

穿心莲种质产量性状与药用成分分析*

王雨霞, 邹秀崽, 李春雨, 张可, 梁梓珊, 王宏斌, 段礼新, 靳红磊, 沈奇

广州中医药大学中药学院药用植物生理生态研究所 / 国际中医药转化医学研究所, 广东 广州 510006

摘要: 穿心莲(*Andrographis paniculata*(Burm.f.)Nees)是我国传统的中药材, 应用广泛。为了评价穿心莲种质的遗传多样性, 收集了广东湛江和广西贵港两个主要产区的种质材料, 对其产量性状和主要药用成分进行调查和分析。结果表明, 同一来源穿心莲材料的产量性状及药用成分均呈现较大变异。产量性状中, 单株生物量变幅最大为 100~624 g, 其余从大到小依次为叶片质量、叶面积、一次分枝数、生育期、株高。药用成分性状中, 穿心莲内酯变幅最大为 1.538 5~6.594 4 mg/g, 其余依次为新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯。供试材料分析发现种质纯度和度差, 具有显著的遗传多样性, 为材料鉴定及遗传育种提供了丰富的材料基础。此外, 相关性分析表明, 穿心莲主要产量性状与主要药用成分含量间呈显著负相关。材料选育时需要注重产量性状和药用成分之间的平衡。最后, 进一步按产量性状及药用成分指标进行聚类分析, 筛选重要材料。本研究结果可为穿心莲的种质资源保护及良种选育提供育种研究材料基础。

关键词: 穿心莲(*Andrographis paniculata*(Burm.f.)Nees); 遗传多样性; 产量性状; 药用成分; 相关性分析; 聚类分析

中图分类号: Q37 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137(2023)03-0100-09

Investigation of yield traits and medicinal components of *Andrographis paniculata* germplasm

WANG Yuxia, ZOU Xiuzai, LI Chunyu, ZHANG Ke, LIANG Zishan,
WANG Hongbin, DUAN Lixin, JIN Honglei, SHEN Qi

Institute of Physiology and Ecology of Medicinal Plants, International Institute of Translational Medicine of Traditional Chinese Medicine, School of Chinese Materia Medica, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China

Abstract: *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees is a traditional medicinal material and is widely used in China. In order to evaluate the genetic diversity of *Andrographis paniculata* germplasm, this study collected germplasm materials from two main producing areas in Zhanjiang, Guangdong and Guigang, Guangxi, and then investigated their yield traits and main medicinal components. The results showed that the yield characters and medicinal components of *Andrographis paniculata* from the same source showed great variation. Among the yield traits, the maximum variation of biomass per plant was 100~624 g, and the remaining coefficients of variation were leaf weight, leaf area, number of primary branches, growth period, and plant height in descending order. Among the properties of medicinal components, andrographolide has the largest range of 1.538 5~6.594 4 mg/g, and the rest are neoandrographolide, 14-deoxyandrographolide, and deoxyandrographolide. The analysis of the tested mate-

* 收稿日期: 2022-06-21 录用日期: 2022-11-06 网络首发日期: 2023-01-30

基金项目: 国家自然科学基金(31970261); 广东省人才支持项目(2019TQ05N182)

作者简介: 王雨霞(1996年生), 女; 研究方向: 药用植物遗传育种; E-mail: 915976341@qq.com

通信作者: 沈奇(1983年生), 女; 研究方向: 药用植物遗传育种; E-mail: shenqi@gzucm.edu.cn

rials found that the germplasm was poor in purity and degree, and had significant genetic diversity, which provided a rich material basis for material selection and genetic breeding. In addition, the correlation analysis showed that the main yield traits of *Andrographis paniculata* were significantly negatively correlated with the content of the main medicinal components. During material selection, attention should be paid to the balance between yield traits and medicinal components. Finally, further cluster analysis was carried out according to yield traits and medicinal components to screen important materials. The results of this study provide a breeding research material basis for the protection of germplasm resources of *Andrographis paniculata* and the selection of elite varieties.

Key words: *Andrographis paniculata*(Burm.f.)Nees; genetic diversity; yield traits; medicinal components; correlation analysis; cluster analysis

穿心莲(AP, *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees), 又名一见喜、苦胆草、印度草、春莲秋柳等。以秋初采摘的干燥地上部分入药, 味极苦, 性寒(中国植物志, 2006; 中华人民共和国药典, 2020)。穿心莲原产地为印度半岛和斯里兰卡, 在东南亚国家具有悠久的民间用药历史(陈蓉, 2015)。国内穿心莲主要为东南亚引种栽培, 目前在我国华南地区广泛栽培, 现在已发展成为最具代表性的“岭南药材”之一。穿心莲栽培区域相对集中, 主产于广西贵港、玉林、南宁, 广东湛江、清远、阳江, 以及福建漳浦等地。主产区产量占全国穿心莲总产量的90%以上, 其中以广西贵港及广东湛江种植面积最大(闫婕等, 2013)。

