

文章编号: 1001-1498(2000) 03-0257-05

不同种源厚朴酚类物质含量变异 与遗传的初步研究

童再康¹, 斯金平², 刘 饶³

(1. 浙江林学院资源与环境系, 浙江临安 311300; 2. 浙江省景宁县科学技术委员会, 浙江景宁 323500;
3. 浙江省景宁县林业总场, 浙江景宁 323500)

摘要: 采集厚朴 5 年生种源试验林共 13 个种源 39 个树皮样品, 用高效液相色谱分析法(HPLC)测定厚朴酚、和厚朴酚的含量。结果表明: 厚朴酚、和厚朴酚、厚朴酚类总量、厚朴酚/和厚朴酚比例等品质性状在种源间均有显著或极显著的差异。叶先端小凸尖型的鄂西种源酚类含量最高, 凹叶型的庐山种源最低, 总含量前者是后者的 10.34 倍。以上 4 个厚朴品质性状均受较强的遗传控制, 其种源遗传力为 0.758 5~0.946 5, 且呈经向为主, 经、纬双向地理变异。

关键词: 厚朴; 种源试验; 厚朴酚; 和厚朴酚; 地理变异; 种源选择

中图分类号: S722.7 文献标识码: A

药用厚朴包括分类学上的厚朴(*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils. subsp. *officinalis*) 和凹叶厚朴(*M. officinalis* subsp. *biloba* (Rehd. et Wils.) Law) 及其中间类型, 属我国特有树种, 国家二级保护中药材。主要分布于湖北、四川、甘肃、陕西、湖南、安徽、浙江、江西、福建、广西等省区海拔 200~3 000 m 的丘陵、山地。长期以来, 主要是利用野生资源。随着需求量的日益增加, 过度采伐, 天然资源濒临枯竭, 人工栽培已受到产区政府和群众的高度重视。

厚朴的有效成分主要是酚类物质。其中, 厚朴酚(magnolol)及其异构体和厚朴酚(honokiol)占绝对优势比例。药理证明这 2 种成份均具有较强的消炎灭菌作用^[1]。厚朴药材品质优劣主要反映在这 2 种成份的差异上, 据《中国药典》记载, 不同产区的厚朴品质不一, 以川朴(主产鄂、川)品质最优, 温朴(主产闽、浙)次之^[2]。中药材讲究“道地”, 传统观点认为药材的品质主要受产地的气候、土壤等环境条件的影响。因此, 厚朴品质研究多着眼于树龄、外观性状以及树皮解剖特性等^[3~6], 而品质性状的种内地理变异及其规律未见系统研究。为此, 作者在厚朴系统生物学研究的基础上, 在主产区采集了 13 个种源的种子, 在浙江省景宁县育苗、造林, 建立了种源试验林。本文报道不同种源厚朴 5 年生时厚朴酚类物质含量的变异及其遗传规律, 为优质种源选择及其种子调拨提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试样的采集与加工

1992 年在各厚朴的主产区采集 13 个种源的种子, 于 1994 年在浙江省景宁县草鱼塘林场

收稿日期: 1999-09-13

基金项目: 浙江省科委“九五”科研项目“厚朴质量优化及资源利用研究”(编号: 961102111)内容

作者简介: 童再康(1963-), 男, 浙江兰溪人, 副教授, 在读博士。

造林,位于 29°51' N, 119°41' E。试验地海拔 1 000~1 100 m,土壤为山地黄壤。试验设 3 次重复,15 株单行小区。种源林详细资料见参考文献[7]。供试树皮样品于 1998 年 7 月 1 日在试验重复 3 中采集,每个种源采 3 个最优单株,采样部位离地面 95~105 cm 树干处。同时记载胸径、树高、枝下高、皮厚、树叶形状等性状。样品统一自然阴干备用。

1.2 厚朴酚和和厚朴酚含量的测定

采用高效液相色谱分析法(HPLC)测定厚朴酚、和厚朴酚的含量。液相色谱仪为美国产 Waters 600 型,检测器为 Waters 486 手调紫外检测器,检测波长 300 nm。所用甲醇、乙腈均为 HPLC 级,由上海陆都实业有限公司生产;标样厚朴酚、和厚朴酚均由中国生物制品检定所产生,数据采用外标面积归一法计算^[8]。

