

DOI:10.13275/j.cnki.lykxyj.2021.005.003

短枝木麻黄种子散布模式及子代群体的遗传多样性分析

李 振, 张 勇*, 魏永成, 孟景祥, 仲崇禄

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东广州 510520)

摘要: [目的] 利用短枝木麻黄 (*Casuarina equisetifolia* L.) 实生人工林群体及其自由落种长成的天然更新群体, 开展短枝木麻黄种子散布规律研究, 比较天然更新群体 (子代群体) 与其母本群体以及 30 年生实生人工林群体的遗传多样性差异, 为人工促进木麻黄天然更新提供理论依据。[方法] 利用木麻黄 11 个 SSR 标记位点的遗传分型数据, 通过亲本分析软件 Cervus 3.0 对天然更新群体植株的母本进行确定, 分析短枝木麻黄种子散布的距离和模式, 并利用遗传多样性参数对这 3 个群体的遗传多样性进行比较。[结果] (1) 子代和母本群体共 367 个个体样本在 11 个 SSR 位点共检测出 137 个等位基因, 每个位点的等位基因数为 6~24, 平均有效等位基因数为 4.95, 平均期望杂合度、观测杂合度和多态性信息量分别为 0.75、0.77 和 0.72, 所有位点均属于中或高度多态性位点。(2) 在 80% 的置信区间下, 利用 11 个标记位点的分型数据, 可为 148 株子代确定它们的母本, 占鉴定子代总数的 72.20%; 种子的有效散布距离为 10~130 m, 平均散布距离为 71 m, 属于短距离传播; 天然更新群体的母本主要集中在样地的东北和东部, 2 个方向的母本对子代的贡献率为 75.00%。(3) 从 3 个群体中各选择 84 株个体的 DNA 样品进行遗传多样性比较, 结果显示: 天然更新群体在各个遗传多样性参数上均低于母本群体和实生人工林群体, 但其参数表明该群体仍具有较高的遗传多样性。[结论] 短枝木麻黄种子散布属于短距离传播, 天然更新群体可以保持较高的遗传多样性, 这为人工促进木麻黄实生林的天然更新提供了理论基础。

关键词: 短枝木麻黄; SSR; 母本分析; 遗传多样性; 种群更新

中图分类号: S792.93

文献标志码: A

文章编号: 1001-1498(2021)05-0024-08

植物种群间或种群内的基因流是植物进化的主要动力, 也是植物保持遗传连续性的重要因素。种子散布作为植物种群更新和基因交流的主要方式, 它的散布模式不但影响种群的大小和遗传结构, 也会影响种群的更新模式和可持续性^[1-3]。种子离开母树后往往会受到各种限制而无法萌发或萌发后无法顺利成长为幼树, 这种限制主要包括种源限制、传播限制和建成限制等^[4-5]。种子产量不足和林内凋落物覆盖分别限制了红火烧兰 (*Cephalanthera rubra* (L.) Rich.) 和青杨 (*Populus cathayana* Rehder) 的自然更新能力^[1, 6], 而自然林内光照不

足和凋落物覆盖则是银杏 (*Ginkgo biloba* L.) 进行有性更新的主要限制因子^[7]。研究表明, 海南岛木麻黄 (*Casuarina*) 防护林种子的室内平均萌发率仅为 11.3%, 种子质量总体不佳, 但少数单株种子的萌发率可达 22.3%~30.0%, 且木麻黄单株的产种量巨大, 可以弥补因种子萌发率低可能导致的更新限制。因此, 种子的产量与质量并不是制约木麻黄人工林天然更新的限制因子, 其天然更新难以成功的原因是林地内凋落物、光照、水分等环境因子影响了木麻黄种子萌发和幼苗生长^[8-9]。

短枝木麻黄 (*Casuarina equisetifolia* L.) 是木

收稿日期: 2021-02-02 修回日期: 2021-04-27

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31770716); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目 (CAFYBB2018ZB003)

