

DOI:10.12171/j.1000-1522.20190399

北京油松人工林遗传结构变异及与 山西山系种群差异分析

贺快快 武文斌 张子杰 胡现铭 韩方旭 钮世辉 李 悦

(北京林业大学林木育种国家工程实验室, 林木花卉遗传育种教育部重点实验室, 北京 100083)

摘要:【目的】本研究旨在揭示与阐明北京主要油松人工林种群的遗传多样性、遗传结构与亲缘关系, 引种地对种群遗传结构及生长的影响, 尝试追溯其可能的种源, 为北京地区油松人工林培育与种质遗传管理提供参考。【方法】试验采用 7 对多态性高且扩增稳定的核基因组 EST-SSR 引物, 以北京地区 20 世纪营造的油松人工林 8 个种群和皇家园林的古油松 3 个种群及山西省五大山系的油松种群为试验对象, 分析种群遗传多样性、遗传结构和种群间的遗传距离等。【结果】结果表明: 3 类种群中, 北京人工林种群间遗传结构差异最大($F_{ST} = 0.066$), 山西五山系群体间遗传结构差异次之($F_{ST} = 0.033$), 古油松种群遗传结构差异最小($F_{ST} = 0.023$); 北京油松人工林和古油松种群均偏离 Hardy-Weinberg 平衡, 且呈现杂合子过剩状态, 其中古油松种群杂合子过剩更多; 在遗传距离 0.020 处北京人工林、古油松和山西五山系共 16 个油松种群聚为 3 类, 各种群之间的遗传距离较近, 遗传差异较小, 相似程度较高; EST-SSR 位点 J10、J20、J42 和 J50 在北京人工林、古油松和山西五山系中位点扩增频率差别大可用于未知种源的油松种群溯源。【结论】北京油松人工林种群较古油松种群有更丰富的遗传多样性和更大的遗传结构差异; 外来种质在引入地胁迫生境下的适合度差异导致部分植株被淘汰, 因此保留下来的种群遗传结构发生一定程度的改变; 试验为后续北京地区油松人工林的评价、培育和种质种源管理打下了基础。

关键词: 油松人工林; 古油松; SSR 标记; 遗传多样性; 遗传结构; 种源溯源

中图分类号: S791.254; S722.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-1522(2020)06-0033-10

引文格式: 贺快快, 武文斌, 张子杰, 等. 北京油松人工林遗传结构变异及与山西山系种群差异分析 [J]. 北京林业大学学报, 2020, 42(6): 33-42. He Kuaikuai, Wu Wenbin, Zhang Zijie, et al. Genetic structure variation of *Pinus tabulaeformis* plantations in Beijing and the differences with Shanxi mountain populations [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2020, 42(6): 33-42.

Genetic structure variation of *Pinus tabulaeformis* plantations in Beijing and the differences with Shanxi mountain populations

He Kuaikuai Wu Wenbin Zhang Zijie Hu Xiang Han Fangxu Niu Shihui Li Yue

(National Engineering Laboratory for Forest Tree Breeding, Key Laboratory of Genetic and Breeding in Forest Tree and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] The purpose of this study was to reveal the genetic diversity, genetic structure and genetic relationship of *Pinus tabulaeformis* populations in Beijing, and to explore the impact of introduced land on population genetic structure and growth, and to provide references for the cultivation and germplasm resource management of *P. tabulaeformis* in Beijing. [Method] Based on 7 pairs of highly and stable polymorphically nuclear genomic EST-SSR primers, the population genetic diversity, genetic structure and genetic distance were analyzed among 8 *P. tabulaeformis* populations planted in last century in Beijing, 3 ancient *P. tabulaeformis* populations and 5 mountain populations from Shanxi Province of northern China.

收稿日期: 2019-10-18 修回日期: 2020-03-01

基金项目: 国家重点研发项目(2017YFD0600500), 油松速生用材树种高效培育技术研究重大专项(201707-202012)。

第一作者: 贺快快。主要研究方向: 森林群体遗传学与针叶树遗传改良。Email: kuaihe1993@163.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者: 李悦, 博士, 教授。主要研究方向: 森林群体遗传学与针叶树遗传改良。Email: liyue@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

[Result] The genetic structure difference ($F_{ST} = 0.066$) was the maximum among Beijing plantation populations, the second was population from Shanxi Province ($F_{ST} = 0.033$), and the lowest was ancient populations ($F_{ST} = 0.023$). Both of the Beijing populations and ancient populations deviated from Hardy-Weinberg equilibrium and showed heterozygote excess, and the maximum heterozygote excess was in ancient *P. tabuliformis* populations. All of the populations could be clustered into 3 categories when genetic distance was 0.020 based on genetic distance analysis, showing near genetic distances among different populations, the level of evolutionary divergence and genetic differentiation were relatively low. The EST-SSR loci site amplification frequency of J10, J20, J42 and J50 in Beijing populations, ancient *P. tabuliformis* and Shanxi populations showed significant differences, which could be used for source tracing for unknown provenances. [Conclusion] The Beijing populations of *P. tabuliformis* have richer genetic diversity and higher genetic differentiation than ancient *P. tabuliformis*; some introduced provenances eventually phased out because of the difference in fitness under stress environment, resulting in the genetic structure has a certain amount of change for the retained population. Our study provides important theoretical foundation for the follow-up studies on the evaluation, cultivation and germplasm management of *P. tabuliformis* populations in Beijing.

Key words: *Pinus tabuliformis* plantation; ancient *Pinus tabuliformis*; SSR marker; genetic diversity; genetic structure; provenance tracing

树木种内不同地理起源的种群间在生长、适应性及形态特征上存在普遍的地理变异(geographic variation), 不当的跨生态区调拨种子可导致林分稳定性与生产力降低。造林地区通过对不同原产地或种源的种群做种源试验(provenance trial), 阐明种群间的性状变异特点与规律, 为造林地区的人工林高效培育选择生长与适应性均佳的优良种源^[1]。世界范围的林木种源试验始于 20 世纪初期^[2-3], 中国主要造林树种的种源试验多始于 80 年代, 50 年代到 80 年代大规模营造人工林未考虑地理种源因素, 树种全分布区内的商业性调种造林现象十分普遍, 对跨种子区(seed zone)营建的人工林苗期和幼树的研究显示该现象对林分的稳定性和质量产生不同程度的影响^[4]。树木种群是经过数百万年复杂生境的进化产物, 具备对环境变化的一定适应性调节能力, 且树木种群中也存在较为丰富的个体间适应性遗传变异。引种地生境的选择效应会对外来种群的遗传结构产生影响, 由适合个体组成的林分会有更好的稳定性。对不同树龄阶段侧柏(*Platycladus orientalis*)地理种群的研究显示, 早晚期种群的适应性与生长表现了不同规律, 且地理种群间的差异随树龄增加而减小, 可能是适应性进化与驯化的效应^[5]。

