



杜仲叶片 6 种主要活性成分的遗传变异研究

庆 军^{1,2}, 魏艳秀³, 王鼎涵⁴, 王 璐^{1,2}, 刘攀峰^{1,2}, 杜红岩^{1,2}, 杜庆鑫^{1,2*}

(1 中国林业科学研究院 经济林研究开发中心, 郑州 450003; 2 国家林业局杜仲工程技术研究中心, 郑州 450003; 3 国家林业局调查规划设计院, 北京 100010; 4 西北工业大学 附属中学, 西安 710072)

摘 要: 该研究采用方差分析、相关性分析和聚类分析等方法, 对 105 份杜仲种质资源叶片 6 种主要活性成分含量进行比较分析, 探讨其遗传变异特征, 为叶用杜仲的良种选育及开发利用提供理论依据。结果显示: (1) 不同种质间杜仲叶片 6 种活性成分含量的变异程度不同, 异槲皮苷含量变异系数(34.42%)最大, 变异幅度为 1.16~6.92 mg·g⁻¹, 总黄酮变异系数(19.35%)最低, 变异幅度为 6.70~22.53 mg·g⁻¹; 6 种活性成分多样性指数较高, 均在 2.0 以上; 不同种质间杜仲叶 6 种活性成分含量差异性均达到极显著水平($P < 0.01$)。 (2) 不同地理来源间杜仲叶片的绿原酸、京尼平苷酸、车叶草苷、异槲皮苷和总黄酮含量存在显著差异。 (3) 相关性分析表明, 3 种环烯醚萜类化合物桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸及车叶草苷的含量间呈极显著正相关关系; 绿原酸与桃叶珊瑚苷、车叶草苷、异槲皮苷、总黄酮间呈极显著正相关关系; 总黄酮与异槲皮苷呈极显著正相关关系。 (4) 根据杜仲叶片 6 种活性成分的含量聚类, 将杜仲种质资源分为 4 大类群, 其中类群Ⅳ为高含量类群, 可为优良叶用杜仲资源筛选提供参考。研究表明, 杜仲种质资源叶片主要活性成分存在较大变异, 表现出丰富的多样性。

关键词: 杜仲; 种质资源; 叶片; 活性成分; 遗传变异

中图分类号: Q946.8; Q346⁺.3 **文献标志码:** A

Study on Genetic Variation of Main Active Components in Leaves of *Eucommia ulmoides*

QING Jun^{1,2}, WEI Yanxiu³, WANG Dinghan⁴, WANG Lu^{1,2},
LIU Panfeng^{1,2}, DU Hongyan^{1,2}, DU Qingxin^{1,2*}

(1 Non-timber Forest Research and Development Center of Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, China; 2 The Eucommia Engineering Research Center of National Forestry Administration, Zhengzhou 450003, China; 3 Survey Planning and Design Institute of the State Forestry Administration, Beijing 100010, China; 4 The Middle School Attached to Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China)

Abstract: Using ANOVA, correlation analysis and cluster analysis, we investigated six active components in leaves of 105 *Eucommia ulmoides* germplasm resources, discussed the genetic variation to provide theoretical basis for breeding and utilization of leaf-used *E. ulmoides*. The results showed that: (1) the variation of six active component contents in leaves were different among different *E. ulmoides* germplasm resources. The largest coefficient of variation appeared in isoquercitrin (34.42%) and the content ranged from 1.16 to 6.92 mg·g⁻¹, while the lowest coefficient of variation appeared in total flavonoids(19.35%) and the content ranged from 6.70 to 22.53 mg·g⁻¹. The diversity index of six active components were all

收稿日期: 2017-08-15; 修改稿收到日期: 2017-11-14

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费(CAFYBB2016QA017); “十三五”国家重点研发计划(2017YFD0600702)

作者简介: 庆 军(1993—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事杜仲育种栽培研究。E-mail: 1002927180@qq.com

* 通信作者: 杜庆鑫, 硕士, 主要从事杜仲育种栽培与综合利用研究。E-mail: duqingxin20102325@163.com

above 2.0. The contents of six active components showed extremely significant difference ($P<0.01$) among different germplasm resources. (2) There were significant differences in the contents of chlorogenic acid, geniposidic acid, asperuloside, isoquercitrin and total flavonoids among different origins. (3) Correlation analysis showed that the contents of aucubin, geniposidic acid and asperuloside were extremely significantly related to each other. The content of chlorogenic acid was extremely significant and positive correlated with aucubin, asperuloside, isoquercitrin and total flavonoids. No significant correlation was found between total flavonoids and other components except for isoquercitrin and chlorogenic acid. (4) *E. ulmoides* germplasm resources were divided into four groups according to the content difference of the six components, in which the group IV including 13 materials had higher contents of active components than that of other groups, which could provide basic material for breeding of *E. ulmoides* resources. Great variation and rich diversity of six active component contents were found in different *E. ulmoides* germplasm resources.

