

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2022.005.012

# 杜仲种质资源叶片表型性状多样性分析

孟益德<sup>1,2</sup>, 杜红岩<sup>1,2</sup>, 王璐<sup>1,2</sup>, 吕庚鑫<sup>1,2</sup>, 庆军<sup>1,2</sup>,  
何凤<sup>1,2</sup>, 黄海燕<sup>3</sup>, 杜庆鑫<sup>1,2\*</sup>

(1. 中国林业科学研究院经济林研究所, 河南 郑州 450003; 2. 国家林业和草原局杜仲工程技术研究中心, 河南 郑州 450003;  
3. 河南润友林业技术服务有限公司, 河南 郑州 450003)

**摘要:** [目的] 以 701 份杜仲种质资源为研究对象, 探究杜仲种质资源叶片表型性状遗传多样性, 为杜仲优良资源选育和开发利用提供理论支撑和材料。[方法] 对杜仲叶片 14 个表型性状进行测定, 结合相关性分析、主成分分析和聚类分析等统计方法, 探究杜仲不同种质间叶片表型的遗传多样性。[结果] 不同来源地杜仲叶片的 14 个表型性状间存在较大差异, 叶面积变异系数最大 (20.68%), 叶绿素参考值变异系数最小 (4.57%); 各表型性状的遗传多样性指数为 1.90~2.09, 叶片长和叶柄长的遗传多样性指数最大, 均为 2.09; 叶片表型性状间呈极显著正相关的有 26 对, 呈极显著负相关的有 19 对, 叶片长、叶片宽、叶面积、叶周长、叶柄长 5 个性状间均呈极显著正相关。主成分分析提取的 6 个主成分, 累积贡献率达 89.211%。基于 14 个表型性状, 将 701 份杜仲种质划分为 4 类, 各类群间叶片表型性状存在较大差异。[结论] 杜仲种质资源叶片表型性状表现出丰富的多样性, 筛选出叶面积、鲜比叶质量、叶片绿色成分、叶绿素参考值、长宽比、节间距 6 个性状可作为评定杜仲资源的主要表型指标, 为叶用杜仲良种选育及综合利用提供了优异的种质基础。

**关键词:** 杜仲叶片; 种质资源; 表型性状; 多样性

**中图分类号:** Q949.751.5; S718.46

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1498(2022)05-0103-10

杜仲 (*Eucommia ulmoides* Oliv.) 为杜仲科杜仲属落叶乔木, 栽培与利用的历史长达两千多年, 是第四纪冰川侵袭后仅留存在我国的单属种子遗树种, 也是目前我国重要的经济林和工业原料林树种, 属国家二级保护野生植物, 在国内 29 个省 (区、市) 均有种植<sup>[1]</sup>。杜仲叶富含多种化学成分, 包括黄酮类、环烯醚萜类、苯丙素类、木脂素类等, 具有很高的药用价值<sup>[2]</sup>。此外, 杜仲叶在功能食品、保健品及功能饲料等领域也有广阔的应用<sup>[3]</sup>。2018 年, 杜仲叶拟被国家卫健委列为药食同源目录<sup>[4]</sup>。

植物叶片表型特征与植物生理生化及繁殖特征

具有密切的相关关系, 直接影响植物的基本行为与功能<sup>[5-6]</sup>。因此, 叶片表型性状多样性是遗传多样性的具体表现, 研究叶片表型遗传多样性有助于了解物种遗传规律和变异程度, 尤其是对种质资源收集、保存、评价与利用等具有重要意义<sup>[7-9]</sup>。研究表明, 在器官形态上不同种质杜仲表现出明显的变异, 根据叶色和叶形发现有紫红叶、小叶、大叶及长叶柄等变异类型, 根据枝条形态发现有短枝、龙拐杜仲等变异类型, 杜仲叶片主要活性物质含量及橡胶含量也发现有显著的差异<sup>[10-12]</sup>。

近年有关杜仲种质资源遗传多样性研究已有报道, 主要集中在雄花和果实形态性状多样性<sup>[13-14]</sup>,

收稿日期: 2021-06-17 修回日期: 2021-08-16

基金项目: “十三五”国家重点研发计划项目“橡胶用和药用杜仲定向培育与高效利用关键技术研究”(2017YFD0600702); 国家自然科学基金面上项目(31370682)。

\* 通讯作者: 杜庆鑫, 助理研究员, 主要从事杜仲育种栽培与综合利用研究。电话: 15238396809。E-mail: duqingxin20102325@163.com

雄花和叶片活性成分多样性<sup>[15-16]</sup>及采用分子标记技术对杜仲种质资源遗传多样性和群体遗传结构进行研究<sup>[17]</sup>；但关于杜仲种质资源叶片表型性状遗传多样性尚未开展系统研究，在表型特征中，叶片变异是遗传变异的重要体现<sup>[18]</sup>。本文以 701 份杜仲种质资源叶片为研究对象，对 14 个表型性状进行测定，通过多样性分析、相关性分析、聚类分析、随机森林类群分类预测等方法，旨在系统全面揭示杜仲种质资源叶片表型性状遗传变异规律，以期为杜仲优良资源选育和优异性状的挖掘提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

701 份供试材料来自中国林业科学研究院经济林研究所杜仲种质资源库（113°36' E, 34°55' N），种质资源库采用 6 株小区，定植株行距 3 m × 3 m，其栽培立地条件及管理方式均一致。于 2019 年 7 月初对资源库 8 年生杜仲成熟叶片进行采集，每份种质选择长势一致、无病虫害的

