

# 栽培太子参的遗传多样性与质量分析

肖承鸿<sup>1</sup>, 周涛<sup>1\*</sup>, 江维克<sup>1</sup>, 艾强<sup>1</sup>, 杨昌贵<sup>1</sup>, 熊厚溪<sup>1</sup>, 廖明武<sup>2</sup>

1. 贵阳中医学院, 贵州 贵阳 550002

2. 贵州三元太宝实业有限公司, 贵州 施秉 556200

**摘要:** 目的 对栽培太子参的遗传多样性与药材质量进行综合评价, 为合理利用太子参种质资源及优良品种选育提供依据。方法 采用 ISSR 分子标记分析太子参 12 个栽培种源的遗传多样性, 并用 HPLC 测定各种源药材中太子参环肽 B 的量。结果 10 条 ISSR 引物扩增出 82 条带, 其中多态性条带 73 条, 多态位点百分率 (PPL) 为 89.02%。Nei's 遗传多样性指数 ( $H$ ) 平均值 0.257 9, Shannon's 多态性指数 ( $I$ ) 平均值为 0.388 4, 遗传分化系数 ( $Gst$ ) 为 0.274 1, 种源间基因流 ( $Nm$ ) 为 1.323 8。基于遗传一致度, 12 个种源可聚为 3 类。太子参环肽 B 量在种源间和种源内个体差异较大, 种源 4 的太子参环肽 B 量 (0.049 4%) 明显高于其他种源, 且种源内变异系数 (9.51%) 较小。结论 栽培太子参各产地间的换种及其生物学特性是其遗传多样性水平丰富的主要原因; 综合考虑遗传多样性水平和太子参环肽 B 量, 种源 3 和 4 种质资源优良, 适宜作为太子参种质资源保存及优良品种选育的对象。

**关键词:** 太子参; 种质资源; 遗传多样性; 多态位点百分率; 遗传分化系数; Shannon's 多态性指数; 种源间基因流

**中图分类号:** R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)08-0-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.08.

## Genetic diversity and quality analysis of cultivated *Pseudostellaria heterophylla*

XIAO Cheng-hong<sup>1</sup>, ZHOU Tao<sup>1</sup>, JIANG Wei-ke<sup>1</sup>, AI Qiang<sup>1</sup>, YANG Chang-gui<sup>1</sup>, XIONG Hou-xi<sup>1</sup>, LIAO Ming-wu<sup>2</sup>

1. Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002, China

2. Guizhou Sanyuan Taibao Co., Ltd., Shibing 556200, China

**Abstract: Objective** To study the genetic diversity and medicinal quality of *Pseudostellaria heterophylla* and to provide a reference for rational utilization on germplasm resources and fine variety breeding of *P. heterophylla*. **Methods** The genetic diversity of the 12 cultivated provenances of *P. heterophylla* were analyzed by ISSR molecular markers, and Pseudostellarin B in root of *P. heterophylla* were analyzed by HPLC. **Results** A total of 82 bands were produced by 10 primers, among which 73 bands were polymorphic bands, and the percentage of polymorphic bands (PPL) was 89.02%. The average value of Nei's genetic diversity index ( $H$ ) was 0.257 9, Shannon's information index ( $I$ ) was 0.388 4, genetic differentiation coefficient ( $Gst$ ) was 0.274 1, and the gene flow ( $Nm$ ) among provenances was 1.323 8. Cluster analysis based on genetic identity indicated that 12 provenances could be divided into three groups. There were great differences of Pseudostellarin B content among and within provenances. Pseudostellarin B content (0.049 4%) in provenance 4 was significantly higher than those in the others, and the coefficient of variation (9.51%) was less in this provenance. **Conclusion** The high genetic diversity could be attributed to the provenances exchange in different production areas of *P. heterophylla* and its biological characteristics. Comprehensive consideration of genetic diversity and Pseudostellarin B is made, and the provenances 3 and 4 of *P. heterophylla* have better quality, which are suitable for germplasm conservation and variety breeding.

