

# 前胡属(*Peucedanum* L.)血清分类学研究\*

刘启新 惠红 余孟兰

(江苏省植物研究所, 南京 210014)  
中国科学院

**摘要** 利用琼脂板双扩散沉淀反应对我国前胡属(*Peucedanum* L.) 13种2变种的叶片蛋白质进行了血清学分析, 根据血清相似性将所分析的种类分成5个类群, 其中石防风(*P. terebinthaceum* (Fisch.) Fisch. ex Turcz.)、刺尖前胡(*P. elegans* Komarov)和白花前胡(*P. praeruptorum* Dunn)各自为一类群, 其余种类分别以华北前胡(*P. harry-smithii* Fedde ex Wolff)和华山前胡(*P. ledebourielloides* K. T. Fu)为代表分成二个类群。结合形态、地理等资料, 分别讨论了各血清学类群的种间关系和分类学问题。

**关键词** 前胡属; 伞形科; 血清分类学; 系统与演化

**Serotaxonomy of *Peucedanum* L. in China** Liu Qi-Xin, Hui Hong, She Meng-Lan (Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), *J. Plant Resour. & Environ.* 1998, 7(1): 20~26

Interspecific relationships of 13 species and 2 varieties of *Peucedanum* L. in China were studied by precipitation reaction with agar gel double diffusion for foliar proteins. According to the serological similarity, five serological groupings were detected by the cluster analysis and the polar ordination. These five groupings corresponded to *P. terebinthaceum*, *P. elegans*, *P. praeruptorum*; *P. harry-smithii* which is a representation of the grouping being 4 species and 1 variety, and *P. ledebourielloides* which is a representation of the grouping being 6 species and 1 variety. High serological similarity occurred between *P. harry-smithii* (including *P. harry-smithii* var. *grande*) and *P. ampliatum*. *P. mshanense* and *P. guangxiense* formed a very close serological unit, perhaps they were original in *Peucedanum* in China. *P. ledebourielloides* and *P. wawrae* had high serological similarity, and can be regarded as a new section in *Peucedanum*. Distinct protein difference were detected in *P. terebinthaceum* and *P. terebinthaceum* var. *deltoideum*. Serological data supported that the division of *P. terebinthaceum* and *P. elegans* belonged to two sections of *Peucedanum*, respectively.

**Key words** *Peucedanum* L.; Umbelliferae; serotaxonomy; systematics and evolution

前胡属(*Peucedanum* L.)隶属于伞形科芹亚科<sup>[1]</sup>, 经济价值较大, 拥有许多重要的药用种类<sup>[2]</sup>, 一直受到人们的重视, 得到愈来愈多的开发利用。该属也是伞形科中的大属之一(约有100~120种)。由于不同学者对其理解和掌握的标准不尽相同, 致使该属的界线(范围)和属

\* 国家自然科学基金资助项目

刘启新: 男, 1958年2月生, 硕士, 副研究员, 植物分类室副主任, 从事植物系统与演化研究。

收稿日期 1997-11-22

内分类差异较大<sup>[3]</sup>。虽然已经开展化学成分、染色体、花粉、解剖结构等研究<sup>[4,5]</sup>,但是涉及的种类很少,零散且不系统,难以对该属种间的演化关系形成较全面的认识,因而疑难问题较多。

植物血清分类学是解决植物系统学问题的有效方法之一<sup>[6,7]</sup>。然而我国的植物血清分类学研究报道却寥寥无几<sup>[8,9]</sup>。就伞形科血清分类学而言,从70年代开始至今已开展过亚科和族的研究,取得较好的效果<sup>[10-13]</sup>,但尚未开展过属级的研究,尤其是每分类群中仅选取极少数种类作代表,如涉及到前胡属的种类仅有(*P. pulastre* (L.) Maench)、(*P. officinale* L.)和(*P. morisonii* Bess.)。因此,本文利用血清分类学方法探讨我国前胡属种间关系和分类系统,为正确和有效地利用该属的药用资源提供理论依据。

## 1 实验材料及方法

**1.1 抗原制备** 所用实验材料均取自成年植株当年生新鲜叶片,被分析种类及产地见表1。

表1 前胡属供试种类及产地

Tab 1 The test species and locality of *Peucedanum* L.

