

· 植物生殖生态学专栏 ·

植物种群交配系统、亲本分析以及基因流动研究

何田华 葛 颂

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室, 北京 100093)

摘 要 在过去的二十年中, 有关植物种群交配与散布过程的研究与日俱增, 重点集中在利用母本子代系列 (Maternal progeny arrays) 来估计种群间自交与异交的相对比例, 种群的花粉散布与雄性育性变异的模式。早期的研究主要依靠排除法来确定亲本, 但几乎同时也意识到基因流动事件几乎是检测不到的。在大多数估计中, 难以做到为大多数非迁移子代确定唯一的亲本。因此, 基因流动与雄性育性的最大似然性方法得以引入该领域的研究。本文介绍了用单位点和多位点模型来估计家系与种群自交与异交的相对频率, 着重阐述了目前可用于亲本分析与基因流的估计方法。最后介绍了我们对木根麦冬交配系统与亲本分析的研究以及亲本分析将来的研究方向。

关键词 亲本分析 交配系统 基因流动 排除分析 最大似然性分析

MATING SYSTEM, PATERNITY ANALYSIS AND GENE FLOW IN PLANT POPULATIONS

HE Tian-Hua and GE Song

(Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093)

Abstract In the past two decades, the field of study of mating system and dispersal processes in plants has greatly expanded. Attention has particularly focused on the use of maternal progeny arrays to estimate short-term rates of outcrossing and selfing frequencies, and to examine patterns of pollen dispersal and male fertility variation within populations. Earlier studies relied on exclusion methods but realized that many gene flow events were not being detected by these techniques and that unique parentage could not be determined for a large proportion of the non-immigrant offspring in most natural populations. Consequently, methods for maximum-likelihood estimation of gene flow and male fertility have been introduced. Estimations of relative frequencies of outcrossing and selfing in populations and families based on single-locus and multi-locus models are discussed in this paper. Attention is given to the method of parentage analysis and the estimation of the level of gene flow. As an example, we present our studies of mating system and paternity analysis on *Ophiopogon xylorrhizus*, an endangered plant in China.

Key words Paternity analysis, Mating system, Gene flow, Exclusion analysis, Maximum-likelihood method

进化与生态学研究中的许多最基本的问题都涉及到我们对自然种群中交配过程的理解。影响有性繁殖生物种群中交配与繁殖成功的行为、生态与遗传现象最终决定等位基因与基因型的相对频率及其在世代间的变化。植物的交配系统不仅决定了种群未来世代的基因型频率, 而且还影响到植物种群的有效大小 (Effective size)、基因流和选择等其它进化因素 (葛颂, 1998)。从几方面来说, 植物交配过程

的研究相对复杂, 因而也特别值得研究。首先, 植物表现出多种多样的繁育系统, 如雌雄同花, 雌雄异株, 雄雌异花同株, 雌花两性花同株及雄花两性花同株; 其次, 植物交配系统包括完全的随机交配, 完全自交, 选型交配, 或这几种方式的结合; 再者, 植物不能通过移动来挑选合适的交配对象或生境, 而只能依靠与风、水或动物的复杂相互作用来影响花粉与子代的散布 (Schnabel, 1998)。

收稿日期: 2000-08-05 接受日期: 2000-12-25

基金项目: 中国博士后科学基金

感谢北京师范大学张大勇教授与华东师范大学陈小勇教授对本文早期草稿给予的有益的讨论与积极的建议。

E-mail: thhe @ public2. east. net. cn

对植物交配系统的研究可以分为两个层次。第一个层次是研究自交与异交所产生子代的相对比例,即种群自交率与异交率。自交与异交的相对比例是影响植物种群遗传结构的一个重要因素,它控制着基因通过配子体在两个世代间的传递与延续。植物基因流是通过花粉基因流与种子散布来实现的,故对种群繁育结构研究的第二个层次是研究基因流的过程与式样。目前,最主要的方法是通过分析每一个后代的亲本来实现,即通过亲本分析来估计基因流。如果知道一组子代的亲本,我们就可以分析种群遗传结构与繁育生物学方面的大量问题。例如,雄性还是雌性的育性变异大?雄性与雌性育性在代与代之间及不同繁殖季节间怎样变化?什么因素影响雄性、雌性以及总的繁殖成功率?此外,花粉与种子散布的尺度和模式,各种传粉者在种群内与种群间影响种子产生或花粉散布的能力,不同种子散布者影响种子在种群间散布的能力等等都是很值得研究的。这些问题与许多因素有关,包括植物体大小和年龄,相对安全的萌发点的空间位置,繁育方式,花序大小,花的大小和形状或花蜜生产率等。

另一方面,育性变异和基因流动的模式与保护生物学密切相关。在保护生物学中,生境破坏使种群人为隔离,从而影响到育性和基因流动的式样。在生境片段化情况下,通过改变传粉者和种子散布者之间的相互关系,减少安全的萌发位点,杂草或病原体的侵入,可能会大大改变基因流的模式与繁殖成功率;正确理解这些问题对保护行动非常重要(Bierregaard *et al.*, 1992; Levin, 1995; Nason & Hamrick, 1997; Aldrich & Hamrick, 1998)。

植物交配系统与基因流动式样研究是植物种群生态遗传学研究的核心。本文首先介绍了如何用单位点和多位点混合交配系统模型来估计家系与种群的自交率和异交率;然后详细阐述了目前可用于亲本分析与基因流动研究的理论模型、研究方法与研究应注意的一些问题;最后介绍我们对木根麦冬交配系统与亲本分析的研究结果。

1 交配系统分析

理解植物种群繁育结构的第一步是研究自交与异交所产生子代的相对比例。通过研究花部形态,控制授粉,观察传粉者等可以对交配系统作一定性的估计,通过这些方法可以说明一个种中是否出现自交,但并不能在自交出现时,对此作一数量估计。

因为花粉粒太小,而且存活时间比较短,因此不

可能观察到单个的交配事件,或直接决定单个雄性配子的基因型。因此植物交配系统的研究必须从母本个体和它们的子代的遗传数据来推测交配事件;就象许多作者所指出的一样(Clegg, 1980),研究植物繁育结构的一个最大优势在于易于以家系为单位取样。在许多植物中,种子可以直接从母株上取得,因为等位酶表现出共显性遗传,在许多植物中的变异也比较充足,因此它们特别适用于为自然与实验种群自交率估计提供必要的遗传数据,而且即使在存在各种更为灵敏的分子标记的今天,等位酶仍是此类研究最为适用的遗传标记(Karron *et al.*, 1995; Cruzan, 1998; 陈小勇等, 1997)。然而这些较新的分子标记如微卫星, RAPD 和 AFLP 等也得到了广泛的应用(Dow & Ashley, 1993; Parker *et al.*, 1998)。

