

# 凉山州核桃坚果表型多样性研究

刘昊<sup>1</sup>, 马庆国<sup>1</sup>, 张继勇<sup>2</sup>, 文明<sup>2,3</sup>, 宋晓波<sup>1</sup>, 张俊佩<sup>1</sup>, 裴东<sup>1</sup>

(1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 林木遗传育种国家重点实验室, 北京 100091;  
2. 凉山州林业局, 四川 西昌 615000; 3. 凉山州油橄榄示范繁育林场, 四川 西昌 615000)

**摘要:** [目的] 以四川省凉山州核桃和泡核桃农家类型的坚果为样本, 研究其表型丰富度和变异特点, 为其资源挖掘和合理利用提供理论依据。[方法] 以 15 个核桃和泡核桃居群的 330 棵实生单株为研究材料, 利用 18 个坚果表型相关性状进行多样性和聚类分析。[结果] 表明: (1) 凉山州核桃和泡核桃实生居群坚果表型性状变异系数为 8.46%~59.47%, 平均为 35.26%, 单果质量极大(>20.0 g)和极小(<5.0 g)的资源均占一定比例; 该地区坚果资源在《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南-核桃属》中所描述坚果表型性状的基础上, 新增了 3 个垂直于缝合线纵切面形状和 1 个核仁皮色特征; 居群遗传性状 Simpson 指数为 0.201~0.855, Shannon-Wiener 指数为 0.649~2.873, 说明凉山州核桃和泡核桃坚果表型多样性比较丰富。(2) 18 个坚果表型性状的居群内变异均大于居群间, 居群间的表型分化系数为 6.03%, 说明居群内变异是凉山州坚果表型多样性的主要来源。(3) UPGMA 聚类分析结果表明, 凉山州坚果表型性状 Manhattan 距离表现出与地理距离或气候条件显著正相关的趋势。[结论] 凉山州核桃和泡核桃资源坚果表型丰富度高, 是重要的核桃资源多样性分布地区。

**关键词:** 核桃; 表型多样性; 凉山; 居群

中图分类号: S718 S792.13 文献标识码: A 文章编号: 1001-1498(2017)05-0771-08

## Phenotypic Diversities of Nuts of Walnut Populations Originated from Seedlings in Liangshan Prefecture

LIU Hao<sup>1</sup>, MA Qing-guo<sup>1</sup>, ZHANG Ji-yong<sup>2</sup>, WEN Ming<sup>2,3</sup>, SONG Xiao-bo<sup>1</sup>, ZHANG Jun-pei<sup>1</sup>, PEI Dong<sup>1</sup>

(1. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of State Forestry Administration, State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Beijing 100091, China; 2. Forestry Bureau of Liangshan Prefecture, Xichang 615000, Sichuan, China; 3. Olive Breeding Demonstration Forestry Station of Liangshan Prefecture, Xichang 615000, Sichuan, China)

**Abstract:** [Objective] Using the nut of *Juglans regia* and *Juglans sigillata* in Liangshan of Sichuan as samples to study the phenotype abundance and variation characteristics for detecting resource and providing theory evidence in using resource reasonable. [Method] Taking 330 seedlings from 15 *J. regia* and *J. sigillata* populations as research materials, the diversity and cluster analysis were studied using 18 nut phenotypic traits. [Result] (1) The coefficient of variation of phenotypic traits in Liangshan walnut population originated from seedlings was between 8.46% and 59.47%, with an average of 35.26%. The nuts with very large (>20.0 g) and very small (<5.0 g) single nut weight occupied a certain proportion. The phenotypic traits meet almost all the trait descriptions in the "Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability-Juglans (*Juglans* L.)". Three features in shape and one in skin color of kernels were added. The Simpson index of population genetic traits was 0.201 - 0.855, Shannon-Wiener index was between 0.649 and 2.873, indicating abundant variations in nut phenotypic di-

收稿日期: 2017-03-02

基金项目: 中国林业科学研究院重点项目“核桃提质增效关键技术研究”(项目编号: CAFYBB2017ZA004-2)

作者简介: 刘昊(1983—), 男, 博士研究生. 主要研究方向: 经济林遗传育种. E-mail: glkl@163.com

\* 通讯作者: 裴东(1964—). 主要从事经济林遗传育种研究. E-mail: peigu@caf.ac.cn

iversity in this area. (2) The phenotypic differentiation of 18 phenotypic traits in populations was larger than that among populations in this area and the differentiation coefficients among populations was 6.03%, suggesting the phenotypic differentiation in populations was the main variation source. (3) UPGMA cluster analysis showed that the Manhattan distance of nut phenotypic traits were positively related to the geographic distance or climatic conditions. [Conclusion] The nut phenotype of *J. regia* and *J. sigillata* in Liangshan was abundant. It is the important area for distribution of diversity walnut resources in China.

**Keywords:** walnut (*Juglans regia*); phenotypic diversity; liangshan; population

核桃 (*Juglans regia* L.) 与泡核桃 (*J. sigillata* Dode) 均属胡桃科 (Juglandaceae), 核桃属 (*Juglans* L.), 核桃组 (Section *Juglans*), 在我国四川省凉山彝族自治州均有栽培和分布<sup>[1]</sup>。凉山彝族自治州位于四川省西南部, 该地区东接四川盆地, 西跨横断山系, 北抵川西高原, 南临金沙江畔, 处于青藏高原和云贵高原与四川盆地的过渡地带; 由于独特的地质演化, 形成以高山深谷为主, 并有平坝、河谷和丘陵相间的特殊地貌, 所以形成了最为显著的山地垂直地带性气候, 加之是光热资源丰富的低纬度地区, 是生物多样性极其丰富的地区<sup>[2-4]</sup>。凉山州的核桃和泡核桃资源存量丰富, 区内德昌、会理、雷波、木里、冕宁、盐源等县是传统产地, 并存在一定规模的天然居群和数量可观的实生类型群体<sup>[5-6]</sup>, 是核桃和泡核桃宝贵的遗传资源和潜在的种质库。之前对凉山州核桃表型性状的研究较少, 已有报道涉及的采样地或资源数量有限, 未开展广泛调查及进一步对坚果性状的详细研究。近年来, 凉山州开始大力发展核桃产业, 首先面临的问题是对现有资源的调查, 在摸清本地区核桃和泡核桃资源现状的基础上, 方能提出有效的发展规划, 最直接和有效的方法是从坚果的主要表型性状及其特色入手。因此, 本文以凉山州 15 个实生居群 330 棵单株的坚果为试材, 利用 18 个坚果表型性状揭示该地区核桃和泡核桃种质资源的多样性, 明确农家实生资源的丰富程度, 以期制定该地区核桃和泡核桃资源保存与利用策略及构建核心种质提供参考。

