

分类号

密级

UDC



北京林业大学

博士学位论文

栎属物种种间和种内生态特征替代分布格局及适应机制研究

Ecological Character Displacement and Adaptive Mechanisms at
Inter- and Intraspecific Levels in Oaks

祁敏

指导教师 杜芳
学 院 生态与自然保护学院
学 科 专 业 生态学
研 究 方 向 修复生态学

二〇二六年 六 月 一 日

课题来源

本论文受到国家自然科学基金联合基金项目“典型珍稀濒危植物对迁地生境的适应与调节机制（U2571202）”以及国家自然科学基金面上项目“植物特征替代的分布格局及适应机制（42571062）”的资助，特此感谢！

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： 邵敏 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： 邵敏 导师签名： 杜芳 日 期： _____

答 辩 委 员 会 成 员 信 息

	姓 名	职 称	工 作 单 位
主 席	桑卫国	教授	中央民族大学
委 员	廖万金	教授	北京师范大学
	李景文	教授	北京林业大学
	刘艳红	教授	北京林业大学
	侯继华	教授	北京林业大学

摘要

生态特征替代 (Ecological character displacement) 指物种在同域 (Sympatry) 时由于对资源的竞争导致性状分化增强, 但在异域 (Allopatry) 分布时其性状分化不明显。生态特征替代被认为是生物多样性形成的重要基础, 通过改变资源利用策略, 进而促进物种的形成与分化, 最终影响群落构建和生态系统稳定。然而, 迄今为止, 植物尤其是在树木类群中, 生态特征替代的实证研究极为有限。主要原因在于, 植物中与特征替代相关的性状较难确定; 其次, 植物中广泛存在的基因流使得物种同域与异域分布的界定更加困难。因此, 本研究选取叶片性状作为探究植物特征替代的切入点, 因为叶片作为植物进行光合、蒸腾与资源交换的主要器官, 能够反映植物在光、水分和养分利用上的权衡, 是表征植物资源利用策略、环境适应及生态位分化的关键功能性状。本论文进一步聚焦于栎类的叶片性状, 因为该类群具有丰富的叶型变异、较弱的生殖隔离及频繁种间杂交与渐渗, 是研究生态适应与进化过程的模式类群。

本论文以栎属 (*Quercus* L.) 白栎组 (Section *Quercus*) 物种为研究对象, 通过整合微卫星分子标记和叶片性状数据, 检验种间 (以槲栎 (*Quercus aliena*) 和槲树 (*Q. dentata*) 为代表) 和种内 (以枹栎 (*Q. serrata*) 及其变种短柄枹栎 (*Q. serrata* var. *brevipetiolata*) 为代表) 的遗传和叶性状变异模式, 并开展生态特征替代检验。在揭示生态特征替代空间分布格局的基础上, 进一步整合全基因组重测序数据与环境变量, 解析槲栎和槲树中特征替代是由遗传趋同还是遗传冗余造成的, 并从基因组水平上筛选与特征替代适应相关的关键位点并挖掘其功能。主要结论如下:

(1) 基于 12 对微卫星分子标记, 对 47 个中国分布的槲栎和槲树的自然种群, 778 个个体进行种群遗传学分析。结果表明, 与异域种群相比, 同域分布的槲栎和槲树表现出更高的种间遗传分化, 杂合个体比例较低 (29% vs. 33%); 两个物种的种间历史基因流在同域种群 (34 vs. 50) 中显著低于异域种群 (59 vs. 68)。此外, 基于几何形态 (geometric morphometric method, GMM) 的叶片性状分析表明, 两物种在同域种群中的叶片性状分化显著高于异域种群, 而且槲栎在同域环境中表现出更强的性状变异; 在控制相关环境差异后, 上述结论仍成立。两个物种的进化动态历史分析表明槲栎和槲树之间存在不对称的历史基因流, 基因流方向主要由槲树流向槲栎 (64 vs. 49), 暗示槲树可能为祖先种, 槲栎为后来种; 叶功能性状研究表明槲树为资源获取型, 槲栎为资源保守型。综合以上研究结果,

榲栂和榲树在同域种群中表现出非对称的性状分化,这一模式可能源于物种种群动态的非对称性所导致的差异化种间选择压力,从而驱动了非对称的种间生态特征替代。

(2) 同一物种往往在资源利用上相似性更高,种内竞争可能比种间竞争更更容易发生,因此产生种内特征替代。本论文以中国和日本共同分布的枹栂及仅在中国分布的变种短柄枹栂为研究对象,基于 12 对微卫星分子标记对 27 个枹栂和短柄枹栂自然种群, 208 个个体进行种群遗传学分析。结果表明,中国与日本枹栂种群之间首先分化,其次枹栂种内分化形成短柄枹栂;枹栂和短柄枹栂在同域和异域种群中的遗传分化差异不显著 (F_{ST} : 0.10 vs. 0.11)。但枹栂和短柄枹栂在同域种群中的叶片几何形态及八个传统叶片性状(叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、窦宽、最大叶宽处的叶片长度、裂片数量、叶干重和叶面积)的分化均高于异域种群。然而枹栂和短柄枹栂的比叶面积在同域种群中差别不显著,检测出叶面积与叶干重之间存在显著的异速生长关系:同域种群中短柄枹栂的叶面积与叶干重的异速生长关系显著高于枹栂 (α : 0.5 vs. 0.9)。说明短柄枹栂可能正处于早期生态分化过程中,并揭示了种内特征替代在种内形态多样化与资源利用策略中的作用。

(3) 生态特征替代的形成可能由相同位点、基因或通路的重复利用所驱动主导,即遗传趋同;或由多位点、多通路的组合共同驱动,即遗传冗余。基于 90 个榲栂和榲树个体,平均测序深度为 30×的全基因组重测序数据显示,所有榲栂异域与同域种群间检测到的受选择区域数量高于榲树异域与同域种群间(442 vs. 344 个),且榲栂的南谱系与同域种群间检测到了最多的受选择区域(556 个)。进一步比较同域和异域种群中最小等位基因频率发现遗传趋同和遗传冗余位点均存在,冗余位点数量和比例高于趋同位点(冗余位点: 3567-6976 个,占 56%-70%;趋同位点: 2403-3928 个,占 30%-44%)。功能注释与富集结果表明趋同和冗余位点主要富集到与形态构建和发育相关过程中,冗余位点富集到与代谢和运输调控过程相关的基因数量普遍高于趋同位点。此外,榲栂中检测出更多的受选择区域并富集到更多候选基因。

综上,本论文整合遗传和叶片性状数据对以榲栂和榲树、枹栂及短柄枹栂为代表的栂属植物开展研究,在种间和种内水平系统检验了栂属植物的生态特征替代模式,并从基因组层面揭示了遗传趋同和遗传冗余在适应性进化中的作用,为深入理解栂属植物的共存机制与适应性进化过程提供了理论基础。

关键词: 栂属, 种群遗传学, 叶片性状变异, 遗传趋同, 遗传冗余

Ecological Character Displacement and Adaptive Mechanisms at Inter- and Intraspecific Levels in Oaks

Ph.D. Candidate: Min Qi

(Ecology)

Directed by Professor Fang Du

Abstract

Ecological character displacement (ECD) refers to increased trait divergence among species in sympatry caused by competition for resources, whereas such divergence is weak or absent in allopatry. ECD is considered an important basis for the generation and maintenance of biodiversity because it can shape resource use strategies, promote species formation and divergence, and ultimately influence community assembly and ecosystem stability. However, empirical studies of ECD in plants, especially in trees, remain extremely limited. This is mainly because traits directly associated with ECD are difficult to identify in plants, and the widespread occurrence of gene flow further complicates the delimitation of sympatric and allopatric distributions. Therefore, this study uses leaf traits as an entry point to investigate ECD in plants.

As the primary organs of photosynthesis, transpiration, and resource exchange, leaves can reflect plant trade-offs in the use of light, water, and nutrients, and therefore represent key functional traits for understanding resource-use strategies, environmental adaptation, and niche differentiation. This study focuses on leaf traits in oaks, because oaks exhibit substantial leaf morphological variation, weak reproductive isolation, and frequent interspecific hybridization and introgression, making it an important model system for studying ecological adaptation and evolutionary processes.

This study focuses on white oaks (section *Quercus*). By integrating microsatellite molecular markers and leaf trait data, this study examines genetic and leaf morphological variation patterns at both the interspecific level, represented by *Quercus aliena* and *Q. dentata*, and the intraspecific level, represented by *Q. serrata* and its variety *Q. serrata* var. *brevipetiolata*, and tests for ECD. Furthermore, after characterizing the spatial distribution patterns of ECD, whole-genome resequencing data and environmental variables were integrated to determine whether character displacement was associated with genetic convergence or genetic redundancy. Genomic regions and key loci potentially involved in adaptive differentiation related to ECD were then identified, and their possible functions were further explored. The main findings are as follows:

(1) Based on 12 pairs of microsatellite molecular markers, population genetic analysis of 778 individuals from 47 natural populations of *Q. aliena* and *Q. dentata* showed that, compared with allopatric populations, sympatric populations of *Q. aliena* and *Q. dentata* exhibited higher interspecific genetic differentiation and a lower proportion of admixed individuals (29% vs. 33%). Historical interspecific gene flow between the two species was significantly lower in sympatric populations (34 vs. 50) than in allopatric populations (59 vs. 68). In addition, leaf trait analysis based on the geometric morphometric method (GMM) showed that leaf trait divergence between the two species was significantly greater in

sympatric populations than in allopatric populations, and *Q. aliena* exhibited stronger trait variation in sympatry. These conclusions remained unchanged after controlling for relevant environmental differences. Combined with the demographic history of the two species, asymmetric historical gene flow was detected between *Q. aliena* and *Q. dentata*, with gene flow occurring mainly from *Q. dentata* to *Q. aliena* (64 vs. 49), suggesting that *Q. dentata* may represent the early species, whereas *Q. aliena* may represent the later species. Based on leaf functional traits, *Q. dentata* exhibited a resource-acquisitive strategy, whereas *Q. aliena* exhibited a resource-conservative strategy. These results indicate that *Q. aliena* and *Q. dentata* showed an asymmetric pattern of trait divergence in sympatric populations. This pattern may have resulted from differential interspecific selection pressures caused by asymmetry in the demographic dynamics of the two species, thereby driving asymmetric interspecific ECD.

(2) Intraspecific competition may be more frequent than interspecific competition because same species often show greater similarity in resource use, giving rise to intraspecific ECD. This study focused on *Quercus serrata* (in China and Japan) and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* (found only in China). Based on 12 pairs of microsatellite molecular markers, population genetic analysis of 208 individuals from 27 natural populations of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* showed that Chinese and Japanese populations of *Q. serrata* diverged first, followed by intraspecific differentiation within *Q. serrata*, leading to the formation of *Q. serrata* var. *brevipetiolata*. Genetic differentiation between *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* did not differ significantly between sympatric and allopatric populations (F_{ST} : 0.10 vs. 0.11). However, variation in eight leaf traits (lamina length, petiole length, lobe width, sinus width, WP, lobe number, leaf mass, leaf area,) of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* was greater in sympatric populations than in allopatric populations. However, specific leaf area (SLA) did not differ significantly between *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in sympatry. A significant allometric relationship was detected between leaf area and leaf mass: in sympatric populations, the allometric relationship between leaf area and leaf dry mass was significantly stronger in *Q. serrata* var. *brevipetiolata* than in *Q. serrata*. An allometric growth relationship between leaf size and leaf mass of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* was found, with the allometric relationship between leaf area and leaf dry mass in sympatric populations of *Q. serrata* var. *brevipetiolata* being significantly stronger than that in *Q. serrata* (α : 0.5 vs. 0.9). These results suggests that *Q. serrata* var. *brevipetiolata* is progressing towards ecological divergence from *Q. serrata* and reveals the potential role of intraspecific ECD in intraspecific morphological diversification and resource-use strategies.

(3) The causes of ecological character displacement may be dominated by the repeated use of the same loci, genes, or pathways, namely genetic convergence; or may be jointly driven by combinations of multiple loci and multiple pathways, namely genetic redundancy. Based on whole-genome resequencing data from 90 individuals of *Q. aliena* and *Q. dentata*, with sequencing depth of 30 \times , selection scans revealed that Allopatry_QA vs. Sym detected more regions under selection than Allopatry_QD vs. Sym (442 vs. 344 regions), and Allopatry_QAL2 vs. Sym detected the greatest number of genomic regions under selection (556 regions). Comparisons of minor allele frequency between sympatric and allopatric populations showed that both convergent and redundant signals occur within highly differentiated regions,

and the number and proportion of redundant loci were higher than those of convergent loci (3567-6976 redundant loci accounting for 56%-70%, 2403-3928 convergent loci accounting for 30%-44%). Functional annotation and enrichment analyses showed that both convergent and redundant loci were mainly enriched in processes related to morphogenesis and development, while redundant loci were generally associated with a higher number of genes involved in metabolism and transport regulation than convergent loci.

In summary, this study integrates genetic and leaf trait data to investigate the diversity and differentiation of oaks represented by *Q. aliena*, *Q. dentata*, *Q. serrata*, and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*. It systematically examined ECD patterns in oaks at both interspecific and intraspecific levels, and further revealed the roles of genetic convergence and genetic redundancy in adaptive evolution at the genomic level. These findings provide a theoretical basis for a deeper understanding of coexistence mechanisms and adaptive evolutionary processes in oaks.

Key Words: *Quercus*, Population genetics, Leaf trait variation, Genetic convergence, Genetic redundancy

目录

1 前言	1
1.1 特征替代研究范畴	1
1.2 特征替代类型	2
1.3 特征替代判别标准	3
1.4 特征替代空间尺度	5
1.5 栎属的生态适应研究	6
1.5.1 栎属的杂交渐渗	6
1.5.2 栎属表型变异及对环境的响应	7
1.5.3 栎属白栎组物种的生态适应研究	8
1.6 研究目的与内容	9
1.6.1 研究目的	9
1.6.2 研究内容	10
1.7 技术路线	10
2 栎属种间生态特征替代研究	12
2.1 引言	12
2.2 材料与方法	13
2.2.1 同域/异域种群界定及样品采集	13
2.2.2 样品基因组 DNA 的提取及检测	16
2.2.3 基因分型	16
2.2.4 叶形数据获取	16
2.2.5 树木物候观测	17
2.2.6 数据分析	17
2.3 结果	20
2.3.1 遗传多样性、遗传分化以及基因流	20
2.3.2 遗传聚类	21
2.3.3 叶形变异	23
2.3.4 叶形变异对气候的响应	28
2.3.5 花期物候	32
2.4 讨论	33
2.4.1 同域种群中的非对称生态特征替代	33
2.4.2 环境对性状分化的影响	33
2.4.3 非对称生态特征替代的起源	34
2.4.4 生殖隔离与生态特征替代	34
2.5 小结	34
3 栎属种内生态特征替代研究	36
3.1 引言	36
3.2 材料与方法	36
3.2.1 样品采集	36

3.2.2 基因组 DNA 提取与基因分型.....	38
3.2.3 遗传多样性与遗传分化.....	39
3.2.4 基因流与种群历史.....	40
3.2.5 叶片形态测定.....	41
3.2.6 叶形多变量分析.....	42
3.2.7 特征替代.....	43
3.2.8 遗传和形态变异对气候的响应.....	43
3.3 结果.....	44
3.3.1 遗传多样性与遗传分化.....	44
3.3.2 遗传结构.....	45
3.3.3 种群动态历史.....	47
3.3.4 叶形态变异.....	50
3.3.5 沿气候梯度变化的叶形态变异.....	56
3.4 讨论.....	59
3.4.1 种群动态历史.....	59
3.4.2 同域竞争下的性状分化：环境响应与资源策略权衡.....	59
3.5 小结.....	60
4 生态特征替代的适应机制.....	62
4.1 引言.....	62
4.2 材料与方法.....	62
4.2.1 全基因组重测序.....	62
4.2.2 遗传多样性、连锁不平衡和遗传结构.....	64
4.2.3 种群动态历史.....	64
4.2.4 基因组岛检测.....	64
4.2.5 识别趋同和冗余位点.....	65
4.2.6 顺式调控元件预测.....	65
4.2.7 富集分析.....	66
4.3 结果.....	66
4.3.1 全基因组重测序 SNP 位点统计.....	66
4.3.2 遗传结构、遗传多样性和连锁不平衡.....	66
4.3.3 种群动态历史.....	67
4.3.4 选择性信号检测.....	68
4.3.5 趋同和冗余位点识别.....	68
4.3.6 顺式调控元件预测以及功能注释.....	68
4.4 讨论.....	70
4.4.1 特征替代的基因组证据：趋同与冗余.....	70
4.4.2 适应性分化的功能基础.....	70
4.5 小结.....	71
5 结论与展望.....	73
5.1 主要结论.....	73

目录

5.2 创新点	74
5.3 展望	74
参考文献	76
附录	89
个人简介	94
导师简介	96
获得成果目录清单	97
致谢	98

1 前言

1.1 特征替代研究范畴

特征替代 (Character displacement), 其核心观点是指同域 (Sympatry) 分布的近缘种由于竞争导致资源利用或繁殖相关的性状分化, 即种间特征发生了替代, 但在异域 (Allopatry) 分布时分化不明显^[1]。特征替代自 20 世纪 50 年代由 William L. Brown 和 Edward O. Wilson^[1]首先在动物中提出以来, 引起了生态、进化学家的广泛关注, 因为特征替代是自然选择的直接结果, 影响到物种形成、分化、多样性并最终影响群落构建和生态系统的稳定^[2, 3]。特征替代中最经典的例子来自 Grant 等^[3-5]对两种达尔文雀 (Darwin's Finches) 的喙形态进行长达 30 年的研究发现, 共存的两个物种为了获取有限的资源, 喙形态会发生变化, 并且这种变化在极端干旱时最强烈。近期研究人员通过基因组重测序分析在 Science 期刊发表论文证明这一“特征”, 即喙大小的替代是由基因控制^[6], 表明特征替代不仅是生态现象, 更具遗传基础。比如若某些变异在多个发生特征替代的种群中共享, 则性状分化可能由相同的遗传改变驱动, 即存在遗传趋同; 若不同种群的特征替代由各自独特的变异引起, 则性状分化可能是由多种不同的遗传途径实现, 即遗传冗余^[7]。

除达尔文雀外, 特征替代的证据还广泛见于其他动物类群。例如, 在在林地蝾螈属 (*Plethodon Tschudi*) 中, 种间共存可导致头骨和取食相关形态发生分化^[8]; 在三刺鱼 (*Gasterosteus Linnaeus*) 中, 不同生态型的个体在体型、取食结构及生殖相关性状上表现出明显分化^[9]; 在蜥蜴属 (*Anolis Daudin*) 中, 同域共存物种之间会通过形态分化与栖息地分化降低生态位重叠^[10]; 在旱掘蟾属 (*Spea Cope*) 中, 繁殖相关性状的分化则表明, 特征替代不仅发生于资源利用性状, 也可作用于与生殖隔离相关的性状^[11]。然而, 植物中所涉及的表型性状则更为复杂, 具有丰富的形态特征。例如, 花结构与植物—传粉者的相互作用有关, 并且很可能发生替代, 以防止生殖干扰和杂交; 另一方面, 种子大小也可能影响幼苗竞争的结果, 较大的种子通常增强幼苗的建立和竞争能力, 而较小的种子则更有利于扩散和定殖, 因而种子大小所反映的竞争一定殖权衡也可能是构成植物特征替代的重要形式^[2, 12, 13]。

除种间层面外, 竞争驱动的分化同样可能发生于种内^[14]。理论上, 物种分布往往容易受到扩散距离的局限, 种内发生竞争可能性比种间竞争更普遍^[15]。而且, 当分化发生较近且生殖隔离尚不完全时, 资源竞争通常更为激烈^[16]。因此, 选择作用会通过促进物种内部的分化来减少种内资源竞争, 由此产生的进化来源于物种内部的相互作用, 类似于物种间的相互作用, 这一过程被称为种内特征替代^[2, 17]。长期以来, 种内对资源竞争产生的歧化选择导致性状的快速分化, 也就是当极端表型比中间表型具有适应性优势时, 通过偏好极端表型, 维持甚至增加自然种群的变异^[18, 19], 最终同一物种内在资源利用上出现不同的替代表型, 促进表型多样性的进化, 也就是在单一的种

群中出现离散的种内形态，表现出不同的资源利用^[20,21]。大部分的研究集中于表型变异对两个不同物种共存的影响，对单一物种的内部表型变异研究有限^[22-24]。单一物种的种内变异研究尤其适用于植物，因为植物的固着性以及强的种群结构性，是研究种内特征替代的理想物种^[25]。

1.2 特征替代类型

特征替代通常可表现为两种不同形式：生态特征替代和生殖特征替代。生态特征替代是指由于选择压力导致的性状进化，旨在减少物种间的资源竞争，主要作用于与资源利用相关的性状（例如喙和颌等形态结构）^[26,27]。生殖特征替代是指由于选择压力减少物种间的性相互作用而导致的性状进化，作用于与生殖相关的性状（例如性信号和雌性配偶偏好）^[14,28]。

由于资源竞争的物种很可能在交配过程中相互作用，因此生态特征替代和生殖特征替代在自然系统中并非彼此独立^[29,30]。当资源利用性状的转变同时改变了生殖信号的产生时，生态特征替代可以促进生殖特征替代的发生。例如，由资源利用方式转变所导致的鸟喙和鸣管形态变化，能够引起性信号，即鸟鸣的相应变化，而这种性信号能够直接影响物种识别^[3,30,31]。在中嘴地雀（*Geospiza fortis*）中，由大喙型和小喙型组成的种群分别取食大种子和小种子，会发出不同类型的鸟鸣，雌性会在配偶选择过程中利用这些不同的鸟鸣类型，选择倾向于相同喙型的雄性交配^[32,33]。因此，生态选择也能够以影响配偶选择的方式改变性信号，并且潜在地影响生殖隔离^[3,31,33,34]。尽管上述例子聚焦于声学信号，但资源利用的转变也可能在其他用于性信号传递中促成类似变化。例如，在许多鱼类中，雄性的体色取决于其食物来源^[35]，而体色在物种识别中也能够发挥重要作用^[36]。此外，通过生态特征替代所导致的栖息地或资源利用变化，也可能会促进选择作用，引起雌性配偶偏好的改变，从而促进生殖特征替代。以三刺鱼为例，不同物种在栖息地的分化可进一步影响配偶偏好与生殖分化。底栖生态型主要在近岸浅水区觅食和交配，而该环境中红色信号较难被有效识别；相比之下，远洋生态型生活于开阔水域，在这一环境下红色更易被感知^[36]。因此，底栖型雌性对红色差异的敏感性低于远洋型雌性，且通常并不表现出对更红雄性的明显偏好，而远洋型雌性则更倾向于选择红色更鲜明的雄性^[36-38]。相应地，雄性的红色体色表达与雌性对红色信号的感知能力呈协同变化，即在雌性对红色更敏感，并偏好更红雄性的种群中，雄性的红色体色也更为显著^[36,38]。更重要的是，远洋型与底栖型三刺鱼之间的生殖隔离程度，与种群中雌性对红色的敏感性及偏好呈负相关关系，表明与不同栖息地相联系的感觉差异和配偶偏好转变，能够在很大程度上决定生殖分化的强弱^[36]。因此，生态特征替代引起的资源利用或栖息地利用转变，不仅能够改变个体所处的信号传播环境，还可能进一步影响感觉系统、配偶偏好及性信号表达，从而在减少种间生殖相互作用的同时，推动生殖特征替代的发生与强化。

在植物中,生态特征替代和生殖特征替代的相互作用往往更难直接从表型加以区分。在植物中,同域种间性状分化增强除了可能由资源竞争驱动导致的生态特征替代外,也可能与二次接触背景下生殖隔离的加强导致强化作用有关。强化作用通常是指,先前发生地理隔离的种群在恢复接触后,由于杂交后代适合度降低,自然选择促使其进化出更强的合子前生殖隔离,从而减少不利杂交的过程^[39,40]。已有研究表明,近缘种群间杂交率及杂交带结构的地理变异可为理解生殖隔离的演化提供重要窗口;强化理论进一步预测,长期接触区的合子前生殖隔离应强于近期接触区,因此旧接触带更可能表现为以亲本型为主、杂交个体较少的双峰型杂交带,而新近接触区则更可能形成杂交个体较多的单峰型杂交带^[41]。Zeng 等^[42]对辽东栎 (*Quercus liaotungensis*) 与蒙古栎 (*Q. mongolica*) 的研究发现,东北地区具有历史接触现象的种群形成了更清晰的双峰型杂交带,而华北近期接触区则更多表现为单峰型杂交带,其结果与长期接触区中针对杂交个体的不利选择已有足够时间加强生殖隔离的强化假说相一致。另一方面,Lagache 等^[43]对欧洲两种栎树夏栎 (*Q. robur*) 和无梗花栎 (*Q. petraea*) 的研究表明,种间合子前生殖隔离在两物种中均较强,且在无梗花栎中更强,该研究在空间交配模型中同时纳入了花期重叠和种间生殖隔离,说明物候重叠与可杂交是评估合子前生殖隔离不可忽视的两个重要方面。基于此,在检验植物中性状分化是由生态特征替代还是生殖特征替代驱动时,仅比较叶片性状本身不足以区分两种过程的相对作用,因此有必要进一步结合花期物候观察和控制授粉实验,分别从开花时间重叠和可杂交性两个方面进一步评估合子前生殖隔离的潜在作用,以判断同域性状分化增强是否同时受到强化作用的影响。

1.3 特征替代判别标准

在特征替代的发展过程中,如何将真正由种间相互作用驱动的性状分化,与其他能够形成相似表型格局的过程区分开来,一直是该领域研究的热点问题^[2,29]。尽管同域近缘种之间的性状分化常被视为特征替代的潜在证据,但仅凭表型差异本身并不足以证明特征替代的存在,因为随机过程、环境差异、表型可塑性以及生态过滤等机制,同样可能导致类似的观察结果^[29,44,45]。因此,要科学判定某一性状分化模式是否构成特征替代,必须建立严格而系统的判别标准。Schluter 和 McPhail^[46]在 1992 年提出了用于检验特征替代的经典标准框架,为后续研究从描述性推断走向机制性验证提供了重要依据,也成为评估特征替代的核心参考^[46]。具体而言,Schluter 和 McPhail^[46]提出的判别依据并不依据同域表型分化的直观特征直接认定为特征替代,而是强调应系统排除其他可能导致相似模式的替代性机制。也就是说,只有当性状差异能够被证明是源于同域条件下的性状分化,而不是随机过程、表型可塑性、物种筛选或环境异质性等其他作用时,才能将其视为特征替代的有力证据。该依据主要包括六项核心标准,分别涉及排除表型可塑性、排除随机性、原位进化、性状变化与资源利用的一致性、

环境背景的可比性，以及种间资源竞争的直接证明。

特征替代的检验必须正视表型可塑性的作用。表型可塑性能够使个体对环境刺激产生快速表型响应^[17]，并为后续的遗传变异与分化提供“可被选择筛选”的变异来源。已有研究指出，个体在面对强竞争时，往往会通过可塑性调整资源利用相关性状，从而降低与其他个体的资源利用重叠^[14]。如果这种可塑性反应能提高适合度，并在种群中存在遗传差异，那么自然选择就可能进一步强化这种反应，使差异更加稳定，甚至逐渐不再依赖外界刺激^[16,44]。因此，在检验特征替代时，可塑性既可能造成表型差异，也可能参与遗传分化的形成过程。研究中需要同时关注性状差异是否只在特定环境下出现，还是在不同环境背景下都能保持；并结合遗传信息，判断这些差异更可能反映短期的可塑性响应，还是较稳定的遗传分化结果^[14,16]。因此，在判别特征替代时，一个关键步骤是检验同域与异域分布种群之间的性状差异是否具有遗传基础。最直接的方法是开展同质园实验：将同一物种来自同域与异域分布的种群的个体置于相同环境中栽培，若性状差异在共同环境中仍能保持，则表明性状差异更可能反映稳定分化，而非单纯环境诱导。如果研究进一步关注可塑性性状是否也发生了替代，可以通过开展同质园实验比较同域与异域分布的种群中的个体在有竞争者处理的条件下性状是否存在差异；此外，互惠移植实验同样可用于检验这种与环境相关的表型分化。植物具有固着生长、易于栽培与操控处理等特点，使其尤为适合采用同质园与互惠移植实验进行分离环境效应与遗传效应。Armbruster^[47]将来自自然种群中不同种源的黄蓉花 (*Dalechampia scandens*) 的种子种植在同一温室环境中，发现温室条件下的关键生殖性状差异与自然种群中的差异一致，从而进一步支持了特征替代发生在植物中的证据。总体而言，将可塑性引入判别框架并通过实验检验其遗传基础，是提高植物特征替代研究证据强度的重要途径。

在证明特征替代时，需要排除一种常见的替代解释，即观察到的同域分化增强可能只是由抽样造成的随机性，而非竞争驱动的进化。目前已经有同样适用于植物和动物研究的模型，可帮助区分特征替代与偶然形成的模式。例如，当一对物种存在多个同域和异域种群时，可以将同域种群中两个物种的表型差异与一个零模型进行比较，该零模型通过随机抽取两个物种的异域分布的种群生成无特征替代过程假设下的表型差异分布^[48]。当存在多个表现出性状均值过度离散的群落时，也可以将这些同域物种在群落中性状离散程度的平均值与另一个零模型比较，该模型将物种种群随机分配到不同群落，得到随机情况下的离散程度分布^[49,50]。这些模型已经在多个植物系统中得到应用，如黄蓉花属 (*Dalechampia* L.)、合欢属 (*Acacia* Mill.) 和蚰齿花属 (*Burmeistera* Karst.) 等，排除了“性状分化模式仅由随机过程导致”的替代假说^[13,50]。

种间竞争可能只允许表型差异较大的物种共存，但同域分布的物种之间的这种差异未必一定是在原位替代过程中形成。相反，这类模式也可能源于生态过滤，同域分

布的物种之间的性状差异本身可能早已在异域分布阶段形成,随后由于物种间的二次接触在同域分布的环境中共存^[51,52]。如果生态过滤是物种共存的主要机制,那么同域分布的种群和异域分布的种群之间应该存在相似的性状分化^[48]。为排除这一可能,研究者通常关注同域分布的种群是否表现出超出异域种群表型范围的性状分化;如果同域种群的表型范围扩展到所有异域种群之外,那么就可以排除这一替代假说^[48,49]。植物中关于特征替代的许多案例都表现出这一模式,例如,小天蓝绣球(*Phlox drummondii*)仅在与天蓝绣球(*Phlox cuspidata*)接触时表现出红色花冠^[53],而银棘仙人掌(*Opuntia echinocarpa*)也仅在与其他仙人掌物种共存时才会变得更矮更窄^[54]。

性状变化需与资源利用相关。特征替代理论认为物种间表型分化是在竞争介导的资源利用变化下所产生的,因此,被替代的性状与资源获取方式或繁殖相互作用之间存在功能联系^[45]。此外,由于物种会同时响应环境中的多种生物和非生物因子,若同域分布的和异域分布的种群在资源可利用性上存在未被识别的差异,例如水分、光照、土壤条件或传粉者多样性与丰度等,那么种群间出现的表型分化甚至生殖差异,也可能只是对局地环境的适应结果,而非由竞争者存在所驱动的性状替代^[55]。

生态特征替代过程需建立在种间资源竞争驱动表型分化这一前提下。然而,还有若干其他种间相互作用同样可能导致表型差异的进化。因此,必须通过证明资源竞争的存在及其随表型差异增大而减弱,来排除其他可能导致性状分化的机制^[56,57]。常见的检验方式是通过同质园实验比较相似表型与较分化表型之间的竞争强度,以模拟物种对有限资源展的竞争^[25]。

尽管很少有研究能够满足全部这些标准,但动物中越来越多的研究已经满足其中四项及以上的标准,在三刺鱼的特征替代研究中已满足全部六项标准^[46]。动物中尤其是移动性强、生活史短、实验可操作性较高的类群更容易系统检验竞争、性状分化及其适应性,因此经典的特征替代案例更集中。然而,对于植物而言,由于固着性、分布广泛、生活史长以及杂交渐渗普遍等特点,使得研究更常停留在“同域/异域性状差异”的宏观对比和统计描述上,能够同时满足特征替代标准的案例相对较少^[25]。

1.4 特征替代空间尺度

传统野外研究在比较物种分化时,通常将研究区域按大尺度分布格局划分为同域和异域分布,并在此基础上比较性状或生殖障碍的差异。这种比较在动物研究中较为常见,但其局限也很明显,如果不能对同域分布程度做出精确、严格的描述,那么环境差异、地形区系差异、历史过程以及采样尺度等未被充分控制的因素都可能会使结果的解释变得复杂,使同域分布种群表现出的更强的分化模式,难以直接解释为竞争驱动的特征替代过程。正如 Butlin 等^[58]强调,相比进行过于粗略的空间分类,在物种形成与适应研究中,理解局地适应与基因流之间的当前平衡往往更具有解释力。

这一问题在植物研究中尤为突出。由于植物固着生长、繁殖高度依赖传粉与扩散

过程,即使在大尺度上分布重叠,也不一定意味着个体之间存在稳定的直接接触和互作机会;甚至在所谓同域内,花粉传递也可能因空间结构、传粉者行为或微生境隔离而受到限制,从而削弱竞争与繁殖相互作用的发生。Schluter 和 McPhail^[46]提出的特征替代检验标准强调如果同域和异域种群在气候、土壤、群落背景上本就不同,那么“同域分化更强”很可能只是生态过滤或环境差异造成的结果,而非竞争驱动的原位分化。也正因此,近年来的植物特征替代研究越来越倾向于在更精细空间尺度上定义同域和异域分布范围,以尽可能让是否能发生竞争成为同域和异域的主要差别,避免环境差异成为主要区别^[45]。

在明确了特征替代的空间尺度后,还需要进一步考虑其表型分化在空间上的具体表现。特征替代中经典的空间表型特征分布格局是同域分布条件下物种间的性状差异大于异域分布条件下的差异,即特征替代的经典模式^[59]。这一模式通常对应于环境中最适表型在空间上相对稳定的情形,此时物种在同域中因竞争而发生对称性的性状分化。然而,若最适表型沿空间环境梯度连续变化,即使特征替代真实存在,物种间的性状差异也可能在异域中大于同域,从而使经典模式被掩盖^[60]。这说明特征替代并不一定总是表现为简单的同域性状差异增大,其空间表型往往受到环境梯度的影响。但特征替代在空间上的表型响应也未必总是呈现对称现象。理论上,只要两个物种在共存过程中发生资源竞争或生殖干扰,在与资源利用相关的性状或生殖性状上与平均表型最不相似的个体,通常将因竞争减弱或杂交风险降低而获得更高适合度^[61]。在这一过程中,如果两个物种在遗传变异水平、物种丰富度或对环境梯度的响应方式上存在差异,那么它们对自然选择的响应可能是不一致的,即一个物种表现出沿环境梯度更明显的性状分化,而另一个物种的变化较弱,甚至基本保持稳定,从而形成非对称的特征替代。因此,在环境梯度背景下,特征替代不仅可能偏离同域分化增强的经典模式,还可能进一步表现为不同物种沿环境梯度发生幅度不同、方向不同的表型分化模式^[59]。

1.5 栎属的生态适应研究

1.5.1 栎属的杂交渐渗

壳斗科 (Fagaceae) 栎属 (*Quercus* L.) 是北半球森林生态系统树木组成中最大的属,也是全球分布最为广泛的森林组成成分之一^[62-64]。最新的研究表明栎属分为两个亚属和八个组^[64]。其中,栎亚属 (Subgenus *Quercus*) 包括广泛分布于北美洲和欧亚大陆的白栎组 (Section *Quercus*), 分布于北美洲和欧洲的本都栎组 (Section *Ponticae*), 仅分布于北美洲的中间栎组 (Section *Protobalanus*)、红栎组 (Section *lobatae*) 和活栎组 (Section *Virentes*)^[64]。土耳其栎亚属 (Subgenus *Cerris*) 包括仅分布于东亚的青冈组 (Section *Cyclobalanopsis*), 分布于欧亚大陆的冬青栎组 (Section *Ilex*) 和土耳其栎组 (Section *Cerris*)^[64]。目前,栎属约有 600 个物种,是北半球物种最多的森林类

群之一^[64]。

栎属植物的最显著的特征之一是物种间的生殖隔离不完全, 种间杂交与渐渗频繁, 同时叶形变异也极为丰富, 其物种形成及维持方式吸引了包括达尔文^[65]在内的许多科学家的关注。栎属也因此被视为研究杂交与渐渗现象的经典类群之一^[65, 66]。从宏观的中间形态个体的发现^[67], 到微观进化层面的全基因组研究^[68-70], 大量证据都表明杂交和渐渗在栎属的近缘物种之间是持续且广泛存在的现象。

早在《物种起源》中, 达尔文^[65]就曾指出, 对英国栎树的持续研究并未使其分类关系更加清晰, 反而加深了混乱。此后, Burger^[71]在研究北美大果栎 (*Q. macrocarpa*) 及其近缘种时, 虽然同样面对复杂而连续的表型变异格局, 却提出了更具建设性的认识, 他认为栎属中经典物种概念界定了一个非常真实的种群系统, 这一系统一方面表现为各物种持续适应与近缘种存在差异的生态位, 另一方面这些近缘种又共享更广泛的进化历史, 并共同构成在遗传上相互隔离的生物学物种。也就是说栎属物种虽然保留了一定程度的可交配性, 从而有助于维持较大的有效种群大小, 但种间基因流相较于种内基因流仍显著较低, 因此各物种得以持续存在。

尽管栎属物种杂交现象频繁, 但通常仍具有清晰的界限, 而且这种边界并非由单一、固定的隔离机制维持, 而往往表现出明显的方向性、可塑性和生态背景依赖性, 这得益于其高结实率以及强烈的歧化选择共同作用^[72-74]。而且共存物种之间的亲缘关系往往比随机预期更为疏远^[74]。在欧洲的四种白栎组物种的夏栎 (*Q. robur*)、无梗花栎 (*Q. petraea*)、柔毛栎 (*Q. pubescens*) 和比利牛斯山栎 (*Q. pyrenaica*) 的实验授粉结果显示, 不同物种对之间的生殖隔离强度差异极大, 从几乎完全隔离到有利于形成中间种都可能出现^[75]。夏栎花粉无法有效完成对无梗花栎的受精过程, 而柔毛栎的花粉在某些情况下甚至比无梗花栎的同种花粉更容易完成受精。更重要的是, 虽然同种花粉优先能够降低杂交发生率, 但其作用强弱受物种局部丰度、林分组成、土壤条件以及开花物候等因素共同影响^[75, 76]。值得注意的是, 当某一栎属物种进入已被近缘栎属物种占据的林分进行定殖时, 在其种群密度仍较低的初期往往具备了大规模杂交的条件^[43, 77]。这种情况可能导致对种间交配事件形成强烈且不对称的选择压力, 类似于果蝇中所描述的情形^[78]。受栎属研究的启发, Van Valen^[79]提出生态学物种概念: 物种是一个或一组亲缘紧密的谱系, 与其分布范围内的任何其他谱系都在各自占据的适应带上存在微小差异, 而与分布范围外的所有谱系都是分别进化的, 强调了适应带/区域在物种形成过程中的重要作用^[80], 也使栎属物种成为研究生态适应的模式类群^[81]。但在微生境中, 即适应带相同或相似时, 栎属物种是如何共存的, 其对资源竞争的过程与机理仍然是亟待解决的问题。

