

基于 SSR 标记的父本分析研究油橄榄 品种间的亲和性

王楠楠¹, 李金花^{1*}, 王长海¹, 苏光灿², 付永平²

(1. 林木遗传育种国家重点实验室, 国家林业局林木培育重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091;
2. 凉山州中泽新技术开发有限公司, 四川 西昌 615000)

摘要: [目的] 利用 SSR 标记对油橄榄品种自由授粉的子代进行父本分析, 研究品种间的亲和性, 确定品种适宜的授粉树, 为油橄榄建园品种配置提供依据。[方法] 以四川凉山州油橄榄园‘豆果’、‘鄂植 8 号’和‘九峰 4 号’3 个品种的自由授粉子代为材料, 利用 12 个 SSR 标记进行父本分析。[结果] 每个 SSR 位点的等位基因数为 5~12 个, 平均 9.08 个, 其中, DCA11 和 GAPIU103A 等位基因数 (12 个) 最多。试验群体中的平均观测杂合度为 0.732, 平均期望杂合度为 0.709, 平均多态性信息量为 0.675。12 个 SSR 标记在 95% 的置信区间内检测出父本的子代 163 个, 占子代群体总数的 79.9%, 其中, ‘豆果’子代 44 个, ‘鄂植 8 号’47 个, ‘九峰 4 号’72 个。在 36 个候选父本中只检测出 20 个子代, 平均繁殖贡献率为 5%, 其中, 大于 5% 的品种为: ‘克罗莱卡’、‘佛奥’、‘城固 32’、‘贝拉特’和‘巴尼亚’。3 个试验品种所有子代均未发现自交现象。[结论] ‘豆果’、‘鄂植 8 号’和‘九峰 4 号’均为自交不亲和品种。‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘九峰 4 号’和‘鄂植 8 号’的亲性和均较强, ‘城固 32’和‘贝拉特’与‘豆果’的亲性和较强。在油橄榄建园时, 可以选择‘克罗莱卡’和‘佛奥’作为‘鄂植 8 号’和‘九峰 4 号’的授粉树, 选择‘城固 32’和‘贝拉特’可作为‘豆果’的授粉树。

关键词: 油橄榄; SSR 标记; 父本分析; 亲和性

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2017)04-0640-08

Paternal Analysis Using Microsatellite Markers to Identify the Pollen Donors of Olive Open-pollinated Offsprings

WANG Nan-nan¹, LI Jin-hua¹, WANG Chang-hai¹, SU Guang-can², FU Yong-ping²

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;
2. Liangshan Zhongze New Tech Development Co. Ltd., Xichang 615000, Sichuan, China)

Abstract: [Objective] To determine the optimal pollen donors by paternity analysis of open-pollinated offspring and lay a foundation for the pollination disposition of olive orchards. [Method] 12 SSR markers were used for the paternity analysis of the open-pollinated offspring of 3 cultivars from Xichang City, Sichuan Province. [Result] The amount of alleles per SSR locus was 5 to 12 with an average of 9.08, and DCA11 and GAPIU103A had the maximum alleles (12). The average heterozygosity (H_o) observed was 0.732, the expected heterozygosity (H_e) was 0.709 and the polymorphism information content was 0.675. 163 offspring were identified by 12 SSR markers at 95% confidence level, accounting for 79.9% of the total of the offspring. The amount of identified offspring of ‘Arbequina’, ‘Ezhi-8’ and ‘Jiufeng-4’ was 44, 47 and 72 respectively. Only 20 cultivars were identified as pollen donors among the 36 candidate cultivars with the average productive success of 5%, while the cultivars which were more

收稿日期: 2016-03-01

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资助“油橄榄主栽品种授粉习性及其杂交的研究”(CAFYBB04MA001)

作者简介: 王楠楠(1990—), 女, 河南济源人, 林木遗传育种专业硕士研究生, 从事油橄榄育种研究。

* 通讯作者 · E-mail: lijinh@caf.ac.cn

than 5% were 'Koroneiki', 'Frantoio', 'Chenggu-32', 'Berat' and 'Barnea'. None of the offspring of the three cultivars were self-pollinated. [Conclusion] The cultivars 'Arbequina', 'EZhi-8' and 'Jiufeng-4' are self-incompatible. The cultivars 'Koroneiki' and 'Frantoio' are compatible with 'EZhi-8' and 'Jiufeng-4', while 'Chenggu-32' and 'Berat' are compatible with 'Arbequina'. Thus, in a new olive orchard, 'EZhi-8' and 'Jiufeng-4' can be the optimal pollen donors for 'Koroneiki' and 'Frantoio', while 'Chenggu-32' and 'Berat' are the optimal pollen donors for 'Arbequina'.

