•研究报告•

丹霞梧桐群体遗传结构及其遗传分化

武星彤¹ 陈璐¹ 王敏求¹ 张原¹ 林雪莹¹
李鑫玉¹ 周宏² 文亚峰^{1*}¹ (中南林业科技大学风景园林学院, 长沙 410004)² (广东省韶关市野生动植物保护办公室, 广东韶关 512000)

摘要: 丹霞梧桐(*Firmiana danxiaensis*)是分布于我国韶关地区北部丹霞地貌的特有物种, 其分布范围狭窄, 种群数量小。本文利用EST-SSR分子标记位点, 分析丹霞梧桐群体(丹霞山组群和南雄组群)的遗传多样性和遗传结构, 研究群体的分化历史, 探讨该物种的可能分布和科学保护策略。结果表明: 丹霞梧桐总的遗传多样性中等($H_t = 0.631$), 群体内遗传多样性较高($H_s = 0.546$), 遗传变异主要存在于群体内(79.66%), 但不同地理组群间存在显著的遗传分化($F_{ST} = 0.150$)。长期地理隔离和现代人为干扰是形成丹霞梧桐当前遗传变异模式的主要原因。STRUCTURE分析可将研究群体划分为清晰的两个基因库(gene pool), 其遗传结构与系统发育地理格局之间有密切关系。丹霞梧桐不同地理群体经历了独立的进化路线, 但丹霞山群体的杂合性高, 遗传背景更为复杂。近似贝叶斯运算法(Approximate Bayesian Computation, ABC)分析表明, 丹霞山和南雄地理群体在10万年前由同一个祖先群体分化而来, 分化时有效群体大小分别为7,290和5,550。结合丹霞梧桐的遗传变异和生态位信息, 可推测丹霞梧桐曾广泛分布于南岭地区, 受第四纪第三次亚冰期的影响, 南岭北部的丹霞梧桐群体因气候剧烈变化而灭绝, 仅在南岭南部适宜的环境中得以保存并繁衍至今, 丹霞山和南雄是丹霞梧桐最主要的两个冰期避难所。在全面掌握丹霞梧桐的自然分布, 开展就地保护的基础上, 通过建立种质资源圃、人工种苗扩繁、自然回归试验等措施, 对于该物种的异地保护、种群恢复和开发利用具有重要意义。

关键词: 群体遗传结构; 遗传分化; 遗传多样性; 近似贝叶斯算法; 微卫星标记; 丹霞梧桐

Population structure and genetic divergence in *Firmiana danxiaensis*Xingtong Wu¹, Lu Chen¹, Minqiu Wang¹, Yuan Zhang¹, Xueying Lin¹, Xinyu Li¹, Hong Zhou², Yafeng Wen^{1*}¹ Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004² Wildlife Conservation Office of Shaoguan, Guangdong, Shaoguan, Guangdong 512000

Abstract: *Firmiana danxiaensis* is an endemic plant species which is narrowly distributed in the northern parts of Shaoguan, Guangdong, China. To devise appropriate conservation strategies for this rare species, we examined the population structure and estimated the demographic history of nine natural populations using 18 EST-SSR markers. The results revealed a moderate degree of total genetic diversity ($H_t = 0.631$) at the species level but high genetic diversity within populations ($H_s = 0.546$). Strong genetic differentiation existed between two groups of Danxiashan and Nanxiong ($F_{ST} = 0.150$). This current pattern might have arisen from prolonged geographical isolation and human disturbances. STRUCTURE analysis demonstrated that whole population can be divided into two distinct gene pools, closely related by their geographic location and having experienced independent evolutionary routes. The genetic background of Danxiashan was more complicated than that of Nanxiong. Approximate Bayesian Computation (ABC) analysis indicated that divergence time between the two groups could be 100,000 years BP, and their effective population size were 7,290 and 5,550 individuals, respectively. Combining the information of genetic variation with niche modelling, we inferred that *F. danxiaensis* might have been widely distributed around the Nanling Mountain in the Quaternary period. Populations located in the northern of Nanling Mountain likely became extinct due to climate change.

收稿日期: 2018-08-13; 接受日期: 2018-11-28

基金项目: 国家林业局野生动植物保护项目和韶关市野生动植物保护办公室项目(2016ZWZY06)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: wenyafeng7107@163.com

Danxiashan and Nanxiong provided the main refuges for the species during the last ice age. Being a rare species with small population sizes, better ecological investigation of natural populations and *in situ* conservation and implementation of restoration strategy are important measures to conserve this species.

