

- 2 Kang T G, *et al.* Natural Med, 1999, 53(4): 206
- 3 中国药品生物制品检定所. 中国中药材真伪鉴别图典(3). 广州: 广东科技出版社, 1997 46
- 4 中国药材公司. 中国中药资源志要. 北京: 科学出版社, 1994 1247
- 5 王培训, 等. 中药新药与临床药理, 1999, 10(1): 18
- 6 Shaw P C, *et al.* Planta Med, 1995, 61(5): 466
- 7 Ozeki Y, *et al.* Natural Med, 1996, 50(1): 24
- 8 Yamazaki M, *et al.* Natural Med, 1995, 49(4): 488
- 9 王亚明, 等. 药学学报, 1996, 31(6): 472
- 10 曹 晖, 等. 中药材, 1996, 19(12): 608
- 11 曹 晖, 等. 中国中药杂志, 1997, 22(4): (9)
- 12 王义权, 等. 药学学报, 1997, 32(5): 384
- 13 王培训, 等. 中药新药与临床药理, 1999, 10(2): 112

(1999-11-10收稿)

用 RAPD 技术评估苍术居群间的亲缘关系

江苏省·中国科学院植物研究所 (南京 210014) 任冰如* 贺善安 於 虹 朱晓琴
江苏省植物迁地保护重点实验室

摘 要 用 RAPD 方法分析了苍术不同居群间的亲缘关系。选取 10 个 10 碱基的随机引物对苍术的 10 个居群共 83 个个体进行扩增, 获得 100 个 DNA 片段。用 RAPD istance 软件计算了不同居群间的 Jaccard 遗传距离, 得距离矩阵, 分别用单联法、全联法、类平均法作聚类图, 结果表明, 该 10 个居群可划分为 3 个类群: 即类群 1, 大别山类群 (Ta); 类群 2, 南苍术类群 (Wu Lu Hu Xu Ca Li); 类群 3, 北苍术类群 (Ti Da Lao)。在这 3 个类群中, 南、北苍术之间的遗传距离相对较近, 大别山类群与南、北苍术之间的距离则较远。根据本试验的结果及前人关于苍术精油成分差异的聚类结果, 作者认为大别山类群比较特殊。

关键词 苍术 RAPD 居群

Evaluating the Relationships Between Populations of Swordlike *Atractylodes* (*Atractylodes lancea*) by Random Amplified Polymorphic DNA Technology

The Provincial Key laboratory for Plant Ex Situ Conservation of Jiangsu, Chinese Academy of Sciences (Nanjing 210014) Ren Bingru, He San'an, Yu Hong and Zhu Xiaojin

Abstract The relationships between the populations of *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. were analyzed with the method of random amplified polymorphic DNA (RAPD). Choosing 10 primers of 10-base oligonucleotide to amplify the DNA of *A. lancea* which have 10 populations and contain 83 individuals, 100 fragments were obtained. Using RAPD distance software, the Jaccard's distance was calculated and listed in the form of distance's matrix, and from which the dendrograms were drawn using the methods of nearest neighbor clustering, furthestmost neighbor clustering and UPGMA separately. The results showed that the 10 populations could be divided into 3 clusters, namely cluster 1 [Dabieshan (Ta)], cluster 2 [South *A. lancea* (Wu, Lu, Hu, Xu, Ca, Li)] and cluster 3 [North *A. lancea* (Ti, Da, Lao)]. Furthermore, among the three clusters the distance between cluster 2 and cluster 3 was obviously nearer than the distance between cluster 2 and cluster 1 or the distance between cluster 3 and cluster 1. According to this result and that reported elsewhere by other workers concerning the essential oil components, it was suggested that cluster 1 should be listed alone from the south *A. lancea*.

Key words *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. RAPD population relationship

苍术为菊科植物茅苍术 *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 和北苍术 *A. chinensis* (DC.) Koidz. 的根茎^[1]。茅苍术产于江苏、浙江、安徽、江西、湖北、山东, 由于生长在分布区的南部, 故又称为南苍术; 北苍术产于东北、华北及山东、河南、陕西。南北苍术主要是根据其根茎、叶、花等外部形态及根茎的解剖结构存在

的差异而划分的。但在分类学上, 关于南北苍术的等级划分, 意见并不一致, 刘慎谔^[2]把北苍术定为种; 石铸^[3]把北苍术并入南苍术 *A. lancea*; 傅舜谟^[4]则把北苍术定为南苍术 *A. lancea* 的变种 *A. lancea* var. *chinensis* (Bunge) Koidz.

