

文章编号: 1001-1498(2006)06-0799-08

松树分子标记辅助育种研究进展

黄少伟

(华南农业大学林学院, 广东 广州 510642)

摘要: 松树是世界上森林生态系统和人工林的重要树种, 松树的遗传改良开展早, 进展快, 成效大。分子标记技术为缩短育种周期, 提高育种效率提供了有力的工具。本文回顾了世界上松树分子标记遗传图谱构建、比较遗传作图、数量性状位点定位和标记辅助选择的研究进展。已经构建遗传连锁图的林木有 13 个属, 近 40 个树种, 其中松树占 40%, 而大多数松树遗传图谱仍然是不完整的, 不能覆盖全基因组; 比较遗传作图显示松属树种具有高度的遗传保守性; 数量性状位点 (QTL) 定位表明, 大多数性状的遗传基础存在着主效基因, 为开展分子标记辅助选择提供了良好的基础。杂种松部分重要性状的遗传控制中存在着树种效应, 对标记辅助选择和育种策略的制订具有指导意义。

关键词: 松树; 遗传图谱; 比较遗传作图; QTL 定位; 分子标记辅助选择

中图分类号: S722.31

文献标识码: A

Progress on the Research of Marker-aided Breeding of *Pinus* spp

HUANG Shaowei

(College of Forestry, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, Guangdong, China)

Abstract: *Pinus* spp. are the important species in forest ecosystems and plantations in the world. Genetic improvement of pines started early. Great progress has been made and marked success has been achieved. Molecular marker techniques provided powerful tools to shorten the period and raise the efficiency in tree breeding. The worldwide progress on construction of molecular marker linkage map, comparative mapping, quantitative trait locus (QTL) mapping and marker-aided selection (MAS) in *Pinus* spp. was reviewed. Genetic linkage maps have been constructed for nearly 40 species of forest trees from 13 genera, in which pine species accounted for 40%. Most of the linkage maps in pines are still incomplete, unable to cover the whole genomes. High level of genetic conservative in pine species has been revealed with comparative mapping. Existence of main effect genes revealed by QTL mapping for most of the economically important traits provided a good basis for MAS. For genetic control of part of the important traits in hybrid pines, "species effect" was found. Implication of "species effect" to MAS and the formulation of breeding strategy was also discussed.

Key words: *Pinus* spp.; linkage map; comparative mapping; QTL mapping; marker-aided selection

松属 (*Pinus* L.) 树种包含约 100 个种, 占裸子植物的 20% 左右, 是北半球分布最广的一个属, 是森林生态系统和人工林的重要树种^[1], 最为广泛种植的树种包括火炬松 (*P. taeda* L.)、湿地松 (*P. el-*

liottii Engelm.)、加勒比松 (*P. caribaea* Morelet)、辐射松 (*P. radiata* D. Don)、欧洲赤松 (*P. sylvestris* L.) 和马尾松 (*P. massoniana* Lamb) 等^[2], 主要集中在美洲和亚洲——太平洋地区。我国也大量种植松

收稿日期: 2006-02-20

基金项目: 广东省科技攻关项目 (C20303, 2003C201015), 国家“十五”科技攻关子课题 (2002BA515B0103)

作者简介: 黄少伟 (1964—), 男, 博士, 教授。

树,分布最广的当属马尾松。我国从 20 世纪 30 年代开始引种美国南方松,并迅速发展成为我国南方重要的用材树种。

由于松树在人工造林中发挥着特别重要的作用,各国都十分重视遗传育种的工作。在 20 世纪,美国北卡罗来纳州立大学(North Carolina State University)工业协作组织于 50 年代开始了南方松遗传改良计划^[3~5];新西兰于 1952 年正式开始辐射松遗传改良计划^[6];澳大利亚昆士兰林业研究所于 50 年代开展了湿地松与加勒比松杂交育种,取得了举世瞩目的成就^[7~9];我国也于 60—80 年代先后开展了马尾松、湿地松、加勒比松、火炬松、油松(*P. tabulaeformis* Carr)、红松(*P. koraiensis* Sieb et Zucc)、华山松(*P. amandi* Franch)、黄山松(*P. taiwanensis* Hayata)、樟子松(*P. sylvestris* var *mongolica* Litvin)和云南松(*P. yunnanensis* Franch)等多种松树的遗传改良工作,并于 90 年代初开展了大规模的湿地松 × 加勒比松杂交育种工作^[10,11]。遗传改良研究大大促进了松树工业用材林的发展,取得了显著的经济和社会效益。

林木生长周期长,是林木遗传改良研究的一个最主要的限制因素,提高选择效率,缩短育种周期一直是林木育种者关注的问题,寻找有效的早期选择方法在林木育种中显得特别重要,分子标记技术为解决这一问题提供了一个有力的工具。通过构建高密度遗传图谱,建立性状与分子标记的连锁,进而确定控制

性状的基因数目、效应值以及基因间的相互作用,在苗期进行性状的选择成为可能,也可以有预见地、更加科学合理地选配杂交亲本,不仅可以大大缩短选育时间,而且可显著提高选择精度并降低选育成本,大大提高林木育种的研究水平,因此,构建林木遗传图谱和定位数量性状基因位点(quantitative trait locus, QTL),就具有重要的理论和实践意义。