油松(*Pinus tabuliformis*)是有较高经济与生态价值的针叶树种, 分布于中国东北、华北、中原和西部地区^[6-7], 曾是北京周边山区的重要乡土树种^[8]。经数千年采伐利用和战乱破坏, 至 1949 年北京及相邻河北北部大范围山地已为荒山或次生林, 仅在人际罕至的山顶部有小面积的天然油松林, 或皇家园

林的百年古树(有可能是北京种源)。20 世纪 50 年代后北京地区启动人工造林项目, 至今利用外来种源营建的油松人工林面积已占北京人工林总面积的 23.2%^[4,9]。根据有关资料记载 1963 年—1975 年山西省支援北京市油松种子 4×10^5 kg, 其中关帝和太岳林区为主要供种地^[10]。山西省是油松中心分布区, 该省内油松主要分布在五山系即管涔山、中条山、太岳山、关帝山和太行山。北京位于油松种子区的东北区, 而山西省主要位于中部区^[4], 不经种源试验的跨种子区用种可能对北京地区油松人工林未来的稳定性与生产力带来不确定影响。北京皇家园林的古油松多长势良好, 而一些外来种源营建的人工林则表现了较差的树高长势。研究北京地区油松人工林的遗传多样性和遗传结构的特点与变异, 对认识其林分的群体遗传基础、科学管理、利用油松种质以及林木种质遗传多样性的研究具有积极的理论和实际意义。

山西省油松的生长和适应性在山系内林分间近似, 在山系间则有显著差异^[11-12], 各山系种群的遗传结构特征可用序列表达标签(EST-SSR)鉴别^[13]。利用 EST-SSR 分子标记解析北京油松种群的遗传结构, 并基于本课题组已有山西五山系地理种群的遗传资料, 进一步构建北京种群和山西五山系种群的遗传关联, 为推测北京人工林可能的地理种源提供参考。目前利用分子标记的人工林产地溯源鲜有报道, 林业发达国家造林对种源有严格规范, 很少有种源不清问题, 中国除造林单位自采种和良种基地供种外, 社会育苗和种子调拨很少关注种源。本研究

以北京油松人工林和古油松为试验对象, 山西五山系油松地理种群的遗传结构为参照, 借助油松核基因组 EST-SSR 分子标记和种群遗传分析方法, 拟 (1) 揭示北京油松人工林和古油松种群遗传多样性和遗传结构特点; (2) 阐明北京油松人工林与古油松的遗传差异; (3) 构建北京油松种群与山西五山系油松种群的遗传关联, 追溯北京油松人工林种群可能的地理种源; (4) 探讨影响人工林种群遗传结构变化的主要因素。为北京地区油松人工林的评价、培育和种质种源管理提供相应信息, 对其他树种的人工林溯源亦有一定参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验样地与材料

北京地区油松人工林样本采自十三陵林场 (SSL)、八达岭林场 (BDL)、九龙山林场 (JLS)、密云水库林场 (MY)、鹫峰林场 (JF)、西山林场 (XS)、石湖峪林场 (SHY) 和妙峰山林场 (MFS) 共 8 个种群, 北京古油松样本采自以香山公园为中心的皇家园林 (GS1)、明十三陵 (GS2) 和戒台寺 (GS3) 共 3 个种群, 山西五山系油松地理种群样地基本情况来源于

张新波论文资料^[14]。4—5 月采集当年生针叶 (随机取样每株 40 根), 北京人工林的样株间距大于 50 m, 古油松采集树龄 200 年以上植株^[15], 标记样本信息并装于塑封袋, -20 ℃ 冰箱中保存备用。各试验林种群地理位置、林龄、林分年均高和采集样本数量见表 1。

1.2 油松基因组 DNA 的提取与浓度测定

植物基因组 DNA 提取试剂盒 (离心柱型) (TIANGEN 公司, 北京) 提取样本核基因组 DNA。1% 琼脂糖凝胶电泳和超微分光光度计 (NanoDrop2000, Thermo Fisher Scientific, USA) 检测样本 DNA 的完整性、质量和浓度, 置于 -20 ℃ 冰箱冷冻保存待用。

1.3 引物筛选

引物筛选是在本课题组已有的油松核基因组 EST-SSR 引物的基础上^[13,16], 重复筛选得到的 7 对多态性高、扩增稳定且重复性好的引物 (表 2), EST-SSR 与传统的从核基因组开发的 SSR 相比具有低成本高转移性的优点。

1.4 SSR-PCR 反应体系和程序

PCR 体系分为两步, 第一步反应体系为 10 μL, 包括样本 DNA 1 μL, 前、后引物各 0.4 μL, 优博兰 2 × Taq Mixture 5 μL, ddH₂O 补足 10 μL。PCR 的扩

表 1 供试油松种群基本情况

Tab. 1 General information of sampling stands of *Pinus tabulaeformis*

项目 Item	种群 Population	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude/m	树龄/a Stand age/year	年均高 Annual average height/cm	样本数 Sample plant number
北京人 工林 Beijing plantation	JF	116°28' E	39°54' N	450	69	14.493	36
	JLS	115°59' E	39°54' N	751	43	24.419	36
	MFS	116°01' E	40°03' N	180	45	27.333	30
	MY	116°49' E	40°29' N	75	45	15.778	36
	XS	116°05' E	40°03' N	145	64	12.969	35
	SSL	116°16' E	40°15' N	170	30	21.667	30
	BDL	115°56' E	40°22' N	676	45	17.111	33
	SHY	116°32' E	40°40' N	600	59	20.339	36
古油松 Ancient <i>P.</i> <i>tabulaeformis</i>	GS1	116°10' E	39°59' N	135	> 100	—	31
	GS2	116°14' E	40°17' N	180	> 200	—	102
	GS3	116°04' E	39°52' N	300	> 200	—	18
山西五 山系 Five mountain populations in Shanxi Province	GCS	112°01' E	38°36' N	1 650	21	24.762	52
	GDS	111°42' E	37°29' N	1 655	21	40.476	66
	THS	113°31' E	37°39' N	1 412	21	27.143	32
	TYS	112°04' E	37°37' N	1 496	21	33.333	20
	ZTS	112°01' E	35°44' N	1 519	21	32.381	18

注: JF. 鹫峰林场; JLS. 九龙山林场; MFS. 妙峰山林场; MY. 密云水库; XS. 西山林场; SSL. 十三陵林场; BDL. 八达岭林场; SHY. 石湖峪林场; GS1. 以香山公园为中心的皇家园林; GS2. 明十三陵; GS3. 妙峰山; GCS. 管涔山; GDS. 关帝山; THS. 太行山; YYS. 太岳山; ZTS. 中条山。GS1, GS2, GS3 树龄过大, 暂不考虑胸径与树高的关系。下同。Notes: JF, Jiufeng Forest Farm; JLS, Jiulongshan Forest Farm; MFS, Miaofengshan Forest Farm; MY, Miyun Reservoir; XS, Xishan Forest Farm; SSL, Shisanling Forest Farm; BDL, Badaling Forest Farm; SHY, Shihuyu Forest Farm; GS1, royal garden centered by Xiangshan Park; GS2, Ming Shisanling Tombs; GS3, Miaofengshan Mountain; GCS, Guancenshan Mountain; GDS, Guandishan Mountain; THS, Taihangshan Mountain; YYS, Taiyuanshan Mountain; ZTS, Zhongtiaoshan Mountain. Since GS1, GS2, and GS3 are too old, the relationship between DBH and tree height is not considered. The same below.