Key words: population genetic structure; genetic divergence; genetic diversity; Approximate Bayesian Computation; EST-SSR marker; *Firmiana danxiaensis*

植物的现代分布和遗传结构受多种生物和非生物因素的影响, 其中气候和地质变化是最主要的非生物因素, 会直接导致种内和种间的遗传分化(Hewitt, 1996, 2004)。中国亚热带地区地形复杂, 气候环境多样, 是全球生物多样性热点地区之一(Myers et al, 2000; 应俊生, 2001)。2010年, “中国丹霞”成功申报并被列入世界自然遗产, 丹霞地貌作为一个地貌类型被世界所承认(彭华, 2011)。“中国丹霞”地处亚洲东部湿润地区, 其特有的地质地貌和地理环境, 为多种孑遗植物的保存提供了良好的条件, 是我国亚热带地区生物多样性原地保护最重要的自然生境(彭少麟, 2011)。该地区的植物资源与分布、生态演替、遗传变异和多样性保护研究广受关注。

梧桐科是一个多型科, 形态特征极为多样化(解新明等, 2003)。该科植物的现代地理分布主要是在热带和亚热带地区, 但在地质历史上, 非洲、欧洲、亚洲和北美洲都有分布, 是第三纪孑遗植物(徐颂军和徐祥浩, 2001; 徐颂军, 2002)。梧桐科植物起源古老, 形态多样, 特有性强, 是研究热带、亚热带植物遗传变异分布格局及其历史成因, 了解古气候和地质变化的理想材料。中国梧桐属(*Firmiana*)植物共有4种, 全部为中国特有(徐颂军, 2002), 分别是梧桐(*F. platanifolia*)、云南梧桐(*F. major*)、海南梧桐(*F. hainanensis*)和丹霞梧桐(*F. danxiaensis*), 这4个种的地理分布除梧桐的栽培分布区较广外, 其他均属窄域分布类型。其中最具特色的是1987年在广东丹霞山自然保护区发现的丹霞梧桐(徐祥浩等, 1987), 是丹霞山最主要的特征种, 也是丹霞地貌的特有物种, 目前仅在韶关地区的丹霞山和南雄市境内有分布。

丹霞梧桐, 小乔木, 花期4–5月, 花呈紫红色, 雌雄异花同株, 风媒传粉为主。果实蓇葖果, 种子圆球形。其根系发达, 抗逆性强, 耐干旱和贫瘠, 适于庭院栽植和用作先锋造林树种。丹霞梧桐树形优美, 花色美丽, 秋色叶金黄, 亦是很好的园林观赏

树种。丹霞梧桐被发现以来, 由于其自然分布区狭窄, 种群数量小, 已被列入《中国物种红色目录》(汪松和解焱, 2004) “极危”等级, 是国家二级重点保护野生植物。目前, 丹霞梧桐相关研究工作较少, 主要集中于资源调查(陈璐等, 2018)、地理区系(罗晓莹等, 2015)、分布地地貌特征(欧阳杰和黄进, 2011)和群体遗传分析(Chen et al, 2014)等。2015年, 南雄市苍石寨也发现了丹霞梧桐, 使该种的自然分布从丹霞山向北推进了100多公里。丹霞梧桐在南雄市境内的发现提示我们, 我国亚热带其他典型丹霞地貌区可能也有该物种的分布, 但目前, 关于丹霞梧桐的全域分布、谱系地理学和种群保护研究开展较少, 不利于该珍稀物种的有效保护。

植物核基因组和叶绿体基因组具有不同的进化方式、进化速度和基因突变率, 选择适合的基因组分子标记方法有利于阐明遗传变异的分布格局和时空变化规律。传统的植物谱系地理学研究多通过叶绿体基因组序列的变异, 分析特定物种的群体遗传结构、进化和生态历程。叶绿体基因组单亲遗传, 进化速度慢, 基因突变率低(Demesure et al, 1995), 分子标记结果通常反映了更为远古的历史进化事件。而核基因组呈双亲遗传, 微卫星标记(SSR)突变率高、变异丰富、遗传信息量大(Jarne & Lagoda, 1996; Selkoe & Toonen, 2006), 更利于检测和揭示物种的近期进化及历史事件, 如瓶颈效应、群体扩张、隔离和迁移等。中国亚热带地区地形和气候的异质性高, 在整个第四纪冰期并未被大面积的山地冰川覆盖, 但该地区仍经历了复杂的气候变化, 并且保留了很多第三纪孑遗植物的残遗群体(陶君容, 1992; 应俊生, 2001)。第四纪冰期和间冰期对植物的现代分布、遗传结构、种内分化等产生了深刻的影响(Harrison et al, 2001; Qiu et al, 2011)。相对于地球漫长的地质史, 探索第四纪冰期相对较短的地质年代对物种进化和现代分布的影响, 核基因组微卫星标记是适合的研究方法。

