

北京板栗种群的遗传多样性与进化历史研究

何志, 董锦熠, 刘勇波

(中国环境科学研究院区域生态过程与功能评价国家环境保护重点实验室, 北京 100012)

摘要: 野生种群是重要的种质资源, 了解本地野生种群和栽培种群之间的遗传多样性和群体演化有助于野生种群的科学保护和可持续利用。本研究基于北京板栗自然与栽培分布区, 采集5个栽培种群和1个野生种群共93份种质的叶片, 并采集湖北宜昌1个种群(作为外群)共16份种质的叶片, 筛选16对微卫星SSR引物分析板栗种群的遗传多样性和进化历史。结果表明北京板栗种群的遗传多样性相对较高, 其中红螺寺野生板栗种群的遗传多样性高于其他种群。板栗各种群之间有明显的遗传分化($F_{st}=0.232$), 基因交流频率较低($N_m=0.547$)。分子生物学方差分析(AMOVA)分析表明板栗种群内的遗传变异(57.70%)大于群体之间(42.30%)。群体遗传结构分析显示, 宜昌板栗种群明显区别于北京板栗种群, 北京板栗分为两组, 红螺寺野生种群单独为一组, 明代板栗园古树种群和其他栽培种群聚为一组, 说明北京栽培板栗可能来自于明代板栗园古树种群。非加权组平均法聚类分析(UPGMA)、主坐标分析(PCoA)和主成分分析(PCA)结果均支持群体遗传结构结果。Tremix分析结果显示从宜昌种群到北京种群发生过历史基因交流, 说明板栗从华中地区向北迁移的路线。种群历史结果表明, 北京种群在大约8.3万年前从宜昌种群分化出来, 北京本地野生种和栽培种的分化时间大约在3.2万年前。本研究结果支持板栗由华中向北迁移的假说, 栽培种的驯化降低了北京板栗种质资源的遗传多样性, 北京板栗野生种和栽培古树保留了高的遗传多样性, 应该优先得到保护。

关键词: 板栗; 微卫星; 遗传多样性; 野生种群

Genetic Diversity and Evolution History of Chinese Chestnut (*Castanea mollissima*) Populations in Beijing

HE Zhi, DONG Jinyi, LIU Yongbo

(State Environmental Protection Key Laboratory of Regional Eco-process and Function Assessment,
Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012)

Abstract: Wild populations are important germplasm resources, and studying their genetic diversity and variation pattern of local wild and cultivated populations can facilitate their scientific protection and sustainable utilization. This study is based on the natural and cultivated distribution area of Chinese chestnut in Beijing, collecting leaves from a total of 93 germplasm of 5 cultivated populations and 1 wild population, and collecting leaves from a total of 16 germplasm of 1 population (as an outgroup) in Yichang (YC), Hubei. Sixteen pairs of microsatellite primers (SSR) were used to analyze the genetic diversity and genetic structure. The wild *C. mollissima* populations in Beijing was found with relatively high genetic diversity, and the genetic diversity of the wild Hongluosi population (HLS) was significantly higher than that of other populations. There was significant genetic differentiation between populations of *C. mollissima* ($F_{st} = 0.232$), with low frequency of gene flow ($N_m = 0.547$). AMOVA analysis showed that the intra-population genetic variation (57.70%) was greater than that among populations (42.30%). The genetic structure analysis showed that YC chestnut population was significantly different from Beijing chestnut populations. The HLS wild population was

收稿日期: 2023-03-07 修回日期: 2023-04-24 网络出版日期: 2023-05-19

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20230307002>

第一作者研究方向为生物多样性, E-mail: 18801266850@163.com

通信作者: 刘勇波, 研究方向为生物安全与生物多样性, E-mail: liuyb@cares.org.cn

基金项目: 中国生态环境部生物多样性调查、观测和评估(2019HJ2096001006)

Foundation project: Biodiversity Survey, Observation, and Assessment of the Ministry of Ecology and Environment, China (2019HJ2096001006)

independent of Banliyuan population (BLY, an ancient tree population) and the other cultivated populations that were clustered into a group, indicating that cultivated chestnuts might come from the ancient tree population in Beijing. A coincidence was observed as well based on the UPGMA clustering, PCoA and PCA analysis. Treemix analysis showed that the chestnut populations in Beijing were likely from the YC population in southern China, indicating an evolutionary path for chestnut to migrate from central China to Beijing. The population history results indicate that the Beijing populations differentiated from the YC populations approximately 83,000 years ago, while the differentiation of local wild and cultivated species in Beijing occurred approximately 32,000 years ago. Our results support the hypothesis of chestnut migrating northward from central China. The domestication of cultivated species reduced the genetic diversity of chestnut germplasm resources in Beijing. The wild populations and cultivated ancient trees retain high genetic diversity, which should be protected preferentially.

Key words: *Castanea mollissima*; microsatellite marker; genetic diversity; wild populations

野生种质资源为品种培育和改良提供重要的遗传材料^[1],经过不断地人工选育和自然选择成为栽培种,在长期的栽培驯化过程中,人工选育使得栽培种获得人类所需的优良基因,但也降低了栽培种的遗传多样性^[2]。另一方面,利用现代分子标记技术可以明确种群的遗传多样性水平和驯化历史,并且有助于开展遗传基因的调控等来改良栽培种的性状^[3]。例如,利用微卫星(SSR)和数量性状遗传位点(QTLs)的鉴定和验证,助力于培育具有优良产油性状的油棕(*Elaeis guineensis* Jacq)品种^[4];序列相关的扩增多态性标记(SSR、ISSR、RAPD)有助于野生啤酒花(*Humulus lupulus* L.)的保护和外来育种种质的评估^[5];SSR标记评估不同树龄枸杞(*Lycium barbarum* L.)的遗传多样性为古树资源利用和选育提供了理论依据和实践指导^[6]。因此,保护和利用野生种群的丰富遗传多样性对品种的培育和改良具有重要意义。

板栗(*Castanea mollissima* Blume)为壳斗科(Fagaceae)栗属(*Castanea*)植物,是我国重要的干果之一,富有“木本粮食”之称。板栗坚果富含淀粉、糖、蛋白质、维生素、氨基酸和脂肪酸等各种营养素^[7]。我国板栗种植面积超过180万hm²,产量220万余吨,栽培面积和产量均居世界第一位^[8]。目前板栗品种有超过300个,建立了4个种质资源库^[9]。板栗分布广泛,呈现明显的南北分布,可分为南方板栗和北方板栗两种类型,其中北方板栗主要分布在燕山和太行山山区以及周边地区^[9]。板栗在北京市有悠久的栽培历史,据记载,在明朝时,怀柔板栗就已经作为祭祀贡品^[10]。北京古树板栗资源丰富,在怀柔区,树龄在400年以上的板栗古树有200多株,树龄在100年以上的板栗树有超过4万株,主要

