

对照品峰信号很低,与大多数药材有明显差异;而宁夏甘草种植场栽培的样品(9、10号),松果菊苷量极高,这可能与栽培场的药材干燥速度快,松果菊苷未发生转化有关。产地相同的不同药材,如阿拉善左旗张泰乡的样品(11~13号)也有较大差异,提示除产地来源外,还有其他因素影响肉苁蓉的质量。

3.3 肉苁蓉中含有苯乙醇苷类化合物,其中以松果菊苷和洋丁香酚苷的量较高,并且为重要的活性成分,以这2个化合物为对照品,可以很好地代表肉苁蓉药理作用的化学物质基础,使药材的质量评价与其药理作用能够彼此对应,提高了质量评价的针对性。

3.4 由指纹图谱可见各峰分离较好,实验中利用

DAD检测器采用归一化比较法对HPLC图中主要色谱峰进行纯度检查,结果显示各主要峰纯度较好,故本方法除了可以用于定性考察药材质量外,也可用于多种单一成分的一次同时定量检测,使测定更加简便快捷。

References:

- [1] Jiangsu New Medical College. *Dictionary of Chinese Materia Medica* (中药大辞典) [M]. Shanghai: Shanghai People's Publishing House, 1975.
- [2] Lei L, Song Z H, Tu P F. Advances in research of chemical constituents in plants of *Cistanche Hoffing.* et Link [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(5): 473-476.
- [3] Tu P F, Chu S W, Zhang Z G, et al. Analysis of phenylethanoid glycosides of *Herba Cistanchis* by RP-HPLC [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1997, 32(4): 294-300.

广藿香茎发育及不同发育期挥发油的分布

冯承浩^{1,2}, 吴 鸿^{2*}

(1. 韶关学院 英东生物工程学院 农业工程系, 广东 韶关 512005; 2. 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 揭示广藿香茎的发育及不同发育阶段挥发油在其内的分布,为合理的取药、用药提供理论和实践上的指导。方法 石蜡切片法、半薄切片法、组织化学法。结果 在广藿香茎的原分生组织中,未观察到有挥发油分布;在茎的初生、分生组织和初生结构形成早期,挥发油主要分布在茎表皮上着生的腺毛中;在茎的初生结构中,挥发油主要分布在皮层薄壁组织细胞中;在茎的次生结构中,挥发油则主要分布在残存的皮层薄壁组织细胞中。结论 广藿香茎内的挥发油主要分布在茎的皮部,广藿香茎皮的厚薄可作为优良品种的选育指标。

关键词:广藿香; 茎; 发育; 挥发油; 分布

中图分类号: R282.6

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2005)02-0271-04

Stem development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin*

FENG Cheng-hao^{1,2}, WU Hong²

(1. Department of Agricultural Engineering, Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan College, Shaoguan 512005, China; 2. Research Center of Medicinal Plant Development, College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Objective To study the stem development and essential oil distribution in different development stages of *Pogostemon cablin* and to provide theoretical information and practical guidance for reasonable harvest and use of this medicinal plant. **Methods** Paraffin method, semi-thin sectioning, and histochemical method were used. **Results** Essential oil was not found in the promeristem of stem; in the primary meristem of stem and the early stage of stem's primary structure, the essential oil was mainly distributed in glandular hairs; in the primary structure of stem, the essential oil was mainly distributed in cortex parenchyma cells; in the secondary structure of stem, the essential oil was mainly distributed in remaining cortex parenchyma cell. **Conclusion** The essential oil is mainly distributed in the stem bark, so the thickness of a stem bark can be used as a standard of selective breeding index.

收稿日期: 2004-06-02

基金项目: 广东省中医药管理局基金资助项目 (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, 韶关学院农业工程系讲师, 硕士, 主要从事药用植物学方面的研究。

Tel: (0751) 8121376 E-mail: fchenghao@163.com

* 通讯作者

Key words: *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.; stem; development; essential oil; distribution

广藿香 *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. 为唇形科刺蕊草属植物,以全草入药,是常用的芳香化湿中药,有芳香化湿、开胃止呕、发表解暑之功效^[1]。《中华人民共和国药典》2000年版一部记载以其挥发油供中药制剂之用,是著名成药藿香正气丸(水)的君药。广藿香原产菲律宾,宋朝时引入我国^[2],在岭南一带引种成功,且普遍种植,故有南药之称,是著名的十大南药之一^[3]。在我国,广藿香多以营养繁殖方式培养,所以其根系很不发达,但却有茂盛的地上部分,尤其是有比较发达的茎,约占广藿香药材干重的90%以上。研究表明,广藿香全草均含挥发油^[4],因此,研究广藿香茎的发育及不同发育期挥发油在茎内的分布对于如何取药、用药及品种选育具有重要的理论和实践指导意义。

