

文章编号: 100F 1498(2004) 06 0751 06

喜树种源苗期性状遗传变异研究

应叶青¹, 吴家胜¹, 周国模¹, 孙伟琴², 陈有全³

(1. 浙江林学院生命科学学院, 浙江 临安 311300; 2. 浙江省上虞市林业技术推广中心, 浙江 上虞 312300;
3. 浙江省龙泉市林业局, 浙江 龙泉 323700)

摘要: 在浙江湖州对来自广东、云南、福建等 10 个省的 10 个喜树种源进行种源试验, 对 1 年生喜树苗期性状分析研究。结果表明: 喜树种群内存在丰富的遗传变异, 10 个参试种源在苗高、地径、各器官生物量及叶片喜树碱含量、单株叶片喜树碱含量等指标上都存在显著或极显著的差异, 其广义遗传力为 0.527~0.989, 这些差异主要受遗传因素制约; 利用单株叶片喜树碱产量性状对药材喜树种源进行选择, 初步筛选出江西南昌种源作为叶用优良种源, 其单株叶片喜树碱产量超过对照浙江临安种源 119.39%, 单位面积喜树碱产量的遗传增益可望达到 105.42%, 能取得较理想的结果。

关键词: 喜树; 喜树碱; 种源试验; 苗期性状; 遗传变异

中图分类号: S722.7 文献标识码: A

喜树(*Camptotheca acuminata* Decne) 为珙桐科(Nyssaceae) 旱莲属(*Camptotheca* Decne) 落叶乔木, 主要分布于我国长江流域以南的 10 个省(区), 是我国特有珍稀树种, 国家二级保护植物, 也是提取抗癌药物喜树碱的原料树种^[1,2]。长期以来人们主要是利用野生喜树的种子作为喜树碱提取的原料, 但种子 1 a 只能采收 1 次, 资源远不能满足生产需要。近年来的研究表明, 植株组织越幼嫩, 喜树碱的含量越高, 嫩叶的喜树碱含量远远超过种子中的喜树碱含量^[3,4], 而且叶片、枝梢的再生能力很强, 可持续利用性好。随着喜树碱需求量的日益增加, 喜树叶用园的人工栽培也倍受高度重视。

喜树分布范围较广, 分布区内地形复杂, 生态环境多样, 在其长期进化过程中, 必然会在形态、生长、次生代谢物质(药用有效成分)含量等方面发生遗传分化。因此, 有必要开展喜树地理种源试验, 了解不同种源的生长性状和有效成分含量等变异及其规律, 为药用喜树的遗传改良提供依据, 同时筛选出优良种源作为营建喜树叶用园的材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1995 年 10 月下旬到 11 月上中旬, 在对喜树天然林和人工林实地踏查的基础上, 选择喜树分布区长江以南有代表性省份作为种源采种点。采种按一般种源试验要求进行, 对个别种源进行了单株采种、单株处理。同时, 估计了采种母树的年龄。在长江以南 10 省(区) 共采集到

收稿日期: 2004 05 20

基金项目: 国际合作项目“叶用喜树及喜树碱开发利用研究”(1998—2002)的部分研究内容(项目编号:982028)

作者简介: 应叶青(1973—), 女, 浙江永康人, 硕士研究生, 讲师。

10个喜树地理种源的种子。试验以浙江临安种源作为对照。不同地理种源的基本情况见表1。

表1 喜树地理种源基本情况

种源	地点	纬度	经度	海拔/m	种源	地点	纬度	经度	海拔/m
1	广东广州	23°	113° 12'	200	6	江西南昌	28° 40'	115° 56'	75
2	云南昆明	25°	102° 50'	1 305	7	安徽东至	30° 06'	117°	39
3	贵州贵阳	26° 33'	106° 45'	1 080	8	浙江临安	30° 14'	119° 42'	40
4	福建屏南	26° 55'	119°	950	9	湖北武昌	30° 25'	114° 20'	320
5	湖南长沙	28° 06'	113°	75	10	江苏南京	32° 03'	118° 45'	50

