

殷墟大司空 M 303 出土的植物叶片研究

王树芝 路超 岳洪彬 岳占伟 赵志军

关键词: 殷墟 形态学 分子遗传学 随葬枝叶

KEYWORDS: Yinxu Morphology Molecular Genetics Plant Branches and Leaves as Grave Goods

ABSTRACT: Large amounts of plant branches and leaves were unearthed from Tomb No. 303 at Dasikong Village, Yinxu excavated in 2004. These plant remains were put around the rim of a bronze Zun-vessel. After careful sample recovering, they are subject to morphological and molecular genetics studies. The study results show that these plant remains were that of rosthorn bittersweet (*Celastrus rosthornianus* Læs) which belongs to Staff vine (*Celastrus*) Genus, *Celastraceae* Family. The reasons why this kind of plant was buried in the tomb would be that the people of the Shang Dynasty have known its medical function, or that these branches and leaves were used to cover the grave goods. That they could be preserved to the present would be because of the special taphonomic environment and their own components.

前 言

大司空遗址是殷墟的重要组成部分,其发掘为研究殷代墓葬的分期和陶器组合提供了十分重要的资料。2004 年春夏,中国社会科学院考古研究所安阳工作队对豫北纱厂早年所建厂房所在地点进行了补充发掘,共清理房基 70 余座,灰坑、窖穴和水井近 500 座,墓葬 480 余座,车马坑 4 座,获得了大批有价值的遗物。其中 2004AST 1418M 303(简称 M 303)保存完整,是此次发掘中出土遗物最为丰富的一座墓葬。M 303 与 M 225 为异穴并葬墓,位于 M 225 东侧 2 米处,长方形竖穴墓,葬具有棺和椁。有殉人和殉狗,随葬品丰富。椁内棺北侧是主要随葬品放置区,包

括所有的青铜礼器、大部分青铜兵器和大批陶器。其中大部分青铜礼器放在棺东北一隅,其中一件折肩尊(腹内有一件铜觚)放在椁室东北角^[1],在口部有叠压在一起呈薄饼状的数层植物枝叶(图一),枝条平行地朝一个方向放置(图二),厚度约 1 厘米。枝叶颜色为浅褐色,叶片很薄且柔软,已失去原有的强度和张力,稍一用力就会破碎,但叶片构造特征清晰可见。

一、出土叶片的取样

我们用木签和薄刀片将叠在一起的叶片轻轻拨开,取到了几片较完整的叶片,结构特征清晰。较大的叶片难取完整,取得个体都较小。此外,还取到了一些保存着叶片

作者:王树芝、岳洪彬、岳占伟、赵志军,北京市,100710,中国社会科学院考古研究所。

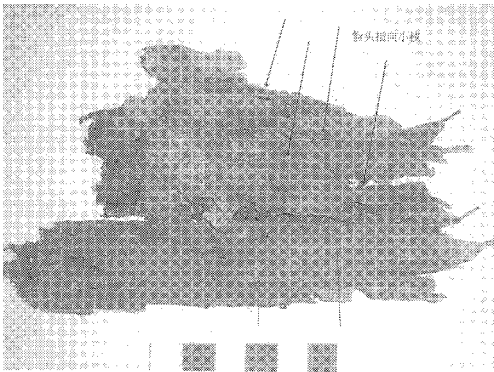
路超,北京市,100083,北京林业大学。

• 86(总 950) •

考 古



图一 枝叶在折肩尊口上摆放的情况



图二 枝叶平行放置的情况

着生方式的小枝。

二、研究方法

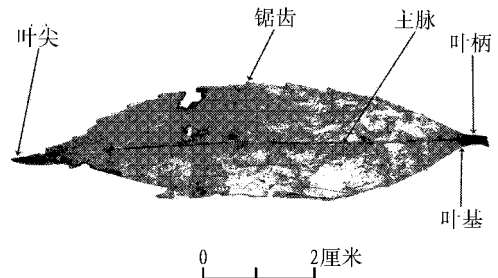
(一) 出土叶片的形态学研究

首先用尺子量测叶片的长、宽和叶柄的长度，记录 4 个叶片标本的叶形、叶尖、叶缘、叶基的形状及叶脉种类(表一)，并进行拍照(图三~ 六)。同样，对取到的小枝进行记录和拍照(图七)。

