

许文婷,吕长平,陈梦洁,等.基于形态学标记的部分湖南本土牡丹资源聚类分析[J].江苏农业科学,2019,47(8):135-138.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.08.030

基于形态学标记的部分湖南本土牡丹资源聚类分析

许文婷¹,吕长平^{1,2},陈梦洁¹,孙田娇¹,陈海霞^{1,2},李炎林^{1,2}

(1.湖南农业大学园艺园林学院,湖南长沙 410128; 2.湖南省中亚热带花木繁育与利用工程技术中心,湖南长沙 410128)

摘要:对 9 份湖南本土牡丹资源的 28 个主要性状进行形态学观测,通过 R 型聚类分析、Q 型聚类分析与主成分分析探讨其品种数量分类的标准和亲缘关系。R 型聚类分析的结果得出花冠横径与花冠纵径、心皮数量、花朵高度相关系数均 >0.9 ,花瓣数量与花梗长($r=0.986$)、瓣端形状与雄蕊花丝颜色($r=0.934$)、外花瓣轮数与花色($r=0.933$),因此 Q 型聚类中不考虑花冠纵径、心皮数量和花朵高度等 6 个性状。主成分分析结果表明,瓣数量、花瓣大小、花冠横径等 9 个性状的贡献率较大。Q 型聚类分析结果表明,根据各个主要性状的遗传差异将 9 份湖南本土牡丹资源分成两大类:第一大类为凤优 4 号、凤丹白、凤丹粉、杨山牡丹、宝庆红、凤优 2 号;第二大类为凤优 1 号、凤优 3 号、凤优 5 号。综上,可为湖南本土牡丹品种分类和亲缘关系分析提供参考。

关键词:牡丹;形态学标记;R 型聚类;主成分分析;Q 型聚类

中图分类号:S685.110.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)08-0135-04

牡丹(*Paeonia suffruticosa*)别称富贵花、两百年金等,属芍药科(Paeoniaceae)芍药属(*Paeonia*)植物,是我国十大传统名花之一,也是我国特有的珍贵观赏、药用和油用植物^[1]。经过长期的人工和自然选择,我国牡丹已经形成了 4 个牡丹品种群:中原牡丹品种群、西北牡丹品种群、西南牡丹品种群、江南牡丹品种群^[2]。湖南省是牡丹自然分布区之一,且湖南省牡丹属江南牡丹品种群^[3]。依据史料记载,湖南省牡丹药用栽培有 2 000 多年历史,观赏栽培也有 1 000 多年历史,并形成湘西北以观赏牡丹为主和湘西南以药用牡丹为主的 2 个栽培中心^[4-6]。

从前人对湖南省牡丹品种资源调查结果可以发现,由于缺乏对湖南省牡丹的养护管理^[7-9],逐年会有部分原有品种资源遗失,同时又发现一些新的具有较高观赏价值的因自然杂交产生的实生苗变异材料^[10]。但这些品种是经过多年多次的自然杂交而来,其来源和亲缘关系不明,因此,对这些品种进行准确分类尤为重要。形态学标记作为遗传标记的一种,能从表型性状来检测遗传变异,是最直接也是最简便易行的方法^[11]。因此,本研究运用数量分类学对药用牡丹资源调查中新发现的 5 个优良单株资源和与其相关的 4 个湖南本土牡丹资源的 28 个主要性状进行聚类分析和主成分分析,以期探究湖南本土牡丹资源分类的等级和标准,确定新发现的牡丹优良单株资源的亲缘关系,为湖南本土牡丹种质资源开发利用和耐湿热的新品种育种提供理论指导。

收稿日期:2018-09-12

基金项目:湖南省教育厅重点研究项目(编号:16A094);湖南农业大学优势特色重点学科开放基金(编号:2016YYX003);湖南省中亚热带花木繁育与利用工程技术中心建设项目(编号:201809)。