穿心莲有广谱抗菌和抗病毒的作用, 现代药理研究表明, 穿心莲具有清热解毒、抗肿瘤、抗感染、抗糖尿病、抗心血管疾病、抗菌消炎、消肿止痛等多种药理活性, 临床多用于治疗肺病、肝炎、神经退行性疾病、自身免疫性疾病、炎症性皮肤病、细菌性痢疾、尿路感染、急性扁桃体炎、肺炎和流行性感音等(张敬君, 2007; 兰继平等, 2016)。穿心莲主要药用成分为烷型二萜类化合物, 主要包括穿心莲内酯(AD, andrographolide)、新穿心莲内酯(NAD, neoandrographolide)、14-去氧穿心莲内酯(14-DAP, 14-deoxyandrographolide)及脱水穿心莲内酯(DDAD, dehydroandrographolide)等(Zhou et al., 2013; 曾吴静等, 2019)。

近年来, 随着穿心莲需求量的大幅增长, 其品质不稳定、栽培产值低等现象越来越严峻, 已严重制约其相关产业的发展(Raina et al., 2013; 周芳等, 2021)。其主要原因是穿心莲遗传背景单一, 种质资源多样性贫乏、缺乏系统的资源鉴定及优良新品种的选育。种质资源多样性评价是优良资源鉴定及新品种选育的基础, 也是实现标准化规

模化栽培的关键(陈东亮等, 2020)。因此, 本研究收集来自广东湛江和广西贵港的两个主要穿心莲产区的种植资源, 对其主要的产量性状进行统计, 并对主要药用成分含量进行分析, 通过相关性分析和聚类分析, 系统地对穿心莲种质资源遗传多样性进行评价, 并筛选出优质的材料, 为后期穿心莲遗传育种及品种开发奠定基础。

1 材料与方法

1.1 植物材料

穿心莲种质资源研究材料主要来源于课题组在2021年自主收集的来自广东湛江和广西贵港的种质资源材料(表1), 由课题组采用条形码技术鉴定为药用植物穿心莲。

1.2 仪器与试剂

Agilent 1260 高效液相色谱仪(DAD检测器), Agilent C₁₈ 色谱柱(4.6 mm×250 mm×5 μm); 甲醇和乙腈为色谱纯(德国Merck公司), 水为超纯水; 对照品AD(批号5508-58-7, w=99.33%)、NAD(批号27215-14-1, w=99.25%)、14-DAP(批号4176-97-0, w=97.72%)和DDAD(批号134418-28-3, w=98.73%)均购自成都普瑞法科技开发有限公司; Sartorius型十万分之一分析天平和万分之一分析天平(德国赛多利斯公司)。

1.3 产量相关性状调查

对收集到的穿心莲种质进行整理编号和田间种植。于2021年4月初在广东省广州市番禺区育种基地进行苗床播种, 于5月中旬进行移栽, 移栽株行距分别为50 cm×50 cm。8月中旬, 取单株生长一致的叶片进行内酯含量测定。根据供试材料表型差异的相关因素, 同时参考沈奇等(2016)拟定穿心莲产量相关性状的记载标准(表2)。待单株进入终花期后, 取地上部分对产量相关性状进行测量。测量指标具体包括: 生育期、叶面积、叶

表 1 材料编号及采集地

Table 1 Material number and collection place

材料编号	采集地
AP1	广东湛江 1
AP2	广东湛江 2
AP3	广东湛江(大叶)
AP4	广东湛江(中叶)
AP5	广西贵港 1
AP6	广西贵港 2
AP7	广东湛江 3

片质量、单株生物量、株高和一次分枝数等 6 个性状。其中, 叶面积计算以平均值进行统计分析, 参照日本田边贯氏经验公式: 叶面积 $S=0.7 \times L \times W$ (L 为叶长, W 为叶宽) 来计算(庞志强等, 2019; 曾吴静等, 2019)。

表 2 穿心莲表型性状记载标准

Table 2 Recording standards for phenotypic traits of *Andrographis paniculata*

表型性状	统计标准
生育期/d	从播种到种子成熟所经历的时间
叶片取材部位	基部最大叶
叶长/cm	叶片底端到顶端的最大距离
叶宽/cm	叶片最大宽度
叶面积/cm ²	参考茶树, 叶长×叶宽×0.7
叶片质量/g	叶面积对应叶片的鲜质量
单株生物量/g	一个生长周期, 地上部分称量(鲜质量)
株高/cm	地上部分, 基部至顶部的距离
一次分枝数	延主枝分裂的有效分枝数

1.4 穿心莲主要药用成分的含量测定

穿心莲主要药用成分的含量测定, 参考《中华人民共和国药典》(2020 版)一部中穿心莲的含量检测方法进行部分优化, 采用超声提取法对样品进行提取(周汝顺等, 2019; 郭佳佳等, 2020), 采用高效液相色谱法(HPLC)进行含量测定(肖敏等, 2017; 庄子瑜等, 2021), 具体方法如下。

1.4.1 色谱条件 以十八烷基硅烷键合硅胶为填充剂, 色谱柱为 Agilent C₁₈ 色谱柱; 以乙腈为流动相 A, 以水为流动相 B, 按表 3 中的规定进行梯度洗脱; 检测波长为 205 nm。流速 1 mL/min, 柱温 30 °C, 进样量 10 μL, 采集时间 60 min。理论板数按穿心莲内酯峰计算应不低于 8 000。

1.4.2 对照品溶液的制备 分别取 AD、NAD、

表 3 含量测定洗脱条件

Table 3 Assay elution conditions

时间/min	流动相 A, $\varphi_{\text{乙腈}}/\%$	流动相 B, $\varphi_{\text{水}}/\%$
0~15	20→25	80→75
15~30	25→28	75→72
30~55	28→40	72→60
55~60	40→85	60→15

