分类号　　密级　　UDC

北京林业大学

专业学位硕士学位论文

两种落叶栎种群遗传学和景观遗传学研究

Study of Population and Landscape Genetics of Two Deciduous Oak

祁敏

指导教师　杜芳

学院　林学院

专业学位类型　林业

领域名称　恢复生态学与生物多样性保护

二〇二一年　六　月　十六　日

独 创 性 声 明

本人声明所呈交的论文是本人在导师指导下独立进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得北京林业大学或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

签　名：_____　日　期：_____

关于学位论文使用授权的声明

本人完全了解北京林业大学有关保留、使用学位论文的规定，即：研究生在校攻读学位期间论文工作的知识产权单位属北京林业大学；学校有权保留并向国家有关部门或机构送交论文的纸质版和电子版，允许学位论文被查阅、借阅和复印；学校可以将学位论文的全部或部分内容公开或编入有关数据库进行检索，可以允许采用影印、缩印或其它复制手段保存、汇编学位论文。

签　名：_____导师签名：_____日　期：_____

本论文研究工作受国家自然科学基金项目（项目编号：**42071060**；项目名称：栎类生态适应的分子机理研究）的资助，在此表示感谢！

摘要

栎属植物(*Quercus* L.)由于其表型可塑性强以及杂交渐渗频繁，是研究生态适应的模式物种。槲栎(*Quercus aliena* BI.)和槲树(*Quercus dentata* Thunb.)主要分布于东亚地区，为壳斗科落叶栎，是我国北方森林的重要组成物种。本研究利用 12 对核微卫星分子标记对 24 个槲栎种群，共 279 个个体和 29 个槲树种群，共计 480 个个体进行种群遗传学和景观遗传学的研究。得到的主要研究结果如下：

(1) 种群遗传学分析结果表明槲栎的遗传多样性大于槲树。槲栎种群化分为三个枝系：西南枝系、秦巴枝系以及中东部枝系；槲树种群则划分为秦巴枝系和中东部两个枝系。分子方差分析结果表明遗传变异主要存在于种群内，且两物种中东部枝系的遗传分化水平最低。

(2) 通过 Migrate-n 估计各物种间和枝系之间的基因交流的程度和方向，结果显示槲栎和槲树之间存在非对称的基因流，基因流的方向主要是从槲树到槲栎。

(3) Mantel 检验和冗余分析(redundancy analysis, RDA)表明环境因子对槲栎和槲树的遗传变异均有影响。在槲栎种群中，中东部枝系中存在显著的地理隔离(isolation by distance, IBD)和环境隔离(isolation by environment, IBE)。在槲树种群中，中东部枝系中存在显著的地理隔离(IBD)，秦巴枝系中存在显著的地理隔离(IBD)和环境隔离(IBE)。梯度森林(Gradient Forests, GF)分析也得出了一样的结果，且最干旱月份降水量(bio14)和等温性(bio03)对槲栎种群的遗传变异有显著的影响，在槲树种群中等温性(bio03)是影响遗传变异的最主要气候因子。

本研究通过对槲树和槲栎的种群遗传学和景观遗传学的研究，探究在各自分布区域内两个物种的遗传分化并进一步解析环境因子对遗传变异的影响。研究结果为更加深入研究槲栎和槲树的生态适应以及共存机制提供了依据。

关键词：槲栎，槲树，核微卫星，种群遗传学，景观遗传学

Study of Population and Landscape Genetics of Two Deciduous Oak Species

Master Candidate: Qi Min

(Forestry)

Supervised by Prof. Dr. Fang DU

Abstract

Quercus L. is a model species for studying ecological adaptation due to its frequent introgression and strong phenotypic plasticity. *Quercus aliena* BI. and *Quercus dentata* Thunb., belong to *Quercus* L. (Fagaceae). are one of the most important forest component species in northern China. In this study, 12 pairs of nuclear microsatellite markers were used to explored the population genetics and landscape genetics of *Q. aliena* and *Q. dentata*. A total of 279 individuals from 24 populations and 480 individuals from 29 *Q. dentata* were genotyped. The main findings of this study were as followed:

(1) Genetic diversity of *Q. aliena* was greater than that of *Q. dentata*. The results of genetic differeation showed that *Q. aliena* was differentiated into three genetic lineages: Southwest lineage, Qinba lineage and MiddleEast lineage. *Q. dentata* was clearly differentiated into Qinba lineage and MiddleEast lineage. The genetic divergence of *Q. aliena* and *Q. dentata* mainly existed within the populations based on the analysis of molecular variance (AMOVA), with the MiddleEast lineage had the lowest level of genetic differentiation.

(2) The degree and direction of gene flow among species and lineages were estimated through Migrate-n. An asymmetric gene flow was detected between *Q. aliena* and *Q. dentata* with the direction from *Q. dentata* to *Q. aliena*.

(3) Mantel test and redundancy analysis (RDA) showed that the environmental factors influenced the genetic variation of *Q. aliena* and *Q. dentata.* In *Q. aliena*, there is significant isolation by distance (IBD) and isolation by environment (IBE) in the MiddleEast lineage. In *Q. dentata*, significant isolation by distance (IBD) existed in the MiddleEast lineage, while significant isolation by distance (IBD) and isolation by environment (IBE) existed in the Qinba lineage. Gradient Forests (GF) analysis also revealed similar pattern: the precipitation of the driest month (bio14) and isothermal (bio03) had a significant impact on the genetic variation of *Q. aliena*, and the isothermal (bio03) was the most important factors that affected the genetic variation of *Q. dentata*.

We compared the genetic patterns of the two species across their distribution ranges and the effect of environmental factors to the genetic variation. The result of the study will provide basic knowledge to explore the local adaptation and coexistence mechanism of *Q. aliena* and *Q. dentata* .

Key words: *Quercus aliena*, *Quercus dentata*, nuclear microsatellite, population genetics, landscape genetics

目录

1 引言 1
1.1 种群遗传学 1
1.1.1 种群遗传学的发展 1
1.1.2 种群遗传学研究内容 1
1.1.3 杂交渐渗 2
1.1.4 气候变化影响物种分化 2
1.1.5 微卫星分子标记技术在种群遗传学中的应用 3
1.2 景观遗传学研究内容及主要方法 3
1.3 栎属研究现状 5
1.3.1 壳斗科栎属的分类 5
1.3.2 槲栎与槲树的形态特征、地理分布及研究进展 6
1.4 本文的研究内容、研究目的及意义 6
1.4.1 研究内容 6
1.4.2 研究目的和意义 6
2 材料与方法 9
2.1 样品采集 9
2.2 实验方法 11
2.2.1 基因组 DNA 的提取 11
2.2.2 基因组 DNA 质量检测与分装 12
2.2.3 核微卫星引物的筛选与 PCR 扩增 13
2.2.4 原始数据处理 14
2.3 种群遗传学分析 15
2.3.1 遗传多样性分析 15
2.3.2 遗传分化分析 15
2.3.3 基因流分析 16
2.4 景观遗传学分析 16
2.4.1 气候因子的提取 16
2.4.2 线性分析方法 17
2.4.3 非线性分析方法 17
3 研究结果 19
3.1 槲栎和槲树的种群遗传学分析 19
3.1.1 遗传多样性 19
3.1.2 遗传结构 21
3.1.3 种群基因流 26
3.2 槲栎和槲树的景观遗传学分析 27
3.2.1 Mantel 检验 27
3.2.2 余分析 29
3.2.3 梯度森林分析 31
4 讨论 33
4.1 槲栎和槲树的遗传多样性与遗传分化 33
4.1.1 遗传多样性 33
4.1.2 遗传结构 33
4.2 环境异质性对槲栎和槲树种群遗传变异的影响 35

5 结论与展望 37
5.1 结论 37
5.2 展望 37
参考文献 39
个人简介 47
导师简介 49
获得成果目录清单 51
致谢 53

1 引言

1.1 种群遗传学

1.1.1 种群遗传学的发展

种群遗传学是一门采用数学、统计学等方法探究物种内或近缘种间等位基因频率的分布和变化的学科。通过对物种遗传多样性及其在世代间变化的规律进行研究并探究影响这些变化的机制，可深入理解物种形成方式和进化规律(Wright, 1931)。

种群遗传学理论最早源于“哈迪-温伯格”定律，即在一个无限大、随机交配的理想(无突变、自然选择并无迁入迁出等)种群中，等位基因型频率会以一个稳定的平衡值一代代地保持下去(Hardy, 1908; Weinberg, 1908)。后经英国数学家费希尔(Fisher RA)、遗传学家霍尔丹(Haldane JBS)和美国遗传学家赖特(Wright S)等人将数学统计相关方法与种群遗传学相结合形成了最初的种群遗传学理论体系。随着 DNA 测序技术的发展和分子标记的广泛使用，促进了种群遗传学的发展。日本遗传学家 Kimura（1968）提出了分子进化中性学说，中性学说表明在分子水平上发生的突变大多是中性的，自然选择对它们几乎或者完全不起作用，这些突变依靠一代又一代的随机漂变在种群中固定下来或者消失不见，从而形成了分子水平上的进化。同时，随着多态性检测方法和溯祖理论的广泛使用，种群遗传学的研究越来越完善(Hudson, 1987; Tajima, 1989; Fu, 1993)。

1.1.2 种群遗传学研究内容

种群遗传学研究中最重要的两个指标是遗传多样性和遗传结构。广义上的遗传多样性是指地球上的生物携带的各种遗传信息的累加。在物种进化过程中，突变、遗传漂变、基因流和自然选择等因素都会影响物种的遗传多样性。因此，种群遗传学中遗传多样性的估算是基础。通过估测种群中具有多态基因位点的数量以及每个多态基因位点上等位基因的数量这两个参数可以直接测量种群遗传多样性。该方法虽然在技术上操作简单，但是对估算的样本量非常敏感。因此，后来在研究遗传多样性时，使用一个相对量即多态基因位点的百分比(proportion of polymorphic loci, p)来对遗传多样性进行描述：即种群中多态基因位点的数目占所观察的基因位点数目的百分比。除此之外，多态性杂合度也可以有效度量种群的遗传多样性。杂合度反映了种群的多态性，描述了不同等位基因遗传变异的程度(Miller and Tanksley, 1990)。私有等位基因为一个种群中独有的等位基因，统计一个种群中的私有等位基因数可评估该种群遗传的特性(Kalinowski 2004)显示一个种群中基因的多样性，不受采样数量的影响。植物的遗传多样性对生态系统功能的维持至关重要，因为遗传多样性一旦丧失往往不可逆，根据推算，遗传多样性的恢复大约需要 10^8 世代 (Nei *et al*., 1975)。

种群遗传结构是指遗传变异数量和分布在种群内或种群间的变化，一般使用遗传

分化系数 F_{ST} 来衡量物种的遗传结构，F_{ST} 的范围一般是 0-1：在实际研究中当 F_{ST} 的值为 0 时，表明种群间的基因交流频繁，种群无分化；当 F_{ST} 值为 1 时，表明两个种群完全分化，种群之间没有基因交流。基因流(gene flow)一般指物种内不同种群间的基因交换，基因流屏障会导致物种的遗传分化系数增加，种群结构更加显著。例如随着种群距离的增加，基因交流的机会越来越少，进而影响遗传结构。这种由于地理距离导致基因交流的阻断，属于地理屏障，即地理隔离（Isoloation by distance, IBD）。而由于生态或环境因子的差异导致基因交流的减少属于生态或环境屏障，即环境隔离（Isolation by environment, IBE）。在经典岛屿模型中，使用参数 *N*m 即每个世代迁入的有效个体的数目作为基因流的估测值，并使用 $Nm = (1-Fst) / 4Fst$ 来计算基因流(Wright, 1949)。在植物中，大多基因流通过种子和花粉传播，并通过授精、发芽、成熟后固定下来。相比于依靠花粉传播的植物来说，依靠种子进行传播的植物基因交流有限，导致其种群内与种群间的遗传分化较大。Petit 等人（2005）总结了 183 种裸子植物和被子植物的遗传分化结果，表明在裸子植物中双亲遗传标记的遗传分化系数为 0.14，被子植物中为 0.09。而且与生活周期较短的草本植物相比，树木往往具有更广泛的基因流(Hamrick *et al*., 1992)。在常见的风媒植物中，花粉的基因流比种子基因流强 20~200 倍(Ennos, 1994)。随着分子遗传学技术的快速发展，利用分子遗传数据来探究物种的遗传分化、进化机制并揭示生物物种形成过程是目前植物种群遗传学研究的主要内容之一（徐刚标，2009）。

1.1.3 杂交渐渗

杂交是指不同物种之间在自然条件下的交配。基因渐渗是指后代与亲本进行反复回交，导致遗传物质转移的过程（Anderson, 1953）。大多数杂交渐渗的发生是由物种间不完全的生殖隔离引起，几乎发生在所有动植物形成过程中(Mallet *et al*., 2005)。杂交渐渗可以改变物种的遗传变异水平(Whitney *et al*., 2006; Haines *et al*., 2019)，甚至影响物种的进化历史，从而影响物种命运，例如：An 等(2017)对中国分布的越南青冈(*Quercus austrocochinchinensis*)和毛叶青冈(*Quercus kerrii*)的研究发现，毛叶青冈对越南青冈持续的基因渐渗使越南青冈的遗传多样性减少，增加了越南青冈灭绝的风险，因此需采取相应的保护措施。杂交也可以促进新的物种的形成：Zeng 等(2011)对东北华北分布的蒙古栎(*Q. mongolica*)和辽东栎(*Q. liaotungensis*)的研究也发现两个物种间存在的杂交渐渗促进了东北辽东栎的形成。

1.1.4 气候变化影响物种分化

全球气候的波动，尤其是第四纪(Quaternary, 2 Ma)气候的剧烈变化显著影响着北半球物种的多样性与物种的结构(Hewitt, 2000; Hewitt, 2004)。第四纪以来的气候变化中，对现存物种影响最为深刻的是距今约 2.4-1.8 万年前的末次盛冰期(Last Glacial Maximum, LGM)。尽管与欧洲和北美相比，东亚大部分地区在末次盛冰期阶段并未被

大冰盖所覆盖，但是剧烈的气温骤降对该地区的物种种群间的基因交流仍造成了显著影响(Qian and Ricklefs, 2000)。例如，在冰期东海海平面下降，而在冰后期或者间冰期海平面上升就会造成种群间的隔离。伴随着气温变化，海平面的升降会造成物种不断地隔离、二次接触乃至物种形成。在气候波动下，大多数物种的生存由于生存环境的突变会受到极大威胁，物种主要通过对本地环境产生适应或者迁移至新环境并定居来应对变化的环境，或躲避不良环境，这些迁移的地点就是避难所，例如中国西南山区及横断山区就是许多树木的气候避难所，中国西南部群体的隔离导致特有物种的形成；中国亚热带地区由于长期隔离造成的多个避难所以及中国北方存在落叶林的“隐形避难所”等(Parmesan, 2006; Parry *et al*., 2007; Davis *et al*., 2001; Qiu *et al*., 2011)。

1.1.5 微卫星分子标记技术在种群遗传学中的应用

本研究中所使用的分子标记是广泛应用于植物的微卫星分子标记(Simple Sequence Repeat, SSR)技术，又称为简单序列重复，微卫星分子标记是由 1-6 个碱基串联重复而成的 DNA 序列，一般重复次数为 10-50 次，具有多态性高、共显性、稳定性好、扩增对 DNA 质量要求较低等优点(Edwards *et al*., 1991; Kelkar *et al*., 2010; Kalia *et al*., 2011; Guichoux *et al*., 2011a)。虽然微卫星序列分布于物种基因组中的不同位置，但是其两端的序列大多保守因此可以根据这两端的序列来设计引物，并检测在属内或种间的通用性，节约开发成本。微卫星分子标记在种群遗传学中应用广泛：使用微卫星分子标记可以探究种间和种内的遗传分化和遗传多样性，如 Zeng 等(2009)利用 19 对核微卫星分子标记探究蒙古栎(*Q. mongolica*)和辽东栎(*Q. liaotungensis*)种群的遗传分化，结果表明辽东栎和蒙古栎中种群间和种群内均存在一定程度的分化；利用微卫星分子标记还可以检测物种间的杂交渐渗，例如 Lepais 等(2009)基于 10 对微卫星分子标记评估了物种相对丰度对欧洲白栎 4 个栎树物种(*Q. robur*, *Q. petraea*, *Q. pubescens*, *Q. pyrenaica*)杂交动态的影响，研究发现栎树物种之间普遍存在杂交现象，在栎树的进化中起重要作用，而且物种的丰富度对杂交和渐渗的方向有着一定的影响；另外，微卫星分子标记在估测有效种群大小以及物种分化的时间方面也可发挥一定作用(Gugger *et al*., 2013)。

1.2 景观遗传学研究内容及主要方法

景观遗传学是一个新兴的研究领域，它融合了种群遗传学和景观生态学，有效结合景观生态地理与分子遗传学的工具，通过空间映射种群（或物种）的等位基因频率，并将这些模式与环境因素相结合，来探究种群的空间遗传结构如何对环境空间异质性做出响应，并揭示种群（或物种）面临未来气候变化的命运(Manel *et al*., 2003; Rissler, 2016)。典型的景观遗传学研究更关注特定物种或种群在空间上的扩散，以及这些因素如何影响种群运动和基因流动(Rissler and Leslie, 2016)。

物种分布区的环境数据能够提供气候、地理和局部适应之间的清晰联系，因为遗

传变异的空间尺度与景观的空间尺度相匹配，从而将环境、进化的模式和过程联系起来(Bermingham and Moritz, 1998; Manel *et al*., 2010; Eckert and Dyer, 2012)。通过将分布区的地理气候因子与物种的遗传变异相结合的景观遗传学研究，可以更深入探究并量化物种的遗传变异对于环境变化的响应模式，以达到理解两者之间相互关系的目的(Fitzpatrick *et al*., 2015; Sork, 2017; de Lafontaine *et al*., 2018; Du *et al*., 2020; 王天瑞等，2020)。由于物种所处的自然环境是不断变化的，当种群在不同的环境分布时，自然选择可导致其对不同环境的适应，这一过程称之为局地适应或生态适应(local adaptation) (Williams, 1966; Kawecki *et al*., 2010)。生态适应是在长期自然选择过程中形成的，在长期的自然选择进化过程中，随着周围环境因子的改变，物种能够通过改变自身的结构、表型特征、生理生化特性甚至是在遗传物质水平上的改变来提高自身对周围环境的适应能力（杜芳，2016）。

