

冬青种质资源叶表型多样性分析

王雪洁¹, 周 鹏², 侯思璇¹, 方炎明^{1*}, 张 敏^{2*}

(1. 南京林业大学, 南方现代林业协同创新中心, 生命科学学院, 亚热带森林生物多样性保护国家林业和草原局重点实验室, 江苏 南京 210037; 2. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

摘要:【目的】了解冬青种质资源叶表型多样性, 揭示冬青种质资源的表型多样性机理, 为引种栽培与品种选育提供依据。【方法】对42份冬青种质资源的18个表型性状进行测定, 通过差异分析、方差分析、主成分分析和聚类分析研究其表型变异。【结果】冬青种质资源叶表型性状变异较大, 尤其是叶面积; Shannon多样性指数变化范围为1.00~2.03; 冬青种质资源叶表型性状变异丰富, 变异主要来源于种间。相关性分析发现, 各性状之间存在显著相关, 叶片外部性状与叶片解剖性状呈显著负相关; 通过主成分分析提取了叶长、叶片紧实度、栅栏组织和气孔密度4个主成分, 累计贡献率为85.20%, 基本能反映冬青属植物的总体性状表现; 聚类分析将42份冬青种质资源分为大叶-大叶柄类、小叶-小叶柄类、中叶-叶硬锯齿类和中叶-叶薄纸质类4大类群。【结论】冬青种质资源叶表型性状变异丰富, 属内变异主要来源于物种间。叶片外部性状是冬青种质资源表型分化的主要因素; 叶长、叶片紧实度、栅栏组织和气孔密度是划分冬青种质资源的4个主导因子, 可作为冬青种质资源的分类鉴定依据。本研究可为冬青属植物的分类、资源利用和栽培繁育提供理论参考。

关键词: 冬青属; 叶表型; 性状变异; 聚类分析

中图分类号: S718

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

文章编号: 1000-2006(2024)05-0090-07



Leaf phenotypic diversity analysis of holly germplasm resources

WANG Xuejie¹, ZHOU Peng², HOU Sixuan¹, FANG Yanming^{1*}, ZHANG Min^{2*}

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, College of Life Sciences, Key Laboratory of State Forestry and Grassland Administration on Subtropical Forest Biodiversity Conservation, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract: 【Objective】 This study aims to understand the leaf phenotypic diversity of holly (*Ilex* spp.) germplasm resources, elucidate the mechanisms behind this diversity, and support the introduction, cultivation and breeding of new varieties. 【Method】 We observed 18 phenotypic traits across 42 holly germplasm resources and analyzed the phenotypic variation using differential analysis, variance analysis, principal component analysis (PCA), and cluster analysis. 【Result】 There was significant variation in the leaf phenotypic traits among the holly germplasm resources, particularly in leaf area. The Shannon diversity index ranged from 1.00 to 2.03, indicating rich phenotypic diversity primarily due to interspecies variation. Correlation analysis showed a significant negative relationship between external leaf traits and anatomical traits. PCA identified four principal components, namely leaf length, tissue compactness, palisade tissue thickness, and stomatal density, that accounted for 85.20% of the variation, effectively capturing the overall characteristics of the holly plants. Cluster analysis grouped the 42 resources into four categories based on their leaf traits: large leaf with large petiole, small leaf with small petiole, medium leaf with hard serrations, and medium leaf with thin texture. 【Conclusion】 The study confirms substantial intrageneric phenotypic diversity in holly, driven predominantly by interspecies differences. External leaf traits were pivotal in phenotypic differentiation. The identified principal components, namely leaf length, compactness, palisade structure, and stomatal density, are crucial for classifying and

收稿日期 Received: 2023-02-14

修回日期 Accepted: 2023-12-26

基金项目: 江苏省林科院自主科研项目(ZZKY202105); 江苏省现代农业(花卉)产业技术体系项目(JATS[2023]384)。

第一作者: 王雪洁(wxjxxz@njfu.edu.cn)。*通信作者: 方炎明(jwu4@njfu.edu.cn), 教授, 负责选题指导和论文审定; 张敏(nmzhang@163.com), 研究员, 负责实验指导和论文修改。

引文格式: 王雪洁, 周鹏, 侯思璇, 等. 冬青种质资源叶表型多样性分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2024, 48(5): 90-96.
WANG X J, ZHOU P, HOU S X, et al. Leaf phenotypic diversity analysis of holly germplasm resources[J]. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition), 2024, 48(5): 90-96. DOI: 10.12302/j.issn.1000-2006.202302015.

identifying holly germplasm resources. Based on the leaf phenotypes, the resources were categorized into four distinct groups, providing a theoretical foundation for further classification, resource utilization, and breeding within the genus *Ilex* L.

