

黄芪种质资源的研究概况

钱 丹, 黄璐琦, 崔光红, 陈 敏*
(中国中医科学院中药研究所, 北京 100700)

[摘要] 介绍了黄芪的资源分布、环境影响因素、生物学特性、新品种培育等种质资源的研究进展, 探讨了黄芪种质资源的研究现状及当前中国黄芪种质资源研究存在的问题。提出了今后研究的思路: 加强黄芪植物种质资源的调查、收集、保存以及综合评价研究; 引进新技术新方法, 开展分子生物学及优良种质选育和保护研究。

[关键词] 黄芪; 种质资源; 生物学特性

[中图分类号] R282.71 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2009)04-0086-04

An Overview of Research on Germplasm Resources of Radix Astragali

QIAN Dan, HUANG Lu-qi, CUI Guang-hong, CHEN Min*

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

[Abstract] The distribution, collection, research of Chinese Radix Astragali resources were reviewed in this paper. Approaches for future research are discussed. Collecting and reserving Radix Astragali resources, strengthening the molecular biology research and innovating germplasm by modern biotechnology are emphasized.

[Key words] Radix Astragali; germplasm resources; biological characteristics

药用植物的种质资源广义上泛指一切可用于药物开发的植物遗传资源, 是所有药用植物物种的总和。而狭义上通常就某一具体物种而言, 包括栽培品种、野生种、近缘野生种和特殊遗传材料在内的所有可利用的遗传材料。种质资源研究是指对植物品种(类型)进行考察、收集、鉴定、评价、保存以及遗传学基础、起源和演化的研究^[1]。

黄芪药源一直以野生为主, 近年来由于国内外市场对黄芪药材的需求日益增加, 野生黄芪被大量采挖, 资源遭到严重的破坏。黄芪的种质资源的研究亟待深入。迄今为止, 对于黄芪本草考证、化学成分、药理药效等方面的研究报道较多, 但是, 黄芪植物种质资源方面的研究工作尚处在起步阶段。为此, 从黄芪的资源分布、环境因素、生物学特性等方面, 对黄芪种质资源研究与利用现状进行分析, 以期在今后深入研究和开发利用工作提出一些建议和参考。

1 黄芪的资源分布

黄芪是常用中药材, 其性微温, 味甘。具补气固表, 利尿, 托毒排脓, 敛疮生肌作用。《中国药典》中收载豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao 或膜荚黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. 的干燥根^[2]。

历史上商品黄芪以野生为主, 但是由于长期大量无序采挖, 没有对自然资源加以保护。目前野生黄芪资源几近枯竭, 大面积成规模的野生黄芪资源已十分少见, 文献记载^[3]仅在黑龙江大兴安岭地区的呼玛河流域及甘河、委勒根河流域、四川的阿坝、甘孜等偏远地区有部分的膜荚黄芪的野生资源。为缓解黄芪资源的不足, 进行了大规模的人工栽培。20 世纪 50 年代起, 先后在山西应县、浑源、繁峙; 内蒙古乌兰察布盟、鄂伦春旗、锡林郭勒盟、哲里木盟; 黑龙江宁安、嫩江; 陕西旬邑; 甘肃宕昌、岷县、陇西等地建立了黄芪生产基地, 同时原是产销区的部分省市也开展引种, 产量稳步上升。由于膜荚黄芪栽培过程中根部形态变异大, 易产生鸡爪根, 蒙古黄芪相对稳定, 因此近几年栽培品及商品黄芪的主流多是蒙古黄芪。

2 环境因素对黄芪的影响

蒙古黄芪和膜荚黄芪两者习性相近。多生长在海拔 800 ~ 1 300 m 之间的山区或半山区的干旱向阳草地上, 或向阳

[收稿日期] 2008-06-16

[基金项目] 国家科技十五支撑项目(2006BA108B05-03)

[通讯作者] * 陈 敏, Tel: (010) 64014411-2955; E-mail: cm315keke@163.com

林缘树丛间;植被多为针阔混交林或山地杂木林;土壤多为山地森林暗棕壤土。黄芪具有喜冷凉、耐旱性强和怕涝的习性。黄芪属深根系植物,栽培时要求土壤深厚,土质疏松,透水透气性能良好的砂质土壤。土壤反应以微酸性为好。凡黏重板结,含水量大的黏土以及瘠薄、地下水位高,低洼易积水之地均不宜栽培,更忌在盐碱地栽培。

