

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2022.005.005

青钱柳种质资源评价及其优良家系和单株筛选

蓝丽霞¹, 徐展宏¹, 孙操稳^{1,2}, 方升佐^{1,2*}

(1. 南京林业大学林学院, 江苏 南京 210037; 2. 南京林业大学南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037)

摘要: [目的] 在对 3.5 年生青钱柳种质资源进行评价的基础上, 初选适合南京及周边环境相似地区的优良家系及单株, 为青钱柳定向培育提供理论依据。[方法] 以青钱柳种质资源库 31 个家系为材料, 测定其生长性状和叶总黄酮、总三萜、总多酚含量, 分析各性状间的差异, 并对青钱柳家系进行聚类分析, 同时利用熵权法进行优良家系-单株配合选择。[结果] 青钱柳树高、地径等生长性状及叶总黄酮、总三萜、总多酚含量在参试家系间存在显著差异; 聚类分析将 31 个参试家系聚为 4 类, 第 1 类推荐为高三萜积累家系, 第 2 类推荐为高多酚积累家系, 第 3 类推荐为高黄酮积累家系, 第 4 类为叶次生代谢物综合含量表现较差家系。根据生长性状和叶主要次生代谢物含量的数据, 采用熵权法初选出 7 个优良家系, 分别为 GXJZS7#、GZSQ12#、GXLS26#、HNYS2#、AHQLF13#、SCMC31#和 GXJZS1#; 针对优良家系内单株进一步进行综合评价, 筛选出 11 株优良单株, 在叶片总黄酮、总三萜和总多酚含量上综合表现较优。[结论] 青钱柳生长和次生代谢物含量在家系间存在显著差异, 为青钱柳良种选育提供了极大的空间; 基于优良家系-单株配合选择, 初步筛选出 7 个优良家系和 11 株优良单株可用于进一步试验和应用。

关键词: 青钱柳; 生长; 次生代谢物质; 综合评价

中图分类号: S722.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2022)05-0042-10

青钱柳 (*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja) 因其独特的甜味而被称为“甜茶树”, 主要分布在我国的热带地区^[1-2]。在我国, 青钱柳叶主要用作中药配方以及保健食品原料^[3]。药理研究表明, 青钱柳叶提取物具有降“三高”、抗氧化、抗菌等功效^[4], 主要归因其数量众多的生物活性物质如黄酮类、三萜类、多酚类等化合物的协同作用^[5-7]。但青钱柳天然林资源稀少, 多零星分布在深山老林和自然保护区中, 加之环境的破坏以及人为过度采伐利用, 严重影响了青钱柳种质资源的发掘与利用。

植物在进化过程中, 由于基因突变、自然选择以及生态隔离等原因, 分化产生了种内有差别的地理生态种源和家系, 导致生长和次生代谢物质的合成存在较大差异^[8]。如不同厚朴 (*Magnolia*

officinalis Rehd. et Wilson) 种源间厚朴酚类物质总量及其单体均存在显著差异^[9]。鞠建明等^[10]指出, 银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 半同胞家系种质资源的总黄酮醇苷含量、总内酯含量、总银杏酸含量均具遗传差异。目前, 对青钱柳的研究发现, 青钱柳黄酮类化合物、三萜类化合物以及多酚类化合物含量在不同种源和家系间差异显著^[11-13]。此外, 青钱柳不同单株间的次生代谢物质含量也存在较大差异^[14]。青钱柳种质资源丰富的遗传变异, 是其良种选育、资源开发利用的基础; 但目前青钱柳良种选育的研究大多集中在种源和家系水平, 且涉及的种源和家系较少^[15], 关于家系-单株配合选择的研究鲜有报道。

因此, 本研究以前期收集的青钱柳种质资源为材料, 通过分析研究青钱柳生长性状和次生代谢物

收稿日期: 2022-01-16 修回日期: 2022-04-23

基金项目: 江苏省农业重点研发项目 (No. BK20200771); 国家自然科学基金面上项目 (32071750)。

* 通讯作者: 方升佐, 博士, 教授。主要研究方向: 人工林定向培育。电话: 025-85428603, 13951026165。Email: fangsz@njfu.edu.cn

质含量在参试家系间的差异,初选出适合江苏南京及周边环境相似地区的优良家系和单株,为青钱柳良种选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

参试青钱柳种源及家系的种子均于2014年10月从天然林种群中的优势木和亚优势木上采集。对采集的种子进行层积催芽处理后,于2016年春季将发芽后的芽苗移植于8 cm × 11 cm的无纺布容器中育苗。经苗期初步筛选后,于2017年4月移栽至江苏省青钱柳种质资源库中定植,每个家系的定植株数为5~30株,种植株行距为2 m × 3 m。由于资源库的立地条件相对较为一致,种植时按家系进行配置。根据前期田间调查,本研究共选取青钱柳资源库中31个家系(目前保存株数>5株)作为研究材料,在2020年10—11月对31个家系的所有单株进行相关生长指标的测定,并对每个家系内树高和地径均高于31个家系平均值的单株叶片进行次生代谢物含量的测定(共176株),具体家系原产地信息见表1。

江苏省青钱柳种质资源库位于江苏省南京市溧水区南京林业大学白马教学科研基地(31°35' N, 119°09' E),属亚热带季风区,四季分明,光照充足,年均气温15.4℃,年降水量1 087.4 mm,且主要集中在5—8月。土壤为黄棕壤,0~40 cm土壤的密度为1.30 g·cm⁻³左右,pH值5.6左右,土壤肥力较低。

1.2 调查研究方法

1.2.1 树高和地径测定 分别用测高杆和胸径尺测定31个家系所有单株的树高和地径,树高精确到0.01 m、地径精确到0.01 cm。以单株的树高和地径为基础,计算同一家系的平均值和标准偏差。

