

云南松材用种质保存库的构建策略及检验

王晓丽^{1,2}, 高成杰¹, 李 昆^{1,①}

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224; 2. 西南林业大学林学院, 云南 昆明 650224)

摘要: 为探讨云南松(*Pinus yunnanensis* Franch.) 材用种质保存库构建的抽样策略并获得代表性子集, 在其全分布区内选择 26 个代表性种群, 每个种群选择 30 株样株组成原种质集, 并选取 18 个表型性状测定值作为种质保存库的源数据。在此基础上, 以地理种群分组, 根据不加权类平均聚类分析结果进行取样; 设定抽样比例分别为 10%、20%、30% 和 40%, 采用多样性指数法和改进的最小距离逐步取样法构建种质子集, 并采用 5 个评价参数和主成分分析对不同抽样比例种质子集进行综合评价和确认。结果表明: 各种质子集与原种质集 18 个表型性状的均值 t 检验均无显著差异; 而 40%、30%、20% 和 10% 抽样比例种质子集分别有 11、14、15 和 12 个表型性状的方差总体上大于原种质集且差异显著, 说明各种质子集表型性状的取值分散程度总体上大于原种质集。通过 χ^2 检验, 40%、30% 和 20% 抽样比例种质子集与原种质集 18 个表型性状的频率分布均无显著差异, 而 10% 抽样比例种质子集仅有 2 个表型性状的频率分布与原种质集分别存在极显著和显著差异。在原种质集和 4 个种质子集中, 不同等级样株的分布频率基本相同, 但随抽样比例降低, 1 级、9 级和 10 级的样株比例逐渐增大, 说明在构建种质保存库时, 应适当增加极端样株的比例。4 个种质子集各表型性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数 (H') 普遍高于原种质集, 且随抽样比例下降 H' 值总体增大; 其中, 20% 抽样比例种质子集与原种质集表型性状的 H' 均值存在极显著差异, 30% 和 10% 抽样比例种质子集与原种质集表型性状的 H' 均值存在显著差异。综合评价结果表明: 10%、20%、30% 和 40% 抽样比例种质子集均可代表原种质集, 其中, 20% 抽样比例种质子集可客观地代表原种质集的表型遗传多样性, 且该种质子集的 5 个评价参数值综合效应优于其他种质子集。主成分分析结果表明: 按照 20% 抽样比例构建的种质保存库能够解释的表型遗传信息量大于原种质集, 且既保留了大量分布外缘的样株, 又减少了中心区域大量重叠的样株, 据此确认 20% 抽样比例种质保存库可以作为云南松材用种质的代表性子集。

关键词: 云南松; 材用种质保存库; 表型性状; 抽样策略; 表型遗传多样性

中图分类号: S722.8; S791.257 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2019)01-0105-10

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2019.01.13

Construction strategy and verification of timber-used germplasm conservation bank of *Pinus yunnanensis* WANG Xiaoli^{1,2}, GAO Chengjie¹, LI Kun^{1,①} (1. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, China; 2. College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2019, 28(1): 105-114

Abstract: To investigate sampling strategy for construction of timber-used germplasm conservation bank of *Pinus yunnanensis* Franch. and acquire representative subsets, 26 representative populations were selected from its whole distribution area, and 30 sampling plants were selected from each population as an original germplasm set, meanwhile measured values of 18 phenotypic traits were selected as original data of germplasm conservation bank. On the basis, sampling was conducted according to the result of unweighted average cluster analysis by dividing groups of geographic population; setting sampling percentages of 10%, 20%, 30%, and 40%, respectively, germplasm subsets were constructed by using diversity index method and improved least distance stepwise sampling method, and 5 evaluation

收稿日期: 2018-05-14

基金项目: 中国林业科学研究院基本科研业务费专项(CAFYBB2017SY030)

作者简介: 王晓丽(1976—), 女, 河北邯郸人, 博士研究生, 副教授, 主要从事森林培育方面的教学与研究工作。

①通信作者 E-mail: cafikun@163.com

parameters and principal component analysis were employed to make comprehensive evaluation and confirmation of germplasm subsets with different sampling percentages. The results show that there is no significant difference in mean t -test of 18 phenotypic traits between each germplasm subset and original germplasm set; variances of 11, 14, 15, and 12 phenotypic traits in germplasm subsets with 40%, 30%, 20%, and 10% sampling percentages are generally greater than those in original germplasm set, and the differences are significant, indicating that scatter degree of phenotypic trait values in each germplasm subset is generally greater than that in original germplasm set. According to χ^2 -test, there is no significant difference in frequency distribution of 18 phenotypic traits between germplasm subsets with 40%, 30%, and 20% sampling percentages and original germplasm set, while there are extremely significant and significant differences in frequency distribution of 2 phenotypic traits between germplasm subset with 10% sampling percentage and original germplasm set. Among original germplasm set and 4 germplasm subsets, distribution frequencies of sampling plants in different classes are basically identical, but percentage of sampling plants in class 1, class 9, and class 10 gradually increases with the decrease of sampling percentage, indicating that percentage of extreme sampling plants should be increased appropriately when constructing germplasm conservation bank. Shannon-Weaver genetic diversity index (H') of each phenotypic trait in 4 germplasm subsets is generally higher than that in original germplasm set, and H' value increases in general with the decrease of sampling percentage; in which, there is an extremely significant difference in mean H' value of phenotypic traits between germplasm subset with 20% sampling percentage and original germplasm set, and significant differences in mean H' values of phenotypic traits between germplasm subsets with 30% and 10% sampling percentages and original germplasm set. The comprehensive evaluation results show that germplasm subsets with 10%, 20%, 30%, and 40% sampling percentages can represent original germplasm set, in which, germplasm subset with 20% sampling percentage can objectively represent the phenotypic genetic diversity of original germplasm set, and comprehensive effect of 5 evaluation parameters of this germplasm subset are better than that of other germplasm subsets. The principal component analysis result shows that germplasm conservation bank constructed with 20% sampling percentage can explain more phenotypic genetic information than original germplasm set, which reserves a lot of sampling plants distributed at the outer margin and reduces a lot of overlapping sampling plants in the center area, confirming accordingly that germplasm conservation bank constructed with 20% sampling percentage can be used as representative subset of timber-used germplasm of *P. yunnanensis*.