Keywords: olive; paternity analysis; microsatellite markers; compatibility

油橄榄 (*Olea europaea* L.) 原产于地中海沿岸, 为木犀科 (*Oleaceae*)、木犀属 (*Olea* L.) 植物, 是著名的木本油料兼果用树种, 其果实含油率高, 鲜榨油即可直接食用, 并具有极高的营养价值。于 20 世纪 60 年代开始, 我国大量引种油橄榄, 并开展了栽培技术和品种选育等研究^[1-2]。已有研究表明, 多数油橄榄品种具有自交不亲和性或部分自交不亲和性, 且品种间杂交亲和性也有一定的差异^[3-9]。'巴尼亚' (Barnea) 是以色列油橄榄密植园主栽品种, 与'科拉蒂' (Coratina) 和皮瓜尔' (Picual) 杂交的 2 年平均座果率分别高达 5.3% 和 7.3%, 而与'豆果' (Arbequina) 杂交的平均座果率仅为 0.22%^[9]。因此, 合理配置授粉品种可以提高产量^[7]。传统方法主要依据杂交授粉的座果率来进行授粉树的选配^[5,10-11], 然而, 在授粉过程中不可避免的花粉污染会影响结果的准确性, 而基于分子标记的父本分析则可解决这一问题。对已知母本的种子进行遗传标记分析而确定每一个子代(种子)的亲本, 鉴定出大多数种子的花粉来源, 推算出不同父本的贡献率, 从而用于研究品种间亲和性, 确定品种授粉组合^[12]。由于 SSR 标记因具有多态性高和共显性的特点, 被广泛应用于油橄榄子代的父本分析^[7-8,12-13]。

目前, 国内基于人工授粉的座果率来研究油橄榄品种间亲和性, 确定适宜的授粉树^[10,14-17], 而利用父本分析研究油橄榄亲和性尚未见报道。在国外虽有相关报道, 但研究结论存在一定差异, 而且由于环境因素对研究油橄榄的亲和性有一定影响, 如 Gharibzadeh 等^[7]发现, '克罗莱卡' (Koroneiki) 在伊朗戈勒斯坦省是自交亲和的, 而 Mookerjee 等^[18]发现, '克罗莱卡' 在澳大利亚南部地区是自交不亲和的。此外, 不同地区油橄榄主栽品种亦不同。因此, 本文利用 SSR 标记对四川省西昌市油橄榄自由授粉子代进行父本分析, 研究油橄榄品种间亲和性, 确定适宜授粉品种, 为凉山州油橄榄建园品种配置提供

依据。

1 试验地概况

试验地处于四川省凉山彝族自治州西昌市中泽新技术开发有限公司北河基地 (102°14'33" E, 27°44'40"N)。凉山州属于暖温带湿润气候区, 干湿分明, 冬半年日照充足, 少雨干暖; 夏半年云雨较多, 气候凉爽。日温差大, 年温差小, 年均气温 16~17℃。年日照时数约 1 600~2 000 h, 最高达 2 400 h。于 2007—2012 年期间陆续以 2 年生扦插苗和嫁接苗定植建园, 常规管理。园内开花品种共 36 个(表 1), 均视为候选父本。这些品种生长表现良好, 均已进入成熟期并盛花盛果。试验园为孤立园, 品种配置见图 1, 周围 3 km 范围内无开花的油橄榄树。选取'豆果'、'九峰 4 号'、'鄂植 8 号' 3 个品种作为母树。

于 2014 年 3—4 月对园内各品种花期进行调查, 以开花量 1%~25% 为初花期, 26%~75% 为盛花期, 76%~100% 为末花期^[10]。于 2014 年 10 月, 采集园内所有品种的嫩叶, 硅胶干燥保存, 用于 DNA 提取, 并采集 3 株母树自由授粉种子共 334 个 ('豆果' 117 个, '九峰 4 号' 103 个, '鄂植 8 号' 114 个), 播种于中国林业科学研究院温室。2015 年 9 月, 采集所有子代播种苗嫩叶(共 204 株, 其中'九峰 4 号' 80 株, 出苗率 77.67%; '豆果' 64 株, 出苗率 54.7%; '鄂植 8 号' 60 株, 出苗率 52.63%), 用于 DNA 提取。

