

杉木不同世代育种群体遗传多样性评价及核心种质构建^{*}

张颢^{1,3}, 伍汉斌², 黄帆¹, 程勇¹, 蒋宏春⁴, 张森强⁴, 王欣^{1,3}, 段爱国^{2*}

湖南省林业科学院, 长沙 410004 中国; 2. 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091 中国; 3. 中南林业科技大学林学院, 长沙 410004 中国; 4. 会同县广坪国有林场, 湖南 会同 418307 中国)

摘要: [目的] 评价湖南省杉木不同世代育种群体遗传多样性及其变化动态, 构建核心种质, 为湖南省杉木高世代遗传改良以及种质资源科学利用提供理论依据。[方法] 采用 SSR 标记技术评价杉木 3 个不同世代育种群体遗传多样性, Gene Marker 软件进行基因分型, GenAlex 估算群体遗传参数、分子方差分析和主成分分析, FSTAT 评估成对育种群体间的遗传分化程度, STRUCTURE 分析群体遗传结构, Core-hunter 构建核心种质集, t 检验和主坐标分析法验证核心种质的有效性和代表性。[结果] 湖南省杉木育种群体遗传多样性丰富 ($H=0.541$, $H_E=0.630$), 3 个不同世代育种群体均呈现出极度不平衡状态, 表现为杂合体缺失; 不同世代育种群体间遗传分化小 (F_{ST} 在 0.01~0.014 之间), 种质材料的遗传背景较为复杂; 筛选出 55 份核心种质集的覆盖度与代表性良好。[结论] 湖南省杉木育种群体遗传多样性较高, 高世代育种群体遗传多样性没有明显下降, 表明湖南省杉木多世代遗传改良策略与方法科学有效。筛选的核心种质具有较好的代表性, 可为湖南杉木种质资源高效利用及高世代种子园建设提供优异的种质材料。

关键词: 杉木; 育种群体; SSR 标记; 遗传多样性; 核心种质

The evaluation of the genetic diversity of different generations of breeding populations and establishing core collections of Chinese fir

Abstract: [Objective] In order to evaluate the diversity and genetic structure of the three generations of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook) breeding groups in Hunan, build a cedar core germplasm, and provide scientific basis for the breeding and utilization of the cedar species and use, 21 pairs of SSR markings of fir clone parent from three generations were used to evaluate genetic diversity and genetic structural evaluation. Use the A-NE and CV methods to build core germplasm. [Result] The overall genetic diversity of the three-generation breeding groups of fir is high (observation hybridness (H_O) is 0.541, and the expected hybridness (H_E) is 0.630). The second-generation breeding group has the highest genetic parameters, and the observation hybridness (H_O) and the expectation hybridness (H_E) are 0.575 and 0.639; the F_{ST} of three fir breeding group is between 0.01 ~ 0.014, and genetic diversity mainly exists in the group, only 2% between groups, and the degree of genetic differentiation between groups is low; 55 core germplasms were selected. [Conclusion] The overall genetic diversity of the three generations of Chinese fir breeding groups in Hunan is high. The genetic parameters of the three groups have changed less, and the degree of genetic differentiation between groups is low. The resources of Hunan Chinese fir Breeding Group are the most suitable to divided into two groups. The screened core breeding group provided a scientific basis for reasonable preservation and efficient utilization of Hunan Chinese fir resources and seed orchard quality transformation

Keywords: Chinese fir; breeding group; genetic diversity; core germplasm

中图分类号: 文献标识码:

林木育种群体遗传多样性是林木遗传改良的物质基础, 决定着苗木遗传品质, 影响着人工林遗传多样性以及人工林生态系统的长期稳定, 在林业产业发展中具有重要的地位^[1]。林木育种主要借鉴作物和动物

^{*} 收稿日期: 年-月-日

基金项目: 国家重点研发计划“杉木高产优质高效新品种选育研究”(2022YFD2200201)

