

云南松、思茅松和卡西亚松天然种群间的针叶表型变异

李卫英^{1,2} 章正仁² 辛雅萱¹ 王 飞¹ 辛培尧^{1*} 高 洁^{2*}

¹西南林业大学国家林业和草原局西南风景园林工程技术研究中心, 西南林业大学西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室, 昆明 650224; ²中国科学院西双版纳热带植物园热带森林生态学重点实验室, 云南勐腊 666303

摘 要 研究近缘种复合体的针叶表型变异及其地理分布格局, 有助于从生理生态机制上理解针叶树种的地理变异、种群动态以及对区域气候的响应。云南松(*Pinus yunnanensis*)、思茅松(*P. kesiya* var. *langbianensis*)和卡西亚松(*P. kesiya*)是一个跨越了东南亚热带和亚热带地区的近缘种复合体, 具有典型的地理替代分布特征, 拥有丰富的表型变异和遗传变异。该研究在3种松树分布区采集了31个代表种群, 每个种群选择10个样木, 测量了针叶长度、气孔密度、气孔保卫细胞长度和宽度、木质增厚层长度和宽度、气孔腔长度和宽度等共8个性状。采用巢式方差分析计算性状在树种间和种群间的差异, 通过主成分分析和聚类分析揭示针叶性状的种群变异结构; 分析针叶性状随纬度的变化规律, 运用多元线性回归模型来确定影响针叶性状变异的主要环境因子。结果表明: (1)针叶性状在种群间的变异系数为12.01%–34.08%, 气孔保卫细胞长度、木质增厚层长度和宽度、针叶长度和气孔密度的表型分化系数较高; (2)云南松和卡西亚松在大多数性状上存在显著差异, 思茅松介于二者之间, 聚类分析结果表明3种松树针叶性状的种群变异结构与其地理区域分布一致; (3)针叶长度和气孔密度与纬度正相关, 气孔腔长度和宽度与纬度负相关; (4)影响针叶性状变化的关键环境因子是最干季平均气温、降水量季节性变异系数、平均气温日较差、最湿月降水量和最干月降水量。3种松树针叶性状具有丰富的种间和种群间变异, 呈现显著的纬度梯度变异趋势, 反映了其对环境长期适应的结果。热带亚热带松树针叶性状变异及其对环境因子的响应可为造林育种的地理种源选择提供科学依据。

关键词 云南松; 思茅松; 卡西亚松; 地理变异; 针叶; 解剖性状; 温度; 降水

李卫英, 章正仁, 辛雅萱, 王飞, 辛培尧, 高洁 (2023). 云南松、思茅松和卡西亚松天然种群间的针叶表型变异. 植物生态学报, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

Needle phenotype variation among natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*

LI Wei-Ying^{1,2}, ZHANG Zheng-Ren², XIN Ya-Xuan¹, WANG Fei¹, XIN Pei-Yao^{1*}, and GAO Jie^{2*}

¹Southwest Research Center for Engineering Technology of Landscape Architecture National Forestry and Grassland Administration, Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; and ²CAS Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China

Abstract

Aims Investigating the needle phenotypic variation and its geographical distribution pattern of related species complexes will aid in understanding conifer geographic variation, population dynamics, and physiological and ecological responses to geographical climates. Here we focus on the *Pinus kesiya*, *P. yunnanensis*, and the hybrid species *P. kesiya* var. *langbianensis*, which are primarily distributed across tropical and subtropical Southeast Asia, exhibiting abundant climate and genetic variation.

Methods We selected thirty-one representative populations covering the distribution areas of three pine species, and sampled ten individuals from each population. Eight traits were measured, including needle length, stomatal density, stomatal guard cell length, stomatal guard cell width, woody thickening layer length, woody thickening layer width, stomatal cavity length, and stomatal cavity width. Variation between species and populations was assessed using a nested variance analysis. Principal components analysis was applied to evaluate the underlying

收稿日期Received: 2022-06-22 接受日期Accepted: 2022-10-31

基金项目: 国家自然科学基金(31770701)和云南省基础研究专项(202201AT070217)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (31770701) and the Basic Research Program of Yunnan Province (202201AT070217).

* 通信作者Corresponding authors (Xin PY, xpytgyx@163.com; Gao J, gaojie@xtbg.org.cn)

dimensionality of the needle variation. Clustering analysis among populations was performed using the Ward method to infer the population structure. Pearson's correlation coefficient between latitude and needle characters was assessed. Finally, a multiple linear regression model was used to identify the main environmental factors influencing needle trait variation.

Important findings The variation coefficients of the eight needle traits ranged from 12.01% to 34.08% across populations. The phenotypic differentiation coefficient was higher for stomata guard cell length, woody thickening layer length and width, needle length, and stomatal density. Most morphological needle characteristics were significantly different between *P. yunnanensis* and *P. kesiya*, while *P. kesiya* var. *langbianensis* showed intermediate values between the two parental pines. Hierarchical clustering analysis showed that the variation pattern of needle traits was related to geographical region. Needle length and stomatal density were positively correlated with latitude, while the stomatal cavity length and width were negatively correlated with latitude. The key environmental factors affecting the needle traits of the three pine species were mean temperature during the driest quarter, precipitation seasonality, mean diurnal range, precipitation during wettest month, and precipitation during the driest month. The needle traits of the three pine species displayed high interspecific and interpopulation variation. The significant latitudinal gradient trend in needle trait variation indicates long-term evolutionary adaptation to the environment. The response of needle character variation to environmental factors can provide essential insights for geographical provenance selection in afforestation breeding

Key words *Pinus yunnanensis*; *Pinus kesiya* var. *langbianensis*; *Pinus kesiya*; geographical variation; needle; anatomical characters; temperature; precipitation

Li WY, Zhang ZR, Xin YX, Wang F, Xin PY, Gao J (2023). Needle phenotype variation among natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

植物的表型变异是其本身遗传多样性和环境共同作用的结果,也是植物适应环境的表现形式(Turna & Güney, 2009; Sevik *et al.*, 2010; 徐豪等, 2019)。研究植物的表型多样性不仅能了解植物种群遗传变异的大小,而且有助于了解植物适应性进化的方式、机制及其影响因素(贾子瑞等, 2011; Xing *et al.*, 2014; 蔡金峰等, 2021)。多年生林木种内有着丰富的表型及遗传变异,决定了其对环境的适应能力,是维持森林生态系统长期稳定的基础(Jasińska *et al.*, 2013)。松属(*Pinus*)隶属于松科,是雌雄同株的常绿针叶乔木,作为全球森林生态系统中的关键类群,在世界上分布范围极广,从高纬度的北极地区一直延伸到热带地区,纬度跨度达70°以上(Jin *et al.*, 2021)。因此,松属物种具备高度的适应性和可塑性以应对异质环境,对其表型变异的研究将有助于理解物种的适应性进化。针叶作为松属树种最具活力的营养器官,通常成束生长,且每束针叶个数较为稳定(Jasińska *et al.*, 2013),其形态特征在一定程度上可作为松属物种分类的重要参考依据(郑万钧和傅立国, 1978; 刘永良, 2011)。同时,针叶树种的针叶形态变异也是适应进化的结果,其形态和解剖特征与其生理功能(光合作用、呼吸、水分代谢、抗逆性等)密切相关,被广泛用于地理变异、系统发

育和适应性进化等相关研究(Eguchi *et al.*, 2004; Androsiuk *et al.*, 2011; Mao *et al.*, 2012; Jasińska *et al.*, 2013)。因此,研究跨越较大地理尺度的松树种群的针叶形态解剖特征变异将有助于揭示不同地理种群的针叶表型多样性,并从生理生态机制上探讨针叶树种的地理变异、种群动态以及对地理气候的响应机理(Xing *et al.*, 2014; Huang *et al.*, 2016; Jankowski *et al.*, 2019)。

目前我国松树造林树种主要有马尾松(*P. massoniana*)、油松(*P. tabulaeformis*)、华山松(*P. armandii*)、落叶松(*Larix gmelinii*)、云南松(*P. yunnanensis*),以及从国外引种的湿地松(*P. elliotii*)和火炬松(*P. taeda*)等。我国当前的松树种质资源还比较单一,遗传资源匮乏,亟需收集全球具有重要遗传价值的松树种质资源。松属物种在热带少量分布,但因其能够适应热带山地的独特气候环境,具有重要的遗传价值和育种潜力。卡西亚松(*P. kesiya*)广泛分布于热带东南亚地区,覆盖了泰国、老挝、越南、缅甸、菲律宾、马来西亚、印度尼西亚等多个国家,是整个东南亚地区重要的松树用材树种(Missanjo & Matsumura, 2016; 杨雪艳等, 2019)。云南松主要分布于中国云南、四川、广西等亚热带地区(戴开结等, 2006; 陈飞等, 2012)。思茅松(*P. kesiya*

var. *langbianensis*)位于滇南思茅、宁洱、景洪等热带区域,在以往的研究中被认为是卡西亚松的一个地理变种(吴征镒等, 1987; 吴兆录, 1994)。三者的系统关系一直以来没有得到彻底解决,早期学者认为应该将云南松、思茅松以及在滇东南和西藏分布的高山松(*P. densata*)都应做为卡西亚松的变种(Turnbull *et al.*, 1980),但后期学者研究发现高山松是云南松与油松的杂交种(Wang *et al.*, 2011; Gao *et al.*, 2012)。虽然云南松跟卡西亚松的关系更近,但基于形态学和化学成分的研究认为云南松和卡西亚松有显著的区别,应该是独立的物种(Businský *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2014)。本研究中3种松树跨越了较大的地理区域,分布区呈现替代性地理分布,具有丰富的气候变异,同时种内具有丰富的遗传变异,种间存在一定的基因交流。显著而多样的局部适应性使卡西亚松、云南松、思茅松构成了一个具有显著生境分化和杂交渐渗的松属内近缘种复合体。