**Key words:** *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.; germplasm resources; genetic diversity; percentage of polymorphic bands; genetic differentiation coefficient; Shannon's information index; gene flow among provenances

收稿日期: 2013-11-23

基金项目: 施秉中药材产业科技合作专项计划 [施科合专项 (2012) 04 号]; 中央本级重大增减支项目 (20603020223, 20603020120); 贵阳市科技创新公共技术平台项目 (2010 筑科合字第 3-2 号)

作者简介: 肖承鸿 (1985—), 男, 助理实验师, 研究方向为中药资源鉴定与质量控制。Tel: (0851)5622506 E-mail: xiaochenghong1986@126.com

\*通信作者 周涛 (1968—), 女, 教授。Tel: (0851)5622506 E-mail: taozhou88@163.com

太子参为石竹科植物孩儿参 *Pseudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm. 的干燥块根, 具有益气健脾、生津润肺之功效<sup>[1]</sup>。目前, 太子参商品药材主要依靠栽培, 栽培主产区有福建的柘荣、福安, 安徽的宣城、六安, 江苏句容、镇江, 山东临沂, 贵州施秉等地区。其中贵州原并无太子参资源分布, 贵州施秉经过近二十年的异地引种, 政府扶持发展, 近年来成为全国太子参商品药材 3 大产区之一。但由于中药材长期存在的互引互种习俗, 绝大多数中药品种的选育工作严重滞后。太子参各地区间自行的频繁引种和交流, 使现有栽培群体之间的类型多样, 内在质量和药材产量参差不齐。

种质资源是培育新品种的原材料, 其中蕴含长期进化过程中形成的各种基因<sup>[2]</sup>。丰富的遗传多样性是维持物种长期生存的基础, 遗传多样性越丰富, 其生命力就越顽强, 反之则弱。药材质量是药用植物优良品种的选育关键指标之一, 好的药材质量是保证中药安全有效的基础。因此, 在遗传多样性和药材质量指导下对药用植物种质资源进行评价, 可以掌握种质资源的遗传多样性和药材质量状况, 为

合理筛选和科学利用种质资源提供依据。

目前, 已有采用表型分析<sup>[3]</sup>、RAPD 分析<sup>[4]</sup>、HPLC 分析<sup>[5-7]</sup>等技术对太子参遗传多样性和药材质量分别进行研究的报道, 这些研究显示太子参种质资源有较高的遗传多样性, 且不同产地药材的质量差异较大, 但还未见对栽培太子参的遗传多样性与药材品质进行综合分析的报道。本实验采用 ISSR 标记和 HPLC 法综合分析了 12 个栽培种源太子参种质资源的遗传多样性和药材质量, 旨在筛选遗传多样性丰富、次生代谢产物积累较高的种源, 为保护太子参种质资源及优良品种的选育提供科学依据。

## 1 材料、仪器与试剂

### 1.1 材料

太子参样品分别来自安徽、江苏、贵州、福建的种质资源, 2011~2012 年保存于贵州省施秉县牛大场太子参种植基地的种质资源圃。用于 ISSR 分析的样品为新鲜健康叶片, 各种源取 9~10 份单株, 共 119 份。用于 HPLC 分析的药材于 2012 年 7 月中旬采集, 各种源取 5 份单株, 共 60 份样品。见表 1。

表 1 材料信息

Table 1 Information of samples

种源	产地	种质资源背景	ISSR 样品数	HPLC 样品数
1	安徽宣城-1	宣城野生种源, 引种至施秉, 栽培 2 年	10	5
2	安徽宣城-2	宣城栽培种源, 引种至施秉, 栽培 2 年	10	5
3	江苏句容-1	马山野生种源, 引种至施秉, 栽培 1 年	10	5
4	江苏句容-2	赤山湖野生种源, 引种至施秉, 栽培 1 年	10	5
5	江苏句容-3	马山栽培种源, 引种至施秉, 栽培 1 年	10	5
6	江苏溧阳	瓦屋山野生种源, 引种至施秉, 栽培 1 年	10	5
7	江苏南京	老山栽培种源, 引种至施秉, 栽培 2 年	9	5
8	福建柘荣	柘荣栽培种源, 引种至施秉, 栽培 1 年	10	5
9	贵州施秉-1	牛大场镇农家自繁自用种源, 栽培近 20 年	10	5
10	贵州施秉-2	施秉农家自繁种源, 栽培近 5 年	10	5
11	贵州施秉-3	施秉农家习用种源, 植株种子散落田间、山坡 5~8 年, 引入种质资源圃 1 年	10	5
12	贵州施秉-4	牛大场镇农家栽培种源, 种子散落田间、山坡, 植株自繁自长 5~8 年后, 引入种质资源圃保存 2 年	10	5