样号 No.	供试种类 Species	产地 Locality
1	武隆前胡 <i>P. wulongense</i> shan et Sheh	四川武隆 Wulong, Sichuan
2	天竺山前胡 <i>P. ampliatum</i> K. T. Fu	陕西山阳 Shanyang, Shaanxi
3	广序北前胡 <i>P. harry-smithii</i> var. <i>grande</i> K. T. Fu	陕西华阴 Huayin, Shaanxi
4	华北前胡 <i>P. harry-smithii</i> Fedde ex Wolff	陕西山阳 Shanyang, Shaanxi
5	石防风 <i>P. terebinthaceum</i> (Fisch.) Fisch. ex Turcz.	吉林安图 Antu, Jilin
6	南岭前胡 <i>P. longshengense</i> Shan et Sheh	广西猫儿山 Maoershan, Guangxi
7	广西前胡 <i>P. guangxiense</i> shan et Sheh	广西武鸣 Wuming, Guangxi
8	竹节前胡 <i>P. dielsianum</i> Fedde ex Wolff	四川南川 Nanchuan, Sichuan
9	华山前胡 <i>P. ledebourielloides</i> K. T. Fu	陕西华阴 Huayin, Shaanxi
10	泰山前胡 <i>P. wawrae</i> (Wolff) Su	安徽滁县 Chuxian, Anhui
11	华中前胡 <i>P. medicum</i> Dunn	湖北恩施 Enshi, Hubei
12	白花前胡 <i>P. praeruptorum</i> Dunn	江苏南京 Nanjing, Jiangsu
13	宽叶石防风 <i>P. terebinthaceum</i> var. <i>deltoideum</i> (Makino ex Yabe) Makino	北京百花山 Beihuashan, Beijing
14	马山前胡 <i>P. mshanense</i> Shan et Sheh	广西马山 Mashan, Guangxi
15	刺尖前胡 <i>P. elegans</i> Komarov	吉林安图 Antu, Jilin

叶片按 1:5 (W:V) 的比例加入提取缓冲液(每 1 000 ml 含 0.19 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、0.75 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  及 25g  $\text{NaCl}$ )<sup>[10]</sup>,于冰浴中研磨成匀浆,低温下浸提,离心,上清液即为粗蛋白提取液,再用  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  分步沉淀法精制,所得蛋白质经透析后用提取缓冲液定容至 25 ml,并用紫外分光光度法测定蛋白质浓度,使溶液蛋白质浓度维持在约 1 mg/ml,即为抗原。

**1.2 抗血清制备** 抗原按 1:1 (V:V) 的比例加入福氏不完全佐剂,制成佐剂抗原。用新西兰兔作为免疫受体。先用佐剂抗原于皮下多点注射(0.5~1.5 ml),每天 1 次,连续注射 2 d,20 d 后同剂量加强注射 1 次,过 7 d 后采血测效价,并于兔耳处用不加佐剂的抗原(0.5~2.0 ml)静脉注射 1 次。10 d 后用心脏穿刺方式采血,制备抗血清。

**1.3 免疫双扩散反应** 采用 Ouchterlong 琼脂免疫双扩散法<sup>[14]</sup>。用 0.85%  $\text{NaCl}$  溶液配制成 1.0% 琼脂溶液,加热融化制板。抗原孔中加入按效价比例稀释的抗原溶液 20  $\mu\text{l}$ ,抗血清槽

中加入抗血清 150  $\mu$ l, 将琼脂板置湿盒中, 室温下扩散 24~48 h, 至沉淀线完全出现为止。

**1.4 琼脂板染色及干燥** 扩散后的琼脂板置于 0.85% 的 NaCl 溶液中浸泡 24 h, 改换蒸馏水继续浸泡 24 h, 室温下干燥, 并置于 0.6% 的氨基黑 10B 溶液中染色至沉淀线清晰, 然后用甲醇-冰乙酸(9:1)脱色。