目前国内关于云南松、思茅松的表型及遗传多样性的分析还只是局限于种内的少数种群,而针对卡西亚松天然种群变异水平的研究也仅见于少数越南种群的报道(Wang *et al.*, 1996; Santisuk *et al.*, 1997)。Huang等(2016)对分布于云南省的7个云南松种群的22个针叶形态和解剖特征进行了分析,结果表明所有性状在种群间和种群内的变异均存在显著差异。许玉兰等(2018)对云南松9个天然种群的球果性状进行分析,发现球果性状在种群间和种群内差异极显著,存在广泛的表型变异。李帅锋等(2013)对云南省11个思茅松天然种群的种实性状进行了研究,以此探讨思茅松种群间和种群内的表型差异,结果表明思茅松种群间和种群内种实表型性状差异显著。而整合3种松树的表型研究仅Zhang等(2022)对卡西亚松、云南松以及思茅松的种子形态结合环境因子和纬度梯度进行了研究,结果表明环境因素影响了松树种子的表型变异,而细胞质基因组的遗传变异与不同种松树的种子萌发适合度显著相关。目前对于该复合体种间重要表型性状变异、遗传变异,以及对其立地环境的适应性所知甚少。基于以上背景,本研究关注的科学问题是:针叶表型变异是否能解释云南松、思茅松和卡西亚松的地理替代分布格局?本研究针对云南松、思茅松和卡西亚松3种松树进行了覆盖全分布区、跨越东南亚数个国家的大区域尺度取样,解析了31个代表性天然种群的

针叶形态和解剖学特征的变异,旨在揭示:(1)3种松树种间和种群间针叶性状特征的变异程度、地理分布规律;(2)3种松树针叶性状特征与地理、环境因子的相关性。研究结果将有助于深入认识松属不同物种大区域尺度的地理种群表型变异规律,为揭示松属植物适应性进化提供形态学和生态学的研究基础,同时也为松属植物遗传育种、种质资源的保育与利用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 样本采集及气候数据获取

根据中国植物志(<http://www.iplant.cn/frps>)以及Global Biodiversity Information Facility (<https://www.gbif.org/>)的松树分布记录,于2015–2018年开展野外考察和样本采集。取样范围覆盖中国云南,以及老挝、越南、缅甸、菲律宾等多个国家共31个天然种群(表1;图1)。从每个天然种群中随机抽取15–20株树,每株树年龄在25年以上、树间间隔至少50 m。每株树采集2年生、处于树冠中上部的3–6个枝条上的针叶(40束以上),分别按单株装袋,编号后运回实验室,放入–20 °C的冰箱备用。在采集样品的同时,应用GPS工具对采样点松树种群分布的地理坐标信息(经纬度、海拔)进行了精确定位。

从WorldClim数据库(<http://www.worldclim.org/>)下载1960年至今的19个气候变量的数据。计算19个气候变量间的Pearson相关系数,最终保留相关系数<0.8的8个气候变量——平均气温日较差(BIO2)、等温性(BIO3)、最湿季平均气温(BIO8)、最干季平均气温(BIO9)、最湿月降水量(BIO13)、最干月降水量(BIO14)、降水量季节变异系数(BIO15)以及最暖季降水量(BIO18)。

1.2 针叶性状指标测定

利用电子游标卡尺测量针叶长度(每个种群随机选取10个个体,每个个体随机选取10根针叶)。从针叶中部取1 cm左右的样品放入KCl、HNO₃和水体积比为1:1:1配置的溶液中,浸泡至白色;再转移到5% NaOH溶液中继续浸泡至透明。将透明片段在体视镜下进行解剖,沿着针叶轴面剖开,刮去叶肉细胞和维管束,获得完整的透明上表皮。随后滴入番红染液进行染色,在上表皮由透明完全转为粉色后取出并用清水冲洗,放置载玻片上展平,滴加一滴甘油制成装片。用显微镜DM 2000 (Leica

表1 云南松、卡西亚松及思茅松采集信息表
Table 1 Sample informations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* and *P. kesiya* var. *langbianensis*

物种 Species	种群地点 Population location	种群编号 Population No.	经度 Longitude (° E)	纬度 Latitude (° N)	海拔 Altitude (m)
卡西亚松 <i>P. kesiya</i>	老挝阿速坡 Attapu, Laos	ASPPk	107.19	15.22	1 061
	缅甸掸邦, 东枝 Dongzhi, Shan State, Myanmar	DZPk	97.06	20.79	1 583
	老挝川圹, 丰沙湾 Phonsavan, Xieng Khouang, Laos	FSWPk	103.12	19.50	1 070
	缅甸掸邦, 格劳 GeLao, Shan State, Myanmar	KLPk	96.55	20.65	1 022
	菲律宾 Philippines	PHP1	120.85	16.19	1 201
	菲律宾 Philippines	PHP4	120.89	17.14	751
	菲律宾 Philippines	PHP8	120.89	18.10	50
	老挝华潘, 桑怒 Sam Neua, Houaphanh, Laos	SNPk	103.96	20.22	1 399
	越南安沛, 拉潘滩 La Pan Tan, Yen Bai, Vietnam	V04	104.13	21.75	1 410
	越南得农 Dak Nong Vietnam	V08	107.43	12.15	847
	中国云南 Yunnan, China				
	景谷 Jinggu	JGPk	100.50	23.49	1 707
	景洪贺建 Hejian, Jinghong	JHPk02	100.51	22.25	1 244
思茅松 <i>P. kesiya</i> var. <i>langbianensis</i>	勐腊 Mengla	MLPk	101.67	21.25	921
	宁洱 Ning'er	NEPk	100.97	23.19	1 004
	思茅 Simao	SMPk	100.95	22.71	1 340
	景洪大渡岗 Dadugang, Jinghong	JHPk01	100.99	22.42	1 113
	勐海布朗山 Bulangshan, Menghai	MHPk01	100.24	21.66	885
	墨江 Mojiang	MJPk	101.61	23.40	1 690
	镇沅 Zhengyuan	ZYPk	101.14	23.88	1 109
	中国云南 Yunnan, China				
	宾川 Binchuan	BCPy	100.35	25.97	1 809
	大理云龙 Yunlong, Dali	DLPy	99.29	25.87	2 572
云南松 <i>P. yunnanensis</i>	景东 Jingdong	JDPy	100.67	24.70	1 713
	昆明 Kunming	KMPy	102.62	24.91	2 041
	丽江 Lijiang	LJPy	100.22	26.88	2 651
	腾冲 Tengchong	TCPy	98.58	24.91	1 776
	文山 Wenshan	WSPy02	104.63	23.97	1 573
	宜良 Yiliang	YLPy	103.16	24.71	1 938
	玉溪 Yuxi	YXPy	102.15	24.24	1 861
	中国广西 Guangxi, China				
	乐业 Leye	LYPy	106.37	24.80	1 336
	西林 Xilin	XLPy	104.62	24.59	857
	隆林 Longlin	LLPy	104.96	24.69	1 294

Microsystems, Wetzlar, Germany)拍摄每个装片在10倍和20倍镜下的气孔照片各3张。利用ImageJ软件测量气孔保卫细胞长度、宽度, 木质增厚层长度、宽度, 气孔腔长度、宽度共6个解剖特征(附录I)。在10倍放大镜下计数600 μm²内气孔个数用来计算气孔密度。

1.3 数据分析

首先, 采用Tukey's HSD多重比较检测任一测

量性状在3种松树间是否存在显著性差异。并根据巢式方差分析($Y_{ijk} \sim \alpha_i/\beta_{ij}$)计算各性状在种间和种群间的差异, 其中 Y_{ijk} 是第*i*种松树第*j*个种群个体的第*k*个观测值, α_i 是种间效应, β_{ij} 是嵌套在 α_i 下所对应的种内群体间效应。种群间表型分化系数(V_{ST})通过公式

$$V_{ST} = \frac{\sigma_S^2}{\sigma_S^2 + \sigma_P^2}$$
 (Meng *et al.*, 2019)计算, 其中 σ_S^2

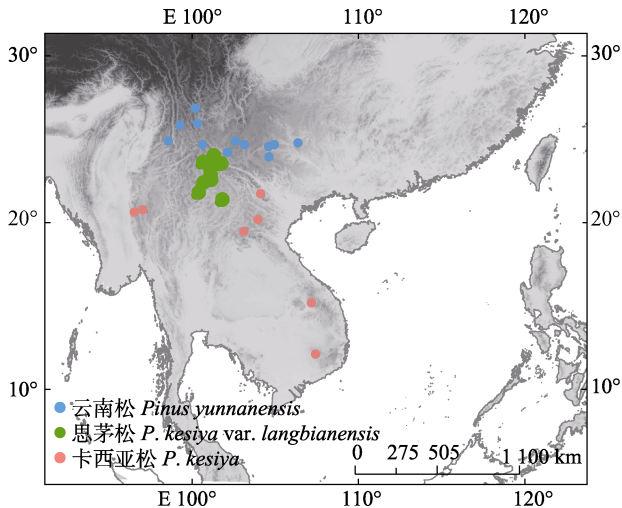


图1 云南松、卡西亚松和思茅松31个种群的地理分布。
Fig. 1 Geographic locations of 31 populations from *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* and *P. kesiya* var. *langbianensis*.

