

不同栽培居群板蓝根性状及显微特征的变异研究

第二军医大学药学院(上海 200433) 刘 盛* 乔传卓

摘 要 为了探讨菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 与生药鉴定有关的种内变异,对 19 个不同栽培居群的板蓝根样品进行了实验研究。结果表明:不同居群的板蓝根在性状上可分为胶质和粉质两大类,它们的显微组织特征虽基本相同,但淀粉粒的大小、复粒数量占淀粉粒总数的比例不仅在两大类之间有显著差异,不同居群之间也有较明显的差异。聚类分析结果显示:不同栽培居群板蓝根性状特征的改变与淀粉粒特征的改变有关。经异地栽培试验证实,这种变异可能是遗传因素所致。在观察中还发现所有居群板蓝根淀粉粒均有偏光现象,但未见多脐点和半复粒淀粉粒存在。

关键词 菘蓝 板蓝根 性状特征 显微特征 淀粉粒 变异

植物基原为十字花科菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. (*Cruciferae*)的板蓝根^[1],在我国广为栽培,形成了不同的栽培居群。近年来,一些实验研究相继发现,不同产地的板蓝根药材或不同厂家生产的板蓝根制剂质量存在很大差异,例如在抗内毒素活性强度上差异就很大,有的产地的样品几乎无抗内毒素活性^[2~5],因而引起了药学工作者的极大关注。为了揭示不同产地板蓝根质量差异形成的原因,我们在原有的菘蓝植物学研究的基础上,又对其道地性进行了系统的研究。笔者仅就菘蓝种内与生药板蓝根鉴定特征有关的变异研究作一报道。

1 材料与方法

1.1 材料:生药样品于同一年的秋季收获季节,分别采收自河北、安徽、河南、山西、辽宁、山东、江苏、内蒙古、上海的 19 个产地(表 1),药材均经严格的鉴定。同时收集了大多为对口田块,少数为隔地田块播种的种子,在上海崇明岛新海国营农场的同一田块进行了异地栽培试验,并在植株开花期时经严格的鉴定,确认为菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. (2n=14)。

1.2 方法

1.2.1 性状与显微观察:在性状观察的基础上,取直径约 0.7 cm 的样品制作石蜡切片,普通光学显微镜下观察各部组织特征,又取主根按常法进行粉末制片,为了视野尽量干净,特削取形成层以外的部分(除去木质部),60℃烘干,研成细末,过 60 目筛,用蒸馏水装片,于普通光学显微镜下观察淀粉粒的形态特征。同时用 50%甘油装片,观察淀粉粒的大小,每一样品观察 5 个视野,每个视野测定 50 个淀粉粒。并用偏光显微镜观察淀粉的偏光现象,进行显微拍照。

1.2.2 数据处理与聚类分析:从观测得到的数据中提取以下 4 个特征值:A-淀粉粒平均直径(单位 μm);B-复粒数占淀粉粒总数之百分比;C-二分粒复粒数占淀粉粒总数之百分比;D-三分粒复粒数占淀粉粒总数之百分比。

选用系统聚类法中的类平均法(Average linkage)^[6],样品间距离为欧氏距离平方,类与类之间距离定义为两类间样品距离的平均值。

$$D_{KL} = \frac{\sum d(X_i, X_j)}{N_K N_L} \quad (i \in C_K, j \in C_L)$$

* Address: Liu Sheng, College of Pharmacy, The Second Military Medical University, Shanghai

刘 盛 男,27 岁,药剂师,1993 年毕业于第二军医大学药学本科,1998 年毕业于第二军医大学,获生药学硕士学位。现在兰州军区总医院临床药理基地工作,主要从事中药药理及质量评价的综合研究,并有志于中药作用机制的探索。硕士在读期间曾承担国家自然科学基金项目“菘蓝的道地性系统研究”部分工作。

