

胡芦巴种质资源生物学特性的遗传多样性

刘 萍, 张立杰, 马 宏伟, 李应科, 康 果*

(宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 目的 探讨不同胡芦巴种质资源生物学性状的遗传差异, 初步分析其遗传多样性。方法 以宁夏本地、国内其他省份及国外引进的 32 份胡芦巴种质资源为材料, 在宁夏大学实验农场种植, 调查其株高、结荚高度、主茎节数、分枝数、单株有效荚数等主要生物学性状, 采用离差平方和法对欧氏距离进行聚类, 分析其遗传多样性。结果 在所研究的 11 个性状中, 除荚长性状外, 其余 10 个表型性状的方差分析均表现显著或极显著差异, 变异系数最大的是总分枝数和单株有效荚数。成对种源的欧氏距离变化在 1.11~9.49, 平均值为 4.01, 单个种源欧氏距离 (D) 的平均值分布在 2.94~6.54。在 D=6.86 处可以将 32 份种源划分成各具明显特点的 3 大类, 与收集种源的地域基本一致。结论 不同种源的胡芦巴间具有一定差异, 多数国外种源与宁夏种源的遗传距离较远, 国内其他省份种源与宁夏种源的遗传距离较近。

关键词: 胡芦巴; 种质资源; 生物学性状; 聚类分析; 遗传多样性

中图分类号: R282.2 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)04-0630-05

Genetic diversity in germplasm resources of *Trigonella foenum-graecum* based on biological characters

LIU Ping, ZHANG Li-jie, MA Hong-wei, LI Ying-ke, KANG Guo

(College of Agronomy, Ningxia University, Yinchuan 750021, China)

Abstract: **Objective** To analyze the genetic difference of biological characters on germplasm resources of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) and to study the genetic diversity of them. **Methods** Thirty-two fenugreek germplasm resources from Ningxia, other provinces in China, and abroad were used to investigate the biological characters on plant height, pod formation height, nodes per main stem, branches number, effective pod per plant and so on. The tested materials were planted in the farm of Ningxia University. The genetic diversity based on the phenotype was analyzed by Ward's minimum variance method. **Results** The variance analyses of ten biological characters were of significance or the most significance except pod length. The branches number and effective pod per plant possessed the largest coefficient of variance (CV). The pairwise Euclidean distance of the tested materials ranged from 1.11 to 9.49, averaged 4.01. Mean Euclidean distance of single tested material ranged from 2.94 to 6.54. The tested germplasm resources could be divided into three groups in D=6.86, which coincided with the district of collecting germplasm resources on the whole. **Conclusion** There is a little genetic difference in various fenugreek germplasm resources. Compared with Euclidean distance of germplasm resources from Ningxia, the Euclidean distance of most from abroad is far away from that of other provinces in China.

Key words: fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.); germplasm resources; biological characters; cluster analysis; genetic diversity

胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 又名芦巴子、香豆子、苦豆, 是豆科胡芦巴属一年生草本植物^[1]。其干燥成熟种子为传统的常用中药, 有补肾阳、祛寒冷、止痛功效, 主治寒疝、腹胁胀满、寒湿脚气、肾虚腰痛、阳痿遗精、腹泻等^[2]。胡芦巴原产西亚及欧洲东南部, 以印度、法国、黎巴嫩、摩洛哥等

地产量最大。在我国分布也较广, 多数省区均有栽培, 以安徽、河南等省为主产区, 宁夏也有广泛的种植。近年来, 人们对胡芦巴的化学成分和药理作用开展了许多研究, 胡芦巴所含的薯蓣皂苷元是合成甾体激素和口服避孕药的原料; 胡芦巴种子粉末已经被证明有一定的抗糖尿病、降血脂及抗肿瘤作

* 收稿日期: 2008-06-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30660017)

作者简介: 刘 萍 (1961—), 女, 上海市人, 教授, 从事植物遗传学教学和研究工作, 发表论文 20 余篇, 获宁夏回族自治区科技进步二等奖一项。Tel: (0951) 2061881 E-mail: liupingmy@yahoo.com.cn