对于树木种群来说，其特征是有效种群数量大，基因流丰富，固着性的特征决定了其对环境的适应能力，因此在树木中研究环境变化对遗传机制的影响显得尤为重要(Kremer *et al*., 2012; Hughs *et al*., 2008)。已有研究表明许多森林树种在不同的经纬度、海拔梯度等环境中表现出适应性的性状，在物种持续进化的过程中，有利变异的基因型被保留下来，而那些不利的基因型则被淘汰，使种群能够适应更极端的环境，物种由于长期受到独特环境梯度的选择压力，可能会产生独特的适应性遗传机制(Manel *et al*., 2003; Savolainen *et al*., 2007; Du *et al*., 2020; 王天瑞等，2020)。了解适应性遗传变异的基础可以更深入理解物种的局地适应机制，同时也可以提高我们对物种应对未来气候变化潜力的理解(Hoffmann *et al*., 2008; Petit *et al*., 2013; Rellstab *et al*., 2015; Kremer, 2016)。鉴定自然种群中适应性的遗传机制是研究景观遗传学的一个重要内容，从而可以在分子水平上识别影响遗传变异最重要的环境因素(Manel *et al*., 2003; 王玉垚，2018)。

景观遗传学的分析过程中，中性分子标记如核微卫星分子标记可以被用来鉴定与环境梯度相关的中性遗传变异的地理模式，作为初步检测自然选择的证据(Westfall and Conkle, 1992)。景观遗传学研究通常通过距离隔离(IBD) (Wright, 1943)、环境隔离(IBE) (Wang and Summers, 2010; Wang and Bradburd, 2014)或适应性隔离(IBA) (Wang, 2013)来评估地理因素、环境因素或者是适应性程度与遗传距离的隔离水平。物种对不同环境的响应可以通过比较种群内或种群间的遗传分化值来探究环境因子对物种遗传变异的影响。通过分析基因数据与环境之间的相关关系来揭示遗传变异对环境的响应以及背后的机制，常用的方法主要有多变量统计分析和非线性模型(Sork *et al*., 2016)。其中多变量统计分析通过结合遗传空间结构与环境因子，探究整个种群的遗传结构与环境因子之间的关系；线性分析使用最广泛的方法包括 Mantel 检验和冗余分析(Redundancy Analyses, RDA)。基于线性模型来分析环境因子对物种遗传变异的影响可能有一定的误差，需要结合非线性分析方法对遗传变异和环境因子进行非线性

关联，如广义相异建模(Generalized Dissimilarity Modelling, GDM)分析和梯度森林(Gradient Forests, GF)分析等(Ferrier *et al*., 2007; Ellis *et al*., 2012)。关于以上分析的原理、优缺点及应用见王天瑞等（2020）的综述论文。

1.3 栎属研究现状

1.3.1 壳斗科栎属的分类

全球栎属植物(*Quercus* L.)大约有 500 种，是壳斗科中最大的属，物种丰富度高，适应能力强，而且分布范围较广，广泛分布于北美、欧洲、亚洲和南美部分地区，是北半球温带和亚热带森林中最具多样性和生态重要性的属之一(Willis *et al*., 1968; Nixon, 1993; Valencia, 2004; Hubert *et al*., 2014)。栎属植物其表型可塑性强，具有较高水平的种间基因流和广泛的杂交渐渗，栎属的分类问题一直是很多学者讨论的热点问题(Rushton, 1993; Bacilieri *et al*., 1996; Manos *et al*., 1999; Kress *et al*., 2005)。根据 Denk 等人(2018)最新的分类系统将栎属分为包含常绿和落叶栎的八个组，分别是中间栎组(Sect. *Protobalanus*)，本都栎组(Sect. *Ponticae*)，活栎组(Sect. *Virentes*)，白栎组(Sect. *Quercus*)，红栎组(Sect. *Lobatae*)，青冈栎组(Sect. *Cyclobalanopsis*)，冬青栎组(Sect. *Ilex*)和麻栎组(Sect. *Cerris*)。在中国，栎属广泛分布，是中国温带落叶阔叶林和亚热带常绿阔叶林的主要组成物种，也是森林系统中生态系统功能的重要贡献者。根据第八次全国森林资源清查报告，栎类占天然林的总面积的 13%，是我国天然林中分布面积最大和最广的树种(候元兆等, 2017)。栎属在中国存在四个组：麻栎组，冬青栎组，青冈栎组和白栎组。根据叶习性可分为常绿栎和落叶栎，其中落叶栎大约有 10 余种，在一些林地内作为先锋树种存在，具有普遍的生态适应性(Huang *et al*., 1999)。

栎属植物是典型的风媒传粉和异交植物，研究发现尽管存在种间基因渐渗，但栎树能一直维持物种的完整性，是研究物种遗传分化、基因交流、适应和系统发育进化的模式物种（例如 Craft and Ashley, 2010; Gailing and Curtu, 2014; Cavender-Bares *et al*., 2015）。以往对栎属种群遗传学的研究集中于种间以及种内遗传多样性和遗传结构的研究，并探究基因交流情况，例如：徐小林等对栓皮栎(*Q. variabilis)*种群基于 16 对微卫星分子标记揭示了栓皮栎种群具有较高的遗传多样性(徐小林等，2004)。恽锐等对北京东灵山地区的辽东栎(*Q. liaotungensis)*种群通过 DNA 多态性和 DNA 扩增指纹方法，研究辽东栎的遗传分化，揭示了种群内部遗传变异水平较高(恽锐等，1998)。Du 等人(2017)使用微卫星分子标记的方法研究了川滇高山栎(*Q. aquifolioides*)的遗传多样性、遗传结构以及谱系之间的基因交流情况，然后基于 cpDNA 进一步分析川滇高山栎的谱系地理结构，构建系统进化树将川滇高山栎划分成三个进化枝，分别对应于地理上川滇高山栎的生长分布区()。魏高明利用 SSR 和表型性状研究了 4 种同域分布的栓皮栎(*Q. variabilis*)、麻栎(*Q. acutisssima*)、白栎(*Q. fabri*)和短柄枹栎(*Q. serrata* var. *brevipetiolata*)来探究栎树种间基因渐渗和杂交，结果表明在同组内的栎树种间基因渐

渗现象会普遍发生，但基因渐渗现象在不同组的栎树之间不能够普遍发生 (魏高明，2015)。

1.3.2 槲栎与槲树的形态特征、地理分布及研究进展

槲栎(*Quercus aliena* BI.)和槲树(*Quercus dentata* Thunb.)是壳斗科(Fagaceae)栎属(*Quercus* L.)白栎组中的两种落叶栎，主要分布在我国、日本、朝鲜等国家及地区。槲栎和槲树是构成我国北方山地植被的主要森林树种之一，分布区域总的呈东北-西南走向：北起辽河流域沿 400 mm 等降水量线一直到西南端的横断山脉处，延伸至与东部海岸线，气候梯度横跨温带、暖温带、北亚热带，主要分布在海拔范围为 100-2000 米的向阳山坡，常与其他树种混合生长组成混交林或成小片纯林(崔建国等, 2005)。

尽管遗传组成相近（Hubert *et al*., 2014; Lyu *et al*.,2018）但两物种叶型存在显著差异：槲栎叶柄长 1-1.3 cm，叶片具有较宽的叶基部，上半部渐窄，顶端钝渐尖；而槲树叶柄长 2-5 mm，叶片基部较狭窄，背面具有浓密的浅褐色星状绒毛，叶尖较短；槲树的裂叶程度较槲栎大；槲栎的小枝条比槲树的小枝条更加光滑；槲栎的壳斗包围种子的范围更大(Huang *et al*., 1999)。同时，槲树槲栎分布广泛，分布地区环境多变，有着良好的适应性，是研究物种遗传多样性和生态适应机理的理想物种。已有对槲栎和槲树的叶片几何形态学方面的研究可通过叶型差异将槲树和槲栎的物种分辨率提高到了 90%以上（刘媛, 2018; Liu *et al*., 2018）。目前对槲栎和槲树种群分布格局的研究侧重于区域范围内的研究，例如 Nagamitsu 等人对日本沿海生长的槲树进行了基于核微卫星的遗传聚类研究，探讨其生态型特征，结果表明由于环境异质性和对沿海生境的适应性选择导致沿海槲树叶片具有独特的生态型特征(Nagamitsu *et al*., 2019)。Lyu 等人通过微卫星分子标记和叶绿体 DNA 片段探究小尺度范围内的槲树与同域分布其它栎树之间的分化与基因交流情况，研究结果表明尽管槲树与其它栎树之间基因交流频繁但仍然存在明显的种间界限(Lyu *et al*., 2018)。除了对小尺度分布的槲栎和槲树遗传多样性和遗传分化的研究，李慧敏（2018）利用 3 个叶绿体 DNA 片段和 8 对微卫星标记推测了秦巴地区是槲树最大的冰期避难所。

1.4 本文的研究内容、研究目的及意义

1.4.1 研究内容

本文基于 12 对核微卫星分子标记，在对中国分布的槲栎和槲树种群实地调查并广泛采样的基础上，探究槲栎和槲树种群在不同分布区的的遗传多样性和分化水平，并估测物种内和物种间的基因交流程度。同时提取采样点的气候数据，分析槲栎和槲树种群在其分布范围内的地理隔离以及气候隔离的模式，探索槲栎和槲树遗传变异对气候和地理因子的响应。

1.4.2 研究目的和意义

本研究通过种群遗传学和景观遗传学方法研究槲栎和槲树物种形成机制及影响

因素，以期达到以下研究目的：

（1）分析槲栎和槲树的遗传多样性和遗传结构，并探讨可能原因；

（2）评估槲栎和槲树物种间和物种内基因交流的大小和方向；

（3）遗传变异对环境因子的响应并挖掘与遗传变异最相关的环境变量。

本研究对广泛分布于中国的槲栎和槲树种群的遗传多样性和遗传分化进行研究并探索物种遗传变异对环境变化的响应，为更加深入研究物种的生态适应以及共存机制提供了依据。

2 材料与方法

2.1 样品采集

通过对中国植物志、中国数字标本馆以及已经发表的槲栎和槲树相关文章进行查阅并统计整理野外分布情况（图 2.1 a），我们制定了完整详备的采样计划。于 2018-2019 年对中国的槲栎和槲树野生分布区进行实地考察，并采集实验所需的样品。本文所采集的槲栎和槲树种群已覆盖了两物种在中国的大部分的分布范围，采样点主要集中于两个物种的分布重叠区域（图 2.1 a 中灰色部分）。为了保证采样的科学性和代表性，所采集的样品需满足以下条件：(1) 两个不同自然种群之间的地理直线距离相隔 30km 以上；(2) 种群内的个体之间在采样时需间隔 10m 以上；(3) 同一种群内根据树木分布密度进行个体的采集，个体采集数量至少 4 棵；(4) 每棵树应采集 1-2 片幼嫩的叶片和新生枝条，叶片需健康、完整、无明显虫害病害。所收集的样品保存在装有变色硅胶干燥剂的信封袋内，并对每个信封袋编号记录，方便后续分析。使用全球定位系统(Global Positioning System, GPS)对每个种群记录其经纬度、海拔等地理信息。最终共采集 24 个槲栎种群，279 个个体；槲树种群 29 个，共计 480 个个体。所采集种群的分布以及采样个体数见图 2.1b 和表 2.1。

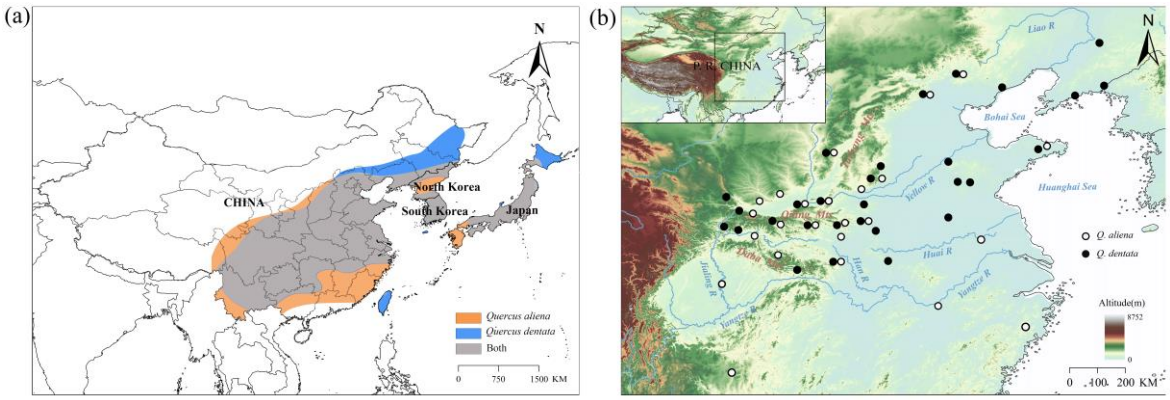

图 2.1 槲栎和槲树的分布区域(a)和采样点位置(b)

Figure 2.1 Distribution area (a) and (b) sampling location of *Q. aliena* and *Q. dentata*

表 2.1 槲栎和槲树样品采集信息表

Table 2.1 Sample information of *Q. aliena* and *Q. dentata*

种群 Pop	分布地点 Location	样本量 Number	平均日较差 bio02	等温性 bio03	最潮湿季节平均温度 bio08	最干旱月份降水量 bio14
槲栎 *Q. aliena*						
LGD	江西省九江市龙宫洞	6	8.27	25.51	20.95	40.00
SXJ	浙江省台州市仙居县神仙居风景区	10	8.27	27.31	19.32	39.00
YFS	陕西省平利县药妇山	5	9.19	31.05	17.13	14.00
ZJL	河南省南阳市宝天曼自然保护区紫茎岭	10	10.66	30.19	25.18	14.00
LYS	四川省南充市凌云山	4	6.81	24.67	25.30	13.00
SLHT	贵州省贵阳市十里河滩	5	7.38	27.86	22.08	18.00
TJS	陕西省西安市周至县铁甲树风景区	9	10.02	31.43	13.47	6.00
HHG	陕西省宝鸡市眉县红河谷风景区	9	9.98	30.41	16.73	5.00
DLT	河南省鲁山县观音乡西桐树庄大乐坛	8	11.38	31.02	24.35	9.00
GSS	河南省三门峡市甘山	14	9.27	28.54	18.67	6.00
HPS	陕西省眉县蒿坪寺	23	9.51	29.90	17.78	5.00
LPC	陕西省商洛市洛南县罗坡村	17	10.38	30.45	19.60	7.00
LZ	湖北省襄阳市隆中植物园	6	9.18	27.33	25.58	16.00
QDZ	河南省南阳市桥端镇	17	10.51	30.11	23.75	8.00
SBP	河南省沁阳市猕猴自然保护区石板坡	18	10.20	28.65	22.08	6.00
SBY	陕西省西安市长安区石砭峪	9	11.32	30.42	20.85	5.00
WLS	河北省兴隆县雾灵山	18	12.18	27.50	21.38	2.00
WXS	河南省新乡市辉县万仙山	9	9.51	27.24	20.15	4.00
ZWY	陕西省西安市秦岭子午峪	12	9.43	31.03	16.95	7.00
ZYG	陕西省商洛市丹凤县资峪沟村	14	9.95	28.67	23.52	8.00
KYS	山东烟台昆嵛山	12	8.88	24.95	22.92	11.00
SFS	北京市房山区上方山	18	10.97	27.76	22.53	4.00
GSL	山西省吕梁市交口县古树林	14	11.03	29.66	16.42	2.00
TSS	江苏省淮安市铁山寺	12	9.23	26.61	26.15	25.00
槲树 *Q. dentata*						
DGS	湖北省广水市大贵寺	7	8.59	26.11	24.67	20.00
DLT	河南省鲁山县观音乡西桐树庄大乐坛	19	11.38	31.02	24.35	9.00
DSG	陕西省宝鸡市大散关	23	9.73	30.23	19.07	4.00
GU	陕西省太白县关山	20	9.90	31.43	16.97	5.00
GSS	河南省三门峡市甘山	11	9.27	28.54	18.67	6.00
JLP	河南省焦作市修武县金岭坡村	24	12.53	32.36	18.68	6.00
LHS	河南省登封林场莲花寺林区	15	10.27	29.00	22.20	8.00
LPC	陕西省商洛市洛南县罗坡村	18	10.38	30.45	19.60	7.00

续表 2.1

LZ	湖北省襄阳市隆中植物园	13	9.18	27.33	25.58	16.00
MTZ	陕西省留坝县庙台子	22	9.42	31.18	18.25	5.00
QDZ	河南省南阳市桥端镇	20	10.51	30.11	23.75	8.00
SYB	陕西省留坝县桑园坝乡	21	9.43	30.73	17.35	6.00
XTS	河南省安阳市林州仙台山	16	10.72	28.22	22.23	3.00
ZGS	河南省平顶山市舞钢市支鼓山	20	10.59	29.26	24.73	13.00
ZJYZ	重庆市巫溪县张家垭子	8	8.30	28.82	20.03	19.00
ZWY	陕西省西安市秦岭子午峪	16	9.43	31.03	16.95	7.00
ZYG	陕西省商洛市丹凤县资峪沟村	16	9.95	28.67	23.52	8.00
ASS	山东省济宁市泗水县安山寺林场	21	10.98	28.51	24.97	9.00
GSL	山西省吕梁市交口县古树林	8	11.03	29.66	16.42	2.00
JJS	辽宁省丹东市锦江山公园	11	9.32	22.86	22.33	9.00
KYS	山东烟台昆嵛山	20	8.88	24.95	22.92	11.00
LJ	安徽省淮北市龙脊山	12	10.34	27.88	26.40	16.00
LTS	山东省济南市长清区莲台山风景区	14	10.79	27.60	25.60	5.00
MS	山东省临沂市蒙山景区	20	10.03	26.97	23.67	8.00
SCD	辽宁省大连市庄河市石城岛	16	7.24	19.36	22.02	9.00
SFS	北京市房山区上方山	19	10.97	27.76	22.53	4.00
SPSC	河北省秦皇岛市抚宁县石门镇上平山村	21	10.32	25.60	22.72	2.00
WLS	河北省兴隆县雾灵山	19	12.18	27.50	21.38	2.00
ZLG	辽宁省铁岭市铁岭县三岔子村钟楼沟	10	12.11	25.28	21.83	5.00

2.2 实验方法

2.2.1 基因组 DNA 的提取

本研究使用 TIANGEN 试剂盒提取所采集的槲栎和槲树叶片的 DNA，当使用叶片无法提取出质量合格的 DNA 时，则通过刮取枝条的形成层来继续提取 DNA。提取 DNA 的具体操作步骤如下：