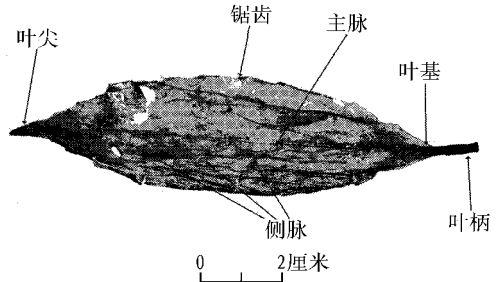
四件标本的主要特征大致相同，叶缘皆

表一 出土植物叶片和小枝特征

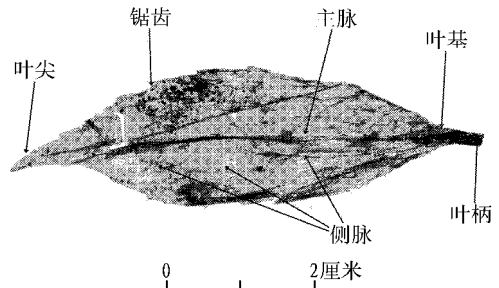
特征标本	叶长	叶宽	叶柄长	叶形	叶缘	叶脉	叶尖	叶基	小枝
标本一	7.5	2.0	0.6	椭圆披针形	稀疏浅锯齿	网状脉	渐尖	楔形	椭圆形皮孔
标本二	11.5	3.0	1.0	椭圆披针形	稀疏浅锯齿	网状脉	渐尖	楔形	椭圆形皮孔
标本三	7.8	2.0	0.8	倒卵状披针形	稀疏浅锯齿	网状脉	渐尖	楔形	椭圆形皮孔



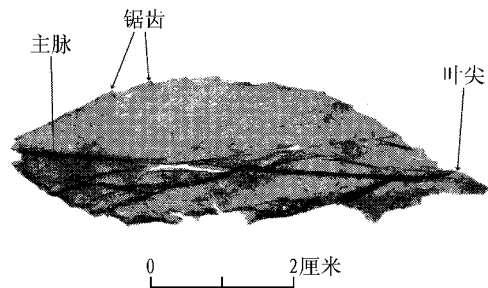
图三 叶片标本一



图四 叶片标本二

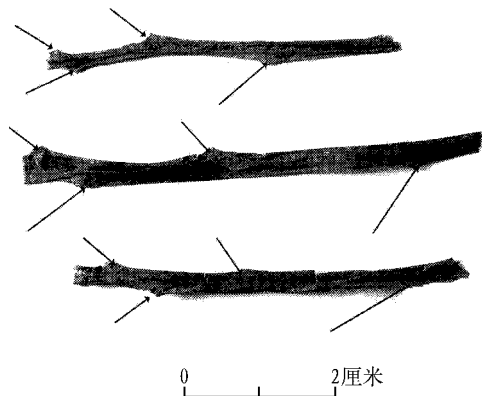


图五 叶片标本三



图六 叶片标本四

具稀疏浅锯齿，叶脉为网状脉，叶尖渐尖，叶基楔形。仅叶形一项不同，标本三为倒卵状披针形特，其他为椭圆披针形。四枚叶片大小和叶柄长度略有差异。鉴于同种植物的叶形会稍有变化而主要特征相同，断定出土叶片属同一种植物。需要说明的是没有取完整



图七 小枝标本(箭头指的位置为叶子存生的位置)

的大片叶片多是倒卵状披针形。

标本五为小枝,从小枝上可以看到叶片的着生位置为互生叶序。叶序是指叶在枝上的排列方式,有互生、对生、轮生和簇生四种。互生叶是指一个叶着生于每一节的一个面,而其上或其下的一个叶着生于节的另一面。(标本五)。

(二) 出土叶片的分子遗传学研究

1. DNA 的提取 试验参照王关林等提取和检测基因组 DNA 的方法^[2]进行,并进行了如下修改:将叶片研磨成粉末并迅速装入 5 毫升的离心管中,加入 1 毫升氯化钠、三(羟甲基)氨基甲烷、乙二胺四乙酸二钠核分离缓冲液,在温度 4 度、5000 转/分钟的离心机里分离 5 分钟,进行 2 次。弃去上清液,加入 3 毫升、温度为 65 度的 3% 十六烷基三甲基溴化铵 DNA 提取液。抽提时加入等体积的氯仿/异戊醇/无水乙醇(24/1/16),重复抽提操作 2 次。