为种间方差, σ_p^2 为种群间方差。其次, 通过主成分分析(PCA)和Ward聚类法揭示针叶表型特征的种群变异结构。再次, 在种群水平上, 计算每个种群针叶性状的平均值, 然后通过Spearman相关性分析计算纬度、海拔与针叶性状的相关性及显著性 p 值。运用多元线性回归模型筛选影响单个针叶性状变异的主要环境因子, 使用前向选择最大化误差的自由度, 通过赤池信息量准则(AIC)对环境因子进行筛选。最后, 提取综合反映针叶性状的代表性主成分轴1(PC1), 以多元回归分析筛选出的显著相关的气候变量在采样区域的分布插值为背景, 展示种群主成

分得分以及相关的气候变量在采样区域的地理变异趋势。使用Excel软件对数据进行整理, 采用R语言程序包(“stats” “ggbiplot” “MASS” “vegan” “lme4” “ggplot2” “VCA”)对数据进行分析。

2 结果

2.1 3种松树群体间针叶性状的变异和变异来源

表型变异系数(CV)反映了针叶性状在3种松树种间、种群间的离散(变异)程度。结果(表2)表明: 8个针叶性状的种群间的变异系数在12.01%–34.08%之间, 其中气孔保卫细胞长度、气孔保卫细胞宽度和木质增厚层宽度的变异系数小于17%, 在种群间的变异程度较小。其余5个性状(木质增厚层长度、气孔腔长度、气孔腔宽度、针叶长度和气孔密度)的变异系数均在22%以上, 其中气孔腔长度的变异系数最大, 气孔密度和气孔腔宽度的变异系数次之, 分别为34.08%、31.66%和28.26%。比较3种松树种间的针叶性状的变异系数可知, 思茅松针叶性状的变异系数最大(10.13%–36.53%), 卡西亚松次之(10.80%–36.70%), 云南松最小(11.26%–31.01%)。各性状在不同种内的变异程度也具有一定差异, 卡西亚松的气孔腔大小相关性状(气孔腔长度、气孔腔宽度)变异最大(36.70%、26.12%), 思茅松的针叶长度变异最大(36.53%), 云南松的气孔腔长度(31.01%)、气孔腔宽度(24.56%)以及气孔密度(25.68%)变异相对较大。通过对各性状种群水平的箱形图统计, 直观地展示出3种

表2 云南松、思茅松和卡西亚松天然种群针叶的表型性状、变异系数和种间Tukey's HSD多重比较

Table 2 Measurement values, variation coefficients and Tukey's HSD test of the needle morphological traits among the natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*

性状 Trait	云南松 <i>Pinus yunnanensis</i>		卡西亚松 <i>P. kesiya</i>		思茅松 <i>P. kesiya</i> var. <i>langbianensis</i>		种群间 Among populations	
	平均值±标准差 Mean ± SD	变异系数 CV (%)	平均值±标准差 Mean ± SD	变异系数 CV (%)	平均值±标准差 Mean ± SD	变异系数 CV (%)	平均值±标准差 Mean ± SD	变异系数 CV (%)
LSGC (μm)	30.20 ± 3.41 ^b	11.30	35.45 ± 3.83 ^a	10.80	31.41 ± 3.86 ^b	12.28	32.28 ± 4.32	13.39
WSGC (μm)	24.70 ± 2.78 ^b	11.26	27.32 ± 3.17 ^a	11.62	24.94 ± 2.53 ^{ab}	10.13	25.63 ± 3.08	12.01
WTLL (μm)	16.94 ± 2.62 ^b	15.50	22.66 ± 4.64 ^a	20.49	18.31 ± 2.69 ^b	14.68	19.21 ± 4.23	22.01
WTLW (μm)	13.84 ± 2.20 ^c	15.77	17.65 ± 2.00 ^a	11.35	15.58 ± 2.18 ^b	14.01	15.63 ± 2.64	16.87
LSC (μm)	6.99 ± 2.17 ^a	31.01	8.07 ± 2.96 ^a	36.70	6.57 ± 1.90 ^a	28.84	7.23 ± 2.46	34.08
WSC (μm)	5.88 ± 1.45 ^b	24.56	6.95 ± 1.82 ^a	26.12	5.67 ± 1.74 ^b	30.70	6.17 ± 1.74	28.26
NL (cm)	21.34 ± 3.57 ^a	16.72	18.43 ± 2.87 ^{ab}	15.59	14.93 ± 5.45 ^b	36.53	18.53 ± 4.78	25.78
SD (600 μm ⁻²)	98.43 ± 25.28 ^a	25.68	68.92 ± 16.11 ^b	23.38	66.87 ± 17.41 ^b	26.04	79.62 ± 25.21	31.66

不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$)。LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。

Different lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$). LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell; WTLL, length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer.

松树种群水平的针叶性状的变异幅度和差异(附录II)。

多重比较的结果(表2)显示3种松树在气孔腔长度上无显著差异,而木质增厚层宽度在3种松树间存在显著差异。其他性状如:气孔保卫细胞长度、气孔保卫细胞宽度、木质增厚层长度、气孔腔宽度表现为卡西亚松和云南松差异显著,思茅松的针叶性状更倾向于云南松。仅气孔密度例外,表现为思茅松和卡西亚松相近,而云南松则与这两种松树差异显著。卡西亚松针叶与气孔大小相关的性状(气孔保卫细胞长度、木质增厚层长度和气孔腔宽度)显著大于其他两种松树的性状。而云南松针叶的单位面积气孔密度是3种松树中最高的。

巢式方差分析将针叶表型性状的变异分解为种间和种内变异,从而可以揭示性状的变异来源。结果(表3)显示:8个针叶表型性状中,除气孔保卫细胞宽度、气孔腔长度、气孔腔宽度外,其他性状(气孔保卫细胞长度、木质增厚层长度、木质增厚层宽度、针叶长度、气孔密度)的变异主要存在于种间和种群间(种间和种群间方差分量之和大于50%)。同时,种间的变异大于种内变异。本研究中,巢式方差模型中的残差包含了种群内的方差分量和实验误差,但是目前缺少有效的分析方法可以将种群内变异和实验误差剥离开来。

2.2 针叶性状变异的群体结构

针叶表型解剖性状PCA结果显示,PC1和PC2的贡献率分别为50.3%和21.4%,3种松树呈现出明显

的种内聚类。其中与针叶气孔腔大小(气孔腔长度、气孔腔宽度),保卫细胞大小(气孔保卫细胞长度、气孔保卫细胞宽度),以及木质增厚层相关的性状(木质增厚层宽度、木质增厚层长度)在PC1上有较高的荷载。而针叶长度与单位面积针叶气孔密度在PC2上有较高的荷载(图2A)。

聚类分析结果表明31个天然种群分为2个聚类,第1个聚类为来自菲律宾、老挝、越南南部的6个卡西亚松种群(PHP4、PHP1、PHP8、ASPPk、V04和V08);第2个聚类由25个天然种群构成,可进一步分为3个亚类群:第1个亚类群由主要分布于云南中部和西北部的9个云南松种群(WSPy02、LYPy、YLPy、LLPy、YXPY、BCPy、DLPy、JDPy和KMPy)和1个思茅松种群(JGPK)组成,第2个亚类群由4个来自缅甸、老挝、越南北部的卡西亚松种群(KLPk、DZPK、SNPK和FSWPk),2个云南松种群(XLPy和LJPY)和2个思茅松种群(SMPk和MHPk01)组成,第3个亚类群由6个思茅松种群(JHPk02、MLPK、JHPk01、MJPk、ZYPk和NEPK)和来自云南西北部的1个云南松种群(TCPy)组成(图2B)。

2.3 3种松树针叶表型性状与地理、环境因子的相关性

Spearman相关性分析结果表明3种松树针叶性状与纬度梯度相关性显著。其中针叶长度、气孔密度与纬度正相关,而气孔保卫细胞长度、气孔保卫细胞宽度、木质增厚层长度、木质增厚层宽度、气

表3 云南松、思茅松和卡西亚松天然种群针叶表型性状变异方差分析
Table 3 Variance portions and differentiation coefficients of the needle morphological traits among the natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*

性状 Trait	均方 Mean square			F		方差分量 Variance components (%)			<i>V</i> _{ST} (%)
	种间 Interspecies	种内群体间 Populations within species	残差 Residuals	种间 Interspecies	种内群体间 Populations within species	种间 Interspecies	种内群体间 Populations within species	残差 Residuals	
LSGC (μm)	770.50	43.80	10.40	17.59***	4.21***	34.66	16.40	48.94	67.88
WSGC (μm)	209.53	31.04	5.71	6.75***	5.44***	17.78	25.97	56.25	40.64
WTLL (μm)	914.30	50.20	7.80	18.21***	6.44***	41.77	21.06	37.17	66.48
WTLW (μm)	363.60	9.30	4.00	39.10***	2.33***	43.89	6.67	49.44	86.80
LSC (μm)	56.49	21.60	4.06	2.62***	5.32***	5.63	29.28	65.08	16.14
WSC (μm)	45.31	6.77	2.33	6.69***	2.91***	12.24	14.50	73.26	45.79
NL (cm)	1 005.90	61.00	11.50	16.49***	5.30***	36.54	19.68	43.78	64.99
SD (600 μm ⁻²)	32 767.00	1 112.00	345.00	29.47***	3.22***	43.03	10.72	46.25	80.06
平均值 Mean	4 516.58	166.96	48.85	—	—	29.44	18.04	52.52	58.60

*, *p* < 0.05; **, *p* < 0.01; ***, *p* < 0.001. LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度; *V*_{ST}, 表型分化系数。—, 无数据。

*, *p* < 0.05; **, *p* < 0.01; ***, *p* < 0.001. LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell, WTLL; length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer; *V*_{ST}, phenotypic differentiation coefficient. —, no data.

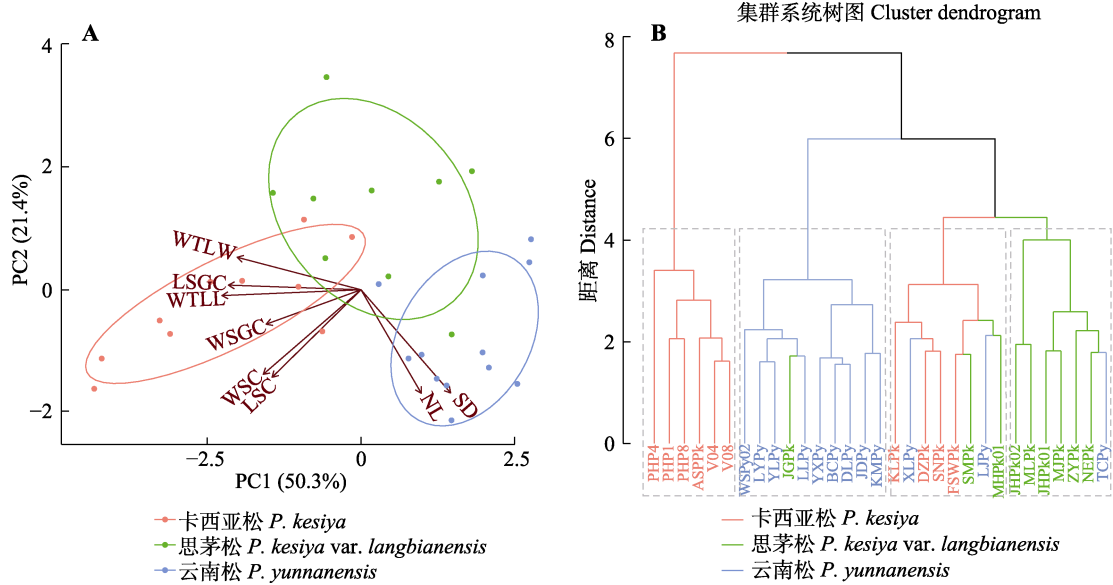


图2 云南松、思茅松和卡西亚松针叶性状指标的主成分(PC)分析(A)和31个天然群体的针叶性状聚类图(B)。LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。群体编号信息见表1。
Fig. 2 Scatter diagram of the first two principal coordinates from principal component (PC) analysis (A) and ward cluster (B) for the 31 populations based on needle traits of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*. LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell; WTLL, length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer. See Table 1 for abbreviations of population ID.