* 通讯作者: 张 勇, 男, 博士, 副研究员, 主要从事林木遗传改良研究。E-mail: zhangyongr@caf.ac.cn

麻黄属的常绿乔木, 天然分布在亚热带至热带的沿海地区, 因其抗旱、耐盐碱、生长迅速、耐贫瘠等特性, 已成为华南沿海地区重要的生态防护林、用材林和多用途林树种^[10-13]。目前, 我国沿海木麻黄防护林以短枝木麻黄无性系造林为主, 林分结构简单, 品种单一, 且品种间亲缘关系近^[14], 天然更新困难, 即使存在少量的天然更新, 其子代的遗传多样性也较低, 近交衰退现象严重, 生长差异较大, 不利于木麻黄防护林的可持续经营。由于木麻黄无性系林分具有浅根性、抗逆性弱等缺点, 遭遇台风时往往被连根拔起, 因此, 一些地区的林业管理部门要求沿海前沿 100 m 内的基干林带使用实生苗造林^[10]。木麻黄实生人工林不仅遗传多样性高, 抵御外界风险能力强, 还具有寿命长、抗性高等优点。笔者观察发现, 当木麻黄实生人工林地表土被人为扰动后, 如合理间伐、带状翻土等, 林分可以通过自由落种进行天然更新。这种通过实生人工林的种子自由散布而形成的木麻黄天然更新群体的遗传多样性如何? 木麻黄林的种子散布模式是什么? 散布距离有多远? 能否通过这种人为干扰的方法促进木麻黄实生人工林的天然更新, 减少因传统皆伐全垦的人工更新方式对沿海地区造成的水土流失、地力损耗、生物群落破坏等不利后果的影响? 这些问题的解答将对指导木麻黄人工林的经营及人工促进木麻黄实生人工林的天然更新等具有较大的理论意义和实践价值。

SSR 分子标记技术由于准确性高、变异位点丰富、多态性高、重复性好和共显性等优点, 已被广泛应用于植物的遗传多样性和子代的亲本确定^[1-2, 15-21]。本文利用前期开发的 11 对木麻黄 EST-SSR 引物, 以 8~10 年生短枝木麻黄天然更新群体、周边的候选母本群体和 30 年生实生人工林群体为研究对象, 利用 SSR 亲本分析技术确定天然更新群体中个体的亲本来源, 研究短枝木麻黄的种子散布距离和特征, 并通过与候选母本群体、实生人工林的比较, 分析天然更新群体的遗传多样性, 以期为人工促进木麻黄实生人工林的天然更新提供理论基础。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况及样品采集

短枝木麻黄自然落种天然更新林和 30 年生实生人工林均位于福建省惠安县赤湖国有防护林场

(118°54'48" E, 24°56'16" N), 属南亚热带海洋性季风气候, 冬季盛行东北风, 夏季盛行西南风。天然更新林为长约 60 m、宽约 40 m 的矩形, 形成时间约在 2011 年, 是原短枝木麻黄实生人工林砍伐后, 表土被人为扰动, 由周边 20~25 年生的实生林(总长×总宽约为 300 m×260 m)母株自然落种后萌发生成, 株高 5~6 m, 平均胸径 9.1 cm。30 年生短枝木麻黄实生人工林样地面积约 25 hm², 距离天然更新林直线距离约 3 km, 是 20 世纪 90 年代初使用国外引进的短枝木麻黄不同种源种子营造而成, 株高为 25~30 m, 平均胸径为 33 cm。

采样时将短枝木麻黄天然更新林分为 4 个象限, 每个象限均匀采集子代植株嫩枝, 同时采集天然更新林周围 150 m 内所有已结果的母株(候选母本)嫩枝, 最终获得子代 205 株, 候选母本 162 株的样品。利用 GPS (BHCnav K20s) 对采样的子代和母本个体进行定位, 精度为 ± 3 m, 并挂牌作标记。对 30 年生短枝木麻黄实生人工林群体的个体嫩枝进行随机采样, 采样间距为 50 m, 共采得 98 株植株的样品。所有采到的嫩枝样品用硅胶干燥保存。

1.2 DNA 提取和 SSR-PCR 扩增

采用改良的 CTAB 法^[22]提取木麻黄天然更新林群体、候选母本群体和实生人工林群体个体样品的基因组 DNA, 并利用 Nanodrop2000 (Thermo) 和 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 含量和纯度, 然后将符合的样品稀释至 20 ng·μL⁻¹, 放置在 -20℃ 冰箱保存。

引物为前期筛选的基于表达序列标签 (EST) 开发的 11 对 SSR 引物, 由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成荧光引物, 具体信息见表 1。SSR-PCR 反应体系为优化后的 10 μL 体系^[23], 包含 1×PCR buffer、0.2 mmol·L⁻¹ dNTP、0.5 μmol·L⁻¹ 引物、1.25 U Taq 酶、2 ng 模板 DNA、1.75 mmol·L⁻¹ Mg²⁺。扩增程序为: 95℃ 预变性 5 min, 94℃ 变性 1 min, 最佳退火温度 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 循环 35 次, 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。在朗基 A600 PCR 仪 (杭州朗基科学仪器有限公司) 上进行 PCR 扩增, 扩增完成后用 ddH₂O 将 PCR 产物稀释 10 倍, 再取 1 μL 加入 0.16 μL LIZ500 和 9.34 μL Hi-Di 混匀后 95℃ 变性 5 min, 而后放入冰箱降温, 降温后利用 ABI3730X DNA 分析仪进行基因分型。