**1.5 沉淀线分析与计算** 根据沉淀线的数目计算出单匹配系数(Ssm)和 Jaccard 系数(Sj), 然后对 Ssm 系数矩阵和 Sj 系数矩阵进行聚类分析和二维排序。

## 2 结果与讨论

### 2.1 免疫双扩散反应结果及分析

免疫双扩散反应的结果见图 1。从中可以看出各样品之间的抗原-抗体沉淀反应的强度有较大差异, 有的反应很强烈(沉淀线较宽且色深), 有的反应较弱(沉淀线较细且色浅)。各抗原与各抗血清的交叉反应强度总的表现出两大类, 一类是它们的抗原与其他前胡的抗血清都能产生强烈反应, 如武隆前胡、华北前胡、广序北前胡、天竺山前胡、刺尖前胡以及南岭前胡; 另一类是除上述 5 种以外的其余种类, 它们的抗原与其他前胡的抗血清并非都产生强烈交叉反应, 有的甚至没有交叉反应, 而且每种植物的反应强度均不相同。

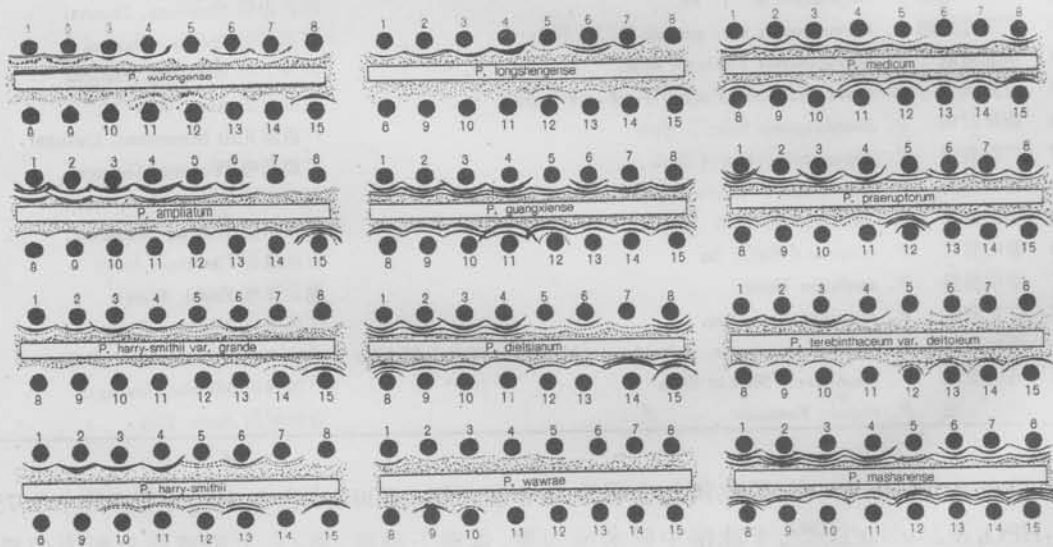


图 1 前胡属叶片蛋白质免疫双扩散沉淀反应图谱

Fig 1 The pattern of precipitation lines of double-diffusion produced from leaf proteins of some species of *Peucedanum* L. in China

1. *P. wulongense*; 2. *P. ampliatum*; 3. *P. harry-smithii* var. *grande*; 4. *P. harry-smithii*; 5. *P. terebinthaceum*; 6. *P. longshengense*; 7. *P. guangxiense*; 8. *P. dielsianum*; 9. *P. ledebourielloides*; 10. *P. wawrae*; 11. *P. medicum*; 12. *P. praeruptorum*; 13. *P. terebinthaceum* var. *deltoieum*; 14. *P. mshanense*; 15. *P. elegans*

从抗血清来看, 交叉反应所表现出的沉淀线数目差异较大(见图 2)。如白花前胡出现多达 6 条; 马山前胡最长达 5 条; 此外还有广西前胡、竹节前胡等, 它们的抗血清与各抗原之间的交叉反应沉淀线至少也有 2 条; 而泰山前胡、南岭前胡、宽叶石防风等, 它们的抗血清与各抗

原之间的交叉反应沉淀线最多只有 1~2 条,甚至没有沉淀线。因此,根据血清反应沉淀线的数目,可以看出某种前胡与其他前胡种类之间的血清相似性大小。根据血清相似性大小可以将抗原分成若干组群(groups),初步推测出前胡属各种间亲缘关系的远近(图 2)。如华北前胡,与武隆前胡、天竺山前胡、广序北前胡、白花前胡以及宽叶石防风等种最近,与马山前胡较远,而与竹节前胡和华山前胡最远。