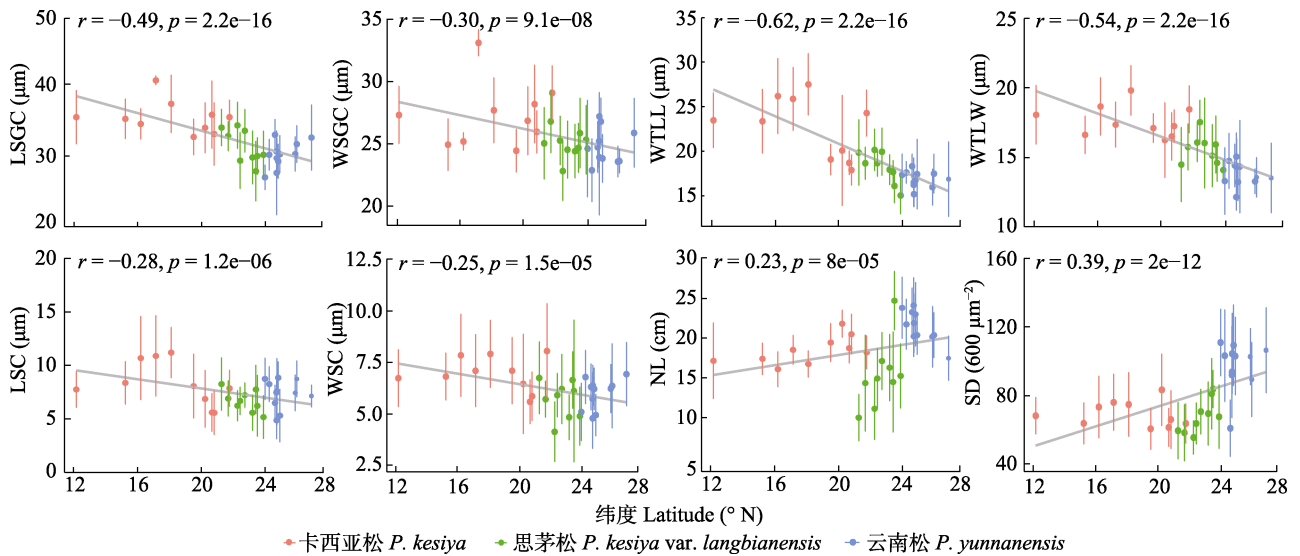


图3 云南松、思茅松和卡西亚松针叶性状与纬度梯度相关性分析。LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。
Fig. 3 Latitudinal gradients of the needle traits of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*. LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell; WTLL, length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer.

孔腔长度和气孔腔宽度6种性状则与纬度显著负相关(图3)。多元回归分析的结果表明针叶长度、气孔密度和最干季平均气温显著负相关, 木质增厚层的长宽与最干季平均气温显著正相关。保卫细胞的大小与最湿月降水量显著正相关; 而气孔腔长度与最

湿月降水量、最干月降水量显著正相关; 而与平均气温日较差和降水量季节变异系数显著负相关(图4; 表4)。图5展示了反映针叶性状的代表性主成分PC1的群体得分值, 以及多元回归分析筛选出的显著相关的气候变量在采样区域的变异趋势。

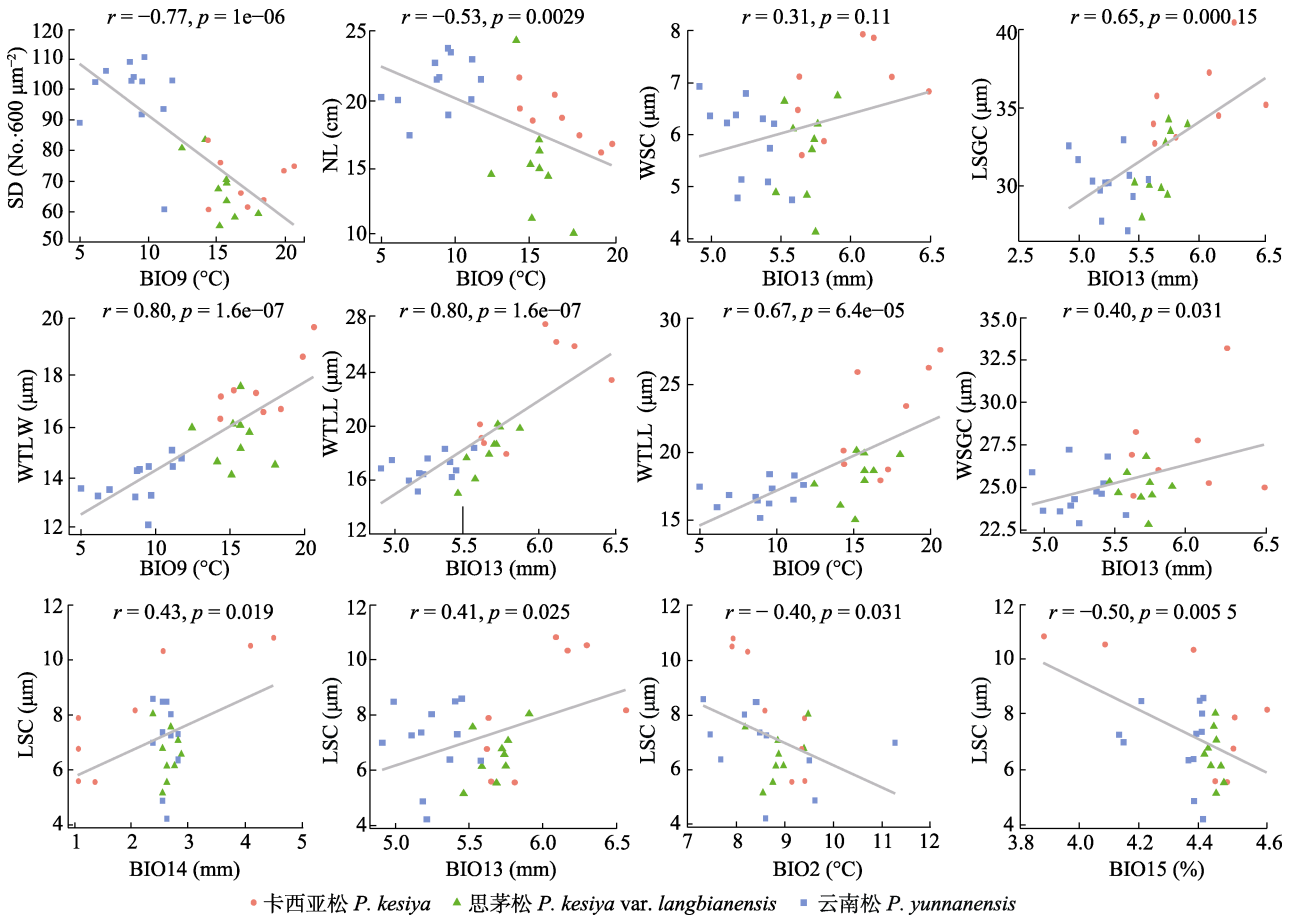


图4 多元线性模型筛选出的重要气候变量与云南松、思茅松和卡西亚松针叶性状的相关性。LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。BIO2, 平均气温日较差; BIO9, 最干季平均气温; BIO13, 最湿月降水量; BIO14, 最干月降水量; BIO15, 降水量季节变异系数。r, 相关系数。所有值为基于lg转换。

Fig. 4 Significant correlation between the needle traits and climatic variables (selected by the multiple linear regression model) of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*. LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell; WTLL, length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer. BIO2, mean temperature diurnal range; BIO9, mean temperature of driest quarter; BIO13, precipitation of wettest month; BIO14, precipitation of driest month; BIO15, precipitation seasonality. r, correlation coefficient. The values was lg transformed.

表4 多元线性回归模型筛选的影响云南松、思茅松和卡西亚松种群针叶表型性状变异的气候变量
Table 4 Multiple linear regression models selected the climatic variables that predict variation in measured traits across all populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya*.

性状 Trait	截距 Intercept	平均气温日较差 BIO2	最湿季平均气温 BIO8	最干季平均气温 BIO9	最湿月降水量 BIO13	最干月降水量 BIO14	降水量季节变异 系数 BIO15
LSGC (μm)	-0.000 8	0.1 759			0.7 516		-0.3 924
WSGC (μm)	-0.054 6		-0.5 432		0.6 846	0.3 786	
WTLL (μm)	0.007 7			0.2 861	0.6 523		-0.4 449
WTLW (μm)	-0.008 3		-0.3 561	0.9 913		0.1 731	
LSC (μm)	-0.031 4	-0.4 884			0.7 315	0.7 785	-1.3 658
WSC (μm)	-0.027 5				0.4 550		-0.3 918
NL (cm)	-0.007 0	-0.3 137		-0.5 250			
SD (600 μm ⁻²)	-0.018 1			-0.8 011		0.1 918	

LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度; WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。
LSC, length of the stomata cavity; LSGC, length of stomata guard cell; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, width of the stomata cavity; WSGC, width of the stomata guard cell; WTLL, length of the woody thickening layer; WTLW, width of the woody thickening layer. BIO2, mean temperature diurnal range; BIO9, mean temperature of driest quarter; BIO13, precipitation of wettest month; BIO14, precipitation of driest month; BIO15, precipitation seasonality.