随着分子标记技术的发展,该技术在林木育种上的应用日益广泛,在遗传图谱构建和数量性状位点定位的研究中,松树居于重要的地位。

1 松树分子标记遗传图谱构建

1.1 松树分子标记遗传图谱构建的进展

分子标记遗传图谱的构建始于 20 世纪 80 年代。林木的遗传图谱构建研究起步较晚,但自 90 年代初以来,林木遗传作图研究进展非常迅速,已在 13 个属约 40 个树种上构建了遗传图谱^[12,13],其中松属树种 16 个,占 40% (表 1)。

迄今发表的林木分子标记遗传图谱,以 RAPD 标记图谱居多,其次是 RFLP、AFLP、SSR、ISSR、STS、SCAR、小卫星以及同工酶等,ESTP 标记应用的时间较短,目前在松属的一些树种上得到应用^[1,14,15]。多数图谱包含的标记数量在 300 个以下,这在一定程度上限制了遗传图谱在数量性状位点定位上的应用。要精确地定位 QTL,就必须构建高密度的连锁图。近年来已有一些饱和度较高的图谱发表,如

表 1 松树遗传图谱构建的进展

树种	作图群体	标记类型	参考文献	树种	作图群体	标记类型	参考文献
土耳其松	单倍体	RAPD	[17]	火炬松	F ₂	RFLP,同工酶	[32]
扭叶松	半同胞	RAPD	[18]		F ₁	RFLP, SSR	[27]
湿地松	单倍体	RAPD	[19]		F ₁	AFLP	[33]
	F ₁	RFLP, ESTP	[1]		F ₂	RFLP	[34,35]
短叶果松	F ₁	AFLP	[20]		F ₁	RFLP, ESTP	[1]
糖松	单倍体	RAPD	[21]		F ₂	ESTP, AFLP, SSR	[29]
马尾松	大配子体	RAPD	[22]		F ₁	SSR	[36]
长叶松	单倍体	RAPD	[23]	日本黑松	F ₁	RAPD	[37]
海岸松	单倍体	RAPD	[24,25]		单倍体	AFLP, RAPD	[38]
辐射松	F ₂	RFLP, RAPD, SSR	[26]	赤松	单倍体	AFLP	[39]
	F ₂	RFLP, SSR	[27]	湿地松 × 加勒比松	F ₁	RAPD	[40]
欧洲赤松	F ₁	AFLP	[28]		F ₁	AFLP, SSR	[41]
		ESTP, AFLP, SSR	[29]		F ₁	AFLP, SSR, ESTP	[12]
北美乔松	单倍体	RAPD	[30]	长叶松 × 湿地松	F ₁	RAPD	[42]
火炬松	F ₁	RFLP,同工酶	[31]				

注:土耳其松(*P. brutia* Ten.);扭叶松(*P. contorta* Dougl ex Loud);短叶果松(*P. edulis* Engelm.);糖松(*P. lambertiana* Dougl.);长叶松(*P. palustris* Mill);海岸松(*P. pinaster* Ait.);北美乔松(*P. strobus* L.);日本黑松(*P. thunbergii* Parl.);赤松(*P. densiflora* Sieb et Zucc)。

Lespinasse等^[16]利用多种标记(RFLP、AFLP、SSR和同工酶)构建的橡胶树多标记复合图谱,标记总数达717个,图谱总长度达2 144 cM,平均标记密度为每3 cM一个标记。

1.2 松树遗传图谱的特点

松树生长周期长,作图群体构建不易,是开展遗传作图的难点;另外,松树基因组大,也是开展松树分子遗传研究的主要障碍。以公认的模式树种杨树为对照,单倍体杨树的核基因组大约含1.1 pg DNA^[43],或者说二倍体基因组的大小为500 Mb,这个规模与西红柿(*Solanum lycopersicum* L.)和水稻(*Oryza sativa* L.)相似,比拟南芥(*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh.)大5倍,比玉米(*Zea mays* L.)小6倍,这500 Mb的DNA分布在19条染色体上,遗传距离的总长度估计为2 400~2 800 cM^[44],相对于物理长度大约是200 kb/cM(与拟南芥相似)。相比之下,松树基因组要大得多,以研究最深入的火炬松为例,其核基因组大小是杨树的40倍以上,即>20 000 Mb,物理长度与遗传距离的比例关系是8 000 kb/cM,基因组80%以上为重复DNA^[45~47]。此外,松树的生殖生物学也很特别,从授粉授精到种子成熟,需要2年的时间,因此,群体构建所需时间长。尽管存在这些不利因素,松树遗传图谱的构建在林木上却是最多的,主要原因之一在于松树独特的生殖生物学特性,利用大配子体构建单株树遗传图谱,不需要专门构建作图群体,可以快速作图;但是,这种群体不是永久群体,作图与基因定位不能同时进行,应用有一定的局限性^[48]。迄今,大多数松树遗传图谱仍然是不完整的,不能覆盖全基因组。松树基因组有12对染色体^[49],而目前发表的大多数图谱都有12个以上的连锁群。比较完整的一张图谱是利用AFLP标记构建的火炬松图谱^[33]。

尽管松树基因组80%以上为重复序列,但仍然有数量可观的单拷贝DNA,这些单拷贝区段与松树基因表达有关,如何有效地开发和利用这些单拷贝DNA,构建高密度的松树遗传图谱,定位各种性状的基因,为松树遗传改良服务,是林木分子生物学家和林木遗传育种学家面临的主要问题^[47]。火炬松在这方面的工作开展得最为深入,已发表的火炬松SSR标记数量达240多个^[50],在辐射松上也开发了不少SSR标记^[51];从6个cDNA文库中发现的适合遗传作图的单拷贝或低拷贝克隆,正逐步转化成ESTP标记,这些标记正逐步应用于其它松树