1.2.2 叶次生代谢物含量测定 对每个取样单株从树冠中部的东南西北4个方向随机采10片健康功能叶,共采集3份用于次生代谢物含量测定。各家系的次生代谢物含量也是以单株含量为基础,计算其平均值和标准偏差。青钱柳次生代谢物的提取参照林源等^[16]的方法。总黄酮含量的测定参照Zhou等^[4]的方法,以芦丁标准品为对照品绘制标准曲线。总三萜含量的测定参照Fan等^[17]的方法,以齐墩果酸标准品为对照品绘制标准曲线。总多酚含量的测定参照Xie等^[18]的方法,以没食子

表1 供试青钱柳种源和家系地理位置信息

Table 1 Geographic location information for tested *Cyclocarya paliurus* provenances and families

种源 Provenance	家系 Family	取样株数 Sampling Number	经度(E) Longitude	纬度(N) Latitude	海拔/m Altitude
安徽旌德 (AHJD)	1#	5	118°27'	30°13'	550.0
	4#	3			680.0
安徽清凉峰 (AHQLF)	8#	7	118°53'	30°8'	732.0
	11#	6			820.0
	13#	3			840.0
广西龙胜 (GXLS)	26#	4	109°54'	25°38'	598.0
广西金钟山 (GXJZS)	1#	4	110°9'	24°58'	1 708.0
	7#	4			1 698.0
贵州石阡 (GZSQ)	9#	12	107°52'	27°31'	1 230.0
	12#	9			1 236.0
贵州印江 (GZYJ)	7#	3	108°31'	27°45'	1 231.0
湖北五峰 (HBWF)	1#	4	110°34'	30°19'	957.9
	7#	3			963.6
	10#	4			963.3
	15#	7			988.0
湖北鹤峰 (HBHF)	1#	3	110°28'	29°52'	1 115.8
湖南永顺 (HNYNS)	2#	8	110°19'	28°52'	620.8
	3#	4			670.8
	7#	4			667.0
江西九江 (JXJJ)	1#	5	114°33'	29°2'	854.0
四川沐川 (SCMC)	22#	4	103°47'	20°2'	1 176.0
	31#	5			1 230.0
浙江凤阳山 (ZJFYS)	1#	3	119°10'	27°53'	1 216.0
	2#	6			1 210.0
	4#	6			1 200.0
浙江龙王山 (ZJLWS)	3#	6	119°26'	30°25'	567.0
浙江梅坞岭 (ZJMWL)	4#	8	120°49'	29°56'	510.0
浙江商量岗 (ZJSJLG)	9#	6	121°12'	29°43'	740.0
浙江天童 (ZJTJ)	2#	12	120°45'	29°48'	275.0
	3#	15			290.0
浙江文成 (ZJWC)	2#	3	119°50'	27°52'	944.0

酸标准品为对照品绘制标准曲线。

1.2.3 优良家系与单株的筛选评价 使用熵权法^[19]筛选优良家系和单株,将家系/单株的指标值进行标准化,利用指标权重计算各家系/单株综合得分值,公式如下:

$$W_j = \frac{D_j}{\sum_{j=1}^m D_j} \quad (1)$$

$$D = \sum_{i=1}^n W_j H_{ij} \quad (2)$$

式(1)~(2)中: W_j 为指标权重值, m 为指标数, D_j 为指标差异系数; D 为综合得分, n 为样本数, H_{ij} 为第 j 指标第 i 样本标准化后的值。

优良家系以综合得分值位于前 20% 为选择标准;优良单株以综合得分值位于前 30% 为选择标准。

1.3 数据处理

用 Excel 2010 和 SPSS 26.0 软件进行数据统计与分析。方差分析模型为:

$$y_{ij} = \mu + F_j + S_k + e_{ij}$$

式中: y_{ij} 为第 i 家系的第 j 个单株的观测值, μ 为总体均值, F_j 为家系效应, S_k 为单株效应, e_{ij} 为随机误差。

用 Duncan's 多重比较分析家系之间的差异;采用变异系数($CV = (\text{标准偏差} / \text{平均值}) \times 100\%$)表示各性状在家系间的离散程度,反映生长和主要次生代谢产物的变异情况^[20];在对各指标数据进行无量纲化处理基础上,采用欧氏距离 ward 法进行系统聚类分析^[21]。

2 结果与分析

2.1 青钱柳家系生长和叶主要次生代谢物质含量的差异

青钱柳 31 个参试家系的生长状况和叶主要次生代谢物质含量见表 2。3.5 年生时,树高和地径的变化范围分别为 2.12~4.25 m 和 4.41~8.72 cm,平均值分别为 3.15 m 和 6.34 cm,其中,GZSQ12#家系的树高和地径均显著高于 HBHF1#、ZJFY4#和 ZJMWL4#家系($p < 0.05$)。

参试家系间的总黄酮、总三萜和总多酚含量的变异范围分别为 20.62~47.35、34.51~67.51、6.62~28.25 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$,总三萜在青钱柳叶主要次生代谢物质中含量相对较高。与 31 个家系

的平均值相比,SCMC31#、GXJZS7#、HBWF1#、GXJZS1#、AHQLF4#、ZJTT2#、ZJFY1#、GXLS26#和 AHQLF13#的总黄酮含量分别比平均值($30.92 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)高 53.14%、52.33%、34.12%、33.89%、32.73%、31.24%、14.84%、14.62% 和 9.99%,GZSQ12#、HNYS2#、HNYS3#、GXJZS7#、GXJZS1# AHQLF13#和 GZYJ7#的总三萜含量分别比平均值($47.87 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)高 41.03%、40.07%、39.69%、26.20%、18.47%、12.87% 和 12.43%。总多酚含量最高的家系为 ZJMWL4#,其含量为 $28.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

定植 3.5 年时,31 个参试青钱柳家系 2 个生长性状和叶 3 个次生代谢物质含量的表型变异系数的变化范围为 16.91%~27.18%,为青钱柳优良家系的筛选提供了极大的空间,其中,叶总多酚(27.18%)、总黄酮(24.12%)的含量变异较大,在参试家系间存在广泛变异,而叶总三萜含量(18.92%)、树高(16.91%)、地径(17.85%)变异系数相对较低,表明其在参试家系间性状较为稳定。

