

云杉矮槲寄生遗传多样性 及其群体遗传结构分析

白云¹, 陈磊¹, 朱宁波¹, 李学武¹, 才让旦周², 吴有林³, 田呈明^{1*}

(1 北京林业大学 林学院, 北京 100083; 2 青海省森林病虫害防治检疫站, 西宁 810000; 3 青海省海东地区北山林场, 青海海东 810500)

摘要: 该研究采用 CTAB 法提取云杉矮槲寄生 (*Arceuthobium sichuanense*) 的基因组 DNA, 利用 ITS1 片段的序列信息对中国 9 个不同地理群体的 62 份云杉矮槲寄生样本的遗传多样性及群体遗传结构进行分析。结果表明: (1) 62 条 ITS1 序列共定义 16 个单倍型 (H1~H16), 表现出较低的遗传多样性水平 ($h=0.6785$, $\pi=0.0059$), 而群体间的遗传多样性水平则表现出较大差异 ($h=0\sim1.0000$, $\pi=0\sim0.0094$); AMOVA 分析显示云杉矮槲寄生群体内的遗传变异占到 51.37%, 群体间为 48.63%。(2) Network 单倍型网络分析表明, 单倍型 H1 和 H12 较为古老, 且所有群体对 2 种单倍型无共享现象; 单倍型 H1 是广布单倍型, 存在于青海和甘肃的 6 个群体中, 单倍型 H12 仅在四川的 2 个群体中有分布。(3) 基于最大似然法 (ML) 构建的群体聚类 and 中介邻接法构建的单倍型网络图均显示, 四川的 3 个群体为独立类群, 区别于青海、甘肃群体, 且甘肃和青海的群体之间没有明显分化。该研究首次报道了云杉矮槲寄生遗传多样性和遗传结构, 为进一步研究其进化及后续的疾病防控提供了一定的参考。

关键词: 云杉矮槲寄生; 遗传多样性; 群体遗传结构; 单倍型

中图分类号: Q789

文献标志码: A

Genetic Diversity and Population Genetic Structure of *Arceuthobium sichuanense*

BAI Yun¹, CHEN Lei¹, ZHU Ningbo¹, LI Xuewu¹, CAIRANG Danzhou²,
WU Youlin³, TIAN Chengming^{1*}

(1 College of Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2 Forest Pest Control and Quarantine Station of Qinghai Province, Xining 810000, China; 3 Beishan Farm of Qinghai Province, Haidong, Qinghai 810500, China)

Abstract: In this study, the total genomic DNA were extracted with CTAB method, and then the genetic structure of the *Arceuthobium sichuanense* from 9 different populations was analyzed according to the sequence of internal transcribed spacer 1 (ITS1). 1) Sixteen haplotypes (H1—H16) were observed from 62 ITS1 sequences, showing a low level of genetic diversity ($h=0.6785$, $\pi=0.0059$) in the populations of *A. sichuanense*. However, there were larger differences of the level of genetic diversity ($h=0\sim1.0000$, $\pi=0\sim0.0094$) among different populations. The AMOVA analysis showed that the genetic variation within populations of *A. sichuanense*, accounted for 51.37%, while the genetic variation among populations was 48.63%. 2) Haplotypes of network showed that H1 and H12 were relatively original in this study. Also, two haplotypes were not shared among all of populations. H1 exists widely in six populations from Qinghai and Gansu, and H12 only exists in two populations from Sichuan. 3) Population clustering based on maximum likelihood and median-joining network based on maximum parsimony method indicated that the three

收稿日期: 2015-09-07; 修改稿收到日期: 2016-02-19

基金项目: 国家“十二五”林业科技支撑项目 (2012BAD19B0702); 林业公益性行业科研专项 (201204503)

作者简介: 白云 (1990—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事森林病理学研究。E-mail: yunbai2013@163.com

* 通信作者: 田呈明, 教授, 博士生导师, 主要从事森林病理学研究。E-mail: chengmt@bjfu.edu.cn

populations from Sichuan are independent populations, while there is no significant differentiation between Gansu and Qinghai population. It is the first report about the genetic diversity and structure of *A. sichuanense*. The results will provide reference for the evolution and disease control of *A. sichuanense*.

