

# 不同地理来源头花蓼的遗传多样性 与没食子酸含量相关性分析

周涛<sup>1</sup>, 金艳蕾<sup>1</sup>, 江维克<sup>1</sup>, 艾强<sup>1</sup>, 魏升华<sup>1</sup>, 杨占南<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>贵阳中医学院, 贵阳 550002; <sup>2</sup>贵州师范大学/贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室, 贵阳 550001)

**摘要:**应用 ISSR-PCR 和 HPLC 方法研究了头花蓼的遗传多样性与没食子酸之间的关系。ISSR 结果显示居群总的遗传变异较大 ( $H_t=0.2746$ ), 居群内的遗传变异较小 ( $H_s=0.0804$ ), 居群间的遗传分化大于居群内的遗传分化。没食子酸含量经 SPSS17.0 分析显示, 各居群间和居群内个体的没食子酸含量差异较大, 居群间没食子酸含量范围在 0.1738% - 0.3306%, 其中云南腾冲县, 贵州台江县、纳雍县、余庆县、晴隆和毕节县居群间没食子酸含量差异均达到显著水平。通过对头花蓼 48 个地理居群的遗传多样性与没食子酸含量的相关分析, 表明云南腾冲, 贵州台江、毕节市亮岩镇、晴隆、盘县居群的遗传多样性指数、没食子酸含量较高, 不仅可以作为人工育种的选育材料, 而且对于头花蓼种植适生地区划研究具有很好的参考价值。

**关键词:**头花蓼; 遗传多样性; 没食子酸含量

## Analysis on Genetic Diversity and Gallic Acid Content of *Polygonum capitatum* in Different Geographical Provenance

ZHOU Tao<sup>1</sup>, JING Yan-lei<sup>1</sup>, JIANG Wei-ke<sup>1</sup>, AI Qiang, WEI Sheng-hua<sup>1</sup>, YANG Zhan-nan<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Guiyang College of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550002; <sup>2</sup>Key Laboratory for Information System of Mountainous Area and Protection of Ecological Environment of Guizhou Province/Guizhou Normal University, Guiyang 550001)

**Abstract:** ISSR-PCR and HPLC method were used to research the relationship between the genetic diversity and the content of gallic acid in *P. capitatum*. The results of ISSR showed that there was a bigger genetic variation in the total populations ( $H_t=0.2746$ ) and a smaller genetic variation in the within populations ( $H_s=0.0804$ ). The genetic differentiation among populations was greater than those within populations. It was showed that among the various populations and within populations of individual differences had a greater differentiation in gallic acid content by SPSS17.0 analysis. The content of gallic acid were 0.1738% - 0.3306% in populations, and it reached a significant level in Tengchong population in Yunnan province, Taijiang, Nayong, Yuqing Xian, Qinglong and Bijie population in Guizhou province. Through the correlation analysis between genetic diversity and gallic acid in 48 geographic populations, it showed that Tengchong, Yunnan, Jiangsu, Bijie-liangyan, Qinglong and Panxian population in Guizhou province, the genetic diversity index, gallic acid of populations were so higher that they could not only be used as artificial breeding materials, but also have good use values for study on regionalization of *P. capitatum*.

**Key words:** *Polygonum capitatum* Buch-Ham. ex D. Don; Genetic diversity; Content of gallic acid

头花蓼 (*Polygonum capitatum* Buch-Ham. ex D. Don) 为蓼科多年生草本植物<sup>[1]</sup>。药用具有地区性, 在贵州、广西省多用于痢疾、肾炎、膀胱炎、尿路结石等症, 具有解毒、散瘀、利尿通淋的功效<sup>[2]</sup>。迄今,

收稿日期: 2010-03-31 修回日期: 2010-08-02

基金项目: 贵州省科技厅中药现代化项目 (黔科合社字 20095029 号); 贵州省科技重大专项计划 (黔科合重大专项 20080620); 贵州省教育厅自然科学研究项目 (黔教科 2008026)

作者简介: 周涛, 副教授。主要研究方向为中药资源评价与分子生药学。E-mail: taozhou88@163.com

经过一系列的基础和开发研究工作,头花蓼已成为贵州民族药(苗药)的代表<sup>[3]</sup>,并于1998年实现了GAP的规范化种植。但目前头花蓼人工种植的种源缺乏,规模繁殖和试种品种单一,现有的一些栽培种质资源发生了明显的遗传分化,产量和品质下降,这不仅影响了头花蓼栽培的推广及整个产业的良性发展,也制约了头花蓼良种选育的进程。因此,结合头花蓼遗传背景来筛选和评价头花蓼药用种质,对于头花蓼的引种、品种改良、品种鉴定和生产实践等均具有重要意义。