表 1 11 对 SSR 荧光引物序列

Table 1 Sequences of 11 SSR fluorescent primers

引物名称 Primer	序列(5'-3') Primer Sequence (5'-3')	5'修饰 5' Modification	纯化方式 Purification	重复片段 Repeat motif	退火温度 T _m /°C
EST-C01 (F)	TGCAGCATCATCACTACT		HPL		
EST-C01 (R)	ACTCCAACCAACTCTATTC	ROX	PAG	(AGA) ₆	54
EST-C02 (F)	TTTGTCTTCCCTACTCCG		HPL		
EST-C02 (R)	AACCCTTTTCCACTTTCCTA	TAM	PAG	(CTTCT) ₅	52
EST-C03 (F)	TTCAAAACCCTAGCATCT		HPL		
EST-C03 (R)	CATACCATTAACCAAAGC	TAM	PAG	(CTT) ₆	52
EST-C04 (F)	GCTGGAGGTGGTGGTGT		HPL		
EST-C04 (R)	TATGGAATAGACGAGAAGTGAG	FAM	PAG	(CT) ₁₄	56
EST-C08 (F)	GCTTTGCTCTACCGTTTC		HPL		
EST-C08 (R)	ATCACCACCATCCTCGTC	ROX	PAG	(GAC) ₁₂	52
EST-C10 (F)	AAAGAGAGGCTCAGAAAGA		HPL		
EST-C10 (R)	GCACGAAGCAAGAGATAGA	HEX	PAG	(GTT) ₉	56
EST-C13 (F)	ATGGGACATTTTGGTGAT		HPL		
EST-C13 (R)	CTTTGCTTTAGGCGTTTT	HEX	PAG	(CATCTT) ₃	54
EST-C15 (F)	CTTCGCCGTTTCCTCAGA		HPL		
EST-C15 (R)	ATATTTGCTTCGCAGGTCA	ROX	PAG	(AG) ₁₃	56
EST-C16 (F)	ATGATGAAGACGAGGATC		HPL		
EST-C16 (R)	CTTCTTCTTCTCCACCAC	FAM	PAG	(GAA) ₅	54
EST-C18 (F)	AAAGGCACAAGTTAGGAGAG		HPL		
EST-C18 (R)	GCTGGTGCTGTTGAAATG	HEX	PAG	(CT) ₁₂	56
EST-C19 (F)	CGACCCAACCAAAATCTC		HPL		
EST-C19 (R)	AAGCGACAATCTGAAAGAAG	TAM	PAG	(CT) ₇	56

1.3 数据统计和分析

利用 Gene Marker V2.2.0 软件读取基因分型数据, 采用软件 Cervus 3.0 中常用的 80% 和 95% 2 种可信度检验对 205 个种子散布子代单株和 162 株候选母本进行母本分析, 根据最大似然法估算每个候选母本的似然性值比率 (LOD), LOD 取正值。软件参数设置如下: 循环数为 100 000, 候选亲本的取样比为 0.85, 匹配基因位点为 0.99, 不匹配基因位点为 0.01。计算天然更新林和实生人工林的等位基因数 (N_a)、有效等位基因数 (N_e)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 和多态性信息量 (PIC), 利用 POPGEN Version 1.32 计算不同群体位点的 Shannon's 指数 (I) 和 Nei's 遗传多样性指数 (h)。

2 结果与分析

2.1 SSR 多态性分析

利用前期筛选的 11 对 EST-SSR 多态性引物对短枝木麻黄种子散布子代和母本共计 367 个个体进行遗传分型, 检测结果 (表 2) 表明: 11 个 SSR 位点共检测出 137 个等位基因, 平均等位基因数为 12.45, 平均有效等位基因数为 4.95, 其中, 位点 C18 等位基因数最多 (24 个), 位点 C13 的等位基因数最少 (6 个)。11 个位点的平均观测杂合度和期望杂合度分别为 0.77 和 0.75, 其中, 位点 C02、C04、C15、C18 的观测杂合度小于期望杂合度, 表明这些位点杂合子缺失。该试验群体 11 个 SSR 位点平均多态性信息量为 0.72, 除位点 C13

多态性信息量属于中度多态性位点外, 其余 10 个位点多态性信息量均大于 0.50, 属于高度多态性位点, Shannon's 指数平均为 1.74, 表明本研究所采

用的 11 对 SSR 引物能够检测出较多的等位位点, 可以很好地反映该试验群体的遗传多样性。

表 2 短枝木麻黄实生人工林子代和母本群体 SSR 多态性分析

Table 2 SSR polymorphism analyses of progeny and maternity populations of *C. equisetifolia* seedling plantation