Key words: *Arceuthobium sichuanense*; genetic diversity; population genetic structure; haplotype

云杉矮槲寄生(*Arceuthobium sichuanense*)是槲寄生科(Viscaceae)油杉寄生属(*Arceuthobium*)的多年生半寄生性种子植物,分布于中国青海、甘肃、四川和西藏等高海拔地区^[1]。云杉矮槲寄生主要寄生于云杉属植物^[1],目前已报道的寄主有青海云杉(*Picea crassifolia*)、紫果云杉(*P. purpurea*)、川西云杉(*P. likiangensis* var. *balfouriana*)、西藏云杉(*P. spinulosa*)和青杆(*P. wilsonii*)^[1-2]。云杉矮槲寄生侵染成功后,造成寄主枝条组织增生膨大,产生大量下垂的扫帚状丛枝,进而削减寄主生长量和材积产量,影响寄主的光合与蒸腾作用以及对水分和营养的吸收利用,同时削弱寄主抵御环境和其它病虫害的能力,最终随着感病级别的增加而死亡^[3-5]。除此之外,云杉矮槲寄生还具有重要的生态学功能^[3]。云杉矮槲寄生雌雄异株^[1],主要依赖种子弹射进行近距离传播^[6],在林间呈聚集发生^[7]。尽管有报道称鸟类和一些哺乳动物可以携带矮槲寄生的种子进行远距离的传播^[8],但在云杉矮槲寄生上尚未见报道。近年来,青海“三江源”地区的云杉天然林和人工林受到云杉矮槲寄生的严重危害,部分地区发病率高达90%以上,严重威胁了当地的森林健康和生态安全^[9-10]。目前针对云杉矮槲寄生的研究主要集中于生物学特点、发病规律以及化学防治方面^[2,4-7,11-12],缺乏对其群体遗传背景的分析,制约了对病害流行成灾原因的了解,从而影响了相关控制策略的制定。

了解寄生植物的遗传多样性及群体动态有利于理解寄生植物与寄主之间互作的生态、进化关系以及病原物的变异情况^[13-14]。通常情况下,物种的生活史特点、分布以及与基因扩散有关的生态学过程均可以影响其遗传结构^[15]。对于种子植物来说,其交配系统对群体的遗传分化也起着重要的作用^[16-19]。而在寄生植物与寄主互作的系统中,寄生植物的生活史与其寄主植物、非寄主植物、花粉散播以及种子传播机制均有着密切的关系^[3,20-22]。因此,矮槲寄生与其它生物之间的互动可能影响着矮槲寄生的遗传结构^[13]。同时,由于寄生植物具有特殊的生活史策略,通常难以形成经典的遗传多样性和遗传结构模式^[13]。鉴于需要适应不同的寄主基

因型,克服寄主的抗性选择压力,寄生植物会产生较高的遗传多样性水平^[23-25],甚至高于其寄主植物^[26-27],那些依赖特定寄主或者缺乏长距离传播机制的寄生植物则会由于较低的基因频率而导致地理适应性或寄主依赖性小种的形成,表现出较强的遗传结构特征和地理距离隔绝^[26,28]。事实上,不同的寄生植物会表现出不同的遗传分化水平^[23,26-27,29-32]。

在物种遗传背景的研究过程中,不同的分子标记反映不同的影响因素。叶绿体基因标记反映了与地理相关的影响因素,而核基因标记则反映了与植物生育系统相关的影响因素^[33]。核糖体基因(nrDNA)的内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)以高度串联重复的方式存在于核基因组中,既具有核苷酸序列的高度变异性又有长度上的保守性^[34],相比于编码基因序列,其变异速度相对较快;与中高度重复序列和非编码序列相比,又具有较高的保守性^[35],已被广泛用于被子植物的系统发育、分子鉴定、遗传多样性、种内变异以及DNA条形码的相关研究^[36-41]。本研究基于云杉矮槲寄生的ITS1序列,分析其群体遗传多样性及遗传结构,以揭示中国云杉矮槲寄生的遗传分化与其寄主种类、地理分布的关系,为进一步了解云杉矮槲寄生的传播以及制定病害控制策略提供参考。

1 材料和方法

1.1 样本采集

本研究于2013~2014年分别在青海、甘肃、四川等地采集9个地理群体的62份云杉矮槲寄生样本(表1)。样本采集地的主要生态因子数据来自中国气象数据网1981~2010年30年间的气象数据资料(<http://data.cma.gov.cn/>)。根据云杉矮槲寄生的种子弹射特点及其在林分内的空间分布格局^[6-7],在受侵染林分的空间范围,每个群体采集2~10株云杉矮槲寄生,相邻云杉间隔10 m。采集时以被侵染的云杉小枝为单位,将云杉矮槲寄生植株装入离心管中带回实验室,经液氮速冻后保存在-80℃备用。

1.2 基因组DNA提取和ITS序列PCR扩增及测序

采用CTAB法提取云杉矮槲寄生的总基因组

DNA^[42],经琼脂糖凝胶电泳检测后,保存于-20℃冰箱备用。用引物 18S1830(5'-AACAAGGTTTC-CGTAGGTGA-3')和 26S40(5'-TCCTCCGCT-TATTGATATGC-3')对云杉矮槲寄生的 ITS 区域进行扩增^[43-44]。所用引物由上海英骏生物技术有限公司合成。25 μL PCR 反应体系包含 2.5 μL 10×PCR buffer、2.5 μL dNTPs(2.5 mmol/L),上下游引物(10 μmol/L)各 0.5 μL,0.75 U *Taq* DNA 聚合酶,DNA 模板 10~30 ng,加 dd H₂O 至总体积 25 μL。扩增反应程序为 94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,52℃退火 30 s,72℃延伸 1 min,进行 35 个循环,最后 72℃延伸 10 min。按 DNA 凝胶回收试剂盒(天根生化科技北京有限公司)说明书对 PCR 产物进行回收纯化后,与 pMD19-T 载体连接,用大肠杆菌感受态细胞进行转化,挑取阳性克隆摇菌后进行 PCR 检测,转化成功的菌液由北京三博远志生物技术有限公司进行测序。

