

红锥2代种子园半同胞子代苗生长差异分析*

徐放¹ 张卫华¹ 杨晓慧¹ 薄文浩² 潘文¹
杨会肖¹ 廖焕琴¹ 徐斌¹ 朱报著¹ 王裕霞¹

(1. 广东省森林培育与保护利用重点实验室/广东省林业科学研究院, 广东 广州 510520;

2. 北京林业大学 生物科学与技术学院, 北京 100083)

摘要 对育苗圃中种植的红锥 *Castanopsis hystrix* 2代种子园中采集到的14个半同胞子代家系进行播种, 选取正常生长的苗木进行株高、地径、叶绿素含量(SPAD法)、叶片数量、叶片长度、叶片宽度、叶片长宽比和叶面积等8个性状的测定和计算, 调查结果表明: 15个月生红锥苗木的平均株高可达41.3 cm, 平均地径为4.9 mm, 不同家系株高平均变异系数为21.9%, 地径变异系数为18.1%, 平均SPAD值为39.4, 平均叶片数量为44.4片, 叶片平均长度和宽度分别为9.2 cm和2.6 cm, 平均叶片长宽比为3.6, 平均叶面积达到15.0 cm²。方差分析的结果显示不同生长表型在14个不同家系间均存在显著差异($P<0.01$)。通过对不同家系的苗期株高、地径的综合评价, 并参考其生长量的变异系数, 共评选出2代种子园中5个苗期表现优良的红锥家系, 分别为C02、C10、C11、C12和C13。

关键词 红锥; 苗期生长; 半同胞家系; 优良家系

中图分类号: S792.99 文献标志码: A 文章编号: 2096-2053(2020)05-0028-06

Growth Difference Analysis of Half-sib Progeny Seedlings on the 2nd Generation Seed Orchard for *Castanopsis hystrix*

XU Fang¹ ZHANG Weihua¹ YANG Xiaohui¹ BO Wenhao² PAN Wen¹
YANG Huixiao¹ LIAO Huanqin¹ XU Bin¹ ZHU Baozhu¹ WANG Yuxia¹

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Silviculture, Protection and Utilization/ Guangdong Academy of Forestry, Guangzhou, Guangdong 510520, China. 2. College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract We collected seeds of fourteen half-sib families from 2nd generation seed orchard of *Castanopsis hystrix*, all seeds were sowed and the seedlings were transplanted into the nursery. The plant height, ground diameter, chlorophyll content (SPAD value), leaf number, leaf length, leaf width, leaf length-width ratio and leaf area were measured or calculated. The result indicates at 15 months old, the mean height of fourteen half-sib families reached 41.3 cm and the ground diameter was 4.9 mm. The coefficients of variation in plant height and ground diameter were 21.9% and 18.1%, respectively. Mean leaf number each family was 44.4 per plant and mean SPAD value was 39.4. Mean leaf length, mean leaf width and mean leaf area were 9.2 cm, 2.6 cm and 15.0 cm², respectively. The mean leaf length-width ratio was 3.6. Analysis of Variance indicated that all the eight phenotypic traits behaved significant differences between different half-sib families ($P<0.01$). Considering the plant height, ground diameter and their coefficient of variation, five half-sib families C02, C10, C11, C12 and C13 were selected as their excellent performance in the seedling stage.

Key words *Castanopsis hystrix*; growth of seedling stage; half-sib family; excellent family