1 材料与方法

1.1 石蜡切片法:取茎尖及以下各节位的茎,同时取不同季节,相同节位的茎,分割后于FAA中固定,系列酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,横切或纵切,切片厚度6~8 μm,用苏木精及番红、固绿染色,LEICA DMLB显微镜观察并照相。

1.2 薄切片法:取不同发育部位的茎,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%锇酸4℃条件下固定,过夜后经去离子水冲洗,系列酒精脱水,LEICA HISTORESIN树脂渗透、包埋,LEICA RM2155机切片,厚度2~3 μm。苏丹黑B染色,显示挥发油滴分布^[5],染色步骤参照文献方法^[6],染色时间为1 h,LEICA DMLB显微镜观察并照相。

2 茎的发育

2.1 茎的初生生长及初生结构的形成:在茎上,初生生长表现为顶端分生组织下面体轴的伸长和加粗。在顶端,节间非常短,所以叶原基和幼叶簇集在一起。随后,在叶着生的区域(节)之间迅速伸长,形成了节间。广藿香茎的初生结构由表皮、皮层、维管组织及髓组成,其分化过程及特点如下:

从茎尖纵切面观察,茎的生长点近似圆锥形(图1-1)。由原套和原体^[7]两部分组成,原套位于生长点的外围,由两层排列整齐的细胞组成,原体位于原套所包围的中央部分,其组成细胞体积较小,液泡化程度低,原生质浓厚,且排列紧密(图1-2)。原生分生组织下面的衍生细胞在距顶端约100~150 μm

处分化出初生分生组织——原表皮、原形成层和基本分生组织(图1-1、3)。原表皮为最外面的一层细胞,细胞排列紧密,液泡化程度较低;基本分生组织包括位于原表皮内的皮层基本分生组织和位于中央的髓基本分生组织,其细胞体积较大,液泡化程度较高。在两类基本分生组织之间有两条由细胞质浓厚的长形细胞组成的细胞束,这些细胞在茎的横切面上断续排列成近方形的环(图1-3),在4个棱角处较其他部位发达。此后,这些细胞继续分化形成初生维管组织。

随着广藿香茎初生结构的进一步发育,基本分生组织逐渐分化为两大类,即髓薄壁组织细胞和皮层薄壁组织细胞。皮层薄壁组织细胞随后又分化为厚角组织细胞和薄壁组织细胞,薄壁组织细胞内分布有大量的叶绿体,厚角组织细胞在4个棱角处尤其发达(图1-4)。据茎端连续纵横切片观察,在生长点下约300 μm处,最早的原生韧皮部筛管在个别原形成层细胞的外缘分化出来,在约500~600 μm处,原生木质部导管分子才在原形成层束的内缘出现,以后分别向外、向内分化出后生韧皮部和后生木质部分子,而原形成层束的中央部分不再分化而保持分生组织状态。当原生木质部分子已经成熟而后生木质部仍在分化时,他们转化为束中形成层。至此,形成广藿香茎的初生结构(图1-5)。

2.2 次生结构的形成:次生生长是维管形成层的活动在茎中增加了维管组织数量的结果(还包括木栓形成层的发生和周皮的形成),开始于茎体轴已停止伸长的部分。这种生长使体轴加粗,但不增长。

当维管束中后生木质部分子正在成熟时,原排列不整齐的束中形成层切向伸长,且细胞进行平周分裂,向内产生次生木质部,向外产生次生韧皮部,此时,与束中形成层相邻位置的射线薄壁细胞反分化形成束间形成层,由于其细胞在形状、大小上与薄壁细胞差别比较大,所以较易区分出来(图1-6)。束间形成层细胞分裂产生大量导管、筛管和薄壁组织细胞,次生木质部产生的数量和速度远大于次生韧皮部的。随着广藿香茎次生结构的发生,原先由初生维管束断续排列形成的近方形维管组织变为连续的、近圆形的维管组织(图1-7)。初生韧皮部被推向外面,失去了输导作用,逐渐地发育成韧皮纤维,间断地排列在次生韧皮部的外围(图1-7)。