用^[3~8]。对胡芦巴的引种栽培也有过一些报道^[9~11],但有关胡芦巴遗传多样性的研究却未见报道。本研究通过对不同产区胡芦巴主要生物学性状的调查,对国内外胡芦巴种质资源进行生物学特性遗传多样性的研究,旨在为胡芦巴种质资源的筛选、开发与利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料:共收集到试验用种质资源(以下简称种源)32份,其中国外种源9份,国内种源23份,包括宁夏不同地区种源10份,其材料编号及来源见表1,经本校植物分类教研室有关专家鉴定,均为胡芦巴 *Trigonella foenum-graecum* L. 的干燥成熟种子。

表1 供试胡芦巴种质资源编号及来源

Table 1 Germplasm resources number of *T. foenum-graecum* tested and their provenances

编号	来源	编号	来源
1	宁夏对照	27	山东沂水
2	宁夏同心 1	28	甘肃张掖
3	宁夏同心 2	29	内蒙前旗
4	宁夏陶乐	30	青海西宁
5	宁夏彭阳	31	甘肃兰州
6	宁夏隆德	32	甘肃武威
7	宁夏同心 3	33	甘肃玉门
8	宁夏青铜峡	51	印度 1
9	宁夏西吉	52	印度 2
10	宁夏平罗	53	埃及 0
21	青海海西	54	埃及 1
22	安徽太和	55	中东某国
23	河北丰宁	56	以色列
24	河南陕县	57	利比亚
25	内蒙巴盟	65	摩洛哥
26	云南	66	加拿大

1.2 试验方法

1.2.1 田间试验设计:田间试验于2007年在宁夏大学实验农场进行,每份种源4行区,行长3 m,行间距0.3 m,采用随机区组设计,重复3次,对照为宁夏某本地种源,试验区周围设保护行。4月7日播种,播量15 kg/hm²,播深2~3 cm,播后耱平保墒。中耕除草2次,灌溉两次,于7月12~13日人工收获。

1.2.2 生物性状调查:田间调查的生物性状包括在生长期每10 d采集不同种源胡芦巴植株各10株,进行株高、初生真叶与第一复叶节间长、主茎节数、总分枝数、植株鲜质量和干质量等主要生物学性状观测;成熟后每小区随机收取20株正常生长的植株,在室内考种测定株高、结荚高度、主茎节数、一次分枝数、总分枝数、单株有效荚数、荚长、每荚粒

数、单株粒质量、生物学产量、千粒质量及荚果座生类型共12个指标。

1.2.3 遗传多样性分析:对各种源所考察性状的数据进行方差分析和主成分分析后,选取对变异有主要贡献的指标,利用 DPS version 3.01 软件计算经标准差标准化转换后的欧氏距离(Euclidean distance),第*i*个种源与第*j*个种源间的距离 $d_{ij} =$

$$\sqrt{\sum_{k=1}^n (X_{ik} - X_{jk})^2}$$

,采用离差平方和法(Word's minimum variance method)进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 不同种源胡芦巴生物学性状的差异:出苗后,每10 d采集不同种源的胡芦巴植株,测定株高、初生真叶与第一复叶节间长、主茎节数、总分枝数、植株的鲜质量、干质量等主要生物学性状,结果显示,各种源在开花后,都进入旺盛的生长,株高、主茎节数、总分枝数、植株的鲜、干质量急剧增加,并且在株高、初生真叶与第一复叶节间长、总分枝数、植株的干质量这几个性状上表现出显著的地区差异(图1)。

成熟后按小区收获各种源,晾干,对主要生物学性状进行考察,发现宁夏种源的平均株高、结荚高度、主茎节数、每荚粒数均表现最高(多),国外种源表现最矮(少);国外种源的总分枝数、一次分枝数和单株有效荚数最少;荚果座生类型也存在差异,国外种源除66是单/双座生型,其他所有种源均为单/单座生型;国内种源除30和33是单/单座生型外,其他各种源都是双/双座生型。

2.2 不同种源胡芦巴主要生物学性状遗传多样性分析:对调查获得的32份胡芦巴种源11个表型性状的数据分别进行方差分析,结果显示不同种源的荚长没有差异;不同种源的主茎节数有显著差异;其余9个性状在不同种源间都表现出极显著的差异(表2)。可见,各性状在不同种源间呈现出不同程度的多样性。在考察的11个表型性状中,除了荚长的变异系数较小外,其他性状的变异系数都超过10%,变异系数最大的是总分枝数和单株有效荚数,分别为38.01%和37.21%,其次是单株粒质量和生物学产量,分别为34.58%和33.2%(表3)。变异系数的大小与性状的变异范围呈正相关,变异系数越大,表明性状的变异越大,也说明其多样性越丰富。