4~6 株，每株均从东南西北 4 个方向选取中部枝条，采取各枝条中部新鲜成熟叶片 30 片，低温冷藏带回实验室进行表型性状测定与分析。种质来源与数量见表 1。

### 1.2 测定方法

鲜比叶质量：用直径 1 cm 的打孔器在 10 个叶片上打取 50 个圆片，电子天平称量；干比叶质量：50 个鲜圆片烘干后的质量；叶片含水量：50 个鲜圆片质量与相应 50 个干圆片质量之差；节间距：量取枝条的长度和叶痕总数，枝条长度与相应叶痕总数的比值，量取 5 根枝条取平均值；叶柄长：用游标卡尺测量 10 个叶片取平均值；用万深 LA-S 植物叶片图像分析仪（杭州万深检测科技有限公司）测量叶片长、叶片宽、长宽比、叶面积、叶片红色成分、叶片蓝色成分、叶片绿色成分、叶绿素参考值、叶周长，测量 10 个叶片取平均值。RGB 颜色模型是一种颜色标准，本文通过采用 RGB 系统模型中的红色成分、蓝色成分、绿色成分描述叶片颜色特征<sup>[19]</sup>。

### 1.3 数据统计与分析

叶片 14 个表型性状的最小值、最大值、平均

表 1 种质来源与数量

Table 1 Number and origin of germplasm resources

来源 Germplasm sources	样本数/株 Sample numbers	来源 Germplasm sources	样本数/株 Sample numbers
安徽亳州 Bozhou, Anhu	5	湖南江垭 Jiangya, Hu'nan	28
北京杜仲公园 <i>Eucommia</i> Park, Beijing	263	湖南株洲 Zhuzhou, Hu'nan	5
北京清华大学 Tsinghua University, Beijing	4	吉林集安 Ji'an, Jilin	9
北京万泉河路 Wanquanhe Road, Beijing	25	江苏响水 Xiangshui, Jiangsu	18
福建建阳 Jianyang, Fujian	7	江西南昌 Nanchang, Jiangxi	2
广西漠川 Mochuan, Guangxi	10	山东济南 Ji'nan, Shandong	3
贵州遵义 Zunyi, Guizhou	21	山东青州 Qingzhou, Shandong	2
河北安国 Anguo, Hebei	36	山西侯马 Houma, Shanxi	7
河南鹤壁 Hebi, He'nan	8	山西运城 Yuncheng, Shanxi	4
河南洛阳 Luoyang, He'nan	92	陕西略阳 Lueyang, Shaanxi	4
河南南阳 Nanyang, He'nan	8	陕西杨陵 Yangling, Shaanxi	3
河南汝阳 Ruyang, He'nan	13	四川广元 Guangyuan, Sichuan	16
河南三门峡 Sanmenxia, He'nan	4	新疆阿克苏 Aksu, Xinjiang	6
河南商丘 Shangqiu, He'nan	34	新疆乌鲁木齐 Urumqi, Xinjiang	6
河南新乡 Xinxiang, He'nan	17	云南盐津 Yanjin, Yunnan	7
河南郑州 Zhengzhou, He'nan	8	浙江杭州 Hangzhou, Zhejiang	6
湖北神农架 Shennongjia, Hubei	5	重庆沙坪坝 Shapingba, Chongqing	7
湖北武汉 Wuhan, Hubei	8		

值、标准差、变异系数和遗传多样性指数用 Excel 软件进行处理和计算。遗传多样性指数用 Shannon-wiener 指数 ( $H'$ ) 表示,  $H' = -\sum P_i \ln P_i$ , 其中,  $P_i$  为某一性状第  $i$  级别试验材料份数占总份数的百分比。根据平均值 ( $\mu$ ) 和标准差 ( $\sigma$ ) 将各性状划分为 10 级, 从第 1 级 ( $X_i < \mu - 2\sigma$ ) 到第 10 级 ( $X_i \geq \mu + 2\sigma$ ), 每  $0.5\sigma$  为 1 级, 统计各级的分布频率<sup>[20]</sup>。基于杜仲 14 个表型性状, 利用 R 统计软件进行相关性分析和主成分分析<sup>[21]</sup>, 采用 ward.D2 系统聚类对杜仲种质资源进行聚类, 聚类方法采用平方欧氏距离, 通过 R 扩展软件包 randomForest 来实现表型性状数据随机森林建模<sup>[22]</sup>。

表 2 杜仲种质资源叶片表型性状统计分析

Table 2 Statistical analysis of leaf phenotypic traits of *Eucommia ulmoides* germplasm resources

性状 Traits	最小值 Max	最大值 Min	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV/%	遗传多样性指数 $H'$
鲜比叶质量 Specific leaf fresh weight (SLFW)/g	1.17	2.97	1.96	0.20	9.99	2.03
干比叶质量 Specific leaf dry weight (SLDW)/g	0.46	1.07	0.73	0.09	12.14	2.06
含水量 Water content of leaf (WC)/g	0.58	2.26	1.23	0.13	10.65	1.90
节间距 Internode length (IL)/mm	0.34	3.44	2.18	0.36	16.54	2.06
叶片长 Leaf length (LL)/mm	94.15	181.17	135.90	14.63	10.77	2.09
长宽比 Length to width ratio of leaf (LTWR)	1.58	2.81	2.08	0.19	8.90	2.07
叶片宽 Leaf width (LW)/mm	43.11	95.93	65.76	7.44	11.32	2.08
叶面积 Leaf area (LA)/mm <sup>2</sup>	2 670.21	10 389.33	5 819.23	1 203.41	20.68	2.07
叶片红色成分 Red component of leaf (RC)	44.50	102.00	61.54	4.55	7.40	1.97
叶片蓝色成分 Blue component of leaf (BC)	22.00	57.00	35.78	3.24	9.05	2.02
叶片绿色成分 Green component of leaf (GC)	55.00	117.00	75.03	6.12	8.15	2.00
叶绿素参考值 Chlorophyll reference value (CRV)	1.64	3.91	3.29	0.15	4.57	1.99
叶周长 Leaf perimeter (LP)/mm	266.49	533.89	398.11	44.85	11.27	2.08
叶柄长 Stipe length (SL)/mm	1.00	2.75	1.72	0.31	18.27	2.09
平均值 Mean					11.41	2.04