1.2 试验地概况

试验地设在浙江省湖州市林科所苗圃地。圃地土层深厚,肥力中等,土壤pH值5.18~5.46,土壤密度0.83~1.25 g·cm⁻³,浇灌方便,排水良好,交通便利。圃地位于30°22'~31°11' N, 119°14'~120°29' E,年日照时数1 850~2 130 h,年降水量1 050~1 850 mm,年平均气温12.2~16.1 °C,1月平均气温-0.3~3.6 °C,7月平均气温24.4~28.6 °C,极端最低气温-17.4 °C,极端最高气温40.8 °C,≥10 °C活动积温为3 810~5 130 °C,无霜期224~246 d。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计与播种育苗 全面整地,施复合肥75.0 g·m⁻²作为基肥;施呋喃丹1.5 g·m⁻²进行土壤消毒;苗床宽1 m,种子条播,行距35 cm,播种量6.0 g·m⁻²。用黄心土进行覆盖,覆土厚度1.5 cm。6月下旬第1次追肥,施尿素15.0 g·m⁻²。第2次追肥在8月中旬,施复合肥150.0 g·m⁻²,同时结合病虫害防治。第3次追肥在9月上旬进行,施尿素15.0 g·m⁻²。

试验采用完全随机区组设计,10个处理,5次重复,每个小区播3行,每行20粒种子,最后定苗保留每行8株苗木。试验区四周设立保护行。

1.3.2 测定项目

1.3.2.1 苗期生长性状测定 记载播种时间、各种源种子开始发芽时间、场圃发芽率;每小区选取6株测定苗木逐月苗高生长量,年终除调查地径、苗高外,还分别测定枝下高、冠幅、干、枝、叶、根和皮的鲜质量和烘干质量。

1.3.2.2 叶片喜树碱提取与含量测定 喜树碱的提取:采用阎秀峰等^[5]喜树碱提取方法:称取1 g喜树叶粉于25 mL容量瓶中,加入22 mL体积分数为61%的乙醇溶液,在50 °C下超声提取10 min,冷却至室温后,定容。用0.45 μm微孔滤膜过滤后,待用。喜树碱含量测定:采用WARERS高效液相色谱仪,600型,WARERS486紫外检测器,HS2000(普及版)色谱工作站;喜树碱标准品由美国路易斯那州立大学提供,纯度为99.99%,使用甲醇为色谱级试剂,水为纯化水。测定喜树碱含量的色谱条件:DIKMA生产ODS柱(150 mm×4.6 mm ID,5 μm),流动相为甲醇:水(体积比55:45),流速1.0 mL·min⁻¹,检测波长254 nm,柱温25 °C,进样量10 μL。

1.4 统计分析方法

试验数据处理所采用的方差分析、多重比较、相关分析等均在SAS统计平台上操作完成^[6],同时计算种源广义遗传力和遗传增益^[7,8]。

2 结果与分析

2.1 苗高、地径的遗传变异

苗高和地径是判断苗木品质好坏最直观指标,也是重要的指标。种源试验结果(图 1)表明,不同地理种源的苗木平均地径和苗高差异较大,经方差分析表明,这 2 个性状分别达到显著和极显著水平(表 2)。

从图 1 可知,苗高生长最好的是 1 号广东广州种源,其值为 114.9 cm,是生长最差的 10 号江苏南京种源(82.6 cm)的 139.1%;地径最大的是 4 号福建屏南种源,其值为 1.27 cm,地径最小的是 1 号广东广州种源、2 号云南昆明种源和 8 号浙江临安种源,3 者平均地径只有 1.08 cm。从地理位置上看,南部、西南部种源苗高生长最快,中部种源居中,而北部种源生长最慢。该试验结果与已进行种源试验的相近分布区的杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook.)、马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)、黄山松

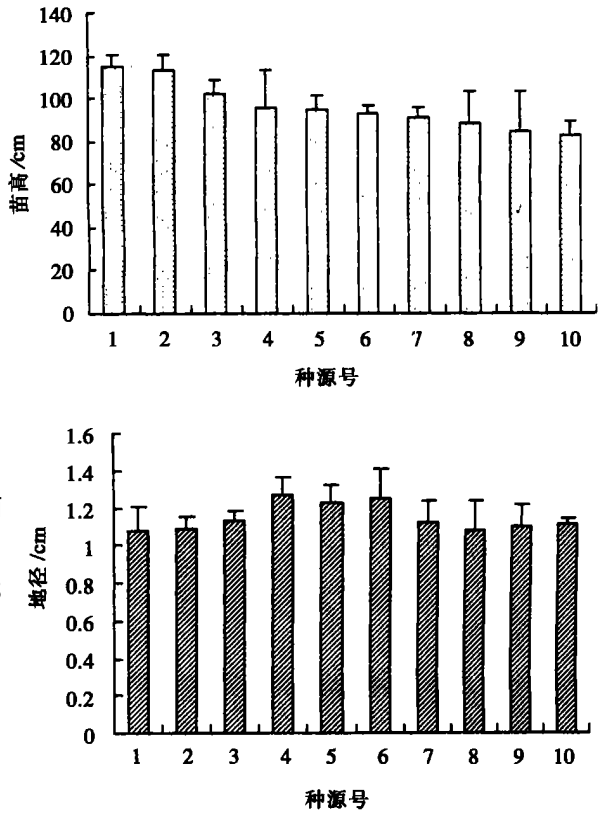


图 1 不同种源苗高和地径的差异

(*Pinus taiwanensis* Hagata)、香椿(*Toona sinensis* (A. Juss.) Roem.) 等其它树种的地理变异规律相一致^[9-14]。地径的变异稍有别于苗高,以中部种源为高,南北种源较低。