Key words: *Eucommia ulmoides*; germplasm; leaves; active component; genetic variation

杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliv.)为单科单属单种,是第四纪冰川侵袭后仅留存于中国的孑遗树种,是中国特有的珍稀濒危二级保护植物和国家战略树种,具有很高的药用价值、营养价值和生态维护功能^[1-2]。

作为中国传统中药材,杜仲以皮入药已有两千多年的历史。近年来研究发现杜仲叶片含有与皮相似的活性成分,具有很高的药用价值。2005 年,《中国药典》(一部)将杜仲叶收录为杜仲药材。杜仲叶中活性成分主要有木脂素类、环烯醚萜类、苯丙素类和黄酮类等^[3-4]。其中桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸和车叶草苷为环烯醚萜类成分,具有清除自由基、降血糖、保护肝脏等作用^[5-6];绿原酸为苯丙素类化合物,具有抗菌、抗病毒、抗癌、提高免疫力等作用;异槲皮苷是黄酮类成分,具有抗氧化、抗抑郁及扩张血管等多种生理活性^[7]。杜仲叶除了珍贵的药用价值外,在食品、保健品及饲料添加剂等领域也有广阔的应用前景^[8]。

目前对杜仲叶的研究多集中于活性成分提取、分离及药理作用评价,而对中国丰富的杜仲种质资源叶片活性成分的测定分析还未有系统研究。本研究通过对 105 份杜仲种质资源叶片主要活性成分(绿原酸、桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷、异槲皮苷及总黄酮)进行系统测定分析,对杜仲叶主要活性成分的多样性进行评价,以期筛选出活性成分含量高的优良叶用杜仲资源,从而为发掘优异种质资源、选育新品种提供基础材料,同时为杜仲资源的开发利用提供重要的理论基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验在中国林业科学研究院经济林研究开发中

心杜仲基因库进行,基因库定植行间距为 3 m×3 m。利用混合取样法对 105 份杜仲种质材料的成熟叶片进行采集,包括雌株叶片 58 份,雄株叶片 47 份,种质来源及数量见表 1。每份种质选择长势旺盛、无病虫害的 6 株样株进行叶的采集,每一单株从东南西北四个方向分别在枝条的中部采集典型叶片 2 片,共 48 片杜仲叶,低温冷藏带回实验室备用。

1.2 仪器与试剂

仪器:高相液相色谱仪(配 water 1525 泵、2998 PDA 检测器、2707 Autosampler);AL204 电子天平(海特勒-托利多仪器上海有限公司);紫外可见分光光度计(Agilent CARY300);HT-300BQ 型数控超声波清洗器(济宁恒通超声电子设备有限公司)

试剂:桃叶珊瑚苷、芦丁对照品购于中国食品药品检验所,绿原酸、京尼平苷酸、车叶草苷、异槲皮苷

表 1 种质来源与数量
Table 1 Number and origin of germplasm resources

来源 Origin	总份数 Total number	雌株 Female plant	雄株 Male plant
湖南株洲 Zhuzhou, Hu'nan	10	5	5
广西桂林 Guilin, Guangxi	10	9	1
河北安国 Anguo, Hebei	9	4	5
浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	7	3	4
北京市 Beijing	10	5	5
贵州遵义 Zunyi, Guizhou	10	5	5
河南开封 Kaifeng, Henan	10	6	4
河南洛阳 Luoyang, Henan	10	6	4
江苏响水 Xiangshui, Jiangsu	10	4	6
四川广元 Guangyuan, Sichuan	10	6	4
山西运城 Yuncheng, Shanxi	9	5	4
合计 Total	105	58	47

对照品均购自于曼思特生物科技有限公司;实验所用甲醇为色谱纯;水为超纯水;其他试剂均为国产分析纯。

1.3 测定方法

总黄酮含量采用 AlCl₃ 显色法^[9]。绿原酸、桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷及异槲皮苷等 5 种活性成分含量测定采用改进 HPLC 法^[10]。

1.4 数据处理与分析

采用 Excel 计算各成分含量的平均值($\bar{X}$)、标准差(S)、变异系数等基本描述。根据计算结果把 105 份杜仲种质 6 种活性成分划分为 10 个等级,从第 1 级 $[X_i < (\bar{X} - 2S)]$ 到第 10 级 $[X_i > (\bar{X} + 2S)]$,每 0.5 S 为 1 级,并对 6 种活性成分在每一级占有的种质数作频次分布图。每一级的相对频率(p_i)用于计算遗传多样性指数,即香农-维纳指数计算公式如下: $H' = -\sum p_i \ln p_i$ ^[11],其中 p_i 为某一性状第 i 级别试验材料份数占总份数的百分比^[12]。采用 SPSS 20.0 对不同来源的杜仲种质叶片活性成分含量进行单因素方差分析和 Duncan 多重比较分析,利用 Pearson 相关系数分析各成分间的相关性,采用欧式平方距离 Ward 法对 105 份种质进行聚类分析,对聚类结果进一步作单因素方差分析和 Duncan 多

