

千里香叶片性状的数量分类与内源激素含量分析

谢旭桃^{1,2}, 华中一², 李晓琳², 谢莹², 赵玉洋², 周骏辉², 田慧¹, 马庆³, 谢文波³, 袁媛^{2*}

(1. 广西中医药大学, 南宁 530000; 2. 中国中医科学院中药资源中心, 北京 100700;

3. 华润三九医药股份有限公司, 广东深圳 518000)

[摘要] 目的:为了开展千里香种质资源评价以及新品种选育,促进千里香种源良种化,保障药材原料需求、提高产量和质量。方法:通过资源调查与收集,观察和测量了千里香107份种质植物样本的株型、基径、叶形、叶长、叶宽等17个性状。采用主成分分析法、因子分析等筛选主成分因子,共9个主要性状作为变量;采用Ward联接法和欧式距离进行聚类分析;根据入药部位特征,筛选核心种质。采用超高压液相色谱-质谱法(UPLC-MS/MS)分别测定不同类型千里香核心种质叶片中生长素、玉米素、玉米素核苷、异戊烯腺嘌呤、异戊烯腺嘌呤核苷、二氢玉米素、二氢玉米素核苷的含量,并对其与农艺性状进行相关性分析。结果:叶柄长、分枝数和株基径的变异系数均较大;9个主要性状可分为4类因子,其贡献率达72.822%;Ward联接法和欧式距离聚类分析,将107份千里香样本分为6类,筛选出核心种质61个;叶长、叶宽、叶柄长、叶面及叶柄颜色等性状对千里香种质分类具有重要作用,且玉米素核苷与叶长、叶柄长度呈极显著正相关($P<0.01$),与叶宽呈显著性正相关($P<0.05$)。结论:该研究结果为进一步开展千里香新品种选育奠定基础。

[关键词] 千里香; 数量分类; 因子分析; 内源激素; 相关性

[中图分类号] R284.2;R289;R22;R2-031;R33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)21-0167-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211312

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210906.1637.001.html>

[网络出版日期] 2021-09-06 17:52

Quantitative Classification of *Murraya paniculata* Leaf Traits and Endogenous Hormone Contents Analysis

XIE Xu-tao^{1,2}, HUA Zhong-yi², LI Xiao-lin², XIE Ying², ZHAO Yu-yang², ZHOU Jun-hui², TIAN Hui¹,
MA Qing³, XIE Wen-bo³, YUAN Yuan^{2*}

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530000, China;

2. National Resource Center for Chinese Meteria Medica

China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China;

3. China Resources Sanjiu Medical & Pharmaceutical Co. Ltd., Shenzhen 518110, China)

[Abstract] **Objective:** To carry out germplasm resource evaluation and new variety breeding of *Murraya paniculata* and improve the germplasm quality, so as to ensure the demand, yield and quality of medicinal materials. **Method:** Following resource investigation and collection, 17 traits of 107 *M. paniculata* germplasm samples, like plant type, basal diameter, leaf shape, leaf length, and leaf width were determined and then subjected to principal component analysis and factor analysis for screening the principal component factors. Nine primary traits were selected as variables for further cluster analysis using Ward's method and Euclidean distance. According to the characteristics of medicinal parts, the core germplasms were screened out.

[收稿日期] 20210703(003)

[基金项目] 国家科技性基础资源调查项目(2018FY100800);中央本级重大增减支项目(2060302);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(ZZ10-008)

[第一作者] 谢旭桃,在读硕士,从事中药鉴定研究,E-mail:3315587761@qq.com

[通信作者] *袁媛,研究员,博士生导师,从事中药鉴定与分子生药学研究,Tel:010-64087649,E-mail:y_yuan0732@163.com

Then the contents of auxin, zeatin, zeatin nucleoside, isopentenyl adenine, isopentenyl adenine riboside, dihydrozeatin, and dihydrozeatinriboside in the leaves were measured by ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UPLC-MS/MS), followed by their correlation analysis with agronomic trait. **Result:** The variation coefficients of petiole length, branching number, and basal diameter were large. The nine main factors could be classified into four categories, with a contribution rate of 72.822%. The cluster analysis with Ward's method and Euclidean distance showed that 107 germplasm samples were clustered into six clusters and 61 core germplasms were identified. Such traits as leaf length, leaf width, petiole length, leaf surface, and petiole color were found to play an important role in the classification of *M. paniculata* germplasms. The content of zeatin nucleoside exhibited significant positive correlations with leaf length ($P < 0.01$), petiole length ($P < 0.01$), and leaf width ($P < 0.05$). **Conclusion:** These results have laid the foundation for further selection and breeding of *M. paniculata* new varieties.