第一作者: 张颢 (22530410@qq.com), 副研究员。*通信作者: 段爱国 (duanag@caf.ac.cn), 研究员

育种中成效显著的选择育种策略, 如何维持高选择强度下的高世代育种群体遗传多样性等问题, 倍受关注^[2]。构建遗传品质不断提高且遗传基础不断拓展的育种群体, 是高世代育种的根本^[3]。随着育种向更高轮次发展, 种质材料不断积累, 种质资源保存与管理等问题日益凸显^[4]。为了解决庞大的种质资源与有效保存管理之间的矛盾, 提高种质利用率, 核心种质的概念及其构建方法得以提出和发展^[3-4], 并逐步成为植物种质资源研究的主要内容^[5]。近 40a 来, 已构建了 100 多种作物核心种质, 为作物种质创新与遗传改良奠定了坚实的基础^[6], 但林木核心种质构建工作相对滞后^[7-8]。

杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 具有生长快、产量高、材质优、用途广等优点, 是南方各省主要造林树种之一, 在我国储备林建设的战略中具有重要地位^[9]。目前, 大部分杉木分布的省(区)已开展了种源试验、优树选择与收集、生产(育种)群体与子代测定林(群体)建设等遗传改良工作^[10], 但是, 杉木育种群体遗传多样性及核心种质构建的系统研究的报道不多^[11-15]。有关杉木核心种质的构建, 主要是基于地理起源^[11,12]。随着杉木遗传改良世代的提升, 各省(区)之间的杉木种质材料交流频繁, 育种群中可能存在着较为复杂的亲缘关系^[13], 因此, 杉木种子园核心种质应考虑种质之间的亲缘关系。基于 A-NE (全称) 和 E-NE (全称) 标准, 已证明 CC-I (全称) 和 CC-X (全称) 集合比任意挑选集合成员更具代表性^[14], 利用 A-NE 和 CV 的方法去构建核心种质获得良好的效果^[15]。

本项目组是开展杉木遗传改良工作较早单位之一, 自 20 世纪 70 年代以来, 较为系统地开展了杉木遗传改良工作, 已于 2012 年进入了第 3 代杉木遗传改良^[16-18]。随着湖南省杉木种质数量增多, 增加了种质资源管理成本及优良种质筛选的难度。本研究以杉木 3 个世代育种群体为研究对象, 分析杉木不同世代育种群体遗传多样性及其变化动态, 构建核心种质, 旨在提高杉木种质资源利用效率, 为湖南杉木可持续遗传改良提供理论依据和材料支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

杉木第 1 代、第 2 代和第 3 代育种群体, 建立在湖南省会同县广坪国有林场。其中, 第 1 代育种群体 (HN₁) 收集、保存的无性系种质 68 份, 分别来自于会同、靖州、攸县、江华、桃源等地; 第 2 代育种群体 (HN₂) 39 份, 来源于第 1 代育种群体全同胞及其部分半同胞子代, 补充部分资兴优树及第 1 代育种群体中的无性系种质; 第 3 代育种群体 (HN₃) 30 份, 来源于第 2 代群体全同胞及部分半同胞子代。共计 137 份种质材料。

1.2 方法

1.2.1 样品采集与 DNA 提取

采集杉木当年生嫩芽, 硅胶干燥保存。基因组 DNA 提取, 采用改良 CTAB 法^[20]。

1.2.2 SSR 引物 PCR 扩增与基因分型

SSR 引物标记信息见表 1。

PCR 扩增体系为: 50 ng 基因组 DNA 模板, 0.6 μ L 10 μ M F 引物 (包括荧光引物), 0.6 μ L 10 μ M R 引物, 12.8 μ L 1.1 $\times$ Golden Star T6 Super PCR Mix。

PCR 反应程序为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s; 56~66 $^{\circ}$ C 退火 45 s (退火温度因引物而异, 见表 1), 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 4 $^{\circ}$ C 保温。

采用 Gene Marker V 4.0 软件(http://www.lifetechnologies.com/cn/zh/home/technical-resources/software_downloads.html), 判读 PCR 扩增结果, 统计电泳片段大小。1 条带, 视为纯合子; 2 条带, 视为杂合子。

1.3.3 遗传多样性分析

采用 GenAlex V6.5.1 (<http://biology-assets.anu.edu.au/GenALEX/Download.html>), 估算观察等位基因数 (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)、近交系数 (F_{IS}) 和香农多样性指数 (I), 并检测 Hardy-Weinberg 平衡。采用 GENEPOP4.7 (<https://genepop.curtin.edu.au/>), 估算无效等位基因频率 (p_N)

