

滇龙胆野生种质资源的表型多样性与综合评价

沈涛¹, 王元忠²

(¹玉溪师范学院化学生物与环境学院, 云南玉溪 653100; ²云南省农业科学院药用植物研究所, 昆明 650200)

摘要: 探讨滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.)表型多样性并建立优良种源综合评价方法。采集分布于云南的477株个体19个性状数据, 结合遗传多样性指数、主成分分析、隶属函数、偏最小二乘等方法, 开展滇龙胆种质资源评价。结果显示477株滇龙胆根、茎、叶性状遗传多样性指数范围: 1.59~2.06; 各性状中根粗($H'=2.00$)、茎粗($H'=2.00$)、根质比($H'=2.02$)和根含水量($H'=2.06$)遗传多样性指数较高, 地上部分干重遗传多样性指数最低($H'=1.59$)。不同地理来源的滇龙胆植株性状差异较大($P<0.05$), 分布于滇南的滇龙胆根部产量性状数值显著高于其他分布区的植株($P<0.05$)。综合得分 D 值计算显示, 477株滇龙胆 D 值变化范围: 0.50~2.45, 采自滇西、滇西北($D=1.17\pm 0.03$)及滇南($D=1.19\pm 0.37$)的植株综合评分较高, 滇中($D=1.00\pm 0.30$)和滇东南($D=1.00\pm 0.32$)样品综合评分较低; 云县居群植株综合评分高($D=1.24\pm 0.14$), 且居群内个体间性状差异小($CV=11.02\%$), 属最优种源。偏最小二乘-回归分析(PLS-R)与偏最小二乘-判别分析(PLS-DA)发现, 根鲜重、根干重、全草干重、分枝数、根数、地上部分干重、茎粗及叶长是区分优劣种源的关键性状($VIP>1.00$); 土壤属性、生长期降水、最干季平均气温等环境因子则与滇龙胆高产性状的形成紧密相关($VIP>1.00$); 土壤沙土含量过高、粘土含量过低, 干旱高温可能促使根鲜重、干重和根数数值呈降低趋势; 4月、5月及11月降水增加则对根部性状提高有积极作用。

关键词: 滇龙胆; 表型多样性; 隶属函数; 综合评价; 环境因子

Phenotypic Diversity Analysis and Comprehensive Evaluation of Wild Germplasm Resources of *Gentiana rigescens*

SHEN Tao¹, WANG Yuan-zhong²

(¹College of Chemistry, Biology and Environment, Yuxi Normal University, Yunnan Yuxi 653100;

²Institute of Medicinal Plants, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650200)

Abstract: The purpose of this study was to explore the phenotypic diversity of *Gentiana rigescens* Franch. ex Hemsl and establish a comprehensive evaluation method for excellent provenances of the species. The phenotypic datasets of 19 traits in 477 individuals from Yunnan province were collected. The Shannon-Wiener diversity index, principal component analysis, membership function, and partial least square were used to evaluate the provenances of *G. rigescens* Franch. The value of Shannon-Wiener diversity index (H') of root, stem, and leaf traits of 477 individuals ranged from 1.59 to 2.06. At the several traits such as root diameter ($H'=2.00$), stem diameter ($H'=2.00$), root/biomass ratio ($H'=2.02$) and root water content ($H'=2.06$), the highest H' values were observed. The dry weight of aerial part of plants showed the lowest H' value ($H'=1.59$). The plant traits of *G. rigescens* Franch. which was from different geographical regions were significant differences ($P<0.05$). Notably, the root yield traits value of *G. rigescens* Franch. from southern Yunnan was significantly higher than those in other distribution areas ($P<0.05$). Based on the comprehensive evaluation value (D value) of phenotypes, the D value of 477 *G. rigescens* Franch. ranged from 0.50 to 2.45. The individuals collected from western and northwestern Yunnan ($D=1.17\pm$

收稿日期: 2022-08-22 修回日期: 2022-08-31 网络出版日期: 2022-10-06

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20220822005>

第一作者研究方向为药用植物资源评价, E-mail: st_yxnu@126.com

通信作者: 王元忠, 研究方向为药用植物资源评价与利用, E-mail: boletus@126.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060086); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202205AC160088)

Foundation projects: The National Natural Science Foundation of China (32060086); The Young and Middle-aged Academic and Technical Leaders Reserve Talents Program of Yunnan Province(202205AC160088)

0.03) and southern Yunnan ($D=1.19\pm 0.37$) had higher comprehensive evaluation value. Meanwhile, the D value of the individuals collected from central Yunnan ($D=1.00\pm 0.30$) and southeastern Yunnan ($D=1.00\pm 0.32$) were lower. The Yunxian population had the highest comprehensive evaluation value of plant ($D=1.24\pm 0.14$), and small differences in traits among individuals within the population ($CV=11.02\%$). It suggested that individuals of Yunxian population were excellent provenances. Through the analysis of PLS-R and PLS-DA, it was found that root fresh weight, root dry weight, dry weight of plant, branch number, fiber number, dry weight of aerial part, stem diameter and leaf length ($VIP>1.00$) were the key traits for the discrimination of good and bad provenances. And the environmental factors such as soil properties, precipitation during plant growing period and average temperature in the driest season were closely related to the high yield traits of *G. rigescens* Franch. ($VIP>1.00$). The higher content of sandy and the lower content of clay in soil, drought and high temperature might lead to reduce of root fresh weight, dry weight and root number. The higher precipitation in April, May and November was observed with positive effects at root-relates traits.

Key words: *Gentiana rigescens*; phenotypic diversity; membership function; comprehensive evaluation; environment factors

滇龙胆(*Gentiana rigescens* Franch.)根部入药,是传统保肝中药龙胆的主要基原植物^[1]。随着制药业发展,以滇龙胆为原料的中成药已超百余种,市场对其药用资源的需求逐年增加,目前药材年需求量已达8~10万吨(<http://www.agri.cn/>)^[2]。为保护野生资源同时满足制药生产,滇龙胆规模化种植已成为其资源可持续利用的必然发展方向^[3]。优良种源是药材种植业高质量发展的前提^[4];然而滇龙胆人工种植时间短,野生药材驯化栽培尚处于起步阶段,适宜规模化生产的优质种源亟待发掘。形态标记是种源筛选的传统方法之一^[4]。该方法具有高效、简便、直观等优点,种源筛选初期结果能快速应用于生产和资源保护^[5-7]。因此基于表型性状的种质资源评价,在药用植物研究中仍被广泛关注和报道^[8-10];相关研究也对后续药材优良种质的收集、分类、选育、保护等具有重要的理论和实践意义^[4]。

表型分析过程中如何科学建立优良种源评价指标,化繁为简从众多性状中快速确定关键性状一直是种质资源评价重点关注的研究内容^[11-13]。国内外报道显示,隶属函数(Membership function)结合主成分分析(PCA, principal component analysis)能将复杂表型数据有效降维,建立的评价指标可反映植株整体性状特征,为优良种源综合评价提供科学依据^[13-16]。此外,伴随植物数量分类研究与数理统计方法的发展,传统形态观测与偏最小二乘(PLS, partial least square)算法、变量投影重要性(VIP, variable importance in the projection)、层次聚类(HC, hierarchical clustering)等数据分析方法相结合,进一步使植物种质资源分类、鉴别及关键性状筛选更加客观准确^[17-20]。

云南是滇龙胆主要分布区及药材来源地^[21-22]。研究显示,云、贵、川等地野生滇龙胆居群内个体间表型变化大,传统药用部位性状如根粗、根长等变异式样丰富,与植株茎、叶部位性状变化有较强相关性,并与药材饮片质量等级划分关系紧密^[23-25]。为满足近年滇龙胆资源开发和育种需求,本研究将隶属函数、偏最小二乘算法等统计分析方法引入滇龙胆资源评价,以云南23个居群的477份野生滇龙胆为研究材料,通过植株根、茎、叶性状的观测与数值统计,建立滇龙胆优良种源的综合评价策略,科学评估药材种质资源的多样性。本研究结果可为滇龙胆优异种源的发掘、保育及后续药材生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究基于2018年课题组对云南怒江、临沧、楚雄、昆明、玉溪、红河、文山等地野生滇龙胆种质资源调查;调查范围涵盖云南境内滇龙胆主要分布区,共收集23个居群477份单株样品(表1)。

1.2 试验方法

实地调查过程中,详细记录采集地经度、纬度信息。植株采集后于当年统一保育于云南省农业科学院药用植物研究所种质资源圃内,2019年和2020年,滇龙胆花期(10月)连续两年对保育成活的植株进行性状测量,同时采集种子用于后续种质资源的保育;除干重外,最终分析数据为每份样品2年性状测量数据的平均值。

1.2.1 表型性状测量 本研究选取与滇龙胆药材质量等级划分关系紧密的性状进行调查统计。根部性

状:根粗、根长、根数、根鲜重、根干重、比根长、根质比、根冠比、根含水量;茎部性状:株高、茎粗、株高/茎粗、株高/地上干重、分枝数;叶部性状:叶长、叶宽、叶形指数;此外还测定了地上部分干重及全草干重。

表1 477份野生滇龙胆样品采集信息

Table 1 Collection information of 477 samples of *Gentiana rigescens* Franch.

