



菘蓝不同栽培类型植物性状与质量评价研究

罗春红¹, 王康才^{1*}, 李同根¹, 刘倩倩¹, 邹立思²

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095;

2. 南京中医药大学中药学院, 江苏南京 210046)

[摘要] **目的:**对不同产地的菘蓝种质资源进行植物性状比较与质量评价研究, 以期为菘蓝优良品种选育工作奠定基础。**方法:**采用大田栽培, 随机区组法, 对不同产地引进的菘蓝叶、根、角果、种子等器官的植物性状进行比较, 并测定其根中有效成分 *R,S*-告依春和多糖的含量。**结果:**不同栽培类型菘蓝在叶、根、角果、种子形态方面存在显著差异, 根中 *R,S*-告依春和多糖含量也存在差异, 其中白菜叶型菘蓝(云南)的 *R,S*-告依春含量较高, 质量分数为 0.59%, 四倍体的多糖含量较高, 质量分数为 8.68%。**结论:**根据菘蓝的植物性状可将其分为白菜叶型、甘蓝叶型、芥菜叶型, 白菜叶型菘蓝(云南)的 *R,S*-告依春含量较高, 四倍体的多糖含量较高。

[关键词] 菘蓝; 栽培类型; *R,S*-告依春; 多糖

菘蓝 *Isatis indigotica* Fort. 为十字花科菘蓝属一年生或两年生草本植物, 其叶和根分别入药, 称为大青叶和板蓝根, 是我国传统的大宗药材。菘蓝在河北、安徽、江苏、河南、甘肃等多个省区均有栽培。在长期人工栽培过程中, 形成了一些具有不同特征的栽培类型, 不同产地菘蓝在 *R,S*-告依春含量等质量指标上也存在差异。为此, 本研究在广泛搜集国内菘蓝种质资源的基础上, 通过田间试验, 对不同产地引进的菘蓝进行植物性状比较和质量评价研究, 以期为菘蓝优良品种的选育奠定基础。

1 材料

供试材料由南京农业大学中药材研究所菘蓝课题组从国内主要菘蓝产地收集, 经王康才教授鉴定为十字花科植物菘蓝 *I. indigotica* 种子, 见表 1。

2 方法

2.1 试验设计

试验在校外实验基地进行, 于 2010 年 4 月播种, 以条播方式种植, 每个小区不少于 60 株, 小区设 6 行, 株距 10~20 cm, 行距 30~40 cm。随机区组排列, 重复 3 次。常规水肥管理。

表 1 10 份菘蓝种子来源

Table 1 Source of 10 seeds of *Isatis indigotica*

No.	样品名称	栽培产地	年-月
1	菘蓝	亳州	2009-05
2	菘蓝	安国	2009-05
3	菘蓝	内蒙古	2009-05
4	菘蓝	威宁	2009-05
5	菘蓝	芜湖	2009-05
6	菘蓝	云南	2009-10
7	菘蓝	甘肃	2009-11
8	菘蓝二倍体	北京	2009-12
9	菘蓝四倍体	北京	2009-12
10	菘蓝	陇西	2010-03

2.2 样品观测与采集

生长期取样观测叶片、根形态特征。2010 年 11 月采收菘蓝根样品, 每个品种类型样品随机采 10 株, 105 °C 杀青 15 min, 60 °C 烘干至恒重, 粉碎过 60 目筛(10 株混合粉碎), 备用。余下菘蓝植株田间越冬生长, 果实成熟后, 采收观测果实、种子的形态特征。

2.3 仪器与试剂

岛津 LC-20AT 高效液相色谱仪(UV-VIS 检测器 SPD-20A, N2000 色谱工作站), KQ-250B 型超声仪, *R,S*-告依春对照品由中国食品药品检定研究院提供(批号 111753-200601)。甲醇为色谱纯, 水为超纯水。