Keywords: *Ilex*(holly); leaf phenotypic; traits variation; cluster analysis

表型受遗传和环境的双重调控,是植物多样性的直观体现,表型特征的差异在很大程度上体现了同种植物的区别以及不同种植物之间的相似性,表型多样性是在形态学水平上检测植物遗传多样性最简便易行且快速的方法^[1-2]。叶是植物进行光合作用、蒸腾作用的重要器官,其表型性状对植物具有至关重要的作用,不同生长环境的植物其叶形态也有较大的变异,因此常被用作种间分类和表型变异分析。

冬青属(*Ilex*)是被子植物中种类最多的木本雌雄异株植物属,全球有 660 余种,广泛分布于南、北半球的热带、亚热带至温带地区,主产中南美洲和亚洲热带^[3]。中国是冬青属的重要分布区,有 204 种,隶属于 3 亚属 9 组 21 系^[4],是冬青属物种的多样性中心之一。冬青属存在着大量的天然变

型、变种、杂交种,许多变种、变型还是重要的观赏植物^[5]、蜜源植物和药用植物^[6-9],具有多种功效^[10]。近 10 多年国内冬青属植物的引种和育种研究开始增多^[11],前期的引种多为民间自发的重复引进,造成同物异名或异物同名等现象,从形态特征性状上进行定性和分析,探索冬青种质资源的叶表型性状及其遗传变异,寻找稳定的遗传性状,将为我国冬青种质鉴定和多样性评价提供重要的依据。本研究以 42 份冬青种质资源为研究对象,分析其叶表型多样性,以期对我国冬青属植物的引种栽培与品种选育提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为 42 份冬青种质资源(表 1),均采

表 1 冬青种质资源试验材料信息
Table 1 Information of the test materials for germplasm resources of holly

编号 code	种名或品种名 species/cultivar	来源 germplasm source	备注 notes	编号 code	种名或品种名 species/cultivar	来源 germplasm source	备注 note
ICH	冬青 <i>I. chinensis</i>	江苏溧阳	野生资源	IV1	‘奥斯特’ <i>I. verticillata</i> ‘Oosterwijk’	浙江杭州	育种品种
IL	木姜冬青 <i>I. litsifolia</i>	江苏南京	野生资源	IV2	‘格瑞’ <i>I. verticillata</i> ‘Afterglow’	浙江杭州	育种品种
IR	铁冬青 <i>I. rotunda</i>	浙江普陀山	野生资源	IV3	‘冬红’ <i>I. verticillata</i> ‘Winter Red’	浙江杭州	育种品种
IT	三花冬青 <i>I. triflora</i>	浙江杭州	栽培种	IV4	‘冬黄’ <i>I. verticillata</i> ‘Winter Gold’	浙江杭州	育种品种
IVI	绿冬青 <i>I. viridis</i>	浙江仙居	野生资源	ICE1	完美冬青 <i>I. crenata</i> ‘Helleri’	杭州园林	育种品种
IP	具柄冬青 <i>I. pedunculosa</i>	浙江杭州	栽培种	ICE2	铅笔冬青 <i>I. crenata</i> ‘Sky Pencil’	浙江杭州	育种品种
IDM	二型叶冬青 <i>I. dimorphophylla</i>	江苏南京	栽培种	ICE3	‘金宝石’冬青 <i>I. crenata</i> ‘Golden Gem’	浙江杭州	育种品种
IDA	大别山冬青 <i>I. dabieshanensis</i>	江苏南京	栽培种	ICO1	枸骨 <i>I. cornuta</i>	江苏南京	栽培种
IDI	双核枸骨 <i>I. dipyrena</i>	江苏南京	栽培种	ICO2	无刺枸骨 <i>I. corunta</i> ‘Burfordii’	江苏南京	育种品种
ILA	大叶冬青 <i>I. latifolia</i>	福建武夷山	野生资源	ICO3	矮生全缘枸骨 <i>I. cornuta</i> ‘Dwarf Burfordii’	江苏南京	育种品种
II	全缘冬青 <i>I. integra</i>	浙江普陀山	野生资源	ICO4	金叶枸骨 <i>I. cornuta</i> ‘O Spring’	江苏南京	育种品种
IS	拟榕叶冬青 <i>I. subficoidea</i>	福建武夷山	野生资源	ICO5	黄金枸骨 <i>I. × attenuate</i> ‘Sunny Foster’	江苏南京	杂交品种
IVO	代茶冬青 <i>I. vomitoria</i>	江苏南京	栽培种	IO1	美国冬青 <i>I. opaca</i>	江苏南京	栽培种
IPU	毛冬青 <i>I. pubescens</i>	福建武夷山	野生资源	IO2	‘纳瑞’冬青 <i>I. opaca</i> ‘Nera’	浙江杭州	育种品种
IMT	河滩冬青 <i>I. metabaptista</i>	湖北恩施	栽培种	IAQ1	‘阿拉斯加’冬青 <i>I. aquifolium</i> ‘Alaska’	浙江杭州	育种品种
IMA	大果冬青 <i>I. macrocarpa</i>	湖北恩施	栽培种	IAQ2	‘银边’枸骨叶冬青 <i>I. aquifolium</i> ‘Madame Briot’	江苏南京	育种品种
IMI	小果冬青 <i>I. micrococca</i>	江苏南京	栽培种	IAQ3	黄果枸骨叶冬青 <i>I. aquifolium</i> ‘Bacciflava’	江苏南京	育种品种
IAS	秤星树 <i>I. asprella</i>	江苏南京	栽培种	IAL1	‘金心阿尔塔’冬青 <i>I. × altaclerensis</i> ‘Lawsoniana’	江苏南京	杂交品种
IAT	沼泽落叶冬青 <i>I. decidua</i>	江西武夷山	野生资源	IAL2	‘长叶阿尔塔’冬青 <i>I. × altaclerensis</i> ‘Belgica Aurea’	江苏南京	杂交品种
IEL	厚叶冬青 <i>I. elmerrilliana</i>	浙江杭州	栽培种	ISP1	‘斯蒂芬’冬青 <i>I. × sp</i> ‘Nellie R. Stevens’	江苏南京	杂交品种
IME	‘蓝天使’冬青 <i>I. meserveae</i> ‘Blue Boy’	浙江杭州	杂交品种	ISP2	‘中国少女’冬青 <i>I. × sp</i> ‘China Girl’	浙江杭州	杂交品种