## 1 试材采集地概况

凉山彝族自治州幅员面积 6.04 万 km<sup>2</sup>, 属亚热带季风气候, 年均气温 11.2 ~ 19.4℃, 年降水量 800 ~ 1 300 mm, 境内地貌以山地为主, 多高山峡谷, 也有少量河谷、平坝、中山、山原。该地区是四川省核桃和泡核桃的主要产区, 主要分布海拔范围 800 ~ 2 800 m, 全州各县 (市) 均有分布。

## 2 试验方法

### 2.1 试材采集与处理

根据当地林业部门的相关资料, 在核桃和泡核桃资源相对集中的区域, 走访当地群众获取树龄、果实特异性等相关信息, 选择树龄 30 a 以上的实生核桃和泡核桃树采集试验样品。每个样本采集 30 个大小基本一致、饱满的坚果带回实验室, 晾干至恒质量后进行表型性状的测定。本研究的试材采集范围包括凉山州 15 个县 (市), 15 个核桃和泡核桃实生居群名称和采集地生态、地理信息及样本数见表 1。

### 2.2 测定方法

坚果表型性状测定参照《植物新品种特异性、一致性和稳定性测试指南-核桃属》<sup>[7]</sup> 进行特征描述和赋值, 调查测定了核桃和泡核桃的 18 个坚果表型性状, 测试指南中未列出的特征用“其他”表示<sup>[8]</sup> (表 2)。坚果数量性状中的纵径、横径、侧径用游标卡尺 (精度 0.01 mm) 测量, 单果质量、核仁质量用天平 (精度 0.01 g) 测量, 果壳厚度用螺旋测微仪 (精度 0.001 mm) 测量。3 个数量性状的计算公式为:

$$\text{坚果圆度指数} = (\text{侧径} + \text{横径}) / (2 \times \text{纵径})$$

$$\text{出仁率} = \text{核仁质量} / \text{单果质量} \times 100\%$$

$$\text{三径均值} = (\text{纵径} + \text{侧径} + \text{横径}) / 3$$

### 2.3 数据分析

运用 Microsoft Excel 2007, SPSS19.0<sup>[9]</sup> 进行数据统计分析, 包括分布频率、Simpson 指数和 Shannon - Wiener 指数, 并绘制数量性状频率数据分布直方图<sup>[10]</sup>, 用 SAS 8.1<sup>[11]</sup> 软件统计坚果表型性状的平均值和标准差, 用类平均法计算居群间的 Manhattan 距离并进行聚类分析。用性状的变异系数 (CV) 表示居群表型多样性水平<sup>[12]</sup>, 并对其做 Duncan 检验; 对各性状观测值采用巢式设计方差分析比较居群间和居群内的差异显著性<sup>[13]</sup>; 用表型分化系数 ( $V_{ST}$ ) 反应居群间表型分化程度<sup>[14]</sup>。

表1 采样地生态、地理信息及样本数

Table 1 The ecological and geographical information and sample size of populations in this study

| 居群代码<br>Code | 采样地<br>sampling site | 经度(E)<br>Longitude | 纬度(N)<br>Latitude | 年降水量<br>Annual<br>precipitation/mm | 年均气温<br>Annual<br>temperature/°C | 年日照时数<br>Annual sunshine<br>hours/h | 海拔 Elevation  |               | 样本数<br>Sample<br>size/个 |
|--------------|----------------------|--------------------|-------------------|------------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|---------------|---------------|-------------------------|
|              |                      |                    |                   |                                    |                                  |                                     | 范围<br>Range/m | 平均值<br>Mean/m |                         |
| XC           | 西昌                   | 102°05'09"         | 28°04'07"         | 1 013                              | 15.0                             | 1 648                               | 1 500~2 500   | 1 542         | 9                       |
| YY           | 盐源                   | 101°29'35"         | 27°25'53"         | 855                                | 12.1                             | 2 600                               | 1 800~2 700   | 2 540         | 8                       |
| DC           | 德昌                   | 102°10'37"         | 27°24'21"         | 1 049                              | 17.7                             | 2 147                               | 1 300~2 500   | 1 380         | 38                      |
| HL           | 会理                   | 102°14'33"         | 26°39'16"         | 1 130                              | 15.1                             | 2 055                               | 1 000~2 600   | 1 788         | 46                      |
| HD           | 会东                   | 102°34'24"         | 26°38'08"         | 1 001                              | 16.1                             | 2 445                               | 1 100~2 300   | 2 075         | 24                      |
| NN           | 宁南                   | 102°44'00"         | 27°03'48"         | 970                                | 19.4                             | 2 257                               | 800~1 900     | 1 643         | 17                      |
| PG           | 普格                   | 102°32'22"         | 27°22'35"         | 1 300                              | 16.8                             | 2 095                               | 1 040~2 680   | 1 860         | 12                      |
| JY           | 金阳                   | 103°15'08"         | 27°41'33"         | 820                                | 15.8                             | 1 574                               | 900~2 200     | 1 452         | 13                      |
| ZJ           | 昭觉                   | 102°50'58"         | 28°00'28"         | 1 013                              | 19.0                             | 1 622                               | 1 260~1 600   | 1 430         | 15                      |
| MN           | 冕宁                   | 102°13'48"         | 28°32'52"         | 1 110                              | 13.3                             | 1 878                               | 1 700~2 500   | 1 774         | 14                      |
| YX           | 越西                   | 102°30'31"         | 28°38'06"         | 1 133                              | 13.3                             | 1 687                               | 1 620~2 700   | 1 662         | 12                      |
| GL           | 甘洛                   | 102°47'48"         | 29°02'25"         | 850                                | 17.0                             | 1 661                               | 870~1 980     | 1 170         | 12                      |
| MG           | 美姑                   | 103°06'17"         | 28°26'23"         | 815                                | 11.2                             | 1 791                               | 1 938~2 211   | 2 074         | 33                      |
| LB           | 雷波                   | 103°34'19"         | 28°15'45"         | 850                                | 12.2                             | 1 225                               | 900~1 800     | 1 353         | 43                      |
| ML           | 木里                   | 101°16'18"         | 27°56'09"         | 800                                | 14.3                             | 2 303                               | 2 000~2 800   | 2 667         | 34                      |
| 合计 Total     |                      |                    |                   |                                    |                                  |                                     |               |               | 330                     |

