

越南金花茶化学成分差异及基于表型性状的亲缘关系分析

何秋梅¹, 高慧², 白燕远^{1,3}, 何志鹏¹, 吴梦丽¹, 侯小涛⁴, 邓家刚^{4*}, 谢阳姣^{1,3*}

1. 广西中医药大学瑶医药学院, 广西 南宁 530200

2. 广西中医药大学护理学院, 广西 南宁 530200

3. 广西壮瑶医药与医养结合人才小高地, 广西 南宁 530200

4. 广西农作物废弃物功能成分研究协同创新中心, 广西 南宁 530200

摘要:目的 对越南金花茶 *Camellia insularis* 化学成分及表型性状进行分析, 明确其化学成分差异及基于表型性状的亲缘关系, 为越南金花茶种质分类和良种选育提供依据。方法 采用超高压液相色谱法建立样品化学指纹图谱, 目测和直尺观测表型性状, 基于液相色谱峰数量和面积, 采用主成分分析、相关分析和聚类分析方法, 对越南金花茶化学成分差异及亲缘关系进行评价。结果 主成分分析结果表明, 以色谱峰数量为评价指标, YN3-78、YN3-77、YNX3-15、YN3-72、YN3-62 等综合评分较高; 以色谱峰面积为评价指标, YN3-60、YNX3-05、YNX3-01、YNX3-14、YNX3-04 等综合评分较高。相关分析结果显示, 各表型性状与化学成分间存在显著相关。聚类分析结果表明, 77 株越南金花茶可分为 4 个类群, 其中, 第 1 群 13 株, 属大叶型, 化学成分出峰时间多在 19.32 min 以前, 色谱峰数量较少、峰面积较高。第 2 群 26 株, 包含所有线形叶植株, 属大叶型, 化学成分出峰时间多在 15.21 min 之前, 色谱峰数量最少。第 3 群 19 株, 叶面积较小, 化学成分种类少, 峰面积低, 综合指标最差。第 4 群 19 株, 叶面积最小, 该群 23.33 min 以后有出峰, 是区别于其他类群的重要特征; 该群化学成分数量最多, 峰面积均较低。结论 越南金花茶表型和化学成分均具有较大差异, 通过聚类分析所得 4 个类群均有各自明显的表型性状特征; 表型与化学成分存在显著相关, 可通过表型性状预测化学成分种类和含量。该结果可为越南金花茶亲缘关系分析和优良种质筛选提供重要依据。

关键词: 越南金花茶; 表型性状; 化学成分; 亲缘关系; 主成分分析; 聚类分析; 没食子酸; 绿原酸; 儿茶素; 表儿茶素; 牡荆素; 芦丁; 金丝桃苷; 二氢槲皮素; 异槲皮素; 染料木苷; 水杨酸; 槲皮苷; 木犀草素; 槲皮素; 山柰酚; 芹菜素

中图分类号: R282.12 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)02-0557-12

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.02.026

Analysis of difference in chemical composition and phenotypic characteristics-related genetic relationships of *Camellia insularis* samples

HE Qiu-mei¹, GAO Hui², BAI Yan-yuan^{1,3}, HE Zhi-peng¹, WU Meng-li¹, HOU Xiao-tao⁴, DENG Jia-gang⁴, XIE Yang-jiao^{1,3}

1. College of Yao Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

2. College of Nursing, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530200, China

3. Guangxi Talent Highland for Zhuang & Yao Medicine and Combination of Medical Care and Elderly Care, Nanning 530200, China

4. Guangxi Collaborative Innovation Center for Research on Functional Ingredients of Agricultural Residues, Nanning 530200, China

Abstract: Objective To compare the chemical components and phenotypic characters of Vietnamese golden camellia (*Camellia insularis*) to investigate the difference in their chemical composition and their phenotypic characteristics-related genetic relationships and provide a basis for germplasm classification and screening of good germplasm of that species. **Methods** The chemical fingerprint of the samples was established by ultra-high liquid chromatography, and their phenotypic characteristics were observed and measured using a straightedge. Principal component analysis, correlation analysis, and cluster analysis were performed to evaluate the difference in chemical composition and genetic relationships of the samples based on the chromatographic peak number and area. **Results** The results of principal component

收稿日期: 2021-09-03

基金项目: 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA18118049-7); 广西自然科学基金重点项目(2020GXNSFDA297029); 中医学广西一流学科(桂教科研[2018]12号)

作者简介: 何秋梅(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为中药、民族药资源开发与利用。E-mail: 284054439@qq.com

*通信作者: 谢阳姣(1975—), 博士, 研究员, 主要从事中药、民族药资源开发与利用研究工作。E-mail: xieyangjiao@163.com

邓家刚(1953—), 教授, 主要从事中药基础理论与中药药效筛选研究。E-mail: dengjg53@126.com

analysis showed that the comprehensive scores of YN3-78, YN3-77, YNX3-15, YN3-72 and YN3-62 were higher when the number of chromatographic peaks was used as the evaluation indicator, and those of YN3-60, YNX3-05, YNX3-01, YNX3-14 and YNX3-04 were higher when the chromatographic peak area was used as the evaluation indicator. The correlation analysis reveals that there was significant correlation between phenotypic traits and chemical composition. The cluster analysis results indicated that the 77 *C. insularis* samples could be divided into four groups, among which groups 1, 2, 3, and 4 consisted of 13, 26, 19, and 19 individuals, respectively. Samples in group 1 had large leaves, and fewer chromatography peaks with higher peak areas, most of which appeared before 19.32 min. Samples in group 2 were large-leaf, including all linear-leaf individuals, and had the minimum chromatographic peaks that mostly appeared before 15.21 min. Samples in group 3 had a smaller leaf area, fewer peaks and a lower peak area, and had the poorest composite index. Samples in group 4 had the smallest leaf and lowest peak areas but maximum chemical components; peaks appearing after 23.33 min in this group made it easy to be distinguished from other groups.

Conclusion The phenotypes and chemical components of all the samples were different considerably, and the four groups as formed after the cluster analysis had their own distinct phenotypic characteristics. The phenotype was significantly correlated with the chemical composition, suggesting that the type and content of the chemical composition can be predicted by phenotypic traits. Our results may provide an important basis for the genetic relationship analysis and the screening of good germplasm of *C. insularis*.

Key words: *Camellia insularis* Orel et Curry; phenotypic traits; chemical composition; genetic relationship; principal component analysis; cluster analysis; gallic acid; chlorogenic acid; catechins; picatechin; vitexin; hypericin; dihydroquercetin; rutin; isoquercetin; genistein; salicylic acid; quercetin; luteolin; quercetin; kaempferol; apigenin

金花茶 *Camellia Petelotii* (Merril) Sealy 为山茶科山茶属金花茶组小乔木^[1], 属世界珍稀濒危植物, 国家一级保护植物^[2], 被誉为植物界的“大熊猫”^[3]。金花茶为广西传统药用植物及壮族传统民间用药^[4], 具有广泛的生物活性和重要的药用价值, 《广西壮自治区壮药质量标准》(第 2 卷)^[5]记载, 金花茶具有清热解毒、利尿消肿作用, 主治肾炎、水肿、尿路感染、咽喉炎、痢疾、高血压等病。体内及体外药理研究证明金花茶具有抗氧化^[6]、抗肿瘤^[7-8]、调血脂^[9-10]、降血糖^[11]、抗皮肤光老化等多种药理作用, 具有极高的药用价值和经济价值。

金花茶 20 世纪 60 年代初首次在广西发现, 现全世界已发现的金花茶组植物有 42 个种 5 个变种, 主要分布于我国广西南部以及越南北部^[12], 个别种零星分布或栽培于我国云南和贵州^[13]及缅甸、泰国、马来西亚和日本等^[14]。越南金花茶 *Camellia insularis* Orel et Curry 资源总量不多, 但品种较丰富, 目前已发现金花茶品种 22 个, 与我国金花茶主产区广西接壤的越南北部地区, 是越南金花茶主要分布中心^[15]。越南金花茶抽芽和花期均较国内金花茶早, 对气温的要求略高^[16], 多数引种至国内的越南金花茶均会受不同程度的冻害, 但次年仍能从保留的主干中抽梢生长^[17], 表现为对广西生态环境的适应性^[18]。越南金花茶花径和单花鲜质量均高于大多数国内原生金花茶品种^[19], 较之广西本地金花茶, 越南金花茶叶片药用价值更高^[15,20-21], 为发展和壮大金花茶产业, 可加大对越南金花茶的引种栽培和优良品种选育。