化学和药理研究认为,头花蓼的活性成分主要为黄酮类、鞣酸等<sup>[4-5]</sup>。杨立勇等<sup>[6]</sup>、王祥培等<sup>[7-9]</sup>运用HPLC测定了不同产地头花蓼中槲皮苷、没食子酸的含量,杜明凤等<sup>[10]</sup>采用RAPD方法研究了头花蓼的遗传多态性,但有关头花蓼的遗传背景与其药用品质的相关性分析未见报道。本文从头花蓼不同地理种源的角度出发,对48个不同地理居群,结

合ISSR-PCR和HPLC方法探讨头花蓼遗传多样性和没食子酸含量之间的关系,为进一步揭示头花蓼的遗传变异幅度及其规律,及GAP种植的优良种源选育和种植适生地区划提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本文选择头花蓼在贵州具有典型分布的20个县级地区,确立48个地方居群,于2008年8月、2009年8月集中采样。采样方法:每居群选定5m×5m样地范围,随机采集隔离明显的成年植株5个,共240个个体。其中野生群体46个、栽培群体1个(POP26)、栽培逃逸为野生群体1个(POP41)。叶片用于分子试验,同株植物干燥(<60℃)、单株粉碎后用于含量分析。上述样本均由贵阳中医学院生药教研室魏升华副教授鉴定(表1)。

表1 材料来源

Table1 Materials of resources

居群 Population	名称 Name	地理位置 Geographic location	经纬度 Longitude and latitude	海拔(m) Height	生境 Habitat
POP1	SC090807	水城县鸡场乡箐头村	25°15.07'N,104°39.92'E	538	山腰,通村公路边灌草坡
POP2	PX090808	盘县水塘镇前所村	25°39.85'N,104°36.04'E	1561	山脚,灌草坡
POP3	PX090807	盘县四格乡	26°10.92'N,104°34.31'E	1933	山腰,公路边草坡
POP4	NY090805	纳雍县阳长镇	26°36.89'N,105°09.34'E	1569	山腰,公路边山坡灌草丛
POP5	PX090808	盘县刘官镇朱昌河村	25°49.23'N,104°44.41'E	1475	山脚,公路边灌草坡
POP6	XY090810	兴义市则戎乡花郎村	24°53.27'N,104°57.03'E	1178	山腰,石灰岩坡地
POP7	LS090818	雷山县西江镇干荣村	26°31.02'N,108°09.48'E	794	山脚,灌草丛
POP8	SC090806	水城县阿嘎乡电光村	26°24.73'N,105°03.78'E	1433	煤矿山腰
POP9	YN090820	云南腾冲县和顺古镇	25°00.46'N,98°27.67'E	1582	火山岩堡坎
POP10	TJ090819	台江县老屯乡排略村	26°43.76'N,108°19.69'E	730	山腰,公路施工迹地
POP11	NY090805	纳雍县雍熙镇高坡村	26°45.95'N,105°21.14'E	1308	公路边堡坎、玉米地埂
POP12	SC090806	水城县阿嘎乡电光村安家寨	26°24.73'N,105°03.78'E	1433	煤山山腰,灌草坡
POP13	PX090807	盘县酒基镇桃园度假村	26°04.49'N,104°32.10'E	1705	山脚草坡
POP14	YQ090820	余庆县白泥镇上里村	27°10.42'N,107°52.44'E	680	沟谷,溪边,草丛
POP15	LS090818	雷山县西江镇羊吾村南星寨	26°28.13'N,108°07.45'E	819	河边草丛
POP16	QL090809	晴隆县鸡场镇文丰村	25°48.65'N,105°12.88'E	1296	山腰陡坡
POP17	PX090808	盘县板桥镇落水村	25°40.45'N,104°38.66'E	1705	山腰,玉米地埂
POP18	SC090806	水城县阿嘎乡排松寨	26°25.42'N,105°04.32'E	1405	煤山山腰,施工迹地草坡
POP19	BJ090804	毕节市亮岩镇水田坝村	27°36.14'N,105°29.30'E	1126	山脚灌草丛
POP20	KL090818	凯里市三颗树镇乌利村	26°33.80'N,108°07.64'E	695	河边草丛
POP21	PA090808	普安县三板桥镇十里村	25°46.19'N,104°55.18'E	1721	玉米地埂,灌草坡