2.2 青钱柳家系的聚类分析

根据生长和主要次生代谢物含量对 31 个参试家系进行聚类分析,在欧氏距离为 7 时,将 31 个青钱柳家系聚为 4 类(图 1),其中,第 1 类(包含 8 个家系)为叶片总三萜含量较高家系,总三萜含量均值为 $57.89 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。第 2 类(包含 7 个家系)为叶片总多酚含量较高家系,其含量均值为 $19.15 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。第 3 类(包含 6 个家系)为叶片总黄酮含量较高家系,总黄酮含量变化范围为 $38.60 \sim 47.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。第 4 类(包含 10 个家系)为叶次生代谢物综合含量和生长均较差家系,该类群叶次生代谢含量和生长均值低于参试家系平均值。

2.3 青钱柳优良家系评价与筛选

采用多指标选择法进行优良家系筛选,以定植后 3.5 年生的树高、地径及叶主要次生代谢物质含量为指标,采用熵权法计算青钱柳家系各指标权重(表 3)。根据综合得分值对青钱柳 31 个家系进行排序(表 4),按照 20% 的入选率^[22],筛选出 GXJZS7#、GZSQ12#、GXLS26#、HNYS2#、AHQLF13#、SCMC31#和 GXJZS1#共 7 个家系作为南京及周边环境相似地区的优良家系。结合图 1 发现,GZSQ12#、HNYS2#和 AHQLF13#属于类群 1,生长和叶总三萜含量较高,GXLS26#

表 2 定植 3.5 年时青钱柳家系生长和叶主要次生代谢物含量的差异

Table 2 Variation in growth and leaf secondary metabolite content among *Cyclocarya paliurus* families at 3.5 years of planting

家系 Family	树高 Tree height/m	地径 Basal diameter/cm	总黄酮含量 Total flavonoid content/ (mg g ⁻¹)	总三萜含量 Total triterpenoid content/ (mg g ⁻¹)	总多酚含量 Total polyphenol content/ (mg g ⁻¹)
AHJD1#	3.84±0.23 a-c	7.22±0.39 a-d	28.19±2.86 c-f	38.45±0.99 d-f	17.15±2.46 a-e
AHQLF4#	2.67±0.16 hi	5.37±0.37 d-f	41.04±3.14 ab	51.23±2.72 b-f	24.49±0.09 a-d
AHQLF8#	2.46±0.20 hi	5.47±0.36 d-f	23.38±1.25 d-f	46.23±2.42 b-g	14.54±1.70 b-e
AHQLF11#	3.77±0.22 a-d	8.72±0.94 a	26.69±2.66 c-f	34.51±5.25 g	6.62±0.85 e
AHQLF13#	3.20±0.28 b-h	7.13±0.57 a-d	34.01±1.58 b-e	54.03±1.57 a-d	21.83±1.45 a-d
GXLS26#	4.19±0.17 a	8.03±0.77 a-c	35.44±3.10 b-d	40.88±3.66 c-g	25.57±1.18 a-c
GXJZS1#	2.69±0.32 f-i	5.35±0.43 d-f	41.40±5.66 ab	56.71±5.85 a-c	25.36±6.90 a-c
GXJZS7#	3.34±0.04 a-h	6.58±0.15 a-f	47.10±4.53 a	60.41±2.42 ab	19.83±2.23 a-d
GZSQ9#	3.78±0.20 a-d	6.64±0.44 a-f	24.68±1.43 d-f	50.28±2.33 b-g	27.78±2.30 a
GZSQ12#	4.25±0.20 a	7.17±0.49 a-d	23.90±1.48 d-f	67.51±3.76 a	25.61±1.59 a-c
GZYJ7#	3.60±0.73 a-f	7.23±1.97 a-d	25.38±6.38 d-f	53.82±10.25 a-e	19.55±2.42 a-d
HBHF1#	2.12±0.49 i	4.50±0.65 ef	21.67±0.94 f	37.57±3.60 d-g	22.33±2.14 a-d
HBWF1#	2.90±0.30 c-i	6.58±0.64 a-f	41.47±3.09 ab	46.98±3.54 b-g	23.44±2.64 a-d
HBWF7#	3.49±0.25 a-g	6.97±0.49 a-e	26.55±4.47 d-f	40.18±3.48 d-g	16.72±3.63 a-e
HBWF10#	2.87±0.36 c-i	5.90±0.76 c-f	30.19±3.98 b-f	41.24±2.23 c-g	16.03±0.97 a-e
HBWF15#	3.19±0.41 b-h	6.87±1.01 a-f	31.06±1.76 b-f	50.52±2.08 b-g	22.18±0.85 a-d
HNYS2#	3.91±0.18 a-b	8.38±0.75 ab	20.62±2.03 f	67.05±2.85 a	12.12±1.00 de
HNYS3#	2.94±0.22 b-i	5.65±0.39 c-f	26.83±3.30 c-f	66.87±3.47 a	17.05±3.74 a-e
HNYS7#	2.73±0.38 e-i	5.80±0.58 c-f	27.77±3.60 c-f	49.48±8.84 b-g	21.01±3.76 a-d
JXJJ1#	3.68±0.19 a-e	6.56±0.30 a-f	25.79±5.27 d-f	53.01±1.51 a-e	16.94±1.33 a-e
SCMC22#	3.09±0.10 b-i	6.08±0.31 b-f	38.60±5.52 a-c	50.83±5.65 b-g	24.67±4.59 a-d
SCMC31#	2.61±0.32 f-i	5.40±0.74 d-f	47.35±6.78 a	49.43±3.91 b-g	26.24±3.84 ab
ZJFYS1#	2.83±0.49 d-i	4.93±0.89 d-f	35.51±9.20 b-d	45.79±4.42 b-g	12.50±6.68 de
ZJFYS2#	2.66±0.36 f-i	5.55±0.62 c-f	31.68±3.71 b-f	37.32±7.99 e-g	13.27±2.96 c-e
ZJFYS4#	2.50±0.18 g-i	4.52±0.44 ef	26.35±5.27 d-f	42.62±3.44 c-g	12.26±2.34 de
ZJLWS3#	3.21±0.26 b-h	6.85±0.84 a-f	28.68±1.18 c-f	38.85±2.13 d-g	20.38±1.29 a-d
ZJMWL4#	2.74±0.18 e-i	4.41±0.42 f	31.16±2.06 b-f	43.67±3.86 c-g	28.25±2.61 a
ZJSLG9#	3.09±0.28 b-i	7.15±0.78 a-d	22.24±1.81 ef	42.31±1.53 c-g	22.13±3.46 a-d
ZJTT2#	2.98±0.12 b-i	5.94±0.40 b-f	40.58±1.54 ab	44.47±3.88 b-g	17.37±2.58 a-e
ZJTT3#	2.93±0.16 b-i	5.57±0.33 c-f	28.33±2.35 c-f	46.33±3.68 b-g	27.03±4.08 ab
ZJWC2#	3.44±0.16 a-h	7.97±1.11 a-c	24.91±0.87 d-f	35.31±2.81 fg	25.49±2.15 a-c
<i>p</i>	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05
平均值 Average	3.15	6.34	30.92	47.87	20.18
表型变异系数 CV/%	16.91	17.85	24.12	18.92	27.18

