

甘草种质主要形态性状和化学成分的遗传多样性分析

李文斌¹, 魏胜利¹, 罗琳¹, 闫滨滨⁴, 侯俊玲^{1,3}, 于福来⁵, 崔洁², 王文全^{1,2,3*}

1. 北京中医药大学中药学院, 北京 102488
2. 中国医学科学院 北京协和医学院药用植物研究所, 北京 100193
3. 中药材规范化生产教育部工程研究中心, 北京 102488
4. 成都中医药大学药学院, 四川 成都 611130
5. 中国热带农业科学院 热带作物品种资源研究所, 海南 儋州 571737

摘要: **目的** 依据国内甘草种质主要的形态性状和化学成分, 对其遗传多样性进行综合分析。**方法** 收集移植于同一地点的42份多年生甘草种质的12个地上部分性状和5种化学成分含量, 计算其遗传多样性指数和变异系数, 运用聚类分析和主成分分析进行统计分析。**结果** 5种化学成分中, 甘草苷含量的遗传多样性指数最高为2.05, 异甘草苷含量的变异系数最大为99.50%, 甘草苷含量与异甘草苷含量呈中度相关关系; 在12个形态性状中, 株高的遗传多样性指数最高为2.08, 实际果序长的变异系数最大为37.09%, 果型和株型性状的变异大于叶型性状; 聚类分析将42份种质分为3类, 第II类种群品质较优; 主成分分析将17个指标简化为6个因子, 累积贡献率为72.96%, 因子6为代表甘草酸、甘草苷、异甘草苷的因子。**结论** 甘草种质主要形态性状和化学成分的遗传多样性较为丰富, 筛选出V08、V10、V17、V34、V36、V38共6个品质优异的甘草种质。

关键词: 甘草; 种质; 形态; 甘草酸; 甘草苷; 异甘草苷; 遗传多样性

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)02-0517-09

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.02.034

Analysis of genetic diversity of main morphological traits and chemical components in *Glycyrrhiza uralensis* germplasms

LI Wen-bin¹, WEI Sheng-li¹, LUO Lin¹, YAN Bin-bin⁴, HOU Jun-ling^{1, 3}, YU Fu-lai⁵, CUI Jie², WANG Wen-quan^{1, 2, 3}

1. School of Chinese Pharmacy, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China
2. Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China
3. Engineering Research Center of Good Agricultural Practice for Chinese Crude Drugs, Ministry of Education, Beijing 102488, China
4. College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611130, China
5. Institute of Tropical Crops Genetic Resources, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, China

Abstract: Objective Based on the main morphological traits and chemical constituents of 42 *Glycyrrhiza uralensis* germplasm in China, the genetic diversity of them was analyzed comprehensively. **Methods** Twelve morphological traits and five kinds of chemical components of *G. uralensis* germplasm transplanted in the same place were collected. The genetic diversity index and coefficient of variation were calculated, using cluster analysis and principal component analysis for statistical analysis. **Results** Among the five chemical constituents, the highest genetic diversity index of liquiritin content was 2.05; The maximum coefficient of variation of isoliquiritin content was 99.50%; The content of liquiritin was moderately correlated with the content of isoliquiritin. Among 12 morphological traits, the highest genetic diversity index of plant height was 2.08, and the maximum coefficient of variation of actual fruit sequence was 37.09%. The variation of fruit type and plant type was greater than that of leaf type. Cluster analysis divided 42

收稿日期: 2018-06-05

基金项目: 国家中药标准化项目 (ZYBZH-Y-ZY-45)

作者简介: 李文斌 (1992—), 男, 硕士研究生, 研究方向为中药材规范化生产及其调控机制。Tel: 18801269105 E-mail: wbli92@126.com

*通信作者 王文全, 博士生导师, 主要研究方向为中药材规范化生产及其调控机制。Tel: (010)84738334 E-mail: wwq57@126.com

germplasms into three types, and the second group had better germplasm quality. The principal component analysis reduced 17 indicators to six factors, with a cumulative contribution rate of 72.96%. Factor 6 was a factor that represents glycyrrhizic acid, liquiritin, and isoliquiritin. **Conclusion** The genetic diversity of the main morphological traits and chemical constituents of 42 *G. uralensis* germplasms is rich, and six excellent germplasms are V08, V10, V17, V34, V36, and V38.

Key words: *Glycyrrhiza uralensis* Fisch.; germplasm; morphology; glycyrrhizic acid; liquiritin; isoliquiritin; genetic diversity

甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 为豆科甘草属植物, 广泛分布于我国西北、华北、东北等地区^[1], 同时, 甘草为药材甘草的基原植物之一, 在医药、食品、化妆品等行业有广泛应用^[2]。关于甘草遗传多样性的研究多集中于 2000—2012 年, 研究人员对全国野生甘草资源开展了全面系统的调查, 对不同种源甘草进行研究, 发现其在形态、甘草苷和甘草酸含量、遗传物质等方面均存在显著差异, 且同一种源内亦存在一定程度的变异, 可见, 甘草丰富的遗传多样性是被广泛认可的。近些年, 对于甘草化学成分的研究逐渐深入^[3], 更多的化学成分可以被同时检测^[4-5], 且研究逐渐集中于外源物质对甘草产量和质量的影响^[6]以及甘草酸和甘草苷生物合成的相关功能基因^[7]等方面。但甘草品种选育的进程一直进展缓慢, 其主要原因是甘草 3 年以上才开花的植物特性^[8], 以及甘草种群内变异的不可控性, 再加之对同一对象研究的时间多