分布在九渡河镇和渤海镇^[11]。2001年,怀柔区被国家林业局评选为“中国板栗之乡”^[12]。除了怀柔,北京延庆、密云、房山和昌平等地也都大面积种植了板栗,例如2022年,京郊栽培板栗种植面积超4万公顷^[13]。虽然对中国板栗的种质资源和遗传多样性已经进行了一些研究,但是在种群动态历史研究的问题上一直缺乏有力的证据。对板栗迁移历史的研究总共提出了三条迁移路线,支持中国板栗以华中地区为中心并向四周迁移这一假说^[14-18]。利用SSR和AFLP技术研究湖北板栗和燕山板栗等地的遗传多样性^[19-20],研究结果表明中国板栗具有较近的遗传关系^[21-22]。因此,本研究基于SSR位点分析北京板栗野生种群和栽培种群的遗传多样性和分化历史,旨在明确北京市板栗资源的遗传基础,为科学保护和可持续利用野生种质资源提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

北京板栗主要分布在昌平、怀柔、密云和平谷,因此本研究主要采样地区在北京北部。为了更好地代表北京地区,选取板栗野生种群和栽培种群,并尽可能地选取树龄较大的古树板栗。2020年7-8月采集了这些地区6个代表性的板栗种群(表1)叶片,其中3个种群来源于怀柔区,即红螺寺(HLS)、明代板栗园(BLY)、怀柔区三个镇(九渡河镇、琉璃庙镇和汤河口镇,JLT),另外3个种群来自平谷区四座楼(SZL)、密云区黑山寺(HSS)、昌平区大杨山(DYS)。另外,从湖北宜昌(YC)采集一个板栗种群作为外群。其中怀柔区三个镇、平谷区四座楼、昌平区大杨山、密云区黑山寺种群均采自板栗林,为

栽培种群,每个种群均包含胸径大于 50 cm,树龄大于 100 年的古树 3~6 棵。采集的明代板栗园种群都是古树,树龄在 100~300 年之间,红螺寺为野生种群。所有板栗树均选择长势良好,结果率高的高大植株。除了平谷区四座楼采样 13 株外,其余每个种

群采样 16 株,共 109 株树木(表 1)。种群内的个体间隔距离不少于 10 m。选取板栗健康嫩叶,每株 3~5 片,装进茶包袋中,使用变色硅胶干燥,装进自封袋,在室温下保存备用。板栗种群具体采样信息见表 1。

表 1 板栗种群的采集信息

Table 1 Sampling information of chestnut populations

种群 Populations	样本量 Sample size	平均胸径(cm) Average DBH	平均树高(m) Average tree height	平均冠幅(m) Average crown width
湖北宜昌 YC	16	5~38	2~6	2~10
红螺寺 HLS	16	37~57	22~38	7~30
平谷区四座楼 SZL	13	11~30	4~12	1~13
密云区黑山寺 HSS	16	11~95	4~25	4.5~19
明代板栗园 BLY	16	55.5~191	6~20	6~24
怀柔区三个镇 JLT	16	34~128	5~17	4~21
昌平区大杨山 DYS	16	15.5~89	6~24	8~20

YC: Hubeiyichang; HLS: Hongluosi; SZL: Pingguqusizuolou; HSS: Miyunquheishansi; BLY: Mingdaibanliyuan; JLT: Huairouqusangezhen; DYS: Changpingqudayangshan; The same as below

1.2 植物 DNA 提取和 SSR 荧光标记技术

在实验室取 30 mg 左右干燥叶片,使用植物总 DNA 提取试剂盒(天根生物科技股份有限公司, KG202)提取叶片 DNA。本研究从文献中筛选 38 对微卫星 SSR 引物开展预试验,最后选取 16 对多态性高且稳定性好的 SSR 引物开展本次试验^[23-25]。SSR 引物由上海生工生物科技有限公司合成(表 2),扩增程序为 95 °C 变性 5 min, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 35 个循环。本研究采用毛细管电泳方法,正向引物采用 4 种 5'-荧光素碱基(FAM、HEX、TRAMA 或 ROX)标记,多重 PCR 在 BIO-RAD T100TM 热循环仪上运行,扩增后的 PCR 产物进行短串联重复序列(STR, short tandem repeat)的分型测定。

1.3 SSR 数据分析

1.3.1 遗传多样性参数 将 SSR 分子标记试验的毛细管电泳检测结果导入 Gene-Marker Version 1.91 进行等位基因测定,选取 GS500 作为内标,获取扩增产物的条带数据。利用 GenAlEx 6.503^[26]软件进行遗传多样性分析,计算等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Shannon's 指数(I)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、近亲繁殖系数(F_{is})、遗传分化系数(F_{st})和基因流(Nm)等。

1.3.2 遗传分化 为了估计种群间及种群内的遗

传变异,使用 GenAlEx 6.503 软件包对种群进行分子方差分析(AMOVA),同时对种群间遗传距离和地理距离矩阵的相关性进行 Mantel 检验,分析地理隔离对种群遗传距离的影响。种群成对地理距离矩阵基于 GPS 工具(Garmin Oregon 450)记录的采样点经纬度坐标计算。

1.3.3 遗传结构 使用 STRUCTURE version 2.3.4^[27]软件对 7 个种群进行了贝叶斯聚类分析。设定 K 值为从 1 到 10,独立运算次数为 10,使用混合祖先模型(Admixture ancestry model),Burn-in 设为 10,000-step, Markov Chain Monte Carlo (MCMC) 设置为 100,000-step。将运算的结果整理后上传至 STRUCTURE HARVERST version 0.6.94^[28]网站计算 Delta K 值,推断最适 K 值。使用 MEGA version 11^[29]软件建立了非加权组平均法(UPMA)系统发育树,使用 GeneAlEx version 6.502 软件基于遗传距离数据进行主坐标分析(PCoA)^[30]。使用 R 软件基于群体遗传距离进行群体主成分分析(PCA)。

1.3.4 种群动态历史分析 使用 Treemix 软件进行各种群之间的基因流分析^[31],明确种群之间发生的历史基因流次数和方向。用 DIYABC 软件推测北京板栗种群动态的历史^[32],根据 STRUCTURE^[33]和 Treemix^[31]分析的系统发育关系,将 7 个种群分为 3 个类群:北京栽培种群(N1),北京红螺寺野生种群