1.5.2 栎属表型变异及对环境的响应

影响植物适应性的表型性状通常被称为功能性状^[82]。植物功能性状是植物在长期进化过程中与环境相互作用的结果, 能够反映其资源获取、能量分配及对环境胁迫

的响应策略^[83,84]。在诸多功能性状中,叶片是植物进行光合作用、蒸腾作用和资源交换的重要营养器官,其结构、化学组成和生理特征共同决定了植物对环境资源的获取和利用能力,成为植物生态适应研究中最常用的指标之一。^[85,86]植物在长期进化过程中形成了多样化的叶片结构,是植物适应不同的光照、水分和温度条件的重要功能性状,其分化不仅体现了植物在资源利用上的权衡,也反映了物种间生态位分化的重要过程。基于这种资源利用权衡,不同植物可沿着从快速投资到缓慢投资的连续分化,形成不同的叶经济策略^[86,87]。在这一背景下,栎属由于物种丰富、生态分布广泛且叶片形态变异显著等特点,已成为研究叶片性状变异与环境适应的重要模式类群,其功能性状不仅影响物种分布和群落构建,也反映了物种的进化历史^[88]。

栎属植物的叶片性状对环境的适应并不是单一路径,而是在不同生活型和系统发育背景下形成了多样化的叶片结构。在跨物种尺度上, Sancho-Knapik 等^[89]对 85 个北半球栎属物种的同质园实验研究表明,不同栎属物种在叶片结构和对气候的响应存在显著差异。栎属植物叶片性状不仅能反映物种间的形态差异,也能够种内尺度上响应气候变化^[90,91]。Royer 等^[92]通过对加州黑栎 (*Q. kelloggii*) 沿海拔梯度进行取样,系统检验了叶片大小和形状对气候的敏感性,表明即使在单一物种内部,叶片性状也会沿气候和资源梯度发生显著变化,因此在解释区域尺度适应时,不能忽视种内变异及其生态意义。此外,栎属叶片的大小和形状也受到局部微环境的影响。Zwieniecki 等^[78]在北美红栎 (*Q. rubra*) 中研究发现,同一树冠不同高度的叶片在萌发初期形态几乎一致,但在后续扩展过程中会因局部蒸腾需求和叶脉输水能力差异而发生分化,树冠上层的叶片可能更适应高蒸腾环境,而下层叶片则在较低蒸腾需求下形成不同的大小和裂叶程度,说明栎属叶片的形成是在发育过程中对微环境条件持续响应的结果。

尽管已有研究表明,栎属叶片在跨物种、种内以及微环境尺度上均表现出显著变异,但如何全面地量化这种复杂叶形差异,仍是开展适应性研究的重要前提。传统叶片性状测量方法利用线性距离、数量性状和角度等来描述叶片形态^[93,94],能够反映叶片部分结构特征,但对整体轮廓变异的描述仍存在一定局限性。新近发展出来的几何形态学方法不依赖于任何先验假设,综合考虑所有叶型变异,通过标志点揭示叶片的轮廓,量化叶形状和大小差异,为揭示叶形变异的生态适应研究提供了新思路^[90,95-100]。

1.5.3 栎属白栎组物种的生态适应研究

白栎组是栎亚属中最大的组,广泛分布于北美和欧亚大陆,在最新分类体系中包含约 146 个物种^[64]。尤其是在北美地区,白栎组物种已成为研究生态位分化、群落构建、生态适应与长期共存机制的经典类群。对北美白栎组物种的生态适应研究表明,栎属植物在资源获取、胁迫耐受和生长权衡相关的功能性状上表现出较强的变异与调节能力,即使在较强的系统发育保守背景下,仍可能提高其在种内和种间适应广泛环境的能力,并维持较高的丰富度和多样性^[88,101]。此外,北美栎属植物通常具有较强

的抗旱能力,这与其根系特征和水力结构有关,不同物种还沿水分梯度形成了与生长速率和抗旱能力相关的功能性状权衡策略,从而适应不同的生境条件^[88]。而且北美白栎组和红栎组在大尺度上经历了平行进化,不同类群内部分化以及类群间沿资源获取轴的生态位分化,共同促进了栎属植物的长期共存^[101, 102]。欧洲白栎组的研究更集中于物种的杂交渐渗以及进化历史研究。欧洲的白栎组物种如夏栎 (*Q. robur*)、无梗花栎 (*Q. petraea*) 等在末次冰期后沿不同避难所向北扩张,并在这一过程中保留了明显的遗传地理结构^[103, 104]。随着高通量测序技术的发展,基因组水平研究进一步指出,欧洲白栎组物种的气候适应并非完全依赖新突变积累,种间基因流和适应性渐渗也可能为其适应温度和降水梯度提供了重要遗传来源^[81]。因此,白栎组物种的生态适应并不能简单理解为地理隔离后的独立分化,而是由历史迁移、环境筛选与基因交流共同塑造的过程。

白栎组物种在东亚广泛分布,包括七个物种,分别为槲栎 (*Q. aliena*)、槲树 (*Q. dentata*)、枹栎 (*Q. serrata*)、蒙古栎 (*Q. mongolica*)、白栎 (*Q. fabri*)、大叶栎 (*Q. griffithii*) 和云南波罗栎 (*Q. yunnanensis*),并且东亚白栎组物种在栎属的系统发育树中聚为单系^[69]。近年来,有关东亚白栎组物种的界定^[97, 105, 106]、种群进化历史^[107]和种间杂交渐渗^[108]等研究也取得了一些进展。已有研究表明,尽管槲栎和槲树之间存在一定叶绿体共享现象,但核基因交流总体有限,其物种边界仍较为清晰^[105]。此外,叶片几何形态分析显示,槲栎和槲树两个近缘种之间表现出较明显的叶片形态分化,而杂交个体通常表现出中间型特征,且叶形变异与环境因子密切相关,揭示其叶型分化不仅受遗传影响,也可能是对不同生境条件的适应性响应^[97]。进一步的种群遗传学研究表明,部分白栎组物种在中国不同地区及日本之间已形成较清晰的谱系分化格局,反映了第四纪气候波动和地理隔离对栎属植物进化历史的重要作用^[42, 99]。然而,关于东亚白栎组物种在自然群落中的共存机制,目前仍缺乏深入研究。特别是在秦巴山区等白栎组物种多样性较高、分布重叠的区域,不同物种往往长期共存于相似生境中。在有限资源条件下,不同物种如何进行资源分配和利用进而维持稳定共存,其具体过程与机理仍有待进一步阐明。

1.6 研究目的与内容

1.6.1 研究目的

栎属白栎组植物广泛分布于北半球温带和亚热带森林生态系统中,是研究物种分化、杂交渐渗以及环境适应的重要材料。白栎组物种间普遍存在形态相似、分布重叠和潜在基因交流等,为探讨自然种群中近缘种的遗传分化和表型分化提供了理想体系。本论文以栎属白栎组物种中的槲栎和槲树、枹栎及短柄枹栎为代表,综合叶片性状、微卫星分子标记和全基因组重测序数据,对同域和异域分布条件下的遗传分化、基因流、叶片性状分化及基因组适应性分化开展研究,旨在揭示栎属物种在不同分布条件

下的分化格局及其潜在遗传背景。首先以槲栎和柞树为研究对象，利用微卫星分子标记结合叶片性状数据，比较两个物种在同域和异域种群中的遗传分化、潜在基因流和叶片性状分化格局，评估其叶片性状分化是否存在种间生态特征替代；其次以枹栎和变种短柄枹栎为研究对象，比较两者在同域和异域种群中的遗传分化和叶片性状分化，并进一步探究叶片性状分化沿环境梯度的响应模式；最后基于全基因组重测序数据，从基因组水平上识别受选择的基因组区域和候选基因，探究近缘种适应性分化过程中遗传趋同和遗传冗余的相对作用。

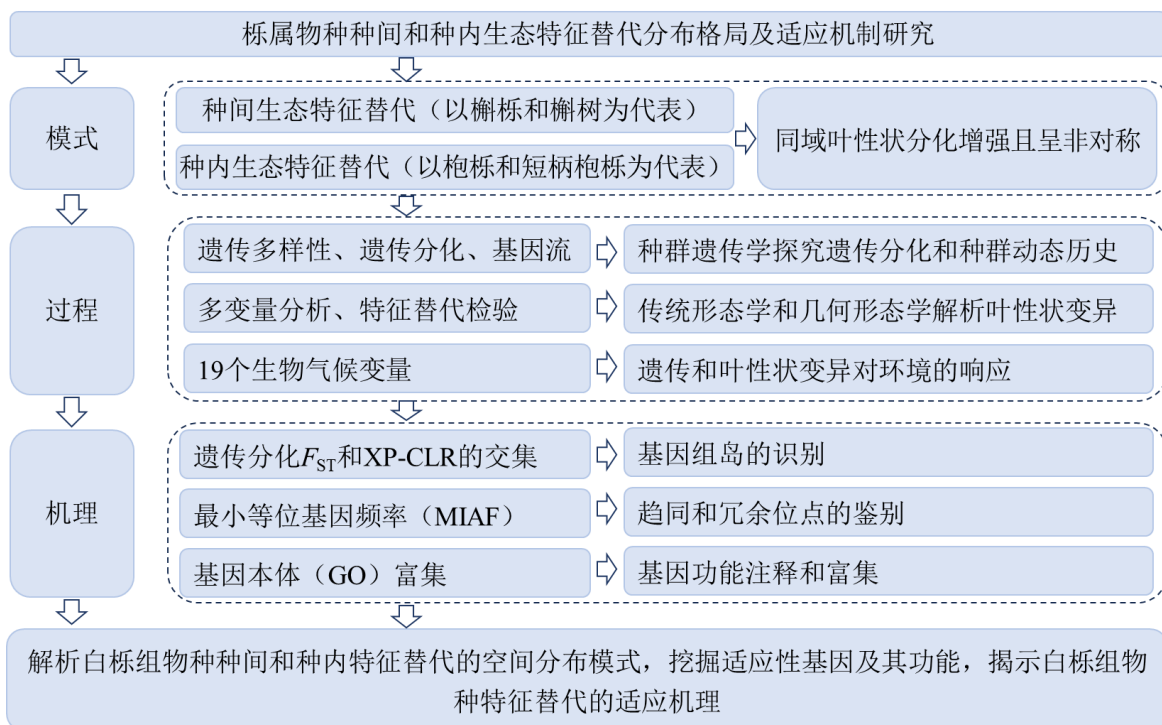
1.6.2 研究内容

(1) 种间生态特征替代：以槲栎和柞树的自然种群为研究对象，在局域尺度上根据物种是否直接接触界定同域和异域种群。基于微卫星分子标记数据分析两物种的遗传结构和基因流，并探究两物种在同域和异域种群中的叶形变异，检验同域种群中的叶片性状分化是否高于异域种群，并评估是否存在种间生态特征替代，进一步结合环境数据探究叶片性状变异的环境响应模式。

(2) 种内生态特征替代：以中国和日本分布的枹栎及中国特有变种短柄枹栎为研究对象，基于微卫星分子标记数据探究中国和日本枹栎种群之间的遗传分化格局及历史基因流。进一步聚焦于中国同域和异域分布的枹栎和短柄枹栎种群，探究遗传和叶形态分化的差异，评估是否存在种内生态特征替代，并结合环境因子解析叶片性状变异沿环境梯度的响应模式及其在同域和异域种群中的差异。

(3) 生态特征替代的分子机理：基于槲栎和柞树的全基因组重测序数据，从基因组水平上识别受选择的基因组区域和候选基因，解析适应性分化是由遗传趋同还是遗传冗余所驱动。并对候选基因进行功能注释，识别可能参与资源利用、胁迫响应与生长发育调控的关键生物学过程。

1.7 技术路线



2 栎属种间生态特征替代研究

2.1 引言

生态特征替代强调当近缘物种在空间上发生接触并共存时，资源竞争所导致的选择压力可能推动与资源利用相关的性状在同域条件下发生更强的分化，从而促进物种稳定共存^[1]。尽管该理论框架在生态与进化研究中具有重要地位，并在动物研究中积累了大量经典案例，但在植物中，尤其是对于生长周期长、世代更替慢且性状变异常受环境变化的影响的树木而言，生态特征替代的证据的获取相对较难^[25]。生态特征替代的研究首先需要确定物种的同域和异域分布尺度。经典生物地理学方法认为物种在大尺度共存即为同域，但此经典方法可能并不适用于研究固着生长的植物的物种形成或者适应能力^[58]，因为即使大范围共存，物种间也存在着无法受精产生后代的可能。因此，本研究提出在研究植物物种适应性分化时应以物种间是否有直接接触为标准，使用局域方法代替经典大尺度方法。在植物中，尤其是对于存在频繁杂交和渐渗现象的栎属物种而言^[65]，同域共存时既可能由于竞争增强选择作用，也可能通过基因流和中间型个体在表型层面上弱化差异，从而掩盖分化信号，同时也应该排除环境差异和随机过程的干扰。

槲栎和槲树作为白栎组的两个近缘种，主要分布在中国、日本和朝鲜等地区。尽管遗传组成相近^[63,105]，但两个近缘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，叶片上半部渐窄，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；且槲树的裂叶程度较槲栎大^[109]。应用几何形态测量法可通过叶型差异将槲树和槲栎的分辨率能达到 90%以上，高于微卫星分子标记^[97]。槲栎和槲树是组成中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，延伸至东部海岸线，气候梯度横跨温带、暖温带、北亚热带，多生长于海拔 100-2,000 m 的向阳坡地，通常与其他树种混生，形成混交林，部分区域也可出现小片纯林^[109]。值得注意的是，两个近缘种在秦巴地区存在分布范围重叠的现象，为在自然种群中开展种间生态特征替代检验提供了理想研究物种。

本研究基于槲栎和槲树自然种群的同域和异域分布格局，利用微卫星分子标记和叶片性状数据，解析两物种在同域和异域种群中的遗传分化、基因流和叶片性状分化格局。探究在同域和异域种群中两物种的遗传和叶片性状分化是否一致，这种分化在物种间是否表现出非对称模式，并进一步结合环境因子探究两个物种叶片性状分化的环境响应模式在同域和异域种群中是否存在差异。

2.2 材料与方法

2.2.1 同域/异域种群界定及样品采集

与经典方法（图 2.1a）相比，本论文提出了一种更适用于特征替代研究的局域尺度方法。在大范围同域分布区域内，进一步区分“微同域”和“微异域”（图 2.1b），即以两个物种是否存在直接接触为标准，建立更能反映局地相互作用情况的模式。具体而言，到达每个采样点后，首先进行约 1 h 的野外踏查，步行调查范围约为 3-5 km，并依据野外可识别的形态特征对物种进行初步判定。若在同一局域调查范围内同时发现榲栌和榲树个体，则划为同域种群；若在相同调查范围内仅发现其中一个物种，而未观察到另一个物种共同出现，则划为异域种群。

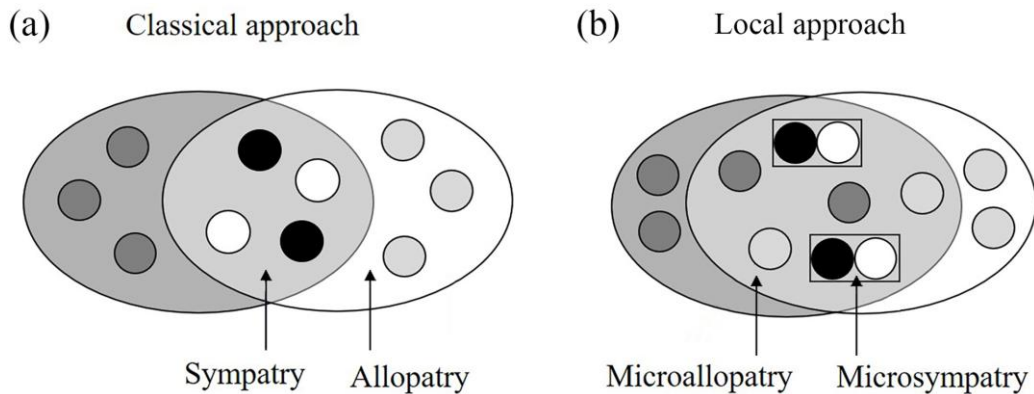


图 2.1 检验特征替代假说的经典方法和局域（微地理）方法示意图。（a）经典方法：在较大区域尺度上通过比较同域种群和异域种群进行性状分化检验。（b）局域方法：在局域尺度上即在两个物种可能发生直接相互作用的情况下进行性状分化检验

Fig. 1 Schematic model showing the classical and local (microgeographical) approaches to test character displacement hypotheses. (a) Classical approach: divergence of traits is tested by contrasting sympatric vs allopatric populations at a broad regional scale. (b) Local approach: divergence of traits is tested by contrasting allopatric vs sympatric populations defined at a local scale, i.e. in situations where the two species can potentially directly interact

主要通过查阅中国数字标本馆（CVH, <https://www.cvh.ac.cn/>）、地方植物志及各类已发表的文献，统计整理榲栌和榲树在中国的野外分布情况。根据《中国植物志》（黄成就等，1999）中对榲栌变种的分类处理，本章所涉及的榲栌均指榲栌原变种（*Q. aliena* var. *aliena*），不包括锐齿榲栌（*Q. aliena* var. *acutiserrata*）和北京榲栌（*Q. aliena* var. *pekingensis*）。为避免不同变种之间潜在的形态和遗传差异对种间生态特征替代分析产生影响，本章仅选取榲栌原变种与榲树作为种间比较对象。实地考察共收集了 47 个自然种群，包括 8 个同域种群和 39 个异域种群，共 778 株成年个体的叶片（图 2.2；表 2.1）。同域种群中两个物种的采样比例总体接近均衡，平均榲栌为 47%，榲树为 53%，具体信息见附表 1。采样时随机选择胸径大于 10 cm 的个体，并尽量保证不同

个体之间的距离不少于 10 m，以尽可能避免克隆繁殖植株的影响；在同域分布范围中，两个物种常混生，个体间距有时较近。每个个体用于叶片性状分析的样品为树冠中层沿东、南、西、北四个方位共采集的 4-5 片成熟叶；用于 DNA 提取的样品为 1-2 片嫩叶或新生枝条。所有叶片采集后立即放于硅胶中干燥保存。使用 Garmin 621sc GPS（北京，中国）记录每个采样点的经纬度与海拔信息。

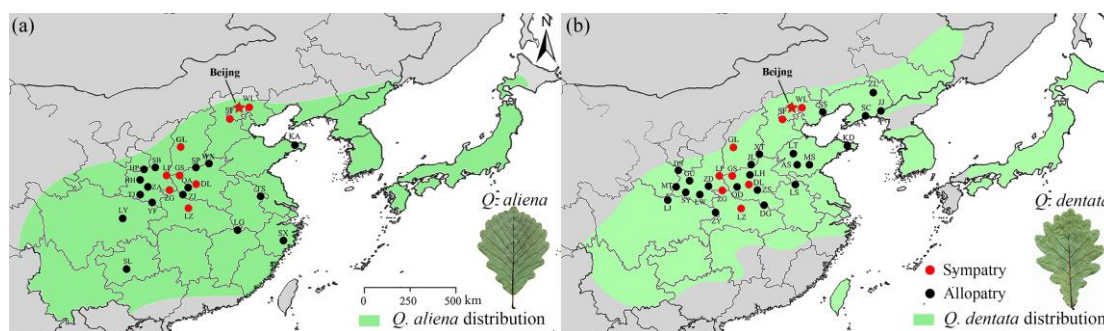


图 2.2 槲栎 (a) 和槲树 (b) 在中国的地理分布及采样地点。绿色区域表示物种分布范围。采样地点的详细信息见附表 1

Figure 2.2 Geographical distribution and sampling location of *Q. aliena* (a) and *Q. dentata* (b) in China. Green colors indicate the species range. For the details of sampling locations see Appendix Table 1

表 2.1 槲栎和槲树采样点信息表

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

物种 Species	群落类型 Community	代码 Code	位置 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	个体数 Individuals
<i>Q. aliena</i>	同域	DL	河南省鲁山县大乐坛	112.69	33.87	8
	同域	GL	山西省吕梁市古树林	111.32	37.09	14
	同域	GS	河南省三门峡市甘山	111.25	34.48	14
	同域	LP	陕西省商洛市罗坡村	110.18	34.03	17
	同域	LZ	湖北省襄阳市隆中	112.03	31.99	6
	同域	SF	北京市房山区上方山	115.83	39.68	18
	同域	WL	河北省兴隆县雾灵山	117.49	40.66	18
	同域	ZG	陕西省商洛市资峪沟村	110.37	33.67	14
	异域	HH	陕西省宝鸡市眉县红河	107.75	34.06	9
	异域	HP	陕西省眉县蒿坪寺	107.71	34.09	23
	异域	KA	山东省烟台市昆嵛山	121.64	37.28	12
	异域	LG	江西省九江市龙宫洞	116.47	29.7	6
	异域	LY	四川省南充市凌云山	106.2	30.75	4
	异域	QA	河南省南阳市桥端镇	112.08	33.55	17
	异域	SB	陕西省西安市石砭峪	108.96	35.02	9
	异域	SL	贵州省贵阳市十里河滩	106.68	26.45	5
	异域	SP	河南省沁阳市石板坡	112.83	35.22	18

2 栎属种间生态特征替代研究

物种 Species	群落类型 Community	代码 Code	位置 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	个体数 Individuals
榲桲 <i>Q. dentata</i>	异域	SX	浙江省台州市神仙居	120.61	28.7	10
	异域	TJ	陕西省西安市铁甲树	107.76	33.87	9
	异域	TS	江苏省淮安市铁山寺	118.48	32.73	12
	异域	WX	河南省新乡市辉县万仙	113.6	35.73	9
	异域	YF	陕西省平利县药妇山	108.87	32.13	5
	异域	ZA	陕西省西安市秦岭子午	108.55	33.56	12
	异域	ZJ	河南省南阳市紫荃岭	111.84	33.06	10
	同域	DL	河南省鲁山县大乐坛	112.69	33.87	19
	同域	GL	山西省吕梁市古树林	111.32	37.09	8
	同域	GS	河南省三门峡市甘山	111.25	34.48	11
	同域	LP	陕西省商洛市罗坡村	110.18	34.03	18
	同域	LZ	湖北省襄阳市隆中	112.03	31.99	13
	同域	SF	北京市房山区上方山	115.83	39.68	19
	同域	WL	河北省兴隆县雾灵山	117.49	40.66	19
	同域	ZG	陕西省商洛市资峪沟村	110.37	33.67	16
	异域	AS	山东省济宁市安山寺林	117.38	35.56	21
	异域	DG	湖北省广水市大贵寺	114.08	31.82	7
	异域	DS	陕西省宝鸡市大散关	107.01	34.27	23
	异域	GU	陕西省太白县关山	107.24	34.04	20
	异域	JJ	辽宁省丹东市锦江山	124.36	40.13	11
	异域	JL	河南省焦作市金岭坡村	113.33	35.71	24
	异域	KD	山东省烟台市昆崮山	121.64	37.28	20
	异域	LH	河南省登封林场莲花寺	112.95	34.46	15
	异域	LJ	四川省达州市罗家山	105.58	32.45	14
	异域	LS	安徽省淮北市龙脊山	116.97	33.9	12
	异域	LT	山东省济南市莲台山	116.93	36.44	14
	异域	LW	陕西省安康市梁子湾	108.27	33.33	5
	异域	MS	山东省临沂市蒙山	117.97	35.55	20
	异域	MT	陕西省留坝县庙台子	106.85	33.69	22
	异域	QD	河南省南阳市桥端镇	112.08	33.55	20
	异域	SC	辽宁省大连市石城岛	122.98	39.52	16
	异域	SS	河北省秦皇岛市上平山	119.52	40.07	21
异域	SY	陕西省留坝县桑园坝乡	107.14	33.7	21	
异域	XT	河南省安阳市林州仙台	113.75	36.17	16	
异域	ZD	陕西省西安市秦岭子午	108.55	33.56	16	
异域	ZL	辽宁省铁岭市钟楼沟	124.03	42.06	10	
异域	ZS	河南省平顶山市支鼓山	113.51	33.32	20	
异域	ZY	重庆市巫溪县张家垭子	109.77	31.4	8	

2.2.2 样品基因组 DNA 的提取及检测

每份样品取 15-20 mg, 使用天根生化科技(北京)有限公司提供的植物基因组 DNA 提取试剂盒进行样品 DNA 的提取。严格按照说明书操作从叶片或枝条的形成层中提取 DNA。提取后的 DNA 样品主要通过琼脂糖凝胶电泳对其完整性和纯度进行检测, 使用超微量紫外分光光度计(Nanodrop 8000)基于检测吸光度 OD 值(260/280 比值)检测 DNA 的纯度和浓度。

2.2.3 基因分型

用于基因分型的引物来自已经在其他栎属物种研究中应用的核微卫星引物, 共筛选出 25 对引物进行试扩增^[105, 110, 111]。使用 MICRO-CHECKER v2.2^[112]对无效等位基因进行检测, 剔除存在无效等位基因的位点。最终选取 12 对多态性较高的引物对全部 778 个个体进行基因分型, 具体引物信息见附表 2。PCR 反应体系与扩增条件参考 Lyu 等^[105]。扩增产物使用 ABI Prism 3730 基因分析仪(Applied Biosystems, Foster City CA, USA)进行毛细管电泳检测。采用 GeneMarker v2.2(Softgenetics LLC, State College, PA, USA)读取等位基因数据, 并转换为归一化格式。

2.2.4 叶形数据获取

将采集的叶片压平并干燥后使用 CanoScan 5600 F 扫描仪对其叶背(脉络清晰)进行扫描获取图像。本研究共获得 3,391 张叶片扫描图片。对于每片叶片, 本研究选取 13 个标志点(Landmark, LM), 重点关注叶片主脉、对称结构及同源部分。其中 3 个标志点沿叶片中轴分布(LM1-LM3), 其余 9 个标志点对称分布在叶片的其他部分(LM4-LM13)^[94, 96, 97, 113](表 2.2)。使用 Image J v1.5 软件^[114]对叶片扫描图片按照图 2.3 所示的标志点进行标定, 从而构建槲栎和槲树叶形的几何轮廓。随后, 将每片叶片的标志点原始数据整理为 13 对二维笛卡尔坐标(x, y), 并将坐标数据导入 Morpho J 软件作为后续叶形分析的输入数据。并利用 Image J v1.5 软件测量每片叶片的叶面积, 随后称量对应叶片的干重, 并计算比叶面积(Leaf area per unit of dry leaf weight; $\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$, SLA), 比叶面积=叶面积/叶干重($\text{cm}^2 \text{g}^{-1}$)。

表 2.2 13 个标志点的描述

Table 2.2 The description of 13 landmarks

标志点 Landmark	描述 Description
Landmark 1	Junction of the petiole and branch
Landmark 2	Junction of the blade and petiole
Landmark 3	Apex of the leaf
Landmark 4	The first sinus of the right-hand leaf apex
Landmark 5	The first lobe immediately above the apex of the right-hand leaf apex
Landmark 6	Tip of the lobe at the largest width of the right-hand leaf
Landmark 7	The sinus immediately above the lobes of landmark 6

标志点 Landmark	描述 Description
Landmark 8	The first basal lobe of the right-hand leaf starting from the petiole
Landmark 9	The first sinus of the left-hand leaf apex
Landmark 10	The first lobe immediately above the apex of the left-hand leaf apex
Landmark 11	Tip of the lobe at the largest width of the left-hand leaf
Landmark 12	The sinus immediately above the lobes of landmark 11
Landmark 13	The first basal lobe of the left-hand leaf starting from the petiole

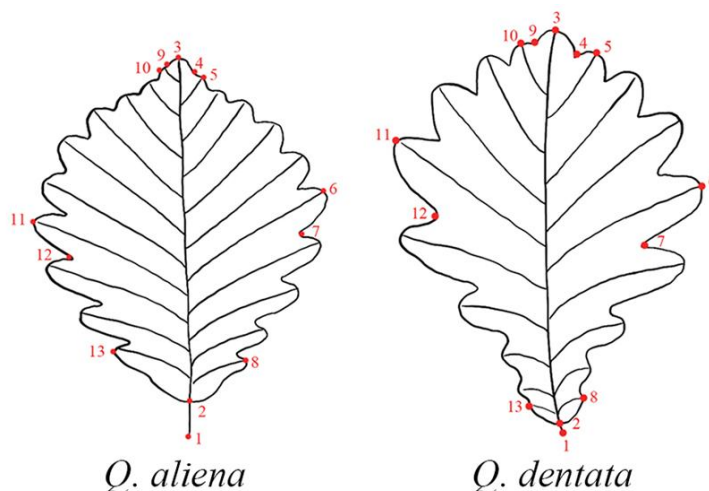


图 2.3 槲栎和槲树的标志点位置

Figure 2.3 Landmark configuration of *Q. aliena* and *Q. dentata*

2.2.5 树木物候观测

鉴于同域种间性状分化增强除可能由资源竞争驱动的生态特征替代引起外,也可能受到生殖隔离相关过程(生殖特征替代)的影响,本研究进一步通过物候观测判断合子前生殖隔离及其可能引起的强化作用是否能够解释种间分化现象,从而区分生态特征替代与生殖特征替代对种间分化的潜在作用。因此本研究在中国北京市西南部上方山(115°48'E, 39°39'N)的同域分布样地开展连续物候观测。该样地中,槲树主要分布在山顶的开阔生境;槲栎则多见于山脚及山坡地带,且个体密度较高,树形整体更为挺直。参照 Crawley 和 Akhteruzzaman^[115]物候记录方法,本研究对 15 株槲栎和 10 株槲树进行物候监测,记录其萌芽期、展叶期、开花期以及果实发育期。尤其在开花期,每天对每棵树的花序进行观察,并记录花粉释放持续时间。两个物种的开花物候过程使用 SigmaPlot v12.5 软件^[116]进行绘图展示。若同域种群内两物种间花期高度重叠,则说明物种间的合子前生殖隔离较弱,强化作用可能不是驱动分化的主要因素;反之,若花期重叠较低,则表明生殖隔离可能参与了同域分化过程。

2.2.6 数据分析

(1) 遗传多样性、遗传结构以及基因流分析

基于 12 对核微卫星位点的基因分型数据,使用 GenALEX v6.5 软件^[116]计算各种

群的不同等位基因数 (N_A)、有效等位基因数 (N_E) 期望杂合度 (H_E)、观察杂合度 (H_O) 以及近交系数 (F_{IS})。运用 SPSS v22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 进行两个独立样本 Mann-Whitney U 检验来比较同域种群和异域种群之间遗传多样性水平的差异。

使用 Arlequin v3.5 软件进行分层分子方差分析 (AMOVA) 来检测同域和异域种群间和种群内的遗传分化水平。并采用 10,000 次置换检验评估遗传分化的显著性。

为识别个体的遗传聚类结构, 本研究使用 STRUCTURE v2.3.4 软件^[117]开展基于贝叶斯模型的聚类分析, 不引入采样地点或个体分类等先验信息。设定聚类数 K 从 1 到 10, 每个 K 值独立重复运行 20 次; 每次运行采用 100,000 次马尔可夫链蒙特卡洛迭代 (MCMC), 并设置 100,000 次 burn-in^[105]。通过 STRUCTURE HARVESTER^[118] 在线工具计算 $Pr(X|K)$ 与 ΔK 指标确定最优聚类数^[119]。根据 STRUCTURE 输出的混合系数 Q 值进行纯合个体和杂合个体的判定, 以 0.9 作为阈值 (即 $Q \geq 0.9$ 或 $Q \leq 0.1$ 为纯合个体; $0.1 < Q < 0.9$ 为杂合个体), 该阈值在栎属研究中被广泛采用^[77, 120]。使用 Distruct v.1.1 软件进行聚类结果的可视化, 并基于最佳 K 值将每个个体的遗传成分比例映射到地理分布图上。此外, 本研究使用 GENALEX v6.5 软件, 基于遗传距离矩阵对全部样本进行主坐标分析 (Principal coordinate analysis, PCoA), 并分别对同域和异域个体进行展示, 以直观反映个体间遗传相似性。为进一步量化两个物种在同域和异域条件下的种间分化程度, 本研究还采用一种不依赖阈值的新方法, 基于主坐标分析结果, 在 R v4.0.2 中使用 MIXSMSN 包^[121]提取两个物种间分化信息, 从而比较两物种在同域和异域条件下的遗传重叠程度。

本研究使用 Migrate-n v4.4.3 软件基于连续布朗运动模型来评估同域和异域条件下榲栌和榲树的历史基因流大小和方向^[122, 123]。分析前, 将所有个体按物种×分布情况划分为四个组: 同域榲栌、同域榲树、异域榲栌和异域榲树, 物种分类依据野外形态鉴定结果。采用贝叶斯方法进行参数计算, 每次运行设置 3 条长链, 每个链设置 10,000 迭代, Burn-in 设置为 10,000, 突变模型采用恒定突变率模型。通过检查结果的收敛性后, 提取参数值 θ (有效种群大小乘以每代的突变率) 和 M (迁移率除以突变率) 及其 95% 最高后验密度区间。同时构建了三种不同基因流方向的模型 (双向基因流、从榲栌到榲树的基因流和从榲树到榲栌的基因流模型), 并通过比较边际似然值选择最优模型。

(2) 叶形变异分析

叶片几何形态数据的预处理与标准化在 Morpho J 软件中完成。首先, 对所有叶片的标志点坐标进行广义普氏分析^[124], 通过平移、旋转和缩放最大限度地减少标志点之间的差异, 最大化叶片坐标数据的重合度^[125]。随后, 参考 Klingenberg^[125] 的建议, 计算同一个体的 4-5 片叶片对应标志点的均值, 以代表该个体的平均叶形。最终导出每个个体平均标志点的普氏坐标矩阵作为后续叶形分析的输入^[94]。已有研究表明,

与直接使用单叶片数据相比,使用个体均值数据并不会在后续分析中造成显著信息缺失^[95]。在分类与杂交鉴定方面,判别分析是检验组间分类差异的高效方法^[125]。因此,基于所有个体的普氏坐标,使用 R v4.0.2 中的 MASS 包^[126]进行线性判别分析(Linear discriminant analysis, LDA)。根据得到的线性判别得分(LD scores),估计各种群中纯合个体与杂合个体的比例,并将判别结果在地理分布图上进行可视化展示^[127]。为进一步直观展示两个物种在叶形上的差异,本研究还对所有个体的普氏坐标进行主成分分析(Principal component analysis, PCA),并利用 R v4.0.2 中的 vegan 包^[128]绘制各主成分得分的分布频率。同时,参照遗传分析的思路,基于叶形 PC1 的结果,使用 R v4.0.2 中的 MIXSMSN 包^[121]采用不依赖阈值的方式,比较同域和异域条件下两个物种叶形分化与重叠程度。

此外,使用 R v4.0.2 中 ggplot2 包^[129]对同域和异域条件下两个物种的叶形变异、叶面积以及比叶面积进行可视化比较与统计展示。为研究两个物种的叶面积与叶干重是否遵循可量化的尺度关系,验证 Niklas^[130]提出的假说:叶面积的变化是否独立于叶干重的变化。本研究计算了同域和异域条件下两个物种的叶面积与叶干重的标准化主轴斜率及截距。初步回归分析表明所有双变量关系均呈对数线性,因此统计分析均采用经 log10 转换的数据,使用 R v4.0.2 计算这些参数及其 95% 置信区间。

(3) 叶形变异对气候的响应以及生态特征替代检测

为评估叶片性状对气候因子的响应,本研究首先从 WorldClim v2 (<https://worldclim.org/data/worldclim21.html>) 的栅格数据中提取了 19 个生物气候变量,空间分辨率为 30 秒^[131]。使用 R v4.0.2 中 vegan 包进行主成分分析^[128],采用 z-score 转换对这些气候变量进行标准化处理。接着基于几何形态测量数据比较两个物种在同域和异域条件下的叶形对气候因子的响应,分析分别在两类数据集上进行:一是包含全部采样个体的数据集,二是仅包含遗传/形态判定为纯合个体的数据集。为避免同域和异域种群所处气候背景不同导致的偏差,本研究在两种气候范围下分别开展比较:一是全气候范围,即所有研究种群所覆盖的整体气候范围;二是共同气候范围,即仅保留同域和异域种群都能覆盖到的气候区间,排除在同域种群中未出现的气候范围下的异域种群。通过将比较限制在相同的气候范围内,可提高同域和异域种群结果的可比性。

按照 Adams^[132]的方法,分别估计两个物种在同域种群与异域种群中的平均叶形分别为 D_{sym} 和 D_{allo} ,并进一步计算二者差值 $D_{\text{sym-allo}}$ 。若同域种群的种间分化大于异域种群,则 $D_{\text{sym-allo}}$ 为正值,表明同域种群中存在更强的种间表型分化趋势。此外,为检验物种类型(榲栌/榲树)、群落类型(同域/异域)及二者交互作用对各性状的影响,在 R v4.0.2 中使用 lme4 包进行线性混合效应模型分析^[133],并通过 car 包中的 ANOVA 检验评估模型的显著性^[27]。其中,若物种类型与群落类型交互项显著,通常意味着性状分化具有物种特异性^[132]。本研究进一步聚焦于形态纯合和遗传纯合个体,

利用线性混合模型检验以下假设：(1) 性状对环境梯度的响应在同域和异域种群中是否存在差异；(2) 两个物种在同域和异域种群中的性状分化程度是否取决于环境因子，上述模型同样通过 ANOVA 评估效应显著性。

2.3 结果

2.3.1 遗传多样性、遗传分化以及基因流

基于 12 对核微卫星位点的基因分型结果显示，所有位点均呈多态性，同域种群的观测杂合度 (H_O) 与期望杂合度 (H_E) 分别为 0.58 和 0.63，而异域种群的观测杂合度与期望杂合度分别为 0.63 和 0.64，总体上，同域种群的遗传多样性低于异域种群 (表 2.3)。此外，同域种群的杂合子缺失明显高于异域种群，表明同域种群中可能存在更强的近交现象 (表 2.3)。

表 2.3 基于 12 对核微卫星位点估计同域和异域种群的遗传多样性

Table 2.3 Estimation of genetic diversity in sympatric and allopatric populations based on 12 nSSR loci

分组 Group	不同等位 基因数量 N_A	有效等位 基因数量 N_E	香农指数 I	观测杂合度 H_O	期望杂合度 H_E	近交系数 F_{IS}
Sympatry	6.07	3.94	1.35	0.58	0.63	0.08
Allopatry	5.97	3.93	1.35	0.63	0.64	0.00
All	6.00	3.93	1.35	0.62	0.64	0.02

分层分子方差分析结果进一步表明，同域和异域种群中的遗传变异主要来源于种群内部，同域种群中 86% 的遗传变异分布于种群内，异域种群中该比例为 88% (表 2.4)。在遗传分化方面，两个物种的种间遗传分化系数 (F_{ST}) 在同域种群中显著高于异域种群 ($P < 0.001$) (表 S6)。

表 2.4 基于 12 对核微卫星位点进行的同域和异域种群的分层分子方差分析

Table 2.4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for sympatric and allopatric populations based on 12 nSSRs

变异来源 Source of variation	自由 度 df	平方 和 SS	方差 分量 VC	变异 分数 V%	种群间遗传 分化系数 F_{ST}	显著性 P
Sympatry						
Between species	1	79.9	0.3	6.2	0.14	
Among populations within groups	14	203.	0.4	8.2		
Within populations	448	1739	3.9	85.7		$P < 0.001$
Allopatry						
Between species	1	97.9	0.2	3.8	0.13	

变异来源 Source of variation	自由 度 df	平方 和 SS	方差 分量 VC	变异 分数 V%	种群间遗传 分化系数 F_{ST}	显著性 P
Among populations within groups	37	580.	0.4	9.2		
Within populations	1053	4178	4.0	87.0		$P < 0.001$
All						
Between species	1	167.	0.2	4.6	0.14	
Among populations within groups	53	817.	0.4	8.9		
Within populations	1501	5918	3.9	86.4		$P < 0.001$

基于 Migrate-n 的贝叶斯模型结果显示，榲栌和榲树之间存在不对称的历史基因流，且主要方向为榲树向榲栌（63.7 vs. 48.7；表 2.4）。此外，两个物种的种间历史基因流在同域种群中显著低于异域种群（表 2.5）。

表 2.5 榲栌和榲树在同域和异域分布下的历史基因流

Table 2.5 Historical gene flow between *Q. aliena* and *Q. dentata* in sympatry versus in allopatry

	θ	每世代有效迁移个体数 $N_e m$	
		榲栌 <i>Q. aliena</i> →	榲树 <i>Q. dentata</i> →
Sympatry			
<i>Q. aliena</i>	2.6 [0.7, 4.7]		49.9 [40.0, 51.2]
<i>Q. dentata</i>	2.9 [1.1, 3.6]	34.3 [15.9, 43.7]	
Allopatry			
<i>Q. aliena</i>	3.1 [1.6, 4.4]		67.8 [55.4, 81.8]
<i>Q. dentata</i>	3.4 [1.9, 4.7]	58.9 [46.2, 66.1]	
All			
<i>Q. aliena</i>	3.2 [1.6, 4.5]		63.7 [45.5, 79.4]
<i>Q. dentata</i>	3.3 [1.5, 4.8]	48.7 [45.6, 50.4]	

注：后验分布的众数以粗体表示，方括号中的数值表示 95% 的置信区间； θ ： $4 \times$ 有效种群大小 \times 每位点每世代突变率； \rightarrow ：源种群。

Note: Bold values indicate the posterior mode, and bracketed values represent the 95% credible interval; θ : $4 \times$ effective population size \times mutation rate per site per generation; \rightarrow : the source populations.

