

叶用青钱柳优树的选择及其无性系区域化测定试验

黄 铖¹, 马玉华¹, 杨少博¹, 王文静¹, 傅松玲^{1*}, 丁满萍²

(1. 安徽农业大学林学与园林学院, 合肥 230036; 2. 绩溪县万禾林业开发有限公司, 宣城 245300)

摘 要: 以青钱柳叶片内含物含量、鲜叶重、鲜叶面积作为选优性状, 对皖南山区野生青钱柳进行选优, 经过初选、复选选育出 10 株优良单株。将其无性系分别在安徽绩溪、明光和合肥进行区域化栽培, 对性状进行变异分析和主成分分析, 并确定选优指标。结果表明, 叶片内含物含量、鲜叶重和鲜叶面积, 可作为青钱柳优树主要选育指标。通过对比各选优指标的主成分综合得分, 结合不同区域优树叶片内含物变异分析, 最终选择出 3 个优良品种‘皖青 1 号’、‘皖青 2 号’和‘皖青 3 号’, 并确定不同品种的适宜种植范围。

关键词: 青钱柳; 优树选择; 区域化试验; 综合评价

中图分类号: S792.13

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2020)06-0938-05

Selection of superior trees and regional trial of clones in leaf-used *Cyclocarya paliurus*

HUANG Cheng¹, MA Yuhua¹, YANG Shaobo¹, WANG Wenjing¹, FU Songling¹, DING Manpin²

(1. School of Forestry and Landscape Architecture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036;

2. Jixi Wanhe Forestry Development Company Limited, Jixi 245300)

Abstract: Ten elite trees were bred through primary selection and check from the leaf utilization varieties of the wild *Cyclocarya paliurus* in the mountainous area of Southern Anhui by studying their excellent traits of inclusion contents in leaves, fresh-leaf weight and fresh-leaf area. *Cyclocarya paliurus* clones were cultivated in Jixi, Hefei and Mingguang of Anhui, and their selection indexes were determined with analyzing their traits in term of variation and principal components. The results showed that the inclusion contents in leaves, fresh-leaf weight and fresh-leaf area could be used as the main indexes for the selection of *Cyclocarya paliurus*. Three superior varieties, ‘Wanqing1’, ‘Wanqing2’ and ‘Wanqing3’, were eventually selected, and their suitable planting ranges were determined by comparing the component comprehensive scores of each selection index, combined with the variation analysis of the inclusion contents in the leaves of superior trees in different regions.

Key words: *Cyclocarya paliurus*; selection of plus tree; regional experiment; comprehensive evaluation

青钱柳 (*Cyclocarya paliurus*) 为胡桃科青钱柳属, 是我国独有的单属种植物, 属于国家二级保护植物, 在我国华东、华南、西南等地区均有天然分布, 常生于溪旁、河谷或石灰岩山地等^[1-2]。研究认为青钱柳叶片中含有人体必需的 Fe、Cu、Zn、B、Na、Al、Ti 等微量元素^[3], 叶片含多糖类、黄酮类、三萜类等生物活性成分, 具有良好的降血糖、降血脂、增强人体免疫功能等药用保健功效^[4-6]。但是目前青钱柳的主要资源以天然野生为主, 并且多分布山地中, 国内只有少量人工培育, 影响了青钱柳的

开发和产业化发展^[7]。

优树选择是林木改良的重要途径和基本技术。为了加快叶用青钱柳良种化栽培进程, 促进青钱柳产业化发展, 对青钱柳进行品种选育迫在眉睫。因此, 作者在对安徽青钱柳的主要天然分布区, 黟县五溪山、绩溪县清凉峰、祁门县牯牛降、金寨县天堂寨、潜山市天柱峰、太平县五龙峰、歙县白杨等青钱柳天然林进行调查的基础上, 筛选出叶片内含物(多糖、黄酮和三萜)含量高、叶片产量高且无病虫害的优良母树, 无性系扩繁后, 在合肥、绩溪、