2 结果与分析

2.1 厚朴酚类含量在种源间的变异

各种源厚朴酚、和厚朴酚、厚朴酚类总量以及厚朴酚/和厚朴酚比值的均值列于表 1。由此计算试验林厚朴酚含量的群体均值为 1.91%,种源间变幅为 0.50%~4.26%,最优的鄂西鹤峰种源是最低的江西庐山种源的 8.52 倍;和厚朴酚含量在种源间的变幅更大(0.08%~2.90%),以鄂西五峰种源最高,是庐山种源的 36.25 倍。从总量看,以鄂西的五峰、鹤峰和恩施 3 个最优,其均值(6.0%)是最差的庐山种源的 10.34 倍,为浙江景宁 2 个对照种源(1.32%)的 4.55 倍;其它种源基本一致(1.20%~2.70%),唯有广西资源种源的和厚朴酚含量较高(0.73%)。从厚朴酚与和厚朴酚的比值看,鄂西种源最低(1.28~1.80),广西资源次之(2.63),其它种源变动于 6.06~10.06,总体比较相似。这 4 个性状的变异规律与直接从产地采样的研究结果十分吻合^[4]。可以认为传统产区的厚朴品质差异并非全因当地的气候、土壤等环境因素的影响,而是因长期自然选择已导致厚朴群体发生遗传分化之故。四川灌县栽培有 2 种叶形的厚朴,种源试验采集的植株叶形类似于浙江种源,相应其酚类含量有别于鄂西种源,而与浙江各种源类似。

表 1 不同种源厚朴酚类含量及树高、胸径、皮厚生量

种源	厚朴酚/ %	和厚朴酚/ %	总厚朴酚类/ %	厚/和 比值	胸径/ cm	树高/ cm	皮厚/ cm
湖南城步	1.52	0.17	1.69	8.94	3.35	370.1	1.61
江西庐山	0.50	0.08	0.58	6.25	3.10	347.6	1.53
湖北五峰	3.71	2.90	6.61	1.28	2.93	344.5	1.57
广西资源	1.92	0.73	2.65	2.63	3.62	367.5	1.83
浙江景宁 2	1.03	0.17	1.20	6.06	2.99	350.0	1.50
湖北鹤峰	4.26	2.35	6.61	1.81	2.75	319.6	1.43
福建蒲城	1.38	0.21	1.59	6.57	3.27	387.8	1.43
浙江遂昌	1.81	0.18	1.99	10.06	3.30	391.4	1.33
四川灌县	1.06	0.13	1.19	8.15	3.29	382.4	1.57
浙江景宁 1	1.30	0.14	1.44	9.29	3.43	389.0	1.43
浙江天台	1.51	0.15	1.66	10.07	3.40	398.4	1.27
福建光泽	2.04	0.23	2.27	8.87	3.19	361.4	1.20
湖北恩施	2.70	2.08	4.78	1.30	2.93	337.1	1.01
种源均值	1.91	0.73	2.64	6.25	3.20	365.1	1.45

注:树高、胸径为试验 3 个重复的均值;树皮厚为测定 3 个样株的均值。

从厚朴酚类总含量看, 5年生幼林厚朴, 鄂西种源含量高达 4.78% ~ 6.61%, 高于原产地同龄植株水平^[4], 也已高于药典所要求的 3% 以上含量的标准。由此, 可以认为选用优质厚朴种源造林可以适当缩短其生产周期, 改变经营模式, 提高单位时间内的经济效益。

为检验各性状差异的显著性, 表 2 列出了性状的方差分析结果。可见, 4 个品质指标性状在种源间均具有极显著的差异, 而在种源内 3 个株间均无显著差异。表中同时还列出了采样株树皮厚度和 3 个重复树高、胸径 3 个性状的方差分析结果, 它们在种源间也均具有显著的差异, 且皮厚在种源内株间差异也达到显著水准。

表 2 厚朴种源各性状方差分析结果

性状	变异来源	自由度	均方	F 值	性状	变异来源	自由度	均方	F 值
厚朴酚	种源间	12	3.461 5	4.14* *	树高	种源间	12	1 763.2	3.58* *
	株间	2	1.807 1	2.16		重复间	2	7 006.1	
	机误	24	0.836 0			机误	24	492.1	
和厚朴酚	种源间	12	3.019 2	10.34* *	胸径	种源间	12	0.179 3	2.56*
	株间	2	0.408 4	1.40		重复间	2	1.074 2	
	机误	24	0.292 0			机误	24	0.070 1	
总酚类	种源间	12	12.350 7	6.67* *	皮厚	种源间	12	0.122 0	3.11* *
	株间	2	3.919 6	2.12		重复间	2	0.136 4	3.48*
	机误	24	1.850 3			机误	24	0.039 2	
厚/和比值	种源间	12	33.897 2	18.70* *					
	株间	2	0.226 9						
	机误	24	1.813 1						