1.1 单位点交配模型

因为植物的交配方式和实际过程很难进行直接观测,只有建立统计模型,通过交配系统的特征参数(如自交率与异交率),间接反映真实的交配过程。因此为了估计交配系统指标,首先必须为交配过程设定一个统计模型。在过去二十年中,植物中最常用的模型是混合交配系统模型(Clegg, 1980, Brown *et al.*, 1989)。混合交配系统模型假设:1)每一个合子来自于自交授粉或随机异交;2)所有母株接触的花粉库基因频率是相同的;3)异交可能性与雄性基因型无关;4)所有的遗传标记从授粉到进行遗传测试的时间段内不受到选择作用。在这些假设条件下,取样后代的基因频率就可以明确下来(表1),模型中的交配指标为 t (异交率), p (花粉等位基因频率),根据几个子代系列的数据用最大似然性方法估计这两个指标。

表1 混和交配系统模型下子代基因型的期望分布,假设一个位点只有两个等位基因(Clegg, 1980)

Table 1 Expected distribution of progeny genotypes under the mixed mating model, assuming only two alleles at a locus (Clegg, 1980)

母本基因型 Maternal genotype	子代基因型 Offspring genotype		
	A_1A_1	A_1A_2	A_2A_2
A_1A_1	$s+tp$	tq	0
A_1A_2	$s/4+tp/2$	1/2	$s/4+tq/2$
A_2A_2	0	tp	$s+ tq$

在此表中, p, q 分别代表两个等位基因 A_1 和 A_2 的频率,且 $p=1-q$, s 和 t 分别是自交率和异交率($s=1-t$) p 和 q are frequencies of the two alleles, A_1 and A_2 , where $p=1-q$; s and t are the relative rates of selfing and outcrossing ($s=1-t$)

1.2 多位点交配模型

最常用的多位点估计异交率的模型是 Shaw 等 (1981) 及 Ritland 和 Jain (1981) 所提出的。特别是 Ritland (1983; 1984; 1986) 发表了一系列优秀的论文, 分析了植物交配系统估计的方方面面。而且还编制了一个计算机程序软件供免费使用 (Ritland, 1990)。在多位点模型中, 交配事件分为两个层次: 确定性交配和非确定性交配。例如, 表 2 中子代等位基因与母本等位基因的比较表示子代 1 和 3 来自一次异交事件, 而子代 2 的来源并不明确, 因为它既可能来源于异交, 也可能来源于自交。异交率的多位点估计考虑到了确定性的异交。也考虑到了检测不到, 但确定已出现的异交。偏离混和交配系统模型一些假设对异交率的多位点估计的影响不及对单位点估计那样严重 (Ritland & Jain, 1981)。

表 2 从多位点数据估计异交事件的一组假设数据 (Shaw *et al.*, 1981)

Table 2 Hypothetical data set for estimating outcrossing events from multilocus (Shaw *et al.*, 1981)

	位 点 Loci				
	A	B	C	D	E
母本基因型 Maternal genotype	11	22	12	13	23
子代序号 Progeny	子代基因型 Offspring genotype				
1	11	22	12	13	13*
2	11	22	22	11	33
3	11	12*	12	23*	13*

星号标记的位点表明该子代来源于一次异交事件 Asterisks signify loci that discriminate each progeny as an outcrossing

1.3 交配系统研究中应注意的问题

交配系统研究的规模较大, 需要取样多个母本家系和数百个子代 (Rieseberg *et al.*, 1998; He *et al.*, 1998a; 1998b), 如果研究规模受到时间和经费的限制, 综合考虑最适当的取样规模与测试标记位点的数目就非常重要。增加位点数目, 选择等位基因多的位点或等位基因频率更平均化的位点能增加估计的准确性 (Shaw *et al.*, 1981; Shaw & Brown, 1982)。然而 Shaw 和 Brown (1982)、Ritland 和 Jain (1981) 都认为, 在大多数情况下, 只需要 3~6 个共显性位点就足以得到精确的多位点估计。而且 Shaw 和 Brown (1982) 的研究还表明, 当自交水平高时, 最大可能地增加子代数据而少选择标记位点, 而当自交水平低时, 多选择遗传标记位点更为有效。

2 亲本分析与基因流估计的理论模型与研究方法

虽然根据家系数据应用多位点与单位点交配系统模型对植物种群的繁殖结构能提供有价值的信息 (Pellmyr *et al.*, 1997), 然而许多更有意思的问题需要对交配结构与散布模式进行更深入的研究。从本质上来说, 传统的交配系统模型利用遗传数据将一组后代分为两个类型, 即自交产生的后代与异交产生的后代; 然而在大多数研究中需要将这些进行更进一步的细分。例如在一个研究中能将异交产生的后代分为由本地雄性个体提供花粉产生的种子和由研究区域之外的雄性提供花粉产生的后代, 则研究者就可以对进入种群的花粉基因流作一比较精确的估计。同样, 对一组已散布了的后代来说, 比如一组已知年龄的幼树, 估计如下信息相当有价值: 由本地交配产生的种子长成的幼苗, 或外地花粉迁移交配种子本地散布而成的幼苗, 或由外地迁入的种子萌发成的幼苗。最终检测出所有的基因流动事件, 种群中每一个可能的亲本都可以找到一组非迁移的子代。用这种方法, 对一组子代的分析不仅将提供自交与异交估计, 还同时能对繁殖结构的几个其它方面提供直接的估计, 比如: 繁殖成功率, 种群中花粉散布式样, 花粉或种子迁移的水平等, 从而深入理解种群的生态与进化历史 (陈小勇, 1999)。

2.1 排除分析

排除分析就是利用多位点遗传数据为单个后代区分开遗传上兼容的亲本与不兼容的亲本。对于植物来说, 排除分析应用最广泛之处就是估计种群间花粉基因流动式样 (Ellstrand & Marshall, 1985; Ellstrand *et al.*, 1989; Devlin & Ellstrand, 1990a; Kohn & Casper, 1992; Godt & Hamrick, 1993; Arias & Rieseberg, 1994; Broyles *et al.*, 1994; Schnabel & Hamrick, 1995; Nason *et al.*, 1996; 1998; Chase *et al.*, 1996b; Stacy *et al.*, 1996; Dow & Ashley, 1996; 1998; Goodell *et al.*, 1997)。

父本排除分析的第一步是每一个子代确定父本配子的多位点单倍体基因型 (表 3), 然后一个位点一个位点比较单位点花粉基因型与种群内的所有二倍体父本基因型, 就能够排除不兼容的雄性 (即那些不能在特定位点产生配子体等位基因的雄性)。例如在表 3 中, 后代 1 的唯一可能父本是父本 1, 因为父本 2 在位点 A、B、D、E 不兼容, 在 E 位点, 母本植株

和父本 3 都不可能是其父亲。相反,母本植株与父本 1 都可能是后代 2 的父亲,这可能代表一次自交事件。在一次排除分析中,无法确定两个或多个可能的父亲中究竟哪一个是真正的父亲。最后,后代 3 在该种群中没有可能的父亲,很有可能是由该种群之外的植株提供花粉基因得到的种子。一般来说,可以从研究中找不到一颗种子的花粉供体推导出基因流的事件。在数量较大的后代样本中,找不到父亲的种子百分数代表成功迁入一个种群的最小花粉迁移率。