Key words: *Pinus yunnanensis* Franch.; timber-used germplasm conservation bank; phenotypic trait; sampling strategy; phenotypic genetic diversity

植物种质资源在育种、培育及其他相关研究领域均具有重要作用,对种质资源的广泛收集和频繁交换,使得种质资源不仅数量庞大,而且遗传多样性高度重复,给种质资源的收集、保存、评价和利用带来很大困扰^[1]。核心种质是种质资源中最具代表性的样本,在种质资源收集、评价和利用时享有优先权^[2-3]。核心种质构建的主要内容是寻找有效方法,在不同植物核心种质的适宜取样策略和核心种质评价方面进行分析和探讨^[2-4]。^[5]³⁻²⁰。^[6-10]。研究表明:用分组方法构建的核心种质对整个种质资源的代表性优于随机方法^[6];在进行组内取样时采用系统取样法构建的核心种质明显优于完全随机取样法,且系统取样法中的多样性指数法更为可靠^[2];改进的最小距离逐步取样法比随机删除法更具针对性和可靠性^[5]³⁶⁻⁴⁵。^[10];从抽样比例看,不同植物核心种质的抽

样比例一般为原群体的 5%~30%^[2]。

表型性状是基因和环境互作的直观结果,且数据可在短时间内获得。基因型值虽能反映不同样本间的本质差异,但需通过田间试验获得^[10],而林木生长周期长的特性导致基因型值难以获得,因而,目前尚未见采用基因型值构建林木核心种质。国内外依据表型性状值构建植物核心种质的研究主要集中在一年生的草本植物和农作物,如小豆〔*Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et Ohashi〕^[11]、小麦〔*Triticum aestivum* Linn.〕^[12]、扁豆〔*Lablab purpureus* (Linn.) Sweet〕^[13]和花生〔*Arachis hypogaea* Linn.〕^[14]等;对木本植物的相关研究较少且主要集中在利用价值较高的经济林木,如木豆〔*Cajanus cajan* (Linn.) Millisp.〕^[4,15]、蜡梅〔*Chimonanthus praecox* (Linn.) Link〕^[6]、油桐〔*Vernicia fordii* (Hemsl.) Airy Shaw〕^[9]和野杏

[*Armeniaca vulgaris* var. *ansu* (Maxim.) Yü et Lu]^[16]等;对材用林木的此类研究则更少,只针对少数林木在种质资源保存的基础上构建了核心种质,如白桦(*Betula platyphylla* Suk.)^[7-8]、灰楸(*Catalpa fargesii* Bur.)^[17]和尾叶桉(*Eucalyptus urophylla* S. T. Blake)^[18]等。

云南松(*Pinus yunnanensis* Franch.)为中国西南地区特有的材用树种,除人工林外,该区域还保存有大面积的天然林。目前,云南松林分衰退问题日益突出,林分中低矮、弯曲、扭曲等不良个体的比例偏高^[19]¹⁻¹³,因此,如何更有效地保存云南松优良种质资源,是当前云南松天然林保护和人工林发展过程中亟待解决的问题。目前,国家林业和草原局还没有组织建立云南松国家级林木种质保存库^[20],只是依托生产性育种工作,云南省林业厅组织建立了云南松一代无性系种子园^[21]。对于暂时没有建立种质保存库的云南松来说,借鉴植物核心种质构建的方法和抽样策略,探讨云南松材用种质资源保存的抽样策略,有利于其优良种质资源的保存和利用。

作者以云南松种源区划^[19]²⁴⁴⁻²⁴⁸为基础,结合云南松的地理分布状况,在云南松全分布区内选取具有材用代表性的地理种群26个,每个种群选取干形通直圆满的样株30株,参考刘宁宁^[5]³⁶⁻⁴⁵和赵冰等^[6]的种质资源保存和核心种质构建方法,通过不同抽样比例的比较,筛选出适合云南松材用种质保存库的构建方法和抽样策略,并获得其代表性种质,以期为云南松优良材用种质资源的保护和利用奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

以云南松种源区划为主,结合云南松的地理分布状况,在云南松全分布区内选取具有材用代表性的地理种群26个,其中,南部种源区9个(包括西部亚区3个、东部亚区6个),西北部种源区3个,中部种源区13个(包括中部亚区10个、滇东北亚区3个),西藏种源区1个。各种群的地理信息见表1。

在每个种群中选取株龄25~30 a、生长正常且干形通直圆满的样株30株,样株间距在5倍树高以上^[22-23];26个种群共计780株样株,据此组成原种质集。分别测定各样株的枝下高、长冠径和短冠径;从各样株树冠中部生长健壮的枝条上分别采集2年生

针叶20束以及当年成熟球果10个,带回实验室,用于针叶和球果表型性状测量;然后采用自然干燥法进行种实调制,使球果鳞片开裂并脱出种子,测量种子的表型性状。

1.2 方法

1.2.1 表型性状测定及数据标准化处理 参照文献^[22,24-26]的指标和方法测定各样株针叶、球果以及植株形态的18个表型性状。

每样株选10束针叶,用直尺(精度1 mm)测量针叶长和叶鞘(包裹在针叶束基部的鞘状物)长,用游标卡尺(精度0.02 mm)测量针叶宽和针叶束宽,结果取平均值,并计算针叶长/针叶宽、针叶长/叶鞘长和针叶束宽/针叶宽3个比值。

每样株选10个球果,用游标卡尺测量球果长、球果宽、种翅长和种翅宽,用FA1004B电子天平(精度0.1 mg)称量球果质量和1 000粒种子的质量(千粒质量),结果取平均值,并计算球果长/球果宽和种翅长/种翅宽2个比值。

采用每木调查法,用皮尺(精度1 mm)测量各样株的枝下高、长冠径和短冠径。

参考徐宁等^[11]和刘德浩等^[18]关于表型性状标准化的方法,对各表型性状值按标准差进行数据标准化处理,并根据表型性状平均值(\bar{X})和标准差(SD)进行分级,共分为10级:1级 $\leq \bar{X} - 2SD$,10级 $> \bar{X} + 2SD$,中间每级差0.5SD。

1.2.2 种质保存库的构建方法 按照先用某一原则对所有材料进行分类,并分为互不重叠的小组,再从各小组中抽取样株组成种质保存库的原则,参考赵冰等^[6]和徐宁等^[11]的方法对核心种质进行分组,26个地理种群组成原种质集,每个种群为1个小组,共26个小组。以小组为单位,使用NTSYSpc 2.10s软件,采用不加权类平均法基于18个表型性状标准化数据进行聚类分析,样株间遗传距离采用欧氏距离,完成聚类分析后进行取样。

由于总体抽样比例会影响种质保存库的规模和代表性,因此,取样时首先确定原种质集的总体抽样比例,设定抽样比例分别为10%、20%、30%和40%,并筛选适合的抽样比例。采用多样性指数法^[6]确定各组内的取样量并进行系统取样;参考徐海明^[10]的抽样策略,采用改进的最小距离逐步取样法筛选进入种质保存库的样株,构建种质子集。

1.2.3 种质保存库的检测和评价方法 为了比较具

表 1 云南松材用种质资源种源区及采样点的地理信息

Table 1 Geographical information of provenance region and sampling plot of timber-used germplasm resource of *Pinus yunnanensis* Franch.