局限于 3 年内, 缺乏对其果序和果荚的研究, 尤其是同一环境长期影响下对种质形态的描述和化学成分表征。本实验的种质材料大部分来自本课题组在 2002 年全国调查时收集的样本, 保证了同一种质来源于野生形态相近的一群个体, 多年来模拟农田生态环境, 以尽量减少原生态环境对种质形态和化学成分含量的影响。本实验以样本中生长良好且有完整果序的 42 份种质为研究对象, 通过对其 12 个形态性状和 5 种化学成分进行遗传多样性研究, 筛选出优良种质, 以期加快甘草优良品种选育的进程。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为 42 份国内甘草 *Glycyrrhiza uralensis* Fisch. 种质, 其中内蒙古 19 份, 宁夏 10 份, 新疆 8 份, 甘肃和陕西各 2 份, 吉林 1 份, 见表 1。

表 1 试验材料和来源地

Table 1 Material name and origin

编号	来源地	编号	来源地
V01	内蒙古杭锦旗	V22	宁夏灵武马家滩 2
V02	内蒙古杭锦旗吉乡	V23	宁夏灵武马家滩 3
V03	内蒙古磴口巴彦套海嘎查	V24	宁夏盐池 1
V04	内蒙古杭锦旗浩绕柴登苏木赛台嘎查	V25	宁夏盐池 2
V05	内蒙古杭锦旗浩绕柴达木	V26	宁夏盐池 3
V06	内蒙古杭锦旗神农西北沟 1	V27	宁夏同心红苇子沟
V07	内蒙古杭锦旗神农西北沟 2	V28	宁夏同心县红寺堡
V08	内蒙古杭锦旗神农西北沟 3	V29	宁夏同心县韦州
V09	内蒙古杭锦旗神农西北沟 4	V30	甘肃华池 1
V10	内蒙古杭锦旗巴音乌素 1	V31	甘肃华池 2
V11	内蒙古杭锦旗巴音乌素 2	V32	陕西定边 1
V12	内蒙古杭锦旗巴音乌素 3	V33	陕西定边 2
V13	内蒙古杭锦旗巴音乌素 4	V34	新疆博乐
V14	内蒙古杭锦旗独贵塔拉 1	V35	新疆精河
V15	内蒙古杭锦旗独贵塔拉 2	V36	新疆巩留 1
V16	内蒙古鄂前旗 1	V37	新疆巩留 2
V17	内蒙古鄂前旗 2	V38	新疆和静 1
V18	内蒙古磴口 1	V39	新疆和静 2
V19	内蒙古磴口 2	V40	新疆哈密
V20	宁夏灵武	V41	新疆和田
V21	宁夏灵武马家滩 1	V42	吉林长岭

1.2 方法

1.2.1 实验设计 42 份甘草种质材料为课题组 2001—2010 年收集的无性繁殖材料（横生茎），移栽于北京灵泉药材研究所濒危药用植物资源保护基地。移栽前横生茎的长度统一修剪为 15~20 cm，移栽深度为 20 cm，行距 30 cm；同一种质的地下茎种于同一个小区内，不同小区间设置 1.5 m 作为保护行，保护行种植玉米并每年进行割断处理，以防止不同种质甘草地下茎走窜。基地土壤、水分等环境条件一致，移栽后进行统一的田间管理，以消除环境和材料本底（个体大小/粗壮）对形态性状生长的影响。

1.2.2 性状调查与含量测定 对甘草植株地上部分形态学性状的测量方法参考魏胜利等^[9]、于福来等^[10]的测定标准，筛选株高、株幅、茎粗、复叶长、小叶数上限、小叶数下限、小叶长、小叶宽、果序长、果序宽、序柄长、实际果序长共 12 个形态性状指标，每个种质随机选取 10 株作为样本进行形态学数据收集。同时，每个种质收集 3 份粗细均匀的根部材料作为主要化学成分检测的实验材料，参考金燕清等^[11]的测定方法测定甘草酸、甘草苷、甘草素、异甘草苷、异甘草素的相对含量。

1.2.3 数据标准化处理与统计分析 运用 SPSS 19.0 软件分析各个性状的变异系数（coefficient of variation, CV）、遗传多样性指数（Shannon-Wiener index, H' ）。根据计算结果将所有材料每个性状划分为 10 个等级，每 1 级的相对频率（ P ）用于 H' 计算。

$$H' = -\sum P_i \ln P_i$$

P_i 表示第 i 种变异类型出现频率

主成分分析和聚类分析在 SAS 8.2 软件中进行，各类群的平均值用 Microsoft Excel 2010 软件完成，种质间的距离为 Euclidean 距离，聚类分析方法采用离差平方和法（Ward' method）。

