

不同种质广西莪术植物形态、药材性状 及挥发油产量的聚类分析

杨妮, 戴昱, 王建*

(广西中医药大学药学院, 南宁 530001)

[摘要] **目的:**通过对不同种质广西莪术进行植物形态、药材性状、挥发油产量的聚类分析,为该品种的选育和分类提供参考。**方法:**采用原植物鉴别法测量广西莪术的植株生长期数据。药材采收后按2010年版《中国药典》的标准记录莪术药材性状的各项数据;挑选单株质量>150g的材料进行挥发油的提取与测定。数据采用系统分析方法进行聚类,在分类中挑选植株生长良好、药材和挥发油产量高的优良品种。**结果:**以植株形态不同性状为指标,样本聚为4类。以药材性状与产量为指标,样本聚为4类。以莪术挥发油为指标,按挥发油产量与颜色分类,样本聚为3类。**结论:**综合3次分类可将原本不确定的品种进行归类确认,系统聚类法可有效对广西莪术进行品种鉴定归类,为优良品种选育和种质资源遗传多样性考察提供参考。

[关键词] 广西莪术; 植物形态; 药材性状; 挥发油; 聚类分析

[中图分类号] R282.5; R282.71; R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)02-0012-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015020012

Cluster Analysis of Plant Morphology, Medicinal Properties and Volatile Oil Production Among Different Germplasm of *Curcuma kwangsiensis* YANG Ni, DAI Yu, WANG Jian* (School of Pharmacy, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, China)

[Abstract] **Objective:** By cluster analysis of plant morphology, medicinal properties and volatile oil production among different germplasm of *Curcuma kwangsiensis* to provide reference for breeding and classification of this variety. **Method:** Original plant identification was adopted to measure growth period data of *C. kwangsiensis*. After being harvested, according to 2010 edition of *Chinese Pharmacopoeia*, data of medicinal properties were recorded. Materials of *C. kwangsiensis* were adopted to extract and determine volatile oil whose weight was heavier than 150 g. Cluster analysis was employed to select fine varieties with good plant growth, high production of herb and volatile oil. **Result:** With plant morphology as index, samples clustered into four categories. With medicinal properties and yield as index, samples clustered into four categories. Taking volatile oil of *C. kwangsiensis* as an indicator, according to yield and color of volatile oil, samples could be divided into three categories. **Conclusion:** Integrated three classification can confirm classification for original uncertain varieties of *C. kwangsiensis*. System clustering method is effective for identification and classification of *C. kwangsiensis*, this study provides theoretical basis for germplasm genetic diversity and breeding excellent varieties of this herb.

[Key words] *Curcuma kwangsiensis*; plant morphology; medicinal properties; volatile oil; cluster analysis

莪术具有抗肿瘤、抗菌、行气破血、消积止痛等功效^[1]。其中广西莪术分布较广,各产地品种繁

多,质量参差不齐。莪术采收后常就地加工,加工后药材外形相似,形态鉴别较困难,不同品种、产地的

[收稿日期] 20140513(012)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160500)

[第一作者] 杨妮,在读硕士,从事中药优良种质资源开发研究, Tel:15296500906, E-mail:642413556@qq.com

[通讯作者] *王建,教授,从事药用植物栽培和育种研究, Tel:13217810893, E-mail:wangjian0893@163.com

莪术中挥发油成分及产量亦有较大差别^[2-3]。为确保莪术药材的质量,有必要对莪术进行产地鉴定,了解不同产地莪术植株形态、药材性状及挥发油产量的差别,分辨不同种质莪术的各项特征。近年有不少对莪术的研究报道,但主要集中在成分分析、药理作用和生药鉴定方面^[4-5],而运用聚类分析方法结合植物形态特征、药材性状及挥发油成分分析等方面进行遗传育种研究少有报道。本实验以植株生长期形态、药材性状、挥发油产量为评价指标,考察广西各大产区共 53 个莪术种质资源的评价指标差异,采用系统聚类方法对不同种质的莪术进行鉴别分析,以区分广西不同产区的莪术样品,为建立广西莪术的药材分类方法与优质品种选育提供参考。