注: 树高、胸径为 3 个重复小区均值所作的分析结果; $F_{0.05}(12, 24) = 2.18$, $F_{0.01}(12, 24) = 3.03$; $F_{0.05}(2, 24) = 3.40$, $F_{0.01}(2, 24) = 5.61$ 。

2.2 厚朴种源性状的遗传及其相关规律

分别估算叶形、油性、胸径、树高、树皮厚度以及 4 个酚类含量性状的遗传、表型相关系数和种源遗传力, 结果列于表 3。

所研究的厚朴在叶形上可划分为小凸尖、微凹至平以及凹至深凹 3 种类型^[4]。表 3 中叶形与厚朴酚、和厚朴酚及其总量均具有显著或极显著的表型相关, 且遗传相关系数也很高 (0.785 3 ~ 0.840 7), 即叶先端小凸起的鄂西种源酚类含量最高。随凹陷加深, 含量减少, 而且叶形的遗传力极高。因此, 依据叶形作群体选择是有效的。厚朴皮是否油性一般认为同树龄相关, 即要达到一定的年龄才能成为油朴。从本试验看, 鄂西的五峰、鹤峰 2 个种源中出现油朴, 且它们的酚类含量很高, 这表明油朴具有较强的遗传性, 油性是受遗传控制的 (种源遗传力达 0.916 7)。油性同各酚类含量性状呈极显著表型相关, 遗传相关系数也高达 0.884 1 ~ 0.896 6。

胸径、树高 2 个性状同厚朴酚类性状的表型相关均显著或极显著, 其中, 同酚类含量呈负表型相关, 而与厚/和比值呈正相关。从各种源树高、胸径均值看, 鄂西种源树高、胸径生长量较小, 而其它种源, 尤其是浙江种源生长较优。这是从群体角度所作的分析结果, 即小凸尖型的鄂西种源品质最优, 但在浙江景宁试点生长不如当地种源。然而, 同一种源的同龄林中, 速生单株品质较优^[6], 而且种源内单株生长、品质的变异均较大, 这为下一步选择优质、速生良种提供了可能。皮厚与高、径有所不同, 表型、遗传相关系数均很小。这似与样株数小有关。相关分析表

明, 仅依树高、胸径作速生种源选择, 会导致厚朴品质下降。对于视品质为根本的药材, 品质是首选性状, 在此基础上考虑树皮厚、胸径和树高等速生性状。也进一步说明了优良种源内开展单株选择的必要性。

各品质性状间表型相关极显著, 遗传相关系数高达 0.840 9~0.991 0, 其遗传力也高达 0.758 5~0.946 5。同生长性状相比, 品质性状的遗传性更强, 改良厚朴品质性状的效率比生长性状更高。可以预计, 开展厚朴药材品质改良将是十分有效的。

表3 厚朴各性状表型、遗传相关及其种源遗传力

性状	叶形	油性	胸径	树高	皮厚	厚朴酚	和厚朴酚	酚总量	厚/和比值
叶形		0.640 7			-0.685 6	0.840 7	0.785 3	0.820 4	-0.507 0
油性	0.567 9*				0.0713	0.884 1	0.893 9	0.896 6	-0.668 4
胸径	-0.498 2	-0.105 7							
树高	-0.394 2	-0.054 7	0.819 6**						
皮厚	-0.441 1	0.220 4	0.691 1**	0.562 4*		-0.396 0	-0.254 5	-0.327 8	-0.084 1
厚朴酚	0.601 4*	0.740 1**	-0.580 7*	-0.621 7*	0.081 6		0.963 8	0.990 8	-0.840 9
和厚朴酚	0.683 3**	0.762 8**	-0.670 5*	-0.711 2**	0.063 9	0.853 3**		0.991 0	-0.925 9
酚总量	0.664 0*	0.778 8**	-0.634 9*	-0.669 1**	0.076 4	0.968 8**	0.954 6**		-0.891 9
厚/和比值	-0.469 0	-0.535 2	0.576 3*	0.779 6**	-0.132 1	-0.475 9	-0.750 3**	-0.624 4*	
遗传力	1.000 0	0.916 7	0.720 9	0.608 8	0.678 8	0.758 5	0.903 2	0.850 2	0.946 5

注: 表的右上角为遗传相关系数, 左下角为表型相关系数; $R_{0.05}(11) = 0.552 9$, $R_{0.01}(11) = 0.683 5$; 树高、胸径用其3个重复均值估算。