种源区和采样点 Provenance region and sampling plot	纬度 Latitude	经度 Longitude	海拔/m Altitude
南部种源区 Southern provenance region			
云南龙陵 Longling of Yunnan	N24°25'30"	E98°57'14"	1 367.4
云南双江 Shuangjiang of Yunnan	N23°25'13"	E99°44'31"	1 244.8
云南双江 Shuangjiang of Yunnan	N23°22'40"	E99°46'48"	1 047.2
云南马关 Maguan of Yunnan	N23°02'09"	E104°24'14"	1 445.6
云南元江 Yuanjiang of Yunnan	N23°45'51"	E102°01'56"	1 564.7
云南富宁 Funing of Yunnan	N23°25'30"	E105°21'15"	1 315.7
广西乐业 Leye of Guangxi	N24°51'33"	E106°19'26"	1 018.4
广西乐业 Leye of Guangxi	N24°53'02"	E106°17'57"	852.1
广西隆林 Longlin of Guangxi	N24°41'59"	E104°53'56"	1 123.7
西北部种源区 Northwestern provenance region			
云南香格里拉 Shangri-La of Yunnan	N26°59'52"	E99°59'23"	2 178.0
云南福贡 Fugong of Yunnan	N26°33'18"	E98°56'19"	2 397.0
云南丽江 Lijiang of Yunnan	N27°17'40"	E100°22'06"	2 867.8
中部种源区 Central provenance region			
云南新平 Xinning of Yunnan	N24°02'10"	E101°46'40"	2 179.0
云南曲靖 Qujing of Yunnan	N25°21'32"	E103°49'24"	2 121.6
云南双柏 Shuangbai of Yunnan	N24°32'59"	E101°38'58"	1 785.7
云南永仁 Yongren of Yunnan	N26°10'30"	E101°31'30"	1 615.0
云南云龙 Yunlong of Yunnan	N26°02'02"	E99°16'05"	2 452.5
云南禄丰 Lufeng of Yunnan	N25°14'20"	E101°53'20"	2 017.5
四川米易 Miyi of Sichuan	N26°59'40"	E102°00'19"	1 905.9
四川西昌 Xichang of Sichuan	N27°53'40"	E102°06'18"	2 109.1
贵州兴义 Xingyi of Guizhou	N25°04'13"	E104°59'14"	1 206.5
贵州册亨 Ceheng of Guizhou	N24°50'46"	E105°55'48"	792.4
贵州大方 Dafang of Guizhou	N26°57'32"	E105°45'56"	1 248.0
贵州水城 Shuicheng of Guizhou	N26°14'00"	E104°46'23"	1 634.4
云南镇雄 Zhenxiong of Yunnan	N27°22'29"	E104°53'28"	1 696.5
西藏种源区 Tibet provenance region			
西藏察隅 Chayu of Tibet	N28°37'16"	E97°19'12"	2 071.0

有不同抽样比例的各种质子集对原种质集的代表性,明确云南松材用种质保存库的抽样比例,并构建其种质保存库,参照文献[1, 16, 18]的方法和参数,对核心种质的代表性进行检测。首先,对原种质集与不同抽样比例种质子集的各表型性状进行均值 t 检验、方差 F 检验、频率分布 χ^2 检验和 Shannon-Weaver 遗传多样性指数 (H') 分析,以检测原种质集与不同抽样比例种质子集均值的差异性、变异的同质性、表型频率分布的一致性以及表型遗传多样性的差异性;同时,结合种质子集的表型性状保留比例、均值差异百分率、变异系数变化率、极差符合率和方差差异百分率 5 个评价参数,对不同抽样比例种质子集的代表性进行全面评价,筛选出适宜抽样比例的种质子集。上述参数的检验和计算均采用 SPSS 17.0 和 EXCEL 2007 软件完成。

1.2.4 种质保存库的确认方法 采用 SAS 8.1 软件,参考刘娟等^[16]的核心种质确认方法,通过主成分分析,比较原种质集与所选种质子集的各主成分特征值和累计贡献率,并基于主成分分析结果绘制各自的样株分布散点图,通过遗传多样性和样株间的聚类关系评价种质子集的代表性和实用性,对种质保存库进行确认。

2 结果和分析

2.1 原种质集与种质子集表型性状的均值 t 检验和方差 F 检验

云南松材用种质的原种质集与不同抽样比例种质子集 18 个表型性状的均值 t 检验和方差 F 检验结果见表 2。

表 2 云南松材用种质的原种质集与不同抽样比例种质子集 18 个表型性状的均值 *t* 检验和方差 *F* 检验结果
Table 2 Results of mean *t*-test and variance *F*-test of 18 phenotypic traits between original germplasm set and germplasm subsets with different sampling percentages of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch.

