

紫锥菊药用部位的结构及其与多酚类化合物积累的关系

李 鹏^{1,2}, 宁熙平¹, 吴 鸿^{1*}

(1. 华南农业大学 药用植物研究中心, 广东 广州 510642; 2. 平顶山学院, 河南 平顶山 467000)

摘 要:目的 研究不同年生紫锥菊药用部位的结构变化和发育过程中主要药用成分多酚类化合物的分布情况, 为该药用植物的栽培和综合利用提供理论依据。方法 利用石蜡切片法研究紫锥菊药用部位的结构, 利用组织化学的方法研究多酚类化合物的分布。结果 紫锥菊根和根状茎的结构类似一般多年生草本植物, 薄壁细胞是紫锥菊药用部位多酚类化合物的分布储存场所, 多酚类化合物在根中主要分布于皮层和韧皮部, 在根状茎中主要分布于皮层、韧皮部和髓, 而且根状茎中多酚类化合物合成部位明显大于根中。结论 在选优上, 应该将具有发达根状茎的植株作为优良单株选育的形态指标; 根据多酚类化合物的分布情况和生产成本考虑, 紫锥菊以三年生采收为好。并且根以皮厚、木心细者为上品; 根状茎以皮厚、髓占比例较大者为上品。

关键词:紫锥菊; 根; 根状茎; 多酚类化合物

中图分类号:R282.7

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)04-0606-05

Relationship between structure of medicinal fractions and accumulation of polyphenol in *Echinacea purpurea*

LI Peng^{1,2}, NING Xi-ping¹, WU Hong¹

(1. Center for Medicinal Plant Research, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Pingdingshan College, Pingdingshan 467000, China)

Key words: *Echinacea purpurea* (L.) Moench.; root; rhizome; polyphenol compounds

紫锥菊 *Echinacea purpurea* (L.) Moench. 是菊科 (Asteraceae) 紫锥菊属 (*Echinacea* Moench.) 多年生草本植物, 自然分布于美国中东部及加拿大南部地区^[1]。紫锥菊根和根状茎主要含有菊苷酸、多糖、烷基酰胺等有效成分, 具有提高人体免疫力和抗炎的作用^[2~4], 因此紫锥菊现已成为风行于北美和欧洲的重要药用植物之一。目前, 有关紫锥菊的研究主要集中在药物化学^[5~6]、生药学^[7]、药理学^[8~9]等方面。而有关其药用部位根和根状茎的结构以及其有效成分在根和根状茎中的积累和分布特点的研究国内外均未见报道, 而掌握有效成分在药用部位的分布规律和积累特点, 对于药材栽培管理、提高产量和质量、适时采收, 以及优良品种的选育均具有重要的参考价值^[10]。为此, 本实验较系统地研究了不同年生紫锥菊根和根状茎的结构特点, 以及相应的主要药用成分多酚类化合物的分布情况, 以期为该药用植物的引种栽培、合理开发和综合利用提供基础资料。

1 材料与方法

不同年生的紫锥菊根和根状茎材料采于华南农

业大学农场栽培植株, 用 FAA 固定, 做常规石蜡切片, 厚度 8~10 μm , 番红-固绿双重染色, 观察其结构特征, LEICA DMLB 型显微镜观察并照相。

供多酚类化合物组织化学定位研究的新鲜实验材料用滑走切片机切片, 厚度 60~80 μm , 利用多酚类化合物在 Hoepfner-Vorsatz 反应中显示红色的性质^[11], 显示其分布情况, LEICA DMLB 型显微镜观察并照相。由于多酚类物质和多酚氧化酶分布相似^[12], 本研究也用组织化学方法对多酚氧化酶进行定位, 间接反应了多酚类物质的分布, 方法参考文献^[13], 稍有改动。具体为将新鲜样片切下后立即投入 pH 7.2 的磷酸缓冲液中, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 5 min。然后将切片转移至 1% 邻苯二酚中, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 保温 3~15 h, 取出观察。对照切片用 90 $^{\circ}\text{C}$ 热水处理 10 min 或者用多酚氧化酶抑制剂 2% 抗坏血酸处理后, 再按反应程序进行实验, LEICA DMLB 型显微镜观察并照相。

