

黑松·赤松无性系生长及生理生化的差异性分析

王文英¹, 连相汝², 赵倩宁³, 尚永胜⁴, 孙立民^{5*}

(1. 淄博市周村区林业保护发展中心, 山东淄博 255300; 2. 烟台市福山区应急管理局, 山东烟台 265500; 3. 山西农业大学, 山西晋中 030800; 4. 淄博市林业保护发展中心, 山东淄博 255022; 5. 黄河下游森林培育国家林业和草原局重点实验室/山东农业大学林学院, 山东泰安 271018)

摘要 对 12 个黑松无性系和 8 个赤松无性系进行生长及生理生化差异性分析。通过测定地径、树高、冠幅、可溶性糖含量、叶绿素含量、硝酸还原酶(NR)活性、多酚氧化酶(PPO)活性、过氧化物酶(POD)活性等指标对不同无性系进行综合评价。综合聚类分析结果, 筛选出黑松 1#、11#、14# 和赤松 23#、28# 5 个无性系生长性状良好, 具有较强的代表性, 是重要的种质资源, 应加以保护和利用。**关键词** 黑松; 赤松; 无性系; 生长特性**中图分类号** S718 **文献标识码** A**文章编号** 0517-6611(2023)05-0085-04**doi**: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.05.021

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Differences of Growth, Physiology and Biochemistry of *Pinus thunbergii* and *Pinus densiflora* Clones**WANG Wen-ying¹, LIAN Xiang-ru², ZHAO Qian-ning³ et al** (1. Zhoucun District Forestry Protection and Development Center, Zibo, Shandong 255300; 2. Yantai Fushan District Emergency Management Bureau, Yantai, Shandong 265500; 3. Shanxi Agricultural University, Jinzhong, Shanxi 030800)**Abstract** The growth, physiology and biochemistry characteristics of 12 *Pinus thunbergii* and 8 *P. densiflora* clones were analyzed by the indications of ground diameter, tree height, tree crown width, soluble sugar content, chlorophyll content, nitrate reductase (NR) activity, polyphenoloxidase (PPO) activity and peroxidase (POD) activity. Based on the clone characteristics and dendrogram analysis, a total of 5 clones with well growth characteristics, including 3 *P. thunbergii* (1#, 11# and 14#) and 2 *P. densiflora* (23# and 28#) resources, were selected for selection of superior clones, which should be protected and utilized in the future.**Key words** *Pinus thunbergii*; *Pinus densiflora*; Clones; Growth characteristics

黑松、赤松是我国东部沿海营造海岸林和瘠薄山地的先锋树种,在海岸防护和荒山绿化中发挥着重要作用。但由于现有黑松、赤松海防林立地条件较差,抚育间伐强度低,经营管理粗放,致使我国东部沿海海防林出现林分生长衰退、病虫害加剧等问题,严重影响黑松、赤松海防林的防护效能。因此,黑松良种选育及快速育苗技术已成为研究工作的重点^[1]。

通过无性系生长特性的差异进行优良种质筛选可为林业提供更多需求,推动造林良种进程。可溶性糖被誉为植物生长的记速器,是植物生长所需的必要物质,影响产量。叶绿素是植物叶片光合作用过程中不可缺少的色素,叶绿素含量增加能够促进叶片的光合作用。硝酸还原酶(NR)是植物体内硝态氮同化的调节酶和限速酶,对外界氮肥反应敏感,是植物对氮素吸收利用中的关键因子。多酚氧化酶(PPO)是抵抗不良环境、维持作物正常生理特性的保护性酶。过氧化物酶(POD)是作物体内的保护性酶,能及时中和体内多余氧分,延缓叶片与根系的衰老^[2-5]。笔者以黑松、赤松无性系为研究对象,测定不同生长及生理生化指标,筛选优良无性系,旨在为后续黑松、赤松良种选育提供理论基础。

1 材料与方**1.1 试验地概况** 试验地位于山东省烟台市芝罘区烟台市**基金项目** 山东省农业良种工程“抗逆树种种质资源收集保存与精准鉴定”(2019LZGC01803);山东省高等学校青创人才引育计划“林木生物技术研究团队”。**作者简介** 王文英(1964—),男,山东淄博人,高级工程师,从事林业生产研究。*通信作者,讲师,博士,从事林木种质资源评价与创新利用研究。**收稿日期** 2022-05-07

