

商陆营养器官中蛋白质量与生长龄动态变化关系研究

王桂芹, 王玉良, 代光照

(安徽科技学院 生物系, 安徽 凤阳 233100)

摘要:目的 为商陆的开发和利用提供依据。方法 利用光学显微技术、组织化学定位方法对美洲商陆 *Phytolacca decandra* 不同生长龄的根、茎和叶进行解剖结构研究。结果 除幼根外, 不同生长龄的营养器官中均有活性蛋白质分布, 薄壁细胞是活性蛋白质分布的场所。结论 幼茎中蛋白质的量最为丰富, 颗粒也较大, 与老叶、幼叶、老茎和老根中蛋白质的数量及大小差异极显著; 二年生的贮藏根中不含蛋白质, 额外形成层中几乎不含蛋白质。

关键词: 商陆; 营养器官; 蛋白质; 不同生长龄; 解剖结构; 组织化学定位

中图分类号: R282.7

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)09-1396-04

Relationship of dynamic changes between protein contents in vegetative organs
and growth years of *Phytolacca acinosa*

WANG Gui-qin, WANG Yu-liang, DAI Guang-zhao

(Department of Biology, Anhui College of Science and Technology, Fengyang 233100, China)

Abstract: Objective To provide basis for identification and utilization of *Phytolacca decandra*.

Methods Anatomic structures of different-aged storing roots, stems and leaves of *P. decandra* were studied by light microscope and histochemical localization. **Results** Different-aged vegetative organs have active proteins except the young roots, and the protein used to exist in parenchyma cells. **Conclusion** Protein content in young stems is the highest and the grain size is bigger than the other organs, and the protein content and grain size in young stems have notable differences from that in the old leaves, young leaves, old stems and roots. No protein has been found in two-year-old storing roots and extra cambium.

Key words: *Phytolacca decandra* L.; vegetative organ; proteins; different growth years; anatomic structure; histochemical location

商陆是一种常见的药用植物。我国有4种: 商陆(野萝卜) *Phytolacca acinosa* Roxb.、美洲商陆(垂序商陆、十蕊商陆) *P. decandra* L.、多雄蕊商陆 *P. polyandra* Batalin 及日本商陆 *P. japonica* Makino, 以美洲商陆分布广泛、资源丰富^[1,2]。长期以来, 商陆主根是传统的泻下逐水药, 具有逐水消肿、解毒散结、利尿等功效, 用于治疗水肿、胀满、痛肿等症^[3,4]。现代药理研究表明, 商陆营养器官中含有商陆皂苷和商陆多糖, 二者均有较强的免疫活性作用, 商陆多糖对免疫功能有促进作用, 以50 mg/kg 商陆多糖对小鼠灌胃, 能促进腹腔巨噬细胞吞噬功能, 并刺激小鼠脾淋巴细胞增殖及诱导脾细胞产生, 还能诱导小鼠腹腔巨噬细胞产生白介素-1 (IL-1)^[5]。国外近年来药理和临床实验表明, 从商陆叶片与种子中可以提取一种抗病毒蛋白, 这种抗病

毒蛋白通过抑制人体免疫缺损病毒(即艾滋病病毒)的复制可达到治疗艾滋病的目的。美国 and 南非已经用商陆抗病毒蛋白为原料制成了抗艾滋病病毒的新药, 其疗效比目前使用的药物高100~1 000倍^[6~8], 可见商陆具有良好的开发前景。目前国内外对商陆的药用价值以及药理作用都有过研究报道, 但对商陆进行解剖结构的比较研究未见报道, 研究商陆根、茎、叶中活性蛋白质的量与不同生长龄的动态变化关系, 对进一步研究开发商陆植物资源在抗病毒领域的潜力具有一定的理论和实践意义。

1 材料与方法

1.1 材料: 研究材料是美洲商陆的幼茎和老茎, 幼叶和老叶, 二年生、三年生、四年生和六年生根。实验前采自生长在校园中的美洲商陆。

1.2 方法

收稿日期: 2006-12-20

基金项目: 安徽科技学院引进人才专项资助基金(ZRC200436)

作者简介: 王桂芹(1954—), 女, 内蒙古赤峰人, 教授, 学士, 从事结构植物学研究。 Tel: (0550)6734158 E-mail: wqg2116@sina.com