编号	居群	采样地	地区	样品数
No.	Population	Location of sample collection	Regions	Sample size
1	NLL	云南怒江泸水	滇西北	10
2	LLS	云南怒江兰坪	滇西北	10
3	LF	云南临沧云县	滇西	7
4	CYW	云南楚雄姚安	滇中	19
5	CNS	云南楚雄南华	滇中	20
6	CNZ	云南楚雄南华	滇中	20
7	CDL	云南楚雄大姚	滇中	20
8	CLX	云南楚雄禄丰	滇中	19
9	YYX	云南玉溪易门	滇中	20
10	YHD	云南玉溪红塔区	滇中	20
11	YJZ	云南玉溪江川区	滇中	20
12	KQZ	云南昆明西山区	滇中	19
13	KPA	云南昆明盘龙区	滇中	40
14	KXK	云南昆明寻甸	滇中	20
15	KLZ	云南昆明禄劝	滇中	57
16	KXS	云南昆明寻甸倘	滇中	19
17	HJS	云南红河建水	滇南	20
18	HGJ	云南红河个旧	滇南	18
19	HMZ	云南红河蒙自	滇南	20
20	WXJ	云南文山小街	滇东南	20
21	WPB	云南文山坪坝	滇东南	19
22	WQC	云南文山砚山	滇东南	20
23	WXC	云南文山西畴	滇东南	20

测定干重时,植株放入牛皮纸袋置于烘箱中烘干至恒重(80℃条件下)称定重量;分枝数为植株一级分枝数;与长度相关的性状用直尺测量;根粗、茎粗数据用游标卡尺测定;一些性状计算方法如下:比根长=根长/根干重;根质比=根干重/全草干重;根冠比=根干重/地上部分干重;根含水量=(根鲜重-根干重)/根鲜重×100%;叶形指数=叶长/叶宽。

1.2.2 环境因子数据采集 本研究所用56个环境因子主要包括植物生长海拔,土壤因子及植株生长期(4-12月)水热气候因子。其中土壤总磷含量数据源自He等^[26],其他土壤因子数据来源于国家冰川冻土沙漠科学数据中心(<http://www.ncdc.ac.cn/>)中国土壤数据集(v1.1);气候因子与海拔数据由Worldclim网站提供(<https://worldclim.org/>);环境因子与代码详见表2。

1.3 数据统计分析

平均值、中位数、标准差、四分位数用于性状数值的分布统计,变异系数(CV, coefficient of variation)

表2 本研究所用环境因子

Table 2 Environment factors be used in the study

分类	因子	缩写	单位
Classification	Factors	Abbreviation	Unit
海拔 Elevation	海拔	Ele	m
土壤因子	0~10 cm 土壤总磷含量	P ₀₋₁₀	mg/kg
Soil factors	10~20 cm 土壤总磷含量	P ₁₀₋₂₀	mg/kg
	20~30 cm 土壤总磷含量	P ₂₀₋₃₀	mg/kg
	表层土壤沙含量	Sand	%
	表层土壤粘土含量	Clay	%
	表层土壤淤泥含量	Silt	%
	表层土壤有机碳含量	Toc	%
	表层土壤酸碱度	PH	—
	表层土壤容重	Bulk	g/m ³
气候因子	4-12月平均降水量	Prec04~Prec12	mm
Climatic factors	4-12月平均太阳辐射	Srad05~Srad12	kJ/m ² /day
	4-12月平均温度	Tavg04~Tavg12	℃
	年平均温度	Bio01	℃
	平均气温日较差	Bio02	℃
	等温性	Bio03	—
	温度季节性变化	Bio04	—
	最热月最高温度	Bio05	℃
	最冷月最低温度	Bio06	℃
	温度年较差	Bio07	℃
	最湿季平均气温	Bio08	℃
	最干季平均气温	Bio09	℃
	最热季平均气温	Bio10	℃
	最冷季平均气温	Bio11	℃
	年平均降水量	Bio12	mm
	最湿月降水量	Bio13	mm
	最干月降水量	Bio14	mm
	降水量季节性变化	Bio15	—
	最湿季降水量	Bio16	mm
	最干季降水量	Bio17	mm
	最暖季降水量	Bio18	mm
	最冷季降水量	Bio19	mm

用于评价性状数值的离散程度,遗传多样性指数(H' , Shannon-Wiener diversity index)用于评价滇龙胆19个性状的多样性^[27]。

滇龙胆表型性状的综合评价:首先计算各性状隶属函数值,随后结合主成分分析结果计算各性状权重,最后利用19个性状的隶属函数值与性状权重计算每份样品表型性状的综合评分^[15]。

相关性分析与偏最小二乘-回归(PLS-R, partial least square-regression analysis)分析用于分析变量间的相互关系,偏最小二乘-判别分析(PLS-DA, partial least square-discriminant analysis)用于不同种源的区分研究,变量投影重要性分析用于筛选重要植物

性状^[20]。滇龙胆19个性状的数值描述统计与相关性分析由IBM SPSS Station 25.0完成;其余分析均用SIMCA 14.1计算。

2 结果与分析

2.1 滇龙胆种质资源的性状变异分析

对477株滇龙胆个体19个性状进行统计,结果显示(表3),植株根、茎、叶性状遗传多样性指数范围为1.59~2.06,其中根粗、茎粗、根质比和根含水量相对较高,性状遗传多样性指数均 ≥ 2.00 ;地上部分

干重遗传多样性指数相对较低,为1.59;遗传多样性指数统计总体显示滇龙胆种质资源表型多样性较丰富。根部是滇龙胆主要药用部位,其性状数值四分位数统计显示多数滇龙胆($P_{25}\sim P_{75}$)根粗数值集中分布在0.23~0.33 cm之间,根长数值集中分布在8.90~13.65 cm,根数主要为5.00~12.00条,根鲜重主要为0.93~2.64 g,根干重主要在0.33~0.99 g之间,比根长主要数值范围为11.04~31.10,根质比主要范围为0.20~0.39,根冠比集中分布在0.25~0.64之间,含水量集中分布在56.49%~67.51%之间。

表3 滇龙胆19个性状的统计分析

Table 3 Statistical analysis of 19 traits of *Gentiana rigescens* Franch.

性状 Traits	均值 Mean	标准差 Standard deviation	中位数 Median	四分位数 Quartile		最小值 Min.	最大值 Mix.	遗传多样性指数 <i>H'</i>
				P_{25}	P_{75}			
根粗(cm)RD	0.28	0.07	0.27	0.23	0.33	0.12	0.50	2.00
根长(cm)RL	11.87	4.46	11.00	8.90	13.65	3.50	29.70	1.98
根数FB	9.51	5.55	8.00	5.00	12.00	1.00	35.00	1.92
根鲜重(g)RFW	2.14	1.84	1.62	0.93	2.64	0.23	10.79	1.69
根干重(g)RDW	0.81	0.73	0.60	0.33	0.99	0.07	4.90	1.69
比根长SRL	25.00	22.02	18.98	11.04	31.10	2.73	207.50	1.66
根质比RBR	0.31	0.13	0.28	0.20	0.39	0.08	0.78	2.02
根冠比RSR	0.51	0.40	0.39	0.25	0.64	0.09	3.50	1.70
根含水量(%)RWC	61.57	8.59	63.18	56.49	67.51	26.09	84.83	2.06
株高(cm)PH	24.65	11.54	23.30	17.20	30.55	2.50	87.00	1.97
茎粗(cm)SD	0.21	0.06	0.21	0.17	0.24	0.10	0.61	2.00
株高/茎粗PS	119.08	52.71	112.15	86.33	142.61	7.11	435.00	1.94
株高/地上干重PD	17.66	11.32	15.43	10.97	21.18	0.93	116.50	1.77
分枝数BN	2.88	2.21	2.00	1.00	4.00	1.00	14.00	1.82
叶长(cm)LL	3.52	1.12	3.27	2.83	3.93	1.83	9.53	1.86
叶宽(cm)LW	1.02	0.34	0.97	0.80	1.17	0.40	3.87	1.86
叶形指数LI	3.57	0.86	3.48	3.03	3.91	0.78	8.43	1.90
地上部分干重(g)ADW	1.93	1.77	1.44	0.96	2.35	0.10	19.41	1.59
全草干重(g)PDW	2.75	2.27	2.10	1.39	3.32	0.17	22.47	1.68