表2 凉山州核桃和泡核桃坚果表型特征赋值及描述

Table 2 The description and assignment of nut quality character for walnut accessions in Liangshan prefecture

| 代码<br>Code | 坚果表型质量性状<br>Nut quality traits                                      | 赋值及描述<br>Description and assignment  |
|------------|---|--|
| 1          | 沿缝合线纵切面形状<br>Shape in longitudinal section through suture           | 1:椭圆形 Elliptic;2:阔椭圆形 Broad elliptic;3:长圆形 Long circular;4:圆形 Circular;5:卵圆形 Ovate;6:阔卵形 Broad ovate;7:三角形 Triangular;8:梯形 Trapezium   |
| 2          | 垂直缝合线纵切面形状<br>Shape in longitudinal section perpendicular to suture | 1:圆形 Elliptic;2:扁圆形 Oblate;3:倒卵圆形 Inverted Ovate;4:心形 Heart-shaped;5:阔卵圆形 Broad ovate;6:三角形 Triangular;7:方(梯)形 Squareness(Trapezium);8:长椭圆形 Long circular;9:卵圆形 Ovate;10:其他 Other (图1) |
| 3          | 坚果横切面形状<br>Shape in cross section                                   | 2:扁圆形 Oblate;3:圆形 Circular;4:椭圆形 Elliptic;5:其他 Other   |
| 4          | 顶尖突出程度<br>Prominence of apical tip                                  | 3:平 Weak flat;5:凸 Medium bulge;7:尖 Strong pointed  |
| 5          | 果肩形状<br>Shape of apex perpendicular to suture                       | 1:圆形 Rounded;2:平 Truncate  |
| 6          | 果底形状<br>Shape of base perpendicular to suture                       | 1:圆形 Rounded;2:扁圆形 Oblate;3:楔形 Cuneate;4:方形 Truncate;5:其他 Other  |
| 7          | 刻窝<br>Pit on the shell  | 1:少 Slightly;3:中 Moderately;5:多 Strongly;7:很多 Embossed;  |
| 8          | 刻纹<br>Groove on the shell   | 1:平 Flat;3:浅 Shallow;5:中 Medium;7:深 Deep   |
| 9          | 缝合线条数<br>Number of pads on suture                                   | 1:2条 Two;2:2~3条 Two-three;3:3条 Three;4:2~4条 Two-four;5:3~4条 Three-four;6:4条 Four (图2)  |
| 10         | 缝合线突出程度<br>Prominence of pad on suture                              | 3:平 Flat;5:凸 Bulge   |
| 11         | 横隔膜质地<br>Diaphragm texture  | 1:膜质 Membranous;2:纸质 Papery;3:革质 Leathery;4:骨质 Bony  |
| 12         | 内褶壁质地<br>Inner pleat wall of shell                                  | 1:膜质 Membranous;2:革质 Leathery;3:骨质 Bony;4:退化 Degeneration  |
| 13         | 核仁皮色<br>Skin color of kernel  | 1:白(黄白) White (Yellow white);2:浅黄 Light yellow;3:黄 Yellow;4:浅褐 Light brown;5:褐 Brown;6:红褐(紫红) Red brown (Purple red);7:紫褐(紫) Purple brown (Purple);8:乌 Black (图3)                      |

### 3 结果与分析

#### 3.1 坚果表型的质量性状频率分布及多样性指数

由表3可知:13个坚果表型的质量性状 Simpson 指数为 0.201~0.855, Shannon-Wiener 指数为 0.649~2.873, 其中,沿缝合线纵切面形状(代码1)的分别为 0.855 和 2.873,垂直缝合线纵切面(代码2)的分别为 0.771 和 2.546,刻窝数量(代码7)的分

别为 0.731 和 1.940,核仁皮色(代码13)的分别为 0.761 和 2.490,坚果缝合线条数(代码9)和缝合线突出程度(代码10)的多样性指数较低。在数据采集和分析中发现倒卵圆形、三角形和方(梯)形3种垂直缝合线纵切面形状和乌仁(一种仁色特征),这在核桃属 DUS 测试指南中未见描述,另有部分资源描述暂列为其他,因此,将垂直缝合线纵切面形状分为10级,核仁皮色分为8级(表2)。



图1 凉山州核桃和泡核桃坚果垂直于缝合线纵切面形状

Fig.1 Shape in longitudinal section perpendicular to suture of walnut in Liangshan prefecture