[Keywords] *Murraya paniculata*; quantitative classification; factor analysis; endogenous hormones; correlation

千里香 *Murraya paniculata* 为芸香科九里香属植物,是中药九里香的植物来源之一,始载于《岭南采药录》,收载于2020年版《中华人民共和国药典》(一部),以干燥叶和带叶嫩枝入药,具有行气止痛、活血散瘀的功效^[1]。现代药理研究表明,千里香具有抗生育、抗炎镇痛、抗菌、麻醉、抗氧化等作用。《中国植物志》记载千里香主要分布于台湾、福建、广东、海南、广西、湖南、贵州、云南等地,生于低丘陵或海拔高的山地或密林中,常见于石灰岩地区^[2]。

千里香化学成分主要有黄酮类、生物碱类、挥发油类,其中多甲氧基黄酮化合物是千里香嫩枝叶的主要成分。研究表明,月橘烯和蛋白多糖等具有抗生育的作用^[3], β -石竹烯对肺炎克雷伯氏菌和枯草芽孢杆菌有抑制作用^[4],多甲氧基黄酮具有一定的抗氧化活性^[5],展现出良好的开发价值。但目前千里香药材主要来源于野生资源,自然繁殖能力较低,导致其产量不足且质量不稳定,因此急需开展千里香栽培驯化、品种选育和规模化种植研究。

中药种质资源是进行中药材品种改良、新品种培育的物质基础,尤其是野生近缘植物和古老的地方种在长期自然选择和人工选择过程中形成了具有独特的优良性状和抵御自然灾害的特性^[6]。数量分类方法在天麻^[7]、黄柏^[8]、铁皮石斛^[9]、牡丹^[10]等中药材性状特征研究和种质资源与鉴定方面已广泛应用,充分表明了数量分类方法可以作为中药种质资源评价的重要方法。目前对千里香种质资源尚未开展系统的研究,至今也尚未发现有关对千里香种质资源农艺性状特征进行系统分析的报道。本研究拟通过收集广东省云浮市的107份千里香种质材料,对其农艺性状特征进行描述,并基于叶片表

型数据进行数量分类,探讨不同种质的性状差异,筛选可用于不同类型种质资源鉴别的主要性状,并对不同类型种质内源激素含量进行比较,分析内源激素与叶片表型特征的相关性,为千里香核心种质资源的构建以及新品种选育提供依据。

1 材料

1.1 植物样品 于2021年3月中旬前往广东省云浮市岭南中药材种子种苗繁育基地进行实地调查(112°8'20"E, 22°48'41"N),并采集了107份千里香植株叶片样本。采集的样本为2年生千里香的成熟叶,单株取样,用硅胶保存。采集的千里香均栽种于阳坡,株行距为1.5 m×1.2 m, 2 m×1.2 m。

1.2 仪器与试剂 ACQUITY UPLC I-Class 系统(美国 Waters 公司,包括二元高压梯度泵、真空脱气机、自动进样器和柱温箱);QTRAP 6500型三重四极杆-线性离子阱质谱仪(美国 AB SCIEX 公司,配有离子喷雾接口);Centrifuge 5810R型离心机(半径25.11 cm,德国 Eppendorf 公司);BSA224S型1/10万电子天平[德国赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];SB-800DTD型超声波清洗器(功率25 kHz,宁波新芝生物科技股份有限公司);YGC型氮吹仪(郑州宝晶电子科技有限公司);SCIENTZ-48型高通量组织研磨器(宁波新芝生物科技股份有限公司)。

生长素[美国 MedChemExpress(上海)公司,批号 HYBD0025397,纯度98%];玉米素(货号 Z0164,纯度97%),玉米素核苷(货号 Z3541,纯度95%),异戊烯腺嘌呤(货号 D7674,纯度98.5%),异戊烯腺嘌呤核苷(货号 D5912,纯度90%),二氢玉米素核苷(货号 Z0750,纯度90%),均购自 Sigma-Aldrich(上海)贸易有限公司;二氢玉米素(上海叶源生物科技