表 3 一个包括 1 个母本与 3 个可能父本个体的种群在 5 个共显性位点的假设基因型

Table 3 Hypothetical genotypes for five codominant loci in a population consisting of one maternal family and three possible paternal individuals

	位 点 Loci				
	A	B	C	D	E
母本植株 Maternal plant	11	22	12	13	23
后代 1 Progeny 1	11	22	12	13	13
父本配子体 Paternal gamete	1	2	1 或 2	1 或 3	1
后代 2 Progeny 2	11	22	22	11	33
父本配子体 Paternal gamete	1	2	2	1	3
后代 3 Progeny 3	11	12	12	23	13
父本配子体 Paternal gamete	1	1	1 或 2	2	1
可能父本 1 Possible father 1	12	22	22	13	23
可能父本 2 Possible father 2	22	11	12	22	23
可能父本 3 Possible father 3	11	12	11	13	33

当一个果实中所有种子都由同一个雄性提供花粉(即所有种子都是同胞)时,父本排除分析的力度最大。在这种情况下,可以完全重建雄性亲本的二倍体基因型,排除概率最高,可以清晰地检测出所有的基因流动事件(Broyles *et al.*, 1994; Chase *et al.*, 1996b; Nason *et al.*, 1996; 1998)。全同胞父本分析只能应用于少量分类群中,在这些分类群中有特殊的传粉综合特征。其中最为人知的例子是:1)一些分类群的花粉块状散布,而且大到足以使一个子房中所有的胚珠授精,这些植物如马利筋属(*Asclepias*)植物与兰科植物的花粉块(Broyles & Wyatt, 1990; 1991; Broyles *et al.*, 1994)或许多豆科含羞草属(*Acacia*)植物的多合花粉(Muona *et al.*, 1991;

Chase *et al.*, 1996b); 2) 热带无花果(*Ficus cariva*), 与胡蜂传粉者形成紧密的协同进化关系,一个雌性胡蜂携带一个个体的花粉,并只传粉一个隐头花序的所有雄花(Nason *et al.*, 1996; 1998)。

目前,排除分析是直接得到种群中短期的花粉基因流最有力的方法之一。然而 Schnabel 和 Hamrick (1995)、Dow 和 Ashley (1996) 指出外源配子体的成功授粉概率与本地花粉基因的成功建立在概率上并不相等。例如,如果本地花粉产生的后代在选择上优于外源花粉产生的后代,则真实的基因流动事件于根据父本排除分析估计到的并不一致。特别是高度局部化的种子散布模式将导致相邻的成株为全同胞或半同胞,使得较远雄性提供花粉产生的后代在选择上优于邻近雄性提供花粉产生的后代。

对于大多数多年生植物来说(特别是木本植物),可以用已散布的后代(种子,幼苗或幼树)来估计基因流动的式样。在这种情况下,两个亲本都预先不知道,一个子代可能亲本的排除要求两个二倍体个体间在一个或多个位点没有相同的等位基因。这种更一般的排除法比传统的父本排除力度要低,需要更多的遗传统计信息。用这种分析方法,在雌雄同株异花或两性花植物中只有逐一排除所有可能的亲本才能明确种子基因流动事件。对于雌雄异株的植物来说,可以分别排除所有潜在可能的母本或所有可能的父本来鉴定种子与花粉基因流动的事件。对于自亲不亲和的种来说,当除一个亲本之外,所有其它个体都得到排除时可以明确确定花粉基因流。另一方面,从亲本对排除分析得到的迁移事件包括两类基因流。Dow 和 Ashley (1996; 1997) 的研究表明通过亲本对排除分析揭示的迁移事件为花粉基因流。

除了在非常小的种群中的全同胞父本分析,通过排除分析检测出的迁移事件数目(显性基因流)可能要比实际的迁移事件数目(总基因流)估计低,因为一部分的迁入配子基因型与本地配子基因型相同。当根据已散布的后代来估计基因流时这个问题更加突出,因为这种情况下的排除概率较低。为了弥补这些缺陷,Devlin 和 Ellstrand (1990a) 发展出一个蒙特卡洛方法来对总的基因流得到一个最大可能性估计,从而可以检测到排除分析中没有检测到的隐性基因流。几个应用等位酶数据的研究表明总花粉基因流大约是显性基因流的两倍(Ellstrand *et al.*, 1989; Broyles *et al.*, 1994; Schnabel & Hamrick, 1995)。Broyles 等(1994)采用 Devlin 和 Ell-

strand (1990a) 的方法对马利筋 (*Asclepias exaltata*) 进行全同胞父本排除, 发现全同胞分析检测出了所有的基因流动事件, 而当他们用标准的父本分析方法 (即假设果实里的种子为半同胞) 分析时, Devlin 和 Ellstrand (1990a) 方法对总的基因流事件估计比全同胞法要低。

2.2 最大似然性分析

在有关植物的文献中, Meagher (1986)、Meagher 和 Thompson (1986; 1987) 最先开始用估计亲本的统计似然性模型来估计最可能亲本, 这个模型可以适合一个或两个亲本都不知道的情况。

根据 Meagher (1986) 的定义, 设 B 为后代 C 的已知的母本, D 为已可能的父亲, 这个个体的多位点基因型分别设为 gB, gC, gD, D 是 C 的真实雄性亲本的似然性可以根据下列公式计算: $L(MP = D) = T(gC | gB, gD) / T(gC | gB)$; 其中 $T(gC | gB, gD)$ 是根据母本和假设父亲的基因型得到后代基因型的孟德尔转移概率, $T(gC | gB)$ 是母本配子单位随机与可能父本配子交配得到后代基因型的概率。对每一个可能的父亲都计算似然性值, 似然性最高的为真实父亲, 而其余则不是。当两个亲本预先都不知道时, 也可能运用类似的方法来鉴定最可能的亲本对。这就是似然性比例, 当几个不连锁的位点同时用于父本分析时, 将每一个位点得出的似然性值相乘, 并取自然数值, 最后得到的联合似然性值称之为 LOD 值 (Meagher, 1986; Marshall *et al.*, 1998)。LOD 值为零或为负则说明测试雄性为随机的而非测试后代的真实父本, 正的 LOD 值表示测试雄性作为测试后代的真实父本的可能性要大于随机选择的雄性, LOD 正值越大, 这种可能性越大。LOD 值最大的雄性就是最可能的父本。

最大似然性方法在 3 个方面受到了一些质疑 (Devlin *et al.*, 1988; Brown *et al.*, 1989)。第一, 因为当排除亲本是纯合子时, 单个位点的转移概率比亲本是杂合子时高 (例如 $T(A_1A_1 | A_1A_1, A_1A_1) = 1.0$, 但 $T(A_1A_1 | A_1A_1, A_1A_2) = 0.5$), 因此, 当亲本在多个位点为纯合子时, 该方法将过高估计亲本的育性。第二, 似然性值最高的亲本武断地选择为真实亲本, 而没有考虑到其它可能亲本的相对似然性。第三, 该方法无法提供结果的可信度。后两个问题将导致舍弃许多有价值的信息。尽管受到了这些批评, 最大似然性方法在种群中育性变异的研究中还是能提供相当有用的信息 (Smouse & Meagher, 1994)。Devlin 等 (1988) 更进一步发展了根据与后代