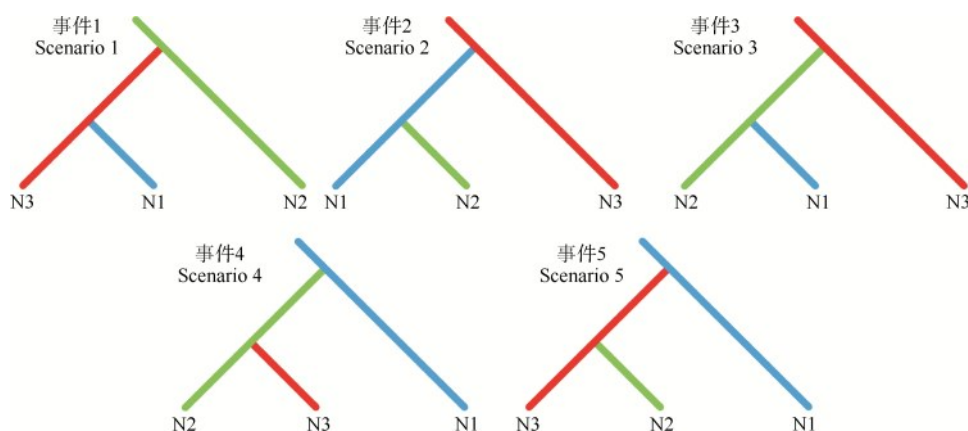
(N2)和湖北宜昌种群(N3)。基于STRUCTURE和Treemix分析结果,对此N1、N2和N3三个类群设置了5个历史场景,使用DIYABC软件推断这5个历史场景中此3个类群的有效种群大小和分化时间(图1)。将模拟数据集的数量设置为1,000,000,将

选定数据集的数量设置为10,000。历史模型、遗传数据和汇总统计设置为默认值。计算5个场景的后验概率,后验概率越高模型越优,得到最优种群动态历史场景。

表2 筛选出的16对SSR引物

Table 2 The parameters of selected 16 pairs of SSR primers

引物名称 Primer name	正向引物(5'-3') Forward primers(5'-3')	反向引物(5'-3') Reverse primers(5'-3')	荧光标记 Fluorescent marker
PD34	TTCGTAGTGAAGGAGGTGG	GTTTCTTAAAGACAGAGCCACAAAGC	FAM
PD52	CTTGTCATGGTGCATTGGTG	GTTTCTCCGCAGTGGTGATCCATTAT	HEX
PA75	GTGAAGAACCAAACGGACCA	GTTTCTTACCGAATGTGCTGTCTGGAA	TRAMA
C41	AAGTCAGCAACATATGC	CCCCTGTTTCATGAGTTTCT	ROX
PD42	AAACAACCCAACACTCGGAC	GTTTCTTCAAAGGTTCTCTCGGCAAG	FAM
CT15	TTCTGCGACCTCGAAACCGA	GCTAGGGTTTTTCATTCTAG	HEX
PD25	CACGCCGGTGACGAATAATA	GTTTCTTTCTCCAACGGAACCAACAAC	TRAMA
PD67	TGGGTATCCCTCAGAATCCA	GTTTCTTCGTTGGAGACCAGAGGAGAG	ROX
PD26	TCCTGAACAAGTCAAGGTGC	GTTTCTTTCACACCACTGTGTTGCCTA	FAM
CT14	CGAGGTTGTTTGTTCATCATTAC	GATCTCAAGTCAAAGGTGTC	HEX
CP2	GGAGCTGCAATATTGCTG	GTTAGGGAAGCATCTCAC	TRAMA
Q19	CATTAGCTTTTACGCAGTGTCG	TCGTCCATCTCCTCCATCTTT	ROX
PD53	CTCAATCTTGGGCTCTTTGG	GTTTCTTTCAGCTAGCCTTTGTCTCGG	FAM
C2	GAGCCATTCCCTTTTAGAAT	TTGAAAACCGGTATAGTTCG	HEX
PA83	TGCTGTTGGGTCTCTCTCT	GTTTCTTCTTTGTGGAGCGCAGAGTTT	TRAMA
K009	GTAGGGAAAAGCACAAAGGAT	AGAAAAGCAAGCAAGCATAACATAAT	ROX



N1: 蓝色,表示北京栽培种群;N2: 绿色,表示北京野生种群;N3: 红色,表示湖北宜昌种群;3个种群的相对位置表示进化的先后顺序
N1: Blue, Beijing cultivated populations; N2: Green, Beijing wild populations; N3: Red, Yichang populations in Hubei. Positions of the three populations indicate their evolution time

图1 DIYABC分析的5个种群动态历史场景

Fig. 1 Five dynamic historical scenarios for chestnut populations in DIYABC

2 结果与分析

2.1 种群遗传多样性分析

北京板栗种群的遗传多样性较高,等位基因数(N_a)、有效等位基因数(N_e)、Shannon's 指数(I)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)以及近亲繁殖系数(F_{is})平均值分别为3.330、2.064、0.768、0.398、0.404和0.011(表3)。红螺寺野生板栗种群的等

位基因数、有效等位基因数和Shannon's 多样性指数显著高于其他种群,遗传多样性最为丰富($N_a=5.500$; $N_e=3.482$; $I=1.208$)。7个群体的Shannon's 指数数值最高为红螺寺种群,其他种群间没有显著差异,野生种群保存了最高的遗传多样性。四座楼、黑山寺和明代板栗园种群的近亲繁殖系数均低于0,说明此3个种群与其他种群的近交程度低(表3)。

表3 板栗种群的遗传多样性

Table 3 Genetic diversity of chestnut populations

种群 Populations	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	Shannon's 指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	近亲繁殖系数 F_{is}
湖北宜昌 YC	2.688±0.740 b	1.656±0.392 b	0.640±0.168 b	0.303±0.087 a	0.332±0.083 a	0.069±0.097 a
红螺寺 HLS	5.500±0.890 a	3.482±0.577 a	1.208±0.196 a	0.477±0.091 a	0.552±0.085 a	0.137±0.089 a
平谷区四座楼 SZL	2.875±0.455 b	1.962±0.332 b	0.726±0.131 b	0.447±0.086 a	0.400±0.065 a	-0.118±0.094 a
密云区黑山寺 HSS	3.063±0.452 b	1.766±0.235 b	0.683±0.110 b	0.448±0.091 a	0.386±0.062 a	-0.110±0.111 a
明代板栗园 BLY	3.188±0.526 b	1.831±0.272 b	0.693±0.130 b	0.408±0.088 a	0.376±0.068 a	-0.077±0.089 a
怀柔区三个镇 JLT	2.813±0.421 b	1.816±0.271 b	0.677±0.123 b	0.333±0.072 a	0.379±0.066 a	0.092±0.112 a
昌平区大杨山 DYS	3.188±0.476 b	1.933±0.298 b	0.748±0.129 b	0.369±0.079 a	0.401±0.066 a	0.110±0.104 a
平均 Mean	3.330±0.233	2.064±0.142	0.768±0.056	0.398±0.032	0.404±0.027	0.011±0.038

同一列中不同的小写字母代表方差分析的显著性水平(P 值<0.05)

Different lowercase letters in the same column represent the significance level of ANOVA (P value<0.05); N_a : Number of alleles; N_e : Number of effective alleles; I : Shannon's index; H_o : Observed heterozygosity; H_e : Expected heterozygosity; F_{is} : Coefficient of inbreeding

2.2 种群遗传分化分析

基因流在不同种群间的差异不大,为0.237~1.297,平均为0.547,表明种群间的基因交流程度有限。板栗种群间的遗传分化系数为0.162~0.514,平

均为0.232。湖北宜昌(YC)和红螺寺(HLS)种群与其他种群间的遗传分化很大, $F_{st}>0.32$ (表4)。

AMOVA 结果表明,板栗种群间遗传变异占总变异的42.30%,种群内遗传变异占总变异的57.70%

表4 板栗种群间的遗传分化系数和基因流

Table 4 Genetic differentiation coefficient (F_{st}) and gene flow (Nm) between chestnut populations