递推公式为： $D_{JM} = (N_K D_{JK} + N_L D_{JL}) / N_M$

经计算机 SAS 软件处理数据后，得到聚类分析的树状谱。

2 结果与分析

2.1 生药性状考察：19 个居群板蓝根的性状特征概括描述如下：呈圆柱形，稍扭曲，长 10~20 cm，直径 0.5~1 cm。表面淡灰黄色或淡黄棕色，有纵皱纹及横生皮孔，并有支根或支根痕。根头部可见暗绿色或暗棕色轮状排列的叶柄残基和密集的疣状突起。体实，质硬或较软。断面皮部黄白色、白色或棕黄色，粉性或胶质，木质部黄色或深棕色。气微，味微甜后苦涩，不同居群板蓝根性状有差异，其中以质地最为显著，可分粉质和胶质两大类，粉质类中又有较明显的强弱之分(表 1)。

表 1 不同产地板蓝根的性状特征

样品编号	产地	性状特征	样品编号	产地	性状特征
1	阜阳	粉性一般	11	邢台	粉性足
2	泗县	粉性足	12	咸阳	粉性一般
3	亳州	胶质性	13	如皋	粉性一般
4	禹州	粉性足	14	临沂	粉性一般
5	赤峰	粉性足	15	安阳	粉性一般
6	太谷	胶质性	16	柘城	粉性一般
7	泰兴	粉性一般	17	菏泽	粉性一般
8	百泉	粉性足	18	临泉	粉性一般
9	沈阳	胶质性	19	上海	粉性一般
10	安国	胶质性			

2.2 显微特征考察：19 个不同居群板蓝根横切面组织特征基本相同，仅薄壁组织中所含淀粉粒的大小和多少有差异。粉末显微观察可将样品淀粉粒特征概括描述如下：单粒球形、类圆形、多角形、长椭圆形、三角形等。淀粉粒直径 1.5~34 μm 。脐点明显，呈点状、短缝状、V 字状等，层纹不明显。复粒多为二到三分粒组成，四分粒以上的少见。在偏光显微镜下观察所有淀粉粒均可见偏光现象。我们未见多脐点现象和半复粒存在。不同居群样品的淀粉粒之间的差异表现在淀粉粒的大小和复粒数占淀粉粒总数的比例，以及二分粒、三分粒复粒所占比例。异地栽培后的药材样品按同样方法进行观察，结果未见改变。

2.3 聚类分析：经显微测量将不同样品淀粉粒的差异量化，从中提取 4 个特征值(表 2)。

聚类分析的结果为树状谱(图 1)。

3 小结与讨论

3.1 聚类分析的结果显示，当 19 个样品分为两大类时，类与类之间距离最大，这种分类结果最为可靠，而且同药材性状上的差异基本相符，说明不同栽培居群的板蓝根宏观上性状的改变与微观上淀粉粒的变异是有一定关系的。曾有报道说菘蓝是个形态上有较大变异的种，主要表现在叶的形态上^[7]，如今我们又从根的特征考察中证实了这种种内变异现象是客观存在的，同时异地栽培试验在一定程度上排除了环境的因素，揭示了这种变异可能具有的遗传性。对于淀粉粒形态上的变异，我们推测可能同植物体内淀粉生物合成途径中诸多因素有关，尤其是合成中的关键酶-ADP 葡萄糖焦磷酸化酶(AGPase)^[8]，对此，我们将作进一步深入的研究。种内变异之具有重要的生物学意义者，是那些具规律性的，尤其是与生态或地理适应有关的居群水平的变异^[9]。在实验中，我们也观察到了居群内个体间存在的变异，但相对于不同居群之间变异则显得很微弱，不具有代表性和规律性。

表 2 不同样品的淀粉粒特征值

样品编号	A(μm)	B(%)	C(%)	D(%)
1	8.720	15.28	12.78	2.49
2	10.058	15.44	12.00	3.40
3	5.586	2.44	2.44	0
4	9.148	21.00	12.00	7.13
5	10.200	20.00	17.00	3.00
6	5.100	3.09	3.09	0
7	5.913	3.95	3.52	0.43
8	9.620	15.90	9.50	6.04
9	5.765	3.10	3.10	0
10	6.392	3.20	3.20	0
11	8.578	12.58	9.45	3.13
12	8.130	5.50	5.17	0.36
13	9.309	20.08	15.72	4.36
14	9.112	11.36	7.69	3.67
15	9.776	16.20	9.46	4.87
16	7.292	3.25	3.25	0
17	8.963	13.40	9.10	4.30
18	7.341	5.63	4.92	0.72
19	6.485	7.98	6.18	1.80