从资源分布量来看, 全世界 90% 以上的野生金花茶分布于中国广西防城港市十万大山的兰山支脉一带^[22], 因此, 2009 年防城港区被中国经济林协会命名为“中国金花茶之乡”。为保护金花茶资源, 促进其开发利用, 防城港市大力支持金花茶种植和开发产业, 现防城金花茶种植面积达 3300 hm²。防城港市东兴市东兴天之麟农业科技有限公司发展金花茶种植和育苗基地 450 hm², 种植金花茶 130 万株, 涉及国内金花茶品种 21 个, 引种越南金花茶 133 hm²。由于金花茶品种繁多, 引种的越南金花茶品种因未经选育, 多品种混杂对金花茶管理及产业发展带来一定的影响^[23], 因此, 明确其种质差异, 筛选优良种质具有重要意义。植物表型性状的鉴定和描述是种质资源研究最直接、最基本的方法和途径^[24], 本实验根据金花茶表型性状差异, 从东兴天之麟农业科技有限公司金花茶种植基地选择 77 株越南金花茶, 分析其化学成分差异及基于表型性状分析其亲缘关系, 其结果可为了解越南金花茶遗传特性及筛选优良种质提供参考和依据。

1 材料与仪器

1.1 材料

越南金花茶来源于广西防城港市东兴市江平镇大坳村冲峰金花茶种植基地, 原产地为越南, 引种于 2013 年, 由原南宁市金花茶公园基因库主管黄连冬高级园林工程师鉴定为山茶科山茶属越南金花茶 *C. insularis* Orel et Curry。2019 年 1 月, 项目主要基于金花茶叶片表型性状差异, 从基地挂牌 80 株用于品种差异分析和优良种质筛选, 其中有 3 株

挂牌错误后剔除, 计入项目分析的共 77 株, 植株编号为 YN1-01、YN3-01~YN3-25、YN3-27、YN3-29、YN3-30、YN32~YN3-42、YN3-44、YN3-45、YN3-47~YN3-80、YN3-91。乙腈(色谱纯)、磷酸(色谱纯)、乙醇(分析纯)、水(超纯水, 自制)。对照品绿原酸(批号 wkq19010201)、表儿茶素(批号 wkq19010401)、牡荆素(批号 wkq19031111)、金丝桃苷(批号 wkq19040913)、染料木苷(批号 wkq19051702)、槲皮苷(批号 wkq19031304)、木犀草素(批号 wkq19031213)、山柰酚(批号 wkq19011609)、二氢槲皮素(批号 wkq-00269)、异槲皮素(批号 wkq-00269), 以上均购自四川省维克奇生物科技有限公司, 质量分数均为 98%; 没食子酸(批号 18032703, 质量分数 98%) 购自成都普非德生物技术有限公司; 儿茶素(批号 110877-201604, 质量分数 99.2%)、芦丁(批号 100080-201811, 质量分数 91.7%)、水杨酸(批号 100106-201605, 质量分数 99.3%)、槲皮素(批号 100081-201610, 质量分数 99.1%)、芹菜素(批号 111901-201603, 质量分数 99.2%), 以上均购自中国食品药品鉴定研究院。

1.2 仪器与试剂

超高效液相色谱仪(美国 Waters 公司, 包括 Waters FIN 样品管理器, QSM 四元溶剂管理器, TUV Detector 检测器, Empower 色谱工作站), KQ-500E 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), 密理博超纯水机(苏州赛恩斯仪器有限公司)。

2 方法

对挂牌植株, 观察其叶片表型性状, 取最外层分枝上已成熟转绿的叶片, 冻干后粉碎, 过 3 号筛用于化学成分分析。

2.1 叶片形态指标测定

观察叶形、叶尾和叶基形态、叶细脉数, 测量叶长、叶宽、叶柄长, 计算叶面积, 每株观察 5 片, 取平均值。

2.2 采用超高效液相色谱法测定金花茶化学成分

2.2.1 色谱条件 以 ACQUITY UPLC HSS T3 (100 mm×2.1 mm, 1.8 μm) 为色谱柱; 流动相为乙腈(A)-0.3%甲酸水溶液(B); 梯度洗脱: 0~2 min, 14%~15%乙腈; 2~12.5 min, 15%~22%乙腈; 12.5~15.0 min, 22%~22.5%乙腈; 15~28 min, 22.5%~25%乙腈; 28~33 min, 25%~60%乙腈; 33~37 min, 60%乙腈; 柱温 35 °C; 体积流量 0.2 mL/min, 检测波长 260 nm。

2.2.2 对照品溶液的制备 对照品采用甲醇溶解后制成 5 mg/mL 的母液。用时将母液稀释, 制成分别含各对照品 0.2 μmol/L 的混合对照品溶液。

2.2.3 待测样品提取和测定 精密称取 0.5 g 样粉, 加 50%乙醇 25 mL, 超声提取 30 min, 定量滤纸过滤后, 用 0.2 μm 微孔滤膜滤过。与对照品溶液采用同样的色谱条件测定, 根据回归方程计算已知化学成分含量。测定结果采用“中药色谱指纹图谱相似度评价系统(2012.130723 版本)”进行评价, 根据样品峰与对照品峰保留时间的一致性确定是否为同一化合物。

2.2.4 标准曲线制作 混合对照品分别设 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.2 μmol/L 7 个进样梯度, 测峰面积, 以进样量为横坐标(X), 对应含量为纵坐标(Y), 采用 excel 制作线性回归方程, 测得各对照品线性范围。对照品线性回归方程 $R^2 > 0.999$, 标准曲线线性关系良好, 见表 1。

方法学考察结果显示精密度、重复性、稳定性、加样回收率良好, RSD 均 < 0.05。

表 1 各对照品回归方程及线性范围

Table 1 Regression equation and linear range of each standard

化学成分	回归方程	R^2	线性范围/%
没食子酸	$Y=1.2155X-0.0017$	0.9999	0.241~1.452
绿原酸	$Y=4.219X+0.0148$	0.9998	0.859~5.057
儿茶素	$Y=2.8702X-0.0040$	0.9999	0.570~3.428
表儿茶素	$Y=6.8742X-0.0096$	0.9997	1.365~8.211
牡荆素	$Y=1.0265X-0.0014$	0.9999	0.204~1.226
芦丁	$Y=0.3359X-0.0002$	0.9998	0.067~3.453
金丝桃苷	$Y=0.4332X+0.0013$	0.9997	0.088~2.959
二氢槲皮素	$Y=1.6292X-0.0023$	0.9999	0.324~1.946
异槲皮苷	$Y=1.8474X-0.0013$	0.9998	0.368~2.214
染料木苷	$Y=0.9959X-0.0025$	0.9999	0.197~1.190
水杨酸	$Y=3.3203X-0.0035$	0.9997	0.661~3.959
槲皮苷	$Y=7.0599X-0.0342$	0.9998	1.378~8.482
木犀草素	$Y=0.5516X-0.0011$	0.9999	0.109~4.319
槲皮素	$Y=3.4811X+0.0122$	0.9998	0.708~4.172
山柰酚	$Y=2.7783X-0.0109$	0.9999	0.545~3.318
芹菜素	$Y=3.2073X-0.0045$	0.9999	0.637~3.831

2.3 数据统计分析

2.3.1 色谱峰纳入标准 越南金花茶叶 50%乙醇提取液峰面积达 2000 以上的色谱峰有 85 个, 化学成分为已知的峰有 16 个。理论上每一个峰对应一个化学成分, 峰面积与相应化学成分的含量成正比。以单个样品峰的有无(有记为“1”, 无记为“0”)代表某个化学成分的有无、以峰面积代表化学成分含量纳入统计分析, 对 77 株金花

茶的化学成分和亲缘关系进行评价；选择成分已知的 16 个峰及峰面积达 10 000 以上的 28 个未知峰与叶表型性状进行相关分析，获取与化学成分相关的表型性状。

2.3.2 非数值型性状数据转换 将非数值型性状叶形、叶尾形态、叶基形态、叶细脉数进行哑变量转换，转换见表 2，转换后的数据与叶面积、叶柄长、色谱峰数

量、色谱峰面积一并录入总表后进行统计分析。

2.3.3 数据统计分析 所有数据进行标准化转换后，利用 R 语言 (R×64 3.6.2) 软件，采用基于欧氏距离 (Euclidean distance) 离差平方和法的层次聚类法进行聚类，利用 SPSS 13.0 软件对其进行主成分分析 (principal component analysis, PCA) 和 Pearson 相关分析，Excel 对综合得分值进行作图。

表 2 表型性状哑变量数据转换

Table 2 Data conversion for dummy variables of phenotypic traits

哑变量	叶形				叶尾			叶基		细脉数		
	长椭圆	线形	矩圆	椭圆	凸尖	尾尖	锐尖	渐尖	圆钝	下延	多	中
X ₁	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
X ₂	0	1	0	0	0	1	0	0				
X ₃	0	0	1	0	0	0	1	0				