基因型相似性进行父性拆分的方法 (Fractional paternity assignment), 但是也存在着不能确定后代具体双亲的问题, 而且在分析后代数较少时存在偏差 (陈小勇, 1999; 陈小勇等, 1999)。

2.3 亲本分析与基因流估计中应考虑的问题

亲本分析远不止简单的确定迁入后代的部分或自交与异交相对比率。应用非迁移的后代, 父本分析还可以估计雄性或雌性育性, 育性广义定义为每一个亲本的后代占总取样后代的百分数, 因为这些估计与繁殖成功率有关, 因此可以用来检验各种生态、形态或发育因素对适合度影响的假说。还可以利用育性估计来构建有效花粉与种子散布运动的模式 (Meagher & Thompson, 1987; Karron *et al.*, 1995; Schnabel *et al.*, 1998)。

在开始进行亲本分析研究时, 必须考虑到几个因素。第一, 就象交配系统分析一样, 亲本的精确推导取决于种群中可得到的遗传变异量。遗传变异量将极大地影响排除概率, 一般来说测试位点增加或每个位点等位基因数目的增加, 或一个位点等位基因频率的均一化都将增加排除概率 (Chakraborty *et al.*, 1988; Brown *et al.*, 1989)。从一组共显性遗传标记如等位酶或微卫星得到的排除概率要高于从显性标记如 RAPD 或 AFLP 得到的排除概率 (Snow & Lewis, 1993)。

大多数已发表的有关亲本分析的研究都是利用等位酶标记, 典型的是 10~20 个多态位点, 每个位点 2~3 个等位基因 (Ellstrand & Marshall, 1985; Meagher, 1986; Schnabel & Hamrick, 1995; 张冬梅等, 2001)。近来出现了一些能提供更高水平遗传变异性的分子标记, 在这类标记中, 微卫星与 AFLP 似乎在亲本分析中最有潜力。虽然微卫星分析非常耗时, 得到的位点也较少 (Dow *et al.*, 1995; Chase *et al.*, 1996a; Aldrich & Hamrick, 1998), 但目前已发表的为数较少的研究表明每一个位点的等位基因相当多, 因而排除概率也相当高 (Chase *et al.*, 1996b; Dow & Ashley, 1996; 1997)。相反, AFLP 实验操作较易, 而且多数情况下可区分的位点超过 100 个 (Vos *et al.*, 1995; Lin *et al.*, 1996)。但不幸的是, AFLP 标记与比之更不可重复的 RAPD 标记一样, 表现出显性遗传, 区分不出杂合子, 因此极大地降低了每一个位点的排除力度 (Snow & Lewis, 1993)。显性标记可能只适用于父本研究 (Lewis & Snow, 1992; Milligan & McMurray, 1993), 而等位酶与微卫星还可以应用到已散布后代的亲本分析

中。

第二,甚至对于有丰富的遗传变异和高的排除概率的物种来说,当潜在的亲本数量增加时,检测到基因流动事件和精确估计育性的能力所限制也越多。主要原因是当潜在亲本的数量增加时,两个或更多个亲本产生相同配子基因型的概率或者实际上拥有相同的二倍体基因型的概率也增加。因此,对于一个有几百个可能亲本的种群来说,即使有非常强的遗传数据,排除概率高达 99%,也很难为大多数子代确定唯一的亲本或检测到大多数的基因流事件。对大多数亲本分析来说,特别是对于排除研究来说,所研究的种群中的可能亲本最好不要超过 100 个 (Devlin *et al.*, 1992; Kohn & Casper, 1992),从而在遗传数据的强度与所关注的空间尺度的平衡间寻找研究位点。最后,对于任何基因流动研究来说,知悉基因流动的源种群与靶标种群之间的距离很重要,对于那些或多或少连续分布的物种来说,个体在空间的密度也是非常有用的信息。例如, Nason 等 (1998) 在对无花果的研究中,由于知道了距花粉源的距离和个体密度,利用全同胞父本排除就能确定有效繁育单位的大小;在一些新热带无花果种中,有效繁育单位大小从数十到数百平方公里不等。

3 木根麦冬交配系统与父本分析研究

木根麦冬 (*Ophiopogon xylorrhizus*) 是一种中国特有的濒危植物,一种主有性繁殖的多年生草本植物,主要分布在云南省东南部的西双版纳地区。从 1993 年起,我们对该种植物进行了长期的研究,包括繁育生物学 (何田华等, 1998a; 1998b; He *et al.*, 2000a), 种群生态学 (何田华等, 1999), 种群遗传结构 (He *et al.*, 2000b) 以及保护生物学 (何田华等, 1999b), 下面介绍我们对该种植物开展的有关交配系统与父本分析方面的研究。

我们利用了等位酶作为遗传标记。所研究的 3 个地点相对独立,每个地点内各包括 20 株左右的木根麦冬当年繁殖个体,这些个体与地点之外的个体之间距离至少为 200 m,有效地阻止了研究地点外的花粉基因迁入。在种子成熟期以家系为单位,收集每一植株上的种子,剥取种子胚作为电泳材料,通过测试得到了 8 个多态等位酶位点 (He *et al.*, 1998)。

以得到的 8 个多态位点作为遗传标记,根据混和交配系统模型估计种群与家系的多位点异交率与单位点异交率,并根据最大似然法确定家系的母本植株在相应酶位点的基因型,研究中运用了 Ritland 根据混合交配系统模型编写的 FORTRAN 程序 (MTL)。

结果表明木根麦冬不同种群的多位点异交率差异较大,0.091 到 0.467 不等 (表 4)。种群的多位点异交率与种群内的个体密度有显著的正相关性 ($r=0.9998, p<0.02, df=1$),而且与种群的平均结实率也有正相关性,但不显著 ($r=0.86, p<0.35, df=1$)。在所测试 40 个家系中,异交率从 0 变化到 1,并呈轻微的双峰分布。这种异交率在家系中的分布模式说明木根麦冬的交配系统是一种混合型的交配策略,并有相当多的完全自交与完全异交 (He *et al.*, 1998) (图 1)。

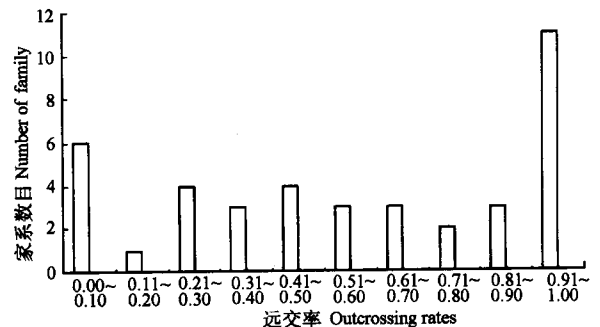


图 1 木根麦冬异交率在家系中的分布

Fig. 1 Distribution of outcrossing rates among families of *Ophiopogon xylorrhizus*

