

DOI: 10.13332/j.1000-1522.20150486

有限种群油松种子园的遗传多样性与交配系统

程祥¹ 张梅¹ 毛建丰¹ 钮世辉¹ 马俊² 李伟¹ 李悦¹

(1 北京林业大学生物科学与技术学院, 林木育种国家工程实验室, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室 2 宁城县林业局)

摘要:运用 10 对 SSR 引物对油松无性系种子园内 3 个配置区共 63 个无性系(无性系亲本之间有重复)及 320 个子代进行研究,选择第 9 配置区的亲代群体进行固定配置与交配系统关系的研究。结果发现:有限种群固定配置油松种子园的无性系具有较高的遗传多样性,子代保留了亲本所有的等位基因,且子代群体的等位标记数多于亲本,说明子代与亲本具有同样高的遗传多样性,而且高于亲本;在分析第 9 配置区的交配系统时,在 80% 的置信度下,配置区内异交率达到了 100%,这说明固定配置下油松种子园的交配系统以异交为主;邻居花粉距离(即距离小于 7.07 m)传播的交配成功率为 21.90%;传播距离 40 m 以内的交配成功率为 71.43%,距离大于 40 m 的交配成功率为 6.67%,说明固定配置区内的花粉空间传播范围比较均匀,花粉传播范围广泛。对于配置区间的基因交流研究,我们发现各配置区均有来自其他 2 个配置区不同程度上的花粉影响,说明各配置区间的基因交流相对充分。另外,我们发现种子园的外来花粉影响率达到了 11.88%。

关键词:油松;无性系种子园;SSR;遗传多样性;固定配置;交配系统

中图分类号:S722 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1522(2016)09-0008-08

CHENG Xiang¹; ZHANG Mei¹; MAO Jian-feng¹; NIU Shi-hui¹; WU Jun²; LI Wei¹; LI Yue¹. **Gene diversity and mating system of *Pinus tabuliformis* in finite population seed orchard.** *Journal of Beijing Forestry University* (2016) **38**(9) 8-15 [Ch, 27 ref.]

1 National Engineering Laboratory for Forest Tree Breeding, College of Biological Sciences and Biotechnology, Key Laboratory of Genetic and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing, 100083, P. R. China;

2 Forestry Bureau in Ningcheng Founty, Chifeng, Inner Mongolia, 024200, P. R. China.

A total of 63 clone parents (there was repeat in the clonal parents) and 320 open-pollination progenies were identified by 10 polymorphic SSR loci from three configuration areas of a *Pinus tabuliformis* seed orchard. We chose the parent and progeny population of ninth configuration area as for our study on the relationship between fixed configuration and mating system. The results showed there was a high genetic diversity in the seed orchard, progeny population had all alleles detected in parent population, and even had some new alleles absent in parent population. In the analysis of the mating system at 80% confidence level, the exchange rate of the configuration area had reached 100%, indicating that most of the mating system of *P. tabuliformis* seed orchard was based on outcrossing under the fixed configuration. The average neighbor mating rate (<7.07 m) was 21.90%; the rate within and beyond 40 m was 71.43% and 6.67%, respectively, indicating that the distribution of pollen in the fixed configuration was relatively uniform, and the range of pollen dispersal was widespread. As to the study of gene exchange between the configuration areas, we found that each of configuration area was affected by pollen from the other two configuration areas to different degrees, indicating that the gene exchange between each configuration area was relatively sufficient. In addition, we found the rate of contamination by pollen outside the seed orchard was as high as 11.88%.

Key words *Pinus tabuliformis*; clonal seed orchard; SSR; gene diversity; fixed configuration; mating system

收稿日期: 2015-12-11 修回日期: 2016-03-30

基金项目: 林业公益性行业科研专项(201104022)。

第一作者: 程祥。主要研究方向: 森林遗传学与针叶树遗传改良。Email: 15117957898@163.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者: 李悦, 博士, 教授。主要研究方向: 森林遗传学与针叶树遗传改良。Email: liyue@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

针叶树种子园育种群体与良种遗传多样性 (genetic diversity) 和交配系统 (mating system) 是树种可持续改良与良种繁育的重要理论与种质基础^[1-2]。一个树种改良计划的优树种质多来自生态区相似较广地理区域的不同优良林分, 因此, 构建的种子园无性系群体或育种群体多有高于普通林分的遗传基础^[3-4], 生产的良种也有相对较广的生境适应性。而对来自有限地理区域优树构建的种子园无性系群体与子代遗传多样性与交配系统状况尚缺乏认识了解。早期初级种子园的无性系多采用固定区组配置, 而在以往的研究中也建议高级种子园采用固定配置以方便管理^[5], 固定配置下种子园的交配系统如何也值得分析探讨。阐明有关问题对树种的持续改良和种子园建设有积极意义。