收稿日期: 2020-03-18

基金项目: 安徽省科技重大专项项目(18030701187)资助。

作者简介: 黄 铖, 硕士研究生。E-mail: 2060109881@qq.com

* 通信作者: 傅松玲, 教授, 博士生导师。E-mail: fusongling@ahau.edu.cn

明光进行区域化试验, 比较其优良特征稳定性的同时, 探索不同立地条件对青钱柳内含物的影响, 以为丰富青钱柳种质资源及优良品种的推广种植奠定基础。

1 区域化试验地概况

优树无性系区域化试验地设置于皖南绩溪县、皖中合肥市和皖东明光市, 其中绩溪县试验地位于临溪镇蒲川村, 该地属于皖南山区, 年平均气温 15.9 °C, 无霜期 233 d, 年降雨量 1 250 mm, 栽植地位于海拔 180 m 的缓坡, 土壤类型为红壤、黄红壤, 土层深厚, 粘重中性, 呈酸性, 磷 (P) 含量低; 合肥市大杨镇位于江淮之间, 年平均气温 15.5 °C, 无霜期 228 d, 年平均降水量约 1 000 mm, 栽植地设置于海拔约 20 m 的试验田中, 土壤类型为黄棕壤及水稻土, 土壤为中性偏酸, 土层较厚, 质地粘重; 明光市张八岭镇普贤村位于安徽省东北部边缘, 年平均气温 15 °C, 无霜期 219 d, 年平均降雨量 934.1 mm, 栽植地位于海拔约 60 m 的缓坡, 土壤类型为黄棕壤, 呈弱酸性, P、Fe 等元素含量低, 土层较厚, 土壤透水性较差。

2 材料与方法

2.1 初选、复选优株的确定

初选: 于 2016 年分别在安徽省的黟县五溪山 (Y)、绩溪县清凉峰(Q)、石台县牯牛降 (G)、潜山市天柱山 (T)、金寨县天堂寨 (J)、太平县五龙峰 (W) 及歙县白杨 (S) 等地进行青钱柳野生种质资源调查, 通过野外踏查、观察记录野生青钱柳生长形状并结合林农报优, 在野生青钱柳分布集中区域选择树冠均匀、无病虫害、叶片数量多的 157 株植株作为候选优树^[6]。经过对胸径、鲜叶面积和叶片鲜重的测量, 初选出 23 株生长健壮, 叶片宽大肥厚、无病虫害的青钱柳单株作为初选优树。

复选: 在 2016 年 9 月对初选的优树叶进行叶片内含物成分含量测定。按叶片着生位置于树干上、中、下 3 个部位分别采集叶片测定其内含物 (粗多糖、总黄酮和总三萜) 含量并取平均值。按叶片内含物含量由高到低复选出 10 株复选优树 (表 1), 并对其进行编号, 按优株母树产地依次编为 G2、G3、Q2、Q5、Q6、Q7、Y2、Y4、T1 和 T2。

表 1 优树生长量指标统计
Table 1 The statistics of growth indexes of the selected trees

优株编号 Code for superior plant	地点 Provenance	树高/m Height of tree	胸径/cm DBH	枝下高/m UBH
Y2	黟县五溪山	21.3	73.3	5.7
Y4		13.2	17.2	2.6
G2		13.2	34.7	3.5
G3		14.7	23.6	5.3
Q2	绩溪县清凉峰	13.4	24.5	1.3
Q5		4.3	5.7	0.8
Q6		7.2	7.6	2.2
Q7		11.1	17.8	3.5
T1		10.8	16.1	2.2
T2	金寨县天堂寨	9.9	14.7	1.9

