

栽培太子参的遗传多样性与质量分析

肖承鸿¹, 周涛^{1*}, 江维克¹, 艾强¹, 杨昌贵¹, 熊厚溪¹, 廖明武²

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理论依据。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, HPLC 法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) 平均值为 0.257 9, Shannon's 多态性指数 (I) 平均值为 0.388 4, 遗传分化系数 (G_{st}) 为 0.274 1, 种源间基因流 (N_m) 为 1.323 8。基于遗传一致度, 12 个种源可聚为 3 类。12 个种源间及种源内个体中的太子参环肽 B 量差异明显, 种源 4 的变异系数 (9.51%) 较小, 且太子参环肽 B 量 (0.049 4%) 明显高于其他种源。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 的量, 种源 3 和 4 种质较为优良, 可作为太子参种质资源保存及品种选育的对象。

关键词: 太子参; 种质资源; 遗传多样性; 遗传分化系数; Shannon's 多态性指数; 基因流

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2014)09-1319-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2014.09.023

Genetic diversity and quality analysis of cultivated *Pesudostellaria heterophylla*

XIAO Cheng-hong¹, ZHOU Tao¹, JIANG Wei-ke¹, AI Qiang¹, YANG Chang-gui¹, XIONG Hou-xi¹,
LIAO Ming-wu²

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 *Pesudostellaria 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 Heterophyllin B (HB) in the root of *P. heterophylla* was 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 (G_{st}) was 0.274 1, and the gene flow (N_m) 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 HB content among and within provenances. Heterophyllin B content (0.049 4%) in provenance 4 was significantly higher than those in the others, and their 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 HB are made, and the provenances 3 and 4 of *P. heterophylla* have better quality, which are suitable for germplasm conservation and variety breeding.

Key words: *Pesudostellaria heterophylla* (Miq.) Pax ex Pax et Hoffm.; germplasm resources; genetic diversity; genetic differentiation coefficient; Shannon's information index; gene flow

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); 贵州省普通高等学校特色重点实验室建设项目 (黔教合 KY 字[2013]108 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

网络出版时间: 2014-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20140319.1849.008.html>

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^[1]。目前, 太子参商品药材主要来源于福建的柘荣、福安, 安徽的宣城、六安, 江苏的句容、镇江, 山东的临沂, 贵州的施秉等地区。各地区间的频繁引种和交流, 使太子参现有栽培群体类型多样, 药材内在质量和产量参差不齐。

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^[2]。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。因此, 基于遗传多样性和药材品质对药用植物种质资源进行筛选和评价, 可以为合理筛选和科学利用种质资源提供依据。

目前, 已有研究显示太子参种质资源有较高的遗传多样性^[3-4], 且发现不同产地药材的质量参差不齐^[5-7], 但对栽培太子参的遗传多样性与药材品质进行综合分析的研究未见报道。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品质, 寻找和筛选太子参遗传多样性丰富、次生代谢产物积累较高的种源, 为进一步开展优良品种的选育工作提供种质材料。

1 材料、仪器与试剂

1.1 材料

太子参样品分别为来自安徽、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 5~8 年, 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™ 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); 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 基因组 DNA 的提取

采用 CTAB 法^[8]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。

2.2 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。

2.3 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 Mg²⁺, 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 ℃预变性 5 min; 95 ℃变性 30 s, 42 ℃退火 45 s, 72 ℃延伸 1.5 min, 40 次循环; 72 ℃后延伸 7 min; 4 ℃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。

2.4 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 (G_{st}) 和基因流 (N_m),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。

2.5 太子参环肽 B 的测定

参照文献方法^[5],测定太子参环肽 B (Heterophyllin B, HB) 的量。流动相为水 (A) -乙腈 (B); 体积流量 0.9 mL/min。梯度洗脱条件: 0~10 min, 10%~25%B; 10~30 min, 25%~40%B; 30~35 min, 40%~45%B; 柱温 30 ℃; 检测波长 203 nm。以 HB 作为对照品,绘制标准曲线,计算质量分数。

