

姜黄属药用植物的 3 种同工酶分析

邓家彬, 苟琳, 丁春邦, 张利, 杨瑞武*

四川农业大学生命科学与理学院, 四川雅安 625014

摘要: 目的 探讨姜黄属 *Curcuma* L. 6 种郁金香类药用植物的种间及其种内不同居群间的亲缘关系。方法 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳 (PAGE), 分析超氧化物歧化酶 (SOD)、多酚氧化酶 (PPO)、细胞色素氧化酶 (COD) 的酶带, 并采用 UPGMA 法对数据进行分析。结果 SOD、PPO 和 COD 的酶谱能较好地区分 6 种郁金香类药用植物; PPO 和 COD 还能够对种内不同居群的材料进行区分。结论 同种植物不同居群间亲缘关系的远近与地理来源有关; 能够通过聚类分析区分姜黄和川郁金; 姜黄属郁金香类植物的栽培型和野生型产生了分化。

关键词: 姜黄属; 郁金香; 超氧化物歧化酶; 多酚氧化酶; 细胞色素氧化酶; 聚类分析

中图分类号: R282.1 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2011)02-0346-07

Analysis on three isozymes in plants of *Curcuma* L.

DENG Jia-bin, GOU Lin, DING Chun-bang, ZHANG Li, YANG Rui-wu

College of Biology and Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China

Abstract: Objective To explore the interspecific and intraspecific genetic relationships of six species in *Curcuma* L. **Methods** The superoxide dismutase (SOD), polyphenol oxidase (PPO), and cytochrome-oxidase (COD) were studied by vertical slab polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE). The three isozymes data were analysed by using clustering method UPGMA. **Results** The six species in *Curcuma* L. can largely be distinguished by zymogram of three isozymes; Moreover, PPO and COD can be used to distinguish the different accessions in the same species of *Curcuma* L. **Conclusion** The genetic relationships among different accessions are related with the geographical origin. Clustering approach could make a distinction between *Curcuma longa* and *C. sichuanensis*. The differentiation has happened between the wild and cultivated species of *Curcuma* L.

Key words: *Curcuma* L.; *Curcuma Radix*; superoxide dismutase (SOD); polyphenol oxidase (PPO); cytochrome-oxidase (COD); clustering analysis

姜科 (Zingiberaceae) 姜黄属 *Curcuma* L. 植物, 全世界约有 60 种, 主要分布于东南亚和澳大利亚北部。我国有 10 余种^[1], 产于东南至西南部。除药用外该属植物还可作调味品、色素、香料、染料、化妆品和杀虫剂等, 具有较高的经济价值。《中国药典》2010 年版收载的中药材郁金香是该属植物温郁金 *C. wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling、姜黄 *C. longa* L.、广西莪术 *C. kwangsiensis* S. G. Lee et C. F. Liang 和蓬莪术 *C. phaeocaulis* Val. 的干燥块根。但川郁金 *C. sichuanensis* C. K. Hsieh et H. Zhang 和川黄姜 *C. chuanhuangjiang* Z. Y. Zhu 的干燥块根也有作郁金香药用。常用药材莪术和姜黄也来源于该属。

郁金香类药用植物具有较高的药用价值, 郁金香味

辛、苦、寒; 归肝、胆、心经, 具有活血、行气止痛、解郁清心、利胆退黄、凉血之功效。近代研究表明郁金香具有免疫调节、抑制中枢神经、改善血液流变性、抗自由基损伤、镇痛、降血脂、抗辐射等作用, 尤其利于肿瘤、肝炎等疾病的预防和治疗^[2-6]。

姜科姜黄属植物的分类一直比较混乱。姜黄属不同种植物的不同部位可作为不同的药材, 同名药材又来源于其中的多种植物, 于是在中药材郁金香、莪术和姜黄上出现了同名异物、同物异名的混乱现象, 导致临床上用药不准确。由于郁金香为多基源常用中药材, 其来源复杂、分布广、栽培品种多、带花果标本不易采到, 给形态学分类带来一定困难^[1]。为提高郁金香、莪术和姜黄鉴定的准确性并为其临床

收稿日期: 2010-06-19

基金项目: 四川省青年科技基金项目 (07JQ0085); 留学人员科技活动择优资助项目 (川人社函【2010】32 号)

作者简介: 邓家彬 (1980—), 男, 硕士研究生, 四川泸州人, 从事药用植物资源开发与利用的研究。

*通讯作者 杨瑞武 Tel: 13981616212 E-mail: yrwu@sicau.edu.cn

用药提供可靠保证,有必要采用多种方法对其原植物进行鉴定,并探讨它们之间的亲缘关系。

同工酶是基因表达的产物,特异的基因表达产生特异的酶谱。酶带数越多的同工酶越进化,编码该蛋白的基因进化速率越快,反之越原始^[7]。目前同工酶已被广泛应用于植物系统演化^[8]、种质资源的鉴定及亲缘关系的研究^[9-10]。在郁金香类植物的研究中,刘念等^[11]根据过氧化物酶(POD)的酶谱特征及酶谱距离,并结合根茎颜色,把姜黄属 14 个种分成 3 个类群。汤加勇等^[12]分析了 6 种郁金香类药用植物的 POD 和酯酶(EST),表明姜黄和川郁金亲缘关系很近,它们有着共同的特征谱带,不能通过 POD 和 EST 同工酶将它们区别开来。本研究把在姜黄属植物中表现较为原始的超氧化物歧化酶(SOD)与多酚氧化酶(PPO)、细胞色素氧化酶(COD)相结合,并考虑材料的野生型和栽培型,综合进行聚类分析,为郁金香类药用植物的物种鉴定和姜黄属植物的系统研究提供酶学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为姜黄属郁金香类药用植物的 6 个物种,共 37 份材料,其中 32 份收集于四川不同地区,