■ 表 1 SSR 引物信息及位点遗传参数
■ Table1 SSR primer information and genetic parameter estimation and polymorphic information index for SSR loci

位点 Locus	引物序列 Primer Sequences (5' - 3')	重复 单位 Repeat Motif	退火 温度 /°C Anneal ing temper ature	片 段 大 小 Rang e/ bp	N_A	N_E	H_O	H_E	F_I	A_R	PI C	P_N
C L ₁ 2	GTGCAGACTGCTGAAAAGTTG TCCCATAGGCTCTAAACAGAGA	(TC) 10	59	16 0- 18 8	8	3.5 80	0. 28 6	0. 72 1	0. 60 4	7.9 84	0. 67 9	0. 32 2
S M 19	CACTTTGAATACGGTGCCTTTG CACGCAACCAAAACATGTAAAA	(TG) 8	57	20 8- 24 4	7	2.5 28	0. 39 1	0. 60 4	0. 35 3	6.8 60	0. 53 9	0. 14 3
S M 37	TAGGGTGAAAGGAGGATTTTGACAT ACATAGAGTGA GTGCCAATGCTCAT	(TG) 13	66	31 4- 39 2	23	11. 99 3	0. 75 9	0. 91 7	0. 17 2	22. 70 6	0. 91 1	0. 09 1
S M 51	TCCTCTATCTTGTCAGTTTGGGTT TATTGGTGTGCTCGTCATTCC	(AG) 12	66	26 8- 30 4	6	1.3 78	0. 26 3	0. 27 4	0. 04 1	5.9 32	0. 26 0	0. 01 9
X S M 8	TCAGGGCATTTGAAACGAATAG TCAAGTGGGAGATTGTTGGGTA	(CA) 28	58	40 9- 47 7	17	7.0 14	0. 48 5	0. 85 7	0. 43 5	16. 81 5	0. 84 4	0. 20 4

● S	●	TCGTGAGTTTCTTGGTCATTTTCG	● (AG	● 61	● 38	● 5-	● 6	● 2.0	● 0.	● 0.	● -	● 0.	● 5.9	● 0.	● 0.
M		CATAAGGGTTTTCCCCACGTATA	) ₈		39			35	55	50	09	04	46	00	
13					9				9	9	9		5	0	
● S	●	CTCATCATTTCTGAACCCATCC	● (GT	● 58	● 21	● 3-	● 15	● 9.4	● 0.	● 0.	● 0.	● 14.	● 0.	● 0.	
M		AACCTGACCAATCCTTGCTCT	) ₉		28			20	85	89	04	95	88	03	
2					1				4	4	5	2	4	0	
● w	●	ATTATCCGAGGCAGATACGCAC	● (GG	● 56	● 34	● 0-	● 7	● 1.7	● 0.	● 0.	● 0.	● 6.8	● 0.	● 0.	
x ₁		CTTCTCCGTATTGATCCATCGC	A) ₁₀		36			46	37	42	12	02	39	03	
					1				2	7	8		5	9	
● w	●	GAGCCGTGAAGAACGAAGGTCTC	● (GA	● 56	● 26	● 1-	● 9	● 3.8	● 0.	● 0.	● 0.	● 8.8	● 0.	● 0.	
x ₂		ACGATCGGATTGTCTCAGAAACG	A) ₁₂		28			44	71	74	03	09	70	02	
					5				3	0	6		1	3	
● w	●	GATCCTCTGGTACTTGGTGCCC	● (AT	● 56	● 18	● 4-	● 6	● 1.7	● 0.	● 0.	● -	● 5.9	● 0.	● 0.	
x ₂ -		TGCAAAGTCATGTCATCTCTGGC	) ₉		19			19	44	41	06	83	39	06	
3					6				5	8	5		3	3	
● w	●	CTGGCATGTAAAGACCATGTTAGG	● (TA	● 56	● 28	● 1-	● 6	● 3.4	● 0.	● 0.	● 0.	● 5.9	● 0.	● 0.	
x ₂ -		GGCTGAGCCTTTAGTGATCTTCCC	) ₉		29			76	27	71	60	32	65	25	
7					5				8	2	9		9	3	
● w	●	TGATCTTGGCATGTCAGTCTGG	● (AT	● 56	● 12	● 9-	● 6	● 2.2	● 0.	● 0.	● -	● 5.9	● 0.	● 0.	
x ₂ -		TGTCTGTCTGCCTGCAGTTATGC	) ₉		13			78	57	56	01	18	51	00	
11					7				0	1	7		0	0	