表 2 油松 PCR 检测 SSR 引物

Tab. 2 SSR primers for PCR detection of *P. tabuliformis*

引物名称 Primer name	前引物序列 Former primer sequence (5'→3')	后引物序列 Back primer sequence (5'→3')	荧光修饰 Fluorescent modification	片段长度 Fragment length/bp
J9	GTTTGCAGTGAAAGCATGAAAG	GCACCAATTCCTTCTCAAATTC	HEX	244 ~ 253
J10	GTCGACACTCCAGGGTAGATTC	ATATCATCAGCTAATTGTGCGG	TAMRA	254 ~ 257
J20	CACCTCCGTAGTTTGTATGTTCC	CGATGTATCGTGTACACAGCCT	FAM	150 ~ 170
J29	AGTCCGAATGTCTTCTTTCTGC	TATGGAACGAATCAGAGATGACG	FAM	182 ~ 200
J42	AACCTGTCATCCAGTTCCTGTT	TTGTCAAATTCCAATTCAGCAC	TAMRA	251 ~ 269
J48	GAAGAGGAAGACGAAATGGATG	CTTTACATTTACCGCCTCTGCT	ROX	262 ~ 268
J50	TCATCCATTTCATAGCACGAC	GTAGCTGCTTGGCCTGATTATC	HEX	235 ~ 244

注：引自参考文献[16]。Note: cited from reference [16].

增程序为：95 ℃ 预变性 5 min；95 ℃ 变性 30 s，65 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 30 s，该过程循环 35 次；最后，72 ℃ 延伸 10 min，4 ℃ 保存。第二步反应体系为 20 μL，包括第一步产物 3 μL，带有荧光染料的 M13 接头和后引物各 0.6 μL，优博兰 2 ×Taq Mixture 10 μL，ddH₂O 补足 20 μL。PCR 的扩增程序为：95 ℃ 预变性 5 min；95 ℃ 变性 30 s，58 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 延伸 30 s，该过程循环 33 次；最后，72 ℃ 延伸 10 min，4 ℃ 保存。

1.5 数据分析

PCR 扩增产物由北京睿博兴科生物技术有限公司用毛细管电泳法检测，用 GeneMarker 2.2.0 (<https://softgenetics.com/GeneMarker.php>) 软件进行峰值读取，Excel 记录结果数据；通过 POPGENE 1.3.1 (<https://www.biocompare.com/>) 软件，进行种群遗传变异与遗传多样性参数分析，包括观测等位标记数 (Na)、有效等位标记数 (Ne)、观测杂合度 (Ho)、期望杂合度 (He) 和 Shannon's 信息指数 (I)；对不同种群之间的遗传结构差异进行分析，包括群体内的固定指数 (F_{IS})、总群体的固定指数 (F_{IT})、群体间遗传分化系数 (F_{ST}) 和基因流 (Nm)，得到不同种群间的遗传一致度 (genetic identity, GI) 和遗传距离 (genetic distance, GD) 等参数，运用 MEGA 7.0 (<https://www.megasoftware.net/>) 软件基于 Nei's 遗传距离生成 UPGMA 聚类图；计算各位点间差异显著性。

2 结果与分析

2.1 SSR 位点在 16 个种群中扩增的多态性分析

7 对引物检测北京和山西 16 个油松种群 658 株样本，扩增结果见表 3，7 个 SSR 位点在全部样本中共检测出 23 个等位标记数目，各种群等位标记数目范围为 16 ~ 22 个，种群 JLS、GS3 和 ZTS 的等位标记数最少只有 16 个，种群 GCS 的等位标记数最多有 22 个；除位点 J29 在种群 JF、MFS、XS 和 GS3 中无多态性，其余位点均在不同种群中扩增出 2 ~ 4 个

等位标记数；位点 J29 在不同种群间的等位标记频率差异很小，各种群间扩增情况相似；等位标记 J42-A 和 J42-D 在不同种群中扩增频率差异大，依次波动于 0.0% ~ 50.0% 和 40.3% ~ 94.8% 之间；等位标记 J10-A 在北京人工林、古油松和山西五山系中频率差异很大，在北京人工林种群和古油松种群中约有 90% 的扩增，而在山西五山系中只有 65% 的扩增；等位标记 J20-D、J50-C 和 J50-D 在北京人工林种群和山西五山系中均有低频扩增，而在北京古油松中的扩增为 0；即：同一位点在不同种群中的等位标记多态性存在差异，同样，各位点在同一种群中的等位标记多态性也存在差异。

对 16 个油松种群等位标记频率差异性进行卡方检验，7 个位点等位标记频率差异显著 ($P < 0.05$)，试验数据可以用于进行下一步分析。

2.2 油松种群遗传多样性

对 16 个油松种群的遗传多样性分析见表 4，Ne、He 和 I 3 个指标常用来衡量遗传多样性。不同种群的 Na 和 Ne 依次是 2.286 ~ 3.143 和 1.297 ~ 1.732，Na 种群 GDS 最高，种群 JLS 和 ZTS 最低，Ne 种群 BDL 最高，种群 MFS 最低；I 变化于 0.354 ~ 0.661，种群 BDL 最高，种群 MFS 最低；Ho 和 He 分别为 0.210 ~ 0.428 和 0.204 ~ 0.397，Ho 种群 TYS 最高，种群 XS 和 SSL 最低，He 种群 BDL 最高，种群 MFS 最低；Hardy-Weinberg 平衡偏离指数 (D) 可由和计算得到 $D = (Ho - He)/He$ ， $D > 0$ 时，表现为杂合子过剩， $D < 0$ 时，表现为杂合子缺失；计算各种群的 Hardy-Weinberg 平衡偏离指数，其中种群 XS、SSL、BDL、GS1 和 GDS 的 $D < 0$ ，表现杂合子缺失，在剩余 11 个种群中 $D > 0$ ，表现杂合子过剩；极值比可以反应各种群间遗传结构差异的程度，除在 Na 中表现为山西五山系种群 > 北京人工林种群 > 古油松，Ne、I、Ho 和 He 均是北京人工林种群 > 山西五山系种群 > 古油松，说明北京油松人工林种群之间