基于此, 本文以我国亚热带丹霞地貌的特有种

丹霞梧桐为研究材料,利用EST-SSR分子标记位点,分析丹霞梧桐群体的遗传多样性和遗传结构;研究群体的进化和遗传分化历史;探讨该物种的可能分布区域和对环境的适应性。研究工作有利于该极小种群植物的保护和回归自然,同时,对于揭示中国亚热带丹霞地貌的植物系统进化,了解丹霞地貌的古气候和地质变化等也具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料

2016年9月至2017年5月,在野外全面调查的基础上,从丹霞梧桐的现有分布地采集9个群体共213个单株样本用于实验分析,每群体样本数量15–30株不等。采集新鲜、健康的嫩叶,硅胶干燥保存,用于DNA提取。根据它们的分布地9个群体可分为丹霞山(DXS)和南雄(NX)两个大的地理组群,其中丹霞山组群包括锦湖(JH)、老苗圃(LMP)、韶石山(SS)、阳元山(YY)和长老峰(ZLF) 5个群体,南雄组群包括鸳鸯湖(QWT)、水库1(SK1)、水库2(SK2)和柴岭(WT) 4个群体(表1)。选择18个多态性丰富的EST-SSR位点用于实验分析(MH053446–053461; KF048045; KF048051)(表2)。

1.2 方法

1.2.1 基因分型

利用改良CTAB法提取样本DNA (Tsumura et al, 1995), 2%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的浓度和质量,符合质量要求的DNA统一稀释为10 ng/ μ L, -20°C 保存待用。18对多态性引物,合成荧光引物,荧光接头分别为FAM, HEX, TAMRA。PCR扩增体系20 μ L,其中含2 $\times$ Taq PCR Master Mix (Tiangen)

10 μ L, F和R端引物各1 μ L, DNA模板3 μ L, ddH₂O 5 μ L。采用Touch-down PCR扩增程序: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性40 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 退火35 s (每个循环减1 $^{\circ}\text{C}$), 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 共10个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性40 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火35 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s, 共30个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。ABI3730测序仪对SSR扩增产物进行基因分型, Gene Marker 2.0软件收集基因分型结果。

1.2.2 遗传参数分析

利用GenALEx 6.3软件(Peakall & Smouse, 2006)统计各群体的等位基因数(N_a)、期望杂合度(H_e)、观测杂合度(H_o)和近交系数(F_{IS})等, MS-tools计算各位点的多态性信息含量(PI_C)。采用Hp-Rare 1.0软件(Kalinowski, 2005)计算等位基因和私有等位基因丰富度(A_r 和 pA_r)。FSTAT 2.9.3 (Goudet, 1995)用于估算总遗传多样性(H_t)、群体内遗传多样性(H_s)和遗传分化系数(F_{ST} 和 G_{ST})。采用Arlequin 3.5软件(Excoffier & Lischer, 2010)对组群间、群体间和群体内的遗传变异进行AMOVA方差分析。

GenALEx 6.3软件对群体间地理距离(取自然对数)和遗传距离[$F_{ST} / (1 - F_{ST})$]矩阵的相关性进行Mantel检验。采用Bottleneck软件(Cornuet & Luikart, 1996)检测群体是否经历瓶颈事件,选择逐步突变模型(stepwise mutation model, SMM)和双相突变模型(two-phased mutation model, TPM)的Wilcoxon单侧检验法。

1.2.3 遗传结构分析

利用Poptree 2.0软件(Takezaki et al, 2010)的邻接法(neighbor-joining, NJ)构建基于 D_A 遗传距离的聚类分析图。STRUCTURE 2.3.3 (Pritchard et al, 2000)用于群体遗传结构分析, K 值设定为2–9, 每个值运