自江苏省林业科学研究院国家观赏冬青种质资源库。该资源库位于江苏省南京市江宁区东善桥(118°46′39.609″E, 31°51′41.580″N), 海拔208.6 m, 年均气温13~22℃, 夏季平均高温23℃, 冬季平均低温14℃, 年均降水量1 090.6 mm, 属于典型的亚热带季风气候。

1.2 表型特征测定方法

1.2.1 叶片外部性状测量

参考覃冬梅^[12]的方法, 在试验地现场对叶片外部性状进行测量。每种选长势相近的3株样树, 在样树的东南西北4个方向各选择3根枝条, 对枝顶向下的第5~6片叶子进行叶长(leaf length, LL)、叶宽(leaf width, LW)、叶柄长(petiole length, PL)、长宽比(leaf length to width ratio, LLW)、叶面积(leaf area, LA)和周长(leaf perimeter, LP)的测量。

1.2.2 叶片解剖结构测量

叶片的横切面采用冰冻切片的方式^[13], 在远离中脉的叶片中央切出1 cm×1 cm小块, 制作成临时装片; 使用Nikon 50i荧光显微镜(日本)观察, 镜检后拍照, 用Image J2.10e分析软件测量叶片解剖厚度(leaf anatomical thickness, LAT)、叶肉细胞厚度(mesophyll cell thickness, MCT)、叶片栅栏组织厚度(palisade tissue thickness, PTT)、叶片海绵组织厚度(spongy tissue thickness, STT), 并计算栅栏组织/海绵组织比(栅海比, grid-to-sea ratio, GTSR)、叶片紧实度(leaf tissue structure tightness, TST, %)和叶片疏松度(leaf tissue structure looseness, TSL, %)。每种样品随机观察10个切片, 每个切片选取3个视野, 每个测量指标重复30次, 取平均值。

1.2.3 叶片气孔结构测量

叶片下表皮的制备采用透明胶带-刮片法^[14-15], 选取健康无病害的成熟叶片, 切成1 cm×1 cm小块, 制作成临时装片。用Nikon 50i荧光显微镜观察拍照, 随机选取10个视野进行观察, 并用Image J2.10e分析软件测量气孔个数(stomatal number, SN)、气孔面积(stomatal area, SA), 计算平均值。气孔密度(stomatal density, SD)为单位视野测量的叶片气孔个数(N)与单位视野测量的面积(A)之比。

1.2.4 叶片质量性状分析

叶缘特征(leaf margin features, LMF)和叶质地(leaf texture, LT)采用分级评定方式。叶缘特征: 1为锯齿状, 2为芒状锯齿, 3为圆齿状, 4为全缘, 5为尖硬刺齿, 6为细圆齿状, 7为浅钝齿。叶质地: 1

为纸质, 2为革质, 3为厚革质。

1.3 数据处理

利用Excel对叶片表型性状进行描述性统计, 包括最大值(max)、最小值(min)、均值(average)、标准差(SD)、极差(R)和变异系数(CV)。

采用Shannon-Wiener指数表示形态多样性程度^[16-17], 采用巢氏设计方差分析计算方差分量及表型分化系数^[18-19]。表型分化系数 $V_{st} = \delta_p^2 / (\delta_p^2 + \delta^2)$, 其中 δ_p^2 为种间的方差分量, δ^2 为种内的方差分量。

使用Origin 2021对冬青种质资源性状间的Pearson相关系数进行计算, 考查其相关关系, 并进行相关性分析; 采用最大方差法进行主成分分析; 经过标准化转换, 采用欧氏距离类平均法(UPGMA)进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 冬青叶表型性状变异及多样性分析

对冬青种质资源的18个表型性状进行变异分析(表2)可知, 种间和部分种内除叶缘特征和叶质地这两个性状外, 其余16个数量性状存在显著差异, 表现出丰富的表型多样性。从变异系数看, 冬青种质资源各性状在不同材料之间具有广泛的变异, 且不同性状的变异程度不同, 冬青种质资源变异系数为16.48%~92.80%。6个叶片外部性状中, 叶面积(LA)变异系数最大, 为92.80%; 叶片长宽比(LLW)的变异系数最小, 为28.20%。另外, 叶片长宽比的变异系数小于叶片长和叶片宽, 说明叶片形状较单个叶片长或叶片宽性状稳定。10个叶片解剖性状中, 海绵组织厚度(STT)的变异系数最大, 为45.50%; 叶片疏松度(TSL)变异系数最小, 为16.48%。由平均变异系数来看, 叶片表型性状的变异离散程度由高到低分别为叶片外部性状>质量性状>叶片解剖性状。