种群 Population	湖北宜昌 YC	红螺寺 HLS	平谷区四座楼 SZL	密云区黑山寺 HSS	明代板栗园 BLY	怀柔区三个镇 JLT	昌平区大杨山 DYS
湖北宜昌 YC	—	0.284	0.248	0.239	0.237	0.243	0.260
红螺寺 HLS	0.468	—	0.513	0.474	0.489	0.472	0.509
平谷区四座楼 SZL	0.502	0.328	—	1.142	1.297	1.028	1.255
密云区黑山寺 HSS	0.511	0.345	0.180	—	1.028	1.045	1.123
明代板栗园 BLY	0.514	0.338	0.162	0.196	—	0.939	1.185
怀柔区三个乡镇 JLT	0.507	0.346	0.196	0.193	0.210	—	1.295
昌平区大杨山 DYS	0.490	0.329	0.166	0.182	0.174	0.162	—

对角线左下方为遗传分化系数,对角线右上方为基因流;种群缩写同表1

Left below the diagonal is the genetic differentiation coefficient (F_{st}), and right above the diagonal is the gene flow (Nm). The population name is the same as Table 1

($P < 0.001$) (表5), 表明板栗资源群体内的遗传分化大于群体间, 种群间和种群内个体间遗传分化均显著。

Mantel 检测结果表明, 板栗种群的遗传距离与地理距离之间无显著相关 ($R^2 = 0.547, P = 0.160$) (图2)。

表5 板栗种群的分子方差分析

Table 5 Molecular variance analysis (AMOVA) of chestnut populations

变异源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	差异成分 Variance components	方差百分比 (%) Percentage of variation	遗传分化指数 Genetic differentiation index	P值 P-values
群体间 Among populations	6	584.017	5.751	42.30	0.4230	<0.001
群体内 Within populations	102	800.332	7.846	57.70		<0.001
总和 Total	108	1384.349	13.598			

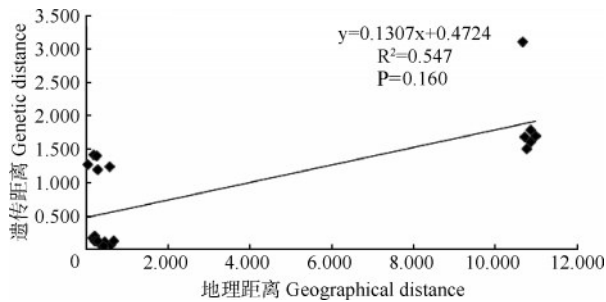
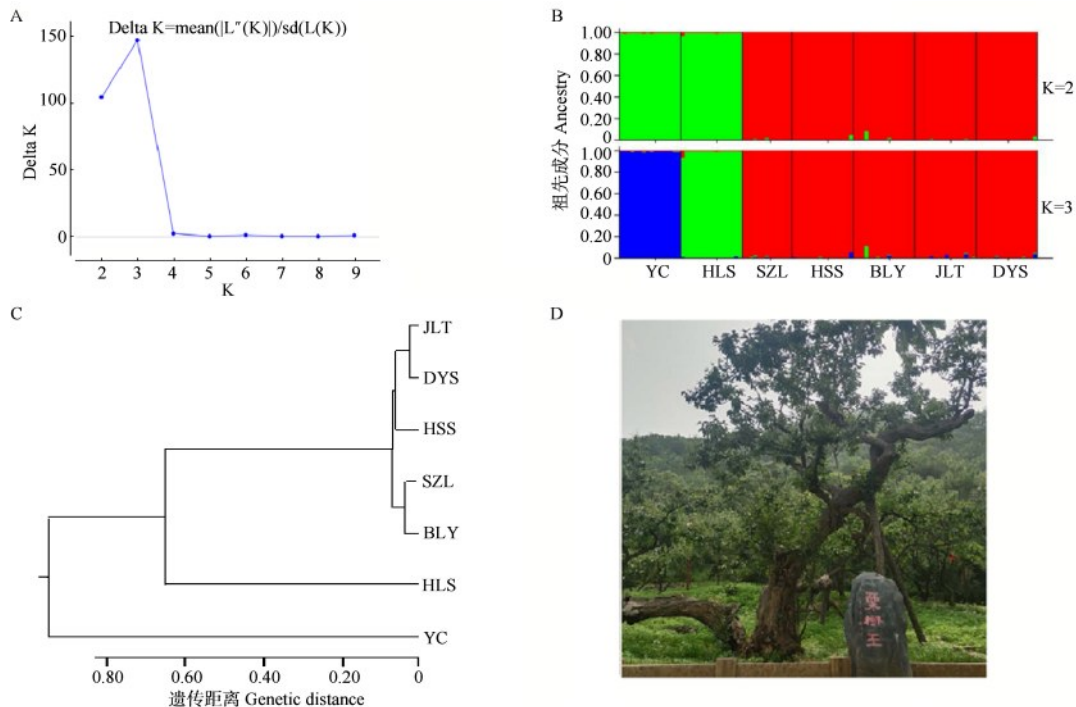


图2 基于板栗种群地理距离和遗传距离的相关性分析
Fig. 2 Correlation analysis between geographical distance and genetic distance for chestnut populations

2.3 种群遗传结构分析

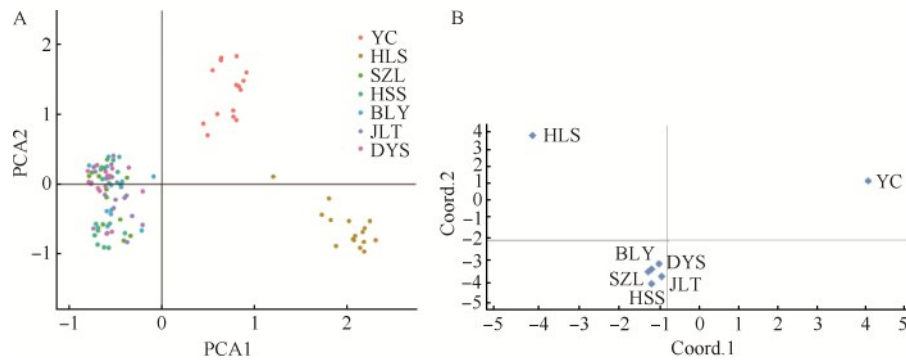
K-select 分析表明 K=3 时的 Delta K 值最高 (图3A), 表示根据 Structure 分析结果 7 个种群根据遗传关系可分为 3 组, 其中宜昌 (YC) 种群单独为一组, 红螺寺 (HLS) 野生种群单独为一组, 其他种群聚为一组 (图3B)。

