

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201505025

冯源恒, 李火根, 杨章旗, 等. 马尾松桐棉种源天然群体遗传结构研究 [J]. 广西植物, 2016, 36(11):1275–1281

FENG YH, LI HG, YANG ZQ, et al. Genetic structure of *Pinnus massoniana* on Tongmian natural populations in Guangxi [J]. Guihaia, 2016, 36(11): 1275–1281

马尾松桐棉种源天然群体遗传结构研究

冯源恒^{1,2}, 李火根², 杨章旗^{1*}, 吴东山¹

(1. 广西壮族自治区林业科学研究院, 南宁 530002; 2. 南京林业大学 林木遗传与生物技术省部共建教育部重点实验室, 南京 210037)

摘 要: 广西桐棉是我国重要的马尾松优良种源区, 该种源分布面积达 1.56 万 hm^2 , 马尾松遗传资源优质且丰富, 但近 30 年来该地区的马尾松天然资源受到较为严重的破坏。为了解该地马尾松天然种质资源的遗传多样性现状, 该研究利用 SSR 分子标记分析了桐棉马尾松的群体遗传结构。结果表明: 16 对 SSR 引物在 285 个样本中共检测到 53 个等位基因, 多态位点百分率为 100%。桐棉群体的平均等位基因数(N_a)、平均有效等位基因数(N_e)、Shannon 多样性指数(I)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)分别为 3.31、1.68、0.64、0.35 和 0.36, 可见桐棉群体现今仍具有较高的遗传多样性。群体的遗传分化系数(G_{ST})为 0.049, 固定指数(F_{ST})为 0.072, 基因流(N_m)为 3.21。这说明桐棉群体内基因型分布接近于平衡状态, 未出现明显的杂合子过剩或不足, 遗传变异主要存在于林分内, 林分间不存在明显的遗传分化, 群体内基因交流顺畅。同时, 处于桐棉种源核心区域的 4 个林分遗传多样性水平显著低于核心区外围的 3 个林分, 说明桐棉种源核心区域遭到更为严重的人为破坏。为了保障该处马尾松天然群体的正常更新及自然遗传改良能力应重视对马尾松天然林的科学管护。一方面通过遗传资源选择收集, 建立大规模种质资源库; 另一方面, 对于桐棉种源这类分布面积大、利用价值高、目前所受破坏尚不严重的天然群体, 应建立专门的自然保护区, 严禁盗伐、主伐、非法采割松脂及过度采种。该研究结果对于马尾松天然种质资源的研究与保护具有重要参考价值。

关键词: 马尾松, 天然群体, 遗传结构, SSR, 种源**中图分类号:** Q347, S718.46 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2016)11-1275-08

Genetic structure of *Pinnus massoniana* on Tongmian natural populations in Guangxi

FENG Yuan-Heng^{1,2}, LI Huo-Gen², YANG Zhang-Qi^{1*}, WU Dong-Shan¹

(1. Guangxi Institute of Forestry Science, Nanning 530002, China; 2. Key Lab of Forest Genetics and Biotechnology, Nanjing Forestry University, Ministry of Education, Nanjing 210037, China)

Abstract: Guangxi Tongmian is an important superior provenance region of masson pine in China. The distribution area of this provenance had reached 15 600 hm^2 . It had a high-quality and rich genetic resources of masson pine, and made a great contribution to the genetic improvement of masson pine. Over the last 30 years, natural resources of masson pine in this region have suffered serious damage. To understand the genetic diversity of natural germplasm resources of masson

收稿日期: 2015-10-08 **修回日期:** 2016-01-07**基金项目:** 广西八桂学者专项; 广西优良用材林资源培育重点实验室自主研究课题(12B0102); 广西自然科学基金(2014GXNSFBA118078) [Supported by Guangxi Special Fund for Bagui-Scholar; Guangxi Key Laboratory of Superior Timber Trees Resource Cultivation (12B0102); Guangxi Natural Science Foundation(2014GXNSFBA118078)]。**作者简介:** 冯源恒(1981-), 男, 黑龙江牡丹江市人, 博士, 高级工程师, 主要从事林木遗传育种研究, (E-mail) nanyuan05@163.com。***通讯作者:** 杨章旗, 博士, 教授级高级工程师, 主要从事林木遗传育种研究, (E-mail) yangzhangqi@163.com。