表 3 16 个油松种群各位点等位标记频率

Tab. 3 Allele frequency of each locus in the 16 populations of *P. tabuliformis*

引物 Primer	等位标记 Allele marker	北京人工林 Beijing plantation								古油松 Ancient <i>P. tabuliformis</i>			山西五山系 Five mountain populations in Shanxi Province				
		JF	JLS	MFS	MY	XS	SSL	BDL	SHY	GS1	GS2	GS3	GCS	GDS	THS	TYS	ZTS
J9	A	0.281	0.375	0.267	0.235	0.242	0.014	0.106	0.043	0.133	0.189	0.222	0.144	0.242	0.219	0.150	0.167
	B	0.719	0.625	0.733	0.765	0.758	0.987	0.894	0.957	0.867	0.811	0.778	0.856	0.758	0.781	0.850	0.833
J10	A	0.941	0.985	0.981	0.956	0.982	0.865	0.879	0.917	0.983	0.995	0.972	0.692	0.677	0.609	0.675	0.750
	B	0.059	0.015	0.019	0.044	0.018	0.135	0.121	0.083	0.017	0.005	0.028	0.308	0.323	0.391	0.325	0.250
J20	A	0.015	—	0.019	0.106	0.056	0.028	0.016	—	0.035	0.026	—	0.040	0.074	0.048	0.079	0.094
	B	0.632	0.786	0.904	0.697	0.852	0.778	0.688	0.889	0.931	0.871	0.941	0.890	0.787	0.774	0.842	0.594
	C	0.353	0.214	0.077	0.167	0.093	0.153	0.297	0.111	0.035	0.103	0.059	0.070	0.131	0.129	0.079	0.313
	D	—	—	—	0.030	—	0.042	—	—	—	—	—	—	0.008	0.048	—	—
J29	A	—	—	—	0.015	—	0.015	0.206	0.063	0.024	0.014	—	0.010	0.015	—	—	—
	B	1.000	0.881	1.000	0.970	1.000	0.941	0.677	0.906	0.857	0.892	1.000	0.933	0.879	0.984	0.950	0.944
	C	—	0.095	—	0.015	—	—	0.118	0.031	0.119	0.081	—	0.048	0.099	—	0.050	0.056
	D	—	0.024	—	—	—	0.044	—	—	—	0.014	—	0.010	0.008	0.016	—	—
J42	A	0.167	0.500	0.017	0.329	—	0.014	0.210	0.014	0.050	0.015	0.028	0.010	—	0.016	—	—
	B	0.046	—	0.017	0.014	0.016	0.069	0.032	0.014	0.050	0.069	0.056	0.039	0.048	0.177	0.025	0.028
	C	0.015	—	0.017	0.043	0.047	0.264	0.210	0.306	0.383	0.157	0.250	0.206	0.318	0.403	0.225	0.222
	D	0.773	0.500	0.948	0.614	0.938	0.653	0.548	0.667	0.517	0.760	0.667	0.745	0.635	0.403	0.750	0.750
J48	A	0.206	0.208	0.100	0.177	0.132	0.176	0.197	0.194	0.242	0.142	0.222	0.200	0.269	0.313	0.290	0.028
	B	0.721	0.736	0.800	0.691	0.765	0.757	0.727	0.722	0.710	0.784	0.722	0.750	0.723	0.688	0.684	0.972
	C	0.074	0.056	0.100	0.132	0.103	0.068	0.076	0.083	0.048	0.074	0.056	0.050	0.008	—	0.026	—
J50	A	0.221	0.157	0.232	0.177	0.206	0.216	0.242	0.250	0.183	0.314	0.361	0.125	0.156	0.188	0.175	0.167
	B	0.779	0.843	0.768	0.824	0.750	0.743	0.758	0.722	0.817	0.686	0.639	0.875	0.828	0.797	0.825	0.833
	C	—	—	—	—	0.029	—	—	—	—	—	—	—	0.008	0.016	—	—
	D	—	—	—	—	0.015	0.041	—	0.028	—	—	—	—	0.008	—	—	—
合计 Total	23	17	16	17	20	18	21	19	19	19	19	16	20	22	19	17	16

注: 各等位SSR标记排序按照扩增产物片段从小到大的顺序; 山西省五山系油松地理种群的各位点多样性数据来源于武文斌试验原始数据^[13]。
Notes: each allelic SSR markers are sorted according to the order of amplification product fragments from small to large; the diversity data of the geographical distribution of *P. tabuliformis* in Shanxi Province are derived from the original data of professor Wu Wenbin^[13].

遗传差异最大, 古油松之间的遗传差异最小。

2.3 各位点在油松种群中遗传分化

7 个位点在 16 个油松种群间的遗传分化结果见表 5, 除位点 J20、J29 和 J50 外, 其余各位点 F_{IS} 均为负值, 平均为- 0.076, 说明样本油松群体内杂合子过剩, 其中古油松 F_{IS} 为- 0.102, 种群内杂合子过剩最多, 而山西五山系 F_{IS} 为- 0.068, 种群内杂合子过剩最少; F_{IT} 在 J9、J10 和 J48 3 个位点中为负值, 即 $F_{IT} < 0$, 其余 4 个位点 $F_{IT} > 0$, 平均为- 0.001, 表明油松总样本种群杂合子过剩, 其中古油松 F_{IT} 是- 0.077, 北京人工林 F_{IT} 是- 0.001; F_{ST} 在各位点间波动于 0.021 ~ 0.151, 平均为 0.070, 即平均遗传分化为 7%, 表明 7% 的遗传变异存在种群间, 而 93% 的遗传变

异存在种群内, 种群内的变异是遗传变异的主要来源, 其中人工林 F_{ST} 高达 0.066, 种群间存在中等程度的遗传结构变异, 而古油松和山西五山系种群间遗传结构变异程度较低, F_{ST} 依次是 0.023 和 0.033^[17], 北京人工林种群之间遗传结构差异最大, 古油松种群间遗传结构差异最小, 该结果和极值比的结果一致。

2.4 种群间遗传距离与系统关系

遗传距离(GD)可衡量种群间亲缘关系远近, 遗传一致度(GI)是衡量种群间遗传相似性参数, 表 6 显示 16 个油松种群间遗传距离和遗传一致度变化范围为 0.009 ~ 0.093 和 0.911 ~ 0.999, 说明种群间遗传相似程度较高, 遗传距离较小。基于样本 16 个