位点 Locus	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	多态性信息量 PIC	Shannon's 信息指数 I
C01	9	3.89	0.83	0.74	0.72	1.69
C02	11	5.54	0.76	0.82	0.80	1.84
C03	12	3.24	0.83	0.69	0.67	1.61
C04	8	2.88	0.60	0.65	0.59	1.26
C08	15	6.78	0.85	0.85	0.84	2.14
C10	9	3.69	0.79	0.73	0.69	1.47
C13	6	1.83	0.55	0.45	0.41	0.84
C15	17	8.70	0.78	0.89	0.88	2.38
C16	14	3.48	0.83	0.71	0.68	1.67
C18	24	10.03	0.80	0.90	0.89	2.52
C19	12	4.36	0.87	0.77	0.74	1.70
平均 Mean	12.45	4.95	0.77	0.75	0.72	1.74

2.2 种子散布子代母本分析及种子有效散布距离

对短枝木麻黄 205 个种子散布子代单株进行母本分析, 结果 (表 3) 表明: 在 95% 置信区间下能确定母本的子代有 19 株, 占子代试验群体的 9.27%; 在 80% 的置信区间下可为 148 株种子散布子代确定母本, 占取样子代的 72.20%, 其余子代的 LOD 值为负值, 表明子代与候选母本无亲缘关系。在已确定子代的 84 株母本中有 7 株母本鉴定出了 4 株子代, 子代与母本的距离为 17~108 m; 可以鉴定出 3 株子代的母本有 9 株, 子代与母本的距离为 33~112 m, 其他确定的候选母本鉴定子代个数为 2 株或 1 株。

对已确定母本的子代和其相对应的母本进行了定位, 分析了短枝木麻黄种子散布的有效距离, 结果 (图 1) 表明: 短枝木麻黄种子散布的范围较宽, 有效散布距离为 10~130 m, 平均散布距离为 71 m。随着散布距离的增加, 确定子代的个数出现了 2 个峰值, 分别集中在 50~80 m 和 90~110 m 两个区间, 各确定了 69 株和 31 株子代; 散布距离在 20~120 m 范围内, 共有 143 株子代可以确定母本, 占已确定母本子代群体的 96.62%。散布距离超过 120 m, 确定母本的子代数量明显减少, 在

120~130 m 内仅发现了 3 株子代, 超过 130 m 后没有可以确定母本的子代。已确定子代的母本中有 71.43% 位于样地东北和东部, 共鉴定出 111 株子代, 母本贡献率为 75.00%。天然更新群体样本中不能确定母本的子代占 27.80%, 推测种子可能由更远的木麻黄林通过风或野生动物散布过来 (图 1、表 3)。

2.3 不同群体遗传多样性分析

从母本群体中选取已确定子代的 84 株母本, 并从天然更新子代群体中选取与母本对应的 84 株子代以及从实生人工林群体中随机选取 84 株个体, 形成母本、天然更新子代和实生人工林 3 个样本数相同的群体, 然后利用 11 个 SSR 位点开展遗传多样性比较。结果 (表 4) 显示: 天然更新子代群体的平均等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度、多态性信息量、Shannon's 信息指数和 Nei's 遗传多样性指数均略低于母本群体和实生人工林群体, 而母本群体的遗传多样性参数除等位基因数外也均稍低于实生人工林群体。短枝木麻黄天然更新群体的遗传多样性与母本群体、实生人工林群体相比虽然略有降低, 但其观测杂合度和期望杂合度仍远高于 0.50, 仍保持了较高的遗传

表3 短枝木麻黄实生人工林种子散布子代母本分析

Table 3 Maternity analyses of seed-dispersed progenies from *C. equisetifolia* seedling plantations

母本 Maternal tree	子代株数 Numbers of Progeny/株	距离 Distance/ m	母本 Maternal tree	子代株数 Numbers of progeny/株	距离 Distance/ m	母本 Maternal tree	子代株数 Numbers of progeny/株	距离 Distance/ m	母本 Maternal tree	子代株数 Numbers of progeny/株	距离 Distance/ m
M5	4 (1)	25~62	M68	2	65~95	M10	1	54	M69	1	110
M9	4	60~76	M76	2	66~92	M16	1	38	M73	1	66
M109	4	35~62	M78	2	76~99	M21	1	55	M77	1	112
M111	4 (1)	53~65	M83	2	110~114	M23	1	44	M86	1 (1)	112
M115	4 (1)	17~59	M97	2	94~96	M24	1	58	M89	1	92
M124	4 (1)	57~74	M108	2 (1)	55~57	M25	1 (1)	66	M90	1	105
M132	4 (1)	94~108	M110	2	25~62	M26	1	77	M94	1	122
M39	3	33~87	M117	2	17~37	M34	1	79	M96	1	130
M48	3	57~79	M118	2	27~28	M38	1	79	M107	1	42
M70	3	99~112	M119	2	22~39	M43	1 (1)	97	M112	1	32
M74	3	72~80	M12	2 (2)	42~67	M44	1	85	M113	1	53
M125	3 (3)	53~70	M122	2	23~33	M46	1	98	M134	1	82
M129	3	45~60	M123	2	47~58	M51	1	63	M138	1	68
M137	3	72~95	M126	2	51~56	M53	1 (1)	67	M139	1	101
M140	3 (1)	87~95	M128	2 (1)	39~54	M56	1	67	M143	1	119
M154	3 (1)	90~103	M130	2	60~61	M59	1	65	M144	1	123
M1	2	30~35	M133	2	71~98	M60	1	78	M147	1	105
M6	2	65~66	M135	2	100~103	M61	1	46	M153	1	74
M58	2	59~94	M141	2	73~88	M64	1	46	M155	1	102
M62	2	68~83	M160	2	86~87	M66	1	76	M158	1 (1)	79
M65	2	80~110	M2	1	49	M67	1	93	M161	1	113