### 1.2 仪器

PCR 仪 (Mastercycler, 德国 Eppendorf); 凝胶成像系统 (GGM/D2, 英国 Syngene); 核酸定量分析仪 (Nanodrop 2000, 美国 Thermo); 电泳仪 (DYY—6C 型, 北京六一仪器厂); 冷冻离心机 (Centrifuge5810R, 德国 Eppendorf); 高效液相色谱

仪 (LC—20AD, 日本岛津); 电子天平 (EL104, 瑞士 METTLER TOLEDO); 超声波清洗器 (SK1200H, 上海科导超声仪器有限公司)。

### 1.3 试剂

Premix Ex Taq<sup>TM</sup> Version 2.0 (Loading dye mix, 宝生物工程大连有限公司); 0.5×TBE 缓冲液 (Tris

硼酸电泳缓冲液); 琼脂糖(西班牙 Biowest agarose); EB (溴化乙锭溶液 RT203, Tiangen 公司); Marker (D2000, Tiangen 公司); 甲醇(分析纯, 上海振兴化工一厂); 乙腈(色谱纯, TEDIA 公司); 娃哈哈纯净水(杭州娃哈哈集团有限公司); 太子参环肽 B 对照品(批号 111887-201001, 中国食品药品检定研究院)。

## 2 方法

### 2.1 太子参环肽 B 的测定

参照文献<sup>[5]</sup>方法, 测定太子参环肽 B 的量。以流动相水(A)-乙腈(B); 体积流量 0.9 mL/min。梯度洗脱条件: 0 min, 10% B; 10 min, 25% B; 30 min, 40% B; 35 min, 45% B; 柱温: 30 °C; 检测波长 203 nm。以太子参环肽 B 作为对照品, 绘制标准曲线, 计算质量分数。

### 2.2 基因组 DNA 的提取

采用 CTAB 法<sup>[8]</sup>提取太子参总 DNA。1.0%琼脂糖凝胶电泳法检验 DNA 质量, 核酸定量分析仪检测 DNA 的纯度和浓度, 稀释至 30 ng/μL。

### 2.3 ISSR 引物的合成与筛选

ISSR 引物设计参照加拿大哥伦比亚大学(University of British Columbia)公布的序列(Set No. 9, No. 801-900), 由上海生工生物工程技术有限公司合成。本实验以种源 9 样本进行引物筛选, 69 条 ISSR 引物筛选出 10 条多态性好、条带分布均匀、清晰易辨的引物来扩增。

### 2.4 PCR 扩增与产物检测

反应体系: 25 μL 的体系中含 DNA 1 μL, Premix Ex Taq (含 TaKaRa Ex Taq 1.25 U/25 μL, dNTP Mixture 0.4 mmol/L, Ex Taq 缓冲液 4 mmol/L Mg<sup>2+</sup>, 色素 Marker, 比重增加物和稳定剂) 13 μL, 引物(1 μmol/L) 1 μL, 超纯水补至 25 μL。扩增程序: 95 °C 预变性 5 min; 95 °C 变性 30 s, 42 °C 退火

45 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 40 次循环; 72 °C 后延伸 7 min; 4 °C 保存。PCR 产物 5 μL 于 1.5%琼脂糖凝胶中电泳 1.0 h 左右, 凝胶成像系统下观察拍照。

## 2.5 数据统计与分析

同一引物扩增的电泳迁移率一致的条带有带记为“1”、无带记为“0”, 形成 0/1 矩阵。用 Popgene32 软件计算多态位点数、多态性位点百分率(PPL)、Nei's 遗传多样性指数(H)、Shannon's 多态性信息指数(I)、遗传分化系数(Gst)和基因流(Nm), 并根据种源间的遗传相似度, 使用 NTSYS2.1 软件对种源间进行聚类。

## 3 结果与分析

### 3.1 不同种源太子参药材中太子参环肽 B 量差异

《中国药典》2010 年版规定太子参环肽 B 量不得低于 0.02%。12 个种源中有 6 个种源达药典规定, 质量分数最高的是种源 4 为 0.049 4%; 质量分数较低的有种源 8 和 10, 分别为 0.000 1%、0.004 6%; 从地理区域上来看, 江苏地区除种源 7 量小于 0.02% 外, 其他 4 个种源均高于 0.02%; 种源 9 (0.019 4%)、种源 11 (0.025 6%) 和种源 12 (0.022 0%) 量较为相近; 表明太子参环肽 B 量差异与种源的地理分布有一定的相关性。种源内变异系数在 9.51%~200.00%, 所有样本的变异系数为 72.67%, 其中种源内变异系数小于 20% 的有种源 4、6 和 9, 表明这 3 个种源内个体间太子参环肽 B 量差异较小, 大多数种源种源间、种源内的环肽 B 差异较大, 见表 2。