表1 丹霞梧桐9个群体的地理位置及样本数量

Table 1 Locality information and sample size of the nine *Firmiana danxiaensis* populations

组群 Group	群体 Population	编号 Codes	纬度 Latitude (N)	经度 Longitude (E)	数量 Number
丹霞山 Danxiashan (DXS)	锦湖 Jinhu	JH	25 $^{\circ}$ 2'20.24"	113 $^{\circ}$ 44'52.80"	23
	老苗圃 Laomiaopu	LMP	25 $^{\circ}$ 2'22.24"	113 $^{\circ}$ 44'59.51"	21
	韶石山 Shaoshishan	SS	24 $^{\circ}$ 56'43.33"	113 $^{\circ}$ 45'17.60"	15
	阳元山 Yangyuanshan	YY	25 $^{\circ}$ 2'46.08"	113 $^{\circ}$ 44'7.32"	30
	长老峰 Zhanglaofeng	ZLF	25 $^{\circ}$ 1'34.70"	113 $^{\circ}$ 44'19.87"	29
南雄 Nanxiong (NX)	鸳鸯湖 Yuanyanghu	QWT	25 $^{\circ}$ 6'58.53"	114 $^{\circ}$ 11'30.70"	27
	水库1 Shuiku1	SK1	25 $^{\circ}$ 6'58.63"	114 $^{\circ}$ 12'25.62"	23
	水库2 Shuiku2	SK2	25 $^{\circ}$ 7'12.58"	114 $^{\circ}$ 12'30.57"	21
	柴岭 Chailing	WT	25 $^{\circ}$ 7'17.53"	114 $^{\circ}$ 12'16.21"	24

表2 18个位点在丹霞梧桐样本中的遗传多样性参数
Table 2 Genetic diversity of 18 loci for *Firmiana danxiaensis*

位点 Locus	等位基 因数 Number of allele (<i>N_a</i>)	总遗传多样性 Total genetic diversity for the species (<i>H_t</i>)	群体内遗传多样性 Genetic diversity within populations (<i>H_s</i>)	遗传分化系数 Interpersonal inbreeding coefficient (<i>F_{ST}</i>)	标准遗传分 化系数 Gene differentiation factor (<i>G_{ST}</i>)	多态性信息含量 Polymorphism information content (<i>PIC</i>)	登录号 Accession number
unigene_21904	9	0.651	0.590	0.102	0.094	0.577	MH053446
unigene_9882	9	0.670	0.546	0.217	0.185	0.608	MH053447
unigene_33644	7	0.726	0.618	0.171	0.148	0.680	MH053448
unigene_15157	8	0.800	0.722	0.094	0.098	0.765	MH053449
unigene_23055	9	0.562	0.500	0.136	0.111	0.486	MH053450
unigene_60653	5	0.692	0.598	0.153	0.137	0.639	MH053451
unigene_30066	6	0.588	0.554	0.064	0.057	0.498	MH053452
unigene_37667	3	0.402	0.320	0.223	0.205	0.331	MH053453
unigene_25213	4	0.578	0.510	0.135	0.118	0.515	MH053454
unigene_36790	13	0.745	0.582	0.240	0.219	0.717	MH053455
unigene_5197	9	0.638	0.514	0.219	0.194	0.611	MH053456
unigene_48018	5	0.525	0.506	0.038	0.035	0.419	MH053457
unigene_31908	15	0.700	0.640	0.080	0.085	0.659	MH053458
unigene_25861	4	0.526	0.523	0.007	0.006	0.418	MH053459
unigene_42278	7	0.745	0.632	0.165	0.152	0.704	MH053460
unigene_35652	10	0.733	0.597	0.205	0.186	0.711	MH053461
Fir_SSR25d-F	5	0.549	0.478	0.126	0.130	0.475	KF048045
Fir_SSR81d-F	3	0.527	0.398	0.285	0.244	0.422	KF048051
均值 Mean	7.278	0.631	0.546	0.150	0.135	0.569	

算10次, Burn in Period和MCMC (Markov Chain Monte Carlo)的迭代参数分别为100,000和50,000。利用STRUCTURE HARVESTER软件(Earl & vonHoldt, 2012)和 ΔK 数值的分布, 确定最优基因库数(*K*值)。利用CLUMPP 1.1.2 (Jakobsson & Rosenberg, 2007)计算基于最优*K*值的个体隶属系数(*Q*值), DISTRICT 1.1 (Rosenberg, 2010)将群体遗传结构以图形方式可视化输出。基于遗传距离矩阵, 利用GenALEx 6.3软件对所有个体样本的遗传关系进行主成分分析(PCA)。