(1) 在实验之前先打开水浴锅，将 GP1 放置在 65℃的恒温水浴锅预热 30min；

(2) 接着是实验材料准备阶段，使用电子天平称 0.015±0.005g 的样品，将称取完毕的样品和直径 0.5cm 的小钢珠共同放置在 2ml 的离心管；

(3) 所有的离心管在研磨之前放入液氮中冰冻 15min，然后将离心管放入研磨仪中（研磨仪使用过程中要配平），以 50r/s 的速度研磨 5-10min；

(4) 在通风橱中依次加入 700μL GP1 和 0.7μL 的 β-巯基乙醇；

(5) 将离心管中的液体摇匀混合，放入水浴锅中 65℃水浴 20min，水浴期间要摇晃离心管；

(6) 在通风橱中加 700μL 的三氯甲烷至离心管并摇晃 10min 以混合；

(7) 离心管在高速低温离心机(12000 rpm, 4℃)中离心 5 min；

(8) 取一个新的 2ml 离心管，吸取之前离心管中的上清液置于其中，再加入 0.7μL 的 RNA 酶并做好标记，于室温下静置 10min；

(9) 向静置之后的离心管中加入 700μL 三氯甲烷，并摇晃 10min 以混匀

(10) 离心管在高速低温离心机中以 12000 rpm， 4℃的条件下再次离心 5 min；

(11) 取一个新的 2ml 离心管，吸取上清液，加入 GP2 700μL，摇晃 5min 以混匀；

(12) 使用移液枪将液体转移至吸附柱，在高速低温离心机中以 12000 rpm，4℃的条件下离心 30s；

(13) 倒掉吸附柱中的废液，并在吸附柱中添加 500μL GD（缓冲液）

(14) 继续离心 30s；

(15) 倒掉吸附柱中的废液，并在吸附柱中添加 600μL PW（漂洗液）

(16) 继续离心 30s；

(17) 倒掉吸附柱中的废液，再次在吸附柱中添加 600μL PW（漂洗液）

(18) 吸附柱在高速低温离心机中 12000 rpm 4℃的条件下离心 2min，并倒掉废液；

(19) 将吸附柱在室温条件下放置 10min, 之后加入 80μL 的 TE（缓冲液），在烘箱中 37℃的条件下烘干 10min；

(20) 烘干后的吸附柱在高速低温离心机中 12000 rpm, 4℃的条件下离心 2min，离心出的 DNA 产物保存在-20℃冰箱中。

2.2.2 基因组 DNA 质量检测与分装

使用琼脂糖凝胶电泳（1%）对提取的槲栎和槲树所有个体的 DNA 质量进行初步判断。具体的实验操作如下：

加琼脂糖和 TAE 于锥形瓶(或烧杯)中来配置浓度为 1%的琼脂糖凝胶，用微波炉加热煮沸 2min 至溶解成无色液体，取出锥形瓶按一个方向摇晃直至温度降低到 40℃左右，在琼脂糖溶液中加入核酸凝胶染料(TS-GelRed) 1μL，并朝一个方向摇晃均匀(刘媛, 2018)。接着将溶液倒入制胶平板中(注意溶液表面不要有气泡)，将平板配套的梳子插入，等待 10min 左右液体凝固，将凝固后的胶以及 1×TAE 电泳缓冲液一起放入电泳槽中(燕语, 2019)。

琼脂糖凝胶电泳的原理是根据分子的大小和电荷对 DNA 大分子及其片段进行分离，以估计 DNA 片段的大小。对每个个体取 3μl 的 DNA，加入 2μl 的 Loading buffer 溶液，将其混合均匀，然后将混匀的溶液使用 10μL 的移液枪点样（加到胶板的小槽中）(苏金源, 2019)。并在胶板的第一个小槽内加入 2μl 1kb 的 DNA Ladder 作为 Marker 参照。接通电源，红色和黑色分别为电泳仪的正负极，DNA 样品是由负极向正极移动，在电泳仪的负极放加样孔，130V 条件下电泳 25min，由于琼脂糖溶液中的核酸凝胶染料能与 DNA 相互作用可在紫外光下会发出荧光，区分不同的 DNA 条带，利用凝胶成像仪(TJY04S-3C)拍照并保存图片（图 2.2）(王天瑞, 2020; 燕语, 2019)。

接着使用超微量紫外分光光度计(NanoDrop 8000)来检测所提取 DNA 的浓度和纯度。使用吸光度 OD 值在 280nm/260 nm 和 230nm/260 nm 的比值来检测所提取个体 DNA 的质量(燕语, 2019)。

检测完 DNA 质量后，去除或者重新提取 DNA 直至质量合格，使用 96 孔板顺序排列 DNA 样品，将对应排序的个体 DNA 吸取 20μL，加入缓冲液 TE 40μL 稀释，做好记录用于后续的实验分析。

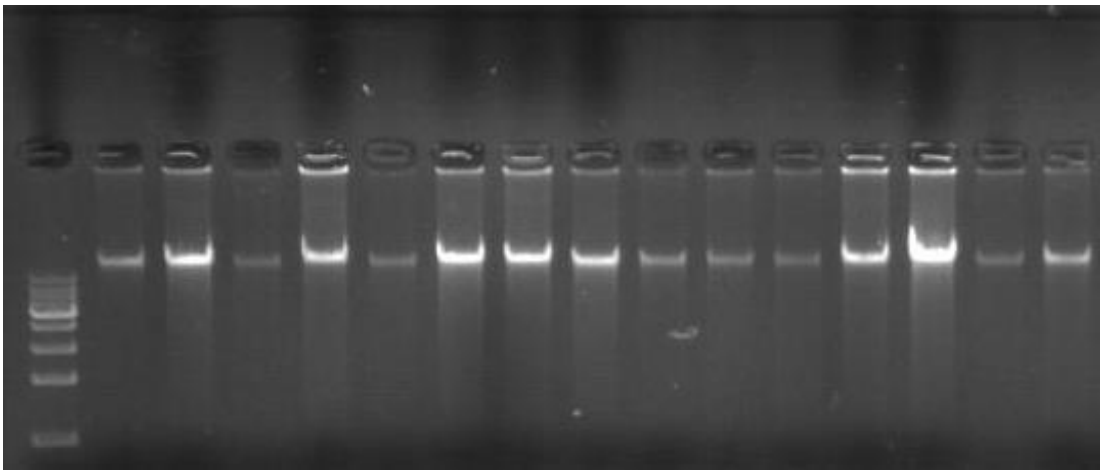

图 2.2 槲栎和槲树的 DNA 凝胶电泳图

Figure 2.2 DNA gel electrophoresis images of *Q. aliena* and *Q. dentata*

2.2.3 核微卫星引物的筛选与 PCR 扩增

对已发表的有关栎属植物的核微卫星通用引物进行文献的查找，并对槲栎和槲树物种中具有多态性的微卫星位点进行筛选。首先进行预扩增实验：挑选槲栎和槲树各 3 个不同种群中的 4 个个体 DNA 进行扩增，使用琼脂糖凝胶电泳(2%)进行质量的判断，最终筛选出 12 对具有多态性的位点，引物的序列的详细信息见表 2.2。我们采用四种荧光标记分别为：ROX（红色）, FAM（红色）, TAMRA（黑色）和 HEX（绿色）进行扩增实验（5’末端带有荧光标记的 M13 引物） (Schuelke, 2000; 王天瑞, 2020)。每个个体扩增的 PCR 反应体系共 15 μL（个体 DNA 1μL、 Mix 7.5μL、反向引物-R 0.24μL、5’末端带有 M13 的正向引物-F 0.06μL、带有荧光标记的 M13 引物 0.24μL 以及 ddH_2O 5.96μL），PCR 扩增的程序为：在 94℃条件下预变性 8 min，在 95℃条件下变性 30 s，在 56℃/54℃条件下退火 30 s，在 72℃条件下延伸 30 s，对步骤 2-4 重复 8 个循环，最后在 72℃条件下延伸 8 min（刘媛, 2018; 燕语, 2018, Lyu *et al*., 2018）。使用琼脂糖凝胶电泳(2%)对扩增产物进行质量测定，检测后再利用 ABI3730 测序仪将条带清晰的 PCR 产物进行毛细管电泳检测（北京擎科生物科技有限公司），采用四种荧光标记混合可同时检测 96 个样品，共计 2277 个毛细管电泳。

表 2.2 槲栎和槲树 SSR 引物序列信息

Table 2.2 Details information of SSR primers of *Q. aliena* and *Q. dentata*

引物位点 SSR Locus	退火温度 Ta(°C)	核心序列 Motif	引物序列 Sequence(5'-3')	等位基因长度 Allele size rang (bp)	参考文献 Reference
GOT021	56	AT	AGAAAGTTCCAGGGAAAGCA CTTCGTCCCCAGTTGAATGT	111-128	Durand *et al*. 2010
FIR026	56	TC	CTTCATGCACCAATTCCTCA GGCCATGTATGTGTGCAAAA	208-217	Durand *et al*. 2010
QmC00716	56	TC	AAGAGAACCCATTCCATCCC TGA GTTTCCCGAACAGTGGTTTCT TGA	261-287	Ueno *et al*. 2010
POR017	54	CT	CCCATATCCCTCTACGAAAG AA CTGGAGATGACATAGTGTCT CAAA	140-169	Durand *et al*. 2010
FIR015	56	AC	ACCCTAAAACCCCAATCACC CGGATCTTCGGCTATTCTTG	128-138	Durand *et al*. 2010
QmC00932	54	TC	AGGCTCAAAACAAAACCAAA CCG GTTTCCCCTTTCCCATAATCA AACCCT	247-260	Ueno *et al*. 2010
DN950446	56	AG	TCTCTTTCTCCGTCCATTATC GC GTTTCTCCACAGACCCCATTT CC	155-185	Ueno *et al*. 2010
WAG068	56	AG	TCTGCAACAAAACCAAAACA C CGGAGGAGAGAGTCAGCAAC	165-195	Durand *et al*. 2010
PIE271	56	TC	CACACTCACCAACCCTACCC GTGCGGTTGTAGACGGAGAT	197-247	Durand *et al*. 2010
QmC02052	56	AG	CACACCCAGATCCACAAAAC TCC GTTTGCCTCTACGGTCTCCCT CTT	250-300	Ueno *et al*. 2008
GOT011	56	TC	CCCCACCGTCTACTCTCAAA GCGTTCACCACGTCCATAAT	197-255	Durand *et al*. 2010
WAG066	56	AG	AACCTGTTTGGCTTCGTGTG AACAAAAGATTGGGAGGTGC	128-244	Durand *et al*. 2010

2.2.4 原始数据处理

对毛细管电泳检测的结果首先使用 GeneMarker(SoftGenetics)软件进行峰图的读取(Hulce *et al*., 2011)。读取峰图时先对所有个体的峰进行大体的观测，设定统一的 panal 值进行每个个体的读取，并注意杂峰的干扰。接着基于 Excel 的宏插件 FlexiBinv2 对读取的数据进行归一化处理，排除可能在读取的过程中等位基因片段出现读长误差(Amos *et al*., 2007)。最后再使用 Convert 软件进行格式转换，用于后续种群遗传学和景观遗传学的分析(Glaubitz, 2004)。

2.3 种群遗传学分析

2.3.1 遗传多样性分析

本研究首先使用Convert软件将原始数据转化为genepop格式，接着使用GenAlEx V6.5 软件对槲栎和槲树种群进行遗传多样性的分析，选择参数杂合度(Observed Heterozygosity, H_O; Expected Heterozygosity, H_E)和等位基因数目(Number of Different Alleles, N_A)来评估槲栎和槲树种群的遗传多样性，并使用 T 检验来估测多样性分析中每个统计量显著性(Peakall and Smouse, 2012)。杂合度可以反映种群的遗传变异程度，可表示不同等位基因的遗传变异程度。

此外，私有等位基因也称为特有等位基因，可以衡量一个种群特有的遗传多样性。本研究使用 Alleles In Space (AIS)软件将私有等位基因在槲栎和槲树种群中的分布情况反映在地理空间上(Miller *et al*., 2005)。Alleles In Space (AIS)软件通过在数据集中的所有采样位置之间构建一个连接网络直观地展示槲栎和槲树各个种群之间的私有等位基因的空间分布。首先选择软件中的“Interpolate genetic landscape shapes”模式，接着设置网格尺寸为 50*50，距离加权参数 a 为 1。通过运行软件最后会产生一个三维空间图，其中 X 轴和 Y 轴对应于采样点的地理位置，表面高度即 Z 轴代表私有等位基因丰富度(Miller *et al*., 2005)。

2.3.2 遗传分化分析

本研究使用三种方法对物种进行遗传分化的分析：

STRUCTURE 分析：根据槲树种群和槲栎种群中等位基因频率在个体间的差异，采用 STRUCTURE V2.3.4 软件探究槲栎和槲树种群的遗传结构 (Evanno *et al*., 2005)。该软件基于贝叶斯模型，将个体分配给各个枝系，并且假设每个枝系都处于哈温平衡(Hardy-Weinberg, H-W)和连锁平衡状态。首先设置 $2*10^5$ 次蒙特卡罗 MCMC 迭代，burn-in 为 10^5，接着设置代表进化枝数目的参数 K 为 1-10，其中对于每一个 K 值，迭代 20 次（王天瑞，2018; Lyu *et al*., 2018）。程序运行完成后会产生一个包含所有结果的文件夹，压缩文件夹后利用在线工具 Structure Harvester 可视化 Delta K 值的概率分布，选择 Delta K 最大时对应的 K 值作为最优进化枝数，最后使用 distruct v.1.1 软件绘制种群结构柱状图(Rosenberg, 2004; Earl *et al*., 2012)。接着根据 STRUCTURE 的结果统计混合系数 Q 值，可以使槲栎和槲树种群的遗传结构更加明确。根据 Q 值，获得每个种群的分组情况和各个组分所占的比例。然后，使用软件 ArcGIS ver.10.6 结合种群的地理信息，将槲栎和槲树种群的遗传结构以饼状图的形式展现在地图上，制作槲栎和槲树种群的遗传结构地理分布图(Beyer, 2004)。

主坐标分析与主成分分析：使用 GenAlEx V6.5 软件基于遗传距离矩阵在种群水平上对槲栎和槲树种群进行主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA)，更进一步验证种群的遗传分化模式。主坐标分析主要对所研究的种群或者个体进行聚类分析，

对种群或个体的特征向量以及特征值排序，挑选矩阵中最主要的坐标进行呈现。在个体水平上，基于协方差矩阵和矩阵的特征向量利用 R 语言(Team, 2018)中的“adegenet”函数包(Jombart *et al*., 2008)对槲栎和槲树种群进行主成分(Principal component analysis, PCA)分析。

分层分子方差 (Analysis of molecular variance, AMOVA) 分析：使用 Arlequin V3.5 软件，经 1000 次置换检验来检测槲栎和槲树的种群间和种群内的遗传分化水平(Excoffier and Lischer，2010)。种群间的遗传分化程度使用遗传分化系数 F_{ST} 来解释，当 F_{ST} 的值接近于 1 时，表示种群有较大的分化，基本无基因交流，当 F_{ST} 的值接近于 0 时，表示种群的分化程度小或者无分化。

2.3.3 基因流分析

本研究中槲栎和槲树作为风媒传播的物种，主要依靠花粉进行基因间的物质交换。我们使用一种贝叶斯方法：Migrate-n V3.6 来评估物种间和物种内不同谱系之间的历史基因流的大小和方向(Beerli, 2006)。Migrate-n 是基于连续的布朗运动通过计算参数值 θ（四倍有效种群大小乘以每代的突变率）和 M（迁移率除以突变率）来估算基因流的大小和方向(Beerli, 2006; Beerli and Felsenstein, 2001)。对于物种间的基因流方向来说，首先设置 3 种可能的模型：①基因流在槲栎和槲树之间双向流动；②基因流从槲栎到槲树；③基因流从槲树到槲栎。然后对于每个模型设置 5 个独立的 MCMC 长链，每个链设置 10000 迭代（这里的迭代次数越大准确率越高，但是运行时间也会相应增加），Burn-in 设置为 10,000，重复计算 3-5 次。每个模型计算后均会生成一个 PDF 文件，对得到的结果检查模型收敛性。最后分别依据三种模型得到的边际可能性值(marginal likelihood, ml)，通过计算贝叶斯因子(bayes factors, bf)值来确定最佳模型: $bf = e^{[\ln(ml(Model\ 1) - \ln(ml(Model\ 2)]}$，也就是模型的边际可能性值越大，模型的效果越好，计算最佳模型的 θ×M 即为所得到的基因流(Kass and Raftery, 1995)。

2.4 景观遗传学分析

2.4.1 气候因子的提取

从 WorldClim Version2 数据库下载全球气候因子栅格数据，包含水蒸汽压力、温度、太阳辐射和风速在内等的气候因子以及 19 个生物气候变量和全年 12 个月的降水，共计 103 个气候因子，涵盖 1970-2000 年的气候数据平均值，分辨率达 30 seconds (Fick *et al*., 2017)。使用 ArcMap 软件提取每个采样点的气候因子。由于提取的多种气候因子之间会存在相关关系，我们在 R 语言中使用“usdm”函数进行方差膨胀因子分析(Variance Inflation Factor, VIF)，通过衡量线性模型中共线性的严重程度以消除这种相关关系对结果的干扰，VIF 值大于 0.7 代表气候因子相关性较高，因此，保留 VIF 值小于 0.7 的气候因子用于后续景观遗传学的分析(Naimi *et al*., 2013)。

2.4.2 线性分析方法

本研究使用多变量统计 Mantel 检验，Mantel 检验是评估环境隔离(Isolation by Environment, IBE)和地理隔离(Isolation by Distence, IBD)的手段，通过比较气候/地理距离矩阵与遗传分化矩阵之间的关系，来检测槲栎和槲树种群的遗传变异与气候/地理之间的关系(Diniz-Filho *et al*., 2013; van Strien *et al*., 2014; Strien *et al.*, 2014 Manthey *et al*., 2015)。首先计算每个种群之间成对的遗传分化 F_{ST} 值，生成 F_{ST} 矩阵并计算遗传距离 $F_{ST}/(1-F_{ST})$ 值 (Slatkin, 1993; Rousset, 1997)。接着使用 R 语言中的“geosphere”函数包输入经纬度数据来计算槲栎和槲树种群地理距离矩阵(Team, 2018; Hijmans, 2014)；使用“ecodist”函数包对 bio02, bio03, bio08 和 bio14 四个气候因子计算得出槲栎和槲树种群的环境距离矩阵(Goslee *et al*., 2007)。最后，我们使用 Mantel 检验对计算好的遗传距离矩阵和地理/环境距离矩阵进行分析环境和地理因素对遗传变异的影响。同时使用偏 Mantel 检验研究当控制环境或控制地理距离时，遗传距离与环境距离之间的线性相关关系(Smouse *et al*., 1986)。使用 10,000 置换排列检验来评估分析的显著性，检验显著水平值假设为 0.05。