2 研究方法

2.1 总 DNA 提取

采用改良 CTAB 法^[19]提取亲本及子代嫩叶 DNA, 并于 -20℃ 冰箱保存。

2.2 SSR-PCR 体系和引物筛选

SSR-PCR 反应体系为 20 μL, 包含 150 ng 样本 DNA, 1 × PCR 缓冲液 (Tris-HCl 20 mmol · L⁻¹ pH 值

表1 油橄榄品种及来源和用途

Table 1 Name and origin country of olive cultivars

编号 No.	品种 Cultivar	来源 Origin	用途 Use	编号	品种 Cultivar	来源 Origin	用途 Use
1	卡拉马达 Kalamata	希腊 Greece	O/T	19	莱星 Leccino	意大利 Italy	O
2	美佳伦 Megaron	希腊 Greece	O/T	20	克罗莱卡 Koroneiki	希腊 Greece	O
3	坦彩 Tanche	法国 France	O/T	21	阿布桑娜 Arbosana	西班牙 Spain	O
4	奥托卡 Ottobratica	意大利 Italy	O	22	贝翠丽 Patrim	希腊 Greece	O
5	沙龙奎 Salonenqne	法国 France	O/T	23	巴尼亚 Barnea	以色列 Israel	O/T
6	豆果 Arbequina	西班牙 Spain	O	24	皮瓜尔 Picual	西班牙 Spain	O
7	佛奥 Frantoio	意大利 Italy	O	25	科拉蒂 Coratina	意大利 Italy	O
8	切姆拉尔 Chemlal de Kabylie	阿尔及利亚 Albania	O	26	小苹果 Manzanilla de Sevilla	西班牙 Spain	O
9	长叶卡林 Kaliniot Changye	阿尔巴尼亚 Albania	O/T	27	戈达尔 Gordal	西班牙 Spain	O/T
10	圆果卡林 Kaliniot Yuanguo	阿尔巴尼亚 Albania	O/T	28	配多灵 Pendolino	意大利 Italy	O
11	尖叶卡林 Kaliniot Jianye	阿尔巴尼亚 Albania	O/T	29	张林 Zhanglin	国内选育 Domesticated selection	O/T
12	贝拉特 Berat	阿尔巴尼亚 Albania	O/T	30	云台 Yuntai	国内选育 Domesticated selection	O/T
13	哥郎米扎 Mixaj Dukat	阿尔巴尼亚 Albania	O	31	九峰4号 Jiufeng-4	国内选育 Domesticated selection	O/T
14	阿斯 Ascolano Tenera	意大利 Italy	T	32	中山 24Zhongshan-24	国内选育 Domesticated selection	O/T
15	白橄榄 Ullir I bardhe	阿尔巴尼亚 Albania	O	33	鄂植8号 Ezhi-8	国内选育 Domesticated selection	O
16	皮削利 Picholine	法国 France	O/T	34	城固 32Chenggu-32	国内选育 Domesticated selection	O/T
17	科新佛奥 Frantoio de Corsini	意大利 Italy	O/T	35	巴尼亚实生苗 Seedling of Barnea	国内选育 Domesticated selection	O
18	北庆米扎 Mixaj Peginit	阿尔巴尼亚 Albania	O	36	未知1号 Unknown-1	Unknown	O

注:表中“O”为油用,“T”为餐用。‘O’ is oil olive and ‘T’ is table olive.

8.0, KCl 100 mmol · L⁻¹, MgCl₂ 1.5 mmol · L⁻¹), 1.5 mmol · L⁻¹ Mg²⁺, 0.225 mmol · L⁻¹ dNTP, 正反引物各 0.2 μmol · L⁻¹, Taq 聚合酶 1.25 U (TaKa-Ra)。PCR 反应程序为:94℃ 5 min, 35 个循环(94℃ 30 s, Tm 30 s, 72℃ 30 s), 72℃ 延伸 7 min, 4℃ 保温, 不同引物的 Tm 值不同。SSR-PCR 产物在 8% 的聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 并银染检测。

共筛选出多态性高的 12 对引物 (DCA3、DCA11、DCA18、GAPU59、GAPU89、GAPU103A、GAPU71B、UDO99-6、UDO99-11、UDO99-19、EMO90 和 OLEAGEN-H6), 并合成带有 FAM 和 HEX 荧光基团的荧光引物(上海捷瑞), 用于 SSR-PCR 反应及毛细电泳检测。试验所用引物来自于相关文献[19-23]。

2.3 毛细电泳检测

取 FAM 和 HEX 荧光标记扩增后的 PCR 产物 2 μL, 混合后加入 6 μL ddH₂O, 混匀。取 1 μL 混合产物, 加入 9 μL Hi-Di 和 0.5 μL ROX-500 荧光分子量内标混合均匀, 95℃ 变性 5 min, 上样于 ABI3730 DNA 分析仪上, 进行毛细管电泳和自动荧光检测, 并收集数据^[24]。

2.4 数据统计与分析

利用 Gene Marker V1.95 软件分析收集数据, 输

出 Allele 和 Bin 数据。利用 Cervus 3.0 软件对 204 个自由授粉子代进行父本分析, 并计算等位基因数 (N_A)、等位基因频率 (P_i)、观测杂合度 (H_o)、期望杂合度 (H_e) 和多态性信息量 (PIC)。

3 结果与分析

3.1 花期分析

园内 36 个品种花期观测结果见表 2。所有品种花期持续时间为 31 d, 其中, 花期持续时间最长的品种是‘阿斯’、‘城固 32’和‘皮削利’, 均 21 d; ‘长叶卡林’和‘张林’的花期持续时间最短, 仅 11 d。本文所选 3 个品种‘豆果’、‘九峰 4 号’、‘鄂植 8 号’, 均与园内多个品种的花期重叠。

3.2 SSR 多态性分析

由表 3 可知: 12 个 SSR 位点共扩增出 109 个等位基因, 每个 SSR 位点等位基因数为 5~12, 平均数为 9.08 个, 其中, DCA11 和 GAPU103A 的等位基因数最多, 为 12 个, UDO99-19 和 EMO90 的等位基因数最少, 为 5 个。试验群体中的平均观测杂合度 (H_o) 为 0.732, 平均期望杂合度 (H_e) 为 0.709, 平均多态性信息量 (PIC) 为 0.675。