表 4 16 个油松种群遗传多样性

Tab. 4 Genetic diversity of 16 *P. tabuliformis* populations

项目 Item	种群 Population	Na	Ne	<i>I</i>	Ho	He	<i>D</i>
北京人工林 Beijing plantation	JF	2.429	1.513	0.503	0.367	0.310	0.184
	JLS	2.286	1.536	0.503	0.417	0.323	0.291
	MFS	2.429	1.297	0.354	0.237	0.204	0.162
	MY	2.857	1.569	0.562	0.343	0.327	0.049
	XS	2.571	1.341	0.406	0.210	0.227	-0.075
	SSL	3.000	1.479	0.528	0.210	0.294	-0.286
	BDL	2.714	1.732	0.661	0.271	0.397	-0.317
	SHY	2.857	1.437	0.482	0.414	0.278	0.489
极值比 Extremum ratio		1.312	1.335	1.867	1.985	1.946	—
古油松 Ancient <i>P.</i> <i>tabuliformis</i>	GS1	2.857	1.487	0.496	0.239	0.285	-0.161
	GS2	2.857	1.423	0.488	0.310	0.277	0.119
	GS3	2.286	1.467	0.449	0.303	0.227	0.094
	极值比 Extremum ratio	1.249	1.044	1.104	1.297	1.028	—
山西五山系 Five mountain populations in Shanxi Province	GCS	2.857	1.439	0.504	0.302	0.291	0.038
	GDS	3.143	1.608	0.608	0.315	0.370	-0.149
	THS	2.714	1.731	0.617	0.400	0.382	0.047
	TYS	2.429	1.494	0.517	0.428	0.321	0.333
	ZTS	2.286	1.479	0.479	0.311	0.297	0.047
极值比 Extremum ratio		1.374	1.202	1.288	1.417	1.312	—

注: Na. 观测等位标记数; Ne. 有效等位标记数; *I*. Shannon's 信息指数; Ho. 观测杂合度; He. 期望杂合度; *D*. Hardy-Weinberg 平衡偏离指数; 极值比: 在同类地理种群中某一参数值的最大值与最小值的比值。Notes: Na, number of observed alleles; Ne, effective alleles; *I*, Shannon's information index; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; *D*, Hardy-Weinberg balance deviation index; extremum ratio: ratio of the maximum value to the minimum value of a parameter value in the same large geographic population.

表 5 16 个油松种群中的 *F* 统计量

Tab. 5 *F*-statistics in 16 *P. tabuliformis* populations

参数 Parameter	J9	J10	J20	J29	J42	J48	J50	平均值 Mean	北京人工林 Beijing plantation	古油松 Ancient <i>P.</i> <i>tabuliformis</i>	山西五山系 Five mountain populations in Shanxi Province
<i>F</i> _{IS}	-0.282	-0.360	0.217	0.228	-0.057	-0.193	0.016	-0.076	-0.071	-0.102	-0.068
<i>F</i> _{IT}	-0.217	-0.155	0.266	0.287	0.068	-0.162	0.005	-0.001	-0.001	-0.077	-0.033
<i>F</i> _{ST}	0.051	0.151	0.062	0.078	0.119	0.026	0.021	0.070	0.066	0.023	0.033
Nm	4.657	1.402	3.763	2.973	1.860	9.328	11.593	3.314	3.552	10.806	7.311

注: *F*_{IS}. 群体内的固定指数; *F*_{IT}. 总群体的固定指数; *F*_{ST}. 群体间遗传分化系数; Nm. 基因流。Notes: *F*_{IS}, fixed index in population; *F*_{IT}, fixed index of total population; *F*_{ST}, coefficient of genetic differentiation among populations; Nm, gene flow.

油松种群间的 Nei's 遗传距离通过软件 MEGA7.0 进行 UPGMA 聚类分析, 结果见图 1, 可以看出当遗传距离在 0.020 左右时, 16 个油松种群可以分为 3 大类。第一大类(Ⅰ类)包括 10 个种群, 其中古油松 GS1、GS2 和 GS3 与北京人工林 SSL 和 SHY 在遗传距离 0.010 处聚为第一亚类, 而后与北京人工林 JF、MY、MFS 和 XS 一起聚为第一大类; 第二大类(Ⅱ类)由山西的五山系种群构成, 并显示山系种群间有一定遗传距离, 其中位于山西省中部的 3 个种

群 GDS、GCS 和 TYS 间具有较近遗传距离; 北京人工林种群 JLS 单独构成第三大类(Ⅲ类)。

3 讨 论

3.1 北京油松人工林的遗传结构及其与古油松种群差异

8 个北京油松人工林种群在遗传结构上均表现出偏离遗传平衡的特点。种群 JF、JLS、MFS、MY 和 SHY 表现为杂合子过剩, 种群 XS、SSL 和 BDL 则

表 6 北京 11 个油松种群和山西五山系油松种群的遗传一致度和 Nei's 遗传距离

Tab. 6 Genetic identity and genetic distance of 11 *P. tabulaeformis* populations in Beijing and *P. tabulaeformis* populations in five mountain populations in Shanxi Province

种群 Population	JF	JLS	MFS	MY	XS	SSL	BDL	SHY	GS1	GS2	GS3	GCS	GDS	THS	TYS	ZTS
JF	—	0.971	0.981	0.988	0.983	0.967	0.966	0.962	0.950	0.977	0.969	0.960	0.958	0.931	0.960	0.970
JLS	0.030	—	0.951	0.986	0.949	0.932	0.956	0.935	0.946	0.952	0.948	0.932	0.934	0.911	0.927	0.927
MFS	0.019	0.051	—	0.975	0.999	0.969	0.950	0.973	0.961	0.991	0.983	0.971	0.959	0.922	0.967	0.962
MY	0.012	0.014	0.026	—	0.976	0.969	0.972	0.967	0.966	0.976	0.970	0.962	0.958	0.936	0.959	0.958
XS	0.017	0.053	0.001	0.024	—	0.974	0.953	0.976	0.964	0.992	0.983	0.973	0.962	0.926	0.970	0.964
SSL	0.034	0.070	0.032	0.031	0.027	—	0.978	0.996	0.983	0.984	0.981	0.984	0.978	0.965	0.983	0.976
BDL	0.034	0.046	0.051	0.028	0.048	0.022	—	0.979	0.973	0.972	0.961	0.962	0.963	0.942	0.959	0.964
SHY	0.039	0.067	0.028	0.033	0.024	0.004	0.021	—	0.991	0.989	0.989	0.982	0.976	0.959	0.980	0.964
GS1	0.059	0.055	0.040	0.035	0.037	0.017	0.028	0.009	—	0.982	0.985	0.972	0.974	0.960	0.970	0.948
GS2	0.023	0.049	0.009	0.025	0.008	0.016	0.029	0.011	0.018	—	0.994	0.973	0.968	0.939	0.970	0.965
GS3	0.032	0.053	0.018	0.030	0.017	0.019	0.040	0.012	0.016	0.006	—	0.970	0.969	0.953	0.971	0.951
GCS	0.041	0.070	0.029	0.039	0.027	0.016	0.039	0.019	0.028	0.027	0.030	—	0.994	0.975	0.998	0.976
GDS	0.043	0.069	0.041	0.043	0.039	0.022	0.038	0.025	0.027	0.033	0.032	0.006	—	0.987	0.995	0.976
THS	0.072	0.093	0.081	0.066	0.077	0.036	0.060	0.042	0.041	0.063	0.049	0.025	0.013	—	0.978	0.953
TYS	0.041	0.076	0.033	0.042	0.030	0.018	0.042	0.020	0.031	0.030	0.030	0.002	0.005	0.022	—	0.972
ZTS	0.030	0.076	0.039	0.043	0.036	0.025	0.037	0.036	0.053	0.036	0.050	0.025	0.024	0.048	0.029	—

注：对角线以上为遗传相似度，对角线以下为遗传距离。Notes: above diagonal represents Nei's genetic identity, below diagonal represents genetic distance.