5 份收集于广西药用植物园,经四川农业大学杨光辉副教授和四川省中药研究所李青苗助理研究员鉴定。供试材料的名称及来源见表 1。

1.2 方法

1.2.1 样品处理 同一时间取新鲜幼嫩叶片 0.5 g,液氮研磨成粉末倒入离心管,同时加入 0.5 mL PBS 缓冲液(pH 7.8),12 000 r/min 离心 12 min,取上清液按 1:1 的比例加入 40%蔗糖溶液,摇匀,置于-20 °C 冰箱保存备用。

1.2.2 电泳 采用双面垂直板聚丙烯酰胺凝胶电泳,3 种同工酶的分离胶质量分数均为 7.5%,浓缩胶质量分数均为 3%。每个点样孔上样 25 μL,用 0.1%溴酚蓝作为前沿指示剂,Tris-Gly(pH 8.3)作为电极缓冲液,置于 4 °C 冰箱中,在 250 V 条件下电泳,待指示剂距玻璃板末端 1.5 cm 处时,停止电泳。每个凝胶板上都用相同的材料作为比对,SOD 同工酶的比对样为 11 号材料;PPO、COD 同工酶的比对样均为 23 号材料。

1.2.3 染色 SOD 采用 25 μmol/L 四氮唑硝基蓝+0.01%核黄素+50 mmol/L pH 7.8 的磷酸缓冲液(1 mmol/L EDTA)染色,常温下暗反应 20 min,再转入 EDTA-Na₂(pH 7.8)溶液中,紫外线曝光直到暗

表 1 供试材料

Table 1 Materials tested

| 序号 | 种名 | 采集地 | 特性 | 序号 | 种名 | 采集地 | 特性 |
|----|----|-------------|----|----|------|-------------|----|
| 1 | 姜黄 | 四川郁金 GAP 基地 | 栽培 | 20 | 姜黄 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 2 | 姜黄 | 四川成都龙泉大面镇 | 野生 | 21 | 姜黄 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 3 | 姜黄 | 四川崇州三江镇 | 栽培 | 22 | 姜黄 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 4 | 姜黄 | 四川犍为县 | 栽培 | 23 | 川郁金 | 四川崇州三江镇 | 栽培 |
| 5 | 姜黄 | 四川成都双流 | 栽培 | 24 | 川郁金 | 四川郁金 GAP 基地 | 栽培 |
| 6 | 姜黄 | 四川犍为县 | 栽培 | 25 | 川郁金 | 四川崇州三江镇 | 野生 |
| 7 | 姜黄 | 四川成都新津 | 栽培 | 26 | 川郁金 | 四川宜宾市翠屏区 | 野生 |
| 8 | 姜黄 | 四川乐山市沐川县 | 栽培 | 27 | 川郁金 | 四川内江威远 | 栽培 |
| 9 | 姜黄 | 四川乐山市沐川县 | 栽培 | 28 | 川郁金 | 四川崇州三江镇 | 栽培 |
| 10 | 姜黄 | 四川乐山市沐川县 | 栽培 | 29 | 川郁金 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 11 | 姜黄 | 四川乐山犍为县 | 野生 | 30 | 蓬莪术 | 四川崇州三江镇 | 栽培 |
| 12 | 姜黄 | 四川资阳市 | 栽培 | 31 | 蓬莪术 | 四川犍为县 | 栽培 |
| 13 | 姜黄 | 四川宜宾市翠屏区 | 野生 | 32 | 蓬莪术 | 四川成都新津 | 栽培 |
| 14 | 姜黄 | 四川宜宾市翠屏区 | 野生 | 33 | 蓬莪术 | 四川成都双流 | 栽培 |
| 15 | 姜黄 | 四川宜宾市宜宾县 | 野生 | 34 | 蓬莪术 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 16 | 姜黄 | 四川乐山市沙湾区 | 野生 | 35 | 川黄姜 | 四川简阳市 | 栽培 |
| 17 | 姜黄 | 乐山市沐川县 | 栽培 | 36 | 广西莪术 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 18 | 姜黄 | 四川宜宾市翠屏区 | 野生 | 37 | 温郁金 | 广西药用植物园 | 栽培 |
| 19 | 姜黄 | 四川宜宾市翠屏区 | 栽培 | | | | |