表 4 木根麦冬种群交配系统指标 (括号中为变异幅度)

Table 4 Mating system parameters in populations of *Ophiopogon xylorrhizus* (Variant ranges were shown in brackets)

	P3	P4	P6
多位点异交率 Multi-locus outcrossing rate	0.467±0.174(0.00—1.73)	0.323±0.055(0.00—2.00)	0.091±0.037(0.00—2.00)
单位点异交率 Single-locus outcrossing rate	0.285±0.131	0.210±0.041	0.058±0.034
双亲近交指数 Biparent inbreeding coefficient	0.181±0.065	0.113±0.026	0.033±0.017
固定指数 Fixed index	0.140±0.119	0.287±0.134	0.374±0.117

得到种群与家系异交率的有关信息后,结合种群生态与统计资料,我们可以对木根麦冬繁育结构与繁殖生态进行比较深入的分析。例如:交配结构与母本植株的遗传状况,交配结构与种群平均育性等有关方面的问题。

种群内家系的异交率变异幅度很大,从 $t=0$ (完全自交)到 $t=1$ (完全异交)。研究发现种群内家系异交率与母本植株的杂合程度有非常显著的正相关性,杂合度高的母本植株,家系异交率也相对较高(表5)研究还发现,家系的结籽数与母本植株的杂合度有显著的相关性,母本的基因杂合度的高低决定家系的种子数的多少(图2)。

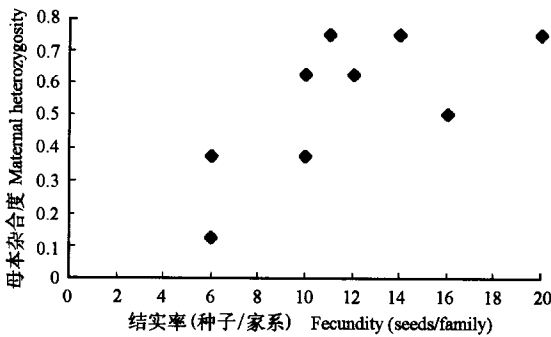


图2 P3种群中育性与母本杂合度的关系

Fig. 2 Relationship of family fecundity and maternal plant heterozygosity

$r=0.68 \quad p<0.10 \quad df=7$

交配系统,即异交与自交的相对比例的研究能够对植物繁殖结构作一表面的描述,而亲本分析则能详细地刻划出植物的繁殖结构的细节,为植物繁殖系统的结构与进化提供有价值的信息。利用同一组数据,我们进一步对3个木根麦冬种群进行了父本分析研究,基本方法是最大似然性法(Meagher, 1986; Marshall *et al.*, 1998),分析运用的是 Marshall (1998)开发的计算机程序 CERVUS, 该程序专门用于用最大似然性方法进行亲本分析。

表5 木根麦冬3个种群家系异交率、母本植株杂合度及其相互关系

Table 5 Family outcrossing, maternal plant heterozygosity and their relationship in three populations of *O. xylorrhizus*

P3		P4		P6	
母本杂合度	异交率	母本杂合度	异交率	母本杂合度	异交率
Maternal heterozygosity	Outcrossing rates	Maternal heterozygosity	Outcrossing rates	Maternal heterozygosity	Outcrossing rates
0.00(1)	0.26(-)	0.00(1)	0.33(-)	0.00(1)	0.00(-)
0.25(1)	0.00(-)	0.20(7)	0.50(0.27-0.68)	0.25(5)	0.61(0.00-2.00)
0.50(4)	0.83(0.58-1.07)	0.40(7)	0.80(0.29-0.69)	0.50(2)	0.44(0.29-0.58)
0.75(3)	1.05(0.73-1.07)	0.60(5)	1.01(0.67-2.00)	0.75(1)	1.04(-)
$r=0.84^*$		$r=0.98^{**}$		$r=0.70^*$	

异交率数据为有相同母本杂合度的家系异交率平均值,括号中分别为植株数目与变异幅度 Outcrossing rates were the mean value of those families with the same maternal plant heterozygosity. The number of families and variant ranges were shown in brackets

* $p < 0.30$ ** $p < 0.10 \quad df=2$

研究结果表明,在3个种群总共354颗种子中,有304颗有最高的似然性值,表明可以为这些种子确定唯一的雄性亲本。而在剩下的50颗种子,则有几个可能的雄性亲本,不能用该方法为这些种子确定唯一的雄性亲本。但这些结果已经使我们能够深入地分析异交与自交的相对繁殖适合度,从这个研究中,我们可以得出如下结果:1) 自交多的家系产生的后代多(图3);2) 木根麦冬用于自花授粉的花粉要多于提供给邻近植株的花数数量;3) 不贡献花粉(只接受花粉)的植株产生的种子较少;4) 不贡献花粉(只接受花粉)的植株结籽的机会要少(有55.8%的植株开花而花粉不育,只能接受花粉,而这些植株只有约一半产生种子)。

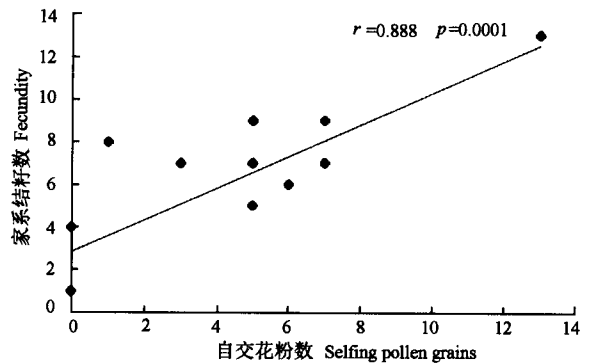


图3 自交花粉数与家系结籽数之间的关系图(P6种群)

Fig. 3 Relationship of the number selfing pollens and family fecundity (P6 population)

前两个结果表明自交个体的适合度要高,后两个结果则说明异交的适合度要低,这些结论出乎我们的意料。根据我们的研究,木根麦冬表现出异交传粉综合特征:花粉量极多,花柱细长且柱头超出花药,花有一种特殊香气(He *et al.*, 2000),而且还有近55.8%的植株所有的花粉都败育(何田华等, 1998),综合分析,我们不得不接受这样一个假设:木

根麦冬的交配系统正在经历(或已经完成)从异交为主的交配方式到以自交为主的交配方式的转变。

4 亲本分析将来的研究方向

4.1 发展变异性更为丰富的分子标记

自从亲本分析用于植物繁育生物学研究以来,已成为直接从数量上研究自然与人工种群基因流动与相对育性的最佳方法(Ellstrand, 1984; Ellstrand & Marshall, 1985; Hamrick & Schnabel, 1985; Meagher, 1986)。技术与理论的发展已经克服了简单的排除分析与 Meagher 和 Thompson (1986; 1987)最先提出似然性模型的一些局限。例如,虽然等位酶最先开始用作父本分析的遗传标记,特别是微卫星与 AFLP,为等位酶变异性较低或者难以采集活材料的物种进行亲本分析提供了新的机会(Parker *et al.*, 1998)。在新型的遗传标记中,微卫星位点的潜力最大,因为微卫星位点共显性遗传,种群内的等位基因数目多(Dow & Ashley, 1996; 1998; Chase *et al.*, 1996b; Dayanandan *et al.*, 1997; Aldrich *et al.*, 1998)。这些强有力的分子标记技术的应用无疑使父本分析可以应用到较大的种群以及已散布后代的亲本分析中。