2 结果

紫锥菊的药用部位为根和根状茎, 通过不同年生根和根状茎的结构比较, 同时结合有效成分分布

收稿日期: 2006-08-30

基金项目: 广州市科技计划项目资助 (2004Z3-E5021)。

作者简介: 李 鹏 (1981—), 男, 河南安阳人, 硕士研究生, 研究方向为药用植物资源与利用。E-mail: Lipeng021126@163.com

* 通讯作者 吴 鸿 E-mail: wh@scau.edu.cn

万方数据

特点观察,揭示出根的皮层、韧皮部薄壁细胞和维管射线,根状茎的皮层、韧皮薄壁细胞、维管射线和髓等生活组织为多酚类化合物的积累场所。

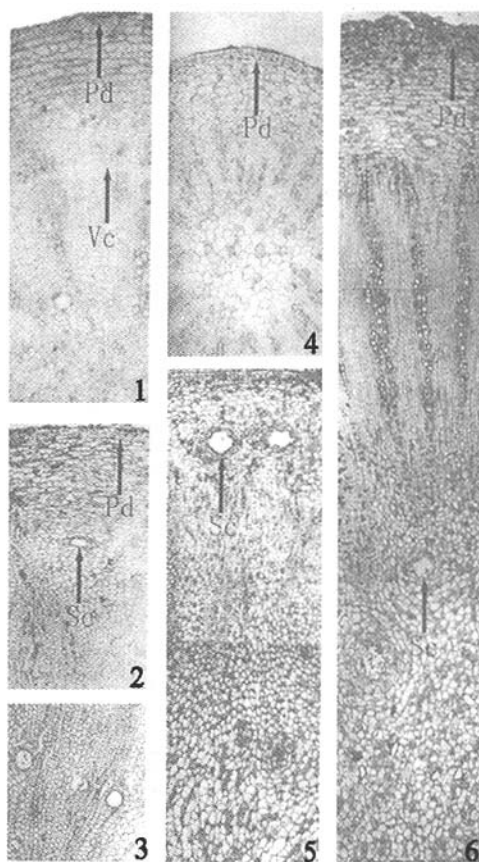
2.1 不同年生紫锥菊根的解剖结构及菊苣酸的分布特点:紫锥菊根的初生结构类似一般草本双子叶植物根,从横切面上看,由外到内依次为表皮、皮层和维管柱 3 部分。表皮由一层排列紧密的细胞构成,部分表皮细胞外壁向外突出形成根毛。皮层由 5~7 层薄壁细胞组成,最内的一层细胞称为内皮层,内皮层细胞排列紧密,细胞横向壁和径向壁带状加厚。内皮层相邻细胞壁相互分离,以裂生的方式产生初生分泌腔。初生木质部为四原型,与初生韧皮部相间排列,两者之间保留着未分化的原形成层细胞,根中央无髓。

由于紫锥菊根的木栓形成层起源于表皮下的皮层细胞,所以紫锥菊根的次生结构中保留有皮层细胞。通过一年生紫锥菊根的横切面观察,由外至内为周皮、皮层、次生韧皮部、维管形成层、次生木质部、初生木质部(图 1-1)。周皮由木栓层、木栓形成层和栓内层组成,各组成部分由 1~2 层切向延长的细胞组成。皮层由多层薄壁细胞构成,细胞间隙较明显,皮层薄壁细胞间分布有分泌腔。由于木栓形成层的逐年向内推移,皮层细胞层数逐渐减少。次生韧皮部由筛管、伴胞、韧皮薄壁细胞、韧皮纤维和韧皮射线组成,韧皮薄壁细胞和韧皮射线发达,筛管和伴胞成群散生,韧皮薄壁细胞间和韧皮射线内分布有次生分泌腔。维管形成层较明显,由多层切向扁平的细胞组成。次生木质部由导管、木薄壁细胞、木射线和木纤维组成。导管单个或 3~5 个聚群,呈辐射状排列于次生木质部,木薄壁细胞较多,木纤维呈不规则带状分布于导管之间。木射线发达,约占木质部面积的 80%。木射线通过形成层与韧皮射线相连,共同组成维管射线,次生分泌腔分布其中。

两年生(未提供照片)和三年生(图 1-2、3)紫锥菊根的结构与一年生相似,也是由周皮、皮层和次生维管组织构成,但各部分细胞数量和面积进一步增加,不同年生紫锥菊根各组织结构的组成、排列及比例见表 1。