14-DAP 和 DDAD 的对照品适量, 用十万分之一分析天平精密称定, 得 4 个对照品质量依次为 3.93、3.38、3.63 和 3.96 mg, 置 2 mL 容量瓶中, 先加甲醇 1 mL, 超声溶解 5 min, 放冷, 用甲醇定容至刻度, 摇匀, 即得混合对照品溶液的母液, AD、NAD、14-DAP、DDAD 等 4 个对照品母液浓度依次为 1.97、1.69、1.82 和 1.98 mg/mL。

1.4.3 供试品溶液的制备 取本品新鲜植物叶片约 0.3 g, 用万分之一分析天平精密称定, 置于装有适量石英砂的 5 mL 离心管中, 液氮冷却 30 s, 用冷冻型高通量组织研磨器(60.0 Hz, -20 °C)研磨 90 s, 精密加入 $\varphi=40\%$ 的甲醇 1.5 mL, 摇匀, 称定质量, 超声处理 30 min(功率 250 W, 频率 40 kHz), 放冷, 再称定质量, 用 $\varphi=40\%$ 的甲醇补足减失的质量, 摇匀, 离心 10 min(转速为 12 000 r/min), 用注射器吸取上清液, 微孔滤膜(0.22 μm)过滤, 取续滤液至样品瓶中, 即得。

1.4.4 测定法 分别精密吸取对照品溶液与供试品溶液各 10 μL, 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定。

1.5 穿心莲主要药用成分检测的方法学考察

1.5.1 线性关系考察 取 1.4.2 项下的混合对照品溶液的母液适量, 精密加入适量甲醇将其分别稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液。各取 10 μL 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定。以对照品溶液的进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标绘制标准曲线, 进行线性回归, 考察线性关系。

1.5.2 精密度考察 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件连续进样 6 次, 测定峰面积, 计算样品含量和相对标准偏差(RSD), 考察仪器精密度。

1.5.3 稳定性考察 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件分别于 0、2、4、6、8、16 和 24 h 进样测定。记录峰面积, 计算样品含量和 RSD, 考察处理后供试品溶液的稳定性。

1.5.4 重复性考察 取同一批供试品, 平行制备

6份供试品溶液,按上述色谱条件进样测定,记录峰面积。计算样品含量和RSD,考察方法的重复性。

1.6 数据统计分析

利用Excel进行数据统计及处理,计算平均值、标准差、变幅和变异系数等;采用SPSS 26.0对数据进行相关性分析;采用R语言(版本R-4.1.2)进行K-means聚类分析。

2 结果与分析

2.1 穿心莲产量相关性状统计

对来自广东湛江及广西贵港的7份穿心莲种质资源进行田间种植,发现其资源分离较为明显。因此选择变幅较大的资源进行单株挂牌,进行表型及成分含量的评价。对7份种质共选择66份材料,其中有45份材料来自广东湛江,有21份来自广西贵港。根据大田实地考察和文献拟定穿心莲的表型性状记载标准,对穿心莲单株材料的生育期、叶面积、叶片质量、单株生物量、株高和一次分枝数等分别进行统计(表2)。结果表明,66份材料中,表型性状特征差异显著,开花时间、叶片大小及植株形态差异较大(图1)。

进一步对采集的产量相关数据进行分析发现,统计指标中单株生物量变异最大,变幅为100~624 g,变异系数为0.41;其次是叶片质量和叶面积,而一次分枝数、生育期和株高的变异系数相对较小(表4)。

同一来源的穿心莲品种均存在较大变异。对

表4 穿心莲产量相关性状统计

Table 4 Statistics of yield characters of *Andrographis paniculata*

统计指标	均值	变幅	变异系数
生育期/d	197.65±25.37	183~253	0.13
叶面积/cm ²	18.27±6.44	6.12~38.42	0.35
叶片质量/g	0.27±0.10	0.08~0.56	0.37
单株生物量/g	335.61±136.66	100~624	0.41
株高/cm	80.82±9.33	64~103	0.12
一次分枝数	45.39±7.29	24~59	0.16

同一来源材料进行分析发现,种质AP1的单株生物量和株高较小,一次分枝数较少;AP2生育期较短,叶面积最小(13.58 cm²),单株生物量和株高较小;AP3生育期较长,叶面积较大,单株生物量和株高最大(468.80 g;90.60 cm),一次分枝数最多;AP4生育期较长,叶面积最大(24.09 cm²),单株生物量和株高较大,一次分枝数较多;AP5生育期较短,叶片较小,单株生物量最小(274.62 g);AP6生育期较短,叶面积和单株生物量较小,生育期较短,叶面积和单株生物量较小;AP7生育期较长,单株生物量和株高较大。由此可见,AP2和AP3这两个品种在7份供试种质中产量性状变异最为显著。AP2主要具有生育期较短、叶面积较小、单株生物量较小等特点,而AP3却相反,主要表现为生育期较长、叶面积较大、单株生物量较大等特点(图2)。