4.2 亲本分析方法学上的突破

与新的、信息量更为丰富的分子标记的发现伴随而来的是分析亲本资料的复杂的似然性方法的发展。似然性方法是亲本分析中最合适的方法,因为在自然种群中,即使排除概率相当高,也不能为所有后代确定唯一亲本,结果中仍包括某种不确定性(Chase *et al.*, 1996b; Dow & Ashley, 1997)。目前应用较为广泛的是 Devlin 和 Ellstrand (1990)提出的估计总基因流(显性+隐性)的似然性方法和 Roeder 等(1989)提出的估计个体育性的似然性模型。这些似然性方法还可用于估计基因流与育性值的变异。

然而目前尚未有一种能从同一组后代数据同时估计基因流与育性的有效手段。所有育性估计的似然性方法都假设完全的种群隔离(Meagher, 1986; Devlin *et al.*, 1988; Smouse & Meagher, 1994; Schnabel *et al.*, 1998),但基因流动在自然种群中很常见。例如 Schnabel 和 Hamrick (1995)用 Roeder 等(1989)的方法研究温带树种 *Gleditsia triacanthos* 中交配间距与雄性育性之间的关系时发现,大约有 25%的受分析种子来源于邻近种群的花粉,从而不得不在育性研究中排除出分析。更麻烦的是用

Devlin 和 Ellstrand (1990a)的方法分析隐性基因流事件。Schnabel 和 Hamrick (1995)在研究中只能含糊地假设基因流事件在取样后代的母本中随机传播,而在潜在雄性亲本中不存在可区分的变异。目前并不知道这些假设是否有效,也不知道这些多余后代对最终的育性似然性估计有何影响。近来 Nason 等(1998)对 Roeder 等(1989)的方法作了一些改进,将邻居种群(迁移花粉和种子源)处理为另外可能的亲本。这个方法能同时揭示育性值与总的基因流动水平。

4.3 亲本分析应用领域的扩展

除了方法学上尚未解决外,有几个有关散布与交配的问题还仅刚开始利用亲本数据或尚未开始应用这些方法。第一,亲本分析还没有广泛地应用到杂交带的研究中,利用亲本分析来估计亲本对杂交子代个体的交配系统和繁殖成功率将有助于理解杂交过程的动力学过程(Rieseberg *et al.*, 1998)。第二,在估计传粉者行为对繁殖与散布的影响方面还有巨大的潜力。例如,当一个种有几个不同的传粉者,可以设计实验来检验每一个传粉者对各种交配与散布指标的影响。同样,亲本分析还可以用于检验同一种或一组传粉者对不同种的花粉散布模式的影响。第三,就象近来一组研究所证实的一样(Broyles & Wyatt, 1995; Conner *et al.*, 1996; Emms *et al.*, 1997; Goodell *et al.*, 1997),在实验种群的研究中,亲本分析也有助于清楚地检验各种统计或繁殖特征对育性与基因流的影响。在许多情况下,可以设计出实验种群为所有后代完全排除非亲本,并唯一确定亲本(Karron *et al.*, 1995; Emms *et al.*, 1997)。

最后,亲本分析在经历生境片段化导致种群规模减少的物种的遗传多样性的保护研究中颇有作用。一旦曾经连续的生境被人类活动片段化,基因的迁移走廊被破坏后,在剩余的片段中将出现繁殖成功率降低,散布式样的改变等问题。这些问题对保护生物学研究者来说非常重要,因为这些问题涉及到怎样选择最值得保护的片段以及一旦某些区域被保护后,怎样对其管理。

目前还并不知道新出现的片段化种群是否随时间而出现遗传上的隔离,以及在由于遗传漂变而单个种群多样性减少的情况下基因流水平是否以维持所有集合种群(Metapopulation)的遗传多样性。例如 Schnabel 等(1998)对 *Gleditsia triacanthos* 进行亲本分析后发现,在两个研究点中在长达二十多年的时间内都只有少数几个雌性个体产生大多数的后

代。作者认为在植物种群中这种极端倾斜的繁殖成功率分布在植物中是非常普遍的,因此在小的隔离的片段内有效种群大小可能很小,遗传多样性可能由于遗传漂变和近交的作用而迅速丧失。

近来,应用亲本分析来解决热带树种中的有些问题的研究也在不断增加(Hamrick & Marawski, 1990; Chase *et al.*, 1996b; Stacy *et al.*, 1996; Nason *et al.*, 1996; 1997; 1998; Nason & Hamrick, 1997; Aldrich & Hamrick, 1998),但有关其它生长形式(如藤本植物)的基因流模式的数据还相对较少。几乎在所有已发表的研究中,仅研究了一年或两年的基因流动情况,因此有关片段化如何影响隔离或半隔离片段中基因流动与繁殖的长期式样等问题还并未深入研究。至少对于有些寿命长的木本种来说,将来可以利用种子生存与萌发的生态研究与自然建立的后代的亲本分析结合起来研究基因流动的长期模式(Dow & Ashley, 1996; Schnabel *et al.*, 1998; Aldrich & Hamrick, 1998),而这些研究的中心将是高度多态的分子标记的应用。