武田^[5]等根据苍术根茎中精油的 6 种主要成分

* Address: Ren Bingru, The Provincial Key Laboratory for Plant Ex Situ Conservation, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing

任冰如, 女, 1991 年毕业于南京农业大学植物生理生化专业, 获硕士学位, 现为江苏省·中国科学院植物研究所助理研究员, 主要从事植物资源的研究与利用。

的差异,将苍术分为 3 种类型,即 (I)大别山类型, (II)湖北 安徽类型和 (III)茅山类型,并且认为苍术间化学成分的差异主要是由于遗传变异引起的。

随机扩增多态性 DNA (RAPD) 是 90 年代发展起来的一种快速、方便的分析不同个体间遗传差异的技术,可以直接对基因组 DNA 进行检测,已广泛应用于种内不同居群间亲缘关系的研究,在种间关系上也显示了一定的潜力^[6]。因此作者将 RAPD 技术用于苍术的遗传变异检测,旨在更深入地了解苍术不同居群间的亲缘关系。

1 材料与方法

1.1 材料:苍术 10 个居群的来源见表 1,各种源种植于江苏省。中国科学院植物研究所种质保存圃,各居群取 3~ 11 个个体的叶片分别提取 DNA 作随机扩增。

表 1 苍术材料来源及个体数

名称	来源	个体数
<i>Atractylodes lancea</i>	江苏金坛薛埠镇 (Xu)	10
<i>A. lancea</i>	江苏溧阳后周乡黄山 (Li)	11
<i>A. lancea</i>	湖北随州草店镇 (Ca)	10
<i>A. lancea</i>	安徽黄山新华乡 (Hu)	5
<i>A. lancea</i>	湖北丹江口罗店乡 (Lu)	11
<i>A. lancea</i>	湖北丹江口武当山镇 (Wu)	3
<i>A. lancea</i>	湖北英山桃花冲 (大别山) (Ta)	10
<i>A. chinensis</i>	山东泰安泰山山区大津口乡 (Tt)	3
<i>A. chinensis</i>	山东青岛崂山林场下官林区 (Lao)	10
<i>A. chinensis</i>	河北承德大庙镇大庙村 (Da)	10

1.2 实验方法:DNA 的提取、随机扩增反应及电泳分离条件、方法如前所述^[7]。

1.3 数据分析:根据电泳后获得的 DNA 片断图谱,在同一迁移位置上,重复性的 DNA 扩增条带“有”记为“1”,“没有”记为“0”。计算 jaccard^[8]相似系数: $S = n11 / (n - n00)$, ($n11$ 为两个体均“有”的片段数目, n 为群体总的片段数目, $n00$ 为两个体均“没有”的片段数目),遗传距离 $D = 1 - S$,求出遗传距离矩阵,分别用单联法 (最短距离法)、全联法 (最长距离法) 和类平均法 (UPGMA) 构建树系图^[9]。

2 结果与分析

2.1 DNA 扩增结果:用 Operon 公司的 10 种 10 碱基随机引物,对苍术 10 个居群的 83 个个体进行扩增,所用引物及其核苷顺序见表 2 共扩增出 100 个

表 2 用于苍术 DNA 随机扩增的引物及其扩增片断数目

引物	5'→ 3'序列	扩增带数	多态性带数	引物	5'→ 3'序列	扩增带数	多态性带数
OPA-16	AGCCAGCGAA	17	13	OPB-08	GTCCACACGG	15	10
OPB-01	GTTTCGCTCC	12	10	OPB-09	TGGGGGACTC	9	5
OPB-02	TGATCCCTGG	13	10	OPB-11	GTAGACCCGT	7	4
OPB-04	GGA CTGGAGT	8	3	OPB-19	ACCCCGGAAG	8	4
OPB-06	TGCTCTGCCC	5	3	OPL-17	AGCCTGAGCC	6	3