Shannon-Wiener指数反映不同表型性状的丰富及均匀程度^[20]。从多样性指数结果(表2)可以看出冬青种质资源形态多样性丰富, 18个叶表型性状的Shannon多样性指数为1.00~2.03, 平均值为1.81, 叶质地的多样性指数最小, 叶片解剖结构厚的多样性指数最大。其中: 6个叶片外部性状按Shannon多样性指数从大到小排序为周长(1.97)>叶长(1.88)>叶宽(1.86)>叶柄长(1.85)>长宽比(1.80)>面积(1.57); 10个叶片解剖性状按Shannon多样性指数从大到小排序为叶片解剖厚度(2.03)>叶肉细胞厚度(2.02)>叶片疏松度(2.01)=气孔面积(2.01)>叶片紧实度(1.94)>栅

海比 (1.87) > 海绵组织厚度 (1.83) > 气孔个数 (1.81) = 气孔密度 (1.81) > 栅栏组织厚度 (1.78) ; 2 个质量性状按 Shannon 多样性指数从大到小排序为叶缘特征 (1.61) > 叶质地 (1.00) 。

表 2 冬青种质资源叶表型性状变异分析

Table 2 Variation analysis of leaf phenotypic traits germplasm resources of holly

表型性状 phenotypic traits	最小值 min	最大值 max	均值 mean	方差 variance	<i>F</i>	变异系数/% CV	多样性指数 <i>H'</i> diversity index
LL	1.65	14.68	6.05±2.75	7.54	124.08 *	45.40	1.88
LW	0.77	6.60	3.03±1.26	1.59	78.63 *	41.60	1.86
LLW	1.19	4.46	2.06±0.58	0.34	43.47 *	28.20	1.80
PL	0.23	2.13	0.80±0.42	0.18	72.39 *	52.70	1.85
LA	1.15	69.83	15.30±14.20	201.69	15.10 *	92.80	1.57
LP	4.29	36.25	16.372±6.95	48.27	12.68 *	42.40	1.97
LAT	122.96	469.35	268.70±88.23	7 784.09	201.85 *	32.80	2.03
MCT	90.99	419.42	239.00±84.27	7 101.21	162.48 *	35.30	2.02
PTT	40.49	169.93	98.30±28.64	820.10	27.52 *	29.10	1.78
STT	51.51	248.78	132.90±60.51	3 660.80	132.21 *	45.50	1.83
GTSR	0.39	1.66	0.84±0.31	0.10	18.89 *	37.20	1.87
TST	24.81	61.60	37.80±7.93	0.63	10.62 *	20.99	1.94
TSL	33.41	64.15	47.73±7.87	0.62	9.76 *	16.48	2.01
SN	34.00	130.00	63.83±21.23	450.73	33.70 *	33.30	1.81
SA	135.61	573.42	323.31±103.74	10 761.25	75.72 *	32.10	2.01
SD	250.04	945.41	465.78±154.71	—	10.53 *	33.20	1.81
LMF	1	7	3.76±1.89	3.552	—	50.10	1.61
LT	1	3	2.14±0.11	0.683	—	31.92	1.00

注：* .*P*<0.05。

2.2 冬青叶表型性状变异的表型分化

采用巢氏设计方差分析对冬青种质资源 18 个表型性状进行方差分量及表型分化系数分析,结果见表 3。冬青种质资源的平均表型分化系数为

60.19%,种间方差分量占总变异的 54.393%,种内方差分量占总变异的 35.819%,说明种间变异是表型变异的主要来源。

表 3 冬青种质资源叶表型性状的方差分量与表型分化系数

Table 3 Variance components and phenotypic differentiation coefficients of leaf phenotypic traits in germplasm resources of holly

表型性状 phenotypic traits	方差分量 variance component			方差分量百分比% percentage of variance component			表型分化系数/% phenotypic differentiation coefficient
	种间 among species	种内 within species	随机误差 random error	种间 among species	种内 within species	随机误差 random error	
LL	6.824	0.843	0.726	81.300	10.050	8.650	89.00
LW	0.973	0.629	0.242	52.780	34.090	13.130	60.74
LLW	0.227	0.113	0.094	52.310	26.070	21.620	66.76
PL	0.171	0.010	0.030	81.160	4.820	14.020	94.48
LA	177.378	17.252	3.294	89.620	8.720	1.660	91.14
LP	28.408	21.715	2.038	54.460	41.630	3.910	56.68
LAT	5 117.461	2 821.328	132.197	63.410	34.960	1.640	64.46
MCT	4 586.006	2 582.778	148.499	62.670	35.300	2.030	63.97
PTT	68.897	724.337	101.536	7.700	80.950	11.350	8.69
STT	2 611.917	1 016.997	92.320	70.190	27.330	2.480	71.98
GTSR	0.038	0.051	0.017	35.870	48.300	15.830	42.70
TST	0.002	0.003	0.002	30.830	43.250	25.920	40.00
TSL	0.004	0.001	0.002	52.450	19.950	27.600	80.00
SN	111.279	305.482	49.867	23.850	65.470	10.690	26.70
SA	6 108.760	4 586.841	560.129	54.270	40.750	4.980	57.11
SD	5 930.868	16 281.365	2 657.778	23.850	65.470	10.690	26.70
LMF	2.143	1.583	0.000	57.510	42.490	0.000	57.51
LT	0.661	0.118	0.000	84.850	15.150	0.000	84.85
平均 average	—	—	—	54.393	35.819	9.789	60.19