重比较。

2 结果与分析

2.1 杜仲种质叶片 6 种活性成分含量变异分析

105 份杜仲种质叶片 6 种活性成分含量见表 2。桃叶珊瑚苷含量在 6 种成分中最高,均值为 31.69 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其次是绿原酸的含量,均值为 22.05 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,其他活性成分由大到小的顺序为总黄酮(15.92 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、京尼平苷酸(9.60 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、车叶草苷(4.56 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)、异槲皮苷含量(3.37 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。6 种活性成分含量在不同种质间变异程度不同,其中异槲皮苷含量的变异系数 34.42%最大,变异幅度为 1.16~6.92 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;京尼平苷酸含量变异系数居第二位,为 27.71%,变异幅度为 4.93~17.71 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;总黄酮变异系数最低,为 19.35%,变异幅度为 6.70~22.53 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。6 种活性成分多样性指数较高,均在 2.0 以上,各成分多样性指数从大到小的排序为:桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸=车叶草苷、异槲皮苷、绿原酸=总黄酮。对各成分的 F 值分析发现,不同种质杜仲叶片 6 种主要活性成分差异性均达到极显著水平($P < 0.01$)。表明杜仲种质资源的 6 种主要活性成分具有较大的遗传改良潜

表 2 杜仲种质叶中 6 种活性成分含量基本参数统计

Table 2 Basic statistic parameters of six active component contents in *E. ulmoides* leaves

成分 Component	均值 $\bar{X}$	标准差 S	极小值 Min.	极大值 Max.	变异系数 CV/%	多样性指数 H'	F 值 F value
绿原酸 Chlorogenic acid	22.05	4.48	11.01	32.61	20.32	2.12	5.567 **
桃叶珊瑚苷 Aucubin	31.69	8.24	10.54	58.52	26.00	2.16	21.634 **
京尼平苷酸 Geniposidic acid	9.60	2.66	4.93	17.71	27.71	2.15	22.192 **
车叶草苷 Asperuloside	4.56	1.04	2.50	6.85	22.81	2.15	21.192 **
异槲皮苷 Isoquercitrin	3.37	1.16	1.16	6.92	34.42	2.14	14.867 **
总黄酮 Total flavonoids	15.92	3.08	6.70	22.53	19.35	2.12	33.336 **

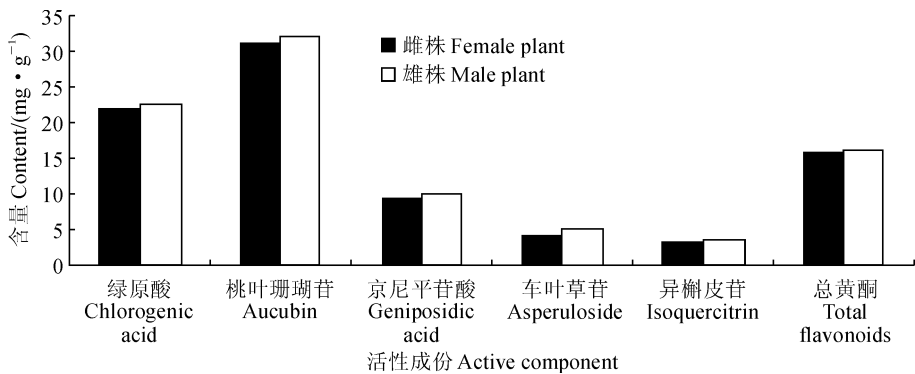


图 1 杜仲雌雄株叶片活性成分对比

Fig. 1 Comparison of six active components in male and female leaves of *E. ulmoides*