油松 (*Pinus tabulaeformis*) 是松科乔木树种, 分布于中国北方 14 个省区, 是该区域的重要生态与用材树种。油松遗传改良始于二十世纪 70 年代初, 现有 14 处油松种子园, 多数为初级无性系种子园, 部分开始了高级种子园建设。一些种子园的种质来源于有限分布区内。其中黑里河种子园优树主要选自本林区几处优良的天然林, 选择强度较低, 种子园无性系为固定配置, 具有一定的代表性。简单重复标记 (SSR) 是高度检测敏感度的分子标记, 它的特点是具有共显性遗传, 从而能够检测杂合子, 并且多态性和稳定性都很好, 操作步骤少, DNA 用的量很少, 能够在不同基因组中随机分布, 方便扩增, 所以这种分子标记在植物遗传多样性和交配系统中应用得较多^[6-8]。利用 SSR 分子标记技术对种子园的遗传多样性及子代做父本分析也早有应用^[9-10]。

本文即利用 SSR 分子标记对该有限种群优树及固定配置的种子园无性系及子代样本进行分析测验, 拟阐明: 1) 有限种群起源无性系遗传多样性特点; 2) 种子园无性系群体与子代群体遗传多样性差异; 3) 种子园交配系统与固定配置设计关系; 4) 不同配置区间的基因交流, 进而为该类种子园优良种质保育、改良与高级种子园配置提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地点

研究地点为内蒙古自治区宁城县黑里河林场国家油松良种基地。该基地于 1973 年在本林区天然林分中选择优树并嫁接繁殖成无性系, 1978 年建成初级油松种子园 13.33 hm²。该种子园有 14 个配置区, 定植无性系 350 个, 不同配置区定植无性系 20 至 40 个, 顺序错位排列, 株行距为 5 m × 5 m, 目前树龄为 40 年, 植株平均高在 10 m 左右, 树冠已郁闭。

无性系植株均已开花结实, 主结实层在 5 m 以上。

1.2 试验配置区与无性系

试验抽取人为干扰较小的第 8、9 和 10 共 3 个配置区试验, 其中第 8 区 20 个无性系, 重复 5 次; 第 9 区 34 个无性系, 重复 4 次; 第 10 区 24 个无性系, 重复 6 次 (配置区间个别无性系有重复), 区内相同无性系分株间距离为 12 m。

1.3 无性系样品采集及处理

分别采集 3 个配置区所有 63 个无性系 1 年生枝条及针叶做 DNA 分析试材, 并放置 -80 °C 冰箱保存备用。

1.4 种子园自由授粉种子采集

2014 年 9 月底, 在第 8 配置区采集 3 个不同无性系球果, 在第 9 配置区采集 12 株不同无性系球果, 第 10 配置区采集 5 个不同无性系球果作为种子园子代的分析材料, 一共 20 个无性系球果, 从每个无性系单株球果中随机抽取 16 粒种子做遗传分析, 共形成 320 个子代个体, 供种子园亲缘关系和交配系统分析使用。采集各无性系样株均位于各配置区中部, 采果部位为树冠上部, 每个无性系单株采果 20 个, 分别调制种子, 每个单株调制出种子 800 ~ 1 000 粒左右。种子保存于 -80 °C 的冰箱中待用。

1.5 总 DNA 的制备

利用 CTAB 法提取亲本共 63 株无性系的 DNA, 利用天根试剂盒提取子代群体种子胚的 DNA, DNA 的浓度和纯度用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行检测。

1.6 SSR-PCR 反应

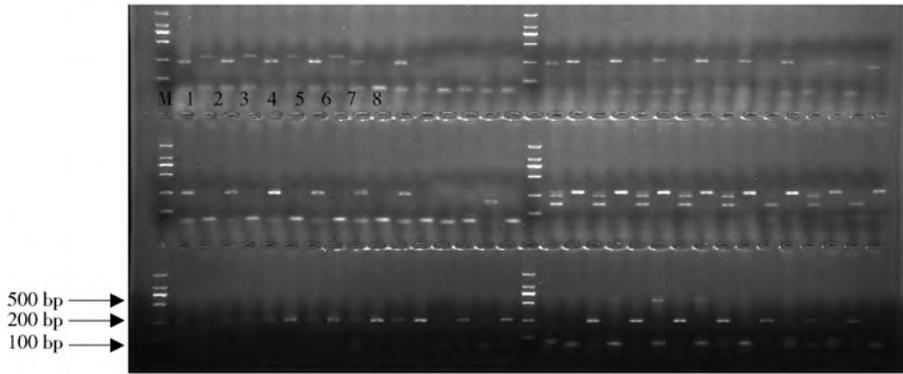
反应体系为反应总体积 20 μL, 1 × Buffer 缓冲液, 0.2 mmol/L 的 dNTP, 镁离子最适浓度为 250 nmol/L, 250 nmol/L SSR 引物, 30 ng 基因组 DNA 和 0.375 U 的 Taq 酶 (TaKaRa 生产)。PCR 扩增反应程序为梯度降温程序: 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 94 °C 30 s, 20 个循环; 50 °C 30 s, 60 °C 30 s, 20 个循环; 72 °C 5 min; 保存 4 °C。反应扩增完成后, 进行毛细管电泳测验 SSR 片段并记录。