3 结果与分析

3.1 越南金花茶表型差异

越南金花茶表型性状丰富，主要体现为叶形多样，大小不一。所试金花茶叶形主要包括矩圆、线形、椭圆形、长椭圆形 4 个类型 (图 1-A)，叶基形状有圆钝和下延 2 种 (图 1-C)，叶尾形状有尾尖、渐尖、凸尖、锐尖 4 种 (图 1-C)，叶脉差异主要体现为细脉数量和脉的深度 (图 1-B)。结果显示，叶形以矩圆叶占多数，达

41.56%，线形叶最少，仅占 10.39%；叶尾以尾尖最多，占比 33.37%，余下 3 种类型数量相当；下延型叶基较多，占比 57.14%，细脉多型叶为多数，占比 59.74%。结果显示，越南金花茶叶面积最小值仅 15.90 cm²，最大值 136.50 cm²，变幅达 120.60 cm²，RSD 为 35.81%；叶柄长最小值 0.30 cm，最大值 1.80 cm，变幅达 1.50 cm，RSD 为 34.94%，无论是叶面积还是叶柄长，各株系间差异均较大。

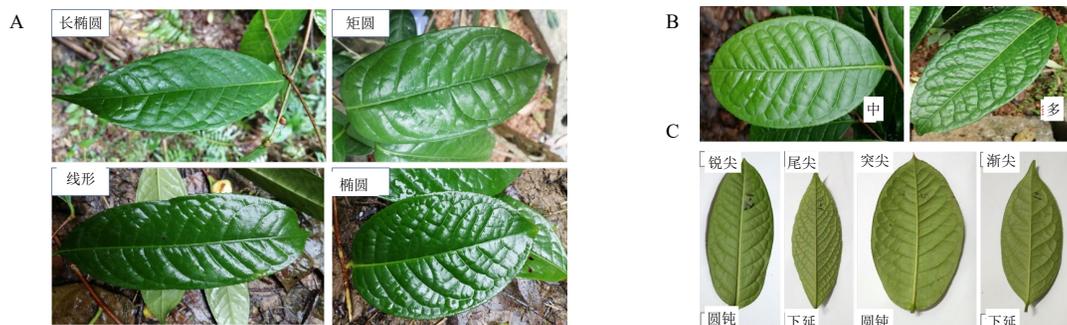


图 1 越南金花茶叶表型

Fig. 1 Phenotype of *C. insularis*

3.2 越南金花茶化学成分差异评价

3.2.1 化学成分含量差异 从所试 77 株样品中检测到 85 个化学成分，其中已知峰 16 个，其含量差异信息见表 3。由表 3 可知，16 个成分含量最小值均为 0，表明并不是所有株系均含该 16 个成分；RSD 值最小 36.29%，最大达 263.35%，株系间含量变异极大，可以预测该基地越南金花茶的来源极其复杂。根据最大值和平均值可知，越南金花茶含量较高的成分有槲皮苷、表儿茶素和绿原酸，最大值分别为 6.842%、6.736% 和 3.319%；平均值以表儿茶素最高

(0.783%)，其次为绿原酸 (0.629%)，槲皮苷排第 3 位 (0.499%)，其余成分的含量均较低。

3.2.2 越南金花茶代表类型液相色谱图 受试 77 株越南金花茶色谱峰数量、峰保留时间和峰面积均存在较大差异，各出峰类型代表图谱见图 2，对照图谱见图 3。由图 2 可知，S1 类型化学成分集中在保留时间 15 min 之前；保留时间 23 min 以后只有 S2 和 S3 有出峰，且二者出峰类型存在差异；S4 和 S5 出峰时间集中在 21 min 前，所出峰的峰面积差异较大。从图 2 可知，越南金花茶化学成分和含量均具有较大的差异，推测其种质来源较为多样。