有限公司,货号 S26067,纯度 98%);甲醇(分析纯,天津市鼎盛鑫化工有限公司),甲醇、乙腈(色谱纯,美国 Merck 公司),甲酸[色谱纯,美国赛默飞世尔科技(中国)有限公司];超纯水,2,6-二叔丁基对甲酚(BHT)购于上海麦克林生化科技有限公司,Aglient SampliQ C₁₈固相萃取柱(500 mg,6 mL,安捷伦科技有限公司)。

2 方法

2.1 农艺性状调查 参阅文献[11-12]并结合实际观察,选择了主要与千里香药用部位相关的农艺性状作为调查指标,并明确相应的调查方法。调查的农艺性状指标包括株型、叶形、叶尖、叶缘、叶对称性、树干颜色及小枝、叶面、叶背、叶柄颜色、叶面光泽、株基径、分枝数、小叶数、叶长、叶宽、叶柄长。

在采样时首先记录样本的采集地信息,包括采集地名称、阴坡阳坡、海拔、经度、纬度、生长年限等,然后观测单株的株型并记录,记录小叶数、分枝数,用数显游标卡尺测量基径并记录。采集样本封袋标号,用硅胶保存。拍照、观察并记录所有样本性状特征,包括叶形、叶尖、叶缘、叶对称性、叶面、叶背、叶柄颜色、叶面光泽,用数显游标卡尺测量其数量性状并记录,包括叶长、叶宽,用软件 PS 2020 测量叶柄长。

2.2 性状及编码 整理获得的数据,区分出二元性状、有序多态性状及连续数值性状。二元性状以 0 和 1 进行编码,肯定状态为 1,否定状态为 0^[13];有序多态性按排列次序分别以整数 0,1,2,3……编码;数值性状不用编码,可直接使用原始数据^[14];无序的多态性状如叶面颜色等,则将其分解为多个新的二元性状,按二元性状编码方式处理^[15]。最后实际获得 17 个性状,见表 1。

2.3 性状统计分析 采用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。为确保筛选出的因子为具有代表性的性状,可作为千里香栽培种质分类的依据,本研究首先利用主成分分析(PCA)对千里香 107 份材料的 17 个性状变量进行因子分析,然后用正交转轴法中的最大变异数法萃取因子,保留因子特征值大于 1 的因子^[16],并选用因子负荷表中绝对值大于 0.5 的变量;最终获得 9 个主要分类性状。利用筛选的主要分类性状,对 107 份千里香个体进行系统聚类分析,并构建聚类分析树状图。

2.4 内源激素测定

2.4.1 色谱质谱条件 色谱:ACQUITY UPLC[®] HSS T3 色谱柱(美国 Waters 公司,2.1 mm×100 mm,

表 1 千里香性状及编码

Table 1 Traits and their state codes of *Murraya paniculata*

编号	性状	编码	类型
1	株型	直立形 0,平展形 1	O
2	树干颜色: I 白灰; II 淡黄灰	是 1,否 0	B
3	小枝颜色: I 白灰; II 淡黄灰	是 1,否 0	B
4	叶形: I 卵形; II 卵状披针形或披针形; III 卵圆形	是 1,否 0	B
5	叶尖: I 渐尖; II 微凹	是 1,否 0	B
6	叶缘: I 全缘; II 微波状	是 1,否 0	B
7	叶对称性: I 对称; II 一侧偏斜	是 1,否 0	B
8	叶面颜色	深绿或绿 0,黄绿 1	O
9	叶背黄绿色	是 1,否 0	B
10	叶柄颜色	深绿或绿 0,黄绿 1	O
11	叶面光泽	是 1,否 0	B
12	株基径/cm	N	
13	分枝数	N	
14	小叶数	N	
15	叶长/cm	N	
16	叶宽/cm	N	
17	叶柄长/cm	N	