背景下出现灰白色条带。

PPO 采用 0.06% 邻苯二胺 (0.01 mol/L 草酸溶解) + 0.05 mol/L 邻苯二酚 + 磷酸缓冲液 (pH 6.8) 染色, 常温下染色 40 min, 透明背景下出现黄色条带。

COD 采用 1% 二甲基对苯二胺 + 1% α -萘乙酸 (溶于 40% 乙醇) + 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 7.4) 染色, 37 °C 下暗反应 1 h, 白色背景下出现粉红色条带。

1.3 聚类分析

根据酶带分布, 计算各酶带的相对迁移率 Rf 值、分布频率和平均酶带数; 根据 SOD、PPO 和 COD 酶带的 Rf 值绘制各自的酶带模式图; 用 NTSYSPc 2.1 软件进行聚类分析。Rf 值参照 Kuhns 的方法^[13]计算。

$Rf = \frac{\text{酶带迁移的距离}}{\text{溴酚蓝指示剂迁移的距离}}$

$\text{酶带的分布频率} = \frac{\text{相同迁移率的酶带数}}{\text{所有的材料数}}$

$\text{平均酶带数} = \frac{\text{总酶带数}}{\text{材料数}}$

2 结果与分析

本实验中 SOD、PPO、COD 分别迁移出 28、58、47 条不同 Rf 值的酶带, 3 种酶的平均带数分别是 5、8、9 条。酶带的多态性表明, SOD 适合种间区分, 对同种不同居群的材料区分度不够明确, 表

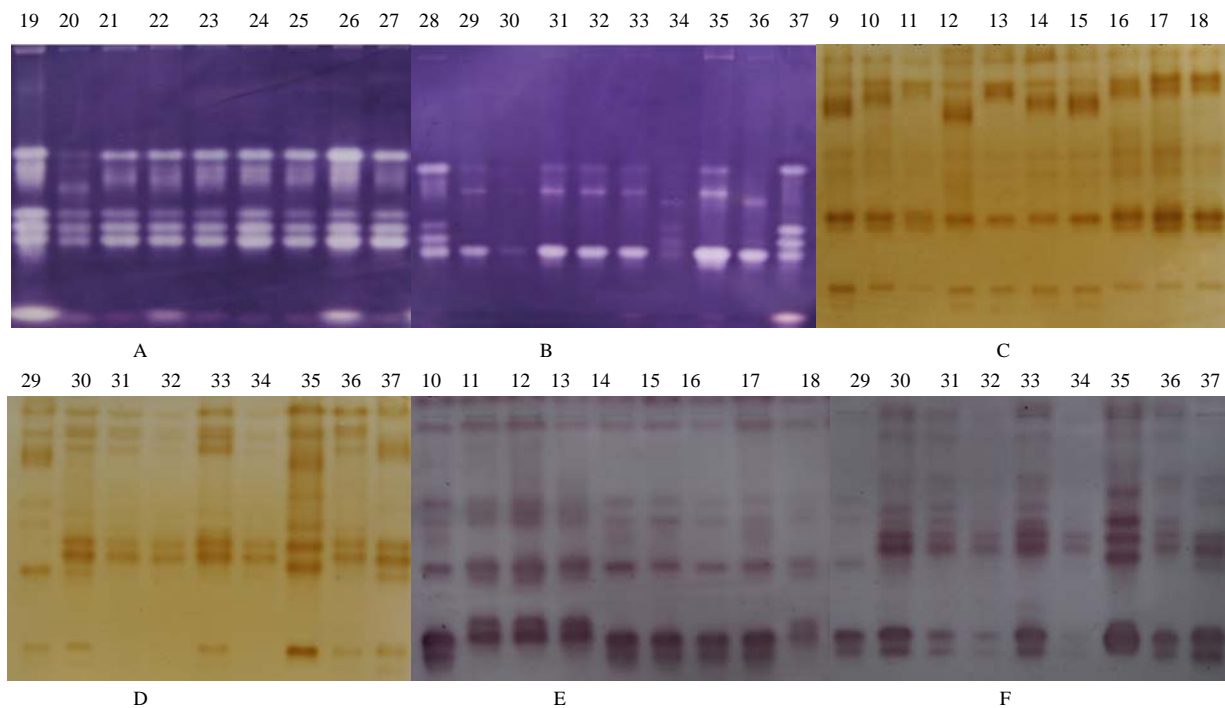
明编码该蛋白的基因较保守, 是姜黄属 6 种植物中相对比较原始的酶。PPO 和 COD 是姜黄属植物中比较进化的酶, 编码该蛋白的基因比较活跃, 其多态性更强, 同种不同居群的材料也呈现出明显差异。部分酶带照片见图 1。

2.1 SOD 同工酶

SOD 酶带的 Rf 值及其分布频率见表 2, 酶带模式见图 2。37 份材料共分离出 28 条不同 Rf 值的酶带, 每份材料的酶带数为 2~8 条, 四川犍为的蓬莪术仅有 2 条 SOD 酶带; 四川不同产地的 6 份姜黄 (1、2、5、7、8、19 号) 均迁移出较多的 8 条酶带。姜黄的平均酶带数为 6.73、川郁金为 5.86、川黄姜为 5.0、蓬莪术为 3.0、广西莪术为 6.0、温郁金为 4.0。在 28 条不同 Rf 值的酶带中, 没有一条带是 37 份材料所共有。其中, 带 S6 和 S8 分布频率最低, 均为 2.7%; S28 最高, 为 78.4%。表明姜黄属 6 种郁金类药用植物的 37 份材料中 SOD 同工酶多态性比较强。