上^[29,52]。可以预料,随着更多的标记被开发应用,松树遗传图谱的构建将会取得更大的进展。

2 比较遗传作图

利用直向同源标记(orthologous marker)研究生物进化和开展比较遗传作图,是基因组研究的热点之一^[29,53]。比较遗传作图研究表明:染色体进化的速率因物种类群而异,差别极大,如芸苔属(*Brassica* L.)与拟南芥属(*Arabidopsis* (DC.) Heynh.)植物,自1 000~1 500万年前分化之后,出现了很大的差异,芸苔属基因组经历了大范围的DNA重复、染色体融合和频繁的区段重排^[54],而松属乃至整个松科(Pinaceae)树种的染色体则进化缓慢^[1,27,55,56]。所有松树都是12对染色体,但基因组大小在种间差异较大^[46]。通过比较遗传作图还可以将图谱和QTL作图信息从一个树种转移到另一个树种,当一个小规模研究协作网络需要对若干个同样具有重要经济价值的树种进行研究时,这种作图信息的转移特别重要^[1,29]。对杂种开展比较遗传作图,还可以帮助了解种间生殖隔离的机制和物种形成的规律。

松树基因组之间的比较首先在染色体形态的层次上进行,证明松属树种间在染色体形态上具有高度保守性(conservative)^[57]。早期的松树比较遗传作图采用同工酶标记,标记数量少,图谱也很不完整,但是,直向同源位点(orthologous loci)的鉴别没有问题^[58],这一早期研究成果已经表明,松属树种间基因组具有保守性和同线性(synteny)^[58]。所谓同线性,是指物种间遗传图谱上标记的平行连锁以及基因间顺序的保守性。分子标记为松树比较遗传作图提供了有力的工具,RFLP标记首先显示出在松属树种间具有保守性^[59]。

在分子标记应用上,虽然基于PCR标记类型的出现,为松树遗传图谱的构建创造了有利的条件,但实践证明,RAPD和AFLP标记在比较遗传作图中作用不大,很难在树种间检测到同源位点^[33,60,61],甚至在种内表现都不稳定,比如在单倍体和二倍体之间^[62],或者在个体之间就不一样^[63]。由于技术方面的原因,RFLP在比较遗传作图上的作用也受到了制约,因此,目前在比较遗传作图上普遍使用的是SSR标记^[27,64]。近年来,人们致力于ESTP标记的开发,希望这种直接来源于基因组编码区段的标记能更好地在比较遗传作图和QTL定位上发挥作用^[14,15,65,66]。ESTP是一种基于PCR的标记,数量

大。已发表的松树表达序列标签 (EST) 数量巨大, 仅 6 个起源于火炬松次生木质部的 cDNA 文库就包含了 59 000 多个 ESTs, 可供开发利用。Pavy 等^[67] 用计算机对属于 TIGR 松树基因索引 (PGIL 0) 中的 7 732 个重叠群的表达序列标签 (EST) 进行了统计分析, 从 6 个起源于火炬松次生木质部的 cDNA 文库中共检测到 260 个特异表达基因序列, 这些序列在松树遗传作图、基因定位和基因功能分析上都能发挥作用。

到目前为止, 在松树进行的比较遗传作图集中在少数几个树种上, 包括火炬松与辐射松^[27]、火炬松与湿地松^[11]、火炬松与欧洲赤松^[29]、湿地松与加勒比松^[12], 标记类型包括 RFLP、SSR 和 ESTP。这几项研究结果一致表明: 树种图谱间同线性程度极高, 表明松属树种具有高度的遗传保守性。在火炬松与辐射松的比较中, 使用了 60 个 RFLP 和 9 个 SSR 标记, 即使 2 个树种分属于 2 个不同亚组 (双维管束松亚属油松组, 火炬松属于 *Australes* 亚组, 而辐射松属于 *Oocarpae* 亚组), 在 12 个同源连锁群中, 绝大部分是同线性的, 只在 2 个连锁群上发现少数标记排列顺序不一致, 而这 2 个连锁群上的异常情况, 也不一定是基因重排的结果^[27]。火炬松与湿地松的比较作图, 标记类型包括 RFLP、SSR 和同工酶, 共 60 个, 9 个同源连锁群中, 也只在 2 个同源连锁群上出现少量标记排列顺序不一致^[11]。火炬松与欧洲赤松的比较, 2 个树种属于不同的亚组, 12 个同源连锁群, 只在其中 3 个连锁群上出现少数标记顺序不一致^[29]。湿地松和加勒比松的多标记复合图谱, 共有 37 个 SSR 标记在 2 个树种间是完全同线性的^[12]。随着开展比较遗传作图的树种数量的增加, 人们对松属树种的进化和遗传保守性的认识将更加深刻。

3 数量性状位点定位

数量性状位点 (QTL) 定位是开展标记辅助选择的前提。松树基因组大, 很多有重要经济价值的性状都是数量性状, 这类性状容易受环境的影响, 而林木个体高大, 环境的影响是巨大的, 即使在精心挑选的试验地上, 环境条件的差异仍然存在, 一般还比较大, 不容易对表型作准确的评价。对于容易无性繁殖的树种来说, 可以对群体的每个单株繁殖无性系, 通过多地点的无性系试验, 达到比较准确地评价表型性状的目的^[68-70]。