紫锥菊根的主要有效成分为菊苣酸,菊苣酸属于多酚类化合物,由于目前没有对菊苣酸专一的组化反应,本研究通过对多酚类化合物进行定位,以便大致了解菊苣酸的分布。

通过 Hoepfner-Vorsatz 反应结果可知,在紫锥菊根中存在大量的多酚类化合物,特别是皮层、韧皮



Sc-分泌腔 Pd-周皮 Vc-维管形成层 1-一年生根 2、3-三年生根 4-半年生根状茎 5-一年生根状茎 6-三年生根状茎
Sc-secretory cavity Pd-periderm Vc-vascular cambium
1-one year old root 2, 3-three year old root
4-half year old rhizome 5-one year old rhizome
6-three year old rhizome

图 1 不同年生紫锥菊根和根状茎的横切面
Fig. 1 Cross sections of root and rhizome of *E. purpurea* at different ages

薄壁细胞、韧皮射线中量较多(图 2-1),木射线中也有少量分布(图 2-2),所以大部分的多酚类化合物分布于根皮(皮层和韧皮部)中,且各年生根中多酚类化合物分布情况大致相似。

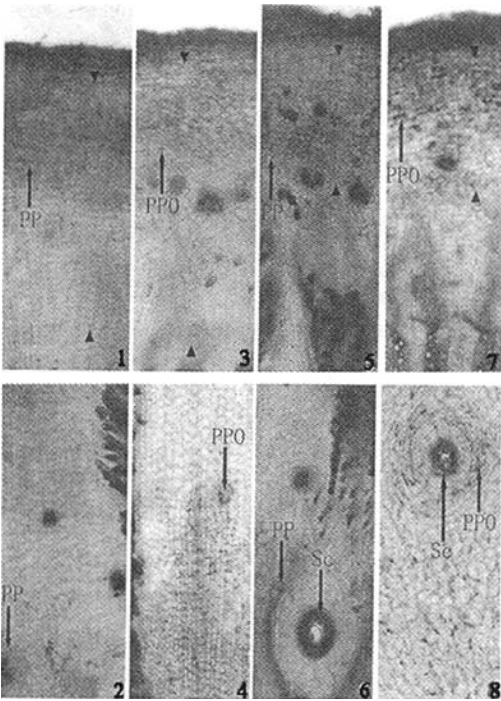
由于多酚氧化酶与多酚物质分布相似^[12],本研究也对多酚氧化酶进行定位,以间接反应多酚类化合物的分布情况。通过对多酚氧化酶的组化反应结果可知,多酚氧化酶和多酚类化合物在紫锥菊根内的分布情况相吻合,主要分布于皮层、韧皮薄壁细胞、韧皮射线(图 2-3)和木射线(图 2-4)中。

2.2 不同年生紫锥菊根状茎的解剖结构及菊苣酸的分布特点:根状茎初生结构横切面由表皮、皮层、维管组织和髓构成。表皮由一层排列整齐的细胞构

表 1 不同年生紫锥菊根各组织结构的组成、排列及比例
Table 1 Composition, arrangement, and proportion of various histological structures
in root of *E. purpurea* at different ages

生长年限	根的直径* / cm	周皮	次生维管组织			
			韧皮部/木质部宽度	次生韧皮部	维管形成层	次生木质部
半年生	0.76	具有 1~2 层木栓细胞	0.67 : 1	韧皮薄壁细胞和韧皮射线发达,内有分泌腔分布	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
一年生	1.36	具有 1~2 层木栓细胞	0.64 : 1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
两年生	1.67	具有 2~3 层木栓细胞	0.57 : 1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
三年生	2.12	具有 3~4 层木栓细胞	0.50 : 1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布

* 根的直径为随机 10 个植株的平均值(下同)
* Diameter of root from mean value of ten plants taken at random (following Table is same)