3.3 自由授粉子代的父本分析

204 个自由授粉子代的父本分析结果见表 4。

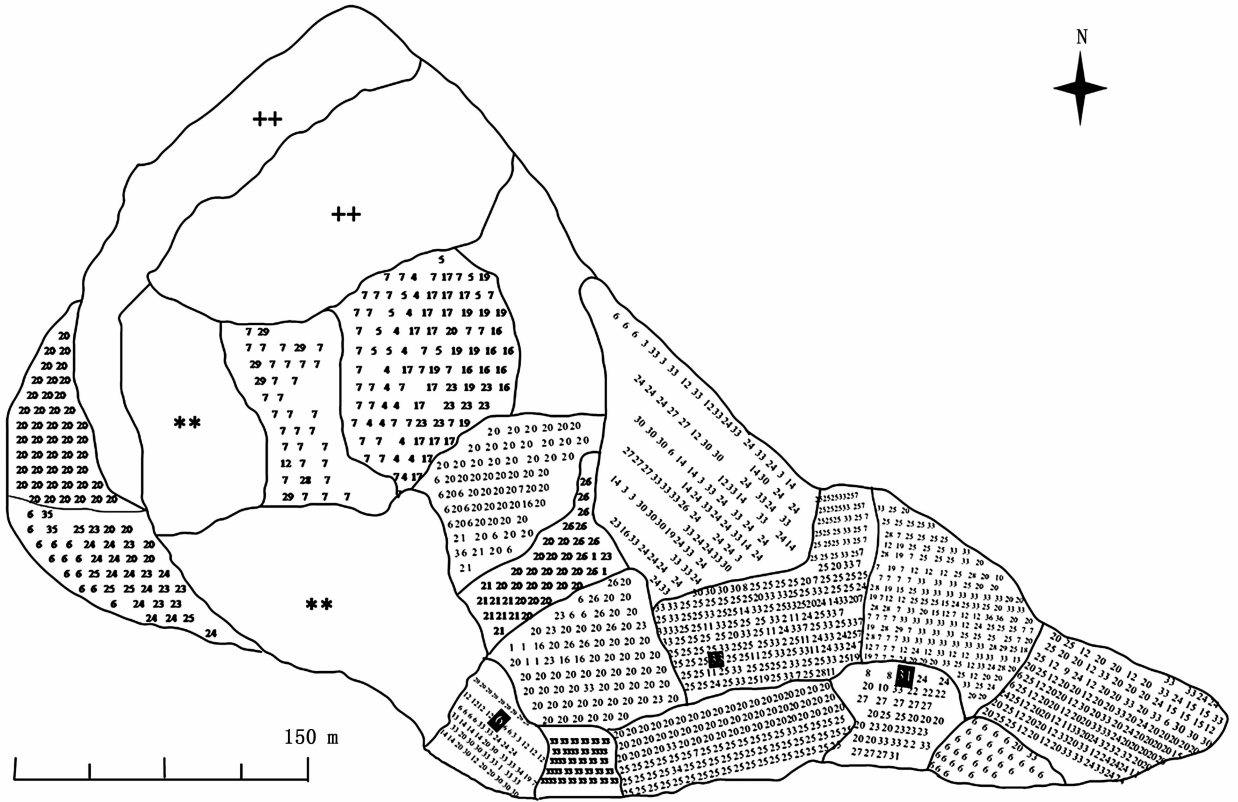


图1 油橄榄试验园品种配置图

Fig. 1 Field plan of the olive orchard showing the location of cultivars

品种编号见表1,图中黑色方框内数字为所选品种的母树。‘++’代表2012年新引入品种区,‘**’代表2013年新引入品种区。The number of individual tree for each cultivar was presented in Table 1. Black square showed the position of the selected mother trees. ‘++’ and ‘**’ were respectively the locations of olive trees introduced in 2012 and 2013.

在95%置信区间下检测出父本的子代163个(占子代总数的79.9%),其余子代的可信度未达到要求,未被视为子代的真实父本。36个候选父本中只检测出20个,其余16个未在子代中检测出。20个候选父本的贡献率为0.61%~32.52%,平均为5%,其中,平均繁殖贡献率最高的品种为‘克罗莱卡’(32.52%),以‘克罗莱卡’为父本的子代共有53个;其次是‘佛奥’和城固32,繁殖贡献率分别为23.31%和12.88%。平均繁殖贡献率大于5%的品种为‘克罗莱卡’、‘佛奥’、‘城固32’、‘贝拉特’和‘巴尼亚’。

3.4 油橄榄品种的亲和性

3.4.1 ‘豆果’ 表4表明:在‘豆果’64个子代中,在95%置信区间检测出父本的子代有44个(占68.75%)。共检测出父本品种11个,仅2个品种‘城固32’和‘贝拉特’的繁殖贡献率高于10%,其中以城固32为父本的子代数量最多(20个),繁殖贡献率为45.45%,‘贝拉特’为父本的子代数量为

9,繁殖贡献率为20.45%。其余9个品种为父本的子代个数为1~4个,繁殖贡献率均小于10%。由此可知,与‘豆果’亲和性较强的品种仅2个,为‘城固32’和‘贝拉特’,并且这3个品种的花期重叠,因此‘城固32’和‘贝拉特’可以作为‘豆果’的授粉树。此外,‘豆果’44个子代中未发现自交现象。