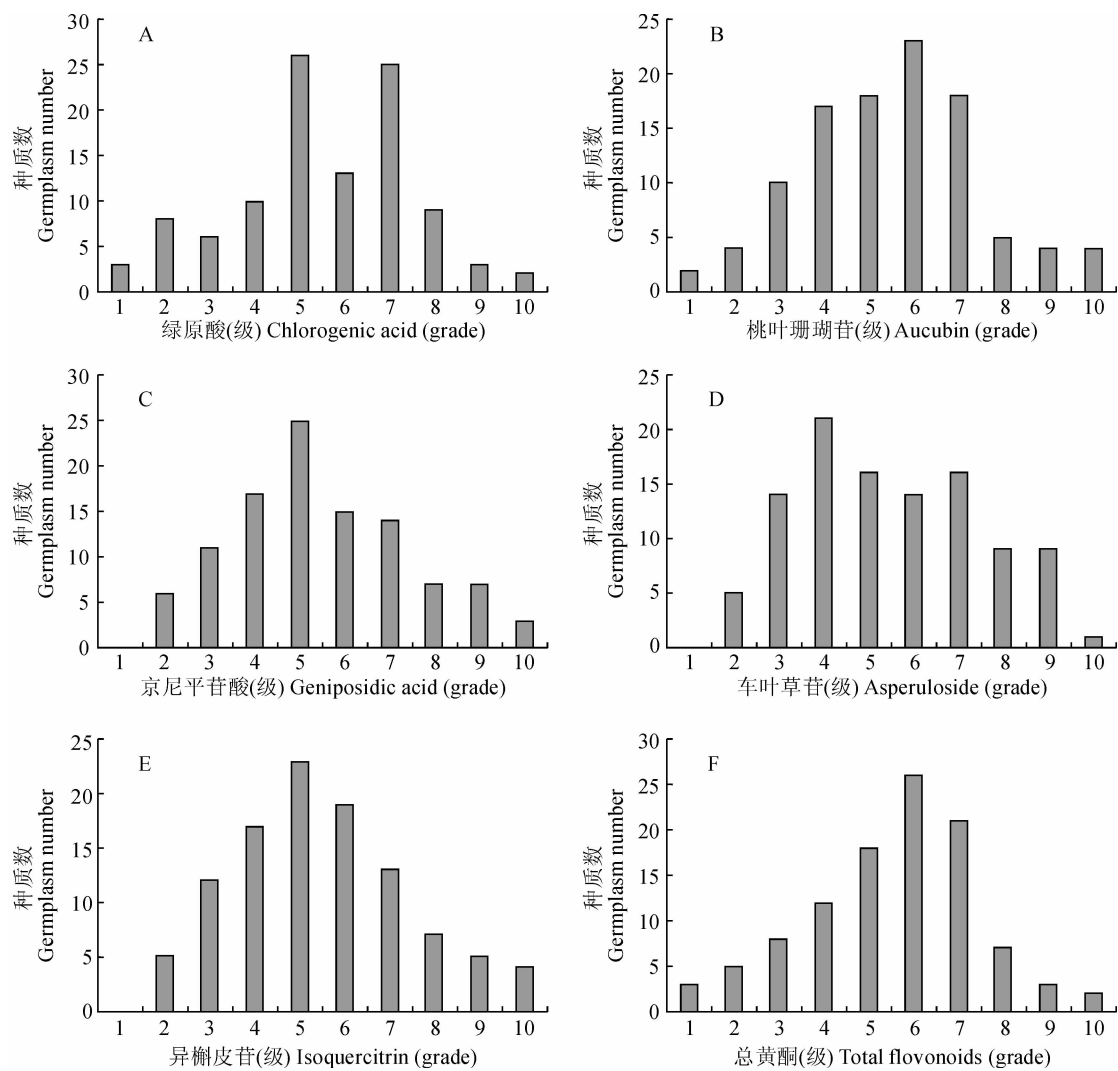


图 2 105 份杜仲种质叶片 6 种活性成分频次分布

Fig. 2 Frequency distribution of six active component contents in leaves of 105 *E. ulmoides* germplasm resources

力。进一步对杜仲雌、雄株叶片 6 种活性成分含量比较分析(图 1),发现杜仲雄株叶片 6 种活性成分含量略高于雌株,但没有显著差异。

以遗传多样性测算的分级标准,分析了 105 份杜仲种质叶片绿原酸、桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷、异槲皮苷及总黄酮含量在每一级占有种质数的频次分布(图 2)。6 种活性成分含量分布相对集中,处于两端的种质较少,其中,绿原酸(图 2,A)、桃叶珊瑚苷(图 2,B)及总黄酮(图 2,F)含量在 1~10 级均有分布,绿原酸主要集中在 5~7 级之间,桃叶珊瑚苷处在 3~7 级之间种质数较多,总黄酮集中于 4~7 级;京尼平苷酸(图 2,C)、车叶草苷(图 2,D)及异槲皮苷(图 2,E)在 2~10 级上均有分布,且都集中分布于 3~7 级。

2.2 不同来源杜仲种质叶片 6 种活性成分含量差异分析

不同来源间 6 种活性成分含量方差分析及多重比较结果见表 3,除桃叶珊瑚苷,绿原酸、京尼平苷酸、车叶草苷、异槲皮苷和总黄酮含量在不同来源间均存在显著差异。虽然不同来源间桃叶珊瑚苷差异不显著,但仍存在一定的差别,河南洛阳资源的含量(36.45 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)最高,比最低湖南株洲资源的含量高 8.49 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$;绿原酸、异槲皮苷和总黄酮含量最高的是河北安国地区种质,平均含量分别达到 24.90、4.09 和 18.65 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,绿原酸和总黄酮含量极显著高于山西运城和河南开封的种质,河南开封地区 3 种成分含量均最低,分别为 15.75、2.27 和 13.29 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。其中,河南洛阳地区的京尼平苷

酸含量最高,其平均值达到 11.33 mg · g⁻¹,显著高于湖南株洲和贵州遵义地区,且湖南株洲地区的含量(7.25 mg · g⁻¹)最低,仅为河南洛阳的 63.99%;车叶草苷含量最高的是江苏响水地区种质,平均含量达 5.05 mg · g⁻¹,显著高于山西运城和湖南株洲