2.2 区域化对比试验

选择安徽绩溪临溪镇蒲川村、合肥市庐阳区大杨镇和明光张八岭镇普贤村 3 个不同地区进行区域化试验, 株行距为 2 m × 3 m, 定期进行形态、生长量、病虫害等调查记录。采用随机取样法对 10 个无性系每个选取 3 株, 并按叶片着生位置于上、中、下 3 个部位分别采集叶片测定其内含物 (粗多糖、总黄酮和总三萜) 含量并取平均值, 对所取叶片分别称量鲜叶重 (精确至 0.01 g) 测量鲜叶面积 (精确至 0.01 cm²) 并取平均值。

2.3 生长和叶片内含物评价

2.3.1 选优评价指标 叶用青钱柳优树选择主要考虑叶片药用价值方面, 因此其叶片有效内含物含量的高低是质量评价的第一指标^[8], 制定如下选优指标。

(1) 叶片内含物含量: 粗多糖、总黄酮和总三萜; (2) 叶片生长指标: 叶片鲜重及鲜叶面积; (3) 无病虫害发生。

2.3.2 优株性状测定方法 用胸径尺、激光测树仪测量胸径、树高; 用天平称量叶片鲜重、干重; 用

扫描仪扫描图片并使用 Imagej 软件计算叶面积；采用苯酚-硫酸显色法测定粗多糖含量^[9]；使用三氯化铝-醋酸甲显色法测定总黄酮的含量^[10]；采用香草醛-高氯酸显色法测定总三萜的含量^[11]。

2.4 数据处理

采用 Excel 2007 进行数据整理和变异度分析、利用 R-3.6.2 统计分析软件对数据进行主成分分析。

3 结果与分析

3.1 指标的变异分析

对区域化种植的 10 株优树的选优指标进行变异系数分析，结果（表 2）表明各区域化试验区青钱柳性状差异明显，变异系数大小依次为：鲜叶重>鲜叶面积>粗多糖含量>总三萜含量>总黄酮含量。单株叶片产量在不同个体中变异度很大，内含物（粗多糖、总三萜和总黄酮）含量差异变化相对较小。

表 2 选优性状变异系数分析

Table 2 Analysis of variation of the selected characters

内含物指标 Inclusion index	平均值 Mean	标准差 SD	变异系数 CV
粗多糖含量/ mg·g ⁻¹	28.875	6.000	0.208
总黄酮含量/ mg·g ⁻¹	25.503	4.268	0.167
总三萜含量/mg·g ⁻¹	24.550	4.423	0.180
鲜叶重/g	3.653	1.381	0.378
鲜叶面积/cm ²	178.299	40.777	0.229

表 3 区域化种植无性系青钱柳叶片内含物总量变异系数分析

Table 3 Analysis of variation coefficient of total inclusions in leaves of *Cyclocarya paliurus* from clone plantation region

无性系编号 Clone number	平均值/mg·g ⁻¹ Mean	标准差 SD	变异系数 CV
G2	63.968	5.746	0.089 8
G3	73.133	6.162	0.084 3
Q2	78.723	5.987	0.076 1
Q5	70.648	3.258	0.046 1
Q6	74.858	7.989	0.106 7
Q7	67.555	7.380	0.109 2
T1	78.618	9.044	0.115 0
T2	79.370	8.328	0.104 9
Y2	91.095	9.607	0.105 5
Y4	83.288	12.329	0.148 0

对区域化种植的 10 株优树无性系与优株母树的内含物总量变异系数进行分析，结果（表 3）表明，各地区青钱柳选优性状差异明显，变异系数大小依次为：Y4>T1>Q7>Q6>Y2>T2>G2>G3>Q2>Q5。由

数据可以看出优树 Y4 在试验区域变异度很大，叶片内含物含量不稳定；T1、Q7、Q6、Y2 和 T2 在试验区域变异度适中，叶片内含物含量差异变化相对稳定；G2、G3、Q2 及 Q5 在试验区域变异度相对小，叶片内含物含量差异变化稳定。