2.2 PPO 同工酶

姜黄属 6 种郁金类药用植物的 PPO 各酶带的模式图见图 3, 酶带的 Rf 值及其分布频率见表 3。37 份材料共分离出 58 条不同 Rf 值的酶带, 每份材料的



A、B-19~27 和 28~37 号材料的 SOD 照片 C、D-9~18 和 29~37 号材料的 PPO 照片 E、F-材料 10~18 和 29~37 的 COD 照片
A, B-SOD photos of 19—27 and 28—37 materials C, D-PPO photos of 9—18 and 29—37 materials E, F-COD photos of 10—18 and 29—37 materials

图 1 姜黄属植物材料的部分 SOD、PPO、COD 同工酶照片
Fig. 1 Isozyme band photos of some SOD, PPO, and COD in plants of *Curcuma L.*

表 2 SOD 酶带的 Rf 值及其分布频率
Table 2 Rf values of SOD bands and their distributed frequency

| 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% |
|----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|
| S1 | 0.17 | 5.4 | S8 | 0.33 | 2.7 | S15 | 0.61 | 5.4 | S22 | 0.74 | 32.4 |
| S2 | 0.20 | 16.2 | S9 | 0.51 | 24.3 | S16 | 0.63 | 40.5 | S23 | 0.76 | 24.3 |
| S3 | 0.21 | 24.3 | S10 | 0.54 | 24.3 | S17 | 0.64 | 24.3 | S24 | 0.77 | 24.3 |
| S4 | 0.22 | 5.4 | S11 | 0.55 | 16.2 | S18 | 0.66 | 8.1 | S25 | 0.78 | 51.4 |
| S5 | 0.23 | 10.8 | S12 | 0.56 | 18.9 | S19 | 0.68 | 24.3 | S26 | 0.80 | 24.3 |
| S6 | 0.24 | 2.7 | S13 | 0.57 | 29.7 | S20 | 0.71 | 32.4 | S27 | 0.83 | 24.3 |
| S7 | 0.28 | 21.6 | S14 | 0.58 | 24.3 | S21 | 0.73 | 24.3 | S28 | 1.0 | 78.4 |

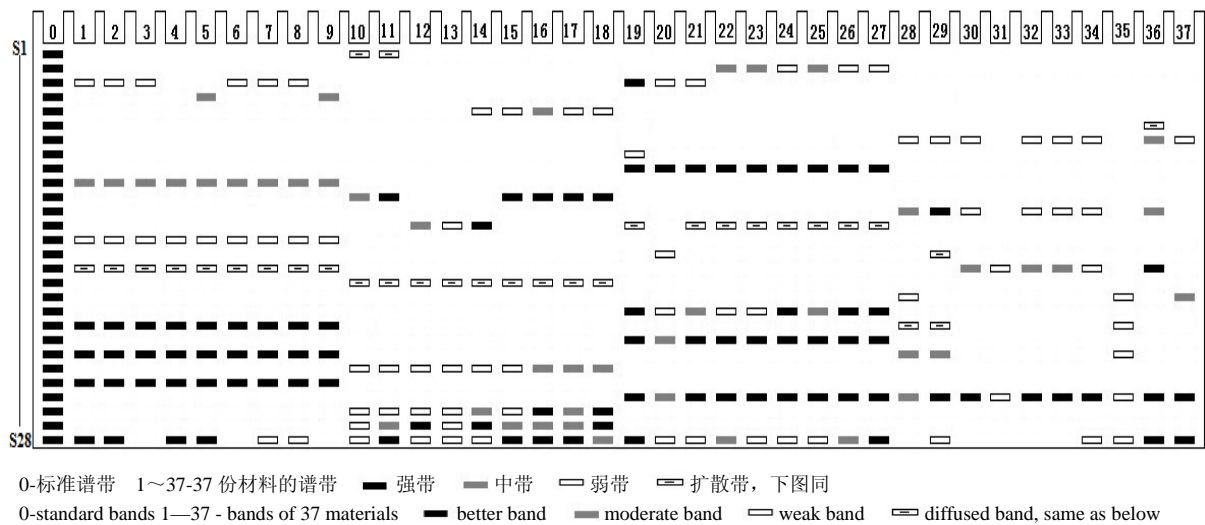


图 2 姜黄属植物 37 份材料的 SOD 同工酶模式图
Fig. 2 SOD isozyme schema graph of 37 materials in plants of *Curcuma L.*