续表

居群号 Population No.	居群名称 Name of population	地理位置 Geographic location	经纬度 Longitude and latitude	海拔(m) Height	生境 Habitat
POP22	LS08814	雷山丹江镇羊排村	26°22.22'N,108°05.22'E	860	铁路,陡坡草丛
POP23	PX090807	盘县盘江镇老屋基	25°51.01'N,104°30.43'E	1571	山脚,公路坎
POP24	QX090803	黔西县重新镇关门山	27°13.88'N,106°14.35'E	1087	沟谷,冲积沙砾地
POP25	SB090819	施秉县马号乡冰洞村	26°50.51'N,108°23.19'E	492	江边草灌丛
POP26	SB090826	施秉牛大场2号种质圃	27°08.15'N,107°56.45'E	934	人工耕地
POP27	BJ090804	毕节市亮岩镇水田坝村	27°34.97'N,105°29.34'E	986	山腰,玉米地埂
POP28	HS090806	惠水县摆金镇摆榜村	26°02.43'N,106°70.35'E	1080	水沟岩壁
POP29	PA0908015	普安县高棉乡干坝村	25°49.43'N,105°04.65'E	1381	山腰,乡村公路边
POP30	HZ080816	赫章县野马川镇	27°07.83'N,104°51.40'E	1492	水渠边,石灰岩石壁
POP31	LS090818	雷山县丹江镇水电村	26°21.69'N,108°04.21'E	855	山脚,通村公路边
POP32	LG08813	雷山县雷公山大唐湾村	26°21.69'N,108°04.21'E	855	乡镇路旁、草丛
POP33	SC090807	水城县鸡场乡鸡场村	26°16.070'N,104°41.22'E	1185	山脚灌草坡
POP34	QL090809	晴隆县沙子镇沙子岭	25°48.86'N,105°11.00'E	1341	公路边废弃采石打沙场
POP35	SC090806	水城县阿嘎乡沙坡村	26°25.63'N,105°04.47'E	1358	人工果林地埂
POP36	GY07113	贵阳市南明区甲秀楼	26°34.51'N,106°43.27'E	1050	石灰石墙缝
POP37	XY090810	兴义市则戎乡冷洞村	24°53.85'N,104°57.49'E	1228	石灰岩坡地,稀树灌丛
POP38	GY080827	贵阳市花溪区黔陶乡上板村	26°22.18'N,106°44.63'E	1081	稻田地埂,石坎缝
POP39	TZ08730	桐梓县花秋镇茶乡村	28°07.94'N,106°35.26E	1041	乡镇路旁、草丛
POP40	TZ08730	桐梓县高桥镇	28°06.70'N,106°38.38E	968	向阳小溪石桥边
POP41	TY090819	施秉县牛大场镇	27°08.12'N,107°56.29'E	934	水沟边,石板台阶石缝
POP42	LL080822	龙里县湾寨乡	26°15.42'N,106°57.60'E	1256	人工沟渠,砂石草丛
POP43	QL090809	晴隆县鸡场镇文丰村	25°48.370'N,105°13.65'E	1222	山腰,灌草坡
POP44	XF090823	息烽县温泉镇	27°12.16'N,106°50.93'E	683	沟谷,温泉沟坎
POP45	GY090616	贵阳市高坡石门村	26°18.15'N,106°46.46'E	1344	山坡,公路边杂草丛
POP46	SC090807	水城县鸡场乡上营村	26°15.04'N,104°40.33'E	1577	山腰,路边灌草坡
POP47	PX090807	盘县柏果镇	25°02.26'N,104°30.66'E	1516	山脚,石灰岩草坡
POP48	XY090810	兴义市则戎乡拱桥村	24°55.99'N,104°57.56'E	1156	乡村公路边,灌草丛

## 1.2 ISSR 分子标记试验

### 1.2.1 总 DNA 的提取 改良 CTAB 法提取 DNA<sup>[11-12]</sup>。

1.2.2 ISSR-PCR 反应 ISSR-PCR 反应所需的引物序列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。本试验选用 POP38(贵阳花溪居群)的样本进行引物筛选,48 条 ISSR 引物筛选出 11 条多态性好、条带分布均匀、清晰易辨的引物来扩增。名称和序列见表 2。

1.2.3 ISSR-PCR 反应体系 25 $\mu$ l 反应体系:模板 DNA 40ng,引物 0.6 $\mu$ mol/L,2 $\times$  Master Mix 4.5 $\mu$ l(包含 0.1U Taq DNA 聚合酶、0.5mmol/L dNTPs、3mmol/L MgCl<sub>2</sub>、反应缓冲液、PCR 反应的增强剂和

优化剂以及稳定剂),加双蒸水至 25 $\mu$ l。PCR 扩增反应:94 $^{\circ}$ C 预变性 5min;94 $^{\circ}$ C 变性 30s,48 $^{\circ}$ C 退火 45s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1.5min,循环 40 次;72 $^{\circ}$ C 后延伸 7min。

1.2.4 凝胶电泳 取 PCR 反应液各 5 $\mu$ l 经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳在 U = 80v, I = 60mA 条件下电泳 1h,溴化乙锭染色, BritainGGM/D2 凝胶成像系统(英国 SYNGENE 公司)检测。