注：括号内外的数字分别表示95%和80%置信区间下的子代数；黑色加粗字体表示位于样地东部和东北部的母本。

Notes: Numbers inside and outside of parenthesis indicate the number of progenies at 95% and 80% confidence intervals, respectively. The bold black font represents the maternity located in the east and northeast of the sample site.

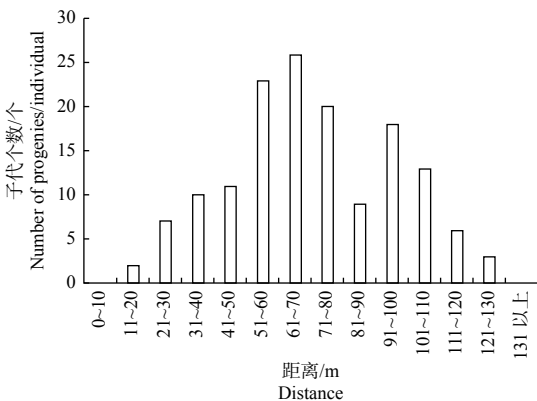


图1 不同距离内短枝木麻黄实生人工林子代数

Fig. 1 Number of progenies of *C. equisetifolia* seedling plantation at different distances

多样性水平。

3 讨论

研究表明，利用 SSR 分子标记对以异交为主的植物开展亲本分析时，应选择较多的遗传位点，10~20 个多态性高的共显性分子标记可以取得较好的亲本分析结果，而自交为主的植物应多增加子代的取样数量^[24-25]。风媒植物短枝木麻黄大多数为雌雄异株，交配模式以异交为主，在开展亲本分析时应采用较多的 SSR 位点。本研究利用 11 个 SSR 位点对木麻黄 367 个个本进行扩增，平均每个位点 12.45 个等位基因，平均观测杂合度和期望杂

表 4 短枝木麻黄不同群体遗传多样性分析

Table 4 Genetic diversity analyses of different populations of *C. equisetifolia*

遗传多样性参数 Genetic diversity parameters	天然更新群体 Natural regeneration population	母本群体 Maternal population	实生人工林群体 Seedling plantation population
等位基因数 N_a	9.00	10.00	9.55
有效等位基因数 N_e	4.65	4.83	5.15
观测杂合度 H_o	0.73	0.82	0.84
期望杂合度 H_e	0.72	0.76	0.77
多态性信息量 PIC	0.69	0.72	0.73
Shannon's 信息指数 I	1.62	1.72	1.74
遗传多样性指数 h	0.72	0.75	0.76

合度分别为 0.77 和 0.75, 平均多态性信息量和 Shannon's 信息指数分别为 0.72 和 1.74, 表明这些标记具有相对较高的多态性, 可用于木麻黄亲本分析、种质资源鉴定和遗传图谱构建等研究。

本研究利用软件 Cervus3.0 对短枝木麻黄实生人工林的种子散布子代进行母本分析, 结果表明, 在 95% 置信区间下只能为天然更新林 19 株子代确定母本, 而在 80% 的置信区间下可为 148 株子代确定母本, 占子代群体的 72.20%, 仍有 27.80% 的子代未能确定其母本, 这可能是因为试验地点位于风速较大的沿海地区, 轻且带翅的木麻黄种子在强风下能进行较长距离的散播, 所以, 部分未确定母本的子代很可能来自较远的母树; 另外的原因可能是个别位点的扩增成功率相对较低, 造成一些 DNA 遗传分型的数据缺失, 导致短枝木麻黄亲本分析效率降低, 使部分子代的母本未能被成功鉴别出来, 下一步可通过增加新的标记位点来提高亲本的分析效率。