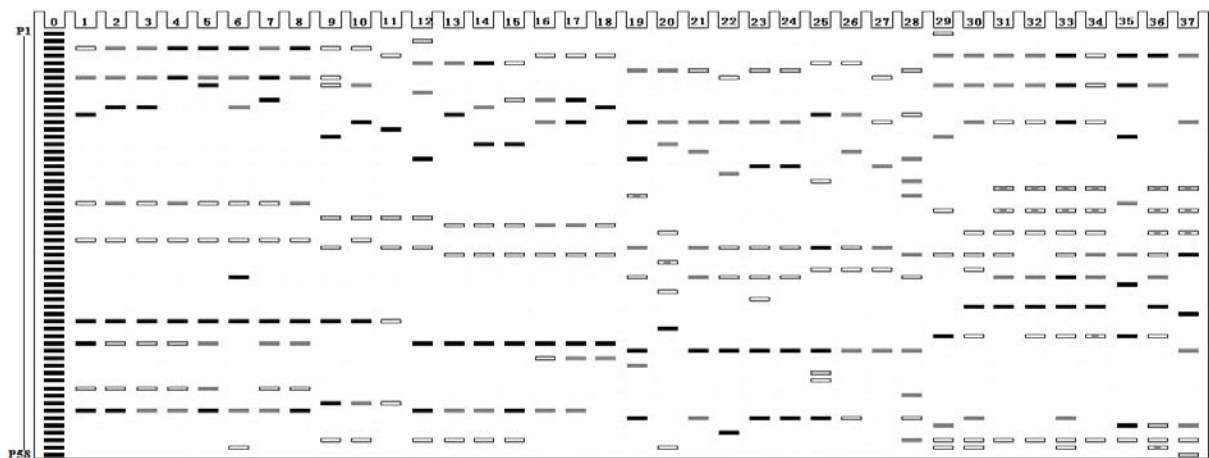


图 3 姜黄属植物 37 份材料的 PPO 同工酶模式图
Fig. 3. PPO isozyme schema graph of 37 materials in plants of *Curcuma L.*

酶带数为 6~12 条, 来源于四川犍为 (11 号材料) 和四川宜宾 (18 号材料) 的姜黄以及四川威远 (27 号材料) 的川郁金分离的 PPO 酶带最少, 均为 6 条; 四川双流的蓬莪术 (33 号材料) 迁移出的 PPO 酶带

最多为 12 条。姜黄的平均酶带数为 7.68、川郁金为 7.0、川黄姜为 8.0、蓬莪术为 8.0、广西莪术为 11.0、温郁金为 10.0。在 58 条不同 Rf 值的酶带中, 没有一条是 37 份材料所共有, 其中, 带 P1、P2、P14、P41、

表 3 PPO 酶带的 Rf 值及其分布频率
Table 3 Rf values of PPO bands and their distributed frequency

| 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% |
|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|
| P1 | 0.07 | 2.7 | P21 | 0.32 | 5.4 | P41 | 0.56 | 2.7 |
| P2 | 0.1 | 2.7 | P22 | 0.33 | 16.2 | P42 | 0.57 | 18.9 |
| P3 | 0.11 | 27.0 | P23 | 0.35 | 5.4 | P43 | 0.58 | 37.8 |
| P4 | 0.13 | 35.1 | P24 | 0.36 | 24.3 | P44 | 0.59 | 2.7 |
| P5 | 0.14 | 16.2 | P25 | 0.37 | 18.9 | P45 | 0.6 | 8.1 |
| P6 | 0.15 | 16.2 | P26 | 0.38 | 10.8 | P46 | 0.63 | 2.7 |
| P7 | 0.16 | 29.7 | P27 | 0.39 | 16.2 | P47 | 0.68 | 2.7 |
| P8 | 0.18 | 29.7 | P28 | 0.4 | 21.6 | P48 | 0.71 | 2.7 |
| P9 | 0.19 | 2.7 | P29 | 0.42 | 24.3 | P49 | 0.72 | 18.9 |
| P10 | 0.2 | 10.8 | P30 | 0.43 | 29.7 | P50 | 0.75 | 2.7 |
| P11 | 0.21 | 13.5 | P31 | 0.44 | 40.5 | P51 | 0.76 | 8.1 |
| P12 | 0.22 | 13.5 | P32 | 0.45 | 2.7 | P52 | 0.77 | 37.8 |
| P13 | 0.23 | 43.2 | P33 | 0.47 | 10.8 | P53 | 0.78 | 24.3 |
| P14 | 0.24 | 2.7 | P34 | 0.48 | 32.4 | P54 | 0.79 | 10.8 |
| P15 | 0.25 | 8.1 | P35 | 0.49 | 2.7 | P55 | 0.8 | 2.7 |
| P16 | 0.26 | 8.1 | P36 | 0.5 | 2.7 | P56 | 0.81 | 18.9 |
| P17 | 0.27 | 5.4 | P37 | 0.51 | 2.7 | P57 | 0.83 | 16.2 |
| P18 | 0.28 | 8.1 | P38 | 0.53 | 16.2 | P58 | 0.85 | 2.7 |
| P19 | 0.29 | 8.1 | P39 | 0.54 | 2.7 | | | |
| P20 | 0.3 | 2.7 | P40 | 0.55 | 29.7 | | | |

