

芋营养器官中的草酸钙晶体及其可能的生理作用

刘孟奇¹, 罗晓铮^{1*}, 柳继锋²

(1. 河南中医学院药学院, 郑州 450008; 2. 郑州大学药学院, 郑州 450001)

摘要: 利用徒手切片,在光学显微镜下对芋(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)营养器官中晶体的类型和分布进行了观察和研究,并用化学方法对晶体的化学成分进行了鉴定。结果表明,芋营养器官中的晶体为草酸钙结晶体,形态上可以分为针晶和簇晶两大类。含针晶束的异细胞有3种类型:含发射型草酸钙针晶束异细胞(存在于叶片、叶柄、块茎中),含大型草酸钙针晶束异细胞(存在于叶片、叶柄、块茎、块茎皮中),含大量草酸钙针晶的管状异细胞(仅存在于不定根中)。草酸钙针晶也有散乱分布于块茎和不定根中的。草酸钙簇晶在叶片、叶柄、块茎、块茎皮、不定根中均有分布,且叶片、叶柄、块茎皮中的簇晶比块茎和不定根中的尖锐。芋营养器官中的草酸钙晶体很可能是作为一种防御机制,防止动物的取食。

关键词: 天南星科; 芋; 草酸钙; 晶体; 针晶; 簇晶; 异细胞

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.02.004

Calcium Oxalate Crystals in the Vegetative Organs of *Colocasia esculenta* (L.) Schott (Araceae) and Their Possible Physiological Function

LIU Meng-qi¹, LUO Xiao-zheng^{1*}, LIU Ji-feng²

(1. School of Pharmaceutical Sciences, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2. School of Pharmaceutical Sciences, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: The morphology and distribution of calcium oxalate crystals in the vegetative organs of *Colocasia esculenta* (Araceae) were investigated by hand section under light microscope, and their chemical constituents were identified by chemical methods. The results showed that the crystals were calcium oxalate crystals which could be divided into two types: needle and cluster crystals. There were three types of raphide idioblasts, such as biforines (exist in leaf, petiole and tuber), giant raphide bundles (exist in leaf, petiole, tuber and tuber bark), and tubular idioblast with abundant of raphides (only exist in adventitious root). The calcium oxalate raphides also scatter in tuber and adventitious root. Calcium oxalate druses crystals distribute in leaf, petiole, tuber, tuber bark and adventitious root, and the druses crystals in leaf, petiole and tuber bark were sharper than those in tuber and adventitious root. These calcium oxalate crystals in the vegetative organs of *C. esculenta* could be used as a defensive mechanism to prevent animal feeding.

Key words: Araceae; *Colocasia esculenta*; Calcium oxalate; Crystals; Raphides crystal; Druses crystal; Idioblast

草酸钙晶体的形成是植物的一个基本生理过程,超过215科的植物中都有草酸钙晶体^[1-3]。草酸钙晶体在植物中的分布具有一定的规律性,而且性质稳定、形态明显,常被作为植物的一个分类特征。根据草酸钙晶体的形态可将其分为簇晶、方

晶、针晶、柱晶、砂晶5种类型^[1-4]。虽然晶体在植物发育中的作用还不太清楚,但一般认为这些晶体有多方面的功能,如钙调控、植物保护机制、解毒机制、离子平衡、植物的刚性支持、光的聚集和反射等的功能^[5-9]。

天南星科(Araceae)植物中普遍存在草酸钙晶体,且类型多样^[1,10-11]。天南星科植物芋(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)有较高的经济价值,原产我国和印度、马来西亚等热带沼泽地区,在世界上广为栽培。芋的块茎不仅可作为蔬菜食用,亦可作粮用、药用,还可作为生产酒精、化妆品增白剂等的工业原料,是我国重要的出口创汇产品。芋和其它天南星科植物一样存在草酸钙晶体,但目前对芋的研究主要集中在球茎上,晶体在早期的球茎中迅速增加,而在老的或大的球茎中数量减少^[12]。另外,芋的针晶异细胞具有不同的形态,可分为防御性和非防御性两种类型,防御性针晶异细胞(即 biferine)中的针晶能够从细胞两端的开口处发射出来^[13]。除