### 1.3 HPLC 试验

1.3.1 仪器与试剂 高效液相色谱仪(日本岛津 10A),LC-10Atvp 输液泵,SPD-10Avp 紫外检测器,HT-230A 色谱柱恒温箱,岛津 CS-light 中文色谱数据工作站;没食子酸对照品(110831-200302),色谱纯乙腈,水为重蒸馏水,甲醇、盐酸、磷酸均为分析纯。

表 2 引物序列和位点数

Table 2 The sequences and bands of different primers

引物 Primer	序列 Sequence	扩增位点数 Band of amplification	多态性位点数 Band of polymorphism	多态性位点比率(%) Rate of polymorphism
G07	(GA) <sub>8</sub> T	577	565	97.92
G08	(GA) <sub>8</sub> C	631	582	92.23
G09	(GA) <sub>8</sub> A	821	796	96.95
G11	(CT) <sub>8</sub> A	416	376	90.38
G12	(CT) <sub>8</sub> G	542	507	93.54
G19	(TC) <sub>8</sub> A	517	493	95.35
G21	(TC) <sub>8</sub> G	1252	1216	97.12
G34	(GAA) <sub>6</sub>	308	285	92.53
G39	(GACA) <sub>4</sub>	982	961	97.86
G45	(CTTCA) <sub>3</sub>	1057	1024	96.88
G46	(GGAGA) <sub>3</sub>	1190	1157	97.23
合计 Total		8293	7962	
平均 Mean		753.91	723.82	95.27

1.3.2 色谱条件 HPLC 试验方法参考文献[8]。色谱条件:XB-18 C<sub>18</sub>柱(250mm×4.6mm,5μm;柱号:21090290);流动相:乙腈-0.4%磷酸溶液(4:96),流速0.8ml/min,柱温30℃,检测波长220nm。在此条件下,没食子酸与其他组分能达到基线分离。

1.3.3 对照品储备液配制 精密称取对照品12.80mg,置50ml的量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得没食子酸对照品储备液(没食子酸含量为0.256mg/ml)。精密吸取对照品储备液2ml,置50ml的量瓶中,加50%甲醇溶解并稀释至刻度,摇匀,即得没食子酸对照品溶液(没食子酸含量为10.24μg/ml)。

1.3.4 样品溶液制备 取0.5g头花蓼细粉,精密称定,置100ml具塞锥形瓶中,精密加入25ml甲醇-盐酸溶液(4:1)混合溶液,称定重量,水浴加热回流3h,放冷,称重,用甲醇-盐酸溶液(4:1)混合溶液补足减失的重量,摇匀,过滤,精密吸取10ml续滤液至25ml量瓶中,加甲醇定容至刻度,摇匀,用0.45μm微孔滤膜过滤,续滤液为样品溶液。

#### 1.4 数据处理

11个引物均重复扩增和电泳2次,针对某一一同源带(同一引物扩增的电泳迁移率一致的条带),有带记作“1”,无带记作“0”,只判读清晰易辨的扩增带,生成0,1二态性数据矩阵。使用POPGENE32统计软件计算居群的多态位点百分率(P),Nei's基

因多样性指数(He),Shannon's多态性信息指数(I),基因分化系数(Gst),居群总基因流(Nm),分析其遗传多样性。用UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic mean)方法进行聚类分析。HPLC数据通过岛津CS-light中文色谱数据工作站自动输出,数据用SPSS17.0分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 遗传多样性水平

48个居群遗传多样性平均多态百分率为79.09%,最高的是POP19号(贵州毕节市亮岩镇水田坝村),为93.13%;最低的是POP42号(贵州龙里县湾寨乡),为69.78%。He分布区在0.0063~0.5000,平均值为0.2458,显示头花蓼在物种水平上的遗传多样性较为丰富;Shannon's信息指数分布区在0.0510~0.6931,平均值为0.3962,有22个居群的遗传多样性参数高于平均水平,26个居群的遗传多样性参数低于平均水平。居群总的遗传变异为0.2746,居群间的分化系数为0.7223,表明有72.23%的遗传变异存在于居群间;有27.77%的遗传变异存在于居群内,居群内的遗传变异为0.0804。Shannon's多样性基因遗传分化系数为0.0442,平均基因流为0.1430,即头花蓼居群间的遗传分化大于居群内的遗传分化。见表3和表4。