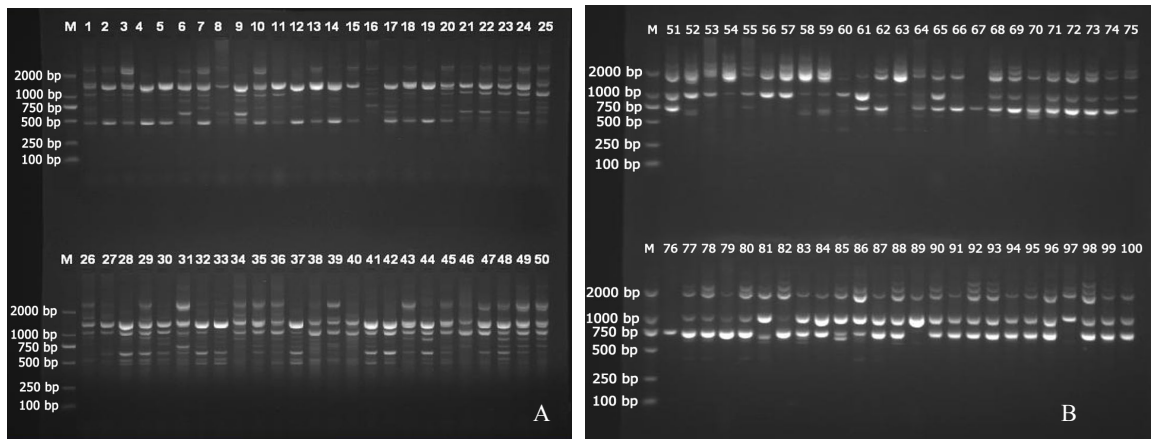
### 3.2 太子参扩增产物的多态性

结果显示, 10 条引物共扩增出 82 条带, 73 条为多态性条带, PPL 为 89.02%。每条引物可扩增出 5~12 条带, 平均每个引物 8.2 条带, 每条引物的扩增片段绝大多数集中在 250~2 500 bp, 以 500~2 000 bp 居多。见图 1。10 条引物中, 4 条引物的多态性条带为 100%, 占引物总数的 40%, 见表 3。

表 2 12 个种源太子参药材太子参环肽 B 的测定结果

Table 2 Determination of Pseudostellarin B in *P. heterophylla* from 12 provenances

种源编号	质量分数 / %	种源变异系数 / %	种源编号	质量分数 / %	种源变异系数 / %
1	0.012 4±0.015 4	124.19	7	0.012 4	—
2	0.016 2±0.014 3	88.27	8	0.000 1±0.000 2	200.00
3	0.027 1±0.008 8	32.47	9	0.025 6±0.004 9	19.14
4	0.049 4±0.004 7	9.51	10	0.004 6±0.008 7	189.13
5	0.024 8±0.007 2	29.04	11	0.022 0	—
6	0.023 0±0.003 3	14.35	12	0.019 4±0.008 4	43.30



1~50 依次为种源 1、2、3、4、5 的 10 个个体样本；51~100 依次为种源 6、7、8、9、10 的 10 个个体样本；M-Marker

图 1 引物 C54 (A) 和 C23 (B) 对太子参样品的扩增图

Fig. 1 ISSR amplification of primer C54 (A) and C23 (B)

表 3 不同引物的扩增结果

Table 3 Amplification of different ISSR primers

引物名称	引物序列 (5'-3')	总带数	多态性带数	PPL / %
110815C21	GAGAGAGAGAGAGAC	9	8	88.89
110815C23	CTCTCTCTCTCTCTT	7	7	100.00
110815C24	CTCTCTCTCTCTCTA	7	6	85.71
110815C52	GGAGAGGAGAGGAGA	11	11	100.00
110815C53	ATATATATATATATATC	6	3	50.00
110815C54	TATATATATATATATAT	12	11	91.67
110822C65	GAGAGAGAGAGAGAGAYG	7	6	85.71
110822C71	CACACACACACACARG	11	9	81.82
91020P34	ATGATGATGATGATGATG	5	5	100.00
91020P38	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	7	7	100.00
总计		82	73	89.02