●	w	●	TCCAGGAGTCTGTGAATCCGAAG	●	(CT	●	56	●	20	●	0.	●	0.	●	-	●	0.	●	0.
x ₈			CAGTACCAATTCAACCCAGCAGC	G) ₉				3-	●	8	●	1.9	53	48	0.	●	7.9	45	06
								23			23	7	0	11	92	8	8		
								3						8					
●	w	●	GGAGCCCTTAGAGTTACGGAG	●	(AT	●	56	●	21	●	0.	●	0.	●	-	●	0.	●	0.
x ₆			TGGGCTCCATTCAATTTGTACTGC	A) ₉				1-	●	5	●	2.3	65	57	0.	●	4.9	48	00
								22			48	0	4	13	05	7	0		
								3						2					
●	w	●	TTTGGGACCTTATGGAGGTGGAG	●	(GG	●	56	●	12	●	0.	●	0.	●	-	●	0.	●	0.
x ₇			AAACCACCAGGTTGAGAAGCAGC	A) ₉				2-	●	6	●	1.8	51	47	0.	●	5.9	43	01
								14			90	1	1	08	19	7	6		
								6						5					
●	w	●	TGAAATTGCGTTGTACCGAAGG	●	(GA	●	56	●	27	●	0.	●	0.	●	-	●	14.	●	0.
x ₂			TAACGAGACGAGCGACAATCTCC	) ₁₃				3-	●	15	●	7.7	89	87	0.	●	91	85	01
-2								30			32	7	1	03	0	7	1		
								7						0					
●	w	●	TGAATGGACTGCCACAAATTC	●	(AG	●	56	●	28	●	0.	●	0.	●	0.	●	10.	●	0.
x ₂			TTCTTTGCAGGAAAGCCAACAAG	) ₁₁				7-	●	11	●	3.6	66	72	07	88	68	04	
6								31			48	9	6	8	9	7	4		
								1											
●	w	●	GGCTCGAGTTTGCATCTCACAC	●	(TC)	●	56	●	23	●	0.	●	0.	●	0.	●	9.0	●	0.
x ₂			CACATCCAATCCATACAGGAGGG	9				0-	●	9	●	3.2	62	69	10	00	63	06	
4								23			44	1	2	2		8	7		
								8											
●	w	●	AATGCGACTTGCAAATTTCTGG	●	(AG	●	56	●	24	●	0.	●	0.	●	0.	●	7.0	●	0.
x ₄			CGAATTCCTCAATCACTTGGCTG	A) ₉				1-	●	7	●	1.8	42	46	08	00	43	01	
								26			69	7	5	1		9	6		
								2											

●	w	●	AGCGATTAGAATCCGAGCAGAG	●	(AT	●	56	●	33	1-	●	5	●	2.8	●	0.	●	0.	●	0.	●	4.9	●	0.	●	0.
●	x ₃	●	GCTCGAGATCTGCGTAGGAAGTG	●	C) ₉	●	56	●	35	5	●	5	●	03	●	53	●	64	●	16	●	12	●	58	●	06
									5							7		3		6				3	5	
●	w	●	CTTAAGATAGCAGCGGAATGG	●	(CT)	●	56	●	24	0-	●	9	●	2.9	●	0.	●	0.	●	0.	●	8.8	●	0.	●	0.
●	x ₂	●	CTTGCTCGATTCTTGCACTGG	●	11	●	56	●	26	0	●	9	●	44	●	53	●	66	●	19	●	30	●	62	●	10
	8								0							3		0		2				0	8	
●	整体			●		●		●			●	9.	●	3.7	●	0.	●	0.	●	0.	●	8.9	●	0.	●	0.
	To											09		73		55		63		11		98		59	07	
	tal											5				7		8		3				3	5	