2.3 冬青叶表型性状相关性分析

对所测定的 18 个叶片表型性状进行相关性分析,结果见图 1。在叶片外部性状中,叶长与叶宽、叶柄长呈极显著正相关,叶宽与叶柄长呈极显著正相关;叶长、叶宽、叶柄长与面积、周长均呈极显著正相关。在叶片解剖性状中,叶片解剖厚度与叶肉细胞厚度呈极显著正相关;叶片解剖厚度、叶肉细胞厚度与栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片疏松度、气孔面积呈极显著正相关,栅栏组织厚度与海绵组织厚度呈极显著正相关;而叶片解剖厚度、叶肉细胞厚度、海绵组织厚度与栅海比、叶片紧实度呈极显著负相关,栅海比、叶片紧实度与叶片疏松度、气孔面积呈极显著负相关;气孔个数与气孔面积呈显著负相关,与气孔密度呈极显著正相关;气孔面积与气孔密度呈显著负相关;在叶片质量性状中,叶缘特征与除叶长宽比之外的叶片外部性状呈显著负相关,叶质地与叶片解剖结构呈显著相关。

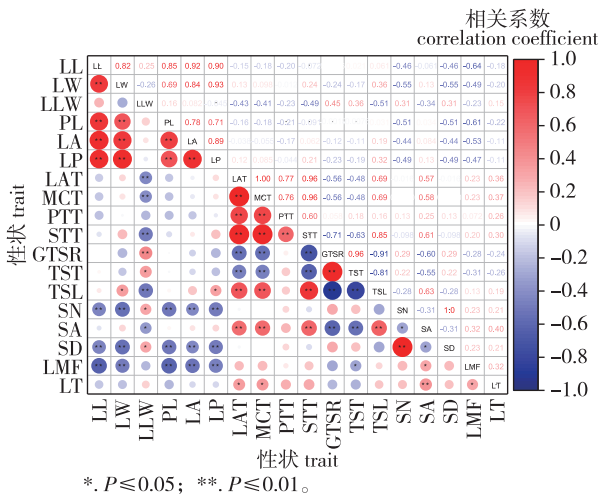


图 1 冬青种质资源叶表型性状间相关性热图

Fig. 1 Correlation heat map of leaf phenotypic traits in germplasm resources of holly

2.4 冬青叶表型性状主成分分析

对冬青种质资源 18 个表型性状进行主成分分析,得到 4 个特征值大于 1 的主成分,反映了冬青种质资源叶表型变异,累积贡献率为 85.20% (表 4)。前两个主成分贡献率达 66.77%,选取前两个主成分来解释冬青种质资源叶表型变异。另由表 4 可知:PC1 在叶长、叶宽、叶柄长、面积、周长中具有较大载荷,可将 PC1 看作外部性状因子;PC2 在栅海比、叶片紧实度、叶片疏松度中具有较大的载荷,这些是描述解剖性状比率的指标;PC3 在叶片解剖厚度、叶肉细胞厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度中具有较大的载荷,因此将 PC2 和 PC3 看作解剖性状因子;PC4 在气孔个数和气孔面积中具有

较大的载荷,将 PC4 看作气孔结构因子。

表 4 冬青种质资源表型特征的主成分分析

Table 4 Principal component analysis of leaf phenotypic traits in germplasm resources of holly

表型性状 phenotypic trait	主成分 principal components			
	1	2	3	4
LL	0.97	-0.06	-0.13	-0.04
LW	0.87	0.12	0.12	-0.30
LLW	0.18	-0.31	-0.34	0.62
PL	0.85	-0.08	-0.15	-0.19
LA	0.94	0.10	-0.07	-0.05
LP	0.92	0.17	0.07	-0.13
LAT	-0.02	0.50	0.85	-0.03
MCT	-0.04	0.51	0.85	-0.01
PTT	-0.10	-0.12	0.97	0.02
STT	0.06	0.65	0.73	-0.08
GTSR	-0.06	-0.94	-0.08	0.21
TST	-0.04	-0.95	0.03	0.11
TSL	0.17	0.84	0.33	-0.21
SN	-0.41	-0.12	0.09	0.86
SA	-0.01	0.64	0.31	-0.30
SD	-0.41	-0.12	0.09	0.86
LMF	-0.690	0.425	0.003	0.013
LT	-0.190	0.660	0.257	0.112
特征值 eigenvalue	6.44	5.57	1.98	1.34
贡献率/% variance contribution rate	35.82	30.95	10.98	7.45
累计贡献率/% cumulative contribution rate	35.82	66.77	77.75	85.20