A:大田种植情况;B:幼苗期;C:始花期;D:叶片大小对比;E~G:不同株型和冠幅大小对比。

图1 穿心莲表型性状特征

Fig. 1 Phenotypic traits of *Andrographis paniculata*

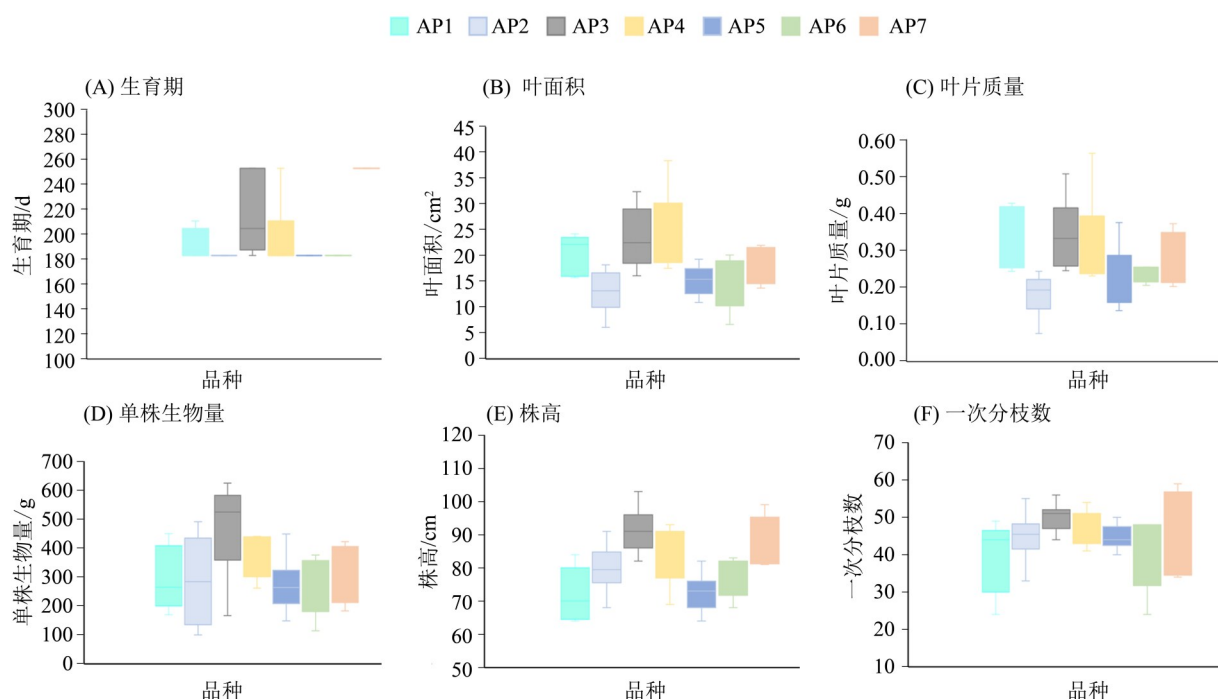


图2 穿心莲不同品种间产量性状变异的对比分析

Fig. 2 Comparative analysis of phenotypic traits among different varieties of *Andrographis paniculata*

其中, 单株生物量最大的是 AP3-19 号种质, 其地上部分鲜质量为 624 g, 生育期较长; 单株生物量最小的是 AP2-5 号种质, 其质量为 100 g, 生育期较短, 叶面积较大。叶面积最大的是 AP4-10 号种质, 其叶面积为 38.42 cm²; 而 AP2-4 号种质的叶面积最小, 为 6.12 cm²。通过表型数据分析发现, 供试材料中产量构成因素差异较大, 且不同品种内部出现较大变异, 说明穿心莲种质混杂程度较高, 值得进一步进行资源纯化及鉴定。

2.2 穿心莲主要药用成分检测的方法学考察

2.2.1 线性关系考察 取稀释成系列质量浓度的混合对照品溶液各 10 μL 注入高效液相色谱仪, 按上述色谱条件进行测定。以对照品溶液的进样量为横坐标, 色谱峰面积为纵坐标进行线性回归, 得 4 个对照品的回归方程分别为

$$y=604.34x+262.31, R^2=0.9993 \text{ (AD)},$$

$$y=740.06x+274.58, R^2=0.9993 \text{ (NAD)},$$

$$y=823.92x+329.73, R^2=0.9993 \text{ (14-DAP)},$$

$$y=1\,098.7x+485.03, R^2=0.9993 \text{ (DADD)}.$$

结果表明, AD 在 0.614 1~19.650 0 μg 范围内线性良好; NAD 在 0.528 1~16.900 0 μg 范围内线性良好; 14-DAP 在 0.567 2~18.150 0 μg 范围内线性良好; DDAD 在 0.618 8~19.800 0 μg 范围内线性良好(图 3)。

2.2.2 精密度考察 取同一供试品溶液, 按上述

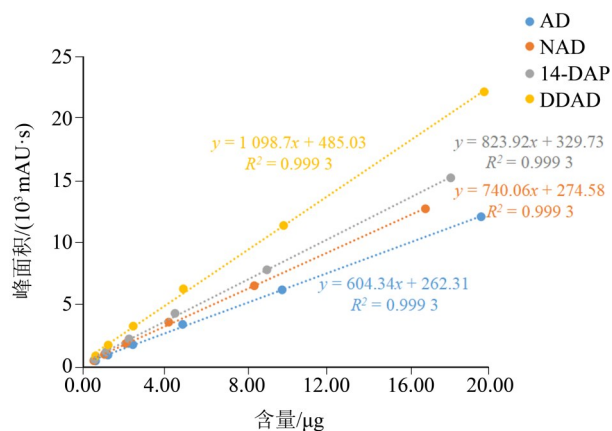
色谱条件连续进样 6 次, 测得 AD、NAD、14-DAP、DDAD 等 4 个内酯成分总含量的相对标准偏差 RSD 为 0.50% ($n=6$)。结果表明, 仪器精密度良好。