2.3.2 遗传聚类

基于 STRUCTURE 的贝叶斯聚类分析结果显示，最优的聚类数为 $K=2$ ，表明存在两个遗传谱系，分别与榲栌和榲树相对应（图 2.4）。

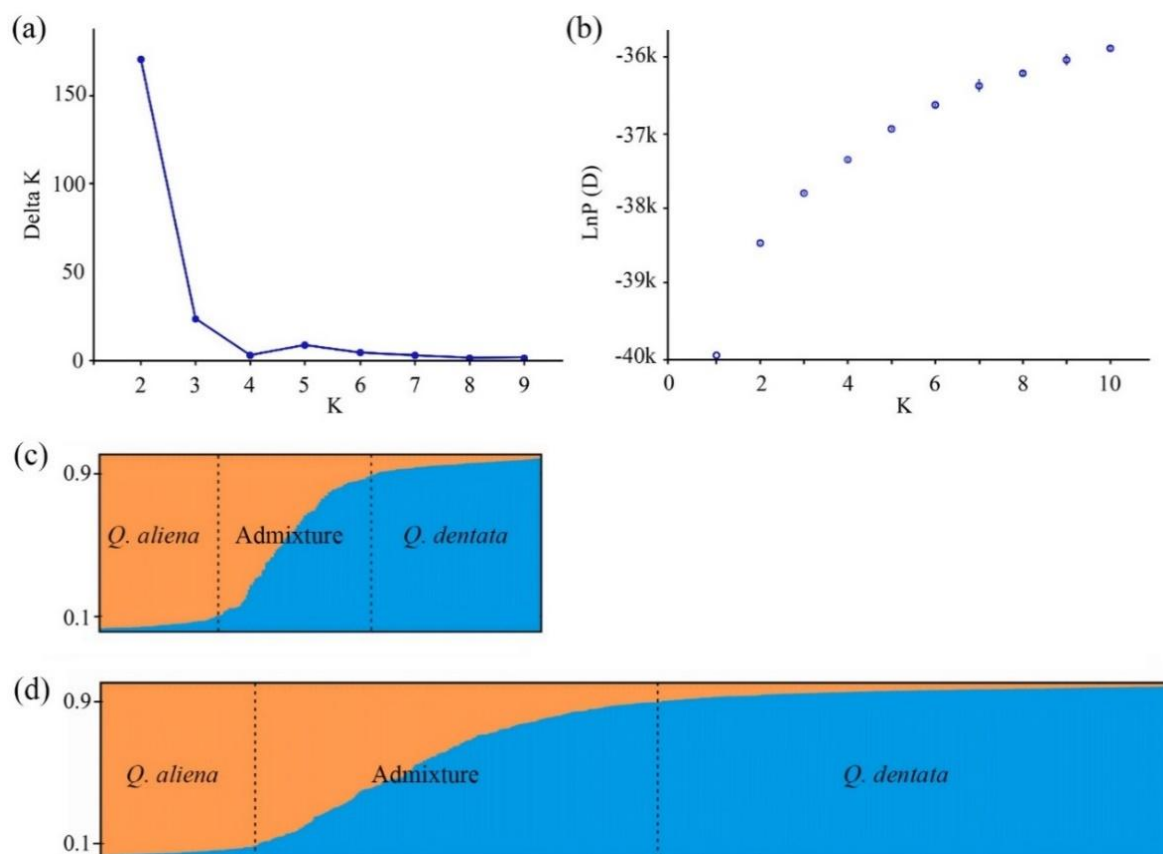


图 2.4 STRUCTURE 软件的聚类结果。(a) ΔK 随 K 值变化的曲线。(b) 对数概率随 K 值变化的曲线。(c) 基于 12 对 nSSRs 位点同域种群中个体在 $K=2$ 的聚类模式。(d) 基于 12 对 nSSRs 位点，异域种群中个体在 $K=2$ 的聚类模式

Figure 2.4 Population clusters identified with STRUCTURE software. (a) Variation of ΔK as a function of K . (b) Logarithmic probability as a function of K . (c) $K = 2$ for sympatric individuals based on 12 nrSSR loci (d) $K = 2$ for allopatric individuals based on 12 nrSSR loci

进一步以 $Q = 0.9$ 作为阈值区分纯合个体与杂合个体后发现，同域种群中杂合个体比例略低于异域种群，分别为 29%与 33%（附表 1）。遗传结构的地理分布图表明同域种群中两个物种表现出更高的种间遗传分化水平（图 2.5a, b）。基于个体水平遗传距离矩阵的主坐标分析结果与 STRUCTURE 聚类高度一致。在同域种群中，槲栎和槲树个体沿 PC1 轴呈现清晰的遗传分化，杂合个体比例较低，且个体在 PC1 上的频率分布呈明显的双峰结构（图 2.5c）。在异域种群中，两个物种的纯合个体与杂合个体存在一定程度的重叠，个体分布连续，个体在 PC1 上的频率分布趋于单峰结构（图 2.5d）。

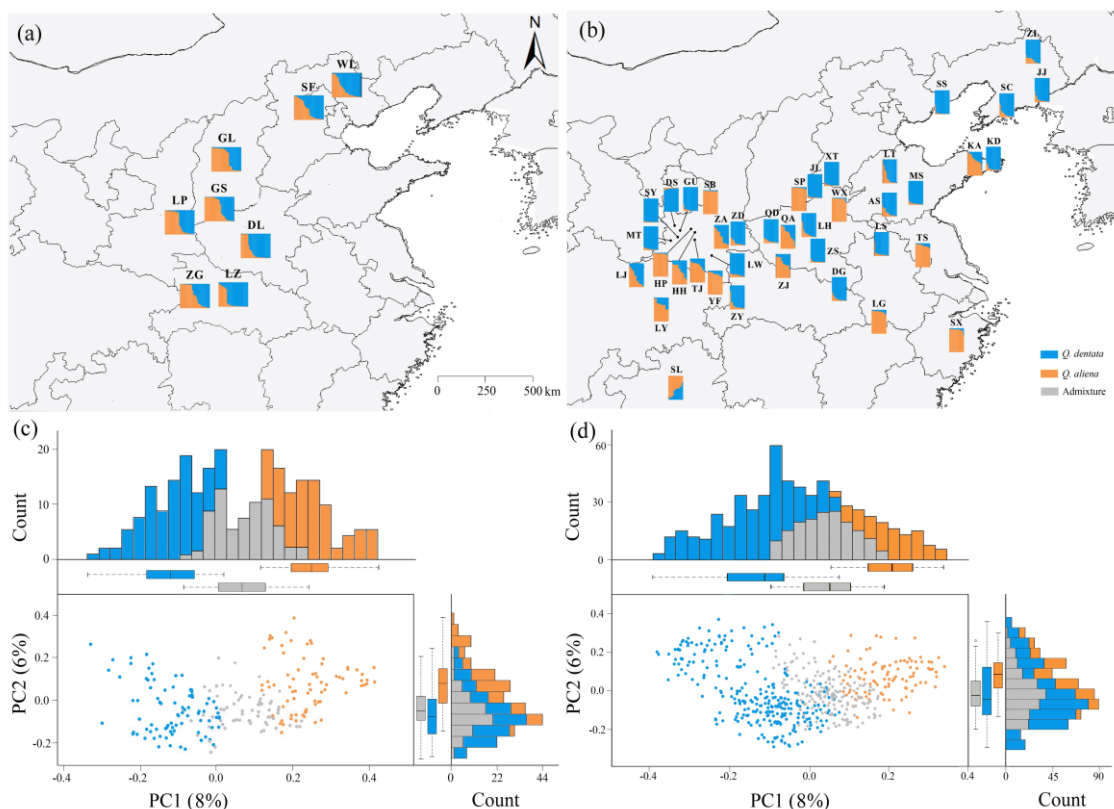


图 2.5 同域和异域种群中槲栎和槲树的遗传分化。同域种群 (a) 和异域种群 (b) 的 STRUCTURE 结果 ($K=2$) 地理分布图。采样地点详见附表 1。同域种群 (c) 和异域种群 (d) 个体水平的主成分分析 (principal component analysis, PCA) 图, 散点图上方与右侧分别绘制了第一主成分与第二主成分分布频率及箱线图。括号内标注各主成分解释的总变异百分比

Figure 2.5 Genetic differentiation between *Q. aliena* and *Q. dentata* in sympatry and allopatry. The geographic display of the STRUCTURE results with $K=2$ at population level for sympatric (a) and allopatric populations (b). For the details of sampling locations see Appendix Table 1. Principal component analysis (PCA) plot at individual level in sympatry (c) and allopatry (d), with the distribution frequency and box plots of the first principal component (PC1) and second principal component (PC2) values plotted on the top and right sides of the scatter plot. Percentage of total variance explained by each axis are noted in brackets

2.3.3 叶形变异

按照 Klingenberg^[122]的方法, 本研究对叶片几何形态数据进行了异常值筛查, 并剔除了 28 片明显偏离总体平均形态的离群叶片。剔除后, 最终用于分析的数据集包含 3,363 片叶片, 占全部采集叶片的 99.2%, 能够充分代表总体叶形变异水平。从叶形均值标志点轮廓来看, 槲栎在同域和异域条件下的平均叶形差异较为明显; 而槲树在两种分布情形下的差异相对不明显 (图 2.6)。

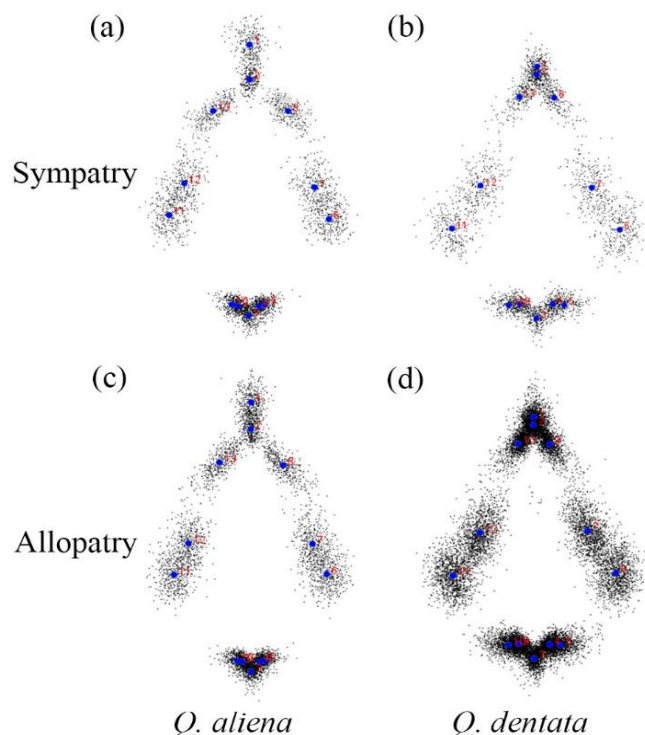


图 2.6 几何形态学方法获得同域和异域分布下槲栎 (a, c) 和槲树 (b, d) 的平均标志点输出值。黑色点显示所有叶片 13 个标志点的实际位置，蓝色点表示各标志点的平均位置
 Figure 2.6 The mean landmark output of *Q. aliena* (a, c) and *Q. dentata* (b, d) in sympatry and allopatry by geometric morphometric methods (GMMs). The black points indicate the actual positions of the 13 landmarks across all leaves, while the blue points represent the mean position of each landmark.

总体而言，形态学数据在物种区分上的判别能力强于遗传标记，基于叶形几何形态学方法结果显示，按 LD 值鉴定 87% 的个体为纯合个体 ($LD < 1$ 或 $LD > 1$)；而基于遗传标记按 STRUCTURE 结果以 Q 为阈值鉴定有 66% 的个体为纯合个体 ($Q < 0.1$ 或 $Q > 0.9$) (附表 1)，其中有 401 个个体同时符合形态学和遗传学的分类标准 (约 65%) (表 2.6)。

表 2.6 基于形态学和遗传学数据鉴定的纯合个体和杂合个体数量

Table 2.6 Number of pure or hybrid individuals assigned using morphological and genetic data

分组 Group	数据类型 Data type	遗传纯合个体 Genetically pure	遗传杂合个体 Genetically hybrid
Sympatry	Morphologically pure	106	58
	Morphologically hybrid	7	6
Allopatry	Morphologically pure	256	111
	Morphologically hybrid	36	33
All	Morphologically pure	362	169
	Morphologically hybrid	43	39

注：粗体字表示形态学与遗传学相一致的个体数。

Note: The bold indicate that the morphological and genetic criteria matched.

主成分分析显示，叶形 PC1 轴解释了 47% 的总变异，因此将 PC1 轴作为叶形变异的指标。值得强调的是无论采用几何形态学还是遗传学分析，对各种群的鉴定结果均与野外调查时的记录完全一致，说明在野外基于形态特征对个体的判断总体可靠。然而，杂合个体的识别并不能仅依赖野外观察，需通过具备科学依据的方法（几何形态学或基因分型）结合统计分析才能实现。各种群的野外鉴定结果、遗传分类与表型分类信息详见附表 1。

在表型分化方面，本研究发现同域条件下槲栎和槲树在所有叶片性状上的差异均大于异域条件下叶片性状的差异，包括叶形、叶面积与比叶面积（图 2.7）。这种同域分化增强的主要原因为槲栎较槲树在同域种群中比在异域种群中表现出更强的分化（图 2.7）。

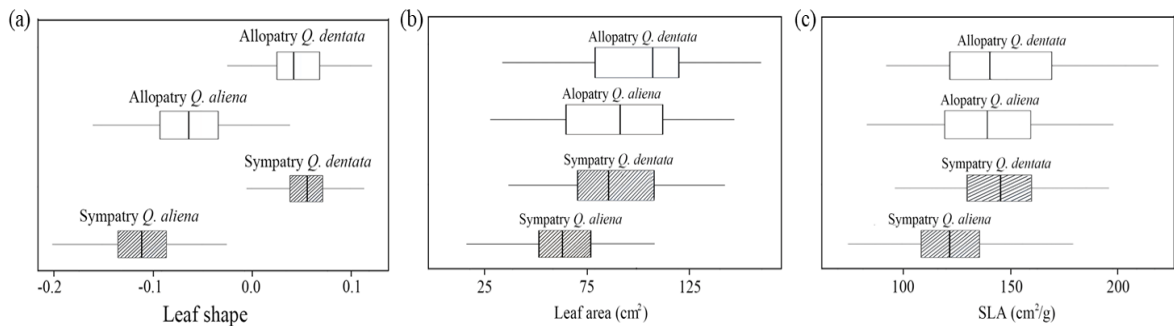


图 2.7 槲栎和槲树在同域和异域条件下叶形 (a)、叶面积 (b) 与比叶面积 (SLA) (c) 的箱型图。每个箱线图上的箱体分别代表下四分位数、中位数和上四分位数。基于线性混合效应模型 $P < 0.05$

Figure 2.7 Plot of leaf shape (a), leaf area (b) and specific leaf area (SLA) (c) of *Q. aliena* and *Q. dentata* in sympatry versus allopatry. The box in each boxplot shows the lower quartile, median and upper quartile values. $P < 0.05$ according to a linear mixed-effect model

基于全部个体数据的线性判别分析进一步证实，两个物种叶形差异显著，槲栎个体主要分布在 $LD < 1$ 的区域（242 个槲栎个体），槲树主要分布在 $LD > 1$ 的区域（348 个槲树个体）。同时，线性判别分析鉴别的杂合个体比例在同域种群中低于异域种群，分别为 8% 和 16%（图 2.8a, b；附表 1）。值得注意的是，在部分异域种群（KA、SC、ZS 与 ZY）中，杂合个体比例超过 50%（图 2.8b）。从个体分布形态看，同域种群的叶形表现出更明显的双峰分布，而异域种群更趋于单峰分布（图 2.8c, d）。

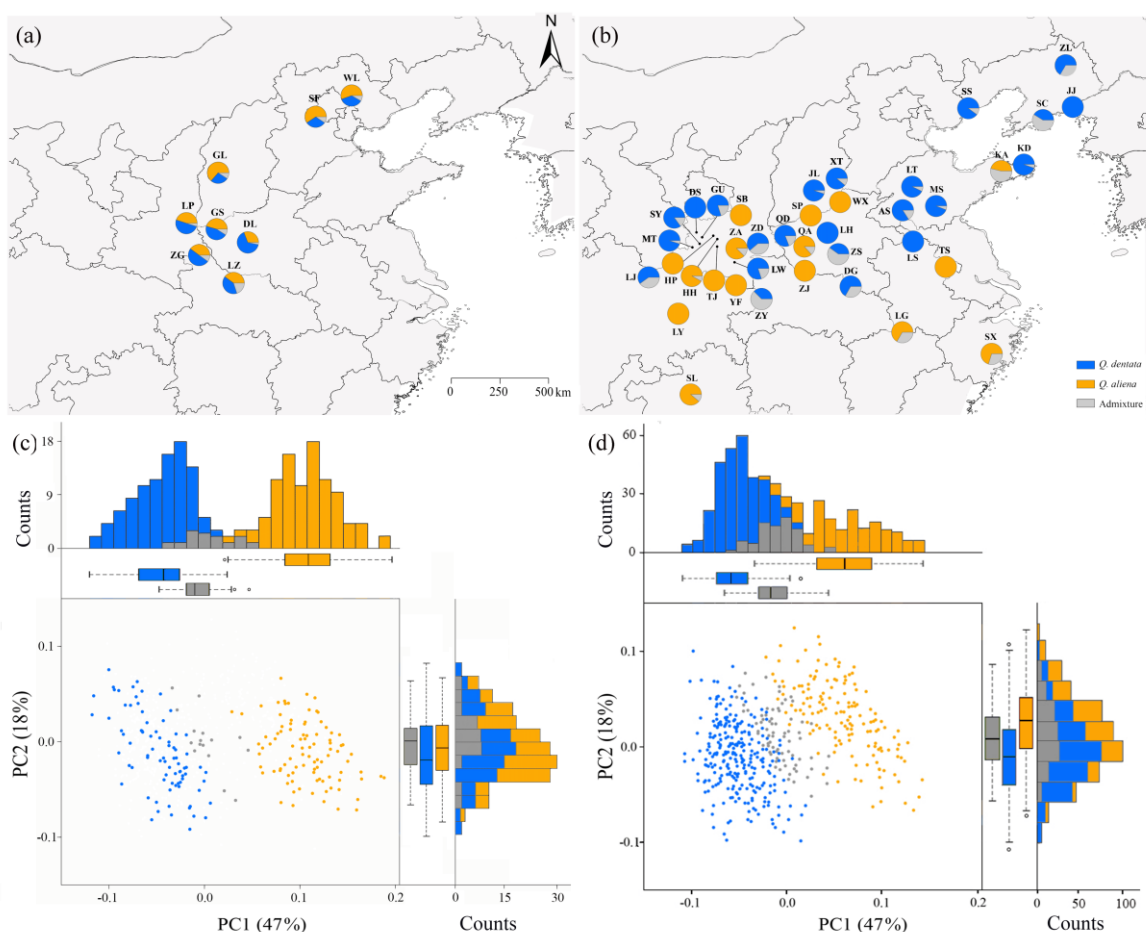


图 2.8 叶片几何形态测量分析。通过线性判别分析对同域种群 (a) 和异域 (b) 种群的叶形进行地理展示。采样地点详见附表 1。同域种群 (c) 与异域 (d) 种群在个体水平的叶形主成分分析图，其中第一主成分与第二主成分的分布频率图和箱线图分别绘制于散点图顶部和右侧。括号内标注各主成分解释的总变异百分比

Figure 2.8 Leaf geometric morphometric analysis. Geographic display of leaf shape by linear discriminant analysis (LDA) in sympatric (a) and allopatric (b) populations. For the details of sampling locations see Appendix Table1. Principal component analysis (PCA) plot of leaf shape in sympatry (c) and allopatry (d) at individual level, with the distribution frequency and box plots of the first principal component (PC1) and second principal component (PC2) values plotted on the top and right sides of the scatter plot. Percentage of total variance explained by each axis are noted in brackets

无论使用遗传标记还是叶形标记，两个物种在同域条件下的重叠程度均显著低于异域；并且在同域种群中，叶形分化（同域重叠度：0.04，异域重叠度：0.13）显著强于遗传分化（同域重叠度：0.16，异域重叠度：0.3）（图 2.9）。

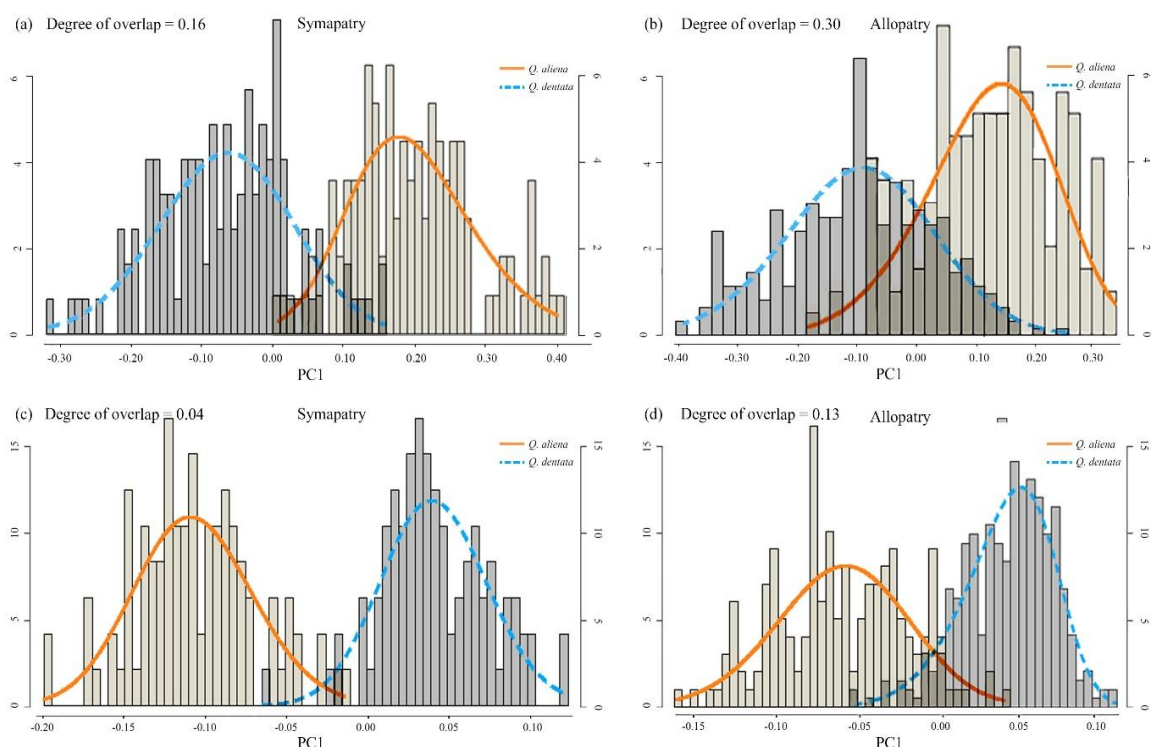


图 2.9 在同域分布与异域分布条件下，沿遗传标记 (a, b) 和叶形标记 (c, d) 第一个主成分分析轴的种间分化程度。重叠程度 $((\mu_1+3\sigma_1) - (\mu_2-3\sigma_2))$ 通过分布函数获得的 μ (位置参数) 和 σ (尺度参数) 进行估算。通过方差分析 (ANOVA) 检验重叠差异

Figure 2.9 Interspecific divergence along the PC1 axis at genetic markers (a, b) and morphological markers (c, d) in sympatry and allopatry. The degree of overlap $((\mu_1+3\sigma_1) - (\mu_2-3\sigma_2))$ was estimated using μ (the location parameter) and σ (the scale parameter) obtained from the distribution function. Differences in overlap were tested by analyses of variance (ANOVAs)

此外，本研究还发现槲栎和槲树的叶面积与叶干重呈显著相关性 ($0.5 < R^2 < 0.9$)，叶面积与叶干重的回归斜率 α 均小于 1，叶面积随叶干重增加的增长比例通常低于 1:1，这表明叶面积的增长未能跟上叶干重的增长速度 (表 2.7)。在同域种群中，槲栎和槲树叶面积与叶干重的比例关系的差异大于异域种群，且槲栎表现出更强的递减效应 (回归斜率分别为 0.72 和 0.83)；在异域种群中和所有种群中，槲栎和槲树的叶面积与叶干重的回归斜率差异较小，分别为 0.83 vs 0.84 和 0.82 vs 0.84 (表 2.7)。

表 2.7 同域种群和异域种群的槲栎和槲树叶面积与叶干重的对数-对数线性关系中标准化主轴回归斜率 (α) 与截距 ($\log\beta$)

Table 2.7 Standardized major axis regression slopes and elevations (α and $\log\beta$, respectively) for log-log linear relationships between leaf area and leaf mass for *Q. aliena* and *Q. dentata* in sympatry and allopatry

	同域种群 Sympatry		异域种群 Allopatry		所有种群 All	
	槲栎	槲树	槲栎	槲树	槲栎	槲树
	<i>Q. aliena</i>	<i>Q. dentata</i>	<i>Q. aliena</i>	<i>Q. dentata</i>	<i>Q. aliena</i>	<i>Q. dentata</i>
α	0.72	0.83	0.83	0.84	0.82	0.84
95% CI	0.6, 0.9	0.5, 0.7	0.7, 0.9	0.7, 0.9	0.7, 0.9	0.7, 0.8
$\log\beta$	2.0	2.0	2.1	2.1	2.1	2.1
R^2	0.6	0.6	0.8	0.8	0.8	0.8
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：95% CI：95% 置信区间，用于估计 α 值的精确性； R^2 ：决定系数，取值范围为 0–1，用于衡量统计模型对结果的预测拟合程度； P ：统计显著性，当 $P < 0.05$ 时差异显著。

Note: 95% CI indicates 95% confidence interval, estimated the precision of the α value. R^2 is coefficient of determination and indicates how well a statistical model predicts an outcome. P value indicates statistical significance at $P < 0.05$.

2.3.4 叶形变异对气候的响应

在槲栎和槲树的整体分布范围内，通过对 19 个生物气候变量进行主成分分析结果显示，第一主成分 (PC1) 解释了 53% 的气候总变异，因此本研究将 PC1 轴作为气候的代表指标 (表 2.8)。

表 2.8 基于主成分分析的气候变异结果

Table 2.8 Variance summary of climate using Principal Component Analysis

	气候 PC1 轴 Climate PC1	气候 PC2 轴 Climate PC2	气候 PC3 轴 Climate PC3
Standard Deviation	9.6	4.7	2.5
Proportion of Variance	0.53	0.26	0.11
Cumulative proportion of variance	0.53	0.79	0.90

沿这一气候梯度下，槲栎和槲树的叶形分化具有明显的非对称性，槲树的叶片性状总体表现较为稳定；相比之下，槲栎的叶形与气候梯度之间呈现显著相关关系 (图 2.10)，揭示槲栎的叶形变异对环境变化更为敏感。在异域种群中，两个物种的叶形变异均与气候因子存在相关性，其中槲栎在更温暖湿润的环境中呈现显著分化 (图 2.10c)。然而，在同域种群中，这种叶形分化与环境因子无关 (图 2.10b)。

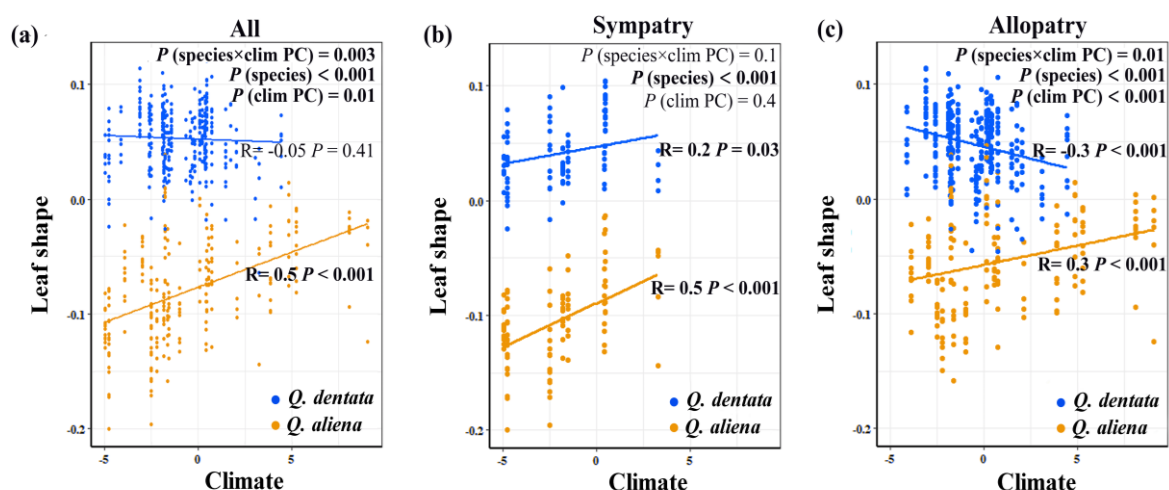


图 2.10 叶形变异与相关系数 (R) 及显著性 (P) 值在所有种群 (a)、同域种群 (b) 和异域种群 (c) 中的气候数据函数关系。分析对象为同域种群 (175 个个体, 包括 93 个榲栌个体和 82 个榲树个体) 及异域种群 (415 个个体, 包括 149 个榲栌个体和 266 个榲树个体) 的叶型纯合个体。各图的 P 值均通过线性混合效应模型得出

Figure 2.10 Leaf shape variation and correlation coefficient (R) and significance (P) value in all (a), sympatric (b) and allopatric (c) populations as a function of climatic data. Morphologically pure individuals in sympatry (175 individuals, 93 *Quercus aliena* and 82 *Quercus dentata*) and allopatry (415 individuals, 149 *Q. aliena* and 266 *Q. dentata*) were used for the analysis. The P -values for each graph were calculated using a linear mixed-effect model

结合榲栌在同域种群中表现出更强叶形变异、而榲树叶形相对稳定的结果, 本研究认为两物种的同域叶形分化并不完全符合经典生态特征替代中对称性分化的预期 (图 2.11a, b), 而更接近由单一物种性状偏移主导的非对称型特征替代模式 (图 2.11c)。

此外, 本研究发现在叶形中, $D_{\text{sym-allo}}$ 为正值, 表明两个物种在同域种群中的叶形分化强于异域种群中的叶形分化 (表 2.9)。值得注意的是, 无论是否将遗传与形态上判定为杂合的个体纳入分析, 这一结论均保持一致 (表 2.9)。为了排除气候背景差异带来的干扰, 本研究进一步将比较限定在同域和异域种群共同覆盖的气候范围内 (即剔除处于同域种群未覆盖气候条件下的异域种群), 在控制气候差异后仍然观察到同域种群中表现出更高的叶形分化。然而当仅使用遗传纯合个体进行分析时, 这一结果的统计支持有所减弱 (表 2.9), 表明个体分类与数据的选择可能在一定程度上影响效应强度, 但并不改变总体方向。此外, 本研究在线性混合模型中检测到物种与群落类型的交互作用在六种检验情形中的五种均达到显著水平 (表 2.9), 表明两个物种在同域和异域种群中的叶形变异存在显著差异。

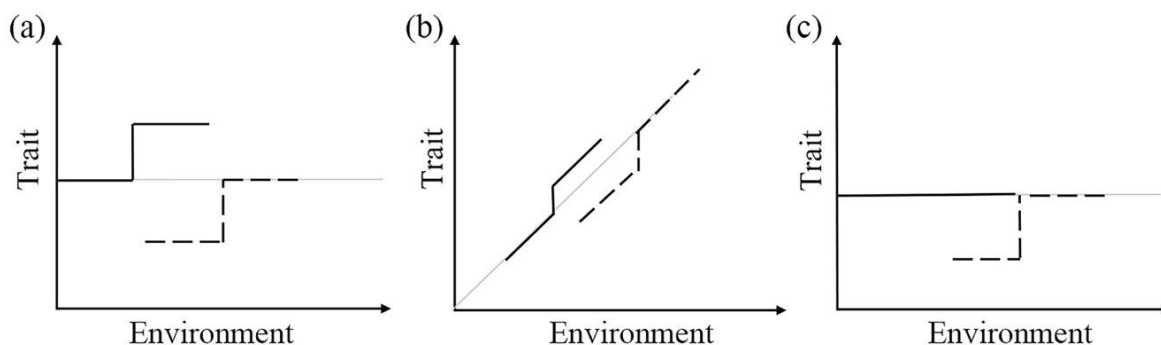


图 2.11 两个物种在同域与异域条件下的性状分化：(a) 性状分化不依赖生态因子，且呈对称模式，即经典的生态特征替代；(b) 沿环境梯度变化的性状分化模式；(c) 沿环境梯度变化的非对称生态特征替代中性状差异在演替晚期物种（粗虚线），而在演替早期物种（粗实线）中不随环境梯度变化。需要注意的是，在这三个示例中均展示了一个极端情形：在相似环境条件下，异域状态下两个物种的性状完全一致（细灰线）

Figure 2.11 Trait differences between two species in sympatry and allopatry: (a) trait divergence does not rely on ecological variables and is symmetrical: classical ecological character displacement (ECD); (b) trait divergence varies along an environmental gradient; (c) trait varies along an environmental gradient in late-successional (thick dashed lines) species but not in resident species (thick solid lines) (asymmetric ECD). Note that in all three examples an extreme case is displayed where species traits are identical in allopatry under similar environmental conditions (thin gray line)

表 2.9 直接检验同域和异域种群在整个气候范围内和共同气候范围内的叶形分化

Table 2.9 Direct tests of leaf shape divergence between sympatric and allopatric populations for whole and common climatic range

气候范围 Climatic range	个体类型 Individual type	叶形分化 Leaf shape divergence			统计 Statistics					
		D_{sym}	D_{allo}	$D_{\text{sym - allo}}$	Species		Community		Species × Community	
					F	P	F	P	F	P
Whole climatic range	All individuals	0.15	0.1	0.05	350	<0.001	5.7	0.02	5.7	0.03
	Genetically purebred	0.15	0.13	0.02	340	<0.001	4.9	<0.001	3.6	0.05
	Morphologically purebred	0.16	0.12	0.04	427	<0.001	8.1	0.006	3.9	0.04
Common climatic range	All individuals	0.15	0.11	0.04	356	<0.001	6.7	0.01	3.1	0.05
	Genetically purebred	0.14	0.12	0.02	407	<0.001	1.5	0.12	1.8	0.09
	Morphologically purebred	0.14	0.1	0.04	385	<0.001	7.6	0.01	2.7	0.02

注：遗传纯合个体：排除 Q 值在 0.1-0.9 之间的杂合个体；叶形纯合个体：排除 LD 值在 -1-1 之间的杂合个体。

Note: Genetically purebred: excluding admixed trees with Q values: 0.1-0.9; morphologically purebred: excluding admixed trees with LD values: -1-1.