1.2.1 醋酸铅沉淀处理:截取茎、叶的适当部位,贮藏根截取离茎最近的部分,醋酸铅浸泡24 h,以沉淀商陆植物体内的活性蛋白质。然后转移至FAA固定液固定,并用FAA-甘油(1:1)的软化剂对贮藏根进行软化处理。

1.2.2 切片:采用石蜡切片法制片,切片厚度为12 μm ,番红-固绿双重染色,实验数据均为12个测量值的平均值。

1.3 数据处理:随机观察12个视野,记录蛋白质颗粒数目。同时用测微尺随机测量12个数据,记录蛋白质颗粒的长度,并通过新复极差(LSR)法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 叶横切面结构与蛋白质分布及其量的变化:叶的上表皮细胞近乎椭圆形,较大,存在稀疏的表皮毛,上表皮中气孔量少;组成下表皮的细胞小,呈方形或长方形,下表皮中气孔较多;叶肉中栅栏组织由1~2层细胞构成,排列比较疏松,具有发达的细胞间隙;海绵组织中细胞呈不规则形,排列疏松,细胞间隙丰富。叶肉细胞中含有针状晶体,叶绿体的量较高,叶中的维管束构造与其他双子叶植物相同(图1-1~4)。被醋酸铅沉淀的蛋白质呈不规则型,蛋白质主要分布在叶肉细胞、韧皮部等薄壁细胞中,表皮细胞中也有零星分布。

幼叶横切面叶肉中各种组织分化还不完全,整个叶面宽度较狭窄,叶肉细胞中蛋白质颗粒量较少,平均每个视野仅为0.83个(表1),且蛋白质颗粒也较小,平均个体长度为13.13 μm (表2)。

老叶中各种组织分化完全,蛋白质量较丰富。平均每个视野为2.92个(表1),蛋白质颗粒也较大,平均个体长度为21.99 μm (表2)。

2.2 茎横切面结构与蛋白质分布及其量变化:商陆幼茎的横切面呈圆形,具有发达的皮层和髓部。在皮层、髓和髓射线的细胞中有蛋白质颗粒分布(图1-5),皮层中的蛋白质颗粒大于髓部。幼茎中蛋白质的颗粒数为平均每视野5.33个(表1),平均个体长度为30.25 μm (表2)。

老茎的横切面呈不规则形,具有发达的髓腔和次生木质部,次生韧皮部较窄。蛋白质颗粒仅分布于次生韧皮部的薄壁细胞中(图1-6),平均每个视野为1.75个(表1),蛋白质颗粒较小,平均长度为9.69 μm (表2)。

2.3 根横切面结构与蛋白质的关系

2.3.1 商陆二年生根横切面结构与蛋白质分布:商

陆二年生根的横切面结构由外及里依次为周皮、次生维管组织。构成周皮的木栓很发达,由4~6层细胞构成,细胞较小,具有两种类型:不规则形和长方形。栓内层较窄,由2~4层细胞构成,次生维管组织中,次生韧皮部的量较大,次生木质部所占比例较小,仅为根横切面的1/3,主要由导管、管胞、木纤维和少量薄壁细胞组成。各种组织的薄壁细胞中均不存在蛋白质(图1-1~7)。