1.7 引物筛选

本次研究应用的引物是从自主设计的松属引物共 101 对 SSR 引物中筛选出 42 对有明显产物和条带清晰的 SSR 引物, 经过多次重复筛选后, 再选出含多态性高并且能够稳定扩增的 10 对 SSR 引物进行后续实验, 部分引物扩增如图 1。

1.8 遗传参数分析

试验采用的是毛细管电泳法, 利用 Genemarker 读图软件进行峰值读取, 并记录有效峰值位点。利用软件 GeneAlex6.41 和 Fstat293 计算亲本及子代群体的遗传多样性, 得出等位标记平均数和遗传多



M 为 DS2000 的分子标记,1~8 代表不同油松引物扩增出来的产物。M represents molecular marker of DS2000, the number from 1 to 8 represent amplifications from different primers of *Pinus tabuliformis*.

图1 油松引物的 PCR 检测

Fig. 1 Primer PCR detection of *Pinus tabuliformis*

样度等主要的遗传参数,用软件 Cervus3.0 进行子代父本分析。

2 结果与分析

2.1 种子园无性系亲本遗传多样性特点及与子代群体的对比分析

利用筛选出的 10 对 SSR 引物对种子园的无性系亲本群体(含 63 个无性系)和子代群体(含 320 个子代)进行测验。我们在所有无性系亲本群体中测验到等位标记平均数 2~4 个不等,平均为 2.700,有效等位标记平均数为 1.630,我们发现当中的 J42 位点的等位标记平均数和有效等位标记平均数最大,它们分别达到了 4.000 和 1.617,J29 位点居其次。无性系亲本群体的 Shannon 多样性指数和遗传多样度的平均值分别达到了 0.599 和

0.369,说明油松的一代亲本群体本身具有良好的遗传基础。无性系亲本群体的平均观测杂合度为 0.446,平均期望杂合度为 0.366,平均固定指数 F 为 -0.191,说明亲本群体的杂合子过量,纯合子较少(表 1)。

在子代群体中,10 对 SSR 引物测验到的等位标记平均数为 2~5 个不等,平均为 3.000,相比较于亲本群体高出 0.300,并且,子代群体在 J10、J11、J20、J29、J42 和 J48 位点均出现了新的等位标记型。子代群体的有效等位标记平均数变化值在 1.129~2.090 之间,平均值为 1.576,这与亲本群体基本保持一致。子代群体的 Shannon 多样性指数和遗传多样度的平均值分别为 0.589 和 0.338,与亲本群体基本相当。子代群体的平均观测杂合度)和平均期望杂合度分别为 0.371 和 0.338,相对于亲本群体

表 1 种子园无性系亲本与子代群体遗传多样性

Tab. 1 Genetic diversity of the parent population and the progeny population in seed orchard

位点 Locus	样本数 Sample number	等位标记 平均数 Mean alleles	有效等位标记 平均数 Effective number of alleles	Shannon 多样性 指数 Shannon's information index	遗传多样度 Gene diversity	实际观测杂合度 Observed heterozygosity	平均期望杂合度 Mean expected heterozygosity
J9	63/320	2.000/2.000	1.324/1.253	0.410/0.355	0.247/0.202	0.286/0.228	0.245/0.202
J10	63/320	2.000/3.000	1.487/1.581	0.509/0.575	0.329/0.368	0.413/0.475	0.328/0.368
J11	63/320	3.000/3.000	1.986/2.010	0.762/0.831	0.498/0.503	0.762/0.619	0.496/0.503
J12	63/320	2.000/2.000	1.747/1.467	0.619/0.498	0.433/0.319	0.206/0.216	0.427/0.318
J20	63/320	3.000/5.000	2.106/1.692	0.851/0.759	0.527/0.410	0.810/0.411	0.525/0.409
J29	63/320	4.000/4.000	1.297/1.172	0.479/0.334	0.231/0.147	0.254/0.125	0.229/0.147
J42	63/320	4.000/4.000	1.617/1.887	0.689/0.843	0.384/0.471	0.460/0.508	0.382/0.470
J43	63/320	2.000/2.000	1.190/1.129	0.296/0.230	0.161/0.115	0.175/0.122	0.159/0.114
J48	63/320	3.000/3.000	1.837/2.090	0.764/0.872	0.458/0.522	0.571/0.625	0.456/0.521
J50	63/320	2.000/2.000	1.709/1.479	0.605/0.505	0.417/0.324	0.524/0.381	0.415/0.324
平均 Mean	63/320	2.700/3.000	1.630/1.576	0.599/0.589	0.369/0.338	0.446/0.371	0.366/0.338

注:“/”符号左侧数据为子代,右侧数据为亲本。Notes: the data on the left side of slashes belong to progeny, and the data on the right side of slashes belong to parent.