RD: Root diameter; RL: Root length; FB: Fiber number; RFW: Root fresh weight; RDW: Root dry weight; SRL: Specific root length; RBR: Root/Biomass ratio; RSR: Root/Shoot ratio; RWC: Root water content; PH: Plant height; SD: Stem diameter; PS: Plant height/Stem diameter; PD: Plant height/Dry weight of aerial part; BN: Branch number; LL: Leaf length; LW: Leaf width; LI: Leaf index; ADW: Dry weight of aerial part; PDW: Dry weight of plant; The same as below

2.2 不同地理来源滇龙胆的表型差异

通过比较滇中、滇南、滇东南、滇西和滇西北采集的滇龙胆植株表型性状,分析发现不同地理来源植株性状差异明显,19个性状中除叶形指数外,其余性状在不同地区间均呈现出极显著的差异($P<0.01$)(表4)。采集自滇中地区的植株根、茎、叶性状数值总体偏低。滇东南地区滇龙胆根数、地上部分干重及全草干重均值最高。植株根长、比根长、根含水量、茎粗、分枝数、叶长、叶宽和叶形指数均值最大值出现在滇西与滇西北。根粗、根鲜重、根干重、根质比、根冠比、株高、株高/茎粗、株高/地上干重均值最大

值出现在滇南地区。

2.3 滇龙胆性状综合评价

2.3.1 相关性分析 图1显示19个性状间呈现不同程度的相关性。根粗(RD)、根长(RL)、根数(FB)与根鲜重(RFW)和干重(RDW)呈极显著正相关($P<0.01$),是滇龙胆药用部位产量形成的重要构成因子,株高(PH)、茎粗(SD)和分支数(BN)与上述根部性状也呈现出极显著的正相关($P<0.01$),暗示植株高大、粗壮、多分枝可能是滇龙胆根部高产的优良株型,叶形指数(LI)与根冠比(RSR)和根质比(RBR)呈极显著负相关($P<0.01$),表明不同叶形的植株地

上、地下干物质分配存在差异,叶形指数越小,叶片越接近卵圆形,植株根部干物质占比可能越高。

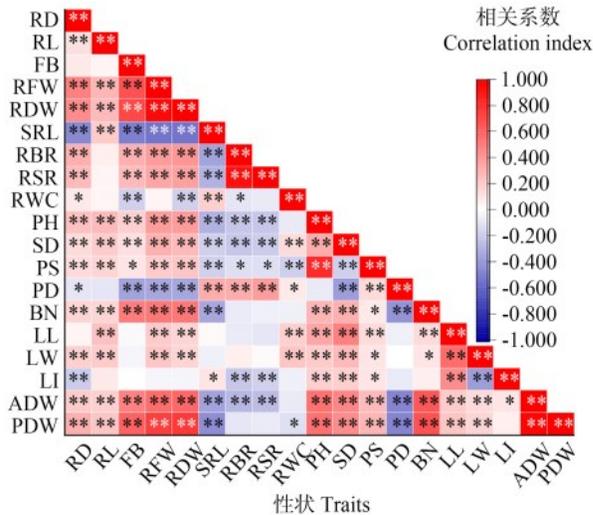
表4 不同地理来源滇龙胆 19 个性状的比较

Table 4 The comparison of 19 traits among *Gentiana rigescens* Franch. germplasm from different areas

性状 Traits	滇西与滇西北 Western and Northwest Yunnan	滇中 Central Yunnan	滇南 Southern Yunnan	滇东南 Southeastern Yunnan	F 值 F value
根粗(cm)RD	0.25±0.09	0.28±0.07	0.32±0.07	0.28±0.07	6.77**
根长(cm)RL	15.54±5.50	11.23±4.25	14.27±4.32	11.37±3.83	15.45**
根数FB	6.15±4.13	9.50±5.28	9.22±5.74	10.87±6.40	5.06**
根鲜重(g)RFW	2.04±2.15	1.92±1.62	3.37±2.56	2.13±1.55	10.80**
根干重(g)RDW	0.61±0.65	0.74±0.65	1.19±1.07	0.90±0.63	7.71**
比根长 SRL	45.68±35.19	25.42±22.01	20.65±16.06	19.46±15.03	11.06**
根质比 RBR	0.23±0.11	0.31±0.14	0.39±0.12	0.27±0.11	12.85**
根冠比 RSR	0.33±0.22	0.52±0.42	0.71±0.47	0.41±0.25	8.83**
根含水量(%)RWC	69.7±5.28	61.70±7.71	65.56±8.41	55.31±8.80	31.21**
株高(cm)PH	25.00±11.07	22.73±11.61	31.10±12.98	27.41±7.49	11.12**
茎粗(cm)SD	0.29±0.10	0.20±0.05	0.21±0.05	0.21±0.05	19.76**
株高/茎粗 PS	96.28±42.94	111.42±52.71	148.34±53.55	135.72±42.4	13.44**
株高/地上干重 PD	18.56±14.81	17.16±9.63	24.77±18.47	14.09±6.00	11.20**
分枝数 BN	4.37±2.91	2.94±2.27	2.00±1.36	2.81±1.91	7.56**
叶长(cm)LL	5.88±1.71	3.36±0.96	3.75±0.81	3.20±0.52	62.92**
叶宽(cm)LW	1.65±0.49	0.97±0.25	1.15±0.41	0.89±0.22	54.27**
叶形指数 LI	3.78±1.22	3.55±0.90	3.38±0.59	3.70±0.70	2.23
地上部分干重(g)ADW	2.16±1.81	1.76±1.50	1.87±1.75	2.59±2.49	4.91**
全草干重(g)PDW	2.77±2.29	2.50±1.95	3.06±2.68	3.49±2.91	4.50**

性状数值为平均值±标准差,**表示 $P < 0.01$

The traits' value in the table is Mean±SD, ** means $P < 0.01$



*表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$, 下同

*means $P < 0.05$ and **means $P < 0.01$, the same as below

图1 19个性状间的相关性分析

Fig.1 Correlation analysis between 19 traits

2.3.2 主成分分析 滇龙胆地上和地下性状呈现较强的相关性,为将表型评价指标进行降维并降低性状间共线性对后续评价的干扰,以 19 个性状为 X 变量进行主成分分析。分析结果显示(表 5)所有性状可提取为 6 个主成分,第 1 到第 6 主成分特征值分别为

5.870、3.088、2.030、1.735、1.342 和 1.022,累计贡献率为 79.41%,可代表大部分性状信息。

通过计算各性状的主成分得分可知,第 1 主成分主要包括根数、根鲜重、根干重、比根长、根含水量、分枝数、地上部分干重及全草干重,可代表与药材产量相关的大部分性状;第 2 主成分主要为根质比和根冠比,与植株根部干物质分配紧密相关;第 3 主成分则主要包括株高、株高/茎粗和株高/地上干重等 3 个性状,这些性状主要与植株生长高度及地上干物质分配有关;第 4 主成分主要为茎粗、叶长及叶宽,代表了植株茎、叶形态特征;第 5 主成分包括根粗和根长,反映了根部的形态特征;第 6 主成分为叶形指数,代表了叶片的长宽比及叶片形状。

2.3.3 综合评分分析 6 个主成分的权重系数分别为 0.41、0.21、0.14、0.12、0.09 和 0.07,结合 19 个性状的隶属函数值对 477 株个体表型性状进行综合评分(D 值)(表 6)。统计显示,样品平均得分为 1.03,滇西与滇西北及滇南的样品综合评分均值较高(1.17±0.33 和 1.19±0.37),中位数分别为 1.07 和 1.06;滇中和滇东南样品相对较低(1.00±0.30 和 1.00±0.32),中位数分别为 0.91 和 0.94。

23个居群植株 D 值及变异系数统计分析显示(图2),采自云南临沧云县分水岭(LF)的滇龙胆评分均值较高($D=1.24\pm 0.14 > 1.03$),且居群内个体间变异系数较小($CV=11.02\%$),表明该居群多数植株性状优良且个体间差异小。文山坪坝(WPB, $D=1.13\pm 0.44$, $CV=38.74\%$)、红河个旧(HGJ, $D=1.32\pm$

0.55 , $CV=41.48\%$)、昆明寻甸(KXS, $D=1.25\pm 0.37$, $CV=29.86\%$; KXK, $D=1.08\pm 0.31$, $CV=28.77\%$)、怒江泸水(NLL, $D=1.26\pm 0.48$, $CV=38.47\%$)等地采集的样品虽居群植株 D 值均值较高(> 1.03),但其变异系数也较大,暗示居群内个体间性状差异大。

表5 滇龙胆19个性状的主成分分析结果

Table 5 The principal component analysis for 19 traits of *Gentiana rigescens* Franch.