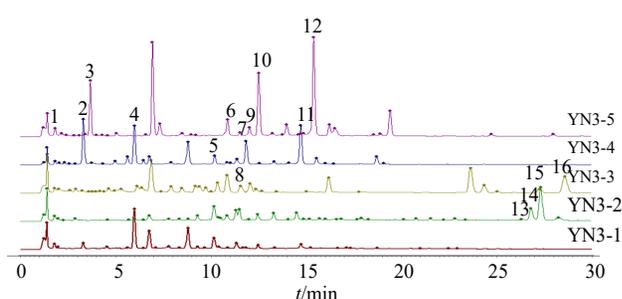
表3 16个已知成分含量

Table 3 Information of the content of 16 known chemical component

编号	质量分数/%															
	没食子酸	绿原酸	儿茶素	表儿茶素	牡荆素	芦丁	金丝桃苷	二氢槲皮素	异槲皮苷	染料木苷	水杨酸	槲皮苷	木犀草素	槲皮素	山柰酚	芹菜素
YN1-01	0.012	3.319	0.238	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000	0.003	0.000	0.094	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-01	0.028	0.018	1.445	0.000	0.000	0.000	0.045	0.000	0.174	0.000	0.008	6.520	0.000	0.000	0.005	0.000
YN3-02	0.020	1.071	0.087	6.736	0.105	0.000	0.000	0.049	0.003	0.002	0.039	0.106	0.002	0.000	0.000	0.000
YN3-03	0.012	1.040	0.000	2.921	0.000	0.000	0.050	0.089	0.008	0.026	0.097	0.000	0.000	0.000	0.001	0.000
YN3-04	0.011	0.562	0.041	0.025	0.000	0.000	0.043	0.028	0.000	0.195	0.373	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-05	0.017	0.503	0.000	0.055	0.000	0.000	0.073	0.062	0.000	0.134	0.649	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-06	0.020	0.000	0.029	0.000	0.009	0.056	0.008	0.096	0.015	0.006	0.002	0.070	0.008	0.047	0.117	0.015
YN3-07	0.011	0.767	0.069	0.048	0.057	0.000	0.000	0.036	0.363	0.000	0.228	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000
YN3-08	0.011	0.601	0.040	0.046	0.065	0.000	0.000	0.046	0.260	0.000	0.173	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-09	0.008	0.453	0.034	5.105	0.000	0.000	0.085	0.053	0.000	0.000	0.044	0.090	0.000	0.000	0.004	0.000
YN3-10	0.013	0.295	0.000	0.032	0.080	0.000	0.000	0.057	0.261	0.000	0.414	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-11	0.017	0.472	0.056	6.687	0.068	0.000	0.000	0.035	0.004	0.000	0.029	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000
YN3-12	0.013	0.025	1.687	0.000	0.000	0.000	0.031	0.000	0.192	0.000	0.008	6.842	0.000	0.000	0.000	0.002
YN3-13	0.015	0.123	0.000	2.618	0.101	0.000	0.000	0.023	0.003	0.000	0.025	0.101	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-14	0.019	0.016	1.240	0.000	0.009	0.000	0.060	0.000	0.243	0.000	0.016	5.340	0.000	0.000	0.007	0.000
YN3-15	0.024	0.000	0.000	0.075	0.010	0.043	0.010	0.043	0.009	0.008	0.000	0.000	0.008	0.054	0.144	0.028
YN3-16	0.012	1.750	0.037	0.636	0.061	0.000	0.000	0.045	0.243	0.000	0.392	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-17	0.019	0.460	0.000	6.073	0.089	0.000	0.000	0.063	0.005	0.000	0.041	0.075	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-18	0.015	0.071	0.072	4.196	0.059	0.000	0.000	0.066	0.003	0.000	0.023	0.078	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-19	0.017	1.463	0.230	0.052	0.059	0.000	0.000	0.064	0.002	0.000	0.253	0.000	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-20	0.016	1.820	0.214	0.043	0.026	0.000	0.000	0.026	0.008	0.000	0.259	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-21	0.023	0.159	0.030	2.962	0.129	0.000	0.014	0.039	0.002	0.000	0.012	0.066	0.000	0.000	0.003	0.000
YN3-22	0.006	0.786	0.023	0.040	0.023	0.000	0.000	0.000	0.027	0.108	0.104	2.864	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-23	0.013	1.193	0.026	0.000	0.050	0.000	0.012	0.000	0.000	0.156	0.419	1.462	0.000	0.000	0.000	0.002
YN3-24	0.011	0.488	0.168	0.054	0.025	0.000	0.010	0.012	0.000	0.168	0.288	1.142	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-25	0.010	1.325	0.065	2.249	0.065	0.000	0.015	0.000	0.000	0.039	0.170	0.469	0.000	0.000	0.000	0.003
YN3-27	0.018	2.370	0.173	0.000	0.018	0.000	0.010	0.000	0.000	0.006	0.305	0.088	0.000	0.000	0.000	0.002
YN3-29	0.026	0.099	0.000	2.939	0.201	0.000	0.000	0.064	0.002	0.008	0.022	0.087	0.000	0.000	0.006	0.000
YN3-30	0.012	1.925	0.051	0.201	0.019	0.000	0.000	0.017	0.000	0.083	0.196	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000
YN3-32	0.016	2.408	0.100	0.037	0.010	0.000	0.000	0.020	0.000	0.107	0.233	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-33	0.008	0.910	0.045	2.697	0.063	0.000	0.000	0.023	0.013	0.000	0.027	0.082	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-34	0.019	2.853	0.151	0.000	0.011	0.000	0.000	0.046	0.009	0.094	0.242	0.066	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-35	0.010	1.296	0.052	0.039	0.043	0.000	0.000	0.046	0.239	0.004	0.274	1.012	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-36	0.012	1.466	0.042	1.058	0.057	0.000	0.000	0.035	0.082	0.004	0.137	0.753	0.000	0.002	0.000	0.000
YN3-37	0.020	0.212	0.114	3.839	0.107	0.000	0.000	0.076	0.003	0.008	0.145	0.087	0.000	0.002	0.000	0.000
YN3-38	0.012	0.974	0.000	0.044	0.036	0.000	0.000	0.053	0.121	0.003	0.166	1.488	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-39	0.013	2.202	0.259	0.061	0.011	0.000	0.000	0.020	0.021	0.032	0.117	0.304	0.000	0.000	0.002	0.000
YN3-40	0.010	2.193	0.102	0.053	0.042	0.000	0.000	0.030	0.289	0.003	0.128	1.602	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-41	0.010	0.733	0.000	0.000	0.023	0.000	0.000	0.011	0.084	0.001	0.122	0.243	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-42	0.008	0.637	0.027	0.827	0.007	0.000	0.000	0.000	0.033	0.000	0.038	0.284	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-44	0.010	0.597	0.000	1.274	0.028	0.000	0.000	0.019	0.065	0.002	0.114	0.394	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-45	0.009	1.022	0.053	0.044	0.014	0.000	0.000	0.000	0.134	0.001	0.149	0.539	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-47	0.010	0.649	0.000	0.000	0.015	0.000	0.000	0.015	0.205	0.002	0.194	0.611	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-48	0.010	0.545	0.000	0.024	0.035	0.000	0.000	0.015	0.108	0.001	0.115	0.611	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-49	0.013	0.484	0.183	0.000	0.013	0.000	0.000	0.016	0.000	0.111	0.247	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-50	0.012	0.617	0.187	0.000	0.012	0.000	0.000	0.035	0.157	0.000	0.167	0.839	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-51	0.009	0.461	0.160	1.203	0.017	0.000	0.000	0.000	0.035	0.000	0.086	0.226	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-52	0.014	0.386	0.096	0.045	0.042	0.000	0.000	0.017	0.189	0.002	0.311	1.442	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-53	0.010	0.450	0.089	0.000	0.017	0.000	0.000	0.016	0.102	0.000	0.151	0.569	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-54	0.011	0.586	0.153	0.000	0.017	0.000	0.000	0.022	0.118	0.001	0.159	0.512	0.000	0.000	0.000	0.007
YN3-55	0.009	0.454	0.067	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000	0.099	0.000	0.093	0.949	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-56	0.008	0.629	0.000	0.000	0.006	0.000	0.000	0.014	0.128	0.000	0.105	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-57	0.007	0.896	0.000	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000	0.166	0.001	0.090	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-58	0.007	0.585	0.040	0.626	0.007	0.000	0.000	0.000	0.017	0.000	0.025	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-59	0.008	0.529	0.054	0.876	0.004	0.000	0.000	0.000	0.029	0.000	0.052	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-60	0.015	0.060	0.028	0.237	0.004	0.000	0.033	0.319	0.029	0.018	0.003	0.000	0.000	0.000	0.058	0.000
YN3-61	0.009	0.000	0.000	0.063	0.000	0.039	0.005	0.067	0.014	0.007	0.000	0.000	0.002	0.043	0.096	0.013
YN3-62	0.018	0.019	0.000	0.032	0.003	0.051	0.006	0.050	0.015	0.009	0.000	0.053	0.003	0.048	0.103	0.018
YN3-63	0.008	0.000	0.023	0.031	0.004	0.023	0.003	0.027	0.014	0.003	0.000	0.044	0.004	0.043	0.094	0.012
YN3-64	0.011	0.000	0.000	0.000	0.006	0.011	0.000	0.028	0.000	0.002	0.000	0.000	0.006	0.038	0.085	0.015
YN3-65	0.010	0.028	0.027	0.026	0.000	0.050	0.000	0.033	0.019	0.005	0.000	0.000	0.002	0.025	0.055	0.007
YN3-66	0.013	0.037	0.066	0.036	0.046	0.000	0.000	0.000	0.014	0.004	0.002	0.000	0.003	0.047	0.099	0.014
YN3-67	0.010	0.000	0.000	0.026	0.033	0.000	0.000	0.000	0.008	0.004	0.000	0.000	0.002	0.030	0.063	0.007

续表 3

编号	质量分数/%															
	没食子酸	绿原酸	儿茶素	表儿茶素	牡荆素	芦丁	金丝桃苷	二氢槲皮素	异槲皮苷	染料木苷	水杨酸	槲皮苷	木犀草素	槲皮素	山柰酚	芹菜素
YN3-68	0.008	0.000	0.000	0.000	0.020	0.000	0.000	0.000	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.020	0.044	0.007
YN3-69	0.009	0.029	0.000	0.000	0.014	0.000	0.000	0.000	0.009	0.003	0.000	0.000	0.005	0.042	0.093	0.014
YN3-70	0.010	0.000	0.000	0.047	0.033	0.000	0.006	0.000	0.000	0.004	0.000	0.000	0.000	0.030	0.060	0.006
YN3-71	0.009	0.018	0.023	0.030	0.039	0.000	0.000	0.000	0.009	0.003	0.000	0.051	0.004	0.044	0.108	0.014
YN3-72	0.010	0.000	0.028	0.000	0.020	0.000	0.003	0.000	0.014	0.004	0.000	0.000	0.003	0.032	0.064	0.009
YN3-73	0.010	0.012	0.000	0.032	0.000	0.022	0.003	0.000	0.010	0.005	0.000	0.000	0.000	0.022	0.046	0.008
YN3-74	0.010	0.000	0.000	0.000	0.004	0.020	0.000	0.000	0.011	0.003	0.000	0.000	0.000	0.035	0.080	0.015
YN3-75	0.007	0.015	0.000	0.000	0.000	0.000	0.014	0.011	0.011	0.008	0.008	0.000	0.000	0.002	0.091	0.000
YN3-76	0.015	0.077	0.000	1.361	0.055	0.000	0.003	0.017	0.002	0.000	0.017	0.086	0.000	0.000	0.000	0.000
YN3-77	0.016	0.000	0.000	0.074	0.000	0.060	0.005	0.000	0.027	0.008	0.003	0.084	0.004	0.035	0.080	0.012
YN3-78	0.016	0.000	0.000	0.045	0.000	0.041	0.007	0.000	0.023	0.008	0.003	0.069	0.004	0.044	0.092	0.012
YN3-79	0.009	0.027	0.000	0.033	0.003	0.030	0.003	0.000	0.009	0.004	0.000	0.000	0.000	0.020	0.041	0.005
YN3-80	0.014	0.000	0.000	0.035	0.003	0.041	0.000	0.000	0.015	0.003	0.002	0.057	0.002	0.042	0.091	0.014
YN3-91	0.012	0.169	0.075	1.670	0.050	0.000	0.000	0.015	0.003	0.000	0.012	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000



1-没食子酸 2-绿原酸 3-儿茶素 4-表儿茶素 5-牡荆素 6-芦丁 7-金丝桃苷 8-二氢槲皮素 9-异槲皮素 10-染料木苷 11-水杨酸 12-槲皮苷 13-木犀草素 14-槲皮素 15-山柰酚 16-芹菜素, 下图同
1-gallic acid 2-chlorogenic acid 3-catechins 4-epicatechin 5-vitexin 6-hypericin 7-dihydroquercetin 8-rutin 9-isoquercetin 10-genistein 11-salicylic acid 12-quercetin 13-luteolin 14-quercetin 15-kaempferol 16-apigenin, same as below table