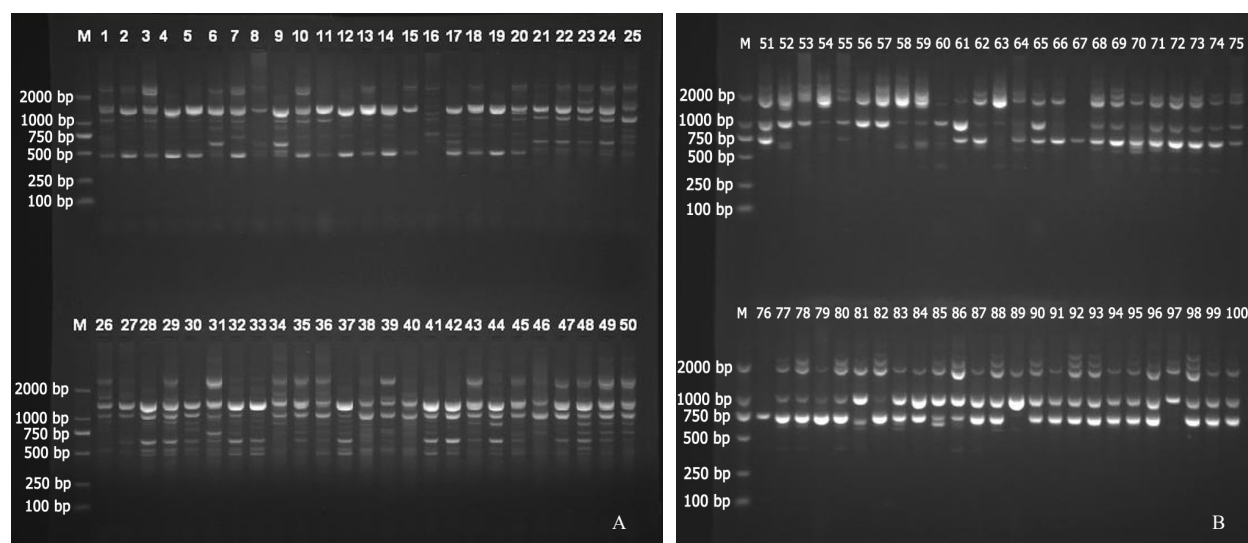
3 结果与分析

3.1 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,平均每条引物扩增 8.2 条条带,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。10 条引物中,4 条引物的多态性条带为 100%,占引物总数的 40%。见图 1、表 2。

3.2 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 0.355 3, I 为 0.528 5,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 为 0.194 9~0.306 6、 I 为 0.301 6~0.466 7。



1~50 依次为种源 1~5 的 10 个个体样本, 51~100 依次为种源 6~10 的 10 个个体样本 M-Marker
1—50 are samples of 1—5, respectively, 51—100 are samples of 6—10, and 5, respectively 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 2 不同引物的扩增结果

Table 2 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	GAGAGAGAGAGAGAGAC	9	8	88.89
110815C23	CTCTCTCTCTCTCTT	7	7	100.00
110815C24	CTCTCTCTCTCTCTCTA	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	CACACACACACACACARG	11	9	81.82
91020P34	ATGATGATGATGATGATG	5	5	100.00
91020P38	GAAGAAGAAGAAGAAGAA	7	7	100.00
总计		82	73	89.02

在 12 个种源中, 种源 3 的多态位点数为 75 个, *PPL* 为 91.46%。*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, *PPL* 为 59.76%, *PPL* 低于 70% 的种源还有种源 5、6、7 和 9。见表 3。

3.3 太子参种源的遗传分化

Wright 等^[9]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 0.355 3, 其中 H_s 和 D_{st} 分别为 0.257 9、0.097 4, 分别占 H_t 的 72.59%、27.41%。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, 表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 N_m 为 1.323 8, 表明太子参各种源之间的基因交流顺利。

3.4 太子参种源的遗传距离和遗传一致度

太子参 12 个种源间的遗传一致度在 0.818 2~0.972 5, 其中种源 1 与 2 的遗传一致度最高, 为 0.972 5, 表明亲缘关系较近。其次为种源 5 与 7, 遗传一致度为 0.950 9。遗传一致度最低的是种源 9 与 11, 只有 0.818 2, 见表 4。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

表 3 不同种源太子参遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of *P. heterophylla* from different provenances

种源编号	多态位点数	PPL / %	N_a	N_e	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 4 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 4 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	****