P46、P47、P48、P50 分布频率最低，均为 2.7%；P13 最高，为 43.2%。在姜黄属 6 种郁金香类药用植物的 37 份材料中，POD 同工酶是本实验 3 种酶中变异最强的酶，其呈现出的多态性最强。

2.3 COD 同工酶

姜黄属郁金香类药用植物的 COD 酶带的 Rf 值及其分布频率见表 4，酶带模式见图 4。37 份姜黄属植物共分离出 47 条不同 Rf 值的酶带，每份材料的酶带数为 6~12 条，COD 酶带最少的是 29 号材料，为 6 条；COD 酶带最多的是 12 号材料，为 12 条。姜黄的平均酶带数为 8.05、川郁金为 6.86、川黄姜为 9.0、蓬莪术为 7.40、广西莪术为 9.0、温郁金为 8.0。在 47 条不同 Rf 值的酶带中，没有 37 份材料所共有的特征带。其中，带 C11、C12、C16、C34、C36、C37、C40、C41 和 C47 分布频率最低，均为 2.7%；C30 最高，为 64.9%。表明姜黄属郁金香类药用植物的 COD 同工酶变异比较强，略次于 PPO。

2.4 聚类分析

把 37 份材料的 SOD、PPO 和 COD 谱带结合起来，有酶带的记为“1”，无酶带的记为“0”，逐一转化成二项数据表，然后用 NTSYSpc 2.1 软件进行聚类分析。37 份姜黄属植物材料间的遗传距离(GS)

为 0.09~0.56。当 GS=0.54 时，6 种郁金香类药用植物的 37 份材料聚成 2 个大类，四川的绝大多数姜黄聚为一类 (I)，广西药用植物园的 3 份姜黄以及四川宜宾市翠屏区的栽培姜黄与另外 5 个物种聚为另一个大类 (II)。在类 I 中，多数栽培材料首先聚为一亚类，而多数野生材料聚为另一亚类。在类 II 中，5 份四川的川郁金与 3 份广西药用植物园以及 1 份四川宜宾市翠屏区的姜黄首先聚为一亚类；四川崇州的栽培川郁金单独聚为一亚类；所有的蓬莪术与川黄姜、广西莪术、温郁金和来源于广西药用植物园的川郁金聚为第三亚类。聚类结果表明，利用这 3 种同工酶资料聚类不仅可以辨别种群，也可对同种不同居群的材料进行区分；3 种同工酶能够较好地地区分姜黄与川郁金；蓬莪术、广西莪术、温郁金和川黄姜 4 个种的亲缘关系很近；同种不同居群材料的聚类与其地理分布有一定的关系；野生类型与栽培类型也可以区分 (图 5)。

3 讨论

本研究通过对姜黄属 6 种郁金香类药用植物的 SOD、PPO 和 COD 酶带分析，3 种同工酶的酶谱都差异明显，能明显区分出姜黄、川郁金、广西莪术、蓬莪术、川黄姜和温郁金，表明采用 SOD、PPO 和

表 4 COD 同工酶酶带的 Rf 值及其分布频率
Table 4 Rf values of COD bands and their distributed frequency

| 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% | 酶带 | Rf 值 | 频率/% |
|-----|------|------|-----|------|------|-----|------|------|
| C1 | 0.11 | 32.4 | C17 | 0.39 | 35.1 | C33 | 0.62 | 5.4 |
| C2 | 0.12 | 24.3 | C18 | 0.40 | 13.5 | C34 | 0.63 | 2.7 |
| C3 | 0.13 | 18.9 | C19 | 0.41 | 59.5 | C35 | 0.64 | 5.4 |
| C4 | 0.18 | 27.0 | C20 | 0.43 | 10.8 | C36 | 0.70 | 2.7 |
| C5 | 0.19 | 21.6 | C21 | 0.44 | 32.4 | C37 | 0.71 | 2.7 |
| C6 | 0.20 | 27.0 | C22 | 0.45 | 21.6 | C38 | 0.72 | 18.9 |
| C7 | 0.21 | 13.5 | C23 | 0.46 | 24.3 | C39 | 0.73 | 10.8 |
| C8 | 0.23 | 10.8 | C24 | 0.47 | 24.3 | C40 | 0.74 | 2.7 |
| C9 | 0.27 | 8.1 | C25 | 0.50 | 2.7 | C41 | 0.75 | 2.7 |
| C10 | 0.28 | 18.9 | C26 | 0.51 | 10.8 | C42 | 0.76 | 24.3 |
| C11 | 0.29 | 2.7 | C27 | 0.53 | 21.6 | C43 | 0.78 | 27.0 |
| C12 | 0.30 | 2.7 | C28 | 0.55 | 27.0 | C44 | 0.81 | 8.1 |
| C13 | 0.33 | 5.4 | C29 | 0.56 | 24.3 | C45 | 0.83 | 62.2 |
| C14 | 0.35 | 8.1 | C30 | 0.59 | 64.9 | C46 | 0.88 | 46.0 |
| C15 | 0.36 | 5.4 | C31 | 0.60 | 21.6 | C47 | 0.89 | 2.7 |
| C16 | 0.38 | 2.7 | C32 | 0.61 | 5.4 | | | |