2 结果与分析

2.1 甘草主要化学成分含量的变异情况

《中国药典》2015 年版规定，甘草酸和甘草苷为甘草药材质量的指标性成分^[2]。在甘草苷的生物合成途径中，甘草素、异甘草素与异甘草苷为相关物质。从表 2 中看出，各化学成分中甘草苷含量的 H' 最高为 2.05，异甘草苷含量的 H' 最低为 1.23，其余化学成分含量的 H' 大小依次为异甘草素 > 甘草素 > 甘草酸，5 个化学成分的 H' 的平均值达 1.76。异甘草苷含量的 CV 最大为 99.50%，变异幅度为 0.04~10.95 mg/g；其余性状的 CV 和变异幅度依次为甘草苷的 CV 为 76.14%，变异幅度为 0.02~19.09 mg/g；异甘草素的 CV 为 66.83%，变异幅度为 0.01~0.11 mg/g；甘草素的 CV 为 52.77%，变异幅度为 0.51~4.06 mg/g；甘草酸的 CV 为 44.68%，变异幅度为 8.89~59.35 mg/g；平均 CV 为 67.98%，4 个黄酮类成分的 CV 均高于甘草酸的 CV，黄酮苷类化合物的 CV 大于其苷元，异甘草苷、异甘草素为代表的查耳酮类化合物的 CV（83.16%）> 甘草苷、甘草素为代表的二氢黄酮类化合物的 CV（64.46%）> 甘草酸为代表的三萜类化合物的 CV（44.68%）。可见，不同类别的化合物在甘草种质间的变异程度存在差异。

表 2 甘草主要化学成分含量的变异情况

Table 2 Changes in content of major chemical components

化学成分	质量分数/(mg·g ⁻¹)			标准差	CV/%	H'
	最大值	最小值	平均值			
甘草苷	19.09	0.02	6.78	5.16	76.14	2.05
甘草素	4.06	0.51	1.39	0.73	52.77	1.82
甘草酸	59.35	8.89	21.75	9.72	44.68	1.73
异甘草苷	10.95	0.04	1.81	1.80	99.50	1.23
异甘草素	0.11	0.01	0.04	0.03	66.83	1.96

2.2 主要化学成分间的相关性分析

从表 3 中可看出，甘草种质主要化学成分含量的相关性方面，甘草苷含量与异甘草苷含量呈中度正相关，异甘草素含量与甘草苷、甘草素含量呈低度正相关。甘草苷、甘草素、异甘草苷、异甘草素

同属于黄酮类化合物，均是莽草酸途径和乙酸-丙二酸途径生物合成的产物，以香豆酰辅酶 A 和丙二酰辅酶 A 为底物，在查耳酮合酶（CHS）和查耳酮还原酶（CHR）基因的调控下合成异甘草素，进而与 β -D-吡喃葡萄糖合成异甘草苷，同时，异甘草素在

表 3 甘草主要化学成分的相关性

Table 3 Correlation of main chemical composition

化学成分	相关系数				
	甘草苷	甘草素	甘草酸	异甘草苷	异甘草素
甘草苷	1.000 0				
甘草素	-0.033 6	1.000 0			
甘草酸	0.173 3	0.086 1	1.000 0		
异甘草苷	0.523 3	-0.149 3	0.021 5	1.000 0	
异甘草素	0.334 1	0.311 4	-0.191 5	0.188 8	1.000 0

查耳酮异构酶 (CHI) 基因的调控下合成甘草素, 甘草素进一步与 β -D-吡喃葡萄糖结合生成甘草苷^[12]。可见, 甘草苷、甘草素、异甘草素之间存在着明确的直接与间接关系, 因此在品种选育时, 不应只关注甘草苷, 应该同时关注甘草苷、甘草素、异甘草素的含量。异甘草苷的苷元是异甘草素, 是甘草苷生物合成中的相关物质, 且与甘草苷有较强的相关性, 因此在质量检测与品种选育时, 也应该对异甘草苷的含量加以关注; 甘草酸属于三萜类化合物, 是甲羟戊酸途径的产物。实验结果显示, 甘草酸含量与其他 4 个黄酮类化合物在含量上不存在相关性, 推测可能与两类化合物分属于不同的生物合成途径有关。因此, 在品种选育时将甘草酸与甘草苷做相关性分析的做法是不可取的, 应该区别对待。

2.3 甘草主要形态性状的变异情况

对测定指标进行归类描述时, 将株高、株幅、茎粗作为株型描述的测定指标, 复叶长、小叶数、小叶长、小叶宽作为叶型描述的测定指标, 果序长、果序宽、实际果序长、序柄长作为果型描述的测定指标。从表 4 中可以看出, 各地上部分形态性状中株高的 H' 最高为 2.08, 小叶数上限的 H' 最低为 1.10, 其余性状的遗传多样性指数大小依次为:

复叶长 > 序柄长 > 实际果序长 > 茎粗 > 株幅/果序长 > 小叶宽 > 小叶长 > 果序宽 > 小叶数下限。株型与果型指标的 H' 的平均值分别为 1.94 和 1.85, 叶型 H' 的平均值为 1.54, 可见, 甘草不同种质株型和果型的遗传多样性相对大于叶型的遗传多样性。

结果表明, 各样本地上部分形态性状的差异较大, 实际果序长的 CV 最大为 37.09%, 变异幅度为 1.20~13.90 cm, 同时, 果序宽 (34.56%) 和序柄长 (34.54%) 的 CV 相对较大, 可知, 不同甘草种质在果序形状和大小方面存在较大的变异; 其余性状的 CV 依次为茎粗 (29.75%) > 株幅 (27.56%) > 果序长 (27.35%) > 小叶宽 (24.65%) > 株高 (23.00%) > 小叶长 (22.26%) > 复叶长 (21.89%) > 小叶数下限 (20.05%) > 小叶数上限 (14.34%)。果型、株型、叶型 CV 的平均值分别为 33.39%、26.77%、20.24%, 说明叶型的变异要小于果型和株型。从以上结果可以看出, 甘草不同种质间存在丰富的变异, 且变异更多集中与果型和株型方面, 因此, 在种质收集和品种选育过程中, 应该多关注果型和株型方面的变异。

2.4 聚类分析

从图 1 可知, 以株高、复叶长、果序长等 12 个

表 4 甘草主要形态性状的变异情况

Table 4 Variation of major morphological traits

测定值	株高/cm	株幅/cm	茎粗/mm	复叶长/cm	小叶数上限/枚	小叶数下限/枚
最大值	167.00	36.00	11.00	21.00	17.00	15.00
最小值	60.00	9.60	1.90	4.60	7.00	5.00
均值	100.22	21.19	5.58	14.39	10.48	8.62
标准差	23.05	5.84	1.66	3.15	1.50	1.73
CV/%	23.00	27.56	29.75	21.89	14.34	20.05
H'	2.08	1.84	1.91	2.04	1.10	1.24
测定值	小叶长/cm	小叶宽/cm	果序长/cm	果序宽/cm	序柄长/cm	实际果序长/cm
最大值	6.40	3.80	24.00	8.80	12.00	13.90
最小值	1.00	0.80	3.00	1.00	0.90	1.20
均值	3.05	1.77	11.78	3.10	5.63	6.29
标准差	0.68	0.44	3.22	1.07	1.94	2.33
CV/%	22.26	24.65	27.35	34.59	34.54	37.09
H'	1.62	1.72	1.84	1.61	1.99	1.96

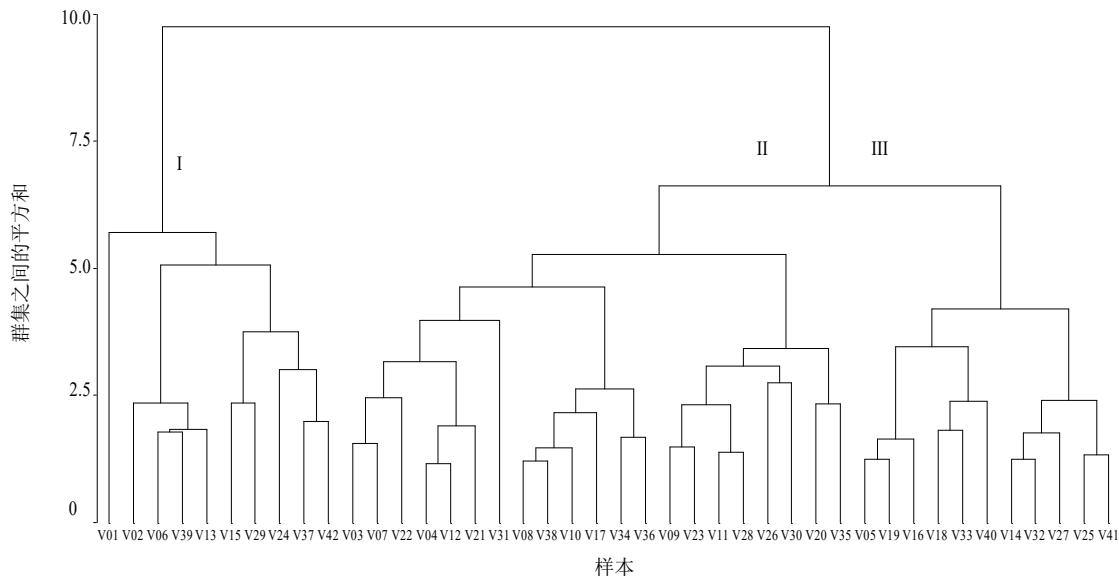


图 1 基于 12 个形态性状和 5 个化学成分的聚类分析树状图

Fig. 1 Cluster analysis dendrogram based on 12 morphological traits and five chemical components