球茎外,草酸钙晶体在芋的各营养器官中的分布和类型少见报道,对其可能的生理作用也未见深入的研究。本文对芋营养器官(叶片、叶柄、块茎、块茎皮、不定根)中的草酸钙晶体的类型和分布进行了研究,同时对芋的晶体可能具有的功能进行了探讨,以期草酸钙晶体的研究提供新的资料。

1 材料和方法

2010 年 8 月在河南中医学院中药园内采集栽培的芋(*Colocasia esculenta* (L.) Schott)。将芋营养器官(不定根、球茎、球茎皮、叶)徒手切片后,用 10% NaOH 中浸泡 48 h,然后置于饱和的次氯酸钠中脱色 48 h,用饱和的水合氯醛透明,而后在流动的清水中漂

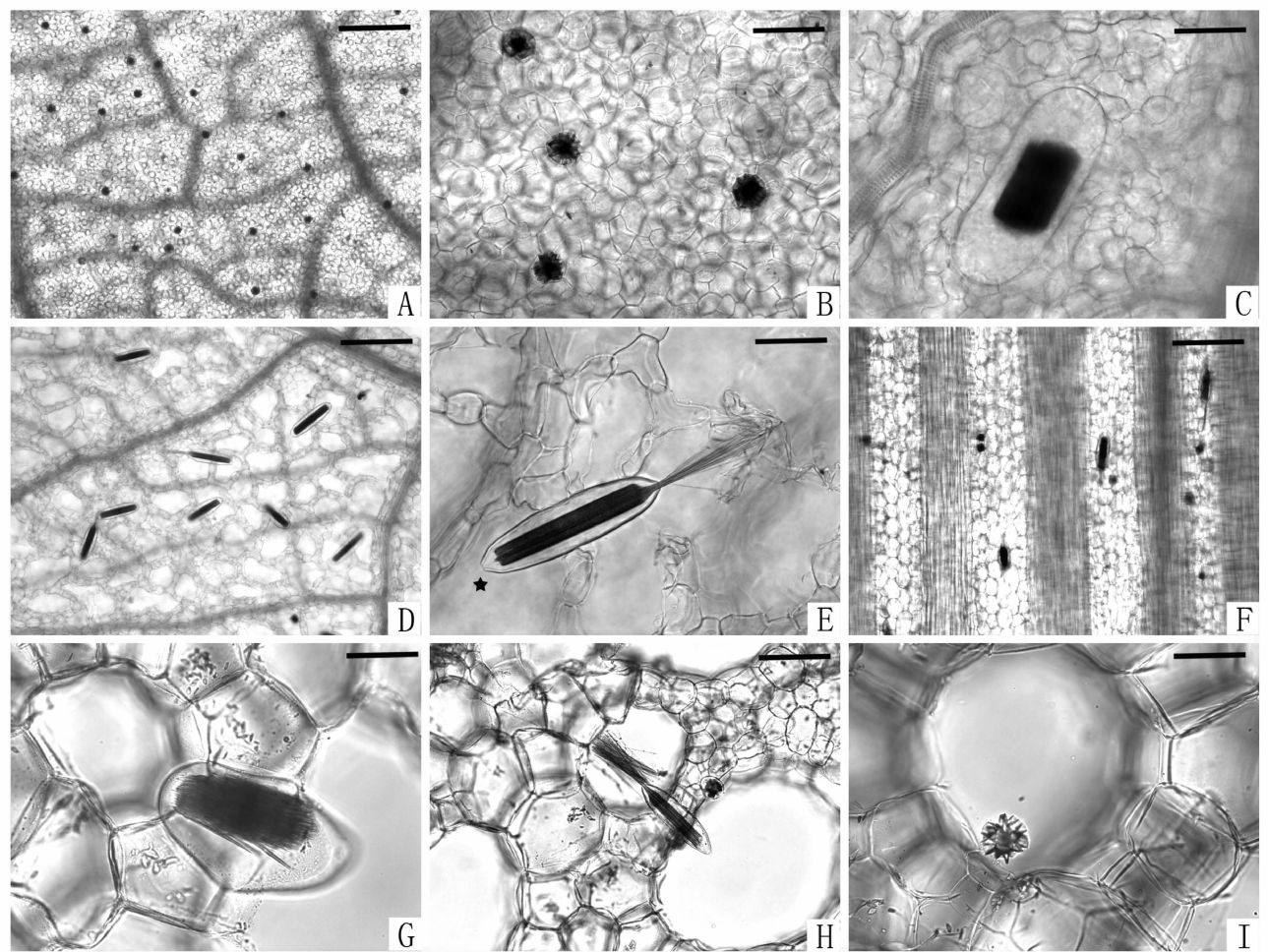


图 1 芋叶中的晶体。A. 叶片中的簇晶; B. 叶片中簇晶的放大; C. 叶片中的非发射性针晶异细胞; D. 叶片中的针晶; E. 海绵组织中的发射型针晶异细胞; F. 叶柄纵切面,示针晶和簇晶; G. 叶柄横切面,示非发射性针晶异细胞; H. 叶柄横切面,示发射型针晶异细胞; I. 叶柄横切面,示气腔中的簇晶。标尺: A,D,F=200 μ m; B,C,E,I=50 μ m; G=20 μ m; H=100 μ m

Fig. 1 Crystals in *C. esculenta* leaves. A. Druses in leaf; B. Magnification of druses in leaf; C. Idioblast containing giant raphide bundle in leaf; D. Raphides in leaf; E. Biferine in spongy tiuues; F. Logitudinal section of petiole, showing raphides and druses; G. Transverse section of petiole, showing idioblast containing giant raphide bundle; H. Transverse section of petiole, showing biforine; I. Transverse section of petiole, showing druse in parichnos. Bars: A,D,F=200 μ m; B,C,E,I=50 μ m; G=20 μ m; H=100 μ m