2.4 *R,S*-告依春的测定

2.4.1 色谱条件 色谱柱 Promosil C₁₈ (4.6 mm ×

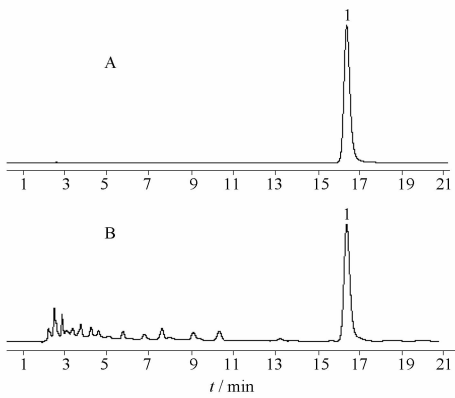
[稿件编号] 20111226017

[基金项目] 国家公益性行业(农业)科研专项(200903008-02-06)

[通信作者] * 王康才, 教授, Tel: 13770585253, E-mail: wangkc@njau.edu.cn

[作者简介] 罗春红, 硕士研究生, E-mail: 2009104152@njau.edu.cn

250 mm, 5 μm), 以甲醇-0.02% 磷酸溶液(7:93)为流动相, 体积流量 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 检测波长为 245 nm, 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, 进样量 10 μL , 外标法计算。在该色谱条件下, *R,S*-告依春分离效果良好, 见图 1。



A. 对照品; B. 样品; 1. *R,S*-告依春。

图 1 *R,S*-告依春的 HPLC 图

Fig. 1 HPLC chromatograms of *R,S*-goitrin

2.4.2 对照品溶液制备 称取 *R,S*-告依春对照品约 1.0 mg, 精密称定, 置于 10 mL 的量瓶中, 加水至刻度, 摇匀, 制成质量浓度为 0.121 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液。

2.4.3 供试品溶液制备 取板蓝根粉末(过 60 目筛)约 1 g, 精密称定, 置烧瓶中, 精密加入水 50 mL, 称定质量, 煎煮 2 h, 放冷, 再称定质量, 用水补足失重, 摇匀, 滤过, 取续滤液, 用 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 即得^[1]。

2.4.4 线性关系考察 分别精密吸取不同体积的对照品贮备溶液, 用水稀释, 依次配成质量浓度 3.03, 6.05, 8.07, 12.10, 24.20, 60.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 溶液, 按上述色谱条件测定, 进样 10 μL , 分别以对照品的浓度(X)为横坐标, 峰面积积分值(Y)为纵坐标, 得 *R,S*-告依春标准曲线 $Y = 60116X + 102383$, $R^2 = 0.9996$, 线性范围为 3.03 ~ 60.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 呈良好的线性关系。

2.4.5 精密度试验 精密吸取质量浓度为 60.50 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的对照品溶液 10 μL 注入液相色谱仪, 重复进样 6 次, 测得峰面积的 RSD 0.40%, 精密度良好。

2.4.6 重复性试验 称取同一来源板蓝根粉末(过 60 目筛)约 1 g, 平行 6 份, 按 2.4.3 项下操作制

备供试品溶液, 精密吸取 10 μL 注入液相色谱仪测定, *R,S*-告依春峰面积的 RSD 为 1.2%, 表明该方法重复性好。

2.4.7 稳定性试验 取同一供试品溶液 10 μL , 注入液相色谱仪, 间隔 4 h 连续进样 6 次, RSD 为 1.1%, 表明供试品溶液在 24 h 内稳定。

2.4.8 加样回收试验 取已测定的板蓝根粉末约 0.5 g(含 *R,S*-告依春 1.12 mg)共 6 份, 精密称定, 分别加入精密称定的 *R,S*-告依春 1.0 mg, 按 2.4.3 项下方法制备供试品溶液进行测定, 计算回收率, *R,S*-告依春的回收率为 98.76%, RSD 1.6%。

2.4.9 样品含量测定 分别吸取各供试品溶液 10 μL 注入液相色谱仪测定。

2.5 板蓝根多糖的测定

2.5.1 标准曲线的绘制 精密称取干燥至恒重的葡萄糖 1.000 g 加适量水溶解, 转移至 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 摇匀。精确吸取上述溶液 1 mL 加入 100 mL 量瓶中, 加水至刻度, 得 100 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准葡萄糖溶液备用。精确量取葡萄糖标准溶液 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mL 置干燥试管中, 加水使成 2.0 mL, 再加入 9% 苯酚溶液 1 mL, 摇匀, 然后从管液正面在 5 ~ 20 s 内加入浓硫酸 5 mL, 摇匀。比色液总体积为 8 mL, 在室温下放置 30 min, 在 485 nm 处测定其吸光度, 以吸光值为纵坐标、浓度为横坐标, 绘制标准曲线, $Y = 0.0076X + 0.0306$, $R^2 = 0.9992$ 。