2.5 冬青叶表型性状聚类分析

经过标准化转换,采用欧氏距离类平均法 (UPGMA) 进行聚类,结果 (图 2) 显示,42 份冬青种质资源可分为 4 类。第 I 类群只有 1 份种质,其

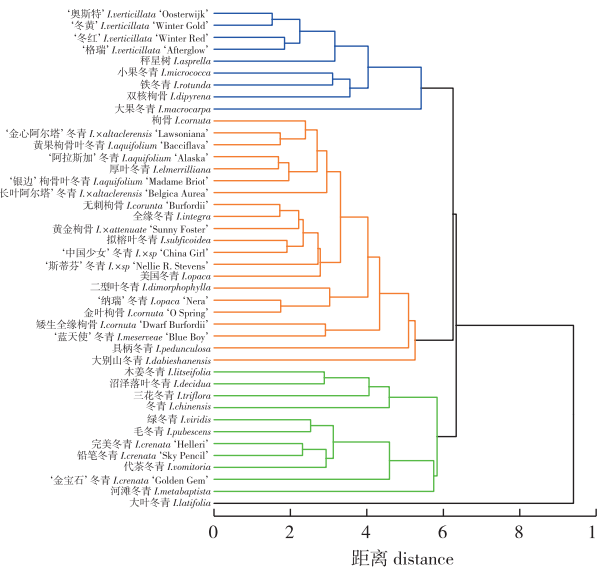


图 2 42 份冬青种质资源的聚类树状图

Fig. 2 Clustering dendrograms of 42 germplasm resources of holly

中叶长、叶柄长、叶面积、周长、海绵组织厚度的均值最大,可见该种质的性状特点为叶片大,叶柄长,叶厚革质;第Ⅱ类群包括 11 份种质,共同特征为叶片小,叶柄短,叶片紧实度较高,气孔个数较多,气孔密度较大,叶片革质,叶片边缘具有锯齿或者钝齿;第Ⅲ类群包括 21 份种质,共同特征为叶片大小中等,叶片厚,叶片疏松,胞间隙较大,气孔面积较大,叶片边缘具有尖硬刺齿或全缘,叶片厚革质或革质;第Ⅳ类群包括 9 份种质,共同特征为叶长宽比大于 2,叶片薄,气孔个数较少,叶片边缘具有锯齿或全缘,叶片多为纸质。

3 讨 论

表型性状变异往往在适应性和进化上具有重要意义,丰富的表型变异提高了群体适应不同环境的可能性,也为种的形成奠定了基础^[21]。本研究发现冬青种质资源叶表型性状多样性差异大,变异丰富,其中叶长、叶面积、叶周长、叶片解剖厚度以及气孔面积的变异系数和 Shannon-Wiener 指数较高,说明这 5 个性状能够较好地反映物种间的遗传变异,这与前人的研究结果^[22-23]相似。

方差分量比及表型分化系数显示,冬青种质资源叶表型性状的变异主要来自种间,表型分化系数在种间表现为叶片外部性状(76.47%)>叶片质量性状(71.18%)>叶片解剖性状(48.23%),说明冬青种质资源叶片形态差异主要表现在外部性状,种内的分化系数较小,因此叶片外部性状适合作为种间分类学指标。其中栅栏组织厚度、栅海比、叶片紧实度、气孔个数和气孔面积 5 个表型性状变异主要来源于种内,种内的多样性大于种间的多样性,因此可将这 5 个指标作为种内分类依据。

冬青种质资源的 18 个叶片表型性状之间存在着不同程度的相关关系,其中,除了长宽比,叶片外部性状间均呈极显著正相关,叶片外部性状与叶片解剖性状呈显著负相关,叶片外部性状对叶片解剖性状具有抑制作用,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^[24]。根据主成分分析结果选取 4 个主成分,累计贡献率可达到 85.20%,能反映全部指标的绝大部分信息,叶长、叶片紧实度、栅栏组织厚度和气孔密度是 4 个主成分的主导因子,对叶片表型多样性起着关键作用,是影响冬青种质资源形态多样性的主要因素,可作为冬青种质资源分类的主要表型指标,这与人选取叶长、解剖结构作为冬青种质资源典型性状指标所得的结果^[25-26]一致。

聚类分析能综合种质资源的性状类型并进行分类,能较好地反映种质材料之间的亲缘关系。根据性状聚类特点,将表型特征相似的冬青种质资源聚在一起,结果显示,42 份冬青种质资源可分为大叶-大叶柄类、小叶-小叶柄类、中叶-叶硬锯齿类、中叶-叶薄纸质类 4 大类群。第Ⅰ类群仅有大叶冬青一份种质,大叶冬青与其他冬青属植物表型性状相差较大,单独成一个分支;第Ⅱ类群主要是小叶-小叶柄类,这类冬青有较高的观赏价值,易修剪,属于观赏冬青类;第Ⅲ类群为硬齿类冬青,阿拉斯加冬青与厚叶冬青先聚类,再与‘银边’枸骨叶冬青聚类,后依次与其余枸骨叶冬青物种聚类,阿拉斯加冬青和‘银边’枸骨叶冬青均是欧洲冬青的育种品种,而厚叶冬青与他们的表型特征较为相似,聚在一起,这与研究人员用测序和分子标记所得结果^[3,27-28]有一定的差异,可能是与资源品种、分析指标以及环境因素等有关;第Ⅳ类群为中叶-叶薄纸质类,大部分为落叶冬青,‘奥斯特’和‘冬黄’首先聚在一起,再与‘冬红’和‘格瑞’聚在一起,同一个种的聚集在一起。