1.3 数据处理与分析

利用 DNAMAN 软件对正反序列进行拼接,并用 Chromas 软件对序列峰图进行人工校对。多序列比对用 MEGA 5 中的 Clustal W 进行操作。GC 含量的测定用 DNASTar 软件中的 Editseq 程序完成。利用 DnaSP 5.1 软件^[45]对各个群体进行遗传多样性评价。

利用 MEGA5 软件构建最大似然法(maximum likelihood,ML)系统发育树,并通过 1 000 次重复的自展程序进行标准检测。用 Arlequin 3.0 软件^[46]中的分子变异分析程序(AMOVA)计算群体遗传差异指数 F_{ST} 值,用于测量群体间的遗传分化程度^[47]。利用软件 Permut(<http://www.pierrrton.intra.fr/genetics/labo/software/permut>)计算基于单倍型分化频率和程度的群体遗传分化系数 N_{ST} 和 G_{ST} ^[48]。利用软件 Network 4.2.0.1^[49]的中介邻接法(Median-joining network)构建所有群体的单倍型网络图,以此进行 ITS1 单倍型分析。

2 结果与分析

2.1 ITS1 序列多态性分析

云杉矮槲寄生的 ITS1 序列分析结果表明,ITS1 序列长度为 212 bp,没有检测到插入/缺失片段,包含了 18 个变异位点,其中 9 个为转换位点,9 个为颠换位点,分别占总长度的 4.25%和 4.25%。不同群体的 ITS1 序列的碱基含量存在差异,GC 含量为 36.79%~38.68%(表 2)。云杉矮槲寄生 9 个

群体的 62 个样本共产生 16 个单倍型(表 2)。其中单倍型 H1 出现频率最高,占总样本量的 54.84%,仅在青海、甘肃 6 个群体的 34 个样本中有出现;单倍型 H12 的出现频率次之,占总样本量的 14.52%,仅出现在四川的 2 个群体的 9 个样本中(表 3)。

2.2 云杉矮槲寄生群体遗传多样性分析

对所有群体的 ITS1 序列单倍型多样性(h)和核苷酸多样性(π)分析结果表明,云杉矮槲寄生表现出较低的遗传多样性水平($h=0.6785$, $\pi=0.0059$),而单个群体间遗传多样性水平表现出较大的差异($h=0\sim1.0000$, $\pi=0\sim0.0094$)。其中四川壤塘(SRT)群体具有最高的遗传多样性水平($h=1.0000$, $\pi=0.0094$),四川炉霍(SLH)和甘肃夏河(GXH)的群体也具有较高的遗传多样性水平($h=0.8000$, $\pi=0.0060$; $h=0.8000$, $\pi=0.0047$),而青海同仁(QTR)和甘肃合作(GHZ)的 2 个群体则表现出最低的遗传多样性水平($h=0$, $\pi=0$;表 3)。

各群体中的单倍型分布存在差异。其中,青海同仁(QTR)群体和甘肃合作(GHZ)群体只检测到一种类型的单倍型,其它 7 个群体均检测到 2 种或以上单倍型,四川炉霍(SLH)群体产生的单倍型最多,为 5 种。共享单倍型有 4 种(H1、H2、H11 和 H12),同时分布在多个群体中,其余 12 种单倍型仅在个别群体中出现。单倍型 H1 是广布单倍型,在青海、甘肃的 6 个群体中均有分布,单倍型 H2、H11 和 H12 仅分布在 2 个相邻的群体中。而在四川的 3 个群体中均未发现与青海、甘肃群体中相同的单倍型(表 3,图 1)。