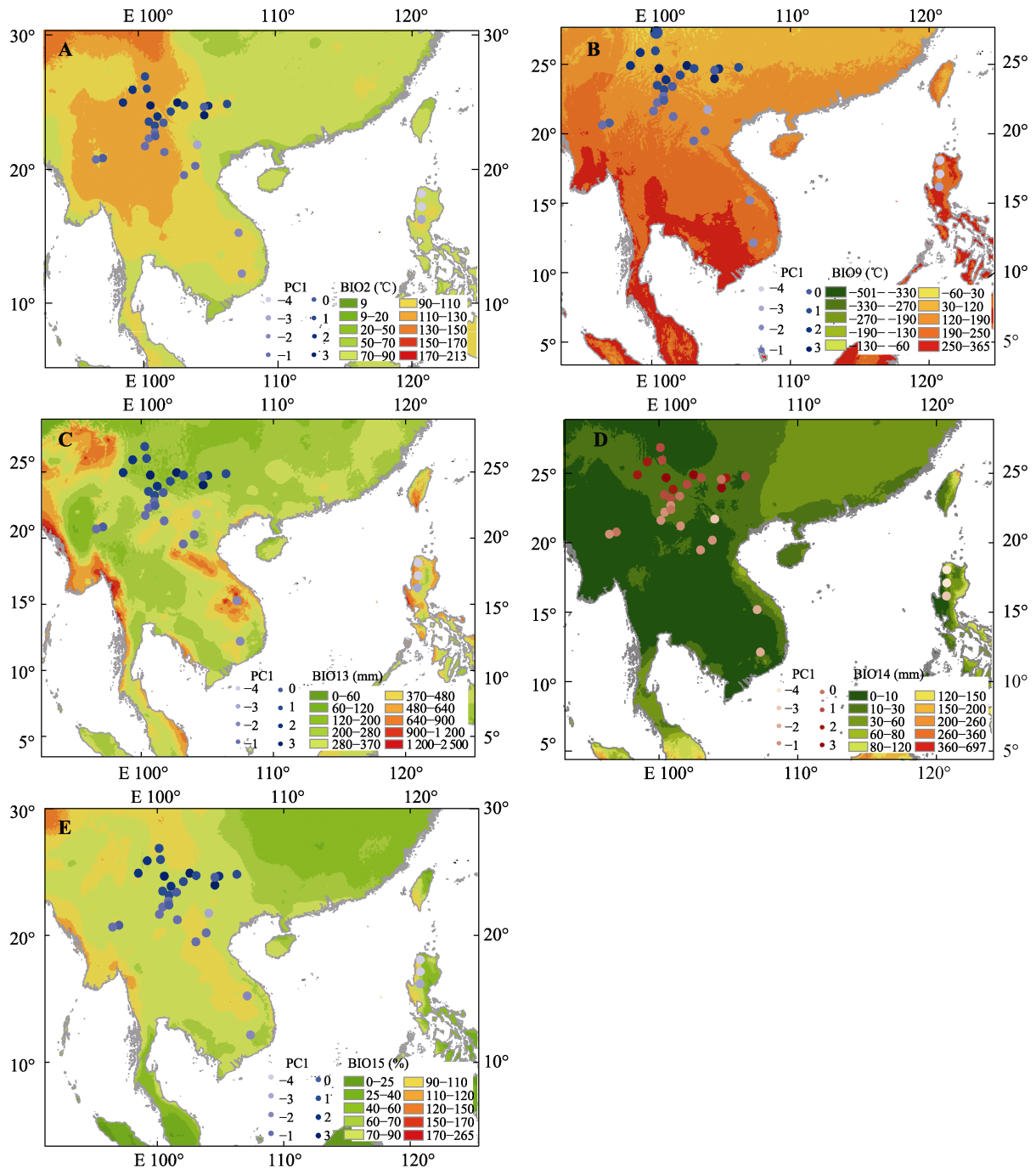


图5 云南松、思茅松和卡西亚松的针叶表型性状主成分分析中第一主成分的群体分值(PC1)随重要气候变量(多元线性模型筛选)的地理变异趋势。BIO2, 平均气温日较差; BIO9, 最干季平均气温; BIO13, 最湿月降水量; BIO14, 最干月降水量; BIO15, 降水量季节变异系数。所有值为基于lg转换后扩大100倍。

Fig. 5 Distribution patterns of the population score of the first principal component value (PC1) based on the analysis of conifer phenotypic traits of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis* and *P. kesiya* was the geographical variation trend of important climatic variables (multivariate linear model screening). BIO2, mean temperature diurnal range; BIO9, mean temperature of driest quarter; BIO13, precipitation of wettest month; BIO14, precipitation of driest month; BIO15, precipitation seasonality. The values was lg transformed and multiplied by 100.

3 讨论

3.1 3种松树针叶性状变异的多样性及变异来源

植物表型多样性是遗传适应性和环境异质性

长期共同作用的结果, 研究不同地理环境下天然种群的表型变异丰富程度和变异规律, 能够在一定程度上反映其遗传变异水平, 同时还可揭示其对不同环境的适应能力(Willmore *et al.*, 2007; Blackman

et al., 2017)。本研究中, 针叶性状在3种松树种群间变异较大, 变异系数为12.01%–34.08%。3种松树的针叶性状变异主要存在于种间与种内群体间, 主要体现在其中5个性状(气孔保卫细胞长度、木质增厚层长度和宽度、针叶长度、气孔密度)的种间和种群间方差分量之和大于50%, 同时在这些性状上, 种间变异又大于种群间变异。尽管由于统计分析方法的限制无法将剩余变异分量中的种群内变异和实验误差剥离开, 我们认为3种松树种群内也应存在一定的遗传变异。前人针对思茅松天然种群的种实性状表型变异(李帅锋等, 2013), 以及针对云南松部分种群的针叶性状(徐杨等, 2016)、球果表型性状(许玉兰等, 2018)的研究也均发现在种群内存在丰富的变异。

松树针叶表型的丰富变异同时也反映在表型分化系数上, 3种松树的针叶表型分化系数均值为58.60%, 与黑云杉(*Picea mariana*)和白云杉(*P. glauca*)的表型分化系数(49.41%–57.04%和50%)比较接近(张含国, 2000; 罗建勋和顾万春, 2004), 但高于其他针叶树种。例如分布较广泛的油松的表型分化系数为36% (刘永良, 2011), 川西云杉(*P. likiangensis* var. *balfouriana*)为33.03% (辜云杰等, 2009)。本研究松树的表型分化系数更是高于北美地区分布的一些针叶树种, 例如北美短叶松(*Pinus banksiana*)、火炬松和花旗松(*Pseudotsuga menziesii*)的表型分化系数分别是1.6%–18.9%、15%和11.1% (葛颂等, 1988; 辜云杰等, 2009)。这可能是因为本研究中的3种松树跨越了较大的地理分布区和气候带, 分布区域内环境异质性较高。同时与北美和中国温带分布的针叶树种相比, 本研究中的3种松树进化历史悠久, 分布地所在的中国西南和中南半岛热带区域受冰期的影响较小, 因此种群间和种群内保留了更丰富的遗传变异和表型变异。

3.2 针叶性状变异反映了云南松、思茅松和卡西亚松的地理替代分布格局

本研究表明, 木质增厚层长宽、气孔保卫细胞长宽、气孔腔宽度及气孔密度在云南松和卡西亚松间存在显著差异, 同时这些性状的表型分化系数也较高(针叶长度除外), 说明这些性状同时受到了物种系统发育关系以及各自分布环境差异的影响。云南松和卡西亚松是由亲本种*P. prekesiya*在新近纪因气候动荡和青藏高原隆升所引起的地形变化而分化

成种(Xing *et al.*, 2010), 两个物种分化时间较长, 在长期的进化过程中因地理隔离和适应不同的生态环境而产生了较高分化的种间分化, 从而在针叶表型上也体现出较显著的分化。云南松分布区的北部海拔较高, 在青藏高原东南侧的地理条件和错综复杂的地貌综合影响下形成了复杂多样的气候, 而分布区南部处于强季风区, 降水多、温度高, 整个区域气温和降水的差异大。卡西亚松主要的分布区位于中南半岛, 属典型的热带季风气候, 其特点为全年高温, 最冷月平均气温也在18 °C以上, 大部分地区年降水量为1 500–2 000 mm。思茅松的表型性状则处于中间过渡状态, 大部分的针叶性状更倾向于云南松。在地域环境上, 思茅松处于3个种地理分布区的中间过渡区域, 位于云南南部的热带与亚热带地区, 年平均气温16.86–21.15 °C, 年降水量1 082–1 402 mm之间, 有较为明显的干湿季的区分(Yang *et al.*, 2022), 气候环境与云南松更相近。但是值得注意的是, 思茅松种群内表现出更短的针叶长度和更低的气孔密度, 与云南松、卡西亚松均不同。这可能是因为遗传组成上频繁的杂交渐渗使思茅松的基因组蕴含了两个亲本种(云南松和卡西亚松)的成分(Businský *et al.*, 2014), 可能会表现出超亲性状。而另一方面, 思茅松的针叶表型还有可能受到极端干旱事件的影响。云南地区气候敏感性高, 近些年来干旱事件频发(付奔等, 2014), 根据Yang等(2019)研究表明思茅松分布地所处云南南部, 发生极端干旱的频率最高。频繁的极端干旱也会导致思茅松的针叶变短, 气孔密度降低。

聚类分析揭示的针叶性状的种群结构也呈现出一定的地理区域结构。聚类的第一支主要是来自卡西亚松的主分布区菲律宾岛屿种群、越南种群以及老挝南部种群, 该区域与云南松和思茅松分布区的距离较远, 环境差异较大。这些卡西亚松经历长期的环境适应和自然选择可能已经形成了稳定遗传的表型, 并体现在其针叶长度适中, 气孔密度小, 气孔腔和木质增厚层较大等方面。而另一大支的种群则分为两个亚类群, 其中一个亚类群包括了来自云南中部及西北部分布的云南松种群和一个来自云南景谷的思茅松种群(JGPK)。该亚类的种群分布为3种松树分布区的最北缘, 针叶长度长, 气孔密度大。第二个亚类群主要由来自云南松和卡西亚松分布区域及分布区重叠区域的思茅松种群组成, 这一类群