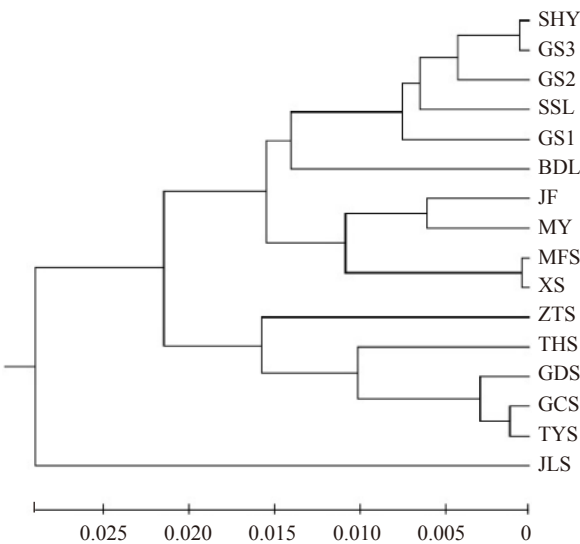


图 1 7 对引物分析北京油松种群和山西油松种群的 Nei's 遗传距离 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA clustering map of Nei's genetic distance for Beijing and Shanxi *P. tabulaeformis* populations analysed by 7 pairs of primers

表现为杂合子不足的状态，说明引种地环境的选择效应与人工林培育过程的驯化作用对群体的遗传结构产生了不同的影响。样本中所有种群的期望杂合度远大于 Vendramin 等^[18]所提出的遗传衰退临界值 ($H < 0.05$)，人工林各种群期望杂合度普遍大于古油

松各种群期望杂合度有更高的遗传多样性，说明引入的外来油松种群在幼龄至成林阶段经受了较大的选择压力，而位点杂合度较高个体有更大的选择适合度。北京古油松主要分布于皇家园林、帝王陵墓或者寺庙等地，虽然为人工林，但其种源没有记载，由于百年以前北京周边山区仍有当地起源油松林，择优采种育苗，用于皇家园林营建是有可能的。且限于当时的交通条件，经由他省为古油松造林调种的可能性较小，故皇家园林的古油松可能源于北京本地。古油松种群的遗传结构亦均处于非遗传平衡状态，并表现出较高的杂合子过剩，反映了北京皇家园林的古油松种群经过数百年栽培驯化后的种群遗传结构特性，样本植株有较高的杂合度，推测利杂的适合度可能是较高杂合度主因，且景观需要也可能是其保留的人为因素。从一个侧面也反映了在油松人工林的生长过程中选择与驯化作用具有一定的利杂趋势^[19-20]。

7 对引物的分析结果表明北京油松人工林种群遗传多样性普遍大于古油松种群遗传多样性，也显示古油松有效种群的规模有限，遗传型有共同起源与选择效应的特点。北京油松人工林种群的有效等位标记数、期望杂合度和 Shannon's 多样性指数 3 个指标在 3 类种群中均为最高值，故遗传多样性最高，

这与人工林种质可能来自不同山系种源、人工林的抚育方法、不同种群间生境的差异以及不同来源种群的驯化效应不同有关。虽然油松人工林的遗传变异主要存在于种群内,符合大多数林木种群遗传变异的遗传结构特征和规律^[21-22],但与山西五山系种群和古油松种群相比,有更高的种群间遗传变异,也从另一侧面说明了油松人工林种群的种质来源与进化因素影响的复杂性。

3.2 北京油松人工林和山西五山系油松种群的遗传结构差异及其遗传关联

同一位点在不同种群中等位标记频率差异是种群间遗传多样性和遗传结构变异的基础^[23-24]。由表3不同位点在样本种群中的检测结果可知,各等位标记频率在不同类别油松种群中呈现出一定的差异趋势,等位标记 J10-A 在北京地区油松人工林和古油松种群中的扩增频率相似且很高,而在山西五山系油松种群中扩增频率较低; J42-A 在北京人工林中频率较高,在古油松群体中频率则较低,而在山西五山系种群中有最低值且部分群体为零。位点 J10、J20、J42 和 J50 较位点 J9、J29 和 J48 在 3 类种群中的等位标记检测频率差别较大,可能对生境选择更敏感。同一位点不同等位标记在不同种群间、种群类别间检测到的频率差异是检测种群间遗传结构差异和遗传分化的基础,而非中性标记(如部分 EST-SSR 标记)检测结果在一定程度上可以反映生境对种群的选择效应。等位标记 J20-B 在北京人工林种群和山西五山系种群的扩增频率相似,与古油松存在明显差异,说明该等位标记为北京人工林和山西种群的特征,由于两者具有共同来源关系,该标记的稳定表现,可能没有受北京生境选择影响。

3 类油松种群间的遗传距离表现了亲缘关系的相对远近。16 个油松种群被分为 3 大类,其中古油松 GS1、GS2 和 GS3 位于第一大类(I类)的第一亚类内,其他北京人工林(除 JLS)同聚在第一大类内,而山西的五山系种群则均处于第二大类(II类)内,显示北京地区的油松人工林和古油松间具有相对较近的亲缘关系,并与山西五山系油松种群间有一定亲缘差异,根据我们的调查资料显示^[10],北京地区近代的油松人工林种子多来自山西种源,特别是当年主要供种的关帝山(GDS)和太岳山(TYS),从人工林的种质溯源分析角度看,两者间应该有较密切的亲缘关系,而我们的分析结果却不能提供可靠的溯源证据,这可能与采用的分子标记(EST-SSR)有关。