2.3 云杉矮槲寄生群体遗传结构分析

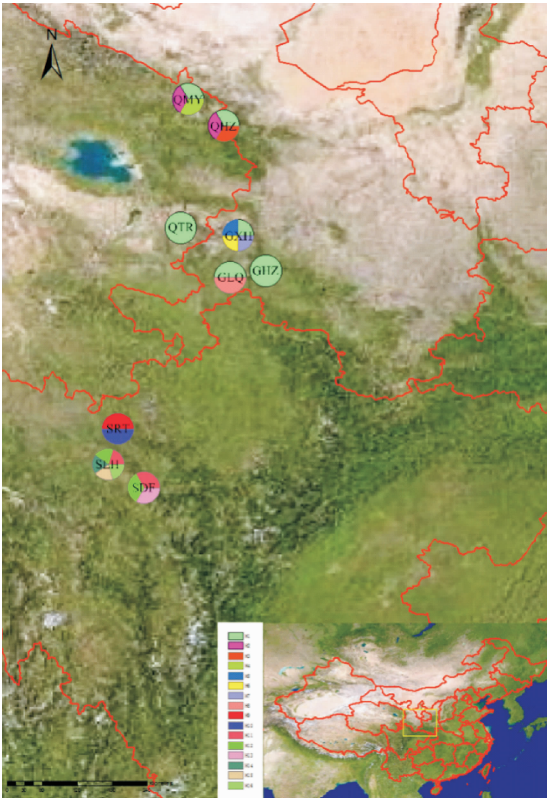
云杉矮槲寄生群体的分子变异(AMOVA)分析显示其群体内变异为 51.37%,群体间变异为 48.63%(表 4)。群体间遗传差异指数 F_{ST} 值表现出较大的差异,分布在 0~0.8657 之间,其中青海同仁(QTR)和四川壤塘(SRT)的 2 个群体之间表现出最高的遗传分化程度。另外,四川的 3 个群体(SRT、SDF 和 SLH)与青海、甘肃的 6 个群体(QTR、QHZ、QMY、GHZ、GXH 和 GLQ)之间均具有显著或极显著的遗传分化。同时,四川炉霍(SLH)、壤塘(SRT)、道孚(SDF)的群体之间也存在显著的遗传分化,而青海和甘肃的 6 个群体间的遗传分化均不显著(表 5)。Permut 软件分析云杉矮槲寄生群体的遗传分化系数结果为 $G_{ST}=0.421$, $N_{ST}=0.526$, N_{ST} 值显著高于 G_{ST} 值,表明在全部群体水平

表 3 不同地理群体云杉矮槲寄生的遗传多样性指数
Table 3 The estimated genetic diversity indexes in different populations of *A. sichuanense*

群体编号 Symbol	寄主 Host	ITS1 单倍型 Haplotype																单倍型数目 Number of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity
		H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16			
QTR	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	8																1	0.0000	0.0000
	紫果云杉 <i>P. purpurea</i>	1																		
QHZ	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	3																3	0.5238	0.0027
	青杆 <i>P. wilsonii</i>	2	1	1																
QMY	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	8	1		1													3	0.3778	0.0047
GHZ	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	1																1	0.0000	0.0000
	紫果云杉 <i>P. purpurea</i>	4																		
GXH	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	1						1										4	0.8000	0.0047
	紫果云杉 <i>P. purpurea</i>	2			1	1														
GLQ	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>	4						1										2	0.4000	0.0019
SRT	青海云杉 <i>P. crassifolia</i>								1	1								2	1.0000	0.0094
SDF	鳞皮云杉 <i>P. retroflexa</i>											1	6	1				3	0.4643	0.0024
SLH	川西云杉 <i>P. likiangensis</i> var. <i>balfouriana</i>										4	3			1	1	1	5	0.8000	0.0060
	总群体 Total	34	2	1	1	1	1	1	1	1	1	5	9	1	1	1	1	16	0.6785	0.0059

上,ITS1 单倍型具有明显的分子谱系地理结构。

云杉矮槲寄生群体间的系统发育分析结果表明,四川的 SRT、SDF、SLH 群体聚在了一个小分支上,而青海(QTR、QHZ、QMY)、甘肃群体(GHZ、GXH、GLQ)没有明显分支(图 2)。基于中介邻接法构建的单倍型网络图表现出与 ML 聚类类似的结果,以单倍型 H1 为节点形成了一个大的分支,以 H11、H12 为节点形成了 2 个小分支。H1 位于整个单倍型网络图的最中心,而其它单倍型都是从单倍型 H1 经过一步或多步突变得到的,位列于整个



饼图代表各单倍型在该群体中的分布比例,标注框内为 ITS1 各单倍型;群体编号同表 1,下同。

图 1 云杉矮槲寄生 ITS1 基因单倍型的分布

Different patterns were assigned for each haplotypes accordingly to the legend;Population symbols are identified in table 1,the same as below

Fig. 1 Geographical distribution of ITS1 haplotype of *A. sichuanense*

表 4 不同云杉矮槲寄生群体的分子变异(AMOVA)分析

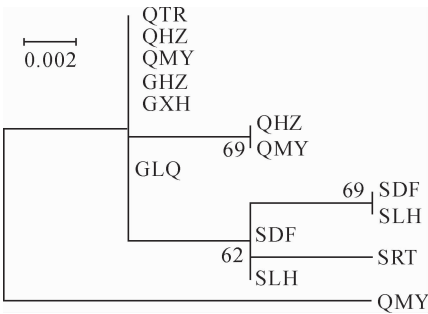
Table 4 Analyses of molecular variation of *A. sichuanense* populations