2.3 不同种源胡芦巴主要生物学性状的聚类分析:去除方差分析中差异不显著的荚长性状,对参试32份种源其余10个性状的表型值,经标准差标准化转换后计算欧氏距离,32份种源成对欧氏距离的平均

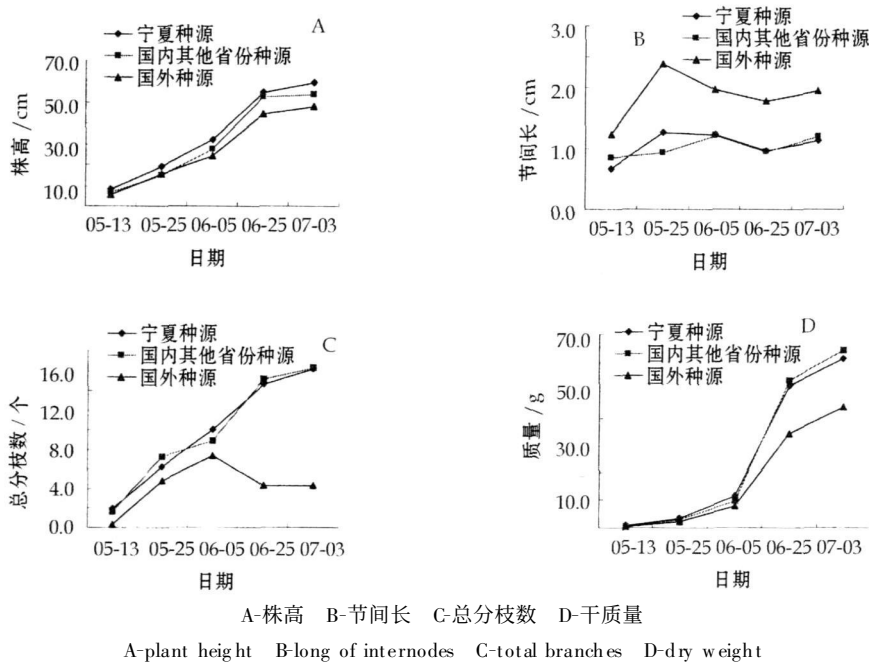


图 1 不同种源胡芦巴主要生物学性状变化趋势

Fig. 1 Change tendency of main biological characters of *T. foenum-graecum* from different provenances

表 2 不同种源胡芦巴 11 个性状的方差分析结果

Table 2 Result of variance analysis on 11 biological characters of *T. foenum-graecum* from different provenances

变异来源	自由度	株高	结荚高度	主茎节数	一次分枝	总分枝数	单株有效荚数	生物学产量	荚长	每荚粒数	单株粒质量	千粒质量
种源间	31	117.463	34.263	21.490	3.136	25.274	857.496	135.687	2.020	9.932	15.504	7.267
重复间	2	58.159	14.671	18.229	0.304	4.867	121.932	4.804	2.676	1.386	4.515	1.122
误差	62	25.884	4.660	12.366	0.652	5.312	167.635	35.429	1.838	3.723	4.605	0.898
F	MS _B /MS _e	4.538 **	7.352 **	1.738 *	4.806 **	4.758 **	5.115 **	3.830 **	1.099	2.668 **	3.367 **	8.093 **

表中数据为方差分析后的均方值

Data in table was mean square of variance analysis

表 3 胡芦巴主要表型性状多样性分析

Table 3 Phenotypic diversity about *T. foenum-graecum*

性 状	平均	最小值	最大值	差数	标准差	方差	变异系数/%
株高 (cm)	49.74	40.01	63.70	23.69	5.81	33.77	11.68
结荚高度 (cm)	14.49	9.35	22.69	13.34	3.26	10.65	22.51
主茎节数 (节)	15.80	8.60	21.70	13.10	3.09	9.52	19.52
一次分枝 (个)	4.82	2.61	7.00	4.39	0.97	0.94	20.13
总分枝数 (个)	7.69	3.28	14.27	10.99	2.92	8.54	38.01
单株有效荚数 (个)	38.42	14.20	64.96	50.76	14.30	204.36	37.21
生物学产量 (g)	15.38	6.54	26.87	20.33	5.11	26.14	33.25
荚长 (cm)	11.50	10.08	14.56	4.48	0.77	0.60	6.71
每荚粒数 (粒)	13.95	9.21	17.34	8.13	1.65	2.72	11.82
单株粒质量 (g)	4.65	1.77	8.94	7.16	1.61	2.58	34.58
千粒质量 (g)	11.31	8.72	14.33	5.61	1.52	2.31	13.44