表型性状 ¹⁾ Phenotypic trait ¹⁾	原种质集 Original germplasm set		40%抽样比例种质子集 Germplasm subset with 40% sampling percentage				30%抽样比例种质子集 Germplasm subset with 30% sampling percentage			
	$\bar{X}\pm SD$	方差 Variance	$\bar{X}\pm SD$	<i>t</i> 检验 ²⁾ <i>t</i> -test ²⁾	方差 Variance	<i>F</i> 检验 ²⁾ <i>F</i> -test ²⁾	$\bar{X}\pm SD$	<i>t</i> 检验 ²⁾ <i>t</i> -test ²⁾	方差 Variance	<i>F</i> 检验 ²⁾ <i>F</i> -test ²⁾
L _N /cm	23.76±3.35	11.25	23.76±3.65	NS	13.35	NS	23.91±3.87	NS	15.00	*
W _N /mm	0.65±0.11	0.01	0.65±0.13	NS	0.02	*	0.66±0.14	NS	0.02	*
L _S /cm	18.34±3.65	13.29	18.48±3.90	NS	15.20	NS	18.40±4.09	NS	16.73	*
W _{NF} /mm	1.42±0.24	0.06	1.43±0.28	NS	0.08	*	1.43±0.29	NS	0.08	*
L _N /W _N	376.17±68.98	4 758.08	378.59±77.36	NS	5 984.08	*	379.39±79.96	NS	6 393.24	*
L _N /L _S	13.48±2.60	6.76	13.45±2.85	NS	8.10	*	13.63±2.94	NS	8.62	*
W _{NF} /W _N	2.20±0.23	0.05	2.22±0.27	NS	0.08	*	2.21±0.28	NS	0.08	NS
m _C /g	41.04±14.08	198.11	41.21±15.40	NS	237.09	NS	41.04±16.28	NS	264.96	*
L _C /mm	68.65±9.97	99.36	68.64±10.80	NS	116.68	NS	68.48±11.31	NS	127.98	*
W _C /mm	38.07±4.45	19.77	38.09±4.89	NS	23.91	NS	38.01±5.17	NS	26.75	*
L _C /W _C	1.81±0.18	0.03	1.80±0.19	NS	0.04	*	1.80±0.19	NS	0.04	NS
L _{SW} /cm	2.16±0.28	0.08	2.19±0.30	NS	0.09	*	2.18±0.32	NS	0.10	*
W _{SW} /cm	0.66±0.07	0.01	0.66±0.08	NS	0.01	*	0.65±0.09	NS	0.01	*
L _{SW} /W _{SW}	3.34±0.37	0.14	3.38±0.42	NS	0.18	*	3.39±0.45	NS	0.21	*
m _{TS} /g	16.30±3.60	12.96	16.13±3.65	NS	13.35	NS	16.10±3.73	NS	13.95	NS
H _{UB} /m	4.74±2.15	4.63	4.74±2.33	NS	5.45	NS	4.64±2.32	NS	5.39	NS
D _{LC} /m	5.23±1.55	2.40	5.33±1.76	NS	3.11	*	5.29±1.78	NS	3.17	*
D _{SC} /m	4.77±1.36	1.85	4.98±1.58	NS	2.50	*	4.98±1.59	NS	2.54	*

表型性状 ¹⁾ Phenotypic trait ¹⁾	20%抽样比例种质子集 Germplasm subset with 20% sampling percentage				10%抽样比例种质子集 Germplasm subset with 10% sampling percentage			
	$\bar{X}\pm SD$	<i>t</i> 检验 ²⁾ <i>t</i> -test ²⁾	方差 Variance	<i>F</i> 检验 ²⁾ <i>F</i> -test ²⁾	$\bar{X}\pm SD$	<i>t</i> 检验 ²⁾ <i>t</i> -test ²⁾	方差 Variance	<i>F</i> 检验 ²⁾ <i>F</i> -test ²⁾
L _N /cm	23.88±4.10	NS	16.79	*	23.76±3.72	NS	13.83	NS
W _N /mm	0.66±0.14	NS	0.02	*	0.66±0.15	NS	0.02	*
L _S /cm	18.43±4.26	NS	18.11	*	18.86±4.10	NS	16.78	NS
W _{NF} /mm	1.44±0.30	NS	0.09	*	1.45±0.31	NS	0.10	*
L _N /W _N	380.83±85.49	NS	7 307.75	*	382.19±89.70	NS	8 045.65	*
L _N /L _S	13.60±2.91	NS	8.45	*	13.21±2.75	NS	7.57	NS
W _{NF} /W _N	2.23±0.29	NS	0.08	NS	2.26±0.35	NS	0.12	*
m _C /g	41.24±15.99	NS	255.77	*	40.64±17.19	NS	295.53	*
L _C /mm	68.84±11.63	NS	135.15	*	68.32±13.28	NS	176.34	*
W _C /mm	38.06±5.20	NS	27.07	*	37.64±5.47	NS	29.96	*
L _C /W _C	1.81±0.20	NS	0.04	*	1.81±0.20	NS	0.04	NS
L _{SW} /cm	2.19±0.31	NS	0.10	*	2.17±0.36	NS	0.13	*
W _{SW} /cm	0.66±0.09	NS	0.01	*	0.66±0.11	NS	0.01	*
L _{SW} /W _{SW}	3.40±0.47	NS	0.22	*	3.37±0.50	NS	0.25	*
m _{TS} /g	16.17±3.91	NS	15.26	NS	16.52±3.85	NS	14.83	NS
H _{UB} /m	4.48±2.22	NS	4.92	NS	4.43±2.13	NS	4.52	NS
D _{LC} /m	5.41±1.83	NS	3.36	*	5.44±2.04	NS	4.16	*
D _{SC} /m	5.07±1.67	NS	2.80	*	5.04±1.80	NS	3.24	*

¹⁾ L_N: 针叶长 Needle length; W_N: 针叶宽 Needle width; L_S: 叶鞘长 Sheath length; W_{NF}: 针叶束宽 Needle fascicle width; L_N/W_N: 针叶长/针叶宽 Needle length/needle width; L_N/L_S: 针叶长/叶鞘长 Needle length/sheath length; W_{NF}/W_N: 针叶束宽/针叶宽 Needle fascicle width/needle width; m_C: 球果质量 Cone mass; L_C: 球果长 Cone length; W_C: 球果宽 Cone width; L_C/W_C: 球果长/球果宽 Cone length/cone width; L_{SW}: 种翅长 Seed wing length; W_{SW}: 种翅宽 Seed wing width; L_{SW}/W_{SW}: 种翅长/种翅宽 Seed wing length/seed wing width; m_{TS}: 千粒质量 1 000-grain mass; H_{UB}: 枝下高 Under branch height; D_{LC}: 长冠径 Long crown diameter; D_{SC}: 短冠径 Short crown diameter.

²⁾ NS: 原种质集与不同种质子集的各表型性状指标无显著差异 There is no significant difference in each phenotypic trait index between original germplasm set and different germplasm subsets; *: 原种质集与不同种质子集的各表型性状指标在 0.05 水平上存在显著差异 There is significant difference in each phenotypic trait index between original germplasm set and different germplasm subsets at 0.05 level.