2.3.5 花期物候

在上方山同域样地的物候连续观测结果显示，槲栎整体开花期也早于槲树约 1 周左右（表 2.10）。基于两个物种开花期的时间重叠发现，槲栎雌花开放期间与槲树雄花散粉期存在重叠，因此槲栎雌花在理论上可能接受来自槲树的花粉（图 2.12），从而为两个物种的种间潜在的基因交流提供了机会。

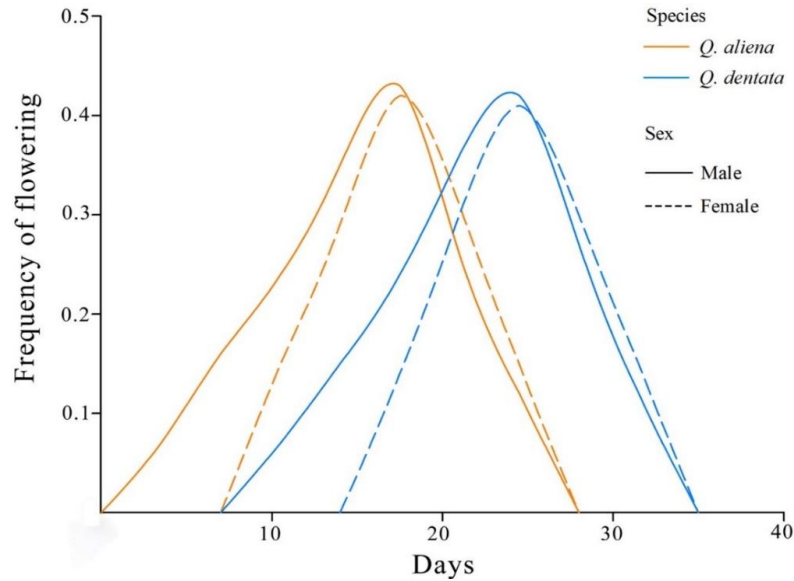


图 2.12 同域分布的槲栎和槲树花期物候观测

Figure 2.12 Line chart of flowering phenology observations of *Q. aliena* and *Q. dentata* in one sympatric site

表 2.10 上方山同域分布的槲栎和槲树物候观测

Table 2.10 Phenology of *Q. aliena* and *Q. dentata* in one sympatric site on Shangfang Mountain

物种 Species	雄花 Male flower							雌花 Female flower		
	Stage 1	Stage 2	Stage 3	Stage 4	Stage 5	Stage 6	Stage 7	Early blooming	Flower ing period	Last flowering period
<i>Q. aliena</i>	3/28-	4/2-	4/5-	4/8-	4/11-	4/16-	4/21-	4/4-4/11	4/11-	4/18-4/25
	4/2	4/5	4/8	4/11	4/16	4/21	4/25		4/18	
<i>Q. dentata</i>	4/4-	4/9-	4/12-	4/15-	4/18-	4/23-	4/28-	4/11-4/18	4/18-	4/25-5/2
	4/9	4/12	4/15	4/18	4/23	4/28	5/2		4/25	

2.4 讨论

2.4.1 同域种群中的非对称生态特征替代

尽管叶片形态受到一定的生物力学约束，叶形仍具有明确的功能意义^[134]，并可通过影响光合作用相关过程进一步作用于个体生长、发育与存活过程^[135]。本研究发现当两个物种共存时，榲栌表现出更明显的形态变异，其裂叶数量增加。已有研究指出，裂叶数量增多在一定程度上与较干旱生境相关^[88]。与此同时，榲栌在同域种群中还呈现出叶片更小且比叶面积更低的趋势。已有研究表明，无论是对养分、水分还是光资源利用，小叶与较低的比叶面积常与更偏资源保守型的策略相关^[86, 136-138]，表明榲栌在同域环境中面临更激烈的竞争。

依据 Adams^[132]的方法，通过计算两个物种在同域和异域种群中的叶片性状均值的差异 ($D_{\text{sym-allo}}$)，对特征替代相关的模式进行直接检验。研究发现同域种群中更强的叶形态分化主要源于榲栌在同域种群中的叶片性状分化程度大于异域种群，而榲树在同域和异域种群中的叶片性状值相似。虽然许多经典模型在表述上倾向于默认分化是对称发生的，但没有理由认为在自然系统中两个物种的分化程度相同，尤其当两者在种群丰度上存在差异时，处于劣势或相对稀少的物种可能承受更强的选择压力。此外，基于种间历史基因流估计，发现榲栌的基因交流程度高于榲树。这一结果表明，在同域种群中，竞争驱动的性状分化和接触导致的基因交流可能在同一时空背景下发生。换言之，本研究所揭示的同域种群中的非对称特征替代，可能是在基因流存在的条件下，由选择维持或强化的表型分化。

2.4.2 环境对性状分化的影响

本研究采用多种分析方法一致发现：同域种群较异域种群中的中间型形态个体比例更低。考虑到两个近缘种的亲本物种在同域条件下具有更多的接触机会，且栎属具有频繁杂交与渐渗的特点，若仅由杂交造成形态连续化，直观预期应是在同域分布区出现更多中间型个体。因此，同域中间型反而更少的结果，并不支持杂交导致中间型累积的简单解释。相反，它更符合另一种可能性：在同域共存背景下，可能存在更强的选择压力不利于形态中间型个体，从而使种群在表型上呈现更清晰的分化，与生态特征替代的预期一致。当然，上述解释仍需面对环境因素可能造成的混淆。一个重要的替代假设是：两个物种对环境因子的响应不同，性状差异主要由环境驱动，而非由物种共存与竞争导致，从而混淆了物种共存对性状的影响。为降低这一混淆，本研究通过将分析限制在同域和异域种群共同覆盖的气候范围内来控制环境差异。结果表明，在控制共同气候范围之后，同域分化强于异域的信号依然存在；而且这一结论无论是在使用所有个体分析时，还是仅使用纯合个体进行分析时都保持一致。另一种可能的替代解释是：歧化选择实际上作用于某些未测量的关键性状，而本研究所分析的性状（叶形、叶面积或比叶面积）只是与这些未知性状发生协变，从而呈现出表型分化的

信号。Alexandre 等^[139]曾提出类似观点以解释欧洲栎属植物叶片性状的快速分化。然而，就本研究而言，首先在控制共同气候范围后分化信号仍然存在；其次，所观察到的性状偏移方向具有较明确的功能含义，已有较可信的适应性情景能够解释其方向性变化。因此，综合现有证据，基于已测功能性状意义的解释比未测量性状协变模型更为简约合理。

2.4.3 非对称生态特征替代的起源

榲栌和榲树在叶片性状上的非对称分化以及长期非对称的种间基因流，可能源于在扩散-定殖的过程中形成的种群动态不平衡。具体而言，由于榲栌更适应温暖气候，本研究推测在历史气候变暖之后，榲树可能首先扩张并定殖到现有分布范围；随后榲栌才进入该区域，在向榲树已占优势、个体更为丰富的区域扩张时，将面临更强的竞争环境与选择压力。这样的过程一方面会导致不对称的基因交流，通常从本地种向后来种更强^[140, 141]，另一方面也可能使叶片性状的生态特征替代呈现非对称分化，即在同域种中，后来种更容易发生明显的特征替代，以降低与优势种群的生态位重叠。从机制上看，这一推断与竞争-殖民权衡的理论预期相一致。Lagache 等^[43]对两种欧洲栎属植物繁殖策略的比较研究揭示了竞争与定殖能力之间存在此类权衡关系。此外，两个物种的开花物候存在差异，并且二者均表现出雄花先熟的特性，也可能为非对称的种间基因交流提供便利条件。

2.4.4 生殖隔离与生态特征替代

原则上，在接触区中观察到的表型性状与多位点遗传标记均表现出更大的分化，可能源于更强的合子后或合子前生殖隔离^[142]。然而，本研究在同域分布区和异域分布区中都观察到了数量可观的中间型个体，因此由合子后隔离导致杂交后代存活率降低这一解释似乎不太可能成立。另一种解释的可能为：合子前隔离的强化作用导致叶片性状分化增强。但这一解释同样缺乏充分支持，本研究的开花物候数据揭示两个物种可能存在一定程度的合子前隔离，榲栌的开花时间早于榲树，从时间上可能降低了两者的有效受精的机会。然而，本研究发现两个物种在形态性状上的分化程度高于在中性分子标记上的分化程度；这一点与许多采用类似方法的栎属研究中常见的模式并不一致，例如 Lagache 等^[43]在欧洲栎树中的研究。因此，驱动同域分化的主要力量是作用于表型性状的生态特征替代，而不是合子前隔离的强化作用。即使强化作用确实存在，它也更可能是生态特征替代的结果而非原因^[143, 144]。总体而言，在本研究的两种栎属物种中，同域种群中的叶片性状出现非对称分化是最合理解释，是由种间竞争的不均衡导致的非对称选择压力。未来在植物进化研究中，若能进一步关注由种间竞争导致的非对称特征替代模式，将有助于深化对植物进化过程的理解。

2.5 小结

与基于广泛地理尺度的经典方法不同，本研究提出了在生态特征研究中要考虑物

种是否有直接接触，并以此提出了“微同域和微异域”的概念模型。考虑到环境因子和遗传因素均会对物种的性状产生影响，并且这种影响可能是非对称的，而这种非对称的影响可能与物种的进化历史有关，比如演替早期物种应对环境的变化较为稳定，而演替晚期物种则能为了获得更多的生态资源，性状分化随环境变化更明显。本研究运用我国广泛分布的两种栎属物种—槲栎和槲树中证明了以上假设。遗传结果表明同域种群中两个物种的遗传分化强于异域种群，并推断出历史基因流呈现非对称模式，方向主要由早期种（槲树）向后来种（槲栎）。叶片性状分析表明同域种群中两个物种的叶形分化高于异域种群，这主要源于后来种（槲栎）在同域环境中表现出更强的性状变异。而且控制相关环境差异后，上述结论仍成立。综合遗传与表型证据表明物种在同域环境中可能发生非对称特征替代，可能源于物种种群动态的不平衡导致了非对称的种间选择压力。总体而言，本研究为理解东亚白栎组物种在同域分布区的竞争驱动分化过程及其非对称性提供了可检验的框架与理论支撑。

3 栎属种内生态特征替代研究

3.1 引言

竞争驱动的分化除了能够导致物种间相互作用产生的生态特征替代外,同样也可能发生在物种内部^[2,14]。与种间竞争相比,由于个体在自然种群中更可能与同种个体接触,种内竞争可能比种间竞争更容易发生^[15];而且,同种个体在资源利用上相似性更高,竞争更加激烈^[16]。此外,当处于早期分化阶段且生殖隔离不完全时,对资源的竞争往往变得更加激烈^[16]。在此背景下,歧化选择通过偏好选择具有适应优势的极端表型而不是中间表型,驱动性状的快速分化,从而维持甚至增加了自然种群的变异^[18,19],最终导致了物种内出现资源利用的替代表型,促进了表型多态性的进化^[20,21]。因此,自然选择通过促进物种内的分化来减少资源竞争,由此产生的进化来源于物种内部的相互作用,类似于物种间的相互作用,被称为种内特征替代^[2,17]。相较之下,针对单一物种内部表型变异及其形成机制的研究仍相对有限,大部分的研究集中于种内变异对两个不同物种共存的影响^[22-24]。单一物种内部的变异尤其适用于植物,由于植物的固着性和强的种群结构性等特点,使其成为了研究种内生态特征替代的理想材料^[25]。

本研究选取在东亚地区广泛分布的枹栎 (*Q. serrata*) 和仅在中国地区分布的短柄枹栎 (*Q. serrata* var. *brevipetiolata*) 作为研究对象。根据中国植物志 (黄成就等, 1999) 短柄枹栎为枹栎的变种,短柄枹栎的分布记录主要集中于中国,在东亚其他地区尚未见明确记载。枹栎和短柄枹栎在叶片形状上接近,通常以短柄枹栎的叶片小和叶柄短的特征与枹栎进行形态特征的区分^[109]。枹栎和短柄枹栎在秦岭地区存在重叠的分布范围,为比较其不同分布区域内的遗传和表型变异提供了一个良好的研究材料。此外,局部环境因素能促进物种的适应性分化,有利于同域范围中种内变异的维持,同时对物种多样性的维持有着重要作用^[145]。

本研究首先在较大地理尺度上解析中国和日本枹栎种群之间的遗传分化格局及历史基因流,为理解谱系形成和扩散提供基础;随后聚焦于中国同域和异域分布的枹栎和短柄枹栎种群,检验其遗传和叶形态分化的差异,并进一步探讨性状分化沿环境梯度的响应模式。

3.2 材料与方法

3.2.1 样品采集

由于中国范围内尚缺乏枹栎全部分布区的遗传数据 (目前仅有部分分布区的研究可供参考^[146,147]),而日本已基于叶绿体 DNA 对枹栎种群开展了系统研究^[148]。因此,本研究在中国和日本采用了不同的取样策略:对于中国种群,尽可能覆盖枹栎及其变种短柄枹栎的主要分布区;对于日本种群,则依据已有叶绿体谱系研究结果,选择能

够代表日本枹栎主要谱系的种群作为比较材料。

对于中国的枹栎种群,首先整合中国数字植物标本馆和全球生物多样性信息机构(GBIF, <https://www.gbif.org/>)数据库中关于枹栎及其变种短柄枹栎的分布记录与地理信息,构建了包含采集点坐标与分布范围的数据库。在野外踏查过程中,依据叶片形态、叶柄长度、叶缘特征、叶背毛被和枝条形态等可识别特征对枹栎和短柄枹栎进行初步鉴定。最终在中国范围内共采集 27 个自然种群,208 棵成熟树木样本(图 3.1)。在中国,枹栎和短柄枹栎在秦岭地区存在同域分布,因此本研究将该区域的种群划为同域种群。中国的样本包括来自秦巴山区的 8 个同域种群,共 67 个个体,以及来自其他地区的 19 个异域种群,共 141 个个体(表 3.1)。为避免采集到可能的克隆个体,在取样时尽量保证不同种群之间的空间距离不小于 30 km;在同一种群内,采样个体间距至少保持 10 m。采样时优先选择胸径大于 10 cm 的成熟个体。每棵树采集 1 片嫩叶或新生枝条用于 DNA 提取,同时在树冠中层沿东、南、西、北四个方位共采集 4—5 片成熟健康叶片用于叶形态分析。所有叶片材料采集后立即置于硅胶中干燥保存。并使用 Garmin 621sc GPS(北京,中国)记录每个种群的经纬度与海拔等地理信息。对于日本种群,由于已有研究基于叶绿体 DNA 鉴定了日本枹栎的主要谱系^[148],本论文据此选择了 3 个能够代表主要谱系的日本枹栎种群,共 50 个个体作为日本样品数据(附表 3)。

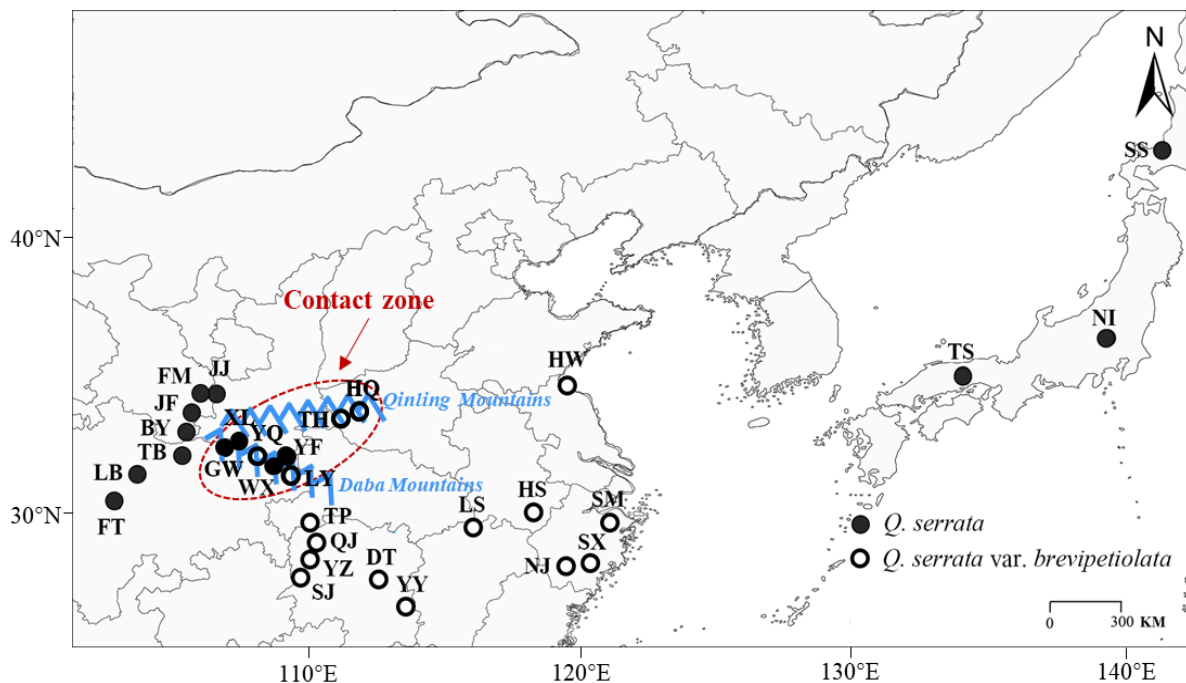


图 3.1 中国和日本枹栎(实心黑圈)及其中国的变种短柄枹栎(空心圈)的采样点分布
Figure 3.1 Sampling sites of *Q. serrata* (filled black circles) in China and Japan and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* (open circles) in China

表 3.1 枹栎和短柄枹栎采样点信息表
Table 3.1 Sample information of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*

物种 Species	群落类型 Community	代码 Code	位置 Location	经度 Longitude	纬度 Latitude	个体数 Individuals
枹栎-中国 <i>Q. serrata</i> - China	同域	GW	四川省巴中市光雾山	106.8	32.67	10
	同域	XL	四川省巴中市香炉山	106.99	32.72	12
	同域	WX	重庆市城口县卫星村	108.74	31.96	11
	同域	YF	陕西省平利县药妇山	108.87	32.13	9
	异域	BY	四川省南充市白云山	103.54	33.33	8
	异域	JF	甘肃省陇南市鸡峰山	105.68	33.69	7
	异域	FM	甘肃省天水市放马滩	106.1	34.41	11
	异域	FT	四川省雅安市蜂桶寨	102.88	30.57	6
	异域	LB	四川省汶川萝卜寨	103.68	31.5	9
	异域	JJ	甘肃省天水市九江峪	106.54	34.35	4
短柄枹栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	异域	TB	四川省广元市塔坝	105.37	32.23	5
	同域	LY	重庆市巫溪县栗园村	109.36	31.43	5
	同域	TH	河南省洛阳市天河	111.2	33.48	11
	同域	YQ	四川省万源市鱼泉山	108.08	32.17	9
	同域	HQ	河南省汉秋林	111.81	33.81	8
	异域	SX	浙江省台州市神仙居	120.61	28.7	5
	异域	HS	安徽省黄山市黄山	118.22	30.11	7
	异域	HW	江苏省连云港市凰窝	119.47	34.71	6
	异域	SM	浙江省宁波市四明山	121.08	29.72	5
	异域	LS	江西省九江市庐山	115.97	29.59	6
枹栎-日本 <i>Q. serrata</i> - Japan	异域	NJ	浙江省丽水市南尖岩	119.07	28.36	7
	异域	TP	湖南省桑植县天平山	110.09	29.77	9
	异域	QJ	湖南省永顺县千斤塔	110.21	28.89	9
	异域	YZ	湖南省古丈县丫竹坪	110.06	28.63	9
	异域	DT	湖南省湘乡市东台山	112.55	27.72	5
	异域	SJ	湖南省泸溪县水井坪	109.79	28.02	8
	异域	YY	湖南省株洲市云阳山	113.48	26.79	7
	异域	SS	日本北海道石狩市	141.37	43.19	11
	异域	NI	日本津山市	139.57	36.75	20
	异域	TS	日本日光市	134.14	35.06	19

3.2.2 基因组 DNA 提取与基因分型

以嫩叶或枝条的形成层为材料，使用植物基因组 DNA 提取试剂盒（Tiagen，北京，中国）提取全部 258 个个体的总基因组 DNA，具体操作严格按照说明书进行。选取 12 对核微卫星位点用于基因分型，这些位点最初分别来源于夏栎和无梗花栎^[111]、

蒙古栎^[110, 149], 并已在中国白栎组研究中被证明具有良好的物种区分能力^[97, 105, 150]。所选 12 对位点分布在 8 条染色体上 (附表 2), 且经 Micro-Checker v2.2 检测均未发现无效等位基因。为评估所选位点是否偏离中性进化假设, 进一步采用 FDIST2^[151] 基于杂合度条件下 F_{ST} 的溯祖模拟分布进行检验。结果未检测到与适应性遗传变异相关的异常位点 (图 3.2)。微卫星扩增与基因分型流程参考 Lyu 等^[105]。扩增产物采用 ABI Prism 3730 基因分析仪 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) 进行毛细管电泳检测, 使用 GeneMarker v2.2 (Softgenetics LLC, State College, PA, USA) 软件进行等位基因片段长度与基因型识别。

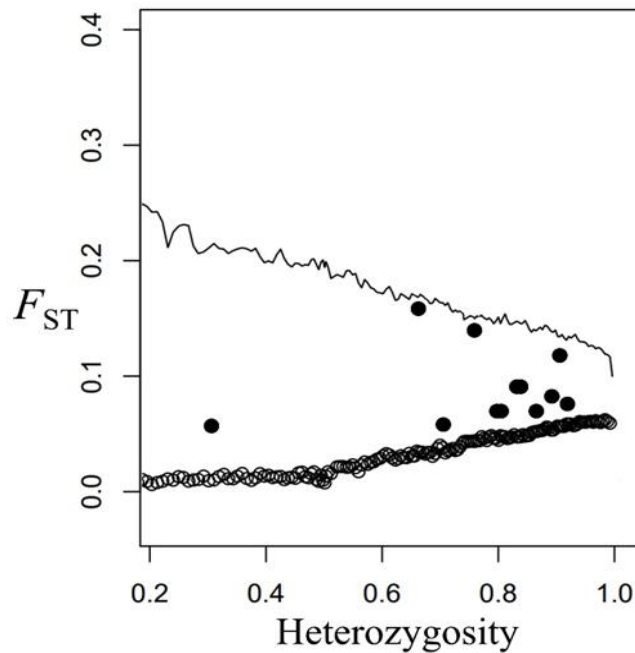


图 3.2 利用 FDIST2 软件在 95%置信区间下绘制 12 个微卫星位点 F_{ST} 值随杂合度变化的分布图
Figure 3.2 Distribution F_{ST} values from the 12 SSR loci in function of the heterozygosity using FDIST2 with the 95% confidence level

3.2.3 遗传多样性与遗传分化

使用 GenAlEx v6.5^[116] 软件计算遗传多样性指标, 主要包括不同等位基因数 (N_A)、有效等位基因数 (N_E)、期望杂合度 (H_E)、观察杂合度 (H_O) 以及 Shannon 多样性指数 (I)。为比较三组物种 (中国枹栎、短柄枹栎和日本枹栎) 之间遗传多样性水平的差异, 使用 SPSS v22 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 软件采用 Mann-Whitney U 检验进行显著性检验。

使用 Arlequin v3.5 软件^[152] 采用分层分子方差分析进行评估种群间遗传分化, 并通过 1,000 次置换检验评估遗传分化的显著性。同时, 计算种群间的遗传分化指数 (F_{ST})。

使用 STRUCTURE v2.3^[9]进行贝叶斯聚类分析来推断种群遗传结构,分析过程中不引入采样地点或个体分类等先验信息。设定聚类数值从 1 到 10,每个 K 值独立重复运行 20 次;每次运行包含 100,000 次马尔可夫链蒙特卡洛迭代 (MCMC),并设置 100,000 步 burn-in 以保证链的稳定收敛。参照 Evanno 等^[119],通过 STRUCTURE HARVESTER^[118]计算的 ΔK 确定最优 K 值。为区分纯合个体与杂合个体,依据 STRUCTURE 输出的混合系数 Q 值采用较严格的阈值 0.9 进行判定 ($Q \geq 0.9$ 或 $Q \leq 0.1$ 为纯合个体; $0.1 < Q < 0.9$ 为杂合个体),该阈值在栎属种群遗传学研究中被广泛使用^[77, 120],并采用 DISTRUCT v1.1 绘图可视化聚类结果。

此外,基于枹栎和短柄枹栎之间的遗传协方差矩阵进行主坐标分析,并在 GenAlEx v6.5 软件^[116]中绘制前两个特征向量可视化遗传相关程度。

3.2.4 基因流与种群历史

为推断各谱系之间的历史基因流,本研究采用 MIGRATE-N v4.4.3 软件基于连续布朗运动模型估计历史迁移率^[122, 123]。采用切片采样法和均匀先验分布估计两个参数 θ ($\theta = 4N_e\mu$, 即有效种群大小乘以每代每位点突变率)以及 M ($M = m/\mu$, 即迁移率以突变率)。每次运行设置 3 条长链,每个链设置 10,000 迭代, burn-in 设置为 10,000。为检验估计结果的稳健性,上述流程重复运行 3 次,并获得 θ 与 M 的最大似然估计值及其 95%置信区间。同时使用贝塞尔近似法与调和平均法计算边际似然值,并进一步计算对数贝叶斯因子以比较不同模型对数据的拟合度,从而确定最优模型^[153]。

为进一步揭示种群动态历史,使用 DIYABC v2.1 软件进行了近似贝叶斯计算 (Approximate Bayesian Computation, ABC) 分析^[154]。为简化情景设定,本研究根据 STRUCTURE 聚类结果将样本划分为三个组:中国枹栎 (*Q. serrata*-China)、短柄枹栎 (*Q. serrata* var. *brevipetiolata*) 和日本枹栎 (*Q. serrata*-Japan)。在此基础上构建了四种历史分化情景:情景 1、2、3 分别假设最早分化的谱系依次为日本枹栎、短柄枹栎和中国枹栎;情景 4 则假设三组在同一时间发生分化 (图 3.3)。模型的相关参数见表 3.2。并通过对与观测数据最接近的 1%模拟数据进行逻辑回归,计算各情景的后验概率及其 95%置信区间,从而识别最可能的分化情景^[155]。为评估参数估计的精度,在最优情景下模拟 500 个伪观测数据集,并计算相对中位绝对误差 (Relative median of absolute errors, RMAE),以量化参数估计的可靠性。最后,利用 DIYABC v2.1 软件中的 “model checking” 功能估计参数的后验分布,并通过比较模拟数据与观测数据的分布一致性来检验模型合理性与拟合程度^[154]。

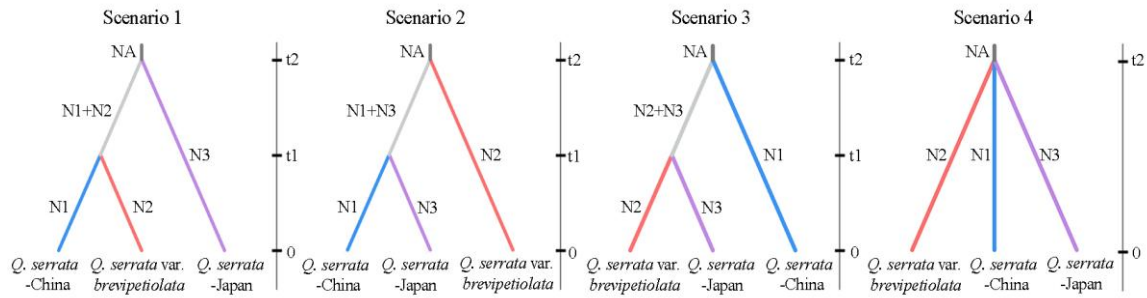


图 3.3 中国枹栎、短柄枹栎和日本枹栎三个组在 DIYABC 软件中设置的四种种群历史情景
Figure 3.3 The four scenarios for the population history of the three groups (*Q. serrata*-China, *Q. serrata* var. *brevipedunculata* and *Q. serrata*-Japan) in DIYABC

表 3.2 DIYABC 中先验概率的参数设置

Table 3.2 Prior distributions of the parameters used by DIYABC

参数 Parameter	分布 Distribution	最小值 Minimum	最大值 Maximum
Effective population size			
NA (ancestral population)	Uniform	10	100000
N1	Uniform	10	100000
N2	Uniform	10	100000
N3	Uniform	10	100000
Time of events (generations)			
t1	Uniform	10	200000
t2	Uniform	10	200000

注：N1：中国枹栎的有效种群大小；N2：短柄枹栎的有效种群大小；N3：日本枹栎的有效种群大小；NA：祖先种群的有效种群大小；t1：中国枹栎和短柄枹栎之间的分化时间（世代）；t2：中国枹栎和短柄枹栎的共同祖先和日本枹栎之间的分化时间（世代）。

Note: N1: effective population size of *Q. serrata*-China; N2: effective population size of *Q. serrata* var. *brevipedunculata*; N3: effective population size of *Q. serrata*-Japan; NA: effective population size of ancestral population; t1: the divergence time in generations between *Q. serrata*-China and *Q. serrata* var. *brevipedunculata*; t2: the divergence time in generations between *Q. serrata*-Japan and the ancestor of *Q. serrata*-China and *Q. serrata* var. *brevipedunculata*.

3.2.5 叶片形态测定

为评估叶片形态变异，本研究同时采用几何形态学与传统形态测量方法对枹栎和短柄枹栎的 248 个个体的 1,224 片叶片进行分析。所采集的成熟叶片经过压平和干燥处理后，使用 CanoScan 5600F 扫描仪以 300 dpi 分辨率进行扫描获得图片。在几何形态学分析中，参照白栎组物种的相关研究的标志点设置^[94,97,114]，在 ImageJ v1.5 软件中对每片叶片的扫描图像使用 13 个同源标志点，其中，LM1–LM3 沿叶片中轴线分

布；其余标志点 LM4–LM13 以成对形式分布在叶片两侧，并呈左右对称对应关系（图 3.4a）^[113]。完成标定后，将每片叶片的标志点信息整理为 13 对二维笛卡尔坐标 (x , y)，作为几何形态学后续分析的输入数据。在传统形态测量方面，测量了 6 项传统性状：叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、窦宽、最大叶宽处的叶片长度、裂片数量；同时测量了 3 项叶片功能性状：叶干重、叶面积和比叶面积（图 3.4b）。其中，比叶面积 = 叶面积/叶干重。为降低单个叶片差异与测量误差对个体层面比较的影响，每棵树的性状取值均以同一棵树所选 4–5 片叶片的测定结果取平均，作为该个体的代表值用于后续分析。

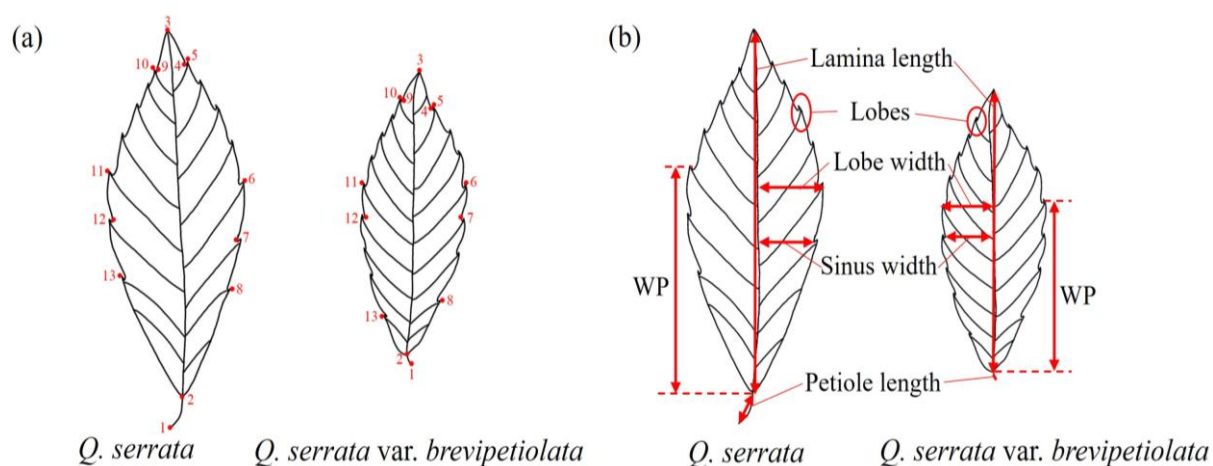


图 3.4 叶片性状的形态测量。枹栎和短柄枹栎叶片 13 个标志点的位置 (a)，以及传统叶片形态性状的描述 (b)。13 个标志点的描述见表 2.2

Figure 3.4 Morphological measurements for leaf traits. Landmark configuration of leaves (a), showing the locations of the 13 landmarks, and description of the traditional leaf morphological traits in *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* (b). The description of 13 landmarks are shown in Table 2.1

3.2.6 叶形多变量分析

在几何形态学分析中，首先使用 Morpho J 软件对所有叶片标志点进行广义普氏分析^[124]，通过平移、缩放和旋转消除叶片大小、位置和方向差异，从而最大化不同叶片坐标数据的重合度^[125]。随后将同一棵树所选的 4–5 片叶片标志点坐标取平均值，构建个体水平的平均标志点。已有研究表明，与直接使用单叶片的标志点数据相比，使用个体均值标志点并不会在后续分析中造成显著信息损失^[95]。在此基础上，使用进一步生成个体平均值的协方差矩阵进行后续的组间比较分析。为比较同域和异域条件下枹栎和短柄枹栎在叶形上的差异，使用遗传鉴别的纯合个体在 Morpho J 软件中进行典型变量分析 (Canonical variate analysis, CVA) 和判别分析 (Discriminant analysis, DA)。其中，典型变量分析基于马氏距离通过最大化组之间的分离程度来检验组间差异，组间平均叶形差异的显著性通过置换检验评估 (T^2 统计量；每次检验 10,000 次置

换)。判别分析通过交叉验证的分类得分进行组间判别,并同样以 T^2 统计量进行显著性检验(每次检验 1,000 次置换)^[125, 156]。

对于传统形态性状,基于遗传鉴定的纯合个体分别比较枹栎和短柄枹栎在同域和异域条件下的叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、翼宽、最大叶宽处叶片长度、裂片数,以及叶干重、叶面积和比叶面积的差异,相关绘图与结果展示主要使用 R v4.0.2 中的“ggplot2”^[129]和“ggpubr”^[157]包完成。并对六项传统形态性状:叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、翼宽、最大叶宽处叶片长度和裂叶数进行主成分分析,使用 R v4.0.2 中的“vegan”^[128]与“ggplot2”^[129]包完成分析与可视化。此外,为检验叶面积与叶干重之间是否存在可量化的尺度关系,本研究验证了 Niklas 等^[130]提出的假说:叶面积是否独立于叶干重差异。基于遗传鉴定的纯合个体,分别计算枹栎和短柄枹栎的叶面积与叶干重的标准化主轴斜率和截距。初步回归分析表明所有变量关系均呈对数-对数线性关系,因此后续统计分析均采用经 \log_{10} 转换的数据,使用 R v4.0.2 计算斜率和截距及其 95% 置信区间。

3.2.7 特征替代

为检验种内特征替代现象(即在同域条件下性状分化更显著),本研究参照 Adams^[132]的方法,分别计算枹栎和短柄枹栎在同域种群和异域种群中的平均叶片性状差异 D_{sym} 和 D_{allo} ,并进一步计算二者的差值 $D_{\text{sym-allo}}$ 。正的 $D_{\text{sym-allo}}$ 值表明同域种群中存在更强的种内表型分化趋势。为提高同域与异域种群结果比较的可比性,使用遗传纯合个体来降低杂合个体对性状差异的影响^[97]。

3.2.8 遗传和形态变异对气候的响应

从空间分辨率为 30 秒的 WorldClim v2 的栅格数据中提取研究种群的 19 个生物气候变量^[131]。使用 R v4.0.2 中“vegan”包对 19 个气候变量进行主成分分析^[128],选取累计解释率超过 99% 的前六个 PC 轴。通过基于各主成分方差贡献度的加权组合,构建出综合环境轴。该新变量作为各种群的综合环境指数,用于后续的同域和异域分布的枹栎和短柄枹栎的性状—环境关联分析。以种群为随机变量,分别评估同域和异域种群中叶片性状沿综合环境轴的变化趋势。固定效应的统计显著性通过 R 包“car”^[158]中的方差分析检验进行评估。

此外,本研究利用遗传纯合个体评估了种群同域与异域分布下遗传变异对气候的响应。尽管微卫星分子标记通常被视为中性标记,但可反映受环境因素影响的潜在种群动态过程。通过分析遗传变量与综合环境轴之间的关系,并采用 R v4.0.2 建立线性回归模型检验遗传—气候关联的统计显著性,最终计算相关系数以量化这些关系的强度。

3.3 结果

3.3.1 遗传多样性与遗传分化

所有 12 个核微卫星位点均呈多态性,不同种群的遗传多样性估计值存在差异(附表 3)。日本枹栎种群的遗传多样性 ($H_O=0.61, H_E=0.69$) 显著高于中国枹栎种群 ($H_O=0.56, H_E=0.64$) ($P<0.05$); 短柄枹栎的近交系数 F_{IS} 值为 0.01, 而中国枹栎与日本枹栎的近交系数 F_{IS} 值均为 0.08 (表 3.3)。进一步聚焦于中国地区分布的枹栎和短柄枹栎的同域和异域种群时,发现枹栎在同域种群的遗传多样性 ($H_O=0.53, H_E=0.63$) 显著低于异域种群 ($H_O=0.58, H_E=0.65$) ($P<0.05$); 相反,短柄枹栎在同域种群中的遗传多样性 ($H_O=0.68, H_E=0.69$) 显著高于异域种群 ($H_O=0.59, H_E=0.65$) ($P<0.05$) (表 3.3)。

表 3.3 枹栎和短柄枹栎种群的遗传多样性

Table 3.3 Genetic diversity of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* populations

物种 Species	采样数量 N	不同等位 基因数量 N_A	有效等位 基因数量 N_E	香农指数 I	观测杂 合度 H_O	期望杂合 度 H_E	近交 系数 F_{IS}
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	116	5.1	3.7	1.3	0.62	0.65	0.01
<i>Q. serrata</i> -China	92	5.1	3.5	1.3	0.56	0.64	0.08
<i>Q. serrata</i> -Japan	50	7.4	4.2	1.5	0.61	0.69	0.08
<i>Q. serrata</i> (China and Japan)	142	5.6	3.6	1.3	0.57	0.66	0.08
All	258	5.3	3.7	1.3	0.59	0.66	0.06
Sympatry							
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	33	5.8	3.9	1.4	0.68	0.69	0.04
<i>Q. serrata</i>	34	5.0	3.3	1.3	0.53	0.63	0.16
Allopatry							
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	83	4.8	3.5	1.3	0.59	0.65	0.06
<i>Q. serrata</i>	58	5.2	3.7	1.3	0.58	0.65	0.11

根据 AMOVA 分析,不同数据集的遗传变异主要来源于种群内部,种内变异比例介于 84% (枹栎种群) 到 96% (仅日本枹栎种群) 之间 (表 3.4)。以遗传分化系数 (F_{ST}) 评估遗传分化强度结果显示,中国枹栎种群的 F_{ST} 值 ($F_{ST}=0.08$) 显著高于日本枹栎种群 ($F_{ST}=0.04$) ($P<0.001$)。进一步聚焦于中国地区分布的枹栎和短柄枹栎的同域和异域种群时,发现枹栎和短柄枹栎的遗传分化差异并不明显 ($F_{ST}=0.10$ vs. 0.11) (表 3.4)。