值、最大值和最小值列于表 4。整个试验成对种源的欧氏距离变化在 1.11~9.49, 平均为 4.01; 单个种源欧氏距离的平均值变化在 2.94~6.54, 表明不同种源间具有一定差异, 但差异不是很大。

采用系统聚类中的离差平方和法对欧氏距离进行聚类, 建立聚类图, D=6.86 处截取分类界限, 将 32 个种源聚成具有各自明显特征的 3 大类(图 2), 且在株高、结荚高度、主茎节数、分枝数、单株有效荚

数等性状上都表现出较大差异(表 5)。

第 I 类共有 14 个种源, 除 5 个国内其他省份种源 (23, 24, 27, 28, 29) 外, 主要由宁夏种源构成; 第 II 类共有 11 个种源, 包括 1 个宁夏种源 (6), 2 个国外种源 (65, 66), 8 个国内其他省份的种源 (21, 22, 25, 26, 30, 31, 32, 33); 第 III 类共 7 个种源, 全部由国外种源构成, 这与我们所收集种源的地域基本一致。

表 4 32 份种源胡芦巴配对的欧氏距离
Table 4 Pairwise Euclidean distance in 32 germplasm resources of *T. foenum-graecum*

编号	欧氏距离			编号	欧氏距离		
	平均值	最大值	最小值		平均值	最大值	最小值
1	3.62	7.61(32)	1.59(8)	27	3.48	7.32(32)	1.68(1)
2	3.73	8.24(32)	1.49(10)	28	3.14	6.90(31)	1.28(9)
3	3.55	8.23(32)	1.88(9)	29	3.66	7.10(31)	1.60(8)
4	4.18	8.58(32)	1.93(3)	30	5.00	7.38(53)	2.98(33)
5	3.31	7.34(31)	1.39(23)	31	6.54	9.49(55)	3.31(21)
6	3.32	6.07(32)	1.49(26)	32	6.49	8.63(10)	3.58(30)
7	3.60	6.72(32)	1.33(8)	33	4.54	6.22(4)	2.46(66)
8	3.44	7.09(32)	1.30(24)	51	4.01	8.03(32)	1.11(56)
9	2.94	6.63(32)	1.28(28)	52	4.46	8.53(31)	1.42(56)
10	4.24	8.63(32)	1.49(2)	53	4.81	9.23(31)	1.59(52)
21	4.36	7.40(55)	2.38(6)	54	3.82	7.76(31)	1.44(57)
22	3.36	5.66(31)	1.90(28)	55	4.98	9.49(31)	2.14(53)
23	3.18	6.75(31)	1.39(5)	56	4.16	8.61(31)	1.11(51)
24	3.10	6.70(31)	1.30(8)	57	3.73	8.07(31)	1.30(56)
25	3.82	6.39(53)	2.03(22)	65	4.82	6.77(53)	3.03(66)
26	3.47	6.38(32)	1.49(6)	66	3.43	5.63(31)	2.06(22)

括号内数字为该欧氏距离对应的种源编号

Numbers in bracket represent variety number corresponding to Euclidean distance

表 5 聚类后主要生物性状比较

Table 5 Comparing with main phenotypic characters after cluster analysis

类 型	株高/cm	主茎节数	一次分枝	总分枝数	结荚高度/cm	单株有效荚数	每荚粒数
I-1	56.60	17.73	5.34	8.14	18.49	37.26	14.76
I-2	59.58	18.29	4.37	5.69	18.81	32.53	16.37
I-3	51.56	14.08	4.62	6.35	15.19	36.74	14.41
I 类平均	56.01	16.85	4.86	6.93	17.64	35.76	15.12
II-1	46.97	16.76	5.50	10.74	13.88	56.35	14.64
II-2	44.34	14.66	6.15	12.83	12.35	78.51	12.87
II 类平均	46.49	16.38	5.62	11.12	13.60	60.38	14.32
III类平均	46.62	14.70	3.53	4.45	11.25	20.55	12.87