略有缩小。通过计算得到的子代群体的固定指数 F 为 -0.071 , 与亲本群体相差不大, 但略高于亲本群体(表 1)。

2.2 第 9 配置区交配系统与固定配置关系

2.2.1 配置区图

此配置区包含 34 株无性系亲本, 共有 100 株亲

本单株, 从 12 株母树上各取 16 粒种子共 192 粒种子作为子代群体的研究对象。配置区采用顺序错位法进行无性系单株栽植, 每株无性系单株之间距离为 5 m, 采种的 12 株母树随机来自配置区各个位置, 采集位置如图: 图中每个数字代表一种无性系, 相同无性系单株之间为顺序错位排布(图 2)。

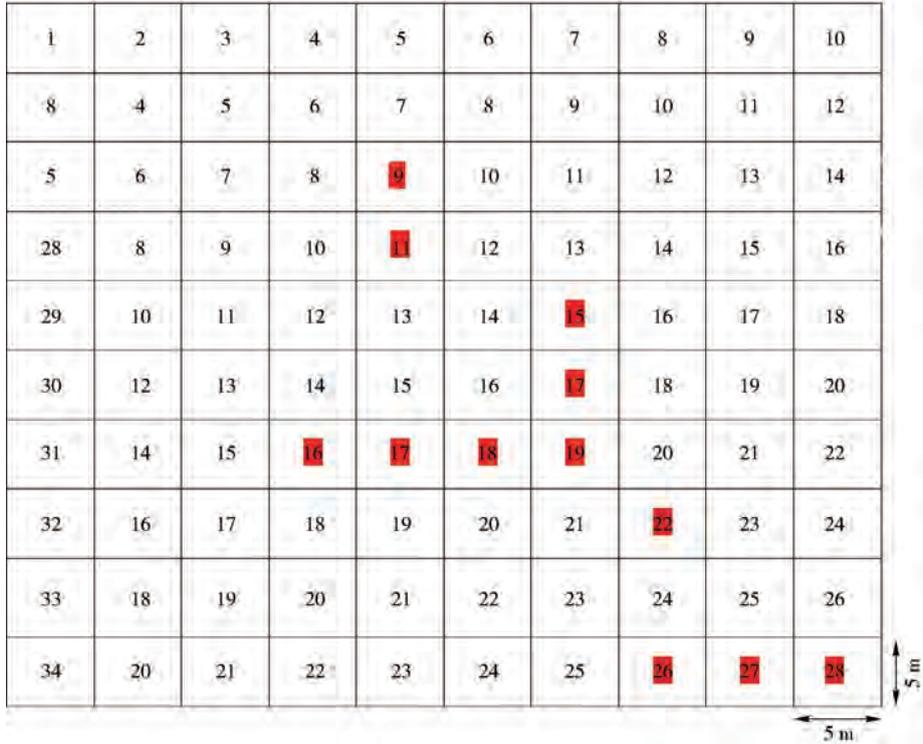


图 2 无性系配置

Fig. 2 Clone configuration diagram

2.2.2 第 9 配置区子代父本分析

1) 父本鉴定。用 10 对 SSR 引物在 80% 可信度下推断出 105 个子代的真实父本, 占总数的 54.69%, 可能父本中与母本相同无性系个数为 0, 说明此种子园区无自交现象, 交配方式以异交为主。

2) 配置区中 12 株母树的子代父本组成分析。在 80% 置信度下, 12 株母树中母树 S05、S07 和 S34 的子代群体能够确定的最大真实父本数达到了 11, 占比为 69%。其他母树的子代群体能够确定的真实父本比率在 38% ~ 63% 之间(表 2)。配置区中自交率为 0, 异交率达到了 100%, 说明配置区中的交配方式以异交为主(表 2)。

3) 第 9 配置区内 12 个母树采集种子的花粉来源分析(图 3)。对 12 个母树一共采集的 192 粒种子的花粉来源作分析, 在 80% 可信度内, 能够确定各个母树的种子花粉来源, 例如, 母树 S04 的 7 粒种子花粉分别来自父本 S01、S12、S13 和 S29, 其中来自父本 S29 的花粉数目最多为 3。

4) 第 9 固定配置区内花粉传播距离及空间分

布格局。在 80% 置信度下, 192 粒种子中有 105 粒种子找到了真实父本, 即有 54.69% 的子代确定了花粉来源。在提供花粉源的 34 株潜在无性系父本中, 有 28 个无性系提供了有效花粉, 其中花粉繁殖贡献率最高的父本无性系为 S12, 其贡献率达到了 6.25%, 其他的无性系繁殖贡献率在 0.52% ~ 5.73% 之间, 花粉的繁殖贡献率与花粉传播距离基本成指数关系, 指数模型 $y = 0.06e^{0.05x}$ 解释了这种交配模式, 其中 $R^2 = 0.66$ (图 4)。