注: B. 二元性状; O. 有序多态性状; N. 连续数值性状。

1.8 μm); 流动相 0.1% 甲酸乙腈溶液(A)-0.1% 甲酸水溶液(B)梯度洗脱(0 min, 5%A; 0~5 min, 5%~40%A; 5~7 min, 40%~75%A; 7~7.10 min, 75%~95%A; 7.10~9.10 min, 95%A; 9.10~9.20 min, 95%~5%A; 9.20~11.20 min, 5%A)。流速 0.3 mL·min⁻¹; 柱温 40 °C; 样品室温度 10 °C。进样量 0.2 μL。

质谱: 离子源为电喷雾离子源(ESI), 采用正离子检测模式; 多反应监测模式(MRM)进行定量分析; 离子源温度(TEMP)550 °C。生长素、玉米素、玉米素核苷、异戊烯腺嘌呤、异戊烯腺嘌呤核苷、二氢玉米素、二氢玉米素核苷 7 种植物激素的质谱参数见表 2。

2.4.2 对照品溶液的配制 准确称取生长素、玉米素、玉米素核苷、异戊烯腺嘌呤、异戊烯腺嘌呤核苷、二氢玉米素、二氢玉米素核苷对照品各 1.00 mg, 用 70% 甲醇 1 mL 溶解, 配制成 1 g·L⁻¹ 标准母液, 然后从各标准母液中取 100 μL 混合并定容至 1 mL, 配制成 100 mg·L⁻¹ 混合对照溶液, 最后稀释成 0.05, 0.1, 1.0, 5.0, 10.0 mg·L⁻¹ 的 5 种不同质量浓度的对照溶液, 4 °C, 避光保存备用。

2.4.3 千里香叶片内源激素的提取和数据分析 样品用 SCIENTZ-48 高通量组织研磨器粉碎, 称取样品

表2 7种植物激素的质谱条件参数

Table 2 MS/MS parameters for determination of seven plant hormones

植物激素	母离子 m/z	子离子 m/z	去簇电压(DP)/V	碰撞能量(CE)/eV	射出电压(CXP)/V
玉米素核苷	352	136.1	55	46	13
生长素	176	130.1	50	20	8
玉米素	220	136	40	25	8
二氢玉米素核苷	354.1	222.1	45	27	7
异戊烯腺嘌呤	204.1	136	45	22	17
异戊烯腺嘌呤核苷	336	203.9	55	23	11
二氢玉米素	222.1	136.1	37	27	12

0.1 g 置于 15 mL 离心管,加入含 $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 2,6-二叔丁基对甲酚的 80% 甲醇提取液 4 mL,避光,4 °C 放置过夜,然后在 4 °C, $4\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min,吸取上清液于 5 mL 离心管中。 C_{18} 固相萃取小柱(500 mg, 6 mL)用 80% 甲醇 1 mL 活化,平衡后将上清液过柱纯化,收集溶液,40 °C 下氮气吹干,加入 70% 甲醇溶液 0.5 mL 溶解,0.22 μm 微孔滤膜过滤,用于内源激素检测。根据植物激素对照品中的保留时间对样品中的植物激素进行定性分析,采用标准曲线进行定量分析^[17]。

3 结果

3.1 数量性状统计 调查并测定 107 株千里香的 17 个性状特征,并进行统计分析,见表 3。结果表明,分枝数最多为 10 分枝,小叶最多为 9 片,叶长、叶宽最大值分别达到 9.000, 4.710 cm,叶柄最长为 1.760 cm;叶柄长、分枝数和株基径的变异系数均较大,分别为 0.444, 0.330, 0.315,表明千里香个体之间在上述 3 个特征上存在较大差异。

表3 千里香叶片数量性状统计

Table 3 Quantitative trait statistics of *Murraya paniculata*

数量性状	最大值	最小值	平均值	标准差	变异系数
株基径/cm	5.452	0.969	3.041	0.959	0.315
分枝数	10.000	2.000	4.505	1.487	0.330
小叶数	9.000	3.000	6.000	0.722	0.120
叶长/cm	9.101	2.111	5.064	0.898	0.177
叶宽/cm	4.705	1.422	2.354	0.433	0.184
叶柄长/cm	1.760	0.000	0.314	0.140	0.444

3.2 因子分析 通过初步因子分析,对本研究中选取的 17 个性状进行筛选,剔除个体间因子负荷量表中差异不显著的性状和带有明显重复的性状,最终筛选获得 9 个影响千里香种质分类的主要性状。为确认这 9 个性状是否具有较高的相关性,分别对其编码后数值进行 Kaiser-Meyer-Olkin(KMO)检验和