从表 2 中估算的遗传参数来看,种源苗高和地径的广义遗传力分别为 0.745 和 0.527,方差分量分别为 36.85% 和 18.21%,受中等强度遗传控制。说明了喜树种源苗高和地径的变异较大程度上是由不同种源本身的遗传特性所引起的,表明喜树优良种源的苗期选择具有一定潜力。由表 2 还可知,苗高和地径的种源变异系数分别为 16.34% 和 11.32%,苗高的变异系数大得多,说明利用地径和苗高为主要指标对喜树地理种源进行苗期初步选择时,采用苗高指标进行选择更有效。

表 2 种源苗高和地径方差分析及遗传参数估算

项目	自由度	均方	方差分量/ %	F 值	遗传力	变异系数/ %
苗高	9	624.57	36.85	3.92**	0.745	16.34
地径	9	0.0245	18.21	2.12*	0.527	11.32

注: ** : 0.01 显著水平, * : 0.05 显著水平。下同。

2.2 种源苗期生物量差异、遗传及其规律

2.2.1 喜树苗期各器官生物量(干质量)及其比例 通过对 10 个种源苗期各器官生物量测定数据分析,结果表明(表 3),干、叶的生物量比例最大,根次之,枝、皮所占比例最小,其中叶片

生物量所占比例为 30.75%，约占总生物量的 1/3，而喜树碱又在嫩叶中比例较高，这为营建喜树叶用园提供了科学的理论依据。

2.2.2 种源苗期生物量的遗传变异 通过研究喜树不同种源苗期生物量的空间结构、苗木各器官生物量分配，可为叶用喜树的选择提供科学的依据。对喜树 10 个种源干、枝、叶、根、皮生物量及总生物量等指标进行方差分析(表 3)，结果表明，各器官生物量和总生物量在不同种源间均存在显著或极显著的差异，且变异系数较大，这 6 个指标的平均变异系数为 33.3%。种源生物量的广义遗传力为 0.683~0.796，方差分量为 30.1%~43.8%，受中等强度遗传控制。说明了喜树种源各器官生物量的变异很大程度上是由不同种源本身的遗传特性所引起的。

表 3 种源生物量方差分析及遗传参数估算

性状	均值/g	变异系数/%	F 值	方差分量/%	遗传力
干生物量	12.72	27.7	3.15**	30.1	0.683
枝生物量	3.83	50.6	4.68**	42.4	0.786
叶生物量	12.84	34.7	4.90**	43.8	0.796
根生物量	9.36	33.4	4.46**	40.9	0.775
皮生物量	3.27	23.8	4.65*	42.2	0.785
总生物量	42.01	29.5	4.32**	39.9	0.769

多重比较(表 4)表明:无论是总生物量还是各器官生物量,6 号江西南昌、4 号福建屏南、5 号湖南长沙种源均处于第 1~2 水平,而处于较差水平的有 8 号浙江临安、9 号湖北武昌、10 号江苏南京种源。最好种源 6 号江西南昌的叶片生物量及总生物量分别为最差种源 10 号江苏南京的 2.34 倍和 1.65 倍,这说明了叶用喜树优良种源选择有较大潜力。

表 4 不同种源各器官生物量及总生物量

种源号	生物量/(g·株 ⁻¹)					
	干	枝	叶	根	皮	合计
1	11.22 bc	3.44 bc	11.19 cde	7.16 d	3.26 bc	36.27 b
2	11.86 bc	3.02 c	12.71 bcd	6.58 d	2.64 cd	36.80 b
3	13.23 abc	3.33 bc	12.34 cde	7.64 cd	3.22 bcd	39.78 b
4	16.28 a	6.19 a	15.50 abc	13.76 a	4.21 a	55.94 a
5	14.30 ab	5.02 ab	16.77 ab	12.45 ab	3.82 ab	52.37 a
6	16.52 a	6.27 a	19.34 a	10.42 bc	3.94 ab	56.49 a
7	11.42 bc	2.63 c	10.91 de	9.24 cd	2.72 cd	36.92 b
8	10.45 c	2.95 c	9.97 de	9.31 cd	3.03 cd	35.71 b
9	9.48 c	2.98 c	11.45 cde	9.21 cd	2.47 d	35.59 b
10	12.42 bc	2.43 c	8.27 e	7.79 cd	3.36 bc	34.27 b