### 3.3 不同种源太子参的遗传多样性

太子参在物种水平上的 PPL 达到 89.02%， $H$  为 0.3553， $I$  为 0.5285，显示出较高的遗传多样性水平。各种源的平均多态性位点数和 PPL 分别为 60.58、73.88%， $H$ 、 $I$  分别在 0.1949~0.3066、0.3016~0.4667，在 12 个种源中，种源 3 多态位点数最多，为 75 个，种源 PPL 为 91.46%，种源 PPL 高于 80% 的种源还有种源 1 和 10；种源 11 多态性位点最少，为 49 个，种源 PPL 为 59.76%，种源 PPL 低于 70% 的种源还有种源 5、6、7 和 9，见表 4。

### 3.4 太子参种源的遗传分化

Wright 等<sup>[9]</sup>认为，种群的基因多样性 ( $H_t$ ) 可分解为种群内基因多样性 ( $H_s$ ) 和种群间基因多样

性 ( $D_{st}$ )。太子参总的基因多样性为 0.3553，其中  $H_s$  和  $D_{st}$  分别为 0.2579、0.0974，占  $H_t$  的 72.59%、27.41%。种源间的基因分化系数 ( $G_{st}$ ) 为 0.2741，即有 27.41% 的遗传变异存在于种源间，72.59% 的遗传变异存在于种源内，说明太子参种源内遗传变异大于种源间遗传变异；太子参种源的平均基因流 ( $N_m$ ) 为 1.3238，表明太子参各种源之间的基因交流顺利。

### 3.5 太子参种源的遗传距离和遗传一致度

从遗传一致度来看，太子参 12 个种源间的遗传一致度范围在 0.8182~0.9725，其中种源 1 与 2 的遗传一致度最高，遗传一致度为 0.9725，表明亲缘关系较近。其次为种源 5 与 7，遗传一致度为 0.9509。遗

传一致度最低的是种源9与11,遗传一致度只有0.818 2,见表5。依据种源间的遗传一致度,用NTSYS 2.1软件构建的遗传聚类图。结果显示,当遗传一致度为

0.87时,12个种源明显可分为3类:种源1、2、5和种源7为一类;种源9与江苏地区的种源3、4、6为一类;种源11、10、12和8为一类,见图2。

表4 不同种源太子参遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of *P. heterophylla* from different provenances

种源编号	多态位点数	PPL/%	Na	Ne	H	I
1	67	81.71	1.817 1±0.389 0	1.468 2±0.332 5	0.281 7±0.169 6	0.426 0±0.235 9
2	60	73.17	1.731 7±0.445 8	1.453 1±0.382 9	0.262 0±0.194 5	0.391 0±0.270 7
3	75	91.46	1.914 6±0.281 1	1.502 8±0.299 0	0.306 6±0.145 2	0.466 7±0.192 9
4	63	76.83	1.768 3±0.424 5	1.415 7±0.342 5	0.252 2±0.176 7	0.385 0±0.247 5
5	57	69.51	1.695 1±0.463 2	1.452 4±0.379 8	0.261 2±0.197 7	0.386 9±0.279 3
6	52	63.41	1.634 1±0.484 6	1.383 4±0.360 3	0.227 8±0.194 6	0.341 5±0.279 6
7	55	67.07	1.670 7±0.472 8	1.393 9±0.349 7	0.236 7±0.188 4	0.356 6±0.270 8
8	65	79.29	1.792 7±0.407 9	1.492 9±0.344 9	0.290 2±0.178 1	0.433 0±0.249 3
9	52	63.41	1.634 1±0.484 6	1.317 4±0.343 9	0.194 9±0.181 8	0.301 6±0.260 5
10	71	86.59	1.865 9±0.342 9	1.517 1±0.343 4	0.304 4±0.166 2	0.457 3±0.224 1
11	49	59.76	1.597 6±0.493 4	1.366 0±0.361 1	0.217 1±0.197 3	0.324 6±0.284 5
12	61	74.39	1.743 9±0.439 2	1.440 4±0.363 6	0.260 0±0.186 7	0.391 1±0.261 5
平均	60.58	73.88	1.738 8±0.427 4	1.433 6±0.350 3	0.257 9±0.181 4	0.388 4±0.254 2
物种水平	73	89.02	1.890 2±0.152 1	1.616 5±0.311 8	0.355 3±0.138 6	0.528 5±0.168 9