变异来源 Source of variation	自由度 <i>Df</i>	平方和 Sum of squares	变异组成 Variance component	变异所占比例 Percentage of variation/%	<i>P</i>
群体间 Among populations	8	20.10	0.32	48.63	<0.001
群体内 Within population	53	17.96	0.34	51.37	<0.001
总变异 Total	61	38.07	0.66		

单倍型网络图的外部节点上(图 3)。

3 讨 论

本研究基于云杉矮槲寄生 ITS1 的序列信息,分析了云杉矮槲寄生的遗传多样性及群体遗传结构,表明云杉矮槲寄生整体上表现出较低的遗传多样性水平($h=0.6785, \pi=0.0059$),这可能与其分



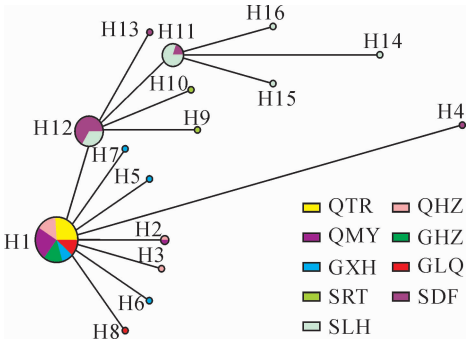
标尺代表进化距离;分支上数值表示自展支持率。

图 2 基于最大似然法的 9 个云杉矮槲寄生群体的系统发育树

Scale represents the distance of evolution;

The number of nodes represent bootstrap value.

Fig. 2 Phylogenetic tree of 9 populations of *A. sichuanense* based on Maximum Likelihood



圆圈大小代表各单倍型频率,不同颜色代表不同群体

图 3 基于 ITS1 序列的 9 个云杉矮槲寄生群体的单倍型网络图

Circumference size is proportional to the haplotype frequency; Different colors were assigned for each population as shown in the key

Fig. 3 Median-joining network of ITS1 haplotypes (H1—H16) for 9 populations of *A. sichuanense*

表 5 云杉矮槲寄生各群体间的 F_{ST} 值
Table 5 Population pairwise F_{ST} of *A. sichuanense*

	QTR	QHZ	QMY	GHZ	GXH	GLQ	SRT	SDF
QHZ	0.038 2							
QMY	-0.011 2	-0.048 6						
GHZ	0.000 0	-0.055 3	-0.084 3					
GXH	0.072 2	0.007 2	0.000 0	-0.034 5				
GLQ	0.126 2	-0.010 8	-0.041 3	-0.000 0	-0.015 4			
SRT	0.865 7*	0.624 8	0.525 9**	0.772 7*	0.505 9*	0.641 4**		
SDF	0.811 4**	0.652 5**	0.556 6**	0.754 8**	0.588 1**	0.682 3**	0.315 2	
SLH	0.685 1**	0.594 7**	0.552 0**	0.614 6**	0.554 4**	0.586 8**	0.319 1*	0.232 1*

注: ** 差异达极显著水平($P<0.01$); * 差异达显著水平($P<0.05$)。

Note: ** indicate most significant difference($P<0.01$); * indicates significant difference($P<0.05$).

布范围有关。物种的遗传多样性受其生活史、种子散播和传粉机制、交配系统、生殖模式、突变率以及突变机制等生物学特性的影响^[15]。不同因素对物种遗传变异大小的影响程度不同^[50]。在物种水平上依次为分类地位>分布范围>生活型>繁育系统>种子散布机制,而在群体水平上则变为繁育系统>分布范围>生活型>分类地位>种子散布机制^[50]。就分布范围而言,物种的分布范围越广,其遗传多样性越高,反之则越低^[50]。云杉矮槲寄生分布于中国青海、甘肃、四川和西藏等高海拔地区^[1],分布范围较为狭窄,个体和群体数量较少,适应幅度小,基因交流不频繁,遗传变异的能力也较差,因而产生新的遗传变异的机会也少,故有限的地理分布可能是其多样性偏低的主要原因。而对于寄生植物来说,寄主的多样性对寄生植物的遗传多样性水平也有重要的影响^[13]。云杉矮槲寄生仅寄生于云杉属植物^[1],寄主范围相对较窄,因此,对寄主的专化性也可能是导致云杉矮槲寄生遗传多样性水平较低的原因之一。

从本研究结果可以看出,云杉矮槲寄生群体具有明显的遗传分化,表现出了显著的谱系地理结构,其群体遗传分化系数($G_{ST}=0.421$)均高于 *A. americanum* 的群体遗传分化系数($G_{ST}=0.286$)^[26]和 *A. cyanocarpum*、*A. apachecum*、*A. blumeri* 的群体遗传分化系数($G_{ST}=0.235$)^[51]。一方面,青海省南部的巴颜喀拉山是西北朝东南走向的山脉,其东面是若尔盖草原,西面同可可西里的东缘相接,将青海与四川群体完全隔开^[52],岷山山脉位于甘肃南部,川西高原北部,阻断了四川与甘肃群体^[53],从而阻碍了花粉的传播,限制了群体间的基因交流,进而造成了云杉矮槲寄生群体之间分化程度的加大。然而,青海与甘肃采样点间并无大的山系将其阻隔,且