14 个表型性状存在不同程度的变异, 变异系数为 4.57%~20.68%, 平均值为 11.41%, 其中, 叶面积、叶柄长和节间距具有较大的离散程度, 叶面积的变异系数最大 (20.68%), 是叶片表型性状变异程度最大的性状, 最大值为最小值的 3.9 倍, 叶绿素参考值变异系数最小, 为 4.57%。

## 2.2 不同来源杜仲种质叶片性状分析

不同来源杜仲叶片 14 个性状平均值、标准差和多重比较 (样本数大于 10) 结果 (表 3) 表明: 14 个表型性状在不同来源间均有显著差异存在。山西杜仲资源叶片的叶绿素参考值、鲜比叶质量和

## 2 结果与分析

### 2.1 杜仲种质叶片表型性状多样性分析

在 701 份供试的杜仲资源中, 各表型性状最小值、最大值、平均值、标准差、变异系数、多样性指数存在不同程度的差异 (表 2)。14 个表型性状的遗传多样性指数分布在 1.90~2.09 之间, 平均多样性指数为 2.04, 其中, 叶片长和叶柄长的遗传多样性指数最高 (2.09), 其次是叶片宽、叶周长、长宽比, 含水量的遗传多样性指数最低 (1.90)。

干比叶质量最大、含水量最高, 叶片蓝色成分最小; 湖北杜仲资源的长宽比最大; 四川杜仲资源的节间距、叶片长、叶片宽、叶面积和叶周长最大, 鲜比叶质量最小, 含水量最低; 江苏杜仲资源的叶片绿色成分、红色成分最大, 但其干比叶质量、叶片长、长宽比、叶面积、叶绿素参考值和叶周长均最小; 河南种质资源的叶柄最长, 湖北种质的叶柄最短。

### 2.3 杜仲种质叶片表型性状相关性分析

叶片 14 个性状的相关性分析结果 (表 4) 表明: 84 对性状组合中有 45 对组合的相关性达极显

表 3 不同来源地杜仲叶片性状比较 (均值±标准差)

Table 3 Comparison of leaf traits from different origin among *Eucommia ulmoides* germplasm (Mean±SD)

性状 Traits	北京 Beijing	贵州 Guizhou	河北 Hebei	河南 He'nan	湖北 Hubei
SLFW/g	1.99 ± 0.2 ab	1.86 ± 0.18 bc	1.95 ± 0.18 bc	1.97 ± 0.18 abc	1.95 ± 0.24 bc
SLDW/g	0.74 ± 0.09 bc	0.69 ± 0.08 c	0.72 ± 0.09 bc	0.73 ± 0.08 bc	0.73 ± 0.13 bc
WC/g	1.25 ± 0.14 ab	1.17 ± 0.11 bc	1.23 ± 0.11 ab	1.25 ± 0.12 ab	1.22 ± 0.13 ab
IL/mm	2.13 ± 0.34 bc	2.09 ± 0.27 c	2.13 ± 0.31 bc	2.18 ± 0.36 bc	2.41 ± 0.30 a
LL/mm	133.62 ± 13.85 c	132.76 ± 14.21 c	136.83 ± 12.01 c	137.67 ± 15.24 c	138.26 ± 9.34 bc
LTWR	2.06 ± 0.17 bc	2.18 ± 0.22 ab	2.06 ± 0.13 bc	2.07 ± 0.18 bc	2.21 ± 0.29 a
LW/mm	65.36 ± 6.90 abcd	61.39 ± 7.58 d	66.57 ± 5.26 abc	67.00 ± 8.55 ab	63.63 ± 7.96 bcd
LA/mm <sup>2</sup>	5 717.80 ± 1119.10 bcd	5 304.72 ± 1210.55 cd	5 973.15 ± 967.72 abc	6 030.20 ± 1 344.96 abc	5 637.56 ± 915.01 cd
RC	62.24 ± 4.68 a	61.57 ± 3.96 ab	61.07 ± 5.14 ab	61.41 ± 4.29 ab	58.96 ± 4.68 bc
BC	35.86 ± 3.46 a	37.05 ± 2.46 a	35.47 ± 3.17 a	35.71 ± 3.04 a	35.89 ± 2.36 a
GC	76.12 ± 5.97 ab	73.79 ± 4.36 abc	75.58 ± 7.00 ab	74.89 ± 6.05 ab	72.82 ± 6.91 bc
CRV	3.26 ± 0.16 cd	3.27 ± 0.12 cd	3.28 ± 0.13 cd	3.30 ± 0.13 cd	3.34 ± 0.12 bc
LP/mm	393.50 ± 40.33 bc	383.30 ± 43.11 c	398.24 ± 38.27 bc	403.47 ± 50.3 bc	396.82 ± 36.20 bc
SL/mm	1.74 ± 0.32 ab	1.75 ± 0.33 ab	1.61 ± 0.31 abc	1.79 ± 0.28 a	1.49 ± 0.21 c
性状 Traits	湖南 Hu'nan	江苏 Jiangsu	山西 Shanxi	四川 Sichuan	新疆 Xinjiang
SLFW/g	1.88 ± 0.15 bc	1.86 ± 0.18 bc	2.09 ± 0.17 a	1.84 ± 0.14 c	1.97 ± 0.15 abc
SLDW/g	0.70 ± 0.08 c	0.70 ± 0.10 c	0.82 ± 0.08 a	0.71 ± 0.08 c	0.78 ± 0.07 ab
WC/g	1.18 ± 0.08 bc	1.16 ± 0.10 bc	1.28 ± 0.11 a	1.13 ± 0.08 c	1.19 ± 0.09 abc
IL/mm	2.11 ± 0.32 c	2.16 ± 0.32 bc	2.29 ± 0.28 abc	2.46 ± 0.32 a	2.36 ± 0.31 ab
LL/mm	135.98 ± 12.2 c	123.75 ± 11.54 d	146.64 ± 19.08 ab	147.91 ± 12.05 a	134.38 ± 14.62 c
LTWR	2.12 ± 0.18 abc	2.03 ± 0.21 c	2.16 ± 0.23 ab	2.14 ± 0.14 abc	2.06 ± 0.15 bc
LW/mm	64.52 ± 5.69 abcd	61.84 ± 8.45 cd	68.49 ± 8.76 ab	69.51 ± 5.03 a	65.32 ± 4.41 abcd
LA/mm <sup>2</sup>	5 715.55 ± 907.52 bcd	4 992.53 ± 1106.25 d	6 491.22 ± 1 471.75 ab	6 623.15 ± 1 007.96 a	5 718.37 ± 875.78 bcd
RC	62.51 ± 3.40 a	62.92 ± 4.26 a	60.95 ± 3.58 ab	58.81 ± 3.83 bc	57.04 ± 5.19 c
BC	35.29 ± 3.04 a	35.97 ± 3.63 a	32.77 ± 3.84 b	36.06 ± 2.83 a	35.04 ± 4.48 a
GC	76.00 ± 4.10 ab	77.06 ± 6.69 a	72.82 ± 5.62 bc	70.41 ± 4.42 cd	68.71 ± 6.64 d
CRV	3.29 ± 0.11 cd	3.23 ± 0.15 d	3.48 ± 0.14 a	3.40 ± 0.12 ab	3.48 ± 0.21 a
LP/mm	387.07 ± 32.97 c	378.22 ± 45.78 c	419.35 ± 60.47 ab	433.18 ± 29.71 a	398.84 ± 34.74 bc
SL/mm	1.67 ± 0.25 abc	1.57 ± 0.35 bc	1.76 ± 0.37 ab	1.62 ± 0.28 abc	1.51 ± 0.25 c