表2、3表明:沿缝合线纵切面形状分为8种,其中,圆形较多(21.52%),卵圆形最少(3.33%),其它6种形状占比为8.18%~15.15%;垂直缝合线纵切面形状中,圆形所占比例较大(38.79%),其次为卵圆形(17.58%)、扁圆形(16.97%)、长椭圆形(12.12%),其余阔卵圆形、心形、倒卵圆形、三角形和方(梯)形所占比例较小,为3.33%~1.21%;坚果横切面形状以圆形和扁圆形为主;果肩形状和果底形状各级占比均以圆形居多,分别占58.48%和46.06%;顶尖突出程度中,凸的资源最多,占47.88%,进一步印证了顶尖突出程度明显的坚果在该地区是主要类型。本研究将缝合线条数分为6级,缝合线条数以调查结果所占比例超过样本总数的一半为准,其中缝合线条数2条的占比较多,为89.09%,2条以上的占比较低,为6.67%~0.30%。刻窝各级占比为多和很多的各占31.21%和23.64%,说明所调查地区泡核桃资源的坚果表型以深刻窝为主。横隔膜质地以纸质的资源最多,占46.97%。内褶皱质地退化的资源最多,占54.24%,说明该地区大部分薄壳核桃和泡核桃较易取仁。该地区核仁皮色仍以黄色为主,占41.82%,除其它6种核仁皮色,还有10.61%的乌仁资源。

### 3.2 坚果表型数量性状范围及频率

表4表明:单果质量为3.29~28.18 g,平均11.99 g;壳厚为0.11~4.50 mm,平均0.96 mm;出仁率为10.00%~78.48%,平均48.06%;圆度指数为0.66~1.13,平均0.88;三径均值为21.24~47.41 mm,平均34.17 mm。坚果壳厚度的变异系



图2 凉山州核桃和泡核桃坚果缝合线条脊数资源

Fig.2 Number of pads on suture resources of walnut nuts in Liangshan prefecture

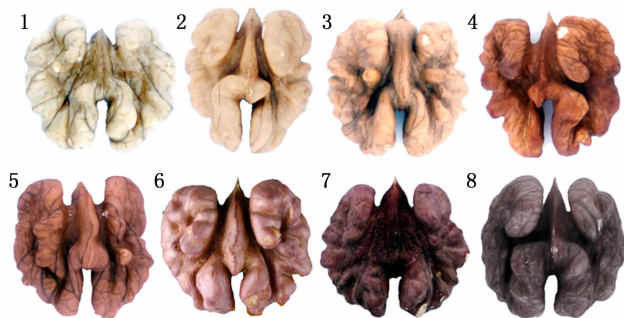


图3 凉山州核桃和泡核桃坚果核仁皮色

Fig.3 The kernel color of walnut nuts in Liangshan prefecture

数最大,为44.59%;其次为单果质量,为31.02%;再次是出仁率,为19.03%;最后是三径均值和圆度指数,分别为10.41%和9.22%。

各坚果表型数量性状频率分布直方图(图4)表明:各性状的分布存在差异,单果质量、出仁率和圆度指数均符合正态分布,但核壳厚度和三径均值近似服从 $\chi^2$ 分布。单果质量大多为10.04~13.94 g,占46.67%。出仁率集中在43.26%~52.86%,占51.52%。三径均值在32.31~38.73 mm集中分布,但32.31~36.04 mm的性状频率分布最大,占

46.97%。圆度指数较分散,其中,0.78~0.84的占23.33%,0.84~0.92的占35.76%,0.92~0.98的占21.52%。坚果壳厚度0.74~1.19 mm的性状频率分布最大,占55.76%。

表3 凉山州330份样本13个坚果表型的质量性状变异状况

Table 3 Variation of thirteen quality traits for 330 genotypes nut phenotypic in Liangshan prefecture

| 质量性状代码<br>Quality traits code | 各级所占比例 The proportion of each level/% |       |       |       |       |      |       |       |       |      | 辛普森指数<br>Simpson index | 香农-维纳指数<br>Shannon-Wiener index |
|-------------------------------|---------------------------------------|-------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|------|------------------------|---------------------------------|
|                               | 1                                     | 2     | 3     | 4     | 5     | 6    | 7     | 8     | 9     | 10   |                        |                                 |
| 1                             | 15.15                                 | 10.91 | 13.94 | 21.52 | 3.33  | 8.18 | 13.94 | 13.03 |       |      | 0.855                  | 2.873                           |
| 2                             | 38.79                                 | 16.97 | 2.42  | 3.03  | 3.33  | 1.21 | 2.12  | 12.12 | 17.58 | 2.42 | 0.771                  | 2.546                           |
| 3                             |                                       | 39.39 | 58.48 | 1.52  | 0.61  |      |       |       |       |      | 0.502                  | 1.118                           |
| 4                             |                                       |       | 34.85 |       | 47.88 |      | 17.27 |       |       |      | 0.619                  | 1.476                           |
| 5                             | 58.48                                 | 41.52 |       |       |       |      |       |       |       |      | 0.486                  | 0.979                           |
| 6                             | 46.06                                 | 9.09  | 14.24 | 29.09 | 1.52  |      |       |       |       |      | 0.674                  | 1.840                           |
| 7                             | 14.24                                 |       | 30.91 |       | 31.21 |      | 23.64 |       |       |      | 0.731                  | 1.940                           |
| 8                             | 45.15                                 |       | 40.61 |       | 9.39  |      | 4.00  |       |       |      | 0.620                  | 1.578                           |
| 9                             | 89.09                                 | 6.67  | 0.30  | 3.33  | 0.30  | 0.30 |       |       |       |      | 0.201                  | 0.649                           |
| 10                            |                                       |       | 26.97 |       | 73.03 |      |       |       |       |      | 0.394                  | 0.841                           |
| 11                            | 13.33                                 | 46.97 | 28.48 | 11.21 |       |      |       |       |       |      | 0.668                  | 1.770                           |
| 12                            | 13.94                                 | 24.85 | 6.97  | 54.24 |       |      |       |       |       |      | 0.620                  | 1.642                           |
| 13                            | 10.00                                 | 17.88 | 41.82 | 3.64  | 3.64  | 5.45 | 6.97  | 10.61 |       |      | 0.761                  | 2.490                           |