2. 引物合成 试验参照翟焕趁等、王奇志等、泰博莱特(Taberlet)对多种植物核糖体 DNA 的内转录间隔区序列和 tRNA 基因编码间隔区内含子的研究^[3],各合成 3 对引物(上海生工合成),经过多聚酶链反应(PCR)筛选,最终确定核糖体 DNA 的内转录间隔区序列和 tRNA 基因编码间隔区内含子的各一对特异引物。

引物序列: trnL CGAAATCGGTA-

GACGCTACG(第一对引物的上游序列)

trnF ATTTGAACTGGTGACACGA
G(第一对引物的下游序列)

ITSF TCCGTAGGTGAACCTGCGG
(第二对引物上游序列)

ITSR TTCTCCGCTTATTGATAT-
GTAAACTC(第二对引物的下游序列)

反应体系为 2.5 微升 10 倍 PCR Buffer, 2 微升 MgCl₂, 2 微升 dNTPs, 1 微升上、下游引物(10 微摩尔/升)、1 微升 DNA 模板, 0.2 微升 Taq 酶 5 单位/升, 加灭菌超纯水后总体积为 25 微升。

在多聚合链式反应仪中反应程序为: 第一步: 1 个循环, 在温度 95 度下变性 5 分钟; 第二步: 35 个循环, 94 度下变性 30 秒, 48 度下复性 30 秒, 72 度下延伸 120 秒; 第三步: 1 个循环, 72 度下延伸 10 分钟。然后将反应产物点入 2.0% 琼脂糖凝胶中, 在 110 伏下电泳 40 分钟观察反应结果。

3. 目的片段的回收和重组 把 PCR 扩增得到的目的片段利用胶回收试剂盒, 从琼脂糖凝胶上回收, 连接于 pMD18T 载体, 在 16 度温度下放置 4 小时。转化到 DH5α 大肠杆菌感受态细胞中, 涂布于含有安苄选择培养基的平板上, 震荡培养。然后, 在 24 小时内挑选阳性克隆接种到含安苄的液体培养基中震荡培养。最后, 直接吸取阳性克隆培养液 1 微升作为模板, 按照上述引物合成中 PCR 反应体系进行扩增。

4. 目的片段的测序及分析 对含有目的片段的重组质粒菌液进行测序。对测序结果进行初步分析, 推导外显子编码的氨基酸序列, 利用美国国立生物技术信息中心(NCBI)中序列对比搜索引擎 BLAST 进行了同源性比对。

三、研究结果与分析

(一) 分子遗传学研究结果

1. 多聚酶链反应(PCR)产物的扩增和克隆 根据已有的几种植物的核糖体 DNA

的内转录间隔区 (ITS) 序列和 tRNA 基因编码间隔区(trn) 内含子基因片段各筛选出一对特异引物, 利用 PCR 技术从样品的全 DNA 中分离得到核糖体 DNA 的内转录间隔区 (ITS) 序列和 tRNA 基因编码间隔区 (trn) 内含子的基因片段。各扩增出一条长度约为 700 碱基对 (bp) 和 400 碱基对 (bp) 的 DNA 片段 (图八)。

多聚酶链反应 (PCR) 产物纯化后直接与 pMD18-T 载体连接, 采用氯化钙 (CaCl₂) 法制备大肠杆菌感受态细胞, 连接产物 8 微升转化大肠杆菌感受态细胞, 取 100 微升菌液涂布于含 5- 溴-4 氯-3 吡啶-β-D- 半乳糖苷和异丙基-β-D- 硫代半乳糖的筛选培养基 (含氨苄青霉素) 平板, 37 度温度下培养 24 小时后挑取几个白色菌落分别接种于加有氨苄青霉素 50 微克/ 毫升的 Luria-Bertani(LB) 液体培养基中, 37 度温度下培养至对数生长后期。重组质粒进一步采用多聚合链式反应(PCR) 法筛选, 反应体系同前。图九为样品核糖体 DNA 的内转录间隔区 (ITS) 序列和 tRNA 基因编码间隔区 (trn) 内含子同源基因片段的菌落多聚合链式反应(PCR) 扩增图。