第 I 类在 D=4.88 处, 14 个种源可以细分为 3 个亚类: I₁ 包括 3 个宁夏种源(1, 7, 8)和 3 个国内其他省份的种源(27, 24, 29)。该亚类的特点是总分枝数在 6.9~10.3 个, 平均 8.14 个; 单株有效荚数在 29.0~41.9 个, 平均 37.26 个, 两者均是第 I 类中最多的亚类。I₂ 包括 4 个宁夏种源(2, 3, 4, 10), 该亚类的株高在 56.98~63.70 cm, 平均 59.58 cm; 主茎节数在 16.13~20.06 节, 平均 18.19 节; 每荚粒数在 15.58~17.34 粒, 平均 16.37 粒, 这 3 个性状在第 I 类的 3 个亚类中表现最高。I₃ 包括两个宁夏种源(5, 9)和两个国内其他省份的种源(23, 28), 表明这 4 个种源在表型上遗传相似性较高, 该亚类的株高在 49.71~52.59 cm, 平均 51.56 cm; 主茎节数在 13.17~16.17 节, 平均 14.08 节; 结荚高度在 13.26~16.53 cm, 平均 15.19 cm, 这 3 个性状在 3 个亚类中表现最低。

第 II 类在 4.89 处, 14 个种源也可以细分为两个亚类, II₁ 包括一个宁夏种源(6), 6 个国内其他省份的种源(21, 22, 25, 26, 30, 33)和两个国外种源

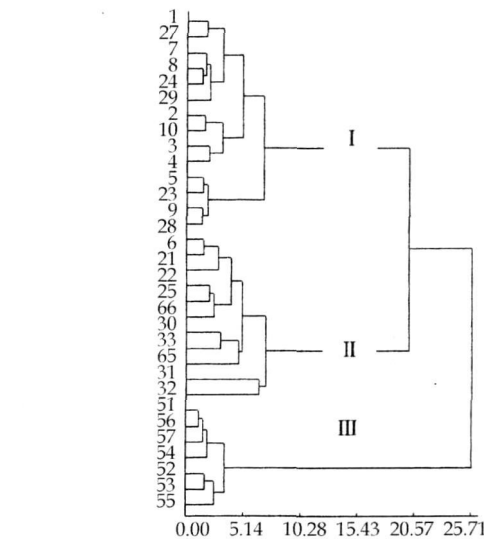


图 2 32 个胡芦巴种源的聚类分析结果

Fig. 2 Cluster analysis of 32 germplasm resources of *T. foenum-graecum*

(65, 66), 说明国外种源 65、66 与国内上述 7 个种源的遗传相似性较高, 该亚类和 II₂ 亚类相比主要特点是单株有效荚数在 51.77~69.00 个, 平均 56.35 个; 结荚高度是 10.04~17.66 cm, 平均 13.88 cm。II₂ 只包含种源 31 和 32, 这两个种源欧氏距离的平均值远大于其他种源, 分别为 6.54 和 6.49, 表明种源 31 和种源 32 与 II₁ 的 9 个种源的遗传相似性较低。

第 II 类 7 份国外种源的欧氏距离 3.73~4.98, 7 个种源间的遗传相似性较高, 和第 I、II 类相比其平均株高、结荚高度、单株有效荚数、分枝数均表现为最低(表 5)。

3 讨论

本试验研究的 32 份胡芦巴种质资源的地理范围较广, 涉及到 8 个国家和国内 10 个省份 22 个地区, 确保了研究材料有充足的遗传变异来源。聚类分析表明, 32 份种源可以聚成各具明显特征的 3 大类, 表现为遗传上的多样性。各种源在株高、结荚高度、分枝数、单株有效荚数、荚果座生类型等方面存

在较大差异,说明胡芦巴种质资源的生态类型多,遗传背景较复杂,这些差异既和生长环境有关,也与遗传基础有关。然而,外部形态的变异受环境因子影响较大,因此,对胡芦巴种质资源遗传多样性作更为准确的研究还应结合等位酶分析、DNA 分子标记等手段来进行。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志 [M]. 第四十二卷第二分册. 北京: 科学出版社, 1998

[2] 江苏新医学院. 中药大辞典 [M]. 下册. 上海: 上海科学技术出版社, 1994

[3] 荆宇, 赵余庆. 胡芦巴化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2003, 34(12): 1146-1149