表 3 48 个居群的遗传多样性和遗传结构统计参数

Table 3 Genetic diversity and genetic structure of 48 populations

居群 Population	位点数 No. of loci assayed	多态性位点比率(%) P	有效等位基因数 $N_e$	Nei's 基因多样性指数 H	Shannon's 指数 I
POP1	133	66.76	1.0244	0.0280	0.0510
POP2	196	72.25	1.5262	0.3441	0.5866
POP3	181	92.28	1.7561	0.4306	0.6220
POP4	157	69.78	1.4953	0.3313	0.5133
POP5	196	88.51	1.4852	0.3267	0.5081
POP6	169	70.88	1.2141	0.1763	0.3200
POP7	215	77.01	1.0316	0.0183	0.0278
POP8	153	73.72	1.5032	0.3347	0.5173
POP9	151	71.07	1.2185	0.4518	0.3242
POP10	183	72.63	1.5032	0.3347	0.5173
POP11	176	83.58	1.8241	0.1793	0.6441
POP12	159	77.46	1.5005	0.3336	0.5160
POP13	183	74.62	1.6594	0.3974	0.5867
POP14	174	71.94	1.2804	0.2190	0.3771
POP15	128	87.21	1.0318	0.0199	0.3010
POP16	188	79.80	1.4953	0.3313	0.5133
POP17	169	72.45	1.0114	0.0063	0.0090
POP18	192	69.31	1.2088	0.1727	0.3151
POP19	178	93.13	2.0000	0.5000	0.6931
POP20	158	78.24	1.4341	0.2591	0.3799
POP21	157	87.88	1.3360	0.2625	0.3928
POP22	161	82.06	1.8202	0.4337	0.6152
POP23	141	70.09	1.4290	0.2548	0.3862
POP24	168	77.13	1.3310	0.2015	0.3071
POP25	148	81.18	1.7431	0.1743	0.3114
POP26	170	72.75	1.5264	0.2919	0.4247
POP27	178	78.13	1.4283	0.2547	0.3862
POP28	152	75.37	1.1281	0.0918	0.1402
POP29	168	82.15	1.1716	0.1027	0.1570
POP30	170	77.75	1.1608	0.0964	0.1486
POP31	188	80.39	1.4002	0.2431	0.3735
POP32	133	92.68	1.1096	0.0675	0.1056
POP33	172	79.34	1.7022	0.2254	0.3427
POP34	106	80.49	1.7343	0.2633	0.3828
POP35	196	78.51	1.1740	0.1014	0.1523
POP36	168	72.15	1.1053	0.0713	0.1134
POP37	124	79.86	1.2211	0.1262	0.1880
POP38	129	82.53	1.1038	0.0819	0.1463
POP39	122	86.27	1.3943	0.2336	0.3516
POP40	169	84.45	1.2211	0.1262	0.1880
POP41	181	72.03	1.5264	0.2919	0.4247
POP42	197	90.21	1.0351	0.0750	0.1149
POP43	202	83.30	1.7844	0.3921	0.6730
POP44	166	72.55	1.5254	0.2917	0.4257
POP45	146	88.51	1.1120	0.1232	0.1640
POP46	174	81.94	1.1142	0.0813	0.1235
POP47	171	78.04	1.3925	0.2591	0.3788
POP48	178	86.13	1.3434	0.2358	0.3427
平均 Average	166.12	79.09	1.2290	0.2458	0.3962

表4 Nei's 遗传变异分析

Table 4 Analysis of genetic variance by Nei's

项目 Item	总基因多样性 <i>H<sub>t</sub></i>	居群内基因多样性 <i>H<sub>s</sub></i>	基因分化系数 <i>G<sub>st</sub></i>	Shannon's 基因遗传分化系数 <i>I<sub>st</sub></i>	基因流 Gene flow
平均值 Average	0.2746	0.0804	0.7223	0.0442	0.1430
标准差 S	0.0248	0.0056			

## 2.2 遗传距离与遗传关系

48个居群间的遗传相似度为0.4125~0.8334,遗传距离为0.1823~0.8855。其中遗传距离最小的是POP1(水城县鸡场乡箐头村)与POP3(盘县四格乡)居群,为0.1823,遗传一致度为0.8334。从这2个居群所处地貌、海拔和生境来看,二者极为一致,同处高原平缓坡地,地理相距约70 km;遗传距离最大的是POP9(云南腾冲)与POP16(晴隆县鸡场镇),POP17(盘县板桥镇)、POP24(黔西县重新镇)居群的遗传距离较大(0.8288~0.8855),相似度只有0.1823~0.4574。POP9为云南腾冲引种至贵州施秉县头花蓼种质圃样本,原生境为海拔1800m的火山岩湿地,而POP16、POP17、POP24为贵州喀斯特裸露型、半裸露型石漠化生境。在相似生境和海拔环境下的贵州居群(POP2、POP4、POP5、POP37、POP38)遗传距离在0.2461~0.3157,相似度在0.5742~0.7396,表明头花蓼居群之间的遗传关系与其所处生境有一定的相关性。