1 材料

HP6890/HP5973 型气相色谱-质谱联用仪(美国惠普公司),FA1004 型电子天平(上海精科天平仪器厂)。试剂均为国产分析纯。药材采自广西玉林、兴业、钦州、灵山、贵港、桂平、平南、青塘、横县、邕宁、金秀等地,按编号集中种植于广西南宁市仙葫种植基地,经广西中医药大学王建教授鉴定为姜科植物广西莪术 *Curcuma kwangsiensis*,其中莪术植物形态数据有效样本 105 个,药材性状数据有效样本 100 个,挥发油数据有效样本 53 个。

2 方法

2.1 植物形态数据的测量 采用原植物鉴别法,测量莪术植株生长期数据,记录各植株叶片数,测量由顶端往下数第 3 片叶的叶片长、叶片宽、叶柄长,叶舌长等数据。

2.2 药材性状数据的测量 药材采收后,采用性状鉴别法测量莪术鲜品单株根状茎的长、宽、质量,基部形态,上部环节突起,断面颜色等数据。

2.3 挥发油的提取与测定 根据 2010 年版《中国药典》一部附录 XD 挥发油测定法,取不同种质的广西莪术鲜品,切碎,各称取 100 g,置 1 L 圆底烧瓶中,加水 500 mL 和适量沸石,振摇均匀,连接挥发油测定器的刻度部分并溢流入烧瓶为止,置加热套中,设定加热温度 130 ~ 140 ℃,缓缓加热至微沸 5 h,冷却 10 min,开启挥发油测定器下端活塞,将水缓缓放出,使油层下降至其上端恰与刻度零线平齐,读取挥发油量。

2.4 数据处理与分析

2.4.1 数据标准化处理 聚类分析前,应对原始数据进行标准化处理。因为实际测得数据不仅量纲和化学意义不同,原始指标变量数量级亦有很大差异,

若将原始数据直接进行聚类分析,则变量值大的对其影响也大。本文采用 Z-score 法对数据进行标准化转换。其中原始指标数据的标准化设有 n 个样本, p 项指标, X_{ij} 表示第 i 个样本的第 j 项指标值, $i = 1, 2, \dots, n; j = 1, 2, \dots$,经过标准化处理的变量权重相同,均值为零,方差为 1。

$$Z_{ij} = (x_{ij} - \bar{x}_j) / S_j$$

$$\bar{x}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_{ij}$$

$$S_j = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_j)^2}$$

2.4.2 性状聚类分析 采用 SPSS 19.0 软件中聚类分析程序分别以莪术植株成熟期植物形态、药材性状及产量、挥发油产量为指标对本批药材进行聚类分组。

3 结果与分析

3.1 植物形态聚类分析结果 对记录的植物形态进行赋值,叶片被毛疏密程度为密集赋值 1,稀疏赋值 0;叶基性状为偏斜赋值 1,对称赋值 0;叶端形状为细尾状渐尖赋值 1,短渐尖赋值 0;叶梢颜色为有紫红晕赋值 1,无紫红晕赋值 0。以观测的形态为变量对 105 个样本进行分类,以 15 为距离将样本聚为 4 类,结果见表 1。

3.2 药材性状聚类分析 以莪术顶端形态、基部形态、上部环节突起、药材形状、断面颜色、内皮层环纹颜色、莪术长、莪术直径、药材重为变量对 100 个样进行分析,以 10 ~ 15 为距离可将莪术聚为 4 类,分类记录见表 2。对记录的莪术个体性状进行赋值,莪术药材形状为卵圆形赋值 1,圆锥形赋值 0;顶端形态为钝圆赋值 1,钝尖赋值 0;基部形态为钝圆赋值 1,平赋值 0;表面颜色为较浅赋值 1,较深赋值 0;断面颜色为黄棕色赋值 1,棕色赋值 0;内皮层环纹颜色为黄白色赋值 1,棕色赋值 0;环节突起为明显赋值 1,不明显赋值 0。

3.3 挥发油产量聚类分析结果 以莪术挥发油体积及颜色为变量对 53 个样品进行聚类,以 10 为距离可将样品分为 3 类,结果见表 3。

4 讨论

本批样本数量较多,为了后续试验的进行,需对品种进行梳理与确认,同时进行品种的归类,以选育出每一类中的优良品种,综合 3 个不同侧重点的数据聚类分析可挑选出长势好、产量高、含油多的品种。根据试验结果认为该批材料中玉 11 与 A28,玉 3 与 B3,玉 6 与 C84,玉 5 与 B72,玉 10 与 A12 分别

表 1 广西莪术植株成熟期形态特征聚类分析

Table 1 Cluster analysis of plant morphological characteristics of *Curcuma kwangsiensis* in mature period