性状 Traits	主成分1 PC1	主成分2 PC2	主成分3 PC3	主成分4 PC4	主成分5 PC5	主成分6 PC6
根粗RD	-0.147	-0.037	0.016	-0.088	0.748	0.033
根长RL	-0.013	0.013	-0.044	-0.074	0.073	-0.011
根数FB	0.278	0.140	-0.027	-0.058	-0.338	0.013
根鲜重RFW	0.166	0.118	0.007	-0.045	0.043	0.028
根干重RDW	0.158	0.124	0.000	-0.019	0.005	0.005
比根长SRL	0.003	-0.028	-0.025	-0.078	-0.322	-0.020
根质比RBR	-0.013	0.351	-0.051	0.048	0.024	0.039
根冠比RSR	0.000	0.356	-0.036	0.039	-0.023	0.058
根含水量RWC	0.076	-0.007	-0.003	-0.097	0.027	0.051
株高PH	-0.028	-0.061	0.391	0.029	0.095	0.037
茎粗SD	-0.015	-0.094	-0.207	0.318	0.214	0.125
株高/茎粗PS	-0.040	0.007	0.524	-0.078	-0.050	-0.024
株高/地上干重PD	-0.089	0.228	0.272	-0.014	-0.209	0.003
分枝数BN	0.238	-0.036	-0.050	-0.047	-0.195	-0.049
叶长LL	-0.060	0.099	0.029	0.527	-0.114	0.172
叶宽LW	-0.032	0.031	0.038	0.471	-0.169	-0.482
叶形指数LI	-0.027	0.072	0.018	0.080	0.003	0.703
地上部分干重ADW	0.191	-0.130	0.056	-0.044	-0.059	-0.043
全草干重PDW	0.199	-0.061	0.043	-0.041	-0.044	-0.032
特征值E	5.870	3.088	2.030	1.735	1.342	1.022
方差贡献率(%) CR	30.90	16.25	10.68	9.13	7.07	5.38
累计贡献率(%) CCR	30.90	47.15	57.83	66.96	74.03	79.41

E: Eigenvalue; CR: Contribution rate; CCR: Cumulative contribution rate

表6 不同地理来源滇龙胆样品 D 值统计

Table 6 The statistics of D value of *Gentiana rigescens* Franch. in different areas

指标 Index	滇西与滇西北 Western and Northwest Yunnan	滇中 Central Yunnan	滇南 Southern Yunnan	滇东南 Southeastern Yunnan	所有样品 All samples
平均值 Mean	1.17	1.00	1.19	1.00	1.03
标准差 SD	0.33	0.30	0.37	0.32	0.32
中位数 Median	1.07	0.91	1.06	0.94	0.95
最小值 Min.	0.80	0.55	0.53	0.50	0.50
最大值 Max.	2.43	2.25	2.20	2.45	2.45
变异系数(%) CV	28.00	30.30	31.42	32.21	31.38

2.3.4 优良种源性状特征分析 选取综合评分最高的个体(前 top 5%)与评分最低个体(后 top 5%)(表7),以样品19个性状为 X 变量,结合偏最小二乘判别分析研究优良种源间的性状差异。

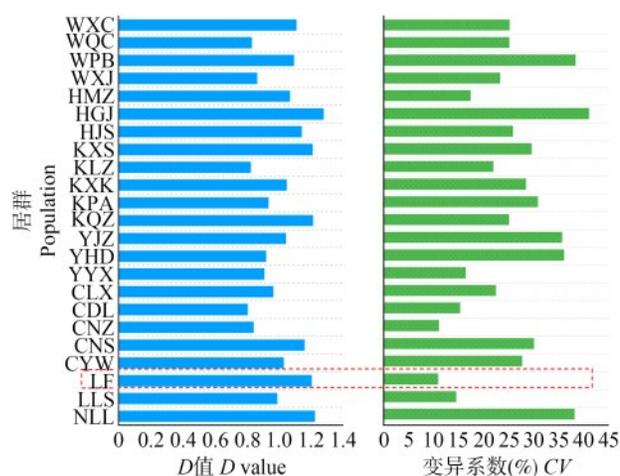
PLS-DA 分析显示得分较高的种源与得分较低的种源性状差异大,两组样品被明显区分(图3A)。

Biplot图(图3B)显示根数、株高、茎粗、分枝数、叶长、叶宽等多数性状能用于区分得分较高个体,株高/地上干重及比根长则可用于区分得分较低的个体。利用变量投影重要性统计性状VIP值,结果显示(图3C虚线方框内),根鲜重(VIP=1.30)>根干重(VIP=1.29)>比根长(VIP=1.24)、全草干重(VIP=

1.24)>分枝数(VIP=1.16)>根数(1.15)>地上部分干重(VIP=1.14)>茎粗(VIP=1.04)>叶长(VIP=1.00),上述性状VIP值 ≥ 1.00 ,可作为区分优劣种源的关键性状。结合性状均值比较发现,综合得分较高的种源性状特征为:根鲜重、根干重、全草干重、分枝数、根数、地上部分干重、茎粗及叶长数值高,比根长数值低。

为量化各表型性状与植株综合评分的关系,以477株滇龙胆综合评分 D 值为 Y 变量,19个性状为 X 变量,建立 Y 与 X 的偏最小二乘回归模型(PLS-R)。基于所有性状的PLS-R与VIP分析显示(图4A),根鲜重(VIP=1.71)、根干重(VIP=1.63)、全草干重(VIP=1.52)、根数(VIP=1.31)、地上部分干重(VIP=1.29)及分枝数(VIP=1.27)对 D 值的预测贡献最大,变量VIP值均大于1.00(图4B)。设定上述变量为 X ,样品综合评分 D 为 Y ,再次建立回归模型;结果显示6个性状与 D 值线性关系良好,PLS-R模型决定系数 $R^2=0.925$,均方根误差(RMSEE)及交叉验证均方根误差(RMSECV)分别为0.089和0.095(图4C);对预测

模型进行200次置换重要性检验,模型无过拟合风险(图4D),表明6个性状是计算滇龙胆种质资源综合评分的最重要性状。



红色虚线框内为云县分水岭(LF)居群数值
The value of LF population can be found in the red dashed box

图2 D 值及其变异系数在居群水平的变化

Fig.2 The variation of D value and CV at population level

表7 D 值最高(top 5%)与 D 值最低(top 5%)的样品

Table 7 The samples with the highest D value (top 5%) and the lowest D value (top 5%)