云杉苗木由于批量买卖可能导致基因交流较为频繁,故 6 个群体间未形成明显分化。另一方面,云杉矮槲寄生为雌雄异株植物,自然情况下可能通过风媒和昆虫进行花粉传播^[3]。云杉矮槲寄生依赖种子弹射进行近距离传播,其种子弹射的最远距离为 15 m^[6],尽管矮槲寄生的种子可以通过鸟类和哺乳动物进行远距离传播^[8],但尚未发现云杉矮槲寄生种子远距离传播的途径,因而造成其群体之间缺少基因交流,而导致群体间明显的遗传分化。从本研究的结果来看,群体间的地理隔绝是导致云杉矮槲寄生群体分化的主要原因。而在美洲矮槲寄生遗传结构的研究中也发现地理隔绝和不同寄主的共同作用促进了美洲矮槲寄生分化为 3 个小种^[26]。然而,不同寄主来源的云杉矮槲寄生群体是否存在分化,还需要进一步研究探讨。

依据矮槲寄生群体的遗传多样性水平和单倍型分布可以推断其进化起源及迁移历史^[26]。从单倍型网络图与 ML 聚类结果可以看出,单倍型 H1 和 H12 存在于网络图的内部,均为祖先单倍型。而青海和甘肃的 6 个群体中均包含了古老的 H1 单倍型,推测可能青海和甘肃的云杉矮槲寄生群体本来属于同一个古老的群体,随后在各自的区域内,由于地理环境和寄主的不同发生了独立进化,分化出新的单倍型。四川的 3 个群体中单倍型的演化网络也有类似的结果,由祖先单倍型 H12 逐渐衍生出其它单倍型。

综上所述,本研究基于 ITS1 序列,分析了云杉矮槲寄生的群体遗传多样性及遗传结构,揭示了云杉矮槲寄生群体较低的遗传多样性,且具有明显的地理谱系结构。本研究结果将对云杉矮槲寄生的进化、传播和扩散的深入研究以及病害控制提供参考。

参考文献:

- [1] 吴征镒. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,2003.
- [2] 高发明,陈磊,等. 云杉矮槲寄生的侵染对青杆光合与蒸腾作用的影响[J]. 植物病理学报,2015,45(1):14-21.
GAO F M, CHEN L, et al. Effect of *Arceuthobium sichuanense* infection on photosynthesis and transpiration of *Picea wilsonii* [J]. *Acta Phytopathologica Sinica*, 2015, 45(1):14-21.
- [3] HAWKSWORTH F G, WIENS D. Dwarf mistletoes: biology, pathology, and systematics[M]. U. S. D. A. Forest Service Agriculture Handbook 709. Washington, DC. 1996.
- [4] XIA B, TIAN C M, LUO Y Q, et al. The effects of *Arceuthobium sichuanense* infection on needles and current-year shoots of mature and young Qinghai spruce (*Picea crassifolia*) trees [J]. *Forest Pathology*, 2012, 42(4):330-337.
- [5] 周在豹. 三江源云杉矮槲寄生生物学特性及防治研究[D]. 北京:北京林业大学,2007.
- [6] 孙秀玲,许志春,才让丹周,等. 云杉矮槲寄生种子雨的时空分布格局[J]. 西北林学院学报,2014,29(4):65-68.
SUN X L, XU Z C, CAIRANG D Z, et al. Spatiotemporal patterns of the seed rain of *Arceuthobium sichuanense* [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2014, 29(4):65-68.
- [7] 胡阳,田呈明,才让旦周,等. 青海仙米林区云杉矮槲寄生空间分布格局及其与环境的关系[J]. 北京林业大学学报,2014,36(1):102-108.
HU Y, TIAN C M, CAIRANG D Z, et al. Spatial distribution pattern of *Arceuthobium sichuanense* and its correlation with environment in Xianmi forest region of Qinghai, Northwestern China [J]. *Journal of Beijing Forestry University*, 2014, 36(1):102-108.
- [8] NICHOLLS T H, HAWKSWORTH F G, MERRILL L M. Animal vectors of dwarf mistletoe, with special reference to *Arceuthobium americanum* on lodgepole pine[M]. Gen. Tech. Rep. RM-111. Fort Collins, CO; U. S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Forest and Range Experiment Station, 1987:102-110.
- [9] 马建海,淮稳霞,赵丰钰. 云杉矮槲寄生——危害青海云杉的寄生植物[J]. 中国森林病虫,2007,26(1):19-21.
MA J H, HUAI W X, ZHAO F Y. *Arceuthobium sichuanense*, a parasitic plant attacking spruce in Qinghai Province [J]. *Forest Pest and Disease*, 2007, 26(1):19-21.
- [10] 李涛,马明呈,谭建萍. 仙米林区云杉矮槲寄生为害状况及防治[J]. 青海大学学报,2010,28(3):69-72.
LI T, MA M C, TAN J P. Damage situation and control *Arceuthobium sichuanense* in Xianmi forest area [J]. *Journal of Qinghai University*, 2010, 28(3):69-72.
- [11] 周在豹,许志春,田呈明,等. 促使云杉矮槲寄生果实提前脱落药剂筛选[J]. 中国森林病虫,2007,26(5):39-41.
ZHOU Z B, XU Z C, TIAN C M, et al. Screening of the plant hormones causing the fruit pre-abscission of *Arceuthobium sichuanense* [J]. *Forest Pest and Disease*, 2007, 26(5):39-41.
- [12] 周在豹,许志春,田呈明,等. 除草剂防治云杉矮槲寄生效果初报[J]. 植物保护,2014,40(4):198-200.
ZHOU Z B, XU Z C, TIAN C M, et al. Preliminary report on efficiency of herbicides on controlling *Arceuthobium sichuanense* [J]. *Plant Protection*, 2014, 40(4):198-200.
- [13] BARRETT L G, THRALL P H, BURDON J J, et al. Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interactions[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2008, 23(12):678-685.
- [14] MCDONALD B A, LINDE C. Pathogen population genetics, evolutionary potential, and durable resistance[J]. *Annual Review of Phytopathology*, 2002, 40:349-379.
- [15] AMICO G C, VIDAL-RUSSELL R, AIZEN M A, et al. Genetic diversity and population structure of the mistletoe *Tristerix corymbosus* (Loranthaceae) [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2014, 300:153-162.
- [16] HAMRICK J L, GODT M J W, SHERMAN-BROYLE S L. Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species[J]. *New Forests*, 1992, 6:95-124.
- [17] HAMRICK J L, GODT M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 1996, 351: 1 291-1 298.
- [18] NYBOM H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 1 143-1 155.
- [19] NYBOM H, BARTISH I V. Effects of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants[J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2000, 3:93-114.
- [20] Mathiasen R L, NICKRENT D L, SHAW D C, et al. Mistletoes: pathology, systematics, ecology, and management [J]. *Plant Disease*, 2008:988-1 006.
- [21] PHOENIX G K, PRESS M C. Linking physiological traits to impacts on community structure and function: the role of root hemiparasitic Orobanchaceae (ex-Scrophulariaceae) [J]. *Journal of Ecology*, 2005, 93:67-78.
- [22] PRESS M C, PHOENIX G K. Impacts of parasitic plants on natural communities[J]. *New Phytologist*, 2005, 166:737-751.
- [23] MUTIKAINEN P, KOSKELA T. Population structure of a parasitic plant and its perennial host[J]. *Heredity*, 2002, 89: 318-324.
- [24] GAGNE G, ROECKEL-DREVET P, GREZES-BESSET B, et al. Study of the variability and evolution of *Orobanche cumana* populations infesting sunflower in different European countries [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1998, 96:1 216-1 222.
- [25] GARCÍA-FRANCO J G, SOUZA V, EGUIART L E, et al. Genetic variation, genetic structure and effective population size in the tropical holoparasitic endophyte *Bdallophyton bambusarum* (Rafflesiaceae) [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1998, 210:271-288.
- [26] JEROME C A, FORD B A. The discovery of three genetic races of the dwarf mistletoe *Arceuthobium americanum* (Viscaceae) provides insight into the evolution of parasitic angiosperms[J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11(3):387-405.
- [27] ZUBER D, WIDMER A. Phylogeography and host race differ-