参 考 文 献

- Aldrich, P. & J. L. Hamrick. 1998. Reproductive dominance of pasture trees in a fragmented tropical forest mosaic. *Science*, **281**:103~105.
- Arias, D. M. & L. H. Riesberg. 1994. Gene flow between cultivated and wild sunflowers. *Theoretical and Applied Genetics*, **89**: 655~660.
- Bierregaard, R. O. J., T. E. Lovejoy, V. Kapos, A. A. dos Santos & R. W. Hutchings. 1992. The biological dynamics of tropical rainforest fragments: a prospective comparison of fragments and continuous forest. *BioScience*, **42**:859~866.
- Brown, A. H. D., J. J. Burdon & A. M. Jarosz. 1989. Isozyme analysis of plant mating systems. In: Soltis, D. E. & P. S. Soltis eds. *Isozymes in plant biology*. Portland, OR: Dioscorides Press. 73~86.
- Broyles, S. B., A. Schnabel & R. Wyatt. 1994. Evidence for long-distance pollen dispersal in milkweeds (*Asclepias exaltata*). *Evolution*, **48**:1032~1040.
- Broyles, S. B. & R. Wyatt. 1990. Paternity analysis in a natural population of *Asclepias exaltata*: multiple paternity, functional gender, and the pollen donation hypothesis. *Evolution*, **44**:1454~1468.
- Broyles, S. B. & R. Wyatt. 1991. Effective pollen dispersal in a natural population of *Asclepias exaltata*: the influence of pollinator behavior, genetic similarity, and mating success. *American Naturalist*, **138**:1239~1249.
- Broyles, S. B. & R. Wyatt. 1995. A reexamination of the pollen-donation hypothesis in an experimental population of *Asclepias exaltata*. *Evolution*, **49**:89~99.
- Chakraborty, R., T. Meagher & P. E. Smouse. 1988. Parentage analysis with genetic markers in natural populations. I. The expected proportion of offspring with unambiguous paternity. *Genetics*, **118**:527~536.
- Chase, M., R. Kesseli & K. Bawa. 1996a. Microsatellite markers for population and conservation genetics of tropical trees. *American Journal of Botany*, **83**:51~57.
- Chase, M., C. Moller, R. Kesseli & K. Bawa. 1996b. Distant gene flow in tropical plants. *Nature*, **383**:398~399.
- Chen, X. Y. (陈小勇). 1999. Parentage analysis of natural plant populations and its applications in ecology. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), **18**(2):30~35. (in Chinese)
- Chen, X. Y. (陈小勇) & Y. C. Song (宋永昌). 1997. Mating system and inferred inbreeding depression of a *Cyclobalanopsis glauca* population in Diaoqiao, Huangshan. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **17**:462~467. (in Chinese)
- Chen, X. Y. (陈小勇) & Y. C. Song (宋永昌). 1999. Individual reproductive contributions in a population of *Cyclobalanopsis glauca* in Huangshan. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **19**:677~682. (in Chinese)
- Clegg, M. T. 1980. Measuring plant mating systems. *BioScience*, **30**:814~818.
- Conner, J. K., S. Rush & P. Jennetten. 1996. Measurements of natural selection on floral traits in wild radish (*Raphanus raphanistrum*). II. Selection through lifetime male and total fitness. *Evolution*, **50**:1137~1146.
- Cruzan, M. B. 1998. Genetic markers in plant evolutionary ecology. *Ecology*, **79**:400~412.
- Dayanandan, S., K. S. Bawa & R. Kesseli. 1997. Conservation of microsatellite among tropical trees (Leguminosae). *American Journal of Botany*, **84**:1658~1663.
- Devlin, B., J. Clegg & N. C. Ellstrand. 1992. The effect of flower production on male reproductive success in wild radish populations. *Evolution*, **46**:1030~1042.
- Devlin, B. & N. C. Ellstrand. 1990a. The development and application of a refined method for estimating gene flow from angiosperm paternity analysis. *Evolution*, **44**:248~259.
- Devlin, B. & N. C. Ellstrand. 1990b. Male and female fertility variation in wild radish, a hermaphrodite. *American Naturalist*, **136**:86~107.
- Devlin, B., K. Roeder & N. C. Ellstrand. 1988. Fractional paternity assignment, theoretical development and comparison to other methods. *Theoretical and Applied Genetics*, **76**:369~380.
- Dow, B. D., M. V. Ashley & H. F. Howe. 1995. Characterization of highly variable (GA/CT)_n microsatellite in the bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Theoretical and Applied Genetics*, **91**:137~141.
- Dow, B. D. & M. V. Ashley. 1996. Microsatellite analysis of seed dispersal and parentage of saplings in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *Molecular Ecology*, **5**:615~627.
- Dow, B. D. & M. V. Ashley. 1997. Factors influencing male mat-

- ing success in bur oak, *Quercus macrocarpa*. *New Forests*, **6**:1~21.
- Dow, B. D. & M. V. Ashley. 1998. High levels of gene flow in bur oak revealed by paternity analysis using microsatellites. *Journal of Heredity*, **89**:62~70.
- Ellstrand, N. C. 1984. Multiple paternity within fruits of the wild radish, *Raphanus sativus*. *American Naturalist*, **123**:819~828.
- Ellstrand, N. C. & D. L. Marshall. 1985. Interpopulation gene flow by pollen in wild radish, *Raphanus sativus*. *American Naturalist*, **126**:606~616.
- Ellstrand, N. C., B. Devlin & D. L. Marshall. 1989. Gene flow by pollen into small populations, data from experimental and natural stands of wild radish. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **86**:9044~9047.
- Emms, S. K., D. A. Stratton & A. A. Snow. 1997. The effect of inflorescence size on male fitness; experimental tests in the andromonoecious lily, *Zigadenus paniculatus*. *Evolution*, **51**:1481~1489.
- Ge, S. (葛颂). 1998. Retrospect and prospect for studies of genetic structure in plant populations. In: Li, C. S. (李承森) ed. *Advances in plant sciences*, Vol. 1. Beijing: China Higher Education Press. 1~15. (in Chinese)
- Godt, M. J. W. & J. L. Hamrick. 1993. Patterns and levels of pollen-mediated gene flow in *Lathyrus latifolius*. *Evolution*, **47**:98~110.
- Goodell, K., D. R. Elam, J. D. Nason & N. C. Ellstrand. 1997. Gene flow among small populations of a self-incompatible plant; an interaction between demography and genetics. *American Journal of Botany*, **84**:1362~1371.
- Hamrick, J. L. & D. Murawski. 1990. The breeding structure of tropical tree populations. *Plant Species Biology*, **5**:157~165.
- Hamrick, J. L. & A. Schnabel. 1985. Understanding the genetic structure of plant populations; some old problems and a new approach. In: Gregorious, H. R. ed. *Lecture notes in biometrics* 60. *Population genetics in forestry*. Berlin: Springer-Verlag. 50~70.
- He, T. H., G. Y. Rao, R. L. You & S. Ge. 1998a. Mating system of *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae), an endangered species in Southwest China. *International Journal of Plant Sciences*, **159**:440~445.
- He, T. H. (何田华), G. Y. Rao (饶广远), R. L. You (尤瑞麟) & D. M. Zhang (张大明). 1998b. Embryological studies on endangered *Ophiopogon xylorrhizus*. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **36**:305~309. (in Chinese)
- He, T. H. (何田华), G. Y. Rao (饶广远), R. L. You (尤瑞麟) & D. M. Zhang (张大明). 1999a. The spatial distribution pattern and seed dispersal mechanism for the population of *Ophiopogon xylorrhizus*, an endangered plant. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), **23**(Supp.): 181~186. (in Chinese)
- He, T. H. (何田华), G. Y. Rao (饶广远) & R. L. You (尤瑞麟). 1999b. Study on conservation biology of endangered *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae s. l.). *Proceeding of Natural Sciences* (自然科学进展), **9**:874~879. (in Chinese)
- He, T. H., G. Y. Rao & R. L. You. 2000a. Reproductive biology of *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae), an endangered endemic of Yunnan, Southwest China. *Australian Journal of Botany*, **48**:101~107.
- He, T. H., G. Y. Rao, R. L. You, S. Ge & D. Y. Hong. 2000b. Spatial autocorrelation of genetic variability in three stands *Ophiopogon xylorrhizus* (Liliaceae s. l.). *Annals of Botany*, **86**:113~121.
- Karron, J. D., N. N. Thumser, R. Tucker & A. J. Hessenauer. 1995. The influence of population density on outcrossing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity*, **75**:175~180.
- Karron, J. D., R. Tucker, N. N. Thumser & J. A. Reinartz. 1995. Comparison of pollinator flight movements and gene dispersal pattern in *Mimulus ringens*. *Heredity*, **75**:612~617.
- Kohn, J. R. & B. B. Casper. 1992. Pollen-mediated gene flow in *Cucurbita foetidissima* (Cucurbitaceae). *American Journal of Botany*, **79**:57~62.
- Levin, D. A. 1995. Plant outliers: an ecogenetic perspective. *American Naturalist*, **145**:109~118.
- Lewis, P. O. & A. A. Snow. 1992. Deterministic paternity exclusion using RAPD markers. *Molecular Ecology*, **1**:155~160.
- Lin, J. J., J. Kuo & B. F. Matthews. 1996. Identification of molecular markers in soybean comparing RFLP, RAPD, and AFLP DNA mapping techniques. *Plant Molecular Biology Reporter*, **14**:156~169.
- Marshall, T. C., J. Slate, L. E. Kruuk & J. M. Pemberton. 1998. Statistical confidence for likelihood—based paternity inference in natural population. *Molecular Ecology*, **7**:639~655.
- Meagher, T. R. 1986. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. I. Identification of most-likely male parents. *American Naturalist*, **128**:199~215.
- Meagher, T. R. & E. Thompson. 1986. The relationship between single parent and parent pair genetic likelihoods in genealogy reconstruction. *Theoretical Population Biology*, **29**:87~106.
- Meagher, T. R. & E. Thompson. 1987. Analysis of parentage for naturally established seedling of *Chamaelirium luteum* (Liliaceae). *Ecology*, **68**:803~812.
- Milligan, B. G. & K. C. McMurray. 1993. Dominant vs. codominant genetic markers in the estimation of male mating success. *Molecular Ecology*, **2**:275~283.
- Muona, O., G. F. Moran & J. C. Bell. 1991. Hierarchical patterns of correlated matings in *Acacia melanoxylon*. *Genetics*, **127**:619~626.
- Nason, J. D., P. R. Aldrich & J. L. Hamrick. 1997. Dispersal and the dynamics of genetic structure in fragmented tropical tree populations. In: Laurance, W. F. & J. R. O. Bierregaard eds. *Tropical forest remnants: ecology, management, and conservation of fragmented communities*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Nason, J. D. & J. L. Hamrick. 1997. Reproductive and genetic consequences of forest fragmentation; two studies of neotropical