由表 2 可见:4 个种质子集与原种质集 18 个表型性状的均值 t 检验均无显著差异,说明各种质子集与原种质集的表型性状均值无差异,因此,从均值 t 检验结果看,4 个种质子集皆可代表原种质集。方差 F 检验中,40% 抽样比例种质子集有 11 个表型性状与原种质集存在显著差异,且这 11 个表型性状的方差总体上均大于原种质集,说明该种质子集样株的这 11 个表型性状的取值分散程度总体上大于原种质集,即该种质子集这 11 个表型性状的变异更大;类似的,30%、20% 和 10% 抽样比例种质子集分别有 14、15 和 12 个表型性状与原种质集存在显著差异,且各种质子集这些表型性状的方差总体上均大于原种质

集。结合均值 t 检验和方差 F 检验结果认为 4 个种质子集均能够代表原种质集。

2.2 原种质集与种质子集表型性状频率分布的 χ^2 检验

云南松材用种质的原种质集与不同抽样比例种质子集 18 个表型性状频率分布的 χ^2 检验结果见表 3。原种质集与 4 个种质子集的样株在不同等级的分布频率见表 4。

由表 3 可见:通过 χ^2 检验,40%、30% 和 20% 抽样比例种质子集与原种质集 18 个表型性状的频率分布均无显著差异,说明这 3 个种质子集表型性状的频率分布与原种质集一致;10% 抽样比例种质子集的种翅

表 3 云南松材用种质的原种质集与不同抽样比例种质子集 18 个表型性状频率分布的 χ^2 检验结果

Table 3 Result of χ^2 -test of frequency distribution of 18 phenotypic traits between original germplasm set and germplasm subsets with different sampling percentages of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch.

表型性状 ¹⁾ Phenotypic trait ¹⁾	种质集 ²⁾ Germplasm set ²⁾	χ^2 检验 ³⁾ χ^2 -test ³⁾	表型性状 ¹⁾ Phenotypic trait ¹⁾	种质集 ²⁾ Germplasm set ²⁾	χ^2 检验 ³⁾ χ^2 -test ³⁾	表型性状 ¹⁾ Phenotypic trait ¹⁾	种质集 ²⁾ Germplasm set ²⁾	χ^2 检验 ³⁾ χ^2 -test ³⁾
L_N	OGS-GS ₄₀	1.928	W_{NF}/W_N	OGS-GS ₄₀	2.197	W_{SW}	OGS-GS ₄₀	2.393
	OGS-GS ₃₀	3.209		OGS-GS ₃₀	3.726		OGS-GS ₃₀	4.770
	OGS-GS ₂₀	6.134		OGS-GS ₂₀	3.958		OGS-GS ₂₀	7.661
	OGS-GS ₁₀	6.658		OGS-GS ₁₀	7.747		OGS-GS ₁₀	25.038**
W_N	OGS-GS ₄₀	2.297	m_C	OGS-GS ₄₀	1.459	L_{SW}/W_{SW}	OGS-GS ₄₀	3.190
	OGS-GS ₃₀	4.622		OGS-GS ₃₀	2.950		OGS-GS ₃₀	5.789
	OGS-GS ₂₀	6.086		OGS-GS ₂₀	3.780		OGS-GS ₂₀	8.010
	OGS-GS ₁₀	8.691		OGS-GS ₁₀	14.650		OGS-GS ₁₀	8.232
L_S	OGS-GS ₄₀	1.271	L_C	OGS-GS ₄₀	1.120	m_{TS}	OGS-GS ₄₀	1.096
	OGS-GS ₃₀	2.687		OGS-GS ₃₀	2.419		OGS-GS ₃₀	2.057
	OGS-GS ₂₀	5.474		OGS-GS ₂₀	3.970		OGS-GS ₂₀	2.044
	OGS-GS ₁₀	9.187		OGS-GS ₁₀	14.203		OGS-GS ₁₀	1.712
W_{NF}	OGS-GS ₄₀	2.668	W_C	OGS-GS ₄₀	1.970	H_{UB}	OGS-GS ₄₀	2.065
	OGS-GS ₃₀	3.916		OGS-GS ₃₀	4.651		OGS-GS ₃₀	2.436
	OGS-GS ₂₀	5.201		OGS-GS ₂₀	3.808		OGS-GS ₂₀	3.494
	OGS-GS ₁₀	9.242		OGS-GS ₁₀	7.720		OGS-GS ₁₀	4.729
L_N/W_N	OGS-GS ₄₀	1.535	L_C/W_C	OGS-GS ₄₀	2.471	D_{LC}	OGS-GS ₄₀	3.298
	OGS-GS ₃₀	3.773		OGS-GS ₃₀	1.975		OGS-GS ₃₀	4.638
	OGS-GS ₂₀	5.100		OGS-GS ₂₀	4.929		OGS-GS ₂₀	5.738
	OGS-GS ₁₀	12.186		OGS-GS ₁₀	8.443		OGS-GS ₁₀	9.830
L_N/L_S	OGS-GS ₄₀	1.152	L_{SW}	OGS-GS ₄₀	2.060	D_{SC}	OGS-GS ₄₀	4.997
	OGS-GS ₃₀	1.609		OGS-GS ₃₀	4.828		OGS-GS ₃₀	5.675
	OGS-GS ₂₀	3.547		OGS-GS ₂₀	4.586		OGS-GS ₂₀	8.617
	OGS-GS ₁₀	6.779		OGS-GS ₁₀	10.264		OGS-GS ₁₀	19.591*

¹⁾ L_N : 针叶长 Needle length; W_N : 针叶宽 Needle width; L_S : 叶鞘长 Sheath length; W_{NF} : 针叶束宽 Needle fascicle width; L_N/W_N : 针叶长/针叶宽 Needle length/needle width; L_N/L_S : 针叶长/叶鞘长 Needle length/sheath length; W_{NF}/W_N : 针叶束宽/针叶宽 Needle fascicle width/needle width; m_C : 球果质量 Cone mass; L_C : 球果长 Cone length; W_C : 球果宽 Cone width; L_C/W_C : 球果长/球果宽 Cone length/cone width; L_{SW} : 种翅长 Seed wing length; W_{SW} : 种翅宽 Seed wing width; L_{SW}/W_{SW} : 种翅长/种翅宽 Seed wing length/seed wing width; m_{TS} : 千粒质量 1 000-grain mass; H_{UB} : 枝下高 Under branch height; D_{LC} : 长冠径 Long crown diameter; D_{SC} : 短冠径 Short crown diameter.

²⁾ OGS: 原种质集 Original germplasm set; GS₄₀, GS₃₀, GS₂₀, GS₁₀: 分别为 40%、30%、20% 和 10% 抽样比例的种质子集 Germplasm subsets with 40%, 30%, 20% and 10% sampling percentages, respectively.