2.5.2 换算因素的测定 称取过 60 目筛的板蓝根粉末 10 g, 经石油醚(60 ~ 90 $^{\circ}\text{C}$ 沸程)60 mL 在 70 $^{\circ}\text{C}$ 条件下回流脱脂 2 次, 每次 1 h, 以除去单糖和低聚糖。将残渣加 80 mL 水 90 $^{\circ}\text{C}$ 水浴提取 2 次, 合并提取液, 浓缩至 150 mL, 加适量活性炭(约 1% 左右)脱色, 过滤。滤液加 5 倍量 95% 乙醇, 静置后抽滤, 沉淀以 100 mL 水溶解, 重复沉淀 1 次。沉淀以 95% 乙醇、无水乙醇、丙酮、乙醚多次洗涤, 60 $^{\circ}\text{C}$ 干燥, 得板蓝根多糖。称取板蓝根多糖 50.0 mg, 置 100 mL 量瓶中, 加水溶解并稀释至刻度, 摇匀作贮备液。精密吸取贮备液 0.5 mL, 加水至 2 mL, 按测定标准曲线同样地方法测定其吸收值, 并按 $f = W/(C \times D)$ 式计算换算因素。式中, W 为多糖质量(μg); C 为多糖液中葡萄糖的质量浓度($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$); D 为多糖的稀释倍数。

2.5.3 样品测定 参考鲁建江等^[24]的方法, 按回归方程求出供试液中葡萄糖含量, 按下式计算样品



中多糖含量。

$$\text{多糖含量} = (C \times D \times f) / W \times 100\%$$

式中 C 为样品液中葡萄糖的质量浓度 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$), D 为稀释倍数, f 为换算因素, W 为样品质量 (μg)。

3 结果与分析

3.1 不同类型菘蓝叶片性状

不同产地来源菘蓝的子叶差异不大。幼叶:北京二倍体菘蓝幼叶正反面密被绒毛,叶缘有齿;安国

的叶面具稀疏绒毛,叶缘波状;云南幼叶则光滑无毛,全缘。莲座期成熟叶片:亳州菘蓝叶片绿色较浅,椭圆形,全缘,叶面有蜡质;安国菘蓝叶片绿色中等,蜡质较少,叶缘波状,叶面稍皱缩;陇西菘蓝叶片披针形,叶缘有较深缺刻;甘肃菘蓝叶片长椭圆形,表面有蜡质,叶面不平整,皱缩状;北京二倍体菘蓝叶片绿色较深,质薄表面无蜡质,叶片角度大,几乎贴近地面,叶柄基部花青苷显色强,呈紫色。不同类型菘蓝叶片性状统计见表2。

表2 不同类型菘蓝叶片性状统计 ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

Table 2 Leaf traits of different cultivation forms of *Isatis* ($\bar{x} \pm s, n = 20$)

cm

No.	原产地	子叶长	子叶宽	叶片长	叶片宽
1	亳州	2.06 ± 0.30c	0.66 ± 0.10cd	26.4 ± 2.0ab	5.7 ± 0.5gh
2	安国	2.12 ± 0.19bc	0.75 ± 0.08ab	17.8 ± 1.1f	9.0 ± 0.6c
3	内蒙古	2.54 ± 0.30a	0.70 ± 0.11bc	23.7 ± 1.3c	7.2 ± 0.6e
4	威宁	1.62 ± 0.13d	0.65 ± 0.04cd	26.1 ± 0.7b	6.5 ± 0.4f
5	芜湖	1.63 ± 0.10d	0.61 ± 0.09d	21.7 ± 1.5d	6.1 ± 0.8g
6	云南	2.27 ± 0.32b	0.62 ± 0.11d	23.6 ± 1.8c	7.8 ± 0.6d
7	甘肃	2.27 ± 0.32b	0.79 ± 0.13a	27.4 ± 1.0a	5.4 ± 0.4h
8	北京二倍体	2.17 ± 0.35bc	0.60 ± 0.08d	23.2 ± 1.9c	9.9 ± 0.9b
9	北京四倍体	2.10 ± 0.22bc	0.74 ± 0.12ab	26.7 ± 1.8ab	10.8 ± 0.7a
10	陇西	2.19 ± 0.37bc	0.61 ± 0.11d	20.3 ± 1.4e	5.8 ± 0.4gh