洗,梯度酒精脱水,纯二甲苯透明后用中性树胶封片,干后在 LEICA-DM3000 光学显微镜下观察并摄像。

取芋材料样品分别用盐酸(10%)和醋酸(10%)处理,观察晶体的前后变化以检测晶体的化学成分是碳酸钙、草酸钙或磷酸钙中的哪种。

2 结果

2.1 芋的营养器官中普遍存在晶体

在芋的叶片、叶柄、块茎、块茎皮、不定根中均观察到晶体(图 1, 2)。

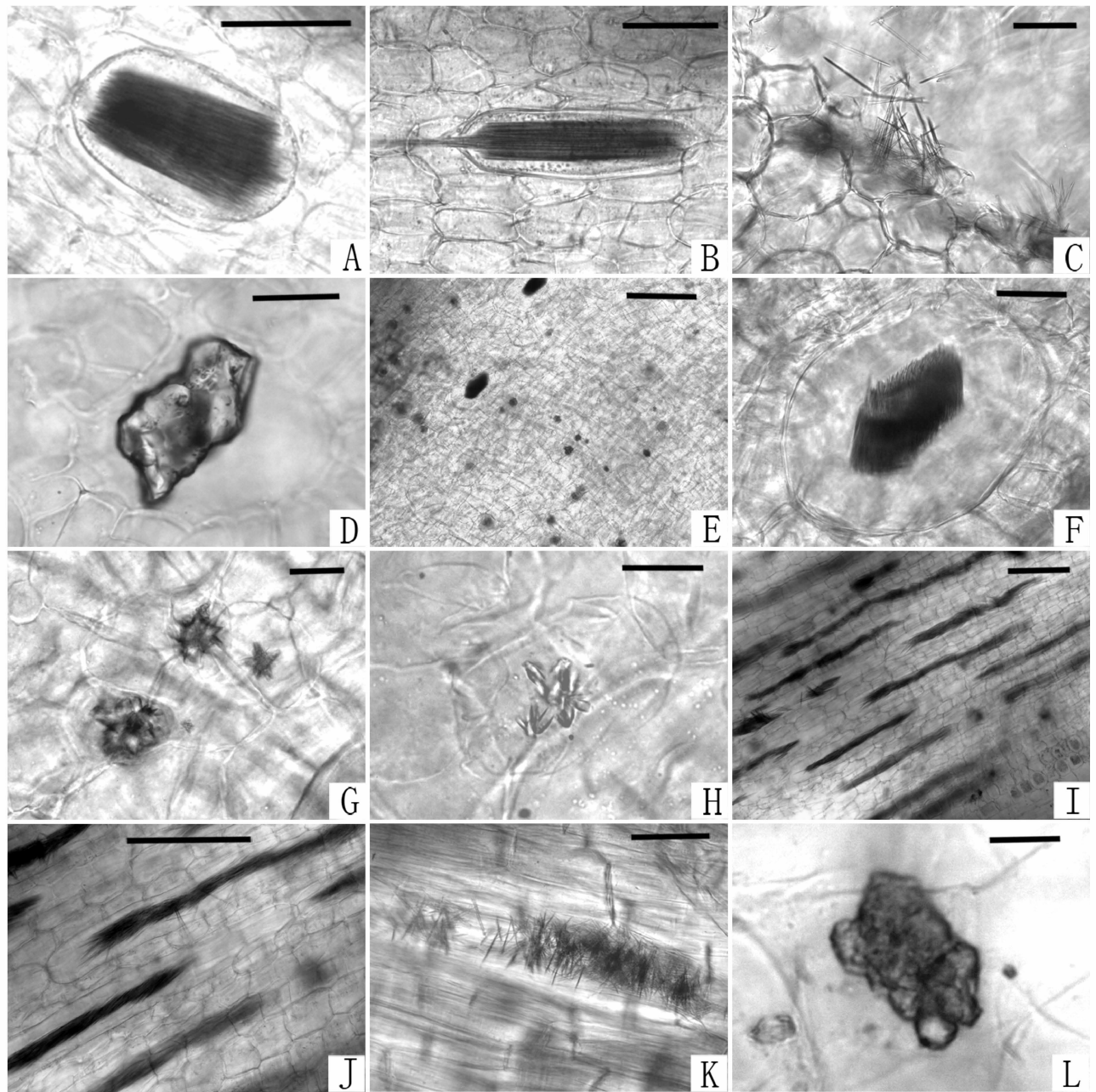


图2 芋块茎和不定根中晶体。A. 块茎中含大型针晶束的异细胞; B. 块茎中的发射型针晶异细胞; C. 块茎中的零散针晶; D. 块茎中的簇晶; E. 茎皮中的针晶和簇晶; F. 茎皮中含大型针晶束的异细胞; G. 茎皮中的簇晶; H. 茎皮中正在形成的簇晶; I. 不定根中的针晶; J. 不定根中含大量针晶的管状细胞; K. 不定根中散乱的针晶; L. 不定根中的簇晶。标尺: A,B,C,F,K=20 μm; D,G,H,L=10 μm; E,I,J=100 μm

Fig. 2 Crystals in tuber and adventitious root of *C. esculenta*. A. Idioblast containing giant raphide bundle in tuber; B. Biformine in tuber; C. Scattered raphides in tuber; D. Druses in tuber; E. Raphides and druses in tuber bark; F. Idioblast