注: 性状全称见表2。同行不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Notes: Traits details see Table 2. Different letters in indicate significant difference at  $P<0.05$ . The same below.

著水平 ( $P<0.01$ ), 其中, 呈极显著正相关的有 26 对, 呈极显著负相关的有 19 对; 鲜比叶质量和含水量间的正相关系数最大 (0.928), 叶片绿色成分和叶绿素参考值间的负相关系数最大 (-0.637),

其中, 鲜比叶质量与干比叶质量、含水量, 叶面积与叶片长、叶片宽, 叶周长与叶面积、叶片长、叶片宽, 叶片红色成分与叶片绿色成分这 8 组性状的正相关性极高, 相关系数均在 0.80 以上。叶面积

表 4 杜仲种质资源叶片 14 个表型性状相关性分析

Table 4 Correlation analysis of 14 phenotypic traits in leaves of *Eucommia ulmoides* germplasm resources

性状 Traits	SLFW	SLDW	WC	IL	LL	LTWR	LW	LA	RC	BC	GC	CRV	LP	SL
SLFW	1													
SLDW	0.837**	1												
WC	0.928**	0.574**	1											
IL	-0.098**	-0.089*	-0.087*	1										
LL	0.004	0.048	-0.026	0.166**	1									
LTWR	-0.073	-0.056	-0.071	-0.021	0.344**	1								
LW	0.066	0.094*	0.036	0.173**	0.684**	-0.442**	1							
LA	0.044	0.084*	0.009	0.181**	0.836**	-0.141**	0.911**	1						
RC	-0.014	-0.071	-0.028	-0.105**	-0.207**	-0.041	-0.165**	-0.191**	1					
BC	-0.050	-0.093*	-0.012	0.052	-0.023	-0.036	0.001	-0.019	-0.248**	1				
GC	-0.026	-0.071	-0.010	-0.098**	-0.250**	-0.052	-0.191**	-0.219**	0.876**	-0.420**	1			
CRV	0.071	0.154**	0.002	0.052	0.281**	0.087*	0.197**	0.244**	-0.619**	-0.426**	-0.637**	1		
LP	0.029	0.072	-0.006	0.198**	0.852**	-0.003	0.818**	0.839**	-0.161**	-0.005	-0.209**	0.224**	1	
SL	0.095*	0.114**	0.064	-0.081*	0.328**	0.024	0.296**	0.338**	-0.084*	-0.045	-0.121**	0.163**	0.288**	1

与节间距、叶片长、叶片宽、叶绿素参考值、叶周长、叶柄长 6 个性状呈极显著正相关, 与长宽比、叶片红色成分、叶片绿色成分 3 个性状呈极显著负相关。叶绿素参考值与干比叶质量、叶片长、叶片宽、叶面积、叶周长、叶柄长 6 个性状呈极显著正相关, 与叶片红色成分、绿色成分、蓝色成分 3 个性状呈极显著负相关。叶柄长除与含水量、长宽比、叶片蓝色成分相关性不显著外, 与鲜比叶质量、干比叶质量、含水量等 10 个性状呈显著相关 ( $P < 0.05$ )。

## 2.4 杜仲种质叶片表型性状主成分分析

对 14 个表型性状主成分分析 (表 5) 发现: 前 6 个主成分特征值均大于 1, 且累积贡献率达到 89.211%, 说明前 6 个主成分能解释绝大部分杜仲叶片性状变异。第 1 主成分中, 叶面积的正向特征向量最大, 为 0.951, 其次为叶周长、叶片长、叶片宽, 分别为 0.933、0.900、0.899, 这些性状主要与叶片大小有关。第 2 主成分中, 鲜比叶质量正向特征向量最大, 为 0.998, 其次是含水量、干比叶质量, 分别为 0.912、0.857, 这些性状主要与叶片水分含量和质量有关。第 3 主成分中, 叶片绿色成分正向特征向量最大, 为 0.948, 其次是叶片红色成分, 为 0.938, 主要与叶片颜色