地区,且湖南株洲地区的含量(3.77 mg · g⁻¹)最低。

2.3 杜仲叶片 6 种活性成分含量的相关性分析
杜仲叶片 6 种活性成分含量的相关性分析结果(表 4)表明,杜仲种质资源叶片中 6 种活性成分含量

表 3 不同来源间杜仲种质 6 种活性成分含量分析

Table 3 Comparison of six active component contents between different origins

来源 Origin	绿原酸 Chlorogenic acid	桃叶珊瑚苷 Aucubin	京尼平苷酸 Geniposidic acid	车叶草苷 Asperuloside	异槲皮苷 Isoquercitrin	总黄酮 Total flavonoids
湖南株洲 Zhuzhou, Hunan	23.53±4.46cd	27.96±9.14a	7.25±1.77a	3.77±0.90a	3.35±0.99abc	16.21±3.66abcd
广西桂林 Guilin, Guangxi	20.33±3.33bc	29.74±8.39a	9.70±2.50abc	4.70±1.38abc	3.50±1.61bc	13.91±3.68ab
河北安国 Anguo, Hebei	24.90±2.33d	34.18±5.92a	7.95±1.72ab	4.32±0.76abc	4.09±1.12c	18.65±2.65d
浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	23.74±2.65cd	32.56±5.87a	9.90±2.14abc	4.61±0.99abc	3.08±1.05abc	15.55±3.12abc
北京 Beijing	23.65±1.92cd	33.55±10.59a	10.04±2.70bc	4.65±0.98abc	3.91±1.20bc	17.31±3.03cd
贵州遵义 Zunyi, Guizhou	22.66±4.25cd	29.21±6.17a	8.97±2.18abc	4.68±1.13abc	3.15±1.55abc	15.24±2.30abc
河南洛阳 Luoyang, Henan	22.83±5.95cd	36.45±9.92a	11.33±3.10c	4.94±0.77c	3.45±0.66bc	17.36±1.49cd
江苏响水 Xiangshui, Jiangsu	23.95±5.37cd	34.34±7.77a	10.97±3.21c	5.05±1.17c	3.72±1.20bc	16.31±2.80bcd
四川广元 Guangyuan, Sichuan	23.22±2.70cd	33.15±6.34a	9.58±1.50abc	4.86±1.06bc	3.73±0.62bc	16.18±1.94abcd
山西运城 Yuncheng, Shanxi	18.87±2.46ab	29.11±10.10a	9.88±2.52abc	3.81±0.54ab	2.88±0.83ab	15.32±1.75abc
河南开封 Kaifeng, Henan	15.75±3.56a	29.00±6.54a	10.00±3.33bc	4.79±1.05abc	2.27±0.74a	13.29±3.65a

注:表中数据为均值±标准差;同列不同字母表示该成分在 0.05 水平上差异显著;下同
Note: Data in table were X±S;The different letters in the same column mean significant difference at 0.05 level; The same as below

表 4 杜仲种质叶片 6 种成分含量间相关分析

Table 4 Correlation between each active component contents in *E. ulmoides* leaves

成分 Component	总黄酮 Total flavonoids	异槲皮苷 Isoquercitrin	车叶草苷 Asperuloside	京尼平苷酸 Geniposidic acid	桃叶珊瑚苷 Aucubin	绿原酸 Chlorogenic acid
绿原酸 Chlorogenic acid	0.346**	0.514**	0.256**	0.037	0.359**	1
桃叶珊瑚苷 Aucubin	0.181	0.086	0.579**	0.570**	1	
京尼平苷酸 Geniposidic acid	-0.068	-0.092	0.256**	1		
车叶草苷 Asperuloside	0.055	0.120	1			
异槲皮苷 Isoquercitrin	0.543**	1				
总黄酮 Total flavonoids	1					