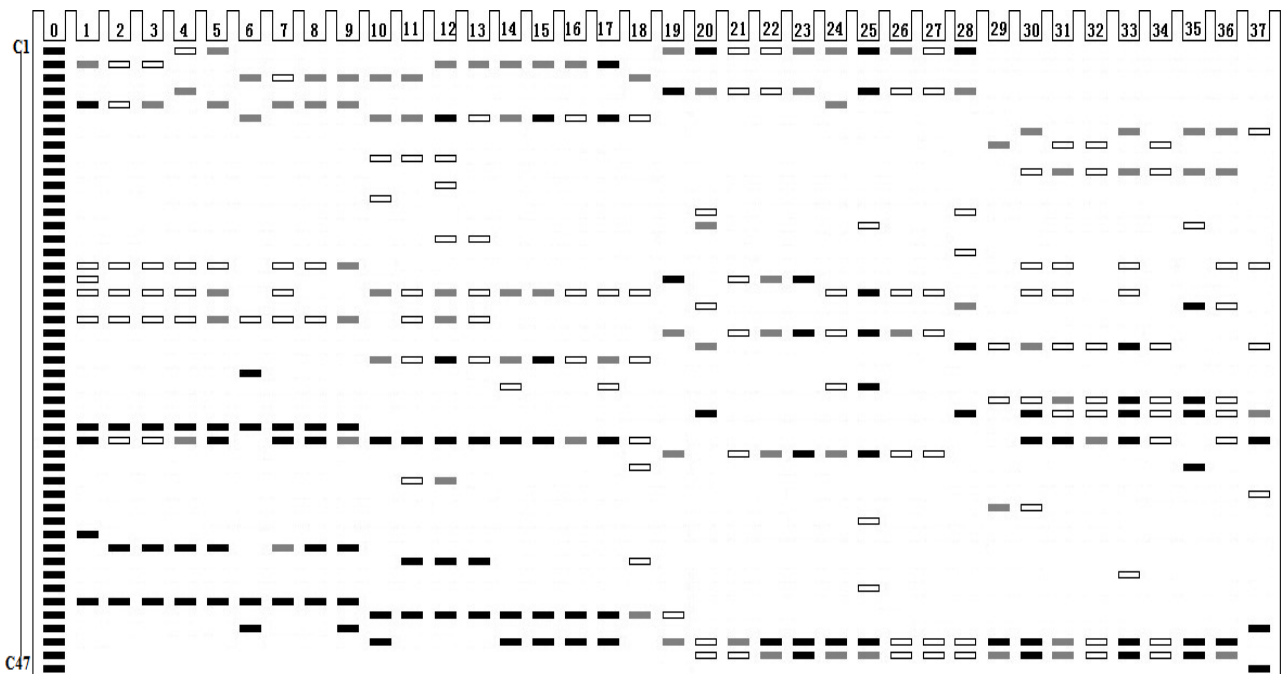


图 4 姜黄属植物 37 份材料的 COD 同工酶模式图
Fig. 4 COD isozyme schema graph of 37 materials in plants of *Curcuma L.*

COD 同工酶电泳技术鉴定姜黄属郁金类药用植物是有效的。聚类结果表明，部分不同居群的姜黄、川郁金并没有与其他的姜黄、川郁金先聚在一起，而是姜黄的部分材料（主要来源于广西药用植物园）与川郁金的部分材料（主要来源于四川）聚在一起，说明两者的亲缘关系较近，该结果与化学成分分析^[14]、RAPD

多态性分析^[15]、根茎组织形态学分析^[16]结果一致，这与肖小河等^[1]的观点相同。本研究中姜黄的栽培种，首先与川郁金的栽培种聚在一起，然后再与川郁金的野生种聚在一起，表明川郁金不全是姜黄的栽培变种，仅部分川郁金可能来源于姜黄的栽培变种，也许是在长期的栽培中将两种混杂而造成的。川黄姜除在

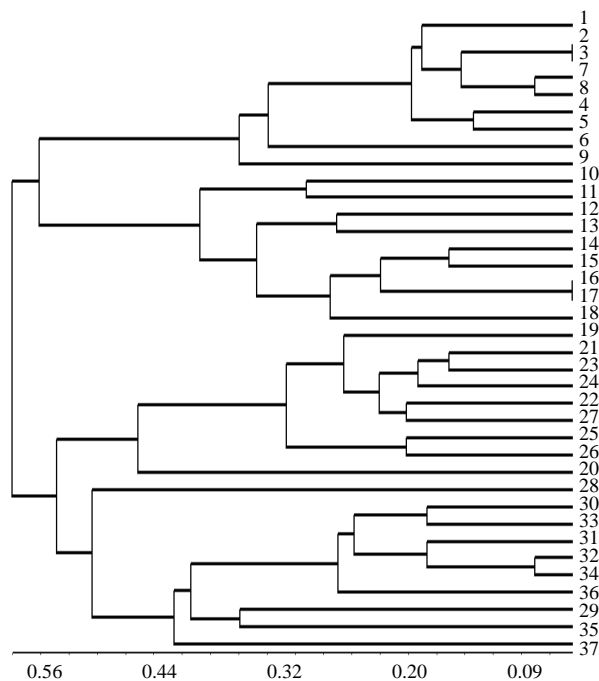


图 5 姜黄属植物 37 份材料基于 SOD、PPO 和 COD 同工酶的聚类图

Fig. 5 Clustering chart of SOD, PPO, and COD isozymes of 37 materials in plants of *Curcuma L.*