综上所述,冬青种质资源叶表型性状变异丰富,变异主要来源于物种间。叶片外部性状是冬青种质资源表型分化的主要因素;叶长、叶片紧实度、栅栏组织和气孔密度是 4 个主成分的主导因子,可作为冬青种质资源的分类鉴定依据。依据叶表型性状可将冬青种质资源划分为大叶-大叶柄类、小叶观赏类、中叶硬锯齿类和中叶纸质落叶类。该研究对于今后我国冬青种质资源的引种栽培与品种选育具有一定的参考价值,后续将结合其他表型性状、分子标记等多方面的研究,进一步对冬青种质资源进行鉴定、分类与评价。

参考文献(reference):

- [1] 李伟,王攀,其其格,等.蓝莓种质资源表型多样性研究[J].北京林业大学学报,2020,42(2):124-134.LI W, WANG P, Qiqige, et al. Phenotypic diversity analysis of blueberry germplasm resources[J]. J Beijing For Univ, 2020, 42(2): 124-134. DOI: CNKI: SUN; BJLY.0.2020-02-015.
- [2] BOQUETE M T, MUYLE A, ALONSO C. Plant epigenetics: phenotypic and functional diversity beyond the DNA sequence[J]. American Journal of Botany, 2021, 108(4): 553-558. DOI: 10.1002/ajb2.1645.
- [3] YAO X, SONG Y, YANG J B, et al. Phylogeny and biogeography of the hollies (*Ilex* L., Aquifoliaceae) [J]. J Syte Evo, 2021, 59(1): 73-82. DOI: 10.1111/jse.12567.
- [4] WU Z Y R P. Flora of China[M]. Beijing & St Louis: Science Press & Missouri Botanical Garden Press, 2020.
- [5] 周鹏,祝亚云,刘博,等.中国冬青属物种多样性空间格局[J].中南林业科技大学学报,2022,42(5):126-132.ZHOU P, ZHU Y Y, LIU B, et al. Geographical distribution pattern of