表4 凉山州330份样本坚果表型5个数量性状的变异状况

Table 4 Variation of five quantitative traits for 330 genotypes nut phenotypic in Liangshan prefecture

| 数量性状代码<br>Quantitative traits Code | 数量性状<br>Quantitative traits     | 最大值<br>Max. | 最小值<br>Min. | 平均值<br>Mean | 极差<br>Range | 标准差<br>SD | 变异系数<br>CV/% |
|------------------------------------|---------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|--------------|
| 14                                 | 单果质量 Weight of nut/g            | 28.18       | 3.29        | 11.99       | 24.89       | 3.72      | 31.02        |
| 15                                 | 壳厚 Shell thickness/mm           | 4.50        | 0.11        | 0.96        | 4.39        | 0.43      | 44.59        |
| 16                                 | 出仁率 Kernel rate/%               | 78.48       | 10.00       | 48.06       | 68.48       | 9.14      | 19.03        |
| 17                                 | 圆度指数 Index of roundness         | 1.13        | 0.66        | 0.88        | 0.47        | 0.08      | 9.22         |
| 18                                 | 三径均值 Geometric mean diameter/mm | 47.41       | 21.24       | 34.17       | 24.17       | 3.56      | 10.41        |

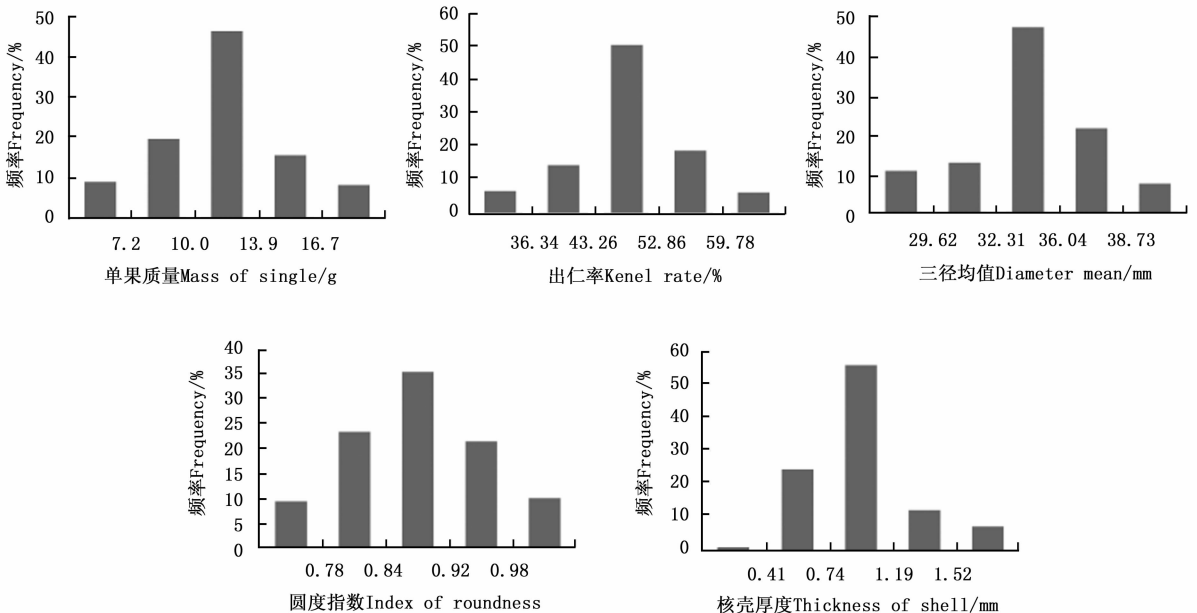


图4 凉山州核桃坚果表型数量性状频率分布

Fig.4 Frequency distribution of nuts phenotype characters of walnut in Liangshan prefecture

### 3.3 坚果表型的变异和分化

由表5可知:18个坚果表型性状变异系数为8.46%~59.47%,差异显著( $P < 0.05$ ),平均为35.26%,其中,变异程度最大的是刻纹,为59.47%;

变异程度最小的是出仁率,为8.46%。15个居群内18个坚果表型性状变异系数平均值为29.49%~39.28%,居群间差异不显著。

表5 凉山州15个实生居群坚果表型性状变异系数及多重比较

Table 5 Variation coefficients (CV) and multiple comparisons of phenotypic traits in 15 populations in Liangshan prefecture