2.2.3 稳定性考察 取同一供试品溶液, 按上述色谱条件分别于 0、2、4、6、8、16 和 24 h 进样测定。测得 4 个内酯成分总含量的 RSD 为 1.52% ($n=7$)。结果表明供试品溶液中上述 4 个成分在 24 h 内稳定性良好。

2.2.4 重复性考察 取同一批供试品, 平行制备 6 份供试品溶液, 按上述色谱条件进样测定, 测得 4 个内酯成分总含量的 RSD 为 3.21% ($n=6$)。结果表明方法的重复性较好。

2.3 穿心莲主要药用成分分析

穿心莲主要药用成分为二萜内酯类化合物, 按照上述测定方法对 66 份供试穿心莲材料的主要药用成分进行检测。结果表明, 不同材料间 4 种内酯成分均呈现较大变异。其中, 内酯含量最高的是 AD, 平均值为 4.355 9 mg/g, 变幅为 1.538 5~6.594 4 mg/g; 其余依次为 NAD、14-DAP、DDAD; 总内酯含量平均值为 6.787 8 mg/g, 变幅为 2.305 2~9.290 4 mg/g。此外, AD 和总内酯含量变异系数相对较小, 而 NAD、14-DAP 和 DDAD 的含量变异系数均较大, 说明这 4 种内酯成分的含量在穿心莲不同材料间的差异显著(表 5; 图 4)。



AD、NAD、14-DAP和DDAD分别代表穿心莲内酯、新穿心莲内酯、14-去氧穿心莲内酯和脱水穿心莲内酯。

图3 穿心莲标准曲线图

Fig. 3 Standard curve of *Andrographis paniculata*

表5 穿心莲主要药用成分统计

Table 5 Statistics of main medicinal components of *Andrographis paniculata*

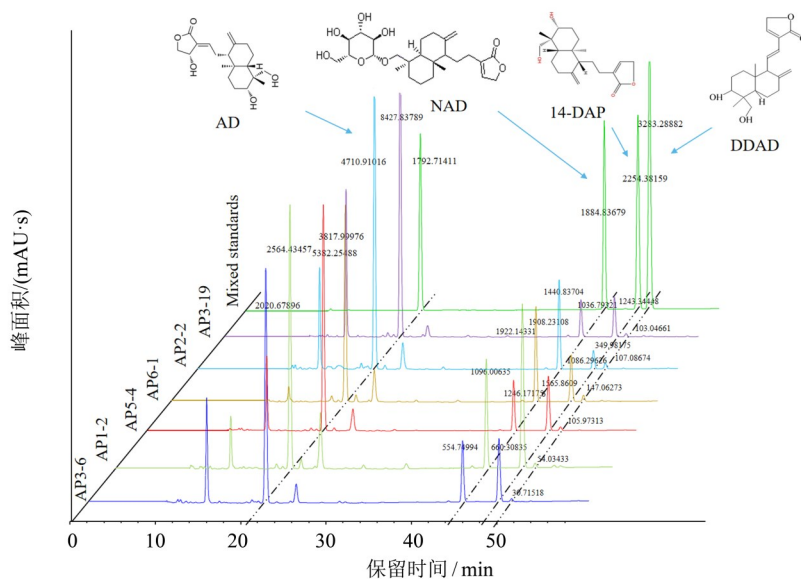
药用成分	均值/ (mg·g ⁻¹)	变幅/ (mg·g ⁻¹)	变异 系数
AD	4.355 9±1.20	1.538 5~6.594 4	0.28
NAD	1.364 9±0.58	0.128 6~2.561 8	0.43
14-DAP	1.008 5±0.44	0.087 4~2.512 9	0.44
DDAD	0.058 4±0.03	0.013 4~0.131 4	0.43
总内酯	6.787 8±1.69	2.305 2~9.290 4	0.25

进一步分析同一来源的不同穿心莲材料间内酯含量差异。在7份供试种质中, AP1的NAD、14-DAP、DDAD和总内酯含量最高, 但AD含量却不高; AP2的AD和总内酯含量较高; AP3的各内酯含量均较低, 且变幅最大; AP4的AD含量较高; AP5的AD含量最高, 总内酯含量较高; AP6的AD含量较低; AP7的总内酯含量较低。综上, 结合前面的表型性状分析结果得出, AP2和AP3的分离度较大, AP2的二萜内酯类含量较高但生物量较小, 而AP3的二萜内酯类含量最低但生物量却最大。

此外, AD含量最高的是AP3-19号种质, 为6.594 4 mg/g, 其生育期较长, 单株生物量也最大(624 g); 最小的是AP3-6号种质, 为1.538 5 mg/g, 其生育期较短, 单株生物量较大。总内酯含量最高的是AP2-2号种质, 为9.290 4 mg/g, 其生育期较短, AD含量较高。