pine in this area, SSR molecular markers were used to analyze the population genetic structure of masson pine in Tongmian region. The results showed that 53 alleles were identified by 16 pairs of SSR primers in 285 samples, and the polymorphism rate was 100%. The mean number of alleles (N_a), the mean number of effective alleles (N_e), Shannon's information index (I), observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e) were 3.31, 1.68, 0.64, 0.35 and 0.36. This showed that the Tongmian population still maintained high level of genetic diversity. Analysis on genetic structure of each stand in Tongmian population showed that coefficient of genetic differentiation (G_{ST}), fixation index (F_{ST}) and gene flow (N_m) were 0.049, 0.072 and 3.21. The genotype distribution was closer to Hardy-Weinberg equilibrium, and had no significant heterozygote excess or shortage. In Tongmian population, most genetic variation mainly existed within the stand, and no significant genetic differentiation existed among stands. The gene flow in it was smooth. Meanwhile, the genetic diversity of the four stands in the core region was lower than genetic diversity of three stands outside the core region. This indicated that the core region of Tongmian provenance suffered more serious man-made damage. In order to protect the natural updating and natural genetic improvement ability of the natural populations of masson pine in this area, we should pay attention to the scientific management of natural forest. On the one hand, genetic resources should be collected and large-scale germplasm resources should be established. On the other hand, we should establish special nature reserve and prohibit illegal felling, final felling, illegal resin tapping and excessive seeding for the natural population like Tongmian which has large distribution area, high utilization value and no serious damage at present. The results of this study have important reference value for the research and protection of the natural germplasm resources of masson pine.

Key words: *Pinus massoniana*, natural populations, genetic structure, SSR, provenance

马尾松(*Pinus massoniana*)是我国重要的造林树种,林分总面积居全国针叶树种首位,蓄积量仅次于云杉、冷杉和落叶松,居全国针叶树种第四位。其木材和松脂是许多森林工业、造纸工业和林产化工业的主要原料(周政贤,2001)。从“六五”计划至今,我国的马尾松遗传育种研究取得了丰硕的成果。在种源试验(陈天华等,1994;卢兆银等,2006)、种质资源收集(杨章旗等,2001;黄楚光,2007)、种子园建设管理(郑仁华等,2006;胡集瑞,2007)、木材品质改良(谭健晖,2012;杨章旗,2012)、交配系统分析(张薇等,2009;谭小梅等,2012)、无性繁育技术(张宇等,2006)、遗传图谱构建(尹佟明等,1997;何卫龙等,2014)等方面开展了大量的研究。但是,在马尾松遗传多样性研究方面一直以种子园为主要研究材料(万爱华等,2008;朱必凤等 2007;张一等,2009),关于马尾松天然群体遗传多样性的研究报道较少。

广西是马尾松优良种源的主要分布区,马尾松天然种质资源十分丰富,其中地处十万大山的宁明县桐棉乡是我国最优良的马尾松种源地之一。桐棉种源是通过国家审定的马尾松良种(良种编号:国S-SP-PM-003-2002)。该种源分布面积达 1.56 万 hm^2 ,但近 30 年来,由于人为因素的影响,广西的马尾松天然资源遭受破坏严重。因人口激增及生产技

术滞后等因素的影响,原生天然林已经十分稀少,次生林又因不断遭受负向选择,造成存留的种质群体遗传品质下降(杨章旗等,2001)。根据 1994 年的调查情况,桐棉种源采种优良林分已经从近 10 000 hm^2 降至 700 hm^2 (杨光登,1995)。为了详实地了解桐棉种源天然种质资源的保存现状,本研究采用 SSR 分子标记技术对桐棉种源的天然群体进行了遗传结构研究。以期马尾松天然种质资源的保护和管理提供参考数据。

1 材料与方法

1.1 材料

2012 年 9-10 月,对宁明县桐棉种源天然群体进行样本采集。桐棉群体材料采自 9 个地点,分别是广西宁明县桐棉乡的桐棉、琴清、恭敬、吉打、鸡笃、那卜、那梨、那旭,以及那楠乡的驮象。其中,桐棉村及其西南的恭敬、吉打、鸡笃是传统的桐棉种源核心区。每个地点采样单株间距在 50 m 以上,采样林分林龄在 45~50 a 之间。采集新鲜针叶采用硅胶干燥保存,共计 285 个样本。详细信息见表 1。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 采用 CTAB 裂解—硅珠吸附法对马尾松针叶进行 DNA 提取(Doyle JJ & Doyle JL,