有关。第 4 主成分中, 叶绿素参考值正向特征向量最大, 为 0.603, 代表了叶片的光合作用, 叶片蓝色成分负向特征向量最大, 为 -0.972。第 5 主成分中, 长宽比正向特征向量最大, 为 0.994, 主要反映叶片的形状。第 6 主成分中, 节间距正向特征向量最大, 为 0.831。从 14 个性状中提取出叶面积、鲜比叶质量、叶片绿色成分、叶绿素参考值、长宽比、节间距 6 个叶片表型性状, 这些性状是导致杜仲种质叶片表型性状差异的主要因素, 可作为杜仲种质资源的评价指标。

## 2.5 杜仲种质叶片表型性状聚类分析

根据 14 个表型性状, 将 701 份杜仲种质划分为 4 个类群 (图 1), 其中, 第 I 类群包含的种质最多, 有 209 份种质, 其次是第 IV 类群有 203 份种质, 第 II 类群有 178 份种质, 第 III 类群有 111 份种质。分析 4 个类群杜仲种质资源的 14 个叶片表型性状 (表 6) 发现: 每个类群之间杜仲种质资源叶片的表型性状存在较大差异。第 I 类群节间距、叶片长、叶片宽、叶面积、叶周长等形状均显著高于其他类群种质, 第 II 类群鲜比叶质量、干比叶质量、含水量均显著高于其他类群种质, 第 III 类群叶片长、叶片宽、长宽比、叶面积、叶周长和叶柄长均显著低于其他类群种质, 第 IV 类群

表 5 701 份杜仲种质资源表型性状主成分分析

Table 5 Principal component analysis of phenotypic traits of 701 *Eucommia ulmoides* germplasm resources

性状 Traits	主成分 Principal component					
	1	2	3	4	5	6
SLFW	0.020	0.998	-0.007	0.007	-0.019	-0.037
SLDW	0.059	0.857	-0.081	0.096	-0.016	-0.059
WC	-0.010	0.912	0.045	-0.055	-0.018	-0.015
IL	0.234	-0.072	-0.072	-0.012	0.020	0.831
LL	0.900	-0.008	-0.115	0.024	0.380	-0.003
LTWR	-0.050	-0.054	-0.046	0.028	0.994	-0.021
LW	0.899	0.040	-0.069	0.004	-0.405	0.011
LA	0.951	0.022	-0.090	0.022	-0.111	-0.002
RC	-0.107	-0.005	0.938	0.091	-0.002	-0.030
BC	-0.017	-0.042	-0.204	-0.972	-0.019	0.030
GC	-0.151	-0.018	0.948	0.223	-0.025	0.001
CRV	0.178	0.056	-0.753	0.603	0.048	-0.029
LP	0.933	0.013	-0.065	0.003	0.046	0.049
SL	0.416	0.064	-0.077	0.032	0.058	-0.610
特征值 Eigenvalue	4.065	2.603	2.132	1.449	1.215	1.025
贡献率 Contribution rate/%	29.036	18.592	15.226	10.353	8.680	7.324
累计贡献率 Cumulative contribution rate/%	29.036	47.628	62.854	73.207	81.887	89.211

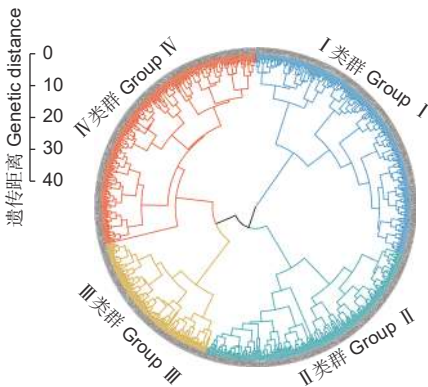


图 1 701 份杜仲种质资源聚类

Fig. 1 Clustering of 701 *Eucommia ulmoides* germplasm resources

中叶片红色成分、绿色成分显著高于其他类群种质。

## 2.6 杜仲种质不同类群分辨

利用鲜比叶质量、叶片绿色成分、叶面积、叶绿素参考值、节间距、长宽比 6 个叶片表型性状建

立随机森林判别模型, 对 4 个类群进行分类预测, 从 701 份杜仲种质中选出 75% 的样本作为训练集, 25% 的样品作为独立测试集。利用随机森林算法对训练集进行训练构建预测模型, 模型节点变量数为 4, 随机森林中的数目为 500, 其交互验证的预测准确率为 80.11%, 初建的随机森林模型有待进一步优化。通过调整模型节点变量数优化随机森林模型, 根据模型误判率均值确定模型节点变量数, 当节点变量数为 1 时, 模型误判率均值为 17.61% 最低, 预测准确率均值为 82.39% (表 7), 因此, 模型节点变量数选取为 1。基于随机森林分类输出的杜仲叶片表型性状重要程度见表 8, 平均降低精度重要性依次为: 鲜比叶质量>叶片绿色成分>叶面积>叶绿素参考值>节间距>长宽比。建立的随机森林判别模型能够有效区分各类群种质, 并验证了这 6 个叶片表型可作为杜仲种质资源的评价指标。

表6 杜仲种质资源各类群表型性状比较

Table 6 Comparison of phenotypic traits of various groups of *Eucommia ulmoides* germplasm resources