3.2 在对淀粉粒的观察中，我们发现除了淀粉粒大小同文献记载稍有出入外，多脐点单

粒和半复粒现象均未观察到,这也与以前记载不同^[10]。用蒸馏水装片时,在一些淀粉粒中的确可见2到3个稍深的点痕,易被认为是多个脐点,但改用50%甘油装片观察时,点痕现象均消失了,所以我们认为,所谓的多个脐点实际上只是淀粉粒某些地方皱缩后形成的痕迹,遇甘油充胀后即消失。为此,我们又用偏光显微镜观察,当检偏镜与起偏镜正交时,在黑暗的背景中可以看到明亮的淀粉粒,并有黑色的十字叉,其交点即是脐点的位置^[11],而多脐点与单脐点淀粉粒的这种现象不同,我们只见到后者,未见多脐点现象。

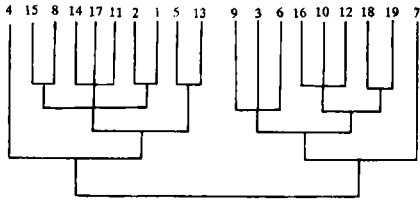


图1 聚类分析的树状谱

3.3 在对板蓝根道地性的系统研究中,我们发现无论是性状、显微、化学成分,还是药理活性,和制剂过程(后3个方面将另文报道),不同居群样品之间均表现出差异,而且这种差异之间具有一定的相关性。因而,我们认

为,菘蓝种内居群间的变异是造成生药板蓝根质量差异的重要原因,也就是板蓝根之道地性形成的重要因素。此外,有文献记载说板蓝根药材以粉性大者为佳^[12],而我们在包括药理实验的一系列研究中证实这种提法并不可靠。所以,直接观察到的某种变异,必须用药理实验来佐证,才能科学合理地评价药材的质量。总之,种内居群间变异对生药鉴定乃至质量评价都具有极为重要的意义,应该引起广大生药学工作者的高度重视。

参考文献

- 1 乔传卓,等.植物学报,1989,31(9):678
- 2 刘云海.中草药,1993,24(8):413
- 3 刘云海,等.中国中药杂志,1994,19(2):88
- 4 朱煜根.中成药,1990,12(4):10
- 5 许桢灿,等.中成药研究,1987,(12):9
- 6 方积乾主编.医学统计学与电脑实验.上海:上海科学技术出版社,1997:286
- 7 乔传卓,等.植物分类学报,1984,22(3):237
- 8 李 枏,等.植物学通报,1995,12(1):6
- 9 陈家宽,等主编.植物进化生物学.武汉:武汉大学出版社,1994:102
- 10 徐国钧主编.中药材粉末显微鉴定.北京:人民卫生出版社,1986:110
- 11 楼之岑,等主编.中草药性状和显微鉴定法.北京:北京医科大学出版社,1997:189
- 12 江苏新医学院编.中药大辞典.上海:上海人民出版社,1977:1250

(1998-08-10 收稿)

Studies on Variation of Character and Microstructure of Indigoblue Woad Root (*Isatis indigotica*) Among Different Cultivated Populations

Liu Sheng and Qiao Chuanzhuo (College of Pharmacy, Second Military Medical University, Shanghai 200433)

Abstract For the purpose to explore the variations occurred in the cultivation of *Isatis indigotica* Fort. that may affect its pharmacognostic identification, 19 samples of *Radix Isatidis* from different cultivated populations were collected and examined. On characteristic features, these samples could be classified into two categories: those that were gummy and those that were starchy. On microstructural examination, they were essentially similar, but with different sizes of starch grains and ratio between the number of compound starch grains to the number of total starch grains. Result of clustering analysis showed that the variations of starch grains and change of character were interrelated. Experiment of field cultivation in different localities proved that the variation might be genetically related. In addition, polarizing phenomenon could be observed in all starch grains of different samples. Semi-compound starch grains or multihilum simple starch grains were not found by polarizing microscope.

Key words *Isatis indigotica* Fort. *Radix Isatidis* variations in cultivated species