形态性状与甘草苷、甘草酸等 5 个化学成分为指标，采用 ward 法，以欧式距离为遗传距离，在遗传距离为 6.6 时，将 42 份种质材料分为了 3 个类群，其中第 I 类群 10 份，第 II 类群 21 份，第 III 类群 11 份。由表 5 可知，第 I 类群 10 份种质的甘草苷(4.43 mg/g)和甘草酸(17.85 mg/g)含量均未达《中国药典》2015 年版标准(甘草苷>5.00 mg/g, 甘草酸>20.00 mg/g)，且甘草酸、异甘草苷、异甘草素含量均为 3 个类群中最低，但甘草素含量最高。同时，与其他两个类群相比，其地上部分形态性状指标中，株型指标株高、株幅、茎粗，叶型指标小叶长、小叶宽，果型指标果序长、实际果序长、序柄长均为最大，可见此类群地上部分形态性状主要表现为株型高大粗壮、小叶偏大、果序为长圆柱形且序柄较长，可以对其产量等农艺性状进行考察，且可以着重开发其地上部分；第 II 类群的 21 份种质的甘草苷(9.27 mg/g)和甘草酸(24.50 mg/g)含量均达《中国药典》2015 年版标准，且与异甘草苷、异甘草素含量均为 3 个类群中最高，但甘草素含量为最低。其地上部分形态性状的主要表现为，小叶数上限、下限均为最多，茎粗、复叶长、小叶长、小叶宽、果序长、果序宽、序柄长均为 3 个类群中最小。当以甘草苷和甘草酸含量高为甘草新品种选育目标时，此类材料具有很大的潜力，其外在主要形态特征为小叶偏小且数量多(约 11 枚)，果序形状偏短圆柱形或球形且序柄较短，直立茎不粗壮；第 III 类群的

11 份种质的甘草苷(4.16 mg/g)含量未达《中国药典》2015 年版标准，且为 3 个类群中最低，但甘草酸(20.04 mg/g)含量达《中国药典》2015 年版标准。株高、株幅、小叶数上限、实际果序长为 3 个类群中最小，复叶长和果序宽为最大，主要特征为植株矮小，小叶少(约 9 枚)，果序形状接近于球形，可以作为防风固沙的种质材料。

由以上结果可知，第 II 类群的种质在新品种选育中具有很大的潜力，且包含种质数量较多，因此对其潜力进行进一步挖掘。在遗传距离为 4.6 时，将 21 份种质材料分为了 3 个小类群，其中第 II-1 类群 7 份种质，第 II-2 类群 6 份种质，第 II-3 类群 8 份种质。由表 6 可知，第 II-1 类群的甘草苷和甘草酸含量均较高，能满足质量要求，且在第 II 类群的特征基础上，表现出株型相对高大，果序形状偏短圆柱形的特点；第 II-2 类群各化学成分含量均表现出很高的优势，主要表现为株型更加高大且株幅偏小，果序形态接近于球形；第 II-3 类群在甘草酸含量方面表现出突出的优势，但其甘草苷含量相对偏低，株型偏矮且小叶偏小是与 II-1、II-2 的主要区别。II-1 与 II-2 类群均可以作为甘草新品种选育的种质材料，且 II-2 类群在主要化学成分含量方面更具有优势，但仍需对其产量进行进一步考察；II-3 类群在甘草酸含量方面具有突出优势，在忽略甘草苷含量，只追求甘草酸含量时，即用于提取甘草酸时，该类种质将具有更好的潜力。

表 5 各个类群主要形态性状和化学成分含量的平均值

Table 5 Average value of main morphological traits and chemical composition of each group

类别	株高/cm	株幅/cm	茎粗/mm	复叶长/cm	小叶数上限/枚	小叶数下限/枚	小叶长/cm	小叶宽/cm	果序长/cm
第 I 类	123.86	24.50	7.13	14.62	10.27	8.03	3.34	2.02	15.17
第 II 类	95.98	21.08	4.98	14.18	10.77	9.16	2.78	1.60	11.20
第 III 类	90.89	18.14	5.05	14.90	9.88	8.17	3.22	1.91	11.68

类别	果序宽/cm	序柄长/cm	实际果序长/cm	甘草苷/(mg·g ⁻¹)	甘草素/(mg·g ⁻¹)	甘草酸/(mg·g ⁻¹)	异甘草苷/(mg·g ⁻¹)	异甘草素/(mg·g ⁻¹)
第 I 类	2.86	7.32	8.88	4.43	1.76	17.85	0.98	0.03
第 II 类	2.84	5.19	6.01	9.27	1.25	24.50	2.61	0.04
第 III 类	3.74	5.74	5.94	4.16	1.31	20.04	1.04	0.04

表 6 第 II 类群各分组形态性状与化学成分含量的平均值

Table 6 Group II group morphological traits and average content of chemical constituents

类别	株高/cm	株幅/cm	茎粗/mm	复叶长/cm	小叶数上限/枚	小叶数下限/枚	小叶长/cm	小叶宽/cm	果序长/cm
第 II-1 类	92.89	22.42	4.98	16.22	11.38	9.51	3.00	1.81	12.03
第 II-2 类	108.00	19.34	4.97	13.70	10.04	8.33	2.79	1.60	9.28
第 II-3 类	89.66	21.21	4.99	12.76	10.78	9.46	2.58	1.43	11.92