片段,其中 65 个片段是多态的 (占 65%),说明苍术群体的遗传变异程度较高。

图 1 为引物 OPB-11 和 OPL-17 对部分苍术个体扩增的结果。图 1(a) 可见,片段 OPB 11-5000 稳定地出现在 Ta 居群中,其它居群的任何个体均无该位点,类似情形还见于其它引物的扩增结果,如 OPB 08-500 等,说明 Ta 与其它居群有较大的差异。

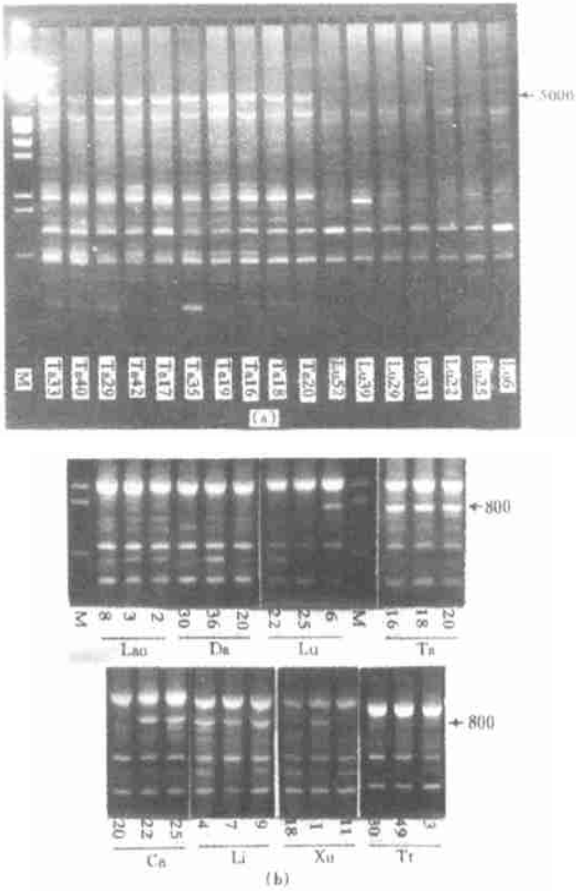


图 1 引物 OPB-11(a)和 OPL-17(b)对苍术部分个体 DNA 扩增的结果

由图 1(b)可以看出,位点 OPL 17-800 只在 Lu, Ta, Ca, Li, Xu, Hu 这 5 个居群中出现,这 5 个居群属于南苍术;在 Lao, Da, Tt 这 3 个居群均不出现,这 3 个居群属于北苍术。

2.2 苍术不同居群间的亲缘关系:根据扩增结果进行统计分析,计算两两居群之间 Jaccard 相似系数,距离系数矩阵见表 3。

将距离系数分别用单联法、全联法及类平均法进行运算,得聚类图,见图 2(a, b, c)。3种运算方法所得结果都表明所取苍术 10个居群可划分为 3个类群:大别山类群 (Ta) (类群 1);南苍术类群 (Xu, Li, Tt, Lao, Da) (类群 2);北苍术类群 (Lu, Wu, Ca, Hu) (类群 3)。由图 2还可看出,南苍术类群和北苍术类群之间遗传距离较近,而大别山类群与它们两者之间的遗传距离较远。

表 3 苍术两两居群间的遗传距离 (D)

居群										
1. Xu	0.0									
2. Li	0.169014	0.0								
3. Tt	0.273973	0.257143	0.0							
4. Lao	0.250000	0.278481	0.216216	0.0						
5. Da	0.233766	0.263158	0.222222	0.155844	0.0					
6. Ta	0.453488	0.464286	0.475610	0.438202	0.448276	0.0				
7. Lu	0.232877	0.263889	0.319444	0.353659	0.320513	0.400000	0.0			
8. Wu	0.289855	0.272727	0.307692	0.346667	0.285714	0.460526	0.261538	0.0		
9. Ca	0.184211	0.138889	0.289474	0.265060	0.250000	0.425287	0.272727	0.328767	0.0	
10. Hu	0.202899	0.208955	0.294118	0.333333	0.273973	0.443038	0.223881	0.229508	0.197183	0.0
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