作者简介:许文婷(1994—),女,湖南长沙人,硕士研究生,研究方向为观赏植物种质资源与遗传育种。E-mail:543760783@qq.com。
通信作者:吕长平,博士,副教授,主要从事园林植物与观赏园艺研究。E-mail:changpinglv@sina.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料选自湖南农业大学花卉教学科研基地保存的 9 份牡丹资源(表 1),植株年龄为 3 年。

表 1 供试湖南本土牡丹材料编号及其来源

序号	品种名	来源
1	凤优 1 号	湖南邵阳
2	凤优 2 号	湖南邵阳
3	凤优 3 号	湖南邵阳
4	凤优 4 号	湖南邵阳
5	凤优 5 号	湖南邵阳
6	杨山牡丹	湖南永顺
7	凤丹白	湖南邵阳
8	凤丹粉	湖南邵阳
9	宝庆红	湖南邵阳

1.2 牡丹形态性状的观测

从 2017 年 11 月下旬到 2018 年 4 月下旬对栽植在湖南农业大学花卉教学科研基地的凤丹白、宝庆红、杨山牡丹、凤丹粉和 5 个优良单株,从萌芽期到盛花期以及展叶后的旺盛生长季记录观察到的形态特征。在牡丹萌芽期,每份资源选取生长健壮的 10 个越冬鳞芽作为观测对象,每隔 5 d 观测 1 次芽的生长情况;待牡丹茎上叶序基本形成后,以当年生枝基部向上第 3 个叶柄上的叶片为对象,每隔 5 d 观测 1 次;在现蕾期每隔 5 d 观测 1 次花蕾的性状,直至花蕾完全绽放。在观测日的 16:00—17:00 对比 PAN-TONE(潘通)色卡记录相关颜色。质量性状的观测主要采用肉眼观察,包括花期、花型、花态、花瓣基部有无色斑、色斑颜色、色斑形状等;数量性状的观测主要采用卷尺和游标卡尺,包括花梗长、花冠横径、纵径、花朵高度、花瓣数、复叶长、复叶宽等。

1.3 分类性状的选取与编码方法

观测选取的形态学表型性状包括质量性状和数量性状,

用于分类的质量性状须按照牡丹品种形态性状记载标准进行整理和规范^[12],性状的编码(表 2)按照等级数量编码的方法进行分级、赋值^[13],二态性状以 0 和 1 表示,肯定状态为 1,否定状态为 0;有序多态性状应按从原始性状不断进化的顺序,

取连续排列的非负整数 1,2,3,⋯,n 进行编码;无序多态性状多按生物进化顺序进行编码。数量性状不编码,取平均值直接运算。

表 2 性状及其编码

序号	性状	性状类型	详细编码情况
1	心皮数量	数量	
2	花瓣数量	数量	
3	花梗长	数量	
4	花瓣大小	数量	
5	花朵高度	数量	
6	花冠横径	数量	
7	花冠纵径	数量	
8	外花瓣轮数	多态	≤2(1)/3(2)/≥4/(3)
9	花期	多态	早(1)/中(2)/晚(3)
10	花色	多态	白(1)/粉(2)/浅紫(3)/紫红(4)
11	花瓣基部有无色斑	二元	无(0)/有(1)
12	色斑颜色	多态	浅紫(1)/深紫(2)/紫红色(3)
13	色斑形状	多态	圆形(1)/丝状(2)/狭长条形(3)
14	瓣端形状	多态	圆裂(1)/浅齿裂(2)/深齿裂(3)
15	雄蕊花丝颜色	多态	浅紫(1)/紫红(2)/深紫(3)
16	叶形	多态	卵叶(1)/长卵叶(2)/中型圆叶(3)/长披针形(4)
17	株型	多态	矮生型(1)/直立型(2)/半开展型(3)/开展型(4)
18	复叶长	数量	
19	复叶宽	数量	
20	复叶叶柄粗	数量	
21	复叶叶柄长	数量	
22	当年生枝长	数量	
23	当年生枝粗	数量	
24	株高	数量	
25	复叶数	数量	
26	鳞芽形状	多态	卵形(1)/长卵形(2)/圆尖形(3)/狭尖形(4)
27	鳞芽长	数量	
28	鳞芽宽	数量	