注: 不同小写字母为青钱柳家系在 0.05 水平上差异显著

Note: Different letters mean significant differences among families at 0.05 level

属于类群 2, 具有较高的总多酚含量, GXJZS7#、SCMC31#和 GXJZS1#属于类群 3, 其叶总黄酮含

量较高。青钱柳优良家系的性状表现见表 5。入选的

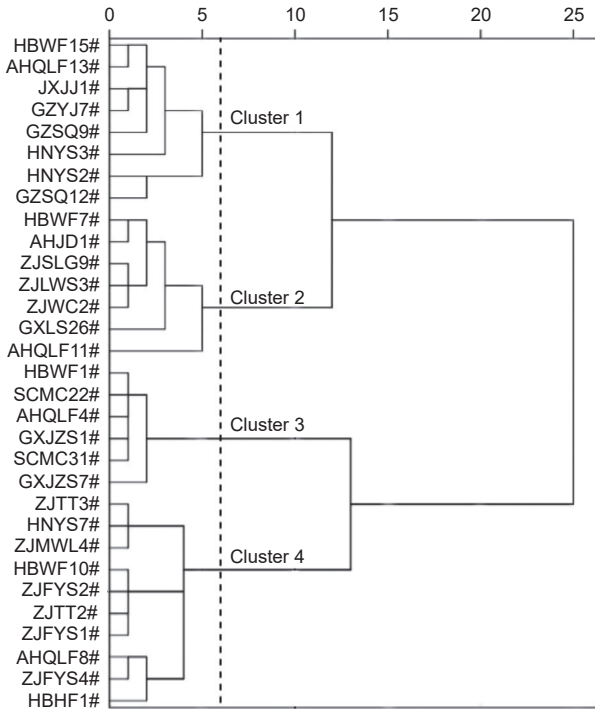


图 1 基于生长和叶次生代谢物质含量的青钱柳 31 个家系的聚类分析

Fig. 1 Cluster analysis dendrogram of the 31 *C. paliurus* families at 3.5 years of planting based on tree growth and leaf secondary metabolite content at 6 in the Euclidean distance

7 个优良家系的树高和地径平均值分别为 3.46 m 和 6.86 cm, 分别高于参试家系总体均值的 9.84% 和 8.20%; 优良家系叶总黄酮、总三萜和总多酚含量均值分别为 35.69、56.57、22.37 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$, 较

表 3 定植 3.5 年时青钱柳综合评价的多指标熵权

Table 3 Multi-trait entropy weights of comprehensive evaluation for *Cyclocaryapaliurus* at 3.5 years of planting

指标 Index	指标信息熵 E_j	指标差异性系数 D_j	指标熵权 W_j
树高 Tree height	0.959 0	0.041 0	0.152 2
地径 Basal diameter	0.942 9	0.057 1	0.212 3
总黄酮 Total flavonoid	0.925 2	0.074 8	0.278 1
总三萜 Total triterpenoid	0.932 3	0.067 7	0.251 5
总多酚 Total polyphenol	0.971 5	0.028 5	0.105 8

参试家系总体均值的分别提高了 15.43%、18.17% 和 10.85%。

2.4 基于优良家系的优良单株选择

在优良家系选择的基础上进一步开展优良单株选择, 筛选出的 7 个优良家系 (GXJZS7#、GZSQ12#、GXLS26#、HNYS2#、AHQLF13#、SCMC31# 和 GXJZS1#) 中共包含 37 个单株, 计算各单株的综合得分值并排序, 结果 (表 6) 表明: GZSQ12#-4 单株综合得分最高, SCMC31#-3 单株次之。以综合得分值位于前 30% 为入选标准, 共筛选出 11 个优良单株 (GZSQ12#-4、SCMC31#-3、HNYS2#-3、GZSQ12#-1、GZSQ12#-5、GZSQ12#-8、GXJZS7#-2、HNYS2#-4、GXJZS1#-2、GXJZS7#-4 和 GZSQ12#-9), 占 176 株总参试单株的 6.25%, 其中, GZSQ12#家系内

表 4 定植 3.5 年时参试青钱柳家系的综合得分及排序

Table 4 Comprehensive scores and ranking of the *Cyclocarya paliurus* families at 3.5 years of planting