遗传多样性的高低代表着物种进化潜力的高低, 遗传多样性越高则物种适应不良环境的能力就越强。目前, 我国沿海木麻黄防护林多为短枝木麻黄无性系造林, 遗传多样性水平低。余微等^[14]利用 12 对 EST-SSR 引物对广东、福建、海南三省 109 个主栽短枝木麻黄无性系进行遗传多样性分析发现, 华南三省 109 个短枝木麻黄无性系平均 Shannon's 信息指数为 1.10; 许秀玉等^[26]利用 22 条 ISSR 引物对来自广东、福建和海南等地的 51 个木麻黄无性系进行遗传多样性分析也发现了相同结论, 51 个无性系的平均 Shannon's 信息指数仅为 0.43。本研究利用 11 对 EST-SSR 引物对短枝木麻黄天然更新群体中的 84 个个体进行遗传多样性评价, 平均等位基因数和有效等位基因数以

及 Shannon's 信息指数和遗传多样性指数分别为 9.00、4.65 和 1.62、0.72, 远高于华南地区的无性系群体, 也高于其他一些同样依靠风力散播种子的植物群体, 如密叶杨 (*Populus talassica* Kom.) ($I = 1.379$, $h = 0.71$)^[27]、杉木 (*Cunninghamia lanceolate* (Lamb.) Hook.) ($I = 0.832$, $h = 0.476$)^[28]、青钱柳 (*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.) ($I = 0.686$, $h = 0.404$)^[29]。这说明依靠风力进行种子散播的短枝木麻黄实生林, 其天然更新群体具有较高的遗传多样性水平 ($I = 1.62$, $h = 0.72$), 但与其母本群体和实生人工林群体相比, 短枝木麻黄天然更新群体表现了相对较低的遗传多样性, 主要原因可能是天然更新子代很多都来源于相同母本, 也很可能具有相同的父本。已有研究表明, 林分中母株附近的高大雄株对子代的花粉贡献率具有明显的优势^[30-31], 因此, 包含了一些半同胞甚至是全同胞子代的天然更新群体的遗传多样性略低于母本群体和实生人工林群体。

种子的传播和幼苗的定居是植物种群生态和进化遗传学研究的重要组成部分, 国内外研究学者已经广泛应用分子标记来研究植物种子的散布格局及其对种群的影响。研究表明, 种子通过重力或者风力传播的树种, 其幼苗多聚集在母树周围, 具有较强的空间遗传结构; 而通过动物进行种子传播的树种, 因种子传播者的生活习性如觅食、储存等行为, 幼苗往往定居在远离母树的地方, 种群的空间遗传结构较简单, 但群体间拥有较高遗传异质性的可能性较大^[3, 32-33]。本研究利用 11 对 SSR 引物对短枝木麻黄实生人工林天然更新群体进行母本分析, 探究短枝木麻黄种子的散布规律。结果表明, 短枝木麻黄种子有效散布距离为 10~130 m, 平均散布距离为 71 m, 与异木麻黄属轮生木麻黄

(*Allocasuarina verticillata* (Lam.) L.A.S. Johnson) (约 100 m) 的散布距离相近^[34], 远低于种子长距离散播 (不少于树高 100 倍的距离) 的标准^[35], 属于短距离传播。种子靠风力散播的植物中, 其种子散布能力受生境和空气动力学参数的影响较大^[36], 种子的散布效率与种子沉降速度、林分下层植被密度及母树周围植被高度成反比^[37]。本研究中, 在已确定子代的母本中, 位于样地东北和东部的母本对天然更新子代的贡献率为 75.00%, 散布距离在 50~80 m 内的子代个数最多, 这是因为木麻黄种子成熟旺期主要集中在 10-11 月, 而该段时间内样地盛行东北风, 因而, 东北方向的母株贡献了天然更新林群体的多数子代。

4 结 论

短枝木麻黄作为华南沿海防护林重要树种, 主要生长在沿海沙地, 由于木麻黄防护林内枯枝落叶层厚, 种子难以接触到土壤, 再加上原生环境荫蔽、干旱等不利条件导致种子萌发和幼苗生长均受到限制。本研究利用 11 对 SSR 引物对木麻黄实生人工林种子散布子代进行遗传多样性和母本分析, 结果表明, 木麻黄种子有效散布距离为 10~130 m, 主要集中在 20~120 m, 属于短距离传播, 子代群体平均 Shannon's 信息指数和 Nei's 遗传多样性指数分别为 1.62 和 0.72, 略低于母本群体和 30 年生实生林群体, 但仍处于较高水平, 说明通过对木麻黄实生人工林进行人为干扰和管理, 如采取合理间伐、带状翻土、人工增施氮钾肥、补植优质的实生苗等措施, 优化短枝木麻黄种子萌发与幼苗定居的生长环境, 有望实现短枝木麻黄实生林的天然更新, 且子代能保持相对较高的遗传多样性, 此研究可为木麻黄人工林的经营及人工促进木麻黄实生林更新等奠定相应的理论基础。