黄芪在适宜的土壤中,根垂直生长,长可达1米以上,俗称“鞭竿芪”产量高,质量好。黄芪对土壤的要求虽然不是很严格,但土壤质地及土层厚薄不同对根的产量和质量有很大影响,土壤黏重,根生长缓慢,常畸形;土壤砂性大,根纤维木质化,粉质少;土层薄,根多横生,分枝多,呈鸡爪形,质量差。杨树春^[4]认为除品种因素外,土壤黏重、过湿、通气性差,地温低是形成外观品质差的鸡爪芪的主要原因。程滨^[5],吴亮^[6]分别对北岳恒山的生态环境和气象条件进行考察,认为气候冷凉湿润,昼夜温差大,空气质量好,灌溉水质质量优,土壤中重金属含量低,有机质含量高,土壤偏砂,是形成地道黄芪生长的独特生态环境。高的有机质含量和偏砂的土壤质地保证了黄芪能够充分均衡吸收土壤养分,同时有利于根系下扎,保证了优质“鞭竿芪”的形成。

环境因素不仅对黄芪的药材外观有影响,对黄芪有效成分亦有影响。张庆芝等^[7]研究不同产地和生长环境黄芪有效成分时发现旱地栽培黄芪有效成分含量高于水地黄芪。白效令^[8]等发现,在山西恒山地区不同地理气候因子下栽培的黄芪生长动态多糖含量等方面有明显差异。曹建军^[9]考察了不同光照强度和不同土质对黄芪品质的影响。认为适当的遮阴(45.4%)可提高单根重和根中多糖含量;黄芪皂苷含量随光强减弱而升高,因此遮阴有助于提高黄芪皂苷含量;在沙性的壤土中种植有利于黄芪的品质。有文献报道^[10]:黄芪质量的好坏与微量元素硒有很大的关系,越是质量好的黄芪,含硒量越高。用火原子吸收测定2个产地栽培蒙古黄芪中13种金属元素含量,不同地区黄芪中含量明显不同,说明原产地对中药材的质量具有重要意义。张强等^[11]的研究表明北岳恒山地道黄芪营养特征与产地土壤理化性状有一定相关性。

由此可见,黄芪的品质除与品种有很大关系外,与土壤、水分、光照、温度、海拔、经纬度、病虫害等有关。地理环境因子差异是造成不同产区黄芪有效成分含量及品质差异的主要原因之一。故了解光照、水分、土壤等环境因素对黄芪有效成分含量的影响有助于生产者选择合适的种植区及选择合适的栽培条件以提高黄芪药材品质。

3 黄芪生物学特性

目前对于黄芪生物学特性的研究,主要集中在繁殖方式、花粉学、细胞学、同工酶及分子生物学等方面。

3.1 繁殖方式 黄芪的繁殖以种子直播和育苗移栽为主。黄芪种子由于种皮内含物质在不良条件下迅速脱水和种脐结构紧密所致硬实,降低了出芽率,影响出苗率。故在播种前必须进行种子处理,打破种皮的不透性,提高出苗率。种

前可用沸水催芽、机械损伤或硫酸处理。

在生产上存在着人工栽培黄芪播种量大,发芽率低(3%~40%)。且难以保证全苗等实际问题。试验证明,黄芪直播苗的产量与育苗移栽的产量相比较,后者不仅在产量上可以提高10%,而且可集中利用时间和地力,移栽后的植株生长健壮、根茎生长整齐、便于人工采挖,提高了产量和质量。但是在移栽时忌伤主根,否则易形成鸡爪芪,影响质量,故应引起高度注意。

应用组织培养进行快速繁殖是黄芪繁育生产中的一条新途径。已有研究者确立了蒙古黄芪和膜荚黄芪的最佳繁殖培养基,成功的建立了黄芪的快速繁殖体系。组织培养技术与传统繁殖技术相比,大大缩短了繁育周期,促进了黄芪的商品化生产。