³⁾ *: 原种质集与不同种质子集的各表型性状指标在 0.05 水平上存在显著差异 There is significant difference in each phenotypic trait index between original germplasm set and different germplasm subsets at 0.05 level; **: 原种质集与不同种质子集的各表型性状指标在 0.01 水平上存在显著差异 There is significant difference in each phenotypic trait index between original germplasm set and different germplasm subsets at 0.01 level.

表 4 云南松材用种质的原种质集和不同抽样比例种质子集的样株在 10 个标准化等级的分布频率

Table 4 Distribution frequency of sampling plants of original germplasm set and germplasm subsets with different sampling percentages of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch. in 10 standardized classes

种质集 ¹⁾ Germplasm set ¹⁾	在不同等级的分布频率/% Distribution frequency in different classes									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
OGS	1.5	4.1	9.4	16.5	22.1	19.1	12.9	7.5	3.8	3.0
GS ₄₀	2.2	4.8	10.4	16.1	19.5	17.5	12.3	7.8	5.0	4.8
GS ₃₀	2.5	5.1	11.1	15.2	19.3	16.6	11.7	7.9	5.4	5.3
GS ₂₀	3.0	4.8	11.0	14.9	18.8	16.2	11.4	8.3	5.7	5.9
GS ₁₀	3.5	5.0	11.7	15.5	18.3	14.3	10.3	7.5	6.7	7.1

¹⁾ OGS: 原种质集 Original germplasm set; GS₄₀, GS₃₀, GS₂₀, GS₁₀: 分别为 40%、30%、20% 和 10% 抽样比例的种质子集 Germplasm subsets with 40%, 30%, 20% and 10% sampling percentages, respectively.

宽和短冠径 2 个表型性状的频率分布与原种质集分别存在极显著和显著差异, 说明 10% 抽样比例种质子集的种翅宽和短冠径 2 个表型性状的频率分布与原种质集不一致。

由表 4 可见: 在原种质集和 4 个种质子集中, 不同等级样株的分布频率基本相同, 但随抽样比例降低, 位于两端等级(1 级、9 级和 10 级)的样株比例逐渐增大, 说明在构建种质保存库时, 应该适当增加极

端样株的比例, 减少中间等级样株的比例, 从而减少冗余。综合比较认为 40%、30% 和 20% 抽样比例的种质子集均可有效代表原种质集。

2.3 原种质集与种质子集表型性状的遗传多样性比较

云南松材用种质的原种质集与不同抽样比例种质子集 18 个表型性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数(H')见表 5。

表 5 云南松材用种质的原种质集和不同抽样比例种质子集 18 个表型性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数

Table 5 Shannon-Weaver genetic diversity index of 18 phenotypic traits of original germplasm set and germplasm subsets with different sampling percentages of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch.

表型性状 Phenotypic trait	各种质集的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数 ¹⁾ Shannon-Weaver genetic diversity index of each germplasm set ¹⁾				
	OGS	GS ₄₀	GS ₃₀	GS ₂₀	GS ₁₀
针叶长 Needle length	2.081	2.133	2.173	2.180	2.071
针叶宽 Needle width	2.051	2.136	2.184	2.191	2.231
叶鞘长 Sheath length	2.094	2.145	2.180	2.198	2.113
针叶束宽 Needle fascicle width	2.046	2.151	2.175	2.199	2.208
针叶长/针叶宽 Needle length/needle width	2.047	2.109	2.116	2.129	2.082
针叶长/叶鞘长 Needle length/sheath length	2.008	2.064	2.087	2.099	2.119
针叶束宽/针叶宽 Needle fascicle width/needle width	1.886	1.952	1.925	1.943	1.963
球果质量 Cone mass	2.068	2.107	2.153	2.172	2.181
球果长 Cone length	2.054	2.123	2.156	2.152	2.218
球果宽 Cone width	2.049	2.126	2.144	2.156	2.209
球果长/球果宽 Cone length/cone width	2.080	2.149	2.137	2.177	2.104
种翅长 Seed wing length	2.056	2.140	2.143	2.141	2.221
种翅宽 Seed wing width	2.024	2.122	2.127	2.117	2.125
种翅长/种翅宽 Seed wing length/seed wing width	2.042	2.097	2.128	2.144	2.089
千粒质量 1 000-grain mass	2.084	2.082	2.072	2.104	2.138
枝下高 Under branch height	1.910	1.977	1.972	1.901	1.776
长冠径 Long crown diameter	1.983	2.056	2.061	2.089	2.093
短冠径 Short crown diameter	2.048	2.132	2.147	2.176	2.136
均值 ²⁾ Mean ²⁾	2.034Bb	2.100ABab	2.116ABa	2.126Aa	2.115ABa

¹⁾ OGS: 原种质集 Original germplasm set; GS₄₀, GS₃₀, GS₂₀, GS₁₀: 分别为 40%、30%、20% 和 10% 抽样比例的种质子集 Germplasm subsets with 40%, 30%, 20% and 10% sampling percentages, respectively.

²⁾ 不同的大写和小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上差异显著 Different capitals and lowercases indicate the significant difference at 0.01 and 0.05 levels, respectively.

由表5可见,4个种质子集各表型性状的 H' 值普遍高于原种质集,且随着抽样比例下降 H' 值总体增大;但当抽样比例降至10%时,针叶长、叶鞘长、针叶长/针叶宽、球果长/球果宽、种翅长/种翅宽、枝下高和短冠径7个表型性状的 H' 值则下降,其中,针叶长和枝下高的 H' 值甚至低于原种质集。说明按照一定的抽样比例(40%、30%和20%)构建种质子集有利于云南松材用种质资源遗传多样性指数的提高,降低遗传冗余。

多重比较结果表明:30%和10%抽样比例种质子

集与原种质集表型性状的 H' 均值存在显著差异,20%抽样比例种质子集与原种质集表型性状的 H' 均值存在极显著差异,即20%抽样比例种质子集表型性状的 H' 均值极显著大于原种质集。据此可认为,20%抽样比例种质子集可较为客观地反映云南松材用种质原种质集表型性状的遗传多样性。

2.4 各种质子集5个评价参数的比较

云南松材用种质的不同抽样比例种质子集的表型性状保留比例、均值差异百分率、变异系数变化率、极差符合率和方差差异百分率见表6。

表6 云南松材用种质的不同抽样比例种质子集5个评价参数的比较

Table 6 Comparison on 5 evaluation parameters of germplasm subsets with different sampling percentages of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch.

