·方药研究·

延胡索块茎生长发育过程观察

胡 珂,韦佳玉

(安徽中医药大学药学院 现代中药安徽省重点实验室,安徽 合肥 230031)

[**摘要**]**目的** 观察延胡索不同生长期新生块茎和母块茎的特点。**方法** 用定点连续观察和石蜡切片法,跟踪观察延胡索块茎形成过程及新生块茎、母块茎的生长变化。**结果** 由地下茎产生的新生块茎生长起点在母株的茎节处,其形成需要某些必要的条件;母块茎退化成更新块茎的周皮,其脱落需要几个月的时间;栽培品产生双生及多生块茎较野生品常见;块茎中含有荧光生物碱。**结论** 新生块茎的形成方式具多样性;退化的周皮对更新块茎具保护作用;栽培品无性繁殖能力较强;荧光生物碱在延胡索成熟块茎中的分布广泛,没有聚集性。

[**关键词**]延胡索;生长特点;新生块茎;母块茎

[**中图分类号**]R282 [**文献标志码**]A [DOI]10.3969/j.issn.2095-7246.2014.04.026

常用中药延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 为多年生植物,干燥的块茎入药,有活血、止痛作用[1]。笔者通过对安徽省合肥市大蜀山野生延胡索块茎以及安徽中医药大学药用植物园不同生长时期的栽培品块茎进行跟踪观察,探讨新生块茎和母块茎生长过程中的特点,研究延胡索块茎的形成方式,以期为今后培育延胡索种块茎及提高其繁殖系数提供理论数据。

1 材料

1.1 材料 分别于2010年10月至2012年4月份采集安徽省合肥市大蜀山野生延胡索块茎,以及安徽中医药大学药用植物园栽培的延胡索块茎,经王德群教授鉴定为罂粟科植物延胡索 *Corydalis yanhusuo* W. T. Wang 的块茎。

1.2 仪器 SL-58型数码相机:普立尔科技有限公司;JY5002型电子天平:上海良平仪器仪表有限公司;奥林巴斯光学显微镜:上海普赫光电科技有限公司;XSL-G显微摄像仪:上海长方光学仪器有限公司;生物组织石蜡切片机:上海创迅医疗器械有限公司;Leica CM1900型冰冻切片机:Leica Microsystems Nussloch Gmbh公司。

1.3 试剂 FAA固定液(38%甲醛5 ml,冰醋酸5 ml,70%乙醇90 ml):上海谱振生物科技有限公司;无水乙醇(分析纯):上海试剂一厂;二甲苯(分析纯):上海谱振生物科技有限公司;番红:南京森贝伽生物科技公司;固绿:南京森贝伽生物科技公司;切片石蜡:上海懿洋仪器有限公司。

2 方法

2.1 由地下茎产生的新生块茎生长及形态观察 在每年的2—5月份新生块茎普遍产生的时期,每10 d

基金项目:安徽高校省级自然科学研究项目(KJ 2009 B022);安徽中医药大学自然科学研究项目(2013zr013)

作者简介:胡珂(1964-),女,硕士,副教授

group ($P<0.05$), and it had a significantly higher AFP level ($P<0.05$) and a significantly lower expressionof HBx in xenograft tumor ($P<0.05$), as compared with the NS group. Among the mice transplanted with the same HepG2 cells, the AEP group had the lowest expression of VEGFR3, but there was no significant difference in VEGFR3 expression between the AEP group and CTX group ($P>0.05$); the AEP group and CTX group had significantly lower VEGFR-3 expression levels than the NS group ($P<0.05$). Among the mice receiving the same intervention, those transplanted with HepG2-HBx cells and HepG2-CAT cells had significantly lower expression of VEGFR3 in xenograft tumor than those transplanted with HepG2-VEGFR3 cells ($P<0.01$). **Conclusion** AEP can directly suppress the protein expression of HBx and VEGFR3 in tumor tissues or indirectly suppress the protein expression of VEGFR3 by suppressing HBx expression, thus inhibiting the growth of hepatoma xenograft.

[**Key words**] *Phyllanthus urinaria* L.; hepatitis B virus x gene; vascular endothelial growth factor receptor 3; liver cancer

观察 1 次在不同地点挖取的多个植株，并于 2011 年 3 月 23 日、4 月 9 日、4 月 23 日分别从安徽省合肥市大蜀山和安徽中医药大学药用植物园采集新生块茎，切去连于块茎上下的原植物地上茎，用 FAA 固定保存 24 h。按常规法制作石蜡切片[2]，用奥林巴斯光学显微镜对新生块茎生长过程中内部结构的变化进行观察并摄影。