《四川植物志》上有较详细的描述外，其他资料均未提到这个种。刘念等^[17]把川黄姜归入广西莪术。从形态上分析，《四川植物志》中描述其根茎具有与其他姜黄属植物根茎所不同的松香气味，与广西莪术也有较大的差别，汤加勇等^[7]把川黄姜作为一个单独的种提出。通过 SOD、PPO 和 COD 同工酶谱带分析，川黄姜与广西莪术及其他 35 份材料间谱带差异显著，可以把川黄姜作为一个单独种进行考虑；通过聚类分析，取遗传距离 $GS=0.37$ 时川黄姜（栽培型）与来源于广西药用植物园的川郁金（栽培型）聚在一起，然后再与莪术（蓬莪术和广西莪术）聚在一起。综合考虑，把川黄姜作为一个单独种提出较为合理。

本研究中温郁金的 SOD、PPO、COD 酶带与川郁金相比差异显著，结合聚类分析两者应属于不同种，不能予以合并。与肖小河等的研究结果一致。

取 $GS=0.28$ 时，广西莪术与蓬莪术聚在一起，表明广西莪术与蓬莪术的亲缘关系很近。在聚类时，四川崇州和广西药用植物园的川郁金并没有最先与其他川郁金聚在一起，出现这种结果可能是由于变异引起的，也可能是由于其他原因引起，有关不同来源的川郁金存在的明显差异有待深入研究。

姜黄属郁金类药用植物 37 份材料的 3 种同工酶酶谱聚类分析结果表明，同种植物不同材料间亲缘关系的远近与地理来源有关；同种不同居群的材料，首先是栽培型和野生型各自单独聚为一类，然后再聚到一起，表明姜黄和川郁金的种内栽培型与野生型已经具有了一定分化，种内变异较大，用药时应注意种内栽培类型与野生类型的差异。

参考文献

[1] 肖小河, 苏中武, 乔传卓, 等. 姜黄属药用植物研究进展 [J]. 中草药, 1997, 28(2): 114-118.

[2] 李 珍. 郁金的现代研究与临床应用 [J]. 甘肃科技纵横, 2007, 36(1): 210.

[3] 狄建斌, 顾振纶, 赵笑东, 等. 姜黄素的抗氧化和抗炎作用研究进展 [J]. 中草药, 2010, 41(5): 附 8.

[4] Bengmark S, 刘 青. 植物源保护剂姜黄素的研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2009, 24(1): 22-31.

[5] 王宏虹, 刘华刚, 刘丽敏. β -榄香烯抗肿瘤机制作用的研究概况 [J]. 药物评价研究, 2009, 32(2): 140-143.

[6] 雷 宇, 李 森, 林 霖, 等. 活血化瘀类中药多药耐药作用的研究概况 [J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 135-138.

[7] Garua A, Tsunewaki K. Electrophoretical studies on peroxidase isozymes [J]. *Jpn J Genet*, 1977, 52: 284-286.

[8] 杨尧军, 李 毅, 张生华, 等. 箭胡毛杨及其亲本酯酶和过氧化物酶的同工酶分析 [J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 41(2): 46-50.

[9] Monireh C, Hassan E, Azam S, et al. Isozyme variation in some populations of wild diploid wheats in Iran [J]. *Biochem Syst Ecol*, 2007, 35(6): 363-371.

[10] 郭凤根, 李汤汉. 用同工酶技术鉴定滇产菟丝子 [J]. 中草药, 2000, 31(7): 552-553.

[11] 刘 念, 吴德邻. 姜黄属植物过氧化物酶同工酶的研究 [J]. 广西植物, 1990, 10(1): 63-70.

[12] 汤加勇, 李青苗, 杨瑞武, 等. 6 种郁金类药用植物的同工酶研究 [J]. 中国中药杂志, 2008, 33(12): 1381-1386.

[13] Kuhns U, Fretz T A. Distinguishing rose cultivars by polyacrylamide gelelectrophoresis II isoenzyme variation among cultivars [J]. *Am SOC Hortic Sci*, 1978, 103: 509-516.

[14] 夏文娟, 肖小河, 苏中武, 等. 国产姜黄属植物的化学成分分析 [J]. 中国中药杂志, 1999, 24(7): 423-424.

[15] 肖小河, 刘峰群, 史成和, 等. 国产姜黄属药用植物 RAPD 分析与分类鉴定 [J]. 中草药, 2000, 31(3): 209-211.

[16] 肖小河, 舒光明, 李隆云, 等. 国产姜黄属药用植物根茎的组织形态学观察 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(5): 395-399.

[17] 刘 念, 吴德邻. 中国姜黄属植物的订正 [J]. 热带亚热带植物学报, 1999, 7(2): 146-150.