另外一种线性分析方法是冗余分析(Redundancy Analyses, RDA)，这种方法可以将回归分析与主成分分析相结合，整合特定的解释变量与响应变量并进行多元回归，可讨论遗传变异在特定的环境梯度上的情况(Legendre and Legendre, 2012; Lasky *et al*., 2012; Sork *et al*., 2010)。环境数据的输入文件为槲栎和槲树的采样点经纬度数据和每个个体对应的 4 个气候因子数据（根据方差膨胀因子分析去除共线性的气候因子：bio02, bio03, bio08 和 bio14），遗传数据的输入文件为每个个体等位基因频率的 12 列主成分 PC 值。使用上述的环境数据作为自变量，遗传数据作为因变量，在 R 语言中通过“vegan”函数包(Oksanen *et al*., 2017)来进行冗余分析。使用 999 置换排列检验来评估分析的显著性。同时进行偏冗余分析来探究考虑到在分析地理因子时气候因子的线性影响，以及在分析气候因子时地理因子的线性相关关系。

2.4.3 非线性分析方法

梯度森林(Gradient Forests, GF) 作为随机森林的延伸，通过整合潜在的预测变量，得到各个预测变量解释的遗传变异比例，用来模拟遗传变异与环境之间的非线性关系(Ellis *et al*., 2012)。在梯度森林分析中，首先使用每个个体的经纬度数据和去除共线性后的 4 个气候因子(bio02, bio03, bio08 和 bio14)作为环境数据的输入文件，将每个种群中个体的等位基因频率作为遗传数据的输入文件。然后在 R 语言中使用“gradientForest”和“extendedForest”函数包检测地理和气候因子对槲栎和槲树种群遗传变异的影响(Liaw and Wiener, 2002; Smith *et al.*, 2012; Team, 2018)。

3 研究结果

3.1 槲栎和槲树的种群遗传学分析

3.1.1 遗传多样性

使用 GenAlEx V6.5 基于 12 对 SSR 位点计算了槲栎和槲树各种群的遗传多样性指数，包括观测杂合度(observed heterozygosity, H_O)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_E)、不同等位基因数目(number of different alleles, N_A)以及自交系数(inbreeding coefficient, F_{IS})，具体结果如表 3.1 所示。槲栎种群的观测杂合度为 0.63，期望杂合度为 0.65；槲树种群的观测杂合度为 0.60，期望杂合度为 0.63，槲栎的遗传多样性水平较槲树而言更高。在槲栎种群中，秦巴枝系的遗传多样性最高，其次是西南枝系，相对较低的是中东部枝系（观测杂合度分别为 0.69，0.61，0.59；期望杂合度分别为 0.66，0.63，0.61）。在槲树种群中，秦巴枝系的遗传多样性水平高于中东部枝系（观测杂合度分别为 0.63，0.59；期望杂合度分别为 0.65，0.62）。对各个枝系的多样性水平进行 *T* 检验，结果显示在各个枝系内遗传多样性均存在显著差异。等位基因在空间的分布结果表明：不论是槲栎还是槲树种群，在中国的秦巴山脉和东北附近的种群内私有等位基因较高，如图 3.1 所示。

表 3.1 槲栎和槲树的遗传多样性分析结果

Table 3.1 Results of genetic diversity of *Q. aliena* and *Q. dentata*

种群 **Pop**	等位基因数目 N_A	观测杂合度 H_O	期望杂合度 H_E	自交系数 F_{IS}
槲栎				
槲栎西南枝系				
LGD	4.5	0.70	0.62	-0.1
SXJ	5.25	0.71	0.62	-0.13
YFS	4.25	0.68	0.59	-0.15
ZJL	6.75	0.53	0.63	0.13
LYS	4.58	0.70	0.63	-0.07
SLHT	5.83	0.62	0.68	0.02
TJS	6	0.65	0.69	-0.05
HHG	6.08	0.62	0.64	-0.08
平均值	5.05	0.61	0.63	-0.07
槲栎秦巴枝系				
DLT	3.58	0.47	0.47	-0.01
GSS	6.75	0.5	0.65	0.14
HPS	7.5	0.58	0.65	0.1
LPC	8.58	0.6	0.71	0.13
LZ	6.17	0.61	0.72	0.09

续表 3.1

QDZ	7.83	0.63	0.63	-0.05
SBP	6.67	0.65	0.65	0.08
SBY	4.83	0.63	0.6	-0.01
WLS	6.58	0.57	0.6	-0.02
WXS	4.17	0.59	0.56	-0.02
ZWY	7.75	0.65	0.7	0.03
ZYG	5.67	0.6	0.66	0.1
平均值	6.08	0.69	0.66	0.07
槲栎中东部枝系				
WLS	6.58	0.57	0.6	-0.02
KYS	4.92	0.66	0.59	-0.15
SFS	7.5	0.6	0.62	-0.03
GSL	6.5	0.63	0.65	0.09
TSS	5.08	0.6	0.6	-0.09
平均值	5.95	0.59	0.61	-0.04
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
总平均值	5.97	0.63	0.65	0.00
槲树				
槲树秦巴枝系				
DGS	5.58	0.64	0.62	-0.06
DLT	7	0.6	0.68	0.12
DSG	8	0.68	0.7	0.02
GU	5.58	0.6	0.64	0.04
GSS	6.42	0.61	0.69	0.09
JLP	7.17	0.56	0.68	0.12
LHS	7.33	0.6	0.65	0.1
LPC	7	0.53	0.66	0.1
LZ	6.58	0.56	0.67	0.11
MTZ	8.5	0.52	0.69	0.13
QDZ	7.33	0.62	0.64	0.01
SYB	7	0.58	0.63	0.01
XTS	7.58	0.64	0.68	0.06
ZGS	6.83	0.61	0.65	0.02
ZJYZ	4.42	0.63	0.59	-0.09
ZWY	7.25	0.61	0.63	0.01
ZYG	6	0.48	0.59	0.1
平均值	6.53	0.63	0.65	0.07
槲树中东部枝系				
ASS	6.83	0.62	0.65	0.06

续表 3.1

GSL	3.42	0.68	0.59	-0.1
JJS	7.17	0.65	0.66	-0.02
KYS	7.67	0.61	0.66	0.04
LJ	5.75	0.61	0.58	-0.03
LTS	6.08	0.68	0.65	-0.01
MS	5.67	0.53	0.61	0.12
SCD	6.75	0.65	0.64	-0.05
SFS	6.42	0.56	0.61	0.03
SPSC	5.67	0.61	0.61	-0.01
WLS	6.58	0.63	0.63	-0.04
ZLG	5.75	0.66	0.64	-0.06
平均值	5.99	0.59	0.62	-0.01
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
总平均值	6.43	0.60	0.63	0.03

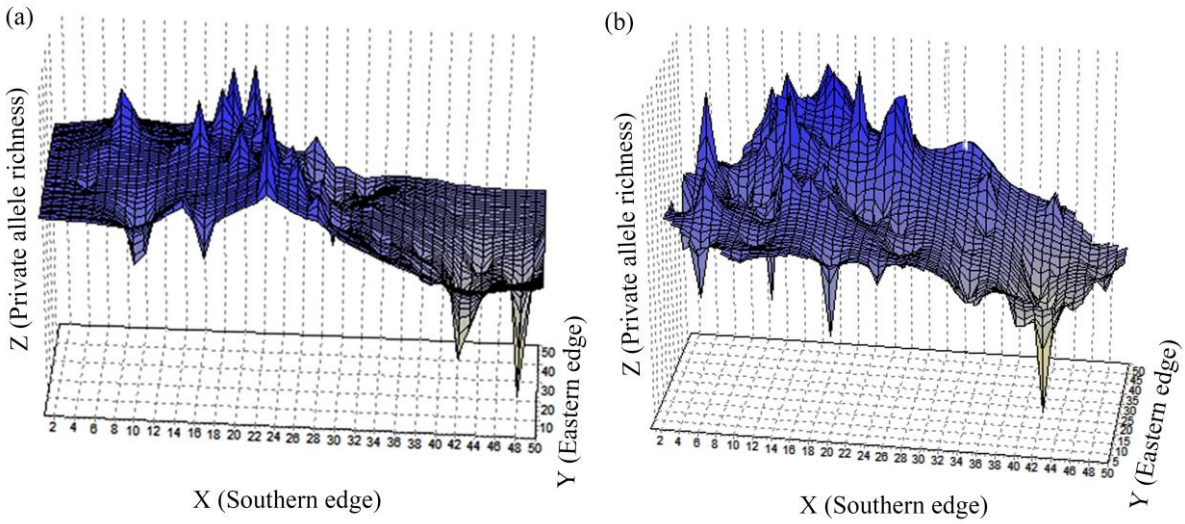

图 3.1 槲栎(a)和槲树(b)遗传变异空间分析图（X 轴：采样点的经度，Y 轴：采样点的纬度，Z 轴：私有等位基因丰富度）

Figure 3.1 Spatial analysis of genetic variation for *Q. aliena* (a) and *Q. dentata* (b) (X-axis: longitude of sampling sites,Y-axis: latitude of sampling sites, Z-axis: the private allele richness)

3.1.2 遗传结构

基于 12 对核微卫星数据进行基于贝叶斯聚类的 STRUCTURE 分析结果显示槲栎和槲树种群很明显地聚类为两个分枝，分别对应于槲栎（红色）和槲树（绿色）（图 3.2 a）。而单独基于槲栎种群的 STRUCTURE 结果，通过分析 K 与 Delta K 的关系及 K 值与 InP(D)平均值，得出在 K=2 和 K=3 时都是最佳聚类，都有明显的峰值。在 K=2

时，槲栎种群在其分布范围内分为两个聚类，秦巴枝系被划分出来，当 K=3 时槲栎种群又进一步分出了两个枝系，根据地理上的分布对应于西南枝系和中东部枝系（图 3.2 b, c）。单独基于槲树种群的 STRUCTURE 结果在 K=2 时为最优划分结果，对应于中东部枝系和秦巴枝系，两个枝系在地理上分布于中国秦岭山脉及中国东部地区（图 3.2d）。为了更清晰的展示 STEUCTURE 结果，通过对槲栎和槲树种群每个个体的混合系数 *Q* 值进行统计并以此制作遗传结构地理分布图，如图 3.3 所示。槲栎和槲树各枝系之间存在明显的基因渐渗，而且渐渗的方向是不对称的。

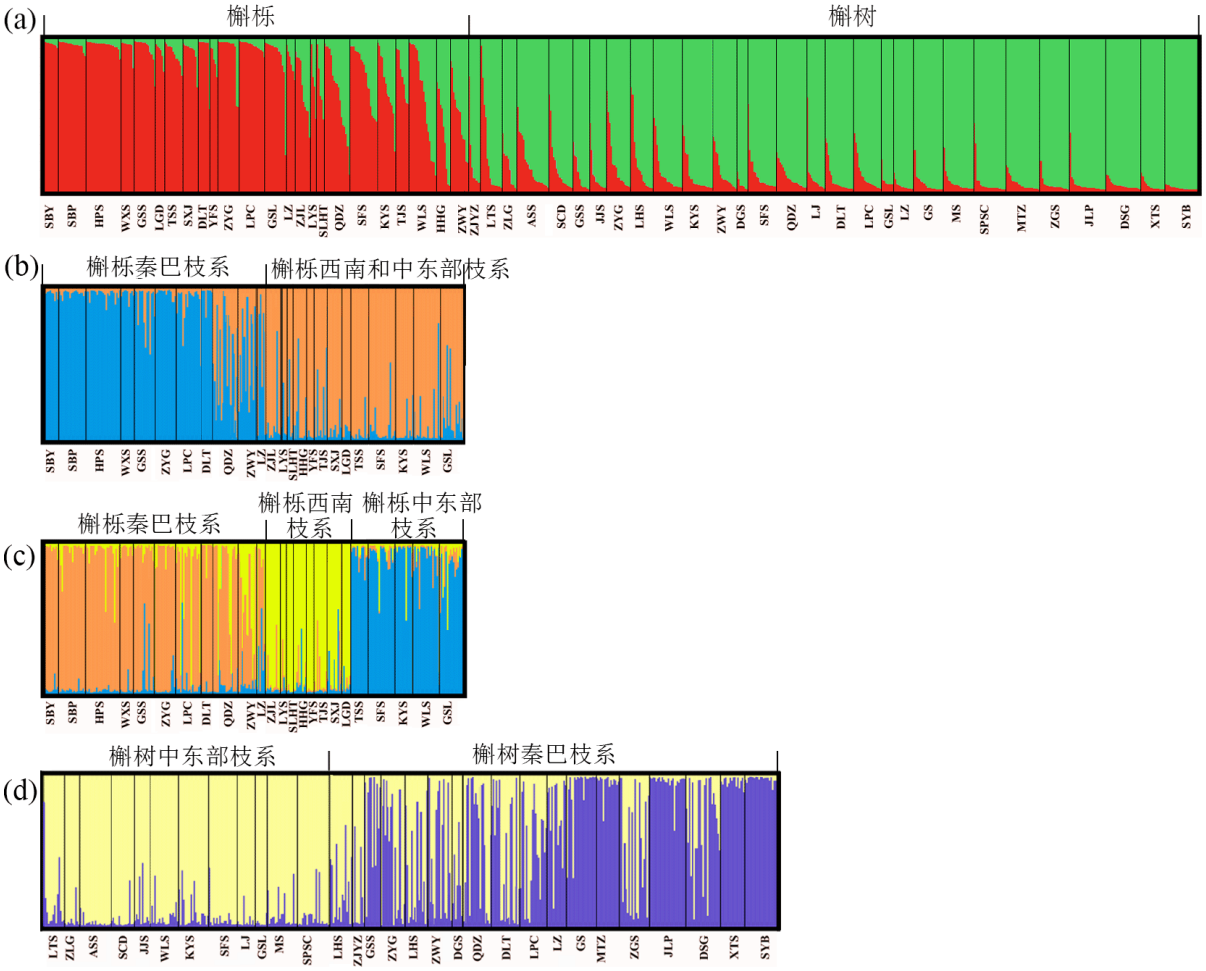

图 3.2 (a)槲栎和槲树物种间在 K = 2 的 STRUCTURE 分析结果；(b)和(c)分别为槲栎种群在 K = 2 和 K = 3 时种内的聚类情况；(d)槲树种群在 K = 2 时种内的聚类情况

Figure 3.2 (a) STRUCTURE results of *Q. aliena* and *Q. dentata* at K = 2; (b) and (c) are the clusters of *Q. aliena* within the populations when K = 2 and K = 3, respectively; (d) Clusters of *Q.dentata* within the populations when K = 2

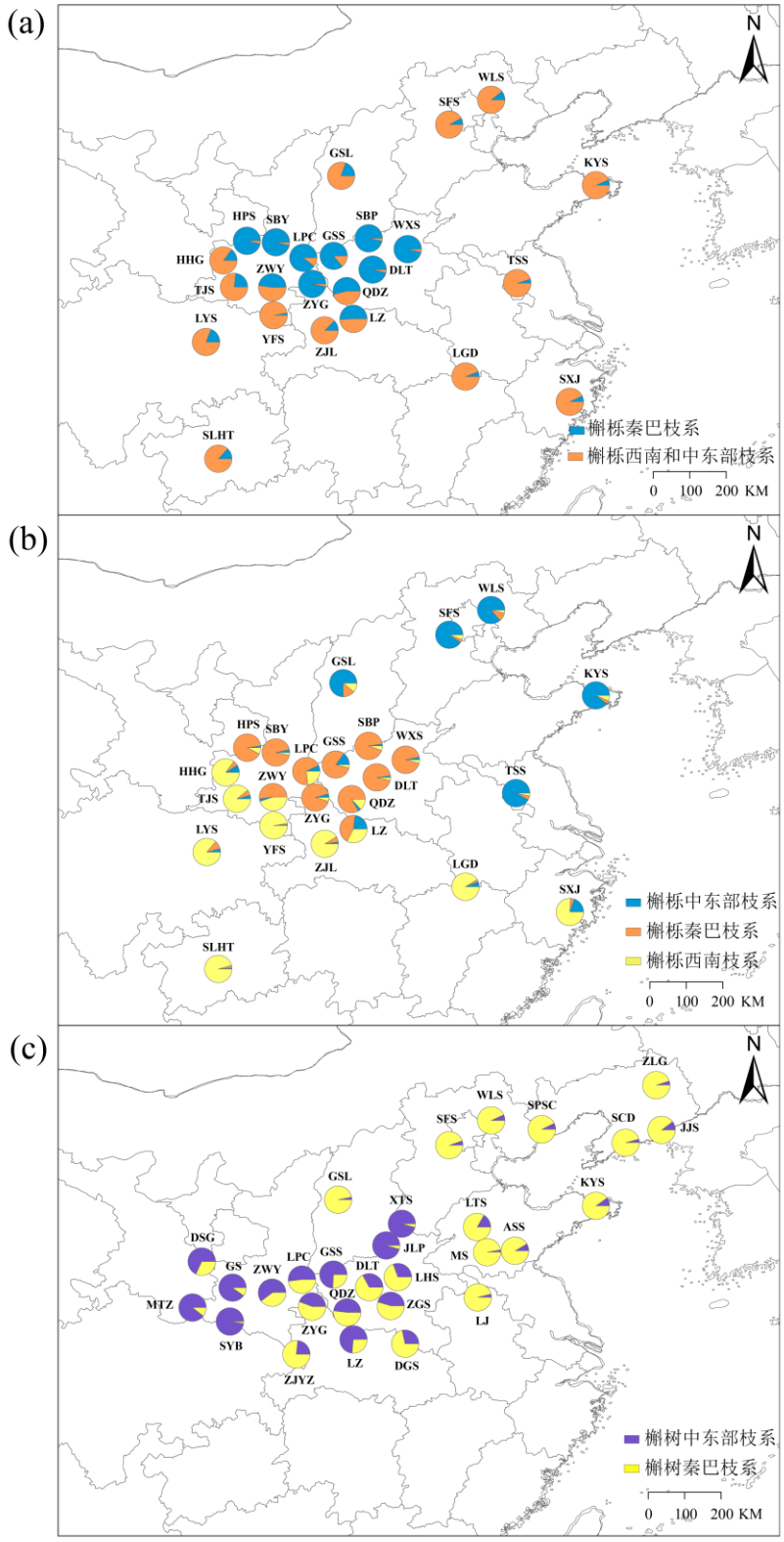

图 3.3 槲栎和槲树基于 SSR 数据集的贝叶斯聚类分析结果。(a)和(b)分别是 K=2 和 K=3 时槲栎种群的遗传地理结构分布图；(c)是在 K=2 时槲树种群的遗传地理结构分布图。

Figure 3.3 Results of Bayesian cluster analysis of *Q. aliena* and *Q. dentata* populations based on SSR datasets. (a) population of *Q. aliena* at K=2; (b) population of *Q. aliena* at K=3; (c) population of *Q. dentata* at K=2.