2.3 不同种源叶片喜树碱含量和单株叶片喜树碱产量变异及遗传

各种源叶片喜树碱含量和单株叶片喜树碱产量指标是叶用喜树种源选择的重要定量数据,也是全面评价喜树叶用园营建材料的重要标准。通过研究喜树不同种源叶片喜树碱含量和单株叶片喜树碱产量,可为叶用喜树种源选择及叶用园营建材料选择提供科学的依据。从表 5 中可以看出,不同种源间叶片喜树碱含量和单株叶片喜树碱产量均有一定差异,对于种源叶片喜树碱含量而言,2 号云南昆明和 3 号贵州贵阳种源较好,最差的种源为 1 号广东广州种源,最好的种源其含量为最差的 3.5 倍,差异极为显著;对于单株叶片喜树碱产量而言,江西南昌、云南昆明、湖南长沙、贵州贵阳种源较优,其平均单株叶片喜树碱产量均在 13.0 mg·株⁻¹以

上,其中,最优的种源为6号江西种源,平均单株叶片喜树碱产量高达 $16.63 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$,最差的种源为1号广东广州种源,平均单株叶片喜树碱产量只有 $3.80 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$,最优种源是最差种源的4.38倍。方差分析结果表明,无论是种源叶片喜树碱含量还是单株叶片喜树碱产量指标,不同种源间均存在极显著的差异,这进一步说明了叶用喜树优良种源选择有很大潜力。

表5 各种源叶片喜树碱含量和单株叶片喜树碱产量

种源 代号	叶片喜树碱含量(W)/ %	单株叶片喜树碱产量/ ($\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$)	种源 代号	叶片喜树碱含量(W)/ %	单株叶片喜树碱产量/ ($\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$)
1	0.034 g	3.80 e	6	0.086 de	16.63 a
2	0.119 a	15.12 ab	7	0.095 c	10.37 cd
3	0.107 b	13.21 abc	8	0.076 e	7.58 de
4	0.081 ef	12.55 bc	9	0.091 cd	10.42 cd
5	0.085 de	14.20 abc	10	0.097 c	8.03 d
			平均	0.087	11.19

注:叶片喜树碱含量测定时,分别不同种源,取3个重复。

从表6中估算的遗传参数来看,种源叶片喜树碱含量的广义遗传力为0.989,方差分量为96.9%,性状受强度遗传控制;单株叶片喜树碱产量的广义遗传力为0.883,方差分量为60.2%,受中等强度遗传控制。说明了喜树种源叶片喜树碱含量及单株叶片喜树碱产量的变异很大程度上是由不同种源本身的遗传特性所引起的。

表6 种源叶片喜树碱含量及单株叶片喜树碱产量的方差分析及遗传参数估算

性状	均值	变异系数/%	F值	方差分量/%	遗传力
叶片喜树碱含量/%	0.087	25.3	93.97*	96.87	0.989
单株叶片喜树碱产量/($\text{mg} \cdot \text{株}^{-1}$)	11.19	41.5	8.58*	60.24	0.883

3 结论与讨论

(1)喜树种群内存在丰富的遗传变异,10个参试种源在苗高、地径、各器官生物量及叶片喜树碱含量等指标上都存在显著或极显著的差异,分析结果表明,这些差异主要是受遗传因素控制。各种源叶片喜树碱含量及单株叶片喜树碱产量的方差分量和广义遗传力都较高,利用其对药材喜树种源进行选择,能取得较理想的结果。

(2)喜树叶用园的生产目的是为了获得单位面积上最大的喜树碱产量,因此在种源选择时,单株叶片喜树碱产量(由叶片生物量和叶片喜树碱含量二因子构成)是种源选择的直接经济指标,同时还要考虑种源的适应性和抗逆性。江西南昌、云南昆明2个种源的单株叶片喜树碱产量较高,分别超过对照临安种源的119.39%、99.47%,比最差的广东广州种源高出337.63%、297.89%。单位面积喜树碱产量的遗传增益可望达到87.83%、105.42%,但考虑到云南昆明种源在浙江浙北地区适应性不好,不能安全越冬,不宜在浙江浙北地区推广应用,建议选择江西南昌种源作为浙江北部地区营建喜树叶用园时的良好材料,可显著的提高单位面积上的喜树碱产量。