UPGMA 树结果与 Structure 结果一致, 宜昌 (YC) 种群为外类群, 与北京板栗明显分开 (图3C)。北京红螺寺 (HLS) 种群与其他种群分开。主成分分析 (PCA) 和主坐标分析 (PCoA) 结果均与 Structure 结果一致, 支持聚为 3 组 (图4)。



缩写字母参见表1; A: 遗传结构 K 值分析; B: 板栗遗传结构分析结果; C: 板栗种群聚类树; D: 板栗古树照片
Abbreviations refer to Table 1; A: K values of structure analysis; B: Results of genetic structure analysis; C: Cluster tree of chestnut populations; D: Photo of one old chestnut tree

图3 板栗种群聚类遗传结构分析
Fig. 3 Cluster analysis and genetic structure analysis of chestnut population



缩写字母参见表1;A:主成分分析;B:主坐标分析

Abbreviations refer to Table 1; A: Principal component analysis; B: Principal coordinate analysis

图4 板栗种群的主成分分析和主坐标分析

Fig. 4 Principal component analysis and principal coordinate analysis of chestnut populations

2.4 种群进化历史

为探究北京板栗的起源和进化历史,进行近似贝叶斯计算(DIYABC),根据Structure和UPGMA树结果,把北京栽培种群作为N1类群、红螺寺野生板栗种群作为N2类群、湖北宜昌种群作为N3类群,设置5个历史进化事件。根据模型结果,场景3的后验概率最高,为0.454,因此,将场景3定为最优进化模型(图5、表6)。根据最优进化模型,N1、N2和N3的有效种群大小分别为1220、1900和1910,祖先种群NA的有效种群大小为8010;北京两组种群的分化时间(ta)为2660代,即31920年之前(以12年为一个世代);北京板栗和宜昌板栗分化时间(td)为6920代,即83040年之前。

Treemix分析结果显示种群之间基因流数量为2,并且表明基因流是从南到北,板栗种群间有向北

迁移的历史路线(图6),由宜昌(YC)种群分别向红螺寺(HLS)种群、向怀柔区3个镇(JTL)和黑山寺(HSS)种群迁移。

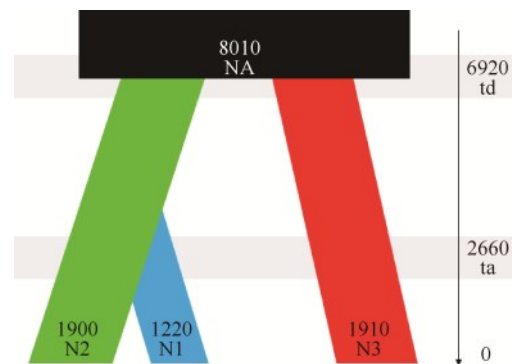


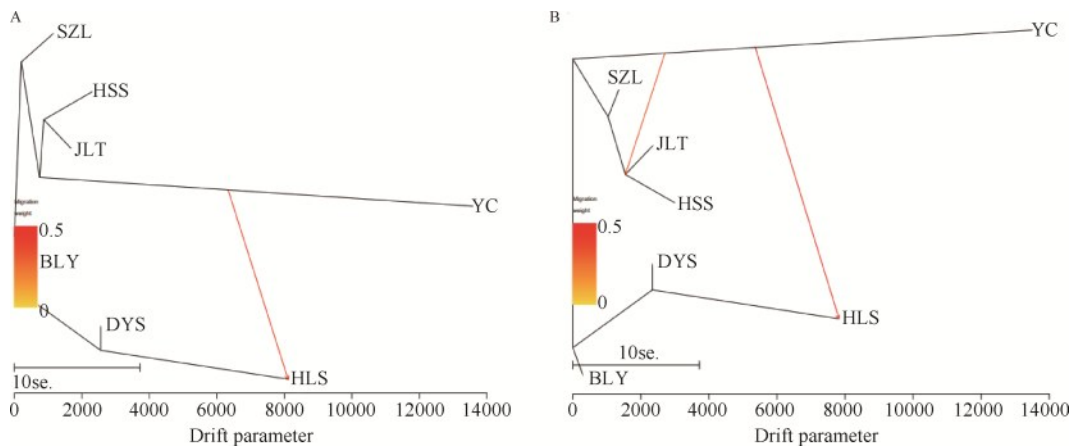
图5 基于DIYABC分析的最优进化事件模型

Fig. 5 Optimal evolutionary scenarios in the DIYABC simulation models

表6 DIYABC的5个历史进化事件后验概率估计

Table 6 Posterior probability of five historical evolution scenarios in the DIYABC analysis

后验次数 Number of posterior tests	事件1 Scenario 1	事件2 Scenario 2	事件3 Scenario 3	事件4 Scenario 4	事件5 Scenario 5
75000	0.011	0.297	0.473	0.089	0.131
150000	0.009	0.295	0.467	0.092	0.138
225000	0.008	0.293	0.463	0.092	0.144
300000	0.007	0.292	0.460	0.093	0.148
375000	0.007	0.294	0.455	0.094	0.151
450000	0.006	0.296	0.450	0.095	0.153
525000	0.006	0.298	0.446	0.096	0.154
600000	0.006	0.299	0.443	0.097	0.155
675000	0.006	0.300	0.441	0.097	0.156
750000	0.006	0.301	0.440	0.098	0.156
后验概率 Posterior probability	0.007	0.296	0.454	0.094	0.149



缩写字母参见表1。A:显示1条历史基因流线路(红色线);B:显示2条历史基因流线路(红色线)

Abbreviations can be found in Table 1. A: Showing one gene flow event (red line); B: Showing two gene flow events (red lines)

图6 板栗种群历史迁移路线的Treemix分析

Fig. 6 Treemix analysis showed historical migration routes between chestnut populations

3 讨论

对于板栗物种的地理分布和种群动态历史研究的问题,虽然一直缺乏有力的证据,但是Cheng等^[14]研究发现野生板栗主要分布在中国西南山区和长江流域一带。有研究认为华中地区,尤其是神农架及其周边地区,是中国板栗遗传多样性的分布中心,也是该物种的避难所^[9];但也有研究表明中国西南地区为板栗遗传多样性的中心^[10]。野生板栗的地理分布主要分为两条线,一条是沿四川盆地东缘的云贵高原穿过山区走廊,延伸至西南地区,直至海南岛;另一条线路分布在长江沿岸山区的大别山和皖南山脉^[11]。此外,杨阳等^[18]利用cpSSR标记分析了板栗野生居群与栽培品种间遗传差异后,提出各地栽培品种可能来源于秦岭南麓野生居群并推测野生板栗从秦岭南麓往北迁移至燕山和山东地带,形成了地方品种。同样,其他物种也有类似的历史进化路线,例如长柄水青冈(*Fagus longipetiolata* Seem)^[34]、赤松(*Pinus densiflora* Sieb. et Zucc.)^[35]、大血藤(*Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils.)^[36]等研究中均发现有向北迁移的迁移路线。本研究补充了板栗向北迁移的证据,证明板栗有一条朝北方迁移的进化历史线路。

北京板栗的野生种群与栽培种群之间的遗传分化明显,红螺寺野生板栗与栽培种分化时间较长,栽培种受到更多驯化的作用,板栗因长期栽培驯化产生更显著的遗传分化,这在其他类群也发现类似的结果,例如油橄榄(*Galega vulgar* (Lam.)