■ 注： N_A 、 N_E 、 H_O 、 H_E 、 F_{IS} 、 A_R 、 PIC 和 P_N 分别表示估算观察等位基因数、有效等位基因数、观测杂合度、期望杂合度固定指数、等位基因丰富度、多态信息含量和无效等位基因。

●

采用 FSTAT 2.9.3 (<http://www.bio-soft.net/tree/FSTAT.htm>), 估计稀疏指数校正后的等位基因丰富度(A_R)和成对群体间遗传分化系数(F_{ST})。

采用 PowerMarker V3.25(<http://statgen.ncsu.edu/powermarker/index.html>), 估算多态性信息含量(PIC)

采用 STRUCTURE 2.3 (<http://pritch.bsd.ushicago.edu/structure.html>), 设定混合模型, 类群数(K)为 1~5, 重复 10 次; 迭代次数(Burn-in lengths)和马尔可夫链(MCMC)分别设置为 100,000 和 1000,000。运行结果上传至 STRUCTURE HARVESTER (<http://taylor0.biology.ucla.edu/structureHarvester/>), 获得独立运行单个 K 值的后验概率 $\text{Ln}P(D)$ 散点图及 ΔK 与 K 值关系折线图, 折线图中的 ΔK 最大值对应的 K 值为最佳类群数。确定 K 值之后, 基于 STRUCTURE 分析的个体归属各类群的比率(Q), 绘制可视化群体遗传结构图。

采用 GenAlEx 6.5. 01(<https://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Welcome.html>), 进行分子方差分析(Analysis of molecular variance, AMOVA)。

1.3.3 遗传距离估算与进化树构建

利用分子标记数据, 采用 MEGA 软件分析种质间遗传距离, 构建邻接(Neighbor-joining, NJ)树, boot-strap 值设置为 1000。

1.3.4 核心种质集的构建与评价

采用 Core-hunter 3 软件中的 A-NE (Average distance between each accession and the nearest entry) 和 CV (Class coverage) 的方法 (A-NE, 50%; CV, 50%), 构建核心种质并进行评价^[30]。A-NE 表示 $\times \times \times$, CV 表示核心种质集中的等位基因与原始种质集相比所占的百分比^[32]。

使用 Coancestry 软件^[33]中的 TrioML 估计器^[34]估算无性系种质间亲源系数(T)。没有亲缘关系的种质, $T=0$; 半同胞种质, $T=0.25$; 全同胞种质, $T=0.5$ ^[33]。

评价核心种质的同源系数(P)表示群体内一级亲属的比例(P = 群体内具有一级亲缘关系的个体/群体总数), 一级亲缘关系(克隆、亲本-子代、全同胞子代)的界限采用 Wu 等^[13]的标准。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性

21 对 SSR 引物对 3 个杉木不同世代育种群体中的 137 份样品进行 PCR 扩增, 共检测到 191 个等位基因。每条 SSR 引物位点上的等位基因数目(N_A)为 5 (w_{x3})~23 (SM_{37}) 不等, 差异较大, 平均值为 9.095; 有效等位基因数目(N_E)和等位基因丰富度(A_R)的变动幅度分别为 1.378~11.993 和 4.905~22.706, 平均值分别为 3.773 和 8.998; 观察杂合度(H_O)和期望杂合度(H_E)分别为 0.263~0.897 和 0.274~0.917, 平均值分别为 0.557 和 0.638(表 1)。这表明, 杉木各世代育种群体遗传多样性丰富。多态信息含量(PIC) 为 0.260 至 0.911, 平均值 0.593。其中, $0.25 < \text{PIC} < 0.5$ 的位点有 7 个, 为中度多态位点; $\text{PIC} > 0.5$ 的位点有 14 个, 为高度多态位点。这表明, 各条 SSR 引物位点多态性较高, 都能较好地检测群体遗传多样性水平。近交系数(F_{IS})介于 -0.132~0.609 之间, 除了引物 SM_{51} 、 w_{x2} 、 w_{x2-2} 、 w_{x2-11} 位点外, 大多数位点偏离 Hardy Weinberg 平衡具有显著性($P < 0.05$)或极显著性($P < 0.01$)。无效等位基因频率(P_N)位于 0.000~0.322, 平均值为 0.075, 其中, 引物 CL_{12} 、 XSM_8 和 w_{x2-7} 位点无效等位基因频率大于 0.2, 可视为无效等位基因位点, 在后续研究中, 剔除。