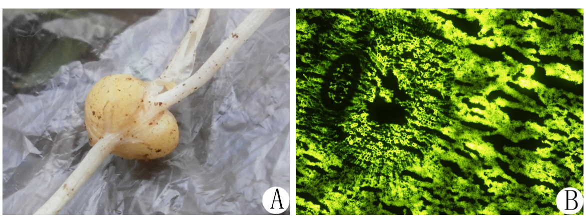
2.2　生长过程中母块茎形态变化的观察研究　从延胡索生长的萌芽期开始经过生长期、休眠期至第 2 年萌动时挖取母块茎进行跟踪观察。从萌芽期到地上部分枯萎期每 10 d 观察 1 次，休眠期每月观察 1 次，记录母块茎的变化情况并摄影。

2.3　块茎冰冻切片的观察研究[3]　2011 年 12 月将进入休眠期的块茎材料用自来水清洗后放置至表面基本无水后，移至 −20 ℃冰冻操作台内，迅速使用进口冰冻切片包埋剂(optimum cutting temperature compound，OCT)将样品涂抹均匀，包裹在样品台上，然后在液氮冷却作用下调节至 −70 ℃以下，做 15 μm 切片。取经乙醇浸泡过的载玻片，晾干后直接将切好的材料粘于其上，置于荧光显微镜下观察并摄影记录。

3　结果

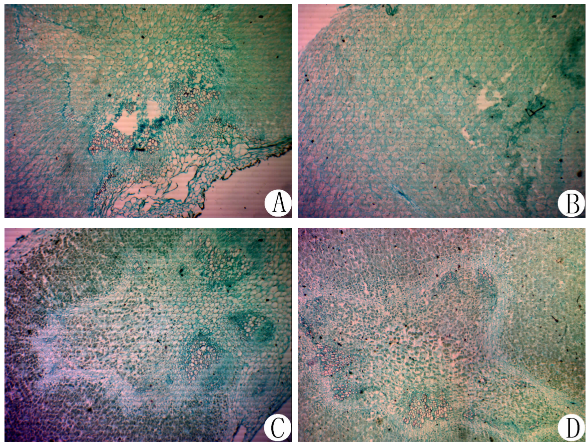
3.1　由地下茎产生的新生块茎不同时期的生长状况　一般二年以上生延胡索都普遍进行着一种营养繁殖方式，即由母株地下茎膨大产生新块茎，由于其最初是与母植株的横走茎相连，因而新块茎的一侧呈凹陷状态。见图 1。石蜡切片显示此时期维管束(有明显红色木质部的部分)是从靠近凹陷处，即母株横走茎茎节内的皮层薄壁细胞开始发生的，木质部散在于单侧，而在相对的另一侧没有同时形成。随着新块茎发育过程的进行，不规则的形成层呈不断扩大的趋势，在对侧也出现木质部，最后多个维管束呈环状排列。见图 2。

由种子发育的一年生植株在此生长期内没有地下茎产生，因而不会从茎节产生小块茎；不是每个多年生块茎都会产生新块茎，母块茎入土较深和地下茎延展范围较大且较长的易产生新块茎。



注：A. 母株地下茎及一侧凹陷的新生小块茎；B. 块茎中的荧光成分。

图 1　地下茎膨大产生的新生块茎及成熟块茎中的成分(10×10 倍)



注：A. 凹陷一侧有木质部的部分(采集于 2011 年 3 月 19 日)；B. 相对的另一侧未形成木质部的部分(采集于 2011 年 3 月 19 日)；C. 形成层开始出现尚未形成环状(采集于 2011 年 4 月 23 日)；D. 形成层呈不规则的环状(采集于 2011 年 5 月 28 日)。

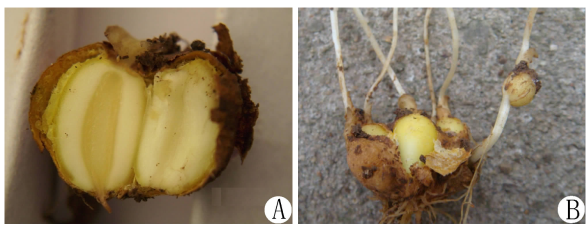
图 2　新生小块茎的块茎横切片(4×10 倍)

3.2　生长过程中母块茎形态变化　休眠的母块茎从 10 月份开始长根萌芽，次年 3 月母块茎本身开始更新，即进入替代生长过程，在母块茎的中心产生了更新块茎，更新块茎由中心向外不断扩大，老的母块茎逐渐萎缩、空泡，最后成为颓废的周皮。在地上部分枯萎进入休眠期后，更新块茎的颜色开始变深，周皮会不断脱落，其不会很快脱完，要经过几个月的宿存到 12 月才能完全褪去，此时新芽头已经生成。见图 3。

在野生品延胡索更新的块茎中发现个别为双生块茎，并未发现有多生块茎；在栽培品延胡索更新的块茎中不仅有双生块茎，还有多生块茎(三生以上块茎)产生，但比例很低。见图 4。