Engl.)^[37]、苹果(*Malus domestica* [Suckow] Borkh.)^[38]、海菜花(*Ottelia acu-minata* (Lévl. et vant.) Dandy)^[39]等。但是,也有一些研究发现野生种群和栽培种群没有明显的分化,例如法国的野生板栗与栽培板栗没有明显的分化^[40];在攀枝花苏铁(*Cycas panzhihuaensi* L. Zhou & S. Y. Yang)^[41]、蕹苳属(*Coix*)^[42]、糜子(*Panicum miliaceum* L.)^[43]等研究中发现野生和栽培种群遗传分化低。Han等^[44]通过系统发育树分析表明,河北省板栗品种可能因地域分离而发生分化,出现了燕山和太行山的不同基因型^[45]。栽培种板栗几乎没有种子传播途径。人工育种是维持栽培种群基因交流的主要途径,但是人工驯化(如优良果实性质选育)会导致人工品系的趋同甚至遗传多样性的降低^[46]。因此,北京板栗栽培种群比野生种群更低的遗传多样性和明显的分化,支持人工驯化对遗传多样性的影响。

北京板栗栽培种群的遗传多样性与我国其他地区相似,例如河北板栗栽培种群($N_a=2.12$, $N_e=1.66$, $I=0.55$, $H_o=0.22$, $H_e=0.35$)和山东板栗栽培种群($N_a=2.53$, $N_e=1.76$, $I=0.60$, $H_o=0.20$, $H_e=0.37$)^[47];而红螺寺野生种群遗传多样性显著高于板栗栽培种群,这可能与红螺寺板栗的生境有关,红螺寺板栗野生种群因位于红螺寺内,植被生境完好。栽培种所处的单一生境也可能降低其遗传多样性,这与其他物种的遗传多样性研究结果一致,如在豇豆(*Vigna unguiculata*) L. Walp.^[48]、疣柄魔芋(*Amorphophallus paeoniifolius* (Dennstedt) Nicolson)^[49]、多序岩黄芩(*Hedysarum polybotrys* Hand.-Mazz.)^[50]等研究中均发现野生种群的遗传多样性高于栽培

种群。总的来说,优良品种的培育和改良需要优先保护当地野生种群来保存丰富的遗传多样性。

此外,研究发现明代板栗园的板栗古树(胸径>50cm)保存了较高的遗传多样性,而且栽培板栗种群里的一些板栗古树也保留更多的遗传位点。其他物种的一些古树也保存了较高的遗传多样性,例如西南地区的杨树(*Populus przewalskii* Maxim)古树^[51]、山西省旱柳(*Salix matsudana* koidz)古树资源^[52]及枫香(*Liquidambar formosana* Hance)古树^[53]都具有较为丰富的遗传多样性。这是因为古树具有很长的生命周期和长的世代时间,导致其继承了来自祖先板栗的遗传多样性水平,这在木本植物中是很常见的^[54-55]。因此,古树的保护对保存种质资源的丰富遗传多样性具有重要意义。

由此可见,亟需重视北京板栗野生种群和栽培种群的保护和利用。相比较于板栗野生种群,人工驯化降低了栽培种群的遗传多样性;而北京板栗古树保留了更高的多样性,是优良的种质资源库。因此,一是要摸清野生板栗种群和古树板栗的本底,明确其分布与数量,采取标牌、安装监控等措施加强就地保护与监管;二是要加强板栗种质资源的迁地保存,构建野生板栗和古树板栗的种质资源圃;三是开展板栗新品种培育,促进板栗种质资源的可持续利用。

参考文献

- [1] 艾呈祥,沈广宁,田寿乐,许林.秦巴山区野生板栗居区园艺作物种质资源调查.植物遗传资源学报,2011,12(3):408-412
Ai C X, Shen G N, Tian S L, Xu L. Genetic diversity on wild populations of chestnut in Qinba mountain area of west China with AFLP markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2011, 12 (3): 408-412
- [2] 赵旗峰,黄丽萍,王敏,刘晓婷,张晓萍,马小河.基于SSR标记的100份葡萄资源亲缘关系和群体遗传结构分析.果树学报,2021,38(8):1217-1230
Zhao Q F, Huang L P, Wang M, Liu X T, Zhang X P, Ma X H. Genetic relationship and population genetic structure analysis of 100 grape resources based on SSR markers. Journal of Fruit Trees, 2021, 38(8): 1217-1230
- [3] 白晓倩,陈于,张仕杰,赵玉强,王武,朱灿灿.基于表型性状和SSR标记的板栗品种遗传多样性分析及分子身份证构建.植物遗传资源学报,2022,23(4):972-984
Bai X Q, Chen Y, Zhang S J, Zhao Y Q, Wang W, Zhu C C. Genetic diversity analysis and fingerprinting of Chestnut varieties based on phenotypic traits and SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23(4): 972-984
- [4] Babu K, Mathur R K, Venu M V B, Sandip S, Ravichandran G, Anita P, Bhagya H P. Genome-wide association study (GWAS) of major QTLs for bunch and oil yield related traits in *Elaeis guineensis* L.. Plant Science, 2021, 305: 110810
- [5] Mafakheri M, Kordrostami M, Rahimi M, Matthews P D. Evaluating genetic diversity and structure of a wild hop (*Humulus lupulus* L.) germplasm using morphological and molecular characteristics. Euphytica, 2020, 216: 1-19
- [6] 胡永超,马洁,唐建宁,朱金忠,杨涓,郑蕊,张磊,郑国琦.不同树龄枸杞古树的遗传多样性研究.植物遗传资源学报,2022,23(3):755-767
Hu Y C, Ma J, Tang J N, Zhu J Z, Yang J, Zheng R, Zhang L, Zheng G Q. Genetic diversity analysis of ancient trees with different ages of *Lycium barbarum* L. Journal of Plant Genetic Resources, 2022, 23 (3): 755-767
- [7] 李颖,张树航,郭燕,张馨方,王广鹏.中国板栗可溶性糖相关性状多样性分析.植物遗传资源学报,2023,24(2):493-504
Li Y, Zhang S H, Guo Y, Zhang X F, Wang G P. Diversity analysis of soluble sugar related traits in Chinese chestnut, Journal of Plant Genetic Resources, 2023, 24 (2): 493-504
- [8] 刘晓书,刘芳,张俊.京津冀地区板栗产业布局及前景分析.中国果树,2022(2):99-102
Liu X S, Liu F, Zhang J. The layout and prospect analysis of chestnut industry in Beijing-Tianjin-Hebei region. Chinese Fruit Trees, 2022(2): 99-102
- [9] 阚黎娜,李倩,谢爽爽,欧阳杰.我国板栗种质资源分布及营养成分比较.食品工业科技,2016,37(20):396-400
Kan L N, Li Q, Xie S S, Ouyang J. Comparison of distribution and nutritional components of chestnut germplasm resources in China. Science and Technology of Food Industry, 2016, 37(20): 396-400
- [10] 张艳丽.北京山区各区县历史文化资源系列调研报告之三.怀柔.北京历史文化研究,2007(4):188-202
Zhang Y L. Huairou, the third of a series of research reports on the historical and cultural resources of the districts and counties in Beijing's mountainous areas. Beijing History and Culture Research, 2007(4): 188-202
- [11] 刘国彬,曹均,王金宝,兰彦平.明清板栗古树遗传多样性的SSR分析.林业科学研究,2016,29(6):940-945
Liu G B, Cao J, Wang J B, Lan Y P. SSR analysis of genetic diversity of ancient Chinese chestnut trees in the Ming and Qing dynasties. Forestry Science Research, 2016, 29 (6): 940-945
- [12] 李志朋.怀柔区板栗黄化皱缩病发生相关因子调查及综合防控示范.中国植保导刊,2020,40(10):65-70
Li Z P. Investigation and comprehensive prevention and control demonstration of the related factors of chestnut yellowing and shrinking disease in Huairou District. China Plant Protection Guide, 2020, 40 (10): 65-70
- [13] 张瑞,界春晓.板栗——门前高喊“灌香糖”.绿化与生活,2020(12):32-35
Zhang R, Jie C X. Chestnut - shout "sweet sugar" in front of