1.4 数据处理

因为数据量纲不同会影响聚类分析的结果,因此分析之前先运用 SPSS 18.0 对原始数值进行预处理(标准化)。然后对牡丹的 28 个性状进行 R 型聚类分析,度量标准选用 Pearson 系数,使差异性大的变量分离开来,得到性状指标聚类树形图(图 1)。从图中表示的相似变量中选择具有代表性的变量参与其他分析,减少分析的变量个数。根据 R 型聚类结果对牡丹资源进行 Q 型聚类分析,利用欧氏平方距离系数进行测度,得出分类结果树形图(图 2)。同时采用主成分分析,通过降维的方法将多个指标简化为少数几个综合指标,使这几个少数综合指标可以反映原来所有指标的信息^[14]。全部数学运算均在 Microsoft Excel 2013 和 SPSS 18.0 软件上完成。

2 结果与分析

2.1 R 型聚类分析的结果及分析

R 型聚类分析是对样本的性状进行分类,使具有共同特征的性状聚集在一起,以便选出具有代表性的性状进行分析,减少分析性状的个数,又能对后续 Q 型聚类分析选取性状的

合理性进行验证^[15]。

由图 1 可知,分析的大部分性状相关性不高,仅有少数性状相关性比较高。花冠横径与花冠纵径、心皮数量、花朵高度相关系数均大于 0.9,花瓣数量与花梗长($r=0.986$)、瓣端形状与雄蕊花丝颜色($r=0.934$)、外花瓣轮数与花色($r=0.933$)的相关性较大。2 个变量的相关系数接近 1 或者 -1,说明 2 个变量可互相代替。但花瓣横径、花色、花瓣数量与瓣端形状区别不同品种较其他相关性高的性状明显,所以相关性高的性状中保留这 4 个性状参与 Q 型聚类分析的运算,其他性状剔除,不会影响聚类分析结果。

2.2 主成分分析的结果及分析

对牡丹的 22 个主要性状进行主成分分析,由表 3 可知,前 4 个主成分的总贡献率为 89.894%。第 1 主成分的贡献率为 40.043%,其中特征向量值比较大的性状是花瓣数量、花瓣大小、花冠横径、花色、鳞芽宽和瓣端形状,其特征值均在 0.741 及以上,主要反映的是花和芽的情况。第 2 主成分的贡献率为 24.066%,其中特征向量值比较大的性状的是复叶叶柄长、复叶长、复叶宽、复叶叶柄粗、当年生枝长和当年生枝粗,其特征值均在 0.674 及以上,主要反映的是复叶和当年生