迄今进行的林木 QTL 定位研究, 包括生长与活

力、木材性状、精油成分、无性繁殖特性、形态、分枝习性、物候、抗性、适应性和生理性状等^[32,40,69,71-85], 涉及的树种包括巨桉 (*Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden)、尾叶桉 (*E. urophylla* ST Blake)、毛果杨 (*Populus trichocarpa* Torrey & Gray)、美洲黑杨 (*P. deltoides* Marsh)、火炬松、辐射松、海岸松、湿地松和加勒比松等, 其结论是: 在林木数量性状的遗传控制上, 存在着主效基因, 例如, 在湿地松 × 加勒比松杂种上, AFLP 检测的结果, 树高、胸径、分枝习性等性状的 QTL 效应 (解释表型方差的比例) 在 11% ~ 21%^[81,82]; SSR 和 ESTP 标记检测的结果, 生长性状的 QTL 效应大多在 10% ~ 20%, 最高 51.5%; 木材密度的 QTL 效应大多在 10% ~ 30%, 最高 32.7%; 形质性状的 QTL 效应大多在 10% ~ 20%, 最高 65.3%^[12]。在杨树^[69,72]、桉树^[76] 的种间杂种和火炬松^[32]、海岸松^[79] 的种内交配群体也得到类似的结果。

QTL 定位中揭示的主效基因模型, 也许是对传统的数量遗传学理论的一种挑战, 对很多林木育种学家而言也可能是一种挑战^[86], 因为传统的数量遗传学理论是建立在数量性状受微效多基因控制这一假设的基础上。但 Bradshaw 认为, 对这种主效基因模型或寡基因模型, 当前不宜过分渲染, 因为, 迄今发现的大多数植物上的 QTL 效应, 都是对已知在目标性状上高度分离的群体检测的结果, 如果在育种群体水平上检测等位基因的数量、频率、效应大小, 并考虑位点间及位点与环境间互作, 则家系内“寡基因”模型和整个育种群体“多基因”模型将比较相似^[86]。

QTL 作用模式的另一个重要方面是加性效应与显性效应的相对大小。不同作者的研究结果不一致, 在毛果杨 × 美洲黑杨杂种 F_2 代群体的检测结果, 高、径生长和干形的 QTL 表现为显性或超显性模式, 控制春芽萌动的 5 个 QTL, 其中 3 个为显性或部分显性, 另外 2 个则以加性效应占绝对优势, 树种效应也相当明显。所谓树种效应, 也可称为方向性效应, 是指在杂种的遗传控制上, 对目标性状而言, 来自一个树种的等位基因显著“优于” (贡献大于) 另一个树种的等位基因。在本例 2 个加性效应占优势的位点上, 来自美洲黑杨的等位基因显著“优于”毛果杨的等位基因, 而在树高方面, 毛果杨的贡献大于美洲黑杨。此外, 在一个连锁群上检测到簇状分布的 QTL, 多个控制胸高断面面积和叶数、叶面积的位

点上,毛果杨的贡献都大于美洲黑杨^[69]。在美洲黑杨 青杨 (*P. cathayana* Rehd) F_2 群体的检测结果,木材性状,包括基本密度、微纤丝角、纤维长度和纤维宽度,所有 QTL的作用模式都是超显性^[72]。湿地松和加勒比松杂种自交 F_2 群体的检测结果,扦插生根力与干形上检测到的 QTL全部呈现强烈的加性效应,树种效应十分显著,加勒比松等位基因有利于生根,不利于干形,湿地松的等位基因作用正好相反,但有个别位点例外^[12]。

4 分子标记辅助选择

林木生长周期长,幼龄期也长,而许多重要的性状,如材性,在幼年和成年期的差异很大,需要在一定的年龄才能比较准确地评价,这就制约了育种的进程。标记辅助选择(MAS)则可以在苗期进行,可节省数年甚至 10 年以上的时间,从这点来说,MAS 对林木的意义比对农作物的更大^[53,86]。松树与其它主要的人工林树种,如杨树和桉树相比,幼龄期更长,因此,松树 MAS 研究具有特别重要的意义。

QTL 定位是开展 MAS 的基础。QTL 定位的研究至少可以在以下 3 个方面为林木育种服务^[86]:

(1)短期目标,苗期选择优良无性系,大规模扩繁,在人工林生产中使用。已证明 MAS 在一些受少数基因控制,相对差异明显的性状上容易取得成功,如美洲栗抗栗疫病的标记辅助选择研究^[87]。以 2~3 个 SSR 标记联合对杂种松扦插生根力进行选择,入选无性系的生根率明显高于群体平均值,干形质量略有下降,但也不乏生根率高,干形好的个体^[12]。一些具有经济重要性而评价难度大的性状,如木材密度、微纤丝角、木素含量等,对 MAS 的需求最为迫切,若 MAS 得到成功应用,不但可以缩短育种周期数年乃至 10 年以上,还可节省大量耗费在性状评价上的资源。(2)中期目标,选择在多个基因位点上互补的基因型作为亲本,组成下一个世代的育种群体,以便在后代累积更大的加性或显性效应,提高遗传增益。(3)长期目标,克隆 QTL 上的基因,直接用于林木的遗传转化。至此,可以实现林木的定向培育。

当前林木 MAS 应用的一个主要问题,在于不同遗传背景的群体 QTL 定位的结果不一致^[88],这就必须为每一个谱系单独构建群体,单独进行 QTL 检测。树种效应的鉴定,可能使 MAS 在林木育种上的应用上升到一个更高的水平^[89],用于指导育种策略