3.4.2 ‘鄂植8号’ 在‘鄂植8号’60个子代中,在95%置信区间检测出父本的子代有47个(占78.33%)。共检测出父本品种8个,‘克罗莱卡’和‘佛奥’2个品种的繁殖贡献率高于10%,以‘克罗莱卡’为父本的子代数量最多(20个),繁殖贡献率为42.55%,其次是‘佛奥’,子代数量为18,繁殖贡献率为38.30%。其余6个品种为父本的子代数量为1~3个,繁殖贡献率均小于10%。由此可知,与‘鄂植8号’亲和性较强的品种为‘克罗莱卡’和‘佛奥’。由于‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘鄂植8号’花期重叠,因此‘克罗莱卡’和‘佛奥’可作为‘鄂植8号’的授粉树。此外,‘鄂植8号’47个子代中未发现自

表2 2014年油橄榄品种花期调查表

Table 2 Flowering times of the cultivars for the flowering survey in 2014

品种 Cultivar	持续时长 Time of bloom duration /d	花期(月-日)			品种 Cultivar	持续时长 Time of bloom duration/d	花期(月-日)		
		初花期 Time of start bloom	盛花期 Time of full bloom	末花期 Time of end bloom			初花期 Time of start bloom	盛花期 Time of start bloom	末花期 Time of end bloom
阿布桑娜 Arbosana	16	03-27—31	04-01—06	04-07—11	科拉蒂 Coratina	15	03-31—04-04	04-05—09	04-10—14
阿斯 Ascolano Tenera	21	03-25—30	03-31—04-07	04-08—14	科新佛奥 Frantoio de Corsini	16	03-31—04-06	04-07—11	04-12—15
奥托卡 Ottobratica	18	03-28—04-01	04-02—07	04-08—14	克罗莱卡 Koroneiki	18	03-26—04-01	04-02—07	04-08—12
巴尼亚 Barnea	17	03-30—04-03	04-04—08	04-09—15	配多灵 Pendolino	16	03-30—04-04	04-05—10	04-11—14
巴尼亚实生苗 Seedling of Barnea	15	03-28—04-01	04-02—04	04-05—11	皮瓜尔 Picual	16	03-29—04-02	04-03—04-07	04-08—13
贝翠丽 Patrim	12	04-01—05	04-06—08	04-09—12	皮削利 Picholine	21	03-25—30	03-31—04-05	04-06—14
贝拉特 Berat	15	03-31—04-03	04-04—09	04-10—14	切姆拉尔 Chemlal de Kabylie	16	03-29—04-04	04-05—07	04-08—13
长叶卡林 Kaliniot Changye	11	04-06—08	04-09—12	04-13—16	沙龙奎 Salonenque	14	03-26—29	03-30—04-05	04-06—08
城固 32 Chenggu—32	21	03-24—04-02	04-03—06	04-07—13	坦犁 Tanche	18	03-25—31	04-01—05	04-06—11
豆果 Arbequina	19	03-23—31	04-01—06	04-07—10	美佳伦 Megaron	18	03-26—29	03-30—04-04	04-05—12
鄂植 8 号 Ezhi—8	18	03-31—04-03	04-04—09	04-10—17	云台 Yuntai	15	03-28—31	04-01—06	04-07—11
佛奥 Frantoio	15	03-30—04-04	04-05—08	04-09—13	白橄榄 Ullir I bardhe	19	03-22—27	03-28—31	04-01—09
哥朗米扎 Mixaj Dukat	19	03-21—28	03-29—04-01	04-02—08	小苹果 Manzanilla de Sevilla	19	03-25—30	03-31—04-04	04-05—12
九峰 4 号 Jiufeng—4	17	03-29—04-03	04-04—08	04-09—14	戈达尔 Gordal	16	03-31—04-03	04-04—08	04-09—15
未知 1 号 Unknown—1	12	03-28—31	04-01—04	04-05—08	北庆米扎 Mixaj Peginit	17	03-24—29	03-30—04-03	04-04—09
尖叶卡林 Kaliniot Jianye	17	03-23—28	03-29—04-03	04-04—08	圆果卡林 Kaliniot Yuangua	17	03-29—04-04	04-05—04-08	04-09—14
卡拉马达 Kalamata	18	03-21—26	03-27—03-01	04-01—07	莱星 Leccino	18	03-31—04-04	04-05—11	04-12—17
张林 Zhanglin	11	04-10—13	04-14—15	04-16—20	中山 24 Zhongshan—24	18	03-30—04-06	04-07—09	04-10—16