类别	果序宽/cm	序柄长/cm	实际果序长/cm	甘草苷/(mg·g ⁻¹)	甘草素/(mg·g ⁻¹)	甘草酸/(mg·g ⁻¹)	异甘草苷/(mg·g ⁻¹)	异甘草素/(mg·g ⁻¹)
第 II-1 类	2.97	5.12	6.90	10.44	0.84	20.52	3.80	0.03
第 II-2 类	2.74	4.63	4.65	13.96	1.37	22.34	3.12	0.07
第 II-3 类	2.78	5.68	6.24	4.72	1.53	29.60	1.18	0.03

2.5 主成分分析

对 42 份种质材料的 12 个形态性状与 5 个化学成分进行主成分分析, 提取特征值大于 1 的主成分, 将 17 个性状简化为 6 个因子, 累计贡献率达 72.96%, 包含了 17 个性状指标的绝大部分信息。因子 1 为综合因子, 反映植株整体的形态和化学成分的特征, 因子 2 为叶型因子, 因子 3 为果型因子, 因子 4 为株型因子, 因子 5 为主要黄酮类成分的苷元因子, 因子 6 为主要黄酮和三萜类成分的苷类因子, 分别反映植株各部位形态特征和化学成分特征。

从表 7 可知, 第 1 主成分的特征值为 3.46, 贡献率为 20.37%。在其特征向量中, 载荷较高且为正值性状有小叶宽 (0.40)、小叶长 (0.37)、序柄长 (0.35)、株高 (0.33)、茎粗 (0.32)。小叶长、小叶宽、株高、茎粗这 4 个性状的增加会增加地上部分的生物量, 且与产量有很大的正相关性^[13], 但同时会降低甘草苷 (-0.28)、异甘草素 (-0.21) 和甘草酸 (-0.17) 的含量, 即会降低甘草药材的品质。由此可见, 地上部分生物量的增加会影响地下部分主要次生代谢产物的积累, 因此在甘草品种选育过

程中, 不应过度追求地上部分的生物量。

第 2 主成分的特征值为 2.43, 贡献率为 14.27%。在其特征向量中, 载荷较高且为正值性状为复叶长 (0.52)、小叶长 (0.36)、小叶宽 (0.30), 这 3 个性状是叶部特征的指标, 复叶长和叶片大小^[14]的增加会提高光合作用的效率, 进而提高产量, 但同时降低了甘草素 (-0.35) 和甘草酸 (-0.21) 的含量, 甘草素是甘草苷生物合成的前体物质, 因此甘草素的降低一定程度上会导致甘草苷含量的降低。在育种中为获得优质的甘草新品种, 应选择叶片相对小且复叶短的作为繁育母本。

第 3 主成分的特征值为 1.98, 贡献率为 11.63%。在其特征向量中, 载荷较高且为正值性状为果序长 (0.54)、实际果序长 (0.54)、小叶数上限 (0.31), 异甘草苷 (0.29), 由于异甘草苷含量与甘草苷含量相关性较强, 为了提高甘草苷的含量, 在制定筛选优良种质的形态标准时, 应适当降低其果序和实际果序的长度, 以及减少小叶的数量。

第 4 主成分的特征值为 1.84, 贡献率为 10.80%。在其特征向量中, 载荷较高且为正值性状为株高 (0.41)、茎粗 (0.30)、异甘草素 (0.29), 异甘草素

表 7 甘草种质主要性状的主成分分析

Table 7 Principal component analysis of *G. glabra* germplasm

因子	株高/cm	株幅/cm	茎粗/mm	复叶长/cm	小叶数上限/枚	小叶数下限/枚	小叶长/cm	小叶宽/cm	果序长/cm	果序宽/cm
1	0.33	0.16	0.32	0.14	-0.16	-0.18	0.37	0.40	0.23	0.03
2	-0.10	0.02	-0.09	0.52	0.20	0.18	0.36	0.30	-0.22	0.23
3	0.06	0.01	-0.18	0.19	0.31	0.23	0.00	-0.01	0.54	-0.17
4	0.41	0.25	0.30	-0.04	0.26	0.27	-0.03	-0.05	-0.20	-0.46
5	-0.09	-0.30	-0.08	0.04	-0.29	-0.39	0.18	0.18	0.06	-0.15
6	0.12	0.22	0.15	-0.13	-0.41	-0.09	-0.02	0.20	-0.11	0.02

因子	序柄长/cm	实际果序长/cm	甘草苷(mg·g ⁻¹)	甘草素(mg·g ⁻¹)	甘草酸(mg·g ⁻¹)	异甘草苷(mg·g ⁻¹)	异甘草(mg·g ⁻¹)	特征值	贡献率/%	累积贡献率/%
1	0.35	0.18	-0.28	0.07	-0.17	-0.14	-0.21	3.46	20.37	20.37
2	-0.21	-0.17	0.11	-0.35	-0.21	0.26	-0.02	2.43	14.27	34.64
3	0.03	0.54	0.23	0.06	0.16	0.29	-0.04	1.98	11.63	46.26
4	0.22	-0.26	0.20	0.03	-0.14	0.16	0.29	1.84	10.80	57.07
5	-0.02	0.03	0.26	0.33	-0.23	0.28	0.50	1.57	9.26	66.32
6	-0.10	-0.06	0.42	-0.08	0.49	0.36	-0.31	1.13	6.63	72.96