种质子集 ¹⁾ Germplasm subset ¹⁾	样株数 Number of sampling plant	表型性状保留比例/% Retention percentage of phenotypic trait	均值差异百分率/% Percentage of mean difference	变异系数变化率/% Change rate of variation coefficient	极差符合率/% Coincidence rate of range	方差差异百分率/% Percentage of variance difference
GS ₄₀	312	100.000	6.082	110.308	94.142	61.111
GS ₃₀	232	100.000	6.378	115.327	93.674	77.778
GS ₂₀	156	99.441	6.363	124.448	91.099	83.333
GS ₁₀	78	98.324	6.576	117.364	85.804	66.667

¹⁾ GS₄₀, GS₃₀, GS₂₀, GS₁₀: 分别为40%、30%、20%和10%抽样比例的种质子集 Germplasm subsets with 40%, 30%, 20% and 10% sampling percentages, respectively.

比较结果表明:各种质子集的均值差异百分率均小于20%,极差符合率均大于80%,说明4个种质子集都可以代表原种质集的表型性状遗传多样性,也均符合种质保存库的要求。其中,20%抽样比例种质子集的变异系数变化率和方差差异百分率最大,表型性状保留比例和极差符合率也较大,且均值差异百分率较小,样株数量也较少,因而,20%抽样比例种质子集的5个评价参数值的综合效应优于其他3个种质子集,且可减少种质资源保存的工作量。因此,在构建

云南松材用种质保存库时采用20%抽样比例更具有有效性和实用性。

2.5 种质保存库的确认

依据上述研究结果,以18个表型性状测定值为源数据,对原种质集(780株样株)和种质保存库(20%抽样比例,156株样株)进行主成分分析,结果见表7。结果表明:原种质集与种质保存库的前7个主成分的特征值均大于1,累计贡献率分别达到79.376%和83.539%,且种质保存库前7个主成分的

表7 云南松材用种质的原种质集和种质保存库(20%抽样比例)的主成分分析结果

Table 7 Result of principal component analysis on original germplasm set and germplasm conservation bank (20% sampling percentage) of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch.

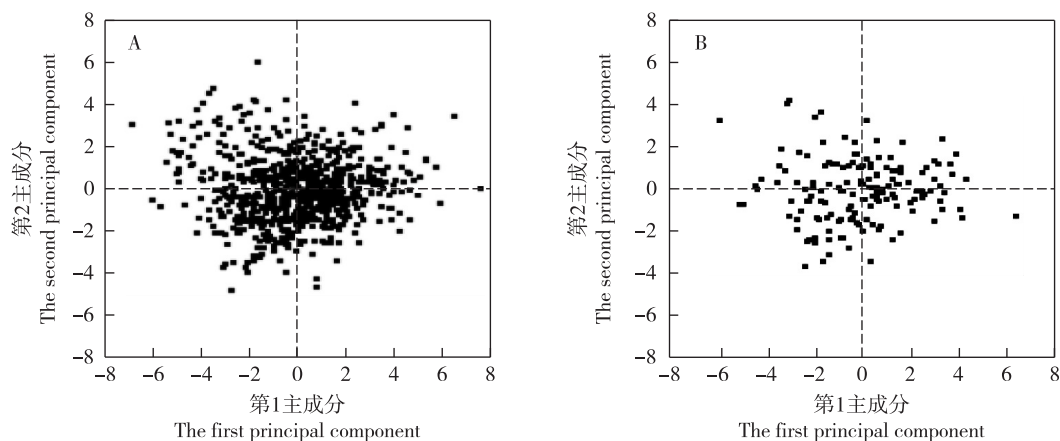
主成分 Principal component	原种质集 Original germplasm set			种质保存库 Germplasm conservation bank		
	特征值 Eigenvalue	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Cumulative contribution rate	特征值 Eigenvalue	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Cumulative contribution rate
1	4.375	24.303	24.303	4.949	27.497	27.497
2	2.316	12.868	37.171	2.490	13.831	41.328
3	1.838	10.209	47.381	1.973	10.960	52.288
4	1.625	9.029	56.410	1.797	9.983	62.271
5	1.467	8.148	64.558	1.465	8.140	70.411
6	1.430	7.945	72.503	1.320	7.331	77.742
7	1.237	6.873	79.376	1.043	5.797	83.539

累计贡献率大于原种质集且接近 85%, 说明提取同样数量的主成分, 种质保存库能够解释的表型遗传信息量大于原种质集。由于种质保存库剔除了更多的重复种质, 因而其代表性和实用性更强。

分别以第 1 和第 2 主成分为横坐标和纵坐标, 绘制原种质集和种质保存库的样株分布散点图, 结果见图 1。通过对比可见, 种质保存库的样株分布范围整

体上与原种质集基本一致, 且在种质保存库中保留了大量分布外缘的样株, 但分布中心区域的大量重叠样株则在种质保存库中保留较少, 从而减少了种质保存库的样本冗余。

通过上述分析, 确认 20% 抽样比例种质保存库可以作为云南松材用种质的代表性子集。



A: 原种质集 Original germplasm set; B: 种质保存库 (20% 抽样比例) Germplasm conservation bank (20% sampling percentage).

图 1 基于主成分分析结果的云南松材用种质的原种质集和种质保存库 (20% 抽样比例) 样株的分布散点图
Fig. 1 Distribution scatter diagram of sampling plants from original germplasm set and germplasm conservation bank (20% sampling percentage) of timber-used germplasm of *Pinus yunnanensis* Franch. based on principal component analysis result

3 讨论和结论

在野外, 云南松不同种群间和同一种群不同单株间的针叶和球果性状以及枝下高、长冠径和短冠径等表型性状均存在较丰富的变异。为此, 作者在构建云南松材用种质保存库时, 除借鉴许玉兰^[22]的研究结果选择针叶和球果的表型性状外, 还增加了与材用性密切相关的表型性状, 以上述 18 个表型性状测定值作为源数据。从方差分量百分比看, 在云南松材用种质全分布区的 26 个地理种群中, 群体内 18 个表型性状的平均方差分量百分比是群体间的近 2 倍 (未发表数据), 说明云南松材用种质的群体内变异远大于群体间变异。

研究抽样策略, 首先要考虑总的种质资源的分组原则和分组方法。Diwan 等^[27]认为, 采用分组方法构建的核心种质对整个种质资源的代表性优于采用随机方法构建的核心种质。结合云南松材用种质的