图 2 部分越南金花茶液相色谱图

Fig. 2 Partial liquid chromatogram of *C. insularis*

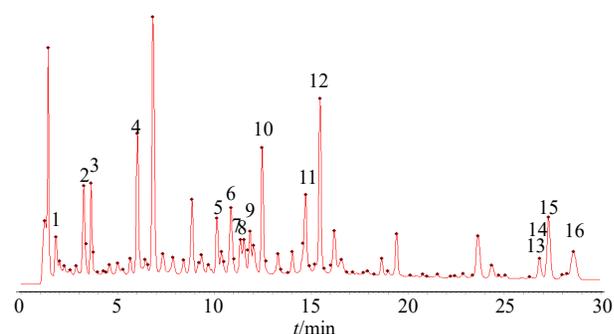


图 3 77 株越南金花茶对照色谱图

Fig. 3 Control chromatogram of 77 *C. insularis*

3.2.3 基于色谱峰数量差异的越南金花茶化学成分评价 将 77 株越南金花茶色谱图中各色谱峰有无做成 0-1 矩阵, 1 代表有, 0 代表无, 采用 SPSS

做因子分析, 最后方差大于 1 的因子有 22 个, 可被作为主成分进行分析, 22 个因子的总特征值和方差贡献率见表 4。根据表 4, 第 1 主成分特征值为 15.392, 占总方差的 18.544%, 22 个主成分累积方差占总方差的 81.467%。根据 22 个主成分的因子得分, 乘以相应方差的算术平方根计算出主成分的得分; 利用每个样品各主成分得分乘以该主成分的贡献率(方差/22 个因子的总方差)之和, 计算各样品得分顺序, 各样品综合得分值见图 4。从图 4 可知, 编号为 YN3-78、YN3-77、YNX3-15、YN3-72、YN3-62、YNX3-06、YN3-61、YN3-67、YN3-80、YN3-71 主成分综合评分排前 10 位, 说明该 10 株金花茶的化学成分种类较多, 如果以化学成分的数量为评价指标, 该 10 株较为优质。

3.2.4 基于色谱峰面积差异的越南金花茶化学成分评价 根据 77 株越南金花茶各色谱峰面积的大小, 采用 SPSS 做因子分析, 最后方差大于 1 的因子有 11 个, 可被作为主成分进行分析, 11 个因子的总特征值和方差贡献率见表 5。根据表 5, 第 1 主成分特征值为 8.42, 占总方差的 19.137%, 11 个主成分累积方差占总方差的 85.588%。根据 11 个主成分的因子得分, 乘以相应方差的算术平方根计算出主成分的得分; 利用每个样品各主成分得分乘以该主成分的贡献率(方差/11 个因子的总方差)之和, 计算各样品得分顺序, 以评价样品基于化学成分含量指标的优劣, 各样品综合得分值见图 5。从图 5 可知, 编号为 YN3-60、YNX3-05、YNX3-01、YNX3-14、YNX3-04、YNX3-27、YNX3-23、YNX3-10、YNX3-12、YNX3-07 主成分综合评分排前 10 位,

表 4 色谱峰 PCA 的特征值与方差贡献率

Table 4 Eigenvalues and variance contribution rates of the chromatographic peak PCA

主成分	总特征值	被提取载荷平方和	
		方差贡献率/%	累积贡献率/%
1	15.392	18.544	18.544
2	5.891	7.098	25.642
3	5.081	6.121	31.763
4	4.937	5.948	37.711
5	4.040	4.868	42.578
6	3.773	4.546	47.125
7	3.296	3.971	51.096
8	2.881	3.472	54.568
9	2.688	3.238	57.806
10	2.372	2.858	60.664
11	2.281	2.748	63.412
12	1.920	2.313	65.725
13	1.744	2.101	67.826
14	1.608	1.937	69.763
15	1.455	1.753	71.515
16	1.370	1.651	73.166
17	1.325	1.597	74.763
18	1.197	1.442	76.205
19	1.170	1.410	77.614
20	1.125	1.356	78.970
21	1.046	1.261	80.231
22	1.027	1.237	81.467

说明该 10 株金花茶的化学成分含量较高, 如果以化学成分的含量为评价指标, 该 10 株较为优质。

3.3 化学成分与叶表型性状的相关分析

对 16 个已知化学成分及峰面积大于 10 000 的 28 个未知成分, 与叶表型性状做相关分析, 其中与叶表型性状具有显著相关的成分共 39 个, 结果见表 6。由表 6 可知, 入选的表型性状, 均有化学成分与之存在显著相关关系。其中, 与叶形显著相关的成分共有 16 个, 矩圆形叶与 11 个成分呈显著正相关, 与 3 个成分呈显著负相关; 线形叶与异槲皮素呈极显著正相关; 长椭圆叶与 4 个成分呈显著负相关, 与 1 个成分呈显著正相关。叶尾形态与 13 个成分呈显著相关, 其中, 有 4 个成分与锐尖叶呈显著正相关; 只有 1 个成分与凸尖叶呈显著负相关; 5 个成分与尾尖叶成显著正相关、5 个成分与尾尖叶呈显著负相关。叶基形态与 18 个成分存在显著相关关系, 其中与下延呈正向相关的 7 个, 该类成分出峰时间多数较迟; 以圆钝为正向(相关系数为负)相关的 11 个。叶细脉数与 19 个成分具有显著相关关系, 其中 10 个为正相关, 细脉多含量高; 9 个为负相关, 细脉少含量高。与叶面积呈

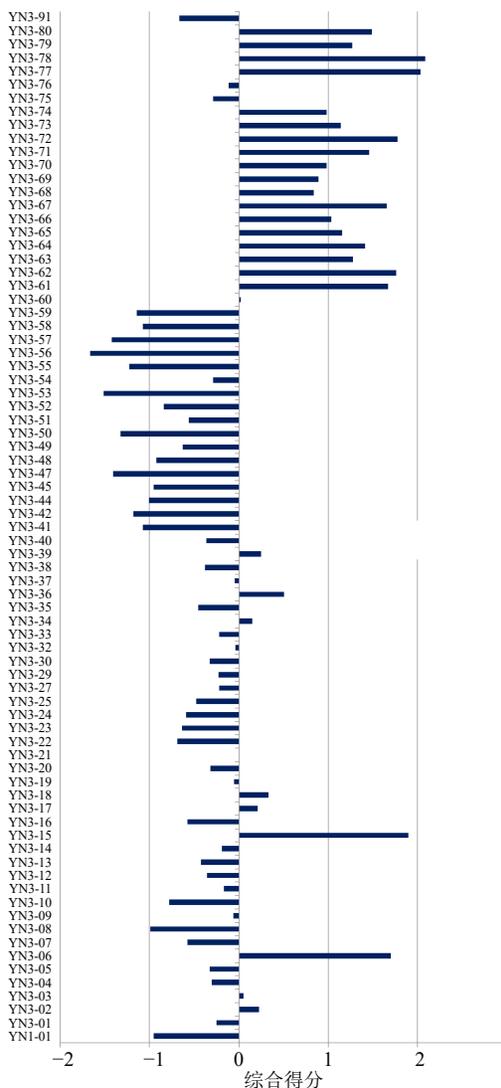


图 4 基于色谱峰数量 77 株越南金花茶综合得分图

Fig. 4 Comprehensive score of 77 *C. insularis* base on the number of chromatographic peaks

表 5 峰面积 PCA 特征值与方差贡献率

Table 5 Eigenvalues and variance contribution rates of the peak are PCA

主成分	总特征值	被提取载荷平方和	
		方差贡献率/%	累计方差贡献率/%
1	8.420	19.137	19.137
2	6.337	14.403	33.540
3	4.900	11.137	44.677
4	4.094	9.304	53.982
5	3.409	7.747	61.728
6	2.688	6.110	67.838
7	2.039	4.635	72.473
8	1.799	4.088	76.561
9	1.466	3.331	79.892
10	1.310	2.976	82.868
11	1.197	2.720	85.588

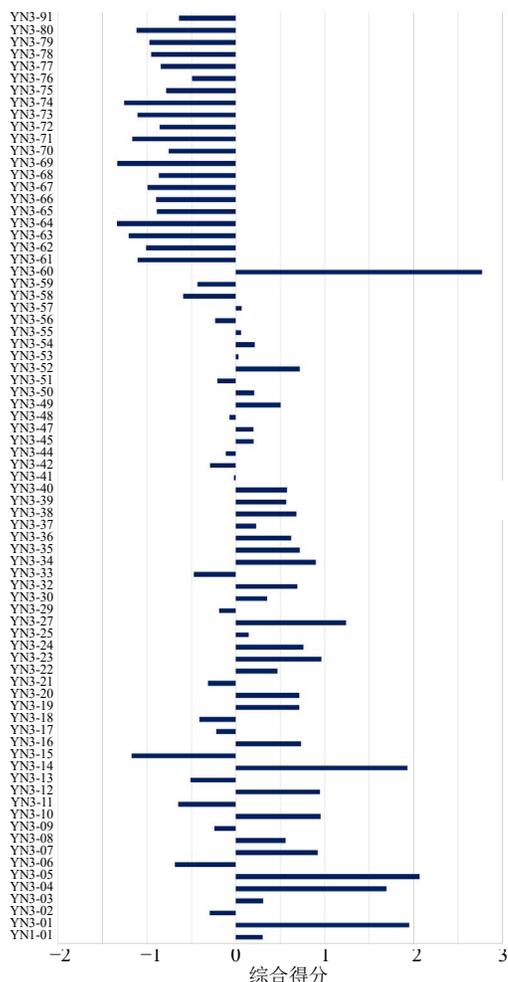


图5 基于峰面积主成分分析各株系综合得分

Fig. 5 Comprehensive score of 77 *C. insularis* base on chromatographic peak area