3.2 花粉学研究 有花植物的花粉形态因其稳定性、保守性和可靠性而在植物分类、系统发育、起源与演化等方面得到广泛应用。黄芪花粉壁的发育属单子叶型,成熟的花粉是二细胞型。膜荚黄芪的花粉粒近圆球形,萌发沟短而宽;蒙古黄芪的花粉粒长球形,萌发沟细。

王晓燕^[12]对蒙古黄芪花粉壁的发育及其花粉母细胞染色质转移进行了观察,发现花粉发育起源于多孢原细胞;花粉母细胞的染色质转移运动普遍存在于减数分裂过程中的各个时期,它们随时都可以进行这种运动,没有时间性与连续性。史刚荣^[13]对膜荚黄芪花粉壁的各层细胞在花粉发育过程中的动态进行了观察,分别考察了表皮、中层细胞、药室内壁、绒毡层在保护功能、提供营养、开花后散粉以及与小孢子发育中的作用。以上的研究为栽培、遗传育种等提供了理论基础。

3.3 细胞学研究 细胞学研究主要是依据染色体核型(染色体数目、大小、随体、着丝点位置等)和带型(C带、N带、G带)比较研究,即从细胞或亚细胞水平的研究中获得经典分类学在宏观研究上无法获得的信息,作为经典分类学研究的补充和印证。

对黄芪染色体数目和核型的研究已有一些报道。蒙古黄芪和膜荚黄芪均为二倍体,染色体数目为16。燕玲等^[14]研究发现膜荚黄芪的核型公式 $2n=2x=16=10m+6sm$,属IB型;蒙古黄芪 $2n=2x=16=8m+8sm$,属IC型。吴松权等^[15]则认为膜荚黄芪核型为 $2n=2x=8m(1SAT)+8sm$,蒙古黄芪染色体核型为 $2n=2x=6m+10sm(1SAT)$;核型对称性分别为2A和2B型。2004年李国泰^[16]首次对黄芪的染色体核型进行分析,通过对中期染色体形态的研究,得出其核型为 $2n=20M+2T=22$ 。

导致黄芪细胞学研究出入的原因,可能与所用材料来源产地不同、材料是非正品或试验方法不同有关,同时也不能排除黄芪染色体突变以及结构变异的可能性。

3.4 同工酶研究 植物体内许多蛋白质分子数量丰富、受环境影响小、分析简单快捷,能够更好的反映遗传多样性,是一种有用且可靠的遗传标记。

对黄芪生化研究主要是同工酶的研究。白效令^[17]的酯酶同工酶分析表明黄芪具有共有的特征谱带,并具有种的特异性。生长在恒山上的红杆、绿杆蒙古黄芪及有毛、无毛的膜荚黄芪在同工酶谱上存在明显差异。张丽萍^[18]利用同工酶电泳,根据各自特有的谱带区分蒙古黄芪和膜荚黄芪。谢小龙^[19]等对陇西栽培蒙古黄芪的种子进行了酯酶同工酶分析,认为陇西的栽培蒙古黄芪是一个复杂的异质群体,与其形态上的丰富多态性有一致性。

3.5 分子生物学研究 目前,黄芪分子生物学方面的研究还很少。张庆芝等^[20]利用 RAPD 技术对蒙古黄芪、膜荚黄芪和 4 种民间习用品梭果黄芪 *Astragalus ernestii* Comb.、苦黄芪 *Astragalus kialensis*、黑毛多枝黄芪 *Astragalus polyclodus* var *nigrescens* 和直立黄芪 *Astragalus adsurgens* Pall. 进行了研究。用 UPGMA 法进行聚类,得到亲缘关系图,认为梭果黄芪和正品有着较近的亲缘关系,另外 3 种民间习用品间有非常近的亲缘关系。吴松权等^[21]用 13 个 RAPD 随机引物对 14 份不同产地的黄芪样品进行扩增,聚类分析结果表明,供试材料可分为膜荚黄芪和蒙古黄芪两大类,与传统的分类结果一致。张曦等^[22]根据 DNA 谱带差异,鉴别岩黄芪属植物红芪和黄芪属植物蒙古黄芪与膜荚黄芪。

唐晓晶^[23]用 40 条 ISSR 引物进行筛选,确定引物 UBC866 为两种黄芪的鉴别引物,蒙古黄芪 716 bp 处出现一条单一条带,膜荚黄芪在 716 bp 和 1 017 bp 处出现两条明显的特异性条带,其中 1 017 bp 处的条带为膜荚黄芪的特征性条带,且条带稳定可重复。成功的鉴别了两个来源的黄芪。