林业科学研究所黑松、赤松无性系资源栽培基地,该地区位于山东半岛东部烟台市境地(36°16'~38°23'N, 119°34'~121°57'E),属北温带季风型大陆性气候,年平均降水量 651.9 mm,平均气温 12.11℃,年均相对湿度 68%。受海洋影响明显,昼夜温差小、湿度大,多大风,无霜期 210 d。土壤肥力中等,适宜经济林果生产。

1.2 供试材料 试验材料包含 12 个黑松无性系和 8 个赤松无性系,母树来源于日本引进黑松、赤松家系中选择的优树,采集优树接穗于 2009 年在烟台市林业科学研究所基地嫁接、保存。20 份种质资源统计及生长情况见表 1。**1.3 试验方法** 可溶性糖含量采用蒽酮比色法测定,在 630 nm 波长下测定吸光度并根据标准曲线推算可溶性糖含量;叶绿素含量采用浸提法测定,分别在 649 和 665 nm 波长下测定 OD 值,计算叶绿素 a 和叶绿素 b 含量^[6]。NR 活性采用活体法测定,于分光光度计 540 nm 处进行比色,根据光密度计算 NR 酶活性;PPO 活性采用 NBT 还原法测定,在分光光度计 460 nm 处测定吸光度;POD 活性采用愈创木酚法测定,在 470 nm 波长处进行比色,并计算 POD 酶活性^[7]。**1.4 数据处理** 采用 Excel 2010 进行数据录入和整理,采用 SAS 9.3 进行数据的单因素方差分析,计算标准误,并进行多重比较。图表绘制由 Excel 2010 完成,指标间的相关性分析由 SPSS 20.0 完成,系统聚类分析由 SAS 9.3 完成。**2 结果与分析****2.1 黑松、赤松无性系生理生化特性** 研究 12 个黑松无性系和 8 个赤松无性系苗木的可溶性糖含量、叶绿素含量及 NR、PPO 和 POD 活性等指标。由表 2 可知,黑松无性系的

表 1 不同无性系黑松、赤松资源统计

Table 1 Statistics of *P. thunbergii* and *P. densiflora* clone resources

无性系号 Clone No.	母树来源 Source	树种 Species	地径 Ground diameter//cm	树高 Tree height//m	冠幅 Tree crown width//m
1#	下关 1 号	黑松	5.65 a	1.55 bcd	1.52 abcd
2#	下关 3 号	黑松	3.73 bcd	1.43 cd	0.97 cde
3#	下关 4 号	黑松	3.74 bcd	1.05 d	0.72 e
4#	下关 7 号	黑松	4.32 abcd	1.43 cd	1.62 abc
5#	下关 8 号	黑松	3.57 bcd	1.67 bcd	1.33 abcde
6#	下关 9 号	黑松	2.86 d	2.25 abcd	1.08 bcde
9#	下松 1 号	黑松	3.32 cd	1.43 cd	0.90 de
11#	大岛 6 号	黑松	3.83 bcd	2.63 abc	1.50 abcd
12#	丰浦 1 号	黑松	2.95 d	2.73 ab	1.78 a
14#	吉敷 3 号	黑松	4.97 ab	3.02 a	1.70 ab
15#	吉敷 4 号	黑松	3.90 bcd	1.27 d	0.93 de
16#	萩 3 号	黑松	4.57 abcd	2.08 abcd	1.15 abcde
18#	吉敷 1 号	赤松	1.84 d	0.88 d	0.39 e
19#	丰浦 1 号	赤松	3.62 abc	2.05 bc	1.38 bc
22#	大津 5 号	赤松	3.36 bc	2.93 a	1.33 c
23#	大岛 1 号	赤松	4.15 ab	2.60 ab	1.80 a
24#	熊毛 1 号	赤松	3.00 c	1.42 cd	0.50 e
28#	玖珂 2 号	赤松	4.41 a	1.60 cd	1.43 bc
29#	玖珂 3 号	赤松	3.28 bc	3.10 a	1.73 ab
31#	玖珂 8 号	赤松	3.30 bc	1.48 cd	0.95 d

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$).