杉木 3 个不同世代的育种群体遗传多样性比较分析的结果表明(表 2), 1 代(HN_1)、2 代(HN_2)和 3 代(HN_3)育种群体中, 检测到的等位基因总数分别为 154、156 和 142。其中, (N_E 分别为 3.452、3.834 和 3.545, 平均值为 3.789, H_O 分别为 0.528、0.575 和 0.525, 平均值为 0.541; H_E 分别为 0.601、0.639 和 0.634, 平均值为 0.630; I 分别为 1.284、1.334 和 1.382, 平均值为 1.384。这表明, 杉木 3 个不同世代育种群体遗传多样性较为丰富。不同世代育种群体的近交系数(F_{IS})大于 0, 表现为杂合体缺失, 呈现出极度不平衡状态。其中, 2 代育种群体表现为更为明显。

表 2 不同世代育种群体遗传多样性参数比较

Table 2 Genetic diversity parameters of different generations of 3 breeding populations						
育种群体 Breeding populations	N_A	N_E	I	H_O	H_E	F_{IS}
第 1 代 HN ₁	7.333	3.452	1.284	0.528	0.601	0.104
第 2 代 HN ₂	7.429	3.834	1.382	0.575	0.639	0.084
第 3 代 HN ₃	6.762	3.545	1.334	0.525	0.634	0.151
平均值	9.143	3.789	1.384	0.541	0.630	0.119

2.2 群体遗传分化

采用 FSTAT 软件估算的群体间成对遗传分化系数 (F_{ST}) 介于 0.01~0.014 之间, 表明不同世代杉木育种群体间存在较大的基因流。分子方差分析 (AMOVA) 的结果表明, 98% 的变异来自种群内部, 仅有 2% 的变异来自种群间 (表 3)。

表 3 育种群体分子方差分析

Table 3 AMOVA analysis of 3 breeding populations					
变异来源 Source of variation	自由度	均方 MS	方差	变异比例/% Percentage of variation	
群体间 Among populations	2	17.37	0.11	2	
个体间 Among individual	134	7.9 3	1.19	17	
个体内 Within individual	137	5.54	5.54	81	
总计 Total	273		6.85	100	

基于 Bayesian 聚类原理的 Structure 软件分析结果表明, 在 $K=2$ 时, 对应的 ΔK 值最大, 表明不同世代杉木育种群体中的 137 份种质最合理的聚类组数为 2。 $K=2$ 情况下, 基于每份种质归属于各类群的比值(Q), 绘制 STRUCTURE 分析结果的直方图(图 1)。由图 1 可知, 大多数种质的 Q 值介于 0.4~0.6 之间, 这暗示着这些杉木种质的谱系不清晰, 遗传背景较为复杂。

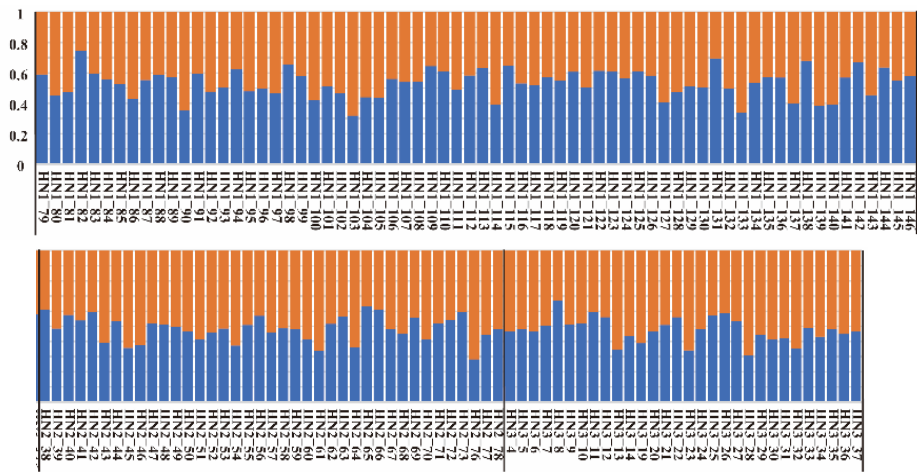


图 1 3 个育种群体 Structure 分析结果

Fig.1 Structure analysis results of 3 breeding populations

2.4 核心种质构建

为最大化保存等位基因且在核心种质中减少或消除一级亲缘关系, 使用 Core-hunter3 软件中的 A-NE 和 CV 的方法构建核心种质, 开发出 HN₁-43、HN₂-45、HN₃-21 等 55 份核心种质。