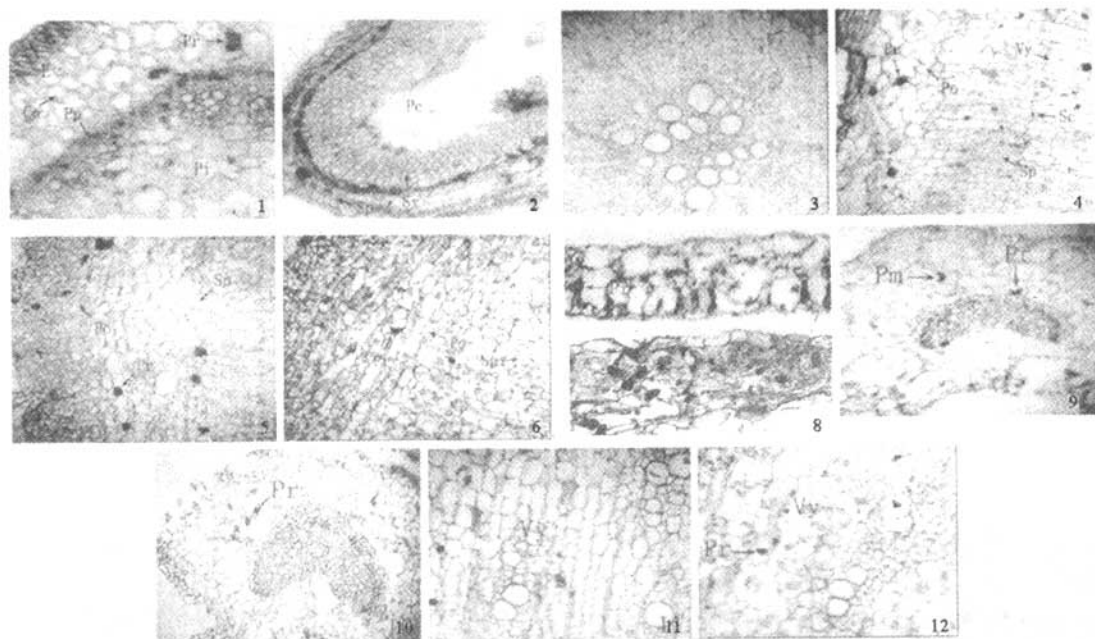
2.3.2 三年生商陆根的横切面结构与蛋白质分布及其量:三年生商陆根的横切面与二年生的次生构造基本相同,不同点有:构成周皮的栓内层厚度明显增加,由8~10层细胞组成;出现了三生结构,额外形成层产生于次生韧皮部外围的薄壁细胞,额外形成层向内分裂形成大量薄壁组织。少数薄壁细胞中有了少量淀粉粒和蛋白质的形成(图1-1~8),其中蛋白质平均每视野为1个(表1),平均长度是12.84 μm (表2)。

2.3.3 四年生商陆根的横切面结构与蛋白质分布及其量:具有较厚的栓内层,由22~23层细胞构成(图1-1~9),细胞的直径较小,具有2轮额外形成层,三生薄壁组织更为发达,占根横切面的4/5,三生结构中维管束呈环排列,量十分稀少(图1-1~10)。细胞中含有丰富的淀粉粒和蛋白质,平均每视野蛋白质的量为1.33个(表1),蛋白质个体较大,平均长度为19.42 μm (表2)。

2.3.4 六年生根的横切面的结构及蛋白质分布及其量:商陆六年生根横切面具有3轮额外形成层。三生构造中维管束在横切面的外方仍是呈轮排列,但近中央部位已分化形成了十分丰富的木质部,三生薄壁组织的量仅占根横切面的3/5(图1-11,12)。薄壁细胞中蛋白质数量有所增加,平均每视野蛋白质量为2.17个(表1),但其大小均有所下降,平均长度为15.41 μm (表2)。

2.4 蛋白质在商陆不同器官(不同生长龄)内的分布和量的变化规律及差异显著性分析:结果说明,商陆的营养器官中除二年生根外,不同器官及不同生长龄的同一器官内均有蛋白质的存在,同时蛋白质均分布在各种营养器官的薄壁组织的细胞中。在贮藏根中蛋白质分布在三生薄壁组织的细胞中,而宽大的形成层中很少有蛋白质的分布。

蛋白质在商陆植物体内量的变化规律是:蛋白质在幼芽中量最为丰富,与老茎、老叶、幼叶及不同生长龄的贮藏根比较差异极显著($P < 0.01$);在不同生长龄(二年生除外)的贮藏根中蛋白质量变化差



E-表皮 Co-皮层 Pp-初生韧皮部 Pi-髓 Pc-髓腔 Po-栓内层 Pr-蛋白质 Pm-薄壁组织

Sx-次生木质部 Sp-次生韧皮部 Vy-微管射线 Sc-额外形成层

1-商陆幼叶横切面结构, 示蛋白质 2-商陆老叶横切面结构, 示蛋白质 3-商陆幼叶横切面结构, 示蛋白质 4-商陆老叶横切面结构, 示蛋白质 5-商陆幼茎横切面结构, 示表皮、皮层、韧皮部、髓、蛋白质 6-商陆老茎横切面结构, 示次生韧皮部、次生木质部、髓腔 7-商陆二年生根横切面结构 8-商陆三年生根横切面结构, 示栓内层、微管射线、次生韧皮部、额外形成层、蛋白质 9-商陆四年生根横切面结构, 示栓内层、次生韧皮部、蛋白质 10-商陆四年生根横切面结构, 示微管射线 11-商陆六年生根横切面结构, 示栓内层、次生韧皮部、蛋白质 12-商陆六年生根横切面结构, 示微管射线、蛋白质