在整个子代父本来源中, 有 21.90% 的花粉来自于邻居无性系, 即传播距离小于 7.07 m; 花粉传播距离在 10.00 ~ 14.14 m 之间的花粉源占比为 16.19%, 在 15.00 ~ 21.12 m 之间的占比 26.67%; 花粉源在 22.36 ~ 35.36 m 之间占比 28.57%, 大于 40.00 m 的花粉源占比 6.67%(图 5)。

5) 种子园配置区之间的基因交流。种子园 3 个配置区之间的距离在 100 ~ 500 m 之间, 在各个配置区的子代父本分析中, 虽然各个配置区的子代测验个数不同, 但本研究对比的是每个配置区的基因

表2 12株母树的子代父本来源

Tab.2 Paternity analysis for twelve mother tree

母树名称 Mother tree number	分析种子数 Analysis seeds	确定父本的 种子数 Number of determined male seeds	确定父本的 种子数比率 Rate of determined male seeds	确定的父本 个数 Number of determined fathers	异交数 Number of outcrossings	异交率 Outcrossing rate	自交数 Number of self-crossings	自交率 Self-crossing rate
S04	16	7	0.44	4	16	1	0	0
S05	16	11	0.69	8	16	1	0	0
S12	16	10	0.63	6	16	1	0	0
S14	16	8	0.50	5	16	1	0	0
S17	16	11	0.69	7	16	1	0	0
S18	16	10	0.63	7	16	1	0	0
S19	16	10	0.63	6	16	1	0	0
S20	16	6	0.38	4	16	1	0	0
S22	16	7	0.44	6	16	1	0	0
S30	16	7	0.44	3	16	1	0	0
S33	16	7	0.44	6	16	1	0	0
S34	16	11	0.69	9	16	1	0	0
总计 Total	192	105	0.547	28	192	1	0	0

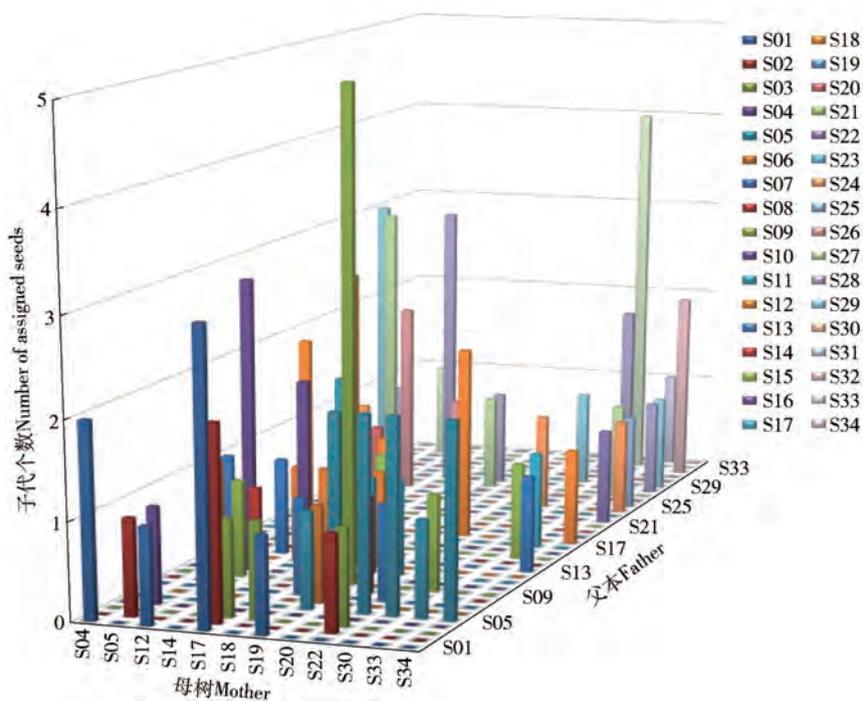


图3 第9配置区子代父本来源

Fig.3 Paternal origin of ninth configuration area

交流比率,这会降低抽样误差。我们发现,各个配置区都有其他两个配置区的花粉来源,例如,种子园第8配置区共有18.75%的花粉来自其他两个配置区,其中来自第9配置区的花粉占比12.50%,来自于第10配置区的花粉占比6.25%(表3)。

同时,10对SSR引物测验发现在亲本群体没有被发现而在子代群体中发现的等位标记有12个,他们分别来自于6个SSR位点,一共组成了38个特定

子代,其在总体测验子代群体数值的占比为11.88%。

3 讨论与结论

1)有限种群起源无性系遗传多样性特点。在已有的松属(*Pinus*)植物研究中,发现这类植物普遍具有较高的遗传多样性,但是不同的树种之间或是在同一树种的不同群体之间,它们有不同的遗传