表 1 桐棉天然群体取样信息

Table 1 Sample information of the Tongmian natural populations

编号 No.	采样地点 Sampling location	纬度和经度 Latitude and longitude	海拔高度 Altitude (m)	采样数量 (株) Sampling number (plant)
T-TM	桐棉乡桐棉村 Tongmian Village, Tongmian Township	21°48′19.94″ N, 107°18′31.90″ E	700	34
T-JDA	宁明县桐棉乡吉打村 Jida Village, Tongmian Township	21°46′56.88″ N, 107°15′32.26″ E	600	30
T-QQ	宁明县桐棉乡琴清村 Qinqing Village, Tongmian Township	21°49′47.47″ N, 107°17′43.04″ E	400	34
T-NP	宁明县桐棉乡那卜村 Nabu Village, Tongmian Township	21°53′55.14″ N, 107°16′6.04″ E	650	34
T-NX	宁明县桐棉乡那旭村 Naxu Village, Tongmian Township	21°46′40.24″ N, 107°19′19.28″ E	450	30
T-NL	宁明县桐棉乡那梨村 Nali Village, Tongmian Township	21°43′49.57″ N, 107°23′22.41″ E	650	33
T-JDU	宁明县桐棉乡鸡笃村 Jidu Village, Tongmian Township	21°48′39.19″ N, 107°16′45.51″ E	500	30
T-GJ	宁明县桐棉乡恭敬村 Gongjing Village, Tongmian Township	21°45′56.38″ N, 107°17′12.76″ E	800	30
T-TX	宁明县那楠乡驮象村 Tuoxiang Village, Na'nan Township	21°59′21.59″ N, 107°28′57.53″ E	450	30

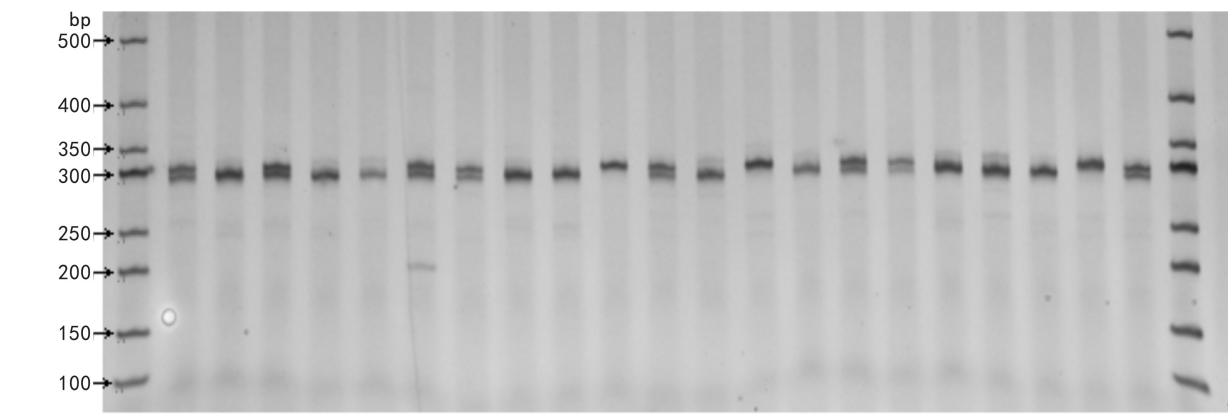


图 1 引物 PF463 扩增桐棉群体的 SSR 产物电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of SSR fragments amplified with primer PF463 for Tongmian populations

1990)。将经过纯化处理后的马尾松 DNA 进行纯度检测。在 4 ℃ 低温环境下保存。

1.2.2 PCR 反应与 PAGE 胶电泳检测 根据马尾松基因组 DNA 测序结果开发 SSR 引物,共计 506 对 (Feng et al, 2013)。从中筛选出 16 对多态性较高的用于天然群体遗传多样性研究(图 1)。所用引物由上海捷瑞基因技术有限公司合成, Taq 酶、dNTPs 购自捷瑞生物工程公司。采用 10 μL 体系进行 PCR 反应,参照 Feng et al (2013) 在 SSR 引物开发

时所用的 PCR 反应体系进行实验。将得到扩增产物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,实验方法参照杨章旗 (2014) 在细叶云南松研究中所用的方法。