表型性状在群体间和群体内的变异规律, 作者认为以地理种群为单位分组构建种质保存库更为有效。根据前人的研究结果^{[2], [5]36-45, [6, 10]}, 本文以多样性指数法和改进的最小距离逐步取样法作为抽样方法, 使组内取样更具针对性、有效性和可靠性。抽样比例决定了种质保存库和核心种质的规模, 并决定了其能否代表种质资源的多样性。本文用 780 株云南松构建云南松材用种质保存库, 确认其适合的抽样比例为 20%, 符合李自超等^[2]提出的“不同植物核心种质的抽样比例应为原群体的 5%~30%”的要求, 且与其他林木核心种质的抽样比例相当, 如油桐核心种质的 20% 最佳取样比例^[9]和野杏核心种质的 25% 最适宜取样比例^[16]等。本研究中构建的云南松材用种质保存库从表型性状的 Shannon-Weaver 遗传多样性指数、遗传变异和遗传结构等方面均可全面代表原种质集, 同时也具有较高的实用性, 因此, 按地理种群分组并采用欧氏距离和不加权类平均法聚类、20% 抽样比例、多样性指数法和改进的最小距离逐步取样法进行

组内取样所构建的包含 156 株样株的云南松材用种质保存库可以作为整体资源的代表性子集。

由于受研究时间的限制,本研究仅以云南松的表型性状探讨其种质保存库的构建,研究过程缺乏一定的全面性和深入性。后续将利用 GPS 精确定位对入选种质保存库的 156 株云南松个体进行原地保存和种子异地保存,进而对云南松材用种质资源进行全面的研究、评价和利用。随着研究工作的进一步开展,还可利用分子标记或表型性状与分子标记相结合的方法构建云南松材用种质保存库,有望进一步提高其优良种质资源保存和利用的有效性和效率,为云南松优良材用种质保存库的建立提供更多的材料和依据。

参考文献:

- [1] 曾宪君,李丹,胡彦鹏,等. 欧洲黑杨优质核心种质库的初步构建[J]. 林业科学, 2014, 50(9): 51-58.
- [2] 李自超,张洪亮,曾亚文,等. 云南地方稻种资源核心种质取样方案研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(5): 1-7.
- [3] GEPTS P. Plant genetic resources conservation and utilization: the accomplishments and future of a societal insurance policy[J]. Crop Science, 2006, 46: 2278-2292.
- [4] UPADHYAYA H D, REDDY K N, GOWDA C L L, et al. Phenotypic diversity in the pigeonpea (*Cajanus cajan*) core collection[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2007, 54(6): 1167-1184.
- [5] 刘宁宇. 植物资源核心种质构建与评价新方法的研究[D]. 杭州: 浙江大学农业与生物技术学院, 2007.
- [6] 赵冰,张启翔. 中国蜡梅种质资源核心种质的初步构建[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(S1): 16-21.
- [7] 魏志刚,高玉池,刘关君,等. 白桦核心种质构建的聚类方法研究[J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(3): 405-410.
- [8] 魏志刚,高玉池,杨传平,等. 白桦核心种质构建的抽样方法[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(7): 1-4.
- [9] 向青. 川渝地区油桐种质资源评价和核心种质的初步构建[D]. 雅安: 四川农业大学林学院, 2012: 42-47.
- [10] 徐海明. 种质资源核心库构建方法的研究及其应用[D]. 杭州: 浙江大学农业与生物技术学院, 2005: 36-44.
- [11] 徐宁,程须珍,王素华,等. 以地理来源分组和利用表型数据构建中国小豆核心种质[J]. 作物学报, 2008, 34(8): 1366-1373.
- [12] 刘旭,马缘生,谭富娟,等. 小麦特殊遗传材料核心样品的建立[J]. 植物遗传资源学报, 2000, 1(2): 1-8.
- [13] VAIJAYANTHI P V, RAMESH S, GOWDA M B, et al. Identification of trait-specific accessions from a core set of dolichos bean germplasm[J]. Journal of Crop Improvement, 2016, 30(2): 244-257.
- [14] 姜慧芳,任小平,廖伯寿,等. 中国花生核心种质的建立[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(3): 289-293.
- [15] REDDY L J, UPADHYAYA H D, GOWDA C L L, et al. Development of core collection in pigeonpea [*Cajanus cajan* (L.) Millspaugh] using geographic and qualitative morphological descriptors[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2005, 52(8): 1049-1056.
- [16] 刘娟,廖康,曹倩,等. 利用表型性状构建新疆野杏种质资源核心种质[J]. 果树学报, 2015, 32(5): 787-796.
- [17] 李秀兰,贾继文,王军辉,等. 灰楸形态多样性分析及核心种质初步构建[J]. 植物遗传资源学报, 2013, 14(2): 243-248.
- [18] 刘德浩,张方秋,张卫华. 基于地理种源分组和表型数据构建尾叶桉核心种质[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33(5): 1-8.
- [19] 云南省林业厅,《云南松》编委会,金振洲,等. 云南松[M]. 昆明: 云南科技出版社, 2004.
- [20] 作者不详. 第二批国家林木种质资源库名单公布[J]. 园林科技, 2016(4): 47-48.
- [21] 李莲芳,郑颀,韩明跃,等. 云南松遗传改良进展及其育种策略剖析[J]. 西部林业科学, 2010, 39(2): 104-110.
- [22] 许玉兰. 云南松天然群体遗传变异研究[D]. 北京: 北京林业大学林学院, 2015: 15-19.
- [23] DANGASUK O G, PANETSOS K P. Altitudinal and longitudinal variations in *Pinus brutia* (Ten.) of Crete Island, Greece; some needle, cone and seed traits under natural habitats[J]. New Forest, 2004, 27(3): 269-284.
- [24] URBANIAK L, KARLIŃSKI L, POPIELARZ R. Variation of morphological needle characters of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) populations in different habitats[J]. Acta Societatis Botanicorum Poloniae, 2003, 72(1): 37-44.
- [25] BORATYŃSKA K, JASIŃSKA A K, CIEPŁUCH E. Effect of tree age on needle morphology and anatomy of *Pinus uliginosa* and *Pinus silvestris*: species-specific character separation during ontogenesis[J]. Flora, 2008, 203(8): 617-626.
- [26] 孟宪宇. 测树学[M]. 3版. 北京: 中国林业出版社, 2006: 10-11, 43-66.
- [27] DIWAN N, BAUCHAN G R, MCINTOSH M S. A core collection for the United States annual Medicago germplasm collection[J]. Crop Science, 1994, 34: 279-285.

(责任编辑: 郭严冬)