溶性糖含量为 397.92(6#)~1 096.88 $\mu\text{g/g}$ (16#), 平均含量为 755.21 $\mu\text{g/g}$; 叶绿素含量为 2.60(15#)~6.67 mg/g (14#), 平均含量为 4.31 mg/g ; NR 活性为 11.29(12#)~13.64 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (1#), 平均值为 12.35 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$; PPO 活性为 0.05(16#)~0.24 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$ (3#), 平均值为 0.12 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$; POD 活性为 37.50(6#)~255.00 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ (1#), 平均值为 123.25 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

赤松无性系的可溶性糖含量为 491.67(31#)~

1 280.21 $\mu\text{g/g}$ (28#), 平均含量为 896.88 $\mu\text{g/g}$; 叶绿素含量为 3.02(24#)~5.33 mg/g (29#), 平均含量为 4.35 mg/g ; NR 活性为 10.68(24#)~13.22 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$ (22#), 平均值为 12.03 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$; PPO 活性为 0.04(23#)~0.26 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$ (28#), 平均值为 0.13 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$; POD 活性为 44.83(31#)~261.67 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ (23#), 平均值为 156.44 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。方差分析结果表明, 不同无性系之间各生长指标显著性较好。

表 2 黑松、赤松无性系生长特性分析

Table 2 Analysis of growth characteristics of *P. thunbergii* and *P. densiflora* clone resources

指标 Index	黑松 <i>P. thunbergii</i>					赤松 <i>P. densiflora</i>				
	可溶性糖含量 Soluble sugar content $\mu\text{g/g}$	叶绿素含量 Chlorophyll content mg/g	NR 活性 NR activity $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$	PPO 活性 PPO activity $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$	POD 活性 POD activity $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$	可溶性糖含量 Soluble sugar content $\mu\text{g/g}$	叶绿素含量 Chlorophyll content mg/g	NR 活性 NR activity $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$	PPO 活性 PPO activity $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$	POD 活性 POD activity $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$
最小值 Minimum	397.92(6#)	2.60(15#)	11.29(12#)	0.05(16#)	37.50(6#)	491.67(31#)	3.02(24#)	10.68(24#)	0.04(23#)	44.83(31#)
最大值 Maximum	1 096.88(16#)	6.67(14#)	13.64(1#)	0.24(3#)	255.00(1#)	1 280.21(28#)	5.33(29#)	13.22(22#)	0.26(28#)	261.67(23#)
平均值 Average	755.21	4.31	12.35	0.12	123.25	896.88	4.35	12.03	0.13	156.44
F 值 F value	1.679	2.627	12.022	1.808	2.061	4.045	2.480	3.886	5.544	1.199

2.2 黑松、赤松无性系苗木生理生化指标与植株生长的相关性 对黑松各指标的相关性进行分析可知, 可溶性糖含量与地径、树高、冠幅相关系数分别为 0.191、0.503、0.321, 均呈正相关; 叶绿素含量与地径、树高、冠幅相关系数分别为 0.322、0.644、0.541, 均呈正相关, 其中与树高呈显著正相关; NR 活性与地径、树高、冠幅相关系数分别为 0.576、-0.166、0.122; PPO 活性与地径、树高、冠幅相关系数分别为 -0.554、

-0.097、-0.290, 均呈负相关; POD 活性与地径、树高、冠幅相关系数分别为 0.804、0.261、0.280, 均呈正相关, 其中与地径呈极显著正相关(表 3)。

对赤松各指标的相关性进行分析可知, 可溶性糖含量与地径、树高、冠幅相关系数分别为 -0.046、0.174、0.275; 叶绿素含量与地径、树高、冠幅相关系数分别为 -0.044、0.353、0.470; NR 活性与地径、树高、冠幅相关系数分别为 0.391、

0.661、0.786,其中与冠幅呈显著正相关;PPO与地径、树高、冠幅相关系数分别为-0.005、-0.425、-0.540,均呈负相关;

POD与地径、树高、冠幅相关系数分别为-0.092、0.601、0.464(表3)。

表3 黑松、赤松各项指标相关性分析

Table 3 The correlation analysis of various indicators of *P. thunbergii* and *P. densiflora*

树种 Tree species	指标 Index	地径 Ground diameter	树高 Tree height	冠幅 Crown diameter	可溶性糖含量 Soluble sugar content	叶绿素含量 Chlorophyll content	NR活性 NR activity	PPO活性 PPO activity	POD活性 POD activity
黑松 <i>P. thunbergii</i>	地径		-0.020	0.309	0.191	0.322	0.576	-0.554	0.804**
	树高	0.412		0.684*	0.503	0.644*	-0.166	-0.097	0.261
	冠幅	0.465	0.822*		0.321	0.541	0.122	-0.290	0.280
赤松 <i>P. densiflora</i>	可溶性糖含量	-0.046	0.174	0.275		0.27	-0.346	-0.046	0.239
	叶绿素含量	-0.044	0.353	0.470	-0.153		0.088	-0.192	0.492
	NR活性	0.391	0.661	0.786*	0.186	0.376		-0.265	0.498
	PPO活性	-0.005	-0.425	-0.540	-0.448	-0.548	-0.057		-0.398
	POD活性	-0.092	0.601	0.464	-0.315	0.578	0.319	-0.426	

注: *表示显著相关($P < 0.05$), **表示极显著相关($P < 0.01$)。

Note: * indicates significant correlation ($P < 0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P < 0.01$).