表 4 主成分的特征值、贡献率和累计贡献率

Table 4 Characteristic value, contribution rate and cumulative contribution rate of main components

参数 Parameter	主成分 1 PC1	主成分 2 PC2	主成分 3 PC3
特征值 Eigenvalue	1.415	1.261	0.984
方差贡献率/% Proportion of variance	39.924	31.954	19.360
累计贡献率/% Cumulative proportion	39.924	71.878	91.238

表 5 各变量旋转因子负荷量

Table 5 Load of each variable rotation factor

指标 Index	主成分 PC		
	f ₁	f ₂	f ₃
粗多糖 (X1)	0.486	0.466	0.173
总黄酮 (X2)	0.064	0.234	- 0.966
总三萜 (X3)	0.184	0.705	0.177
鲜叶重 (X4)	0.643	- 0.196	- 0.073
鲜叶面积 (X5)	0.559	- 0.438	- 0.014

3.2 选优指标的主成分分析

通过对青钱柳 5 个选优指标进行主成分分析，其主成分为标准化后 5 个选优指标的线性组合，依据结果选择累计贡献值大于 80% 的前 3 个主成分作为本次青钱柳区域化栽培优株选育的主成分^[12-13]。前 3 个主成分累计贡献率为 91.2%，说明前 3 个主成分能表达青钱柳综合特征信息的 91.2% 以上（表 4）。

由表 5 可以看出，第一主成分与粗多糖(0.486)、鲜叶重(0.643)和鲜叶面积(0.559)都有较强的相关性，而与总黄酮(0.064)及总三萜(0.184)相关性较低。第二主成分与总三萜(0.705)和粗多糖(0.466)有较强的相关性，而与鲜叶面积(- 0.438)及鲜叶重(- 0.196)有较强负相关性。第一主成分贡献率(40%)与第二主成分贡献率(31.8%)累计占主成分的 71.8%，远高于其他 3 个主成分的累计贡献率，因此在优株选择时将总多糖含量、总三萜含量、鲜叶重与鲜叶面积作为主要选优指标。

对 3 个试验区域的 10 个复选优株无性系(每个区域 10 个无性系)的 5 个选优性状代入主成分方程，计算 5 个选优性状的主成分得分 F_j ($j = 1 \sim 3, i =$

1~5, $F_j = f_1X_1 + f_2X_2 \dots + f_iX_i$) 然后以主成分的方差贡献率作为权重 C_i ($i = 1 \sim 3$) 各优株综合得分 F ($F = C_1F_1 + C_2F_2 + \dots + C_iF_i$), 并对综合得分进行排序 (表 6)。

表 6 区域化试验综合得分
Table 6 Comprehensive scores of regional experiment

优树无性系及种植地	F_1	F_2	F_3	F	得分排名 Ranked
绩溪 G2	-1.401	-2.471	-0.069	-1.492	29
绩溪 G3	-1.153	-0.543	0.821	-0.521	23
绩溪 Q2	2.264	-2.272	-0.088	0.184	12
绩溪 Q5	-1.016	-0.746	0.940	-0.506	22
绩溪 Q6	-0.913	-0.369	0.895	-0.340	19
绩溪 Q7	-0.440	-2.278	0.647	-0.850	28
绩溪 T1	-0.951	0.062	0.906	-0.204	17
绩溪 T2	-0.095	-1.306	0.331	-0.427	20
绩溪 Y2	2.757	-0.877	-0.034	0.898	5
绩溪 Y4	-0.739	0.671	0.726	0.063	13
合肥 G2	-0.545	-1.533	-0.276	-0.832	27
合肥 G3	-0.147	0.566	0.886	0.321	9
合肥 Q2	3.419	-1.090	0.685	1.267	3
合肥 Q5	-0.703	0.116	0.861	-0.086	14
合肥 Q6	-0.100	0.993	1.058	0.527	8
合肥 Q7	-0.594	-0.264	0.941	-0.153	16
合肥 T1	-0.440	1.856	1.226	0.714	6
合肥 T2	2.073	0.323	0.364	1.100	4
合肥 Y2	2.959	1.846	-0.268	1.886	1
合肥 Y4	0.258	2.724	1.402	1.360	2
明光 G2	-1.801	-0.646	-2.303	-1.505	30
明光 G3	-1.690	0.824	-0.580	-0.578	25
明光 Q2	1.792	-0.576	-1.611	0.244	11
明光 Q5	-1.165	0.159	-0.505	-0.563	24
明光 Q6	-1.175	0.670	-1.004	-0.495	21
明光 Q7	-0.635	-0.401	-0.759	-0.580	26
明光 T1	-0.634	1.112	-1.045	-0.113	15
明光 T2	-0.349	0.459	-1.417	-0.294	18
明光 Y2	1.175	1.399	-1.619	0.660	7
明光 Y4	-0.011	1.592	-1.111	0.314	10