参 考 文 献:

- [1] Kotilinek M, Tesitelova T, Kosnar J, *et al.* Seed dispersal and realized gene flow of two forest orchids in a fragmented landscape[J]. *Plant Biology*, 2020, 22(3): 522-532.
- [2] Baldauf C, Ciampi-Guillardi M, Aguirra T J, *et al.* Genetic diversity, spatial genetic structure and realised seed and pollen dispersal of *Himatantus drasticus* (Apocynaceae) in the Brazilian savanna[J]. *Conservation Genetics*, 2014, 15(5): 1073-1083.
- [3] Hamrick J L, Trapnell D W. Using population genetic analyses to understand seed dispersal patterns[J]. *Acta Oecologica*, 2011, 37(6): 641-649.
- [4] 何中声. 格氏栲天然林林窗微环境特征及幼苗更新动态研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [5] 李霄峰, 胥 晓, 王碧霞, 等. 小五台山森林落叶层对天然青杨种群更新方式的影响[J]. *植物生态学报*, 2012, 36(2): 109-116.
- [6] 李 宁, 白 冰, 鲁长虎. 植物种群更新限制—从种子生产到幼树建成[J]. *生态学报*, 2011, 31(21): 6624-6632.
- [7] 杨永川, 穆建平, Tang Cindy Q, 等. 残存银杏群落的结构及种群更新特征[J]. *生态学报*, 2011, 31(21): 6396-6409.
- [8] 王 玉. 海南岛木麻黄人工海防林天然更新困难的障碍机制[D]. 海口: 海南师范大学, 2020.
- [9] 杨 彬. 海南岛木麻黄海防林天然更新特征、影响因素及评价[D]. 海口: 海南师范大学, 2019.
- [10] 张 勇. 三种木麻黄的遗传改良研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013.
- [11] 张 勇, 仲崇禄, 陈 羽, 等. 木麻黄共生菌的研究进展[J]. *广东林业科技*, 2006, 22(1): 70-75.
- [12] 仲崇禄, 白嘉雨, 张 勇. 我国木麻黄种质资源引种与保存[J]. *林业科学研究*, 2005, 18(3): 345-350.
- [13] 仲崇禄, 张 勇. 我国木麻黄的引种培育和经营[J]. *林业科技开发*, 2003, 17(2): 3-5.
- [14] 余 微, 仲崇禄, 张 勇, 等. 短枝木麻黄无性系鉴定及其指纹图谱构建[J]. *林业科学研究*, 2019, 32(5): 157-164.
- [15] Li J, Qi C, Gu J, *et al.* Effect of sire population on the genetic diversity and fitness of F1 progeny in the endangered Chinese endemic *Sinocalycanthus chinensis*[J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(3): 4091-4103.
- [16] 刘 军, 乔卫阳, 邱勇斌, 等. 毛红椿天然群体遗传多样性及取样策略探讨[J]. *林业科学研究*, 2019, 32(1): 175-184.
- [17] Ismail S A, Ghazoul J, Ravikanth G, *et al.* Evaluating realized seed dispersal across fragmented tropical landscapes: a two-fold approach using parentage analysis and the neighbourhood model[J]. *New Phytologist*, 2017, 214(3): 1307-1316.
- [18] 王楠楠, 李金花, 王长海, 等. 基于SSR标记的父本分析研究油橄榄品种间的亲性和性[J]. *林业科学研究*, 2017, 30(4): 640-647.
- [19] Kullán A R K, Kulkarni A V, Kumar R S, *et al.* Development of microsatellite markers and their use in genetic diversity and population structure analysis in *Casuarina*[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2016, 12(3): 1-12.
- [20] 孙文婷, 于大德, 董明亮, 等. 华北落叶松种子园控制授粉子代遗传多样性分析[J]. *西北植物学报*, 2016, 36(8): 1662-1670.
- [21] 杨汉波, 张 蕊, 周志春. 木荷种子园的遗传多样性和交配系统[J]. *林业科学*, 2016, 52(12): 66-73.
- [22] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytochemical Bulletin*, 1987, 19: 11-15.
- [23] 李 振, 仲崇禄, 张 勇, 等. 木麻黄SSR-PCR反应体系的建立与优化[J]. *植物研究*, 2021, 41(2): 312-320.
- [24] 张冬梅, 沈熙环, 张华新, 等. 林木群体基因流及父本分析的研究进展[J]. *林业科学研究*, 2003, 16(4): 488-494.
- [25] 何田华, 葛 頌. 植物种群交配系统、亲本分析以及基因流动研究[J]. *植物生态学报*, 2001, 25(2): 144-154.
- [26] 许秀玉, 王明怀, 魏 龙, 等. 51个木麻黄无性系遗传多样性的ISSR分析[J]. *林业科学研究*, 2012, 25(6): 691-696.
- [27] 朱小虎. 新疆密叶杨群体遗传多样性及遗传结构研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.