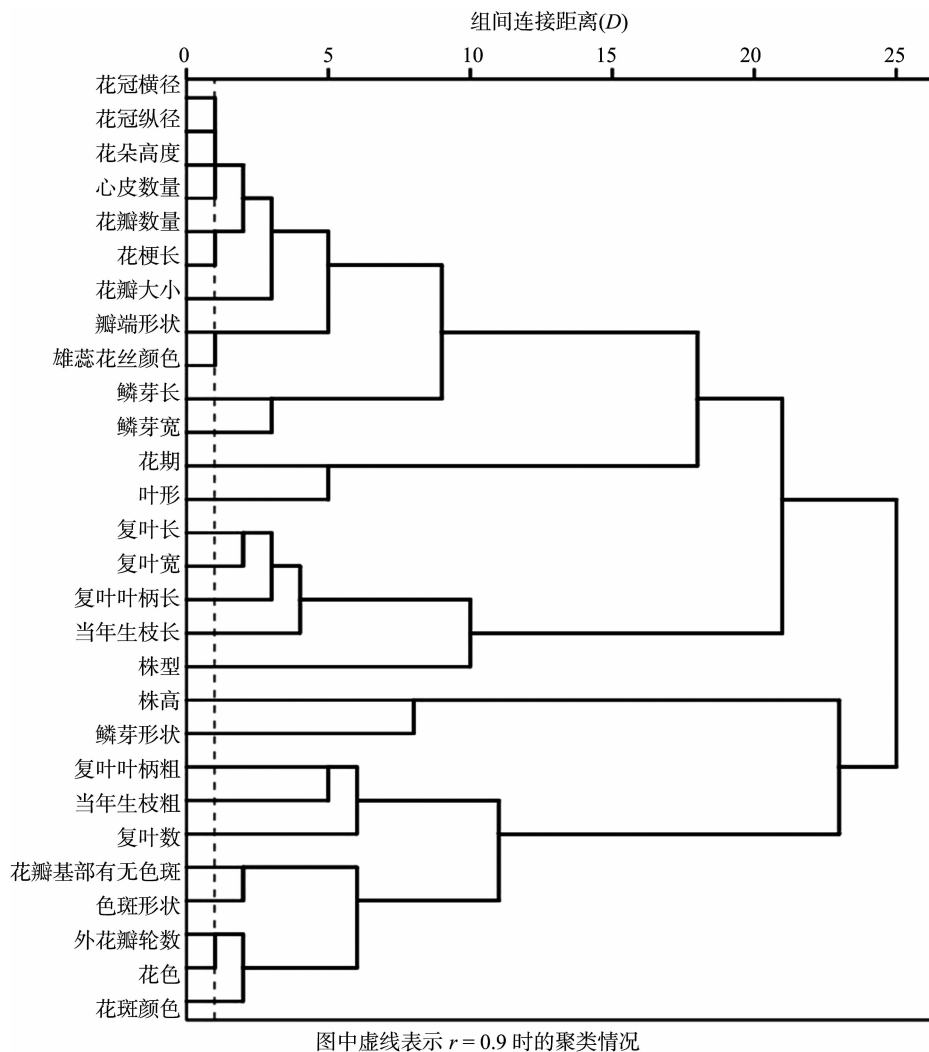


图1 28 个牡丹性状指标的 R 型聚类树形

主枝的情况。第 3 主成分的贡献率为 13.327%，其中特征向量值比较大的性状的是叶形、株型，其特征值均在 0.553 及以上，主要反映的是叶形和株型的情况。第 4 主成分的贡献率为 12.458%，其中特征向量值比较大的性状是花瓣基部有无色斑、色斑颜色和色斑形状，其特征值均在 0.596 及以上，主要反映的是花瓣基部的色斑情况。

2.3 Q 型聚类分析的结果及分析

根据 Q 型聚类分析树形（图 2）所示，在等级结合线 L1（ $D=23.0$ ）处，9 个品种被分为两大类，第一大类为凤优 4 号、凤丹白、凤丹粉、杨山牡丹、凤丹粉、宝庆红、凤优 2 号，为鳞芽偏大、复叶较大、当年生主枝较长的品种类群。第二大类为凤优 1 号、凤优 3 号、凤优 5 号，叶形均为长卵叶、鳞芽偏小、复叶较小、当年生主枝较短的品种类群。在等级结合线 L2（ $D=17.2$ ）处，第一大类可进一步划分为 2 个亚类，第 1 个亚类为宝庆红，第 2 个亚类为凤优 4 号、凤丹白、凤丹粉、杨山牡丹、凤优 2 号，宝庆红与第 2 个亚类的品种相比较，其花期最晚、植株矮小、萌蘖性强、花朵横径和花瓣大小均较小，复叶长也较短且叶型偏圆；第 2 个亚类可以进一步分为凤优 2 号单独一类，其与凤优 4 号、凤丹白、凤丹粉、杨山牡丹相比较，外花瓣轮数为 4 轮的荷花型、花瓣数量较多、花瓣较大、株型