2.3 厚朴酚类含量变异模式

分别估算4个酚类性状与各种源采种点的经、纬度线性相关系数(见表4)。表中同时列出从7个省11个县直接采样相关分析的结果以作比较^[4]。可见, 和厚朴酚含量大小呈以经向为主的经、纬双向变异模式。以西北向的鄂西小凸尖型的种源最高, 由西北向东南和厚朴酚含量逐渐减少。厚朴酚有别于和厚朴酚, 仅与经度有一定负相关, 呈从西到东减少的趋势。总含量与和厚朴酚相似, 而两者的比值则主要呈经向变异, 从东到西, 比值增大。该种源的结果与直接从产地采样分析结果基本一致。

表4 厚朴酚类含量与产地经纬度的相关系数

材料来源	项目	厚朴酚	和厚朴酚	厚朴酚类总含量	厚朴酚/和厚朴酚
产地取样	经度	0.016 6	-0.383 2*	-0.139 6	0.714 2**
	纬度	0.059 1	0.291 3*	0.153 9	-0.368 6**
种源林取样	经度	-0.652 6*	-0.735 6**	-0.711 1**	0.752 7**
	纬度	0.543 8	0.696 9**	0.628 7*	-0.514 7

注: $r_{0.05}(68) = 0.231 9$, $r_{0.01}(68) = 0.301 7$; $r_{0.05}(11) = 0.552 9$, $r_{0.01}(11) = 0.683 5$ 。

3 讨论

厚朴作为常用中药材, 一直以来人们讲究“道地”药材, 即评价其品质优劣, 产地是十分重要的因素。本研究结果证明了由于产地不同, 形成了遗传差异对品质影响的重要性, 这个研究为下一步利用优良种源并在其中选择优良单株以提高厚朴药材品质和稳定性奠定了基础。同时, 也应该看到试验尚处于幼林状态, 各研究性状的稳定性还有待于进一步的观测和分析。

参考文献:

- [1] 芦金清. 中药厚朴的化学成分及临床研究进展[J]. 中医药学报, 1989, 15(5): 39~42.
- [2] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 广州: 广东科技出版社, 1995. 218.
- [3] 赵中振, 胡梅, 唐晓军, 等. 不同树龄三种厚朴中厚朴酚与和厚朴酚含量的研究[J]. 中国中药杂志, 1992, 17(1): 15~18.
- [4] 斯金平, 潘心平, 童再康, 等. 产地和树叶类型与厚朴质量关系的研究[J]. 中药材, 1998, 21(11): 541~542.
- [5] 李宗, 张明, 林晓, 等. 闽产厚朴质量的研究[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(7): 15~17.
- [6] 斯金平, 潘心平, 刘饶, 等. 人工栽培厚朴酚类含量的研究[J]. 浙江林业科技, 1994, 14(5): 21~22.
- [7] 斯金平, 刘饶, 潘心平, 等. 不同种源厚朴性状变异的初步研究[J]. 浙江林业科技, 1998, 18(3): 13~16.
- [8] 宋万志. 厚朴酚类有效成分的测定及高效液相色谱图[J]. 天然产物研究与开发, 1990, 2(4): 1~5.

Study on Variation and Inheritance of Phenolic Compound Concentrations in *Magnolia officinalis* of Different Seed Sources

TONG Zai-kang¹, SI Jin-ping², LIU Rao³

(1. Department of Resource and Environment, Zhejiang Forestry College, Linan 311300, Zhejiang, China;

2. Scientific and Technological Commission of Jingning County, Zhejiang Province, Jingning 323500, Zhejiang, China;

3. Forestry Farm of Jingning County, Zhejiang Province, Jingning 323500, Zhejiang, China)

Abstract: Concentrations of magnolol and honokiol contained in 39 bark samples of 13 seed sources from a five-year-old provenance test plantation were determined by means of HPLC. It's concluded that such quality characteristics as concentrations of magnolol and honokiol, the total concentration of phenolic compounds in *Magnolia officinalis*, and the proportion of magnolol to honokiol differ significantly or most significantly among various seed sources. Phenolic compounds from the seed source of west of Hubei, the leaf of which has a tip, are the highest in concentrations, with those from the seed source of Mt. Lushan, the leaf of which is concave in the tip, being the lowest. The total concentration of the former is 10.34 times as high as that of the latter. The four quality characteristics are all genetically controlled intensely. The heritabilities of the seed sources of various characters are from 0.7585~0.9465. Geographic variation of various characters is in dual directions, longitudinal and latitudinal, with longitudinal variations being dominant.

Key words: *Magnolia officinalis*; provenance test; magnolol; honokiol; geographic variation; provenance selection