的特点是地理分布相邻, 环境差异较小, 同时种群间可能还存在频繁的基因交流, 体现在针叶表型上多为中间态。

3.3 3种松树天然群体针叶表型对地理及气候变量的响应

本研究中针叶性状主要呈现纬度梯度的变异趋势, 8个针叶性状均与纬度显著相关。其中针叶长度和气孔密度与纬度显著正相关, 其他性状则与纬度显著负相关。本研究发现, 热带分布的松树的针叶性状与此前报道的温带及寒带针叶树种的针叶性状变异呈现出明显不同的地理变异趋势。一般来说, 针叶树种为适应干旱或寒冷环境, 针叶长度有变短的趋势(Reich *et al.*, 1996; Farjon & Styles, 1997; Dobbertin *et al.*, 2010)。例如在我国北方分布的油松, 随着纬度升高, 气温降低, 针叶为适应低温环境而变短, 而针叶厚度也由西南向东北呈逐渐增加的趋势(徐化成, 1992; Zhang *et al.*, 2017)。本研究中3种松树总体的趋势随着纬度的增加, 针叶长度增加, 气孔密度增加, 气孔腔大小减小。但是值得注意的是, 本研究发现在云南松的种内, 呈现出随着纬度增加针叶长度变短的趋势。Nobis等(2012)针对全球尺度下的针叶树种形态特征的纬向变异及其与环境和系统发育关系的研究中, 揭示了针叶长度以及针叶长宽比与纬度显著负相关, 但是在低纬度分布的松属物种中发现了明显的偏移, 并没有表现出连续的针叶长宽比随纬度的增加而下降的趋势, 本研究的研究结果与之一致。

纬度的变化伴随着一系列环境因子的变化, 植物表型性状的响应是在各种环境因子相互作用下的综合反应的结果。本研究进一步将针叶表型跟具体的环境因子进行了多元回归分析来寻找决定针叶性状变异的关键环境因子。结果发现, 气孔密度和针叶长度的最主要决定因子为最干季平均气温, 而影响气孔大小的环境因子主要是最干月降水量、最湿月降水量和降水量季节变异系数。同时最干季平均气温也影响了木质增厚层的长宽, 最湿月降水量影响气孔保卫细胞长宽。本研究确定的这些关键环境因子与其他研究的结果一致, 一项关于云南松和卡西亚松径向生长与气候的敏感性研究也表明中国西南地区云南松和卡西亚松径向生长对旱季生长期水分可利用性高度敏感(Yang *et al.*, 2022), 而旱季平均气温在一定程度上决定了水分的可利用性。针叶

长度指标反映了针叶性状的物质总量, 也体现了植物体参与光合、蒸腾作用的总器官大小。而气孔是植物与外界进行气体交换的通道, 常常被用作反映植物对干旱和温度的适应性的重要指标(Peak & Mott, 2011)。木质增厚层和保卫细胞的大小在一定程度上反映了植物的抗逆性(Li *et al.*, 2021)。有研究表明, 相对小的叶片更利于生长在热、干、高光照和低养分的环境下(McDonald *et al.*, 2003), 从而增强叶对水热与CO₂的传导能力, 降低呼吸和蒸腾的成本。同样的, 在尾叶樱桃(*Prunus dielsiana*)的天然种群研究中也发现在亚热带东部地区, 夏季具有强烈的高温高湿、强风降雨、干湿交替的气候特征, 相应的尾叶樱桃表现出了叶宽度减小, 叶面积减小, 叶脉密度增加的适应性特征(朱弘等, 2018)。随着最干旱季平均气温的升高, 松树的针叶长度变短, 气孔密度降低, 木质增厚层增加; 而随着降水量的增加, 气孔大小增加; 体现了热带松树对高温、高湿以及季风气候的综合适应特征。当然值得注意的是, 针叶解剖结构的变异同时也会受到土壤、CO₂、光照强度等因素的影响, 在未来的研究中还需要进一步考虑这些环境因子的影响。

4 结论

综上所述, 3种松树的针叶表型性状具有丰富的种间和种群间变异, 说明其具有丰富的遗传多样性和表型多样性。因此, 在对它们进行种质资源保存时应当尽可能收集更多种群, 同时也应注意增加种群内的样本数。3种松树的针叶性状均呈现出一定的纬度变异。针叶长度和气孔密度主要受到最干旱季平均气温的影响, 而气孔腔大小、保卫细胞长度和宽度以及木质增厚层等性状主要受降水相关的气候变量(最湿月降水量、最干月降水量、降水量季节变异系数)影响, 在一定程度上介导了松树的蒸腾和呼吸作用对环境的适应。本研究为进一步解析针叶性状的适应性分化提供了重要的理论基础, 同时也可为松树的引种、育种的地理种源选择提供参考, 对我国松属物种的种质资源保存和良种繁育具有重要的指导意义。

致谢 感谢林木遗传育种国家重点实验室开放课题(TGB2021002)的资助。诚挚地感谢佛罗里达大学董乙义博士在针叶性状的统计分析以及文章的返修过

程中提供的帮助。感谢中国科学院西双版纳热带植物园 Kyle W. Tomlinson 研究员在数据分析中提供的指导, 以及感谢中国科学院西双版纳热带植物园生物多样性研究组提供的实验设备。

参考文献

- Androsiuk P, Kaczmarek Z, Urbaniak L (2011). The morphological traits of needles as markers of geographical differentiation in European *Pinus sylvestris* populations. *Dendrobiology*, 65, 3-16.
- Blackman CJ, Aspinwall MJ, Tissue DT, Rymer PD (2017). Genetic adaptation and phenotypic plasticity contribute to greater leaf hydraulic tolerance in response to drought in warmer climates. *Tree Physiology*, 37, 583-592.
- Businský R, Frantík T, Vít P (2014). Morphological evaluation of the *Pinus kesiya* complex (Pinaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 300, 273-285.
- Cai JF, Yu WW, Wang GB, Cao FL (2021). Analysis on phenotypic variations of fruit and core traits of *Melia azedarach* from different seed sources. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 41(11), 1-9. [蔡金峰, 郁万文, 汪贵斌, 曹福亮 (2021). 不同产地苦楝果实和果核表型多样性分析. 中南林业科技大学学报, 41(11), 1-9.]
- Chen F, Wang JM, Sun BG, Chen XM, Yang ZX, Duan ZY (2012). Relationship between geographical distribution of *Pinus yunnanensis* and climate. *Forest Research*, 25(2), 163-168. [陈飞, 王健敏, 孙宝刚, 陈晓鸣, 杨子祥, 段兆尧 (2012). 云南松的地理分布与气候关系. 林业科学研究, 25(2), 163-168.]
- Dai KJ, He F, Shen YX, Zhou WJ, Li YP, Tang L (2006). Advances in the research on *Pinus yunnanensis* forest. *Journal of Central South Forestry University*, 26(2), 138-142. [戴开结, 何方, 沈有信, 周文君, 李扬苹, 唐丽 (2006). 云南松研究综述. 中南林学院学报, 26(2), 138-142.]
- Dobbertin M, Eilmann B, Bleuler P, Giuggiola A, Pannatier EG, Landolt W, Dong N, Prentice IC, Wright IJ, Evans BJ, Togashi HF, Caddy-Retalic S, McInerney FA, Sparrow B, Leitch E, Lowe AJ (2020). Components of leaf-trait variation along environmental gradients. *New Phytologist*, 228, 82-94.
- Eguchi N, Fukatsu E, Funada R, Tobita H, Kitao M, Maruyama Y, Koike T (2004). Changes in morphology, anatomy, and photosynthetic capacity of needles of Japanese larch (*Larix kaempferi*) seedlings grown in high CO₂ concentrations. *Photosynthetica*, 42, 173-178.
- Farjon A, Styles BT (1997). *Pinus* (Pinaceae): *Flora Neotropica Monograph* 75. The New York Botanical Garden, New York.
- Fu B, Hu GD, Yang F, Wang L (2014). Analysis on the "normalization" of drought in Yunnan Province. *Journal of China Hydrology*, 34(4), 82-85. [付奔, 胡关东, 杨帆, 王龙 (2014). 云南干旱“常态化”的分析. 水文, 34(4), 82-85.]
- Gao J, Wang BS, Mao JF, Ingvarsson P, Zeng QY, Wang XR (2012). Demography and speciation history of the homoploid hybrid pine *Pinus densata* on the Tibetan Plateau. *Molecular Ecology*, 21, 4811-4827.
- Ge S, Wang MX, Chen YW (1988). Study on genetic structure of *Pinus massoniana* population by isozyme. *Forest Science*, 24, 399-409. [葛颂, 王明麻, 陈岳武 (1988). 用同工酶研究马尾松群体的遗传结构. 林业科学, 24, 399-409.]
- Gu YJ, Luo JX, Wu YW, Cao XJ (2009). Phenotypic diversity in natural populations of *Picea balfouriana* in Sichuan, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 33, 291-301. [辜云杰, 罗建勋, 吴远伟, 曹小军 (2009). 川西云杉天然种群表型多样性. 植物生态学报, 33, 291-301.]
- Huang YJ, Mao JF, Chen ZQ, Meng JX, Xu YL, Duan AN, Li Y (2016). Genetic structure of needle morphological and anatomical traits of *Pinus yunnanensis*. *Journal of Forestry Research*, 27, 13-25.
- Jankowski A, Wyka TP, Zytowski R, Danusevičius D, Oleksyn J (2019). Does climate-related in situ variability of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needles have a genetic basis? Evidence from common garden experiments. *Tree Physiology*, 39, 573-589.
- Jasińska AK, Boratyńska K, Sobierajska K, Romo A, Ok T, Kharat MBD, Boratyński A (2013). Relationships among *Cedrus libani*, *C. brevifolia* and *C. atlantica* as revealed by the morphological and anatomical needle characters. *Plant Systematics and Evolution*, 299, 35-48.
- Jia ZR, Zhang SG, Wang JH (2011). Genetic variation and spatial geographical trend of needles, cones and seeds traits for natural populations of *Picea linzhinensis*. *Forest Research*, 24, 428-436. [贾子瑞, 张守攻, 王军辉 (2011). 林芝云杉天然群体针叶与种实的变异及其地理趋势. 林业科学研究, 24, 428-436.]
- Jin WT, Gernandt DS, Wehenkel C, Xia XM, Wei XX, Wang XQ (2021). Phylogenomic and ecological analyses reveal the spatiotemporal evolution of global pines. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118, e2022302118. DOI: 10.1073/pnas.2022302118.
- Li L, Xing JY, Ma HY, Liu FL, Wang YS (2021). In situ determination of guard cell ion flux underpins the mechanism of ABA-mediated stomatal closure in barley plants exposed to PEG-induced drought stress. *Environmental and Experimental Botany*, 187, 104468. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2021.104468.
- Li SF, Su JR, Liu WD, Lang XD, Zhang ZJ, Su L, Jia CXZ,