Bartlett 球形度检验^[18],其中 KMO 检验值为 0.683, Bartlett 球形度检验相伴系数概率为 0.00,表明 9 个变量间具有极显著相关性。通过因子分析得到的 9 个性状的因子载荷值为 4,见表 4。其中第一类因子为叶长、叶宽、叶柄长;第二类因子为叶颜色,包括叶面和叶柄颜色;第三类因子为株基径和分枝数;第四类因子为小叶数。

表4 千里香 9 个关键性状的因子载荷值

Table 4 Factor loadings value of nine key-characteristics of *Murraya paniculata*

参数	因子载荷值(>0.50)			
	1	2	3	4
株型	-0.124	0.224	-0.489	0.329
株基径	-0.231	-0.124	0.626	-0.127
分枝数	-0.015	0.264	0.733	0.346
小叶数	-0.009	-0.138	-0.033	0.895
叶长	0.873	0.003	0.031	0.013
叶宽	0.876	-0.027	-0.125	-0.037
叶柄	0.783	-0.060	-0.070	-0.027
叶面颜色	-0.036	0.983	-0.041	-0.051
叶柄颜色	-0.036	0.983	-0.041	-0.051

采用主成分分析法对 9 个性状的 4 大类因子进行旋转平方和载入后,萃取出因子特征值大于 1 的因子,并获得因子特征值及贡献率,见表 5。结果表明,第一个主因子的方差贡献率达到 24.615%,前 3 个主因子的累计方差贡献率占总贡献率 61.136% (>50%),前 4 个主因子的累计方差贡献率达到了 72.822%,说明依据筛选获得的 9 个性状作为变量对千里香种质进行数量分类是可行的。且结合 4 大因子类型及其载荷值可以看出叶长、叶宽、叶柄长、叶面及叶柄颜色等性状对千里香种质分类具有重要作用。

3.3 聚类分析 以 107 份千里香材料作为变量,分

表5 千里香性状因子特征值及贡献率

Table 5 Eigenvalues and the accumulation of *Murraya paniculata*

因子权重	旋转载入平方和			
	特征值	方差贡献率/%	累计特征值	累计方差贡献率/%
1	2.215	24.615	2.215	24.615
2	2.093	23.250	4.308	47.865
3	1.194	13.272	5.502	61.136
4	1.052	11.685	6.607	72.822

别将其9个主要性状的数值经编码处理后输入SPSS 26.0软件中建立数据库采用Q型系统聚类分析。通过对比各分类分析方法,采用Ward联接法进行聚类,度量区间采用Euclidean距离,标准化采用Z得分。从所构建的Q型聚类分析树状图,根据各分类单位的性状特征,通过等级结合线L=8.0可将107份千里香材料划分为6个类群。

其中第一类群包括4份种质,分别为Q037, Q038, Q092, Q099,命名为A组;第二类群包括10份种质,分别为Q042, Q061, Q078, Q046, Q016, Q058, Q049, Q033, Q057, Q036,命名为B组;第三

类群包括10份种质,分别为Q007, Q082, Q072, Q032, Q017, Q065, Q021, Q030, Q101, Q067,命名为C组;第四类群包括9份种质,分别为Q008, Q103, Q010, Q045, Q024, Q015, Q023, Q083, Q029,命名为D组;第五类群包括15份种质,分别为Q001, Q004, Q003, Q020, Q089, Q106, Q094, Q035, Q014, Q107, Q048, Q095, Q059, Q105, Q086,命名为E组;第六类群包括13份种质,分别为Q104, Q097, Q009, Q069, Q064, Q005, Q098, Q066, Q013, Q028, Q026, Q073, Q055,命名为F组。

为进一步筛选千里香核心种质,将6组样本的农艺性状特征进行统计,结果表明A组和E组在叶数指标上存在显著性差异,表现为A组为少叶型, E组为多叶型;B组与C组在叶长指标存在显著性差异,表现为B组为短叶型, C组为长叶型;与其他组相比, D组在叶长、叶宽指标上存在差异显著,表现为大叶型;而F组在分枝上存在显著差异,表现为少枝型。依据各指标性状特征,按照指标数值大小对种质材料进行排序,共选出61个代表性样本作为千里香的核心种质,见表6。