2.3 黑松、赤松优良无性系选择 综合黑松、赤松各无性系生长状况和生理生化状况调查,选取地径、树高、冠幅、可溶性糖含量、叶绿素含量、NR活性、PPO活性、POD活性8个指标,对无性系进行聚类分析(图1)。采用欧氏距离聚类将12个黑松无性系分为5类,第1类包括14#、11#2个无性系,第2类包括1#1个无性系,第3类包括16#1个无性系,第4类包括12#1个无性系,第5类包括9#、6#、15#、2#、3#、5#、4#7个无性系。通过综合分析,第1类中14#(吉敷3号)、11#(大岛6号)和第2类中1#(下关1号)无性系各项指标优异,

生长状况较好,可作为优良无性系的备选,第5类无性系生长状况较差,应当加强保护和管理。

采用欧氏距离聚类将8个赤松无性系分为4类,第1类包括23#1个无性系,第2类包括28#1个无性系,第3类包括31#、29#、19#、24#4个无性系,第4类包括18#、22#2个无性系。通过综合分析,第1类23#(大岛1号)和第2类28#(玖珂2号)各项指标优异,生长状况较好,可作为优良无性系的备选,第4类无性系生长状况较差,应当加强保护和管理。

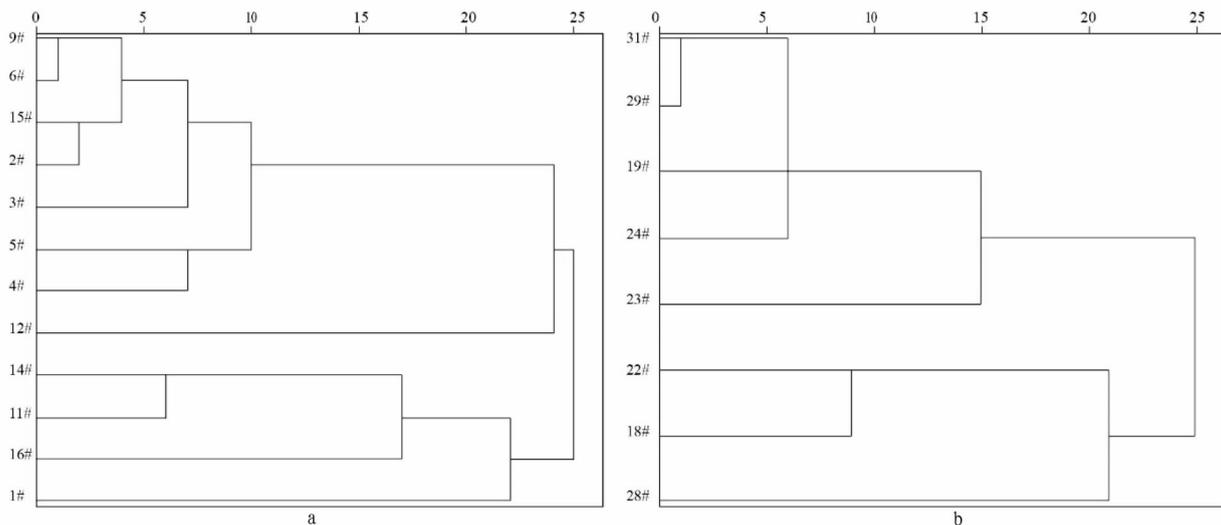


图1 黑松(a)、赤松(b)无性系聚类分析图

Fig.1 Dendrogram analysis of *P. thunbergii* (a) and *P. densiflora* (b) clone resources

综合黑松、赤松无性系聚类分析结果,选择出3个黑松优良无性系和2个赤松优良无性系:

黑松1#(下关1号):平均地径5.65 cm,平均树高1.55 m,平均冠幅1.52 m,平均可溶性糖含量713.54 $\mu\text{g/g}$,平均叶绿素含量4.26 mg/g,平均NR活性13.64 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,平均PPO活性0.09 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$,平均POD活性255.00 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