- the door. *Greening and Living*, 2020(12): 32-35
- [14] Cheng L, Huang W, Lan Y, Cao Q C, Su S C, Zhou Z J, Wang J B, Liu J L, Hu G L. The complete chloroplast genome sequence of the wild Chinese chestnut (*Castanea mollissima*). *Conservation Genetics Resources*, 2018, 10: 291-294
- [15] Sogo N, Shuan R, Yutaka S, Shingo T, Norio T, Yukie T, Toshihiro S, Eiich I. Genetic evidence that Chinese chestnut cultivars in Japan are derived from two divergent genetic structures that originated in China. *PLoS ONE*, 2020, 15: e0235354
- [16] 张辉, 柳臻. 板栗群体的遗传多样性及人工选择的影响. *云南植物研究*, 1998(1): 81-88
Zhang H, Liu L. Genetic diversity of Chinese chestnut population and the influence of artificial selection. *Yunnan Plant Research*, 1998 (1): 81-88
- [17] Li L C, Wu G H. Analysis of genetic diversity among wild Chinese chestnut populations using SSR markers. *Acta Horticulturae*, 2009, 844: 275-280
- [18] 杨阳, 郭燕, 张树航, 李颖, 张馨方, 王广鹏. 中国栗属植物起源、演化和分类研究进展. *河北农业科学*, 2017, 21(2): 25-28
Yang Y, Guo Y, Zhang S H, Li Y, Zhang X F, Wang G P. Advances in the study of the origin, evolution, and classification of *Castanea* plants in China. *Hebei Agricultural Science*, 2017, 21 (2): 25-28
- [19] 何秀娟, 邱文明, 徐育海. 利用叶片形态学性状和RAPD分子标记检测湖北板栗资源遗传多样性. *中国南方果树*, 2014, 43(2):12-16
He X J, Qiu W M, Xu Y H. Genetic diversity of chestnut resources in Hubei province was detected using leaf morphological traits and RAPD molecular markers. *Fruit Trees in Southern China*, 2014, 43 (2): 12-16
- [20] 程丽莉. 燕山板栗实生居群遗传多样性研究与核心种质初选. 北京:北京林业大学, 2005
Cheng L L. Study on genetic diversity and primary selection of core germplasms of *Castanea mollissima* in Yanshan. Beijing: Beijing Forestry University, 2005
- [21] 兰彦平, 周连第, 姚研武, 王尚德, 刘国彬. 中国板栗种质资源的AFLP分析. *园艺学报*, 2010, 37(9):1499-1506
Lan Y P, Zhou L D, Yao Y W, Wang S D, Liu G B. AFLP analysis of chestnut germplasm resources in China. *Journal of Horticulture*, 2010, 37 (9): 1499-1506
- [22] 聂兴华, 李伊然, 田寿乐, 王雪峰, 苏淑钗, 曹庆芹, 邢宇, 秦岭. 中国板栗品种(系)DNA指纹图谱构建及其遗传多样性分析. *园艺学报*, 2022, 49(11):2313-2324
Nie X H, Li Y R, Tian S L, Wang X F, Su S C, Cao Q Q, Xing Y, Qin L. Construction of DNA fingerprints and genetic diversity analysis of Chinese chestnut varieties (lines). *Journal of Horticulture*, 2022, 49 (11): 2313-2324
- [23] 程丽莉, 胡广隆, 苏淑钗, 黄武刚. 板栗及其近缘种叶绿体SSR遗传多样性分析. *华北农学报*, 2015, 30(2): 145-149
Chen L L, Hu G L, Su S C, Huang W G. Genetic diversity analysis of chloroplast SSR in chestnut and its related species. *Journal of North China Agriculture*, 2015, 30(2): 145-149
- [24] 刘国彬, 曹均, 兰彦平, 王金宝. 明清板栗古树指纹图谱的构建. *江西农业大学学报*, 2017, 39(1): 134-139
Liu G B, Cao J, Lan Y P, Wang J B. Construction of fingerprint of ancient Chinese chestnut trees in the Ming and Qing dynasties. *Journal of Jiangxi Agricultural University*, 2017, 39 (1): 134-139
- [25] 张馨方, 张树航, 李颖, 郭燕, 王广鹏. 基于SSR标记的燕山板栗种质资源遗传多样性分析. *中国农业大学学报*, 2020, 25(4): 61-71
Zhang X F, Zhang S H, Li Y, Guo Y, Wang G P. Genetic diversity analysis of chestnut germplasm resources in Yanshan based on SSR markers. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25 (4): 61-71
- [26] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 2012, 28: 2537-2539
- [27] Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155: 945-959
- [28] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study. *Molecular Ecology*, 2005, 14: 2611-2620
- [29] Koichiro T, Glen S, Sudhir K. MEGA11: Molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38: 3022-3027
- [30] Nei M. Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, the United States of America*, 1973, 70: 3321-3323
- [31] Pickrell J, Pritchard J. Inference of population splits and mixtures from genome-wide allele frequency data. *Nature Precedings*, 2012, <https://doi.org/10.1038/npre.2012.6956.1>
- [32] Jean-Marie C, Pierre P, Julien V, Alexandre D G, Mathieu G, Raphaël L, Jean-Michel M, Arnaud E. DIYABC v2.0: A software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. *Bioinformatics*, 2014, 30: 1187-1189
- [33] Porras-Hurtado L, Ruiz Y, Santos C, Phillips C, Carracedo A, Lareu M V. An overview of STRUCTURE: Applications, parameter settings, and supporting software. *Frontiers in Genetics*, 2013, 4: 98
- [34] 贺维, 陈时. 壳斗科水青冈属谱系地理学研究进展. *现代园艺*, 2021, 44(19): 47-50
He W, Chen S. Progress in the genealogical geography of the *Cyclobalanopsis* genus (Fagaceae). *Modern Gardening*, 2021, 44 (19): 47-50
- [35] Zhang X L, Manzaned R D, D'Orangeville L, Rademacher T T, Li J X, Bai X P, Hou M T, Chen Z J, Zou F G, Song F B, Pederson N. Snowmelt and early to mid-growing season water availability augment tree growth during rapid warming in