2.4 穿心莲产量性状及主要药用成分的相关性分析

对所收集到的表型数据和成分含量检测数据进行相关性分析。分别采用皮尔逊及斯皮尔曼两种分析方法计算相关系数, 结果发现, 生育期、叶面积、叶片质量、单株生物量、株高和一次分枝数等产量相关数据之间呈正相关, 其中叶面积和叶片质量之间呈极强显著正相关; 四种二萜内酯类含量和总内酯含量之间也呈显著正相关, 其中AD和总内酯含量之间呈极强显著正相关; 但是产量相关数据与成分含量之间基本呈负相关。



图中的数值为各个峰对应的峰面积大小。

图4 穿心莲主要药用成分分析(HPLC图)

Fig. 4 Analysis of the main medicinal components of *Andrographis paniculata*(HPLC chart)

其中,生育期与叶面积、叶片质量、单株生物量、株高和一次分枝数等呈显著正相关,与NAD和DDAD含量呈显著负相关;叶面积和叶片质量也与单株生物量、株高和一次分枝数等呈显著正相关,与AD、NAD、DDAD和总内酯含量之间呈显著负相关;单株生物量和株高亦与一次分枝数呈显著正相关,与NAD和DDAD含量呈显著负相关,株高还与AD和总内酯含量呈显著负相关;一次分枝数与NAD、DDAD和总内酯含量呈

显著负相关;AD、NAD、DDAD和总内酯含量之间呈显著正相关,而14-DAP与AD之间相关性较弱(表6)。

综上所述,单株生物量主要由生育期、叶片大小、株高和一次分枝数决定,而内酯含量主要受叶片大小、单株生物量和株高的影响。此外,不同材料穿心莲各成分之间含量趋势一致,而产量与含量之间呈负相关,即生物量越大,主要药用成分含量越低。

表6 穿心莲植物学性状及主要药用成分相关性分析($n=66$)¹⁾

Table 6 Correlation analysis of botanical traits and main medicinal components of *Andrographis paniculata* ($n=66$)

项目	生育期 X_1	叶面积 X_2	叶片质 量 X_3	单株生 物量 Y	株高 X_4	一次分 枝数 X_5	AD	NAD	14-DAP	DDAD	总内酯
生育期 X_1		0.530**	0.484**	0.273*	0.421**	0.363**	-0.169	-0.328**	0.062	-0.506**	-0.188
叶面积 X_2	0.443**		0.910**	0.303*	0.422**	0.408**	-0.363**	-0.387**	-0.145	-0.570**	-0.420**
叶片质量 X_3	0.393**	0.929**		0.255*	0.292*	0.425**	-0.316**	-0.375**	-0.057	-0.540**	-0.371**
单株生物量 Y	0.251*	0.271*	0.228		0.521**	0.346**	-0.143	-0.311*	-0.216	-0.408**	-0.239
株高 X_4	0.440**	0.434**	0.304*	0.537**		0.604**	-0.273*	-0.353**	-0.221	-0.494**	-0.403**
一次分枝数 X_5	0.267*	0.331**	0.320**	0.355**	0.527**		-0.198	-0.277*	-0.126	-0.458**	-0.256*
AD	-0.099	-0.298*	-0.274*	-0.142	-0.299*	-0.112		0.252*	0.064	0.363**	0.817**
NAD	-0.265*	-0.382**	-0.339**	-0.359**	-0.368**	-0.285*	0.347**		0.245*	0.779**	0.637**
14-DAP	0.077	-0.023	0.032	-0.174	-0.224	-0.151	0.130	0.297*		0.258*	0.379**
DDAD	-0.402**	-0.527**	-0.474**	-0.445**	-0.546**	-0.499**	0.460**	0.783**	0.240		0.601**
总内酯	-0.150	-0.360**	-0.313*	-0.278*	-0.409**	-0.226	0.879**	0.686**	0.462**	0.680**	

1) 以对角线为分界线,左下角数据为皮尔逊分析结果,右上角数据为斯皮尔曼分析结果;

**：在 0.01 级别(双尾),相关性显著; *：在 0.05 级别(双尾),相关性显著;

相关系数 $|r|$: 0.8~1.0, 极强相关; 0.6~0.8, 强相关; 0.4~0.6, 中等程度相关; 0.2~0.4, 弱相关; 0.0~0.2, 极弱相关或无相关。

2.5 不同材料穿心莲的聚类分析

将以上采集到的统计数据采用K-means法对66份供试穿心莲材料进行聚类分析。聚类结果显示,66份穿心莲材料主要分为两大类群。I类群包含40份主要来自于AP1、AP2、AP5和AP6的材料,进一步可以划分为4个亚类群。其中I-1亚类群具有生育期较短、叶面积较大、生物量较大、总内酯含量较高的特点;I-2亚类群主要表现为生物量较小、内酯含量较低;I-3亚类群具有生育期较短、叶面积较小、生物量较小、内酯含量高特征;I-4亚类群主要表现为生育期短、叶面积小、生物量小、内酯含量高。此外,I-2~I-4的种质较为混杂,包括多个种质的材料,且I-4亚类群的材料叶面积及生物量均为供试材料的最低值。I类群的材料整体上具有生育期较短、叶面积较小、生物量较小、内酯含量较高的共同特征(图5)。