containing giant raphide bundle in tuber bark; G. Druses in tuber bark; H. Druse is forming in tuber bark; I. Raphides in adventitious root; J. Tubular cells containing abundant of raphides in adventitious root; K. Scattered raphides in adventitious root; L. Druse in adventitious root. Bars: A,B,C,F,K=20 μm; D,G,H,L=10 μm; E,I,J=100 μm

叶片上表皮的较多细胞中含有簇晶(图 1: A, B),海绵组织中可见含有针晶的异细胞(图 1: C,D, E),其中一种为大型针晶束,在切片过程中不能发射出针晶,称为非发射性针晶异细胞(图 1: C),另一种在切片中可以发射出针晶,称为发射型针晶异细胞(图 1: D,E)。

叶柄中也有针晶(图 1: F,G,H)和簇晶(图 1: I),叶柄的通气组织发达,含晶体的异细胞,包括非发射性针晶异细胞(图 1: G)和发射型针晶异细胞(图 1: H),突出到气腔中(图 1: F,G,H,I)。

块茎中有针晶(图 2: A,B,C)和簇晶(图 2: D),针晶主要分布在非发射性针晶异细胞(图 2: A)和发射型针晶异细胞(图 2: B)中,还有一些针晶散乱分布于薄壁组织中(图 2: C)。与叶片和叶柄中的簇晶相比,块茎中的簇晶表面明显要钝些。