| 表型性状代码<br>Code of<br>phenotypic traits | 居群 Population |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       |       | 均值<br>Mean/% |
|--|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------------|
|  | DC            | GL    | HD    | HL    | JY    | LB    | MG    | ML    | MN    | NN    | PG    | XC    | YX    | YY    | ZJ    |              |
| 1                                      | 63.21         | 36.47 | 63.56 | 63.55 | 66.89 | 47.24 | 54.99 | 37.17 | 46.04 | 43.86 | 58.86 | 69.02 | 52.26 | 37.64 | 49.13 | 52.66g       |
| 2                                      | 31.13         | 25.69 | 36.77 | 38.53 | 54.20 | 54.20 | 29.13 | 44.78 | 22.85 | 40.05 | 28.75 | 39.09 | 42.74 | 32.63 | 35.77 | 37.09def     |
| 3                                      | 26.08         | 20.89 | 18.84 | 20.59 | 15.84 | 18.83 | 17.65 | 17.09 | 18.81 | 20.82 | 21.10 | 21.43 | 22.60 | 21.38 | 21.82 | 20.25b       |
| 4                                      | 29.41         | 30.06 | 36.12 | 22.87 | 31.35 | 34.07 | 30.97 | 33.60 | 30.59 | 29.33 | 25.88 | 29.27 | 19.93 | 39.40 | 31.40 | 30.28cd      |
| 5                                      | 45.20         | 34.82 | 30.43 | 35.49 | 45.17 | 38.10 | 35.48 | 36.83 | 35.95 | 34.99 | 33.36 | 36.08 | 34.82 | 26.45 | 36.22 | 35.96cde     |
| 6                                      | 57.76         | 60.54 | 58.23 | 55.16 | 60.46 | 54.40 | 60.60 | 68.91 | 63.60 | 60.91 | 60.80 | 49.93 | 44.20 | 46.29 | 61.93 | 57.58g       |
| 7                                      | 44.91         | 38.56 | 60.53 | 47.22 | 75.31 | 48.54 | 39.66 | 45.05 | 39.05 | 27.62 | 51.31 | 30.57 | 30.76 | 50.65 | 43.04 | 44.85f       |
| 8                                      | 69.00         | 49.49 | 86.92 | 60.20 | 65.81 | 64.11 | 59.84 | 52.05 | 60.31 | 59.46 | 67.42 | 68.82 | 40.20 | 46.61 | 41.82 | 59.47g       |
| 9                                      | 82.22         | 0.00  | 37.68 | 44.70 | 25.75 | 54.55 | 31.91 | 68.29 | 24.94 | 0.00  | 26.65 | 70.19 | 33.36 | 77.14 | 78.49 | 43.73ef      |
| 10                                     | 20.79         | 22.72 | 16.32 | 20.53 | 11.45 | 15.81 | 10.09 | 20.97 | 25.94 | 19.31 | 26.11 | 27.11 | 26.86 | 27.60 | 14.87 | 20.43b       |
| 11                                     | 36.51         | 34.88 | 27.24 | 29.93 | 35.36 | 36.89 | 32.68 | 30.28 | 30.94 | 29.22 | 37.26 | 39.67 | 55.16 | 61.72 | 26.35 | 36.27cde     |
| 12                                     | 40.11         | 44.72 | 31.65 | 40.37 | 48.86 | 21.46 | 32.30 | 34.09 | 37.15 | 40.70 | 51.31 | 43.27 | 69.28 | 70.71 | 29.41 | 42.36ef      |
| 13                                     | 47.83         | 70.20 | 51.94 | 64.46 | 65.56 | 45.61 | 57.29 | 68.67 | 38.12 | 52.70 | 40.18 | 55.22 | 63.21 | 49.68 | 57.47 | 55.21g       |
| 14                                     | 37.51         | 36.71 | 24.67 | 21.48 | 31.82 | 27.99 | 25.59 | 34.58 | 33.64 | 17.31 | 22.11 | 21.66 | 18.50 | 37.60 | 34.33 | 28.37c       |
| 15                                     | 32.76         | 36.26 | 34.91 | 19.31 | 38.83 | 43.80 | 72.44 | 42.27 | 25.33 | 30.32 | 36.12 | 23.26 | 25.43 | 35.54 | 35.15 | 35.45cde     |
| 16                                     | 10.57         | 8.06  | 6.92  | 9.33  | 5.20  | 10.65 | 9.38  | 8.42  | 6.17  | 7.33  | 11.54 | 6.19  | 7.94  | 10.14 | 9.02  | 8.46a        |
| 17                                     | 15.29         | 16.07 | 15.26 | 16.56 | 18.91 | 20.35 | 29.95 | 24.58 | 12.70 | 10.87 | 17.60 | 8.10  | 11.60 | 14.11 | 14.27 | 16.41ab      |
| 18                                     | 10.16         | 12.71 | 10.27 | 7.97  | 10.31 | 11.08 | 8.74  | 11.35 | 14.91 | 5.98  | 4.77  | 8.62  | 5.39  | 15.16 | 9.46  | 9.79a        |
| 均值 Mean                                | 38.92         | 32.16 | 36.01 | 34.35 | 39.28 | 35.98 | 35.48 | 37.72 | 31.50 | 29.49 | 34.51 | 35.97 | 33.57 | 38.91 | 35.00 | 35.26        |

注:居群代码见表1,表型性状代码1~18见表2,下同。“均值”列不同字母表示性状间在0.05水平上差异显著。

Note: Code of population see table 1, codes of phenotypic traits 1-18 see table 2, the same below. Paired populations with the different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ) shown in 'Mean' line, and Paired traits with the different letters are significantly different ( $P < 0.05$ ) shown in 'Mean' column.

对15个核桃和泡核桃实生居群的18个表型性状进行巢式方差分析,计算出各分量占变异的比列。由表6可知:居群内方差分量占总变异的93.97%,居群间方差分量占6.03%;居群间18个表型性状的表型分化系数为0.16%~11.03%,平均为6.03%,18个表型性状分化最大的是刻纹,最小的是果底形状;18个性状方差分量百分比的居群内变异均大于居群间,说明居群内变异是该区域坚果表型变异的主要来源。

### 3.4 居群间表型综合性状的聚类分析

以所测的18个坚果表型性状的平均值为参数,利用核桃和泡核桃实生居群表型性状 Manhattan 距离进行UPGMA聚类分析,结果(图5)表明:当遗传距离为0.8时,15个核桃和泡核桃实生居群聚为7类。DC、HL、XC、PG聚为安宁河谷类;JY、LB、MG、

ZJ聚为大凉山类;GL、NN、MN聚为一类;HD单独一类,在遗传距离为0.9时与大凉山类聚为一类;YX、YY在遗传距离为1.1时聚为一类;ML与其它居群的遗传距离较远。聚类分析结果呈现了与地理距离或立地条件显著正相关的趋势。

## 4 讨论

表型标记是检测遗传变异的常规方法,虽然分子标记在某些方面能准确地反映物种的遗传多样性<sup>[15-19]</sup>,但表型标记仍发挥着无法替代的作用,尤其对一些分布广、变异性大的树种研究更为重要<sup>[20]</sup>。本文对凉山州15个实生居群330株单株的18个坚果表型性状的多样性分析结果表明,凉山州核桃和泡核桃资源具有丰富的表型多样性,不但涵盖了核桃属DUS测试指南中绝大多数坚果表型性状,