表5 太子参种源的遗传距离(对角线以下)和遗传一致度(对角线以上)

Table 5 Genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal) of *P. heterophylla* provenances

种源编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	****	0.972 5	0.877 4	0.874 7	0.884 2	0.867 8	0.872 5	0.888 4	0.830 8	0.865 3	0.861 5	0.863 6
2	0.027 9	****	0.875 1	0.899 9	0.897 7	0.874 0	0.899 4	0.889 3	0.841 6	0.847 6	0.869 6	0.848 4
3	0.130 8	0.133 4	****	0.900 8	0.885 5	0.926 3	0.865 6	0.857 4	0.918 9	0.889 1	0.867 8	0.888 2
4	0.133 8	0.105 5	0.104 5	****	0.880 0	0.922 4	0.873 4	0.899 9	0.850 0	0.838 9	0.841 1	0.856 2
5	0.123 1	0.108 0	0.121 6	0.127 8	****	0.892 0	0.950 9	0.885 8	0.872 3	0.872 8	0.879 5	0.866 5
6	0.141 8	0.134 7	0.076 6	0.080 8	0.114 3	****	0.867 8	0.871 4	0.890 5	0.912 5	0.843 3	0.866 5
7	0.134 6	0.106 0	0.144 4	0.135 4	0.050 3	0.141 8	****	0.830 2	0.834 1	0.820 6	0.833 6	0.836 8
8	0.118 3	0.117 3	0.153 8	0.152 2	0.121 3	0.137 6	0.186 1	****	0.828 9	0.904 6	0.924 0	0.867 8
9	0.185 4	0.172 5	0.085 4	0.162 5	0.136 6	0.116 0	0.181 4	0.187 7	****	0.872 4	0.818 2	0.875 4
10	0.144 7	0.165 4	0.117 6	0.175 7	0.136 0	0.091 6	0.197 7	0.100 2	0.136 5	****	0.874 1	0.859 6
11	0.149 1	0.139 8	0.141 8	0.173 0	0.128 4	0.170 4	0.182 0	0.079 1	0.200 6	0.134 6	****	0.890 5
12	0.146 6	0.164 4	0.118 6	0.155 3	0.143 3	0.143 2	0.178 2	0.141 8	0.133 1	0.151 3	0.116 0	****

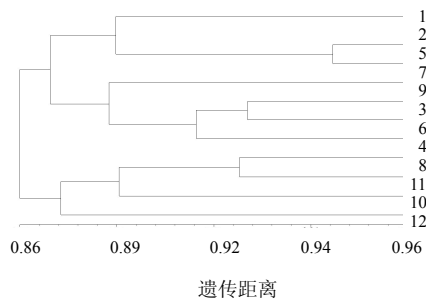


图2 太子参种源遗传距离树状图

Fig. 2 Dendrogram for genetic distance of *P. heterophylla* provenances

## 4 讨论

### 4.1 栽培太子参遗传多样性水平

植物的遗传多样性水平与其生物学特性、生境以及起源进化是密不可分的,很大程度受到物种繁育系统、分布范围、生活型以及花粉和种子传播方式的影响<sup>[10]</sup>。本实验分析栽培太子参的PPL在59.76%~91.46%,物种水平上的PPL为89.02%,表明目前栽培太子参的遗传多样性水平是比较高的。近几十年来,随着太子参从北至南的引种,它们的生长海拔可从800 m到2 700 m,如此宽的栽培区域,多样的生态环境、复杂的地理、土壤等生

态条件,对太子参遗传分化影响很大,且从多年生(三年)的自然习性经栽培转化为一年生特性,生长周期缩短,遗传特征已有改变。此外,太子参有自花和异花授粉习性,前者可产生保持稳定的自我基因种子,后者可接受外源基因的渗入产生杂合子代,杂合个体的块根可通过人工繁殖将杂合基因位点固定下来,栽培太子参在不断适应人为的改造中某些基因也发生了适应性变化,使基因的多样性增加了。