1.2.4 群体分化历史分析

利用DIY ABC软件(Cornuet et al, 2014)的近似贝叶斯算法(Approximate Bayesian Computation)对丹霞梧桐群体的历史事件进行推测, 主要包括群体的分化时间、有效群体数量的变化以及群体混合事件(admixture)的比率等。根据STRUCTURE 2.3.3得出的最优*K*值(基因库)、系统发育树结果及相关地质

资料, 检测以下4种历史进化事件, 依据后验概率数值(posterior probability, *PP*)确定最优进化事件。

进化事件1: 丹霞山和南雄群体由一个共同的祖先群体分化而来(*tI*)。

进化事件2: 未知群体和南雄群体先由一个共同的祖先群体分化而来(*tI*), 未知群体经历瓶颈事件(*tb*), 形成现在的丹霞山群体。

进化事件3: 南雄群体先从未知群体中分化而来(*tI*), 未知群体经历了瓶颈事件(*tb*), 形成现在的丹霞山群体。

进化事件4: 未知群体经历了瓶颈事件形成现在的丹霞山群体(*tI*), 南雄群体从丹霞山群体中分化而来(*tb*)。

DIY ABC软件基于近似贝叶斯算法, 根据溯祖理论, 运用自然群体的复杂进化事件模型, 在95%的置信水平下, 基于Logistic回归, 使用最接近模拟数据1%的观测数据来估测每个进化事件的后验概

率, 后验概率值最大者, 为最优进化事件(每个进化事件进行1,000,000次模拟, 共4,000,000次的数据模拟)。相关参数设置见附录1, 其他相关设置依据DIY ABC软件的用户指南。

2 结果

2.1 遗传多样性

18个EST-SSR位点共检测到131个等位基因(N_a), 不同位点的等位基因数从3个(unigene_37667位点)到15个(unigene_31908位点)不等, 平均为7.278(表2)。在种的水平, 丹霞梧桐总的遗传多样性(H_t)为0.631, 群体内遗传多样性(H_s)为0.546。从群体水平进行分析(表3), 其平均等位基因数在3.167–4.444之间, 平均期望杂合度(H_e)为0.536。以群体内最小样本数15为基数, 长老峰(ZLF)群体具有最高的等位基因丰富度(A_r)和私有等位基因丰富度(pA_r), 其值分别为3.850和0.380。各群体在多个位点显著偏离Hardy-Weinberg平衡, 表现为杂合子数量过剩, 近交系数(F_{IS})的变化范围从–0.409到

–0.056, 平均值为–0.229。

对于丹霞山(DXS)和南雄(NX)两个组群而言(表4), 其期望杂合度(H_e)分别为0.552和0.517, 群体内遗传多样性(H_s)分别为0.564和0.527。以组群内最小样本数95为基数, 丹霞山群体的等位基因丰富度(A_r)和私有等位基因丰富度(pA_r)分别为5.371和1.602, 南雄群体分别为4.836和1.065。

2.2 群体遗传分化

AMOVA分析结果表明, 丹霞山和南雄两组群间的遗传变异占总变异的15.06% ($P < 0.01$), 群体间占5.28% ($P < 0.01$), 群体内个体间的遗传变异最高, 占总变异的79.66% ($P < 0.01$)(表5), 说明丹霞梧桐的遗传变异主要存在于群体内的个体之间, 其次, 组群间(丹霞山和南雄)存在较大的遗传变异, 同一组群内群体间的遗传变异则相对较小。

丹霞梧桐群体间的遗传分化系数(F_{ST} 和 G_{ST})分别为0.150和0.135(表2), 在种的水平表现出较高的遗传分化。不同地理组群内的遗传分化很小, 其中丹霞山群体的遗传分化系数为0.075, 南雄群体为

表3 丹霞梧桐9个群体的遗传多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of the nine *Firmiana danxiaensis* populations