类群	数量	主要品种	株高 /cm	叶片被 毛疏密	叶基 形状	叶端 形状	叶梢 颜色
I	44	玉 1, 玉 2, 玉 3, 玉 4, 玉 5, 玉 6, 玉 7, 玉 8, 玉 9, 玉 10, 玉 11, 玉 12, 玉 13, 玉 14, 玉 15, 玉 16, 玉 17, 玉 21, 玉 22, 玉 23, 玉 24, A12, A28, B3, B22, B35, B61, B72, B89, C16, C51, 药用 1, 药用 2, C78, C84, C105, C106, C108, 广城 1, 广城 2, 无牌 1, 药用/无牌, C39, 玉 20	>80	0	1	1	0
II	38	C44, A15, B101, 玉 18, 玉 19, C19, C23, C24, C49, C80, C77, A18, B96, C103, C44, A10, C79, C104, B94, A81, B98, C33, B101, B93, B97, B104, B50, B6, C88, C46, C69, B55, C63, C95, C8, B14, C40, C26	40 ~ 80 或 >80	1	1	0	0
III	20	B2, B9, B13, C11, C34, C36, C38, C41, C42, C46, C53, C57, C67, C76, C80, C82, C85, C99, C111, B101	40 ~ 80	1	1	1	1
IV	3	C62, C75, C20	60 ~ 80	0	1	0	1

注:表中主要品种列下均为原始药材编号,前期研究收集到广西不同产地莪术药材集中种植并一一对应编号,例如玉 1 对应玉林产地,(表 2,3,4 同)。

表 2 广西莪术药材性状数据的聚类分析

Table 2 Cluster analysis of medicinal properties data of *Curcuma kwangsiensis*

类群	数量	主要品种	药材 形态	顶端 形态	基部 形态	表面 颜色	断面 颜色	内皮层 环纹颜色	环节 突起
I	57	A10, A15, A18, A81, B2, B6, B9, B13, B14, B50, B55, B89, B91, B93, B94, B96, B97, B98, B101, B103, C11, C16, C19, C20, C24, C26, C29, C33, C34, C36, C40, C41, C44, C46, C51, C53, C57, C63, C67, C69, C76, C79, C84, C85, C88, C95, C99, C103, C104, 无牌/B89, 玉 4/B81, 玉 6/C84, 玉 9/B56, 玉 12/C105, 玉 20, 玉 21, 玉 23	1	1	1	1	1	1	0
II	9	B22, B35, B61, C62, C78, C84, C105, 玉 7/B101, 广城 1	1	1	1	1	1	0	
III	22	玉 1/C59, 玉 2/C16, 玉 3/B3, B3, 玉 5/B72, B72, 玉 8/A81, 玉 10/A12, A12, 玉 13/C106, 玉 15/C23, C23, 玉 17/B61, 玉 24, C8, C38, C42, C49, C80, C82, C111, 广城 2	0	0	0	0	1	1	0
IV	12	C106, 药用 2, 玉 19/B2, 药用 1, C39, C108, 玉 18/B97, 玉 11/A28, A28, 玉 16, 玉 14/C29, 药圃	0	0	0	0	0	0	1

表 3 广西莪术挥发油产量及颜色的聚类分析

Table 3 Cluster analysis of yield and color of volatile oil from *Curcuma kwangsiensis*

类群	数量	主要品种	药材单株质量 /g	挥发油颜色	挥发油提取量 /mL·g ⁻¹
I	15	D1, D2, D3, D13, D5, C39, C108, 玉 11/A28, A28, 玉 14/C29, 玉 16, 玉 18/B97, 玉 19/B2, 药用 2, 药圃	500	多为紫褐, 偶有 淡紫色	0.012
II	33	玉 1/C59, 玉 2/C16, C16, 玉 3/B3, B3, 玉 4/B81, 玉 5/B72, B72, 玉 6/C84, C84, C84, 玉 7/B101, 玉 8/A81, 玉 9/B56, 玉 10/A12, A12, 玉 12/C105, 玉 13/C106, 玉 15/C23, C23, 玉 17/B61, B61, 玉 21, 玉 22, 玉 24, B14, B22, B89, C46, C78, C105, 广城 1, 广城 2	900	多为黄色, 偶有 浅黄色	0.003 ~ 0.005
III	5	玉 23, C33, B93, B50, B101	400 ~ 600	浅黄色与黄色	0.005