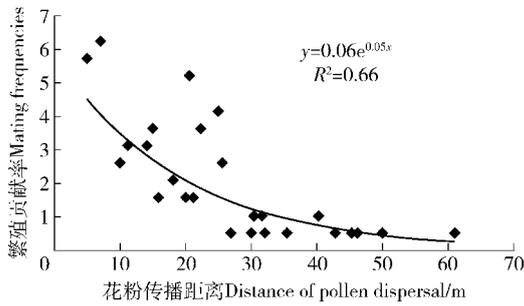


图4 花粉传播距离与繁殖贡献率的线性关系

Fig. 4 Distribution of mating frequencies as a function of the distance between parental trees

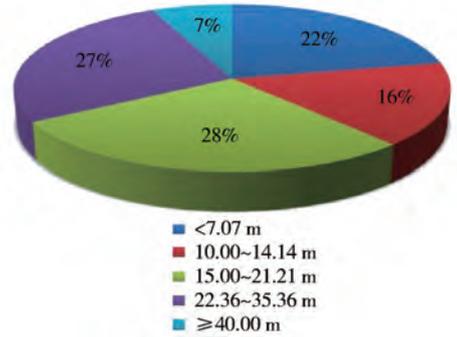


图5 不同花粉传播距离的交配比率

Fig. 5 Mating ratio at different ranges of distance

表3 各配置区之间的基因交流

Tab. 3 Gene exchange between different configurations

配置区 Configuration area	测验子代 总个数 Number of detective seeds	第8配置区 Eighth configuration area		第9配置区 Ninth configuration area		第10配置区 Tenth configuration area	
		花粉传播数 Number of pollen dispersal	基因交流比率 Rate of gene exchange/%	花粉传播数 Number of pollen dispersal	基因交流比率 Rate of gene exchange/%	花粉传播数 Number of pollen dispersal	基因交流比率 Rate of gene exchange/%
		第8配置区 Eighth configuration area	48	29	60.42	6	12.50
第9配置区 Ninth configuration area	192	7	3.65	105	54.69	10	5.21
第10配置区 Tenth configuration area	80	2	2.50	15	18.75	34	42.50

多样性水平,甚至这种差异水平较大。此次研究油松亲本群体相较于以前的学者研究的几个松属群体的遗传多样性数值有所降低,比如龚佳和艾畅于2007年和2008年研究的马尾松实生种子园的期望杂合度分别为0.529~0.575^[11-12]和0.479~0.493^[13-14],分析原因是黑里河油松种子园在初建时期优树主要是在本地地区的优良林分中进行选择的,选择强度不大,优树之间的遗传多样性差异不太显著;在辽宁兴城油松种子园的研究中,6个群体的平均期望杂合度和平均观测杂合度分别为0.329和0.285^[15],这相对低于本研究的数值,分析原因是与种子园建园无性系的来源、质量和数量,选择方法和选择强度有关。

2) 种子园无性系群体与子代群体遗传多样性差异。分析子代群体的遗传多样性发现此种子园群体有外来花粉标记型影响,这显然在一定程度上改变了亲本群体的遗传多样性。通过对比亲本群体的遗传多样性说明子代群体能够稳定遗传亲本群体的遗传多样性,但是子代群体基因分布的均匀程度低于亲本群体,在实际观测到的杂合种子占全部种子的比率也比亲本群体小,不过这种差异并不显著。并且,子代群体与亲本群体同样具有杂合子过量的现象,但现象没有亲本群体表现得明显,说明种子园

的配置设计影响了不同无性系之间的基因交流,起到了一定的促进作用。

3) 种子园交配系统与固定配置设计关系。研究中发现此固定配置油松种子园主要以异交为主,如在过去的松属树种研究中发现:红松(*P. koraiensis*)的异交率为0.966^[16],欧洲赤松(*P. sylvestris*)为0.950^[17],本次研究的异交率达到了100%,此现象说明在固定配置设计下,油松种子园能够达到非常高的异交水平,这有利于种子园的遗传多样性的稳定遗传。关于没有产生自交现象的问题,我们认为:一方面,本研究在80%置信度下分析的子代群体异交率为100%,并不能说明其他的子代都是来自于异交,可能部分自交子代没有被检测到,而且可能部分自交种子为空籽^[18],没有被用于试验分析;另一方面,采种时所有球果来自树冠的中上部位,而雄球花处于树冠的下部,这使得取到自交子代的可能性有限,而且该种子园无性系同步性高,自花授粉竞争弱于异交,所以才导致本次研究的自交率为0的现象,也因此说明本次研究的种子园自交对子代影响很小。本研究在第9配置区确定花粉来源的比率(54.69%)比在挪威云杉确定的42.5%的花粉来源^[19]和张冬梅等^[20-21]在某油松种子园确定了44.8%的花粉来源(置信度80%)都要高,说