注:小写字母代表0.05水平差异显著(表3~5同)。

3.2 不同类型菘蓝根性状

在同样的栽培条件下,云南菘蓝根较长,主根粗壮,根的分枝比较少,内蒙古的根较短;安国菘蓝根直径较大,见表3。此外,安国菘蓝根横切面韧皮部

与木质部的比值也较大;四倍体菘蓝短缩茎粗大,至根处变细,根短小,见图2。由此看,四倍体菘蓝并不优于二倍体。

3.3 不同类型菘蓝果实和种子性状

表3 不同类型菘蓝根性状统计 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Root traits of different cultivation forms of *Isatis* ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

No.	原产地	根长/cm	根直径/mm	韧皮部/木质部
1	亳州	13.10 ± 1.38d	15.56 ± 1.59b	0.52 ± 0.05ef
2	安国	20.76 ± 0.69b	20.72 ± 1.76a	0.88 ± 0.06b
3	内蒙古	9.26 ± 1.00e	16.84 ± 1.67b	0.73 ± 0.09c
4	威宁	16.88 ± 1.49c	16.38 ± 1.05b	0.40 ± 0.01h
5	芜湖	16.14 ± 1.28c	16.12 ± 0.87b	1.01 ± 0.08a
6	云南	24.92 ± 1.83a	15.97 ± 1.54b	0.59 ± 0.03d
7	甘肃	13.35 ± 1.17d	13.64 ± 1.97c	0.45 ± 0.04g
8	北京二倍体	19.85 ± 0.59b	17.1 ± 1.05b	0.52 ± 0.05ef
9	北京四倍体	13.29 ± 1.87d	17.46 ± 1.45b	0.47 ± 0.02fg
10	陇西	15.82 ± 1.75c	15.65 ± 0.72b	0.57 ± 0.04de

不同类型的菘蓝角果在形状、颜色、果柄长度、千粒重等方面差异显著,种子的长度、颜色也有不

同。云南菘蓝角果倒披针形,果柄长,果皮色浅,角果基部楔形,顶部微凸,种皮褐色;北京四倍体菘蓝

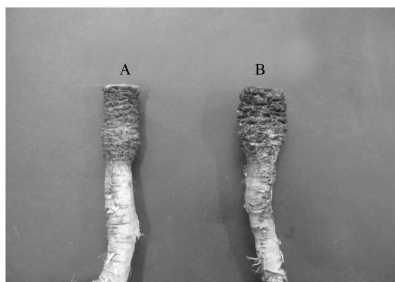


图2 菘蓝二倍体(A)与四倍体(B)根

Fig. 2 Root of diploid and autotetraploid *Isatis*

角果呈阔椭圆形,果柄短,角果基部圆形,顶部平截,千粒重达 12.007 3 g,种子短胖,种皮棕黄色;芜湖菘蓝角果长椭圆形,果柄较长,果皮蓝紫色较暗,种皮有光泽,色浅,见表4。

3.4 不同类型菘蓝根中有效成分含量

不同类型菘蓝根中 *R,S*-告依春的含量都达到了药典标准($\geq 0.02\%$),但它们之间存在显著差异,其中云南和陇西的相对较高,内蒙相对较低;多糖含量也存在显著差异,见表5。

表4 10份菘蓝果实、种子性状统计($\bar{x} \pm s, n=20$)

Table 4 Silique and seed traits of 10 different cultivation forms of *Isatis*($\bar{x} \pm s, n=20$)