- canopy trees. *Journal of Heredity*, **88**:264~276.
- Nason, J. D., E. A. Herre & J. L. Hamrick. 1996. Paternity analysis of the breeding structure of strangler fig populations: evidence for substantial long-distance wasp dispersal. *Journal of Biogeography*, **23**:501~512.
- Nason, J. D., E. A. Herre & J. L. Hamrick. 1998. The breeding structure of tropical keystone plant resource. *Nature*, **391**:685~687.
- Parker, P. G., A. A. Snow, M. D. Schug, G. C. Booton & P. A. Fuerst. 1998. What molecules can tell us about populations: choosing and using a molecular marker. *Ecology*, **79**:361~382.
- Pellmyr, O., L. K. Massey, J. L. Hamrick & M. A. Feist. 1997. Genetic consequences of specialization: yucca moth behavior and self-pollination in yuccas. *Oecologia*, **109**:273~278.
- Rieseberg, L. H., S. J. E. Baird & A. M. Desrochers. 1998. Patterns of mating in wild sunflower hybrid zones. *Evolution*, **52**:713~726.
- Ritland, K. 1983. Estimation of mating systems. In: Tanksley, S. D., T. J. Orton eds. *Isozymes in plant breeding and genetics*, part a. Elsevier; Amsterdam. 289~302.
- Ritland, K. 1984. The effective proportion of self-fertilization with consanguineous matings in inbred populations. *Genetics*, **106**:139~152.
- Ritland, K. 1986. Joint maximum likelihood estimation of genetic and mating structure using open-pollinated progenies. *Biometrics*, **42**:25~53.
- Ritland, K. 1990. A series of FPRTRAN computer programs for estimating plant mating systems. *Journal of Heredity*, **81**:235~237.
- Ritland, K. & S. K. Jain. 1981. A model for the estimation of outcrossing rate and gene frequencies using n independent loci. *Heredity*, **47**:35~52.
- Roeder, K., B. Devlin & B. G. Lindsay. 1989. Application of maximum likelihood methods to population genetic data for the estimation of individual fertilities. *Biometrics*, **45**:363~379.
- Schnabel, A. 1998. Parentage analysis in plants: mating system, gene flow and relative fertilities. In: Carvalho, G. R. ed. *Advances in molecular ecology*. Amsterdam: IOS Press. 173~189.
- Schnabel, A. & J. L. Hamrick. 1995. Understanding the population genetic structure of *Gleditsia triacanthos* L.: the scale and pattern of pollen gene flow. *Evolution*, **49**:921~931.
- Schnabel, A., J. D. Nason & J. L. Hamrick. 1998. Understanding the population genetic structure of *Gleditsia triacanthos* L.: seed dispersal and variation in female reproductive success. *Molecular Ecology*, **7**:804~815.
- Shaw, D. V. & A. H. D. Brown. 1982. Optimum number of marker loci for estimating outcrossing in plant populations. *Theoretical and Applied Genetics*, **61**:321~325.
- Shaw, D. V., A. L. Kahler & R. W. Allard. 1981. A multilocus estimator of mating system parameters in plant populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **78**:1298~1302.
- Smouse, P. E. & T. R. Meagher. 1994. Genetic analysis of reproductive contributions in *Chamaelirium luteum* (L.) Gray (Liliaceae). *Genetics*, **136**:313~332.
- Snow, A. A. & P. O. Lewis. 1993. Reproductive traits and male fertility in plants: empirical approaches. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**:331~351.
- Stacy, E. A., J. L. Hamrick, J. D. Nason, S. P. Hubbell, R. B. Foster & R. Condit. 1996. Pollen dispersal in low-density populations of three neotropical tree species. *American Naturalist*, **148**:275~298.
- Vos, P., R. Hogers, M. Bleeker, M. Reijans, T. Van de Lee, M. Tornes, A. Frijters, J. Pot, J. Peleman, M. Kuiper & M. Zabeau. 1995. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research*, **23**:4407~4415.
- Zhang, D. M. (张冬梅), X. H. Shen (沈熙环) & T. H. He (何田华). 2001. Paternity analysis of seeds from different clones in a seed orchard of *Pinus tabulaeformis* Carr. by using allozyme method. *Acta Phytocologica Sinica (植物生态学报)*, **25**:166~174. (in Chinese)

责任编辑:张大勇 责任编辑:孙海芹