E-epidermis Co-cortex Pp-primary phloem Pi-pith Pc-pith cavity Po-phelloderm Pr-protein Pm-parenchyma

Sx-secondary xylem Sp-secondary phloem Vy-vascular ray Sc-supernumerary cambium

1-transvers view of young leaf in *P. decandra*, showing protein 2-transvers view of old leaf in *P. decandra*, showing protein 3-transvers view of old leaf in *P. decandra*, showing protein, parenchyma 4-transvers view of old leaf in *P. decandra*, showing protein 5-transvers view of young stem in *P. decandra*, showing epidermis, cortex, primary phloem, pith, and protein 6-transvers view of old stem in *P. decandra*, showing secondary phloem, secondary xylem, and pith cavity 7-transvers view of two-year-root in *P. decandra* 8-transvers view of three-year-root in *P. decandra*, showing phelloderm, vascular ray, secondary phloem, supernumerary cambium, and protein 9-transvers view of four-year-root in *P. decandra*, showing phelloderm, prtein, and secondary phloem 10-transvers view of old stem in *P. decandra*, showing vascular ray 11-transvers view of six-year-root in *P. decandra*, showing phelloderm, protein, and secondary phloem 12-transvers view of old stem in *P. decandra*, showing vascular ray and protein

图1 美洲商陆横切面

Fig. 1 Cross sections of *P. decandra*

异不显著;蛋白质在幼叶内量最少,与老叶比较差异极显著;幼叶与不同生长龄的贮藏根及老茎比较差异不显著(表1)。蛋白质在幼芽中的量较老茎多,原因是商陆属于多年生植物,贮藏根中营养储藏丰富,为幼茎生长提供了充足的养分,幼茎长势好、较粗壮,粗壮的幼茎中富含薄壁组织(髓部存在),而老茎中薄壁组织的量较少,髓部的薄壁细胞已破碎形成髓腔。蛋白质在老叶中的量较幼叶多也与叶中薄壁组织的量有关。从而证明,商陆植物体地上部分蛋白质的量与薄壁组织相关。地下部分蛋白质的量较少

的原因可能与化学防御有关。商陆幼茎中蛋白质颗粒的平均长度最大。商陆幼茎与老茎呈极显著差异($P < 0.01$)。幼茎与六年生根、幼叶,三年生根有显著差异($P < 0.05$)。六年生与四年生和三年生根中蛋白质颗粒大小比较差异无显著性(表2)。

3 结论与讨论

3.1 对商陆植物的有效利用:由于商陆营养器官中蛋白质的量是有变化的,因而如果以获取抗病毒蛋白质为目的,则应考虑合理利用商陆的营养器官问题,传统用药仅用其根,地上部位通常则被丢弃,对

表1 蛋白质质量的差异显著性(LSR)

Table 1 Notable differences of protein content (LSR)

处 理	蛋白质颗粒数	* $P < 0.05$	** $P < 0.01$
幼茎	5.33±0.74	a	A
老叶	2.92±0.75	b	B
六年生根	2.17±0.90	bc	BC
老茎	1.75±1.08	bc	BC
四年生根	1.33±0.97	c	BC
三年生根	1.00±0.10	c	BC
幼叶	0.83±0.46	c	C
二年生根	0	c	C

表2 蛋白质颗粒长度的差异显著性(LSR)

Table 2 Notable differences of protein particle length (LSR)

处 理	蛋白质平均长度/ μm	* $P < 0.05$	** $P < 0.01$
幼茎	30.25±1.00	a	A
老叶	21.99±1.34	ab	A
四年生根	19.42±1.84	ab	AB
六年生根	15.41±1.42	b	AB
幼叶	13.13±1.12	bc	AB
三年生根	12.84±1.96	bc	AB
老茎	9.69±1.70	bc	B
二年生根	0	c	B

资源而言无疑是一种浪费。根据在商陆的营养器官幼茎中所发现的蛋白质的量最为丰富这一实验结果,可以采取在一年之内收获2~3次幼茎以获取较多的商陆活性蛋白质,同时也可以从老叶、老根和老茎中获取。