群体 Population	编号 Codes	等位基因数 Number of allele (N_a)	期望杂合度 Expected heterozygosity (H_e)	观测杂合度 Observed heterozygosity (H_o)	等位基因 丰富度 Allelic richness (A_r)	私有等位基因 丰富度 Private allelic richness (pA_r)	近交系数 Inbreeding coefficient (F_{IS})
锦湖 Jinhu	JH	3.778	0.539	0.719	3.520	0.320	–0.345***
老苗圃 Laomiaopu	LMP	3.778	0.543	0.638	3.540	0.190	–0.189***
韶石山 Shaoshishan	SS	3.389	0.544	0.765	3.370	0.150	–0.409***
阳元山 Yangyuanshan	YYS	4.444	0.548	0.673	3.820	0.220	–0.203***
长老峰 Zhanglaofeng	ZLF	4.389	0.584	0.665	3.850	0.380	–0.178***
鸳鸯湖 Yuanyanghu	QWT	4.056	0.533	0.648	3.580	0.230	–0.198***
水库1 Shuiku1	SK1	3.167	0.447	0.495	2.990	0.140	–0.056***
水库2 Shuiku2	SK2	3.778	0.544	0.712	3.470	0.130	–0.310***
柴岭 Chailing	WT	4.222	0.545	0.623	3.770	0.150	–0.175***
平均值 Mean		3.889	0.536	0.660	3.546	0.212	–0.229

*** $P < 0.001$, 表示该群体极显著偏离哈代–温伯格平衡。

*** $P < 0.001$, representing the population significantly deviate from Hardy-Weinberg Equilibrium.

表4 丹霞梧桐两组群间的遗传多样性参数

Table 4 Genetic diversity parameters of the two *Firmiana danxiaensis* groups

组群 Group	期望杂合度 Expected heterozygosity (H_e)	群体内遗传多样性 Genetic diversity within populations (H_s)	等位基因丰富度 Allelic richness (A_r)	私有等位基因 丰富度 Private allelic richness (pA_r)	标准遗传分化系数 Gene differentiation factor (G_{ST})	基因流 Gene flow (N_m)
丹霞山 Danxiashan (DXS)	0.552	0.564	5.371	1.602	0.075	6.941
南雄 Nanxiong (NX)	0.517	0.527	4.836	1.065	0.053	9.326

表5 丹霞梧桐群体间分子方差分析(AMOVA)($P < 0.01$)
Table 5 Results of analysis of molecular variance (AMOVA) from populations of *Firmiana danxiaensis* ($P < 0.01$)

变异来源 Source of variation	自由度 d.f.	方差和 Sum of squares	变异组分 Variance components	占总变异比例 Percentage of variation (%)
组群间 Among groups	1	171.218	0.7352	15.06
群体间 Among populations	7	111.824	0.2576	5.28
群体内 Within populations	417	1,621.42	3.8883	79.66
总计 Total	425	1,904.462	4.8811	—

0.053, 说明在各组群内基因交换较为频繁, 基因流大小分别为6.941和9.326 (表4)。

2.3 群体遗传结构

STRUCTURE分析结果显示: 当 $K = 2$ 时出现明显拐点且取得最大值, ΔK 数值的分布在3–6之间趋于平缓, 说明9个群体最有可能被分为2个基因库 (gene pool), A和B (图1)。根据单株个体分配到不同基因库的比例, 来源于丹霞山的5个群体全部分配到了基因库A, 基因库B则包含了来源于南雄的4个群体, DISTRUCT输出结果直观显示了各群体的成分组成(图2)。随着 K 值的增大($K = 3$ 、 $K = 4$), 丹霞山组群中出现了新的基因库, 长老峰(ZLF)、韶石山(SS)群体逐渐从丹霞山同源基因库中分离出来, 显示出与其他群体的较大差异, 而南雄的4个群体中没有出现新的基因库。

邻接法(NJ)构建的各群体系统发育树上, 9个群体分为2个分支, 分别对应丹霞山组群和南雄组群(图3)。不同单株个体的主成分分析结果(PCoA)(图4)和STRUCTURE及NJ结果一致。群体间 $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ 和地理距离(对数变换)($\ln Km$)矩阵的Mantel检验结果表明, 丹霞梧桐群体的遗传距离和地理距离之间极显著相关, 相关系数为 $R = 0.833$ ($P = 0.01$)(图5)。

图1 基于EST-SSR标记的丹霞梧桐群体遗传分析。(a)基于Evanno等(2005)所得的相应的 ΔK ; (b) STRUCTURE分析的直方图($K = 2$ 时, ΔK 值最大)。每个竖条代表1个群体。DXS代表丹霞山组群; NX代表南雄组群。
Fig. 1 Genetic structure for *Firmiana danxiaensis* based on EST-SSR markers. (a) The corresponding ΔK statistics calculated according to Evanno et al (2005). (b) Histogram of the structure analysis for the model with $K = 2$ (showing the highest ΔK). Each vertical bar represents one population. DXS represent Danxiashan group; NX represent Nanxiong group.