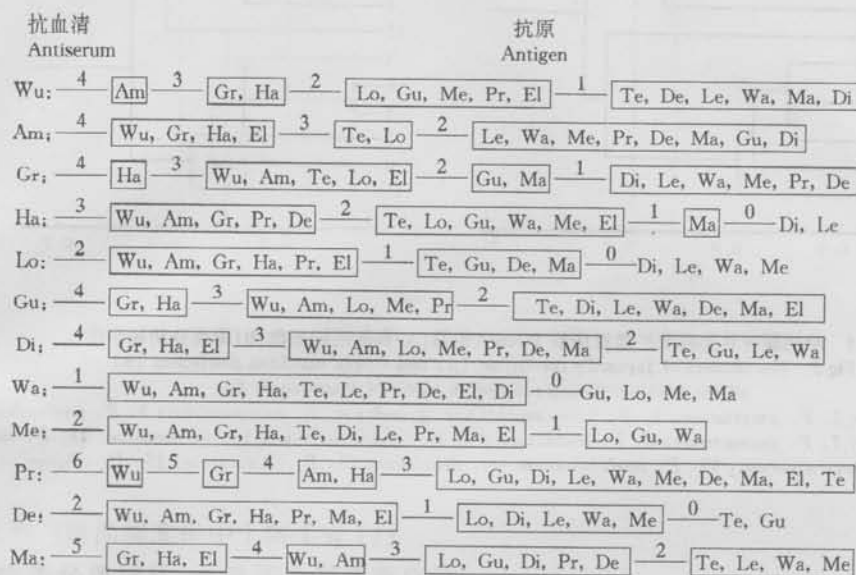


图 2 对应于各抗血清前胡属各种类血清相似性示意图

Fig 2 Simplified interpretation of the relative serological similarities in relation to each reference system

图中数字表示方框内各抗原与相应抗血清反应的沉淀线数 The numbers indicated the precipitation line number

Wu. *P. wulongense*; Am. *P. ampliatum*; Gr. *P. harry-smithii* var. *grande*; Ha. *P. harry-smithii*;  
Te. *P. terebinthaceum*; Lo. *P. longshengense*; Gu. *P. guangxiense*; Di. *P. dielsianum*; Le. *P. ledebourielloides*;  
Wa. *P. wuzuae*; Me. *P. medicum*; Pr. *P. praeruptorum*; De. *P. terebinthaceum* var. *deltoieum*;  
Ma. *P. mshanense*; El. *P. elegans*

## 2.2 前胡属的血清学分类

为了进一步探讨前胡属各种类间的亲缘关系和分类,进行系统聚类分析和二维排序(图 3, 图 4)。并彼此互相印证和补充。从图 3 可以看出根据两种系数获得的聚类图有一定差异,当  $\lambda=0.72$ (A)和  $\lambda=0.82$ (B)时,所有种类被分成相同的 3 类,但是当将它们的结合水平都提高 0.03(A:  $\lambda=0.75$ , B:  $\lambda=0.85$ )时, A 中被分成 4 类,石防风作为一独立类群被分出; B 中被分成 5 类,刺尖前胡和南岭前胡分别被分出,各成一类。而图 4 中的排序结果却兼有上述两种处理结果的特点。

综合上述分析结果,所有被分析的前胡种类被分成 5 类,其中一类以华北前胡为代表,包括广序北前胡、天竺山前胡、武隆前胡和南岭前胡(类群 I);一类以华山前胡(或泰山前胡)为代表,包括马山前胡、广西前胡、华中前胡、宽叶石防风和竹节前胡(类群 II);另外三类分别是石防风、刺尖前胡和白花前胡(类群 III、IV 和 V)(图 4)。