性状 Traits	项目 Items	类群 Group			
		第I类群 Group I	第II类群 Group II	第III类群 Group III	第IV类群 Group IV
SLFW/g	均值 ± 标准差	1.87 ± 0.15 c	2.18 ± 0.15 a	1.85 ± 0.15 c	1.92 ± 0.14 b
	变异系数CV/%	8.02	6.88	8.11	7.36
SLDW/g	均值 ± 标准差	0.70 ± 0.07 bc	0.82 ± 0.07 a	0.69 ± 0.07 c	0.71 ± 0.07 b
	变异系数CV/%	10.00	8.54	10.14	9.48
WC/g	均值 ± 标准差	1.18 ± 0.09 c	1.35 ± 0.14 a	1.16 ± 0.09 c	1.21 ± 0.09 b
	变异系数CV/%	7.63	10.37	7.76	7.81
IL/mm	均值 ± 标准差	2.34 ± 0.34 a	2.08 ± 0.32 b	2.15 ± 0.43 b	2.12 ± 0.31 b
	变异系数CV/%	14.53	15.38	20.00	14.85
LL/mm	均值 ± 标准差	146.72 ± 11.57 a	132.61 ± 12.26 c	117.74 ± 9.33 d	137.59 ± 10.50 b
	变异系数CV/%	7.89	9.25	7.92	7.63
LTWR	均值 ± 标准差	2.10 ± 0.16 a	2.08 ± 0.19 a	2.03 ± 0.19 b	2.10 ± 0.20 a
	变异系数CV/%	7.62	9.13	9.36	9.58
LW/mm	均值 ± 标准差	70.50 ± 6.76 a	64.34 ± 7.35 b	58.47 ± 4.65 c	66.10 ± 5.60 b
	变异系数CV/%	9.59	11.42	7.95	8.47
LA/mm <sup>2</sup>	均值 ± 标准差	6 664 ± 1 144 a	5 594 ± 1 094 b	4 503 ± 578 c	5 866 ± 837 b
	变异系数CV/%	17.17	19.57	12.84	14.27
RC	均值 ± 标准差	58.76 ± 2.82 d	60.58 ± 3.69 c	61.90 ± 4.19 b	65.05 ± 4.57 a
	变异系数CV/%	4.80	6.09	6.77	7.02
BC	均值 ± 标准差	36.75 ± 2.84 a	35.37 ± 3.03 b	36.38 ± 2.57 a	34.82 ± 3.76 b
	变异系数CV/%	4.80	8.57	7.06	10.81
GC	均值 ± 标准差	70.86 ± 3.53 d	73.73 ± 4.99 c	75.88 ± 5.04 b	80.01 ± 6.03 a
	变异系数CV/%	4.98	6.77	6.64	7.53
CRV	均值 ± 标准差	3.36 ± 0.13 a	3.34 ± 0.12 a	3.24 ± 0.11 b	3.21 ± 0.16 b
	变异系数CV/%	3.87	3.59	3.40	5.14
LP/mm	均值 ± 标准差	429.39 ± 39.73 a	386.50 ± 39.41 c	348.05 ± 25.14 d	403.47 ± 33.22 b
	变异系数CV/%	9.25	10.20	7.22	8.24
SL/mm	均值 ± 标准差	1.78 ± 0.30 a	1.76 ± 0.31 a	1.47 ± 0.23 b	1.76 ± 0.31 a
	变异系数CV/%	16.85	17.61	15.65	17.71

### 3 讨论

种质资源是育种的物质基础, 研究叶片表型性状可以从整体水平了解研究对象的变异和多样性, 推动种质资源创新<sup>[23-24]</sup>。本研究通过对 701 份杜仲种质资源 14 个叶片表型性状进行分析, 发现不同种质杜仲叶片表型性状间存在较大遗传变异。表型变异系数越大, 离散程度越高, 14 个性状变异系数为 4.57%~20.68%, 其中, 叶面积的变异系数最大, 为 20.68%。多样性指数分布在 1.90~2.09

之间, 叶柄长和叶片长的多样性指数最高 (2.09)。多样性指数越高表明表型性状多样性越丰富, 杜仲叶片表型性状的 Shannon-Wiener 指数 ( $H'$ ) 均值为 2.04, 与格木 (*Erythrophleum fordii* Oliv.)<sup>[25]</sup> 表型多样性指数 (2.03) 和滇楸 (*Catalpa fargesii* Bur. f. *duclouxii* (Dode) Gilmour)<sup>[26]</sup> 表型多样性指数 (1.92) 接近。综合表型性状的变异系数、多样性指数, 叶柄长和叶面积呈现出明显的遗传差异, 这与卫尊征<sup>[27]</sup> 等对小叶杨 (*Populus simonii*

表 7 不同类群的杜仲种质分类预测结果

Table 7 Prediction results of germplasm classification of *Eucommia ulmoides* of various groups

样品类型 Sample type	训练集 Training set				测试集 Test set			
	I类群 Group I	II类群 Group II	III类群 Group III	IV类群 Group IV	I类群 Group I	II类群 Group II	III类群 Group III	IV类群 Group IV
样品个数 Number of samples	157	134	84	153	52	44	27	50
准确预测个数 Accurate prediction number	141	115	68	111	42	36	21	38
预测准确率 Prediction accuracy/%	89.81	85.82	80.95	72.55	80.77	81.82	77.78	76.00
平均准确率 Average accuracy/%	82.39				79.09			

表 8 叶片 6 个表型性状对各类群分类预测的重要性

Table 8 Importance of the six phenotypic traits in leaves for classification of various groups

性状 Traits	不同类群分类预测中各变量的重要性 The importance of each variable in the classification of various groups				平均降低精度 Mean Decrease Accuracy	平均降低基尼系数 Mean Decrease Gini
	I类群 Group I	II类群 Group II	III类群 Group III	IV类群 Group IV		
	SLFW	56.04	120.75	39.24	27.19	112.71
IL	24.41	13.89	-2.42	5.87	25.08	33.11
LTWR	9.26	1.81	6.22	5.59	11.66	29.61
LA	63.32	8.69	92.50	29.44	92.95	94.20
GC	74.45	14.27	10.67	78.48	93.87	87.94
CRV	5.62	16.30	15.70	23.93	31.65	33.55

注：平均降低精度指随机森林预测准确性的降低程度，该值越大表示该变量的重要性越大。平均降低基尼系数通过基尼指数计算每个变量对分类树每个节点上观测值的异质性的影响，从而比较变量的重要性，该值越大表示该变量的重要性越大。

Notes: Mean decrease accuracy refers to the degree of decrease in the accuracy of random forest prediction, and the higher the value, the greater the importance of the variable. Mean decrease Gini calculates the influence of each variable on the heterogeneity of observations on each node of the classification tree through the Gini index, so as to compare the importance of the variable. The higher the value, the greater the importance of the variable.