家系 Family	各指标得分 Score of each index					综合得分 Comprehensive score	排名 Rank
	树高 Tree height	地径 Basal diameter	总黄酮含量 Total flavonoid content	总三萜含量 Total triterpenoid content	总多酚含量 Total polyphenol content		
GXJZS7#	0.087 3	0.106 7	0.275 5	0.197 7	0.064 6	0.731 8	1
GZSQ12#	0.152 3	0.135 9	0.034 1	0.251 8	0.092 9	0.667 0	2
GXLS26#	0.147 6	0.178 2	0.154 3	0.048 8	0.092 7	0.621 6	3
HNYS2#	0.127 9	0.195 5	0.000 0	0.248 3	0.026 9	0.598 7	4
AHQLF13#	0.077 1	0.134 3	0.139 3	0.149 0	0.074 4	0.574 1	5
SCMC31#	0.035 0	0.048 7	0.278 1	0.114 0	0.096 0	0.571 8	6
GXJZS1#	0.040 3	0.046 3	0.216 2	0.169 5	0.091 7	0.564 0	7
...
AHQLF8#	0.024 3	0.052 3	0.028 7	0.089 6	0.038 7	0.233 6	29
ZJFYS4#	0.027 0	0.005 2	0.059 7	0.062 1	0.027 6	0.181 6	30
HBHF1#	0.000 0	0.004 3	0.011 0	0.023 6	0.076 9	0.115 8	31

表 5 定植 3.5 年时优良家系性状表现

Table 5 Characters performance for the excellent *Cyclocarya paliurus* families at 3.5 years of planting

家系 Family	树高 Tree height/m	地径 Basal diameter/cm	总黄酮含量 Total flavonoid content/(mg·g ⁻¹)	总三萜含量 Total triterpenoid content/(mg·g ⁻¹)	总多酚含量 Total polyphenol content/(mg·g ⁻¹)
GXJZS7#	3.34	6.58	47.10	60.41	19.83
GZSQ12#	4.25	7.17	23.90	67.51	25.61
GXLS26#	4.19	8.03	35.44	40.88	25.57
HNYS2#	3.91	8.38	20.62	67.05	12.12
AHQLF13#	3.20	7.13	34.01	54.03	21.83
SCMC31#	2.61	5.40	47.35	49.43	26.24
GXJZS1#	2.69	5.35	41.40	56.71	25.36
优良家系均值	3.46	6.86	35.69	56.57	22.37
参试家系均值	3.15	6.34	30.92	47.87	20.18

表 6 定植 3.5 年时优良家系内青钱柳单株的综合得分及排序

Table 6 Comprehensive scores and ranking of the *Cyclocarya paliurus* individuals within superior families after 3.5 years of planting

单株 individuals	各指标得分 Score of each index					综合得分 Comprehensive score	排名 Rank
	树高 Tree height	地径 Basal diameter	总黄酮含量 Total flavonoid content	总三萜含量 Total triterpenoid content	总多酚含量 Total polyphenol content		
GZSQ12#-4	0.152 3	0.122 1	0.090 7	0.234 3	0.065 9	0.665 3	1
SCMC31#-3	0.065 8	0.073 2	0.278 1	0.153 8	0.082 2	0.653 2	2
HNYS2#-3	0.126 8	0.212 4	0.047 5	0.243 1	0.012 3	0.642 1	3
GZSQ12#-1	0.149 2	0.112 3	0.052 2	0.224 3	0.095 6	0.633 6	4
GZSQ12#-5	0.137 3	0.097 7	0.066 0	0.251 6	0.066 0	0.618 6	5
GZSQ12#-8	0.136 0	0.139 1	0.046 3	0.222 2	0.061 9	0.605 6	6
GXJZS7#-2	0.079 9	0.083 0	0.206 3	0.161 1	0.054 8	0.585 1	7
HNYS2#-4	0.110 1	0.156 2	0.082 5	0.179 6	0.026 4	0.554 9	8
GXJZS1#-2	0.075 5	0.068 9	0.101 2	0.266 8	0.010 2	0.522 6	9
GXJZS7#-4	0.078 6	0.092 8	0.218 4	0.109 9	0.021 5	0.521 2	10
GZSQ12#-9	0.122 9	0.156 2	0.052 8	0.112 5	0.070 2	0.514 7	11
...
HNYS2#-7	0.088 2	0.095 2	0.004 2	0.165 8	0.000 0	0.353 4	35
HNYS2#-8	0.057 1	0.031 8	0.035 9	0.203 3	0.010 9	0.339 0	36
SCMC31#-1	0.052 7	0.063 5	0.141 2	0.038 3	0.036 5	0.332 3	37

的单株生长和叶次生代谢物含量总体表现较好, 而 HNYS2# 和 SCMC31# 家系单株表现相对较差。

由表 7 可知: 筛选出的优良单株平均树高、地径、叶总黄酮、总三萜和总多酚含量分别为 4.06 m、7.95 cm、35.85 mg·g⁻¹、69.42 mg·g⁻¹ 和 23.00 mg·g⁻¹, 分别比参试家系总体均值高 28.89%、25.39%、15.94%、45.02% 和 13.97%, 提高了选择效果, 筛选出的优良单株可用于青钱柳优良无性

系的繁殖利用。

3 讨论

表型性状是植物对外界环境条件的长期适应后形成稳定可遗传的性状, 表型性状的变异是遗传变异的外在表现。青钱柳分布区广泛, 北至河南南召, 南至广西百色, 导致了青钱柳种内存在较大表型变异。以往的研究发现, 青钱柳不同种源间生长

表 7 定植 3.5 年时优良单株性状表现

Table 7 Characters performance for the excellent *Cyclocarya paliurus* individuals at 3.5 years of planting