的制定^[86]。例如,在杨树杂种优势的利用上,人们一般只注意 F_1 代的规模化生产和商业性应用,对高世代(F_2 和回交)利用的兴趣不大;但是, F_1 代的利用受到逆向轮回选择程序进展缓慢的制约,并且每次只能利用 2 个树种之间的杂种优势^[86]。树种效应的存在,来自不同树种的等位基因之间具有互补性,树种间交配就可以累积基因效应。这样,就可以把整个杨属当成一个基因库,通过 QTL 作图鉴定每个树种上相对于每个性状的最好的等位基因,通过多树种间交配和 MAS 将不同树种上最好的等位基因组装在一起,形成一个复合基因型,它代表了一种“理想基因型”,类似于农作物上的理想株型,就像作物一样,通过单品种的栽培实现最高产量^[86]。

松属树种与杨树有某些相似之处,如种间杂交容易实现,杂种的遗传控制上也存在着显著的树种效应,上述关于组装理想基因型的策略,也可能在松树上应用。加强松树重要性状的 QTL 定位研究,最大限度地检测可能存在于每个位点上的树种效应,有利于促进杂种松的遗传改良进展。

5 总结与展望

自 1993 年第 1 张松树连锁图谱发表以来,尽管在图谱构建方面取得了长足的进展,但由于松基因组大,重复序列多,导致图谱完整性较差,饱和度较低,在很大程度上制约了 QTL 定位的进展和 MAS 的应用。在应用上要取得突破,首先必须构建高密度遗传图谱,其次是对相关性状 QTL 进行精确定位。要实现这些目标,一方面是扩大群体规模,另一方面是采用更多的标记。此外,标记技术的简化、标准化、低成本化操作,也是 MAS 技术得以应用的重要前提。当这些条件具备时,首先可以开展“基于特定杂交组合”的 MAS。经过遗传测定证明为优良的杂交组合,可以连年重复制种,分子标记辅助家系内选择,产生一系列优良无性系,最大限度地实现在常规选育中积累的遗传增益,这是短期内可以实现的。

杂种松部分重要性状遗传控制上存在的树种效应,可能对松树杂交育种策略的制订具有深远的影响。在育种群体的组建和管理方面,可将多个树种的杂交后代整合到一个育种群体内,按纯种的方式培育和管理杂种的育种群体,进入多世代轮回选择程序,这方面的研究和应用刚刚起步。

总之,由于分子标记辅助选择技术具有传统选

择技术无可比拟的优势, MAS技术在不久的将来一定能得到较为普遍的应用, 并有力地促进松树遗传改良进程。

参考文献:

- [1] Brown G R, Kadel III E, Bassoni D L, *et al* Anchored reference loci in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) for integrating pine genomics [J]. *Genetics*, 2001, 159: 799 ~ 809
- [2] 潘志刚, 游应天. 湿地松、火炬松、加勒比松引种栽培 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1991
- [3] Mckeand S E, Bridgwater F E. Third-generation Breeding Strategy for the North Carolina State University-Industry Cooperative Tree Improvement Program [A]. In: Proc UFRO Conf S2 02-07 Breeding Tropical Trees [C]. 1992: 234 ~ 240
- [4] Tarbert J T, Weir R J, Arnold R D. Costs and benefits of a mature first-generation loblolly pine tree improvement program [J]. *J For*, 1985, 83: 162 ~ 166
- [5] Wier R J, Todd D. Third cycle breeding strategy: a description and economic appraisal for the North Carolina State University-Industry Cooperative Tree Improvement Program [A]. In: Proc 24th Can Tree Improv Ass [C]. Fredricton, New Brunswick, Canada August 15 - 19, 1993: 41 ~ 51
- [6] Shelbourne C J A, Burdon R D, Carson S D, *et al* Development plan for radiata pine breeding [M]. Forest Research Institute, Rotorua, New Zealand, 1986
- [7] Hains R J. Mass propagation by cuttings, biotechnologies, and the capture of genetic gain [A]. In: Proc AFOCEL-UFRO Symposium "Mass production technology for genetically improved fast growing forest tree species" [C]. Bordeaux, France, 14 - 18 Sept 1992, 2: 137 ~ 150
- [8] Nikles D G. The first 50 years of the evolution of forest tree improvement in Queensland [A]. In: Dieters M J, Matheson A C, Nikles D G, *et al* Tree Improvement for Sustainable Tropical Forestry [C]. Proceedings of the QFR I-UFRO Conference, 27 October-1 November 1996, Cabundra, Queensland, Australia: 51 ~ 64
- [9] Nikles D G. Experience with some *Pinus* hybrids in Queensland, Australia [A]. In: Dungey H S, Dieters M J, Nikles D G Hybrid and Genetics of Forest Trees [C]. Proceedings of QFR I/CRC-SPF Symposium, 9 - 14 April 2000, Noosa, Queensland, Australia: 27 ~ 43
- [10] 李宪政, 赵奋成, 张应中, 等. 湿地松与加勒比松杂种第一代生长研究初报 [J]. *广东林业科技*, 1999, 15 (1): 1 ~ 7
- [11] 张应中, 赵奋成, 钟少英, 等. 湿地松 加勒比松杂种扦插繁殖技术研究 [J]. *林业科学研究*, 2002, 15 (4): 437 ~ 443
- [12] 黄少伟. 杂种松重要性状 QTL 定位与标记辅助选择研究 [D]. 广州: 华南农业大学, 2004
- [13] 甘四明, 苏晓华. 林木基因组学研究进展 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2006, 32 (2): 133 ~ 142
- [14] Harry D E, Temesgen B, Neale D B. Codominant PCR-based markers for *Pinus taeda* developed from mapped cDNA clones [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 327 ~ 336
- [15] Temesgen T, Brown G R, Harry D E, *et al* Genetic mapping of expressed sequence tag polymorphism (ESTp) markers in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 664 ~ 675
- [16] Lespinasse D, Rodier-Goud M, Griver L, *et al* A saturated genetic linkage map of rubber tree (*Hevea* spp.) based on RFLP, AFLP, microsatellite, and isozyme markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 127 ~ 138
- [17] Kaya Z, Neal D B. Linkage mapping in Turkish pine (*Pinus brutia* Ten.) using random amplified polymorphic DNA (RAPD) markers [J]. *Silvae Genetica*, 1995, 44: 110 ~ 116
- [18] Li C, Yeh F C. Construction of a framework map in *Pinus contorta* Subsp. *Latifolia* using random amplified polymorphic DNA markers [J]. *Genome*, 2001, 44: 147 ~ 153
- [19] Nelson C D, Nance W L, Doudrick R L. A partial genetic linkage map of slash pine (*Pinus elliottii* Engemann var. *elliottii*) based on random amplified polymorphic DNAs [J]. *Theor Appl Genet*, 1993, 87: 145 ~ 151
- [20] Travis S E, Ritland K, Whiteham T G, *et al* A genetic map of Pinyon pine (*Pinus edulis*) based on amplified fragment length polymorphisms [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 97: 871 ~ 880
- [21] Devey M, Carson S, Nolan M, *et al* Random amplified polymorphic DNA markers tightly linked to a gene for resistance to white pine blister rust in sugar pine [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92: 2066 ~ 2070
- [22] 尹冬明, 朱立煌, 黄敏仁. 利用 RAPD 标记和单株树大配字体构建马尾松的分子标记连锁图谱 [J]. *植物学报*, 1997, 39 (7): 607 ~ 612
- [23] Nelson C D, Kubisiak T L, Stine M, *et al* A Genetic Linkage Map of Longleaf Pine (*Pinus palustris* Mill.) Based on Random Amplified Polymorphic DNAs [J]. *Journal of Heredity*, 1994, 85: 433 ~ 439
- [24] Plomion C, Bahuman N, Durel C E, *et al* Genomic mapping in maritime pine (*Pinus pinaster*) using RAPD markers [J]. *Heredity*, 1995, 74: 661 ~ 668
- [25] Plomion C, O Malley D M, Durel C E. Genomic mapping in maritime pine (*Pinus pinaster*) Comparison of two RAPD maps using selfed and open-pollinated seeds of the same individual [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 1028 ~ 1034
- [26] Devey M E, Bell J C, Smith D N, *et al* A genetic map for *Pinus radiata* based on RFLP, RAPD, and microsatellite markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 92: 673 ~ 679
- [27] Devey M, Sewell M M, Uren T L, *et al* Comparative mapping in loblolly and radiata pine using RFLP and microsatellite markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 656 ~ 662
- [28] Yin T M, Wang X R, Anderson B, *et al* Nearly complete genetic maps of *Pinus sylvestris* L. (Scots pine) constructed by AFLP marker analysis in a full-sib family [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 1075 ~ 1083
- [29] Komulainen P, Brown G R, Mikkonen M, *et al* Comparing EST-based genetic maps between *Pinus sylvestris* and *Pinus taeda* [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 107 (4): 667 ~ 678