Carr.) 叶片性状研究中叶柄长变异系数最大，叶面积次之的结果相似。

杜仲 14 个叶片表型性状之间存在着不同程度的相关关系，其中，叶片长、叶片宽、叶面积、叶周长、叶柄长 5 个性状间均呈极显著正相关，叶柄长除与长宽比、叶片蓝色成分相关性不显著外，与鲜比叶质量、干比叶质量、含水率、节间距等 11 个性状呈显著相关。叶片性状间复杂的相关性可能是因为数量性状受多基因控制所致<sup>[28]</sup>。主成分分析将杜仲种质叶片的 14 个表型性状转化为 6 个主成分，这 6 个主成分提供了原性状 89.211% 的信息。张康健等<sup>[29]</sup>发现，叶形和叶面积可作为筛选高含胶杜仲无性系的重要选择指标。本研究叶面积、鲜比叶质量、叶片绿色成分、叶绿素参考值、长宽比、节间距是 6 个主成分的主导因子，对叶片表型性状多样性起主要作用，可作为杜仲种质资源评价的主要表型指标。

对杜仲种质资源叶片 14 个表型性状进行聚类

分析，701 份材料聚类为 4 类，4 个类群杜仲种质叶片 14 个表型性状均存在较大差异。杜仲在我国有长期的引种栽培历史，不同杜仲群体间基因交流程度较高，而遗传分化水平则较低<sup>[14]</sup>。聚类结果显示，同一地区的杜仲种质并没有完全聚在一起，说明杜仲种质之间的遗传差异性与种质来源没有相关性，因此，推测杜仲种质资源叶片表型的遗传变异与种源地的关系不显著，叶片发生的变异可能是源于杜仲群体内的遗传多样性。随机森林算法可以找到数据中重要的特征，同时利用这些重要特征构建模型用于分类预测或者回归预测<sup>[30]</sup>。Yuan 等<sup>[31]</sup>采用随机森林建立的模型对枯萎病发病和健康土壤的微生物群落特征进行了良好的区分。利用叶面积、鲜比叶质量、叶片绿色成分、叶绿素参考值、长宽比、节间距 6 个性状建立随机森林判别模型，对不同类群的杜仲种质进行分类判别，能够有效区分各类群的种质，说明这 6 个叶片表型是造成杜仲种质资源叶片表型差异的主要因素，检验了这些性状可



作为杜仲种质资源评价的主要表型指标,为叶用杜仲良种选育及综合利用提供了优异的种质基础。

## 4 结论

本研究选取的701份杜仲种质涵盖了国内绝大多数分布区,最大程度包含了杜仲叶片的遗传多样性类型。通过对杜仲种质资源叶片14个表型性状进行分析,发现杜仲种质资源叶片表型性状存在较大变异和丰富的遗传多样性,14个表型性状之间存在着不同程度的相关关系。聚类分析将杜仲种质划分为4大类群,各类群叶片表型性状存在较大差异。主成分分析筛选出叶面积、鲜比叶质量、绿色成分、叶片叶绿素参考值、长宽比、节间距6个叶片表型性状可作为评定杜仲资源的主要指标,为叶用杜仲良种选育及综合利用提供了优异的种质基础。