## 2.3 各血清分类群的种间关系和分类讨论

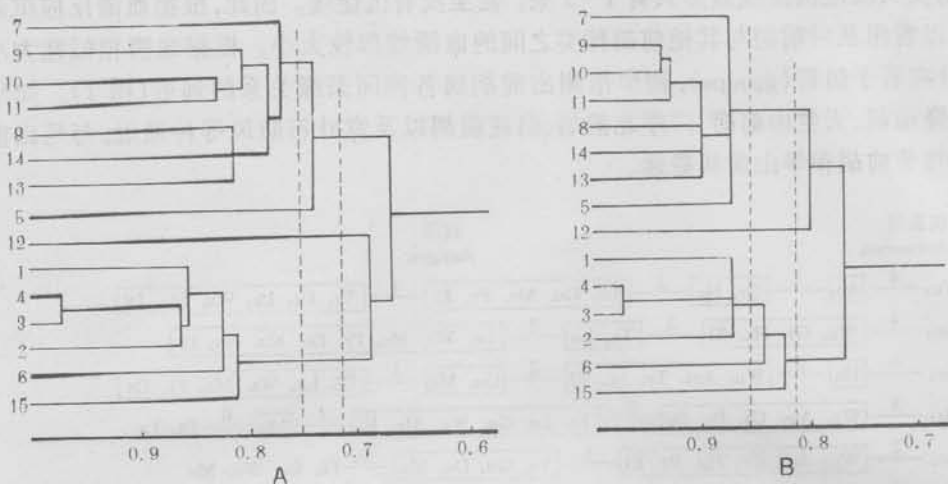


图3 前胡属叶片免疫双扩散反应的 Jaccard 系数(A)和单匹配系数(B)聚类分析树形图  
Fig 3 The clusters of Jaccard's coefficient (A) and simple matching coefficient (B) of the double-diffusion reaction in leaves of *Peucedanum* L.

1. *P. wulongense*; 2. *P. ampliatum*; 3. *P. harry-smithii* var. *grande*; 4. *P. harry-smithii*; 5. *P. terebinthaceum*;  
6. *P. longshengense*; 7. *P. guangxiense*; 8. *P. dielsianum*; 9. *P. ledebourielloides*; 10. *P. wawrae*; 11. *P. medicum*;  
12. *P. praeruptorum*; 13. *P. terebinthaceum* var. *deltoieum*; 14. *P. mshanense*; 15. *P. elegans*

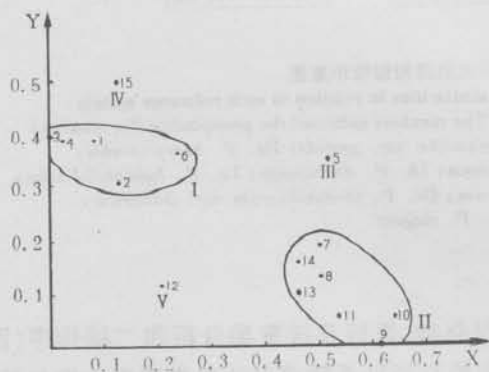


图4 前胡属植物免疫双扩散血清反应沉淀弧线相似度的二维排序(根据 Ssm 系数)

Fig 4 The polar ordination for the precipitation lines of double-diffusion precipitation reactions of *Peucedanum* L. (by Ssm)

1. *P. wulongense*; 2. *P. ampliatum*; 3. *P. harry-smithii* var. *grande*; 4. *P. harry-smithii*; 5. *P. longshengense*; 6. *P. guangxiense*; 7. *P. dielsianum*; 8. *P. wawrae*; 9. *P. medicum*; 10. *P. praeruptorum*; 11. *P. terebinthaceum* var. *deltoieum*; 12. *P. mshanense*; 13. *P. terebinthaceum*; 14. *P. ledebourielloides*; 15. *P. elegans*

(1) 在类群 I 中华北前胡和广序北前胡的血清亲缘关系很近,与经典分类相吻合。华北前胡以多毛(包括花瓣外侧)、叶干后带灰蓝色为特征,是分布于我国华北地区的特有种,散布于秦岭-大巴山、太行山、吕梁山以及阴山。广序北前胡以花序大、花梗长为特点,生长于秦岭和太行山山区,最初作为白花前胡的变种(*P. praeruptorum* Dunn var. *grande* K. T. Fu)<sup>[15]</sup>。但《中国植物志》考虑到其萼齿显著呈三角形,花序各部位均被绒毛,将其合并入华北前胡,作为变种处理。现血清反应相似性表明广序北前胡与华北前胡的亲缘关系很近,而与白花前胡的亲缘关系较远,从而进一步证明这种分类处理是合理的。