表6 千里香核心种质分类及编码

Table 6 Classification and coding of core germplasm of *Murraya paniculata*

组别	代表性样品编号	数量/个
A	Q037, Q038, Q092, Q099	4
B	Q042, Q061, Q078, Q046, Q016, Q058, Q049, Q033, Q057, Q036	10
C	Q007, Q082, Q072, Q032, Q017, Q065, Q021, Q030, Q101, Q067	10
D	Q008, Q103, Q010, Q045, Q024, Q015, Q023, Q083, Q029	9
E	Q001, Q004, Q003, Q020, Q089, Q106, Q094, Q035, Q014, Q107, Q048, Q095, Q059, Q105, Q086	15
F	Q104, Q097, Q009, Q069, Q064, Q005, Q098, Q066, Q013, Q028, Q026, Q073, Q055	13

3.4 千里香核心种质叶片内源激素的测定 将配制的不同梯度浓度的混合对照品溶液在相同条件下测定其峰面积,以质量浓度($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)为横坐标X, 色谱峰面积为纵坐标Y绘制标准曲线,并获得了

7种植物激素的线性回归方程和相关系数。从表7可以看出,7种植物激素在各自浓度范围内具有良好的线性关系,相关系数均达到0.99,检出限为0至1.679 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表7 7种植物激素的线性关系和检出限

Table 7 Linear relationships and Limit of determination for the seven plant hormones

植物激素	标准曲线	相关系数	线性范围/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	检出限/ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
玉米素核苷	$Y=4.428\ 25\times 10^5X+4\ 525.760\ 18$	0.996 39	0.047~9.736	0.027
生长素	$Y=1.377\ 27\times 10^5X+1\ 081.001\ 82$	0.997 50	0.048~9.989	0.440
玉米素	$Y=5.776\ 92\times 10^5X+5\ 162.835\ 90$	0.994 72	0.047~9.960	0.000
二氢玉米素核苷	$Y=1.633\ 12\times 10^6X+14\ 230.607\ 62$	0.995 74	0.047~10.092	0.004
异戊烯腺嘌呤	$Y=7.756\ 00\times 10^5X+1\ 006.768\ 76$	0.997 78	0.048~10.096	1.679
异戊烯腺嘌呤核苷	$Y=1.122\ 98\times 10^6X+4\ 181.842\ 67$	0.997 72	0.048~9.968	0.006
二氢玉米素	$Y=13.686\ 28\times 10^4X+2\ 342.739\ 10$	0.998 87	0.049~9.857	0.062

对61份千里香叶片中的内源激素进行测定,结果表明不同类型种质中内源激素含量差异各不相同,其中C组生长素、玉米素、二氢玉米素含量最高,为13.201, 1.963, 20.140 ng·g⁻¹;D组玉米素核苷、二氢玉米素核苷、异戊烯腺嘌呤含量最高,分别为1.932, 0.221, 0.456 ng·g⁻¹;F组异戊烯腺嘌呤核苷含量最高,为3.577 ng·g⁻¹。见表8。

3.5 叶片内源激素含量与农艺性状的相关性分析

利用千里香核心农艺性状、植物激素数据进行相关性分析,结果表明农艺性状特征间存在相关性,即分枝数与叶面颜色、叶柄颜色呈明显正相关($P < 0.05$),叶长与叶宽、叶柄长度呈极显著正相关($P < 0.01$),同时叶面颜色与叶柄颜色、叶宽与叶柄长度

也呈极显著正相关($P < 0.01$)。其次,激素间也存在相关性,即玉米素与二氢玉米素间存在显著正相关($P < 0.05$),与玉米素核苷、异戊烯腺嘌呤核苷存在极显著正相关($P < 0.01$);异戊烯腺嘌呤与生长素、异戊烯腺嘌呤核苷间存在极显著正相关($P < 0.01$)。第三,激素与农艺性状特征间存在相关性,即玉米素核苷与叶长、叶柄长度呈极显著正相关($P < 0.01$),与叶宽呈显著性正相关($P < 0.05$)。叶长与株基径呈显著负相关($P < 0.05$)。见表9。