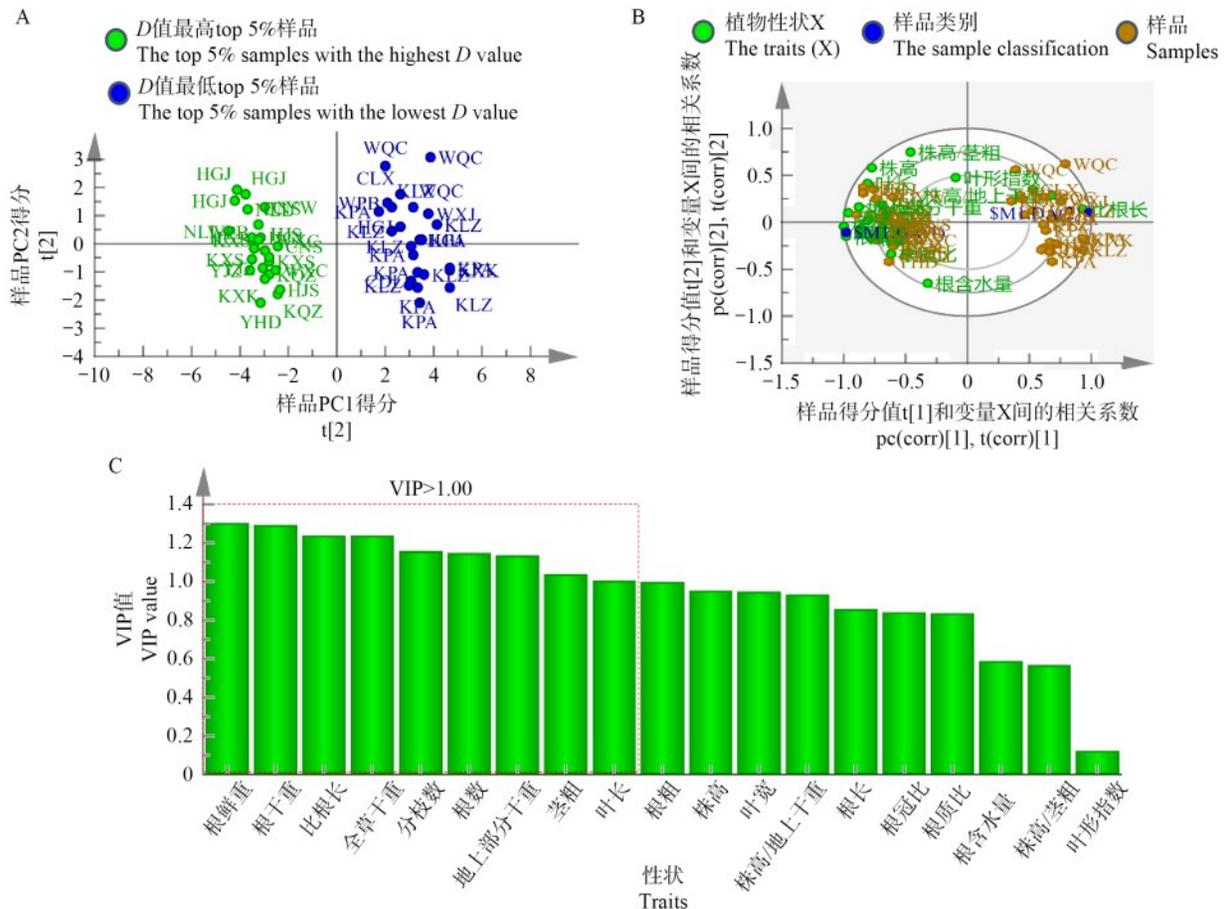
D 值最高top 5% The top 5% with the highest D value				D 值最低top 5% The top 5% with the lowest D value			
编号 No.	所属居群 Population	D 值 D value	代号 Code name	编号 No.	所属居群 Population	D 值 D value	代号 Code name
1	WPB	2.45	WPB-11	1	KLZ	0.67	KLZ-03
2	NLL	2.43	NLL-07	2	KLZ	0.67	KLZ-11
3	YHD	2.25	YHD-06	3	KLZ	0.67	KLZ-14
4	YJZ	2.20	YJZ-11	4	WQC	0.67	WQC-15
5	HGJ	2.20	HGJ-13	5	CDL	0.66	CDL-04
6	HGJ	2.19	HGJ-18	6	KPA	0.66	KPA-13
7	HGJ	2.13	HGJ-10	7	KPA	0.65	KPA-36
8	KXS	2.09	KXS-05	8	WPB	0.65	WPB-09
9	CNS	2.08	CNS-01	9	KPA	0.64	KPA-16
10	YJZ	1.98	YJZ-10	10	KPA	0.64	KPA-18
11	KQZ	1.98	KQZ-19	11	HGJ	0.63	HGJ-08
12	HGJ	1.94	HGJ-17	12	WQC	0.63	WQC-17
13	HGJ	1.90	HGJ-06	13	KLZ	0.62	KLZ-06
14	CYW	1.86	CYW-01	14	KPA	0.61	KPA-03
15	KXK	1.82	KXK-13	15	KXK	0.61	KXK-20
16	HJS	1.82	HJS-19	16	KLZ	0.60	KLZ-11
17	KQZ	1.78	KQZ-08	17	KPA	0.59	KPA-25
18	KXS	1.76	KXS-18	18	KLZ	0.59	KLZ-50
19	KXS	1.75	KXS-19	19	KPA	0.58	KPA-37
20	NLL	1.74	NLL-08	20	WXJ	0.58	WXJ-13
21	HJS	1.74	HJS-20	21	KLZ	0.56	KLZ-21
22	WXC	1.73	WXC-02	22	CLX	0.55	CLX-34
23	WXC	1.71	WXC-15	23	HGJ	0.53	HGJ-02
24	CNS	1.69	CNS-04	24	WQC	0.50	WQC-02

表格中居群对应采集地信息详见表1

The corresponding location information of population capital letters is shown in Table 1

2.3.5 环境因子对植物性状间的相关性分析 通过对滇龙胆分布区环境因子数据进行收集整理,结合PLS-R和相关性分析,探讨生境海拔、土壤、气候等因素对优良种源形成的影响作用。首先建立56个环境因子(X)与477份样品D值的PLS-R模型,结果显示环境因子对样品D值有较明显的影响作用(模型 $R^2=0.947$, $RMSEE=0.035$, $RMSECV=0.038$) (图5A、B);VIP分析(图5c)显示海拔(Elc)、表层土壤的总磷含量(P_{0-10} 和 P_{10-20})、表层土壤沙含量(Sand)、粘土

含量(Clay)、淤泥含量(Silt)、土壤有机碳含量(Toc)、土壤酸碱度pH,分布区4月平均降水量(Prec04)、5月平均降水量(Prec05)、11月平均降水量(Prec11)、12月平均降水量(Prec12)、最冷月最低温度(Bio06)、最干季平均气温(Bio09)、最干月降水量(Bio14)、最干季降水量(Bio17)、最暖季降水量(Bio18)和最冷季降水量(Bio19)共计18个环境因子VIP值大于1.00,是影响植株综合评分的重要环境因子。



A:得分最高样品与为得分最低样品的PLS-DA得分图;B:基于PLS-DA分析的Biplot图,图中同心圆左侧性状用于区分得分较高样品,右侧性状用于区分得分较低样品;C:基于PLS-DA分析的性状VIP图

A: PLS-DA score plot of the samples had the highest *D* value and the samples had the lowest *D* value; B: Biplot based on the PLS-DA; In the figure, the traits on the left side of concentric circles are used to distinguish samples with higher *D* value, and traits on the right side of concentric circles are used to distinguish samples with lower *D* value; C: VIP plot of traits based on PLS-DA

图3 *D*值最高(top 5%)与*D*值最低(top 5%)样品的偏最小二乘判别分析

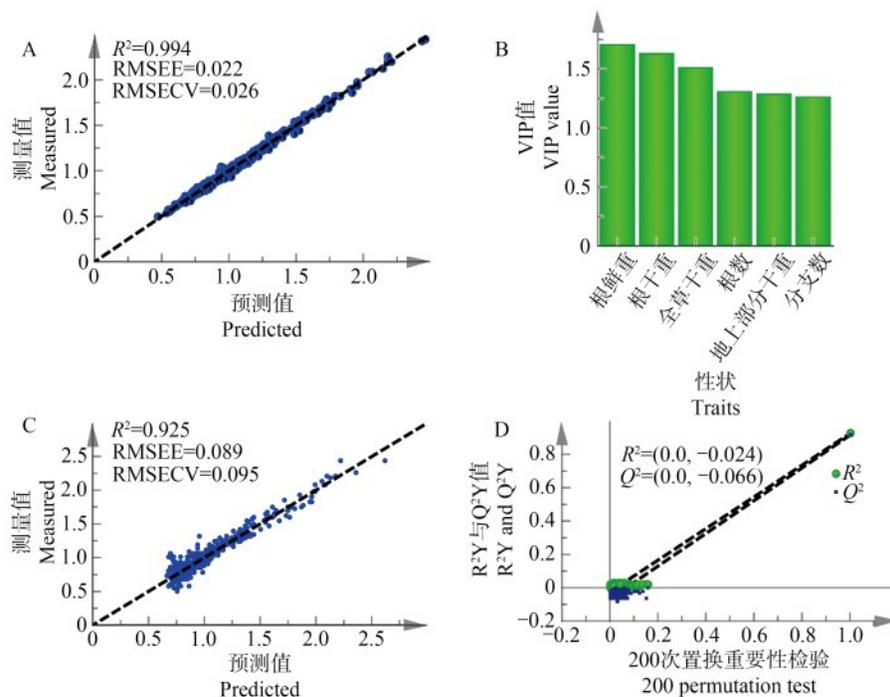
Fig.3 The PLS-DA of samples with the highest *D* value and the lowest *D* value