## 2.3 没食子酸含量

SPSS分析各居群的没食子酸含量,表5结果显示:没食子酸的含量差异较大,盘县范围内的4个居群则相对较稳定,标准差变动较小。48个样地居群内和居群间没食子酸平均含量差异均较大,达到了极显著水平,标准差在0.0052~0.1470之间。在居群水平上,平均含量为0.1738%~0.3306%,其中以POP10(台江县老屯乡排略村)居群最高,其次是POP4(纳雍县阳长镇)0.2989%、POP14(余庆县白泥镇)为0.2815%、POP41(施秉县牛大场逃逸野生群)为0.2770%、POP26(施秉县牛大场种质圃)0.2749%,而POP16(晴隆县鸡场镇)和POP19(毕节县亮岩镇)居群含量较低,分别为0.1738%和0.1760%。将贵州种源样本按地区分类,可分为东部和西部,东部地区包括了雷山、施秉、余庆、息烽、贵阳、台江、凯里、龙里、桐梓、惠水县(市),西部地区包括盘县、水城、兴义、晴隆、黔西、纳雍、普安、毕节、赫章县(市)。在地区趋势上,东部地区没食子酸含量要略高于西部地区。从单株样本来,没食

子酸含量在0.0815%~0.5946%,大多数居群内的个体差异均较大,其中以POP14(余庆县白泥镇)个体差异最明显,而无显著差异居群有施秉(栽培、野生)、雷山(西江镇、丹江镇)、水城(阿嘎乡、鸡场乡)、云南(腾冲、保山)。通过SPSS软件分析得到结果见表5。

## 2.4 相关性分析

头花蓼48个居群中,遗传距离较大(0.8288~0.8855)的是POP9(云南腾冲)、POP16(晴隆县鸡场镇)、POP17(盘县板桥镇)、POP21(普安江西坡镇)、POP24(黔西县重新镇),居群间的显著遗传差异主要是由上述居群引起的。以没食子酸含量0.2500%为准,可将48个居群分为2组:没食子酸高含量居群包括POP9(云南腾冲)、POP10(台江排略)、POP14(余庆白泥镇)、POP25(施秉马号乡)、POP26(施秉牛大场)、POP21(普安江西坡)、POP20(凯里三颗树)、POP16(晴隆县),其余为低含量居群。在高含量居群中,云南腾冲、台江排略、施秉牛大场、施秉马号、毕节亮岩和晴隆鸡场镇居群遗传多样性指数也较高,但在ISSR电泳图谱中,未找到上述居群间共同的特征谱带,说明遗传变异较大。利用Mantel统计检验,将头花蓼遗传多样性与化学成分进行距离矩阵的相关性分析,相关系数为0.7072,遗传变异较大地域生长的头花蓼,其没食子酸含量变化也较大,表明化学成分的变化与居群遗传变异有一定相关性。

## 3 讨论

### 3.1 头花蓼的遗传多样性和遗传结构

杜明凤<sup>[12]</sup>利用RAPD标记头花蓼10个居群,结果显示居群内不同植株的DNA多态性很小,遗传性高度一致。本研究也显示居群内的遗传多样性较低,但居群间的遗传多样性丰富,居群间基因的分化显著( $G_{st}=0.7223$ )。综合两者结果,笔者认为贵州头花蓼天然群体的遗传多样性水平较高,在居群和小群体范围居群内的遗传分化则不明显,变异发生在居群间。