[4] 赵怀清, 曲燕, 王学娅等. 不同产地胡芦巴种子中胡芦巴碱的含量测定 [J]. 中国药理学杂志, 2002, 37(8): 617-619

[5] 鲁鑫淼, 张超, 赵怀清, 等. 不同产地胡芦巴中总黄酮和槲皮素的含量测定 [J]. 沈阳药科大学学报, 2004, 26(6): 430-433

[6] 吴延丽, 李微, 林锋, 等. 大庆产胡芦巴种子中生物碱及总黄酮成分的研究 [J]. 哈尔滨医科大学学报, 2007, 41(4): 385-387

[7] 卜凤泉, 刘忠英, 石艳, 等. 胡芦巴提取物对实验性糖尿病大鼠的降血糖作用 [J]. 吉林大学学报: 医学版, 2007, 33(1): 88-89

[8] 石艳, 靳英丽, 于晓艳, 等. 胡芦巴多糖 A2 对糖尿病大鼠肾脏 ECM 的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2008, 28(10): 942-944

[9] 陈君, 丁万隆, 陈震, 等. 不同种源胡芦巴生长发育特性初步观察 [J]. 中国中药杂志, 2001, 26(4): 237-240

[10] 田振荣, 蒙蕊学, 李杰, 等. 旱地胡芦巴种植密度试验结果 [J]. 甘肃农业科技, 2002(11): 22-23

[11] 吴宏亮, 许强, 王俊. 胡芦巴引种试验研究初报 [J]. 宁夏夏学院学报, 2003, 23(1): 7-9

刺壳花椒 HPLC 指纹图谱的研究

汪文涛¹, 伍城颖², 马一华³, 汪灿^{1*}

(1 湖南省药品检验所, 湖南长沙 410001; 2 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208;
3 株洲千金药业股份有限公司, 湖南株洲 412003)

摘要:目的 采用高效液相色谱法研究并建立了产于张家界的刺壳花椒药材的指纹图谱。方法 Diamonsil C₁₈ 色谱柱 (250 mm×4.6 mm, 5 μm), 乙腈-水流动相系统梯度洗脱, 体积流量 1.0 mL/min, 检测波长 278 nm。结果 对所采集的 10 批刺壳花椒药材进行了测定, 建立了刺壳花椒的指纹图谱, 共有 11 个共有峰。结论 HPLC 法色谱指纹图谱分析技术可用于刺壳花椒药材质量的控制。

关键词: 刺壳花椒; 指纹图谱; 高效液相色谱

中图分类号: R282.7 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2009)04-0634-04

HPLC Fingerprint of *Zanthoxylum echinocarpum*

WANG Wen-tao¹, WU Cheng-ying², MA Yi-hua³, WANG Can¹

(1 Hunan Provincial Institute for Drug Control, Changsha 410001, China; 2. Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 3. Zhuzhou Qianjin Pharmaceutical Co., Ltd., Zhuzhou 412003, China)

Abstract: **Objective** To study chromatography fingerprints of *Zanthoxylum echinocarpum* by HPLC. **Methods** Diamonsil C₁₈ column (250 mm×4.6 mm, 5 μm) was used with acetonitrile-water gradient elution, at flow-rate of 1.0 mL/min, detection wavelength at 278 nm. **Results** HPLC was used to establish fingerprint chromatograph of water extraction from ten batches of *Z. echinocarpum*, which had been harvested from the same area in Zhangjiajie at the same time. The result showed that 11 peaks were common. **Conclusion** The method could be used for the quality control of *Z. echinocarpum*.

Key words: *Zanthoxylum echinocarpum* Hemsl; fingerprint; HPLC

芸香科花椒属刺壳花椒 *Zanthoxylum echinocarpum* Hemsl 是我国南方地区民间常用药, 主要产于南方及西南等地, 其药用部位有根、根皮、茎和叶, 有行气止痛的功效。刺壳花椒中已知的化学成

分有木兰花碱、α-别隐品碱、白藜碱、γ-花椒碱、茵芋碱等生物碱类^[1~3]。由于受产地、气候和生态环境等的影响, 不同药材所含成分有一定差异, 仅针对药材的某个有效成分或指标成分进行定性、定量分析,

* 收稿日期: 2008-06-13

基金项目: 湖南省科学技术厅科技计划重点项目 (2007SK2005)

作者简介: 汪文涛(1944—), 男, 主任药师, 主要从事新药研究开发。Tel: (0731) 2275848 E-mail: hnyjw@163.com