显著正相关的成分有 7 个，呈显著负相关的 10 个。与叶柄长呈显著正相关的成分有 8 个，负相关的有 8 个。整体来看，出峰时间在 23 min 以后的成分如木犀草素、槲皮素、山柰酚等，与矩圆形叶均呈显著负相关，叶基下延、叶细脉数中等、叶面积小、叶柄短，具小叶形品种的特征，表明 23 min 以后有出峰的品种类型可以根据这几个表型性状进行筛选。尾尖叶和锐尖叶与槲皮苷的相关系数正负相反，但大小几乎相等，可以推断，具锐尖叶的品种槲皮苷含量高，具尾尖叶的含量低。出峰较早的几个成分 WZ0、没食子酸、WZ2、WZ3、绿原酸、儿茶素等，与矩圆叶、叶细脉数、叶面积、叶柄长均呈显著正相关。综合以上，欲筛选木犀草素、槲皮素等黄酮类物质含量高的品种，宜选择小叶型、叶基下延、非矩圆形品种；欲筛选没食子酸、绿原酸、儿茶素等含量较高的品种，宜选择大叶、细脉多而深的品种。

3.4 样本亲缘关系分析

基于叶表型性状及 16 个已知化学成分和 28 个峰面积大于 10 000 AFU*s 未知成分的峰面积，各类群中表型性状频度及 16 个已知化学成分含量平均值见表 7。采用基于欧氏距离离差平方和法的层次聚类法对 77 株越南金花茶进行聚类，结果见图 6。由表 7 和图 6 可知，在距离 17.5 左右，77 株金花茶可分成 4 个大的类群，其中第 1 群含 13 株，基形全为圆钝，细脉数多，叶面积大，叶柄长，属于大叶形品种；化学成分出峰时间多在 19.32 min 以前，绿原酸、儿茶素、金丝桃苷、染料木苷、水杨酸、槲皮

表 6 化学成分与表型性状相关分析

Table 6 Correlation analysis between chemical constituents and phenotypic traits

化学成分	相关系数									
	叶形 (X ₁)	叶形 (X ₂)	叶形 (X ₃)	叶尾形 (X ₁)	叶尾形 (X ₂)	叶尾形 (X ₃)	叶基形	细脉数	叶面积	叶柄长
WZ0	-0.270*	-0.145	0.343**	0.003	0.147	0.026	-0.265*	-0.251*	-0.219	-0.151
没食子酸	-0.195	-0.177	0.360**	0.109	0.106	-0.022	-0.190	-0.218	0.030	-0.096
WZ2	-0.101	0.019	0.215	0.022	-0.093	-0.032	-0.063	0.275*	0.487**	0.321**
WZ3	-0.033	0.015	0.123	-0.018	-0.039	0.142	-0.166	0.123	0.244*	0.237*
WZ4	-0.038	0.159	0.098	0.040	-0.093	0.013	0.035	0.233*	0.432**	0.345**
绿原酸	0.066	0.024	0.105	0.178	-0.115	0.043	-0.293**	0.248*	0.480**	0.336**
儿茶素	-0.132	-0.034	0.244*	0.086	-0.162	0.200	-0.271*	0.091	0.287*	0.142
WZ6	0	0.209	0.060	0.120	-0.083	-0.142	-0.133	0.321**	0.408**	0.650**
表儿茶素	-0.007	-0.107	0.090	-0.219	0.276*	0.010	-0.151	-0.268*	-0.264*	-0.050
WZ7	-0.204	0.103	0.230*	-0.030	-0.043	0.192	-0.046	0.231*	0.132	-0.044
WZ8	-0.167	-0.108	0.281*	-0.049	0.022	0.167	-0.312**	-0.076	0.023	-0.016
WZ9	-0.105	-0.048	0.210	-0.007	0.143	-0.059	0.002	0.073	0.256*	0.105
WZ10	0.020	0.047	0.030	0.010	-0.142	0.230*	0.064	0.099	0.113	0.102
WZ12	-0.030	-0.093	0.151	-0.226*	0.324**	-0.030	-0.156	-0.177	-0.206	-0.003
WZ13	-0.061	-0.187	0.083	-0.088	0.257*	-0.149	0.240*	-0.457**	-0.334**	-0.420**

续表 6

化学成分	相关系数									
	叶形 (X ₁)	叶形 (X ₂)	叶形 (X ₃)	叶尾形 (X ₁)	叶尾形 (X ₂)	叶尾形 (X ₃)	叶基形	细脉数	叶面积	叶柄长
牡荆素	-0.110	-0.012	0.205	-0.170	0.302**	-0.079	-0.140	-0.160	-0.159	-0.068
芦丁	0.093	-0.141	-0.187	-0.040	0.041	-0.003	0.359**	-0.446**	-0.352**	-0.438**
金丝桃苷	-0.170	-0.147	0.215	0.005	-0.178	0.366*	-0.343**	-0.012	0.055	-0.066
二氢槲皮素	-0.080	-0.108	0.286*	-0.143	0.231*	0.037	0.031	-0.015	0.183	0.035
WZ14	0.199	-0.064	-0.188	0.136	-0.338**	0.108	-0.077	0.106	0.129	0.200
WZ15	-0.170	-0.013	0.156	-0.180	0.123	0.255*	-0.049	-0.205	-0.180	-0.166
异槲皮素	-0.250	0.333	0.188	-0.081	-0.148	0.219	0.154	0.252*	0.224	0.211
染料木苷	-0.055	-0.140	0.161	0.175	-0.205	0.152	-0.319**	0.290*	0.248*	0.014
WZ16	0.308*	-0.090	-0.159	0.110	-0.012	-0.122	-0.166	-0.045	0.339**	0.179
WZ17	-0.067	-0.155	0.244*	0.143	-0.179	0.224	-0.332**	0.011	0.292*	-0.011
WZ18	-0.052	0.103	0.137	0.164	-0.274*	0.135	-0.127	0.417**	0.363**	0.379**
WZ19	0.022	-0.186	-0.091	-0.161	0.047	0.143	0.199	-0.444**	-0.355**	-0.429**
水杨酸	-0.108	0.062	0.211	0.084	-0.239*	0.207	-0.230*	0.398**	0.453**	0.292*
槲皮苷	-0.092	-0.005	0.157	0.063	-0.236*	0.238*	-0.228*	0.171	0.245*	0.157
WZ20	-0.224*	0.122	0.228*	-0.025	0.011	0.094	0.062	0.078	-0.023	-0.158
WZ21	-0.237*	0.032	0.308*	-0.027	-0.017	0.175	-0.084	0.104	0.170	0.089
WZ22	-0.133	-0.071	0.237*	0.060	-0.141	0.185	-0.229*	-0.003	0.139	0.034
WZ23	-0.052	0.065	0.186	0.181	-0.238*	0.119	-0.237*	0.384**	0.481**	0.270*
WZ24	-0.137	-0.067	0.231*	0.057	-0.137	0.187	-0.225*	-0.019	0.097	0.040
WZ27	-0.059	-0.084	-0.031	0.097	-0.106	0.041	0.232*	-0.139	-0.190	-0.295**
木犀草素	0.079	-0.036	-0.226*	0.087	0.021	-0.033	0.422**	-0.308**	-0.370**	-0.468**
槲皮素	0.110	-0.079	-0.270*	0.085	-0.021	-0.102	0.485**	-0.393**	-0.485**	-0.611**
山柰酚	0.131	-0.101	-0.249*	0.068	0.057	-0.124	0.443**	-0.405**	-0.441**	-0.576**
芹菜素	0.085	-0.095	-0.215	0.159	-0.040	-0.096	0.459**	-0.340**	-0.427**	-0.546**

*0.05 水平显著差异, **0.01 水平显著差异; WZ 表示未知成分

Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed), correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed); WZ stands for unknown component