北京油松人工林种群未能按照试验预期与山西五山系种源溯源,导致这一结果的可能原因有:山西五山系的油松生长在夏季凉爽湿润的 1 300~1 400 m

高海拔气候环境,而北京油松引种地多是 100~200 m 低山,夏季高温湿热,较山西地区温度高且降水多。自然气候条件的差异对不同个体产生选择压力,种群内不同个体间的适合度存在差异,油松种子适应度差异表现在从种子发芽^[25]、生长、发育到形成成熟植株,各个阶段能够存活下来的植株适应北京地区生境气候条件,不适应的则死亡或者被淘汰,试验选择的对象树龄多在 40~60 年,已经经过苗期到成林阶段的北京地区低海拔生境强度选择保留下来的种群,由于这个种群的许多个体遭到淘汰,种群的遗传结构势必遭到改变^[26]。本试验借助的 EST-SSR 分子标记是来源于核基因组编码区的非中性共显性标记,由于引入种群在较大差异生境下不同遗传型的适合度差异可导致其遗传结构改变,而所用编码区标记中一些可能与适合度关联,故表现了北京人工林种群有别与供种地种群的遗传结构特点。利用这些标记对山西各山系地理种群遗传结构解析中发现,种群遗传结构的变异与生境的湿热比密切相关^[13],间接说明这些标记与生境存在一定关联,但因缺乏油松功能基因组信息,现尚不能找到这些 EST-SSR 标记所关联的基因功能。因此,对已有基因组信息物种的相关研究,在利用 EST-SSR 标记解析种群遗传结构和构建种群间系统学关系时,应尽量了解这些编码区标记所关联基因的功能,利用与适合度关联标记研究现实种群遗传结构与生态效应,利用与非适合度关联标记构建种群间系统关系。北京九龙山种群(JLS)在北京人工林种群中海拔位置最高(750 m),相对较高海拔高度与偏北的纬度效应,可能使引种地对外来种质的进化影响变小,故而与山西五山系种群间相对北京种群有更近遗传距离。

树高是评价森林生产力的重要指标^[27],北京油松人工林年均高生长量在 12.969~27.333 cm,山西五山系油松林年均高生长量在 24.763~40.476 cm,显示为北京油松人工林树高生长显著低于山西油松生长水平,说明山西高海拔生境更适宜于油松林分生长,而北京的低山生境则对油松的生长量有显著的胁迫影响,两地海拔导致的气象因子显著差异可能是影响油松生产力的主因,而这种高、低海拔生境的差异势必对种群中个体的适合度产生显著影响,进而导致种群遗传结构的改变,使引入的人工林种群表现了普遍偏离遗传平衡状态的现象。因此,也从种群遗传结构变化角度,说明海拔高度对于油松的适应性与生长表现有较大的影响。

3.3 利用编码序列 EST-SSR 标记进行人工林亲缘关系鉴定的可能性与局限

北京人工林种群与古油松在遗传距离上更近,

离山西五山系的遗传关系较远, 山西五山系种质在北京引种地胁迫生境下的适合度差异导致部分植株被淘汰, 因此保留下来的种群遗传结构发生一定程度的改变。而遗传结构改变的趋势将会有利于山西五山系种群逐步适应引入地生境, 形成遗传结构区别于山西五山系和北京古油松的种群。本研究通过油松核基因组 7 对 EST-SSR 标记虽未能准确推断出与文献记载相一致的北京油松人工林种源, 但可以确定不同种群之间的相对亲缘关系^[28]。外来种质在引入地胁迫生境下的适合度差异导致部分植株被淘汰, 因此保留下来的种群的遗传结构发生一定程度的改变, 所以, 用核基因组基因来进行种群溯源会存在一定程度的偏差, 导致溯源结果不理想。种子的传播会对遗传的空间结构产生影响^[29], 而细胞质基因组突变率低、在上下代间传递很稳定, 且油松线粒体 DNA(mtDNA)属于母本遗传, mtDNA 标记的空间结构完全由种子传播决定。所以, 试验下一阶段将通过线粒体 DNA 的序列^[30-31]构建人工林油松和山西五山系的亲缘关系, 在已有核基因组 SSR 基础之上结合 mtDNA 遗传标记来研究北京油松种群的遗传多样性、遗传结构和溯源问题。同时扩大试验亲本种源区范围, 为北京市的油松人工林最佳种源的选择提供理论基础。

本研究发现北京油松人工林种群较古油松种群变异更丰富, 遗传多样性更高。北京油松人工林和古油松种群的分析表明遗传变异主要存在于种群内, 种群间的变异低于种群内遗传变异。研究群体普遍存在偏离遗传平衡现象, 位点 J10、J20、J42 和 J50 在北京人工林、古油松和山西五山系中位点扩增频率差异显著, 可作为北京人工林种源溯源的关键引物。引种地对种群的选择效应可导致种群遗传结构改变, 利用基因编码区的 EST-SSR 标记做种群溯源有局限性。研究结果为北京地区油松人工林的评价、培育和种质种源管理提供相应信息, 对其他树种的人工林溯源亦有一定参考价值。

参 考 文 献

- [1] White T L, Adams W T, Neale D B. Forest genetics[M]. Cambridge: CABI Publishing, 2007.
- [2] Wilkinson D M. Is local provenance important in habitat creation?[J]. Journal of Applied Ecology, 2001, 38(6): 1371-1373.
- [3] Hugron S, Bussi eres J, Rochefort L. Tree plantations within the context of ecological restoration of peatlands: a practical guide[M]. Québec: Universit  Laval, 2013.
- [4] 徐化成. 油松 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1993.
Xu H C. Chinese pine[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1993.
- [5] 毛爱华, 李建祥, 张超英, 等. 19 年生侧柏种源变异及选择研究[J]. 北京林业大学学报, 2010, 32(1): 63-68.
Mao A H, Li J X, Zhang C Y, et al. Geographic variation and provenance selection of *Platycladus orientalis* in a 19-year-old testing plantation[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2010, 32(1): 63-68.
- [6] 徐化成, 孙肇凤, 郭广荣, 等. 油松天然林的地理分布和种源区的划分[J]. 林业科学, 1981, 17(3): 258-270.
Xu H C, Sun Z F, Guo G R, et al. Geographic distribution of *Pinus tabulaeformis* Carr. and classification of provenance regions[J]. Scientia Silvae Sinicae, 1981, 17(3): 258-270.
- [7] 徐化成, 郭广荣, 冯林, 等. 油松天然林的生长与地理-气候因素的关系[J]. 北京林学院学报, 1981, 3(4): 9-13.
Xu H C, Guo G R, Feng L, et al. The relativity between natural *Pinus tabulaeformis* forest growth and geographical climatic factors[J]. Journal of Beijing Forestry University, 1981, 3(4): 9-13.
- [8] 云希和. 油松在北京平地栽植问题的初步探讨[J]. 园艺学报, 1965, 4(4): 230-232.
Yun X H. Preliminary discussion on the cultivation of *Pinus tabulaeformis* in Beijing[J]. Journal of Horticulture, 1965, 4(4): 230-232.
- [9] 史宇, 余新晓, 张佳音, 等. 北京山区油松人工林单木材积生长量 BP 神经网络模型[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(2): 20-22.
Shi Y, Yu X X, Zhang J Y, et al. BP neural network model for volume growth of single trees in *Pinus tabulaeformis* plantations in Beijing mountain area[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2010, 38(2): 20-22.
- [10] 《北京市林业志》编委会. 北京林业志 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1993.
Editorial Board of Beijing Forestry Journal. Beijing forestry annals[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 1993.
- [11] 张新波, 李悦, 袁虎威, 等. 山西油松天然林分 21 年子代生长性状遗传变异研究[J]. 北京林业大学学报, 2014, 36(3): 104-109.
Zhang X B, Li Y, Yuan H W, et al. Genetic variations of growth traits in a 21-year-old stand progeny of Shanxi natural *Pinus tabulaeformis* forests[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2014, 36(3): 104-109.
- [12] 富裕华, 饶九欢, 周学仁, 等. 山西油松种群特点和亲子代性状的变异[J]. 山西农业科学, 1995, 23(3): 40-45.
Fu Y H, Rao J H, Zhou X R, et al. The characteristics of species colony and character variation of parents and filial generation of *Pinus tabulaeformis* in Shanxi province[J]. Shanxi Agricultural Sciences, 1995, 23(3): 40-45.
- [13] 武文斌, 贺快快, 狄皓, 等. 基于 SSR 标记的山西省油松山脉地理种群遗传结构与地理系统[J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(10): 51-59.
Wu W B, He K K, Di H, et al. Genetic structure and geographic system of geographical population of *Pinus tabulaeformis* mountain range based on SSR in Shanxi Province of northern China[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2018, 40(10): 51-59.