图2 基于CLUMPP和DISTRUCT分析的丹霞梧桐群体遗传结构($K = 2, 3, 4$)。缩写含义同表1。
Fig. 2 Genetic structure for *Firmiana danxiaensis* based on CLUMPP and DISTRUCT ($K = 2, 3, 4$). Meanings of abbreviations are shown in Table 1.

图3 基于Nei's无偏距离的NJ法(Neighbor-joining, NJ)构建的丹霞梧桐9个群体的聚类图。缩写含义同表1。

Fig. 3 Neighbor-joining network illustrating the genetic relationships among the nine *Firmiana danxiaensis* populations, based on Nei's (1987) unbiased genetic distance. Meanings of abbreviations are shown in Table 1.

图4 丹霞梧桐9个群体中两种SSR表型的主成分分析(PCoA)。缩写含义同表1。

Fig. 4 Principal coordinates analysis (PCoA) of two SSR phenotypes from all nine populations of *Firmiana danxiaensis*. Meanings of abbreviations are shown in Table 1.

图5 丹霞梧桐9个群体的地理距离与遗传距离的相关性检验

Fig. 5 Geographical distance against genetic distance for the nine *Firmiana danxiaensis* populations

2.4 瓶颈效应检测

利用Bottleneck提供的逐步突变模型和双相突变模型检测9个群体的瓶颈效应。锦湖(JH)、韶石山(SS)、水库1(SK1)和水库2(SK2)群体在双相突变模

型(TPM)中杂合子过剩($P < 0.01$), 而在逐步突变模型(SMM)中未出现杂合子过剩现象(表6)。

2.5 群体进化历史

DIY ABC分析结果表明, 设定的4个进化事件的后验概率(PP)分别为0.4303, 0.2740, 0.1724和0.1233, 最高值出现在进化事件1中, 说明进化事件1的假设可信度最高(图6)。根据进化事件1的描述, 丹霞山和南雄群体在 $t1$ 时由一个共同的祖先群体分化而来, 群体进化过程中没有经历瓶颈事件。2个群体的历史分化时间 $t1$ 估测值为2,870代(generation), 分化后有效群体大小分别为7,290和5,550个样本(表7, 附录2)。

3 讨论

3.1 遗传变异模式

微卫星分析结果表明, 丹霞梧桐总的遗传多样性中等($H_t = 0.631$), 低于长果安息香(*Changio-*

styrax dolichocarpa, Yao et al, 2007)、青钱柳(*Cyclocary apaliurus*, Kou et al, 2016)和八角莲(*Dysosma versipellis*, Qiu et al, 2009)等亚热带落叶阔叶树种, 但群体内遗传多样性相对较高($H_s = 0.546$)。群体间, 特别是不同地理群体间存在显著的遗传分化($F_{ST} = 0.150$, $P < 0.01$)。丹霞梧桐现存种群的遗传变异模式类似于其他亚热带阔叶树种(叶俊伟等, 2017), 但与长命、风媒传粉植物的遗传变异模式有明显不同

表6 丹霞梧桐群体瓶颈效应检测
Table 6 Bottleneck detection for *Firmiana danxiaensis*

群体 Population	编号 Codes	Wilcoxon检验 Wilcoxon test	
		双相突变模型 Two-phased mutation model (TPM)	逐步突变模型 Stepwise mutation model (SMM)
锦湖 Jinhu	JH	0.00200	0.22115
老苗圃 Laomiaopu	LMP	0.16236	0.95929
韶石山 Shaoshishan	SS	0.00005	0.20856
阳元山 Yangyuanshan	YYS	0.12310	0.95063
长老峰 Zhanglaofeng	ZLF	0.13226	0.98288
鸳鸯湖 Yuanyanghu	QWT	0.16236	0.94518
水库1 Shuiku1	SK1	0.00237	0.22115
水库2 Shuiku2	SK2	0.00694	0.63314
柴岭 Chailing	WT	0.05935	0.64906

图6 基于近似贝叶斯算法的丹霞梧桐4个进化事件模型($K = 2$)。缩写含义同表1。DXS代表丹霞山组群, NX代表南雄组群。 PP 代表后验概率, $N1$, $N2$, $N1b$, NA 分别代表有效群体大小, tI , ta , tb 分别代表进化代数。
Fig. 6 Four scenarios for *Firmiana danxiaensis* based on Approximate Bayesian Computation ($K = 2$). Meanings of abbreviations are shown in Table 1. DXS represents Danxiashan group. NX represents Nanxiong group. PP represents posterior probability. $N1$, $N2$, $N1b$, NA represent effective population size, respectively. tI , ta , tb represent generation.