较高大。凤优 4 号、凤丹白、凤丹粉、杨山牡丹为 2~3 轮的单瓣型，花瓣数量相似、花色除凤丹粉外均为白色、鳞芽形状均为长卵形、复叶长、宽较相似。第二大类可进一步划分，主要根据凤优 1 号的复叶长、宽和当年生主枝长较凤优 3 号和凤优 5 号的指标大。

3 结论与讨论

本试验在选取形态学表型性状时，考虑了前人在牡丹数量分类研究中对品种分类影响较大的重要指标。如成仿云等提出的花色和花型是牡丹最主要的 2 个形态特征，但因本试验的牡丹品种花瓣轮数多为 2~3 轮的单瓣型，只有凤优 2 号的花瓣为 4 轮的荷花型，不排除是栽培条件的影响，还需后期的观察，故不参与本次试验的数量分类^[12]。花色是牡丹新品种选育中最直观的观测指标，根据此试验中主成分分析的结果，可将其作为湖南本土牡丹数量分类的三级标准，张亮等认为由于同一植株（品种）常有多种花型并存的现象，因此将其作为紫斑牡丹品种分类的三级标准^[16]。而且因为试验材料为调查意外发现的新品种，引种后受地理位置和气候的影响，不能保证着花率和结实率，所以也没有选取着花率和结实率。前人的研究结果将结实率作为牡丹数量分类的一级标准，与

表 3 牡丹 22 个性状指标的主成分特征值、贡献率和累计贡献率

性状	主成分			
	1	2	3	4
花期	0.719	-0.580	0.293	0.178
花色	0.808	-0.325	-0.382	0.220
花瓣基部有无色斑	0.729	-0.283	0.053	0.613
色斑颜色	0.676	-0.052	-0.379	0.596
色斑形状	0.697	0.118	0.104	0.635
叶形	-0.036	-0.693	0.553	0.345
株型	-0.354	0.202	0.806	0.196
鳞芽形状	-0.736	0.540	-0.190	0.274
复叶叶柄长	0.214	0.698	0.530	-0.363
复叶长	0.301	0.804	0.369	-0.141
复叶宽	0.383	0.828	0.346	0.057
花瓣数量	0.937	0.097	-0.002	-0.036
花瓣大小	0.932	0.215	0.070	-0.011
花冠横径	0.949	0.054	0.136	-0.224
复叶叶柄粗	0.409	0.674	-0.526	0.214
当年生枝长	0.073	0.919	0.162	0.174
当年生枝粗	0.074	0.943	-0.221	-0.278
株高	-0.265	0.332	-0.752	-0.257
复叶数	0.573	0.472	0.029	0.218
鳞芽长	0.517	-0.504	0.185	-0.601
鳞芽宽	0.741	-0.342	0.077	-0.467
瓣端形状	0.794	0.049	-0.179	-0.492
特征值	8.810	5.295	2.932	2.741
贡献率(%)	40.043	24.066	13.327	12.458
累计贡献率(%)	40.043	64.110	77.436	89.894

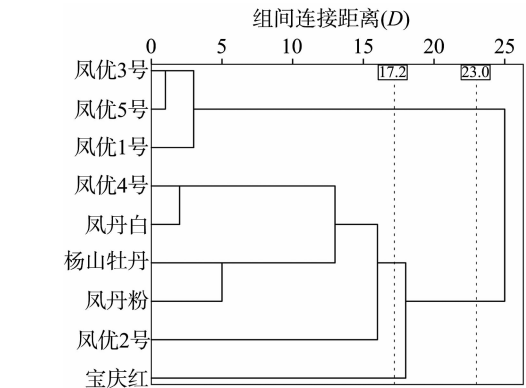


图2 9 份牡丹资源的 Q 型聚类树形

此试验分析得出的花瓣数量和花朵大小的贡献率较大不同,这还有待进一步研究。

从各性状的主成分分析得出花瓣数量、花瓣大小、花冠横径、花色、复叶长、复叶宽、当年生枝长、当年生枝粗和株型的贡献率在 22 个性状指标中较大,这些性状可作为同地区、亲缘关系较近的牡丹品种数量分类和新品种选育选择的主要参考指标。此外由本试验 9 个品种的聚类分析可得出,杨山牡丹与凤丹白、凤丹粉同为一个亚类,亲缘关系比较近,也符合前人认为凤丹白、凤丹粉为杨山牡丹的栽培品种的结论。而宝庆红属于另外一个亚类,这一结果与张旻桓等^[17]和钟丽凡