表3 油橄榄品种 SSR 标记的多态性分析

Table 3 Polymorphism in olive cultivars with SSR primers

SSR 位点 SSR primer	等位基因数 Observed number of alleles (NA)/个	片段长度 Size range/bp	基因频率 Allelic frequency (Pi)	观测杂合度 Observed heterozygosity (Ho)	期望杂合度 Expected heterozygosity (He)	多态性信息量 Polymorphism information content (PIC)
DCA3	11	232 ~ 268	0.002 1 ~ 0.229 2	0.925	0.843	0.822
DCA11	12	126 ~ 179	0.002 1 ~ 0.483 3	0.546	0.710	0.680
DCA18	11	160 ~ 183	0.002 1 ~ 0.316 7	0.950	0.818	0.795
UDO19	5	100 ~ 168	0.002 1 ~ 0.739 6	0.354	0.429	0.401
GAPU59	8	208 ~ 224	0.002 1 ~ 0.662 5	0.392	0.522	0.484
GAPU89	10	158 ~ 208	0.002 1 ~ 0.443 7	0.842	0.704	0.658
GAPU71B	6	118 ~ 144	0.016 7 ~ 0.418 8	0.821	0.723	0.679
GAPU103A	12	136 ~ 196	0.002 1 ~ 0.193 8	0.933	0.863	0.845
UDO6	10	148 ~ 197	0.002 1 ~ 0.389 6	0.621	0.757	0.723
UDO11	11	100 ~ 129	0.002 1 ~ 0.204 2	0.938	0.854	0.835
EMO90	5	184 ~ 196	0.002 1 ~ 0.652 1	0.583	0.486	0.408
OLEH6	8	140 ~ 189	0.004 2 ~ 0.318 7	0.883	0.796	0.766
平均 Average	9.08			0.732	0.709	0.675

交现象。

3.4.3 ‘九峰 4 号’ 在‘九峰 4 号’ 80 个子代中, 95% 置信区间检测出父本的子代有 72 个(占 90%)。共检测出父本品种 9 个, 仅 2 个品种(‘克罗莱卡’和‘佛奥’)的繁殖贡献率高于 10%, 其中,

以‘克罗莱卡’为父本的子代数量最多(33 个), 繁殖贡献率为 45.83%, 其次是‘佛奥’, 其子代数量为 20, 繁殖贡献率为 27.78%。其余 7 个品种繁殖贡献率均小于 10%, 子代数 6 个。由此可知, 与‘九峰 4 号’亲和性较强的品种有 2 个, 为‘克罗莱卡’和

‘佛奥’。由于‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘九峰4号’花期重叠,因此均可作为‘九峰4号’的授粉树。此外,‘九峰4号’72个子代中未发现自交现象。

4 讨论

本文父本分析研究结果表明,‘克罗莱卡’和

‘佛奥’与‘九峰4号’和‘鄂植8号’之间、‘城固32’和‘贝拉特’与‘豆果’之间的亲和性均较强,但‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘豆果’之间、‘城固32’和‘贝拉特’与‘鄂植8号’之间的亲和性均未被检测

表4 油橄榄品种自由授粉子代父本分析

Table 4 Paternity analysis of open-pollinated progeny from olive cultivars

父本 Pollen donor	母本 Mother tree						子代个数 合计 Total number of progeny / 个	平均繁殖贡 献率 Average reproductive contribution / %
	豆果 Arbequina		鄂植8号 Ezhi-8		九峰4号 Jiufeng-4			
	子代个数 Number of progeny / 个	繁殖贡献率 Reproductive contribution / %	子代个数 Number of progeny / 个	繁殖贡献率 Reproductive contribution / %	子代个数 Number of progeny / 个	繁殖贡献率 Reproductive contribution / %		
克罗莱卡 Koroneiki	0	0.00	20	42.55	33	45.83	53	32.52
佛奥 Frantoio	0	0.00	18	38.30	20	27.78	38	23.31
城固32 Chenggu-32	20	45.45	0	0.00	1	1.39	21	12.88
贝拉特 Berat	9	20.45	0	0.00	0	0.00	9	5.52
巴尼亚 Barnea	0	0.00	3	6.38	6	8.33	9	5.52
鄂植8号 Ezhi-8	4	9.09	0	0.00	0	0.00	4	3.07
豆果 Arbequina	0	0.00	1	2.13	4	5.56	5	2.45
阿斯 Ascolano Tenera	1	2.27	0	0.00	3	4.17	4	2.45
圆果卡林 Kaliniot Yuanguo	0	0.00	2	4.26	1	1.39	3	1.84
皮瓜尔 Picual	3	6.82	0	0.00	0	0.00	3	1.84
中山24 Zhongshan-24	0	0.00	0	0.00	3	4.17	3	1.84
坦彩 Tanche	2	4.55	0	0.00	0	0.00	2	1.23
莱星 Leccino	0	0.00	1	2.13	1	1.39	2	1.23
北庆米扎 Mixaj Peginit	1	2.27	0	0.00	0	0.00	1	0.61
歌朗米扎 Mixaj Dukat	1	2.27	0	0.00	0	0.00	1	0.61
皮削利 Picholine	1	2.27	0	0.00	0	0.00	1	0.61
小苹果 Manzanilla de Sevilla	1	2.27	0	0.00	0	0.00	1	0.61
尖叶卡林 Kaliniot Jianye	1	2.27	0	0.00	0	0.00	1	0.61
配多灵 Pendolino	0	0.00	1	2.13	0	0.00	1	0.61
云台 Yuntai	0	0.00	1	2.13	0	0.00	1	0.61
总计	44	68.75	47	78.33	72	90.00	163	