分子方面的研究多侧重于遗传多样性,亲缘关系分析,对功能基因研究仅见于赵淑娟等^[24-25]从膜荚黄芪毛状根中分离得到的 GBSS(淀粉粒结合淀粉合成酶)基因并进行了序列分析,张丹凤^[26]从蒙古黄芪中得到黄芪异黄酮合成酶基因的克隆及序列分析,为以后利用植物基因工程手段提高药材品质的研究打下基础。

从上述分子生物学研究可以看出,虽然已经引入分子标记的方法,但是仅仅局限于 RAPD 和 ISSR,分析标记的种类不够广泛和深入。研究所用的材料较少,缺乏代表性和说服力,而且未与形态学进行紧密的结合。

4 黄芪新品种的培育

黄芪在长期栽培中各地培育出了部分品系。如甘肃省定西市旱作农业科研推广中心 1994 年到 2003 年采用混合选择法培育的蒙古黄芪新品系 94-01,山东省文登市选育出的优质高产多倍体膜荚黄芪新品种文黄 II,陕西旬邑县栽培的人工驯化的野生品种红高杆(属早花型膜荚黄芪)、晚花型膜荚黄芪等。但从总体上来看,广泛栽培的黄芪品种不多,品种良莠不齐,混杂退化严重,还未形成稳定的栽培品,新品种选育工作有待加强。

5 分析及思考

综合以上的文献可以看出,目前对黄芪种质资源的研究主要集中于环境因素影响、生物学特性等方面,虽然都取得

了一定的成果,但仍存在一些问题,值得进一步的思考。

对于蒙古黄芪和膜荚黄芪的分类问题,各家观点不尽相同,在蒙古黄芪和膜荚黄芪中存在多个变异类群,他们在形态上十分相似,难以区分。但从目前的分类情况来看,子房、荚果是否被毛,小叶排列紧密或稀疏是重要的分类学性状。因此建议采用居群的观点,立足于曾经发表过的,标本馆馆藏的有明确地理分布的种类,在形态和地理分布的基础上,借助现代分子标记技术,从 DNA 分子水平上的基因点估测等位基因频率,计算出遗传距离,采用遗传距离来研究一组分类单元的系统发育。从形态和分子两个方面来探讨黄芪的分类。

对黄芪的药用植物资源的现状缺乏了解,对黄芪的现在资源数量,濒危状况和群落的动态等方面的情况研究较少。应加强对黄芪种质资源的调研和保护,以利于可持续利用发展。加强调查,收集和保存工作,为黄芪野生资源和保存和保护提供更多的依据,为今后的遗传育种及开发利用提供物质基础,以实现黄芪资源的可持续利用。

目前人工培育的黄芪品种不多,大量的使用地方野生驯化种、农家驯化种或野生种。药农引种时存在盲目性,未经甄别和筛选,造成种源混杂。引种混乱造成黄芪种植区大多存在多个类群,品种生物学十分混乱,群体中个体分离、变异明显,造成品种退化,黄芪病害(多为白粉病、根腐病等)呈上升趋势。因此应通过对黄芪种质资源的研究,加强黄芪药材种植的规范化,推广先进的栽培技术,优化育种,保证并提高其产量和质量。通过对黄芪种质资源进行调研、收集和整理,利用现代分子生物学方法检测改种群间、种群内的遗传差异,筛选出优质黄芪品种,为黄芪的引种栽培,资源保护和选择育种提供有利的保证。

总之,针对近年黄芪在种质资源方面的研究情况以及存在的问题,作者提出了今后应加强黄芪植物种质资源的调查、收集、保存以及综合评价研究;引进新技术新方法,开展分子生物学及优良种质选育和保护研究。

[参考文献]