基于PLS-R分析结果,将上述18个环境因子与根鲜重(RFW)、根干重(RDW)、全草干重(PDW)、根数(FB)、地上部分干重(ADW)和分枝数(BN)进行相关性分析(图6)。结果显示根鲜重(RFW)和根干重(RDW)共同受土壤沙土(Sand)、粘土含量(Clay),植株生长期4月、5月降水量(Prec04、Prec05)、最干季降

水量(Bio17)及最暖季降水量(Bio18)影响($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。全草干重(PDW)数值变化与土壤有机碳含量(Toc)、4月、5月和11月降水量(Prec11)、最干季与最暖季降水量紧密相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。土壤沙含量(Sand)、最干季平均气温(Bio09)及最冷季降水量(Bio19)增加明显不利于根数(FB)的提高

($P<0.01$ 或 $P<0.05$); 植株地上部分干重 (ADW) 除受到生长期降水、最干月 (Bio14)、最干季及最暖季降水的影响外 ($P<0.01$ 或 $P<0.05$), 还受到土壤有机碳 (Toc) 及土壤酸碱度 (pH) 的影响, 土壤 pH 值升高

总体不利于地上干物质积累 ($P<0.01$); 分枝数 (BN) 随海拔 (Ele) 升高, 呈增加趋势 ($P<0.01$), 此外表层土壤总磷含量 (P_{10-20}) 的提高也有利于分枝数的增加 ($P<0.01$)。



A: 19 个性状与 477 株样品综合评分 D 值的拟合结果; B: 基于 PLS-R 分析的性状 VIP 图; C: 重要性状 (VIP > 1.00) 与 477 株样品综合评分 D 值的拟合结果; D: 基于重要性状的 PLS-R 模型 200 次置换重要性检验结果

A: Fitting results of 19 traits with D values of 477 samples; B: VIP plot based on the PLS-R analysis; C: Fitting results of important traits (VIP > 1.00) with D values of 477 samples; D: The result of 200 permutation test of PLS-R model based on important traits

图 4 滇龙胆样品 D 值与 19 个性状的偏最小二乘回归分析

Fig. 4 The PLS-R of D value of *Gentiana rigescens* Franch. samples and 19 traits

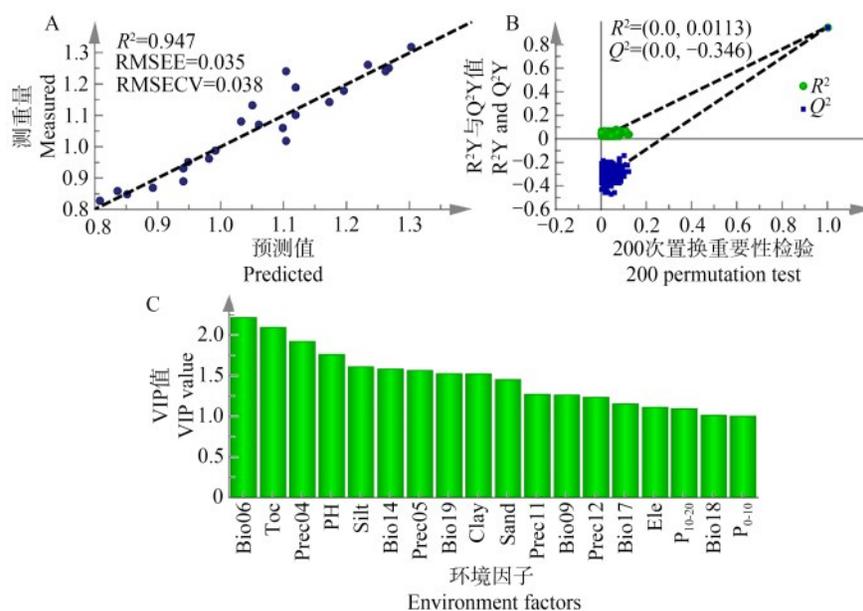
3 讨论

3.1 野生滇龙胆的表型多样性

野生种质资源筛选、驯化初期, 重要表型性状数据可与后续分子生物学、化学分析等研究获取的信息进行关联, 为药材质量评价、特异种质挖掘等提供更全面的科学依据^[4, 10, 17]。鉴于以上原因, 形态学水平的研究仍是当前药用植物种质资源评价的基本分析方法^[4]。国内学者对分布于云南、四川和贵州的滇龙胆表型变异进行研究发现, 野生滇龙胆表型变异丰富, 尤其根部性状变异幅度最大^[23-24]。本研究显示 477 株滇龙胆 19 个性状的遗传多样性指数在 1.59~2.06 之间, 根粗、根长、根数、根质比和根含水量遗传多样性指数均大于 1.90。除根部性状外, 株高、茎粗及叶形指数等性状的遗传多样性指数也较高。杨维泽等^[23]研究发现, 昆明、红河、文山等地野生滇龙胆根、茎部位性状变异系数大于 30.0%。云南、四

川、贵州分布的滇龙胆研究也显示植株株高、分枝数、须根数等性状变异系数多在 31.89%~45.77%^[24]。结合本研究结果可知, 滇龙胆药用部位表型变异丰富, 遗传多样性水平高; 丰富的表型变异与多样的植物性状为后续药材优良种源筛选及特异性状挖掘提供必要的遗传资源。

龙胆苦苷是滇龙胆重要药效成分, 同时也是《中国药典》2020 版龙胆药材质量优劣的主要评价指标^[1]。作为滇龙胆传统药用部位, 根部性状如: 根粗、根长、须根数、根部干重等与药材龙胆苦苷含量呈正相关, 地下部性状数值越高药材质量可能越优^[25]。本研究发现滇龙胆根部性状遗传多样性指数高, 结合前人研究推测野生滇龙胆药用部位产量和质量不稳定, 药材品质仍有较大提升空间。不同分布区滇龙胆根部性状差异较大, 滇西与滇西北及滇南的滇龙胆植株根长、根粗、根干重等根部性状均值较高; 与之相比滇中和滇东南分布的滇龙胆根



A: 56个环境因子与477株样品综合评分D值的拟合结果; B: PLS-R模型200次置换重要性检验结果; C: 重要环境因子VIP图(VIP>1.00)
 A: Fitting results of 56 environmental factors with *D* values of 477 samples; B: The result of 200 permutation test of PLS-R model;
 C: VIP plot of important environmental factors (VIP>1.00)

图5 滇龙胆样品D值与环境因子的偏最小二乘回归分析

Fig.5 The PLS-R of *D* value of *Gentiana rigescens* Franch. samples and 19 traits

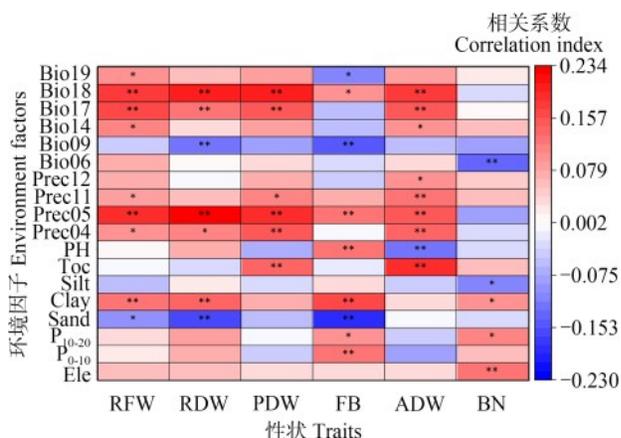


图6 环境因子与关键性状的相关性分析

Fig.6 Correlation analysis between environmental factors and the key traits

部性状均值较低。以上研究结果表明滇西与滇西北及滇南的种源根部性状总体优于其他地区,生产中需着重对上述地区高产种源进行挖掘和利用。

3.2 优良种源筛选

本研究477株滇龙胆综合得分平均值为1.03, *D*值变异系数为31.38%。云南临沧云县分水岭(LF)的滇龙胆综合评分均值较高(>1.03),且居群内个体间变异系数仅为11.02%,表明云县居群内个体性状差异小,优良性状较稳定,属最优种源地。将评分