表 7 越南金花茶各类群性状特征

Table 7 Phenotypic character of various groups of *C. insularis*

项目	群体			
	1	2	3	4
个体数量	13	26	19	19
叶形	长椭圆/矩圆	线形/矩圆	矩圆	长椭圆/椭圆
尾形	凸尖/锐尖	无规律	尾尖	无锐尖
基形	下延	无规律	无规律	钝圆
细脉	多	多	无规律	中等
叶面积/cm ²	85.700	85.200	69.100	50.400
叶柄长/cm	0.900	1.100	0.800	0.600
没食子酸/%	0.014	0.011	0.016	0.012
绿原酸/%	0.931	1.019	0.512	0.007
儿茶素/%	0.395	0.073	0.059	0.007
表儿茶素/%	0.804	0.350	2.116	0.029
牡荆素/%	0.015	0.022	0.072	0.011
芦丁/%	0.000	0.000	0.000	0.026
金丝桃苷/%	0.034	0.000	0.003	0.003
二氢槲皮素/%	0.019	0.018	0.055	0.018
异槲皮素/%	0.050	0.094	0.064	0.012
染料木苷/%	0.064	0.017	0.002	0.005
水杨酸/%	0.198	0.144	0.110	0.000
槲皮苷/%	1.909	0.482	0.036	0.022
WZ24 峰面积	90.700	0.000	0.000	0.000
WZ27 峰面积	0.000	0.000	0.000	111.400
木犀草素/%	0.000	0.000	0.000	0.003
槲皮素/%	0.000	0.000	0.003	0.036
山柰酚/%	0.001	0.000	0.014	0.082
芹菜素/%	0.001	0.000	0.001	0.012

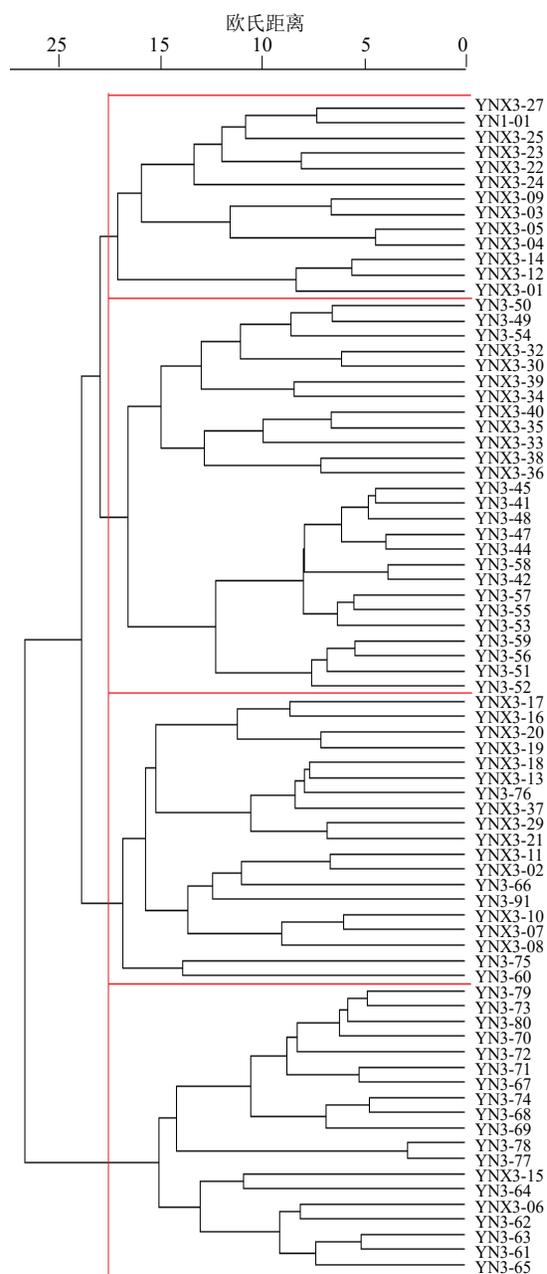


图 6 77 株金花茶聚类图

Fig. 6 Cluster dendrogram of different 77 *C. insularis*

苷几个成分含量在该类群中最高，属于成分类型较少、含量高的类型。第 2 群含 26 株，包括所有线形叶植株，叶面积大、叶柄长，属于大叶型；化学成分出峰时间在 15.21 min 之前，化学成分类型较少，绿原酸、异槲皮素为 4 个类群中最高，水杨酸和槲皮苷含量居第 2，其余均为微量检出。第 3 群含 19 株，叶面积居第 3 位，叶较小；除表儿茶素和牡荆素含量最高、异槲皮素和山柰酚次高外，其余成分含量排位均较低。第 4 个类群含 19 株，基形全为下延，细脉数较少，叶面积小、叶柄短，属于小叶

型。芦丁、WZ27 和木犀草素为本群独有，23.33 min 以后出峰的成分几乎均在本群；化学成分类型最多，但峰面积均较低。总体来看，根据聚类分析所得各群，均有各自的表型性状特征，且与相关分析结果基本一致，可基于表型性状区分各群和预测化学成分。

4 讨论

金花茶非中国药典收载品种，其质量评价目前尚无统一标准。《广西壮族自治区壮药质量标准》(第二卷)^[5]以山柰素为其质量评价指标，但本课题组前期在对 21 个金花茶品种(包括未经选育的越南金花茶品种)的研究中发现，除部分品种含有山柰素外，许多品种山柰素含量极难检出，不应作为质量指标用于评价整个金花茶组的质量。有文献报道金花茶含有多酚、多糖、黄酮、挥发性物质、皂苷等物质^[25]，但该类研究仍未成体系。金花茶的核心成分是什么？采用什么指标进行质量检测？如何评价金花茶的质量？是一个急需解决的问题。中药药效的发挥是多指标成分协同作用的结果，以往采用单个或少数几个指标评价中药质量具有一定的局限，如能尽可能多的采用多指标成分评价药材质量，结果会更为客观^[26]。高效液相色谱法在药材化学成分的研究中得到广泛应用，色谱峰可代表某化学成分的存在，而峰面积则可反映该化学成分的含量。通过评价药材色谱峰的数量和面积，可预估药材化学成分的丰度及各化学成分的含量，并评价药材质量。本课题组前期质谱研究结果显示，金花茶含有化学成分多达 400 种，不同来源金花茶，其化学成分的种类和含量均具有差异，本实验对原产地为越南并移植于广西防城金花茶化学成分的差异进行分析，发现在本实验检测条件下，可有效检出化学成分 85 个，不同株系间色谱峰种类和数量均存在显著差异。

药材有道地性之说，道地药材具有区域性特征，同时可在一定程度上反映药材的质量^[27]。反过来说，不同地理来源的同品种药材，其质量存在差异。由于药材所含化学成分种类和含量均可能存在差异，如何综合评价药材质量，筛选优良种质和优势产地，是药材生产需要解决的关键问题。许多研究采用 PCA 法，基于因子综合得分排名判断药材质量^[28]，但也有不同的观点认为该方法存在不足^[29-30]。在没有更好评价方法的前提下，本实验基于色谱峰数量和峰面积，采用 PCA

分析 77 株越南金花茶化学成分特征, 对比综合得分结果与实际所测成分的结果显示, 以色谱峰数量为评价指标的综合得分较高的样本, 其实际成分也较多; 以含量为评价指标综合得分靠前的样本, 其化学成分含量也较高, 结果一致性较高, 可见该分析法可在一定程度上用于药材质量评价。综合来看, 如何评价不同来源药材品种的优越性, 应根据自身需要选择不同的方法, 如以获得更多化学成分为目的, 可采用成分类型(色谱峰数量)的多少为评价指标, 如以获得某类成分为目的, 应以该类成分的含量为综合评价指标。

药材化学成分的差异, 主要受种质(基因)差异的影响, 而表型性状是基因的外在反应, 研究表型性状与化学成分的关系, 可为种质分类和筛选提供简便有效的方法^[31-32]。金花茶品种繁多, 表型性状各异, 许多药材性状与表型具有显著相关, 使基于表型对金花茶种质进行分类鉴定成为可能^[19,33-34]。本实验对越南金花茶的研究结果显示, 出峰较早的化学成分如没食子酸、绿原酸、儿茶素等, 与大叶、长柄、细脉数等呈正相关, 基于聚类分析可知, 该类成分含量较高的品种均聚在第 1 类群, 在基于峰面积 PCA 的综合评分中得分较高。而第 4 类群属小叶型, 叶基全为下延, 细脉数较少, 23 min 后出峰的黄酮类化学成分基本在本群, 槲皮素、木犀草素、芹菜素、山柰酚等成分均为本群特征成分; 以峰面积为评价指标综合评分较低的植株基本在本群, 但以色谱峰数量为评价指标综合评分较高的植株也基本在本群, 表明本群化学成分数量较多, 但含量均较低。综合来看, 欲筛选木犀草素、槲皮素等黄酮类物质含量高的品种, 宜选择小叶型、叶基下延、非矩圆叶型品种; 欲筛选没食子酸、绿原酸、儿茶素等含量较高的品种, 宜选择大叶、细脉多而深的品种。每一类化学成分均有其特定的药用功效, 实际生产中可基于叶的表型性状预测其所含有效成分的类型和含量, 有目的的去选育所需品种。表型性状受环境影响易发生改变, 在良种选育过程中渐渐被舍弃或仅作为辅助手段, 但本实验结果显示, 非连续性表型性状均为质量性状, 其遗传严格遵循孟德尔遗传规律, 利用其初筛优良种质具有一定的现实意义。