表 5 各居群没食子酸含量 SPSS 分析

Table 5 SPSS analysis of gallic acid content of the populations

居群 Population	样本数 N	均值 Mean	标准差 s	标准误 sx	最小值 Min	最大值 Max
POP1	5	0.2194	0.0251	0.0112	0.1844	0.2466
POP2	5	0.1786	0.0325	0.0145	0.1580	0.2357
POP3	5	0.1834	0.0051	0.0026	0.1762	0.1881
POP4	5	0.2989	0.0612	0.0306	0.2189	0.3679
POP5	5	0.2103	0.0314	0.0140	0.1750	0.2489
POP6	5	0.2162	0.1042	0.0521	0.1567	0.3720
POP7	5	0.1730	0.0182	0.0081	0.1457	0.1877
POP8	5	0.2064	0.0662	0.0270	0.1038	0.3095
POP9	5	0.2319	0.0561	0.0229	0.1685	0.2885
POP10	5	0.3306	0.0675	0.0302	0.2270	0.3947
POP11	5	0.2329	0.0219	0.0098	0.2014	0.2624
POP12	5	0.2146	0.0448	0.0200	0.1630	0.2685
POP13	5	0.1742	0.0517	0.0231	0.1045	0.2433
POP14	5	0.2815	0.1470	0.0735	0.1818	0.4997
POP15	5	0.2055	0.0262	0.0117	0.1719	0.2438
POP16	5	0.1671	0.0247	0.0110	0.1404	0.1931
POP17	5	0.1805	0.0342	0.0153	0.1353	0.2274
POP18	5	0.1479	0.0167	0.0083	0.1309	0.1692
POP19	5	0.1313	0.0317	0.0158	0.0903	0.1646
POP20	5	0.2713	0.0446	0.0199	0.2347	0.3390
POP23	5	0.1600	0.0062	0.0028	0.1513	0.1655
POP24	5	0.1809	0.0532	0.0238	0.1442	0.2726
POP25	5	0.2543	0.0606	0.0271	0.1877	0.3276
POP26	5	0.1611	0.0135	0.0061	0.1514	0.1803
POP27	5	0.1466	0.0390	0.0174	0.0875	0.1929
POP28	5	0.1644	0.0326	0.0146	0.1087	0.1927
POP29	5	0.1669	0.0243	0.0099	0.1306	0.1959
POP30	5	0.1772	0.0451	0.0201	0.1160	0.2251
POP31	5	0.2055	0.0263	0.0117	0.1719	0.2438
POP33	5	0.1450	0.0234	0.0135	0.1250	0.1715
POP34	5	0.1628	0.0384	0.0172	0.1239	0.2058
POP35	5	0.2408	—	—	0.2408	0.2408
POP36	5	0.1644	0.0326	0.0146	0.1087	0.1627
POP37	5	0.1861	0.0357	0.0160	0.1351	0.2258
POP38	5	0.2010	0.0510	0.0208	0.1417	0.2817
POP39	5	0.1875	0.0249	0.0125	0.1575	0.2137
POP40	5	0.2770	0.0567	0.0254	0.1948	0.3359
POP41	5	0.1864	0.0462	0.0206	0.1439	0.2655
POP42	5	0.2075	0.0481	0.0215	0.1560	0.2659
POP43	5	0.1916	0.0302	0.0135	0.1451	0.2211
POP44	5	0.2413	0.0343	0.0154	0.1941	0.2827
POP45	5	0.2261	0.0689	0.03998	0.1546	0.2920
POP46	5	0.1993	0.0507	0.0253	0.1460	0.2681
POP47	5	0.1764	0.0447	0.0200	0.1297	0.2487
POP48	5	0.2477	0.0533	0.0308	0.1964	0.3029
总数 Total	240	0.2061	0.0696	0.0044	0.0805	0.5946

头花蓼种子是以人畜和风力散布,云贵高原喀斯特地貌为特征的高山峡谷所形成的地理隔离、生境片段化,可能对头花蓼的种质资源交流产生了一定影响,形成遗传分化,但造成头花蓼不同居群间基因交流受限的根本原因,尚需研究其在自然环境中有性繁殖的授粉方式后进一步探讨。

### 3.2 没食子酸含量

王祥培等<sup>[8,9]</sup>利用高效液相色谱法比较贵州与西藏、云南头花蓼中没食子酸含量,测得的没食子酸含量分别为安顺 0.085%,施秉 0.081%,盘县 0.076%,西藏墨脱 0.089%,云南昆明 0.084%,差异不明显。而本文贵州境内不同地理种群头花蓼中没食子酸含量范围在 0.1738%~0.3306%,远高于文献报道,这可能与试验药材的采收期不同所致,文献<sup>[8,9]</sup>药材多采于 3 月、9 月、10 月,而生产上的采收期为 7 至 8 月,本文所有样本均集中于药材采收期的一个月内采样完成,所测数据在一定程度上反映了药材成熟期的真实情况。在居群间,云南腾冲,贵州台江、纳雍县、余庆、晴隆和毕节居群间没食子酸含量差异均达到显著水平。

本研究中野生头花蓼个体间的没食子酸含量差异较大,而栽培头花蓼(POP26)个体间的没食子酸含量则较均匀,这可能在于人工栽培过程中,头花蓼的营养、生长发育时期比较一致,次生代谢产物的生成与代谢也比较稳定。此外,从栽培基地逃逸为野生状态的样本中没食子酸含量也比较高,这表明栽培头花蓼逃逸为野生后,虽脱离了人为管理,但因气候、土壤条件差异不大,时间不长,种群没有产生明显的遗传变异模式,药用资源类型未变。没食子酸是植物重要的次生代谢产物,与遗传因素、环境密切相关,多数研究者认为次生代谢物质的差异会受不同地理环境、不同生长年限影响。头花蓼为多年生草本,根为须根,在野外较难判断其植株年龄,在同一地理区域,造成居群内个体差异明显的主要原因可能是居群内不同生长年龄的个体其没食子酸代谢积累可能不同。

### 3.3 遗传变异与没食子酸含量的关系

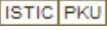
本研究发现,在居群水平上遗传变异与没食子酸含量有一定的关系,遗传变异较大地域生长的头花蓼,其没食子酸含量变化也较大,遗传变异小的头花蓼没食子酸含量变化也较小,如 POP9(云南腾冲)、POP10(台江县)、POP16(晴隆县)、POP17(盘县板桥镇)在遗传变异上与其他地方有明显的差异,遗传距离较大(0.8288~0.8855),而在没食子酸含量上也较高(0.3306%~0.2550%),表现出与其他居群样本较有明显的区别。但在居群内,头花蓼个体上无明显的对应关系。通过对头花蓼 48 个地理居群的遗传多样性与没食子酸含量的相关分析,表明云南腾冲,贵州台江、毕节亮岩镇、晴隆、盘县居群的遗传多样性指数和没食子酸含量较高,不仅可以作为人工育种的选育材料,而且对于头花蓼种植适生地区划研究具有很好的参考价值。