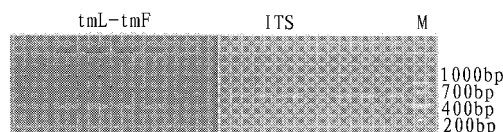
2. 目的基因序列分析 通过多聚合链式反应(PCR), 扩增出了一条长度为 610 碱基对的核糖体 DNA 的内转录间隔区 (ITS) 序列片段和一条长度为 385 碱基对的 tRNA 基因编码间隔区 (trn) 内含子基因片段。

利用序列对比搜索引擎 BLAST 工具搜索美国国立生物技术信息中心(NCBI) 基因数据库, 进行序列比较。核糖体 DNA 的内转录间隔区 (ITS) 序列的搜索结果显示样品的序列与千屈菜科 (Lythraceae) 的十种已知植物的同源性在 85% ~ 74% 之间; tRNA 基因编码间隔区 (trn) 内含子的结果显示样品的序列与卫矛科 (Celastraceae) 的 24 个属中 87 个种已知植物的同源性在

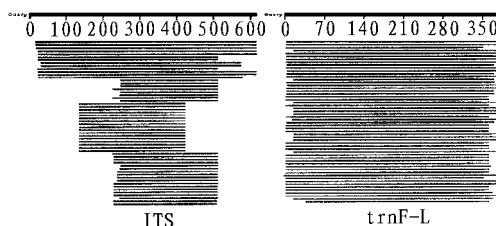
第 10 期



图八 样品 ITS 和 trnF 同源基因片段的 PCR 扩增



图九 样品 ITS 和 trnL- trnF 同源基因片段的菌落 PCR 扩增



图一 ○ 样品 ITS 和 trnL- trnF 同源基因片段 BLAST 搜索结果

77%~ 65% 之间 (图一 ○)。

通过上述两项对比, 试验的搜索结果是出土植物应为千屈菜科 (Lythraceae) 或卫矛科 (Celastraceae)。

(二) 形态学研究结果

在分子遗传学研究的基础上, 我们又基于小枝和叶的特征进行了进一步鉴定。

分子遗传学的鉴定结果认为植物叶片属于千屈菜科或卫矛科。千屈菜科叶片具有如下特征: 叶对生, 叶片的边缘为全缘 (叶缘成一连续的平线, 不具任何齿和缺刻), 无托叶。由于出土植物叶片的叶缘具稀疏浅锯齿, 叶互生, 所以不是千屈菜科的叶片。卫矛科有互生叶, 而且叶缘具锯齿。因此, 出土植物应该属于卫矛科。卫矛科植物南蛇藤属短梗南蛇藤, 是单叶互生; 叶柄长 5~ 15 毫米; 叶片倒卵状披针形或椭圆披针形, 长 4~ 11 厘米, 宽 3~ 6 厘米, 叶尖渐尖, 叶基微楔形, 叶缘具稀疏浅锯齿^[4] (图一一)。短梗南蛇藤的叶片与标本叶片特征相同, 因此鉴定

• 89 (总 953) •



图一 短梗南蛇藤的枝叶
(引自《中国高等植物图鉴》, 科学出版社, 2002)

M 303 出土植物为短梗南蛇藤 (*Celastrus rosthornianus* Loes.)。

四、讨 论

(一) 关于研究方法

传统的植物系统与分类, 不管其为何种学派, 其理论基础都是建立在分类群的性状分析基础上, 无论这些性状是来自形态学、解剖学、孢粉学、细胞学, 还是植物化学都是表现型。从分子遗传学角度来看, 表现型的差异归根结底应追溯到基因型的差异, 即在 DNA 序列上的差异, 而对基因序列差异的比较研究无疑为植物系统与进化提供最直接的证据, 也是植物分类的依据^[5]。所以, 我们采用传统的形态学方法与分子遗传学方法同时对出土叶片进行研究, 极大地提高了鉴定的准确率。

在分子遗传学研究中, 选用了 ITS 和 trnL-trnF 这两个比较常用的基因片段, 对植物进行初步的系统分类查找。一些研究表明, trnL-trnF 非编码区在一定分类水平上适用于系统关系重建, 如近缘科间、亚科间、