4 讨论

4.1 基于叶片特征的千里香核心种质的构建

核心种质是利用最少的种质资源样品最大程度的代表种质资源的遗传多样性。本研究采用数量分类

表8 6组千里香样品7种激素平均值

分组	n	玉米素核苷	生长素	玉米素	二氢玉米素核苷	二氢玉米素	异戊烯腺嘌呤	异戊烯腺嘌呤核苷
A	4	0.698±0.784	9.923±2.698	1.084±0.957	0.079±0.045	17.430±5.386	0.229±0.14	1.853±1.976
B	10	0.658±0.573	9.563±4.283	1.417±0.919	0.202±0.157	16.276±5.839	0.347±0.274	2.022±0.957
C	10	1.300±1.396	13.201±6.922	1.963±1.583	0.149±0.118	20.140±9.087	0.242±0.126	3.074±1.449
D	9	1.932±1.612	10.452±4.114	1.084±0.573	0.221±0.146	18.178±4.074	0.211±0.128	2.291±0.718
E	15	0.483±0.391	9.840±5.037	1.305±0.869	0.191±0.171	17.647±5.217	0.456±0.438	3.149±2.277
F	13	0.970±1.315	11.486±4.833	1.483±0.571	0.160±0.063	15.930±4.583	0.242±0.224	3.577±3.881

表9 千里香农艺性状与叶片激素含量的相关性分析

性状	Y1	Y2	Y3	Y4	Y5	Y6	Y7	Y8	Y9	Y10	Y11	Y12	Y13	Y14	Y15	Y16
Y1	1.000															
Y2	0.117	1.000														
Y3	0.008	0.133	1.000													
Y4	0.198	0.156	0.213	1.000												
Y5	-0.087	-0.285 ¹⁾	-0.020	0.058	1.000											
Y6	0.028	-0.202	-0.127	-0.073	0.719 ²⁾	1.000										
Y7	0.008	-0.108	-0.030	-0.039	0.567 ²⁾	0.576 ²⁾	1.000									
Y8	0.213	-0.094	0.257 ¹⁾	-0.188	-0.068	-0.105	-0.125	1.000								
Y9	0.213	-0.094	0.257 ¹⁾	-0.188	-0.068	-0.105	-0.125	1.000 ²⁾	1.000							
Y10	-0.200	-0.076	-0.139	-0.095	0.383 ²⁾	0.302 ¹⁾	0.373 ²⁾	-0.062	-0.062	1.000						
Y11	-0.092	-0.143	-0.178	-0.034	0.028	-0.054	0.162	-0.045	-0.045	0.012	1.000					
Y12	-0.120	0.022	-0.227	0.036	-0.107	-0.062	-0.063	-0.090	-0.090	0.381 ²⁾	0.037	1.000				
Y13	-0.031	0.047	-0.088	0.109	0.032	-0.004	-0.005	-0.188	-0.188	-0.018	-0.064	-0.033	1.000			
Y14	-0.123	0.109	-0.121	-0.013	0.155	0.101	0.115	-0.004	-0.004	0.203	-0.052	0.255 ¹⁾	0.035	1.000		
Y15	0.061	0.213	0.083	0.172	-0.227	-0.119	-0.067	-0.070	-0.070	-0.142	0.378 ²⁾	0.063	-0.032	0.166	1.000	
Y16	0.096	0.131	-0.089	0.196	0.028	0.121	-0.075	-0.109	-0.109	0.057	-0.016	0.417 ²⁾	0.053	0.186	0.333 ²⁾	1.000

注:¹⁾ $P < 0.05$; ²⁾ $P < 0.01$ 。株型(Y1),株基径(Y2),分枝数(Y3),叶数(Y4),叶长(Y5),叶宽(Y6),叶柄长度(Y7),叶面颜色(Y8),叶柄颜色(Y9),玉米素核苷(Y10),生长素(Y11),玉米素(Y12),二氢玉米素核苷(Y13),二氢玉米素(Y14),异戊烯腺嘌呤(Y15),异戊烯腺嘌呤核苷(Y16)。