- [30] Echt C S, Nelson C D. Linkage mapping and genome length in eastern white pine (*Pinus strobes* L.) [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94(8): 3~37
- [31] Devey M E, Fiddler T A, Liu B H, *et al*. A RFLP linkage map for loblolly pine based on a three-generation outbred pedigree [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 273~278
- [32] Groover A M, Devey M E, Lee J, *et al*. Identification of quantitative trait loci influencing wood specific gravity in an outbred pedigree of loblolly pine [J]. *Genetics*, 1994, 138: 1293~1300
- [33] Remington D L, Whetten R W, Liu B H, *et al*. Construction of an AFLP genetic map with nearly complete genome coverage in *Pinus taeda* [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 98: 1279~1292
- [34] Sewell M M, Sherman B K, Neale D B. A consensus map for loblolly pine (*Pinus taeda* L.) I Construction and integration of individual linkage maps from two outbred three-generation pedigree [J]. *Genetics*, 1999, 151: 321~330
- [35] Sewell M M, Bassoni D L, Megraw R A, *et al*. Identification of QTLs influencing wood property traits in loblolly pine (*Pinus taeda* L.) I Physical wood properties [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 101: 1273~1281
- [36] Zhou Y, Gwaze D P, Bui T, *et al*. No clustering for linkage map based on low-copy and undemethylated microsatellites [J]. *Genome*, 2003, 45: 809~816
- [37] Kondo T, Terada K, Hayashi E, *et al*. RAPD markers linked to a gene for resistance to pine needle gall midge in Japanese black pine (*Pinus thunbergii*) [J]. *Theor Appl Genet*, 2000, 100: 391~395
- [38] Hayashi E, Kondo T, Terada K, *et al*. Linkage map of Japanese black pine based on AFLP and RAPD markers including markers linked to resistance against the pine needle gall midge [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 871~875
- [39] Kim Y Y, Choi H S, Kang B Y. An AFLP-based linkage map of Japanese red pine (*Pinus densiflora*) using haploid DNA samples of megagametophytes from a single maternal tree [J]. *Molecules and Cells*, 2005, 20(2): 201~209
- [40] Dale G. Genetic mapping in an interspecific hybrid between *Pinus caribaea* and *Pinus elliottii* [D]. University of Queensland, Brisbane, Queensland, Australia, 1994
- [41] Shepherd M, Cross M, Dieters M J, *et al*. Genetic maps for *Pinus elliottii* var *elliottii* and *P. caribaea* var *hondurensis* using AFLP and microsatellite markers [J]. *Theor Appl Genet*, 2003, 106: 1409~1419
- [42] Kubisiak T L, Nelson C D, Nance W L. RAPD linkage mapping in a longleaf pine slash pine F₁ family [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 1119~1127
- [43] Bradshaw H D J, Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in *Populus* I Triploidy in hybrid poplar [J]. *Theor Appl Genet*, 1993, 86: 301~307
- [44] Bradshaw H D J, Villar M, Watson B D, *et al*. Molecular genetics of growth and development in *Populus* III A genetic linkage map of a hybrid poplar composed of RFLP, STS, and RAPD markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 89: 167
- [45] Kriebel H B. DNA sequence components of the *Pinus strobes* nuclear genome [J]. *Can J For Res*, 1985, 15: 1~4
- [46] Wakamiya I, Newton R J, Johnston J S. Genome size and environment factors in the genus *Pinus* [J]. *Am J Bot*, 1993, 80: 1235~1241
- [47] Williams C G. Peculiarity of the pine genome: relevance for biotechnology program [A]. In: Dungey H S, Dieters M J, Nikles D G. Hybrid and Genetics of Forest Trees[C]. Proceedings of QFR I/CRC-SPF Symposium, 9 - 14 April 2000, Noosa, Queensland, Australia: 168
- [48] 王明麻. 林木遗传育种学 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 336~367
- [49] Sax K, Sax H J. Chromosome number and morphology in the conifers [J]. *J Arnold Arbor*, 1933, 14: 356~375
- [50] Auckland L, Bui T, Zhou Y, *et al*. Conifer Microsatellite Handbook [M]. Texas A&M, College Station, Texas, 2002
- [51] Devey M, Bell J, Moran G. A set of microsatellite markers for fingerprinting and breeding applications in *Pinus radiata* [J]. *Genome*, 2001, 45: 984~989
- [52] Shepherd M, Cross M, Maguire T L, *et al*. Transpecific microsatellites for hard pines [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 819~827
- [53] Williams C G. How will genomic mapping shape forest tree breeding strategy? [A]. In: Dieters M J, Matheson A C, Nikles D G, *et al*. Tree Improvement for Sustainable Tropical Forestry [C]. Proceedings of the QFR I-UFRO Conference, 27 October-1 November 1996, Cabundra, Queensland, Australia: 464~466
- [54] Lagercrantz U. Comparative mapping between *Arabidopsis thaliana* and *Brassica nigra* indicates that Brassica genome have evolved through extensive genome replication accompanied by chromosome fusions and frequent rearrangements [J]. *Genetics*, 1998, 150: 1217~1228
- [55] Prager E M, Fowler D P, Wilson A C. Rates of evolution of conifers [J]. *Evolution*, 1976, 30: 637~649
- [56] Krutovsky K V, Troggio M, Brown G R, *et al*. Comparative mapping in the Pinaceae [J]. *Genetics*, 2004, 168: 447~461
- [57] Pederick L. Chromosomal relationships among *Pinus* species [J]. *Silvi Genet*, 1972, 21: 171~180
- [58] Conkle M T. Isozyme variation and linkage in six conifer species [A]. In: Proc of the Symposium on Isozymes in North American Forest Trees and Forest Insects[C]. USDA For Serv Gen Tech Rep PSW-48, 1981: 11~17
- [59] Ahuja M, Devey M, Groover A, *et al*. Mapped DNA from loblolly pine can be used for restriction fragment length polymorphisms in other conifers [J]. *Theor Appl Genet*, 1994, 88: 279~282
- [60] Lerceteau E, Plomion C, Andersson B. AFLP mapping and detection of quantitative trait loci (QTLs) for economically important traits in *Pinus sylvestris*: a preliminary study [J]. *Mol Breed*, 2001, 6: 451~458
- [61] Yazdani R, Yeh F C, Rmisha J. Genomic mapping of *Pinus sylvestris* (L.) using random amplified polymorphic DNA markers [J]. *For Genet*, 1995, 2: 109~116
- [62] Lu M Z, Szmidt A E, Wang X-R. Inheritance of RAPD fragments