注：A. 颓废的老母块茎及更新块茎(采集于 2010 年 3 月 22 日，纵切)；B. 新生芽头及褪去的老周皮(采集于 2011 年 12 月 2 日)。

图 3　正在更新与蜕皮基本完成时的母块茎



注：A. 野生品双生块茎，纵切；B. 栽培品多生块茎。

图 4　双生及多生块茎

3.3 冰冻切片观察 无论野生品还是栽培品的成熟块茎，其冰冻切片在荧光显微镜下从最外层的周皮开始到中心的髓部都有很明显的黄绿色荧光，各部荧光亮度没有明显差异，该荧光成分在延胡索块茎中的分布很广泛、很均匀。见图1。

4 讨论

4.1 由地下茎产生的新生块茎发育特点 由地下茎产生的新生块茎有着特别的发育方式，其最早为母株茎节处的皮层薄壁细胞脱分化，恢复分生能力，产生形成层，并以此为起点，形成最初的几个维管束，随着生长的进行，形成层逐渐向对侧延伸扩展。新块茎在地上植株枯萎后与母体脱离，此时形成层发展为有凹凸的不规则环状，在外观上与新块茎由凹陷的非球体逐渐生长成比较规则的球体是一致的。这种发育过程同母块茎的替代生长过程是完全不同的，与由种子产生的一年生块茎也是不同的，它们一开始就有着典型的茎的内部构造[4]。新生块茎的产生不具有必然性，它的形成还需要一些条件，比如母株的生长年限、在土壤中的深浅度、地下茎的长度等，表明与营养物质的积累有关，物质积累较丰厚的易产生新生块茎。

4.2 母块茎的更新方式 母块茎产生新块茎的另一种方式为每年春季进行一次自我更新，从中心产生的新生块茎替代母块茎继续生长，母块茎最后退化成一层破碎的周皮，随后开始蜕皮，但这种“蜕皮”不是马上完成的，往往要经历几个月的时间，到休眠期结束、萌动期开始时才能完全“蜕皮”，由此可推测老周皮在休眠期还担当着一定的保护作用。栽培品产生双生及多生块茎较野生品常见，这表明栽培后其营养繁殖的能力在一定程度上有所增强，也可能是因为栽培环境土壤较肥沃，营养充足，但此种方式的繁殖率基本上仍为1∶1，很低。

4.3 延胡索乙素在块茎中积累的特点 延胡索成熟块茎中的生物碱（延胡索乙素）受到激发后呈现黄绿色荧光[5]，其在延胡索块茎内部的不同组织结构中含量基本均匀，没有明显的聚集，但不同生长时期是否有含量变化尚不能确定，还需对生长过程中该生物碱的动态积累状况做连续观察和进一步探讨。

参考文献：

[1] 国家药典委员会.中华人民共和国药典：一部[M].北京：中国医药科技出版社，2010：258.

[2] 杨春澍.药用植物学[M].上海：上海科学技术出版社，1997：337-338.

[3] 宁代峰，尹增芳，张菁，等.一种简单快速植物组织冰冻切片方法[J].热带亚热带植物学报，2008，16(4)：386-389.

[4] 胡珂，梁益敏.一年生延胡索块茎的研究[J].中草药，1996，27(11)：687.

[5] 张贵君.中药商品学[M].2版.北京：人民卫生出版社，2008：131.

（收稿日期：2014-03-04）

Observation of Growth Process of *Corydalis yanhusuo* Tubers

HU Ke, WEI Jia-yu

(*School of Pharmacy, Anhui University of Chinese Medicine & Anhui Key Laboratory of Modern Chinese Materia Medica, Anhui Hefei* 230031, *China*)

[**Abstract**] **Objective** To observe the features of new tubers and mother tubers in different growth stages of *Corydalis yanhusuo*. **Methods** We traced the tuber formation process of *Corydalis yanhusuo*, as well as the growth of new tubers and mother tubers, by real-time observation and paraffin sectioning. **Results** The new tubers produced by the underground stem grew from the stem nodes of mother plant, and their formation needed some necessary conditions. The new tubers were also reproduced from the mother tubers; the mother tubers degenerated into the periderm of the reproduced tubers and finally fell off a couple of months later. It was more common for cultivars to produce twin tubers and multiple tubers compared with wild varieties. Tubers contained fluorescent alkaloids. **Conclusion** New tubers are formed in a variety of ways. The periderm from degenerated mother tubers can protect reproduced tubers. Cultivars have a strong ability of asexual reproduction. Fluorescence alkaloids are distributed homogeneously in the mature tubers of *Corydalis yanhusuo*, and no aggregation is observed.

[**Key words**] *Corydalis yanhusuo*; growth feature; new tuber; mother tuber