1.2.3 SSR 位点判读分析 将显影后的凝胶置于白光显影灯上成像,使用数码相机拍照。以 50 bp DNA Ladder 为参照进行带型判读,按条带分子量大小用 A, B, C, D, E, …, 依次编号。

1.2.4 遗传多样性分析 采用 POPGENE32 软件 (Yeh et al, 1997) 计算以下遗传参数:(1) 多态位点

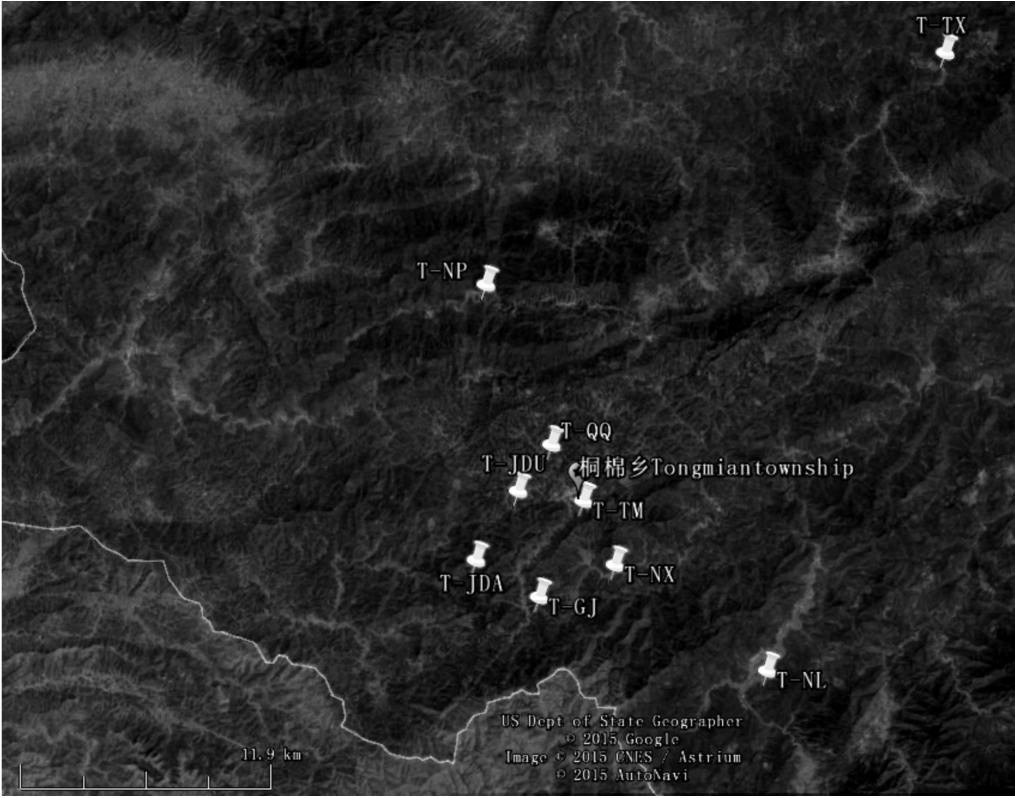


图 2 桐棉天然群体采样地点分布示意图
Fig. 2 Sampling location distribution of Tongmian natural populations

百分率 (Percentage of polymorphic loci, PPB); (2) 观测等位基因数目 (Observed number of alleles, N_a); (3) 有效等位基因数目 (Effective number of alleles, N_e) (Hartl et al, 1989); (4) Shannon 多样性指数 (Shannon's information index, I) (Shannon et al, 1949); (5) 观测杂合度 (Observed heterozygosity, H_o); (6) 期望杂合度 (Expected heterozygosity, H_e) (Nei et al, 1973); (7) Wright 固定指数 (Fixation Index, F), 由公式 $1-F_{IT} = (1-F_{IS})(1-F_{ST})$ 分别得出 F_{IS} 、 F_{IT} 和 F_{ST} (Wright et al, 1973); (8) 总群体遗传多样性 (H_t); (9) 群体内的平均遗传多样性 (H_s); (10) 群体间的平均遗传多样性 (D_{st} , $D_{st} = H_t - H_s$); (11) 遗传分化系数 (G_{ST} , $G_{ST} = (H_t - H_s) / H_t$); (12) Nei's 标准遗传距离 (Genetic distance, GD) (Nei et al, 1972); (13) 基因流 (Gene flow, N_m) (Slatkin et al, 1989)。

2 结果与分析

桐棉种源天然林面积很大,为较为全面了解其

遗传结构,采用 16 对 SSR 引物对天然群体的总体遗传多样性及 9 个采样林分的遗传多样性进行分析。

2.1 马尾松桐棉天然群体的总体遗传多样性

16 对 SSR 引物在桐棉群体的 285 个样本中共检测到 53 个等位基因。多态位点百分率为 100%。每个位点观察等位基因数 (N_a) 为 2~5 个,平均为 3.31;有效等位基因数 (N_e) 为 1.18~2.7,平均有效等位基因数 1.68 (表 2)。