血清分析结果表明,天竺山前胡是与华北前胡亲缘关系相近的另一个种。该种特产于秦岭南坡,位于华北前胡分布区内,而非白花前胡分布区内,以叶片 1~2 回三出分裂、



叶轴极粗硬、小叶或最终裂片极扩大为特征。其叶片分裂式样和花瓣无毛等特征与白花前胡相同,但其花序、果实形状及毛被又与华北前胡特别是广序北前胡有共同之处。从血清反应的结果看,很明显它与华北前胡较近,与白花前胡很远。这种关系与酯酶同工酶的研究结果也一致<sup>①</sup>。可见它与华北前胡和广序北前胡都是发育于秦岭-太行山脉,彼此有着密切亲缘关系的一群植物。《中国植物志》根据果实侧棱宽度,将天竺山前胡与华北前胡分别置于山亮蛇床组(Sect. *Oreoselinum* (Adans.) Rchb.)和近亮蛇床组(Sect. *Selinoides* DC.)<sup>[1]</sup>,但血清学结果表明,它们的分类位置应作适当调整,以作为一组处理为宜。

(2) 在类群Ⅱ中,华山前胡和泰山前胡是两个典型的种类。血清交叉反应结果表明,它们与其他各种前胡间的相似性较小,并且泰山前胡抗血清只有与华山前胡抗原的反应比较明显,说明这两个种的血清相似性较大。另外,它们的形态特征也有许多相象之处,如萼齿显著,复伞形花序分枝多,且常二叉式展开,花序梗短,伞形花序小(径宽1~3 cm),伞幅少(3~8)等,这在前胡属中是比较独特的。华山前胡是傅坤俊先生在《秦岭植物志》中发表的一新种<sup>[15]</sup>,特产于秦岭山区,部分地区将其根作防风的地方品种使用,《中国植物志》中并未收载。从血清分析来看,应将其收入前胡属中,并建议将泰山前胡从原有山蛇床组中分出,可与其共同组建一新组。

广西前胡和马山前胡是第Ⅱ类群中另外两个比较特殊的种类。它们都是分布于我国广西石灰岩地区的特有种,植株木质化程度较高,根颈明显延长和分枝,叶片革质或近革质,末回裂片较宽且不具(或具)短柄。另外它们的染色体数为 $2n=20$ ,这在我国前胡属中是比较独特的,也是相对原始的<sup>②</sup>。由此可见二者有着密切的亲缘关系,在经典分类中将其同置于近亮蛇床组<sup>[1]</sup>,比较自然。血清反应结果也证明二者亲缘关系较近(图4)。此外,上述2种的抗血清与其他各种前胡抗原的交叉反应都有较强的活性和较多的沉淀线,说明它们之间有许多共性,但是二者的抗原与其他各前胡的抗血清反应却差异很大,沉淀线较少,说明二者又缺少其他前胡种类所具有的抗原,因此,与其他前胡种类相比这两个种仍有比较原始的倾向。

(3) 类群Ⅲ中石防风应自成一类(图4)。该种分布于我国东北和华北,以及日本、朝鲜和俄罗斯,是Ledebouriel(1844)从亮蛇床属(*Selinum* L.)并入前胡属中的,种下变异较多,曾先后发表过数个变种或亚种[var. *deltoideum* (Makino ex Yabe) Makino, 1908; var. *paishanense* (Nakai) Huang, 1977; var. *flagellare* Nakai, 1917; var. *aciculare* T. Inoue, 1957; subsp. *aculeolatum* Worosch., 1978]<sup>[16]</sup>。《中国植物志》认为我国石防风仅有1个变种,即宽叶石防风(var. *deltoideum*),在形态上宽叶石防风的叶片及末回裂片均较石防风的宽,并且叶质较硬而厚,边缘锯齿较大。但也有学者认为该种不属于前胡属,并以其作为模式种建立了一新属(*Kitagawia* M. Pimenov),新属中的该种[*K. terebinthacea* (Fisch. ex Spreng.) M. Pimen.]未再设种下分类单位<sup>[16]</sup>。根据本研究,石防风与国产前胡属其他种类之间确实存在一定差异,但是它与属内其他种间的亲缘关系并没有表现出十分疏远的程度,仅就血清分类学而言,石防风应自成一类,可建一新组,至于是否一定要从前胡属中分出,尚需更详尽的研究来阐明。从本研究结果来看,石防风和宽叶石防风的血清相似性却很小(图4)。

① 刘启新,惠红. 中国前胡属酯酶同工酶与种类演化和地理分布格局(待刊)

② 刘启新,惠红. 国产前胡属的核型及其系统演化(待刊)