Sc-分泌腔 PP-多酚类化合物 Pd-周皮 PPO-多酚氧化酶 Vc-维管形成层 1, 2, 5, 6-Hoepfner-Vorsatz 反应显示多酚类化合物在根和根状茎横切面的分布 3, 4, 7, 8-组织化学方法显示多酚氧化酶在根和根状茎横切面的分布 1-根皮层和韧皮部(两箭头之间)多酚类化合物的分布 2-根木射线多酚类化合物的分布 3-根皮层和韧皮部(两箭头之间)多酚氧化酶的分布 4-根木射线多酚氧化酶的分布 5-根状茎皮层(两箭头之间)和韧皮部多酚类化合物的分布 6-根状茎中分泌腔周围多酚类化合物的分布 7-根状茎皮层(两箭头之间)和韧皮部多酚氧化酶的分布 8-根状茎分泌腔周围的多酚氧化酶的分布
Sc-secretory cavity PP-polyphenol Pd-periderm PPO-polyphenol oxidase Vc-vascular cambium 1, 2, 5, 6-showing distribution of polyphenol on cross section of root and rhizome of *E. purpurea* by Hoepfner-Vorsatz reaction 3, 4, 7, 8-showing distribution of polyphenol oxidase on cross section of root and rhizome of *E. purpurea* by histochemical reaction 1-showing distribution of polyphenol in cortex and phloem (between two arrow heads) of root 2-showing distribution of polyphenol in xylem ray of root 3-showing distribution of polyphenol oxidase in cortex and phloem (between two arrow heads) of root 4-showing distribution of polyphenol oxidase in xylem ray of root 5-showing distribution of polyphenol oxidase in cortex (between two arrow heads) and phloem of rhizome 6-showing distribution of polyphenol around secretory cavity of rhizome 7-showing distribution of polyphenol oxidase in cortex (between two arrow heads) and phloem of rhizome 8-showing distribution of polyphenol oxidase around secretory cavity of rhizome

图 2 紫锥菊根和根状茎的多酚和多酚氧化酶的组化定位

Fig. 2 Histochemical localization of polyphenol and polyphenol oxidase in root and rhizome of *E. purpurea*

成,外被角质层。皮层由多层薄壁细胞构成,细胞液泡化,近圆形或椭圆形,胞间隙明显。维管组织由初生木质部和初生韧皮部组成,相对排列,中间保留有薄壁细胞。维管组织被宽阔髓射线分割成 4 束。根状茎横切中间部分为薄壁细胞占据,即髓。
通过一年生紫锥菊根状茎的横切面观察,由外至内为周皮、皮层、次生韧皮部、维管形成层、次生木质部、初生木质部、髓(图 1-5)。周皮由木栓层、木栓形成层和栓内层组成,其中木栓层 2~3 层,木栓细胞呈切向引长,排列紧密;木栓形成层和栓内层各 1~2 层,细胞也呈切向延长。皮层由多层薄壁细胞

组成,有裂生分泌腔分布,胞间隙明显。次生韧皮部由筛管、伴胞、韧皮薄壁细胞和韧皮射线组成,韧皮薄壁细胞和韧皮射线发达,筛管和伴胞成群散生,韧皮射线内分布有次生分泌腔。维管形成层较明显,由多层切向扁平的细胞组成。次生木质部由导管、木薄壁细胞、木射线和木纤维组成,导管单生或 3~5 个聚群,呈辐射状排列于次生木质部,木薄壁细胞较多,木纤维呈不规则带状分布于导管之间。木射线发达,约占木质部面积的 60%。木射线通过形成层与韧皮射线相连,共同组成维管射线,次生分泌腔分布其中。髓占根状茎横切面的 1/3~1/2,主要由髓薄

壁细胞组成,胞间隙明显,在髓中也分布有分泌腔。

两年生(未提供照片)和三年生(图 1-6)紫锥菊根状茎的结构与一年生相似,也是由周皮、皮层、次

生维管组织、初生木质部和髓构成,但各部分细胞数量和面积进一步增加,不同年生紫锥菊根状茎各组织结构的组成、排列及比例见表 2。

表 2 不同年生紫锥菊根状茎各组织结构的组成、排列及比例

Table 2 Composition, arrangement, and proportion of various histological structures in rhizome of *E. purpurea* at different ages

生长年限	根状茎的直径*/cm	周皮	次生维管组织			
			韧皮部/木质部宽度	次生韧皮部	维管形成层	次生木质部
半年生	0.69	具有 1~2 层木栓细胞	1:1	韧皮薄壁细胞和韧皮射线发达,内有分泌腔的分布	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
一年生	1.38	具有 2~3 层木栓细胞	0.6:1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
两年生	1.70	具有 3~4 层木栓细胞	0.5:1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布
三年生	2.14	具有 4~5 层木栓细胞	0.3:1	韧皮部面积增大,但与木质部的比值减小	呈环状排列	导管单个散生或 3~5 个成群散布

本研究也对多酚类化合物在根状茎中的分布情况做了组织化学定位,通过 Hoepfner-Vorsatz 反应结果可知,在紫锥菊根状茎中存在大量的多酚类化合物,特别是皮层、韧皮薄壁细胞、维管射线和髓中量较多(图 2-5、6),且各年生根状茎中多酚类化合物分布情况大致相似。