黑松11#(大岛6号):平均地径3.83 cm,平均树高

2.63 m,平均冠幅1.50 m,平均可溶性糖含量847.92 $\mu\text{g/g}$,平均叶绿素含量4.93 mg/g,平均NR活性12.50 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,平均PPO活性0.05 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$,平均POD活性217.50 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

黑松14#(吉敷3号):平均地径4.97 cm,平均树高3.02 m,平均冠幅1.70 m,平均可溶性糖含量839.59 $\mu\text{g/g}$,平均叶绿素含量6.67 mg/g,平均NR活性12.80 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,平均PPO活性0.09 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$,平均POD活性

255.00 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

赤松 23#(大岛 1 号): 平均地径 4.15 cm, 平均树高 2.60 m, 平均冠幅 1.80 m, 平均可溶性糖含量 941.67 $\mu\text{g}/\text{g}$, 平均叶绿素含量 4.78 mg/g , 平均 NR 活性 12.19 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 平均 PPO 活性 0.04 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$, 平均 POD 活性 261.67 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

赤松 28#(玖珂 2 号): 平均地径 4.41 cm, 平均树高 1.60 m, 平均冠幅 1.43 m, 平均可溶性糖含量 1280.21 $\mu\text{g}/\text{g}$, 平均叶绿素含量 4.64 mg/g , 平均 NR 活性 12.07 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 平均 PPO 活性 0.05 $\Delta\text{A} 0.01/(\text{min}\cdot\text{g})$, 平均 POD 活性 142.50 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{min})$ 。

3 结论与讨论

黑松和赤松均为常绿乔木, 具有很强的海岸线造林和瘠薄山地造林能力。利用表型分析对现有黑松、赤松生长状况进行评价, 具有简便、快速、易行的特点。以表型指标进行无性系生长状况测定已经在日本落叶松 (*Larix kaempferi*)、思茅松 (*Pinus kesiya*)、湿加松 (*Pinus elliotii* × *P. caribaea* Morelet) 等树种中广泛得到应用^[8-10]。该研究通过对黑松和赤松地径、树高和冠幅等指标进行比较分析得出, 在立地条件和经营管理条件相同的情况下, 黑松的地径、树高、冠幅均大于赤松。

该研究选择可溶性糖含量、叶绿素含量、NR 活性、PPO 活性、POD 活性 5 个指标对黑松和赤松无性系进行生理生化评价。通过对比分析, 赤松的可溶性糖含量、叶绿素含量、PPO 活性和 POD 活性均高于黑松, 黑松的 NR 活性略高于赤松。该研究中黑松、赤松的 PPO 活性、POD 活性与康娟等^[11]对丝瓜 (*Luffa cylindrica*) 及彭兰华等^[12]对黑松松针的研究结果相比, 吸光度变化增幅小, 这可能与试验时间 12 月温度较低以及松树的松针外在形状有关。郑丹^[13]对甜瓜 (*Cucumis melo*) 幼苗根系发育特性研究得出, 3 个品种的根系形态指标除了与 PPO、AAO 呈负相关性外, 其他根系生理生化指标与根系各形态指标均呈正相关。该研究从生理生化指标与生长状况的相关性来看, 可溶性糖含量、叶绿素含量、POD 活性与生长状况呈正相关, 而 PPO 活性与生长状况呈负相关关系, 这与魏鹏^[14]对茶树抗旱性部分生理生化指标

的研究结果以及罗汉松 (*Podocarpus macrophyllu*)、杉木 (*Cunninghamia lanceolata*)、银杏 (*Ginkgo biloba*)、欧洲榛子 (*Corylus avellana*) 等的研究结果一致^[15-17]。黑松、赤松无性系生理生化指标与生长指标之间呈现出差异的显著性, 能够为后期无性系种质资源的评价提供研究基础。

综合地径、树高、冠幅、可溶性糖含量、叶绿素含量、NR 活性、PPO 活性、POD 活性等指标评价及聚类分析结果, 黑松 1#、11#、14# 和赤松 23#、28# 5 个无性系生长性状良好, 具有较强的代表性, 应加以保护和利用。