- in haploid and diploid tissue of *Pinus sylvestris* (L.) [J]. *Heredity*, 1995, 74: 582 ~ 589
- [63] Hume P, Savolainen O. Comparison of homology and linkage of RAPD markers between individual trees of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) [J]. *Mol Ecol*, 1999, 8: 15 ~ 22
- [64] Echt C S, Vendramin G G, Nelson C D, *et al* Microsatellites DNA as shared genetic markers among conifer species [J]. *Can J For Res*, 1999, 29: 365 ~ 371
- [65] Cao S A, Gardner R C, Kent J, *et al* A rapid PCR-based method for genetically mapping ESTs [J]. *Theor Appl Genet*, 2001, 102: 296 ~ 306
- [66] Perry D J, Bousquet J. Sequence-tagged-site markers of arbitrary genes: development, characterization and analysis of linkage in black spruce [J]. *Genetics*, 1998, 149: 1089 ~ 1098
- [67] Pavy N, Laroche J, Bousquet J, *et al* Large-scale statistical analysis of secondary xylem ESTs in pine [J]. *Plant Mol Bio*, 2005, 57: 203 ~ 224
- [68] Bradshaw H D J, Foster G S. Marker-aided selection and propagation systems in tree: advantages of cloning for studying quantitative inheritance [J]. *Can J For Res*, 1992, 22: 1044 ~ 1049
- [69] Bradshaw H D J, Stettler R F. Molecular genetics of growth and development in *Populus* IV. Mapping QTLs with large effects on growth, form, and phenology traits in a forest tree [J]. *Genetics*, 1995, 139: 963 ~ 973
- [70] Soller M, Meckmann J S. Marker-based mapping of quantitative trait loci using replicated progenies [J]. *Theor Appl Genet*, 1990, 80: 205 ~ 208
- [71] 苏晓华, 李金花, 陈伯望, 等. 杨树叶片数量性状相关联标记及其图谱定位研究 [J]. *林业科学*, 2000, 36(1): 33 ~ 70
- [72] 黄秦军, 苏晓华, 黄烈健, 等. 美洲黑杨 × 青杨木材性状 QTLs 定位研究 [J]. *林业科学*, 2004, 40(2): 55 ~ 60
- [73] Byrne M, Murrell J C, Owen J V, *et al* Identification and mode of action of quantitative trait loci affecting seedling height and leaf area in *Eucalyptus nitens* [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94: 674 ~ 681
- [74] Byrne M, Murrell J C, Owen J V, *et al* Mapping of quantitative trait loci influencing frost tolerance in *Eucalyptus nitens* [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 95: 975 ~ 979
- [75] Devey M E, Carson S, Nolan M, *et al* QTL association for density and diameter in *Pinus radiata* and the potential for marker-aided selection [A]. In: Wilton A. 49th Annual meeting of the Genetics Society of Australia [C]. GSA, University of New South Wales, Sydney, New South Wales, Australia, 2002: 28
- [76] Grattapaglia D, Bertolucci F L, Sederoff R R. Genetic mapping of QTLs controlling vegetative propagation in *Eucalyptus grandis* and *E. urophylla* using a pseudo-testcross strategy and RAPD markers [J]. *Theor Appl Genet*, 1995, 90: 933 ~ 947
- [77] Grattapaglia D, Bertolucci F L G, Penchel R, *et al* Genetic mapping of quantitative trait loci controlling growth and wood quality traits in *Eucalyptus grandis* using a maternal half-sib family and RAPD markers [J]. *Genetics*, 1996, 144: 1205 ~ 1214
- [78] Plomion C, Durel C E. Estimation of the average effects of specific alleles detected by the pseudo-testcross QTL mapping strategy [J]. *Genet Sel Evol*, 1996, 28: 223 ~ 235
- [79] Plomion C, Durel C E, O'Malley D M. Genetic dissection of height in maritime pine seedlings raised under accelerated growth conditions [J]. *Theor Appl Genet*, 1996, 93: 849
- [80] Shepherd M, Chaparro J X, Teasdale R. Genetic mapping of monoterpene composition in an interspecific eucalypt hybrid [J]. *Theor Appl Genet*, 1999, 99: 1207 ~ 1215
- [81] Shepherd M, Cross M, Dieters M J, *et al* Branch architecture QTL for *Pinus elliottii* var *elliottii* × *Pinus caribaea* var *hondurensis* hybrids [J]. *Ann For Sci*, 2002, 59: 617 ~ 625
- [82] Shepherd M, Cross M, Dieters M J, *et al* Genetics of physical wood properties and early growth in a tropical pine hybrid [J]. *Can J For Res*, 2003, 33: 1923 ~ 1932
- [83] Thanus KA, Groom K, Merrell J, *et al* A genetic linkage map for *Eucalyptus globules* with candidate loci for wood, fibre, and floral traits [J]. *Theor Appl Genet*, 2002, 104: 379 ~ 387
- [84] Devey M E, Groom KA, Nolan M F, *et al* Detection and verification of quantitative trait loci for resistance to *Dothistroma* needle blight in *Pinus radiata* [J]. *Theor Appl Genet*, 2004, 108: 1056 ~ 1063
- [85] Wheeler N C, Jemstad K D, Krutovsky K, *et al* Mapping of quantitative trait loci controlling adaptive traits in coastal Douglas-fir. Cold-hardiness QTL verification and candidate gene mapping [J]. *Mol Breed*, 2005, 15: 145 ~ 156
- [86] Bradshaw H D J. Case history in genetics of long-lived plants: molecular approaches to domestication of a fast-growing forest tree: *Populus* [A]. In: Paterson A H. *Molecular Dissection of Complex Traits* [M]. Boca Raton: CRC Press, 1998: 219 ~ 228
- [87] Bematzky R, Mulcahy K L. Marker-aided selection in a backcross breeding program for resistance to chestnut blight in the American chestnut [J]. *Can J For Res*, 1992, 22: 1332 ~ 1337
- [88] Strauss S H, Lande R, Namkoog G. Limitations of molecular-aided selection in forest tree breeding [J]. *Can J For Res*, 1992, 22: 1050 ~ 1061
- [89] Shepherd M, Huang S, Egger P, *et al* Congruence in QTL for adventitious rooting in *Pinus elliottii* × *Pinus caribaea* hybrids resolves between and within-species effects [J]. *Mol Breed*, Published Online: 29 June, 2006 (<http://dx.doi.org/10.1007/s11032-006-9006-5>)