与甘草苷合成间接相关，因此在筛选甘草苷含量高的种质时，选取种质的株高不宜太低且茎粗也不宜太细。同时，随着株高和茎粗的增加，果序宽度呈现下降的趋势（-0.45），果序的形状呈现出偏圆柱形的变化。

第 5 主成分的特征值为 1.57，贡献率为 9.26%。在其特征向量中，载荷较高且为正值的性状为异甘草素（0.50）、甘草素（0.33），载荷较低且为负值性状为小叶数下限（-0.39）、株幅（-0.30）、小叶数上限（-0.29），由此可推知，异甘草素和甘草素含量高的种质，其外在形态表现为小叶数和株幅的降低。

第 6 主成分的特征值为 1.13，贡献率为 6.63%。在其特征向量中，载荷较高且为正值的性状为甘草酸（0.49）、甘草苷（0.42）、异甘草苷（0.36），载荷较低且为负值性状为小叶数上限（-0.41）、异甘草素（-0.31）。甘草苷和异甘草苷含量的升高，势必会导致异甘草素含量的降低，这与其生物合成途径有关。在筛选甘草酸含量高的种质时，不应选择小叶数量异常多的种质，不宜多于 11 枚。

3 讨论

系统研究药用植物种质资源的遗传多样性对药用植物遗传育种具有十分重要的意义。魏胜利等^[9]通过对全国 36 个野生甘草种群进行调查研究，发现株高、小叶长、小叶宽等 8 个形态性状，荚果和种子形态^[15]及甘草酸含量^[16]存在显著的地理变异，而

本实验部分材料为此次调查保存种质，在同一环境下生长多年后进行数据收集，结果表明 42 份甘草种质的 12 个形态性状和 5 个化学成分含量依旧存在不同程度的变异，说明国内甘草存在丰富的遗传多样性，且不同种质间的变异是稳定的，不因环境的改变而消失。同时，5 个化学成分 *H* 的平均值达 1.76，平均 CV 为 67.98%，4 个黄酮类成分的 CV 均高于甘草酸的 CV，黄酮苷类化合物的 CV 大于其苷元，异甘草苷、异甘草素为代表的查耳酮类化合物的 CV（83.16%）>甘草苷、甘草素为代表的二氢黄酮类化合物的 CV（64.46%）>甘草酸为代表的三萜类化合物的 CV（44.68%）。5 种化学成分的 CV（67.98%）要远远大于地上部分形态性状的 CV（26.25），但两者的 *H* 非常相近，分别为 1.76 和 1.74。以上说明无论在化学成分还是形态性状上，甘草种质都存在很大的改良潜力。

甘草酸与甘草苷等 4 个黄酮类化合物为不同生物合成途径的产物，研究表明，在不同种质中，甘草酸含量与甘草苷及其相关物质的含量之间无相关性，而 4 个黄酮类化合物间存在一定的相关性。于福来等^[10]对二年生栽培甘草研究表明，甘草酸和甘草苷的含量受种质与环境共同的影响；魏胜利等^[13]对一年生甘草研究表明，甘草酸含量与侧根数存在显著的正相关性，而与株高、茎粗、芦头直径、总生物量、地下部分总生物量（根部产量）存在显著的负相关性。在对 12 个地上部分形态性状与 5 种化学成分含量进行相

关性研究时,并未发现其具有相关性,这与前人研究不同,推测原因可能是不同生长年限与移栽方式与前人研究条件不同所导致的。

本实验通过对 12 个地上部分形态性状和 5 个化学成分的聚类分析发现,3 个类群中第 II 类群的 21 份种质在甘草酸和甘草苷含量方面表现较好,甘草苷 (9.27 mg/g) 和甘草酸 (24.50 mg/g) 含量均达《中国药典》标准,且与异甘草苷、异甘草素含量均为 3 个类群中最高。其地上部分形态性状的主要表现为,直立茎不粗壮,小叶偏小且数量多(约 11 枚),果序形状偏短圆柱形或球形且序柄较短;第 I 类群甘草酸和甘草苷含量均未达《中国药典》标准,其地上部分形态性状主要表现为株型高大粗壮、小叶偏大、果序为长圆柱形且序柄较长。第 III 类群主要特征为植株矮小,小叶少(约 9 枚),果序形状接近于球形,甘草苷和甘草酸的含量分别为 4.16、20.04 mg/g。因此,若需要符合药典标准的甘草药材,应该适度降低所选种质地上部分株高和茎粗,而这与魏胜利等^[13]的研究结果相似。此外,本实验由于是横生茎移栽,无法测定其产量,此处结合已有研究结果对其产量的潜力进行评估。魏胜利等^[5]的研究表明株高、茎粗与主根长、芦头直径、地下部分生物量等产量指标有显著的正相关性,小叶长、小叶宽与主根长、芦头直径有显著正相关性,于福来等^[17]同样发现株高与产量有显著的正相关性,结合各类群的株高、茎粗、小叶数、小叶长和小叶宽等指标,第 I 类群高产潜力较大,而第 III 类群的潜力较小。运用相同的原则对第 II 类群的 21 个种质进行评估,第 II-2 类群在甘草酸和甘草苷含量方面均具有较大的优势,同时第 II 类群已有的形态特征基础上,适度提高了株高、小叶长和小叶宽,及在高品质的基础上提高了产量,可见种质 V08、V10、V17、V34、V36、V38 可优先作为甘草新品种选育的种质材料。