等^[18]用 ISSR 分子标记得出的结论相同,而另外 5 个新发现的单株资源分属于 2 个不同的大类,说明这 5 个单株资源之间很可能不是同一个品种,其遗传性状差异相对较大,可利用其遗传性状差异产生的较高的观赏价值,选育湖南本土的优良新品种。虽然聚类分析中性状指标均按统一标准进行量化,一定程度上避免了人为主观的误差影响,使分类由定性分析变为定量分析^[19],但是植物的形态性状容易受外部环境的影响,还应该综合分子标记和细胞学等方法才能更加准确地鉴定牡丹品种之间的亲缘关系。

参考文献:

[1]洪涛,张家勋,李嘉珏,等. 中国野生牡丹研究(一) 芍药属牡丹组新分类群[J]. 植物研究,1992,12(3):223-234.

[2]李嘉珏. 中国牡丹品种图志:西北、西南、江南卷[M]. 北京:中国林业出版社,2005:158-178.

[3]李嘉珏. 中国牡丹与芍药[M]. 北京:中国林业出版社,1999:87.

[4]邓新华,侯伯鑫,刘正先,等. 湖南牡丹栽培和利用溯源[J]. 湖南林业科技,2009,36(3):50-53.

[5]邓新华,侯伯鑫,刘正先,等. 湖南牡丹品种资源的调查[J]. 湖南林业科技,2010,37(1):34-36,40.

[6]曹瑜. 湖南牡丹栽培历史、品种资源与园林应用研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2010:20-25.

[7]卢惊鸿,张旻桓,金晓玲,等. 湖南牡丹品种资源现状及开发利用[C]//中国园艺学会观赏园艺专业委员会. 中国观赏园艺研究进展(2014),2014:59-66.

[8]刘正先,杨曦坤,侯伯鑫,等. 湖南牡丹品种资源的初步调查研究[J]. 农业科技通讯,2009(12):86-87.

[9]吴廉碧,吕长平,肖婷婷,等. 湖南本土牡丹种质资源的调查与收集[J]. 湖南农业科学,2017(1):8-12,15.

[10]卢惊鸿. 湖南牡丹资源调查及‘香丹’种子萌发研究[D]. 长沙:中南林业科技大学,2016:69.

[11]王业云. 牡丹杂交后代的形态学和 SSR 分子标记鉴定[D]. 北京:中国林业科学研究院,2016:15.

[12]成仿云,陈德忠. 紫斑牡丹新品种选育及牡丹品种分类研究[J]. 北京林业大学学报,1998,20(2):27-32.

[13]陈俊榆. “二元分类”——中国花卉品种分类新体系[J]. 北京林业大学学报,1998,20(2):1-5.

[14]韩雪源,张延龙,牛立新. 39 个牡丹品种的形态学分类研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2014,42(9):128-136.

[15]王佳. 杨山牡丹遗传多样性与江南牡丹品种资源研究[D]. 北京:北京林业大学,2009:92.

[16]张亮,唐红,刘文兰,等. 西北地区紫斑牡丹传统品种的数量分类研究[J]. 中南林业科技大学学报,2011,31(6):132-138.

[17]张旻桓,金晓玲,成仿云,等. 湖南产牡丹遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 中草药,2016,47(7):1193-1198.

[18]龚双军. 部分牡丹栽培品种数量分类学研究[D]. 郑州:河南农业大学,2010:40.

[19]钟丽凡,吕长平,许文婷,等. 湖南本土牡丹遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(10):34-37.