* 基金项目: 广东省森林培育与保护利用重点实验室(SPU 2018-03); 广东省重点领域研发计划项目(2020B020215002)。

第一作者: 徐放(1987—), 男, 助理研究员, 主要从事红锥新品种选育工作, E-mail: xufang@sinogaf.cn。

通信作者: 张卫华(1977—), 女, 正高级工程师, 主要从事林木遗传育种工作, E-mail: zwh523@sinogaf.cn。

红锥 *Castanopsis hystrix* 为壳斗科 Fagaceae 锥属常绿乔木，广泛分布于我国南方大部分地区，生长速度快，材性优良，是华南地区重要的乡土珍贵阔叶用材树种和高效多用途树种，具有极好的环境适应性，已被广东、福建、广西等省区列为重点发展的树种^[1-3]；红锥种子富含淀粉和多种次生代谢物，是提取淀粉和化工原料的良好材料，含有大量淀粉的种子也为野生动物提供了大量的食物，有利于维系稳定的森林生态^[4]；枝叶茂盛耐荫蔽，可与松树、杉木等进行混合经营，具有良好的经济效益^[5-7]。红锥的轮伐期为 25~30 年，优良品种对木材质量、产量和提升林地经营收益至关重要^[8]，而目前我国红锥选育工作较为落后，为了改善红锥研究的局面，推进红锥新品种的选育工作，本研究对红锥 2 代种子园中收集的种子构建 14 个半同胞家系，开展苗期 8 个重要生长测定并开展优良家系的初步评选，旨在为后续的红锥优良品系的选育提供重要的参考。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本试验地位于广东省林业科学研究院苗圃 (23°36'5"N、113°9'35"E)，属亚热带季风性气候类型，季节性非常明显，近 10 年平均年降水量 2 015 mm，平均相对湿度 69%。每年 4 月到 6 月为雨季，雨季平均月降雨量可达 200 mm 以上，7—9 月气温较高，平均最高气温可达 32.8 ℃。平均年日照时数 1 636.8 h，年平均气温 22.3 ℃。

1.2 试验材料

于 2017 年 12 月采集广州市龙眼洞林场内的红锥 2 代种子园内 14 个家系单株的种子，采集全部果实后利用日光进行干燥处理，果实开裂后快速收集所有种子，避免种壳因过度干燥开裂造成种子死亡。利用水对种子的饱满程度进行分选，选择沉入水中的种子，浸泡过夜后播种在以黄心土为基质的苗床上，覆盖 2 cm 厚的河沙，种子发芽后至 5 cm 高后移至 7 cm × 12 cm 的无纺布育苗袋中，基质为等体积的黄心土和泥炭土混合基质。在育苗过程中每 45 天施用水溶性复合肥（多普瑞斯，N:P:K=19%:19%:19%）1 次，单次用量为 0.2 g/株。

1.3 苗期表型测定与分析

于 2019 年 5 月初，随机选取 14 个家系中的各 30 个单株，设置 3 次重复，每个重复 10 个单株，

开展生长表型分析。利用激光测距仪测定株高；数显游标卡尺测定地径；叶绿素含量利用 SPAD-502 plus 叶绿素测量仪测定，每个单株测定 4 个不同方向和位置的叶片，获得每个叶片的 SPAD 值；统计各单株的叶片数量，并摘取每个单株的 10 个叶片，利用扫描仪扫描后获取叶片图像，利用 Digmizer v4.0 软件中长度和面积计算模块统计各叶片的长度、宽度和叶面积，并计算叶片长宽比。测量数据利用 Excel 进行整理，利用 R 软件^[9]中的 agricolae 进行方差分析和多重比较，利用 R 软件自编代码完成相关系数计算。方差分析计算公式：

$y_{ij} = \mu + \delta_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$ ，其中 y_{ij} 为单株表型实际测量值， μ 为总体平均值， δ_i 为重复效应， β_j 为家系间遗传差异， ε_{ij} 为误差。相关系数计算公式：

$$r = \frac{\sum(a_j - \bar{a})(b_j - \bar{b})}{\sqrt{\sum(a_j - \bar{a})^2 \sum(b_j - \bar{b})^2}}$$

其中 a 和 b 分别表示不同表型的平均值。

2 结果与分析

2.1 不同半同胞家系间各表型方差分析

对不同家系间株高、地径、叶片数、SPAD 值、叶片长度、叶片宽度、叶片长宽比和叶面积等 8 个性状进行方差分析，结果显示在不同的半同胞家系间，以上 8 个性状均存在极显著差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.001$)，该结果说明，在种植和管理条件一致的前提下，不同家系的差异导致了生长表型的显著差异（表 1）。8 个性状总体变异系数在 13.8% 至 59.7% 之间，SPAD 值在所有试验样本中差异最小，叶片数量变化幅度最大，株高和地径的总体变异系数分别为 32.2% 和 24.4%。