广西分布最多的为防城普通金花茶, 该品种的叶被列为国家新资源产品, 此外, 细叶金花茶、显脉金花茶、凹脉金花茶、大叶金花茶、倒卵叶金花

茶等 30 余个品种在广西被发现。有文献报道, 防普通金花茶与越南种金花茶叶化学成分相比, 越南金花茶的活性成分总含量更高^[15], 有的成分比防城普通金花茶高 2 倍多, 表现出极高的药用价值, 具有很好的栽培与开发利用前景^[21]。国内金花茶与越南金花茶叶表型之间有十分明显的差异, 越南金花茶大部分叶表型指标的平均值均显著大于国内金花茶^[34], 同时, 越南金花茶的花径和单花鲜重均优于大多数国内原生金花茶品种, 其产量性状优于国内金花茶。但本实验对包括越南金花茶品种在内的 21 个金花茶品种的研究发现, 每个品种均有各自的优势化学成分, 没有哪个品种所有化学成分均比别的化学成分低。单从化学成分来看, 各金花茶品种化学谱相差不大, 但防城普通金花茶相对来说化学成分种类更多, 越南金花茶高含量成分稍多, 各具优势。鉴于金花茶品种及其化学成分多样和复杂性, 无论是越南金花茶还是本土金花茶, 在品种选育中, 均应根据产业发展需要, 基于表型性状或各类检测手段, 有目的的选育所需要的优势品种。

5 小结

77 株越南金花茶表型性状和化学成分存在较大差异, 表型性状与化学成分间具有显著相关。基于聚类分析的 4 个群体含有的化学成分类型各不相同, 化学成分的含量存在显著差异, 且每一群均有各自的表型特征。具有推广应用价值的为第 1 群和第 4 群, 第 1 群主要特征为大叶, 基形圆钝, 没食子酸、绿原酸、儿茶素等化学成分含量较高; 第 4 群主要特征为小叶, 基形下延, 化学成分种类较多, 木犀草素、槲皮素等黄酮类物质为本群特征性成分, 实际生产中可基于叶的表型性状预测其所含有效成分的类型和含量, 有目的的去选育所需品种。本结果可为越南金花茶的种质分类及优良种质筛选提供参考。

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 49 卷, 第 3 分册. 北京: 科学出版社, 1998: 23.
- [2] 陈尚义. 国家一级保护植物——金花茶 [J]. 生物学教学, 1994(5): 48.
- [3] 韦 霄, 柴胜丰, 蒋运生, 等. 珍稀濒危植物金花茶种子繁殖和生物学特性研究 [J]. 广西植物, 2010, 30(2): 215-219.
- [4] He X, Li H, Zhan M X, et al. *Camellia nitidissima* Chi

- extract potentiates the sensitivity of gastric cancer cells to paclitaxel via the induction of autophagy and apoptosis [J]. *Onco Targets Therapy*, 2019, 36(12): 10811-10825.
- [5] 广西壮族自治区壮药质量标准 (第二卷) [S]. 2011: 131-133.
- [6] 韦 霄, 黄兴贤, 蒋运生, 等. 3 种金花茶组植物提取物的抗氧化活性比较 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(5): 639-641.
- [7] 段小娴, 唐小岚, 苏建家, 等. 金花茶对二乙基亚硝胺致大鼠肝癌抑制作用研究 [J]. 医学研究杂志, 2006, 35(6): 14-16.
- [8] 李翠云, 段小娴, 苏建家, 等. 金花茶对二乙基亚硝胺致大鼠肝癌前病变及肝癌细胞株作用的影响 [J]. 广西医科大学学报, 2007, 24(5): 660-663.
- [9] 宁恩创, 秦小明, 杨 宏. 金花茶叶水提物的降脂功能试验研究 [J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2004, 29(4): 350-352.
- [10] 黄永林, 陈月圆, 文永新, 等. 不同溶剂提取及初步纯化的金花茶叶提取物降血脂功能实验研究 [J]. 时珍国医国药, 2009, 20(4): 776-777.
- [11] Zhang H L, Wu Q X, Qin X M. *Camellia nitidissima* Chi flower extracts inhibit α -amylase and α -glucosidase: In vitro by analysis of optimization of addition methods, inhibitory kinetics and mechanisms [J]. *Proc Biochem*, 2019, 86(11): 177-185.
- [12] 洪永辉, 陈天增, 王如均, 等. 金花茶组植物品种选择与评价 [J]. 林业勘察设计, 2018, 38(2): 1-7.
- [13] 张宏达, 任善湘. 中国植物志 (第 49 卷第 3 分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 103-112.
- [14] Fu L K, Jin J M. *China Plant Red Data Book-rare and Endangered Plants: Volume 1* [M]. Beijing: Science Press, 1992.
- [15] 王 坤, 黄晓露, 梁晓静, 等. 11 种金花茶组植物叶片活性成分含量对比 [J]. 经济林研究, 2018, 36(1): 110-114.
- [16] 王 坤, 韦晓娟, 刘 凯, 等. 越南多毛金花茶的光合特性和叶解剖结构对光照环境的适应 [J]. 林业科学研究, 2019, 32(4): 105-113.
- [17] 洪永辉, 陈天增, 林能庆. 金花茶种质资源收集保存与评价 [J]. 防护林科技, 2020, 198(3): 79-82.
- [18] 王 坤, 韦晓娟, 李宝财, 等. 12 种金花茶组植物光合生理特性比较 [J]. 经济林研究, 2019, 37(1): 80-86.
- [19] 李桂娥, 李志辉, 蒋昌杰, 等. 越南黄抱茎金花茶和多毛金花茶在南宁的引种表现 [J]. 湖南农业科学, 2018, 36(5): 8-11.
- [20] 洪永辉, 陈天增, 王如均, 等. 金花茶组植物品种选择与评价 [J]. 林业勘察设计, 2018, 38(2): 1-7.
- [21] 韦晓娟, 梁晓静, 廖健明, 等. 7 种越南金花茶生物学特性及繁殖技术 [J]. 广西林业科学, 2017, 46(3): 248-252.
- [22] 张宏达. 华夏植物区系的金花茶组 [J]. 中山大学学报: 自然科学版, 1979, 21(3): 74-79.
- [23] 廖南燕, 吴儒华, 杨海娟, 等. 防城港市金花茶产业发展初步研究 [J]. 绿色科技, 2016, (9): 135-137.
- [24] 孙远航, 张盛林, 李 川, 等. 分类方法在蔬菜种质资源研究中的应用 [J]. 长江蔬菜, 2006(6): 34-36.
- [25] 王欣晨, 李文兰, 阎新佳, 等. 金花茶化学成分及药理活性研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报: 自然科学版, 2018, 34(5): 522-527.
- [26] 孙国祥, 孙万阳, 张 晶, 等. 中药质量一致性评价体系——基于定量指纹图谱检查的中药标准制剂控制模式的解析 [J]. 中南药学, 2018, 16(1): 2-13.
- [27] 胡世林, 池 群, 赵中振. 中国道地药材 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1989: 26-32.
- [28] 管小军, 厉 君, 李 俊. 基于 HPLC 指纹图谱及多指标成分分析的化学模式识别评价彝药紫丹活血片质量 [J]. 中草药, 2020, 51(4): 986-994.
- [29] 俞立平, 刘 骏. 主成分分析与因子分析法适合科技评价吗?——以学术期刊评价为例 [J]. 现代情报, 2018, 32(6): 75-81.
- [30] 王学民. 对主成分分析中综合得分方法的质疑 [J]. 统计与决策, 2007(8): 31-32.
- [31] 杨继. 植物种内形态变异的机制及其研究方法 [J]. 武汉植物学研究, 1991, 9(2): 185-195.
- [32] 赵孟良, 王丽慧, 任延靖, 等. 257 份菊芋种质资源表型性状的遗传多样性 [J]. 作物学报, 2020, 46(5): 712-724.
- [33] 陈春如, 谢佩吾, 邹家通, 等. 12 种金花茶组植物叶片的比较形态学研究 [J]. 林业与环境科学, 2019, 35(6): 7-15.
- [34] 伍思宇, 梁晓静, 韦晓娟, 等. 中国金花茶与越南金花茶叶表型差异性分析 [J]. 广西林业科学, 48(3): 336-341.

[责任编辑 时圣明]