表 3.4 枹栎和短柄枹栎分层分子方差分析结果

Table 3.4 Result of molecular variance (AMOVA) for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 SS	方差分量 VC	变异分数 V%	种群间遗传分化系数 F_{ST}
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>					
Among populations	15	104.5	0.2	6.4	0.06
Within populations	216	756.8	3.5	93.4	
<i>Q. serrata</i>-China					
Among populations	10	99.8	0.4	7.9	0.08
Within populations	173	714.7	4.1	92.1	
<i>Q. serrata</i>-Japan					
Among populations	2	20.6	0.2	4.1	0.04
Within populations	97	419.4	4.4	95.9	
<i>Q. serrata</i> (China and Japan)					
Between species	1	75.7	0.5	9.7	0.15
Among populations within species	12	120.4	0.3	6.1	
Within populations	270	1134	4.2	84.2	
All					
Between species	2	111.4	0.3	5.7	0.12
Among populations within species	27	248.2	0.3	6.3	
Within populations	496	2043	4.2	88	
Sympatry					
Between species	1	16.3	0.09	2	0.10
Among populations within species	6	56.9	0.3	6.8	
Within populations	126	539.2	4.3	91.2	
Allopatry					
Between species	1	28.6	0.1	3.8	0.11
Among populations within species	17	133.7	0.3	7.9	
Within populations	263	895.9	3.4	88.3	

3.3.2 遗传结构

在每个 K 值下进行的 20 次 STRUCTURE 重复运行结果显示, 最大似然值在 K = 2 时最高, 表明存在两个遗传谱系, 分别对应中国的枹栎种群 (蓝色) 和日本的枹栎种群 (紫色) (图 3.5a)。当 K=3 时, 中国的枹栎进一步分为两个组: 枹栎 (蓝色) 和短柄枹栎 (红色) (图 3.5b)。且在中国枹栎和短柄枹栎种群中存在明显的基因渐渗现象, 日本枹栎种群中的基因渐渗较少。

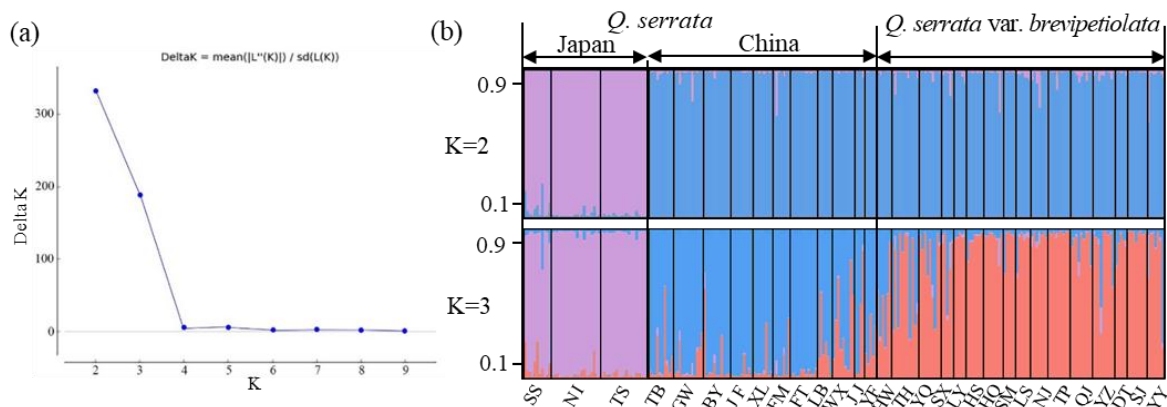


图 3.5 STRUCTURE 软件的聚类结果。(a) ΔK 随 K 值变化的曲线。(b) 在 $K=2$ 和 $K=3$ 时，枹栎和短柄枹栎的遗传聚类

Figure 3.5 Population clusters identified using STRUCTURE software. (a) Variation of ΔK as a function of K . (b) Genetic assignment of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* at $K = 2$ and $K = 3$

采用严格的 $Q = 0.9$ 值为阈值区分遗传纯合与杂合个体，最终鉴别出 77 个遗传杂合个体与 181 个遗传纯合个体。基于种群水平遗传距离矩阵的主坐标分析结果与 STRUCTURE 聚类结果高度一致：三个组在前两个主坐标轴上呈现清晰分离(图 3.6)。

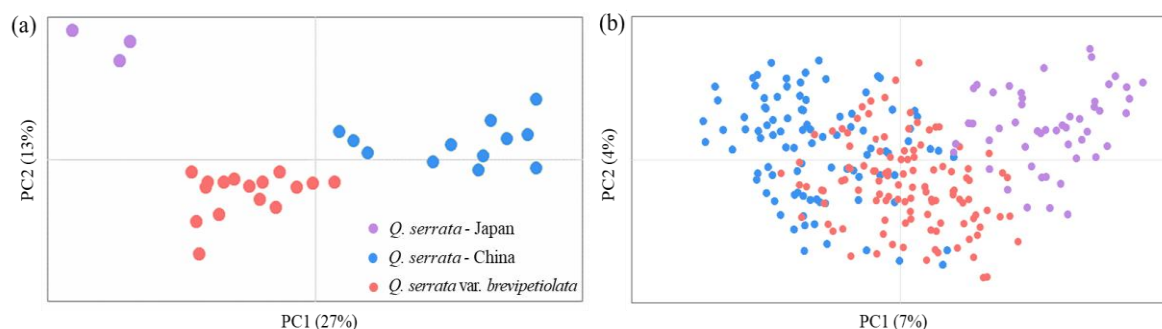


图 3.6 通过 GenAlEx v6.5 软件对枹栎和短柄枹栎在种群水平 (a) 和个体水平 (b) 进行主坐标分析结果

Figure 3.6 Genetic differentiation between *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* by principal component analysis (PCoA) among populations (a) and individuals (b) implemented in GenAlEx v6.5

进一步聚焦于中国地区的枹栎和短柄枹栎的同域和异域种群时，发现同域种群中遗传杂合个体的比例更高。在 Q 为 0.9 阈值下，同域种群的杂合个体比例为 43%，而异域种群为 30% (附表 3)。主成分分析结果显示无论在同域 (图 3.7a) 还是异域 (图 3.7b) 种群中，纯合个体和杂合个体在遗传空间中均存在一定程度的混合分布。此外，沿气候梯度的遗传变异模式结果表明，枹栎和短柄枹栎沿气候梯度的遗传变异在同域和异域种群中并无显著差异 (图 3.7c, d)。

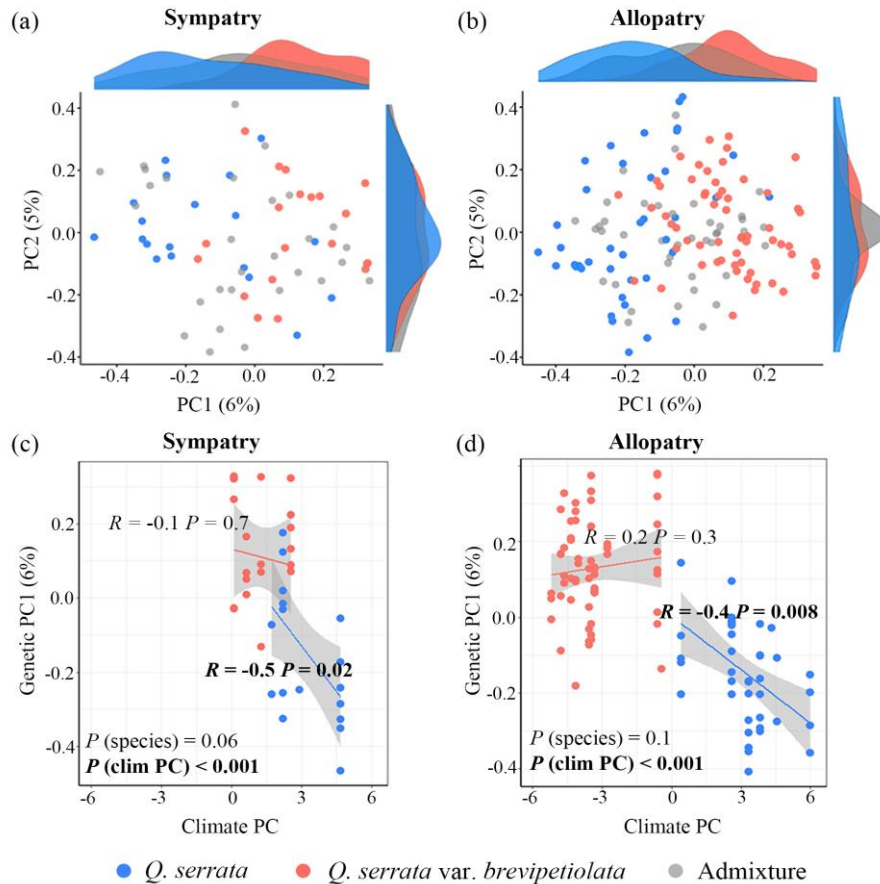


图 3.7 中国枹栎和短柄枹栎的遗传分化。同域种群 (a) 和异域种群 (b) 在个体水平的主成分分析图。基于遗传纯合个体，中国枹栎和短柄枹栎在同域种群 (c) 和异域种群 (d) 的遗传变异和气候的关系。灰色阴影区域表示回归线的 95% 置信区间

Figure 3.7 Genetic differentiation between *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China.

Principal component analysis (PCA) plot at individual level in sympatry (a) and allopatry (b).

Relationship between genetic and climatic PC for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China in sympatry (c) and allopatry (d) using genetically purebred individuals. The gray shading represents the 95% confidence interval (CI) of the regression line

3.3.3 种群动态历史

基于 Migrate-n 贝叶斯模型的历史基因流分析结果表明，中国枹栎、日本枹栎和短柄枹栎三组之间存在明显的非对称基因流，主要方向从中国枹栎向短柄枹栎，以及中国枹栎向日本枹栎流动， $N_e m$ 值分别为 42.0 和 14.1；而反向基因流相对较弱，从短柄枹栎和日本枹栎向中国枹栎的 $N_e m$ 值分别为 32.5 和 5.1（表 3.5）。

表 3.5 根据 Migrate-n 软件估算枹栎和短柄枹栎种群的历史基因流
 Table 3.5 Historical gene flow inferred by Migrate-n between *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* populations

	θ	每世代有效迁移个体数 $N_e m$		
		日本枹栎 <i>Q. serrata</i> -Japan →	中国枹栎 <i>Q. serrata</i> -China →	短柄枹栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i> →
<i>Q. serrata</i> -Japan	1.0 [0.7, 1.3]		14.1 [12.1, 15.8]	10.2 [8.8, 12.9]
<i>Q. serrata</i> -China	3.4 [2.9, 3.6]	5.1 [3.2, 6.3]		32.5 [26.7, 35.2]
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	2.4 [2.0, 2.5]	6.7 [5.2, 8.1]	42.0 [36.4, 42.4]	

注：后验分布的众数以粗体表示，方括号中的数值表示 95% 的置信区间； θ ：4 × 有效种群大小 × 每位点每世代突变率；→：源种群。

Note: Bold values indicate the posterior mode, and bracketed values represent the 95% credible interval; θ : 4 × effective population size × mutation rate per site per generation; →: the source populations.

在 DIYABC 的近似贝叶斯计算分析中，在四个假设情景中，根据线性直接回归与逻辑回归模拟测试，结果发现情景 1 的支持度最高（图 3.8），其后验概率为 0.80（95% 置信区间：0.79, 0.81），情景 1 的先验值与后验值均接近观测数据集，且多数关键参数的相对均方根误差（Relative median of the absolute error, RMAE）值较低，说明参数估计具有较好的精度与稳定性（表 3.6；图 3.9）。

最佳种群演化情景 1 表明：中国枹栎种群与日本枹栎种群最初从共同祖先群体中发生分化，随后短柄枹栎从中国枹栎种群中进一步分化出来（图 3.8）。此外，中国枹栎、短柄枹栎和日本枹栎的有效种群大小的后验中位数分别为 6.96×10^3 ， 8.35×10^3 和 8.28×10^3 ，而祖先群体的有效群体大小为 5.09×10^2 ，表明这三个组在分化后经历了种群的扩张（表 3.6；图 3.8）。近似贝叶斯计算分析推断中国枹栎与日本枹栎之间的分化时间中位数估计值（ t_2 ）为 4,390 代之前（95% 置信区间：1,640, 8,820 代）；短柄枹栎与中国枹栎的分化的时间（ t_1 ）中位数估计值为 429 代之前（95% 置信区间：105, 1,380 代）（表 3.6）。参考栎属物种研究中常用的世代时间 80 年^[159]，则中国枹栎与日本枹栎之间的分化时间和短柄枹栎与中国枹栎的分化的时间分别对应约 0.35 百万年前（Mya；95% 置信区间：0.13, 0.71 Mya）和 0.034 百万年前（95% 置信区间：0.008, 0.11 Mya）（表 3.6；图 3.8）。

表 3.6 近似贝叶斯计算中支持度最高的场景 1 的后验参数估计值，包括 2.5%和 97.5%分位数对应的后验概率分布以及相对均方根误差（RMAE）值

Table 3.6 Posterior parameter estimations for the best-supported scenario 1 in ABC. Distribution of posterior probabilities at 2.5% and 97.5% percentiles are indicated. Relative median of the absolute error (RMAE) of parameters of scenario 1 are indicated

参数 Parameter	中位数 Median	下限 (2.5%) Lower bound (2.5%)	上限 (97.5%) Upper bound (97.5%)	相对均方根误差 RMAE
NA	5.09×10^2	1.86×10^1	2.69×10^3	0.21
N1	6.96×10^3	3.33×10^3	9.75×10^3	0.14
N2	8.35×10^3	5.04×10^3	9.90×10^3	0.11
N3	8.28×10^3	5.15×10^3	9.89×10^3	0.13
t1	4.29×10^2	1.05×10^2	1.38×10^3	0.27
t2	4.39×10^3	1.64×10^3	8.82×10^3	0.23
μ	6.27×10^{-4}	3.23×10^{-4}	9.64×10^{-4}	0.20
p	1.98×10^{-1}	1.10×10^{-1}	2.96×10^{-1}	0.18

注：N1, N2, N3 和 NA 分别表示中国枹栎、短柄枹栎、日本枹栎以及祖先种群的有效种群大小；t1：中国枹栎和短柄枹栎之间的分化时间（世代）；t2：中国枹栎和短柄枹栎的共同祖先和日本枹栎之间的分化时间（世代）； μ ：突变率（每世代每位点）； p ：广义逐步突变模型中多步突变的比例。

N1, N2, N3 and NA represent the effective population sizes of *Q. serrata*-China, *Q. serrata* var. *brevipetiolata*, *Q. serrata*-Japan and ancestral population; t1 represents the divergence time in generations between *Q. serrata*-China and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*; t2 represents the divergence time in generations between *Q. serrata*-Japan and the ancestor of *Q. serrata*-China and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*; μ represents the mutation rate per locus per generation; p represents the proportion of multistep mutations under the generalized stepwise mutation model.

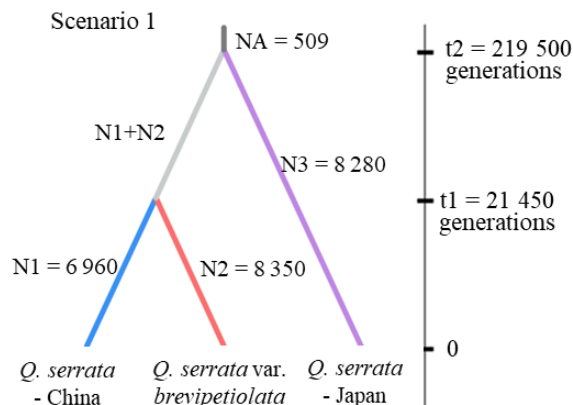


图 3.8 使用近似贝叶斯计算从四个假设情景中选出枹栎和短柄枹栎的最优种群历史情景。四个种群历史情景及其参数设置见图 3.3 和表 3.2。t#表示以世代数表示的时间尺度，N#表示有效种群大小

Figure 3.9 Optimal demographic history scenarios of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* from four hypothetical scenarios using approximate Bayesian computation (ABC). Four demographic history scenarios and parameter settings are shown in Figure S4 and Table S7. t# represents time scale in terms of the number of generations and N# represents the effective population size

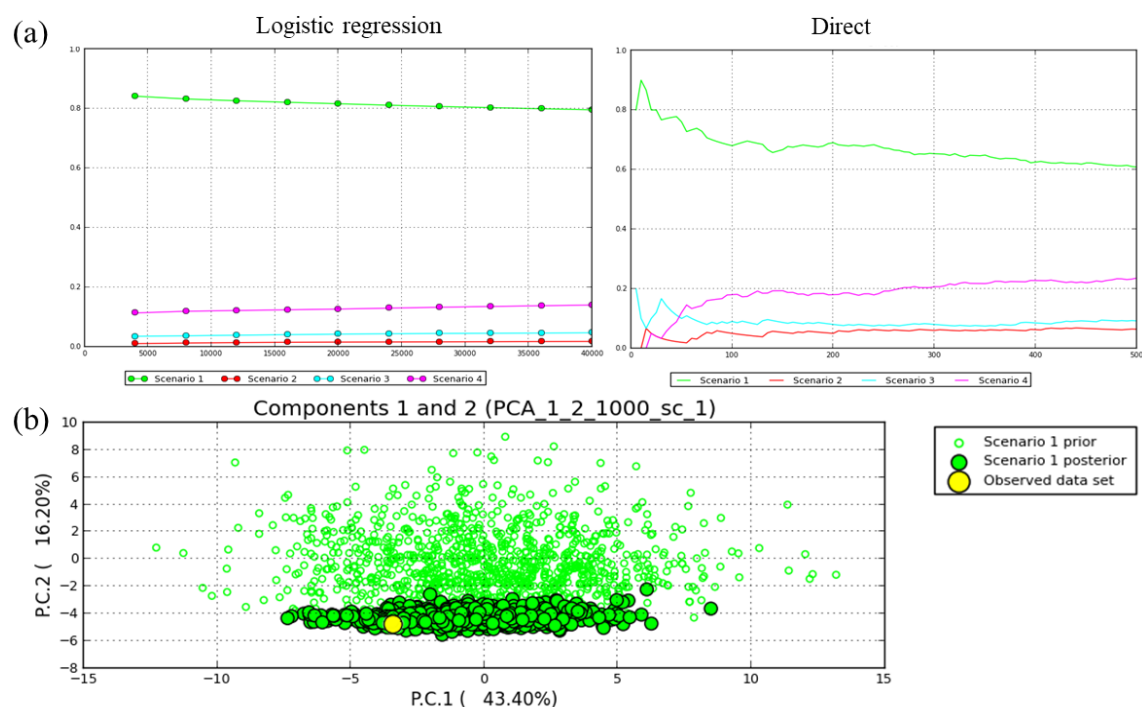


图 3.9 近似贝叶斯计算 (ABC) 结果。(a) 通过逻辑回归与直接回归获得的四种物种分化模拟情景后验概率, 情景 1 在线性直接回归与逻辑回归测试中均被视为最优情景。(b) 情景 1 的先验值与后验值均接近观测数据集, 证实所选情景的可靠性

Figure 3.8 Results from approximate Bayesian computation (ABC). (a) Comparison of posterior probabilities for four simulated scenarios of species differentiation obtained by logistic and direct regression. Scenario 1 was found to be the most probable in both the linear direct and logistic regression tests. (b) Prior and posterior values estimated for scenario 1 were close to the observed dataset, supporting the certainty of the chosen scenario

3.3.4 叶形态变异

综合采用几何形态学和传统形态测量方法对叶片性状变异进行评估。基于几何形态学数据的典型变量分析结果显示, 中国枹栎、短柄枹栎和日本枹栎沿 CV1 轴形成了三个相对清晰的类群, CV1 轴解释了总叶形变异的 89%, 且中国枹栎和短柄枹栎之间重叠较小, 中国枹栎与日本枹栎之间存在小范围重叠 (图 3.9a)。判别分析进一步证实中国枹栎、短柄枹栎和日本枹栎之间存在显著的叶形态差异 ($P < 0.001$; 图 3.9b,c,d)。

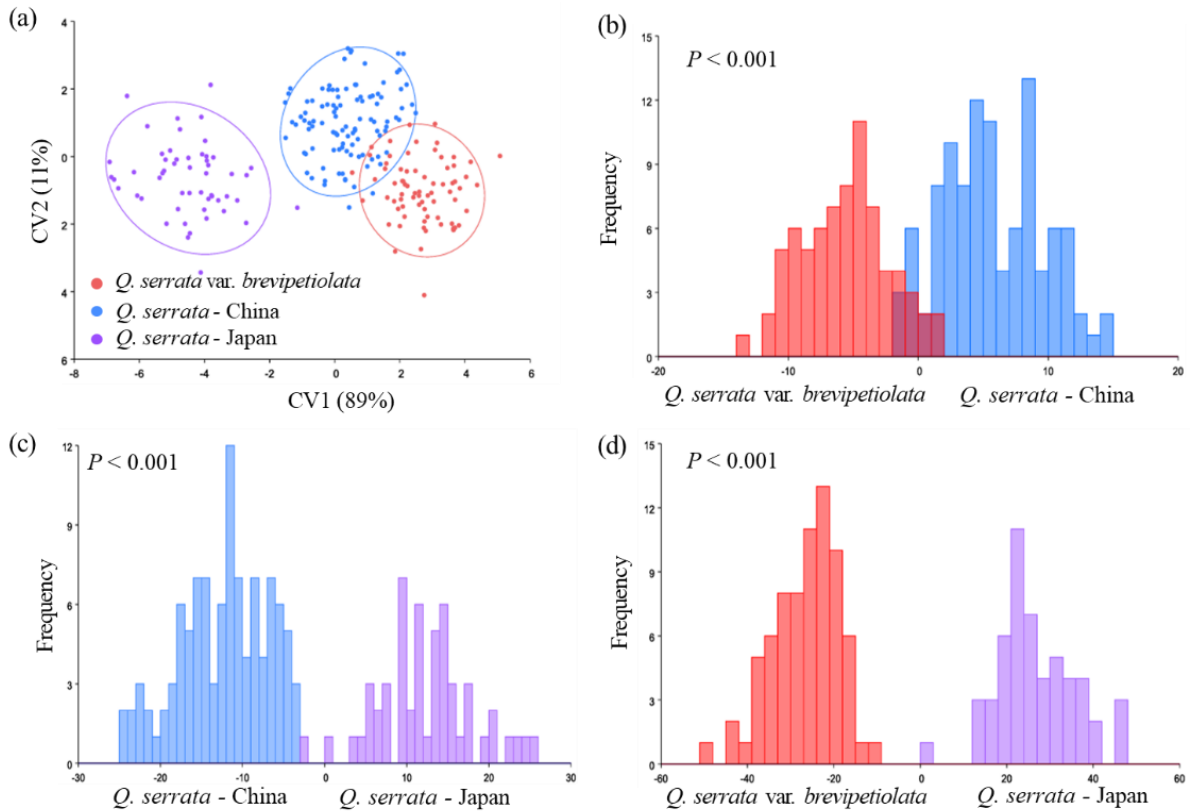


图 3.9 基于遗传纯合个体的中国栎、短柄栎及日本栎的叶片几何形态学分析。(a) 个体水平的典型变量分析散点图，含 90%置信椭圆。(b) 短柄栎和中国栎的叶形判别分析；(c) 中国栎和日本栎的叶形判别分析；(d) 短柄栎和日本栎的叶形判别分析

Figure 3.9 Leaf geometric morphometric analysis for *Q. serrata*-China, *Q. serrata* var. *brevipetiolata* and *Q. serrata*-Japan based on the genetically purebred individuals. (a) Scatter plot of the canonical variate analysis (CVA) at individual level with 90% confidence ellipses. (b) Discriminant analysis (DA) for the leaf shape differentiation of *Q. serrata* var. *brevipetiolata* vs. *Q. serrata*-China, (c) *Q. serrata*-China vs. *Q. serrata*-Japan, and (d) *Q. serrata* var. *brevipetiolata* vs. *Q. serrata*-Japan

使用传统形态测量法，结果检测到六项传统形态性状以及两项功能性状（叶面积与叶干重）在中国栎、短柄栎和日本栎三组之间均存在显著差异（图 3.10）。中国栎种群和日本栎种群的传统形态性状差异主要体现在叶柄长度这一性状上（图 3.10b）。短柄栎种群与中国栎种群的传统形态性状差异主要体现在叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、窦宽、叶最宽处到叶基部的长度、裂叶数量、叶面积和叶干重上（图 3.10）。

进一步聚焦于中国分布的枹栎和短柄枹栎的同域和异域种群间的叶形态变异研究，发现典型变量 CV1 和传统叶形特征主成分 PC1 分别解释了总叶形变异的 83% 和 77%，因此，分别以叶形 CV1 与传统性状 PC1 作为几何形态学方法和传统形态测量方法下叶片变异的综合替代指标。几何形态学（图 3.11a, b）和传统形态测量方法（图 3.11c, d）结果一致表明，枹栎和短柄枹栎之间的叶片性状分化在同域种群中显著高于异域种群。

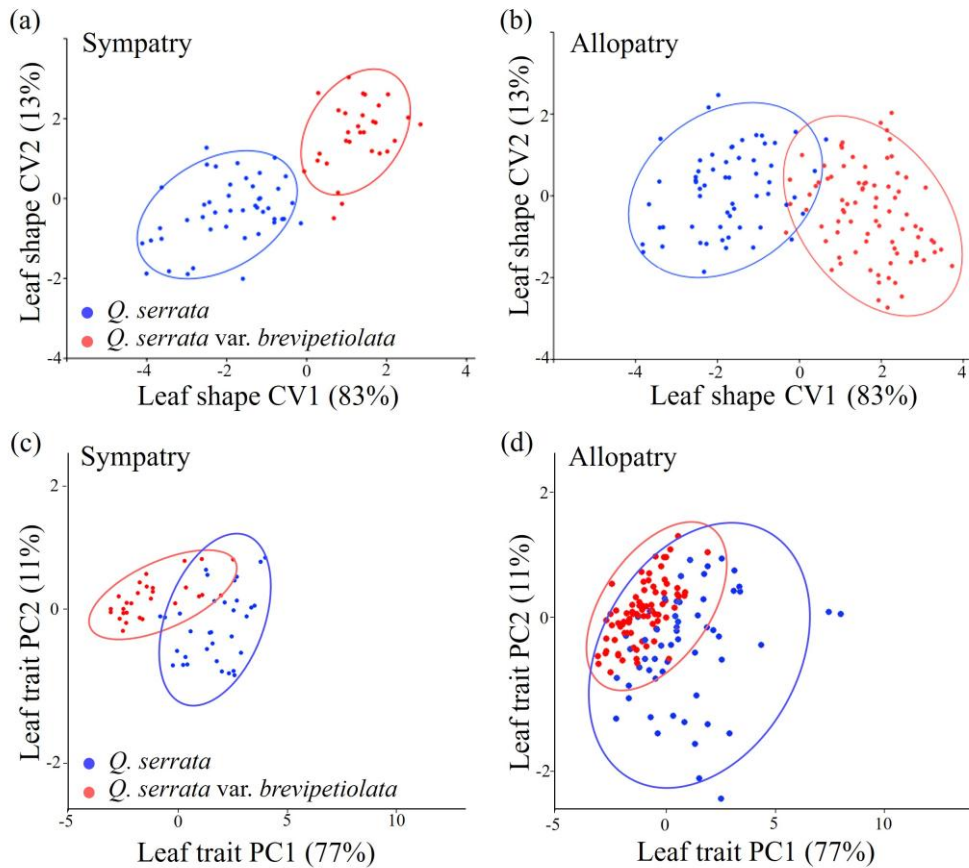


图 3.11 枹栎和短柄枹栎基于遗传纯合个体的叶片性状差异。采用几何形态学方法在同域种群 (a) 和异域种群 (b) 中个体水平的典型变量分析，含 90% 置信椭圆。采用传统形态学测量方法在同域种群 (c) 和异域种群 (d) 中个体水平的六项叶片性状主成分分析，含 90% 置信椭圆

Figure 3.11 Leaf trait difference for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China based on the genetically purebred individuals. Canonical variate analysis (CVA) plot of leaf shape measured by the geometric morphometric method (GMM) in sympatry (a) and allopatry (b) at the individual level with 90% confidence ellipses. Principal component analysis (PCA) of six multivariate traits measured by the traditional method in sympatry (c) and allopatry (d) at the individual level with 90% confidence ellipses

判别分析结果同样显示，同域种群中枹栎和短柄枹栎的叶形态差异显著高于异域种群（图 3.12）。此外，在具体性状上，叶片长度、叶柄长度、叶面积以及叶干重在同域种群中呈现出更强的分化程度（图 3.13）。

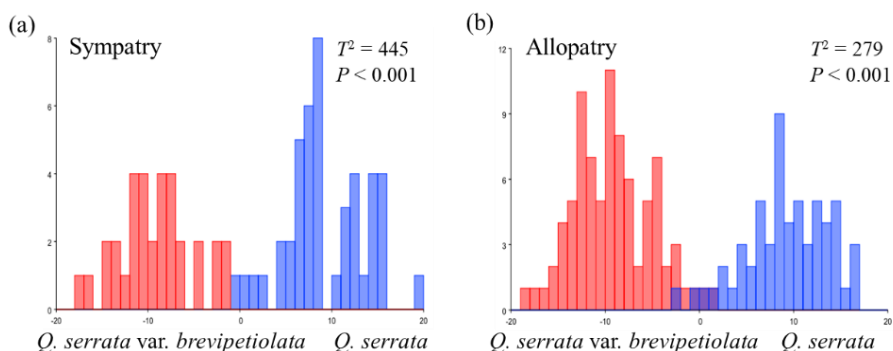


图 3.12 基于遗传纯合个体的中国枹栎和短柄枹栎在同域种群 (a) 和异域种群 (b) 的叶形态判别分析

Figure 3.12 Discriminant analysis (DA) of leaf shape in sympatry (a) and allopatry (b) at individual level for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* based on the genetically purebred individuals

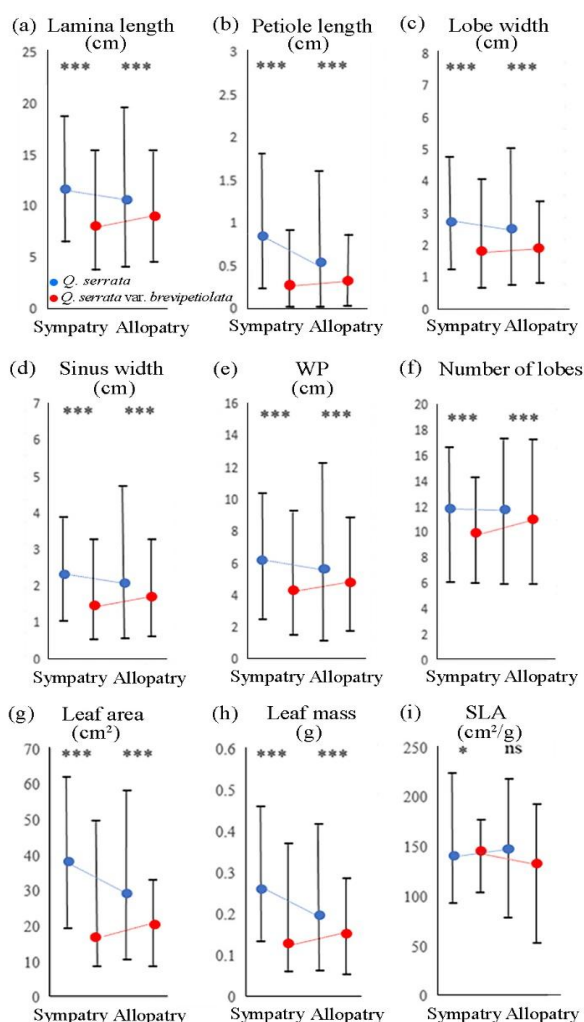


图 3.13 基于遗传纯合个体的枹栎和短柄枹栎在同域种群和异域种群的叶片性状差异。(a) 叶片长度；(b) 叶柄长度；(c) 叶片宽度；(d) 窦宽；(e) 叶片最宽处的叶长；(f) 裂片数量；(g) 叶面积；(h) 叶干重；(i) 比叶面积。误差棒表示 95%置信区间估计值。蓝色与红色线分别代表枹栎和短柄枹栎在同域种群和异域种群中的叶片性状差异。***, $P < 0.001$; *, $P < 0.05$; ns, 差异不显著

Figure 3.13 Leaf trait difference of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in sympatry vs allopatry based on the genetically purebred individuals. (a) lamina length; (b) petiole length; (c) lobe width; (d) sinus width; (e) WP; (f) number of lobes; (g) leaf area; (h) leaf mass; (i) SLA. Error bars are estimations of 95% confidence intervals. The blue and red lines represent the difference of leaf traits between sympatry and allopatry for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*, respectively. ***, $P < 0.001$; *, $P < 0.05$, ns indicates no significant difference

在特征替代检验中，除比叶面积外，其余所有性状的 $D_{\text{sym-allo}}$ 均为正值，表明同域种群中的种内性状差异普遍大于异域种群中；且在严格控制遗传纯合个体后，该结果仍保持不变（表 3.7）。

表 3.7 基于遗传纯合个体直接检测同域和异域种群中枹栎和短柄枹栎叶片性状分化

Table 3.7 Direct tests of leaf traits divergence for sympatric and allopatric populations of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* based on the genetically purebred individuals

性状 Trait	同域种群 Sympatry		异域种群 Allopatry		D_{sym}	D_{allo}	$D_{\text{sym-allo}}$
	枹栎 <i>Q. serrata</i>	短柄枹栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	枹栎 <i>Q. serrata</i>	短柄枹栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>			
Leaf shape CV1	-1.9	1.4	-2.1	2.0	-3.4	-4.1	0.7
Area (cm ²)	35.2	18.7	31.0	19.9	16.6	11.0	5.6
Mass (mg)	254.8	130.9	214.5	148.2	123.8	66.2	57.6
SLA (cm ² /g)	143.8	142.1	145.6	131.6	1.6	14.1	-12.5
Lamina length (cm)	11.1	8.1	10.6	8.5	3.0	2.1	0.9
Petiole length (cm)	0.8	0.3	0.7	0.3	0.6	0.4	0.2
Lobe width (cm)	2.6	1.8	2.6	1.9	0.9	0.7	0.2
Sinus width (cm)	2.3	1.5	2.2	1.6	0.8	0.5	0.3
WP (cm)	6.1	4.4	6.0	4.8	1.7	1.2	0.5
Number of lobes	11.9	9.8	11.5	11.1	2.1	0.4	1.7
Traditional trait PC1	1.5	-1.6	1.3	-1.0	3.2	2.3	0.9

标准主轴回归结果表明，枹栎和短柄枹栎的叶面积与叶干重之间均存在统计显著的尺度关系（表 3.8）。叶面积与叶干重呈相关性（ $0.5 < R^2 < 0.9$ ），且叶面积随叶干重增加的指数总体小于 1，即叶面积的增长幅度通常低于叶干重的增长幅度。

进一步比较同域和异域种群中枹栎和短柄枹栎的叶面积与叶干重之间的尺度参数发现：在同域种群中，枹栎和短柄枹栎的叶面积和叶干重缩放关系存在显著差异；而在异域种群中，枹栎和短柄枹栎呈现相同的 α 和 $\log\beta$ 值（表 3.8）。

表 3.8 基于遗传纯合个体估计同域种群和异域种群的栎栎和短柄栎叶面积与叶干重对数-对数线性关系中标准化主轴回归斜率 (α) 和截距 ($\log\beta$)

Table 3.8 Estimates of standardized major axis regression slopes (α) and elevations ($\log\beta$) for log-log linear relationships between leaf area and leaf mass for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* based on the genetically purebred individuals

	同域种群 Sympatry		异域种群 Allopatry	
	栎栎 <i>Q. serrata</i>	栎短柄栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	栎栎 <i>Q. serrata</i>	栎短柄栎 <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>
α	0.9	0.5	0.7	0.7
$\log\beta$	2.1	1.8	1.9	1.9
95% CI	(0.8, 1.0)	(0.3, 0.7)	(0.6, 0.9)	(0.6, 0.8)
R^2	0.8	0.5	0.7	0.8
P	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

注：95% CI：95% 置信区间，用于估计 α 值的精确性； R^2 ：决定系数，用于衡量统计模型对结果的预测拟合程度； P ：统计显著性，当 $P < 0.05$ 时差异显著。

Note: 95% CI indicates 95% confidence interval, estimated the precision of the α value. R^2 is coefficient of determination and indicates how well a statistical model predicts an outcome. P value indicates statistical significance at $P < 0.05$.