芋的块茎皮中有非发射性针晶异细胞(图 2: E,F)

和发射型针晶异细胞(图 2: E,G,H);与叶片和叶柄中的簇晶一样,块茎皮中的簇晶也很尖锐(图 2: G,H)。

芋的不定根中观察到一些管状细胞(图 2: I,J),其中有大量纵向排列的针晶,但也有一些针晶散乱分布(图 2: K),还观察到类似于块茎中较钝的簇晶(图 2: L)。

2.2 晶体和针晶异细胞的类型

芋营养器官中晶体的形态可以分为针晶(晶体两端呈尖锐的针状,在细胞中多成束存在)和簇晶(晶体由许多单晶体聚集而成,呈球状)两大类。

含草酸钙针晶的异细胞可以分为 3 种类型:一是含发射型针晶束的异细胞,细胞呈纺锤形,所含针晶束较少,两端具乳头状发射口,在制片过程中受到触碰时,可以看到有针晶束从两端的发射口射出(图 1: D,E,H, 图 2: B);二是含大型针晶束的异细

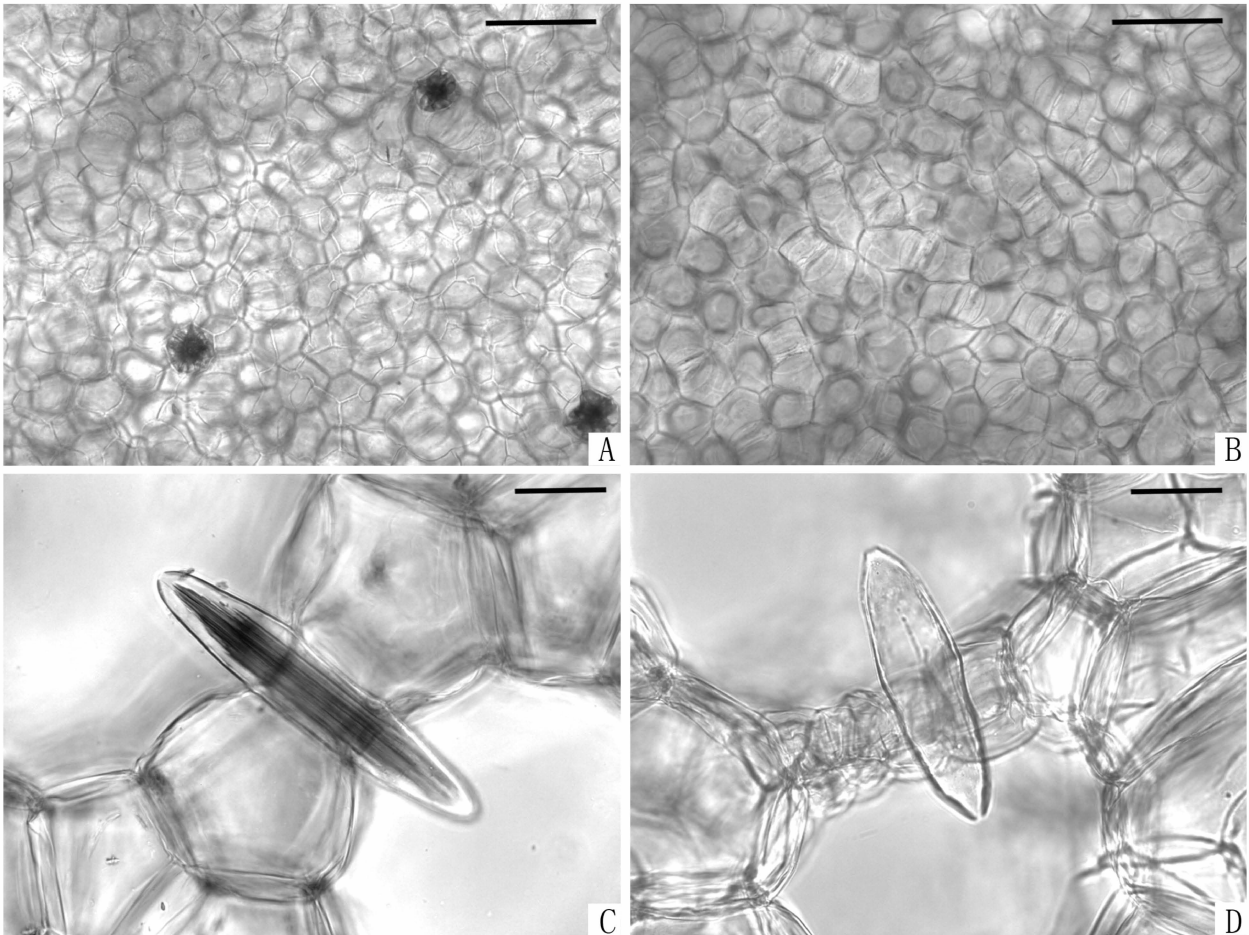


图3 晶体在酸中过夜处理。A. 在醋酸中过夜的叶片簇晶; B. 叶片簇晶在盐酸中过夜后消失; C. 在醋酸中过夜后的发射型针晶异细胞; D. 在盐酸中过夜后的发射型针晶异细胞,针晶消失。标尺: A,B=50 μm; C,D=20 μm

Fig. 3 Crystals treated with acids overnight. A. Druses in leaf treated with acetic acid; B. Druses disappeared treated with hydrochloric acid; C. Bifurcate needle-shaped cystal treated with acetic acid; D. After bifurcate needle-shaped cystal was treated with hydrochloric acid, raphides disappeared. Bars: A,B=50 μm; C,D=20 μm