(3)由于喜树资源主要呈零星分布,成片的天然林分很少,故种源的采种林分多为零星大树或喜树人工林,可能会影响到种源的代表性。针对喜树资源的特点,在种源试验初步结果的基础上,应进一步开展优良种源内的优良单株选择,以充分利用个体间的遗传变异,提高叶用

园单位面积上的喜树碱产量。

参考文献:

- [1] 崔岚, 戈升荣, 王平全. 抗肿瘤药物喜树碱及其衍生物的研究现状及前景[J]. 上海医药学, 1999, 10(3): 8~12
- [2] 董锡裕, 徐莉. 喜树碱类抗癌药——又一世界性热门课题[J]. 中草药, 1996, 27(4): 243~245
- [3] Liu Z, John Adams. Camptothecin yield and distribution within *Camptotheca acuminata* trees cultivated in Louisiana[J]. Can J Bot, 1996, 74: 360~365
- [4] Liu Z, Carpenter S B, Bourgeois W J, et al. Variations in the secondary metabolite camptothecin in relation to tissue age and season in *Camptotheca acuminata*[J]. Tree Physiology, 1998, 18: 265~270
- [5] 阎秀峰, 王洋, 于涛, 等. 喜树叶中喜树碱含量的高效液相色谱分析[J]. 分析测试学报, 2002, 21(2): 15~18
- [6] 彭昭英. 世界统计与分析全才 SAS 系统应用指南(上下册)[M]. 北京: 北京希望电子出版社, 2000. 464~482
- [7] Namkoong G. Introduction to quantitative genetics in forestry[M]. Castla House Pub London, 1981. 210~259
- [8] 孔繁浩. 森林数量遗传学[D]. 南京: 南京林业大学树木遗传育种室, 1985
- [9] 张水生. 马尾松种源地理变异规律的初步研究[J]. 江西农业大学学报, 1999, 21(4): 597~601
- [10] 周志春, 黄光霖, 金国庆. 马尾松不同种源对环境的反应函数和优良种源的合理布局[J]. 林业科学研究, 1999, 12(3): 229~236
- [11] 范义荣, 童再康, 余其龙, 等. 黄山松种源选择及遗传稳定性分析[J]. 浙江林学院学报, 1993, 10(3): 291~296
- [12] 范义荣, 童再康, 陈科风, 等. 黄山松地理种源性状的变异规律[J]. 浙江林学院学报, 1991, 8(4): 418~427
- [13] 李淑玲, 桑玉强, 王平, 等. 不同种源香椿性状遗传分析[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 363~366
- [14] 全国杉木种源试验协作组. 杉木造林优良种源选择[J]. 林业科学研究, 1994, 7(增刊): 1~25

Study on Variations of Seedling stage Trait of *Camptotheca acuminata* Provenances

YING Ye-qing¹, WU Jia-sheng¹, ZHOU Guo-mu¹, SUN Wei-qin², CHEN You-quan³

(1 The School of Life Sciences, Zhejiang Forestry University, Zhejiang Province, Lin'an 311300, Zhejiang, China;

2 Forestry Technology Transfer Center of Shangyu City, Zhejiang Province, Shangyu 312300, Zhejiang, China;

3. Forestry Bureau of Longquan City, Zhejiang Province, Longquan 323700, Zhejiang, China)

Abstract: The provenance test on 10 provenances of *Camptotheca acuminata* from 10 provinces such as Guangdong Province, Yunnan Province, Fujian Province etc., was carried out in Huzhou City, Zhejiang Province. Based on the investigation and analysis of traits in one-year-old seedling from different provenances, the results were showed as follows: *Camptotheca acuminata* had high level of genetic variation at the level of population. There were significant differences in such economic indexes as seedling height, diameter at the base, biomass of different organs, camptothecin concentration in leaf and camptothecin yield per seedling among 10 provenances in the experiment and the differences were mainly controlled by genetic factors, with different broad-sense heritabilities from 0.527 to 0.989. There was a very significant correlation in biomass distribution among different organs of seedling. According to camptothecin yield per seedling, Jiangxi provenance was selected as a superior provenance for establishment of leaf-producing plantation of *Camptotheca acuminata*, which was 119.39% higher in camptothecin yield per seedling than that of the control provenance from Lin'an, Zhejiang Province. The genetic gain of camptothecin yield per unit area was expected to reach 105.42%, when Jiangxi provenance was used as plant material for establishment of leaf-producing plantation of *Camptotheca acuminata*.

Key words: *Camptotheca acuminata*; camptothecin; provenance test; trait at seedling stage; genetic variation