3.2 商陆植物体内蛋白质分布与化学防御的关系:植物体在长期适应环境的进化过程中形成了复杂的化学防御体系以避免病、虫害的发生。化学防御的本质是在细胞内积累或在受到天敌伤害和病原体入侵时合成某些防御性化合物^[9]。根据植物化学性质,其防御化合物分别为:鞣质、生物碱、酚类化合物、植物激素、蛋白抑制剂和挥发性化合物等^[10]。已证明商陆植物体内的活性蛋白质不仅是一种广谱的抗病毒

蛋白^[11],还是蛋白质抑制剂^[12]。活性蛋白质在商陆植物体内总的分布规律(除老茎和幼叶外)是:地上部分高于地下部分,幼茎内的量最丰富。幼茎较粗,又嫩又脆,容易遭受病虫害的侵袭,而实际上商陆植物体迄今为止未发现任何比较严重的病虫害的发生,由此推测可能与其化学防御机制有关,活性蛋白质可能是其体内主要的防御性化合物。

References:

- [1] Flora of Anhui Compilation Group. *Flora of Anhui* (安徽植物志 第二卷) [M]. (Vol. 1) Beijing, China Expectation Press, 1986.
- [2] Editorial Office of National Chinese Herbal Medicine Collection. *Collection of National Chinese Herbal Medicine* (全国中草药汇编) [M]. Beijing, People's Medical Publishing House, 1975.
- [3] Yuan S T, Wang Z J, Cheng M. The study progress on Chinese Herb *Phytolacca acinosa* L. [J]. *J Chin Med Mater* (中草药), 1991, 14(1): 46-48.
- [4] Yang K, Liu J S. The study progress on Chinese Herb *Phytolacca acinosa* L. [J]. *China Med Abstr: Oncology* (中国医学文摘·肿瘤学), 2003, 17(2): 186-188.
- [5] Wang H B. Effect of *P. acinosa* polysaccharides on immunity function of rat [J]. *Chin J Pharm Toxicol* (中国药理学与毒理学杂志), 1993(1): 52-54.
- [6] Lin A Y, Wang Q Y. Pokeweed antiviral protein and its therapeutic application to AIDS [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(9): 3-6.
- [7] Fu M J, Wu Z J, Lin Q Y, et al. The study progress on antiviral protein extracted from pokeweed [J]. *Lett Biotechnol* (生物技术通讯), 2002, 13(1): 66-71.
- [8] Zarling J M, Moran P A, Haffaro O, et al. Inhibition of HIV replication by pokeweed antiviral protein targeted to CD4⁺ cells by monoclonal antibodies [J]. *Nature*, 1990, 347 (6288): 92-95.
- [9] Shen Z G, Li J Y, Hu Z H. Distribution of anthraquinones in leaves of two *Aloe* species and their defence strategy [J]. *Chin J Applied Ecol* (应用生态学报), 2002, 13 (11B): 1381-1384.
- [10] Kang L. The chemical defense of plants to phytophagous insects [J]. *Chin Bull Biol* (植物学通报), 1995, 12(4): 22-27.
- [11] Zhang H Y, Tian Y C, Zhou Y H, et al. Antiviral transgenic plants was obtained by introducing cDNA of pokeweed antiviral protein (PAP) into *Brassica napus* L. [J]. *Chin Sci Bull* (科学通报), 1998, 43(23): 2534-2537.
- [12] Bolognesi A, Barbieri L, Abbondanza, et al. Purification and properties of new ribosome inactivating proteins with RNA N-glycosidase activity [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1990, 1087: 293.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975年、1976年、1979年、1985-1994年(80元/年),1995-1997年(110元/年)、1998年(120元/年)、1999年(135元/年)、2000年(180元/年)、2001-2003年(200元/年)、2004年(220元/年)、2005年(260元/年)、2006年(280元/年)。1996年增刊(50元)、1997年增刊(45元)、1998年增刊(55元)、1999年增刊(70元)、2000年增刊(70元)、2001年增刊(70元)、2002年增刊(65元)、2003年增刊(65元)、2004年增刊(65元)、2005年增刊(65元)、2006年增刊(65元)。欢迎订购。订购者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。
电话:(022) 27474913 23006821 传真:(022) 23006821 E-mail: zcyzjb@tjpr.com