不同位点的多样性参数差别很大,Shannon 多样性指数 (I) 最高为 1.05,最低为 0.31,平均为 0.64。观测杂合度 (H_o) 变化范围为 0.16~0.79,平均为 0.35;期望杂合度 (H_e) 变化范围为 0.15 到 0.63,平均为 0.36 (表 2)。

2.2 马尾松桐棉种源不同群体的遗传多样性

在 9 个林分中,T-NP 的观测等位基因数 (N_a) 最高 (2.69),T-JDU 最低 (2.25)。T-TX 有效等位基因数 (N_e) 最高 (1.77),T-TM 最低 (1.48)。Shannon 多样性指数 (I) 最高为 T-TX (0.64),最低为 T-JDU

表 2 TM-A 天然群体 16 个 SSR 位点的遗传多样性
Table 2 Genetic diversity of 16 SSR loci within
Tongmian natural populations of *P. massoniana*

位点 Locus	观察等位 基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	Shannon 信息指数 I	观测 杂合度 H_o	观测 杂合度 H_e
PJ239	4	1.66	0.65	0.19	0.40
PJ247	3	1.51	0.60	0.25	0.34
PF322	2	1.46	0.49	0.39	0.31
PF 402	4	2.44	1.05	0.34	0.59
PF 408	5	1.61	0.70	0.44	0.38
PF 463	5	1.74	0.81	0.23	0.42
PF 569	4	1.41	0.55	0.31	0.29
PF 615	4	1.24	0.43	0.21	0.19
PF 620	3	1.65	0.69	0.49	0.39
PF 648	3	1.38	0.47	0.32	0.27
PF 653	3	2.70	1.04	0.79	0.63
PF 727	3	1.20	0.34	0.18	0.17
PF 742	2	1.34	0.42	0.29	0.25
PF 764	3	1.18	0.31	0.16	0.15
PF 784	3	2.65	1.03	0.45	0.62
PF 793	2	1.69	0.60	0.57	0.41
平均 Mean	3.31	1.68	0.64	0.35	0.36

(0.71)。在杂合度上,不论是观测杂合度(H_o)还是期望杂合度(H_e)都以 T-TX 为最高,T-JDU 为最低。

从表 3 和图 2 可以发现,处于桐棉种源核心区域的 T-GJ、T-JDA、T-JDU、T-TM 这 4 个林分体在前 5 项指标上平均水平低于处于核心区外围的 T-NL、T-NP、T-NX、T-QQ 与 T-TX 这 5 个林分。通过统计分析可知,处于核心区域的 4 个林分与外围的 5 个林分在观测等位基因数(N_a)与观测杂合度(H_o)上存在显著差异($\alpha<0.05$),在有效等位基因数(N_e)、Shannon 多样性指数(I)与期望杂合度(H_e)上存在极显著差异($\alpha<0.01$)。而期望杂合度(H_e)也被称为基因多样性(Genetic diversity),其与 Shannon 多样性指数是评价遗传多样性最常用的指标。这两项指标表明,外围的 5 个林分具有更高的遗传多样性。

Wright 固定指数用来指示取样种群是否偏离 Hardy-Weinberg 平衡,存在杂合子的过多或者缺乏。一般 F_{IS} 值越接近于零,说明基因型分布越接近于平

衡状态; F_{IS} 值越偏离零,基因型分布越偏离平衡状态。 F_{IS} 值为正说明杂合子缺失, F_{IS} 值为负说明杂合子过剩。从所得到的 F_{IS} 值可以看出,所有群体的固定指数的绝对值都小于 0.1,基因型分布接近于平衡状态,未出现明显的杂合子过剩或不足。

2.3 桐棉马尾松群体间遗传分化

根据之前的分析数据得出,桐棉群体的总遗传多样性(H_T)为 0.36,林分内平均遗传多样性(H_S)为 0.35,林分间平均遗传多样性(D_{st})为 0.019,遗传分化系数(G_{ST})为 0.049,即林分间的遗传变异占总变异的 4.9%。而根据 F-statistic 得出的 16 个位点 F_{ST} 平均值为 0.072。两者都显示桐棉马尾松的遗传多样性主要存在于林分内,林分间不存在明显的遗传分化。桐棉天然群体的基因流(N_m)大小为 3.21 (表 4)。