- Yang HJ (2013). Phenotypic variations in cones and seeds of natural *Pinus kesiya* var. *langbianensis* populations in Yunnan Province, China. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 37, 998-1009. [李帅锋, 苏建荣, 刘万德, 郎学东, 张志钧, 苏磊, 贾呈鑫卓, 杨华景 (2013). 思茅松天然群体种实表型变异. 植物生态学报, 37, 998-1009.]
- Liu YL (2011). *The Variation and Trend of Needle Trait Indexes of Pinus tabulaeformis Carr. Geographic Populations*. Master degree dissertation, Beijing Forestry University, Beijing. [刘永良 (2011). 油松地理种群针叶性状指标的变异与趋势. 硕士学位论文, 北京林业大学, 北京.]
- Luo JX, Gu WC (2004). Studies on the variation of fruiting traits in natural populations of *Picea asperata*. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 32(8), 60-66. [罗建勋, 顾万春 (2004). 云杉天然群体种实性状变异研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 32(8), 60-66.]
- Mao QZ, Watanabe M, Imori M, Kim YS, Kita K, Koike I (2012). Photosynthesis and nitrogen allocation in needles in the sun and shade crowns of hybrid larch saplings: effect of nitrogen application. *Photosynthetica*, 50, 422-428.
- McDonald PG, Fonseca CR, Overton JM, Westoby M (2003). Leaf-size divergence along rainfall and soil-nutrient gradients: Is the method of size reduction common among clades? *Functional Ecology*, 17, 50-57.
- Meng JX, Chen XY, Huang YJ, Wang LM, Xing FQ, Li Y (2019). Environmental contribution to needle variation among natural populations of *Pinus tabuliformis*. *Journal of Forestry Research*, 30, 1311-1322.
- Missanjo E, Matsumura J (2016). Wood density and mechanical properties of *Pinus kesiya* Royle ex Gordon in Malawi. *Forests*, 7, 135. DOI: 10.3390/f7070135.
- Nobis MP, Traiser C, Roth-Nebelsick A (2012). Latitudinal variation in morphological traits of the genus *Pinus* and its relation to environmental and phylogenetic signals. *Plant Ecology & Diversity*, 5, 1-11.
- Peak D, Mott KA (2011). A new, vapour-phase mechanism for stomatal responses to humidity and temperature. *Plant Cell & Environment*, 34, 162-178.
- Reich PB, Oleksyn J, Modrzyński J, Tjoelker MG (1996). Evidence that longer needle retention of spruce and pine populations at high elevations and high latitudes is largely a phenotypic response. *Tree Physiology*, 16, 643-647.
- Santisuk T (1997). Geographical and ecological distributions of the two tropical pines, *Pinus kesiya* and *Pinus merkusii*, in southeast Asia. *Thai Forest Bulletin*, 25, 102-123.
- Sevik H, Ayan S, Turna I, Yahyaoglu Z (2010). Genetic diversity among populations in Scotch pine (*Pinus sylvestris* L.) seed stands of Western Black Sea Region in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 9, 7266-7272.
- Turna I, Güney D (2009). Altitudinal variation of some morphological characters of scots pine (*Pinus sylvestris* L.) in Turkey. *African Journal of Biotechnology*, 8, 202-208.
- Turnbull JW, Armitage FB, Burley J (1980). Distribution and ecology of the *Pinus kesiya* complex//Armitage FB, Burley J. *Tropical Forestry Papers 9—Pinus kesiya*. University of Oxford, United Kingdom. 13-45.
- Wang BS, Mao JF, Gao J, Zhao W, Wang XR (2011). Colonization of the Tibetan Plateau by the homoploid hybrid pine *Pinus densata*. *Molecular Ecology*, 20, 3796-3811.
- Wang XR, Szmidt AE, Lu MZ (1996). Genetic evidence for the presence of cytoplasmic DNA in pollen and megagametophytes and maternal inheritance of mitochondrial DNA in *Pinus*. *Forest Genetics*, 3, 37-44.
- Willmore KE, Young NM, Richtsmeier JT (2007). Phenotypic variability: its components, measurement and underlying developmental processes. *Evolutionary Biology*, 34, 99-120.
- Wu ZL (1994). A review of the research status of *Pinus kesiya* var. *langbianensis* in southwestern China. *Scientia Silvae Sinicae*, 30(2), 151-157. [吴兆录 (1994). 思茅松研究现状的探讨. 林业科学, 30(2), 151-157.]
- Wu ZY, Chen J, Chen SK (1986). *Flora of Yunnan: Vol. 4*. Science Press, Beijing. [吴征镒, 陈介, 陈书坤 (1986). 云南植物志: 第四卷. 科学出版社, 北京.]
- Xing FQ, Mao JF, Meng JX, Dai JF, Zhao W, Liu H, Xing Z, Zhang H, Wang XR, Li Y (2014). Needle morphological evidence of the homoploid hybrid origin of *Pinus densata* based on analysis of artificial hybrids and the putative parents, *Pinus tabuliformis* and *Pinus yunnanensis*. *Ecology and Evolution*, 4, 1890-1902.
- Xing YW, Liu YS, Su T, Jacques FMB, Zhou ZK (2010). *Pinus prekesiya* sp nov from the upper miocene of Yunnan, southwestern China and its biogeographical implications. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 160, 1-9.
- Xu H, Liu MG, Dong SJ, Wu YL, Zhang HK (2019). Diversity and geographical variations of germplasm resources of *Armeniaca mandshurica*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 43, 585-600. [徐豪, 刘明国, 董胜君, 吴月亮, 张皓凯 (2019). 东北杏种质资源多样性及其地理变化. 植物生态学报, 43, 585-600.]
- Xu HC (1992). *Geographical Variation and Provenance Selection of Pinus tabulaeformis*. China Forestry Publishing House, Beijing. [徐化成 (1992). 油松地理变异和种源选择. 中国林业出版社, 北京.]
- Xu YL, Cai NH, Chen S, Wang DW, Duan AA, Kang XY (2018). Study on the phenotypic differentiation of cone traits among *Pinus yunnanensis* Franch. natural populations. *Seed*, 37(1), 62-67. [许玉兰, 蔡年辉, 陈诗, 王大玮, 段安安, 康向阳 (2018). 云南松天然群体球果表型变异研究. 种子, 37(1), 62-67.]

- Xu Y, Zhou L, Cai NH, Deng LL, Wang DW, Duan AA, He CZ, Xu YL (2016). Needle Phenotypic Variation among Populations of *Pinus yunnanensis* at Different Altitude. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Sciences)*, 31(1), 109-114. [徐杨, 周丽, 蔡年辉, 邓丽丽, 王大玮, 段安安, 何承忠, 许玉兰. 云南松不同海拔群体的针叶性状表型多样性研究. 云南农业大学学报(自然科学), 31(1), 109-114.]
- Yang CP, Tuo YF, Ma JM, Zhang D (2019). Spatial and temporal evolution characteristics of drought in Yunnan Province from 1969 to 2018 based on SPI/SPEI. *Water, Air, & Soil Pollution*, 230, 269. DOI: 10.1007/s11270-019-4287-6.
- Yang RQ, Fu PL, Fan ZX, Panthi S, Gao J, Niu Y, Li ZS, Bräuning A (2022). Growth-climate sensitivity of two pine species shows species-specific changes along temperature and moisture gradients in southwest China. *Agricultural and Forest Meteorology*, 318, 108907. DOI: 10.1016/j.agrformet.2022.108907.
- Yang XY, Xu JM, Zhu YA, Shen L, Li GY, Wu SJ, Luo YC, Liu JW, Chen LY (2019). Growth rhythm for half-sib families of young *Pinus kesiya* plantations in southern Yunnan, China. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 27, 399-407. [杨雪艳, 徐建民, 朱映安, 沈乐, 李光友, 吴世军, 罗亚春, 刘继伟, 陈礼勇 (2019). 卡西亚松家系幼林的生长节律. 热带亚热带植物学报, 27, 399-407.]
- Zhang HG (2000). *Study on the Genetic Diversity of Picea koraiensis*. PhD dissertation, Northeast Forestry University, Haerbin. [张含国 (2000). 红皮云杉遗传多样性的研究. 博士学位论文, 东北林业大学, 哈尔滨.]
- Zhang MY, Meng JX, Zhang ZJ, Zhu S, Li Y (2017). Genetic analysis of needle morphological and anatomical traits among nature populations of *Pinus tabulaeformis*. *Journal of Plant Studies*, 6, 62-75.
- Zhang XL, Yu H, Li B, Li WJ, Li XY, Bao CY (2014). Discrimination of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* and *P. densata* by FT-NIR. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6, 142-149.
- Zhang ZR, Li WY, Dong YY, Liu JX, Lan QY, Yang X, Xin PY, Gao J (2022). Geographic cline and genetic introgression effects on seed morphology variation and germination fitness in two closely related pine species in southeast Asia. *Forests*, 3, 374. DOI: 10.3390/f13030374.
- Zheng WJ, Fu LG (1978). *Flora of China: Tomus 7*. Science Press. Chinese Academy of Sciences, Beijing. [郑万钧, 傅立国(1978). 中国植物志: 第七卷. 科学出版社, 北京.]
- Zhu H, Zhu SX, Li YF, Yi XG, Duan YF, Wang XR (2018). Leaf phenotypic variation in natural populations of *Cerasus dielsiana*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 42, 1168-1178. [朱弘, 朱淑霞, 李涌福, 伊贤贵, 段一凡, 王贤荣 (2018). 尾叶樱桃天然种群叶表型性状变异研究. 植物生态学报, 42, 1168-1178.]
- 责任编辑: 罗天祥 责任编辑: 乔鲜果

附录I 针叶性状示意图

Supplement I Schematic diagram of needle leaf traits

<https://www.plant-ecology.com/fileup/1005-264X/PDF/cjpe.2022.0263-S1.pdf>

附录II 云南松、卡西亚松和思茅松种群个体间性状比较

Supplement II Comparison of population individual traits among *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* and *P. kesiya* var. *langbianensis*