- [1] 马小军,肖培根.种质资源遗传多样性在药用植物开发中的重要意义[J].中国中药杂志,1998,23(10):579-581.
- [2] 国家药典委员会.中华人民共和国药典[S].一部,北京:化学工业出版社,2005:212.
- [3] 张兰涛,郭宝林,朱顺昌,等.黄芪种质资源调查报告[J].中药材,2006,29(8):771-773.
- [4] 杨树春,郭宝英,杨国会.如何避免黄芪种植中产生鸡爪芪[J].特种经济动植物,2001(6):26.
- [5] 程滨,张强,郜春花,等.北岳恒山地道黄芪产地生态环境评价[J].中国农业气象,2006,27(4):281-285.
- [6] 吴亮,杜少佳,岳鹏宇.浅谈恒山黄芪生长的气象条

- 件[J]. 山西气象, 2007, 2(79): 20-21.
- [7] 张庆芝, 吴晓俊, 刘 涤, 等. 影响黄芪有效成分含量的因子的研究[J]. 中草药, 2002, 33(4): 314-315.
- [8] 白效令, 倪 娜, 王 湘, 等. 北岳恒山黄芪的品质优势研究[J]. 中草药, 1994, 25(6): 317-319.
- [9] 曹建军. 中药黄芪种质资源及环境因素对品质的影响[D]. 西北农业大学硕士学位论文, 2006. 35-38.
- [10] 薛国庆, 韩玉琦, 周生寿, 等. 火焰原子吸收法测定不同产地栽培蒙古黄芪中 13 金属元素含量[J]. 药物分析杂志, 2006, 26(11): 1633-1636.
- [11] 张 强, 程 滨, 董云中, 等. 北岳恒山地道黄芪营养特征及产地土壤理化性状研究[J]. 水土保持学报, 2005, 19(6): 26-30.
- [12] 干晓燕, 申家恒. 黄芪花药壁的发育及其花粉母细胞染色质转移的细胞学观察[J]. 西北植物学报, 1988, 8(4): 207-211.
- [13] 史刚荣. 膜荚黄芪的胚胎学研究[J]. 淮北煤师院学报, 2003, 24(1): 27-34.
- [14] 燕 玲, 宛 涛, 张 众, 等. 膜荚黄芪与蒙古黄芪植物学特征分析[J]. 内蒙古农业大学学报, 2001, 22(4): 71-77.
- [15] 吴松权, 王立平, 孙丽娜, 等. 黄芪染色体核型分析[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(5): 631-633.
- [16] 李国泰. 黄芪染色体核型分析[J]. 中国林副特产, 2004, 4(71): 3-4.
- [17] 白效令, 王 湘, 张 莉, 等. 黄芪超微结构观察及其脂酶同工酶比较[J]. 中草药, 1994, 25(9): 479-482.
- [18] 张丽萍, 史 静, 陈 阳, 等. 蒙古黄芪和膜荚黄芪种子酯酶同工酶的研究[J]. 中国中药杂志, 2006, 31(18): 1534-1535.
- [19] 谢小龙, 胡延萍, 赵旭东, 等. 陇西栽培蒙古黄芪酯酶同工酶数量分析[J]. 中国科学院研究生院学报, 2007, 24(4): 525-529.
- [20] 张庆芝, 吴晓俊, 刘 涤, 等. 黄芪及其民间习用品 DNA 指纹图谱和有效成分含量的比较[J]. 中国药理学杂志, 2005, 40(6): 457-459.
- [21] 吴松权, 孙丽娜, 王立平, 等. 黄芪亲缘关系的 RAPD 分析[J]. 江苏农业科学, 2007: 144-145.
- [22] 张 曦, 徐 青, 黄璐琦, 等. 中药材黄芪的 DNA 指纹图谱鉴别[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(3): 33-36.
- [23] 唐晓晶. DNA 分子标记在中药材鉴定中的应用研究[D]. 中国中医科学院硕士学位论文, 2006. 93-95.
- [24] 彭佶松, 赵淑娟, 吴晓俊, 等. 黄芪毛状根 GBSSI 基 cDNA 克隆及其结构分析[J]. 植物学报, 2000, 42(9): 940-945.
- [25] 赵淑娟, 李学清, 刘 涤, 等. 黄芪毛状根淀粉粒结合淀粉合成酶(GBSS) 基因表达载体的构建及在大肠杆菌中的表达[J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(4): 36-38.
- [26] 张凤丹. 蒙古黄芪异黄酮合成酶基因的克隆及序列分析[D]. 福建农林大学硕士学位论文, 2004. 29-56.