#### 4.2 栽培太子参的基因流与遗传分化

栽培太子参各地区种源间的  $G_{st}$  为 0.274 1, 即有 27.41% 的遗传变异存在于种源间, 72.59% 的遗传变异存在于种源内, 说明太子参种源内遗传变异大于种源间遗传变异。这主要是由于各产区间种源的相互引种、频繁换种所致, 由于太子参缺乏规范种子种苗市场管理机制, 种植种源的交流方式是农户、种植企业自发、自觉进行的, 必然会造成某地区买卖的种苗背景可能是混杂的。此外, 由于植物种群内和种群间的基因流是借助于花粉、种子、孢子、植株个体以及其他携带有种群遗传物质的物体为媒介进行的, 其中花粉和种子是基因流的主要载体, 基因流的大小主要决定于花粉漂移或种子传播水平<sup>[11]</sup>。从本实验分析的  $N_m$  (1.323 8), 栽培太子参种源间的基因交流是顺利的, 这不仅要归功于太子参具有的兼性生殖特性(自花和异花授粉), 而且与太子参引种地区频繁的种子种苗交流的人为干预有密切关系。这可从作者前期对贵州施秉栽培太子参的农艺性状研究得到证实, 测量种源 9 的地上生物量、地下生物量、叶长、叶宽等 13 个农艺性状, 其中地上生物量、地下生物量、块根数等 9 个性状变异系数达 20% 以上<sup>[3]</sup>。本实验的遗传分化分析结果进一步表明, 现在全国主产区种植的太子参, 各种源内的遗传分化现象很严重, 纯化种源, 培育品系、选育优良品种将成为下一步工作的重点。

#### 4.3 太子参种源的遗传距离和遗传一致度

本实验种源间的遗传一致度结果显示, 当遗传一致度为 0.87 时, 12 个栽培种源明显可分为 3 类, 各种源间遗传关系大体上符合地域差异, 如种源 1、2 与种源 5 和 7 的聚为一类, 从地理距离来看, 虽然安徽的宣城与江苏的句容、南京分属不同行政省, 但其仅相距 90 多公里, 生境相似导致遗传基础的相似性。种源 10、11、12 与 8 聚为一类, 推测这 3 个种源与福建柘荣种源有很近的种质渊源。而种源 9 未与贵州施秉的其他 3 个种源聚为一类, 其原因

可能是种源 9 在长期的栽培过程中, 药农十分注重选种, 而选择标准大多侧重产量这一经济性状, 而种源 10、11 和 12 人为干扰较小, 因此多年的选择导致种源 9 与其他 3 个施秉种源遗传背景的差异。同样, 种源 5、7 与种源 3、4 未聚在一起的原因可能也与人为的选种有关或栽培种源 5 和 7 并非来源于江苏句容的野生种源。2 个江苏句容地区种源(种源 3 和 4) 未聚在一起, 主要是这 2 个种源的种质资源背景是不一样的, 大田观察发现, 种源 4 植株形态要表现为茎全为绿色, 果实饱满, 果实成熟期较为集中, 在种质特性上与其他种源与众不同。说明种源间的遗传关系首先是基于种质资源固有基因的同源性, 其次考虑它们原籍贯的地理背景。

在遗传距离上, 种源 1 与 2 的遗传一致度最高, 为 0.972 5, 其次为种源 5 与 7, 为 0.950 9, 印证它们属于同省的区域性引种。遗传一致度最低的是种源 9 与 11, 为 0.818 2, 表明这 2 个种源可能源自不同产区。历史上贵州并无太子参资源分布, 现在施秉能成为全国 3 大主产区之一, 主要是源自 20 世纪 90 年代初的引种栽培, 种源来自福建<sup>[3]</sup>, 经二十余年本地驯化, 形成目前施秉本地种质, 由于欠缺基因交流, 施秉近年也大量引入江苏、安徽、山东的太子参种苗, 丰富、纷杂的种源在异地逐渐整合、交流, 使这一产区的遗传相似度表现最低。