3.3.5 沿气候梯度变化的叶形态变异

气候主成分分析结果显示，栎栎和短柄栎所分布的气候条件在总体上少量的重叠（图 3.14）。

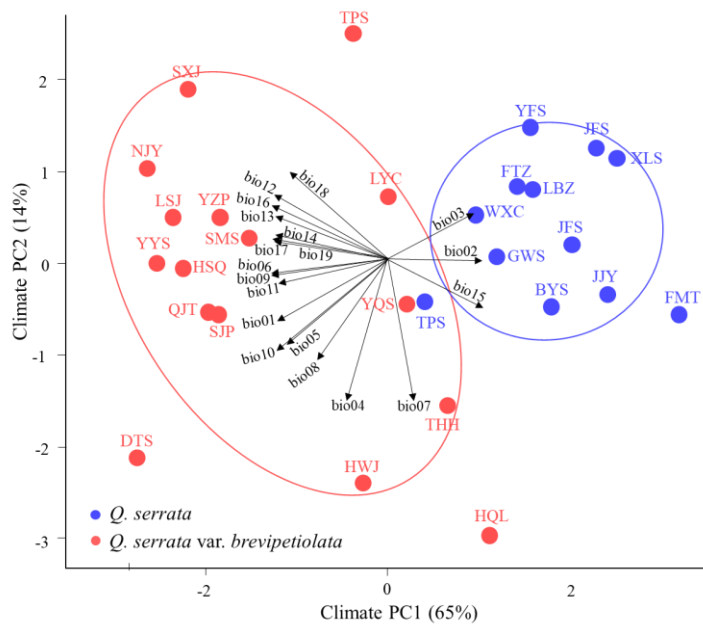


图 3.14 中国地区的栎栎和短柄栎种群的 19 个气候变量的主成分分析

Figure 3.14 Biplot obtained by principal component analysis (PCA) according to the 19 climate variables for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China

进一步分析叶片性状沿气候梯度的变化幅度与响应模式，发现同域种群中的叶形态变异高于异域种群（图 3.15），尤其体现在叶片长度、叶柄长度、叶面积和叶干重上（图 3.16）。此外，枹栎和短柄枹栎的叶片形态变异在同域种群和异域种群中对气候因子的响应存在差异。在同域种群中，短柄枹栎的叶片形态变异与气候之间的关联显著强于异域分布区，尤其体现在叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、窦宽、叶最宽处的叶长、裂片数、叶面积和叶片质量方面（图 3.16）。且短柄枹栎沿此气候梯度的叶片性状变异高于枹栎（图 3.15）。

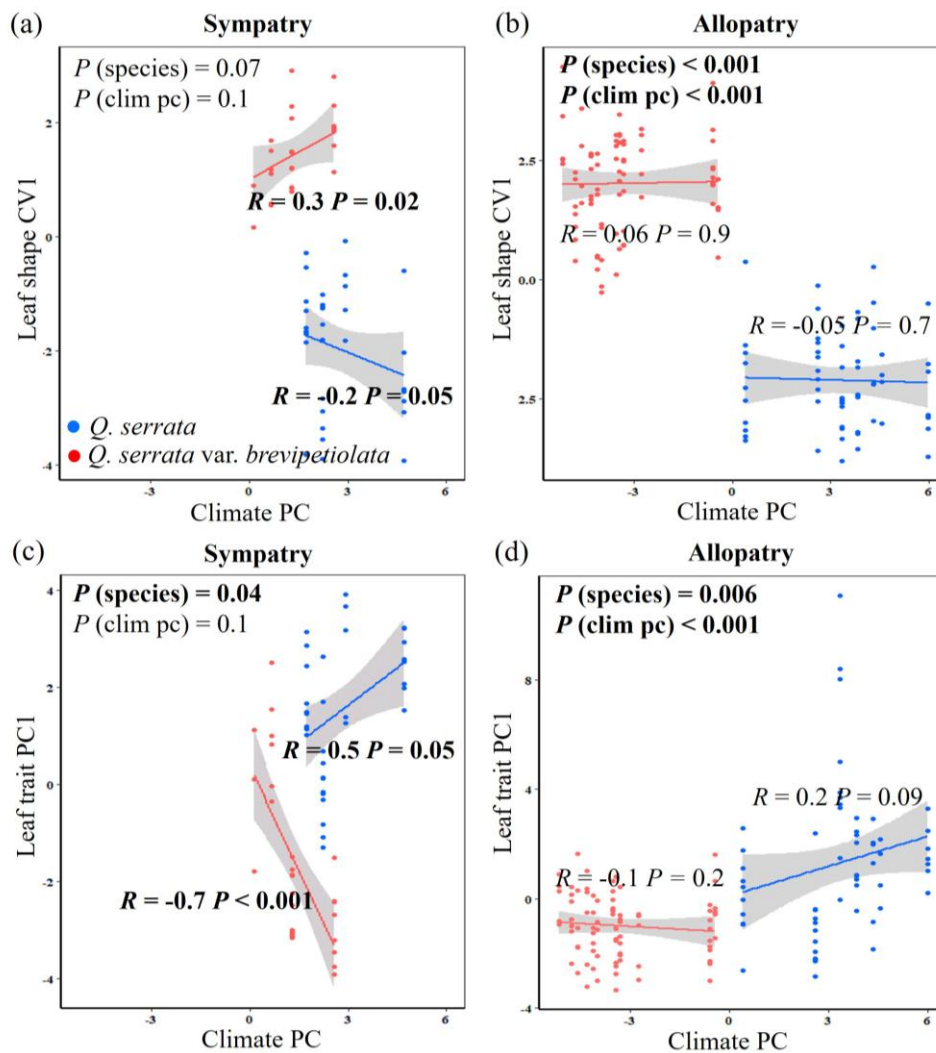


图 3.15 中国地区的枹栎和短柄枹栎基于遗传纯合个体的叶形态与气候主成分的关系。采用几何形态学方法分析同域 (a) 和异域种群 (b) 的叶形变异随气候主成分的变化趋势。采用传统形态学方法分析同域 (c) 和异域种群 (d) 的叶片性状变异随气候主成分的变化趋势

Figure 3.15 Relationship between leaf morphology and climatic PC for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China based on the genetically purebred individuals. Variation in leaf shape using the geometric morphometric method in sympatric (a) and allopatric (b) populations as a function of climatic PC. Variation in leaf traits using traditional morphological methods in sympatric (c) and allopatric (d) populations as a function of climatic PC

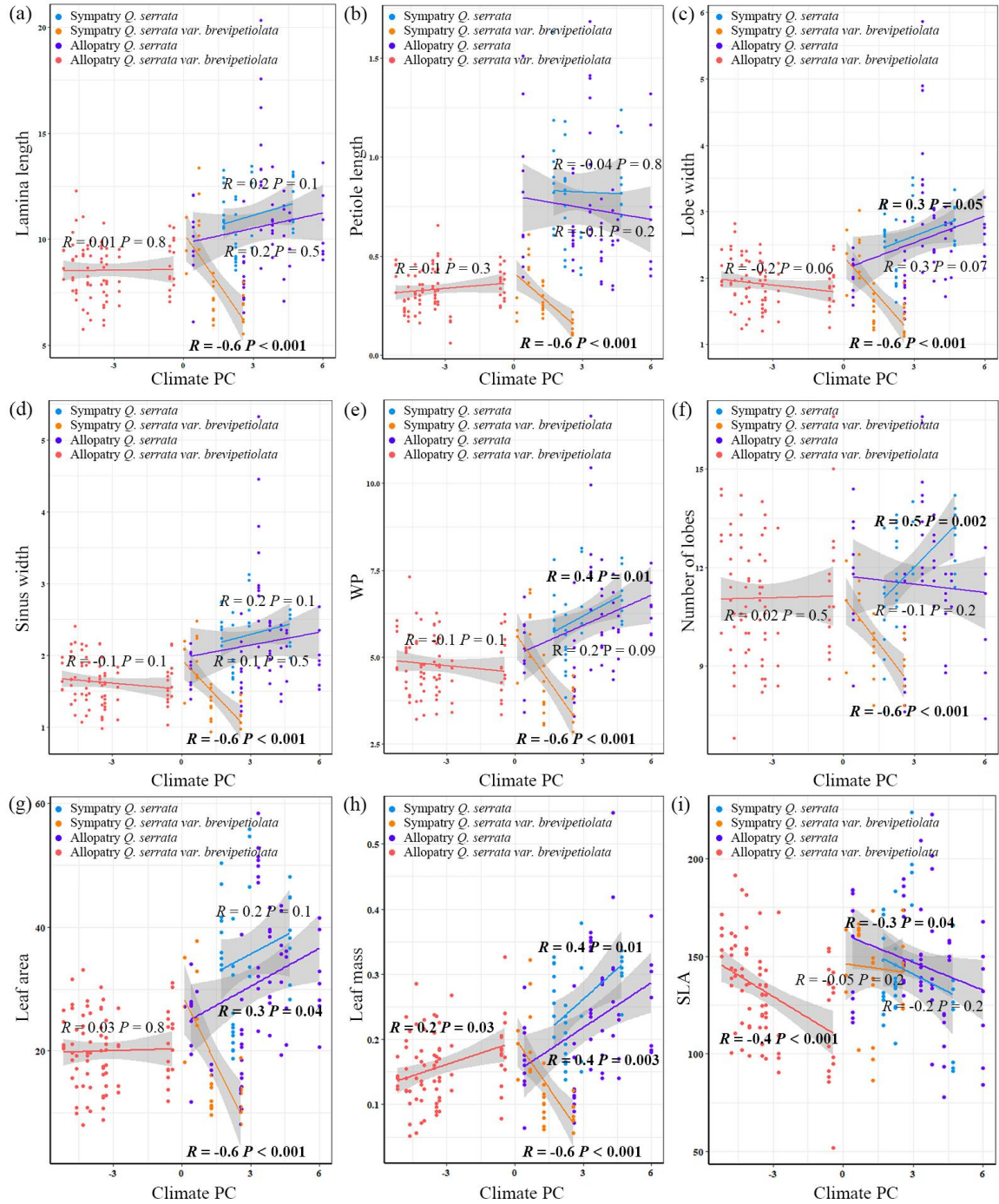


图 3.16 中国地区的栎和短柄栎种群基于遗传纯合个体的叶形态与气候主成分关系。(a) 叶片长度；(b) 叶柄长度；(c) 叶片宽度；(d) 窦宽；(e) 叶片最宽处的叶长；(f) 裂片数量；(g) 叶面积；(h) 叶干重；(i) 比叶面积

Figure 3.16 Relationship between leaf morphology and climatic PC for *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata* in China based on the genetically purebred individuals. (a) lamina length; (b) petiole length; (c) lobe width; (d) sinus width; (e) WP; (f) number of lobes; (g) leaf area; (h) leaf mass; (i) SLA

3.4 讨论

3.4.1 种群动态历史

研究表明中国枹栎种群和日本枹栎种群最初从共同祖先群体中发生分化,随后短柄枹栎从中国枹栎种群中进一步分化出来。不过,需要指出的是,基于微卫星数据推断的分化时间可靠性有待检验,由于微卫星位点突变率较高、突变模型复杂,容易产生同源突变,可能导致分化时间被低估,尤其是在种群扩张或基因流较强的情景下更为明显^[160, 161]。

在第四纪冰期期间,随着海平面下降,东海曾作为连接中国与日本的陆桥,促进了两地植物种群之间的基因交流^[162]。然而,在更新世晚期较温暖的间冰期(约4万至2万年前),海平面回升再次隔绝了这些区域,形成了二次接触的印记,并最终形成现今所观察到的地理隔离。类似的历史过程也被作为中日植物区系内众多植物类群的系统发育历史的解释,包括白栎组中的蒙古栎、槲栎和槲树^[42, 162]。

在中国范围内,本研究观察到不对称的历史基因流,主要方向是从枹栎种群向短柄枹栎种群流动。模拟研究表明,基因交流往往主要从本地(早期定殖)物种流向入侵(晚期定殖)物种^[140],这一结果在直觉上看似反常,但在动植物的多项实证研究中均保持一致。一个典型例子是尼安德特人基因组的研究发现基因流主要由本地尼安德特人流向后进入的现代人类^[163]。在此背景下,枹栎作为早期定殖物种,而短柄枹栎则代表晚期定殖物种,其基因流方向与这一广泛观察到的模式一致,并与针叶树^[141, 164]以及落叶栎树^[24]中观察到的模式相吻合。

3.4.2 同域竞争下的性状分化: 环境响应与资源策略权衡

尽管 Schluter 和 McPhail^[46]提出了较为严格的特征替代研究框架,但已有研究指出直接检验两个物种在同域种群的分化程度高于异域种群,就足以描述特征替代的模式^[45, 132, 165]。本研究使用两种不同的叶片性状测量方法,结果一致表明同域种群中的叶片性状变异均显著大于异域种群。几何形态学方法更能捕捉叶片整体形状与构型,而传统形态测量法更侧重于叶片的尺寸与数量特征。两种方法的互补使用能够识别仅依赖单一方法时可能遗漏的分化模式。统计检验结果表明这些性状差异很可能并非由随机表型可塑性引起,但需要注意的是表型可塑性本身也可能参与或促进特征替代^[14, 166]。

此外,短柄枹栎的叶片较小、叶柄较短、裂叶较少以及比叶面积较低,更偏向于采取资源保守型策略。已有研究表明裂片较多的物种通常与寒冷或干旱等环境相关,因为裂叶数量的增加有助于减少水分散失和有效叶面积,从而改善水分利用调节^[88, 92, 167]。同时,较短的叶柄会增加叶片重叠程度,可能会降低冠层对光的截获,但有助于保持叶片水分并缓解热胁迫^[168, 169]。这些性状特征符合资源保守型策略,该策略在竞争激烈或资源更受限的环境中往往更具优势^[86, 170]。因此,这表明较晚分化的短柄枹

栎为应对同域环境中较强的资源竞争压力，进化出更保守的叶片性状。本研究进一步检验了叶面积与叶干重的关系。结果显示，无论是早期定殖的枹栎还是晚期定殖的短柄枹栎，同域种群中的叶面积和叶干重的分化程度均高于异域种群。值得注意的是，叶面积与叶干重之间回归斜率在枹栎和短柄枹栎中表现出相反趋势，枹栎的 α 值由异域的 0.7 升高至同域的 0.9，而短柄枹栎的 α 值则由 0.7 降低至 0.5。这一结果表明在同域种群中，短柄枹栎单位叶面积对应更高的叶干重投入，更偏向资源保守型策略；而枹栎则更偏向资源获取型策略^[87]。短柄枹栎在同域种群中表现出的形态分化，可能代表生态物种形成或物种形成的早期阶段，通过性状分化降低直接竞争。而较早分化的枹栎更遵循较快的生活史策略，更侧重资源获取。如果这种同域分化过程持续进行，这些形态差异未来可能通过遗传固定，随时间推移导致枹栎和短柄枹栎之间进一步分化。

沿气候梯度的叶形态变异分析进一步表明，较晚定殖且分化时间较短的短柄枹栎对环境变化表现出更强的响应。枹栎和短柄枹栎在环境梯度上的叶片性状变异差异进一步揭示短柄枹栎在同域种群中可能面临更激烈的资源竞争。考虑到种群动态历史会影响种群的进化潜力，本研究推测种群动态历史的不平衡（例如有效种群大小的差异等）可能在晚期种的扩张与定殖过程中发挥了作用，从而促进了同域种群中叶片性状的分化^[43]。

值得注意的是，与同域种群中的叶形态分化显著高于异域种群的结果不同，本研究通过遗传标记并未检测到类似趋势。这种差异可能存在两种解释。第一种解释是观察到的形态差异主要源于表型可塑性，即同一基因型在不同环境中产生不同的表型^[17]。然而正如前文所述，尽管表型可塑性可能参与特征替代过程，但它难以完全解释多个种群中一致观察到的分化模式。第二种解释是本研究使用的中性遗传标记可能不足以捕捉适应性分化，仅反映中性遗传结构。某些与适应性分化相关的基因组区域（即基因组岛）可能与特定的适应性分化相关，从而导致形态差异^[171]。为更深入理解这一机制，未来需要进一步开展简化基因组测序、全基因组重测序甚至表观遗传学等研究，以识别相关区域并阐明适应性分化在性状形成中的作用。

3.5 小结

本研究以枹栎和短柄枹栎为研究对象，开展了覆盖其在中国-日本主要分布范围的研究，在跨区域尺度上系统解析了枹栎的遗传分化、历史基因流以及叶片形态变异，并在此基础上聚焦于中国同域和异域分布的枹栎及其变种短柄枹栎，进一步检验了种内特征替代。研究结果显示枹栎在中国和日本种群之间存在显著的遗传分化，并检测到主要由中国种群流向日本种群的基因流。该基因交流很可能发生在第四纪冰期，海平面下降，东海区域形成陆桥，从而促进了两地之间种群的迁移与扩散。随后，中国地区的枹栎种群进一步发生分化形成短柄枹栎种群。在此基础上，进一步比较同域和

异域种群中枹栎和短柄枹栎的遗传和叶形变异, 研究结果显示枹栎和短柄枹栎在同域和异域种群中的遗传分化差异并不显著, 表明仅依赖中性标记可能难以捕捉选择驱动的适应性分化。然而, 叶片性状分析研究表明枹栎和短柄枹栎在同域种群中的叶片性状变异高于异域种群。结合环境因子进一步支持上述同域的表型分化更强。此外, 枹栎和短柄枹栎的叶面积与叶干重之间存在显著的异速生长关系, 且短柄枹栎的叶面积相对于叶干重呈现更不成比例的下降趋势。综上, 本研究在中性遗传标记的基础上难以直接反映适应性分化的情况下, 叶片性状仍可在同域背景下呈现更强的分化信号, 表明短柄枹栎可能正处于早期生态分化过程中, 并揭示了种内特征替代在种内形态多样化与资源利用策略中的潜在作用。

4 生态特征替代的适应机制

4.1 引言

在生态进化研究中，一个长期而核心的问题是：如果把进化过程重演一次，最终是否会得到相似的适应性结果。美国古生物学家与进化生物学家 Stephen Jay Gould (1941-2002)^[172]提出进化是不可预测的理念，他认为表型受到物种历史的制约^[173]，如果地球历史被重启并再次演化，许多表型可能不会重复出现^[174]。这种进化过程中的偶然性也在大肠杆菌持续 6 万代的实验进化研究中得到了证据支持^[175]。然而，在彼此独立的类群中，相似的选择压力会导致不同进化谱系表型趋同的现象非常普遍，例如，三刺鱼种群在入侵淡水环境的过程中均表现出体表护甲的减少^[49, 176, 177]；不同岛屿的蜥蜴在占据加勒比海岛屿上的共同生态位空间时，也独立进化出相同的形态特征^[178]。这些研究表明适应性进化既可能具有强烈的偶然性，也可能在近缘类群间表现出较高的可重复性^[179]。

表型的趋同进一步引出了一个重要问题：相似的适应性表型是否由相同的遗传变化所驱动。当不同种群或物种在相似选择压力下反复利用相同的基因或等位基因频率变化时，通常表现为遗传趋同。也就是说当某一适应性性状主要受单效基因控制时，例如哺乳动物的毛色，不同种群或物种可能反复使用相同的遗传位点^[180, 181]。相反，如果某个表型性状是由多个基因控制的，不同种群可能通过不同的基因组合实现相似的适应性结果，这种现象则称为遗传冗余^[181, 182]。

特征替代本质上反映了竞争者存在与否所造成的不同选择压力差异，在没有竞争者存在时即异域种群中，性状变化主要受本地环境和物种自身遗传背景等因素影响；在有竞争者存在时即同域种群中，种间竞争可能进一步驱动性状发生变化，促进物种共存。因此，通过比较物种在同域和异域种群中的性状差异，可以判断竞争是否与表型分化有关。此外，同域种群中，若性状偏移主要发生在其中一个物种中，则表明特征替代具有不对称性。因此，在本研究的第二章和第三章揭示栎属特征替代的表型和遗传模式基础上，本章进一步利用全基因组重测序数据，从基因组水平上筛选可能受选择影响的候选基因组区域（基因组岛），解析造成特征替代的适应性分化是由遗传趋同还是遗传冗余所驱动。

4.2 材料与方法

4.2.1 全基因组重测序

使用第 2 章中榲栌和榲树中具有代表性的个体用于全基因组重测序，其中榲栌 20 个种群，38 个体；榲树 28 个种群，52 个体（附表 1）。样品筛选主要遵循以下原则：首先，基于第 2 章的种群遗传结构分析结果，优先选择以 Q 值为 0.9/0.1 判别的遗传纯合个体；其次，尽量覆盖榲栌和榲树的同域与异域分布区，以保证样品能够代

表两物种在不同分布条件下的遗传变异；第三，结合 DNA 质量和样品保存状况，筛选 DNA 浓度满足测序要求的个体。

为保证文库构建质量，首先对基因组 DNA 进行浓度和纯度的检测。对质检合格的 DNA 样品在 DNBSEQ 平台进行 DNA 小片段文库构建，并进行全基因组重测序，采用双端 150 bp 的测序策略，每个个体的测序深度为 30×。然后使用华大基因开发的 SOAPnuker v1.5.4^[183]软件对原始测序序列进行质量控制。首先删除包含接头的 reads；然后去除低质量碱基比例过高的 reads（如质量值 ≤ 5 的碱基占比超过 50%）；最后去除含未知碱基（N）比例超过 1% 的 reads，获得初步质量控制后的有效数据（Clean data）。

使用 Burrow-Wheeler aligner (BWA) v 0.7.17^[184]比对软件（参数: mem-R）将质控后的 clean reads 映射到榭树参考基因组上^[185]；在比对生成 SAM 文件后，使用 samtools（参数: sort）将比对结果从 sam（Sequence Alignment/ MAP）文件转为按基因组坐标排序后的 bam 文件，这是进行所有下游分析的基础。接着，为获得高质量的变异检测结果，必须对 bam 文件进行严格预处理，首先标记或移除 PCR 扩增引入的重复 reads，防止过度扩增带来的假阳性变异；接着使用 samtools view -q 30 参数严格过滤，剔除比对质量值低于 30 的低可信度比对结果，运用这两步处理可以显著提升数据的信噪比，确保变异检测准确性。最后使用 GATK v4.2.5.0^[186]对每个个体进行变异检测并合并所有样本，得到包含所有个体所有基因型的变异文件。

由于二代测序 reads 长度较短，且基因组中重复序列较多，容易造成 reads 错误比对，测序深度分布不均也可能增加变异检测中的假阳性。为降低假阳性率并获得高质量 SNP，本研究依据 GATK 官方推荐的严格过滤标准，使用 GATK v4.2.5.0 对初步检测得到的 SNP 进行过滤，具体过滤的参数设置为：gatk VariantFiltration -R ReferenceGenome.fasta -V SNP.vcf.gz -O SNPfiltered.vcf.gz --filter-name "ExcessHetFilter" --filter-expression "ExcessHet > 13.0" - filter-name "MissingRateFilter" --filter-expression "AN < (10*2*0.9)" --genotype-filter name "DPFilter" --genotype-filter-expression "DP < 10.0 || DP > 200.0" --genotype-filter name "AF04Filter" --genotype-filter-expression "isHet = 1 & (AD[1]/ (AD[0]+AD[1]+0.001)) < 0.4" --genotype-filter-name "AF06Filter" --genotype-filter expression "isHet = 1 && (AD[1] / (AD[0]+AD[1]+0.001)) > 0.6" --genotype-filter-name "HomoRefFilter" --genotype-filter-expression "isHomRef = 1 & (AD[0]/ (AD[0]+AD[1]+0.001)) < 0.99" --genotype-filter-name "HomoAltFilter" --genotype-filter expression "isHomVar = 1 && (AD[1]/ (AD[0]+AD[1]+0.001)) < 0.99" --genotype-filter name "ZeroRead" --genotype-filter-expression "AD[0]+AD[1] = 0"。最后运用 PLINK2 命令对初步过滤的 SNP 数据集再次进行严格的质量控制，主要包括：过滤掉次要等位基因频率（minor allele frequency, MiAF）低于 0.05 的位点；过滤掉在所有样本中基因型缺失率高于 5% 的位点；为减少连锁位点对后续分析的影响，本研究基于连锁不平衡（linkage disequilibrium, LD）对 SNP 数据集进行筛选，获得相互独立的变异位点，

参数设置为: `--indep-pairwise 50 10 0.2`。利用 SNPEff^[187]软件对变异位点进行注释, 根据参考基因组及基因组注释文件构建数据库。

4.2.2 遗传多样性、连锁不平衡和遗传结构

使用 VCFTOOLS v0.1.15 软件^[188]以 10 kbp 的物理长度为滑动窗口, 10 kbp 为步长, 进行非重叠滑动窗口法计算核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, π), 来评估种群的遗传多样性。

此外, 为了评估榲栌和榲树每个谱系的基因组水平的连锁不平衡 (Linkage disequilibrium, LD), 基于 MaxDist 参数为 100 kb 运用 PopLDdecay v3.40^[189]软件计算任意两个位点之间的等位基因频率相关性 (r^2), 平均所有 100 kbp 窗口内的结果后使用 PopLDdecay 软件中的 Plot_MultiPop.pl 脚本绘制 LD 衰减曲线图。

采用 ADMIXTURE v1.3.0 软件^[190]对个体的遗传信息进行分析并估计祖先比例。遗传簇数 (K) 预先设定为 1-10, 每个 K 值重复 20 次, 对每一个 K 值均通过交叉验证 (Cross-validation) 计算交叉验证误差 (CV error), 并以 CV 值最低的 K 作为最优聚类数。为进一步可视化遗传簇的分布格局, 使用 EIGENSTRAT 软件中的 smartPCA 模块进行主成分分析 (Principal components analysis, PCA)^[191]。PCA 输出结果在 R v4.0.2 软件中使用 ggplot2 包进行绘图展示 (<https://cran.r-project.org/web/packages/ggplot2/>)。

4.2.3 种群动态历史

马尔可夫合并 (Sequentially Markovian Coalescent, SMC++) 是一种基于贝叶斯推断的方法, 用于推断种群大小随时间变化的历史^[192]。本研究使用 SMC++方法来推断榲栌和榲树有效种群大小的动态变化。对于 SMC++分析, 估算范围为 10^3 - 10^7 代前的历史有效种群大小, 并根据假设世代时间为 50 年, 每世代每个碱基的突变率为 $\mu = 1 \times 10^{-8}$ 。

4.2.4 基因组岛检测

基因组岛 (genomic islands) 是指基因组中相对于中性背景或全基因组平均水平表现出异常高遗传分化的区域。Nosil 等 (2009) 将基因组岛定义为分化水平显著高于中性预期的基因组区域, 其尺度可以从单个位点到较大的连续染色体区域不等; 在物种或种群分化研究中, 这类区域可能与歧化选择有关, 但也可能受基因组结构、种群历史等因素影响。本论文采用遗传分化指数 (F_{ST}) 和跨群体复合似然比 (Cross-Population Composite Likelihood Ratio, XP-CLR) 联合筛选候选基因组岛。 F_{ST} 可反映不同种群间等位基因频率差异, 用于筛选相对于全基因组背景具有较高遗传分化的窗口。XP-CLR 通过整合连续基因组区域的多个 SNPs 信息, 利用“复合似然比”模型增强对选择信号的检测能力, 有利于捕捉因正选择导致的等位基因频率偏离和连锁不平衡变化。由于单一方法易受遗传漂变或模型参数的影响, 因此采用两者结果的交集

来筛选候选受选择区域,以提高选择信号检测的准确性和可靠性。首先在 VCFTOOLS v0.1.15 软件^[188]中基于非重叠的 10 kbp 滑动窗口法计算不同种群对之间的 SNPs 等位基因频率。接着使用相同滑动窗口大小进行计算 XP-CLR 统计量。 F_{ST} 和 XP-CLR 均采用前 5%的窗口作为选择信号区域,将 F_{ST} 和 XP-CLR 两种方法鉴别出的交集区域作为候选受选择区域(基因组岛),根据交集内的区间位置信息从注释文件中提取候选受选择区域内的位点作为候选位点进行后续分析。

4.2.5 识别遗传趋同和冗余位点

本研究参照 Crawford 等^[7]的方法,以候选位点在多个同域种群中的(minor allele frequency, MiAF)是否呈现跨种群的重复一致性,以及其相对于异域种群的偏离程度为依据,识别遗传趋同与遗传冗余位点。也就是说对于每个 SNP,基于所有同域种群的 MiAF 计算 95%置信区间,当同域种群中该位点的 MiAF 落在所有同域种群 MiAF 的 95%置信区间内,同时位于异域种群 MiAF 范围之外时,认为该位点在同域种群中表现出共同且显著的等位基因频率偏移,即遗传趋同位点。若某个 SNP 至少在一个同域种群中的 MiAF 落在异域范围内则为遗传冗余位点。根据 ADMIXTURE 推断的遗传结构,分为四个组:所有异域榭栎种群 vs.同域种群(Allopatry_QA vs. Sym)、异域榭栎北谱系 vs.同域种群(Allopatry_QAL1 vs. Sym)、异域榭栎南谱系 vs.同域种群(Allopatry_QAL2 vs. Sym)、所有异域榭树种群 vs.同域种群(Allopatry_QD vs. Sym)。首先使用 VCFTOOLS v0.1.15 软件^[188]计算每个同域种群以及每个分组中的所有异域种群在每个候选位点的等位基因频率,并提取最小等位基因频率。遗传趋同的判定标准为同一候选位点在多个同域种群中的最小等位基因频率相似,即某同域种群该位点的最小等位基因频率落在所有同域种群中该位点最小等位基因频率的 95%置信区间内。遗传冗余的判定标准为对于每个候选位点,在每个同域种群中计算其最小等位基因频率与异域种群的差值,并与其他每个同域种群的最小等位基因频率差值进行比较,若前者更小,则判定该位点更接近异域种群,支持遗传冗余。

4.2.6 顺式调控元件预测

顺式调控元件(cis-regulatory elements, CREs)是基因组中参与调控基因表达的非编码 DNA 序列,主要通过为转录因子等调控蛋白提供结合位点,影响靶基因的转录活性和时空表达模式。植物基因组中的顺式调控元件在生长发育、形态建成以及环境响应过程中具有重要作用,其序列变异可通过改变转录因子结合能力或调控强度,进一步影响基因表达差异,并可能参与植物表型分化和适应性进化。因此,对候选受选择区域中的潜在顺式调控元件进行预测,有助于从基因表达调控层面解析受选择位点参与适应性分化的潜在机制。

本论文对于通过 F_{ST} 和 XP-CLR 分析共同检测出的所有候选受选择区域,提取所有位于基因上游和下游区域的候选受选择区域的位点,从其 5'端和 3'端各提取 10 bp 的碱基序列,构建包含 SNP 位点的 21 bp 序列,用于预测潜在顺式调控元件。提取的

这些序列随后与植物顺式调控 DNA 元件数据库 NewPLACE (<http://www.dna.affrc.go.jp/PLACE/>) 进行序列相似性比对, 以识别其中可能存在的已知植物顺式调控元件序列^[193]。

4.2.7 富集分析

将受选择区域内的所有候选基因的氨基酸序列通过 BLASTP 程序比对至拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 基因组注释数据库 (TAIR, <https://www.arabidopsis.org/>) 提取同源基因。接着以拟南芥全基因组基因作为背景, 将拟南芥同源基因提交至 PANTHER 数据库 (<https://www.pantherdb.org/>) 进行基因本体 (Gene Ontology, GO) 富集分析^[194], 推断其生物过程与信号通路。富集显著性采用费歇尔精确检验 (Fisher's exact tests) 计算, 并采用错误发现率 (False discovery rate, FDR) 进行多重检验校正。

4.3 结果

4.3.1 全基因组重测序 SNP 位点统计

本研究采用全基因组重测序技术对榲栌和榲树样本进行测序, 测序深度与比对结果显示, 各样本平均测序深度为 43×, 并且 95% 以上个体的测序深度超过 30×, 与参考基因组的平均比率为 94%。在严格质量控制与位点过滤后, 最终保留 2,492,479 个 SNPs, 且 SNPs 在参考基因组的 12 条染色体上分布较为均匀, 未见明显的局部富集或缺失。

4.3.2 遗传结构、遗传多样性和连锁不平衡

基于全基因组 SNPs 评估榲栌和榲树的遗传结构, ADMIXTURE 的交叉验证结果表明, 交叉验证误差 CV 值在 $K=2$ 时达到最低值, 说明主要存在两个遗传聚类。在 $K=2$ 时, 榲栌和榲树个体明显分离, 但也存在一定程度的遗传成分混合; 当 $K=3$ 时, 榲栌内部个体进一步分化成北谱系 (Allopatry_QAL1) 和南谱系 (Allopatry_QAL2), 而榲树的祖先成分保持相对稳定。主成分分析得到与 ADMIXTURE 一致的结果, 不同分组在主成分空间中形成相对独立的聚类, 其中榲栌与榲树个体在 PC1 轴上明显分离。

遗传多样性与遗传分化的结果显示, 同域和异域分布的榲栌和榲树在核苷酸多样性水平上总体相近但存在差异 (图 4.1a)。其中, 异域榲栌南谱系遗传多样性最高 ($\pi = 1.90 \times 10^{-5}$), 且同域遗传多样性低于异域遗传多样性 (图 4.1a)。遗传分化结果显示, 榲栌在同域和异域种群之间的遗传分化 (两个谱系分别 F_{ST} 为 0.011 和 0.090) 高于榲树在同域和异域种群之间的遗传分化 ($F_{ST} = 0.006$), 且同域榲栌和榲树之间的遗传分化 ($F_{ST} = 0.31$) 高于异域榲栌和榲树之间的遗传分化 ($F_{ST} = 0.128, 0.091$) (图 4.1a)。连锁不平衡分析表明, 同域的榲栌和榲树种群表现出缓慢的 LD 衰减模式, 异域的榲栌和榲树种群表现出快速的 LD 衰减模式 (图 4.1b)。

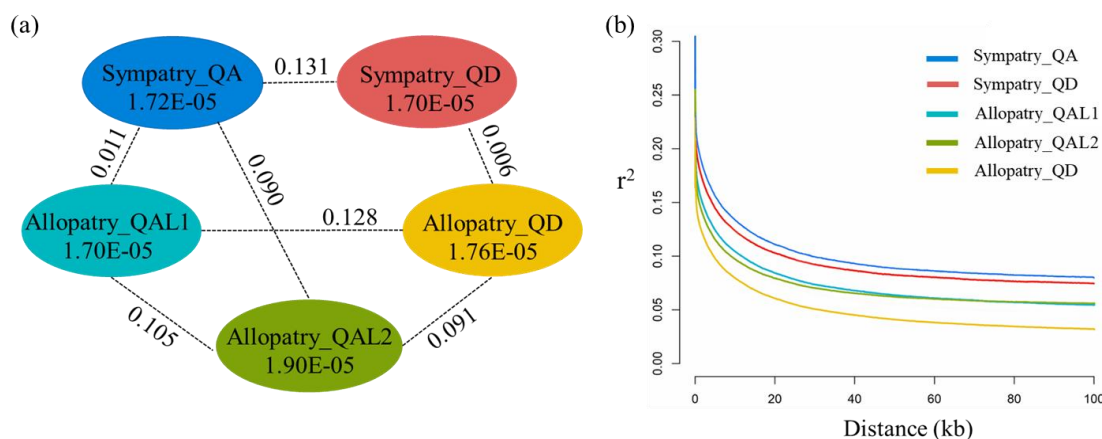


图 4.1 同域和异域分布的槲栎和槲树的遗传多样性、遗传分化和连锁不平衡。(a) 各分组间的核苷酸多样性和遗传分化。每个圆圈中的数值代表不同支系的核苷酸多样性，每条线上的数值表示两两组间的遗传分化。(b) 各组的连锁不平衡衰减

Figure 4.1 Nucleotide diversity, genetic divergence and linkage disequilibrium (LD) between *Q. aliena* and *Q. dentata* in sympatry and allopatry. (a) Comparison of nucleotide diversity and pairwise genetic differentiation among the five groups. The number inside each circle indicates nucleotide diversity (π) for a given group, and the number associated with each connecting line represents pairwise F_{ST} . (b) Linkage disequilibrium decay across the five groups

4.3.3 种群动态历史

基于 SMC++ 的共祖推断结果显示，同域和异域的槲栎和槲树种群经历了相似但幅度不一的种群动态变化，在一千万年前到十万年前之间，五个组均经历了有效种群大小收缩-扩张-收缩的历史事件，大约在四万年前，五个组均出现了有效种群大小扩张事件（图 4.2）。

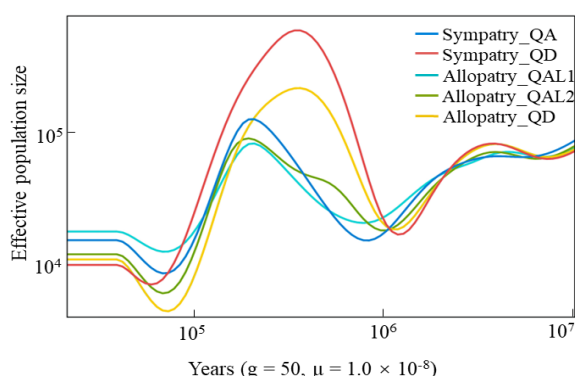


图 4.2 基于 SMC++ 推断的槲栎与槲树各分组历史有效种群大小变化，曲线整体反映各组在历史时期的群体扩张与收缩过程。所有轨迹均使用 50 年的世代时间和每世代每位点突变为 $\mu=1 \times 10^{-8}$ 进行缩放

Figure 4.2 Demographic history of *Q. aliena* and *Q. dentata* inferred by SMC++ analysis. Colored curves represent the inferred demographic trajectories of each group, depicting long-term population expansions and/or declines. All trajectories were scaled using a generation time of 50 years and a mutation rate of 1×10^{-8} per site per generation

4.3.4 选择性信号检测

基于 10 kbp 非重叠滑动窗口对全基因组进行扫描, 分别使用 F_{ST} 和 XP-CLR 两种方法检测候选选择信号, 结果显示在所有异域榲栌种群与同域种群之间的 F_{ST} 检测出 3,714 个高遗传分化区域, XP-CLR 检测出 1,499 个选择信号区域, 重叠的区域为 442 个, 作为候选受选择区域, 提取出 7,291 个 SNPs; 在异域榲栌北谱系与同域种群之间的 F_{ST} 检测出 3,664 个高遗传分化区域, XP-CLR 检测出 1,689 个选择信号区域, 候选受选择区域为 354 个, 提取出 7,943 个 SNPs; 在异域榲栌南谱系与同域种群之间的 F_{ST} 检测出 3,687 个高遗传分化区域, XP-CLR 检测出 2,067 个选择信号区域, 候选受选择区域为 556 个, 提取出 10,904 个 SNPs; 在所有异域榲栌种群与同域种群之间的 F_{ST} 检测出 3,369 个高遗传分化区域, XP-CLR 检测出 1,404 个选择信号区域, 候选受选择区域为 344 个, 提取出 6,391 个 SNPs。其中, 异域榲栌南谱系与同域种群对的候选受选择区域数量最多 (556), 表明该谱系可能存在更强或更广泛的选择扫荡信号; 所有异域榲栌种群与同域种群对在两种方法下检测出的候选受选择区域数量相对较少 (F_{ST} : 3,369; XP-CLR: 1,404), 表明其分化信号的强度或范围相对较弱。

4.3.5 趋同和冗余位点识别

参照 Crawford 等^[13]的方法结果显示, 所有异域榲栌种群与同域种群对之间检测出 2,959 个趋同位点和 4,332 个冗余位点, 分别注释到 321 和 344 个基因上; 异域榲栌北谱系与同域种群对之间检测出 2,403 个趋同位点和 5,540 个冗余位点, 分别注释到 253 和 287 个基因上, 其冗余比例在四组中最高; 异域榲栌南谱系与同域种群对之间检测出 3,928 个趋同位点和 6,976 个冗余位点, 分别注释到 419 和 467 个基因上; 所有异域榲栌种群与同域种群对之间检测出 2,824 个趋同位点和 3,567 个冗余位点, 分别注释到 239 和 243 个基因上。参与遗传冗余的高分化位点的数量和比例整体均高于参与遗传趋同的高分化位点。

4.3.6 顺式调控元件预测以及功能注释

通过比对植物顺式调控元件数据库结果显示, 40% ~ 65% 的 SNPs 位于已知植物 DNA 顺式调控元件中。此外, 10% ~ 21% 的 SNPs 位于光响应元件 (如 G-box)、温度响应元件 (如 LTR)、水分胁迫相关元件 (如 ARE)、花粉和花发育相关调控元件 (如 AGL1), 且冗余 SNPs 的调控元件数量更高。其中, 参与温度和水分联合调控的调控元件包括 ABREZMRAB28 和 ACGTROOT1。