出,仅检测出‘九峰4号’的1个子代,这与 Mookerjee 等^[8]利用父本分析方法的研究结果相同,即油橄榄不同品种间亲和性有差异。湖北省林科院^[17]在湖北武昌测定了‘九峰4号’人工授粉的座果率发现,‘中山24’与‘九峰4号’有一定亲和性,这与本文研究结果相同。姜成英等^[10]和史艳虎等^[25]在甘肃武都测定‘鄂植8号’与‘莱星’间人工授粉座果率,发现‘鄂植8号’与‘莱星’之间正反交授粉座果率均较高,二者间可以互为授粉树;而本文在四川凉山州油橄榄品种子代父本分析的研究发现,在‘鄂植8号’47个子代中,‘莱星’为父本的子代仅有1个,繁殖贡献率仅为2.13%,表明‘莱星’与‘鄂植8号’之间有亲和性,但亲和性较低。由此可见,相同品种在不同地点的亲和性具有一定的差异,可能是由于

气候条件或研究方法的不同。同时油橄榄园内品种配置也会影响亲和性研究结果,在本研究的园内,‘城固32’和‘贝拉特’与‘豆果’之间定植距离较近,‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘九峰4号’和‘鄂植8号’之间定植距离较近,可能会对研究试验结果有一定的影响。根据3个品种与候选父本之间的亲和性,结合品种间花期重叠性的观测结果,可为四川省凉山州油橄榄建园时的品种最适授粉树配置提供依据。以‘鄂植8号’和‘九峰4号’为主栽品种时,可配置‘克罗莱卡’或‘佛奥’为授粉树,以‘豆果’作为主栽品种时,‘城固32’和‘贝拉特’可作为授粉树进行品种配置。

本文对‘豆果’、‘鄂植8号’和‘九峰4号’自由授粉子代的父本分析,均未发现自交现象,

说明这3个品种在四川凉山州油橄榄园是自交不亲和。Diaz等^[8]和Marchese^[26]利用父本分析研究,也发现‘豆果’是自交不亲和;然而,De la Rosa等^[12]利用自花授粉和杂交授粉子代的父本分析法研究‘豆果’自交亲和性,发现在西班牙不同地区油橄榄园,‘豆果’自花授粉20个子代中,有2个是自交产生的,而在其杂交授粉的30个子代中,有1个是由于‘豆果’自身花粉污染产生的,说明‘豆果’具有一定的自交亲和性。姜成英等^[10]在甘肃陇南测定了不同年份‘鄂植8号’自花授粉座果率,发现‘鄂植8号’坐果率均较低;湖北省林科院^[17]于1987—1990年在湖北武昌测定了‘九峰4号’授粉座果率,发现‘九峰4号’自花授粉的座果率高于自由授粉和杂交授粉的。这些研究结果与本文研究结果有一定差异,是由于亲和性研究的测定方法不同。利用测定人工授粉座果率的方法,研究油橄榄品种亲和性,具有简单、直观、易操作等优点,但在授粉过程中,可能会存在花粉污染、授粉袋内外环境差异、花粉过多导致柱头堵塞等问题,还有树体营养竞争引起的落果,也会影响座果率。父本分析法具有准确性高、不受环境影响的优点,但只能利用子代进行父本分析,环境、营养竞争及树体自身状况对座果的影响均被忽略,所以会对品种亲和性研究结果产生一定的影响,甚至出现截然不同的研究结论^[7,12,27]。

气候条件、树体营养状况、品种自身遗传特性等许多因素,都会影响油橄榄品种亲和性,因而不同油橄榄品种亲和性有一定差异^[9]。如Gonzalez等^[27]在西班牙不同地点油橄榄园,对不同年份‘豆果’授粉座果率进行测定,以研究其自交不亲和性,发现‘豆果’在地点La Cañada的油橄榄园是自交不亲和的,而在地点Tabernas的油橄榄园是自交亲和的,并且2002年和2003年,‘豆果’自交亲和性亦有一定差异。因此,油橄榄品种亲和性因种植地点的不同,其自交亲和性存在差异,甚至同一地点测定年份的不同,其自交亲和性也有差异。由此可见,本文对油橄榄品种亲和性的研究结果,与他人的研究结果有一定差异,可能是由于测定年份、种植地点或试验方法不同造成的。由此可知,在不同种植地点对油橄榄品种亲和性,宜采用多种试验方法进行多年份测定,从而确定油橄榄品种间及品种内的亲和性。

5 结论

利用12个SSR标记对四川省西昌市3个油橄榄品种自由授粉子代进行父本分析,结果表明,‘城固32’和‘贝拉特’与‘豆果’亲和性较强,‘克罗莱卡’和‘佛奥’与‘鄂植8号’和‘九峰4号’亲和性均较强,且品种间花期重叠。‘城固32’或‘贝拉特’可以作为‘豆果’的最适授粉树;‘克罗莱卡’和‘佛奥’可以作为‘鄂植8号’和‘九峰4号’的授粉树。SSR标记和父本分析是研究油橄榄亲和性的有效工具,可以用于油橄榄品种亲和性的研究,从而为油橄榄建园时的品种配置提供依据,同时也为今后油橄榄育种时亲本的选择提供了依据。

参考文献:

- [1] 徐纬英. 中国油橄榄种质资源与利用[M]. 长春: 长春出版社, 2001.
- [2] 王有兵, 严毅, 周庆宏. 油橄榄研究进展[J]. 林业调查规划, 2013, 38(1): 39-44.
- [3] Cuevas J, Polito V S. Compatibility relationships in ‘Manzanillo’ olive[J]. Hortscience, 1997, 32: 1056-1058.
- [4] Lavee S, Taryan J, Levin J, et al. The significance of cross-pollination for various olive cultivars under irrigated intensive growing conditions[J]. Olivae, 2002, 91: 25-36.
- [5] Moutier N. Self-Fertility and Inter-Compatibilities of Sixteen Olive Varieties[J]. Acta Horticulturae, 2002, 586: 209-212.
- [6] Wu S B, Collins G, Sedgley M. Sexual compatibility within and between olive cultivars[J]. The journal of horticultural science and biotechnology, 2002, 77(6): 665-673.
- [7] Mookerjee S, Guerin J, Collins G, et al. Paternity analysis using microsatellite markers to identify pollen donors in an olive grove[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2005, 111(6): 1174-1182.
- [8] Diaz A, Martin A, Rallo P, et al. Self-incompatibility of ‘Arbequina’ and ‘Picual’ Olive Assessed by SSR Markers[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2006, 131(2): 250-255.
- [9] Shemer A, Biton I, Many Y, et al. The olive cultivar ‘Picual’ is an optimal pollen donor for ‘Barnea’ [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 172: 278-284.
- [10] 姜成英, 苏瑾, 吴平, 等. 甘肃陇南油橄榄主栽品种的最适授粉配置选择研究[J]. 西部林业科学, 2010, 9(1): 53-56.
- [11] Farinelli D, Tombesi A, Hassani D. Self-Sterility and Cross-Pollination Responses of Nine Olive Cultivars In Central Italy[J]. Acta Horticulturae, 2008, 791: 127-136.
- [12] De la Rosa R, James C M, Tobutt K R. Using Microsatellites for Paternity Testing in Olive Progenies[J]. Hortscience, 2004, 39(2): 351-354.
- [13] Arbeiter A, Jakse J, Bandelj D. Paternity Analysis of the Olive Variety ‘Istrska Belica’ and Identification of Pollen Donors by Micro-

- satellite Markers[J]. The Scientific World Journal, 2014(5): 1 - 6
- [14] 姜成英, 苏瑾, 赵亚萍, 等. 甘肃油橄榄主要栽培品种结实能力的测定[J]. 甘肃林业科技, 2007, 32(4): 32 - 35.
- [15] 王笑山, 淡克德. 城固油橄榄中试园主栽和授粉品种花期、花型及可配性测定结果[J]. 林业实用技术, 1985(12): 1 - 4.
- [16] 王笑山, 彭雪梅, 邓辅坤. 油橄榄中试园主栽品种佛奥及其授粉品种选配的研究[J]. 林业科学研究, 1989, 2(3): 239 - 246.
- [17] 湖北省林业科学研究所, 中国林科院林业研究所. 选配油橄榄授粉系的初步研究[J]. 湖北林业科技, 1981(3): 34 - 39.
- [18] Gharibzadeh R, Sharifan M, Khalighi A, et al. Selection of the best pollinizer for olive (*Olea europea* L.) cultivar 'Koroneiki' in Golestan province [J]. Journal of Agriculture Science and Technology, 2007, 21(2): 23 - 30.
- [19] De La Rosa R, James C M, Tobutt K R. Isolation and characterization of polymorphic microsatellites in olive (*Olea europaea* L.) and their transferability to other genera in the Oleaceae[J]. Molecular Ecology Notes, 2002, 2(3): 265 - 267.
- [20] Sefc K M, Lopes M S, Mendonca D, et al. Identification of microsatellite loci in olive (*Olea europaea*) and their characterization in Italian and Iberian olive trees[J]. Molecular Ecology, 2000, 9(8): 1171 - 1173.
- [21] Cipriani G, Marrazzo M T, Marconi R, et al. Microsatellite markers isolated in olive (*Olea europaea* L.) are suitable for individual fingerprinting and reveal polymorphism within ancient cultivars[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(2-3): 223 - 228.
- [22] Carriero F, Fontanazza G, Cellini F, et al. Identification of simple sequence repeats (SSRs) in olive (*Olea europaea* L.) [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 104(2-3): 301 - 307.
- [23] De la Rosa R, Belaj A, Munoz-Merida A, et al. Development of EST-derived SSR Markers with Long-core Repeat in Olive and Their Use for Paternity Testing[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 2013, 138(4): 290 - 296.
- [24] 李金花, 俞宁. 利用荧光 SSR 标记分析中国油橄榄品种遗传多样性[J]. 林业科学, 2012, 48(6): 47 - 55
- [25] 史艳虎, 姜成英, 朱振家, 等. 两个油橄榄品种的开花特性及橄榄园花粉流时空变化分析[J]. 甘肃农业大学学报, 2015, 50(1): 69 - 76.
- [26] Marchese A, Marra F P, Costa F, et al. An investigation of the self- and inter-incompatibility of the olive cultivars 'Arbequina' and 'Koroneiki' in the Mediterranean climate of Sicily. [J]. Australian Journal of Crop science, 2016. 10(1): 88 - 93.
- [27] Gonzalez M, Cuevas J. Cross-Pollination Response in 'Arbequina' Olive[J]. Acta Horticulturae, 2012, 949: 99 - 104.

(责任编辑:詹春梅)