### 参考文献

- [1] 白佩瑜. 中国植物志(第 25 卷,第 1 分册)[M]. 北京:科学出版社,1998,57-58
- [2] 贵州省中药资源普查办公室. 贵州中药资源[M]. 北京:中国医药科技出版社,1992,653-656
- [3] 包骏,冉懋雄. 贵州苗族医药研究与开发[M]. 贵阳:贵州科技出版社,1999,147
- [4] 吴居,王德仁. 石菖蒲化学成分的研究[J]. 中草药,1985,16(4):5-6
- [5] 于明,李占林,李宇,等. 头花蓼的化学成分[J]. 沈阳药科大学学报,2008,25(8):11
- [6] 杨立勇,王祥培,吴梅红,等. HPLC 测定不同产地头花蓼中槲皮苷的含量[J]. 贵阳中医学院学报,2009,7(31):67-68
- [7] 王祥培,万德光,王祥森,等. 不同产地野生与栽培头花蓼中总黄酮的含量分析[J]. 时珍国医国药,2006,17(9):1713-1714
- [8] 王祥培,万德光. HPLC 测定不同产地头花蓼中没食子酸的含量[J]. 华西药学杂志,2007,22(2):204-205
- [9] 王祥培,吴梅红,万德光,等. 不同种源头花蓼中总黄酮及没食子酸的含量比较[J]. 安徽农业科学,2009,37(4):1606-1607
- [10] 杜明凤,陈庆富. 贵州和四川头花蓼居群的 RAPD 多态性研究[J]. 武汉植物学研究,2009,27(1):8-11
- [11] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytochemical Bulletin,1987,19:11-15
- [12] 孙芳,杨敏生,张军,等. 刺槐不同居群遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(1):91-96



# 不同地理来源头花蓼的遗传多样性与没食子酸含量相关性分析

作者: [周涛](#), [金艳蕾](#), [江维克](#), [艾强](#), [魏升华](#), [杨占南](#), [ZHOU Tao](#), [JING Yan-lei](#),  
[JIANG Wei-ke](#), [AI Qiang](#), [WEI Sheng-hua](#), [YANG Zhan-nan](#)  
作者单位: [周涛,金艳蕾,江维克,艾强,魏升华,ZHOU Tao,JING Yan-lei,JIANG Wei-ke,AI Qiang,WEI Sheng-hua\(贵阳中医学院,贵阳,550002\)](#), [杨占南,YANG Zhan-nan\(贵州师范大学/贵州省山地环境信息系统与生态环境保护重点实验室,贵阳,550001\)](#)  
刊名: [植物遗传资源学报](#)   
英文刊名: [JOURNAL OF PLANT GENETIC RESOURCES](#)  
年,卷(期): 2010,11(6)

## 参考文献(12条)

1. [王祥培;万德光 HPLC测定不同产地头花蓼中没食子酸的含量](#) [期刊论文]-[华西药学杂志](#) 2007(02)
2. [白佩瑜 中国植物志](#) 1998
3. [王祥培;吴梅红;万德光 不同种源头花蓼中总黄酮及没食子酸的含量比较](#) [期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2009(04)
4. [孙芳;杨敏生;张军 刺槐不同居群遗传多样性的ISSR分析](#) [期刊论文]-[植物遗传资源学报](#) 2009(01)
5. [Doyle J J;Doyle J L A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue](#) 1987
6. [杜明凤;陈庆富 贵州和四川头花蓼居群的RAPD多态性研究](#) [期刊论文]-[武汉植物学研究](#) 2009(01)
7. [王祥培;万德光;王祥森 不同产地野生与栽培头花蓼中总黄酮的含量分析](#) [期刊论文]-[时珍国医国药](#) 2006(09)
8. [杨立勇;王祥培;吴梅红 HPLC测定不同产地头花蓼中槲皮苷的含量](#) 2009(31)
9. [于明;李占林;李宁 头花蓼的化学成分](#) [期刊论文]-[沈阳药科大学学报](#) 2008(08)
10. [吴居;王德仁 石菖蒲化学成分的研究](#) 1985(04)
11. [包骏;冉懋雄 贵州苗族医药研究与开发](#) 1999
12. [贵州省中药资源普查办公室 贵州中药资源](#) 1992

本文链接: [http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_zwyczyxb201006011.aspx](http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_zwyczyxb201006011.aspx)