根据 12 对微卫星分子标记基于种群水平的 PCoA 和个体水平的 PCA 分析也得到了相似的结果。基于遗传地理距离的 PCoA 分析中，槲栎种群（红）和槲树种群（绿）在 PC1 轴上差异显著，可以准确将两个物种区分开（图 3.4 a, PC1 = 26%）。槲树和槲栎种群的主成分分析表明，对于槲栎种群的结果在第一主成分坐标轴上将西南枝系区分出来，在第二主成分坐标轴上将中东部枝系和秦巴枝系准确区分开来（图 3.4 b, PC1 = 39.2%，PC2 = 18.2%）；单独基于槲树种群的结果在第一主成分坐标轴上将中东部枝系和秦巴枝系区分开（图 3.4 c, PC1 = 28.5%，PC2 = 11.7%）。同时，基于个体水平的 PCA 分析中也可以将槲栎与槲树区分开，以及槲栎种群的各个枝系与槲树种群的各个枝系也可以区分开，但个体之间的分布存在重叠现象，这与 STRUCTURE 结果一致。PCoA 分析的区分效果较 PCA 分析区分效果好，并且在 PCA 分析中槲栎种群三个枝系间的分化趋势要大于槲树两个枝系间的分化趋势（图 3.5）。

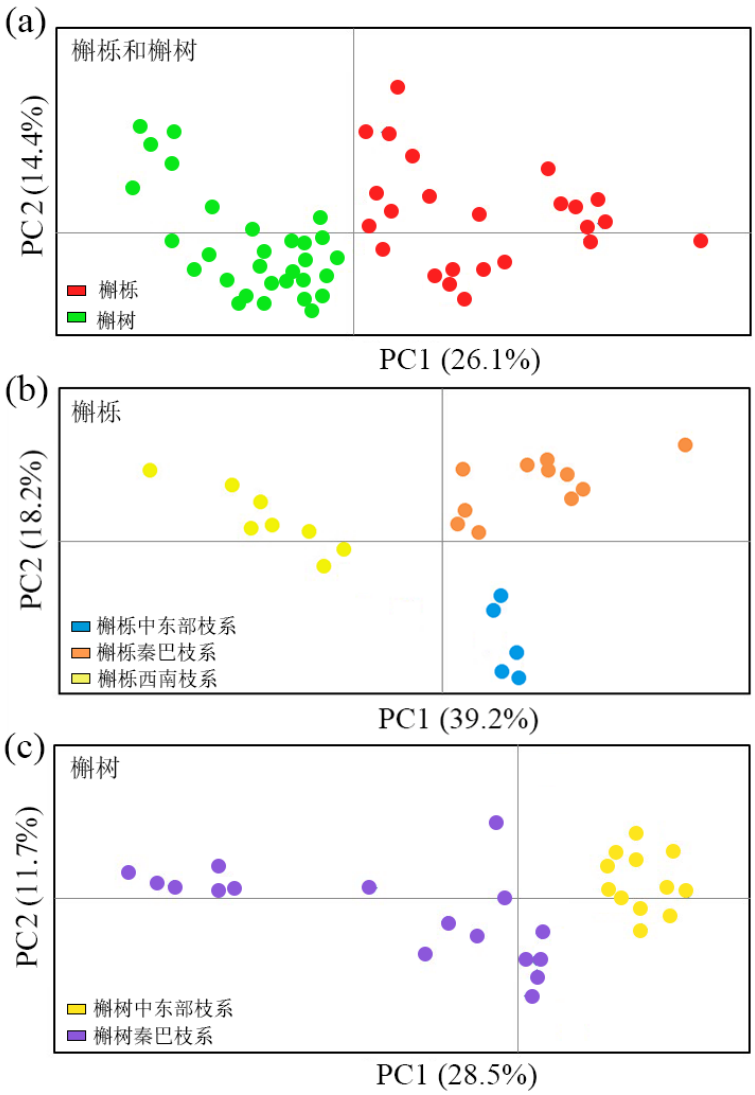

图 3.4 槲栎和槲树的主坐标分析(PCoA)

Figure 3.4 Results of PCoA (principal coordinate analysis) of *Q. aliena* and *Q. dentata*

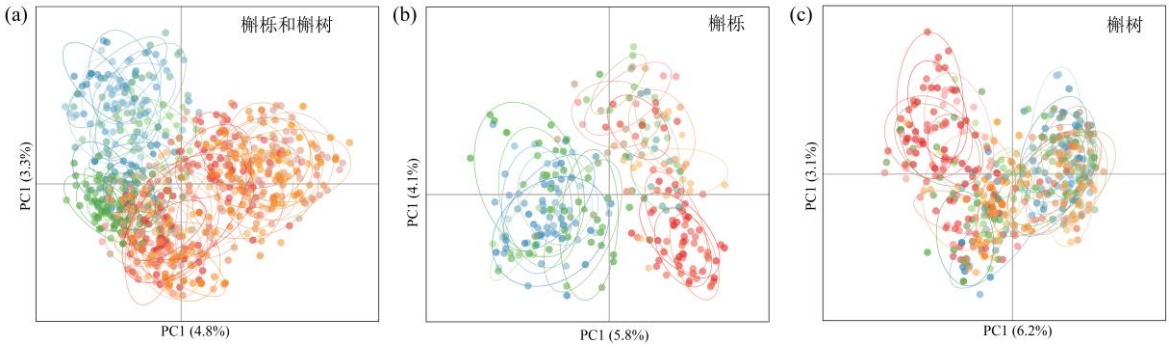

图 3.5 槲栎和槲树的主成分分析结果(PCA)

Figure 3.5 Results of principal component analysis (PCA) of *Q. aliena* and *Q. dentata*

基于 SSR 分子标记的分子方差分析(AMOVA)的结果如表 3.2 所示，无论是在槲栎种群还是在槲树所有种群中，根据变异分数(Percentage of variation)可知遗传变异主要存在于种群内(槲栎为 88.6%，槲树为 89.7%）。同时分别针对各分枝进行了独立的 AMOVA 分析，结果表明在槲栎种群中，三个枝系之间的遗传变异程度最低（4.4%）。在西南枝系(F_{ST} = 0.07)和秦巴枝系(F_{ST} = 0.08)中的遗传分化水平相差不大，中东部枝系中的遗传分化水平最低(F_{ST} = 0.05)。在槲树种群中，中东部枝系的遗传分化水平(F_{ST} = 0.05)要小于秦巴枝系的遗传分化水平(F_{ST} = 0.1)；且两个枝系之间的分化程度也是最低的(2.5%)。此外，对比槲栎和槲树种群的枝系之间、枝系内种群间以及种群内的遗传分化系数，可以看出槲栎和槲树种群的遗传分化水平相差不大。

表 3.2 基于槲栎和槲树的分层分子方差分析结果

Table 3.2 Results of Hierarchical analyses of molecular variance (AMOVA) of *Q. aliena* and *Q. dentata*

变异来源 Source of variation	**自由度 *df***	**变异分数(%) Percentage of variation**	**遗传分化系数 F_{ST}**
槲栎			
槲栎西南枝系			
Among populations 种群间	7	7.2	F_{ST} = 0.07
Within populations 种群内	108	92.8	
槲栎秦巴枝系			
Among populations 种群间	10	7.8	F_{ST} = 0.08
Within populations 种群内	283	92.2	
槲栎中东部枝系			
Among populations 种群间	4	5.4	F_{ST} = 0.05
Within populations 种群内	143	94.6	
所有的槲栎种群			
Among lineages 枝系间	2	4.3	F_{ST} = 0.11
Among populations within lineages 枝系内种群间	20	7	
Within populations 种群内	523	88.7	

续表 3.2

槲树			
槲树秦巴枝系			
Among populations 种群间	16	9.5	F_{ST} = 0.1
Within populations 种群内	561	90.5	
槲树中东部枝系			
Among populations 种群间	11	5.2	F_{ST} = 0.05
Within populations 种群内	370	94.8	
所有槲树种群			
Among lineages 枝系间	1	2.4	F_{ST} = 0.1
Among populations within lineages 枝系内种群间	27	7.9	
Within populations 种群内	931	89.7	

3.1.3 种群基因流

为了研究槲栎和槲树两个物种之间及其各自枝系之间的基因交流的大小和方向，本研究使用 MIGRATE-n 对基因交流的情况进行分析结果如表 3.3 所示。分析揭示了槲栎和槲树种群之间存在非对称的基因流，槲栎种群的基因流为 47.6，槲树种群的基因流为 61.5，而且基因流的方向主要是从槲树到槲栎。在槲栎种群中，三个枝系之间的历史基因流方向主要是从中东部枝系到秦巴枝系（N_em = 46.2 vs N_em = 35.3），以及秦巴枝系到西南枝系（N_em = 48.2 vs N_em = 36.1），而西南枝系与中东部枝系之间的基因交流较少（N_em = 14.8 vs N_em = 16.6）。中东部枝系与秦巴枝系以及秦巴枝系与西南枝系之间的基因流为非对称的基因流。槲树种群的两个枝系之间也存在非对称的基因流，在秦巴枝系与中东部枝系之间，从中东部枝系到秦巴枝系方向上的基因流(N_em = 50.1)与反方向上的基因流(N_em = 42.4)相比有着较大差异，为非对称基因流。基因流的方向是从中东部枝系到秦巴枝系，与槲栎种群中枝系之间的基因流方向一致。

表 3.3 槲栎和槲树的基因流分析结果

Table 3.3 Result of gene flow analysis of *Q. aliena* and *Q. dentata*

	基因流 N_em					
	槲栎	**西南枝系 →**	**秦巴枝系 →**	**中东部枝系 →**	**槲树**	**秦巴枝系 →**	**中东部枝系 →**
槲栎					61.5 [49.2-67.3]		
槲栎西南枝系			48.2 [35.1-51.9]	16.6 [8.4-20.7]			
槲栎秦巴枝系		36.1 [29.3-36.7]		46.2 [23.9-69.6]			
槲栎中东部枝系		14.8 [8.6-20.5]	35.3 [23.6-45.2]				

续表 3.3

槲树	47.6 [43.1-50.7]		
槲树秦巴枝系			50.1 [42.1-53.4]
槲树中东部枝系		42.4 [36.8-44.1]	

注: N_e: 有效种群大小; *m*: 迁移率

3.2 槲栎和槲树的景观遗传学分析

3.2.1 Mantel 检验

通过方差膨胀因子分析去除共线性的因子后(VIF < 0.7)最终筛选出 4 个气候因子用于线性分析和非线性分析。4 个气候因子分别是 bio02（平均日较差），bio03（等温性），bio08（最潮湿季节平均温度）和 bio14（最干旱月份降水量），具体每个种群的气候数据见表 2.1。

在槲栎种群中，Mantel 检验的结果揭示了只有中东部枝系中存在显著的地理隔离(IBD) (Mantel's r = 0.7, P = 0.03)和环境隔离(IBE) (Mantel's r = 0.6, P = 0.05)，在西南枝系、秦巴枝系以及所有种群中均未检测到地理隔离或环境隔离，如图 3.6 所示。偏 Mantel 检验揭示了较为一致的结果：当控制环境距离时，仅在中东部枝系中得出了显著的距离隔离(IBE) (P = 0.05) ；当控制地理距离的影响时，西南枝系、秦巴枝系、中东部枝系以及所有种群中都不存在环境隔离 (P > 0.05) (表 3.4)。

在槲树种群中，Mantel 检验的结果表明在中东部枝系和秦巴枝系中均存在显著的地理隔离(IBD)，但在所有种群中并未检测到地理隔离 (P = 0.41)。在秦巴枝系中存在显著的环境隔离(IBE) (P = 0.01)，而在中东部枝系或所有槲树种群中不存在环境隔离(P < 0.05) ，如图 3.7 所示。偏 Mantel 检验发现，当控制地理距离的影响时，在秦巴枝系中检测到了显著的环境隔离(IBE) (P = 0.05)，但在中东部枝系和所有种群中不存在环境隔离(P < 0.05)；而当控制环境距离的影响时，中东部枝系中检测到了显著的距离隔离(IBD) (P = 0.05) (表 3.5)。

综合上述分析结果说明，在槲栎种群中，中东部枝系的遗传变异主要受到地理隔离的和环境隔离的影响。在槲树种群中，中东部枝系的遗传变异主要受到地理隔离的影响，秦巴枝系的遗传变异受地理隔离的和环境隔离的影响。而总体上地理距离或环境距离对槲栎种群和槲树种群的遗传变异水平的影响并不显著。

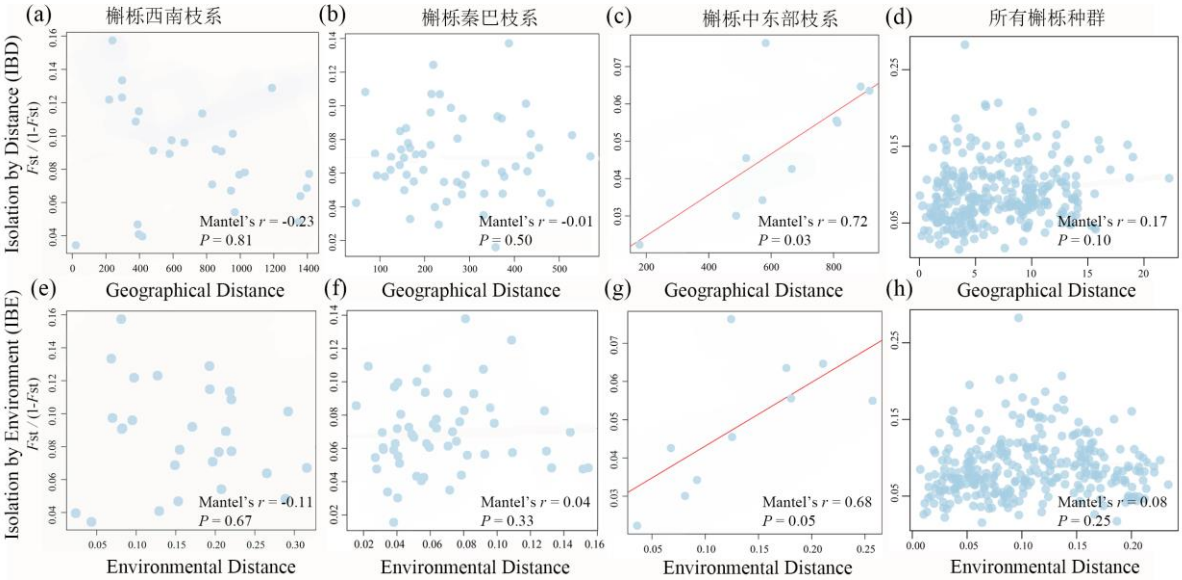

图 3.6 在槲栎种群基于 SSR 位点的西南枝系(a, e)、秦巴枝系(b, f)、中东部枝系(c, g)和所有种群(d, h)中，对遗传距离与(a-d)地理距离、(e-h)环境距离进行 Mantel 检验的结果

Figure 3.6 Mantel tests between (a-d) geographic and genetic distance, (e-h) environmental and genetic distance in Xinan lineage (a, e), Qinba lineage (b, f), MiddleEastlineage (c, g) and all populations (d, h) based on SSR loci for *Q. aliena*.

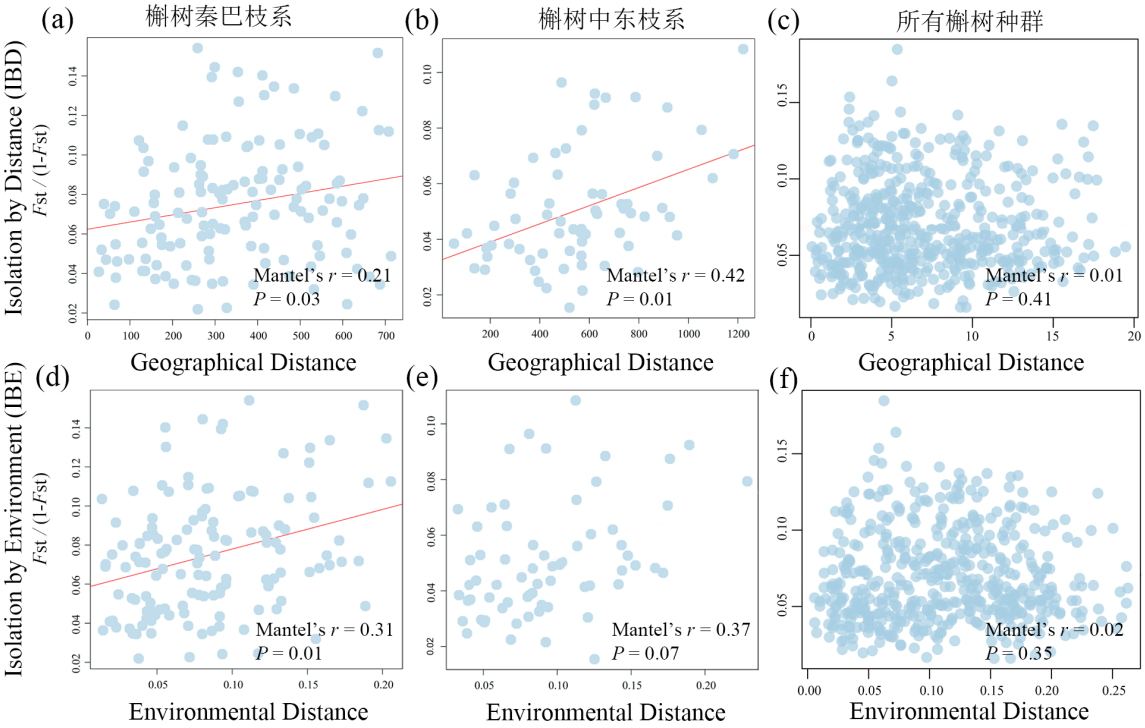

图 3.7 在槲树种群基于 SSR 位点的秦巴枝系(a, d)、中东部枝系(b, e)和所有种群(c, f)中，对遗传距离与环境距离，遗传距离与地理距离进行 Mantel 检验的结果

Figure 3.7 Mantel tests between genetic and environmental distance, genetic and geographic distance in Qinba lineage (a, d), MiddleEastlineage (b, e) and all populations (c, f) based on SSR loci for *Q. dentata*.