- [28] 陈仕昌. 1.5代杉木种子园种实差异及遗传多样性研究[D]. 南宁: 广西大学, 2019.
- [29] 李晓春. 基于ISSR和SSR标记的青钱柳天然群体结构及遗传多样性研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2017.
- [30] Dow B D, Ashely M V. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites[J]. *Journal of Heredity*, 1998, 89(1): 62-70.
- [31] Burczyk J, Adams W T, Shimizu J Y. Mating patterns and pollen dispersal in a natural knobcone pine (*Pinus attenuata* Lemmon.) stand[J]. *Heredity*, 1996, 77(3): 251-260.
- [32] Dow B D, Ashley M V. Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*[J]. *Molecular ecology*, 1996, 5(5): 615-627.
- [33] Hamrick J L, Murawski D A, Nason J D. The influence of seed dispersal mechanisms on the genetic structure of tropical tree populations[J]. *Vegetatio*, 1993, 107/108: 281-297.
- [34] Broadhurst L. Pollen dispersal in fragmented populations of the dioecious wind-pollinated tree, *Allocasuarina verticillata* (Drooping Sheoak, Drooping She-Oak; Allocasuarinaceae)[J]. *PLOS ONE*, 2015, 10(3): e119498.
- [35] Nathan R, Perry G, Cronin J T, *et al.* Methods for estimating long-distance dispersal[J]. *Oikos*, 2003, 103(2): 261-273.
- [36] Damschen E I, Baker D V, Bohrer G, *et al.* How fragmentation and corridors affect wind dynamics and seed dispersal in open habitats[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(9): 3484-3489.
- [37] Heydel F, Cunze S, Bernhardt-Roemermann M, *et al.* Long-distance seed dispersal by wind: disentangling the effects of species traits, vegetation types, vertical turbulence and wind speed[J]. *Ecological Research*, 2014, 29(4): 641-651.

Seed Dispersal Pattern and Progeny Genetic Diversity of *Casuarina equisetifolia*

LI Zhen, ZHANG Yong, WEI Yong-cheng, MENG Jing-xiang, ZHONG Chong-lu

(Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: [Objective] To reveal the seed dispersal pattern and compare the genetic diversity differences among natural regeneration population (progeny population), maternal population and seedling plantation population of *Casuarina equisetifolia*, and to provide reference data for artificially promoting natural regeneration of *C. equisetifolia* seedling plantation. [Method] Paternity analysis software Cervus 3.0 was used to determine the maternal parents of individuals in regeneration population, and to compare the genetic diversity of the three kinds of *C. equisetifolia* populations based on genotype data of progeny and candidate maternal parents obtained from 11 polymorphic SSR loci. [Result] (1) Totally 137 alleles (N_a) were detected from 367 individual samples of maternal and progeny populations using 11 SSR markers, and the number of alleles per SSR locus varied from 6 to 24, with an average effective alleles (N_e) number of 4.95. The average expected heterozygosity (H_e), observed heterozygosity (H_o) and polymorphism information (PIC) were 0.75, 0.77 and 0.72 respectively. All the loci were categorized as moderate-high polymorphic loci. (2) At 80% confidence interval, the female parents of 148 progeny which accounted for 72.20% of the total progeny number were identified using genotype data obtained from 11 SSR markers. The seed effective dispersal distance of *C. equisetifolia* ranged from 10 m to 130 m, with the mean dispersal distance of 71 m, which belongs to short-distance dispersal. The female parents were mainly concentrated in the northeast and east of the sampling plots, and their contribution to progeny reached up to 75.00%. (3) For the purpose of determining an even sample number, the genotype data of 84 individual samples were extracted respectively from the three populations for genetic diversity comparison. The results showed that the natural regeneration population presented slightly lower genetic diversity than the other two populations, but it still possessed relatively high genetic diversity based on its genetic parameters. [Conclusion] The seed dispersal of *C. equisetifolia* is of a short-distance dispersal, and the natural regeneration population can also maintain a high genetic diversity, which provides reference data for artificially promoting the natural regeneration of the seedling plantation of *C. equisetifolia* in coastal shelterbelts of Southern China.

Keywords: *Casuarina equisetifolia*; SSR; maternal analysis; genetic diversity; population regeneration