在所有异域榲栌种群与同域种群对中, 参与趋同的 SNPs 约 65% (319 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中, 其中约 12% (59 个) 与光照、水分、温度和花发育相关; 参与冗余的 SNPs 约 44% (306 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中, 其中约 13% (89 个) 与光照、水分、温度和花发育相关。在异域榲栌

北谱系与同域种群对中,参与趋同的 SNPs 约 40% (132 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 10% (33 个) 与光照、温度和花发育相关;参与冗余的 SNPs 约 48% (336 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 13% (91 个) 与光照、水分、温度和花发育相关。在异域榲栌南谱系与同域种群对中,参与趋同的 SNPs 约 50% (342 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 14% (96 个) 与光照、水分、温度和花发育相关;参与冗余的 SNPs 约 54% (552 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 16% (163 个) 与光照、水分、温度和花发育相关。在所有异域榲树种群与同域种群对中,参与趋同的 SNPs 约 42% (144 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 12% (41 个) 与光照、水分、温度和花发育相关;参与冗余的 SNPs 约 65% (307 个) 被预测位于已知的植物 DNA 顺式调控元件中,其中约 21% (99 个) 与光照、水分、温度和花发育相关。

本论文将显著富集的基因本体(GO)术语根据其 GO 定义和注释功能进行分类。与器官形成、细胞分化和发育过程相关的术语归为形态建成与发育(morphological construction and development);与生物/非生物胁迫、防御反应、激素响应和氧化胁迫响应相关的术语归为胁迫响应(stress response);与代谢过程、生物合成、分解代谢、物质运输和跨膜运输相关的术语归为代谢与运输调控(metabolism and transport regulation)。并分别统计了每组中趋同位点和冗余位点对应的富集基因数量。就富集条目特征而言,趋同位点注释到的基因主要富集于性状相关的发育通路,如组织和器官发育及与生殖结构相关过程,而冗余位点注释到的基因主要富集于调控网络与代谢和运输过程。从富集基因数量来看,富集到与形态构建与发育过程相关的基因在趋同位点和冗余位点中均最高。冗余位点中与代谢与运输调控过程相关的基因数量整体高于趋同位点。此外,物种层面比较显示,榲栌在形态构建与发育、胁迫响应以及代谢与运输调控三类中富集的基因数量整体高于榲树。

物种特异基因的功能注释结果显示,榲树与榲栌之间存在显著的功能差异。仅在所有异域榲树种群与同域种群对中检测出的基因(如 *LCR*、*ACCI*、*UGE3* 和 *DMR6* 等,位于 2、3、8、9 和 12 号染色体)主要与抗逆、角质层蜡质合成及生殖发育相关,揭示其可能参与对干旱和低温环境的适应。在榲栌与同域种群对中发现的基因(如 *TGA9*、*AGL3*、*ACA9* 和 *UBP12* 等,位于 1、2、5、6、10 和 12 号染色体)则多与花器官发育、花粉管生长及光周期调控有关,反映出两者在生殖与发育调控上的分化(表 4.3)。且部分基因,如 *LCR* 和 *DGK3* 等,在以往研究中已被报道可响应干旱、低温及盐胁迫等环境因子。

4.4 讨论

4.4.1 特征替代的基因组证据：遗传趋同与遗传冗余

特征替代强调物种在同域种群中由竞争驱动适应性分化。近期研究指出，早期同域形成即可出现方向性选择，并且这种选择过程能够累积为可重复的分化模式，为从过程到模式的证据提供了关键支撑^[195]。本研究以同域和异域种群为切入点，首先在全基因组水平上检测到了广泛的选择相关的分化信号，基于 10 kbp 非重叠窗口的扫描显示，四组对比中 F_{ST} 检测到 3,369-3,714 个高分化区域，XP-CLR 检测到 1,404-2,067 个选择信号区域，且分布于 12 条染色体上，表明分化信号呈现多区域分布特征，并非由少数单一片段主导。

在同域竞争导致的特征替代过程中，基因组层面的适应性分化至少可以从两种互补视角来理解：共享的遗传趋同与特异性的遗传冗余。趋同是指在独立的种群或物种中相似选择压力会反复促成相似的适应结果，体现在核苷酸层面共享的变异上，强调多个同域种群在相同位点上出现一致的等位基因频率变化^[7, 176, 177, 196, 197]。由于选择可能导致等位基因频率在不同群体间发生可检测的偏移，在起始频率较低等情景下，频率变化在低频区间更敏感，因此本研究采用最小等位基因频率作为描述位点频率差异的指标。在四组同域-异域组中，检测到 2,403-3,928 (30%-44%) 个趋同位点，表明在同域竞争相关的分化过程中，确实存在一部分位点在多个同域种群上出现一致的等位基因频率偏移，符合共享位点参与适应性分化的预期。在同一基因或同一基因组区域出现类似比例的遗传趋同在不同系统中并不罕见，对真核生物趋同进化的综述指出共享同一基因的趋同概率平均约为 32%^[198]，例如三刺鱼的不同种群可共享 37% 的相同基因组窗口^[199]。

第二种观点是遗传冗余，指潜在可用于适应的等位基因数量远多于实现适应所必需的等位基因数量，因此多种不同的等位基因组合可能产生相似的适应性表型^[181, 200-203]。在本研究结果中，冗余位点的数量 (3,567-6,976) 和比例 (56%-70%) 在四组中均高于趋同位点的数量 (2,403-3,928) 和比例 (30%-44%)，表明特征替代的遗传机制更接近多位点、多路径的冗余适应，但仍包含跨同域种群重复出现的趋同信号。值得注意的是异域榲栌南谱系与同域种群对中冗余位点最多，且异域榲栌南谱系的遗传多样性最高。冗余的另外一个重要方面是由于可行组合很多，适应等位基因未必会走向固定，从而更容易维持遗传多态性^[181, 200]。需要指出的是，本章中关于遗传趋同和遗传冗余的判定主要基于候选受选择区域内的位点在同域和异域种群间的最小等位基因频率变化。该方法能够从全基因组水平筛选出可能与同域适应性分化相关的候选位点，但其本质上仍是一种统计推断方法。由于等位基因频率差异可能同时受到种群历史以及取样范围等的影响，因此，当前结果更适合作为揭示潜在遗传机制的候选证据。此外，由于本章在分析中将同域榲栌和同域榲栌共同作为同域种群 (Sym) 进行比较，因此所识别的候选分化位点可能同时包含两类信号：一方面，这些位点可能反映异域

榲栌与同域榲栌之间的适应性差异；另一方面，也可能代表榲栌与榲树之间的物种间遗传差异。因此，未来研究有必要在更精细的种群分组基础上，分别开展种内同域和异域比较和种间分化比较。

4.4.2 适应性分化的功能基础

功能富集结果进一步支持趋同和冗余在功能上的差异，趋同位点注释到的基因更偏向形态构建与发育相关过程，冗余位点更偏向调控代谢与运输过程，且冗余位点富集到的基因数量最多。表明特征替代并不一定依赖少数关键位点，更可能通过不同遗传组合产生相似的功能，从而在基因组层面表现为趋同与冗余并存且冗余占主导的总体格局。遗传冗余与多基因适应研究普遍指出，在多位点适应中，不同种群常常通过不同等位基因集合产生相近表型或适合度，这会降低位点层面的可重复性，但在功能层面仍可表现出一致的适应方向^[204]。

GO 富集结果显示，与形态构建和发育相关的基因在四组同域—异域对中均占据主导，并且在趋同和冗余位点中均数量最多，表明在同域竞争背景下，驱动分化的选择压力很可能反复作用于形态建成相关的发育调控网络。而且冗余位点富集到代谢和运输调控过程的基因数量普遍高于趋同位点，表明代谢与运输过程往往由多基因网络协同调控，存在更多可替代的功能位点，因此更容易通过不同位点组合实现相似的功能，这与遗传冗余的核心观点一致，即多个不同的基因型组合可以产生相近的表型或适合度^[200,204]。在植物基因组中，基因重复与旁系同源基因之间的补偿作用能够维持功能冗余，使不同基因或不同调控单元在适应过程中具有可替代性，为不同遗传路径实现相似功能提供了分子层面的背景^[203]。此外，榲栌呈现更强的选择信号并富集到更多候选基因，可能与同域竞争强度与基因流方向相关。首先，在同域竞争条件下榲栌往往承受更强的选择压力^[24]，从而对与形态建成及生理调控相关的多基因网络施加更强或更持续的方向性选择。其次，栎属植物中普遍存在杂交与渐渗现象，已有研究表明榲栌和榲树之间存在非对称基因流，从榲树向榲栌的基因流更强^[24]，可能是由于等位基因的渗入增加了遗传变异，并与自然选择共同作用的结果，从而筛选出更多的位点和基因数量。此外，物种特异候选基因筛选发现榲树更多涉及抗逆相关过程、角质层蜡质合成与生殖发育过程；榲栌则更多涉及花器官发育、花粉管生长与光周期调控等过程，这些结果与两个物种的生态差异和物候特征具有一致性，榲树多分布于较干旱、寒冷的地区，其开花时间晚于榲栌；而榲栌具有更光滑的茎和较大的根系倾斜角，表明抗逆性与生殖发育相关过程可能共同驱动了两个物种间的适应性分化。

4.5 小结

基于榲栌与榲树的全基因组重测序数据，运用基因组扫描筛选同域和异域种群中的受选择区域并鉴定趋同和冗余位点并进行功能富集，系统评估了榲栌和榲树适应性分化的基因组证据。在选择性信号检测方面，基于 F_{ST} 和 XP-CLR 联合扫描到的候选

受选择区域在四组同域—异域对中存在差异性分布。进一步结合最小等位基因频率识别趋同和冗余位点，发现参与遗传冗余的位点数量和比例整体高于参与遗传趋同的位点，表明适应性分化更可能通过多位点、多路径的遗传组合实现，同时存在跨同域点可重复出现的趋同信号。功能富集结果进一步支持趋同和冗余位点在功能上的差异，与形态构建和发育相关的基因在四组同域—异域对中均占据主导。而且冗余位点富集到代谢和运输调控过程的基因数量普遍高于趋同位点。揭示了特征替代并不一定依赖少数关键位点，更可能通过不同遗传组合产生相似的功能，从而在基因组层面表现为遗传趋同与冗余并存且冗余占主导的总体格局。

5 结论与展望

5.1 主要结论

本研究以栎属白栎组物种中的槲栎和槲树、枹栎及短柄枹栎为研究对象，探究栎属物种在不同分布条件下的分化格局及其潜在遗传机制。首先利用微卫星分子标记数据结合叶片性状，系统解析不同分布条件下的遗传结构、基因流、叶片性状分化格局，并评估这些分化模式是否与生态特征替代假说的理论预期相一致，并进一步基于全基因组重测序数据，从基因组水平上解析与特征替代相关的信号及其潜在调控特征。主要结论如下：

(1) 基于 47 个槲栎和槲树的自然种群，778 个个体的基因分型与叶片性状数据的测量和比较分析，并在局域尺度上界定同域与异域种群。种群遗传学分析表明，与异域种群相比，槲栎和槲树在同域种群中的遗传分化更强，且检测到不对称的历史基因流，方向主要从槲树到槲栎；同时，同域条件下的种间基因流强度相对较弱。叶片性状分析表明，两个物种在同域种群中的叶片性状分化显著高于异域种群，而且槲栎在同域环境中表现出更强的性状变异。进一步在控制相关环境差异后，上述结论仍成立。槲栎和槲树在同域种群中表现出非对称的性状分化格局，这一模式可能源于物种种群动态的不对称性所导致的差异化种间选择压力，从而驱动了非对称的种间生态特征替代。

(2) 以 27 个枹栎和短柄枹栎的自然种群，208 个个体为研究对象，检验栎属物种的种内遗传和叶片性状分化模式，并结合日本地区的枹栎种群，以阐明更大尺度的种群分化与历史基因流背景。种群遗传学结果表明，中国和日本枹栎种群之间存在较高的遗传分化水平，并检测到不对称的基因流，方向主要由中国种群流向日本种群。该基因交流很可能发生在第四纪冰期，海平面下降，东海区域形成陆桥，从而促进了两地之间种群的迁移与扩散。随后，中国境内的枹栎种群进一步发生分化形成短柄枹栎种群。在此基础上，进一步比较同域和异域种群中枹栎和短柄枹栎的遗传和叶形变异，研究结果显示，枹栎和短柄枹栎在同域和异域种群中的遗传分化差异并不显著，表明仅依赖中性标记可能难以捕捉选择驱动适应性分化。然而，叶片性状分析研究表明枹栎和短柄枹栎在同域种群中的叶片几何形态及八个传统叶片性状（叶片长度、叶柄长度、叶片宽度、窦宽、最大叶宽处的叶片长度、裂片数量、叶干重和叶面积）的分化均高于异域种群。然而枹栎和短柄枹栎的比叶面积在同域种群中差别不显著，检测出叶面积与叶干重之间存在显著的异速生长关系，其中短柄枹栎的叶面积相对于叶干重呈现更不成比例的下降趋势。综上，在遗传标记难以直接反映枹栎和短柄枹栎适应性分化的情况下，叶片性状仍可在同域背景下呈现更强的分化信号，表明短柄枹栎可能正处于生态物种形成的早期阶段，如果这种分化持续积累并在遗传上得以固定，两个类群将有可能逐步走向独立的进化，并揭示了种内特征替代在种内形态多样化与

资源利用策略中的潜在作用。

(3) 基于 90 个榲栌和榲树个体的全基因组重测序数据, 从基因组水平上解析特征替代的分子机制。结果显示榲栌异域与同域种群间检测到的受选择区域数量高于榲树异域与同域种群间。进一步比较同域和异域种群中最小等位基因频率发现冗余位点数量和比例高于趋同位点。功能注释与富集结果表明趋同和冗余位点主要富集到与形态构建和发育相关过程中, 冗余位点富集到与代谢和运输调控过程相关的基因数量普遍高于趋同位点。此外, 榲栌总体检测出更多的受选择区域并富集到更多候选基因。综上, 本研究从基因组水平揭示了遗传趋同和遗传冗余在特征替代中的作用, 表现为趋同与冗余并存, 且冗余占主导的进化路径。

5.2 创新点

本研究的创新点体现在以下三个方面:

(1) 多方法整合构建遗传—叶片性状—环境的特征替代检验框架。以物种是否有直接接触定义同域和异域为基础, 并整合遗传和叶片性状数据, 通过多变量分析探究遗传和叶片性状分化, 并解析环境对叶片性状分化的影响, 使植物特征替代的检验更具可操作性。

(2) 构建种间—种内证据链。在榲栌和榲树(种间)与枹栌和短柄枹栌(种内)系统中, 检验同域分化增强、分化非对称性及其环境响应差异, 揭示特征替代的可重复性, 并阐明表型分化可先于中性遗传分化。

(3) 从基因组水平解析特征替代的分子机理。基于全基因组重测序识别受选择区域和候选基因, 支持特征替代更可能由多位点、多通路组合驱动, 为理解基因流背景下的适应性分化提供分子证据。

5.3 展望

未来可以从以下几个方面进行完善:

(1) 扩大白栎组物种及变种的比较范围, 检验特征替代模式的普遍性。本研究以白栎组中具有中日共同分布的榲栌、榲树和枹栌为主要研究对象, 并进一步关注了枹栌变种短柄枹栌。然而, 白栎组内仍有部分物种和变种尚未纳入系统比较, 例如主要分布于中国的白栌、大叶栌和云南波罗栌, 以及榲栌变种锐齿榲栌等。未来可进一步扩大白栎组物种和变种的研究范围, 比较不同物种组合、不同地理区域以及不同变种的特征替代模式是否一致, 从而检验本论文所发现的表型分化和遗传分化规律在白栎组内是否具有普遍性。而且除叶片性状外, 栎属植物的根系性状、种子性状、生殖性状以及生理功能性状都可能发生特征替代, 后续研究中可以进一步结合根系等其他性状, 探究特征替代是否发生在多个功能维度上。

(2) 结合控制实验进一步区分遗传分化、环境效应和竞争作用。本研究基于自然种群来检验特征替代的模式和分布格局, 但在野外条件下, 性状差异往往会受到环

境条件和种间竞争的影响。未来可通过同质园和交互移植实验，将来自不同地点的材料在同一环境中共同栽培，并设置有无竞争者的处理，通过交互移植实验比较其在不同环境和竞争条件下的性状响应，从而更准确地区分遗传、环境和竞争作用对特征替代的影响。

(3) 增加种内生态特征替代的分子机制研究。本论文在全基因组水平主要围绕榲栌和榲树的种间比较开展选择扫描分析，揭示了同域与异域种群之间的受选择区域及候选基因差异。然而，种内层面的分子机制仍有待进一步解析，尤其是枹栌及其变种短柄枹栌、榲栌及其变种锐齿榲栌等在同域和异域种群中是否存在相似或不同的遗传响应模式。未来可进一步开展种内全基因组重测序和种群基因组分析，比较不同变种之间的选择信号差异，从而揭示种内生态特征替代的遗传机制。

(4) 开展表型关联和功能验证。本论文采用全基因组重测序数据进行选择扫描，初步识别了与形态构建、抗逆响应和生殖发育等过程相关的候选基因。未来可进一步结合全基因组关联分析，寻找与特定叶片表型、物候性状或适应性性状显著相关的遗传位点。同时，可围绕关键候选基因开展表达分析和功能验证，检验与叶形、抗逆和花期相关基因的表达模式是否与表型差异一致，并结合同质园，比较不同物种、不同变种以及同域和异域种群中的基因表达差异，进一步验证候选基因的具体生物学功能。

参考文献

- [1] Brown W L, Wilson E O. Character displacement[J]. *Systematic Zoology*, 1956, 2: 49-64.
- [2] Dayan T, Simberloff D. Ecological and community-wide character displacement: the next generation[J]. *Ecology Letters*, 2005, 8(8): 875-894.
- [3] Grant P R, Grant B R. How and why species multiply: the radiation of Darwin's finches[M]. Princeton University Press, 2007.
- [4] Grant P R, Grant B R. Evolution of character displacement in Darwin's finches[J]. *Science*, 2006, 313: 224-226.
- [5] Grant P R. Convergent and divergent character displacement[J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 1972, 4(1): 39-68.
- [6] Lamichhaney S, Han F, Berglund J, et al. A beak size locus in Darwin's finches facilitated character displacement during a drought[J]. *Science*, 2016, 352(6284): 470-474.
- [7] Crawford D L, Thompson M C, Conn T, et al. Convergence or redundancy: alternative views about the evolutionary genomics of character displacement[J]. *Evolution*, 2023, 77(5): 1175-1187.
- [8] Adams D C, Collyer M L. Analysis of character divergence along environmental gradients and other covariates[J]. *Evolution*, 2007, 61(3): 510-515.
- [9] Pritchard J R, Schluter D. Declining interspecific competition during character displacement: summoning the ghost of competition past[J]. *Evolutionary Ecology Research*, 2001, 3(2): 209-220.
- [10] Losos J B, Spiller D A. Differential colonization success and asymmetrical interactions between two lizard species[J]. *Ecology*, 1999, 80(1): 252-258.
- [11] Martin R A, Pfennig D W. Evaluating the targets of selection during character displacement[J]. *Evolution*, 2011, 65(10): 2946-2958.
- [12] Grant P R. Ecological character displacement[J]. *Science*, 1994, 266(5186): 746-747.
- [13] Veech J A, Charlet D A, Jenkins S H. Interspecific variation in seed mass and the co-existence of conifer species: a null model test[J]. *Evolutionary Ecology Research*, 2000, 2(3): 353-363.
- [14] Pfennig K S, Pfennig D W. Character displacement: ecological and reproductive responses to a common evolutionary problem[J]. *Quarterly Review of Biology*, 2009, 84(3): 253-276.
- [15] Gurevitch J, Morrow L L, Wallace A, et al. A meta-analysis of competition in field experiments[J]. *The American Naturalist*, 1992, 140(4): 539-572.
- [16] Pfennig D W, Pfennig K S. Character displacement and the origins of diversity[J]. *American Naturalist*, 2010, 176: S26-S44.
- [17] West-Eberhard M J. Developmental plasticity and evolution[M]. New York: Oxford University Press, 2003.
- [18] Doebeli M, Dieckmann U. Speciation along environmental gradients[J]. *Nature*, 2003, 421(6920):

259-264.

- [19] Rueffler C, Van Dooren T J, Leimar O, et al. Disruptive selection and then what?[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2006, 21(5): 238-245.
- [20] Day T, Young K A. Competitive and facilitative evolutionary diversification[J]. *Bioscience*, 2004, 54(2): 101-109.
- [21] Smith T B, Skúlason S. Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds[J]. *Annual review of ecology and systematics*, 1996, 27(1): 111-133.
- [22] Hausch S, Vamosi S M, Fox J W. Effects of intraspecific phenotypic variation on species coexistence[J]. *Ecology*, 2018, 99(6): 1453-1462.
- [23] Kleinschmit J. Intraspecific variation of growth and adaptive traits in European oak species[C]. *Annales des sciences forestières*, 1993. EDP Sciences.
- [24] Du F K, Qi M, Zhang Y Y, et al. Asymmetric character displacement in mixed oak stands[J]. *New Phytologist*, 2022, 236(3): 1212-1224.
- [25] Beals C M. The case for character displacement in plants[J]. *Ecology and Evolution*, 2014, 4(6): 852-865.
- [26] Hansen T F, Armbruster W S, Antonson L. Comparative analysis of character displacement and spatial adaptations as illustrated by the evolution of *Dalechampia* blossoms[J]. *The American Naturalist*, 2000, 156(S4): S17-S34.
- [27] Fox C W, Roff D A, Fairbairn D J. *Evolutionary ecology: concepts and case studies*[M]. New York: Oxford University Press, 2001.
- [28] Crozier R. Niche shape and genetic aspects of character displacement[J]. *American Zoologist*, 1974, 14(4): 1151-1157.
- [29] Schluter D. *The ecology of adaptive radiation*[M]. Oxford (UK): Oxford University Press, 2000.
- [30] Price T. *Speciation in birds* [M]. Greenwood Village (CO): Roberts and Company Publishers, 2008.
- [31] Podos J, Southall J A, Rossi-Santos M R. Vocal mechanics in Darwin's finches: correlation of beak gape and song frequency[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2004, 207(4): 607-619.
- [32] Huber S K, Podos J. Beak morphology and song features covary in a population of Darwin's finches (*Geospiza fortis*)[J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2006, 88(3): 489-498.
- [33] Huber S K, De León L F, Hendry A P, et al. Reproductive isolation of sympatric morphs in a population of Darwin's finches[J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2007, 274(1619): 1709-1714.
- [34] Podos J. Correlated evolution of morphology and vocal signal structure in Darwin's finches[J]. *Nature*, 2001, 409(6817): 185-188.
- [35] Olson V A, Owens I P. Costly sexual signals: are carotenoids rare, risky or required?[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1998, 13(12): 510-514.

- [36] Boughman J W. Divergent sexual selection enhances reproductive isolation in sticklebacks[J]. *Nature*, 2001, 411(6840): 944-948.
- [37] Boughman J W. How sensory drive can promote speciation[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2002, 17(12): 571-577.
- [38] Boughman J W. Condition-dependent expression of red colour differs between stickleback species[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2007, 20(4): 1577-1590.
- [39] Dobzhansky T. *Genetics and the Origin of Species*[M]. New York, USA: Columbia University Press, 1937.
- [40] Butlin R. Speciation by reinforcement[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1987, 2: 8-13.
- [41] Nosil P. *Ecological speciation*[M]. Oxford: Oxford University Press, 2012.
- [42] Zeng Y F, Liao W J, Petit R J, et al. Geographic variation in the structure of oak hybrid zones provides insights into the dynamics of speciation[J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(23): 4995-5011.
- [43] Lagache L, Klein E K, Ducouso A, et al. Distinct male reproductive strategies in two closely related oak species[J]. *Molecular Ecology*, 2014, 23(17): 4331-4343.
- [44] Pfennig D, Pfennig K. *Evolution's wedge: competition and the origins of diversity*[M]. Berkeley: University of California Press, 2012.
- [45] Stuart Y E, Losos J B. Ecological character displacement: glass half full or half empty?[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2013, 28(7): 402-408.
- [46] Schluter D, McPhail J D. Ecological character displacement and speciation in sticklebacks[J]. *The American Naturalist*, 1992, 140(1): 85-108.
- [47] Armbruster W S. Patterns of character divergence and the evolution of reproductive ecotypes of *Dalechampia scandens* (Euphorbiaceae)[J]. *Evolution*, 1985, 39(4): 733-752.
- [48] Losos J B. Ecological character displacement and the study of adaptation[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2000, 97(11): 5693-5695.
- [49] Schluter D. Ecological character displacement in adaptive radiation[J]. *The American Naturalist*, 2000, 156(S4): S4-S16.
- [50] Muchhala N, Potts M D. Character displacement among bat-pollinated flowers of the genus *Burmeistera*: analysis of mechanism, process and pattern[J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2007, 274(1626): 2731-2737.
- [51] MacArthur R. Species packing and competitive equilibrium for many species[J]. *Theoretical population biology*, 1970, 1(1): 1-11.
- [52] Ackerly D D. Community assembly, niche conservatism, and adaptive evolution in changing environments[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2003, 164(S3): S165-S184.
- [53] Levin D A. Reproductive character displacement in Phlox[J]. *Evolution*, 1985, 39(6): 1275-1281.
- [54] Cody M L. Niche theory and plant growth form[J]. *Vegetatio*, 1991, 97(1): 39-55.

- [55] Martin N H, Willis J H. Ecological divergence associated with mating system causes nearly complete reproductive isolation between sympatric *Mimulus* species[J]. *Evolution*, 2007, 61(1): 68-82.
- [56] Martin M M, Harding J. Evidence for the evolution of competition between two species of annual plants[J]. *Evolution*, 1981: 975-987.
- [57] Muchhala N. Functional significance of interspecific variation in *Burmeistera* Flower Morphology: Evidence from Nectar Bat Captures in Ecuador[J]. *Biotropica*, 2008, 40(3): 332-337.
- [58] Butlin R K, Galindo J, Grahame J W. Sympatric, parapatric or allopatric: the most important way to classify speciation?[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2008, 363(1506): 2997-3007.
- [59] Goldberg E, Lande R. Ecological and reproductive character displacement of an environmental gradient[J]. *Evolution*, 2006, 60(7): 1344-1357.
- [60] Lemmon A R, Smadja C, Kirkpatrick M. Reproductive character displacement is not the only possible outcome of reinforcement[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2004, 17(1): 177-183.
- [61] Coyne J A, Orr H A. *Speciation*[M]. Sunderland (MA): Sinauer Associates, 2004.
- [62] Kremer A, Ronce O, Robledo-Arnuncio J J, et al. Long-distance gene flow and adaptation of forest trees to rapid climate change[J]. *Ecology Letters*, 2012, 15(4): 378-392.
- [63] Hubert F, Grimm G W, Jousselin E, et al. Multiple nuclear genes stabilize the phylogenetic backbone of the genus[J]. *Systematics and Biodiversity*, 2014, 12(4): 405-423.
- [64] Denk T, Grimm G W, Manos P S, et al. An updated infrageneric classification of the oaks: review of previous taxonomic schemes and synthesis of evolutionary patterns[J]. *Oaks physiological ecology Exploring the functional diversity of genus Quercus L*, 2017: 13-38.
- [65] Darwin C. *On the origin of species by means of natural selection*[M]. London (UK): John Murray, 1859.
- [66] Rieseberg L H, Wood T E, Baack E J. The nature of plant species[J]. *Nature*, 2006, 440(7083): 524-527.
- [67] Tucker J M. Hybridization in California oaks[J]. *Fremontia*, 1990, 18: 13-19.
- [68] Eaton D A, Hipp A L, González-Rodríguez A, et al. Historical introgression among the American live oaks and the comparative nature of tests for introgression[J]. *Evolution*, 2015, 69(10): 2587-2601.
- [69] Hipp A L, Manos P S, Hahn M, et al. Genomic landscape of the global oak phylogeny[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(4): 1198-1212.
- [70] McVay J D, Hauser D, Hipp A L, et al. Phylogenomics reveals a complex evolutionary history of lobed-leaf white oaks in western North America[J]. *Genome*, 2017, 60(9): 733-742.
- [71] Burger W C. The species concept in *Quercus*[J]. *Taxon*, 1975, 24(1): 45-50.
- [72] Cannon C H, Petit R J. The oak syngameon: more than the sum of its parts[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(4): 978-983.

- [73] Gailing O, Zhang R H. Experimental evidence for selection against hybrids between two interfertile red oak species[J]. *Silvae Genetica*, 2018, 67(1): 106-110.
- [74] Cavender-Bares J, Kitajima K, Bazzaz F A. Multiple trait associations in relation to habitat differentiation among 17 Floridian oak species[J]. *Ecological Monographs*, 2004, 74(4): 635-662.
- [75] Abadie P, Roussel G, Dencausse B, et al. Strength, diversity and plasticity of postmating reproductive barriers between two hybridizing oak species (*Quercus robur* L. and *Quercus petraea* (Matt) Liebl.)[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2012, 25(1): 157-173.
- [76] Lepais O, Roussel G, Hubert F, et al. Strength and variability of postmating reproductive isolating barriers between four European white oak species[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2013, 9(3): 841-853.
- [77] Lepais O, Petit R J, Guichoux E, et al. Species relative abundance and direction of introgression in oaks[J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18(10): 2228-2242.
- [78] Yukilevich R. Asymmetrical Patterns of Speciation Uniquely Support Reinforcement in *Drosophila*[J]. *Evolution*, 2012, 66(5): 1430-1446.
- [79] Van Valen L. Ecological species, multispecies, and oaks[J]. *Taxon*, 1976: 233-239.
- [80] 洪德元. 生物多样性事业需要科学、可操作的物种概念[J]. *生物多样性*, 2016, 24(09): 979-999.
- [81] Leroy T, Louvet J M, Lalanne C, et al. Adaptive introgression as a driver of local adaptation to climate in European white oaks[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(4): 1171-1182.
- [82] Violle C, Navas M L, Vile D, et al. Let the concept of trait be functional![J]. *Oikos*, 2007, 116(5): 882-892.
- [83] Díaz S, Cabido M. Plant functional types and ecosystem function in relation to global change[J]. *Journal of vegetation science*, 1997, 8(4): 463-474.
- [84] 何芸雨, 郭水良, 王喆. 植物功能性状权衡关系的研究进展[J]. *植物生态学报*, 2019, 43(12): 1021-1035.
- [85] 李耀琪, 王志恒. 植物叶片形态的生态功能、地理分布与成因[J]. *植物生态学报*, 2021, 45(10): 1154-1172.
- [86] Wright I J, Reich P B, Westoby M, et al. The worldwide leaf economics spectrum[J]. *Nature*, 2004, 428(6985): 821-827.
- [87] Onoda Y, Wright I J, Evans J R, et al. Physiological and structural tradeoffs underlying the leaf economics spectrum[J]. *New Phytologist*, 2017, 214(4): 1447-1463.
- [88] Cavender-Bares J. Diversification, adaptation, and community assembly of the American oaks (*Quercus*), a model clade for integrating ecology and evolution[J]. *New Phytologist*, 2019, 221(2): 669-692.
- [89] Sancho-Knapik D, Escudero A, Mediavilla S, et al. Deciduous and evergreen oaks show contrasting adaptive responses in leaf mass per area across environments[J]. *New Phytologist*, 2021, 230(2): 521-534.
- [90] Li Y J, Zhang Y Y, Liao P C, et al. Genetic, geographic, and climatic factors jointly shape leaf

- morphology of an alpine oak, *Quercus aquifolioides* Rehder & EH Wilson[J]. *Annals of Forest Science*, 2021, 78(3): 64.
- [91] Niinemets U. Is there a species spectrum within the world-wide leaf economics spectrum? Major variations in leaf functional traits in the Mediterranean sclerophyll *Quercus ilex*[J]. *New Phytologist*, 2015, 205(1): 79-96.
- [92] Royer D L, McElwain J C, Adams J M, et al. Sensitivity of leaf size and shape to climate within *Acer rubrum* and *Quercus kelloggii*[J]. *New Phytologist*, 2008, 179(3): 808-817.
- [93] 刘牧. 蒙古栎和辽东栎的遗传进化关系研究[D]: 东北林业大学, 2012.
- [94] Viscosi V, Fortini P, Slice D E, et al. Geometric morphometric analyses of leaf variation in four oak species of the subgenus *Quercus* (Fagaceae)[J]. *Plant Biosystems*, 2009, 143(3): 575-587.
- [95] Viscosi V, Cardini A. Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: a simplified protocol for beginners[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10): e25630.
- [96] Viscosi V, Fortini P. Leaf shape variation and differentiation in three sympatric white oak species revealed by elliptic Fourier analysis[J]. *Nordic Journal of Botany*, 2011, 29(5): 632-640.
- [97] Liu Y, Li Y J, Song J L, et al. Geometric morphometric analyses of leaf shapes in two sympatric Chinese oaks: *Quercus dentata* Thunberg and *Quercus aliena* Blume (Fagaceae)[J]. *Annals of Forest Science*, 2018, 75(4).
- [98] Qi M, Du F K, Guo F, et al. Species identification through deep learning and geometrical morphology in oaks (*Quercus* spp.): Pros and cons[J]. *Ecology and Evolution*, 2024, 14(2): e11032.
- [99] Qi M, Wang J, Wang R, et al. Intraspecific character displacement in oaks[J]. *The Plant Journal* 2025, 122(2): e70165.
- [100] Yang K, Wu J, Li X, et al. Intraspecific leaf morphological variation in *Quercus dentata* Thunb.: a comparison of traditional and geometric morphometric methods, a pilot study[J]. *Journal of Forestry Research*, 2022, 33(6): 1751-1764.
- [101] Kremer A, Hipp A L. Oaks: an evolutionary success story[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(4): 987-1011.
- [102] Cavender-Bares J, Kothari S, Meireles J E, et al. The role of diversification in community assembly of the oaks (*Quercus* L.) across the continental U.S.[J]. *American Journal of Botany*, 2018, 105(3): 565-586.
- [103] Petit R J, Bodénès C, Ducouso A, et al. Hybridization as a mechanism of invasion in oaks[J]. *New Phytologist*, 2003, 161(1): 151-164.
- [104] Petit R J, Csaikl U M, Bordács S, et al. Chloroplast DNA variation in European white oaks phylogeography and patterns of diversity based on data from over 2600 populations[J]. *Forest Ecology and Management*, 2002, 156(1-3): 5-26.
- [105] Lyu J, Song J, Liu Y, et al. 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.
- [106] Chen J, Zeng Y F, Liao W J, et al. A novel set of single-copy nuclear gene markers in white oak and implications for species delimitation[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2017, 13(2): 50.
- [107] Xiong S F, Zhao Y X, Chen Y C, et al. Genetic diversity and population structure of *Quercus fabri* Hance in China revealed by genotyping-by-sequencing[J]. *Ecology and Evolution*, 2020, 10(16): 8949-8958.
- [108] Nagamitsu T, Uchiyama K, Izuno A, et al. Environment-dependent introgression from *Quercus dentata* to a coastal ecotype of *Quercus mongolica* var. *crispula* in northern Japan[J]. *New Phytologist*, 2020, 226(4): 1018-1028.
- [109] 黄成就, 张永田, 徐永椿. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1999.
- [110] Ueno S, Taguchi Y, Tsumura Y. Microsatellite markers derived from *Quercus mongolica* var. *crispula* (Fagaceae) inner bark expressed sequence tags[J]. *Genes & Genetic Systems*, 2008, 83(2): 179-187.
- [111] Durand J, Bodénès C, Chancerel E, et al. A fast and cost-effective approach to develop and map EST-SSR markers: oak as a case study[J]. *Bmc Genomics*, 2010, 11(1): 570.
- [112] Van Oosterhout C, Hutchinson W F, Wills D P M, et al. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(3): 535-538.
- [113] Savriama Y, Klingenberg C P. Beyond bilateral symmetry: geometric morphometric methods for any type of symmetry[J]. *Bmc Evolutionary Biology*, 2011, 11: 280.
- [114] Abràmoff M, Magalhães P, Ram S. Image processing with ImageJ[J]. *Biophotonics international*, 2004, 11(7): 36-42.
- [115] Crawley M, Akhteruzzaman M. Individual variation in the phenology of oak trees and its consequences for herbivorous insects[J]. *Functional Ecology*, 1988: 409-415.
- [116] Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research[J]. *Molecular Ecology Notes*, 2006, 6(1): 288-295.
- [117] Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data[J]. *Genetics*, 2000, 155(2): 945-959.
- [118] 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.
- [119] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study[J]. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611-2620.
- [120] Peñaloza-Ramírez J M, González-Rodríguez A, Mendoza-Cuenca L, et al. Interspecific gene flow

- in a multispecies oak hybrid zone in the Sierra Tarahumara of Mexico[J]. *Annals of Botany*, 2010, 105(3): 389-399.
- [121] Prates M O, Cabral C R B, Lachos V H. mixsmsn: Fitting finite mixture of scale mixture of skew-normal distributions[J]. *Journal of Statistical Software*, 2013, 54(12): 1-20.
- [122] Beerli P. Comparison of Bayesian and maximum-likelihood inference of population genetic parameters[J]. *Bioinformatics*, 2006, 22(3): 341-345.
- [123] Beerli P, Felsenstein J. Maximum likelihood estimation of a migration matrix and effective population sizes in n subpopulations by using a coalescent approach[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98(8): 4563-4568.
- [124] Rohlf F J, Slice D. Extensions of the procrustes method for the optimal superimposition of landmarks[J]. *Systematic Zoology*, 1990, 39(1): 40-59.
- [125] Klingenberg C P. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2011, 11(2): 353-357.
- [126] Venables W N, Ripley B D. *Modern applied statistics with S[M]*. Springer Science & Business Media, 2013.
- [127] Albarrán-Lara A L, Petit R J, Kremer A, et al. Low genetic differentiation between two morphologically and ecologically distinct giant-leaved Mexican oaks[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2019, 305(1): 89-101.
- [128] Oksanen J. *Vegan: community ecology package[J]*. R package version, 2015, 2: 3.
- [129] Wickham H. *Data analysis[M]*. ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer. 2016: 189-201.
- [130] Niklas K J, Cobb E D, Niinemets Ü, et al. "Diminishing returns" in the scaling of functional leaf traits across and within species groups[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(21): 8891-8896.
- [131] 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.
- [132] Adams D C. Character displacement via aggressive interference in appalachian salamanders[J]. *Ecology*, 2004, 85(10): 2664-2670.
- [133] Bates D, Mächler M, Bolker B M, et al. Fitting linear mixed-effects models using lme4[J]. *Journal of Statistical Software*, 2015, 67(1): 1-48.
- [134] Givnish T J, Kriebel R. Causes of ecological gradients in leaf margin entirety: Evaluating the roles of biomechanics, hydraulics, vein geometry, and bud packing[J]. *American Journal of Botany*, 2017, 104(3): 354-366.
- [135] Nicotra A B, Leigh A, Boyce C K, et al. The evolution and functional significance of leaf shape in the angiosperms[J]. *Functional Plant Biology*, 2011, 38(7): 535-552.