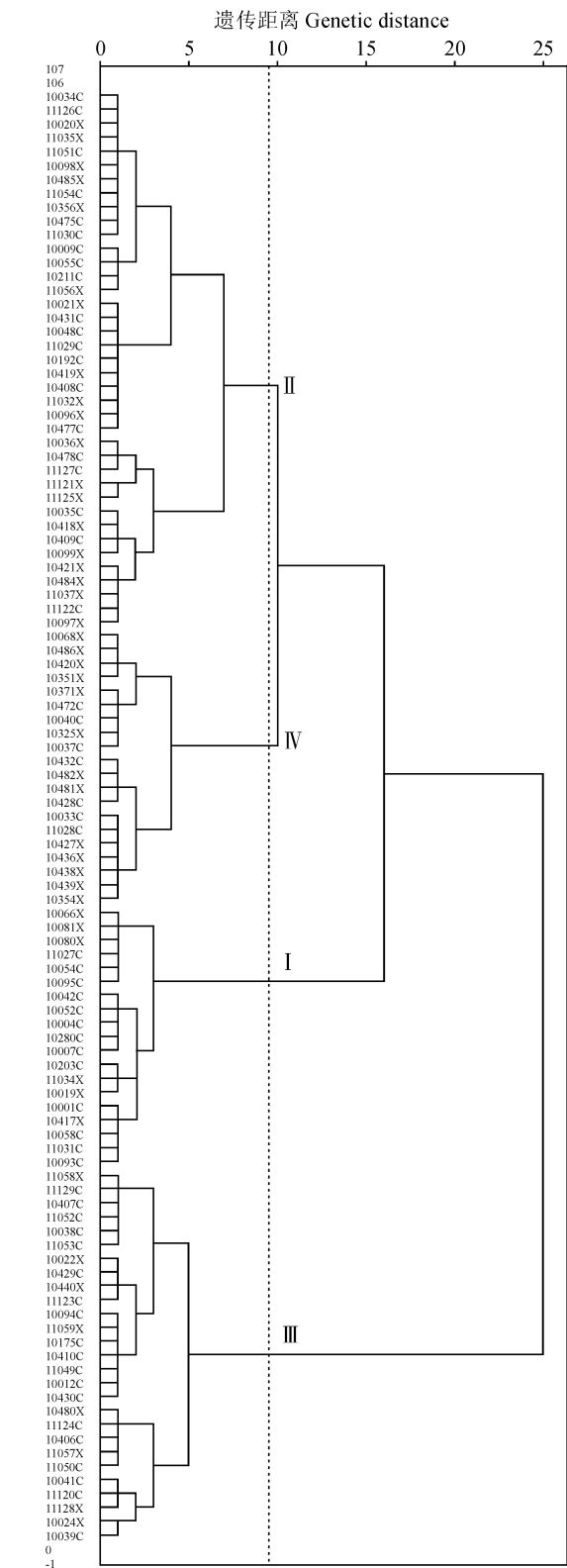
注:*与**分别表示在 0.05 和 0.01 水平上显著相关
Note: * and ** represent significant correlation at 0.05 level and 0.01 level

表 5 杜仲种质各类群性状特征

Table 5 The traits of four groups

成分 Component	类群Ⅰ GroupⅠ	类群Ⅱ GroupⅡ	类群Ⅲ GroupⅢ	类群Ⅳ GroupⅣ
绿原酸 Chlorogenic acid	24.89±3.24c(13.02)	22.49±3.28b(14.59)	16.95±3.25a(19.2)	25.37±2.65c(10.46)
桃叶珊瑚苷 Aucubin	28.44±6.51b(22.9)	33.81±5.92c(17.51)	24.77±6.02a(24.29)	39.99±7.20d(18.01)
京尼平苷酸 Geniposidic acid	7.16±1.25a(17.49)	10.60±2.29c(21.59)	8.46±2.19b(25.92)	11.53±2.53c(21.91)
车叶草苷 Asperuloside	3.82±0.69a(18.09)	5.01±0.82b(16.41)	3.65±0.55a(15.08)	5.60±0.64c(11.4)
异槲皮苷 Isoquercitrin	4.18±0.97c(23.20)	3.04±0.71b(23.21)	2.40±0.72a(29.95)	4.56±1.04c(22.83)
总黄酮 Total flavonoids	18.72±1.88b(10.02)	14.56±2.32a(15.93)	14.58±3.37a(23.08)	17.72±2.15b(12.12)

注:括号内数字表示变异系数(%)
Note: Data in the bracket are the coefficient of variation(%)



图中左侧编号为 105 份杜仲种质编号

图 3 杜仲种质叶片 6 种活性成分含量聚类分析
105 *E. ulmoides* germplasm numbers were
showed in the left side of the figure
Fig. 3 Cluster analysis of six active components
of *E. ulmoides* germplasm resources

之间存在不同程度的相关性,其中,桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸和车叶草苷 3 种环烯醚萜类物质间均呈极显著正相关关系,桃叶珊瑚苷和京尼平苷酸、车叶草苷的相关系数分别为 0.570 和 0.579,京尼平苷酸和车叶草苷的相关系数为 0.256;绿原酸含量与异槲皮苷含量、桃叶珊瑚苷含量、车叶草苷含量和总黄酮均呈极显著正相关关系,而与京尼平苷酸无显著相关性;总黄酮与异槲皮苷和绿原酸呈极显著正相关关系,相关系数分别为 0.543 和 0.346,而与其他均无显著相关性。