2.2 不同半同胞家系生长差异性分析

14 个半同胞家系的株高、地径、叶绿素含量（SPAD 值）和叶片数调查结果和多重比较结果见表 2。各家系平均株高 28.6~56.8 cm，标准差为 9.4 cm，总体平均值为 41.3 cm，其中 C11 家系平均株高最高，C13 家系次之，C09 家系长势最弱，株高最低；株高变异系数最小家系为 C03 (12.8%)，该家系株高相对整齐，家系内差异最小，C06 家系株高变异系数最大，为 39.9%；各家系地径 3.7~6.3 mm，标准差为 0.6 mm，平均地径为 4.9 mm，变异系数为 7.9% 至 40.2%。各

家系 SPAD 值在 33.1 至 43.9 之间, 变异系数为 (C04), 最多为 84.2 片 (C13), 平均变异系数为 7.4%~16.1%。各家系最小平均叶片数量为 18.0 片 39.7% (表 2)。

表 1 红锥 14 个家系不同性状方差分析结果
Table 1 Traits ANOVA results of *C. hystrix* families

表型 Trait	自由度 df	平方和 SS	均方 MS	F 值 F value	性状总体变异系数 /% CV
株高 Height	13	26 570	2 043.90	26.68***	32.2
地径 Ground diameter	13	102.5	7.88	7.30***	24.4
SPAD	13	2 634	202.60	9.88***	13.8
叶片数量 Leaf number	13	48 742	3 749.00	9.52***	59.7
叶片长度 Leaf length	13	161	12.38	4.04***	19.8
叶片宽度 Leaf width	13	8.36	0.64	3.08***	18.1
叶片长宽比 Aspect ratio	13	8.22	0.63	2.41**	14.6
叶面积 Leaf area	13	1 198	92.18	3.88***	33.9

注: “***”表示在 0.001 水平上具有显著差异; “**”表示在 0.01 水平上具有显著差异。

Note: *** indicates significant differences in $P=0.001$ level; ** indicates significant differences in $P=0.01$ level.

表 2 红锥不同家系株高、地径、叶片数和叶绿素含量及变异系数

Table 2 Plant height, ground diameter, leaf number, chlorophyll content and coefficient of variation of different *C. hystrix* families

家系编号 Family No.	平均株高 /cm Mean height	株高变异 系数 /% CV of mean height	平均地径 /mm Mean ground diameter	地径变异 系数 /% CV of mean ground diameter	SPAD	SPAD 变异系数 CV of SPAD	叶片数量 Leaf number	叶片数量 变异系数 CV of leaf number
C01	41.1 cde	10.4	4.8 bcd	12.5	39.6 abc	13.9	30.8 cdefg	41.0
C02	40.4 de	24.3	6.3 * a	19.8	41.0 abc	11.2	56.8 abcd	34.6
C03	42.0 cd	12.8	4.9 bcd	16.9	34.5 de	11.1	50.0 bcdef	27.7
C04	28.6 f	26.3	4.4 cd	17.8	37.9 abcd	7.7	18.0 g	27.2
C05	40.6 de	30.5	5.0 bc	40.2	41.7 ab	16.1	52.3 bcdef	35.8
C06	35.5 def	39.9	4.9 bcd	20.2	40.8 abc	8.2	45.1 bcdefg	49.1
C07	35.5 def	30.6	4.3 cd	7.9	42.0 ab	12.6	23.1 efg	33.6
C08	30.7 ef	23.7	4.6 bcd	18.3	38.0 abcde	12.6	26.9 defg	30.0
C09	26.5 f	21.9	3.7 d	21.1	42.8 a	10.1	21.1 fg	46.3
C10	52.4 * abc	18.1	4.9 bcd	11.3	43.9 a	11.4	33.8 cdefg	34.8
C11	56.8 * a	16.5	5.1 abc	15.5	38.6 abcd	14.9	67.7 ab	46.0
C12	49.7 abc	21.4	5.6 * ab	18.7	35.1 cde	7.4	52.6 bcde	68.9
C13	53.1 * ab	16.8	5.8 * ab	16.5	41.8 ab	7.9	84.2 a	31.1
C14	45.6 bcd	14.0	4.8 bcd	16.4	33.1 e	8.1	59.5 abc	49.7
平均值 ± 标准差	41.3 ± 9.4	21.9 ± 8.1	4.9 ± 0.6	18.1 ± 7.3	39.4 ± 3.2	10.9 ± 2.8	44.4 ± 19.5	39.7 ± 11.2

注: 超过平均值与标准差之和的数值在表中用 * 表示; 不同字母表示数值间存在显著差异 ($P<0.05$)。

Note: values exceeding the sum of the average and standard deviation are marked by * in the table, different characters indicate significant difference.