2.3 周皮的发生:周皮包括木栓形成层、木栓层和

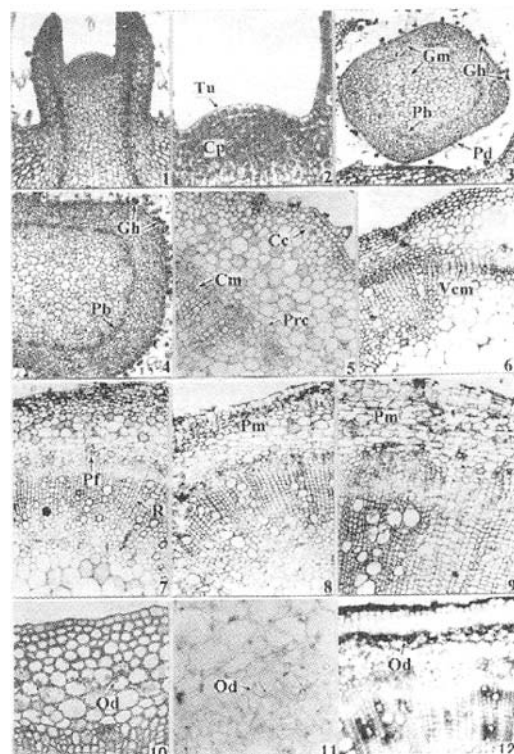
栓内层。

在广藿香次生生长将要完成时,在初生结构的表皮下,厚角组织细胞反分化形成木栓形成层(图1-8),木栓形成层向外分化形成木栓层,表皮逐渐被撑裂、破损,向内分化形成栓内层。随后形成的周皮是由最初形成的周皮下面的厚角组织细胞脱分化形成,因此可见周皮下的厚角组织细胞层数逐渐减少(图1-9)。厚角组织细胞脱分化完毕后,皮层薄壁组织细胞也可脱分化形成木栓形成层。最初的木栓形成层是沿着轴的周围平均发生,或者在某些区域发生,后来由于分生组织活动向侧面伸展而成为连续层。随后发生的周皮经常是成不连续的互相重叠层(图1-9)。周皮发育到一定程度,可在其上面分化出皮孔。

2.4 不同发育期挥发油的分布:在广藿香的茎中,不同发育期挥发油的分布部位明显不同。在茎尖,表面无腺毛分布,茎内各部位正处于分裂时期,光镜下由于放大倍数和分辨率的限制,难以观察到挥发油滴的分布(图1-1、2)。茎初生分生组织区和初生结构形成早期,表皮上着生大量的腺毛(图1-3、4),其头部细胞能被苏丹黑B染成浓黑色,茎内在光镜下观察不到有挥发油滴的分布。茎初生结构形成直至次生结构发生初期,随着茎的加粗和表皮面积的增大,茎表皮上着生的表皮毛数量和组成发生明显的变化,盾状腺毛明显减少,非腺毛数量明显增加,因此,腺毛中挥发油的相对含量减少;皮层薄壁细胞中零星分布着一些较大的挥发油滴(图1-10),在茎内形成层和部分韧皮薄壁细胞中分布着部分小的挥发油滴(图1-11)。茎次生结构形成后,周皮以外部分组织细胞死亡,残存或脱落,已没有挥发油分布,但在残存的皮层薄壁细胞中却分布有大量的挥发油滴(图1-12),至此阶段,挥发油的相对含量达到最大。

3 讨论

挥发油为一种类脂性混合物,苏丹黑B能使脂类化合物染成黑色^[4],经这种染色剂处理后,光镜下观察到的被染成黑色的圆形颗粒即为挥发油滴。笔者曾试图利用广藿香茎的活体材料进行组化反应,但由于广藿香植物体中挥发油的相对含量较少,如时间太短,反应不明显;时间稍长,挥发油滴则会随细胞液的运动而发生漂移。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指出经戊二醛-锇酸固定的材料所保存的油滴最接近于生活细胞中的情况^[8]。在本研究中笔者使用了戊二醛-锇酸双固定材



Tu-原套 Cp-原体 Pd-原表皮 Gm-基本分生组织 Pb-原形成层 Gh-腺毛 Cc-厚角组织 Cm-形成层 R-射线 Prc-髓射线薄壁细胞 Vcm-束间形成层细胞 Pf-韧皮纤维 Pm-周皮 Od-挥发油滴

1-广藿香茎尖纵切 2-广藿香茎尖的原套-原体结构 3~5-广藿香茎初生结构的形成过程 3-广藿香茎尖的初生分生组织区 4-广藿香茎初生结构形成早期 5-广藿香茎的初生结构 6-广藿香茎束间形成层的形成 7-维管束已连成环状 8-木栓形成层的发生 9-周皮形成并逐渐取代厚角组织细胞 10-挥发油在广藿香茎的初生结构皮层薄壁细胞中的分布 11-挥发油在广藿香茎的初生结构韧皮薄壁细胞中的分布 12-挥发油在广藿香茎的次生结构中的分布

Tu-tunica Cp-corpus Pd-protoderm Gm-ground meristem Pb-procambium Gh-gland hair Cc-collenchyma Cm-cambium R-ray Prc-pith ray parenchyma Vcm-vein cambium Pf-phloem fibre Pm-periderm Od-oil drop