单株 Individual	树高 Tree height/m	地径 Basal diameter/cm	总黄酮含量 Total flavonoid content/(mg·g ⁻¹)	总三萜含量 Total triterpenoid content/(mg·g ⁻¹)	总多酚含量 Total polyphenol content/(mg·g ⁻¹)
GZSQ12#-4	4.97	8.10	31.60	78.41	27.01
SCMC31#-3	3.00	6.10	67.48	62.11	31.72
HNYS2#-3	4.39	11.80	23.31	80.20	11.49
GZSQ12#-1	4.90	7.70	24.21	76.39	35.60
GZSQ12#-5	4.63	7.10	26.87	81.91	27.04
GZSQ12#-8	4.60	8.80	23.09	75.95	25.85
GXJZS7#-2	3.32	6.50	53.73	63.58	23.80
HNYS2#-4	4.01	9.50	30.02	67.34	15.57
GXJZS1#-2	3.22	5.50	33.61	70.71	12.53
GXJZS7#-4	3.29	6.90	56.05	53.22	14.16
GZSQ12#-9	4.30	9.50	24.33	53.75	28.26
优良单株均值	4.06	7.95	35.85	69.42	23.00
参试家系均值	3.15	6.34	30.92	47.87	20.18

性状差异显著,并且黄酮类化合物的含量呈现经纬度双向变异^[23-24]。Sun等^[25]认为,青钱柳黄酮和三萜类化合物在家系水平存在丰富变异,这与本研究结果一致。一般情况下,变异系数大于10%,则认为种质间存在较大差异^[26-27],而本研究通过对青钱柳生长和主要次生代谢物质的性状变异分析发现,青钱柳的生长性状和次生代谢物含量存在显著变异,这与银杏^[28]、文冠果(*Xanthoceras sorbifolium* Bunge)^[29]等药用树种的研究结果一致。

多指标选择是利用多个指标进行综合评价分析,并筛选得到优良种质^[30],如王治会等^[31]利用总儿茶素、总游离氨基酸、咖啡碱等8项指标,筛选出5份功能成分含量高的茶树(*Camellia sinensis* (L.) O. Ktze.)种质资源;吴可心等^[32]通过杜仲绿原酸、桃叶珊瑚苷、总黄酮、茶多酚等活性成分指标进行药用优良杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliver)的筛选。此外,为获得最大药用保健价值和经济价值,需结合其单株产量进行综合考量。于国栋等^[33]将生长指标和药用成分含量相结合,对优良叶用银杏家系进行了综合评价。然而,在青钱柳优树筛选的工作中,往往只考虑了叶内单一的药用成分含量,鲜有将生长性状纳入评价体系^[24, 34-35]。因此,本研究以树高、地径2个生长性状以及总黄酮、总三萜和总多酚3个药用品质性状作为评价指

标,综合考虑生长和目标次生代谢物质含量,采用熵权法综合评价和筛选青钱柳优良家系和单株。

在良种选育工作中,优良家系-单株的配合选择与遗传改良能够充分利用各层次的遗传变异,获得理想遗传增益和丰富育种材料,是获得最大遗传增益的有效途径^[36]。如Que等^[37]通过对黄梁木(*Neolamarckia cadamba* (Roxb.) Bosser)不同选择水平所获得的遗传增益进行比较,认为优良家系-单株的选育策略可以获得较大的遗传增益。本研究初步筛选出的7个优良家系(GXJZS7#、GZSQ12#、GXLS26#、HNYS2#、AHQLF13#、SCMC31#和GXJZS1#)多来自中西部地区种源,这说明相较于其他地区种源,来自这些地区种源的青钱柳家系较适合在南京地区推广种植。同时,本研究在优良家系筛选的基础上,还进行优良家系内优良单株的评价,共筛选出11个优良单株,占总参试单株(176株)的6.25%,且这11个单株各指标的增幅在13.97%~45.02%。目前,青钱柳嫁接技术和嫩枝扦插技术已有突破并趋于成熟,这为优良单株的无性系化利用以及区域化推广提供了技术保障。

为了进一步比较优良家系-单株配合选择与从单株直接筛选优良单株2种方法的差异,本研究还采用熵权法直接对176株参试单株进行了综合评价(表8),所筛选出的11个单株(按6.25%入

选率) 中有 8 个单株与优良家系-单株配合选择结果一致, 其余 3 个优良单株与优良家系-单株配合选择结果不一致, 说明优良家系-单株配合选择方

法可能存在遗漏优良单株的情况, 在将来的选育工作中建议可直接从单株水平进行优良单株的筛选评价。

表 8 定植 3.5 年时青钱柳总参试单株的综合得分及排序

Table 8 Comprehensive scores and ranking of the *Cyclocarya paliurus* individuals after 3.5 years of planting

单株 individuals	各指标得分 Score of each index					综合得分 Comprehensive score	排名 Rank
	树高 Tree height	地径 Basal diameter	总黄酮含量 Total flavonoid content	总三萜含量 Total triterpenoid content	总多酚含量 Total polyphenol content		
GZSQ12#-4	0.150 1	0.118 6	0.090 7	0.303 2	0.030 1	0.692 8	1
SCMC31#-3	0.066 1	0.080 4	0.278 1	0.226 2	0.036 6	0.687 4	2
HNYS2#-3	0.125 4	0.189 4	0.047 5	0.311 7	0.008 7	0.682 6	3
GZSQ12#-5	0.135 6	0.099 5	0.066 0	0.319 7	0.030 2	0.651 1	4
GZSQ12#-1	0.147 1	0.111 0	0.052 2	0.293 7	0.042 0	0.645 9	5
GXJZS7#-2	0.079 8	0.088 0	0.206 3	0.233 1	0.025 7	0.632 9	6
GZSQ12#-8	0.134 4	0.132 0	0.046 3	0.291 6	0.028 5	0.632 8	7
ZJFYS1#-4	0.100 2	0.091 8	0.206 8	0.190 2	0.028 5	0.617 7	8
HBWF15#-2	0.152 3	0.179 8	0.060 2	0.204 6	0.017 5	0.614 4	9
GZSQ9#-5	0.137 8	0.135 8	0.034 2	0.250 0	0.055 0	0.612 8	10
HNYS2#-4	0.109 2	0.145 4	0.082 5	0.250 9	0.014 3	0.602 3	11
...
GXJZS7#-4	0.078 5	0.095 7	0.218 4	0.184 2	0.012 4	0.589 2	13
...
GZSQ12#-9	0.121 6	0.145 4	0.052 8	0.186 7	0.031 8	0.538 3	22
...
GXJZS1#-2	0.075 5	0.068 9	0.101 2	0.266 8	0.010 2	0.522 6	29
...
ZJTT2#-3	0.054 6	0.061 2	0.094 7	-0.030 8	0.016 4	0.196 2	174
HBHF1#-2	0.000 0	0.037 3	0.040 0	0.076 3	0.025 0	0.178 5	175
ZJFYS2#-3	0.006 4	0.053 6	0.052 7	-0.039 5	0.004 2	0.077 4	176

