发油的 4 种图谱
A~D-four types of TLC pattern of essential oil in aerial parts of dried plant

图 3 干草地上挥发油薄层图谱

Fig. 3 TLC pattern of essential oil in underground parts of dried plant

与干草挥发油在成分的种类存在明显差异。例如,所有材料在甲基正壬酮斑点与展开剂前沿间,干草挥发油比鲜草挥发油要多出 1~3 个斑点。同时还可发现,若不考虑挥发油中各成分的含量而仅关注其种类,不同材料干草挥发油成分的差异比鲜草要小。

4 讨论

乔传卓等^[3]对蔓陀罗同源四倍体的研究发现,四倍体植株的生物碱含量大约是原植物的 2 倍,小天蓝绣球 *Phlox drummondii* 的同源四倍体中能够产生亲本所不含有的黄酮类成分,吕世民等^[4]发现怀牛膝同源四倍体中蜕皮激素较原植物高出 10 倍之多,乔传卓等^[5]对菘蓝同源四倍体游离氨基酸成分的研究也发现四倍体游离氨基酸成分组成与二倍体亲本相比不尽一致。这些研究都表明了染色体数目的变异会对植物体内的化学成分产生影响。本研究发现,鱼腥草鲜草地上部分挥发油成分种类和甲基正壬酮含量同染色体数目间表现出一定正相关,即染色体数目较多的材料其地上部分挥发油中甲基正壬酮含量比染色体数目较少的要多,这同他们的研究结果类似,进一步证实了染色体数目的变异会对植物体内的化学成分产生影响。但同时也发现鲜草地下部分挥发油并无类似相关关系,地上部分挥发油成分材料间差异比地下部分大。分析其产生原因,可能有以下几点: ①由于染色体数目的增加,其所携带与挥发油产生相关基因的表达量有所增加,从而使植株合成了更多的挥发油成分; ②由于基因表达具有时空性,使得地上部分较地下部分更易受基因表达的影响; ③由于地上部分所处的环境变化比地下部分更大,因而造成地上部分挥发油成分这类次生代谢产物比地下部分有更多的差异; ④由于代谢产物的定向运输,植株将不同的物

质成分运输到不同部位,这也可能是地下部分挥发油中均含甲基正壬酮的原因。

鲜草与干草地上部分挥发油成分间的差异可能来源于干草阴干过程中物质的相互转化和挥发损失,这也可能导致挥发油成分与染色体数目间的关系消失;不同的采收年也会造成这种差异。至于与鲜草一同采收阴干的鱼腥草地上部分挥发油成分变化,将作进一步分析。

笔者曾在分子水平、生化水平对峨眉蕺菜与蕺菜进行了 DNA 分析和同工酶分析,也对两者进行了解剖学研究,结果均表明峨眉蕺菜与蕺菜差异不大^[7-10],本研究发现两者在挥发油成分上也并无明显差别。

《中华人民共和国药典》规定鱼腥草为干燥全草,而现在也有使用鲜草的,如鱼腥草注射液。本研究发现干草与鲜草挥发油在化学成分上有较多的差异,干草之间或鲜草之间也同样存在较多差异。因此,有必要分别鉴定其有效成分,制定相应的质量标准。同时,因为鲜草挥发油与染色体数目存在一定关系,所以对于需要鲜草为原料的企业,在 GAP 生产时可以选择染色体数目大于 80 的进行栽培,有利于获得较多的甲基正壬酮,若利用地下部分作为原料

将会有更好的质量可控性。

References:

- [1] Zhu Z Y, Zhang S L. A new species of *Houttuynia* medicinal plants in Emeishan [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 2001, 21 (1): 1-2.
- [2] Wu W, Zheng Y L, Yang R W, et al. Variation of the chromosome number and cytotoxicity of *Houttuynia cordata* from China [J]. *Acta Phytotax Sin* (植物分类学报), 2003, 41 (3): 245-257.
- [3] Qiao C Z, Cui X. Applications of medicinal plants polyploidy [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1981 (4): 40.
- [4] Lu S M, Liang K J, Ge C J, et al. Studies on polyploid breeding of *Achyranthes bidentata* BL [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1988, 13(7): 11.
- [5] Qiao C Z, Wu M S, Dai F B, et al. Studies on polyploid breeding of *Isatis Indigotica* Fort [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1989, 31(9): 678.
- [6] *Ch P* (中国药典) [S]. Vol . 2000.
- [7] Wu W, Zheng Y L, Chen L, et al. RAPD analysis on the germplasm resources of *Herba Houttuyniae* [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 2002, 37(12): 986-992.
- [8] Wu W, Zheng Y L, Chen L, et al. Analysis on genetic diversity of germplasm resources of *Cordate Houttuynia* by ISSR marker [J]. *World Sci Tech- Modern Tradit Chin Med* (世界科学技术- 中药现代化), 2003, 5(1): 70-77.
- [9] Wu W, Zheng Y L, Chen L, et al. Isozymes variations among the germplasm resource of *Houttuynia* in Sichuan [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(10): 695-698.
- [10] Yang Y X, Wu W, Zheng Y L. Study on comparative anatomy of different population of *Houttuynia* [J]. *Guihaia* (广西植物), 2003, 23(5): 429-435.

干旱胁迫对甘草种子吸胀萌发的影响

刘长利, 王文全, 魏胜利*

(北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

摘要: 目的 研究干旱胁迫对甘草 *Glycyrrhiza uralensis* 种子吸胀萌发的影响及其抗旱性。方法 以甘草种子为试验材料, 采用 PEG-6000 模拟干旱条件, 测定种子吸胀速率、发芽率、种苗生长情况、组织相对含水量、相对电导率、SOD 酶活性等指标。结果 随着胁迫程度的加剧, 甘草种子吸胀速率、发芽率、种苗生长、SOD 酶活性等指标均表现出先升后降的趋势, 而组织相对含水量与相对电导率呈下降趋势。结论 甘草种子在适当的干旱胁迫下不但可以提高种子发芽率, 而且可以提高甘草幼苗的抗旱性。

关键词: 甘草; 种子; PEG; 干旱胁迫

中图分类号: R282.21

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)12-1402-04

Influence of drought stress on imbibition germination of *Glycyrrhiza uralensis* seed

LIU Chang-li, WANG Wen-quan, WEI Sheng-li

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

Abstract: Object To study the influence of drought stress on imbibition germination of *Glycyrrhiza uralensis* seed and the drought resistance of its seedling. **Methods** To measure the imbibition rate, germi-

* 收稿日期: 2004-02-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30171141)

作者简介: 刘长利(1974-), 男, 河北承德人, 北京中医药大学中药专业在读博士研究生, 主要从事药用植物生理生态及资源开发方面的研究。 Tel: (010) 64711199-6048-18 E-mail: lc174@126.com