- entiation in the European mistletoe (*Viscum album* L.) [J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18: 1 946-1 962.
- [28] STANTON S, HONNAY O, JACQUEMYN H, *et al.* A comparison of the population genetic structure of parasitic *Viscum album* from two landscapes differing in degree of fragmentation [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2009, 281: 161-169.
- [29] DE VEGA C, BERJANO R, ARISTA M, *et al.* Genetic races associated with the genera and sections of host species in the holoparasitic plant *Cytinus* (Cytinaceae) in the Western Mediterranean basin [J]. *New Phytologist*, 2008, 178: 875-887.
- [30] HOLZAPFEL S, FAVILLE M Z, GEMMILL C E C. Genetic variation of the endangered holoparasite *Dactylanthus taylorii* (Balanophoraceae) in New Zealand [J]. *Journal of Biogeography*, 2002, 29: 663-676.
- [31] LINHART Y B, ELLWOOD L M, KARRON J D, *et al.* Genetic differentiation in the dwarf mistletoes *Arceuthobium vaginatum* and *Arceuthobium americanum* on their principal and secondary hosts [J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2003, 164: 61-69.
- [32] OLIVIER A, GLASZMANN J -C, LANAUD C, *et al.* Population structure, genetic diversity and host specificity of the parasitic weed *Striga hermonthica* (Scrophulariaceae) in Sahel [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1998, 209: 33-45.
- [33] DUMINIL J, FINESCHI S, HAMPE A, *et al.* Can population genetic structure be predicted from life-history traits [J]. *American Naturalist*, 2007, 169(5): 662-672.
- [34] 田 欣, 李德铎. DNA 序列在植物系统学研究中的应用 [J]. 云南植物研究, 2002, 24(2): 170-184.
- TIAN X, LI D Z. Application of DNA sequences in plant phylogenetic study [J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2002, 24(2): 170-184.
- [35] ALI M A, AL-HEMAID F, AL-QURAINY F, *et al.* Assessment of genetic diversity among Indian populations of *Cuscuta reflexa* based on ITS sequences of nrDNA [J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2011, 5: 1 217-1 223.
- [36] PANDEY A K, ALI M A. Molecular markers in plant systematics I: nuclear sequences [J]. *Plant Sciences Research in India: Challenges and Prospects, Botanical Survey of India, Dehradun, India*, 2006: 21-36.
- [37] ZUO Y J, CHEN Z J, KONDO K, *et al.* DNA barcoding of *Panax* species [J]. *Planta medica*, 2011, 77: 182-187.
- [38] 狄红艳, 骆凯, 张吉宇, 等. 基于 ITS 和 trnL-trnF 序列的草木樨种群遗传多样性研究 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(2): 265-269.
- DI H Y, LUO K, ZHANG J Y, *et al.* Genetic diversity analysis of *Melilotus pupulations* based on ITS and trnL-trnF sequences [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(2): 265-269.
- [39] 何 文, 张 静, 黄智林, 等. 基于 ITS 序列对栽培中国樱桃遗传多样性及其群体遗传结构的分析 [J]. 西北植物学报, 2014, 34(3): 463-472.
- HE W, ZHANG J, HUANG Z L, *et al.* Genetic diversity and population genetic structure among local Chinese cherry varieties [*Cerasus pseudorasus* (Lindl.) G. Don] based on ITS sequence [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(3): 463-472.
- [40] ZHANG Y B, SHAW P C, SZE C W, *et al.* Molecular Authentication of Chinese Herbal Materials (Review Article) [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2007: 15.
- [41] HAQUE I, BANDOPADHYAY R, MUKHOPADHYAY K. Intraspecific variation in *Commiphora wightii* populations based on internal transcribed spacer (ITS1-5. 8S-ITS2) sequences of Rdna [J]. *Diversity*, 2009, 1(2): 89-101.
- [42] DOYLE J J, DOYLE J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue [J]. *Focus*, 1990, 12: 13-15.
- [43] NICKRENT D L, GARCÍA M A, MARTÍN M P, *et al.* A phylogeny of all species of *Arceuthobium* (Viscaceae) using nuclear and chloroplast DNA sequences [J]. *American Journal of Botany*, 2004, 91(1): 125-138.
- [44] NICKRENT D L, GARCÍA M A. On the brink of holoparasitism: plastome evolution in dwarf mistletoes (*Arceuthobium*, Viscaceae) [J]. *Journal of Molecular Evolution*, 2009, 68(6): 603-615.
- [45] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1 451-1 452.
- [46] EXCOFFIER L, LAVAL G, SCHNEIDER S. Arlequin (version 3. 0): an integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1: 47-50.
- [47] 曾 真. 基于 cpDNA 单倍型的银杏群体遗传与谱系分析 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [48] PONS O, PETIT R J. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles [J]. *Genetics*, 1996, 144(3): 1 237-1 245.
- [49] FORSTER P, BANDELT H, ROHL A. Network 4. 2. 0. 1. Software available free at www.fluxus engineering. com [M/CD]. Fluxus Technology Ltda. 2004.
- [50] 金 燕, 卢宝荣. 遗传多样性的取样策略 [J]. 生物多样性, 2003, 11(2): 155-161.
- JIN Y, LU B R. Sampling strategy for genetic diversity [J]. *Biodiversity Science*, 2003, 11(2): 155-161.
- [51] REIF B P, MATHIASSEN R L, KENALEY S C, *et al.* Genetic structure and morphological differentiation of three western north american dwarf mistletoes (*Arceuthobium*, Viscaceae) [J]. *Systematic Botany*, 2015, 40(1): 191-207.
- [52] 吴玉虎. 巴颜喀拉山地区植物区系研究 [J]. 云南植物研究, 2004, 26(6): 587-603.
- WU Y H. The floristic characteristics in the region of Bayan Har Mountains [J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2004, 26(6): 587-603.
- [53] 杨明显, 樊 贤, 谭 昱. 九寨沟-岷山山脉地区东方蜜蜂形态特征研究 [J]. 西南农业学报, 2007, 20(3): 542-546.
- YANG M X, FAN X, TAN K. Morphometric study of *Apis cerana* in Jiuzhaigou-Minshan mountain zones [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2007, 20(3): 542-546.

(编辑: 潘新社)