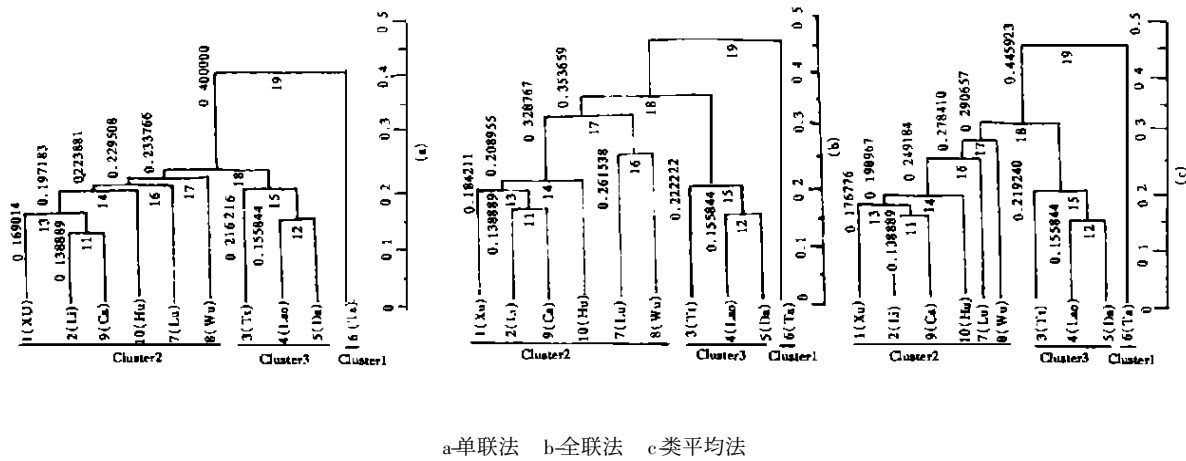


图 2 苍术 10个居群的 RAPD结果用 Jaccard 距离系数所作的树系图

3 讨论

3.1 苍术大别山居群的特殊性:武田^[5]等分析了苍术根茎中的精油成分,根据 6种主要化学成分含量的差异,将苍术分为 3种类型,Ⅰ)大别山类型,指湖北大别山地区的南苍术,Ⅱ)湖北-安徽类型,包括湖北(除大别山)、安徽的南苍术和陕西、河南(除嵩山)的北苍术,Ⅲ)茅山类型,包括江苏茅山地区的南苍术及江苏北部、河北、山东、河南嵩山的北苍术。在聚类图上,类群Ⅱ首先与类群Ⅲ相聚,再与类群Ⅰ相聚,而类群Ⅰ与前面两者之间的距离较远。

本文图 1(a)表明,大别山居群具有其它各居群所不具备的 DNA 扩增片断,表 3列出了 Ta与其它居群的距离,它们均在 0.4以上,远远大于其余居群相互之间的距离,3种运算方法所得聚类图(图 2)都更直观地显示了这一点。这一结果与武田^[5]的结果明显一致,说明不论是在精油成分的差异方面还是在 DNA 的差异方面,大别山类群与其它类群之

间的距离都较远。以往的文献报道均侧重于南、北苍术之间的差异,武田的结果和本次研究的结果则提示了大别山居群的特殊性。

3.2 南北苍术的相互关系:关于南苍术和北苍术的相互关系及学名的处理问题,以往我国文献^[1,2,10]均作为二个独立的种: *Atractylodes lancea* (Thunb.) DC. 和 *A. chinensis* Koidz. 两者的主要区别在于茎中部的叶的形态差异。石铸^[3]对苍术属 (*A. D C.*) 标本进行了系统整理,认为苍术是一个极大多型性的种, *A. chinensis* (Bunge) Koidz. 与 *A. lancea* (Thunb.) DC. 实为一物, *A. lancea* (Thunb.) DC. 就是苍术的合法名称。傅舜谟^[4]对苍术进行了化学成分的分析比较结果表明,两个类型在所含成分的种类方面没有本质的差异,仅在挥发油的含量方面,南苍术要比北苍术高,认为将北苍术定为变种 *A. lancea* (Thunb.) DC. var. *chinensis* (Bunge) Kitam. 较合适。