表3.4 槲栎种群偏Mantel检验结果

Table 3.4 Partial Mantel test of *Q. aliena*

	槲栎西南枝系		槲栎秦巴枝系		槲栎中东部枝系		所有槲栎种群	
	Mantel's *r*	***P* 值**	**Mantel's *r***	***P* 值**	**Mantel's *r***	***P* 值**	**Mantel's *r***	***P* 值**
距离隔离 IBD	-0.21	0.74	-0.02	0.53	0.39	**0.05**	0.16	0.12
环境隔离 IBE	0.05	0.44	0.05	0.32	0.22	0.25	-0.04	0 .66

表3.5 槲树种群偏Mantel检验结果

Table 3.5 Partial Mantel test of *Q. dentata*

	槲树秦巴枝系		槲树中东部枝系		所有槲树种群	
	Mantel's *r*	***P* 值**	**Mantel's *r***	***P* 值**	**Mantel's *r***	***P* 值**
距离隔离 IBD	0.05	0.30	0.28	**0.05**	0.01	0.48
环境隔离 IBE	0.24	**0.04**	0.19	0.20	0.02	0.41

3.2.2 冗余分析

基于 12 对微卫星分子标记对槲栎和槲树种群的遗传变异进行冗余分析(RDA)分析和偏冗余分析(pRDA)分析（分别控制气候和地理变量的影响），来探究气候变量和地理变量对槲栎和槲树这两个物种的遗传变异模式的影响。每个气候变量以及地理变量的特征值(Eigenvalue)、变异解释度(PVE)和显著性水平(*P*)结果如表 3.6 所示。

槲栎种群的 pRDA 的结果表明在所有种群中，气候因子对遗传变异的影响（PVE = 2.7%，*P* = 0.001）大于地理因子对遗传变异的影响（PVE = 1.8%, *P* = 0.001）；在西南枝系中，气候因子对遗传变异的影响（PVE = 13.6%，*P* = 0.001）同样要大于地理因子（PVE = 6.0%, *P* = 0.02）；但在中东部枝系（*P* = 0.34）和秦巴枝系（*P* = 0.3）中气候因子对遗传变异的影响并不显著。其中，在西南枝系中 RDA 的结果显示平均日较差 bio02、等温性 bio03 和最潮湿季节平均温度 bio08 对遗传变异的影响较大，pRDA 的结果则显示等温性 bio03 和最干旱月份降水量 bio14 的影响较大；在秦巴枝系中，bio03 对遗传变异的影响最大，当控制地理因素影响时，bio14 对遗传变异的影响最大；在中东部枝系中，bio08 对遗传变异的影响最大，当控制地理因素影响时，对遗传变异的影响最大的是 bio14（表 3.6）。

槲树种群的 pRDA 的结果表明在秦巴枝系和所有种群中，遗传变异受到气候因子（PVE = 3.6% and PVE =2.2%）的影响要大于地理因子（PVE = 1.9% and PVE = 1.1%），而在中东部枝系中，气候因子对遗传变异的影响同槲栎种群一样也不显著（*P* = 0.15）。其中，在中东部枝系中 RDA 的结果显示 bio02、bio03 和 bio14 对遗传变异都有显著影响，控制地理因子时 pRDA 结果表明，最潮湿季节平均温度 bio08 对遗传

变异的影响最大；在秦巴枝系和槲树的所有种群中，RDA 的结果都显示 bio02、bio03 和 bio14 对遗传变异有显著影响，当控制地理因素影响时，等温性 bio03 对秦巴枝系和所有槲树种群分化的影响最大（表 3.6）。

整合 RDA 和 pRDA 的结果表明在这两个物种的分布区内，无论是槲树还是槲栎，气候因素和地理因素都显著影响两物种的遗传变异。槲栎种群的中东部枝系以及秦巴枝系主要受地理因素的影响，槲树种群中的中东部枝系分化也与地理因素影响有关。另外在槲栎种群中最干旱月份降水量 bio14 和等温性 bio03 对遗传变异有显著的影响，而在槲树种群中等温性 bio03 对遗传变异有显著的影响。

表 3.6 槲栎和槲树种群中基于 SSR 的遗传变异与气候和地理变量之间的 RDA 和偏 RDA 结果
Figure 3.6 RDA and partial RDA results of the genetic variations related with climate and geographic variables of *Q. aliena* and *Q. dentata* based on SSR

	冗余分析 RDA			**偏冗余分析 *p*RDA**		
	变异解释度 PVE	**特征值 Eigenvalue**	***P* 值**	**变异解释度 PVE**	**特征值 Eigenvalue**	***P* 值**
槲栎						
槲栎西南枝系						
climate	21.14	3.55	**0.001**	13.56	2.37	**0.001**
geography				6.01	2.10	**0.016**
bio2	28.14	4.00	**0.001**	21.25	2.02	0.064
bio3	47.74	6.78	**0.001**	40.54	3.85	**0.001**
bio8	14.75	2.09	**0.032**	15.05	1.43	0.174
bio14	9.37	1.33	0.215	23.16	2.20	**0.04**
Whole model			**0.001**			**0.001**
槲栎秦巴枝系						
climate	3.10	1.14	0.253	2.93	1.09	0.297
geography				2.32	1.72	**0.018**
bio2	19.11	0.87	0.566	21.15	0.92	0.53
bio3	43.99	2.00	**0.019**	25.09	1.09	0.374
bio8	19.81	0.90	0.51	7.91	0.34	0.983
bio14	17.10	0.78	0.667	45.86	1.99	**0.03**
Whole model			**0.001**			**0.001**
槲栎中东部枝系						
climate	8.51	1.61	**0.015**	3.85	1.10	0.343
geography				1.07	1.64	**0.001**
bio2	16.48	1.06	0.394	45.39	1.32	0.198
bio3	22.31	1.43	0.17	30.04	0.87	0.548
bio8	40.09	2.57	**0.006**	13.65	0.51	0.237
bio14	21.12	1.36	0.095	10.92	0.38	**0.001**
Whole model			**0.001**			**0.001**

续表 3.6

所有槲栎种群						
climate	3.64	2.59	**0.001**	2.73	2.24	**0.001**
geography				1.77	2.90	**0.001**
bio2	42.04	4.35	0.101	15.18	0.68	0.768
bio3	17.19	1.78	**0.044**	41.54	1.87	**0.034**
bio8	12.81	1.33	0.179	26.15	1.18	0.284
bio14	27.96	2.90	**0.002**	17.13	0.77	**0.044**
Whole model			**0.001**			**0.001**
槲树						
槲树秦巴枝系						
climate	4.87	3.63	**0.001**	3.56	2.70	**0.001**
geography				1.96	2.96	**0.001**
bio2	33.51	4.87	**0.001**	26.34	2.84	**0.001**
bio3	33.40	4.85	**0.001**	42.05	4.53	**0.001**
bio8	11.85	1.72	**0.06**	14.11	1.52	0.09
bio14	21.24	3.09	**0.001**	17.49	1.89	**0.034**
Whole model			**0.001**			**0.001**
槲树中东部枝系						
climate	3.83	1.85	**0.004**	2.49	1.21	0.15
geography				1.92	1.88	**0.009**
bio2	25.42	1.88	**0.04**	22.66	1.10	0.34
bio3	43.13	3.20	**0.001**	11.18	0.54	0.87
bio8	4.91	0.36	0.95	35.22	1.71	0.07
bio14	26.54	1.97	**0.04**	30.94	1.50	0.15
Whole model			**0.001**			**0.001**
所有槲树种群						
climate	2.40	2.91	**0.001**	2.23	2.74	**0.001**
geography				1.09	2.67	**0.001**
bio2	32.78	3.82	**0.001**	29.53	3.23	**0.001**
bio3	24.77	2.89	**0.001**	36.47	3.99	**0.001**
bio8	24.88	2.90	**0.001**	17.43	1.91	**0.03**
bio14	17.57	2.05	**0.02**	16.57	1.81	**0.043**
Whole model			**0.001**			**0.001**

3.2.3 梯度森林分析

使用非线性模型的梯度森林分析结果表明，在槲栎种群的西南枝系、秦巴枝系和所有种群中，最干旱月份降水量 bio14 是对遗传变异影响最主要的气候因素；等温性 bio03 是影响中东部枝系遗传变异影响最主要的气候因素。槲树秦巴枝系、中东部枝系以及所有种群中影响遗传变异的最主要气候因素是等温性 bio03，在槲栎和槲树所

有种群及不同枝系的环境梯度和遗传变异进行 GF 建模，结果显示每个气候因子的加权重要性结果与冗余分析结果相一致（图 3.8，表 3.7）。

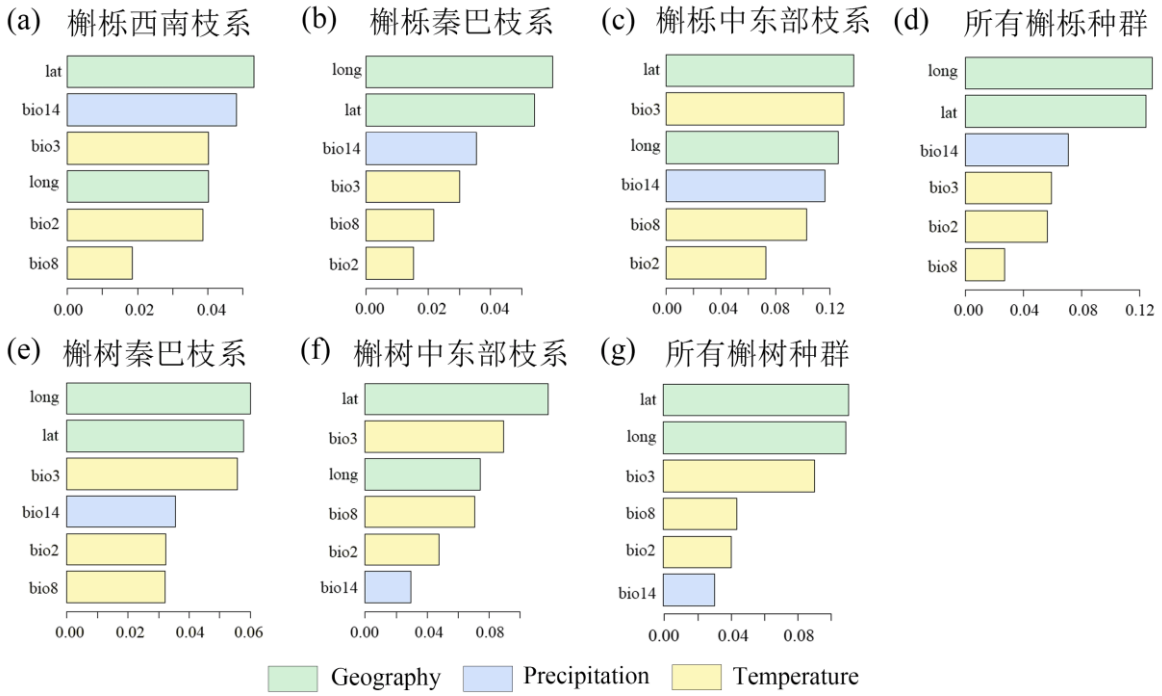

图 3.8 基于 SSR 数据对槲栎(a, b, c, d)和槲树(e, f, g)种群进行梯度森林 GF 的分析结果

Figure 3.8 GF results of *Q. aliena* (a, b, c, d) and *Q. dentata* (e, f, g) based on SSR datasets

表3.7 槲栎和槲树的R^2加权重要性结果

Table 3.7 R^2-weighted importance (%) results of of *Q. aliena* and *Q. dentat*

	槲栎				槲树		
环境因子	槲栎西南枝系	槲栎秦巴枝系	槲栎中东部枝系	所有槲栎种群	槲树秦巴枝系	槲栎中东部枝系	所有槲树种群
long	7.9	11.7	11.2	16.4	10.5	8.1	6.37
lat	10.5	10.1	13.7	14.2	8.4	10.5	7.09
bio02	6.8	3.2	7.2	6.82	4.7	4.7	2.35
bio03	8.7	5.9	12.9	7.67	8.1	8.4	5.11
bio08	3.1	4.8	9.6	3.86	3.1	7.9	2.81
bio14	10.4	7.8	10.2	9.15	7.9	3.1	1.75

4 讨论

4.1 槲栎和槲树的遗传多样性与遗传分化

4.1.1 遗传多样性

遗传多样性是一个物种或种群持久存在的基础，通过对期望杂合度、观测杂合度、和等位基因数等遗传多样性参数的分析比较，可揭示植物种群中基因的丰富度，进而度量植物种群的遗传多样。世代周期较长的树木，其遗传多样性可能受长期的进化历史和谱系结构的影响比较大。已有对槲树和槲栎种群的遗传多样性研究结果表明槲栎和槲树有着较高的遗传多样性 (刘媛, 2018; 李慧敏, 2018; Lyu *et al*., 2018)。对槲栎和槲树种群的遗传多样性分析表明，槲栎和槲树种群的秦巴枝系的遗传多样性均高于中东部枝系，可能原因是秦巴地区作为槲树在冰期的避难所，对于其遗传多样性的维持起到了很好地保护作用（李慧敏, 2018）。AIS (Alleles In Space) 对种群的遗传变异在空间的分布分析结果也表明在槲栎和槲树所有种群中，中国秦巴山脉地区附近的种群内私有等位基因的丰富度较高，支持了秦巴地区作为种群在冰期避难所的假设。生态位(Ecological niche modeling, ENM)模拟发现槲树种群受到末次盛冰期(Last Glacial Maximum, LGM)的影响，为躲避寒冷的条件种群曾经大量收缩，中东部区域的气候条件变得不适宜种群生存，因此秦巴枝系所在的地区作为槲树的冰期避难所，对于该地区多样性的维持起到了很好的保护作用(李慧敏，2018)。随着末次间冰期(Last Interglacial, LIG)来临，全球气温上升，槲树种群又进行扩张，回迁至中东部枝系所在的分布区，对这两个分布区域差异明显的环境条件的适应造成了种群水平的分化，此过程可能导致等位基因的丢失，造成中东部枝系遗传多样性偏低。

种群遗传多样性的高低还与许多因素有关，采样的种群数量、个体数量、与其他植物之间的基因交流、周边物种的丰富度和人为的砍伐破坏等都可能会导致遗传多样性的差异。其中人为因素的干扰会使得该地区内生境片段化，种群数量少，容易发生近交，导致种群中杂合子减少，影响该地区种群的遗传多样性水平。

4.1.2 遗传结构

遗传结构可度量遗传变异在种群内或者种群间的分布规律。研究物种的遗传结构可以掌握种群遗传多样性的动态变化。本研究利用 12 对微卫星分子标记（SSRs）对 24 个槲栎种群，279 个个体和 29 个槲树种群，共计 480 个个体进行了遗传结构的划分。研究结果表明槲栎和槲树种群在其各自的分布范围之内存在明显的遗传结构：槲栎种群在其分布区存在三个明显的枝系，分别是西南枝系、秦巴枝系和中东部枝系；槲树种群在其分布区内存在两个明显的遗传枝系，对应于秦巴枝系和西南枝系。这个结果与李慧敏(2018)的研究结果一致。

槲栎和槲树在中国广泛分布，不同的地形因素和环境异质性共同驱动物种遗传结构的变化，而且生物气候因子和进化历史等因素都可以导致不同地区内物种的遗传变

异。槲栎和槲树种群的遗传结构可能是由于种群历史动态造成的，地形因素对其也有一定的影响。一般认为遗传分化系数 F_{ST} 大于 0.25 时，种群之间才会有较大的遗传分化；F_{ST} 大于 0.15 小于 0.25 时，种群之间的遗传分化处于中等水平(Wright, 1978)。分子分层方差分析(AMOVA)表明槲栎种群和槲树种群的遗传分化系数 F_{ST} 为 0.1，说明槲栎和槲树种群之间的遗传分化较小，物种间存在基因交流，根据变异分数(Percentage of variation)可知遗传变异主要存在于种群内部。另外，由于微卫星位点突变率较高，高的突变率会掩盖种群间的遗传分化差异，也可能降低遗传分化水平。

物种的遗传结构会受到地理隔离的影响，地理隔离造成植物的不连续分布，限制了种群间的基因交流，导致遗传漂变增强，使物种产生局地适应。长期的地理隔离和环境因素的变化会导致物种高的遗传分化(Gong *et al*., 2008; Xu *et al*., 2015)。但是一些扩散能力极强的物种也有可能跨越山脉等地形的阻隔作用进行基因交流(Aizawa *et al*., 2007)。秦巴地区作为大多数植物种群的冰期避难所，经过种群的收缩和扩张，为不同地区植物接触提供通道，随后在漫长的进化历史过程中，随着突变和遗传漂变的积累，导致种群间遗传分化的产生，这可能是槲栎和槲树种群形成当前分布模式的最可能原因。在其他关于种群遗传分化的研究中，揭示了物种种内的高遗传分化会受到长时间的地理隔离和当地环境的改变的影响 (Gong *et al*., 2008; Xu *et al*., 2015; Ju *et al*., 2019)。在槲树和槲栎种群中，秦巴枝系的遗传分化与中东部枝系的遗传分化存在显著差异可能原因是秦岭地区山脉较多，地势较高，地理因素阻碍了枝系之间的基因交流，造成不同区域遗传分化。在槲栎各分枝之间，西南和中东部枝系遗传分化系数较高，表明西南和中东部枝系之间的槲栎已经有较长时间的隔离，种群间的基因流受到限制，西南和中东地理分布跨度较大，由于分布不均匀，种群之间基因交流存在地理障碍，使得槲栎种群出现片段化，造成西南和中东之间的基因流很低。