II类群中聚集了26份主要来自于AP3、AP4和AP7的材料,分为3个亚类群。其中II-1亚类群主要表现为生育期较长、叶面积较大、生物量最大、内酯含量低,且种质几乎为AP3的材料;II-2亚类群具有生育期最长、叶面积最大、生物量较小、总内酯含量较低等特征;II-3亚类群主要表现为生育期较长、生物量较大、总内酯含量较低,且种质较为混杂。II类群总体表现为生育期较长、叶面积较大、生物量较大、内酯含量较低等特点(图5)。

3 讨论

种质资源是培育优良品质的遗传物质基础,丰富的遗传变异是药用植物优良新品种选育的基础。种质资源的挖掘、创新、选择和稳定变异是植物育种的关键(马静等,2010)。遗传多样性

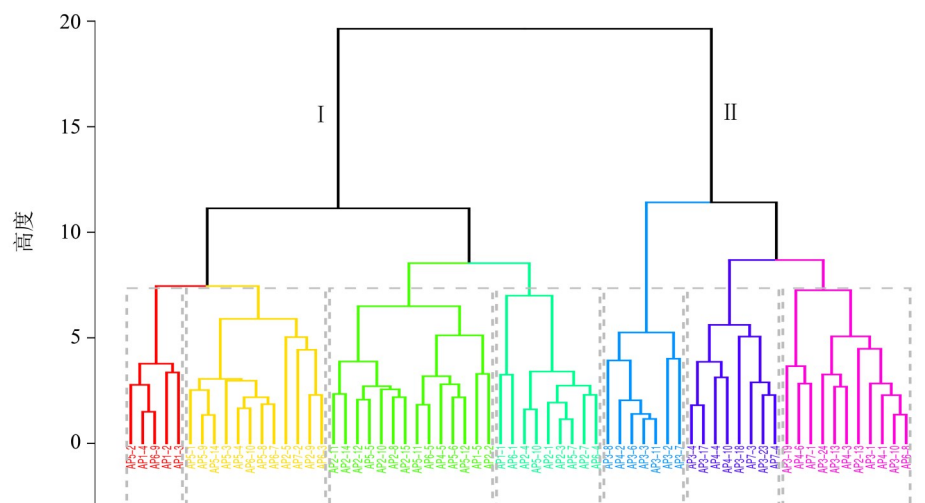


图5 不同穿心莲材料的聚类图

Fig. 5 Clustering diagram of different *Andrographis paniculata* materials

(genetic diversity)是生命进化和适应的基础,种内遗传多样性越丰富,物种对环境变化的适应能力也越大(葛颂等,1994;刘华招等,2009)。而变异系数是反映数据分布状况的指标之一,普遍地用于反映某一总体各单位标志值的差异程度、集中或离散状况。变异系数越大,代表植物的遗传多样性越丰富(王文森,2007;杨洪升等,2017)。因此,遗传多样性研究对于培育植物新品种具有重要意义。基于此,本研究系统地对穿心莲种质产量性状与药用成分的遗传多样性进行研究。不同供试材料进行表型性状的统计发现均存在不同程度上的差异。穿心莲的主要药用成分中,AD($C_{20}H_{30}O_5$)、NAD($C_{26}H_{40}O_8$)、14-DAP($C_{20}H_{30}O_4$)和DDAD($C_{20}H_{28}O_4$)成为2020年版《中国药典》里用于评价穿心莲药材品质优劣的指标成分(靳鑫等,2014;张晓等,2018)。4种二萜内酯含量的高低在不同材料间也呈现出明显的差异,变异系数整体上均较大。研究表明,穿心莲材料存在较为丰富的遗传多样性,这可能是由于穿心莲长期引种栽培严重且近些年来面积拓展,多代种植并没有经过严格的种质筛选,造成穿心莲种质资源混杂,材料纯合性差(Devi,2016)。

对于性状指标的相关性分析,我们同时使用SPSS进行相关性分析时的皮尔逊和斯皮尔曼两种分析方式。皮尔逊主要是针对供试数据呈现正态分布的情况,而斯皮尔曼主要针对供试数据呈现非正态分布的情况。统计的指标符合正态分布的有:单株生物量、株高、AD、14-DAP和DDAD含量;不符合正态分布的有:生育期、叶面积、

叶片质量、一次分枝数、NAD和总内酯含量。供试指标并不全都符合正态分布,可能是因为人为选择材料造成的影响,不具有随机性。因此结合皮尔逊和斯皮尔曼两种分析方式进行分析,两者相关性分析方法呈现了一致的结果。穿心莲的4种二萜内酯类含量与单株生物量之间呈负相关。由此可见,穿心莲的有效成分含量与产量之间趋势并不一致。说明材料选育时需要注重产量性状和药用成分之间的平衡。

聚类分析是数据挖掘中的一种重要技术,能够通过无监督的学习过程发现隐藏的模式,具有独立发现知识的能力(杨森,2014)。聚类分析结果表明,供试材料主要分为两大类群。其中I类群主要表现为生育期短、叶面积小、生物量小、内酯含量高,II类群则表现为生育期长、叶面积大、生物量大、内酯含量低。但从聚类分析来看,聚类结果和前期通过表型和内酯含量统计筛选出的结果并不完全一致,甚至没有出现明显的相关性,推测可能是因为表型分析与遗传相关性并不大,表型分析是按照性状特征来归类的,而聚类结果和材料的来源地区也不符,出现一个亚类群里面存在多个种质的现象。以上结果进一步说明供试穿心莲材料的纯合度差、内部变异大,材料分离需要进行种质纯化。因此,有必要对穿心莲种质资源进行鉴定及进一步的育种。