本试验从 DNA 水平上分析了南、北苍术之间的亲缘关系,结果表明, Wu Lu Hu Xu Ca Li 聚为一类,它们均属于南苍术; Ti Da Lao 聚为一类,它们均属于北苍术,这一结果与以往有南、北苍术之分的观点一致,但南北苍术之间的差异较小,将南、北苍术定为两个种显然是不妥的,故支持傅舜谟^[4]将北苍术定为变种 *A. lancea* (Thunb.) DC. var. *chinensis* (Bunge.) Kitam. 的意见

3.3 苍术化学成分的遗传变异特性: 武田 (Takeda)^[11] (1996)通过栽培试验认为,苍术精油成分的差异主要是由遗传变异引起的,环境因子也有一定的影响。在大别山居群与其它居群之间的关系上, RAPD 结果与精油成分的结果明显一致,因此又从 DNA 水平上证明了武田^[11]的观点,同时也为地道药材的引种栽培提供了分子水平上的依据。^{*}

致谢: RAPDistance 软件由澳大利亚的 Armstrong J. S. Gibbs A. J., Peakall R. 和 Weiller G. 等通过互联网提供的共享软件包,特此致谢。

参考文献

- 1 中国医学科学院药物研究所. 中药志 (第 1 册). 北京: 人民卫生出版社, 1979 152
- 2 刘慎谔,等. 东北植物检索表. 北京: 科学出版社, 1959 410
- 3 石 铸. 植物分类学报, 1981, 19(3): 318
- 4 傅舜谟,等. 植物分类学报, 1981, 19(2): 195
- 5 武田修己,等. Natural Med, 1996, 50(4): 289
- 6 汪小全,等. 植物学报, 1996, 38(12): 954
- 7 任冰如,等. 植物资源与环境, 1997, 6(4): 1
- 8 Jaccard P. New Phytologist, 1912, 11: 37
- 9 钟 扬,等. 数量分类的方法与程序. 武汉: 武汉大学出版社, 1990 35
- 10 中国科学院植物研究所编. 中国高等植物图鉴. 第 4 册. 北京: 科学出版社, 1975 600
- 11 Takeda O. et al. Chem Pharm Bull, 1996, 44(4): 832

(1999-05-24收稿)

余甘子的生药鉴定

广东省佛山市药品检验所 (528000) 罗干明* 吴子超
广东省佛山市医药商业总公司 徐纪文

摘 要 对余甘子的组织与粉末显微特征进行了鉴定,纠正和补充了原文献的研究结果,为余甘子的药材鉴别提供了依据。

关键词 余甘子 显微特征 鉴定

Pharmacognostical Identification of Emblic Leafflower (*Phyllanthus emblica*) Fruit

Foshan Institute for Drug Control (Foshan 528000) Luo Ganming and Wu Zichao

Foshan Commercial Company of Medicine Xu Jiwen

Abstract The histological characteristics and powdery appearance of *Fructus phyllanthi* were examined with optical microscope. Some of the features documented in the original literature were replenished and revised. The results may provide a basis for the identification of *Fructus Phyllanthi*.

Key words *Fructus Phyllanthi* microscopical identification

余甘子为大戟科植物余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实,历版《中华人民共和国药典》均有收载,为藏族习用药材。但青藏高原境内不产,而分布于福建、广东、广西、云南^[1,2]等地。广东民间习用其腌制品治疗咽喉肿痛。近报道^[3]认为其制品用于各种乙型肝炎有较好疗效。作者对其组织构造进行了研究,因与文献^[1,2]有异,现予报道。

1 实验材料

实验材料购自市场,并经作者鉴定为余甘子 *Phyllanthus emblica* L. 的干燥成熟果实。

2 药材性状

果实呈球形或扁球形,直径 1.2~2 cm,表面棕褐色至墨绿色,有浅黄色颗粒状突起,具皱纹及不明显的 6 棱。果核黄白色,坚硬,表面略具 3 棱,背缝线

* Address: Luo Ganming, Foshan Institute for Drug Control, Foshan

罗干明,男,1989年毕业于广州中医学院(现广州中医药大学)中药专业,获理学学士。职称:主管中药师。主要从事中药检验及质量标准制(修)订工作。现已发表论文 5 篇。