为同种材料。按 3.1 和 3.2 项下方法对记录的莪术植株及个体性状进行赋值,赋值进行相似度比对,结

果见表 4。

根据 2010 年版《中国药典》规定,莪术干品含

表 4 广西莪术的聚类分析相似度比对

Table 4 Similarity comparison of cluster analysis of *Curcuma kwangsiensis*

编号	株高 /cm	被毛 程度	叶基 形状	叶端 形状	叶鞘 颜色	药材顶 端形态	药材基 部形态	上部环 节突起	药材 形状	断面 颜色	内皮层 环纹颜色	莪术 长径比	药材质量 /g	挥发油 /mL	挥发油 颜色
玉 11	180.3	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1.69	307.0	1.32	紫褐
A28	95.0	0	1	1	0	0	1	1	0	0	0	2.02	273.0	1.20	紫褐
玉 3	164.0	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	1.26	797.5	0.30	黄色
B3	106.5	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0.99	450.5	0.42	黄色
玉 6	137.0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1.21	490.5	0.51	浅黄
C84	116.9	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	0.89	199.0	0.48	黄色
玉 5	109.3	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1.25	324.0	0.45	浅黄
B72	129.0	0	1	1	0	0	1	1	0	1	1	1.15	435.5	0.49	黄色
玉 10	120.2	0	1	1	0	0	0	1	0	1	1	1.31	838.0	0.50	浅黄
A12	104.5	0	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1.12	165.0	0.40	黄色

挥发油 $\geq 1.5\%$ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)。莪术折干率 5:1, 即鲜品 500 g 晒干后可得干品 100 g, 根据折干率计算, 莪术鲜品挥发油应 $\geq 0.3\%$, 故认为广西莪术鲜品每 100 g 中挥发油提取量 $> 0.3 \text{ mL}$ 的样品为优质品种。玉 11/A28 为长势好、含油量及产量高的优质品种, 与其归为一类的莪术具有的特征为株高 $> 80 \text{ cm}$, 叶片两面被毛稀疏, 叶鞘绿色, 叶基偏斜, 叶端细尾状渐尖; 药材形态多为圆锥形, 顶端钝尖, 上部环节突起明显, 断面棕色, 内皮层环纹为棕黄色; 挥发油颜色多为紫褐, 偶有淡紫色; 挥发油提取量较高可达 $0.012 \text{ mL} \cdot \text{g}^{-1}$, 药材单株质量约 500 g。

本文结合广西莪术植株形态、药材形状及挥发油成分 3 个方面的数据进行聚类分析, 聚类结果反映了不同种质资源间的综合差异, 为该品种的选育打下了基础。但由于药材性状易受环境条件的影响, 单凭综合性状的差异进行材料分类, 其结果仍然存在一定误差。建议结合 RAPD, SSR 等分子标记技术从分子水平区分不同种质广西莪术的基因型差异及其亲缘关系, 使选育工作更准确合理。

现代药理研究表明莪术油是一种很有发展前途的抗肿瘤、抗血栓和抗病毒药物^[6]。本文对混乱的广西莪术品种进行分类并将较多的样本聚为几类,

可从中找出每一类品种具有的某些特征。根据聚类分析可从研究的样品中挑选出植株生长良好、药材产量高及挥发油含量高的一类广西莪术, 为优良品种的选育提供实验依据。同时运用聚类分析软件对广西莪术进行分类的方法简单可行且可信度较高, 对该品种的质量控制与鉴别具有实用意义。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 257-258.

[2] 王建, 赵应学. 不同种质类型广西莪术挥发油成分多样性研究[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(6): 1072-1075.

[3] 佟磊, 史克莉. 不同提取方法对莪术挥发油成分的影响[J]. 湖北中医学院学报, 2010, 12(6): 35-37.

[4] 胡辉, 荆绪斌, 蔡先彬, 等. 姜黄素对食管癌 EC-109 细胞增殖抑制的研究[J]. 实用癌症杂志, 2011, 26(3): 230-233.

[5] 肖小河, 刘峰群, 史成和, 等. 国产姜黄属药用植物 RAPD 分析与分类鉴定[J]. 中草药, 2000, 31(3): 209-212.

[6] 杨芳, 赵秋, 王渝, 等. 姜黄素抑制 STAT3 信号通路对胰腺癌细胞增殖的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(30): 3149-3153.

[责任编辑 刘德文]