胞,细胞呈矩圆形,内含大量针晶,整齐地排列成大型针晶束,细胞两端没有发射口(图 1: C,G, 图 2: A, F);三是管状针晶异细胞,仅在不定根中存在,细胞呈长管状,含有大量纵向排列针晶束(图 2: I,J)。

针晶除了在以上 3 种异细胞中成束存在外,还有一些针晶散乱分布于块茎和不定根中(图 2: C,K)。

簇晶根据其尖锐程度也可以分为两种类型,一种是尖锐的(图 1: A,B,I, 图 2: G,H),一种是较钝的(图 2: D,L)。

2.3 晶体的化学成分

取晶体样品分别在盐酸(10%)和醋酸(10%)中过夜,结果表明,在醋酸中过夜的簇晶和针晶外观没有变化(图 3: A,C),在盐酸中过夜的簇晶和针晶消失(图 3: B,D),这表明晶体的化学成分是草酸钙。

3 讨论

本研究观察到,芋的叶片、叶柄、块茎、块茎皮、不定根中都存在针晶和簇晶,但晶体的类型和分布情况不同。针晶和簇晶的密度在叶片、不定根和块茎的皮中都比较小,在球茎中最小,叶柄中的晶体密度居中。叶片中的针晶束一般存在于发射型针晶异细胞中,并且往往突出到气腔中,叶片中的簇晶表面尖锐,都分布在靠近上表皮的栅栏组织细胞中(图 1: B),而针晶都分布在海绵组织中(图 1: D, E)。叶柄中的晶体存在于基本组织的薄壁细胞和气腔中,而在皮层和维管束中都没有观察到晶体;和叶片相似,叶柄的针晶也大多存在于发射型针晶异细胞中,并且往往突出到气腔中(图 1: H),簇晶也很尖锐(图 1: I)。芋的块茎皮中有较多的针晶和尖锐的簇晶,但块茎中的晶体很少。芋的不定根中有大量的针晶,但以较散乱的形式分布在管状异细胞中,而簇晶表面比较钝。

对芋的晶体进行酸处理的结果表明,芋营养器官内晶体的化学成分是草酸钙。多数维管植物吸收的钙超过自身生长所需要,由于不能排出多余的钙,植物将这些钙以草酸钙晶体形式储存在细胞中^[5]。晶体可以作为钙的储存库,在需要时候被转换利用。芋中的草酸钙结晶出现于各部位中,是否也具有钙调节的功能还有待于进一步的研究。

芋的针晶两端尖锐,存在凹槽,有的还有倒刺,可能还具有防御动物的功能。针晶对于人和动物口腔和咽喉的刺激作用很强,芋的生长过程中害虫危害远较其他作物少,原因可能就是芋的叶片和叶