表 3 9 个采样林分天然群体遗传多样性
Table 3 Genetic diversity among nine natural populations

群体 Population	观察等位 基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	Shannon 信息指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	固定指数 F_{IS}
T-GJ	2.56	1.63	0.54	0.33	0.32	-0.049
T-JDA	2.44	1.55	0.53	0.37	0.33	-0.073
T-JDU	2.25	1.53	0.46	0.23	0.28	0.09
T-TM	2.44	1.48	0.47	0.27	0.28	0.019
T-NP	2.69	1.72	0.61	0.37	0.37	-0.055
T-NX	2.63	1.69	0.6	0.4	0.37	-0.064
T-NL	2.63	1.72	0.62	0.4	0.38	-0.079
T-QQ	2.56	1.74	0.61	0.37	0.37	-0.045
T-TX	2.63	1.77	0.64	0.42	0.4	-0.035
平均 Mean	2.53	1.65	0.56	0.35	0.34	-0.032

3 讨论与结论

3.1 马尾松桐棉群体遗传多样性

马尾松是广西境内分布面积最大的树种。在漫长进化的过程中,为了适应广西复杂多样的自然地理环境,马尾松的天然群体积累了丰富的遗传变异。根据本研究的结果,可知桐棉马尾松天然群体的 Shannon 多样性指数(I)为 0.64,观测杂合度(H_o)为 0.35,期望杂合度(H_e)为 0.36,Wright 固定

表 4 桐棉群体的 F 统计量和基因流
Table 4 Fs-statistic and gene flow of Tongmian populations

位点 Locus	亚群内 近交系数 F_{IS}	总体近 交系数 F_{IT}	亚群间 近交系数 F_{ST}	基因流 N_m
239	0.485	0.525	0.076	3.022
247	0.234	0.273	0.051	4.640
322	-0.309	-0.238	0.054	4.380
402	0.394	0.431	0.060	3.892
408	-0.233	-0.158	0.061	3.872
463	0.378	0.455	0.124	1.761
569	-0.238	-0.072	0.135	1.605
615	-0.186	-0.080	0.089	2.557
620	-0.629	-0.261	0.226	0.857
648	-0.202	-0.187	0.012	20.665
653	-0.344	-0.264	0.059	3.961
727	-0.124	-0.090	0.030	7.993
742	-0.166	-0.137	0.025	9.955
764	-0.094	-0.077	0.016	15.853
784	0.242	0.283	0.055	4.282
793	-0.435	-0.397	0.026	9.228
平均 Mean	-0.039	0.036	0.072	3.210

指数 (F_{IS}) -0.032。这一结果高于丁小飞等 (2006) 用同工酶方法对湖北马尾松天然群体的研究结果 ($H_e=0.262$), 在一定程度上说明广西是马尾松遗传资源较为丰富的地区。李志辉等 (2009) 曾对广西马尾松另外两个优良种源古蓬群体与浪水群体进行遗传多样性分析, 得出古蓬群体 (I) 为 0.4278; 浪水群体 Shannon 信息指数 (I) 为 0.5190。与之相比, 桐棉群体在广西 3 个优良种源中遗传多样性最高。三者中, 桐棉群体的分布面积最大、实验群体样本量最多、保存情况也最好, 因此具有较高的遗传多样性。

3.2 马尾松桐棉群体遗传结构

本研究结果已经证明广西马尾松天然群体受到了较大的人为活动干扰。强烈的人为干扰将破坏物种原始生境, 甚至造成生境片段化, 破坏群体的遗传结构使群体发生分化 (Epperson et al, 1989)。本研究对桐棉群体 9 个林分材料的研究表明, 该群体的遗传分化系数 (G_{ST}) 为 0.049, F_{ST} 平均值为 0.072。两者都显示桐棉群体的遗传多样性主要存在于林分

内, 林分间不存在明显的遗传分化。桐棉群体的基因流 (N_m) 大小为 3.21。这说明虽然遭到人为干扰, 但桐棉种源天然群体的遗传结构并未遭受严重破坏, 不同地点林分间基因交流通畅。同时研究结果显示所有林分固定指数的绝对值都小于 0.1。说明桐棉群体的基因型分布接近于平衡状态, 没有出现明显的杂合子过剩或不足。但研究也发现处于桐棉种源核心区域的 4 个林分体在 Shannon 多样性指数 (I) 和期望杂合度 (H_e) 两项指标上均低于平均水平。而处于核心区外围的 3 个林分的遗传多样性较高。这说明桐棉种源核心区域遭到的人为破坏比周边地区更为严重。