由表 6 可以得出 Y2、Q2、Y4、T2 和 T1 在各试验区域综合表现良好, 结合叶片内含物变异系数, 最终选择 Y2、Q2 和 T2 为优良单株。3 个试验区中青钱柳优良单株在合肥地区表现最好, 其次为绩溪地区, 明光地区表现相对较差。其中在合肥地区青钱柳优株 Y2、Q2、T2 性状表现最好, 绩溪地区 Y2、Q2 性状表现最好, 明光地区 Y2 性状表现最好。

4 讨论与结论

以叶用青钱柳为选优目标, 根据青钱柳的生物学特性选择叶片粗多糖含量、总黄酮含量、总三萜含量、鲜叶重以及鲜叶面积作为叶用青钱柳的参考选优性状。段禾青等^[14]在对叶用银杏品种选择标准的研究中, 认为叶宽、叶长和单叶重可作为叶用银

杏的选择指标; 罗忠生等^[15]在叶用黄樟选育中使用鲜叶重和叶片含油率作为选优性状; 陈毓等^[16]等通过对青钱柳叶内含物成分及药用机理的研究, 也认为多糖类、三萜类化合物对青钱柳叶药用品质影响显著。通过对青钱柳参考选优性状的综合分析, 将粗多糖含量、总三萜含量、鲜叶重、鲜叶面积作为叶用青钱柳主要选优性状, 这与以往有关叶用树种选优性状相一致。

依据选优性状, 本次选择出 Y2、Q2 和 T2 作为叶用青钱柳良种, 已于 2020 年 1 月通过省林木良种审定, 命名为‘皖青 1 号’、‘皖青 2 号’和‘皖青 3 号’。

对优株无性系叶片内含物含量进行测定分析, 结果表明叶用青钱柳优株无性系在不同地区栽培表

现差异明显。合肥和绩溪地区栽植表现相对较好,明光地区栽植表现最差,其中‘皖青1号’和‘皖青2号’在绩溪地区栽植表现良好适宜推广,‘皖青1号’、‘皖青2号’和‘皖青3号’在合肥地区栽植表现均良好适宜推广,‘皖青1号’在安徽明光地区栽植表现良好适宜推广。这一结果可能与栽植地地理环境差异有关。李彦等^[17]通过研究光照对青钱柳叶片三萜类化合物含量的影响,认为青钱柳叶片三萜类化合物含量与光照强度密切相关;Yang等^[18]对青钱柳进行不同的光照强度和不同光质处理,结果显示光强和光质与青钱柳叶片多糖含量显著相关;路鑫等^[19]在对银杏无性系选育研究中发现银杏无性系在不同地区栽植表现差异明显,并认为这与栽植地土壤元素含量相关,土壤元素的缺乏导致无性系栽植表现差;吴雁华等^[20]对明光地区土壤溶液的研究结果显示土壤溶液中Fe、Mn、P含量少,这可能对青钱柳无性系在明光地区的栽植表现产生影响。