明种子园花粉来源分布广泛,固定配置下的邻居效应和距离效应对配置区中的花粉传播产生了一定的影响。在固定配置设计下,我们发现近邻的花粉传播率达到了21.90%(图5),此结果基本与挪威云杉的邻居配置效应相近^[22-24],说明邻居效应在固定配置下对油松花粉传播及无性系间的交配方式的影响也有限;同时,种子园近距离交配现象不明显,但距离太远也不太利于无性系之间的基因交流。并且,花粉传播距离与繁殖贡献率成指数关系,指数模型 $y = 0.06e^{0.05x}$ 解释了这种交配模式(图4),其中 $R^2 = 0.66$,可见花粉的繁殖贡献率随着花粉传播距离的增大而逐渐变小的这一趋势,这解释了距离效应对固定配置下交配系统的影响,此结果与在挪威云杉种子园研究中花粉传播距离和繁殖贡献率的指数关系类似^[25-26],同样说明了这两个变量之间本身具有某种关系,也能够说明花粉传播的距离效应在固定配置设计下对油松无性系的交配方式起到了一定的引导作用。

4)不同配置区间的基因交流及种子园外来花粉影响。本次研究发现种子园内采样的3个配置区之间有基因交流的现象,这与各个配置区之间的距离和当地授粉时节的物候有关,如第8、9配置区之间的距离较近,相比较而言,这两个配置区之间的基因交流也更加密切;并且,种子园整体的坡向为由北朝南,这对授粉时节的风向有一定影响^[27]。另外,研究发现种子园有11.88%的外来花粉,这可能来自于黑里河油松良种基地的其他种子园配置区。

在过去的研究中,我们发现,以风媒传粉为传粉机制的树种中,自交率高的种子园会产生很多空籽,从而影响种子的生产效率,这样使种子园子代群体的经济状况有所下降^[18],为此,在种子园的无性系选择和配置上我们要合理控制以保证种子园的高异交率水平。对于本次研究选择的黑里河有限种群固定配置的油松种子园,我们试验得到的数据结果显示此有限种群油松种子园具有较高的遗传多样性,并在无性系之间有相当充分的基因交流,子代群体能够保持与亲本群体相当的遗传多样性水平,说明种子园在营建时对无性系的选择和配置设计工作做得很成功。为此,在营建高世代种子园时,建议从影响种子园交配系统的多个因素着手,比如在园址选择、无性系的选择、家系配置设计、花粉管理和栽植密度管理等方面,尽量避免近交或自交的现象,从而保证种子园的高产量和高品质^[19]。

参 考 文 献

- [1] EL-KASSABY Y A, STOEHR M U, REID D, et al. Clonal-row versus random seed orchard designs: interior spruce mating system evaluation [J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 2007, 37(3): 690-696.
- [2] LEXER C, HEINZE B, GERBER S, et al. Microsatellite analysis of maternal half-sib families of *Quercus robur*, Pedunculate oak: inferring the number of pollen donors from the offspring [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 99(1): 185-191.
- [3] 张春晓,李悦.油松同工酶位点选择研究[J].北京林业大学学报,1999,21(1):11-16.
ZHANG C X, LI Y. The choice of isozyme markers in *Pinus tabulaeformis* Carr [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 1999, 21(1):11-16.
- [4] 张冬梅,李悦,沈熙环,等.油松改良系统中的三种群体交配体系[J].北京林业大学学报,2000,22(5):11-18.
ZHANG D M, LI Y, SHEN X H, et al. A primary study on the mating system of three different populations within one improvement procedure of *Pinus tabulaeformis* Carr [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2000, 22(5):11-18.
- [5] ADAMS W T, HIPKINS V D, BURCZYK J, et al. Pollen contamination trends in a maturing Douglas-fir seed orchard [J]. *Canadian Journal of Forest Research*, 1997, 27: 131-134.
- [6] 李明,王树香,高宝嘉.油松天然次生林居群遗传多样性及与产地地理气候因子的关联分析[J].生态学报,2013,33(12): 3602-3610.
LI M, WANG S X, GAO B J. Analysis of genetic diversity of Chinese pine (*Pinus tabulaeformis*) natural secondary forest population and correlation with their habitat ecological factors [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(12):3602-3610.
- [7] 罗兵,孙海燕,徐港明,等.SSR分子标记研究进展[J].安徽农业科学,2013,41(12):5210-5212,5246.
LUO B, SUN H Y, XU G M, et al. Research progress of SSR molecular marker [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2013, 41(12): 5210-5212, 5246.
- [8] 谭小梅,周志春,金国庆.马尾松二代种子园遗传多样性和交配系统分析[J].林业科学,2012,48(2):69-74.
TAN X M, ZHOU Z C, JIN G Q. Genetic diversity and mating system analysis of *Pinus massoniana* in a second-generation clonal seed orchard [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2012, 48(2):69-74.
- [9] ASHLEY M V. Plant parentage, pollination, and dispersal: how DNA microsatellites have altered the landscape [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2010, 29(3):148-161.
- [10] LEONARDUZZI C, LEONARDI S, MENOZZI P, et al. Towards an optimal sampling effort for paternity analysis in forest trees: what do the raw numbers tell us? [J]. *iForest*, 2012, 5: 18-25.
- [11] 龚佳.马尾松实生种子园遗传多样性研究[D].南京:南京林业大学,2007:21-26.
GONG J. Genetic diversity of a seed orchard in *Pinus massoniana* [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2007: 21-26.
- [12] 张薇,龚佳,季孔庶.马尾松实生种子园遗传多样性分析[J].分子植物育种,2008,4(6):717-723.
ZHANG W, GONG J, JI K S. Genetic diversity for seedling orchard of Masson's pine [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2008, 4(6):717-723.
- [13] 艾畅,徐立安,赖焕林,等.马尾松种子园的遗传多样性与父本