3.3 群体内遗传多样性与自然遗传改良

目前广西马尾松的人工遗传改良已经进入到高世代改良阶段, 通过人为选择获得显著的遗传增益, 在全区建立了多个 1.5 代及第 2 代种子园, 保障了生产性良种的供给。但在未来马尾松的利用研究中如何继续天然林资源是一个值得育种研究者与森林资源主管部门深入思考的问题。本研究发现马尾松桐棉种源的遗传多样主要存在于林分内。这表明马尾松林分内蕴含着丰富的遗传变异。在自然再生系统下, 林分也能通过留下最具有亲本植株优良性状的子代, 尤其是具有速生优势和高抗逆性的子代在自然选择中更容易存活。因此, 林业工作者不应忽视通过自然更新, 从遗传上提高林分价值的潜力。但是林分内丰富的遗传变异也为“拔大毛”式的负向选择提供了“机遇”。最好的树木遭到采伐后, 最差的树则被保留下进行林分重建将严重降低林分及其后代的遗传品质。本研究中已经发现桐棉种源的核心区遭到严重人为干扰。所以, 为了让广西丰富的马尾松资源在自然条件下得以正常更新与改良, 应重视对马尾松天然林的科学管护。

3.4 广西马尾松天然遗传资源的保护

历史上, 广西先民早有栽种、经营松林的习惯。在 20 世纪 50 年代以后, 广西的马尾松人工林发展速度很快。到 1980 年时, 马尾松人工林的总面积已占全区森林优势树种总面积的 56.2%, 占总蓄积量的 33.69% (李治基, 2001)。从而一跃成为广西森林面积最大的树种, 并一直延至今日。但人工林快速发展的表象却掩盖了马尾松天然遗传资源被不断蚕食的严峻现实。为此, 作者建议应该尽快制定出保护马尾松天然遗传资源的有效策略。一方面结合遗传资源的选择收集, 异地建立大规模种质资源库。

另一方面,对于桐棉种源这类分布面积大、利用价值高、目前所受破坏尚不严重的天然群体,应建立专门的自然保护区,严禁盗伐、主伐、非法采割松脂及过度采种。

参考文献:

- CHEN TH, XU LA, WANG ZR, 1994. Analysis of test locations effect and stability for provenance trial in Masson stability Pine [J]. J Nanjing For Univ, 18(3): 19-26. [陈天华,徐立安,王章荣,1994. 马尾松种源试验试点效应与稳定性分析 [J]. 南京林业大学学报,18(3):19-26.]
- DING XF, CAO J, CHEN HL, et al, 2006. Study on genetic variation and genetic diversity among Masson pine natural populations of Hubei Province [J]. J Anhui Agric Sci, 34(13): 3057-3059. [丁小飞,曹健,陈红林,等,2006. 湖北省马尾松天然群体的遗传变异和遗传多样性研究 [J]. 安徽农业科学,34(13):3057-3059.]
- DOYLE JJ, DOYLE JL, 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. Focus, 12:13-15.
- EPPERSON BK, ALLARD RW, 1989. Spatial autocorrelation analysis of the distribution of genotypes within populations of lodgepole pine [J]. Genetics, 121(2): 369-377.
- FENG YH, YANG ZQ, WANG J, et al, 2013. Development and characterization of SSR markers from *Pinus massoniana* and their transferability to *P. elliottii*, *P. caribaea* and *P. yunnanensis* [J]. Gen Mol Res, 13(1): 1508-1513.
- HARTL DL, CLARK AG, 1989. Principles of population genetics [M]. 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- HE WL, ZHANG FK, PAN T, et al, 2014. Construction of genetic linkage map in *Pinus Massoniana* using megagametophytes [J]. Mol Plant Breed, 12(3): 421-431. [何卫龙,张逢凯,潘婷,等,2014. 利用大配子体构建马尾松遗传图谱 [J]. 分子植物育种,12(3):421-431.]
- HU JR, 2007. The study on the clone selection and assessment for the seed orchard of *Pinus massoniana* [J]. J Fujian For Sci Technol, 34(2): 32-35. [胡集瑞,2007. 马尾松种子园优良无性系的选择与评价 [J]. 福建林业科技,34(2):32-35.]
- HUANG CG, 2007. The construction technique of germplasm gene bank of *Pinus massoniana* [J]. J Fujian For Sci Technol, 34(3):145-149. [黄楚光,2007. 马尾松优良种质资源基因库营建策略分析 [J]. 福建林业科技,4(3):145-149.]
- LI ZH, CHEN Y, ZHANG DL, et al, 2009. ISSR Analysis of genetic diversity of *Pinus massoniana* on Gupeng and Langshui nature populations in Guangxi [J]. Chin Agric Sci Bull, 25(16): 116-119. [李志辉,陈艺,张冬林,等,2009. 广西马尾松天然林古蓬和浪水种源群体遗传多样性 ISSR 分析 [J]. 中国农学通报,25(16):116-119.]
- LI ZJ, 2001. Guangxi Forest [M]. Beijing:Chinese Forestry Press. [李治基,2001. 广西森林 [M]. 北京:中国林业出版社.]
- LU ZY, LI ZH, HUANG LQ, 2006. Study of the provenance test of *Pinus massoniana* [J]. J Centr S For Univ, 26(3):6-10. [卢兆银,李志辉,黄丽群,2006. 马尾松种源试验研究 [J]. 中南林业学院学报,26(3):6-10.]
- NEI M, 1972. Genetic distance between populations [J]. Am Nat, 106:283-292.
- NEI M, 1973. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 70: 3321-3323.
- SHANNON CE, WEAVER W, 1949. The mathematical theory of communication [M]. Urbana: University of Illinois Press
- SLATKIN M, BARTON NH. 1989. A comparison of three in direct methods for estimating average levels of gene flow [J]. Evolution, 43: 1349-1368.
- TAN JH, HUANG YL, FENG YH, et al, 2012. Age variation of wood tracheid morphology of *Pinus massoniana* families [J]. J SW For Univ, 32(3): 80-83. [谭健晖,黄永利,冯源恒,等,2012. 马尾松家系木材管胞形态特征的年龄变异 [J]. 西南林业大学学报,32(3):80-83.]
- TAN XM, ZHOU ZC, JIN GQ, et al, 2012. Genetic diversity and mating system analysis of *Pinus massoniana* in a Second-generation clonal seed orchard [J]. Sci Silv Sin, 48(2):69-74. [谭小梅,周志春,金国庆,等,2012. 马尾松二代无性系种子园遗传多样性和交配系统分析 [J]. 林业科学,48(2):69-74.]
- WAN AH, XU YM, GUAN LH, et al, 2008. Genetic structure of clonal seed orchard of Masson pine by RAPD technology [J]. J Northeast For Univ, 36(1): 18-22. [万爱华,徐有明,管兰华,等,2008. 马尾松无性系种子园遗传结构的 RAPD 分析 [J]. 东北林业大学学报,36(1):18-22.]
- WRIGHT S, 1978. Variability within and among natural populations [M]. Chicago: The University of Chicago Press.
- YANG GD, 1995. The status and conservation policies in main provenance of *Pinus massoniana* in Guangxi [J]. Guangxi For Sci, 24(3):135-137. [杨光登,1995. 广西马尾松优良种源现状及其保护发展策略探讨 [J]. 广西林业科学,24(3):135-137.]
- YANG ZQ, QIN KZ, 2001. Studies on collection, preservation and utilization of Masson pine germplasm gene resource [J]. Guangxi For Sci, 30(1):19-22. [杨章旗,覃开展,2001. 马尾松种质基因资源选择、保存和利用研究 [J]. 广西林业科学,30(1):19-22.]
- YANG ZQ, 2012. Studies on genetic variation of timber chemical composition of *Pinus massoniana* [J]. J Fujian Coll For, 32(2):188-192. [杨章旗,2012. 马尾松木材化学组分的遗传变异研究 [J]. 福建林学院学报,32(2):188-192.]
- YANG ZQ, FENG YH, WU DS, 2014. Analysis of genetic diversity of *Pinus yunnanensis* var. *tenuifolia* nature populations by SSR marker [J]. Guihaia, 34(1):10-14. [杨章旗,冯源恒,吴东山,2014. 细叶云南松天然种源林遗传多样性的 SSR 分析 [J]. 广西植物,34(1):10-14.]
- YEH, FC, YANG RC, BOYLE TB, et al, 1997. POPGENE, the user-friendly shareware for population genetic analysis [M]. Molecular biology and biotechnology centre, University of Alberta, Canada.
- YIN TM, HUANG MR, WANG MX, et al, 1997. Construction of molecular linkage map in Masson pine using RAPD markers and megagametophytes from a single tree [J]. Acta Bot Sin, 39(7): 607-612. [尹佟明,黄敏仁,王明麻,等,1997. 利用 RAPD 标记和单株树大配子体构建马尾松的分子标记连锁图谱 [J]. 植物学报,39(7):607-612.]
- ZHANG W, GONG J, JI KS, 2009. Analyses on the mating system in seedling seed orchard of *Pinus massoniana* [J]. Sci silv sin, 45(6): 22-26. [张薇,龚佳,季孔庶,2009. 马尾松实生种子园交配系统分析 [J]. 林业科学,45(6):22-26.]
- ZHANG W, GONG J, JI KS, 2009. Analyses on the mating system (下转第 1395 页 Continue on page 1395)