- species diversity of the genus *Ilex* in China[J]. J Cent South Univ Fore & Tech, 2022, 42(5): 126–132. DOI: 10.14067/j.cnki.1673-923x.2022.05.014.
- [6] WUPPER S, LUERSEN K, RIMBACH G. Chemical composition, bioactivity and safety aspects of Kuding tea: from beverage to herbal extract[J]. Nutrients, 2020, 12(9): 2796. DOI:10.3390/nu12092796.
- [7] 张婷, 焦连庆, 刘融融, 等. 苦丁茶冬青多酚类化合物抗氧化活性谱效关系研究[J]. 中国药学杂志, 2023, 58(6): 489–496. ZHANG T, JIAO L Q, LIU R R, et al. Spectral effect relationship of antioxidant activity of polyphenols from *Ilex Kudingcha* [J]. Chinese Pharmaceutical Journal, 2023, 58(6): 489–496. DOI: 10.11669/cpj.2023.06.004.
- [8] LI J, ZHANG J M, ZOU L, et al. Pro-angiogenic effects of *Ilex saponin* A1 on human umbilical vein endothelial cells *in vitro* and zebrafish *in vivo*[J]. Phytomedicine, 2017, 36: 229–237. DOI: 10.1016/j.phymed.2017.10.006.
- [9] 廖坤莹, 李荣, 张天奉, 等. 毛冬青治疗心力衰竭的药理学研究进展[J]. 广州中医药大学学报, 2022, 39(8): 1947–1952. LIAO K Y, LI R, ZHANG T F, et al. Progress in pharmacological research of *Radix ilicis pubescentis* for the treatment of heart failure[J]. Journal of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 2022, 39(8): 1947–1952. DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2022.08.039.
- [10] YAO X, ZHANG F, CORLETT R T. Utilization of the hollies (*Ilex* L.spp.): a review[J]. Forests, 2022, 13(1), 94. DOI: 10.3390/f13010094.
- [11] 潘学峰, 邵国伟, 刘国民. 苦丁茶冬青不同种质材料的花果形态学观察[J]. 热带生物学报, 2018, 9(3): 350–357. PAN X F, SHAO G W, LIU G M. Morphological observation on the flowers and fruits of different germplasm materials of *Ilex kudingcha* C.J. Tseng in China[J]. Journal of Tropical Biology, 2018, 9(3): 350–357. DOI: 10.15886/j.cnki.rdsxb.2018.03.013.
- [12] 覃冬梅. 6种金花茶叶片表型和 SCoT 遗传多样性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2020. QIN D M. Study on leaf phenotype and SCoT genetic diversity of six species of scet. *Chrysanth* [D]. Nanning: Guangxi University, 2020.
- [13] 王心可, 郭庆梅. 冰冻切片技术在高等植物中的应用[J]. 植物生理学报, 2021, 57(5): 1047–1054. WANG X K, GUO Q M. Applications of cryo-sectioning in higher plants [J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(5): 1047–1054. DOI: 10.13592/j.cnki.ppj.2020.0622.
- [14] 方纯娇, 韩雪, 史冬燕, 等. 牡丹叶片气孔观察方法的比较研究[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(13): 41–42, 76. FANG C J, HAN X, SHI D Y, et al. Comparative study on the observation method of *Paonia suffruticosa* leaf stomata[J]. J Anhui Agri Sci, 2016, 44(13): 41–42, 76. DOI: 10.13989/j.cnki.0517-6611.2016.13.015.
- [15] 叶春秀, 庄振刚, 李有忠, 等. 棉花叶片气孔制片方法比较及改良[J]. 分子植物育种, 2014, 12(3): 543–546. YE C X, ZHUANG Z G, LI Y Z, et al. A comparison of several specimen preparation methods of cotton stomatal slice[J]. Molecular Plant Breeding, 2014, 12(3): 543–546. DOI: 10.13271/j.mpb.012.000543.
- [16] 王永康, 吴国良, 赵爱玲, 等. 枣种质资源的表型遗传多样性[J]. 林业科学, 2014, 50(10): 33–41. WANG Y K, WU G L, ZHAO A L, et al. Phenotypic genetic diversity of jujube germplasm resources[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2014, 50(10): 33–41. DOI: 10.11707/j.1001-7488.20141005.
- [17] 刘博文, 黎桂阳, 常媛飞, 等. 野豌豆属种子形态多样性与种子分类鉴定方法的研究[J]. 草地学报, 2021, 29(7): 1375–1385. LIU B W, LI G Y, CHANG Y F, et al. Study on seed morphological diversity and seed classification and identification method of *Vicia* [J]. Acta Agrestia Sinica, 2021, 29(7): 1375–1385. DOI: 10.11733/j.issn.1007-0435.2021.07.001.
- [18] 葛颂, 王明麻, 陈岳武. 用同工酶研究马尾松群体的遗传结构[J]. 林业科学, 1988, 24(4): 399–409. GE S, WANG M X, CHEN Y W. An analysis of population genetic structure of Masson pine by isozyme technique[J]. Scientia Silvae Sinicae, 1988, 24(4): 399–409.
- [19] 张捷, 李蓉蓉, 孟景祥, 等. 我国风铃木类植物叶性状表型变异与遗传多样性研究[J]. 植物研究, 2021, 41(6): 851–861. ZHANG J, LI R R, MENG J X, et al. Phenotypic variation and genetic diversity of leaves traits of *Tabebuia* and *Handroanthus* (Bignoniaceae) in China[J]. Bulletin of Botanical Research, 2021, 41(6): 851–861. DOI: 10.7525/j.issn.1673-5102.2021.06.002.
- [20] 姚程程, 王俊臣, 胡继文, 等. 香椿种质生长及叶部表型性状的遗传变异分析[J]. 植物科学学报, 2020, 38(1): 112–122. YAO C C, WANG J C, HU J W, et al. Genetic variation of growth and leaf phenotypic traits of *Toona sinensis* (A. Juss.) Roem germplasm [J]. Plant Science Journal, 2020, 38(1): 112–122. DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2020.10112.
- [21] 戴小红, 孙伟生, 贺建军, 等. 我国野牡丹属植物的表型多样性研究[J]. 热带作物学报, 2014, 35(10): 2036–2042. DAI X H, SUN W S, HE J J, et al. Phenotypic diversity of *Melastoma* L. in China[J]. Chinese J Tropi Cro, 2014, 35(10): 2036–2042. DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2014.10.026.
- [22] COELHO G C, DE ARAUJO MARIATH J E, SCHENKEL E P. Populational diversity on leaf morphology of maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. Aquifoliaceae) [J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2002, 45(1): 47–51. DOI: 10.1590/s151689132002000100008.
- [23] 李相传, 孙柏年, 林志成, 等. 冬青属植物的叶表皮特征及其分类学意义[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2010, 46(4): 13–21, 29. LI X C, SUN B N, LIN Z C, et al. Epidermal anatomy of the genus *Ilex* and its taxonomic significance[J]. Journal of Lanzhou University (Natural Sciences), 2010, 46(4): 13–21, 29. DOI: 10.13885/j.issn.0455-2059.2010.04.015.
- [24] 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. YI L X, GAO F Y, ZHOU Y, et al. Evaluation and analysis of phenotypic traits of flax germplasm resources[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2020, 42(3): 411–419. DOI: 10.19802/j.issn.1007-9084.2019211.
- [25] VANIA H T, ALEXANDRO C, PAULO A F, et al. Morphometry and foliar venation origins of maté (*Ilex paraguariensis* A.St. Hill.) (Aquifoliaceae) [J]. Biology, Environmental Science, 2009, 31(4): 433–437.
- [26] LUNA C V, GONZALEZ A M, MROGINSKI L A, et al. Anatomical and histological features of *Ilex paraguariensis* leaves under different *in vitro* shoot culture systems [J]. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 2017, 129(3): 457–467. DOI: 10.1007/s11240-017-1191-x.
- [27] 周喜军, 张冬梅, 罗玉兰, 等. 冬青属植物的 ISSR 标记分析及其应用[J]. 河南农业大学学报, 2009, 43(2): 196–200, 209. ZHOU X J, ZHANG D M, LUO Y L, et al. Inter-simple sequence repeats (ISSR) marker analysis of *Ilex* plants species and its application[J]. J Henan Agri Univ, 2009, 43(2): 196–200, 209. DOI: 10.16445/j.cnki.1000-2340.2009.02.014.
- [28] 章建红, 高云振, 张斌, 等. 26 种冬青属植物遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2011, 31(3): 504–510. ZHANG J H, GAO Y Z, ZHANG B, et al. Genetic diversity of *Ilex* L. tree species [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(3): 504–510.

(责任编辑 郑琰琰)