柄中的针晶会对食草动物和昆虫的口腔或口器造成伤害,尖锐的簇晶也可能起到类似防御作用,会给食草动物和昆虫摄食带来不适的感觉。Ward 等^[14]报道脊椎动物和无脊椎草食动物都避免取食巨型弹簧草(*Pancratium sickenbergeri*)晶体含量最高的部位。

晶体的类型和在植物的分布与它们的功能有一定的关系。叶片是植物最可能被食草动物和昆虫摄食的部位,芋叶片中存在的大量针晶(尤其是发射型针晶)和尖锐簇晶,可能起到有效的防御作用。Coté^[15]也认为晶体最重要的功能可能是对草食动物的防御作用,不同类型的晶体在保护植物中的角色也不同。芋叶柄中的晶体除了起到防御作用外,也与叶柄中有较多的纤维素有关。叶片的簇晶都分布在靠近上表皮的栅栏组织细胞中,所以簇晶除了可能的防御作用外,对强烈的阳光也起到散射作用,有利于叶绿体进行光合作用^[16]。芋的块茎中晶体较少,但在块茎皮中存在大量的针晶和尖锐的簇晶(图 2: E,F,G),可能也是对土壤中的昆虫起一定防御作用。不定根中的针晶分布在管状的非发射性针晶异细胞中(图 2: I,J),所含的簇晶表面较钝(图 2: L),相对而言,这些晶体的防御作用可能要差些。

虽然芋的块茎中晶体较少,然而生的芋接触皮肤仍然会引起发痒、过敏反应,但煮熟后却可以食用。在东南亚许多地区芋的叶和叶柄不能直接作为家畜的饲料,但是经过加工(如水煮、暴晒加入糖浆)后可以作为家畜的饲料。针晶的化学成分为草酸钙,但草酸钙并不会随着加热而完全分解,只会部分溶解于水中,所以针晶并非是引起皮肤和口腔粘膜发痒、发麻、过敏的唯一原因。过去有研究表明,在针晶周围存在蛋白水解酶^[17],或其它毒性蛋白^[18]、糖苷^[19]或者其它毒素^[20],所以除了针晶造成的物理伤害外,针晶外的化学物质带来的毒害对草食动物、啮齿类动物、真菌和昆虫也起到防御作用^[21-26]。芋中营养器官中存在这些有毒化学物质,但这些有毒物质特别是蛋白质可以经过烹饪或者烘干后被破坏^[27],故芋不能生吃但煮熟后却可以食用。

综上所述,芋营养器官中的晶体为草酸钙结晶,有针晶和簇晶两大类。它们在芋各器官和组织中的分布有一定特点,这些草酸钙结晶可能与钙调节、植物的防御、光的散射等有关,也可引起过敏反