2.3 不同半同胞家系叶片形态差异性分析

不同家系叶片表型测量和计算结果如表 3 所示, 14 个半同胞家系总体叶片平均长度为 9.0 cm, 平均叶片长度最小的家系为 C09 (8.1 cm), 平均叶片长度最大的家系为 C14 (10.1 cm), 总体标准差为 0.66 cm; 叶片宽度最小的家系为 C09, 最大家系为 C07 和 C14, 变化区间为 2.3 cm 至 2.8 cm, 总体平均值为 2.6 cm, 标准差为 0.14 cm; 叶片长宽比最小值为 3.2, 最大值为 3.8, 平均为 3.6, 标准差为 0.15; 平均叶面积最小的家系为 C09 (11.3 cm²), 最大的家系为 C14 (17.3 cm²), 各家系叶面积平均值为 15.0 cm², 叶面积标准差为 1.80 cm²。叶片长度、叶片宽度、叶片长宽比和叶面积在不同家系间的平均变异系数分别为 18.6%、17.5%、13.8% 和 32.7%。

2.4 不同表型间相关性分析

对 8 组生长表型进行相关性分析, 相关系数

结果如表 4 所示。其中株高与地径 (0.63) 和叶片宽度与叶面积 (0.60) 2 组生长表型两两性状之间存在显著的正相关 ($P<0.05$); 株高与叶片数量 (0.76)、地径与叶片数量 (0.75)、叶片长度与叶片宽度 (0.94)、叶片长度与长宽比 (0.96) 和叶片宽度与长宽比 (0.85) 等 5 组生长表型两两性状之间存在极显著的正相关 ($P<0.01$)。其余各生长表型性状间相关系数均未达到显著水平, 相关系数为 -0.21 至 0.31 之间。

2.5 苗期表现优良家系初选

鉴于用材树种新品种选育中所关注的最重要性状为生长量, 即株高和地径两个表型, 另外光合能力相关表型如叶绿素含量、叶片数量和叶面积等均会对生长量产生间接影响, 但根据本文 2.4 中计算结果可知, 叶片数量与株高、叶片数量与地径呈显著正相关, 叶绿素含量、叶片长宽和叶面积等性状与株高、地径相对独立, 无明显关

表 3 红锥不同家系叶片形态测量结果

Table 3 Leaf morphology measurement results of different *C. hystrix* families

家系编号 Family No.	叶片长度 /cm Leaf length	叶片长度 变异系数 /% CV of Leaf length	叶片宽度 /cm Leaf width	叶片宽度 变异系数 /% CV of leaf width	叶片长宽比 Aspect ratio	叶片长宽比 变异系数 /% CV of aspect ratio	叶面积 /cm ² Leaf area	叶面积 变异系数 /% CV of leaf area
C01	9.3 abc	17.4	2.7 a	13.3	3.5 ab	14.8	15.7 ab	27.5
C02	9.3 abc	14.0	2.7 a	12.9	3.5 ab	14.1	15.5 ab	22.3
C03	9.8 ab	19.9	2.7 a	17.3	3.7 a	11.9	17.0 a	35.3
C04	8.9 abc	22.1	2.4 a	21.3	3.7 a	11.8	13.3 ab	40.7
C05	9.2 abc	19.4	2.6 a	15.5	3.5 ab	13.5	14.8 ab	31.5
C06	9.9 ab	25.6	2.7 a	19.4	3.8 a	19.4	16.0 ab	40.8
C07	9.7 ab	14.7	2.8 a	16.8	3.5 ab	12.9	16.6 ab	29.7
C08	8.8 abc	13.1	2.6 a	15.5	3.4 ab	12.8	14.7 ab	26.3
C09	8.1bc	15.7	2.3 a	18.8	3.6 ab	13.3	11.3 b	29.7
C10	9.9 ab	20.1	2.7 a	13.6	3.6 ab	14.9	16.6 ab	29.6
C11	8.7 abc	16.7	2.5 a	16.4	3.5 ab	11.3	13.0 ab	31.2
C12	8.0 bc	19.8	2.5 a	21.5	3.2 b	13.8	12.7 b	32.6
C13	9.5 ab	20.3	2.6 a	22.0	3.7 a	15.1	14.9 ab	39.1
C14	10.1 a	22.0	2.8 a	21.1	3.7 a	13.3	17.3 a	41.5
平均值 ± 标准差 Mean ± SD	9.2 ± 0.7	18.6 ± 3.5	2.6 ± 0.1	17.5 ± 3.2	3.6 ± 0.15	13.8 ± 2.0	15.0 ± 1.8	32.7 ± 5.9