基于家系、单株等不同“基因型”划分依据所进行的种质资源选择, 为青钱柳选育工作奠定了基础。然而, 植物的生长和次生代谢物含量除了受基因型的控制外, 还受到环境因素的影响^[38], 二者的交互作用使得表型性状的选择更加复杂。本研究仅在单一试验点进行 1 a 的观测, 并未对青钱柳生长和主要次生代谢物质在不同环境条件下的适应性和稳定性以及年度间稳定性进行评价。因此, 为达到更好的选择效果, 应进一步开展初选家系和单株的多点种源试验并进行长期观测研究。

4 结论

青钱柳的生长性状和叶主要次生代谢物含量

在 31 个参试家系之间存在显著差异, 为青钱柳良种选育提供了丰富的资源。通过优良家系-单株配合选择, 共筛选出 7 个优良家系 (GXJZS7#、GZSQ12#、GXLS26#、HNYS2#、AHQLF13#、SCMC31#和 GXJZS1#) 和 11 个优良单株 (GZSQ12#-4、SCMC31#-3、HNYS2#-3、GZSQ12#-1、GZSQ12#-5、GZSQ12#-8、GXJZS7#-2、HNYS2#-4、GXJZS1#-2、GXJZS7#-4 和 GZSQ12#-9), 优良家系和优良单株的生长性状和主要次生代谢物含量较参试家系总体均值的增幅分别为 8.20%~18.17% 和 13.97%~45.02%。基于优良家系-单株配合选择筛选出的 7 个优良家系和 11 株优良单株可用于青

钱柳进一步定向选育研究和应用。

参考文献:

- [1] Fang S Z, Wang J Y, Wei Z Y, *et al.* Methods to break seed dormancy in *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja[J]. Scientia Horticulturae, 2006, 110(3): 305-309.
- [2] 方升佐, 洪香香. 青钱柳资源培育与开发利用的研究进展[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2007, 31(1): 95-100.
- [3] Xie J H, Xie M Y, Nie S P, *et al.* Isolation, chemical composition and antioxidant activities of a water-soluble polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja[J]. Food Chemistry, 2009, 119(4): 1626-1632.
- [4] Zhou M M, Lin Y, Fang S Z, *et al.* Phytochemical content and antioxidant activity in aqueous extracts of *Cyclocarya paliurus* leaves collected from different populations[J]. PeerJ, 2019, 7: e6492.
- [5] 邹荣灿, 吴少锦, 张妮, 等. 青钱柳的分布、化学成分及药理作用研究进展[J]. 中国药房, 2017, 28(31): 4449-4451.
- [6] Yang H M, Yin Z Q, Zhao M M, *et al.* Pentacyclic triterpenoids from *Cyclocarya paliurus* and their antioxidant activities in FFA-induced HepG2 steatosis cells[J]. Phytochemistry, 2018, 151: 119-127.
- [7] Fu X X, Zhou X D, Deng B, *et al.* Seasonal and genotypic variation of water-soluble polysaccharide content in leaves of *Cyclocarya paliurus*[J]. Southern Forests: a Journal of Forest Science, 2015, 77(3): 231-236.
- [8] Szakiel A, Pączkowski C, Henry M. Influence of environmental abiotic factors on the content of saponins in plants[J]. Phytochemistry Reviews, 2011, 10(4): 471-491.
- [9] 童再康, 斯金平, 刘饶. 不同种源厚朴酚类物质含量变异与遗传的初步研究[J]. 林业科学研究, 2000, 13(3): 257-261.
- [10] 鞠建明, 钱士辉, 钱大玮, 等. 银杏半同胞家系种质资源质量的分析与评价[J]. 林业科技开发, 2007, 21(6): 32-34.
- [11] Fang S Z, Yang W X, Chu X L, *et al.* Provenance and temporal variations in selected flavonoids in leaves of *Cyclocarya paliurus*[J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1382-1386.
- [12] Liu Y, Chen P, Zhou M M, *et al.* Geographic variation in the chemical composition and antioxidant properties of phenolic compounds from *Cyclocarya paliurus* (Batal) Iljinskaja leaves[J]. Molecules, 2018, 23(10): 2440.
- [13] 邓波, 刘桂华, 余云云, 等. 遮荫和种源对青钱柳三萜类化合物积累的影响[J]. 生态学杂志, 2018, 37(2): 383-390.
- [14] 田力, 徐骋炜, 尚旭岚, 等. 青钱柳药用优良单株评价与选择[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2021, 45(1): 21-28.
- [15] Deng B, Fang S Z, Yang W X, *et al.* Provenance variation in growth and wood properties of juvenile *Cyclocarya paliurus*[J]. New Forests, 2014, 45(5): 625-639.
- [16] 林源, 陈培, 周明明, 等. 天然居群青钱柳叶主要生物活性物质及抗氧化活性研究[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2020, 44(2): 10-16.
- [17] Fan J P, He C H. Simultaneous quantification of three major bioactive triterpene acids in the leaves of *Diospyros kaki* by high-performance liquid chromatography method[J]. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2006, 41(3): 950-956.
- [18] Xie P J, Huang L X, Zhang C H, *et al.* Phenolic compositions, and antioxidant performance of olive leaf and fruit (*Olea europaea* L.) extracts and their structure-activity relationships[J]. Journal of Functional Foods, 2015, 16: 460-471.
- [19] 张锐, 顾志荣, 吕鑫, 等. 锁阳药材质量多指标评价体系构建及权重分配方法优化[J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(12): 74-81.
- [20] 李爱民, 吕敏丽, 周春鸣. 同质园栽培下的湖南鱼腥草居群叶表型性状多样性分析[J]. 植物科学学报, 2018, 36(1): 73-85.
- [21] 刘济铭, 陈仲, 翁学煌, 等. 无患子属种质资源种实性状变异及综合评价[J]. 林业科学, 2019, 55(6): 44-54.
- [22] 欧建德, 罗宁. 南方红豆杉珍贵材优良家系和单株配合选择[J]. 中国农学通报, 2017, 33(22): 41-46.
- [23] 余诚棋, 杨万霞, 方升佐, 等. 青钱柳种源间苗期性状变异分析[J]. 南京林业大学学报:自然科学版, 2010, 34(1): 34-38.
- [24] 杨万霞, 余诚棋, 方升佐. 青钱柳叶中黄酮类化合物的地理变异[J]. 浙江林学院学报, 2009, 26(4): 522-527.
- [25] Sun C W, Shang X L, Ding H F, *et al.* Natural variations in flavonoids and triterpenoids of *Cyclocarya paliurus* leaves[J]. Journal of Forestry Research, 2021, 32(2): 805-814.
- [26] 白史且, 苟文龙, 张新全, 等. 假俭草种群变异与生态特性的研究[J]. 北京林业大学学报, 2002, 24(4): 97-101.
- [27] 张龙进, 李桂双, 白成科, 等. 山茶黄种质资源数量性状评价及相关性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 655-659.
- [28] 郁万文, 韩晋, 曹福亮, 等. 银杏雌株高黄酮种质定向筛选[J]. 中国野生植物资源, 2020, 39(2): 19-26.
- [29] 闫星蓉, 王娟, 宫源奇, 等. 文冠果果实表型性状和种仁功能成分的品系差异[J]. 经济林研究, 2020, 38(3): 145-152.
- [30] 虞晓芬, 傅玳. 多指标综合评价方法综述[J]. 统计与决策, 2004(11): 119-121.
- [31] 王治会, 彭华, 岳翠男, 等. 江西茶树资源功能成分综合评价与种质优选[J]. 河南农业科学, 2020, 49(8): 54-62.
- [32] 吴可心, 吴斌, 彭晓曦, 等. 不同产地杜仲叶片活性成分及杜仲胶质量分数差异[J]. 东北林业大学学报, 2019, 47(10): 40-43, 74.
- [33] 于国栋, 夏米蕊, 杨新成, 等. 银杏古树不同产地和家系子代生长及叶片药用成分含量的差异[J]. 北方园艺, 2018(11): 144-150.
- [34] 楚秀丽, 杨万霞, 方升佐, 等. 不同种源青钱柳叶黄酮类物质含量的动态变化[J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(2): 130-133.
- [35] 黄铖, 马玉华, 杨少博, 等. 叶用青钱柳优树的选择及其无性系区域化测定试验[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(6): 938-