表6 凉山州核桃坚果表型方差分量和表型分化系数

Table 6 Variance components and phenotypic differentiation coefficients of nut phenotypic traits of walnut populations in Liangshan prefecture

| 表型性状代码<br>Code of phenotypic traits | 方差分量 Variance component  |                           | 方差分量百分比 Percentage of variance component /% |                           | 居群间表型分化系数<br>$V_{ST}/\%$ |
|-------------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------|--------------------------|
|                                     | 居群间<br>Among populations | 居群内<br>Within populations | 居群间<br>Among populations                    | 居群内<br>Within populations |                          |
| 1                                   | $3.63 \times 10^{-1}$    | 5.22                      | 6.50  | 93.50                     | 6.50                     |
| 2                                   | $6.03 \times 10^{-2}$    | 11.64                     | 0.52  | 99.48                     | 0.52                     |
| 3                                   | $1.56 \times 10^{-2}$    | $2.86 \times 10^{-1}$     | 5.19  | 94.81                     | 5.19                     |
| 4                                   | $1.68 \times 10^{-2}$    | 1.98                      | 0.84  | 99.16                     | 0.84                     |
| 5                                   | $1.84 \times 10^{-3}$    | $2.81 \times 10^{-1}$     | 0.65  | 99.35                     | 0.65                     |
| 6                                   | $2.91 \times 10^{-3}$    | 1.82                      | 0.16  | 99.84                     | 0.16                     |
| 7                                   | $2.97 \times 10^{-1}$    | 3.69                      | 7.46  | 92.54                     | 7.46                     |
| 8                                   | $3.00 \times 10^{-1}$    | 2.42                      | 11.03                                       | 88.97                     | 11.03                    |
| 9                                   | $6.05 \times 10^{-3}$    | $4.70 \times 10^{-1}$     | 1.27  | 98.73                     | 1.27                     |
| 10                                  | $7.35 \times 10^{-2}$    | $7.23 \times 10^{-1}$     | 9.23  | 90.77                     | 9.23                     |
| 11                                  | $6.61 \times 10^{-2}$    | $6.67 \times 10^{-1}$     | 9.01  | 90.99                     | 9.01                     |
| 12                                  | $1.37 \times 10^{-1}$    | 1.23                      | 10.07                                       | 89.93                     | 10.07                    |
| 13                                  | $4.06 \times 10^{-1}$    | 4.17                      | 8.87  | 91.13                     | 8.87                     |
| 14                                  | 1.47                     | 12.49                     | 10.53                                       | 89.47                     | 10.53                    |
| 15                                  | $1.46 \times 10^{-2}$    | $1.72 \times 10^{-1}$     | 7.81  | 92.19                     | 7.81                     |
| 16                                  | $3.09 \times 10^{-4}$    | $6.30 \times 10^{-3}$     | 4.68  | 95.32                     | 4.68                     |
| 17                                  | 5.73                     | 78.38                     | 6.81  | 93.19                     | 6.81                     |
| 18                                  | 1.01                     | 11.72                     | 7.92  | 92.08                     | 7.92                     |
| 均值 Mean                             | $5.54 \times 10^{-1}$    | 7.63                      | 6.03  | 93.97                     | 6.03                     |

还新增加3个垂直缝合纵切面形状,1个核仁皮色和缝合线条数等性状。坚果外观相关性状的 Simpson 指数和 Shannon-Wiener 指数变化分别为 0.201 ~ 0.855 和 0.649 ~ 2.873,其中,沿缝合线纵切面形状、垂直缝合线纵切面形状、刻窝数量和核仁皮色的多样性指数较高,表型多样性相对丰富;缝合线条数和缝合线突出程度多样性指数较低,多样性较差。由表5可见,沿缝合线纵切面形状、果底形状、刻纹深浅和核仁皮色等表型性状具有相对较高的变异系数,说明凉山州的坚果表型性状不但覆盖面广,还具有其独特的遗传资源,值得保护和利用。

分析各地核桃和泡核桃单果质量相关研究可知:我国广泛种植的16个早实核桃品种的单果质量为 9.4 ~ 16.4 g<sup>[21]</sup>,秦巴山区的为 4.11 ~ 22.87 g<sup>[6]</sup>,西藏的为 6.5 ~ 22.5 g<sup>[22]</sup>,四川(不含凉山州)的为 4.51 ~ 20.0 g<sup>[10]</sup>,伊朗的为 6.0 ~ 15.2 g<sup>[23]</sup>,罗马尼亚的为 6.8 ~ 18.4 g<sup>[24]</sup>。本研究区域的坚果单果质量为 3.29 ~ 27.56 g, < 5.0 g 和 > 20.0 g 的坚果具有一定比例。坚果三径均值,在四川,最小为 2.61 cm,最大为 4.68 cm<sup>[20]</sup>。本样本中,坚果三径均值最小为 2.12 cm,最大为 4.74 cm。由此可见,凉山州核桃和泡核桃资源丰富度较高。我国现行的《核桃坚果等级》<sup>[25]</sup>中要求,单果质量越大等级越

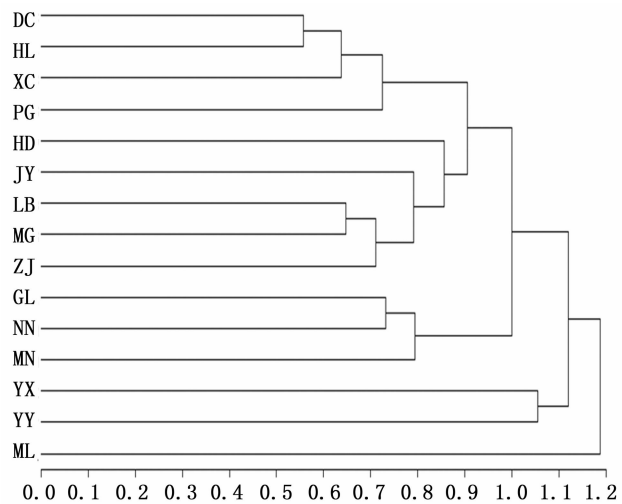


图5 15个实生居群基于坚果表型性状平均 Manhattan 距离聚类分析

Fig. 5 Cluster analyses of 15 walnut populations based on average Manhattan distance of nut phenotypic traits

高,该地区的大果型资源可为品种选育提供丰富的种质资源。

气候条件是影响物种多样性的重要因子。本研究中,各居群内的变异幅度具有显著性,而居群间的变异程度较小。15个居群间的表型分化系数为 6.03%,进一步说明居群内分化是凉山州核桃和泡