No.	原产地	果身长/mm	果身宽/mm	果柄长/mm	千粒重/g	种子长/mm
1	亳州	16.52 ± 1.62a	4.34 ± 0.44c	7.63 ± 1.33c	8.796 3 ± 0.144 3e	3.73 ± 0.30b
2	安国	13.51 ± 1.12c	4.82 ± 0.34b	5.26 ± 0.83e	9.625 7 ± 0.140 0d	3.33 ± 0.25e
3	内蒙古	14.87 ± 1.36b	3.78 ± 0.31f	7.69 ± 1.56c	7.715 7 ± 0.161 6f	3.52 ± 0.25cd
4	威宁	14.27 ± 0.83bc	4.07 ± 0.37de	6.20 ± 0.93d	9.730 0 ± 0.098 1cd	3.66 ± 0.34bc
5	芜湖	15.94 ± 0.76a	4.11 ± 0.29de	9.08 ± 1.10b	9.913 0 ± 0.117 8c	3.75 ± 0.09b
6	云南	16.30 ± 2.01a	4.08 ± 0.47de	10.03 ± 1.41a	8.776 3 ± 0.180 1e	4.04 ± 0.31a
7	甘肃	16.71 ± 1.65a	4.00 ± 0.40def	7.96 ± 1.25c	11.117 7 ± 0.148 8b	3.59 ± 0.40bc
8	北京二倍体	13.81 ± 0.53c	4.23 ± 0.25cd	6.70 ± 0.65d	5.430 0 ± 0.074 1g	3.31 ± 0.18e
9	北京四倍体	12.71 ± 0.49d	5.34 ± 0.26a	6.13 ± 0.74d	12.007 3 ± 0.146 5a	3.38 ± 0.21de
10	陇西	16.32 ± 1.47a	3.95 ± 0.22ef	8.00 ± 1.44c	8.835 3 ± 0.069 5e	3.61 ± 0.23bc

表5 不同类型菘蓝根中有效成分含量

Table 5 Content of effective components of different cultivation forms of *Isatis* %

No.	原产地	<i>R,S</i> -告依春	多糖
1	亳州	0.20e	3.24e
2	安国	0.28c	5.11cd
3	内蒙古	0.05f	6.40bc
4	威宁	0.25d	4.87d
5	芜湖	0.25d	5.99bcd
6	云南	0.59a	4.94d
7	甘肃	0.28c	7.36ab
8	北京二倍体	0.20e	3.40e
9	北京四倍体	0.27c	8.68a
10	陇西	0.42b	6.61b

4 结论与讨论

菘蓝人工栽培历史较长,各主要产区地域间隔大,由于自然环境的差异,形成了具有不同特征的菘蓝类型。借鉴油菜类型的分类,根据本实验中观察结果,初步将菘蓝分为白菜叶型(如亳州、云南、内蒙古菘蓝等)、芥菜叶型(如安国菘蓝)、甘蓝叶型(如陇西菘蓝)3个类型。白菜叶型菘蓝叶片全缘,

披针形至椭圆形,叶面平整,有蜡质,绿色较浅;芥菜型叶缘波状,椭圆形至倒卵形,叶面皱缩,稍有蜡质或无,绿色中等或深;甘蓝型叶缘缺刻较深,披针形,叶面皱缩,有蜡质,绿色较浅。菘蓝不同类型的形成与当地的环境气候相关,是植物适应环境的结果,例如,甘蓝叶型菘蓝,叶片狭长,叶缘深裂,这样使得叶面积减小,从而降低叶片的蒸腾量,另外其叶面蜡质较多,也能有效减少蒸腾量^[5]。

种内变异和生态环境的差异导致了不同类型菘蓝的次生代谢产物积累有明显不同。文献报道,不同居群菘蓝叶中有机酸含量存在显著差异,不同产地来源菘蓝根中蛋白质和多糖含量也不同^[6-7]。*R,S*-告依春是《中国药典》2010年版规定的板蓝根成分指标,具有较强的抗病毒活性^[8],板蓝根药材中多糖成分占生药量的9.38%~22.09%,它具有显著的免疫促进作用^[9]。本实验发现不同类型菘蓝根中*R,S*-告依春、多糖含量存在显著差异,云南菘蓝*R,S*-告依春含量相对较高,陇西菘蓝次之,北京四倍体菘蓝多糖含量最高。有研究表明,药用植物有效成分在韧皮部与木质部的分布规律不同^[10-12],鄯丹等^[13]认为板蓝根