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。

3.5 不同种源太子参药材中太子参环肽 B (HB) 的量差异

《中国药典》2010 年版规定 HB 量不得低于 0.02%。12 个种源中有 6 个种源的 HB 量达到药典规定，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 外，其他 4 个种源块根中的 HB 量均高于 0.02%。贵州施秉地区的种源 9 (0.019 4%)、种源 11 (0.025 6%) 和种源 12 (0.022 0%) 块根中的 HB 量较为相近，表明 HB 量的差异与种源的地理分布有一定的相关性。种源内 HB 量变异系数小于 20% 的有种源 4、6 和 9，表明这 3 个种源内个体间 HB 量较一致，大多数太子参样本无论种源间、种源内的 HB 量差异较大。见表 5。

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^[10]。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，多样的生态环境，复杂的土壤条件，对太子参遗传分化影响很大。植株从多年生 (3 年) 的自然习性经栽培转化为 1 年

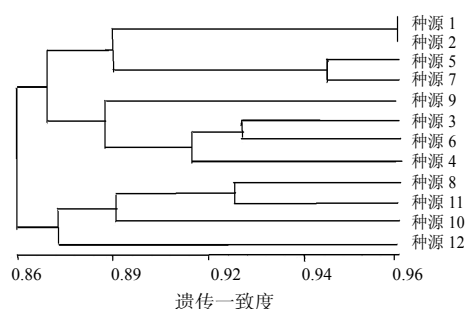


图 2 太子参种源遗传距离树状图

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

表 5 12 个种源太子参药材太子参环肽 B 的测定结果

Table 5 Determination of HB 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

生, 生长周期缩短, 遗传特征有所改变。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 72.59% 的遗传变异存在于种源内, 表明太子参种源内遗传变异大于种源间遗传变异。分析认为这是各产区间种源频繁换种所致。由于太子参缺乏规范的种子种苗市场管理机制, 种源的交流是农户、种植企业自发进行的, 必然造成种苗的混杂。此外, 本实验分析太子参的 $N_m=1.323\ 8$, 证明栽培太子参种源间的基因交流是顺利的, 这一方面是该物种所具有的兼性生殖特性所致, 另一方面仍源于人为频繁的种苗交流。本课题组前期开展贵州施秉栽培太子参的农艺性状研究中发现, 种源 9 植株间的地上生物量、地下生物量、块根数等 9 个农艺性状表现出种源内个体间的差异就比较大^[3]。本实验的遗传分化分析结果进一步表明, 目前各主产区的栽培太子参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, 显示该类种源是近地引种的。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。同样, 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不一样, 种源 4 植株形态表现为茎全为绿色, 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。太子参种源间的遗传关系首先受种质固有基因影响, 其次与它们原籍贯的地理环境有关系。

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^[1], 经二十余年的本地驯化, 成为施秉本地种质。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

药用植物的次生代谢物的合成与积累不仅与遗传特性有关, 而且还受环境的影响。不同栽培种源药材中的 HB 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, HB 的量分别为 0.006 4% 和 0.006 8%, 而第 2 年 HB 量可达到 0.012 4% 和 0.016 2%。已有研究表明, 移栽至贵州施秉的太子参与安徽宣城原栽培地的 HB 量有一定差异^[7], 贵州施秉地区属高原季风性气候, 年平均气温在 14~16 ℃, 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^[12-13]。推测气候或土壤因素对太子参中 HB 成分积累有影响。此外, 福建柘荣地区的太子参药材难以检出 HB 的成分, 但贵州施秉自福建引种近 20 年的太子参, 其 HB 的量能达到《中国药典》2010 年版的规定。就此来看, 太子参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^[14]。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, 又保持稳定有效作用次生代谢物的种源。比较本实验不同栽培种源的 HB 量和遗传多样性水平, 发现种源 4 块根中 HB 的量和 PPL 较高, 分别为 0.049 4%、76.83%, 其次是种源 3, 遗传多样性 PPL 达 91.46%, HB 的量有 0.027 1%。故在太子参栽培种源的保存和品系、品种选育上, 推荐从这 2 个种源中选择研究材料。

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): 1125-1128.
- [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] 金琳山. 施秉县太子参规范化种植技术 [J]. 现代农业科技, 2008, (13): 66-67.
- [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.