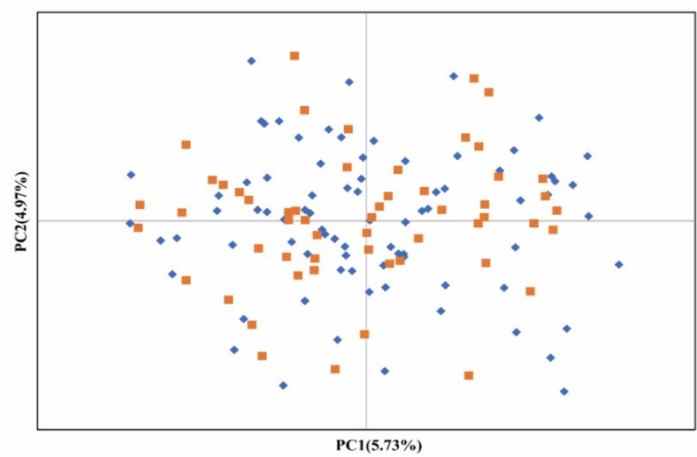


图 2 核心种质与整个保留种质的主坐标分析
Fig.2 Principal coordinates plots of core collection and reserved collection
注：黄色为核心种质，蓝色为保留保质

Note:
核心种质的平均有效等位基因数 (N_A)、平均 Shannon's 信息多样性指数 (I)、平均观测杂合度 (H_o)，平均期望杂合度 (H_E) 分别为 9.905、1.380、0.541、0.629。核心种质的遗传参数与整个育种群体资源没有明显差异 (Dunnett's test) (表 5，图 2)。

表 5 核心种质与整个保留种质的遗传参数比较
Table 7 Genetic parameters of core collection and reserved collection

育种群体 Breeding populations	P	N_A	N_E	I	H_o	H_E	uH_e	F	A_R	PIC
保留种质	0.54	9.0	3.7	1.4	0.5	0.6	0.6	0.1	8.9	0.5
	0	95	73	24	57	38	44	13	98	93
核心种质	0.04	9.0	3.7	1.3	0.5	0.6	0.6	0.1	8.9	0.6
	0	95	82	80	41	29	32	19	24	04