此外，栎树种子传播的距离是有限的，大多数栎树种子只是由于重力而散落在亲本附近或者沿山坡滚落，槲栎和槲树物种的种子主要由鸟类和啮齿动物（如松鼠和老鼠）进行传播扩散，尽管这些动物可以携带种子跨过地理障碍协助植物进行扩散，但是终会受到地理距离的限制(Austerlitz *et al*., 2000; Xiao *et al*., 2005; Johnson and Adkisson, 1985)。相比于种子基因流，Hamrick 等表明花粉传播的基因流可以进行长距离的传播(Hamrick and Godt., 2000)。花粉的长距离传播为授粉提供了机会，有利于提高子代物种的杂合度，使种群中能够获得较多的等位基因，在种群中表现出高度的遗传多样性。在槲栎和槲树种群中，秦巴枝系接受了较多的来自中东部枝系的不对称的基因流，使得秦巴枝系的遗传多样性较中东部枝系高。在一定程度上虽然较强的基因交流会抵消由于环境异质性驱动的种内或种间的遗传分化，但是总的来说，秦巴山脉由于其复杂的地形为槲树种群的花粉传播或种子传播形成了不可忽视的地理障碍，为槲树和槲栎种群之间和种群内部枝系的的独立进化提供了潜在条件(Li *et al*., 2013; Liu *et al*., 2013)。

4.2 环境异质性对槲栎和槲树种群遗传变异的影响

物种的遗传多样性会受到复杂的气候环境的影响，物种的分布范围越广其环境异质性就越强 (李全健，2012; Karnosky *et al*., 1991)。本文使用线性和非线性方法对两种落叶栎遗传变异对于环境的响应进行了研究。) Mantel 检验和偏 Mantel 检验发现在槲栎种群中，中东部枝系中存在显著的地理隔离(IBD)和环境隔离(IBE)；在槲树种群中，中东部枝系中存在显著的地理隔离(IBD)，秦巴枝系中存在显著的地理隔离(IBD)和环境隔离(IBE)。冗余分析(RDA)和偏冗余分析（pRDA）也得出了相似的结论，在槲栎的中东部枝系和秦巴枝系以及槲树种群所有枝系中，地理变量的重要性和百分比解释度均是最高的。这些结果表明，在槲栎和槲树进化历史过程中，槲栎和槲树种群受到地理和气候的双重影响。而且非线性模型梯度森林(GF)分析表明最干旱月份降水量(bio14) 和等温性(bio03)是影响槲栎和槲树种群内遗传变异最主要的气候因子。可能的原因是由于槲树叶片的裂叶比槲栎叶片的裂叶程度大，较大的裂叶程度可以减少槲树叶片水分的蒸腾，以适应降水较少地区的气候环境，进而影响种群的遗传变异。在所有种群和种群内部分枝之间，虽然气候因子对遗传变异存在一定程度的影响，但是地理因素是影响种群内遗传变异的最主要气候因子。景观遗传学分析展现了物种内部枝系间不同的遗传机制，表明遗传变异不仅受到了进化历史驱动的影响，在很大程度上也会受到由于环境差异导致的自然选择的影响。例如在包括白杨、水青冈(Pluess *et al*., 2016; Wang *et al*., 2016)和一些其它栎树中(Sork *et al*., 2016; Gugger *et al*., 2017; Pina-Martins *et al*., 2018)都报道了遗传对环境变量的响应模式。

5 结论与展望

5.1 结论

本研究基于 12 对微卫星分子标记对槲栎和槲树共 53 个自然种群，759 个个体进行了种群遗传学和景观遗传学的研究，得到的主要结论如下：

(1)槲栎和槲树种群的遗传多样性分析表明两物种都具有较为丰富的遗传多样性，槲栎和槲树种群中的秦巴枝系的遗传多样性水平比中东部枝系的遗传多样性水平高。产生这一结果的原因可能与已有的研究推测秦巴地区作为冰期避难所有关。

(2) 对槲栎和槲树种群的遗传分化分析显示，槲栎和槲树在各自的分布范围内呈现出一定的遗传分化。在槲栎种群中存在三个明显的枝系，分别为西南枝系、秦巴枝系和中东部枝系；在槲树种群中划分为秦巴枝系和中东部枝系。基因流分析表明在两物种之间存在着非对称的基因流，基因流方向从槲树到槲栎；在物种内，槲栎基因流的方向是从中东部枝系到秦巴枝系，从秦巴枝系到西南枝系，在槲树中，基因流方向是从中东部枝系到秦巴枝系。本研究推测槲栎和槲树遗传结构的形成主要与秦巴山脉复杂的山地地形因素有关，复杂的地形影响种群之间的花粉和种子的传播进而影响物种的遗传结构，这一结果也从基因流分析得到了证明。

(3)使用景观遗传学分析槲栎和槲树的遗传变异对环境因子的响应，线性分析表明地理因子和环境因子都会影响槲栎和槲树的遗传变异。非线性分析表明槲栎种群的遗传变异主要受到最干旱月份降水量 bio14 和等温性 bio03 的影响，而槲树种群中等温性 bio03 是影响遗传变异的最主要气候因子。以上结果说明槲栎和槲树种群的遗传变异在很大程度上会受到环境的影响。

5.2 展望

本文从种群和景观遗传学的角度对槲栎和槲树种群的遗传多样性，遗传分化以及对环境的响应进行了初步的探索，但仍可进一步的完善。

(1) 微卫星分子标记简单、经济但是也存在如非直系同源、信息位点较少等缺点(Guichoux *et al*., 2011)，在未来的研究中我们可借助重测序、简化基因组测序等高通量测序手段获得的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 数据来开展更深入的进化历史的研究，例如推测槲栎槲树物种的起源、分化时间及扩散路径等。

(2) 栎属植物叶片的变异丰富，是研究植物叶片形态对环境的响应机理的重要模式物种，未来可以将遗传与表型数据相结合，来探究栎属植物形态变异、遗传变异与环境的关系。

(3)利用基因组信息并进一步结合环境数据从景观基因组学角度来解析槲栎和槲树的生态适应分子机理(王玉垚等, 2018；王天瑞等, 2020；Du *et al*., 2020)，例如结合线性模型和非线性模型以及非适应性风险分析(Risk of Non-adaptedness, RONA)的预

测功能分析在未来的环境下，环境对遗传变异的影响，并以此来探究物种对环境的适应潜力。

(4) 最后，本研究集中于单个物种的研究，在槲栎和槲树分布范围内存在着同域分布的其它落叶栎物种，未来研究中可以增加同域地区栎类近缘种的采样与本文的研究进行对比，来更好的获取种间基因交流的信息以及从遗传角度来探究物种的共存机制。

参考文献

. 杜芳. 生态适应与谱系地理. 森林生态（第三版 李俊清主编）. 中国高教出版社. 2016.

候元兆, 陈幸良, 孙国吉. 栎类经营[M]. 北京: 中国林业出版社, 2017.

李慧敏. 基于叶绿体 DNA 片段和核微卫星标记的槲树群体历史和遗传多样性研究[D]. 西安: 西北大学, 2018.

李全健, 王彩霞, 田敏,等. 浙江扇脉杓兰野生居群的表型性状变异及其与地理一土壤养分因子的相关性(J). 植物资源与环境学报, 2012, 21(2):45-52.

刘媛. 同域分布栎属两近缘种形态变异与种群遗传研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2018.

孟旭. 麻栎的谱系地理学和群体遗传学研究[D]. 西北大学, 2017.

秦英英, 韩海荣, 康峰峰, 等. 基于 SSR 标记的山西省辽东栎自然居群遗传多样性分析 (J). 北京林业大学学报, 2012, 34（2）: 61-65

苏金源. 东北红豆杉种群历史动态研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.

苏金源, 燕语, 李冲, 等. 通过遗传多样性探讨极小种群野生植物的致濒机理及保护策略: 以裸子植物为例 [J]. 生物多样性, 2020, 28 (3): 376-384.

王天瑞. 基于微卫星分子标记的川滇和刺叶高山栎的种群和景观遗传学研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020.

王天瑞, 冯力, 杜芳. 生态适应研究新方法: 从种群遗传学到景观基因组学[J]. 中国科学: 生命科学, 2021, 51(02): 167-178.

王玉垚. 基于干旱及缺氧候选基因的生态适应研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2018.

王玉垚, 张悦, 方剑火, 等. 一种基于候选基因研究树木生态适应的方法—以川滇高山栎为例[J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 2018, 54(6): 811-816.

魏高明. 苏皖 4 种同域分布栎树的遗传变异与基因渐渗[D].南京林业大学, 2015.

侯盟, 杜芳. 植物微卫星分子标记中无效等位基因检测方法的比较与应用[J]. 植物分类与资源学报, 2014, 36(006): 723-729.

徐刚标. 植物群体遗传学[M]: 科学出版社, 2009.

徐小林, 徐立安, 黄敏仁, 等. 栓皮栎天然群体 SSR 遗传多样性研究[J]. 遗传, 2004, 26(5): 683-688.

徐小林. 栓皮栎群体遗传结构研究[D]. 南京林业大学, 2003.

燕语. 基于简化基因组测序的东北红豆杉种群遗传学研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.

恽锐, 钟敏, 王洪新, 等. 北京东灵山辽东栎种群 DNA 多样性的研究[J]. 植物学报(英文版), 1998,(2): 169-175.

Abbott R, Albach D, Ansell S, *et al*. Hybridization and speciation[J]. Journal of Evolutionary Biology, 2013, 26(2): 229-246.

Agarwal M, Shrivastava N, Padh H. Advances in molecular marker techniques and their applications in plant sciences[J]. Plant Cell Reports, 2008, 27(4): 617-631.

Aizawa M, Yoshimaru H, Saito H, Katsuki T, Kaji M. Phylogeography of a northeast Asian spruce, *Picea jezoensis*, inferred from genetic variation observed in organelle DNA markers[J]. Molecular Ecology, 2007, 16(16): 3393-3405.

Albarrán-Lara A L, Petit R J, Kremer A, Caron H, Oyama K. Low genetic differentiation between two morphologically and ecologically distinct giant-leaved Mexican oaks[J]. Plant Systematics and Evolution, 2018, 305(1): 89-101.

Amos W, Hoffman J I, Frodsham A, Zhang L, Best S, Hill A V S. Automated binning of microsatellite alleles: problems and solutions[J]. Molecular Ecology Resources, 2007, 7(1): 10-14.

An M, Deng M, Zheng S S, Jiang X L, Song Y G. Introgression Threatens the Genetic Diversity of *Quercus austrocochinchinensis* (Fagaceae), an Endangered Oak: A Case Inferred by Molecular Markers[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 229.

Austerlitz F, Mariette S, Machon N, Gouyon P H, Godelle B. Effects of colonization processes on genetic diversity: differences between annual plants and tree species[J]. Genetics, 2000, 154(3): 1309-1321.

Bacilieri R, Ducousso A, Petit R J, Kremer A. Mating system and asymmetric hybridization in a mixed stand of European oaks[J]. Evolution, 1996, 50(2): 900-908.

Beerli P. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters[J]. Bioinformatics, 2006, 22(3): 341-345.

Bermingham E, Moritz C (1998) Comparative phylogeography: Concepts and applications[J].. Mol Ecol 7(4):367–369.

Beyer H L. Hawth's analysis tools for ArcGIS[C]. 2004.

Cavender-Bares J, Gonzalez-Rodriguez A, Eaton D A R, Hipp A A L, Manos P S. Phylogeny and biogeography of the American live oaks (*Quercus* subsection *Virentes*): a genomic and population genetics approach[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(14).

Coyne JA, Orr HA. 2004. Speciation[M].. Sunderland, MA, USA: Sinauer Associates.

Craft K J, Ashley M V. Pollen-mediated gene flow in isolated and continuous stands of bur oak, *Quercus macrocarpa* (Fagaceae)[J]. American Journal of Botany, 2010, 97(12):1999-2006.

Csilléry K, Lalagüe H, Vendramin G G, González-Martínez S C, Fady B, Oddou-Muratorio S. Detecting short spatial scale local adaptation and epistatic selection in climate-related candidate genes in European beech (*Fagus sylvatica*) populations[J]. Molecular Ecology, 2014, 23(19): 4696-4708.

Darwin C. On the Origin of Species by Means of Natural Selection, or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life[M].. London, UK: John Murray, 1859.

Davis M B, Shaw R G. Range shifts and adaptive responses to Quaternary climate change[J]. Science, 2001, 292(5517): 673-679.

Denk T, Grimm G W, Manos P S. Tree Physiology[M]. Switzerland: Springer, 2017: 13-38.

Diniz-Filho J A F, Soares T N, Lima J S, Dobrovolski R, Landeiro V L, Campos Telles M P, Rangel T F, Bini L M. Mantel test in population genetics[J]. Genetics and Molecular Biology, 2013, 36(4): 475-485.

Du F K, Hou M, Wang W, Mao K, Hampe A.Phylogeography of *Quercus aquifolioides* provides novel insights into the Neogene history of a major global hotspot of plant diversity in south-west China[J]. Journal of Biogeography, 2017, 44(1-2).

Du F K, Wang T R, Wang Y Y, Ueno S, Lafontaine G. Contrasted patterns of local adaptation to climate change across the range of an evergreen oak, *Quercus aquifolioides*[J]. Evolutionary Applications, 2020, 13(9): 2377-2391.

Earl D A, Vonholdt B M. STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method[J]. Conservation Genetics Resources, 2012, 4(2)359-361.

Eckert A J, Dyer R J. Defining the landscape of adaptive genetic diversity[J]. Molecular Ecology, 2012, 21(12):2836-2838.

Ellis N, Smith S J, Pitcher C R. Gradient forests: calculating importance gradients on physical predictors[J]. Ecology, 2012, 93(1): 156-168.

Ennos R A. Estimating the relative rate of pollen and seed migration among plant populations[J]. Heredity,

1994, 72 (3): 250-259.

Evanno G S, Regnaut S J, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: A simulation study[J]. Molecular Ecology, 2005, 14(8): 2611-2620.

Edwards A I, Civitello A A, Hammond H A, Caskey C T. DNA Typing and Genetic Mapping with Trimeric and Tetrameric Tandem Repeats[J]. The American Journal of Human Genetics, 1991, 49(4)746-756.

Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows[J]. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.

Ferrier S, Manion G, Elith J, Richardson K. Using generalized dissimilarity modelling to analyse and predict patterns of beta diversity in regional biodiversity assessment[J]. Diversity and Distributions, 2007, 13(3): 252-264.

Fick S E, Hijmans R J. WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas[J]. International Journal of Climatology, 2017, 37(12): 4302-4315.

Field D L, Ayre D J, Whelan R J, Young A G. Patterns of hybridization and asymmetrical gene flow in hybrid zones of the rare *Eucalyptus aggregata* and common *E. rubida*.[J]. Heredity, 2010,106(5): 841-845.

Fitzpatrick M C, Keller S R. Ecological genomics meets community-level modelling of biodiversity: mapping the genomic landscape of current and future environmental adaptation[J]. Ecology Letters, 2015, 18(1): 1-16.

Frankham R. Effective population size/adult population size ratios in wildlife: a review[J]. Genetical Research, 1995, 66(2):95-107.

Fu Y X, Li W H. Statistical tests of neutrality of mutations[J]. Genetics, 1993, 133(3): 693−709.

Gailing O, Curtu A L. Interspecific gene flow and maintenance of species integrity in oaks[J]. Annals of Forest Research, 2014, 57(1): 5–18.

Glaubitz J C. A user-friendly program to reformat diploid genotypic data for commonly used population genetic software packages[J]. Molecular Ecology Resources, 2004, 4(2): 309-310.

Goslee S C, Urban D L. The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data[J]. Journal of Statistical Software, 2007, 22(7): 1-19.

Gugger P F, Cavender-Bares J. Molecular and morphological support for a Florida origin of the Cuban oak[J]. Journal of Biogeography, 2013, 40(4):632-645.

Gugger P F, Liang C T, Sork V L, Hodgskiss P, Wright J W. Applying landscape genomic tools to forest management and restoration of Hawaiian koa (*Acacia koa*) in a changing environment[J]. Evolutionary Applications, 2017, 11: 231-242.

Guichoux E, Lagache L, Wagner S, *et al*. Current trends in microsatellite genotyping[J]. Molecular Ecology Resources, 2011a, 11(4): 591-611.

Hamrick J L, Godt M J W. Effects of life history traits on genetic diversity in plant species[J]. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B, 1996, 351(1345): 1291-1298.

Hamrick J L. Gene flow in forest trees [J]. Forest Conservation Genetics Principles and Practice, 2000.

Hardy G H. Mendelian proportions in a mixed population [J]. Science,1908, 28(706):49-50.

Hewitt G M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary[J]. Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological ences, 2004, 359(1442): 183-195.

Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages[J]. Nature, 2000, 405(6789): 907-913.

Hijmans R J. Geosphere: spherical trigonometry. R package geosphere version 1.5-7[J], 2014, 1549-1553.

Hoffmann A A, Yvonne W. Detecting genetic responses to environmental change[J]. Nature Reviews Genetics, 2008, 9(6): 421-432.

Holderegger R, Kamm U, Gugerli F. Adaptive vs. neutral genetic diversity: implications for landscape genetics[J]. Landscape Ecology, 2006, 21(6): 797-807.

Hubert F, Grimm G W, Jousselin E, Berry V, Franc A, Kremer A. Multiple nuclear genes stabilize the phylogenetic backbone of the genus *Quercus*[J]. Systematics and Biodiversity, 2014, 12(4): 405-423.

Hudson R R, Kreitman M, Aguade M. A test of neutral molecular evolution based on nucleotide data[J]. Genetics, 1987, 116(1): 153−159.

Hughes A R, Inouye B D, Johnson M T J, Underwood N, Vellend M. Ecological consequences of genetic diversity[J]. Ecology Letters, 2008, 11(6): 609-623.

Johnson W C, Adkisson C S. Dispersal of beech nuts by blue jays in fragmented landscapes[J]. American Midland Naturalist, 1985: 319-324.

Jombart T. adegenet: A R package for the multivariate analysis of genetic markers[J]. Bioinformatics, 2008, 24(11): 1403-1405.

Kalia R K, Rai M K, Kalia S, Singh R, Dhawan A K. Microsatellite markers: an overview of the recent progress in plants[J]. Euphytica, 2011, 177(3): 309-334.

Kalinowski S T. Counting Alleles with Rarefaction: Private Alleles and Hierarchical Sampling Designs[J]. Conservation Genetics, 2004, 5(4): 539-543.

Karnosky D F, Brown A H D, Clegg M T, Kahler A L, Weir B S. Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources[J]. Bioence, 1991, 41(1): 613-614.

Kass R E, Raftery A. Bayes Factors[J]. Journal of the American Statistical Association, 1995, 90: 773-795.

Kawecki T J, Ebert D. Conceptual issues in local adaptation [J]. Ecology Letters, 2010, 7 (12): 1225-1241.

Kelkar Y D, Strubczewski N, Hile S E, Chiaromonte F, Eckert K A, Makova K D. What Is a Microsatellite: A Computational and Experimental Definition Based upon Repeat Mutational Behavior at A/T and GT/AC Repeats[J]. Genome Biology and Evolution, 2010, 2: 620–635.