注: 不同字母表示数值间存在显著差异 ($P<0.05$)。

Note: different characters indicate significant difference.

表4 红锥不同表型间相关分析
Table 4 Correlation analysis between different *C. hystrix* traits

表型 Traits	株高 Height	地径 Ground diameter	叶片数量 Leaf number	SPAD	叶片长度 Leaf length	叶片宽度 Leaf width	叶片长宽比 Aspect ratio
地径 Ground diameter	0.63*						
叶片数量 Leaf number	0.76**	0.75**					
SPAD	-0.11	-0.08	-0.19				
叶片长度 Leaf length	0.18	0.18	0.13	-0.13			
叶片宽度 Leaf width	0.19	0.12	0.19	0.00	0.94**		
叶片长宽比 Aspect ratio	0.29	0.30	0.23	-0.10	0.96**	0.85**	
叶面积 Leaf area	-0.11	-0.21	0.03	0.15	0.31	0.60*	0.10

注：“*”表示在0.05水平上显著相关；“**”表示在0.01水平上显著相关。

Note: * indicates significant correlation at $P < 0.05$ level; ** indicates significant correlation at $P < 0.01$ level.

联。因此，本研究选择株高和地径两个表型，作为苗期生长优良家系初选关注的生长表型，以两表型在14个家系间的平均值与标准差之和作为筛选标准；家系C11（56.8 cm）、C13（53.1 cm）C10（52.4 cm）的平均株高大于总体平均株高（41.3 cm）与标准差（9.4 cm）之和50.7 cm，共有4个家系的平均地径高于总体地径（4.9 mm）和标准差（0.6 cm）之和5.5 mm，分别为C02（6.3 mm）、C13（5.8 mm）和C12（5.6 mm）。其中C13家系株高和地径两个表型均超过平均值与标准差之和的筛选标准；另外，C10和C11两个家系平均地径虽然略低于筛选标准，但其平均株高均大于筛选标准；C12家系的平均株高为49.7 cm，接近筛选标准，C02家系的地径最大（6.3 mm），其平均株高（40.4 cm）接近14个家系的平均株高。综上所述，共评选C02、C10、C11、C12和C13共5个家系为苗期生长优良的家系，可作为后续新品种选育需关注的重要遗传资源。以上5个家系，平均株高为50.12 cm，与2代种子园中14个半同胞家系的平均株高（41.3 cm）相比提升了21.3%；平均地径为5.54 mm，高出14个半同胞家系总体平均地径（4.9 mm）13.6%；在所选取的C02、C10、C11、C12和C13家系中，各家系株高的变异系数分别24.3%、18.1%、16.5%、21.4%和18.6%，平均值为19.4%，5个

家系的变异系数均低于21.9%的总体平均值；5个家系地径的变异系数为18.9%、11.3%、15.5%、18.7%和16.5%，5个家系的平均值为16.4%，低于18.1%的平均值，以上数据表明评选出的5个苗期表现较好的家系，其子代苗木的生长也具有较好的一致性。