## 参考文献:

- [1] 杜红岩. 中国杜仲图志[M]. 北京: 中国林业出版社, 2014: 78-124.
- [2] 杜红岩, 胡文臻, 俞锐. 杜仲产业绿皮书: 中国杜仲橡胶资源培育与产业发展报告[M]. 北京: 社会科学文献出版社, 2013: 188-195.
- [3] 王璐, 杜兰英, 杜红岩. 杜仲饲料添加剂的研究进展[J]. 饲料研究, 2014(19): 29-31.
- [4] 杜红岩, 杜庆鑫. 我国杜仲产业高质量发展的基础、问题与对策[J]. 经济林研究, 2020, 38(1): 1-10.
- [5] 薛立, 曹鹤. 逆境下植物叶性状变化的研究进展[J]. 生态环境学报, 2010, 19(8): 2004-2009.
- [6] 董昕, 王磊, 鲁仪增, 等. 山东稀有植物小果白刺天然群体表型变异研究[J]. 林业科学研究, 2017, 30(2): 293-299.
- [7] 郑殿升, 杨庆文. 中国作物野生近缘植物资源[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(1): 1-11.
- [8] 张深梅, 奚建伟, 洪俊彦, 等. 大别山山核桃果实与叶片性状的表型多样性研究[J]. 林业科学研究, 2020, 33(1): 152-161.
- [9] 王书珍, 张霖, 杨雯, 等. 大别山不同龄级映山红种群遗传多样性的SSR分析[J]. 林业科学研究, 2018, 31(5): 125-130.
- [10] 魏艳秀. 杜仲主要活性成分和杜仲橡胶的变异性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2016.
- [11] 黄伟. 杜仲不同产地遗传差异及化学组分分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [12] 靳藏馥. 杜仲遗传连锁图谱重构及重要性状QTLs定位[D]. 陕西杨陵: 西北农林科技大学, 2020.
- [13] 杜庆鑫, 刘攀峰, 庆军, 等. 杜仲雄花形态性状的遗传多样性分析[J]. 林业科学研究, 2016, 29(5): 670-675.
- [14] 黄海燕. 杜仲EST-SSR引物开发及遗传多样性研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013.
- [15] 杜庆鑫, 魏艳秀, 刘攀峰, 等. 杜仲雄花主要活性成分含量的多样性[J]. 林业科学, 2017, 53(2): 35-43.
- [16] 庆军, 魏艳秀, 王鼎滔, 等. 杜仲叶片6种主要活性成分的遗传变异研究[J]. 西北植物学报, 2018, 38(2): 316-323.
- [17] 李洪果, 许基焯, 杜红岩, 等. 基于等位基因最大化法初步构建杜仲核心种质[J]. 林业科学, 2018, 54(2): 42-51.
- [18] 杨贺雨, 卫海燕, 桑满杰, 等. 华中五味子叶表型可塑性及环境因子对叶表型的影响[J]. 植物学报, 2016, 51(3): 322-334.
- [19] Shannon C, Weaver W, Blahut R E, et al. The mathematical theory of communication[J]. Urbana: University of Illinois Press, 1949, 60(3): 3-14.
- [20] Brychkov Y, Savischenko N. Application of hypergeometric functions of several variables in the mathematical theory of communication: evaluation of error probability in fading single-channel system[J]. Lobachevskii Journal of Mathematics, 2020, 41(10): 1971-1991.
- [21] 熊仕发, 吴立文, 陈益存, 等. 不同种源白栎果实形态特征和营养成分含量变异分析[J]. 林业科学研究, 2020, 33(2): 93-102.
- [22] 李欣海. 随机森林模型在分类与回归分析中的应用[J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(4): 1190-1197.
- [23] 孙珍珠, 李秋月, 王小柯, 等. 宽皮柑橘种质资源表型多样性分析及综合评价[J]. 中国农业科学, 2017, 50(22): 4362-4383.
- [24] 曾平生, 厉月桥, 周新华, 等. 不同种源华重楼主要生物活性成分地理变异及其相关性分析[J]. 林业科学研究, 2021, 34(1): 114-120.
- [25] 李洪果, 陈达镇, 许靖诗, 等. 濒危植物格木天然种群的表型多样性及变异[J]. 林业科学, 2019, 55(4): 69-83.
- [26] 肖遥, 麻文俊, 易飞, 等. 滇楸种质生长性状遗传变异及表型性状遗传多样性分析[J]. 植物研究, 2018, 38(6): 843-851.
- [27] 卫尊征, 潘炜, 赵杏, 等. 我国东北及华北地区小叶杨形态及生理性状遗传多样性研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(5): 8-14.
- [28] 伊六喜, 高风云, 周宇, 等. 胡麻种质资源表型性状的鉴定与分析[J]. 中国油料作物学报, 2020, 42(3): 411-419.
- [29] 张康健, 白明生, 张檀, 等. 杜仲叶次生代谢物与个体生长发育特性的研究[J]. 林业科学, 2001, 37(6): 45-51.
- [30] Genuer R, Poggi J, Tuleau-Malot C. Variable selection using random forests[J]. Pattern Recognition Letters, 2010, 31(14): 2225-2236.
- [31] Yuan J, Wen T, Zhang H, et al. Predicting disease occurrence with high accuracy based on soil macroecological patterns of Fusarium wilt[J]. Isme Journal, 2020, 14(12): 2936-2950.

# Diversity Analysis of Leaf Phenotypic Traits of *Eucommia ulmoides* Germplasm Resources

MENG Yi-de<sup>1,2</sup>, DU Hong-yan<sup>1,2</sup>, WANG Lu<sup>1,2</sup>, LV Geng-xin<sup>1,2</sup>, QING Jun<sup>1,2</sup>,  
HE Feng<sup>1,2</sup>, HUANG Hai-yan<sup>3</sup>, DU Qing-xin<sup>1,2</sup>

(1. Research Institute of Non-Timber Forestry, Chinese Academy of Forestry, Zhengzhou 450003, He'nan, China;

2. The *Eucommia* Engineering Research Center, State Administration of Forestry and Grassland, Zhengzhou 450003, He'nan, China; 3. He'nan Runyou Forestry Technical Service Co. Ltd,

Zhengzhou 450003, He'nan, China)

**Abstract:** [Objective] The genetic diversity of leaf phenotypic traits of 701 *Eucommia ulmoides* germplasm resources was investigated to provide theoretical support and materials for the breeding, development and utilization of *Eucommia ulmoides*. [Methods] Fourteen phenotypic traits of *Eucommia ulmoides* leaves were determined. Correlation analysis, principal component analysis and cluster analysis were used to investigate the genetic diversity of leaf phenotypic traits among different germplasm. [Results] There were significant differences among 14 phenotypic traits of *Eucommia ulmoides* leaves. The coefficient of variation of leaf area was the largest (20.68%), and the coefficient of variation of chlorophyll reference value was the smallest (4.57%). The genetic diversity index of each phenotypic trait ranged from 1.90 to 2.09, and the genetic diversity index of leaf length and petiole length was the highest with 2.09. There were 26 pairs of leaf phenotypic traits that are significantly positively correlated, and 19 pairs that are significantly negatively correlated ( $P < 0.01$ ). There were extremely significant positive correlations among the five traits of leaf length, leaf width, leaf area, leaf circumference and petiole length ( $P < 0.01$ ). The cumulative contribution rate of 6 principal components extracted by principal component analysis was 89.211%. Based on 14 phenotypic traits, 701 *Eucommia ulmoides* germplasm were divided into 4 categories. There were significant differences in leaf phenotypic traits among various groups. [Conclusion] The leaf phenotypic traits of *Eucommia ulmoides* germplasm resources show rich diversity, and six traits are selected as important indicators for evaluating the resources of *Eucommia ulmoides* germplasm resources, including leaf area, Specific leaf fresh weight, green component of leaf, chlorophyll reference value, length to width ratio of leaf, and internode length. It provides an excellent germplasm basis for the selection and comprehensive utilization of *Eucommia ulmoides* varieties.

**Keywords:** *Eucommia ulmoides* leaves; germplasm resources; phenotypic traits; diversity.

(责任编辑: 徐玉秀)