多酚氧化酶和多酚类物质在紫锥菊根状茎内的分布情况也相吻合,主要分布于皮层、韧皮薄壁细胞、维管射线和髓中(图 2-7、8),尤其是分泌腔周围的薄壁组织中含有较多的多酚类化合物和多酚氧化酶(图 2-6、8)。

3 讨论

3.1 不同年生紫锥菊根的结构变化及其与多酚类化合物积累的关系:紫锥菊根的初生结构类似一般多年生草本植物^[14],由于紫锥菊根的木栓形成层起源于表皮下的皮层细胞,所以紫锥菊根的次生结构中保留有皮层,一年生紫锥菊根的横切面由外到内由周皮、皮层、次生维管组织和初生木质部组成。随着生长年限的增加,紫锥菊根不断地增粗,主要是因为次生维管组织细胞的增加。而且维管形成层向内分化的次生木质部细胞多于向外分化的次生韧皮部细胞,所以次生韧皮部与次生木质部的比值随着生长年限的增加而减少,由半年生时的 0.67:1 降低到三年生时的 0.5:1。

紫锥菊为多年生草本植物,其根为主要的药用部位。通过对多酚类化合物组织化学定位研究,证明其主要分布于皮层、韧皮薄壁细胞和韧皮射线中。在根的发育过程中,其次生韧皮部与次生木质部的比例逐年减小,虽然木射线在木质部占比例较大,但木射线含有的多酚类化合物量较少,大部分多酚类化

合物分布于根皮(皮层和韧皮部)中。所以,整体来说,随着根的发育,导致有效成分增长相对变慢,尤其是单位总生物产量中有效成分的量反而降低。根据成分测定分析^[15],三年生紫锥菊根中有效成分的量最高。从根的结构分析,三年生根次生结构已相当发达,次生韧皮部与次生木质部的比值迅速减少,如果继续延长生长年限,有效成分增长不多,反而会因生产周期变长使生产成本倍增。因此,生产上一般以三年生的紫锥菊根作为商品药材是较为合理的。同时,根据多酚类化合物主要分布于皮层、韧皮薄壁细胞和韧皮射线中的特点,应选择根皮(皮层和韧皮部)厚、木心细的药材作为上品或优良品种的选育指标。另外,紫锥菊根木质部中木射线占有较大比例,且含有多酚类化合物,因此建议以整根入药,不用“去心”。

3.2 不同年生紫锥菊根状茎的结构变化及其与多酚类化合物积累的关系:紫锥菊根状茎的结构也类似一般多年生草本植物^[14],由外到内由周皮、皮层、次生维管组织、初生木质部和髓组成。随着生长年限的增加,紫锥菊根状茎不断地增粗,主要是因为次生维管组织细胞的增加。而且维管形成层向内分化的次生木质部细胞多于向外分化的次生韧皮部细胞,所以次生韧皮部与次生木质部的比值随着生长年限的增加而减少,由半年生的 1:1 降低到三年生时的 0.3:1。

紫锥菊的根状茎也为药用部位之一,多酚类化合物主要分布于皮层、次生韧皮薄壁细胞、维管射线和髓中。因此,生产上应选择皮厚(皮层和韧皮部)、髓心占比重较大、木质部相对较小者作为优良品种推广。另外,在皮层和髓中有丰富的分泌腔,其周围

薄壁细胞含有大量多酚类化合物。因此,根据多酚类化合物的分布与分泌腔特有位置关系,生产上可以把分泌腔的分布密度做为多酚类物质含量多少的一个形态学指标,即分泌腔较多的根状茎应该含有较多的多酚类化合物。这样的药材品质较好,可认为是上品。同时,根据此特点在进行组织培养快速育苗过程中,可以选择这些含多酚类化合物较多的薄壁组织细胞,培养和筛选含有有效成分较高的植株或者细胞株。

另外,根据观察比较,虽然根和根状茎中均具有大量分泌腔,但在根中分泌腔周围的薄壁组织细胞中多酚类化合物的量较少,加之,在根状茎中多酚类化合物合成部位大于根中(图1-1、5),而且根状茎中烷基酰胺的量明显大于根中^[16]。因此,生产上可以将具有发达根状茎的植株作为优良单株选育的形态指标。

References:

- [1] Wu L, Bae J, Kraus G, et al. Diacetylenic isobutylamides of *Echinacea*: synthesis and natural distribution [J]. *Phytochemistry*, 2004, 65(9): 2477-2484.
- [2] Kindscher, K. Ethnobotany of purple coneflower (*Echinacea angustifolia*, Asteraceae) and other *Echinacea* species [J]. *Econ Bot*, 1989, 43: 498-507.
- [3] Reith F J. Pharmaceuticals containing lactic acid derivatives and *Echinacea* [J]. *Ger Offen*, 1978, 2: 721-731.
- [4] Wacker A, Hilbig W. Virus inhibition by *Echinacea purpurea* [J]. *Planta Med*, 1978, 33: 89-102.
- [5] Perry N B, Burgess E J, Glennie V L. *Echinacea* standardization: analytical methods for phenolic compounds and typical levels in medicinal species [J]. *J Agric Food Chem*, 2001, 49(4): 1702-1706.
- [6] Molgaard P, Johnsen S, Christensen P, et al. HPLC Method validated for the simultaneous analysis of cichoric acid and alkamides in *Echinacea purpurea* plants and products [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(24): 6922-6933.
- [7] Tong W, Zhang J T, Liu W Z, et al. Pharmacognostical studies on identification of *Echinacea pallida* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2002, 33(3): 266-269.
- [8] Barrett B. Medicinal properties of *Echinacea*: a critical review [J]. *Phytomedicine*, 2003, 10(1): 66-86.
- [9] Sloley B D, Urichuk L J, Tywin C, et al. Comparison of chemical components and antioxidants capacity of different *Echinacea* species [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2001, 53(6): 849-857.
- [10] Yao H, Wu H, Feng C H, et al. Relation between root structure and accumulation of anthraquinones of *Morinda officinalis* [J]. *Acta Biol Expt Sin* (实验生物学报), 2004, 37(2): 96-102.
- [11] Reeve R M. Histochemical tests for polyphenols in plant tissues [J]. *Stain Technol*, 1951, 26(2): 91-96.
- [12] Zhang S H, Qiu X Q, Huang Z L, et al. The anatomy of stem and histochemistry of phenol distribution in difficult-and easy-to-root *Eucalyptus* species [J]. *J South China Agric Univ* (华南农业大学学报), 2001, 22(3): 40-46.
- [13] Wang H Z, Liu H L. Histochemical research of polyphenol oxidase (PPO) in seed coat and the relationship between PPO and seed color in rape seed [J]. *Chin J Oil Crop Sci* (中国油料作物学报), 1991 (1): 30-33.
- [14] Esau K. *Anatomy of Seed Plants* [M]. New York: John Wiley & Sons, 1977.
- [15] Gray D E, Pallardy S G, Garrett H E, et al. Acute drought stress and plant age effects on alkamide and phenolic acid content in purple coneflower roots [J]. *Planta Med*, 2003, 69(1): 50-55.
- [16] Perry N B, Van Klink J W, Burgess E J, et al. Alkylamide levels in *Echinacea purpurea* (L.) Moench; a rapid analytical method revealing differences among roots, rhizomes, stems, leaves and flowers [J]. *Planta Med*, 1997, 63: 58-62.

花叶开唇兰种子非共生萌发的研究

周伟香^{1,2}, 龚宁^{1,2*}, 李光^{1,2}, 郑继军^{1,2}

(1. 贵州师范大学生物技术与工程学院, 贵州 贵阳 550001; 2. 贵州省山地环境信息与生态环境重点实验室, 贵州 贵阳 550001)

摘要:目的 筛选花叶开唇兰种子非共生萌发最佳培养基。方法 比较不同的基本培养基、蔗糖质量浓度、植物生长物质和培养方式对种子萌发的影响, 观察并统计种子萌发率。结果 花叶开唇兰种子萌发最适培养基为 1/4MS+NAA 0.1~0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L, 液体悬浮培养。结论 首次报道了花叶开唇兰种子萌发最佳培养基, 为花叶开唇兰快速繁殖提供技术参考。

关键词:花叶开唇兰; 种子; 非共生萌发

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2007)04-0610-04

收稿日期: 2006-07-10

基金项目: 贵州省高校发展专项资金自然科学类重点项目 (黔教科 2004110); 贵州省科学技术基金项目 [黔科合 J 字 (2005) 2040 号]。

作者简介: 周伟香 (1978—), 女, 浙江省松阳县人, 在读研究生, 主要从事药用植物的研究工作。

Tel: (0851) 6701434 E-mail: zhouweixiang@163.com

* 通讯作者 龚宁 E-mail: gn2033@126.com

万方数据