因此不论石防风是否独立成属,它与宽叶石防风的分化程度应重新评价,它们的分类地位和彼此间的亲缘关系值得深入研究。

(4) 类群Ⅳ是刺尖前胡,分布于我国东北、朝鲜、日本和俄罗斯,以叶片的末回裂片线形,顶端具刺尖、总苞片多数、萼齿细小且不明显、果实侧棱翅状较宽为特征,是我国刺尖前胡组(Sect. *Elegantia* Garov.)的代表性种类<sup>[1]</sup>,也是本研究中该组的唯一种类。在新成立的*Kitagawia* Pimenov 属中,刺尖前胡也是被移入的种之一<sup>[16]</sup>。但从本研究结果看,该种不宜从前胡属中分出,以保留其原有组(section)的地位较为合适。

(5) 类群Ⅴ的白花前胡为我国特有种,主要分布于华中和华东地区,是重要的药用植物,不仅有长久的利用历史,而且有许多代用品,与其周围相睦邻的前胡种类近缘,如北部的泰山前胡,西北部的华北前胡、天竺山前胡以及长前胡(*P. turgenii* Wolff),西部的华中前胡、武陵前胡,南部的南岭前胡,东南部的台湾前胡(*P. formosanum* Hayata),东部沿海和岛屿的滨海前胡(*P. japonicum* Thunb.)等,多方位的种间接触和渗透,为它与上述种类广泛的基因交流提供了良好的条件。它与上述种类之间有较强的交叉反应充分反映出这一事实。与广西前胡和马山前胡相类似,白花前胡抗血清与各种前胡的抗原交叉反应沉淀线数目多,说明它与上述种类之间有较大的共性,然而白花前胡与各种前胡种类之间更确切的演化关系,有待进一步深入研究。

#### 参 考 文 献

- 1 单人骅,余孟兰主编. 中国植物志,第五十五卷第三分册. 北京:科学出版社,1992. 127~175.
- 2 中华人民共和国卫生部药典委员会编. 中华人民共和国药典,一九九〇年版(一部). 北京:人民卫生出版社,化学工业出版社,1990.
- 3 Pimenov M G, Leonov M V. The Genera of the Umbelliferae, A nomenclator. Kew: Royal Botanic Garden, 1993.
- 4 Heywood V H. The Biology and Chemistry of the Umbelliferae. London: Academic Press, 1971.
- 5 吴美玉,叶锦生,刘启新. 中药前胡核磁共振氢谱法鉴定. 植物资源与环境,1996,5(3):14~17.
- 6 Clausen J. Immunochemical Techniques for the Identification and Estimation of Macromolecules. Amsterdam: Elsevier/North-Holland Biomedical Press. 1982. 89~119.
- 7 Dahlgren R. Proteins and Nucleic Acids in Plant Systematics. Berlin: Springer-Verlag, 1983. 371~394.
- 8 季本仁,李 恒,冯唯诚等. 重楼属植物的免疫血清学研究. 云南植物研究,1986,8(2):323~332.
- 9 李万良. 植物血清分类学的进展. 生物科学动态,1989, (1):1~7.
- 10 Pickering J L, Fairbrothers D E. The use of serological data in a comparison of tribes in the Apiaceae. In: Heywood V H ed. The Biology and Chemistry of the Umbelliferae. London: Academic Press, 1971. 315~324.
- 11 Shneyer V S, Borschtschenko G P, Pimenov M G *et al.* A serological investigation of intergeneric relationships in *Apioideae* (Apiaceae). Bot Zhurn (Leningrad), 1991, 76: 245~257.
- 12 Shneyer V S, Borschtschenko G P, Pimenov M G *et al.* The tribe *Smyrnieae* (Umbelliferae) in the light of serotaxonomical analysis. Pl Syst Evol, 1992, 182: 135~148.
- 13 Shneyer V S, Borschtschenko G P, Pimenov M G. Immunochemical appraisal of relationships within the tribe *Peucedaneae* (Apiaceae). Pl Syst Evol, 1995, 198: 1~16.
- 14 Ouchterlong O. Handbook of Immunodiffusion and Immunoelectrophoresis. Arbor: Arbor Science Publisher, 1968.
- 15 中国科学院西北植物研究所编著. 秦岭植物志,第一卷(第三册). 北京:科学出版社,1981. 427~429.
- 16 Pimenov M G. A new Asiatic genus of family Umbelliferae. Bot Zhurn (Leningrad), 1986, 71(7): 942~949.

(责任编辑:宗世贤)