2.4 杜仲种质叶中 6 种活性成分含量的聚类分析

利用 SPSS 20.0 对 105 份杜仲种质的 6 种成分进行聚类,在遗传距离为 8.5 处将参试材料分为 4 类(图 3),各种质类群特征见表 5。第 I 类群包括 19 份种质材料,仅占总种质的 18.10%,该类群种质总黄酮含量($18.72\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 在 4 个类群种最高,变异系数(10.02%)在 4 个类群种最小;绿原酸含量($24.89\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)和异槲皮苷含量($4.18\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$) 在 4 类群中居第二位。第 II 类群中包括 39 份材料,占总种质的 37.14%,是 4 类群中种质资源数目最多的一个类群,各成分含量表现均一般,其中车叶草苷、桃叶珊瑚苷及京尼平苷酸 3 种环烯醚萜类物质含量在 4 类群中居第二位,均值分别为 33.81 、 10.60 和 $5.01\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。第 III 类群包括 27 份材料,占总种质的 25.71%,除京尼平苷酸和总黄酮含量在 4 类群中处于第 3 位,其他 4 种活性成分含量在 4 类群中均最低。第 IV 类群包括 20 份材料,占总种质的 19.05%,该类群中除总黄酮含量居第二位,其他 5 种活性成分含量均高于其他类群,其中绿原酸含量均值为 $25.37\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数在 4 类群中最小,10.46%;桃叶珊瑚苷含量均值为 $39.99\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$;京尼平苷酸含量均值为 $11.53\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数在 4 类群中最大,21.91%;车叶草苷含量均值为 $5.60\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数在 4 类群中最小,10.40%;异槲皮苷含量均值为 $4.56\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,变异系数在 4 类群中最小,22.83%;总黄酮含量均值为 $17.72\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。综合分析发现,4 类群中第 IV 类群 20 份杜仲种质的 6 种活性成分表现均较好,可为后期叶用杜仲资源的选育提供基础材料。

3 讨 论

对种质资源性状进行差异性比较分析,了解其资源的多样性,是育种工作的基础。本研究对 105 份不同种质杜仲叶中 6 种主要活性成分含量进行测

定,发现杜仲叶片 6 种活性成分含量均较高。其中,绿原酸含量与金银花相近,表明杜仲叶片也可作为绿原酸研究的优质材料^[13],桃叶珊瑚苷含量远高于鲜地黄^[14],总黄酮含量略高于银杏叶^[15],异槲皮苷含量与罗布麻叶相近^[16]。说明杜仲叶有很高的药用价值,开发利用潜力巨大。

进一步对不同种质杜仲叶片活性成分含量比较分析,发现不同种质间杜仲叶中绿原酸、异槲皮苷、桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷及总黄酮含量差异性均达到极显著水平。这与黄玉仙^[17]对不同种质薯蓣多糖含量研究结果相一致。而且杜仲叶片 6 种活性成分含量变异程度均较高,变异幅度较大,表现出丰富的多样性,其变异系数的变化范围介于 19.35%~34.42%,6 种活性成分多样性指数较高,均在 2.0 以上。表明杜仲种质资源的 6 种主要活性成分具有较大的遗传改良潜力,为优良种质选育提供了可能。

通过对各成分相关性分析,在对于种质资源中某一个成分进行选择时,就可以预测或优先考虑到该成分的筛选可能对其他成分产生的影响。本研究通过对 6 种成分间的相关性分析发现,车叶草苷、桃叶珊瑚苷及京尼平苷酸三种环烯醚萜类物质间均呈

极显著正相关关系,绿原酸与异槲皮苷、桃叶珊瑚苷、车叶草苷和总黄酮间均呈极显著正相关关系,而与京尼平苷酸无显著相关性;总黄酮除与异槲皮苷含量和绿原酸含量呈极显著正相关关系外,与其他成分均无显著性相关性,其中相关系数分别为 0.543、0.346。

聚类分析可以将性状相似的聚为一类,以便系统分析各种质特点,对植物育种和资源利用有较好的指导作用。本试验采用欧氏平方距离法将 105 份杜仲种质资源分为 4 大类群,聚类结果显示,杜仲种质资源叶片中绿原酸、异槲皮苷、桃叶珊瑚苷、京尼平苷酸、车叶草苷和总黄酮含量与种质来源无明显的规律性。孙建等^[18]对芝麻种质资源叶片中叶绿素含量进行多样性分析,发现聚类结果与种质来源、种质类型间无明显的规律性,傅建敏等^[19]对柿资源叶片总黄酮和多酚研究也得到相似结论。这可能是由于不同地区间杜仲大规模引种栽培,导致杜仲叶片活性成分含量聚类与地理来源无关。综合比较 4 大类群中 6 种活性成分含量的高低发现,类群Ⅳ为高含量类群,共有 20 份种质,不仅为后期优良叶用品种的开发利用提供出基础原材料,也为杜仲活性成分的遗传改良提供了可能。

参考文献:

[1] 杜红岩,胡文臻,俞 锐,等. 杜仲产业绿皮书[M]. 北京: 社会科学文献出版社,2013: 188-195.

[2] 杜庆鑫,刘攀峰,庆 军,等. 杜仲种质资源雄花主要数量性状变异及概率分级[J]. 北京林业大学学报,2016, 38(11): 42-49.

DU Q X, LIU P F, QING J, *et al.* Variation and probability grading of main quantitative traits of male flowers for *Eucommia ulmoides* germplasm[J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2016, 38(11): 42-49.

[3] 冯 晗,周宏灏,欧阳冬生. 杜仲的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国临床药理学和治疗学,2015, 20(6): 713-720.

FENG H, ZHOU H H, OUYANG D S. Chemical constituents and pharmacology of *Eucommia ulmoides* Oliv.[J]. *Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2015, 20(6): 713-720.