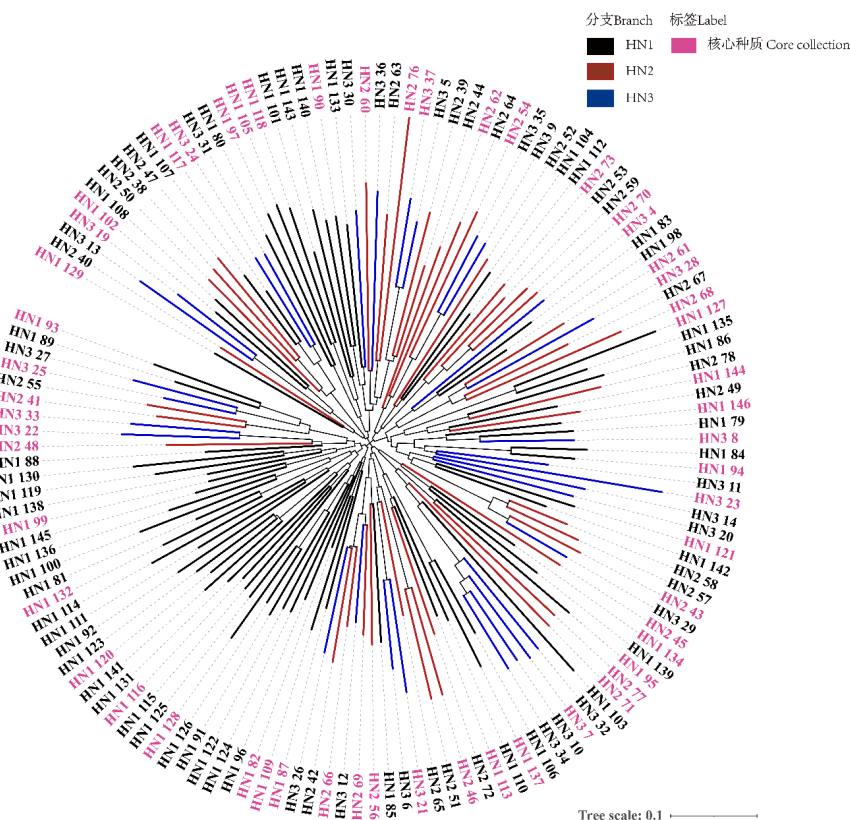


图3 基于遗传距离的 NJ 树

Fig.3 Neighbor-Joining(NJ) phylogeny based on genetic distance

从基于遗传距离的 NJ 树（图 3）来看，很多 HN₂，HN₃ 的亲本聚在一起，且 HN₂ 和 HN₃ 的亲本无性系关系密切，反映了世代间的联系。开发的核心种质也在育种群体的 NJ 树上有较均匀地分布。

3 讨论与结论

林木育种群体遗传多样性一直是研究者关注的焦点，对林木遗传改良的理论与实践具有非常重要的意义。李霞等^[4]的研究表明，随着杉木遗传改良程度推进，育种群体遗传多样性呈现逐步降低的趋势。本研究的结果显示，湖南省杉木三个世代育种群体遗传多样性较高（表 2），第二代育种群体遗传参数最高，这可能与建立第二代种子园育种群体时采用前向选择和后向选择并行的育种策略有关，建园材料既有子代优树，也有特别优异的亲本单株及扦插无性系^[35]，这说明在高世代育种过程中不断补给新的育种材料是维持遗传多样性的有效措施。研究结果与马尾松^[36,37]、油松^[38]、华北落叶松^[39]、日本落叶松^[40]等树种育种群体遗传多样性研究结果相类似。这说明，科学制定育种策略和设计育种群体结构，可有效维持高世代群体遗传多样性。

本研究中，三个杉木育种群体的 F_{ST} 值在 0.01~0.014 之间，且 AMOVA 分析结果显示，遗传多样性主要存在于群体内，群体间仅占 2%，这表明群体间遗传分化并不高。遗传结构分析也呈现相似结果，137 个育种材料可以看作来源于两个祖先类群，表明三个世代的育种群体间基因交流频繁，遗传上已经趋于一致，这与部分学者对杉木种子园群体^[3]和地理种源群体^[42]的研究结论相似。这可能是随着育种世代的增加，优良种质材料被广泛使用导致不同育种世代群体间基因交流。

植物种质资源是育种工作的重要物质基础，是决定育种效果的关键，种质收集确保了遗传资源的长期保护，为植物遗传改良和品种选育提供了丰富遗传基础^[43,44]。杉木是中国特有的经济和造林树种，在上个世纪 60 年代开始，杉木开展了全分布区的种源试验，收集和保存了大量优良种源资源^[11,45,46]。在此基础上，在杉木多世代遗传改良的研究中，选育了一大批遗传品质优良种子园材料，积累了丰富的种质资源^[4]。

由于杉木良种在各省区引种栽培以及世代间杂交制种，因此在种子园种质中包含重复和冗余的材料，这不仅可能阻碍种质资源的有效保护，也可能妨碍种质资源评估和使用的有效性。构建核心种质库选择的数据将直接影响核心种质库的有效性^[47]，分子标记被认为可以在 DNA 序列水平上捕获种质的遗传多样性^[48]。本研究利用 SSR 分子标记，基于等位基因覆盖度和距离的标准，在湖南省杉木育种群体材料的基础上构建了包含 55 个个体的核心种质库，筛选比例为 40%，核心种质的遗传参数与整个湖南育种群体资源没有明显差异。所构建核心种质库为杉木育种提供了优质遗传材料，增加了获取更多优异变异的机会。

湖南杉木育种群体遗传多样性丰富，不同世代间的育种群体遗传分化较小。筛出的 55 个核心种质能完整地反映，杉木核心种质为合理保存和利用湖南杉木种质资源、种子园提质改造提供了科学依据。