最高的种质资源(*D*值排名前5%)与评分最低的种质资源(*D*值排名后5%)的性状进行比较,结合PLS-DA分析发现,根鲜重、根干重、比根长、全草干重、分枝数、根数、地上部分干重、茎粗和叶长是区分优劣种源的关键性状。PLS-R分析则发现,仅用根干重、根鲜重、全草干重、根数、地上部分干重及分枝数也能较好预测植株综合评分;因此后续高产种源筛选可进一步减少评价指标,并在选育过程中关注上述根、茎指标。

3.3 环境因子对优良性状形成的可能影响

报道显示滇龙胆根、茎、叶等营养器官的性状变异与分布区经度及降水变化有关^[23]。云南地势整体呈现西北高、东南低的变化趋势,同时在海拔变化过程中,降水、温度、太阳辐射等均呈现出复杂的协同变化^[28-29]。本研究在前人工作基础上,进一步探讨了分布区海拔、土壤、热量、降水等环境因子对滇龙胆表型变异的可能影响。PLS-R分析发现,海拔、0~20 cm表层土壤总磷含量、表层土壤沙含量、粘土含量、淤泥含量、土壤有机碳含量、土壤酸碱度、4月平均降水量、5月平均降水量、11月平均降水量、12月平均降水量、最冷月最低温、最干季平均气温、最干月降水量、最干季降水量、最暖季降水量和最冷季降水量能较好预测滇龙胆植株综合评分(*D*值);表明上述18个环境因子对优良种源的形成有明显影响作用。

将上述环境因子与滇龙胆评分关键性状进行相关性分析,发现根干重、鲜重及根数主要受分布区土壤因子和降水因子的影响。例如:土壤中沙土含量过高、粘土含量过低、干旱高温不利于根鲜重、干重和根数数值的增加;植株生长过程中4月、5月及11月份降水量增加则对根部性状提高有积极作用。最暖季和最干季降水量增加也有利于根部干物质积累与须根数增加。结合文献推测云南气候受大陆性季风和海洋性季风的共同影响,具有水热同期的气候特征^[28-29];最干季通常为冬季,分布区冬季降水量增加可能有助于滇龙胆药材产量的提高。杨雁等^[30]研究认为海拔对滇龙胆根部性状影响较弱。本研究发现海拔与根部性状相关性不显著,但较高海拔的植株分枝数较多。通常分枝数较多的滇龙胆,其根部产量也较大^[31]。因此,后续筛选种源时,高海拔分布区(滇西和滇西北)分枝数较多的种源有待进一步收集、驯化以服务山区药材生产需求。

植物表型性状的变化受到个体遗传、生境条件的综合影响。本研究通过滇龙胆植物性状、居群分布区环境因子数据分析,初步掌握了不同地理种源产量相关性状的变化规律。同时也发现,优良种源的形成与特定分布区独特的水热条件有关。因此,后续种源筛选研究还需基于本研究筛选的种质资源开展同质园实验和同一种源异地栽培的迁地试验;结合性状测量、有效成分定量分析、遗传变异分析等方法^[32-34],对初步筛选的优质种源进行系统比较,量化药材关键性状与有效成分含量间的相关性;阐明滇龙胆生长发育过程中基因和环境的交互作用,最终培育产量高、质量优、性状稳定的优质种源,服务山区滇龙胆药材生产。

参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2020: 99-100
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia Part I. Beijing: China Medical Science Press, 2020: 99-100
- [2] 李智敏, 刘莉, 李晚谊, 张金渝, 金航. 滇龙胆的药用资源研究与开发进展. 云南大学学报: 自然科学版, 2009, 31 (S1): 485-487
Li Z M, Liu L, Li W Y, Zhang J Y, Jin H. Progress on research and development of *Gentiana rigescens* as a raw material. Journal of Yunnan University: Natural Sciences, 2009, 31 (S1): 485-487
- [3] 杨利民. 中药材生态种植理论与技术前沿. 吉林农业大学学报, 2020, 42 (4): 355-363
Yang L M. Theory and technology frontiers of ecological planting of Chinese medicinal materials. Journal of Jilin Agricultural University, 2020, 42 (4): 355-363
- [4] 王继永, 郑司浩, 曾燕, 刘美娟, 尚兴朴, 王浩. 中药材种质资源收集保存与评价利用现状. 中国现代中药, 2020, 22 (3): 311-321
Wang J Y, Zheng S H, Zeng Y, Liu M J, Shang X P, Wang H. Current situation on collection, preservation, evaluation and utilization of germplasm resources for traditional Chinese medicine. Modern Chinese Medicine, 2020, 22 (3): 311-321
- [5] 叶清华, 刘林敏, 邱娜娜, 谢倩, 王威, 陈清西. 橄榄 (*Canarium album*) 种子形态结构与数量性状分析. 植物科学学报, 2019, 37 (4): 413-421
Ye Q H, Liu L M, Qiu N N, Xie Q, Wang W, Chen Q X. Seed morphological structure and quantitative trait analysis of *Canarium album*. Plant Science Journal, 2019, 37 (4): 413-421
- [6] 刘娜, 成仿云. 紫斑牡丹果实性状变异及其产量分级标准研究. 植物科学学报, 2020, 38 (3): 378-389
Liu N, Cheng F Y. Variation and yield grading standards of fruit traits in *Paeonia rockii* (S. G. Haw et L. A. Lauener) T. Hong et J. J. Li. Plant Science Journal, 2020, 38 (3): 378-389
- [7] 谢影, 于海洋, 庞忠义, 张明, 张世凯, 赵曦阳. 东北地区6种槭属植物种子表型多样性分析及优良家系选择. 植物科学学报, 2021, 39 (6): 610-619
Xie Y, Yu H Y, Pang Z Y, Zhang M, Zhang S K, Zhao X Y. Phenotypic diversity analysis and superior family selection of seed traits in six *Acer* species in northeast China. Plant Science Journal, 2021, 39 (6): 610-619
- [8] Chung H H, Shi S K, Huang B, Chen J T. Enhanced agronomic traits and medicinal constituents of autotetraploids in *Anoectochilus formosanus* Hayata, a top-grade medicinal orchid. Molecules, 2017, 22 (11): 1907
- [9] Zhang W, Lu B Y, Meng H L, Wei X, Yang Z Q, Yang S C. Phenotypic diversity analysis of the fruit of *Amomum tsao-ko* Crevest et Lemarie, an important medicinal plant in Yunnan, China. Genetic Resources and Crop Evolution, 2019, 66 (5): 1145-1154
- [10] 周新华, 曾平生, 武晓玉, 黄宇涛. 华重楼野生种群表型变异研究. 华南农业大学学报, 2021, 42 (1): 116-124
Zhou X H, Zeng P S, Wu X Y, Huang Y T. Phenotypic variations in wild populations of *Paris polyphylla* var. *chinensis*. Journal of South China Agricultural University, 2021, 42 (1): 116-124
- [11] Zhang D Z, Panhwar R B, Liu J J, Gong X W, Liang J B, Liu M X, Lu P, Gao X L, Feng B L. Morphological diversity and correlation analysis of phenotypes and quality traits of proso millet (*Panicum miliaceum* L.) core collections. Journal of Integrative Agriculture, 2019, 18 (5): 958-969
- [12] Wang Z H, Yang P X, Peng H, Li C, Yue C N, Li W J, Jiang X F. Comprehensive evaluation of 47 tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze] germplasm based on entropy weight method and grey relational degree. Genetic Resources and Crop Evolution, 2021, 68 (8): 3257-3270
- [13] Yan C J, Song S H, Wang W B, Wang C L, Li H B, Wang F, Li