#### 4.4 栽培太子参次生代谢物与遗传多样性水平

目前对药材质量进行评价的指标成分基本上是药用植物的次生代谢产物, 它们的合成与积累不仅与遗传特性有关, 而且还受环境的影响。本文所有样本虽来自不同产区, 但均种植在贵州施秉种质资源圃, 生长环境一致。本实验以次生代谢物质太子参环肽 B 与遗传多样性的相关性分析显示二者无显著的相关性。不同栽培种源样本的量差异较大, 有受环境影响的趋势, 如种源 1、2 引种至施秉种植 1 年, 太子参环肽 B 量分别为 0.006 4% 和 0.006 8%, 而第 2 年太子参环肽 B 质量分数可达到 0.012 4% 和 0.016 2%, 换言之, 太子参药材质量在一定程度上会受栽培环境的影响。研究表明, 移栽至贵州施秉的太子参与原栽培地的太子参环肽 B 量有一定差异<sup>[7]</sup>, 特别是安徽宣城样本与原产地量差异最大。贵州施秉地区属高原季风性气候, 年平均气温在 14~16 °C, 年降雨量在 1 060~1 200 mm, 年日照时数为 1 195 h; 安徽宣城地区受海陆热力性质差异的影响, 为温带/亚热带季风气候, 年平均气温与降

水量虽与施秉相近, 但年日照时数比施秉地区高近二倍<sup>[12-13]</sup>。所以推测, 可能是这种环境差异导致安徽宣城种源太子参环肽 B 量出现差异。此外, 作者分析证实, 来自福建原栽培地的太子参难以检出太子参环肽 B 的成分, 但贵州施秉最早自福建引种的太子参, 经多年异地繁殖栽培, 现已形成施秉本地种的种源中, 太子参环肽 B 的量能达到《中国药典》2010 年版的规定。就此来看, 环肽类物质的产生与变化可能与生态环境因子有一定相关性, 进一步探讨影响栽培太子参这类次生代谢物质形成的机制应引起关注。

一个物种的进化潜力和抵御逆境的能力取决于种内遗传变异的大小, 遗传多样性越丰富, 对环境变化的适应能力越强, 其自然分布范围越广<sup>[14]</sup>。药用植物栽培工作者所感兴趣的是寻找既具有丰富遗传多样性水平, 又保持稳定的有药效作用次生代谢物的种源。比较本文不同栽培种源的太子参环肽 B 和遗传多样性水平。发现种源 4 量和 PPL 较高, 分别为 0.049 4%、76.83%, 其次是种源 3 遗传多样性最丰富, PPL 达 91.46%, 太子参环肽 B 量亦有 0.027 1%。故在太子参栽培种源的保存和品系、品种选育上, 可以重点选择这 2 个种源开展工作。

#### 参考文献

[1] 中国药典. 一部 [S]. 2010.  
[2] 黄璐琦, 王永炎. 药用植物种质资源研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2008.  
[3] 肖承鸿, 周涛, 江维克, 等. 贵州栽培太子参主要农

艺性状比较及相互关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(6): 812-816.  
[4] 朱艳, 秦民坚, 杭悦宇, 等. 不同种源太子参的 RAPD 分析 [J]. 植物资源与环境学报, 2007, 16(3): 19-22.  
[5] 肖承鸿, 周涛, 江维克, 等. 贵州太子参生物量与次生代谢物积累的动态变化分析 [J]. 中国药学杂志, 2013, 48(16): 27-32.  
[6] 安坤, 何静, 万忠民, 等. 不同产区太子参氨基酸含量测定及多元统计分析 [J]. 天然产物研究与开发, 2012, 24(5): 594-598.  
[7] 王媚, 宋建平, 韩乐, 等. 太子参环肽 B 含量分析及其动态研究 [J]. 中药材, 2010, 33(8): 1225-1227.  
[8] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities fresh leaf tissue [J]. *Phytochem Bull*, 1987, 19: 11-15.  
[9] Wright S. Evolution in Mendelian population [J]. *Genetic*, 1931, 16(2): 97-159.  
[10] 王洪新, 胡志昂. 植物的繁殖系统、遗传结构和遗传多样性保护 [J]. 生物多样性, 1996, 4(2): 92-96.  
[11] Elstrand N C, Gene flow by pollen: implications for plant conservation genetics [J]. *OIKOS*, 1992, 63: 77-86.  
[12] 严起前. 旱地分带轮作多熟制满负荷种植法 [J]. 耕作与栽培, 1991(5): 16-17.  
[13] 姚勇, 李萍, 王德群, 等. 宣州太子参规范化生产操作规程研究 [J]. 现代中药研究与实践, 2004, 18(5): 28-30.  
[14] 程纪伦, 范爱辉, 苟占平, 等. 贵州野生天麻遗传多样性的 AFLP 指纹分析 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(11): 2866-2868.