药用植物育种目标的选择,需更加注重各性状和代谢成分之间的相关性。杂交育种可以增加植物的遗传多样性,从而产生新的优良性状(Acquaah,2012)。本研究旨在通过表型性状和主

要药用成分的统计与分析对药用植物穿心莲进行种质资源鉴定,从产量构成因素和主要药用成分等两方面综合评价其遗传多样性,有针对性地筛选出穿心莲的优良种质并确定出后期杂交育种的亲本。根据不同表型性状和主要药用成分含量的对比分析、相关性分析及聚类分析,可知穿心

莲的遗传多样性较丰富。通过以上种质的评价及筛选,最后确定出 AP3-4、AP3-19 等 2 份材料,具有生物量较大,内酯含量较高等特点,进一步用于后期穿心莲杂交育种研究的核心材料。研究内容为穿心莲种质资源的品种选育提供数据与材料支撑。

参考文献:

- 陈东亮,钟楚,林阳,2020.药用植物穿心莲种质资源、育种及栽培研究进展[J].江苏农业科学,48(21):34-40.
- 陈蓉,2015.基于遗传与环境的穿心莲品质研究[D].北京:北京中医药大学.
- 葛颂,1994.遗传多样性及其检验方法[M].生物遗传多样性研究的原理与方法.北京:科学出版社:123-140.
- 郭佳佳,曹智威,杜鸿章,等,2020.穿心莲有效成分的提取工艺研究[J].生物化工,6(6):6-8+14.
- 国家药典委员会,2020.中华人民共和国药典:一部[S].北京:中国医药科技出版社:280.
- 靳鑫,时圣明,张东方,等,2014.穿心莲化学成分的研究(II)[J].中草药,45(2):164-169.
- 兰继平,胡彦君,王雅琪,等,2016.穿心莲制剂指纹图谱及其制备过程药效相关性研究[J].中国中药杂志,41(15):2802-2808.
- 刘华招,刘延,王丽萍,等,2009.用表型性状研究寒地早粳品种(品系)的遗传多样性[J].北方水稻,39(5):5-9+18.
- 马静,安永平,王彩芬,等,2010.遗传多样性研究进展[J].陕西农业科学,56(1):126-130.
- 庞志强,元峥,卢炜丽,等,2019.基于叶面积仪测量法修正日本田边贯氏经验系数(K)[J].林业科技通讯,(9):38-42.
- 沈奇,王仙萍,田世刚,等,2016.紫苏种质资源的考察标准及其性状描述[J].贵州农业科学,44(1):17-20.
- 王文森,2007.变异系数——一个衡量离散程度简单而有用的统计指标[J].中国统计,(6):41-42.
- 肖敏,曾文雪,乐志艳,等,2017.穿心莲叶质量标准的研究[J].江西中医药大学学报,29(6):75-78.
- 闫婕,卫莹芳,胡慧玲,等,2013.穿心莲药用植物资源调查[J].时珍国医国药,24(8):1997-1999.
- 杨洪升,王悦,王长宝,等,2017.植物遗传多样性研究方法进展[J].中国科技信息,(15):47-48.
- 杨森,2014.聚类分析及其应用研究[J].计算机安全,(1):36-39.
- 曾吴静,许玲,何秋伶,等,2019.穿心莲农艺性状及其与二萜内酯成分相关性研究[J].中国中药杂志,44(15):3233-3238.
- 张敬君,2007.穿心莲栽培管理技术[J].现代农业科技,(17):45.
- 张晓,唐力英,吴宏伟,等,2018.穿心莲现代研究进展[J].中国实验方剂学杂志,24(18):222-234.
- 中国科学院中国植物志编辑委员会,2006.中国植物志[M].北京:科学出版社.
- 周芳,孙铭阳,梅瑜,等,2021.药用植物穿心莲研究进展[J].广东农业科学,48(1):9-16.
- 周汝顺,江燕,陈启友,等,2019.穿心莲超声提取工艺研究[J].中国兽药杂志,53(8):66-70.
- 庄子瑜,于远洋,董斌,2021.HPLC法分别测定穿心莲茎、叶中穿心莲内酯、脱水穿心莲内酯的含量[J].世界最新医学信息文摘,21(39):203-204.
- ACQUAAH G,2012.Principles of plant genetics and breeding[M].Wiley Ltd:8-16.
- DEVI H,2016.Genetic Diversity analysis of indigenous germplasm accession of kalmegh (*Andrographis paniculata*) [D].Raipur:College of Agriculture.
- RAIN A P, GUPTA V, SIVARAJ N, et al, 2013. *Andrographis paniculata* (Burm. f.) Wall. ex Nees (Kalmegh), a traditional hepatoprotective drug from India [J]. Genet Resour Crop Evol, 60(3): 1181-1189.
- ZHOU B, ZHANG D, WU X, 2013. Biological activities and corresponding SARs of andrographolide and its derivatives[J]. Mini Rev Med Chem, 13(2): 298-309.

(责任编辑 张冰)