1-longitudinal section of a stem apex 2-structure of tunica and corpus 3-5 development of primary structure; 3-primary meristems of stem 4-early stage of stem's primary structure 5-primary structure of stem 6-formation of vein cambium 7-annular vascular bundle 8-phellem cambium 9-formation of periderm 10-distribution of essential oil in cortex parenchyma of primary structure 11-distribution of essential oil in phloem parenchyma of primary structure 12-distribution of essential oil in secondary structure of stem

图1 广藿香茎发育及不同发育期挥发油的分布

Fig. 1 Stem development and essential oil distribution in different development stages of *P. cablin*

料,因此观察结果能够反映挥发油在茎不同发育阶段分布的真实情况。

广藿香茎的发育,类似于一般草本双子叶植物。在不同发育阶段,挥发油的分布场所有所不同,这与器官的生长发育节律和不同时期植株对挥发油的需求有密切的关系。在茎的原生和初生分生组织阶段,光镜下未观察到有挥发油分布。由于分生组织幼嫩,易受病虫害侵袭,因此非腺毛和含有刺激性气味挥发油的腺毛明显地具有保护幼嫩组织的作用^[9]。在初生结构和次生结构中,其组成细胞功能逐渐分化,此间挥发油可能逐渐分解,为这些细胞的分化提供所需的能量,同时为另一些代谢活动提供前体物质。在皮层薄壁细胞中,依然有大量的挥发油。究其原因,是因为这些细胞内含有丰富的质体,而它们则正是挥发油的主要合成场所。一部分挥发油分解,同时又有新的挥发油合成,从而分解与合成形成一种动态平衡关系。这样,皮层与周皮一起协同作用,对植物体起到了化学和机械的双重保护作用。广藿香茎的次生结构中,特别是在周皮发生后,木栓层以外部分的营养和水分供应被隔断,表皮毛逐渐死亡,已无挥发油分布。但在残存的皮层中,却有大量的挥发油滴,残存的皮层薄壁细胞成了此阶段挥发油分布的主要部位。

实验结果表明,在广藿香茎发育的各个时期,其内的挥发油都主要分布在茎皮内。如前所述,广藿香的有效成分主要是其挥发油。因此,在选育和评定广藿香的品种是否优良时,可以把广藿香茎皮的厚薄作为一个重要指标。另外,考虑在以广藿香的茎枝入药时,是否可以仅取广藿香茎枝的皮部(新鲜材料的

茎皮容易剥离)。这样即可大量节省药材运输、翻晒、贮藏、炮制等工序的人力和物力,又不会造成有效成分的流失、浪费。当然,这可能与传统饮片用药习惯不相符,但笔者认为,如果进一步根据有效成分的使用量来量化用药量,这不失为一种可尝试的用药方式。同时,也可使用中药标准提取物提供量化方法上的参考和帮助。

References:

- [1] 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.
- [2] 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.
- [3] Hao J D, Xie Z W. Continuity and development of Huoxiang medicinal breed [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1994, 17(8): 44-47.
- [4] Feng C H, Yao H, Wu H, et al. Studies on mature structures and distribution of active constituent of *Pogostemon cablin* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(2): 174-176.
- [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] Schmidt A. Histologische studied an phanerogamen Vegetationspunkten [J]. *Bot Arch*, 1924, 8: 345-404.
- [8] 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.
- [9] Black R F. The leaf anatomy of Australian members of the genus *Atriplex*. L., *Atriplex vesicaria* Heward and *A. nummularia* Lindl [J]. *Aust J Bot*, 1954, 2: 269-286.

康定冬虫夏草与人工虫草的 RAPD 指纹图谱比较研究

于超¹, 何俊琳², 曾 伟¹, 邓 斌²

(1. 重庆市中药研究院, 重庆 400065; 2. 重庆医科大学, 重庆 400046)

摘要:目的 用 RAPD 方法对康定虫夏、人工虫草及虫草发酵菌丝体进行指纹图谱的研究, 为不同虫草的品质和药效差异提供分子依据。方法 从 65 个随机引物中筛选出 7 个引物, 以这 7 个引物进行 PCR 扩增, 电泳得到其指纹图谱。结果 没有发现任何两个样本拥有完全相同的 RAPD 标记, 康定冬虫夏草和人工虫草具有较高的遗传多态性, 而与虫草发酵菌丝体相比差异较大。结论 来自不同产地冬虫夏草群体均表现出其独特的 RAPD 标记, 其差异可能系虫体的不同所致。随机扩增的 DNA 片段的差异是否预示其药效的不同, 有待进一步研究。

关键词:冬虫夏草; RAPD; 指纹图谱

中图分类号:R282.71

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2005)02-0274-04

收稿日期:2004-04-24

基金项目:重庆市科委基金资助项目(6962)

作者简介:于超(1963—),男,山东人,副研究员,博士,长期从事中药化学、中药物质基础和中药分子生物学研究,研究方向为药物分析化学和新药开发。Tel: (023) 62466269 E-mail: yuchaom@163.com