参考文献

- [1] 张鹏飞, 李杰, 王虎, 等. 种子园黑松、赤松无性系生长特性分析[J]. 山东林业科技, 2019, 49(4): 18-22.
- [2] 李明玉, 曹辰兴, 于喜艳. 低温锻炼对冷胁迫下黄瓜幼苗保护性酶的影响[J]. 西北农业学报, 2006, 15(1): 160-164.
- [3] 王川, 谢惠民, 王娜, 等. 小麦品种可溶性糖和保护性酶与抗旱性关系研究[J]. 干旱地区农业研究, 2011, 29(5): 94-99.
- [4] 张乃群, 刘彦娜, 解艳华. 盐胁迫对野生大豆幼苗生长的影响[J]. 大豆科学, 2012, 31(6): 920-923.
- [5] 孙常青, 杨艳君, 郭志利, 等. 施肥和密度对杂交谷可溶性糖、可溶性蛋白及硝酸还原酶的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(5): 1169-1177.
- [6] WU Q K, ZHANG Z H, PENG H, et al. The nutrient distribution in the continuum of the pericarp, seed coat, and kernel during *Styrax tonkinensis* fruit development[J]. PeerJ, 2019, 7: 1-22.
- [7] 李合生. 现代植物生理学[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [8] 杜超群, 许业洲, 孙晓梅, 等. 鄂西亚高山区日本落叶松无性系生长性状变异分析与早期选择[J]. 华中农业大学学报, 2015, 34(3): 19-23.
- [9] 薛必猛, 姜远标, 李根前. 思茅松无性系种子园半同胞子代遗传测定研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(21): 129-132.
- [10] 郭文丽, 李义良, 赵奋成, 等. 湿加松无性系表型遗传多样性研究[J]. 植物研究, 2019, 39(2): 259-266.
- [11] 康娟, 庄尹宏, 林碧英, 等. 丝瓜多酚氧化酶及过氧化物酶酶学特性的研究[J]. 福建农业学报, 2017, 32(8): 854-858.
- [12] 彭兰华, 高甜慧. 青变菌毒素对黑松松针可溶性 Pr、POD 酶和 PPO 酶活性的影响[J]. 河南林业科技, 2004, 24(2): 4-5.
- [13] 郑丹. 甜瓜幼苗根系发育特性及其对地上部生长影响的研究[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2015.
- [14] 魏鹏. 茶树抗旱性部分生理生化指标的研究[D]. 重庆: 西南农业大学, 2003.
- [15] 周国璋, 苏梦云. 杉木硝酸还原酶活力、氮素贮藏与其生长的关系[J]. 林业科学研究, 1993, 6(2): 141-147.
- [16] 付文琦. 银杏半同胞家系苗期生长、生理生化特性分析及速生家系选择[D]. 泰安: 山东农业大学, 2018.
- [17] 张明月. 施肥对罗汉松苗木生长及生理的影响[D]. 南宁: 广西大学, 2019.

(上接第 77 页)

- [21] MARTÍNEZ-GONZÁLEZ C R, RAMÍREZ-MENDOZA R, JIMÉNEZ-RAMÍREZ J, et al. Improved method for genomic DNA extraction for *O-puntia* Mill. (Cactaceae)[J]. Plant methods, 2017, 13: 1-10.
- [22] 农全东, 张明永, 张美, 等. 火龙果茎基因组 DNA 提取方法改良[J]. 植物学报, 2019, 54(3): 371-377.
- [23] OKUNISHI T, TAKAKU N, WATTANAWIKKIT P, et al. Lignan production in *Daphne odora* cell cultures[J]. The Japan wood research society,

2002, 48(3): 237-241.

- [24] 严廷良, 许惠秋, 张颖, 等. 改良 CTAB 法对提取玫瑰 DNA 质量的影响[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2014, 27(4): 412-415.
- [25] GREEN M R, SAMBROOK J. Molecular cloning: A laboratory manual [M]. Fourth Edition. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2017.
- [26] 张金丽, 张罗霞, 杨坤梅, 等. 改良 CTAB 法对山茶属植物基因组 DNA 提取的比较研究[J]. 江西农业大学学报, 2017, 39(4): 785-791.

(上接第 84 页)

- [37] WOLF Y I, ROGOZIN I B, GRISHIN N V, et al. Genome trees constructed using five different approaches suggest new major bacterial clades[J]. BMC evolutionary biology, 2001, 1(1): 1-22.
- [38] GIRIBET G, EDGEcombe G D, WHEELER W C. Arthropod phylogeny

based on eight molecular loci and morphology [J]. Nature, 2001, 413(6852): 157-161.

- [39] GRANDJEAN F, TAN M H, GAN H M, et al. Rapid recovery of nuclear and mitochondrial genes by genome skimming from Northern Hemisphere freshwater crayfish[J]. Zoologica scripta, 2017, 46(6): 718-728.