<https://www.plant-ecology.com/fileup/1005-264X/PDF/cjpe.2022.0263-S2.pdf>

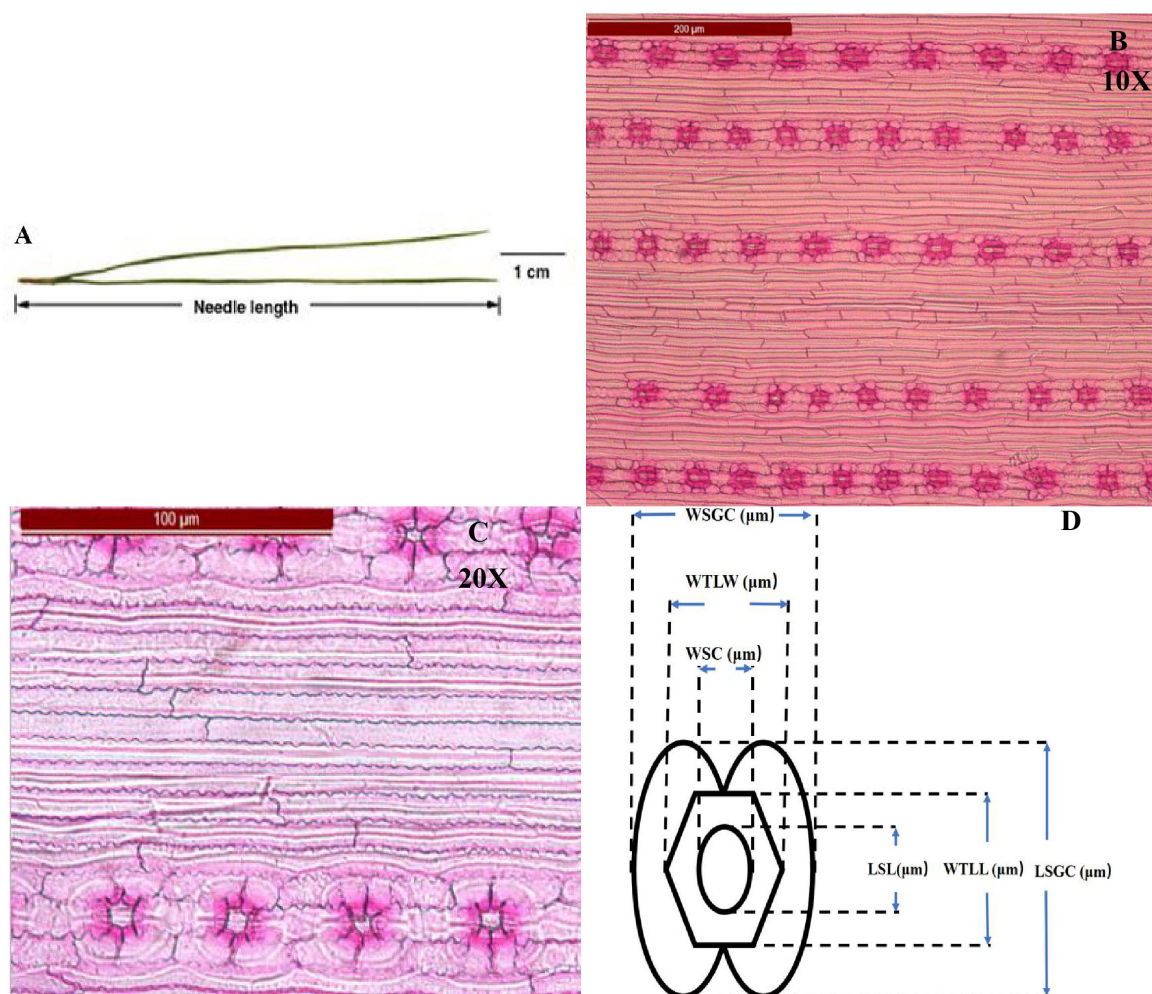
李卫英, 章正仁, 辛雅萱, 王飞, 辛培尧, 高洁 (2023). 云南松、思茅松和卡西亚松天然种群间的针叶表型变异. 植物生态学报, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

Li WY, Zhang ZR, Xin YX, Wang F, Xin PY, Gao J (2023). Needle phenotype variation among natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis*, and *P. kesiya*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

<http://www.plant-ecology.com/CN/10.17521/cjpe.2022.0263>

附录I 针叶性状示意图

Supplement I Schematic diagram of needle leaf traits



A, 完整的针叶形态示意图, Needle length, 针叶长度。B, 针叶在 10 倍放大下的气孔分布图。C, 20 倍放大下的气孔分布图。

D, 6 个气孔特征的测量示意图。; LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度, WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。

A, Schematic diagram of complete needle shape, Needle length. B, Stomatal distribution map of needles under 10× magnification and was calculated. C, Stomatal distribution map at 20× magnification. D, Schematic diagram of 6 stomatal characteristics measurements. LSC, stomatal cavity length; LSGC, stomatal guard cell length; WSC, stomatal cavity width; WSGC, stomatal guard cell width, WTLL, wood thickening layer length; WTLW, wood thickening layer width.

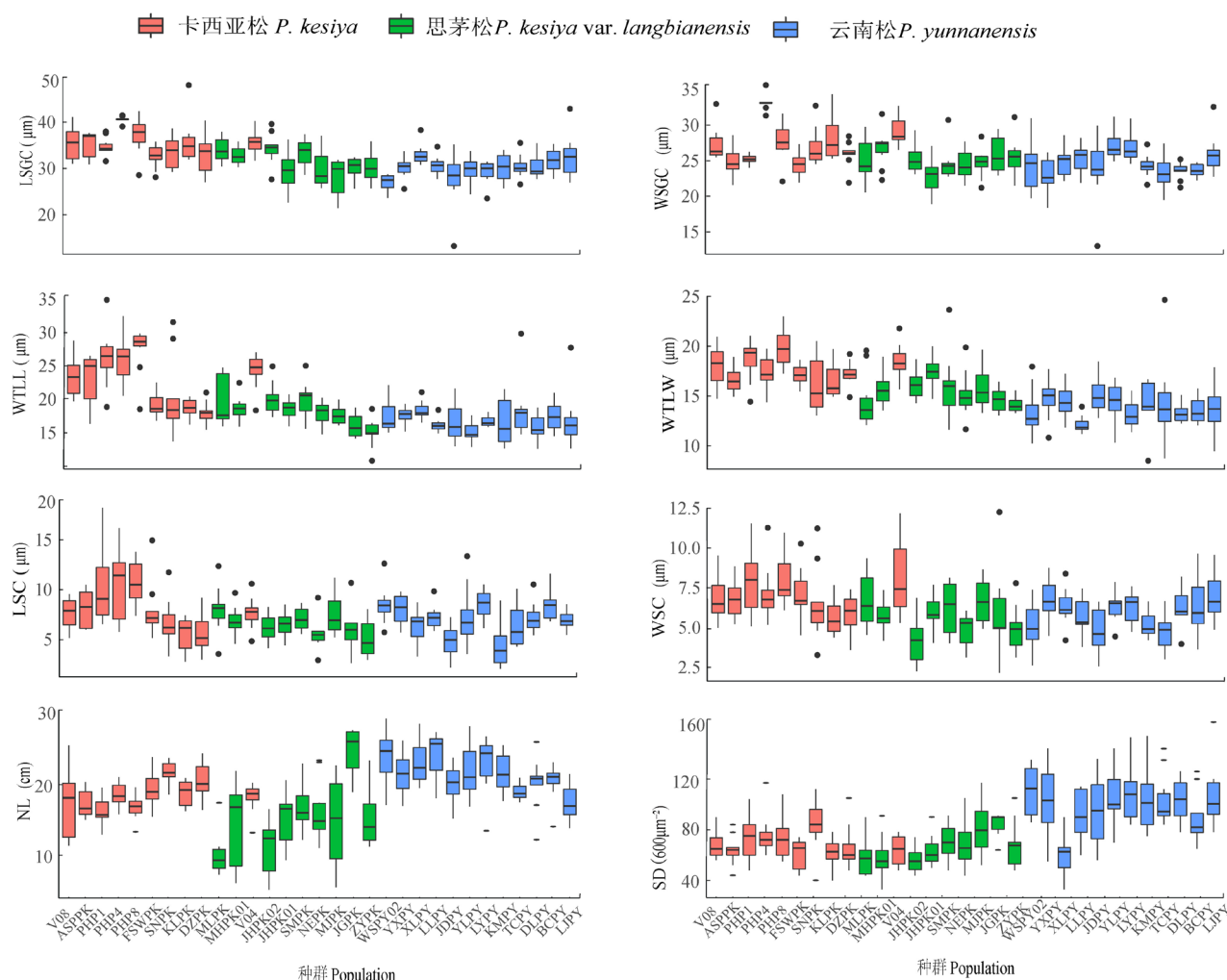
李卫英, 章正仁, 辛雅萱, 王飞, 辛培尧, 高洁 (2023). 云南松、思茅松和卡西亚松天然种群间的针叶表型变异. 植物生态学报, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

Li WY, Zhang ZR, Xin YX, Wang F, Xin PY, Gao J (2023). Needle phenotype variation among natural populations of *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* var. *langbianensis*, and *P. kesiya*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 47, 833-846. DOI: 10.17521/cjpe.2022.0263

<http://www.plant-ecology.com/CN/10.17521/cjpe.2022.0263>

附录II 云南松、卡西亚松和思茅松种群个体间性状比较

Supplement II Comparison of population individual traits among *Pinus yunnanensis*, *P. kesiya* and *P. kesiya* var. *langbianensis*



种群编号见表 1。LSC, 气孔腔长度; LSGC, 气孔保卫细胞长度; NL, 针叶长度; SD, 气孔密度; WSC, 气孔腔宽度; WSGC, 气孔保卫细胞宽度, WTLL, 木质增厚层长度; WTLW, 木质增厚层宽度。

The population ID see Table 1. LSC, stomatal cavity length; LSGC, stomatal guard cell length; NL, needle length; SD, stomatal density; WSC, stomatal cavity width; WSGC, stomatal guard cell width, WTLL, wood thickening layer length; WTLW, wood thickening layer width.