942.

- [36] 胡文杰, 庞宏东, 郑勇奇. 9年生枫香的遗传变异和优良家系单株选择[J]. 热带亚热带植物学报, 2018, 26 (5): 506-514.
- [37] Que Q M, Li C M, Li B Y, *et al.* Multi-level genetic variation and selection strategy of *Neolamarckia cadamba* in successive years[J]. *Forests*, 2021, 12(11): 1455.
- [38] Li Y Q, Kong D X, Fu Y, *et al.* The effect of developmental and environmental factors on secondary metabolites in medicinal plants[J]. *Plan Physiology and Biochemistry*, 2020, 148: 80-89.

Evaluation on Germplasm Resources of *Cyclocarya paliurus* and Its Oriented Selection of Superior Families and Trees

LAN Li-xia¹, XU Zhan-hong¹, SUN Cao-wen^{1,2}, FANG Sheng-zuo^{1,2}

(1. College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: [Objective] In order to select superior families and individual plants which is suitable for planting in Nanjing and surrounding areas for providing a theoretical basis for the oriented silviculture of *Cyclocarya paliurus* plantations. [Method] The 3.5-year old germplasm resources of *C. paliurus* trees were comprehensively evaluated in this study. The 31 families of *C. paliurus* trees were used as test materials to determine the traits of growth and the leaf contents of total flavonoid, triterpenoid, and polyphenol. And cluster analysis and entropy method were used to screen superior families and individual trees based on the variations in traits. [Results] Significant variations were observed in tree height, diameter at the base, and the leaf contents of total flavonoid, triterpenoid and polyphenol among different families. Hierarchical cluster analysis showed that the 31 families of *C. paliurus* were classified into four distinct groups. The *C. paliurus* families in cluster 1, cluster 2 and cluster 3 could be recommended as the families for high accumulation of total triterpenoid, total polyphenol, and total flavonoid, respectively. In contrast, the families in cluster 4 showed poor performance in all measured metabolites. Seven superior families (GXJZS7#, GZ-SQ12#, GXLS26#, HNYS2#, AHQLF13#, SCMC31# and GXJZS1#) of *C. paliurus* were preliminary selected for the accumulation of target secondary metabolites using entropy method. Within the seven superior families, all the trees were further assessed, and eleven superior individuals were selected. [Conclusion] There are significant variations in growth and leaf secondary metabolites among the tested germplasm resources, showing a great potential for the selecting and breeding of *C. paliurus*. Based on the comprehensive assessment, seven superior families and eleven excellent individuals are selected for further test and future application.

Keywords: *Cyclocarya paliurus*; growth; secondary metabolites; comprehensive assessment

(责任编辑: 张 研)