供试的10个无性系原产地与绩溪、合肥距离较近,气候条件相似,而与明光地区距离较远,气候条件相对差异较大,导致可能存在部分无性系植物未能适应环境改变,性状表现并未完全趋于稳定。后期应当继续进行相关试验,以得到更为准确的结论。在后续研究工作中,应对试验地气候及土壤对无性系生长生理影响效应进行研究,并进行连续多年的稳定性状调查测定。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 栗静. 青钱柳预防糖尿病的作用机制研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2019.
- [3] 许子竞. 青钱柳树叶化学成分的筛选[D]. 桂林: 广西师范大学, 2004.
- [4] PODOLAK I, JANECZKO Z. Pharmacological activity of natural non-glycosylated triterpenes[J]. Mini-Rev Org Chem, 2014, 11(3): 280-291.
- [5] ZHAO M G, SHENG X P, HUANG Y P, et al. Triterpenic acids-enriched fraction from *Cyclocarya paliurus* attenuates non-alcoholic fatty liver disease via improving oxidative stress and mitochondrial dysfunction[J]. Biomed Pharmacother, 2018, 104: 229-239.
- [6] YU Y, SHEN M Y, WANG Z J, et al. Sulfated polysaccharide from *Cyclocarya paliurus* enhances the immunomodulatory activity of macrophages[J]. Carbohydr Polym, 2017, 174: 669-676.
- [7] 王胤康. 青钱柳活性成分降血糖作用研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.
- [8] 张博勇, 张康健, 张檀, 等. 秦仲 1-4 号优良品种选育研究[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(3): 18-20.
- [9] 何永超, 刘雅敏, 朱艳慧, 等. 苯酚-硫酸显色法测定炙甘草汤的总多糖含量研究[J]. 中医学报, 2013, 28(4): 547-549.
- [10] 刘云鹤, 王晓林, 钟方丽. 三氯化铝显色法测定刺玫叶提取物总黄酮的含量[J]. 特产研究, 2017, 39(2): 50-53.
- [11] 张倩倩, 黄青. 基于香草醛-高氯酸显色反应测定灵芝三萜的方法探讨与修正[J]. 菌物学报, 2018, 37(12): 1792-1801.
- [12] 梁晓婕, 王亚军, 李越鲲, 等. 黄果枸杞果实中主要功效成分的比较研究[J]. 西北林学院学报, 2019, 34(5): 108-114.
- [13] 赵宝鑫, 康晋, 康永祥, 等. 毛株优树选择的研究[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(3): 76-79, 86.
- [14] 段禾青, 谈建文. 叶用银杏品种选择标准的研究[J]. 湖北林业科技, 2001, 30(2): 18-20.
- [15] 罗忠生, 龙光远, 蒋志茵, 等. 植物新品种“千叶香”的选优技术研究[J]. 南方林业科学, 2016, 44(4): 31-33.
- [16] 陈毓, 陈巍, 李锋涛, 等. 青钱柳化学成分及药理作用研究进展[J]. 畜牧与饲料科学, 2019, 40(12): 61-63.
- [17] 李彦, 周晓东, 方升佐, 等. 光照和种源对青钱柳叶三萜类化合物积累的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2015, 39(5): 52-58.
- [18] YANG W, LIU Y, FANG S, et al. Variation in growth, photosynthesis and water-soluble polysaccharide of *Cyclocarya paliurus* under different light regimes[J]. IForest, 2017, 10(2): 468-474.
- [19] 路鑫, 周伟伟, 吕良贺, 等. 北方三地 6 个叶用银杏无性系生长生理选育研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2019, 39(12): 70-76.
- [20] 吴雁华, 傅桦, 夏立忠, 等. 安徽明光地区白浆化土壤溶液的元素组成与迁移特征[J]. 土壤通报, 2004, 35(6): 728-730.