- 分析[J]. 林业科学, 2006, 42(11): 146-150.
- AI C, XU L A, LAI H L, et al. Genetic diversity and paternity analysis of a seed orchard in *Pinus massoniana* [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2006, 42(11): 146-150.
- [14] 王鹏良. 马尾松无性系种子园多年分子代遗传多样性分析[D]. 南京: 南京林业大学, 2006: 17-23.
- WANG P L. Years of molecular generation of genetic diversity analysis of *Pinus massoniana* in a clonal seed orchard [D]. Nanjing: Nanjing Forestry University, 2006: 17-23.
- [15] 李悦, 张春晓. 油松育种系统遗传多样性研究[J]. 北京林业大学学报, 2000, 22(1): 12-19.
- LI Y, ZHANG C X. Genetic diversity within a breeding system of *Pinus tabulaeformis* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2000, 22(1): 12-19.
- [16] FENG F J, ZHAO D, SUI X, et al. Study on mating system of *Pinus koraiensis* in natural population based on cpSSR technology [J]. Advanced Materials Research, 2011, 183-185: 700-704.
- [17] KORSHIKOVI I, DEMKOVICH A E. Genetic polymorphism of plus-tree clones and their seed progeny in the Scotch pine clone plantation [J]. Cytology and Genetics, 2010, 44(1): 28-36.
- [18] 张华新, 沈熙环. 林木种子园生殖系统研究进展[J]. 林业科学, 2002, 38(2): 129-134.
- ZHANG H X, SHEN X H. Progress on reproductive system of forest seed orchard [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2002, 38(2): 129-134.
- [19] WANG X R, TORIMARU T, LINDGREN D, et al. Marker-based parentage analysis facilitates low input 'breeding without breeding' strategies for forest trees [J]. Tree Genetics & Genomes, 2010, 6(2): 227-235.
- [20] 张冬梅, 孙佩光, 沈熙环, 等. 油松种子园自由授粉与控制授粉种子父本分析[J]. 植物生态学报, 2009, 33(2): 302-310.
- ZHANG D M, SUN P G, SHEN X H, et al. Paternity analysis of open and control pollination seeds collected from a seed orchard of *Pinus tabulaeformis* [J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2009, 33(2): 302-310.
- [21] 张冬梅, 杨娅, 沈熙环, 等. 油松 SSR-PCR 引物筛选及反应体系的建立[J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(2): 13-17.
- ZHANG D M, YANG Y, SHEN X H, et al. Selection of primers and establishment of SSR-PCR reaction system on *Pinus tabulaeformis* Carr [J]. Journal Of Beijing Forestry University, 2007, 29(2): 13-17.
- [22] BURCZYK J, LEWANDOWSKI A, CHALUPKA W. Local pollen dispersal and distant gene flow in Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) [J]. Forest Ecology and Management, 2004, 197: 39-48.
- [23] LINDGREN D. *Picea abies* breeding in Sweden is based on clone testing [J]. Dendrobiology, 2009, 61(Suppl.): 79-82.
- [24] PLUESS A R, SORK V L, DOLAN B, et al. Short distance pollen movement in a wind-pollinated tree, *Quercus lobata* (Fagaceae) [J]. Forest Ecology and Management, 2009, 258(5): 735-744.
- [25] AYAKO S, WANG X R, TAKESHI T, et al. Spatial variation in local pollen flow and mating success in a *Picea abies* clone archive and their implications for a novel 'breeding without breeding' strategy [J]. Tree Genetic & Genomes, 2011, 7(3): 499-509.
- [26] PAKKAD G, UENO S, YOSHIMARU H. Gene flow pattern and mating system in a small population of *Quercus semiserrata* Roxb. (Fagaceae) [J]. Forest Ecology and Management, 2008: 255(11): 3819-3826.
- [27] TORIMARU T, WANG X R, FRIES A, et al. Evaluation of pollen contamination in an advanced Scots pine seed orchard [J]. Silvae Genetica, 2009, 58(5-6): 262-269.

(责任编辑 范娟
责任编辑委 康向阳)