族间或属间^[6], 但在大多数情况下, 这一区域的序列变化并不足以解决种间关系。而在被子植物中, ITS 区既具有核苷酸序列的高度变异性又有长度上的保守性, 说明这些间隔区的序列很容易在近缘类群间排序, 而且丰富的变异可在较低的分类阶元上 (如属间、种间) 解决植物系统发育问题。在分子遗传学研究中, 选用 ITS 和 trnL-trnF 这两个比较常用的基因片段, 对出土植物进行系统分类查找, 既考虑了近缘科间、亚科间、族间又考虑了属间、种间的变异。

(二) 古人随葬枝叶的用意

短梗南蛇藤是藤本灌木, 高可达 7 米。花雌雄异株; 雄花序顶生及腋生, 3-7 花, 花黄绿色; 雄花具杯状花盘, 雄蕊着生于花盘边缘, 退化雌蕊短柱状; 雌花有退化雄蕊, 子房与杯状花盘离生, 花柱细长, 柱头 3 列, 每列 2 叉分枝, 蒴果近球状, 径约 1 厘米。种子 3-6 颗, 具橙红色假种皮, 具有观赏特性。根皮可入药, 具有清热解毒, 祛风除湿功能。该植物产于甘肃、陕西西部、河南、安徽、浙江、江西、湖北、湖南、贵州、四川、福建、广东、广西、云南, 生于海拔 500~1800 米的环境中^[7]。近年来从南蛇藤属植物中得到了多种 β-二氢沉香呋喃型倍半萜和 friedlane 等型三萜, 其中一些具有昆虫拒食、抗肿瘤和细胞毒性^[8]。

大司空 M 303 内的敞口折肩尊的口部盖有数层短梗南蛇藤植物枝叶, 可能有如下两种原因。

首先, 在大司空文化时期, 古代人类有可能认识到短梗南蛇藤的药用价值。

在距今 8000 年前后的浙江萧山跨湖桥新石器时代早期遗址出土一件绳纹小陶釜 (T0411⑧A: 25), 内盛有一捆形状相近的植物茎枝, 枝长约 5~8 厘米, 单根直径 0.3~0.8 厘米, 共 30 余根。陶釜外壁有烟熏火燎的痕迹, 发掘者认为煎煮的可能是中

草药^[9]。在藁城台西商代遗址中期墓葬随葬品标本 04 号罐内,除有豆科草木樨的种子外,还夹杂着小枝和小碎木块,草木樨可药用,有清热解毒之效^[10]。在属于周文化范畴的高家堡戈国一到四号墓,在敞口的簋、等器物内,沙参叶似原覆盖于部分器物之上,在有盖器物上粘附着沙参叶^[11],沙参具有药用价值,上述新石器时代和商周时期的材料或可说明古人很早就懂得用药。因此,大司空文化时期古人认识到短梗南蛇藤的药用价值也在情理之中。

其次,覆盖随葬器物。

《说文》(段注本):“𠔁,鼎覆也。从鼎,冂、冂亦声”。段玉裁《注》:“此九字各本无。以篆,解牛头马脯而合之,今补正。见《礼经》,所以覆鼎,用茅为之,今本作𠔁,正字也。……古者覆巾谓之𠔁,鼎盖谓之𠔁,而《礼经》时亦通用。”

《说文·鼎部》:“𠔁,以木横贯鼎耳而举之。从𠔁,冂声”。《周礼》:“庙门容大𠔁七,即易玉铉大吉也。”《仪礼·士昏礼》:“设肩𠔁。”郑玄《注》:“𠔁,覆之。”《玉篇·鼎部》:“𠔁,覆樽巾也。又𠔁盖也。”在大司空 303 号墓随葬品敞口折肩尊的口部,有数层叠压在一起的植物枝叶,这些枝叶都是细嫩的小枝,有可能起布巾的作用,覆盖随葬器物。

(三) 枝叶的保存情况

发掘者在发掘时发现墓葬中只有折肩尊上的叶片新鲜如初,周围的其他植物遗存都已经炭化。叶片的长期保存,是由于叶片本身固有的化学成分具有防腐作用,还是由于墓葬中的环境使植物枝叶能长期保存,值得进一步探讨。