主成分分析结果表明甘草主要化学成分含量与产量相关的指标(株高、茎粗、小叶长、小叶宽等)之间存在一定的矛盾,不同性状指标彼此间存在或少或多的联系,或是抑制,或是促进。在甘草育种实践中,由于甘草 3 年以上才开花的特性,给育种工作带来了许多困难与不便,因此从野生或栽培群体中进行定向选育成为解决甘草育种问题的有效途径之一。甘草作为药用植物,有别于其他农作物,不仅追求产量,更重要的是保证其药材的质

量。因此,在甘草品种选育时,应在保证品质的前提下,尽量提高其产量。我国甘草资源分布广,种质资源丰富,对不同种质的遗传多样性进行合理分析将加快品种选育的进程,同时对我国甘草资源的合理开发和利用具有重要的意义。

志谢:中国医学科学院药用植物研究所的贺超、陈晓玉、谢红波、李永庆,北京中医药大学的薄颖异、杨柳、向秋燕、王志荣,北京灵泉药材研究所濒危药用植物资源保护基地的王文杰对数据收集提供帮助。

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]. 北京: 科学出版社, 1993.
- [2] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [3] 赵艳敏, 刘素香, 张晨曦, 等. 基于 HPLC-Q-TOF-MS 技术的甘草化学成分分析 [J]. 中草药, 2016, 47(12): 2061-2068.
- [4] 杨 瑞, 袁伯川, 马永生, 等. 3 种不同基原甘草中 4 个主要黄酮类化合物的含量分析 [J]. 药物分析杂志, 2016, 36(10): 1729-1736.
- [5] 张 伟. HPLC 法同时测定中国不同产地甘草中 18 α -甘草酸和 18 β -甘草酸含量的研究 [J]. 药物生物技术, 2016, 23(1): 55-57.
- [6] Ma S J, Zhu G W, Yu F L, et al. Effects of manganese on accumulation of glycyrrhizic acid based on material ingredients distribution of *Glycyrrhiza uralensis* [J]. *Indust Crops Prod*, 2018, 112(2018): 151-159.
- [7] Xu G J, Cai W, Gao W, et al. A novel glucuronosyltransferase has an unprecedented ability to catalyse continuous two-step glucuronosylation of glycyrrhetic acid to yield glycyrrhizin [J]. *New Phytol*, 2016, 212(1): 1-13.
- [8] 马春英, 屈 平, 王文全. 甘草花粉超微鉴定及花粉活力、柱头可受性荧光显微镜观察 [J]. 植物遗传资源学报, 2011, 12(3): 396-401.
- [9] 魏胜利, 王文全, 刘春生, 等. 甘草野生种群地上植株形态地理变异及其生态学机制分析 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 23(11): 4614-4618.
- [10] 于福来, 王文全, 侯俊玲, 等. 种质与环境对二年生甘草群体主要生物活性成分的影响 [J]. 中国中药杂志, 2013, 5(10): 1479-1483.
- [11] 金燕清, 王秋玲, 侯俊玲, 等. 氮磷钾配施对甘草生物量和活性成分的影响 [J]. 中国现代中药, 2016, 18(7): 881-887.
- [12] 马永生, 张晓冬, 尹彦超, 等. 乌拉尔甘草查耳酮异构

- 酶基因多态性分析 [J]. 生物技术通讯, 2017, 28(4): 471-477.
- [13] 魏胜利, 王文全, 刘长利, 等. 一年生甘草药材产量与甘草酸含量的广义遗传力及其遗传相关性分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5): 17-21.
- [14] 唐军荣, 李 斌, 朱丽娜, 等. 滇杨多倍体苗期叶片形态及光合生理比较分析 [J]. 林业科学研究, 2016, 29(1): 103-109.
- [15] 魏胜利, 王文全, 王继永, 等. 甘草野生种群果实与种子形态特征的地理变异研究 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(23): 4460-4464.
- [16] 魏胜利, 王文全, 王继永. 不同甘草地地理种群甘草酸含量的地理变异及其形成的生态学机制探讨 [A] // 中华中医药学会论文集 [C]. 北京: 中华中医学会, 2008.
- [17] 于福来, 方玉强, 王文全, 等. 甘草栽培群体主要数量性状遗传变异及相互关系研究 [J]. 中国中药杂志, 2011, 36(18): 2457-2461.