核桃资源变异的主要途径。这可能与该地区总体气候类型属亚热带季风气候但却有明显的山地气候垂直地带性有关。聚类结果显示,大凉山类中各居群的地理位置相邻,均位于大凉山山区,地貌相似,均具有典型的亚热带山地立体气候;安宁河谷类中各居群地理位置相邻,位于安宁河谷流域,地貌以中山、河谷为主,气候条件相似;GL和MN居群也属于地理距离相近,NN居群因气候条件相似与它们聚为一类;YX和YY居群则仅是气候条件相似;而ML居群与其他居群间地理距离较远,又有山脉河流阻隔,自有独特的高原山地气候,因此,遗传距离与其他居群较大。核桃和泡核桃作为栽培强度较大的树种,长期的人为选择、驯化和传播都可能是导致其表型分化的重要原因<sup>[26]</sup>;而其他居群均处于安宁河和金沙江流域,该地区自古以来是西南地区“南方丝绸之路”的交通要道,核桃常作为食物、礼品或货物往来于此,因此,较强的人为干扰也许是该地区核桃和泡核桃居群间分化不显著的另一个原因。

## 5 结论

凉山州坚果表型基本囊括核桃属 DUS 测试指南中已有坚果表型性状并新增部分性状特征,坚果表型性状的 Simpson 指数和 Shannon-Wiener 指数表明表型多样性相对丰富,坚果表型性状居群内变异大于居群间变异,居群间聚类结果显示其地理距离和气候条件与居群间呈正相关的趋势。因此,凉山州核桃和泡核桃资源丰富,特别是坚果表型多样性高。

## 参考文献:

- [1] 路安民. 论胡桃科植物的地理分布[J]. 中国科学院大学学报, 1982, 20(3): 257-274.
- [2] 吴波, 朱春全, 李迪强, 等. 长江上游森林生态区生物多样性保护优先区确定——基于生态区保护方法[J]. 生物多样性, 2006, 14(2): 87-97.
- [3] 吴万波, 韩华柏, 朱益川, 等. 川西高山峡谷区核桃种质资源表型多样性调查[J]. 经济林研究, 2007, 25(2): 42-44.
- [4] Wang H, Pei D, Gu R S, et al. Genetic diversity and structure of walnut populations in central and southwestern China revealed by microsatellite markers[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2008, 133: 197-203.
- [5] 朱益川, 韩华柏, 吴万波. 四川核桃及其栽培区划[J]. 四川林业科技, 2010, 31(2): 21-26.
- [6] 蒲光兰, 肖千文, 吴开志, 等. 四川核桃种质资源表型多样性研究[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2014, 40(2): 162-167.
- [7] GB 26909-2011-T 植物新品种特异性、一致性、稳定性测试指南-核桃属[S].
- [8] 徐永杰, 韩华柏, 王滑, 等. 大巴山区核桃实生居群的坚果表型和遗传多样性[J]. 林业科学, 2016, 52(5): 111-119.
- [9] 李志辉, 罗平. PASW/SPSS Statistics 中文版统计分析教程. 第3版[M]. 北京: 电子工业出版社, 2010.
- [10] 蒲光兰, 肖千文, 蔡利娟, 等. 四川核桃种质资源坚果的数量性状变异及概率分级[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2015, 41(6): 647-650.
- [11] 余家林, 肖枝洪. 多元统计及 SAS 应用[M]. 武汉: 武汉大学出版社, 2008.
- [12] 徐斌, 彭莉霞, 杨会肖, 等. 杜鹃红山茶叶片主要性状的遗传多样性分析[J]. 植物研究, 2015, 35(5): 730-734.
- [13] 张莹, 曹玉芬, 霍宏亮, 等. 基于花表型性状的梨种质资源多样性研究[J]. 园艺学报, 2016, 43(7): 1245-1256.
- [14] 钱迎倩. 生物多样性研究的原理与方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [15] Chen L N, Ma Q G, Chen Y K, et al. Identification of major walnut cultivars grown in China based on nut phenotypes and SSR markers[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 168: 240-248.
- [16] Wang H, Pan G, Ma Q G, et al. The genetic diversity and introgression of *Juglans regia*, and *Juglans sigillata*, in Tibet as revealed by SSR markers[J]. Tree Genetics & Genomes, 2015, 11(1): 1-11.
- [17] 柴春山, 芦娟, 蔡国军, 等. 文冠果人工种群的果实表型多样性及其变异[J]. 林业科学研究, 2013, 26(2): 181-191.
- [18] 邓绍勇, 曹泉, 余林, 等. 梔子野生居群叶片和果实性状的表型多样性[J]. 林业科学研究, 2015, 28(2): 289-296.
- [19] 秦倩, 王楠楠, 李金花, 等. 油橄榄品种表型和 SSR 标记的多样性及聚类分析[J]. 林业科学研究, 2016, 29(5): 676-681.
- [20] Ebrahimi A, Zarei A, Fatahi R, et al. Study on some morphological and physical attributes of walnut used in mass models[J]. Scientia Horticulturae, 2009, 121(4): 490-494.
- [21] 冯连芬, 吕芳德, 张亚萍, 等. 我国核桃育种及其栽培技术研究进展[J]. 经济林研究, 2006, 24(2): 69-73.
- [22] 王金星, 潘刚, 王滑, 等. 西藏核桃叶片和坚果表型多样性及其相关关系研究[J]. 林业科学研究, 2012, 25(2): 236-240.
- [23] Arzani K, Mansouri-Ardakan H, Vezvaei A, et al. Morphological variation among Persian walnut (*Juglans regia*) genotypes from central Iran[J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2008, 36(3): 159-168.
- [24] Cosmulescu S and Botu M. Walnut biodiversity in south-western Romania-resource for perspective cultivars[J]. Pakistan Journal of Botany, 2012, 44(1): 307-311.
- [25] GB/T 20398—2006. 核桃坚果质量等级[S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [26] Gunn B F, Aradhya M, Salick J M, et al. Genetic variation in walnuts (*Juglans regia* and *J. sigillata*; Juglandaceae): species distinctions, human impacts, and the conservation of agrobiodiversity in Yunnan, China[J]. American Journal Botany, 2010, 97(4): 660-671.

(责任编辑:徐玉秀)