五、结 论

通过对 303 号墓敞口折肩尊口部的植物枝叶进行分子遗传学和形态学两方面的研究,我们认为,该植物枝叶属于卫矛科南蛇藤属短梗南蛇藤(*Celastrus rosthornii*

anus Loes.)。药用植物短梗南蛇藤的发现,对于研究我国医药卫生史、民俗和礼仪以及现代医药的开发具有重要意义。

附记:本研究得到了科技部国家科技支撑计划(课题编号:2006BAK21B02)资助。本文覆盖随葬器物部分承蒙冯时研究员的帮助,在此深表谢意。

注 释

- [1] 中国社会科学院考古研究所安阳工作队:《殷墟大司空 M303 发掘报告》,《考古学报》2008 年第 3 期。
- [2] 王关林、方宏筠:《植物基因工程》第 744 页,科学出版社,2002 年。
- [3] a. 翟焕趁、宋亚娜、郑伟文:《福建青梅 rDNA ITS 区克隆与序列分析》,《亚热带植物科学》2008 年 37 卷第 1 期。
b. 王奇志、何兴金、周颂东、吴耘珂、余岩、逢云莉:《基于染色体计数和 ITS 序列初步探讨横断山区柴胡属植物(伞形科)的系统发育》,《分类与进化学》,2008 年 46 卷第 2 期。
c. Taberlet P, Universal primers for amplification of three noncoding regions of chloroplast DNA, *Plant Molecular Biology*, 1991, 17(5): 1105-1109.
- [4] 中国科学院植物研究所主编:《中国高等植物图鉴》第二册第 660 页,科学出版社,2002 年。
- [5] a. 丁士友、顾红雅、翟礼嘉、陈章良:《PCR 产物的 RFLP 分析在豆科黄芪亚族系统学的应用初探》,《植物学报》1995 年第 2 期。
b. Hills DM, Moritz C, *Molecular Systematics*. Sunderland, Massachusetts, USA. Sinauer Associates, Inc. Publishers, 1990: 588.
- [6] a. Molvray M, Kores P J, Chase M W, Phylogenetic relationships within *Korthalsella* (Viscaceae) based on nuclear ITS and plastid trnL-F sequence data, *Amer J Bot*, 1999, 86: 249-260.
b. Richardson J E, Fay M F, Cronk Q B, et al, A phylogenetic analysis of Rhamnaceae using rbcL and trnL2F plastid DNA sequences, *Amer J Bot*, 2000, 87: 1309-1324.

c. Mes T M, Wiejers G J, Hart H T, Phylogenetic relationships in Monanthes (Crassulaceae) based on morphological, chloroplast and nuclear DNA variation, *J Evol Biol*, 1997, 10: 193- 216.

- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会:《中国植物志》45卷第3册,第114页,科学出版社,1999年。
- [8] 陈佩东、梁敬钰:《南蛇藤属植物化学成分及活性研究进展》,《海峡药学》,1999年11卷第

4期。

- [9] 浙江省文物考古研究所等:《萧山跨湖桥》第152、153页,文物出版社,2004年。
- [10] 耿鉴庭、刘亮:《藁城台西商代遗址中出土的植物》,见《藁城台西商代遗址》第193~196页,文物出版社,1985年。
- [11] 陕西省考古研究所:《高家堡戈国墓》第136页,三秦出版社,1995年。

(责任编辑 付兵兵)

○信息与交流

《林西井沟子:晚期青铜时代墓地的发掘与综合研究》简介

《林西井沟子:晚期青铜时代墓地的发掘与综合研究》由内蒙古自治区文物考古研究所,吉林大学边疆考古研究中心编著,科学出版社2010年8月出版发行。该书正文共385页,约57万字,另附有彩色图版23页。定价188元。

林西井沟子是一处包含有红山文化、小河沿文化、夏家店上层文化和井沟子类型四种古代遗存的遗址。本书重点报道了2002~2003年该遗址西区墓地的发掘资料及相关的检测和分析结果。报告分为上、下两编。上编包括遗址概况与墓葬综述、墓葬

分析、墓葬资料、灰坑与房址共四章,下编包括出土人骨的体质人类学、线粒体DNA和稳定同位素分析以及动物遗存、青铜器、孢粉土样的检测与分析。井沟子西区墓地是内蒙古东南部地区迄今唯一一处经科学发掘的早期游牧文化的墓地。对该墓地出土井沟子类型遗存进行全面报道和多学科的综合研究,为探讨我国北方早期游牧文化的形成与发展提供了一批必不可少的考古学资料和重要的研究基础。本书可供考古、历史、自然科学史研究者及文博工作者阅读。

(付兵兵)