应,但这些晶体不是使生芋不能吃的有毒物质。这些晶体最主要的功能可能是防止动物的取食,具有防御功能。

参考文献

- [1] Prychid C J, Rudall P J. Calcium oxalate crystals in monocotyledons: A review of their structure and systematics [J]. *Ann Bot*, 1999, 84(6): 725–739.
- [2] Franceschi V R, Horner H T. Calcium oxalate crystals in plants [J]. *Bot Rev*, 1980, 46(4): 361–427.
- [3] Horner H T Jr, Wagner B L. Calcium oxalate formation in higher plants [M]// Khan S R. *Calcium Oxalate in Biological Systems*. New York: CRC Press, 1995: 53–73.
- [4] Lersten N R, Horner H T. Crystal macropattern development in *Prunus serotina* (Rosaceae, Prunoideae) leaves [J]. *Ann Bot*, 2006, 97(5): 723–729.
- [5] Franceschi V R, Nakata P A. Calcium oxalate in plants: Formation and function [J]. *Annu Rev Plant Biol*, 2005, 56(1): 41–71.
- [6] Franceschi V R. Calcium oxalate formation is a rapid and reversible process in *Lemna minor* L. [J]. *Protoplasma*, 1989, 148(2/3): 130–137.
- [7] Kostman T A, Franceschi V R. Cell and calcium oxalate crystal growth is coordinated to achieve high capacity calcium regulation in plants [J]. *Protoplasma*, 2000, 214(3/4): 166–179.
- [8] Sakai W S, Shiroma S S, Nagao M A. A study of raphide microstructure in relation to irritation [J]. *Scan Electron Microsc*, 1984(2): 979–986.
- [9] Volk G M, Lynch-Holm V Y, Kostman T A, et al. The role of druse and raphide calcium oxalate crystals in tissue calcium regulation in *Pistia stratiotes* leaves [J]. *Plant Biol*, 2002, 4(1): 34–45.
- [10] Keating R C. *Anatomy of the Monocotyledons IX. Acoraceae and Araceae* [M]. Oxford, UK: Oxford University Press, 2003: 10–21.
- [11] Keating R C. Systematic occurrence of raphide crystals in Araceae [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, 2004, 91(3): 495–504.
- [12] Sunell LA, Healey PL. Distribution of calcium oxalate crystal idioblasts in corms of taro (*Colocasia esculenta*) [J]. *Amer J Bot*, 1979, 66(9): 1029–1032.
- [13] Tanaka M, Nakashima T, Mori K. Formation and distribution of calcium oxalate crystal idioblast in the tissues of Taro (*Colocasia esculenta* (L.) Schott) [J]. *J Japn Soc Hort Sci*, 2003, 72(2): 162–168.
- [14] Ward D, Spiegel M, Saltz D. Gazelle herbivory and interpopulation differences in calcium oxalate content of leaves of a desert lily [J]. *J Chem Ecol*, 1997, 23(2): 333–346.
- [15] Coté G G. Diversity and distribution of idioblasts producing calcium oxalate crystals in *Dieffenbachia seguine* (Araceae) [J]. *Amer J Bot*, 2009, 96(7): 1245–1254.
- [16] Kuo-Huang L L, Ku M S B, Franceschi V R. Correlations between calcium oxalate crystals and photosynthetic activities in palisade cells of shade-adapted *Peperomia glabella* [J]. *Bot Study*, 2007, 48(2): 155–164.
- [17] Walther W G, Khnaaa P N. Chemistry of the aroids I. *Dieffenbachia seguine*, *amoena* and *picta* [J]. *Econ Bot*, 1972, 26(4): 364–372.
- [18] Fochtman F W, Manno J E, Winek C L, et al. Toxicity of the genus *Dieffenbachia* [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1969, 15(1): 38–45.
- [19] Saha B P, Hussain M. A study of the irritating principle of aroids [J]. *Ind J Agri Sci*, 1983, 53(9): 833–836.
- [20] Ladeira Â M, Anrade S O, Sawaya P. Studies on *Dieffenbachia picta* Schott: Toxic effects in Guinea pigs [J]. *Toxicol Appl Pharm*, 1975, 34(3): 363–373.
- [21] Miyakado M, Kato T, Ohno N, et al. Alkaloids of *Urginea altissima* and their antimicrobial activity against *Phytophthora capsici* [J]. *Phytochemistry*, 1975, 14(12): 2717.
- [22] March C, Sanz I, Primo Y E. Antimicrobial activities on Mediterranean plants [J]. *Zentralbl Mikrobiol*, 1991, 146(4): 291–295.
- [23] Hoffmann J J, Timmermann B N, McLaughlin S P, et al. Potential antimicrobial activity of plants from the southwestern United States [J]. *Inter J Pharmacogn*, 1993, 31(2): 101–115.
- [24] Sathiyamoorthy P, Lugasi-Evgi H, Schlesinger P, et al. Screening for cytotoxic and antimalarial activities in desert plants of the Negv and Bedouin market plant products [J]. *Pharm Biol*, 1999, 37(3): 188–195.
- [25] Heath G, Todrank J, Nevo E. Do *Spalax ehrenbergi* blind mole rats use food odours in searching for and selecting food? [J]. *Ethol Ecol Evol*, 2000, 12(1): 75–82.
- [26] Civelek H S, Weintraub P G. Effects of two plant extracts on larval leaf miner *Liriomyza trifolii* (Diptera: Agromyzidae) in tomatoes [J]. *J Econ Entomol*, 2004, 97(5): 1581–1586.
- [27] Rauber A. Observations on the idioblasts of *Dieffenbachia* [J]. *J Toxicol Clin Toxicol*, 1985, 23(2/3): 79–90.