- S Y, Sun X G. Screening diverse soybean genotypes for drought tolerance by membership function value based on multiple traits and drought-tolerant coefficient of yield. *BMC Plant Biology*, 2020, 20 (1): 1-15
- [14] Wu H, Guo J R, Wang C F, Li K L, Zhang X W, Yang Z, Li M T, Wang B S. An effective screening method and a reliable screening trait for salt tolerance of *Brassica napus* at the germination stage. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 530
- [15] 王秀秀,邢爱双,杨茹,何守朴,贾银华,潘兆娥,王立如,杜雄明,宋宪亮. 陆地棉种质资源表型性状的综合评价. *中国农业科学*, 2022, 55 (6): 1082-1094
- Wang X X, Xing A S, Yang R, He S P, Jia Y H, Pan Z E, Wang L R, Du X M, Song X L. Comprehensive evaluation of phenotypic characters of nature population in upland cotton. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55 (6): 1082-1094
- [16] 李洪磊,王晓敏,郑福顺,李国花,刘珮君,胡新华,付金军,高艳明,李建设. 基于主成分和隶属函数分析的不同果色番茄品种引种初步评价. *云南大学学报:自然科学版*, 2021, 43 (2): 402-411
- Li H L, Wang X M, Zheng F S, Li G H, Liu P J, Hu X H, Fu J J, Gao Y M, Li J S. Preliminary evaluation of different fruit color tomato varieties introduction based on principal component and membership function analysis methods. *Journal of Yunnan University: Natural Sciences Edition*, 2021, 43 (2): 402-411
- [17] 钱润,李慧,华中一,袁媛,谢冬梅. 栽培天麻农艺性状的数量分类学研究. *中国中药杂志*, 2020, 45 (13): 3085-3090
- Qian R, Li H, Hua Z Y, Yuan Y, Xie D M. Quantitative taxonomic study on agronomic traits of cultivated *Gastrodia elata*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2020, 45 (13): 3085-3090
- [18] 宋雪彬,高康,黄河,刘芷兰,戴思兰,嵇彧. 中国传统大菊叶片形态的数量化定义与分类. *植物学报*, 2021, 56 (1): 10-24
- Song X B, Gao K, Huang H, Liu Z L, Dai S L, Ji Y. Quantitative definition and classification of leaves in large-flowered Chinese chrysanthemum based on the morphological traits. *Bulletin of Botany*, 2021, 56 (1): 10-24
- [19] Lu C F, Li Y F, Wang J Y, Qu J P, Chen Y, Chen X Y, Huang H, Dai S L. Flower color classification and correlation between color space values with pigments in potted multiflora chrysanthemum. *Scientia Horticulturae*, 2021, 283: 110082
- [20] 王元忠,沈涛,张金渝. 滇重楼及其近缘种的表型变异与资源评价. *热带作物学报*, 2021, 42 (9): 2535-2541
- Wang Y Z, Shen T, Zhang J Y. Phenotypic variation and resource evaluation of *Paris polyphylla* var. *yunnanensis* and its relative species. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42 (9): 2535-2541
- [21] 张金渝,沈涛,杨维泽,张霁,王元忠,赵振玲,张智慧,金航. 云南道地药材滇龙胆资源调查与评价. *植物遗传资源学报*, 2012, 13 (5): 890-895
- Zhang J Y, Shen T, Yang W Z, Zhang J, Wang Y Z, Zhao Z L, Zhang Z H, Jin H. Investigation and evaluation of *Gentiana rigescens* resource in Yunnan province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2012, 13 (5): 890-895
- [22] 沈涛,虞泓,王元忠. 滇龙胆草野生资源的地理分布与生物气候特征. *应用生态学报*, 2019, 30 (7): 2291-2300
- Shen T, Yu H, Wang Y Z. Geographical distribution and bioclimatic characteristics of the wild *Gentiana rigescens* resources. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30 (7): 2291-2300
- [23] 杨维泽,金航,杨美权,赵振玲,张智慧,王元忠,张金渝. 云南滇龙胆居群表型多样性及其与环境关系研究. *西北植物学报*, 2011, 31 (7): 1326-1334
- Yang W Z, Jin H, Yang M Q, Zhao Z L, Zhang Z H, Wang Y Z, Zhang J Y. Phenotypic diversity and environment relations in *Gentiana rigescens* of Yunnan. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, 31 (7): 1326-1334
- [24] 杨雁,邵爱娟,金航,欧小宏,陈美兰,刘大会,黄璐琦. 云贵高原滇龙胆不同居群形态特征变异研究. *中草药*, 2012, 43 (8): 1604-1610
- Yang Y, Shao A J, Jin H, Ou X H, Chen M L, Liu D H, Huang L Q. Variation of botanical morphologic characteristics between wild and cultivated populations of *Gentiana rigescens* in Yunnan-Guizhou Plateau. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2012, 43 (8): 1604-1610
- [25] 杨天梅,杨美权,杨绍兵,许宗亮,杨维泽,张金渝,左应梅. 坚龙胆药材产品质量分级标准研究. *中药材*, 2018, 41 (3): 648-651
- Yang T M, Yang M Q, Yang S B, Xu Z L, Yang W Z, Zhang J Y, Zuo Y M. Study on the quality grading standard of *Gentiana rigescens*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*. 2018, 41 (3): 648-651
- [26] He X J, Augusto L, Goll D S, Ringeval B, Wang Y P, Helfenstein J L, Huang Y Y, Yu K L, Wang Z Q, Yang Y C, Hou E Q. Global patterns and drivers of soil total phosphorus concentration. *Earth System Science Data*, 2021, 13 (12): 5831-5846
- [27] 官彦龙,雷月,闫志强,刘雪薇,张大双,吴健强,朱速松. 不同生态区梗稻资源表型遗传多样性综合评价. *作物杂志*, 2020, 36 (5): 71-79
- Gong Y L, Lei Y, Yan Z Q, Liu X W, Zhang D S, Wu J Q, Zhu S S. Comprehensive evaluation of phenotype genetic diversity in japonica rice germplasm resources in different ecological zones. *Crops*, 2020, 36 (5): 71-79
- [28] 王声跃. 云南地理. 昆明: 云南民族出版社, 2002: 65-82
- Wang S Y. *Yunnan dili*. Kunming: Yunnan Nationalities Publishing House, 2002: 65-82
- [29] 郑度. 中国自然地理总论. 北京: 科学出版社, 2015: 54-83
- Zheng D. *General physical geography of China*. Beijing: Science Press, 2015: 54-83
- [30] 杨雁,金航,王家金,陈美兰,石亚娜,欧小宏,刘大会. 大理苍山不同海拔梯度和土壤对野生滇龙胆生长及其成分的影响. *西南农业学报*, 2014, 27 (4): 1601-1606
- Yang Y, Jin H, Wang J J, Chen M L, Shi Y N, Ou X H, Liu

- D H. Effects of different elevation gradient and soil nutrient on growth and component of wild *Gentiana rigescens* in Yunnan Dali Cangshan mountain. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*. 2014, 27 (4): 1601-1606
- [31] 沈涛, 张金渝, 杨维泽, 杨美权, 赵振玲, 张智慧, 陈秀花, 金航, 王跃华. 滇龙胆主要农艺性状的相关及通径分析. *中国中药杂志*, 2011, 36 (12): 1568-1571
Shen T, Zhang J Y, Yang W Z, Yang M Q, Zhao Z L, Zhang Z H, Chen X H, Jin H, Wang Y H. Correlation and path analysis on agronomic traits of *Gentiana rigescens*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2011, 36 (12): 1568-1571
- [32] 陈嘉静, 余华, 徐朝斌, 钟全林. 种源与同质园环境对刨花楠幼苗叶功能性状的影响. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(3): 648-654
Chen J J, Yu H, Xu C B, Zhong Q L. Effects of provenance and common garden environment on leaf functional traits of *Machilus pauhoi* seedlings. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2019, 25(3): 648-654
- [33] 谭美, 杨志玲, 杨旭, 程小燕. 厚朴野生资源的野外回归植株苗期适应性评价. *林业科学研究*, 2019, 32(1): 125-132
Tan M, Yang Z L, Yang X, Chen X Y. Adaptability evaluation of wild *Houpoëa officinalis* seedling in the process of reintroduction. *Forest Research*, 2019, 32(1): 125-132
- [34] 苑海静, 成向荣, 虞木奎, 汪阳东, 邵建武, 张春祥. 不同种源麻栎生长性状的地理变异. *应用生态学报*, 2021, 32(8): 2791-2799
Yuan H J, Cheng X R, Yu M K, Wang Y D, Tai J W, Zhang C X. Geographical variation of growth traits among different *Quercus acutissima* provenances. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, 32(8): 2791-2799