- southern Asian boreal forests. *Global Change Biology*, 2019, 25: 3462-3471
- [36] Tian S, Lei S Q, Hu W, Deng L L, Li B, Meng Q L, Soltis D E, Soltis P S, Fan D M, Zhang Z Y. Repeated range expansions and inter-/postglacial recolonization routes of *Sargentodoxa cuneata* (Oliv.) Rehd. et Wils. (Lardizabalaceae) in subtropical China revealed by chloroplast phylogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2015, 85: 238-246
- [37] Sales H, Šatović Z, Alves M L, Fevereiro P, Nunes J, Patto M C V. Accessing ancestral origin and diversity evolution by net divergence of an ongoing domestication mediterranean olive tree variety. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 688214
- [38] Spengler R N. Origins of the apple: The role of megafaunal mutualism in the domestication of *Malus* and rosaceous trees. *Frontiers in Plant Science*, 2019, 10: 617
- [39] Zhai S, Yin G, Yang X. Population genetics of the endangered and wild edible plant *Ottelia acuminata* in southwestern China using novel SSR markers. *Biochemical Genetics*, 2018, 56: 235-254
- [40] Bouffartigue C, Debille S, Fabreguettes O, Cabrer A R, Pereira-Lorenzo S, Flutre T, Harvengt L. Two main genetic clusters with high admixture between forest and cultivated chestnut (*Castanea sativa* Mill.) in France. *Annals of Forest Science*, 2020, 77: 384-387
- [41] Yang Y Q, Huang B H, Yu Z X, Liao P C. Inferences of demographic history and fine-scale landscape genetics in *Cycas panzhihuaensis* and implications for its conservation. *Tree Genetics & Genomes*, 2015, 11: 78
- [42] 李祥栋, 石明, 陆秀娟, 潘虹, 魏心元, 陆平. 利用叶绿体基因组 SSR 标记揭示薏苡属种质资源的遗传多样性. *华北农学报*, 2019, 34(S1): 6-14
Li X D, Shi M, Lu X J, Pan H, Wei X Y, Lu P. The genetic diversity of *Coix germplasm* resources was revealed by chloroplast genome SSR markers. *North China Agricultural Journal*, 2019, 34 (S1): 6-14
- [43] 孟繁霜. 糜子遗传多样性与栽培起源研究. 吉林: 吉林大学, 2018
Meng F S. Study on genetic diversity and cultural origin of millet. Jilin: Jilin University, 2018
- [44] Han J C, Wang G P, Kong D J, Liu Q X, Zhang X Y. Genetic diversity of Chinese chestnut (*Castanea mollissima*) in Hebei. *Acta Horticulturae*, 2007, 760: 573-577
- [45] 李颖林. 锥栗野生和栽培群体遗传多样性的 SSR 分析. 福州: 福建农林大学, 2019
Li Y L. SSR analysis of genetic diversity in wild and cultivated populations of *Castanea henryi*. Fuzhou: Fujian Agricultural and Forestry University, 2019
- [46] 李朝霞. 中国对虾人工选育群体遗传结构分析及遗传连锁图谱的构建. 青岛: 中国海洋大学, 2006
Li C X. Genetic structure analysis and genetic linkage map construction of artificial breeding populations of *Penaeus chinensis*. Qingdao: China Ocean University, 2006
- [47] 江锡兵, 汤丹, 龚榜初, 赖俊声. 基于 SSR 标记的板栗地方品种遗传多样性与关联分析. *园艺学报*, 2015, 42(12): 2478-2488
Jiang X B, Tang D, Gong B C, Lai J S. Genetic diversity and association analysis of local Chinese Chestnut cultivars based on SSR markers. *Journal of Horticulture*, 2015, 42 (12): 2478-2488
- [48] Sarr A, Bodian A, Gbedevi K M, Ndir K N, Ajewole O O, Gueye B, Foncéka D, Diop E, Diop B M, Cissé N, Diouf D. Genetic diversity and population structure analyses of wild relatives and cultivated cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) from senegal using simple sequence repeat markers. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2020, 39: 112-124
- [49] Gao Y, Yin S, Wu L, Dai D Q, Wang H B, Liu C, Tang L Z. Genetic diversity and structure of wild and cultivated *Amorphophallus paeoniifolius* populations in southwestern China as revealed by RAD-seq. *Scientific Reports*, 2017, 7: 14183
- [50] Qiang Z, Wang Y, Li S, Wang M W, Luo X D, Li X, Feng X L, Li C Y. Efficiency of ISSR marker in assessing the genetic diversity of wild and cultivated *Hedysarum polybotrys* Hand. Mazz. *Caryologia*, 2018, 71: 174-181
- [51] 纵丹, 周安佩, 张垚, 李旦, 段丽华, 何承忠. 西南地区古杨树遗传多样性的 SSR 分析. *西北植物学报*, 2018, 38(5): 839-849
Zong D, Zhou A P, Zhang Y, Li D, Duan L H, He C Z. SSR analysis of genetic diversity of ancient poplar in southwest China. *Journal of Northwest Botany*, 2018, 38 (5): 839-849
- [52] 张亮, 王振龙, 高志文, 马晶, 樊明瑞, 韩志校. 山西省旱柳古树资源遗传多样性的 SSR 分析. *山西林业科技*, 2018(1), 47: 6-9
Zhang L, Wang Z L, Gao Z W, Ma J, Fan M R, Han Z X. SSR analysis of genetic diversity of *Salix mandshurica* ancient tree resources in Shanxi province. *Shanxi Forestry Science and Technology*, 2018 (1), 47: 6-9
- [53] 仲小茹, 柯叮, 黄献峰, 何小三, 王玉娟, 孙荣喜. 基于 SSR 标记的江西省枫香古树遗传多样性评价. *植物遗传资源学报*, 2023, 24(2): 523-531
Zhong X R, Ke D, Huang X F, He X S, Wang Y J, Sun R X. Genetic diversity in the ancient *Liquidambar formosana* Hance revealed by simple sequence repeat markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2023, 24 (2): 523-531
- [54] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 1143-1155
- [55] Deng Y, Liu T, Xie Y, Wei Y, Xie Z, Shi Y, Deng X. High genetic diversity and low differentiation in *Michelia shiluensis*, an endangered magnolia species in south China. *Forests*, 2020, 11: 469