3 结论与讨论

本研究的结果表明，红锥2代种子园中的14个半同胞家系在幼苗期的生长表现出明显差异，根据方差分析的结果可知，苗期生长表型差异的主要因素为半同胞家系间的遗传差异，这也与红锥种源遗传差异分析获得的结果一致^[10-11]，该结果也证明了现阶段红锥具有很好的育种潜力，可以通过优良家系无性系化的组培繁育或建立改良种子园等方式实现遗传改良，进而提升红锥苗木质量和红锥木材产量。如家系C10，其株高变异系数为18.1%，地径变异系数为11.3%，后者已经接近以往杨树 *Populus tomentosa* 无性系选育研究中部分无性育苗过程中单株生长量的变异系数（10%）^[12]；农林业生产中，种苗的一致性是最为重要的经济指标之一^[13]。当前，红锥主要利用种子园收获的种子进行繁育和造林，通过苗期生长表现优良家系的评选，提升苗木生长量和一致性，可以更好的实现种苗生产，便于育苗期和

造林初期进行水肥控制,提升造林成果率,降低营林成本,显著提升全周期林地经营的收益^[2]。本研究完成的红锥2代种子园中14个半同胞家系苗期生长量差异分析,可以为后续的育种提供重要的参考。

通过8个生长表型的相关系数的计算发现呈显著正相关的表型主要有:(1)株高-地径-叶片数和(2)叶片长度-叶片宽度,其中叶片长宽与生长表型并无显著关联,方差分析结果显示所有表型的差异的主要来源为不同家系的差异,因此选择株高与地径作为苗期生长优良家系的评选表型。

由于红锥生长周期较长,轮伐期25~30年,对本研究评选出的苗期生长表现优良的材料造林后生长量进行长期跟踪调查,需进一步分析其苗期生长、早期生长和后期生长的相关性,开发有效的早期选择方法。随着红锥组培技术的不断深入研究,未来红锥种苗生产可采用种子园繁育与组培无性繁育相结合的方式^[14-17],从已有的优良家系子代测定林中不断评选优良单株,通过组培无性繁殖的方式进行优质种苗生产,同时选择优良无性系进行人工控制授粉以创制优良新种质,不断推进红锥育种进程。

参考文献

- [1] 张凤良,张方秋,潘文,等. 17个红锥种源叶片性状变异分析[J]. 广东林业科技, 2011, 27(3): 20-26.
- [2] 徐放,张卫华,杨晓慧,等. 红锥1.5代种子园半同胞子代苗期生长差异分析[J]. 林业与环境科学, 2018, 34(1): 1-6.
- [3] 徐放,杨晓慧,廖焕琴,等. 红锥天然分布区气候区划[J]. 林业与环境科学, 2017, 33(2): 21-28.
- [4] 廖培来,朱积余. 广西名优经济树种[M]. 北京: 中国林业出版社, 2006.
- [5] 蒋家淡. 红锥杉木混交造林效果研究[J]. 福建林学院学报, 2002, 22(4): 329-333.
- [6] 朱细俭,黄少锋,张志鸿. 红锥混交林生长情况调查分析[J]. 广东林业科技, 2003, 19(4): 46-48.
- [7] 肖石红,高常军,蔡坚,等. 南亚热带杉木和红椎林及其混交林的土壤肥力[J]. 福建林学院学报, 2018, 38(2): 142-148.
- [8] 刘德浩,张卫华,张方秋,等. 不同种源红锥优树子代苗期生长变异分析[J]. 广东农业科学, 2015, 42(9): 28-31.
- [9] CORE R, STATISTICAL P, NU URDCT, et al. R: A language and environment for statistical computing[J]. Computing, 2014(1): 12-21.
- [10] 黄志玲,郝海坤,庞世龙,等. 红锥种源苗期生长节律研究[J]. 林业科技开发, 2012, 26(3): 24-28.
- [11] 吴幼媚,刘海龙,王以红,等. 广西种源红锥栽培群体遗传多样性评价[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(4): 1435-1436.
- [12] 王之柏. 杨树抗云斑天牛新品种引种试验[J]. 林业实用技术, 1997(4): 27-28.
- [13] 周婷. 出口切花菊‘白扇’的引种调查与快繁技术的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
- [14] 廖焕琴,潘文,林元震,等. 截干高度对红锥的促萌效果研究[J]. 林业与环境科学, 2016, 32(3): 49-54.
- [15] 焦金凤,赵梦秋,邓小梅,等. 红锥优树外植体褐化抑制方法研究[J]. 林业与环境科学, 2016, 32(6): 34-39.
- [16] 焦金凤. 红锥组织培养中褐化抑制方法研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [17] 李蕊萍. 红锥组培快繁技术研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.