[4] DANIELLE R, PAUL P, MICHAEL A. Applications of mass spectrometry to plant phenols [J]. *Trac Trends in Analytical Chemistry*, 1999, 18(5): 362-372.

[5] 彭密军,张 敏,周春山,等. 高相液相色谱-质谱法测定杜仲

样品中环烯醚萜含量[J]. 分析测试学报, 2006, 25(1): 52-56.

PENG M J, ZHANG M, ZHOU C S, *et al.* Analysis of Iridoids in *Eucommia* samples with high performance liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry [J]. *Journal of Instrumental Analysis*, 2006, 25(1): 52-56.

[6] 刘 净,梁敬钰,谢 韬. 环烯醚萜类化合物近年研究进展[J]. 海峡药学, 2004, 16(1): 14-19.

LIU J, LIANG J Y, XIE T. Development of iridoids in recent years [J]. *Strait Pharmaceutical Journal*, 2004, 16(1): 14-19.

[7] 成 军,赵玉英,崔育新,等. 杜仲叶黄酮类化合物的研究[J]. 中国中药杂志, 2000, 25(5): 284-286.

CHENG J, ZHAO Y Y, CUI Y X, *et al.* Studies on flavonoids from leave of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2000, 25(5): 284-286.

[8] 王 璐,杜兰英,杜红岩. 杜仲饲料添加剂的研究进展[J]. 饲料研究, 2014, (19): 29-31.

WANG L, DU L Y, DU H Y. Research progress on feed additives of *Eucommia ulmoides* [J]. *Feed Research*, 2014,

(19):29-31.

[9] 范杰明. 柿叶中有效成分的提取与分离研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.

[10] 魏艳秀. 杜仲主要活性成分和杜仲橡胶的变异性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016.

[11] 胡建斌, 马双武, 李建吾, 等. 国外甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析[J]. 植物学报, 2013, **48**(1): 42-51.

HU J B, MA S W, LI J W, *et al.* Genetic diversity of foreign melon (*Cucumis melo*) germplasm resources by morphological characters[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2013, **48**(1):42-51.

[12] SHANNON C E, WEAVER W. The Mathematical Theory of Communication[M]. Urbana: University of Illinois Press, 1949: 3-14.

[13] 刘 杨, 包华音, 张 峰. 不同产地及品种金银花中绿原酸和木犀草苷含量测定[J]. 食品研究与开发, 2015, **36**(9): 106-109.

LIU Y, BAO H Y, ZHANG F. Determination of chlorogenic acid and galuteolin in *Lonicera japonica* of different kinds and sources by hplc[J]. *Food Research and Development*, 2015, **36**(9): 106-109.

[14] 马运明, 郭建华, 田成旺, 等. HPLC 法测定鲜地黄种梓醇和桃叶珊瑚苷[J]. 中草药, 2011, **42**(7): 1 348-1 350.

MA Y M, GUO J H, TIAN C W, *et al.* Determination of catalpol and aucubin in fresh *Rehmannia glutinosa* by hplc[J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2011, **42**(7): 1 348-1 350.

[15] 郁万文, 刘新亮, 曹福亮, 等. 不同银杏叶药用成分差异及聚类分析[J]. 植物学报, 2014, **49**(30): 292-305.

YU W W, LIU X L, CAO F L, *et al.* Cluster analysis on the main medicinal components in different leaves of Ginkgo clones[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2014, **49**(30): 292-305.

[16] 相淞华, 宋建平, 刘训红, 等. 罗布麻叶黄酮类成分分析及其动态研究[J]. 中华中医药学刊, 2010, **28**(10): 2 115-2 117.

XIANG S H, SONG J P, LIU X H, *et al.* Study on the dynamic change of flavonoids content in folium *Apocyni veneti* [J]. *Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine*, 2010, **28**(10): 2 115-2 117.

[17] 黄玉仙, 易 骏, 吴岩斌, 等. 不同种质薯蓣的多糖含量比较研究[J]. 中药材, 2012, **35**(10):1 565-1 567.

HUANG Y X, YI J, WU Y B, *et al.* Comparative study on polysaccharide content of *Dioscorea opposite* Thunb. among different germplasm resources[J]. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2012, **35**(10):1 565-1 567.

[18] 孙 建, 刘红艳, 赵应忠, 等. 芝麻种质资源叶绿素含量的多样性分析[J]. 江西农业学报, 2009, **21**(12): 5-9.

SUN J, LIU H Y, ZHAO Y Z, *et al.* Analysis of diversity in leaf chlorophyll content of *sesame* germplasm resources[J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2009, **21**(12): 5-9.

[19] 傅建敏, 张嘉嘉, 李芳东. 柿种质资源叶片中黄酮和多酚含量多样性研究[J]. 中国农业大学学报, 2014, **19**(6): 134-139.

FU J M, ZHANG J J, LI F D. Diversity of flavonoids compounds and polyphenols in leaves of persimmon germplasm [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2014, **19**(6): 134-139.

(编辑:潘新社)