- [14] 张新波, 刘海荣, 毕理智, 等. 21年生油松种源性状变异和选择的研究[J]. 山西林业科技, 2013, 42(1): 20–23, 39.
Zhang X B, Liu H R, Bi L Z, et al. Variation and choice of provenance trait of 21 year *Pinus tabulaeformis*[J]. Shanxi Forestry Science and Technology, 2013, 42(1): 20–23, 39.
- [15] 王春玲, 王久丽. 北京市古树名木管理系统介绍[J]. 中国花卉园艺, 2008(4): 16–17.
Wang C L, Wang J L. Introduction of Beijing ancient and famous tree management system[J]. Chinese Flower Gardening, 2008(4): 16–17.
- [16] 程祥, 张梅, 毛建丰, 等. 有限种群油松种子园的遗传多样性与交配系统[J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(9): 8–15.
Cheng X, Zhang M, Mao J F, et al. Gene diversity and mating system of *Pinus tabulaeformis* in finite population seed orchard[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2016, 38(9): 8–15.
- [17] Wright S. Evolution and the genetics of population: variability within and among natural populations[M]. Chicago: University of Chicago Press, 1978.
- [18] Vendramin G G, Fady B, Gonzalez-Martinez S C, et al. Genetically depauperate but widespread: the case of an emblematic Mediterranean pine[J]. *Evolution*, 2008, 62(3): 680–688.
- [19] 滑留帅, 陈宏, 杨晓冰, 等. 固原本地黄牛及其利杂群体 *PIT-1* 基因多态性与育肥性状的关系[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(12): 1–5.
Hua L S, Chen H, Yang X B, et al. Association of polymorphism of *Pit-1* gene with fattening traits in Guyuan local cattle and crossbreed of Limousin × local cattle[J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2007, 35(12): 1–5.
- [20] Valente C, Alvarez L, Marques P I, et al. Genes from the *TAS1R* and *TAS2R* families of taste receptors: looking for signatures of their adaptive role in human evolution[J]. *Genome Biology & Evolution*, 2018, 10(4): 1139–1152.
- [21] Bulmer M G. The maintenance of the genetic variability of polygenic characters by heterozygous advantage[J]. *Genetical Research*, 1973, 22(1): 9–12.
- [22] Amandine D, Anne V, Magali F, et al. Progressive ataxia of Charolais cattle highlights a role of KIF1C in sustainable myelination[J/OL]. *PLoS Genetics*, 2018, 14(8): e1007550 [2019–09–30]. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007550>.
- [23] 许玉兰, 蔡年辉, 白青松, 等. 基于微卫星分子标记的云南松及其近缘种遗传关系分析[J]. 西南林业大学学报, 2017, 37(1): 1–9.
Xu Y L, Cai N H, Bai Q S, et al. Genetic relationship of *Pinus yunnanensis* with related pine species based on microsatellite molecular markers[J]. Journal of Southwest Forestry University, 2017, 37(1): 1–9.
- [24] Li J J, Xiong C, He X, et al. Using SSR-HRM to identify closely related species in herbal medicine products: A case study on licorice[J/OL]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9: 407 [2019–09–10]. <http://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00407/full>.
- [25] 徐化成, 唐季林. 油松种子发芽的生态学及其与种源的关系[J]. 林业科学, 1989, 25(6): 492–501.
Xu H C, Tang J L. Seed germination ecology of *Pinus tabulaeformis* in relation to their provenances[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 1989, 25(6): 492–501.
- [26] 李明, 王树香, 高宝嘉. 油松天然次生林居群遗传多样性及与产地地理气候因子的关联分析[J]. 生态学报, 2013, 33(12): 3602–3610.
Li M, Wang S X, Gao B J, et al. Analysis of genetic diversity of Chinese pine (*Pinus tabulaeformis*) natural secondary forest population and correlation with their habitat ecological factors[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(12): 3602–3610.
- [27] 隋宏大. 树高测量综合技术比较研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2009.
Sui H D. Comparative study on comprehensive technologies of tree height measurement[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2009.
- [28] 袁虎威, 梁胜发, 符学军, 等. 山西油松第二代种子园亲本选择与配置设计[J]. 北京林业大学学报, 2016, 38(3): 47–54.
Yuan H W, Liang S F, Fu X J, et al. Parental selection and deployment design in the second-generation seed orchard of Chinese pine in Shanxi Province[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2016, 38(3): 47–54.
- [29] Latta R G, Linhart Y B, Fleck D, et al. Direct and indirect estimates of seed versus pollen movement within a population of ponderosa pine[J]. *Evolution*, 1998, 52(1): 61–67.
- [30] Chen K M, Abbott R J, Milne R I, et al. Phylogeography of *Pinus tabulaeformis* Carr. (Pinaceae), a dominant species of coniferous forest in northern China[J]. *Molecular Ecology*, 2008, 17(19): 4276–4288.
- [31] Xia H H, Wang B, Pan J, et al. Combining mitochondrial and nuclear genome analyses to dissect the effects of colonization, environment, and geography on population structure in *Pinus tabulaeformis*[J]. *Evolutionary Applications*, 2018, 10(11): 1931–1945.

(责任编辑 范娟 崔艳红
责任编辑 卢孟柱)