韧皮部和木质部之比与药效及化学成分相关,韧皮部-木质部为2:1和1:1药材样品活性强于韧皮部-木质部为1:2药材样品,可将韧皮部与木质部比值作为板蓝根质量鉴定的指标。本实验对不同类型菘蓝根横切面韧皮部与木质部的比例进行了统计,发现韧皮部-木质部为1:2时全根中 R,S -告依春含量较高,如云南菘蓝和陇西菘蓝,但它们与 R,S -告依春分布的关系还有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典. 一部[S]. 2010.
- [2] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2版. 北京:高等教育出版社,2000:205.
- [3] 陈奎,陈易彬. 板蓝根多糖提取工艺的研究[J]. 食品研究与开发,2007,28(4):57.
- [4] 鲁建江,王莉,顾承志,等. 板蓝根多糖的提取及含量测定[J]. 广东药学,2001,11(4):17.
- [5] 王勋陵,王静. 植物形态与环境结构[M]. 兰州:兰州大学出

版社,1989:64.

- [6] 王寅,尹茶,乔传卓,等. 不同栽培居群菘蓝叶中5种有机酸成分的含量差异[J]. 第二军医大学学报,1999(6):374.
- [7] 唐晓清,王康才,陈暄,等. 不同产地来源菘蓝根生物量、蛋白质和多糖含量比较[J]. 江苏农业学报,2007(3):224.
- [8] 徐丽华,黄芳,陈婷,等. 板蓝根中的抗病毒活性成分[J]. 中国天然药物,2005,3(6):359.
- [9] 何立巍,李祥,王洪兰,等. 板蓝根多糖的结构特征及活性研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(16):2179.
- [10] 章英才,杨军,李瑞. 掌叶大黄根多糖的积累分布特征[J]. 植物研究,2011,31(6):744.
- [11] 陈兰,许舒雯,任凤莲,等. 反相高效液相色谱法测定卫矛科植物韧皮部中雷公藤红素含量[J]. 理化检验·化学分册,2010,46(5):488.
- [12] 张雁,池建伟,魏振承,等. 葛根韧皮部总黄酮提取工艺及其抗氧化作用初探[J]. 食品工业,2010(3):12.
- [13] 鄢丹,韩玉梅,骆骄阳,等. 板蓝根木皮比与药效及化学成分的相关性分析[J]. 中药材,2011,34(1):43.

Plant traits and quality evaluation of different cultivation forms of *Isatis*

LUO Chunhong¹, WANG Kangcai^{1*}, LI Tonggen¹, LIU Qianqian¹, ZOU Lisi²

(1. College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2. College of Chinese Materia Medica, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[Abstract] **Objective:** To lay a foundation for the study on good variety selection of *Isatis indigotica*, comparison of plant traits and quality evaluation of *Isatis* germplasm resources from different production area was conducted. **Method:** Field cultivation and randomized block experiment were adopted to compare those plant traits of leaf, root, silique and seed of *Isatis* from different production area and the content of R,S -goitrin and polysaccharide in the root was determined. **Result:** Different cultivation forms of *Isatis* had significant difference from each other in leaf, root, silique and seed, content of R,S -goitrin and polysaccharide in the root were also different. R,S -goitrin content in *Isatis* of Chinese cabbage leaf type (production area: Yunnan) was comparative higher, 0.59%, while polysaccharide content in autotetraploid *Isatis* was comparative higher, 8.68%. **Conclusion:** According to the plant traits, *Isatis* were classified into three types: Chinese cabbage leaf type, cabbage leaf type and mustard leaf type, of which R,S -goitrin content in Chinese cabbage leaf type (production area: Yunnan) was comparative higher, while polysaccharide content in autotetraploid *Isatis* was comparative higher.

[Key words] *Isatis indigotica*; cultivation form; R,S -goitrin; polysaccharide

doi:10.4268/cjcm20121606

[责任编辑 吕冬梅]