- [136] Cavender-Bares J, Pahlich A. Molecular, morphological, and ecological niche differentiation of sympatric sister oak species, *Quercus virginiana* and *Q. geminata* (Fagaceae)[J]. *Am J Bot*, 2009, 96(9): 1690-1702.
- [137] Cavender-Bares J, Gonzalez-Rodriguez A, Eaton D A, et al. Phylogeny and biogeography of the American live oaks (*Quercus* subsection *Virentes*): a genomic and population genetics approach[J]. *Molecular Ecology*, 2015, 24(14): 3668-3687.
- [138] Arenas-Navarro M, García-Oliva F, Terrazas T, et al. Leaf habit and stem hydraulic traits determine functional segregation of multiple Oak species along a water availability gradient[J]. *Forests*, 2020, 11(8): 894.
- [139] Alexandre H, Truffaut L, Klein E, et al. How does contemporary selection shape oak phenotypes?[J]. *Evolutionary Applications*, 2020, 13(10): 2772-2790.
- [140] Currat M, Ruedi M, Petit R J, et al. The hidden side of invasions: Massive introgression by local genes[J]. *Evolution*, 2008, 62(8): 1908-1920.
- [141] Du F K, Peng X L, Liu J Q, et al. Direction and extent of organelle DNA introgression between two spruce species in the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *New Phytologist*, 2011, 192(4): 1024-1033.
- [142] Jiggins C D, Mallet J. Bimodal hybrid zones and speciation[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2000, 15(6): 250-255.
- [143] Merrill R M, Wallbank R W R, Bull V, et al. Disruptive ecological selection on a mating cue[J]. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2012, 279(1749): 4907-4913.
- [144] Hopkins R. Reinforcement in plants[J]. *New Phytologist*, 2013, 197(4): 1095-1103.
- [145] Stebbins G L, Major J. Endemism and speciation in the California flora[J]. *Ecological Monographs*, 1965, 35(1): 2-35.
- [146] Liu X, Chang E M, Liu J F, et al. Comparative analysis of the complete chloroplast genomes of six white oaks with high ecological amplitude in China[J]. *Journal of Forestry Research*, 2021, 32(5): 2203-2218.
- [147] Li X, Wei G M, El-Kassaby Y A, et al. Hybridization and introgression in sympatric and allopatric populations of four oak species[J]. *Bmc Plant Biology*, 2021, 21(1): 266.
- [148] Okaura T, Quang N D, Ubukata M, et al. Phylogeographic structure and late Quaternary population history of the Japanese oak *Quercus mongolica* var. *crispula* and related species revealed by chloroplast DNA variation[J]. *Genes & Genetic Systems*, 2007, 82(6): 465-477.
- [149] Ueno S, Tsumura Y. Development of ten microsatellite markers for *Quercus mongolica* var. *crispula* by database mining[J]. *Conservation Genetics*, 2008, 9(4): 1083-1085.
- [150] 祁敏, 张原野, 李嘉伟, et al. 中-日分布的槲树种群遗传多样性与遗传分化[J]. *兰州大学学报(自然科学版)*, 2021, 57(6): 720-726.
- [151] Beaumont M A, Nichols R A. Evaluating loci for use in the genetic analysis of population

- structure[J]. Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences, 1996, 263(1377): 1619-1626.
- [152] Excoffier L, Lischer H E. 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.
- [153] Beerli P, Palczewski M. Unified framework to evaluate panmixia and migration direction among multiple sampling locations[J]. Genetics, 2010, 185(1): 313-463.
- [154] Cornuet J-M, Pudlo P, Veysier J, et al. DIYABC v2. 0: a software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(8): 1187-1189.
- [155] Cornuet J M, Santos F, Beaumont M A, et al. Inferring population history with *DIY ABC*: a user-friendly approach to approximate Bayesian computation[J]. Bioinformatics, 2008, 24(23): 2713-2719.
- [156] Viscosi V. Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*)[J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2015, 179(2): 335-348.
- [157] Kassambara A. ggpubr: 'ggplot2'-based publication ready plots[J]. R package version, 2018: 2.
- [158] Fox J, Friendly M, Weisberg S. Hypothesis Tests for Multivariate Linear Models Using the car Package[J]. R Journal, 2013, 5(1): 39-52.
- [159] Yang J, Di X, Meng X, et al. Phylogeography and evolution of two closely related oak species (*Quercus*) from north and northeast China[J]. Tree Genetics & Genomes, 2016, 12(5): 89.
- [160] Lepais O, Aissi A, Véla E, et al. Joint analysis of microsatellites and flanking sequences enlightens complex demographic history of interspecific gene flow and vicariance in rear-edge oak populations[J]. Heredity, 2022, 129(3): 169-182.
- [161] Zhivotovsky L A. Estimating divergence time with the use of microsatellite genetic distances: impacts of population growth and gene flow[J]. Molecular Biology and Evolution, 2001, 18(5): 700-709.
- [162] 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(1): 225-244.
- [163] Green R E, Krause J, Briggs A W, et al. A Draft Sequence of the Neandertal Genome[J]. Science, 2010, 328(5979): 710-722.
- [164] Du F K, Petit R J, Liu J Q. More introgression with less gene flow: chloroplast vs. mitochondrial DNA in the *Picea asperata* complex in China, and comparison with other Conifers[J]. Molecular Ecology, 2009, 18(7): 1396-1407.
- [165] Kooyers N J, James B, Blackman B K. Competition drives trait evolution and character displacement between *Mimulus* species along an environmental gradient[J]. Evolution, 2017, 71(5): 1205-1221.

- [166] Wilson E O. The diversity of life[M]. WW Norton & Company, 1999.
- [167] Wright I J, Dong N, Maire V, et al. Global climatic drivers of leaf size[J]. *Science*, 2017, 357(6354): 917-921.
- [168] Bruschi P, Grossoni P, Bussotti F. Within-and among-tree variation in leaf morphology of *Quercus petraea* (Matt.) Liebl. natural populations[J]. *Trees*, 2003, 17(2): 164-172.
- [169] Kusi J, Karsai I. Plastic leaf morphology in three species of *Quercus*: The more exposed leaves are smaller, more lobated and denser[J]. *Plant Species Biology*, 2020, 35(1): 24-37.
- [170] Goud E M, Agrawal A A, Sparks J P. A direct comparison of ecological theories for predicting the relationship between plant traits and growth[J]. *Ecology*, 2023, 104(4): e3986.
- [171] Martin C A, Sheppard E C, Ali H A A, et al. Genomic landscapes of divergence among island bird populations: Evidence of parallel adaptation but at different loci?[J]. *Molecular Ecology*, 2024, 33(12): e17365.
- [172] Gould S J. The evolution of life on the earth[J]. *Scientific American*, 1994, 271(4): 84-91.
- [173] Gould S J, Lewontin R C. The spandrels of san marco and the panglossian paradigm: a critique of the adaptationist programme[J]. *Conceptual Issues in Evolutionary Biology*, 1979, 205: 79.
- [174] Gould S J. The structure of evolutionary theory[M]. Harvard university press, 2002.
- [175] Good B H, McDonald M J, Barrick J E, et al. The dynamics of molecular evolution over 60,000 generations[J]. *Nature*, 2017, 551(7678): 45-50.
- [176] Hendry A P, Peichel C L, Matthews B, et al. Stickleback research: the now and the next[J]. *Evolutionary Ecology Research*, 2013, 15(2): 111-141.
- [177] Hohenlohe P A, Bassham S, Etter P D, et al. Population genomics of parallel adaptation in threespine stickleback using sequenced RAD tags[J]. *Plos Genetics*, 2010, 6(2): e1000862.
- [178] Losos J B. Convergence, adaptation, and constraint[J]. *Evolution*, 2011, 65(7): 1827-1840.
- [179] Blount Z D, Lenski R E, Losos J B. Contingency and determinism in evolution: replaying life's tape[J]. *Science*, 2018, 362(6415): eaam5979.
- [180] Manceau M, Domingues V S, Linnen C R, et al. Convergence in pigmentation at multiple levels: mutations, genes and function[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences*, 2010, 365(1552): 2439-2450.
- [181] Yeaman S. Local adaptation by alleles of small effect[J]. *American Naturalist*, 2015, 186: S74-S89.
- [182] Barghi N, Tobler R, Nolte V, et al. Genetic redundancy fuels polygenic adaptation in *Drosophila*[J]. *Plos Biology*, 2019, 17(2): e3000128.
- [183] Chen Y, Chen Y, Shi C, et al. SOAPnuke: a MapReduce acceleration-supported software for integrated quality control and preprocessing of high-throughput sequencing data[J]. *Gigascience*, 2018, 7(1): gix120.
- [184] Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform[J].

- Bioinformatics, 2009, 25(14): 1754-1760.
- [185] Li H, Durbin R. Fast and accurate long-read alignment with Burrows-Wheeler transform[J]. Bioinformatics, 2010, 26(5): 589-595.
- [186] McKenna A, Hanna M, Banks E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data[J]. Genome Research, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [187] Cingolani P, Platts A, Wang L L, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain w1118; iso-2; iso-3[J]. fly, 2012, 6(2): 80-92.
- [188] Danecek P, Auton A, Abecasis G, et al. The variant call format and VCFtools[J]. Bioinformatics, 2011, 27(15): 2156-2158.
- [189] Zhang C, Dong S-S, Xu J-Y, et al. PopLDdecay: a fast and effective tool for linkage disequilibrium decay analysis based on variant call format files[J]. Bioinformatics, 2019, 35(10): 1786-1788.
- [190] Alexander D H, Novembre J, Lange K. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals[J]. Genome Research, 2009, 19(9): 1655-1664.
- [191] Price A L, Patterson N J, Plenge R M, et al. Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies[J]. Nature genetics, 2006, 38(8): 904-909.
- [192] Terhorst J, Kamm J A, Song Y S. Robust and scalable inference of population history from hundreds of unphased whole genomes[J]. Nature genetics, 2017, 49(2): 303-309.
- [193] Higo K, Ugawa Y, Iwamoto M, et al. Plant cis-acting regulatory DNA elements (PLACE) database: 1999[J]. Nucleic acids research, 1999, 27(1): 297-300.
- [194] Mi H Y, Muruganujan A, Casagrande J T, et al. Large-scale gene function analysis with the PANTHER classification system[J]. Nature Protocols, 2013, 8(8): 1551-1566.
- [195] Stroud J T, Giery S T, Heathcote R J P, et al. Observing character displacement from process to pattern in a novel vertebrate community[J]. Nature Communications, 2024, 15(1): 9862.
- [196] Natarajan C, Hoffmann F G, Weber R E, et al. Predictable convergence in hemoglobin function has unpredictable molecular underpinnings[J]. Science, 2016, 354(6310): 336-339.
- [197] Pierce V, Crawford D. Phylogenetic analysis of glycolytic enzyme expression[J]. Science, 1997, 276(5310): 256-259.
- [198] Conte G L, Arnegard M E, Peichel C L, et al. The probability of genetic parallelism and convergence in natural populations[J]. Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences, 2012, 279(1749): 5039-5047.
- [199] Rennison D J, Stuart Y E, Bolnick D I, et al. Ecological factors and morphological traits are associated with repeated genomic differentiation between lake and stream stickleback[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2019, 374(1777).
- [200] Barghi N, Hermisson J, Schlötterer C. Polygenic adaptation: a unifying framework to understand

- positive selection (vol 18, pg 913, 2020)[J]. *Nature Reviews Genetics*, 2020, 21(12): 782-782.
- [201] Yeaman S. Evolution of polygenic traits under global vs local adaptation[J]. *Genetics*, 2022, 220(1): iyab134.
- [202] Nowak M A, Boerlijst M C, Cooke J, et al. Evolution of genetic redundancy[J]. *Nature*, 1997, 388(6638): 167-171.
- [203] Iohannes S D, Jackson D. Tackling redundancy: genetic mechanisms underlying paralog compensation in plants[J]. *New Phytologist*, 2023, 240(4): 1381-1389.
- [204] Láruson A J, Yeaman S, Lotterhos K E. The importance of genetic redundancy in evolution[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2020, 35(9): 809-822.

附录

附表 1 榲栌和榲树 47 个自然种群的信息

Appendix Table 1: Details of the 47 natural populations of *Q. aliena* and *Q. dentata*

Population code	Identification in the filed		Morphology Assignment (<i>Q. aliena</i> : LD < -1; Hybrids: -1 < LD < 1; <i>Q. dentata</i> : LD > 1)				Genetic Assignment (<i>Q. aliena</i> : $Q > 0.9$; Hybrids: $0.1 < Q < 0.9$; <i>Q. dentata</i> : $Q < 0.1$)				N _A	H _O	H _E	F _{IS}
	Community	Species	Number of individuals assigned to <i>Q. aliena</i>	Number of individuals assigned to hybrids	Number of individuals assigned to <i>Q. dentata</i>	Total Number	Number of individuals assigned to <i>Q. aliena</i>	Number of individuals assigned to hybrids	Number of individuals assigned to <i>Q. dentata</i>	Total Number (WGRS)				
DL	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	9	0	0	9	7	1	0	8 (2)	3.58	0.47	0.47	-0.01
DL	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	19	20	0	5	14	19 (2)	7	0.6	0.68	0.12
GL	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	14	0	0	14	11	3	0	14 (2)	6.5	0.63	0.65	0.09
GL	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	2	6	8	0	1	7	8 (2)	3.42	0.68	0.59	-0.1
GS	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	12	2	0	14	6.75	0.5	0.65	0.14
GS	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	2	10	12	0	4	7	11	6.42	0.61	0.69	0.09
LP	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	9	1	0	10	16	1	0	17 (2)	8.58	0.6	0.71	0.13
LP	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	10	10	0	5	13	18 (2)	7	0.53	0.66	0.1
LZ	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	4	1	0	5	3	3	0	6 (1)	6.17	0.61	0.72	0.09
LZ	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	4	5	0	1	12	13 (2)	6.58	0.56	0.67	0.11
SF	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	19	0	0	19	8	10	0	18 (2)	7.5	0.6	0.62	-0.03
SF	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	10	13	0	6	13	19 (2)	6.42	0.56	0.61	0.03
WL	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	20	0	0	20	7	11	0	18 (2)	6.58	0.57	0.6	-0.02
WL	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	13	16	0	6	13	19 (2)	6.58	0.63	0.63	-0.04
ZG	Sympatric	<i>Q. aliena</i>	8	2	0	10	12	2	0	14 (2)	5.67	0.6	0.66	0.1
ZG	Sympatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	10	10	0	7	9	16 (2)	6	0.48	0.59	0.1
Total			93 (49%)	16 (8%)	82 (43%)	191	76 (33%)	68 (29%)	88 (38%)	232 (27)				
AS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	16	19	0	10	11	21 (2)	6.83	0.62	0.65	0.06
DG	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	6	9	0	1	6	7 (1)	5.58	0.64	0.62	-0.06
DS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	19	19	0	2	21	23 (2)	8	0.68	0.7	0.02
GU	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	2	8	10	0	2	18	20 (2)	5.58	0.6	0.64	0.04
HH	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	11	1	0	12	0	9	0	9 (2)	6.08	0.67	0.64	-0.08
HP	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	22	1	0	23 (2)	7.5	0.58	0.65	0.1

附录

JJ	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	13	13	0	3	8	11 (2)	7.17	0.65	0.66	-0.02
JL	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	19	20	0	1	23	24 (2)	7.17	0.56	0.68	0.12
KA	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	6	7	0	13	2	10	0	12 (2)	4.92	0.66	0.59	-0.15
KD	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	18	19	0	5	15	20 (2)	7.67	0.61	0.66	0.04
LG	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	4	2	0	6	4	2	0	6 (2)	4.5	0.71	0.66	-0.1
LH	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	9	9	0	8	7	15 (2)	7.33	0.6	0.65	0.1
LJ	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	4	6	10	0	12	2	14 (1)	5.5	0.6	0.6	-0.02
LS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	0	10	10	0	3	9	12	5.75	0.61	0.58	-0.03
LT	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	13	14	0	6	8	14 (2)	6.08	0.68	0.65	-0.01
LW	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	4	5	0	3	2	5 (1)	4.5	0.58	0.64	0.09
LY	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	1	3	0	4	4.58	0.71	0.67	-0.07
MS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	16	17	0	3	17	20 (1)	5.67	0.53	0.61	0.12
MT	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	17	20	0	4	18	22 (2)	8.5	0.52	0.69	0.13
QA	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	13	2	0	15	4	13	0	17 (2)	7.83	0.63	0.63	-0.05
QD	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	4	17	21	0	7	13	20 (2)	7.33	0.62	0.64	0.01
SB	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	9	0	0	9	9	0	0	9 (2)	4.83	0.63	0.6	-0.01
SC	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	10	7	17	0	7	9	16 (2)	6.75	0.65	0.64	-0.05
SL	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	8	1	0	9	1	4	0	5	5.83	0.65	0.68	0.02
SP	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	17	1	0	18 (2)	6.67	0.65	0.65	0.08
SS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	2	18	20	0	2	19	21 (2)	5.67	0.61	0.61	-0.01
SX	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	7	3	0	10	8	2	0	10 (2)	5.25	0.72	0.66	-0.13
SY	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	19	20	0	0	21	21 (2)	7	0.58	0.63	0.01
TJ	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	0	9	0	9 (2)	6	0.68	0.69	-0.05
TS	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	12	0	0	12	7	5	0	12 (2)	5.08	0.6	0.6	-0.09
WX	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	8	1	0	9 (2)	4.17	0.59	0.56	-0.02
XT	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	1	8	9	0	1	15	16 (2)	7.58	0.64	0.68	0.06
YF	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	10	0	0	10	2	3	0	5 (1)	4.25	0.71	0.61	-0.15
ZA	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	14	2	0	16	0	12	0	12	7.75	0.65	0.7	0.03
ZD	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	7	10	17	0	6	10	16 (2)	7.25	0.61	0.63	0.01
ZJ	Allopatric	<i>Q. aliena</i>	5	0	0	5	1	9	0	10 (2)	6.75	0.58	0.67	0.13
ZL	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	3	6	9	0	6	4	10 (2)	5.75	0.66	0.64	-0.06
ZS	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	6	4	10	0	2	18	20 (2)	6.83	0.61	0.65	0.02
ZY	Allopatric	<i>Q. dentata</i>	0	5	3	8	0	3	5	8	4.42	0.63	0.59	-0.09
Total			149 (30%)	77 (16%)	266 (54%)	492	86 (16%)	181 (33%)	279 (51%)	546 (63)				

注: N_A : 不同等位基因数量; H_O : 观测杂合度; H_E : 期望杂合度; F_{IS} : 近交系数; WGRS: 全基因组重测序。

Note: N_A : number of different alleles; H_O : observed heterozygosity; F_{IS} : inbreeding index; WGRS, whole genome re-sequencing.

附表 2 12 对 SSR 引物的详细信息
Appendix Table 2: Detailed information of 12 pairs of SSR primers

SSR locus	T _m (°C)	Motif	Primer sequence (5'-3')	Allele size rang (bp)	Location	Reference	Chromosome	Start (bp)	End (bp)
GOT021	56	AT	AGAAAGTTCCAGGGAAAAGCA CTTCGTCCCCAGTTGAATGT	111-128	3'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000003	36342643	36342720
FIR026	56	TC	CTTCATGCACCAATTCCTCA GGCCATGTATGTGTGCAAAA	208-217	3'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000009	4944456	4944627
QmC00716	56	TC	AAGAGAACCCATTCCATCCCTGA GTTTCCCGAACAGTGGTTTCTTGA	261-287	5'UTR	Ueno <i>et al.</i> , 2008	GWHBRAD00000012	5373449	5373672
POR017	54	CT	CCCATATCCCTCTACGAAAGAA CTGGAGATGACATAGTGTCTCAA	140-169	5'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000006	37289039	37289151
FIR015	56	AC	ACCCTAAAACCCCAATCACC CGGATCTTCGGCTATTCTTG	128-138	5'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000008	67812081	67812178
QmC00932	54	TC	AGGCTCAAAACAAAACCAAACCG GTTTCCCTTTCCATAATCAAACCTT	247-260	5'UTR	Ueno <i>et al.</i> , 2008	GWHBRAD00000002	95212351	95212565
DN950446	56	AG	TCTCTTTCTCCGTCATTATCGC GTTTCTCCACAGACCCCATTTCC	155-185	5'UTR	Ueno & Tsumura, 2008	GWHBRAD00000009	42743165	42743299
WAG068	56	AG	TCTGCAACAAAACCAAACAC CGGAGGAGAGAGTCAGCAAC	165-195	5'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000010	61885406	61885542
PIE271	56	TC	CACACTACCAACCCTACCC GTGCGGTTGTAGACGGAGAT	197-247	5'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000002	90759159	90759345
QmC02052	56	AG	CACACCCAGATCCACAAAACCTCC GTTTGCCTCTACGGTCTCCCTCTT	250-300	5'UTR	Ueno <i>et al.</i> , 2008	GWHBRAD00000003	25606883	25607114
GOT011	56	TC	CCCCACCGTCTACTCTCAAA GCGTTCACCACGTCCATAAT	197-255	5'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000001	41340691	41340867
WAG066	56	AG	AACCTGTTTGGCTTCGTGTG AACAAAAGATTGGGAGGTGC	128-244	3'UTR	Durand <i>et al.</i> , 2010	GWHBRAD00000001	45025949	45026083

附表 3 枹栎和短柄枹栎 30 个自然种群的详细信息

Appendix Table 3: Details of 30 natural populations of *Q. serrata* and *Q. serrata* var. *brevipetiolata*

Populat ion code	Community	Genetic Assignment (<i>Q. serrata</i> : $Q > 0.9$; Hybrids: $0.1 < Q < 0.9$; <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i> : $Q < 0.1$)					Total Number used in leaf morphology	N_A	H_O	H_E	F_{IS}
		Number of individuals assigned to <i>Q.</i> <i>serrata</i> -China	Number of individuals assigned to hybrids	Number of individuals assigned to <i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>	Number of individuals assigned to <i>Q.</i> <i>serrata</i> -Japan	Total Number used in genotyping					
<i>Q. serrata</i> -China											
TB	Allopatry	6	4	0	0	10	10	6.08	0.64	0.70	0.08
GW	Sympatry	8	4	0	0	12	12	5.75	0.55	0.67	0.08
BY	Allopatry	8	3	0	0	11	11	5.42	0.47	0.66	0.07
JF	Allopatry	8	1	0	0	9	9	4.92	0.55	0.63	0.06
XL	Sympatry	7	1	0	0	8	8	5.58	0.58	0.65	0.09
FM	Allopatry	4	3	0	0	7	7	5.17	0.62	0.65	0.04
FT	Allopatry	11	0	0	0	11	11	5.83	0.62	0.65	0.06
LB	Allopatry	1	5	0	0	6	6	4.92	0.61	0.68	0.09
WX	Sympatry	2	7	0	0	9	9	5.08	0.53	0.65	0.08
JJ	Allopatry	2	2	0	0	4	4	4.08	0.54	0.61	0.05
YF	Sympatry	1	4	0	0	5	5	3.75	0.47	0.55	0.09
<i>Q. serrata</i> var. <i>brevipetiolata</i>											
HW	Allopatry	0	5	1	0	6	6	5.08	0.62	0.69	0.08
TH	Sympatry	0	7	4	0	11	11	6.92	0.73	0.75	0.08
YQ	Sympatry	0	5	4	0	9	6	5.83	0.68	0.70	0.07
SX	Allopatry	0	2	3	0	5	5	4.08	0.73	0.64	0.01
LY	Sympatry	0	0	5	0	5	3	5.00	0.67	0.64	0.08
HS	Allopatry	0	1	6	0	7	7	4.75	0.58	0.67	0.02
HQ	Sympatry	0	1	7	0	8	8	5.25	0.66	0.69	0.09
SM	Allopatry	0	1	4	0	5	5	3.50	0.63	0.56	0.01
LS	Allopatry	0	1	5	0	6	6	4.42	0.76	0.64	0.08

附录

NJ	Allopatry	0	2	5	0	7	7	4.75	0.58	0.69	0.09
TP	Allopatry	0	0	9	0	9	10	5.25	0.54	0.63	0.09
QJ	Allopatry	0	3	6	0	9	6	5.92	0.64	0.70	0.09
YZ	Allopatry	0	3	6	0	9	9	6.17	0.59	0.69	0.09
DT	Allopatry	0	2	3	0	5	5	3.50	0.42	0.57	0.09
SJ	Allopatry	0	0	8	0	8	8	5.17	0.43	0.63	0.08
YY	Allopatry	0	3	4	0	7	6	5.00	0.59	0.66	0.06
<i>Q.serrata</i> -Japan											
SS	Allopatry	0	5	0	6	11	11	5.75	0.58	0.68	0.07
NI	Allopatry	0	2	0	18	20	18	8.42	0.61	0.73	0.05
TS	Allopatry	0	0	0	19	19	19	8.08	0.60	0.68	0.08

注: N_A : 不同等位基因数量; H_O : 观测杂合度; H_E : 期望杂合度; F_{IS} : 近交系数。

Note: N_A : number of different alleles; H_O : observed heterozygosity; H_E : expected heterozygosity; F_{IS} : inbreeding index.

个人简介

祁敏，女，1998 年出生，山西朔州人。

主要研究方向为森林生态、种群遗传以及生态修复。

教育背景

2021.09-2026.06 北京林业大学 生态学 博士

2024.11-2025.11 日本森林综合研究所 国家留学基金管理委员会资助联合培养

2018.09-2021.06 北京林业大学 林业 硕士

2014.09-2018.06 山西农业大学 植物检疫 学士

在读期间获得荣誉

北京林业大学优秀研究生

北京林业大学学术创新奖

项目经历

1. 参与国家自然科学基金面上项目：植物特征替代的分布格局及适应机制（42571062），2026.01-2029.12，经费 49 万元。主要负责野外调查和样品采集，数据整理分析工作。
2. 参与国家林业和草原局业务项目：中国白栎组树种的遗传多样性评价（KJZXSA202212），2022.06-2023.06，经费 15 万元。主要负责野外调查和样品采集，DNA 提取、叶型数据整理及遗传-环境关系分析，并撰写项目中期和结题报告工作。
3. 参与国家自然科学基金面上项目：栎类生态适应的分子机理研究（42071060），2021.01-2024.12，经费 56 万元。主要负责物种遗传多样性的评价，以及撰写项目中期和结题报告等工作。独立带队在山东、江苏、浙江和云南等 15 个省对白栎组物种开展实地调查采样，深入研究白栎组的生态环境与分布特性，积累了丰富的野外调研经验。
4. 参与国家自然科学基金面上项目：气候变化与物种进化历史持续性研究：以高山栎为例（41201051），2017.01-2020.12，经费 30 万元。主要负责高山栎植物的野外采样以及项目中期和结题报告撰写。

参与会议

1. 2025 年 9 月 4 日，受全球栎树保护联盟（总部设于美国莫顿植物园）邀请，在其主办的学术会议上作题为“Ecological Character Displacement in Oaks”的主题报告。
2. 2021 年 7 月 19 日，参加第七届植物生物学女科学家学术交流会。

3. 2021年4月17号, 参加第一届海岸带生态系统与全球变化国际研讨会。
4. 2020年11月27日, 参加全国系统与进化植物学研讨会暨第十四届青年学术研讨会。
5. 2019年12月7日, 参加第四届中国生物系统学学术论坛。
6. 2019年11月6日, 参加中国林学会举办的2019 栎类国际学术研讨会。

发表论文

在读期间共发表 SCI 论文 7 篇, CSCD 论文 2 篇, 其中 SCI 一区 top 论文 2 篇。

- [1] **Min Qi**, Jing Wang, Rongle Wang, Yigang Song, Saneyoshi Ueno*, Yibo Luo, Fang Du* (2025). Intraspecific character displacement in oaks. *The Plant Journal*, 122, e70165.
- [2] **Min Qi**, Fang Du*, Fei Guo, Kangquan Yin, Jijun Tang (2024). Species identification through deep learning and geometrical morphology in oaks (*Quercus* spp.): Pros and cons. *Ecology and Evolution*, 14(2), e11032.
- [3] Fang Du*, **Min Qi**, Yuan-Ye Zhang, Remy J. Petit (2022). Asymmetric character displacement in mixed oak stands. *New Phytologist*, 236(3), 1212-1224. (封面论文)
- [4] **Min Qi**, Qingmin Han, Fang Du*, Remy J. Petit*. Competition-colonization trade-offs drive convergent leaf trait evolution in oak syngameons (Under review in *Ecology Letters*).
- [5] Rongle Wang, Yanjun Luo, **Min Qi**, Yi Zhang, Jiawen Zhang, Yibo Luo, Fang Du* (2026). Fine-scale spatial genetic structure and leaf shape variation in five Fagaceae species: insights into conservation and adaptation. *Ecology and Evolution*, 16(2), e72863.
- [6] Yi Zhang, Yanjun Luo, **Min Qi**, Ying Li, Fang Du* (2025). Leaf morphological trait integration and modularity provide insights into ecological adaptation in evergreen oaks. *Forest Ecosystems*, 100350.
- [7] Keke Liu, **Min Qi**, Fang Du* (2022). Population and landscape genetics provide insights into species conservation of two evergreen oaks in Qinghai-Tibet Plateau and adjacent regions. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- [8] Yang Xu, Hao Chen, **Min Qi**, Wei Su, Fang Du* (2019). The complete chloroplast genome of *Quercus fabri* (Fagaceae) from China. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2):2857-2858.
- [9] 祁敏, 张原野, 李嘉伟, 杜芳*. (2021). 中-日分布的槲树种群遗传多样性与遗传分化. *兰州大学学报 (自然科学版)*, 57, 720-726. (中文核心)
- [10] 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. *应用生态学报*, 2021, 32: 2309-2315. (中文核心)

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。

主要致力于森林树种遗传多样性及物种形成的机理研究。主持国家自然科学基金项目五项，参与国家自然科学基金重点项目和科技部重点研发计划各一项。以第一作者或通讯作者发表SCI论文41篇，发明专利1项，论文总计被引用1400余次（谷歌学术统计）。2014年在北京林业大学搭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；2019年起担任中国植物学会女科学家协会委员；2023年起担任中国植物学会委员。2021年开始担任SCI期刊*Ecology and Evolution*的Associate Editor；2022年联合华东师范大学的王嵘教授与日本和加拿大的学者一起组织了“森林树种保护基因组学（Forest Tree Conservation Genomics）”的专刊；2023年开始担任*Plant Diversity*的Associate Editor。

获得成果目录清单

发表论文:

- Min Qi**, Jing Wang, Rongle Wang, Yigang Song, Saneyoshi Ueno*, Yibo Luo, Fang Du* (2025). Intraspecific character displacement in oaks. *The Plant Journal*, 122, e70165.
- Min Qi**, Fang Du*, Fei Guo, Kangquan Yin, Jijun Tang (2024). Species identification through deep learning and geometrical morphology in oaks (*Quercus* spp.): Pros and cons. *Ecology and Evolution*, 14(2), e11032.
- Fang Du*, **Min Qi**, Yuan-Ye Zhang, Remy J. Petit (2022). Asymmetric character displacement in mixed oak stands. *New Phytologist*, 236(3), 1212-1224. (封面论文)
- Min Qi**, Qingmin Han, Fang Du*, Remy J. Petit*. Competition-colonization trade-offs drive convergent leaf trait evolution in oak syngameons (Under review in *Ecology Letters*).
- Rongle Wang, Yanjun Luo, **Min Qi**, Yi Zhang, Jiawen Zhang, Yibo Luo, Fang Du* (2026). Fine-scale spatial genetic structure and leaf shape variation in five Fagaceae species: insights into conservation and adaptation. *Ecology and Evolution*, 16(2), e72863.
- Yi Zhang, Yanjun Luo, **Min Qi**, Ying Li, Fang Du* (2025). Leaf morphological trait integration and modularity provide insights into ecological adaptation in evergreen oaks. *Forest Ecosystems*, 100350.
- Keke Liu, **Min Qi**, Fang Du* (2022). Population and landscape genetics provide insights into species conservation of two evergreen oaks in Qinghai-Tibet Plateau and adjacent regions. *Frontiers in Plant Science*, 13.
- Yang Xu, Hao Chen, **Min Qi**, Wei Su, Fang Du* (2019). The complete chloroplast genome of *Quercus fabri* (Fagaceae) from China. *Mitochondrial DNA Part B*, 4(2):2857-2858.
- 祁敏**, 张原野, 李嘉伟, 杜芳*. (2021). 中-日分布的槲树种群遗传多样性与遗传分化. *兰州大学学报 (自然科学版)*, 57, 720-726. (中文核心)
- 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. *应用生态学报*, 2021, 32: 2309-2315. (中文核心)

致谢

写下致谢时，已快到小满节气。人生小满胜万全，或许正适合此刻的心境。我坐在电脑前，对着空白的文档，总觉得该写点什么了。一切仿佛终于尘埃落定，可那些想要感谢的人和事太多，总想着再等等，等自己再沉淀一些，等那些汹涌的情感再平复一些。可心里也明白，有些谢意是永远沉淀不够的，有些感动是再多文字也载不动的。那就写吧，笨拙也好，单薄也罢，总归是我在这条路上走了这么久，最想说的话。

博士生涯于我而言，是一场对意志的漫长磨砺，命运反复考验直到看到一颗坚韧的心。从2002年到2026年，二十四年的求学时光，早已凝结成一段珍贵的记忆。从晋西北的小镇，到北京，直至远赴日本，我似乎也走了很远的路。我从未想过自己能够读博，更未曾想过有一天能够走出国门，踏上联合培养的旅程。这一路并非坦途，却因无数人的托举、陪伴与支持，成为我生命中最难忘的一段旅程。

衷心感谢我的导师杜芳教授，杜老师是我博士生涯中最重要的引路人。回顾求学的点滴，许多关键的论文思路和研究方向，都是在杜老师的引导下逐渐清晰的。每一次讨论，杜老师都能敏锐地把握问题的核心，提出深入而独到的见解。她极其注重科研思维与学术逻辑的训练，不仅关心研究结果是否完整，更关心我是否真正掌握了分析问题、解决问题的方法。在论文选题、实验设计、结果分析与写作中，杜老师始终严格要求、认真推敲，哪怕是细微的逻辑漏洞或表达瑕疵，也不轻易放过。正是这种治学求真的态度，让我深刻理解到，科研并不仅仅是结果的积累，更是思维、耐心与责任感的反复打磨。在面对科研中的不确定性与挑战时，杜老师始终保持冷静、执着与坚定。性子急躁的我，曾在数据分析、论文投稿和返修和的日夜里辗转难眠，也曾在焦虑与自我怀疑中反复挣扎。是杜老师的鼓励与引导，让我在困难中学会冷静思考，在受挫时仍愿坚持向前。日本联合培养的机会，也离不开杜老师为我搭建桥梁、创造条件。正是这段经历，让我看见了更广阔的学术世界，也让我体验了不同文化和科研环境。学术之外，我更感谢杜老师对我人生的引导。她教会我对待每一件事情都要认真负责，尽力把自己能做的事情做到最好。尤其在精神迷茫的低谷时，杜老师曾以自己的求学经历鼓励我，让我明白困境是成长的必修课，挺过去便是蜕变。

感谢中国国家留学基金委的资助，给予我出国看世界的机会。我想特别感谢日本森林综合研究所 Dr. Saneyoshi Ueno 研究员。在他身上，我看到了一位学者的纯粹初心与执着坚守。初到日本森林研究所时，我用并不流利的英语介绍自己的研究内容，Saneyoshi 老师始终面带微笑，眼神里满是鼓励与包容。这一年里，每一次讨论中的耐心指导，外业采样时的细致帮助，居酒屋里的真诚畅谈，以及临行时留下的鼓励字条，都是我在日本森林研究所最温暖、最珍贵的回忆。也感谢课题组其他成员在工作和生活中给予我的关心与帮助，让我在跨文化的科研环境中依然感受到温情。感谢联培期间一起聚餐、分享生活的伙伴们，感谢蒋文婷、林玉虎和陈强老师在异国生活中

的陪伴与照顾，他们的优秀、乐观与阳光，温暖了我在日本的求学岁月。

感谢法国波尔多大学的 Rémy J. Petit 教授，Rémy 老师细致严谨，踏实认真的精神一直影响着我。感谢厦门大学的张原野教授、中科院植物研究所罗毅波研究员以及上海辰山植物园宋以刚副研究员在论文撰写过程中的帮助。

感谢我平凡而伟大的父母。他们一生操劳，以最朴素也最深沉的爱，托举我一路走到今天。感谢父母始终无条件地尊重并支持我做的每一个选择。二十多年里，我走得越远，他们的牵挂就越深，而他们在身后毫无保留地默默付出，只愿我平安顺遂。也感谢陪我一起成长的妹妹和弟弟，我们在各自的人生道路上慢慢长大，却始终彼此牵挂、彼此支撑。他们的理解、惦念与陪伴，是我在漫长求学路上最踏实的牵挂，这份手足情深，我永远感念于心。我向来恋家，却总在不舍中奔赴求学的远方，也正是在一次次别离与重逢中，我慢慢学会了独立，也更加明白家的意义。

感谢室友郭佳，方寸寝室里的夜话与长伴，陪我度过了许多疲惫难熬的日子。我们一起回忆过去，畅想未来，也一起走过了博士阶段最艰难却最有意义的时光。感谢“大自然研究中心”的各位朋友刘正霄、胡骞、李谦维、华俊钦。人海茫茫，庆幸相遇，谢谢你们一路走来的理解、关心、聆听与宽容。

感谢 402 分子实验室的伙伴们：张悦师姐、苏金源师姐、燕语师姐、王瑞师兄、李月娟师姐、王天瑞师兄、苏蔚、许阳、罗艳君、杨霖、刘可可、康艺馨、张艺、秦伟、原明星、王静、王荣乐、兰波、张佳文、王奇梦、王晶晶、王雅晴、范涛涛。八年时光里，我见证了他们每个人的蜕变和成长，而他们也仿佛一面镜子，让我看见了自己一路走来的点滴变化。我会永远记得一起外业采样时走过的山川、森林与田野，记得旅途中那些疲惫却充实的时刻。正是因为有他们的研途相伴，这段漫长而有时枯燥的求索岁月，才有了真实的色彩与生机。

最后，感谢一路颠簸却始终没有放弃的自己。回首那些因实验数据而焦虑不安的深夜，那些未能如愿时的自我怀疑与内耗，那些曾让我觉得无法逾越的难关，如今都已成为过去。我庆幸一路走来，自己始终在成长，始终顽强。事物的发展从不以我的意志为转移，但我的意志却可以带领我遵循着发展规律前进。过往皆为序章，愿此后步履从容，岁月安稳，顺遂无忧。

2026 年 5 月 20 日于北京
祁敏