Kimura M. Evolution rate at molecular level[J]. Nature, 1968, 217(5129): 624−626.

Kimura M. On the evolutionary adjustment of spontaneous mutation rates [J]. Genetical Research, 1967, 9 (1): 23-34.

Kimura M. Theoretical foundation of population genetics at the molecular level[J]. Theor Popul Biol, 1971, 2(2): 174−208.

Kingman J F C. On the Genealogy of Large Populations[J]. Journal of Applied Probability, 1982, 19(A):27-43.

Kingman J F C. The coalescent[J]. Stochastic Process Appl, 1982, 13(3): 235−248.

Kremer A, Ronce O, Robledo-Arnuncio J J, Kuparinen A, Gerber S, Schueler S. Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change[J]. Ecology Letters, 2012, 15(4): 378-392.

Kremer A. Microevolution of European temperate oaks in response to environmental changes[J]. Comptes Rendus Biologies, 2016, 339(7-8): 263-267.

Kress W J, Wurdack K J, Zimmer E A, Weigt L A, Janzen D H. Use of DNA barcodes to identify flowering plants[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(23): 8369-8374.

Lafontaine G D, Napier J D, Petit R J, Hu F S. Invoking adaptation to decipher the genetic legacy of past climate change[J]. Ecology, 2018, 99(7): 1530-1546.

Lasky J R, Des Marais D L, Mckay J K, Richards J H, Juenger T E, Keitt T H. Characterizing genomic variation of *Arabidopsis thaliana*: The roles of geography and climate[J]. Molecular Ecology, 2012, 21(22): 5512-5529.

Legendre P, Legendre L. Complex ecological data sets[M]: Elsevier, 2012.

Lepais O, Petit R J, Guichoux E, Lavabre J E, Alberto F, Kremer A, Gerber S. Species relative abundance and direction of introgression in oaks[J]. Molecular Ecology, 2009, 18(10):2228-2242.

Li L, Abbott R J, Liu B B, Sun Y S, Li L L, Zou J B, Wang X, Miehe G, Liu J Q. Pliocene intraspecific divergence and Plio-Pleistocene range expansions within *Picea likiangensis* (Lijiang spruce), a dominant forest tree of the Qinghai-Tibet Plateau[J]. Molecular Ecology, 2013, 22(20): 5237-5255.

Li Z, Zou J, Mao K, Lin K, Li H, Liu J, Kallman T, Lascoux M. Population genetic evidence for complex evolutionary histories of four high altitude juniper species in the Qinghai–Tibetan Plateau[J]. Evolution, 2012(b), 66(3): 831-845.

Liaw A, Wiener M. Classification and regression by random Forest[J]. R News, 2002, 23(23), 18-22.

Liu J, Moller M, Provan J, Gao L M, Poudel R C, Li D Z. Geological and ecological factors drive cryptic speciation of yews in a biodiversity hotspot[J]. New Phytologist, 2013, 199(4): 1093-1108.

Liu Y, Jialin S, Lyu J, Xiaojing W, Yan Y, Yuyao W, Geometric morphometric analyses of leaf shapes in two sympatric Chinese oaks: *Quercus dentata* and *Q. aliena* (Fagaceae)[J]. Annals of Forest Science 2018, 75(4).

Lyu J, Song J, Liu Y, Wang Y, Li J, Du F K. Species boundaries between three sympatric oak species: *Quercus aliena*, *Q. dentata* and *Q. variabilis* at the northern edge of their distribution in China[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 414.

Lynch M, Ackerman M S, Gout J F, Long H, Sung W, Thomas W K, Foster P L. Genetic drift, selection and the evolution of the mutation rate[J]. Nature Reviews Genetics, 2016, 17 (11): 704-714.

Manel S, Poncet B N, Legendre P, Gugerli F, Holderegger R. Common factors drive adaptive genetic variation at different spatial scales in *Arabis alpina*[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(17):3824-3835.

Manel S, Schwartz M K, Luikart G, Taberlet P. Landscape genetics: Combining landscape ecology and population genetics[J]. Trends in Ecology and Evolution, 2003, 18(4): 189-197.

Manos P S, Doyle J J, Nixon K C. Phylogeny, biogeography, and processes of molecular differentiation in *Quercus* subgenus *Quercus* (Fagaceae)[J]. Molecular phylogenetics and evolution, 1999, 12(3): 333-349.

Manthey J D, Moyle R G. Isolation by environment in White-breasted Nuthatches (Sitta carolinensis) of the Madrean Archipelago sky islands: a landscape genomics approach[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(14): 3628-3638.

Miller J C, Tanksley S D. RFLP analysis of phylogenetic relationships and genetic variation in the genus *Lycopersicon*[J]. Theoretical and applied genetics, 1990, 80(4): 437-448.

Miller M P. Alleles in space (AIS): computer software for the joint analysis of interindividual spatial and genetic information[J]. Journal of Heredity, 2005, 96(6):722-724.

Nagamitsu T, Shimizu H, Aizawa M, Nakanishi A. An admixture of *Quercus dentata* in the coastal ecotype of *Q. mongolica* var. *crispula* in northern Hokkaido and genetic and environmental effects on their traits[J]. Journal of Plant Research, 2019, 132(2): 211-222.

Naimi B. Uncertainty analysis for species distribution models. R package version, 1[J]. 2013.

Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations [J]. Evolution, 1975, 29 (1): 1-10.

Nei M. Molecular Population Genetics and Evolution[M]. North-Holland Publishing Company, Amsterdam. Oxford, 1975.

Nixon KC. Infrageneric classification of *Quercus* (Fagaceae) and typification of sectional names[C]: EDP Sciences, 1993.

Oksanen J, Blanchet F G, Kindt R, Legendre P, Minchin P R, O Hara R B, Simpson G L, Solymos P, Stevens M H H, Wagner H. vegan: Community ecology package[J]. R package version, 2017, 14(6),

927-930.

Parmesan C. Ecological and Evolutionary Responses to Recent Climate Change[J]. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 2006, 37(1): 637-669.

Parry M, Canziani O, Palutikof J, van der Linden P, Hanson C. Climate change 2007: impacts, adaptation and vulnerability[J], 2007.

Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research-an update[J]. Bioinformatics, 2012, 28(19): 2537-2539.

Pennisi E. Shaking up the tree of life [J]. Science, 2016, 354(6314):817-821.

Petit R J, Carlson J, Curtu A L, Loustau M L, Plomion C, González-Rodriguez A, Sork V L, Ducousso A. Fagaceae trees as models to integrate ecology, evolution and genomics[J]. New Phytologist, 2013, 197(2): 369-371.

Petit R J, Jérme Duminil, Fineschi S, Hampe A, Vendramin G G. INVITED REVIEW: Comparative organization of chloroplast, mitochondrial and nuclear diversity in plant populations[J]. Molecular Ecology, 2005, 14(3):689-701.

Pina-Martins F, Baptista J, Jr G P, Paulo O S. New insights into adaptation and population structure of cork oak using genotyping by-sequencing[J]. Global Change Biology, 2018, 25(1): 337-350.

Pina-Martins F, Baptista J, Jr G P, Paulo O S. New insights into adaptation and population structure of cork oak using genotyping by-sequencing[J]. Global Change Biology, 2018, 25(1): 337-350.

Pluess A R, Frank A, Heiri C, Lalagüe H, Vendramin G G, Muratorio S O. Genome-environment association study suggests local adaptation to climate at the regional scale in *Fagus sylvatica*[J]. New Phytologist, 2016, 210(2): 589-601.

Qian Hong, Ricklefs R E. Large-scale processes and the Asian bias in species diversity of temperate plants[J]. Nature, 2000, 407(6801): 180-182.

Qiu Y X, Fu C X, Comes H P. Plant molecular phylogeography in China and adjacent regions: tracing the genetic imprints of Quaternary climate and environmental change in the world's most diverse temperate flora[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2011, 59: 225-244.

Rellstab C, Gugerli F, Eckert A J, Hancock A M, Holderegger R. A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(17): 4348-4370.

Rissler L J. Union of phylogeography and landscape genetics[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(29): 8079-8086.

Rosenberg N A. Distruct: a program for the graphical display of population structure[J]. Molecular Ecology Resources, 2004, 4(1): 137-138.

Rousset F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from F-statistics under isolation by distance[J]. Genetics, 1997, 145(4): 1219-1228.

Rushton BS. Natural hybridization within the genus *Quercus* L[C]: EDP Sciences, 1993.

Savolainen O, Pyhajarvi T, Knürr T. Gene flow and local adaptation in trees[J]. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 2007, 38(1): 595-619.

Schuelke M. An economic method for the fluorescent labeling of PCR fragments[J]. Nature Biotechnology, 2000, 18(2): 233-234.

Slatkin M. Isolation by distance in equilibrium and non-equilibrium populations[J]. Evolution, 1993, 47(1): 264-279.

Smith S J, Ellis N, Pitcher C R. Conditional variable importance in R package extendedForest[J]. R Vignette, 2012.

Smouse P E, Long J C, Sokal R R. Multiple regression and correlation extensions of the mantel test of matrix correspondence[J]. Systematic Zoology, 1986, 35(4): 627-632.

Sork V L, Aitken S N, Dyer R J, Eckert A J, Legendre P, Neale D B. Putting the landscape into the genomics of trees: approaches for understanding local adaptation and population responses to changing climate[J]. Tree Genetics and Genomes, 2013, 9(4): 901-911.

Sork V L, Squire K, Gugger P F, Steele S E, Levy E D, Eckert A J. Landscape genomic analysis of candidate genes for climate adaptation in a California endemic oak, *Quercus lobata*[J]. American Journal of Botany, 2016, 103(1): 33-46.

Sork V L, Waits L. Contributions of landscape genetics–approaches, insights, and future potential[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(17): 3489-3495.

Sork V L. Genomic studies of local adaptation in natural plant populations[J]. Journal of Heredity, 2017, 109(1): 3-15.

Storfer A, Murphy M A, Evans J S, Delmelle E, Vierling L A, Waits L P. Putting the 'landscape' in landscape genetics[J]. Heredity, 2007, 98(3): 128-142.

Susana V A. Diversidad del Género *Quercus* (Fagaceae) en México[J]. Boletín de la Sociedad Botánica de México, 2004, 75.

Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. Genetics, 1989, 123(3): 585−595.

Team R D C. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria[J]. R Foundation for Statistical Computing, 2018, 14: 12-21.

van Strien M, Holderegger R, Van Heck H. Isolation-by-distance in landscapes: Considerations for landscape genetics[J]. Heredity, 2014, 114(1): 27-37.

Wang I J, Bradburd GS. Isolation by environment. Mol Ecol, 2014, 23(23):5649–5662.

Wang I J, Summers K. Genetic structure is correlated with phenotypic divergence rather than geographic isolation in the highly polymorphic strawberry poison-dart frog[J]. Molecular Ecology, 2010, 19(3):447–458.

Wang I J. Examining the full effects of landscape heterogeneity on spatial genetic variation: A multiple matrix regression approach for quantifying geographic and ecological isolation[J]. Evolution; international journal of organic evolution, 2013, 67(12):3403–3411.

Wei G, Chen C, Dobe C, Fu C X, Koch M A. Phylogeography of a living fossil: Pleistocene glaciations forced *Ginkgo biloba* L. (*Ginkgoaceae*) into two refuge areas in China with limited subsequent postglacial expansion[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2008, 48(3): 1094-1105.

Wei Z D, Kobmoo N, Cruaud A, Kjellberg F. Genetic structure and hybridization in the species group of *Ficus auriculata*: can closely related sympatric Ficus species retain their genetic identity while sharing pollinators? [J]. Molecular Ecology, 2014, 23: 3538–3550.

Weinberg W. Über den Nachweis der Vererbung beim Menschen[J]. Jahreshefte des Vereins Varterländische Naturkdunde in Württemberg, 1908, 64, 369-382.

Wen Y, Han W, Wu S. Plant genetic diversity and its influencing[J]. Journal of Central South University of Forestry and Technology, 2011,30:80-87.

Williams G C. Adaptation and natural selection: a critique of some current evolutionary thought [J]. Philosophy of science, 1966, 152 (4): 320.

Willis J C, Shaw H K A. A dictionary of the flowering plants and ferns[J]. American Fern Journal, 1968, 58(3): 436.

Wright S. Evolution in Mendelian Populations[J]. Bulletin of mathematical biology, 1931, 16(2): 97-159.

Wright S. Isolation by Distance[J]. Genetics, 1943, 28(2):114-138.

Wright S. The genetical structure of populations [J]. Annals of Eugenics, 1949, 15(1):323-354.

Xiao Z S, Zhang Z B, Wang Y S. Effects of seed size on dispersal distance in five rodent-dispersed

fagaceous species[J]. Acta Oecologica, 2005, 28(3): 221-229.

Xu J, Deng M, Jiang X L, Westwood M, Song Y G, Turkington R. Phylogeography of *Quercus glauca* (Fagaceae), a dominant tree of East Asian subtropical evergreen forests, based on three chloroplast DNA interspace sequences[J]. Tree Genetics and Genomes, 2015, 11(1): 801-805.

Zeng Y F, Liao W J, Petit R J, Zhang D Y. Geographic variation in the structure of oak hybrid zones provides insights into the dynamics of speciation[J]. Molecular ecology, 2011, 20(23): 4995-5011

个人简介

祁敏，女，1998 年 9 月生，籍贯山西省朔州市。2014 -2018 年就读于山西农业大学植物检疫专业，获农学学士学位。2018 年 9 月至至 2021 年 6 月就读于北京林业大学林学院林业专业，导师为杜芳教授，研究方向为恢复生态学。

研究生期间主要从事栎类分子生态研究，在学期间主修了生态环境建设与管理、现代林业信息技术、林业统计—R 语言实践、森林资源与林业可持续发展和林业硕士专业英语等 12 门课程，共计 25 学分，成绩良好。研究生在读期间曾参加 2019 年中国林学会栎类国际研讨会，第十四届中国植物系统进化学术会议等，发表一作中文核心，三作中文核心，三作 SCI 论文各一篇。

导师简介

杜芳，女，1981 年 11 月生，甘肃甘南人。2010 年 6 月获得兰州大学生态学博士学位，2010 年 12 月获得法国波尔多第一大学生态学博士学位。现任北京林业大学生态与自然保护学院教授和云南大学生态与环境学院客座教授。

主要致力于森林树种遗传多样性及物种形成的机理研究。主持国家自然基金项目三项，参与国家自然基金重点项目和科技部重点研发计划。以第一作者或通讯作者发表 SCI 论文 21 篇，发明专利 1 项，论文引用 700 余次（谷歌学术统计）。2014 年在北京林业大学创建了首个分子生态实验室，为从微观角度解决宏观森林生态学问题搭建了良好的平台。

2009 年获法国农业科学学院三大科研进展奖励；2014 年获得教育部高等学校科学研究优秀成果奖自然科学奖一等奖(排名第四)；2014、2018 年获得梁希青年论文奖；2015 年当选北京市科技新星；2018 年起担任国际栎树协会专业委员会成员和北京生态修复协会理事；2019 年当选中国植物学会女科学家协会委员。2021 年开始担任 SCI 期刊 Ecology & Evolution 的 Associate Editor。

获得成果目录清单

[1] 祁敏, 张原野, 李嘉伟, 杜芳. 中-日分布的槲树种群遗传多样性与遗传分化的研究[J]. 兰州大学学报(自然科学版). (已录用)

[2] 苏蔚,宋以刚,祁敏,杜芳.基于几何形态分析的栎属白栎组叶片形态特征[J].应用生态学报, 1-8.

[3] Yang Xu, Hao Chen, Min Qi, Wei Su, Yue Zhang and Fang K. Du. The complete chloroplast genome of *Quercus fabri* (Fagaceae) from China [J]. Mitochondrial DNA Part B. 2019, 4(2): 2857-2858.

致谢

冬去春来，时光荏苒，恍惚间仿佛前一日才步入北京林业大学的校门，今日却已经在忙碌整个硕士毕业论文的最后一部分。回想硕士期间的生活，心中感慨万千，在这三年中，有过困惑，有过做不出实验的低落，有过对未来的迷茫，但也有过坚定，有过认可和关怀，纵使万般不舍，但仍然心怀感激。

首先忠心感谢我的导师杜芳教授，感谢老师把我带入实验室，给我珍贵的读研机会，并在三年中给予我很多学习和生活上的关心和帮助。刚进入实验室时我基础较差，但杜老师不厌其烦的指导我如何查找文献，如何阅读文献，正是由于老师的指导让我在迷茫中找到了研究的方向。杜老师尽自己所能为我们提供良好的实验条件，在文章的撰写过程中杜老师常会与我讨论文章的思路，并给予我十分宝贵的修改意见。杜老师除了教授给我专业的知识外，同时也在传授我为人处世的积极态度，使我受益终身，三年来的传道受业解惑得以延续我对未来学业的追求。在此，谨向老师三年来的栽培和关怀表示崇高的敬意和衷心的感谢！

感谢我的校外导师中国科学研究院林业研究所的曾艳飞老师对论文的指导。感谢山东农业大学的王年教授、北京师范大学的白伟宁教授、厦门大学的张原野教授和北京林业大学的吕佳高级实验师在数据处理过程中的帮助。然后，要感谢研究生期间的所有任课老师，是他们传授给我更多的专业知识，让我的理论知识更加完善，更有底气去探索科学的未知。

本文的顺利完成还离不开北京林业大学分子生态实验室的所有成员。感谢刘媛、苏金源、燕语、张悦、李月娟、王天瑞以及王瑞教我做实验和学习软件处理；感谢许阳、苏蔚、刘可可在外业中帮我辛苦采集样品；感谢本科生李嘉伟、王宣瓔、全叶郴帮我完成部分实验。感谢大家三年来对我的包容与照顾，在学习上的相互鼓励以及生活上的相互关心，都是我前进的动力。和大家在一起学习和娱乐的时光让我永远铭记，希望 402 分子实验室永远朝气蓬勃，祝大家前程似锦，未来可期！

父母之爱子，则为之计深远。最后感谢我的父母在我的求学生涯中给予的全力支持，谢谢你们支持我做的每个决定，谢谢你们在我想要放弃时的声声鼓励，成为我最坚强的后盾。

逝者如斯夫不舍昼夜。感谢这三年我所付出和收获的一切。纵使万般不舍，新生活的开始亦让人向往。

在此谨向所有关心和帮助我的老师和同学致以最真诚的谢意！最后对审阅和评议本论文及答辩委员会的全体专家致以崇高的敬意和诚挚的感谢!