方法对千里香种质的叶片表型性状进行聚类分析,按照等级结合线将107份千里香种质分为6组,并在此基础上筛选获得核心种质,对千里香优良品种选育和栽培驯化具有重要意义。分析结果显示,种质分类主要依据小叶数、叶长、叶宽和分枝数。千里香以带叶嫩枝入药,叶数指标在筛选千里香优良性状具有重要作用,小叶数多有利于提高药材产量。在有关千里香的相关记载中,小叶数通常为3~7片,本研究在核心种质构建过程中筛选获得了小叶数为9的种质材料,为进一步开展高产品种选育奠定了基础。

4.2 植物内源激素与千里香性状特征的相关性

各种植物功能性状综合反映了植物对生长环境的响应和适应^[19]。如当千里香分枝数较少、分枝角度较小时,株型则较直立,叶片接受光照面积增多,有利于叶绿素的生成,因此分枝数与叶面、叶柄颜色具极显著相关性。而植物激素是控制植物功能性状形成的关键因素之一,如本研究结果表明玉米素核苷含量与千里香叶长、叶柄长度呈极显著正相关,与叶宽呈显著性正相关。玉米素核苷是一种细胞分裂素,能够促进细胞分裂^[20],从而影响叶的大小。

另一方面,植物功能性状除了受植物激素调控之外,还可能受到其它因素的影响^[21],如D组的叶长、叶宽均显著大于其他组,但7种激素含量均无显著性差异,D组叶长、叶宽增加是否受基因型控制还需要进一步确定。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2020:1088
- [2] 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.
- [3] 梁海珍,刘冰语,屠鹏飞,等. 中药九里香的研究进展[J]. 中国医院用药评价与分析,2016,16(11):1441-1446.
- [4] 杨熙,李瑞,周美,等. 千里香药学研究概况[J]. 安徽农业科学,2013,41(33):12978-12979.
- [5] 向方桃,陈封政,陈建明,等. 千里香中黄酮类成分的

分离鉴定及抗氧化活性研究[J]. 天然产物研究与开发,2020,32(10):1683-1687.

- [6] 黄璐琦,吕冬梅,杨滨,等. 药用植物种质资源研究的发展——核心种质的构建[J]. 中国中药杂志,2005,30(20):1565-1568.
- [7] 钱润,李慧,华中一,等. 栽培天麻农艺性状的数量分类学研究[J]. 中国中药杂志,2020,45(13):3085-3090.
- [8] 金艳,黄璐琦,袁媛,等. 黄柏类药材颜色数量分类探讨[J]. 中国中药杂志,2015,40(19):3766-3769.
- [9] 余文霞,董晓曼,雷肖熙,等. 铁皮石斛栽培居群农艺性状的聚类分析[J]. 中国中药杂志,2019,44(1):53-58.
- [10] 龚双军. 部分牡丹栽培品种数量分类学研究[D]. 郑州:河南农业大学,2010.
- [11] 王国强. 全国中草药汇编[M]. 3版. 福州:福建科学技术出版社,2016.
- [12] 邱文清. 常用中草药汇编:原植物彩色图鉴[M]. 北京:中医古籍出版社,2012.
- [13] 肖芬. 27个木槿品种分类研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2019.
- [14] 郝丹丹,黄璐琦,袁媛,等. 数量分类方法在道地药材及其产区特征研究中的应用[J]. 中国中药杂志,2019,44(17):3633-3636.
- [15] 张山山,黄璐琦,袁媛,等. 栽培金银花农艺性状的数量分类学研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(8):1379-1385.
- [16] 郭晓霞. 几种多元统计分析方法的研究及其简单应用[D]. 杭州:杭州电子科技大学,2015.
- [17] 张丹,孙萍,陈思瑾,等. 液相色谱-串联质谱联用法同时测定6种植物激素[J]. 甘肃农业大学学报,2020,55(4):98-103.
- [18] 解坤,张俊芳. 基于KMO-Bartlett典型风速选取的PCA-WNN短期风速预测[J]. 发电设备,2017,31(2):86-91.
- [19] 张莉. 植物内源激素对杨树枝条分枝角度的影响[D]. 济南:山东农业大学,2016.
- [20] 段娜,贾玉奎,徐军,等. 植物内源激素研究进展[J]. 中国农学通报,2015,31(2):159-165.
- [21] 卢会翔,唐道彬,吴正丹,等. 甘薯产量、品质及农艺性状的基因型与环境效应研究[J]. 中国生态农业学报,2015,23(9):1158-1168.

[责任编辑 顾雪竹]