表7 基于近似贝叶斯算法的各进化事件的后验分布的中值估计

Table 7 Median estimation of posterior distributions for each scenario based on Approximate Bayesian Computation (ABC)

	进化事件1 Scenario 1	进化事件2 Scenario 2	进化事件3 Scenario 3	进化事件4 Scenario 4
后验概率 Posterior probability (<i>PP</i>)	0.4303	0.2740	0.1724	0.1233
代数 Generation (<i>tI</i>)	2,870	3,210	2,500	4,910
代数 Generation (<i>ta</i>)	—	1,510	1,880	—
代数 Generation (<i>tb</i>)	—	—	—	1,880
群体大小 Effective population size (<i>N_{Ib}</i>)	—	4,830	6,070	646
群体大小 Effective population size (<i>N_I</i>)	7,290	7,800	8,260	7,220
群体大小 Effective population size (<i>N₂</i>)	5,550	5,700	5,430	5,630
群体大小 Effective population size (<i>N₃</i>)	—	—	—	—
群体大小 Effective population size (<i>N_A</i>)	4,450	4,130	—	—

(较高的种内遗传多样性和较低的种间遗传分化)(Hamrick et al, 1992; Hamrick & Godt, 1996; Nybom, 2004)。植物遗传多样性和遗传分化受多种因素的影响,如繁殖系统、基因流、遗传漂变、气候变化、地理隔离和人为干扰等(Freeland et al, 2011; 文亚峰等, 2010)。特定物种的遗传变异模式是以上多因素综合作用的结果。长期的地理隔离和现代人为干扰可能是形成丹霞梧桐当前遗传变异模式的主要原因。

地理隔离会减少植物群体间的联系和遗传物质交换,增加遗传漂变的几率,导致群体内遗传多样性降低,群体间遗传分化加大(Templeton et al, 2001; Frankham et al, 2002),甚至产生新的隔离种。分析结果显示现存丹霞梧桐群体间存在极显著的地理隔离($R = 0.833$, $P = 0.01$)。梧桐科植物是第三纪孑遗植物,在长期的历史进化过程中,古地质、气候的剧烈变化使其群体数量持续减少,有限的个体能够适应小环境(避难所)存活繁衍至今。作为丹霞地貌的特有种,丹霞梧桐对地质和土壤的特殊要求进一步限制了其分布范围,加大了地理隔离。与Chen等(2014)对丹霞梧桐的研究相比较,本研究显示出更高的种内遗传多样性和群体间遗传分化,这是因为我们的采样范围扩大到了南雄地区,地理距离的增大,种群之间的长期隔离最终形成了当前的遗传变异模式。

全新世以来,人类活动对全球生物多样性产生了深刻影响,成为现代物种灭绝的主要原因(Palumbi, 2001; Tilman & Lehman, 2001)。森林砍伐、资源过度利用、农业、旅游活动、环境污染等

人类活动的增加使丹霞梧桐的生境遭到了严重破坏,种群数量迅速减少,群体片断化日趋严重。群体近交系数为负值($F_{IS} = -0.229$),说明自然状态下丹霞梧桐以异交为主,这与其风媒传粉、鸟类传播种子的生殖特性一致。但这些有利于基因流动的繁殖特性仍然难以抵消由于地理隔离和人为干扰所带来的群体规模缩小及片断化效应,进而引起遗传多样性的丢失和遗传分化的加剧。

3.2 群体遗传结构

AMOVA巢式分析结果表明,丹霞梧桐的遗传变异主要存在于群体内,但群体间特别是地理组群间仍存在较大程度的遗传变异。STRUCTURE分析得到的最优 K 值为2,可将9个群体划分为两组,正好与两个地理组群的采样点相符合。随着 K 值的增大($K = 3, 4$),丹霞山组群中出现了新的基因库,说明丹霞山群体的杂合性更高,遗传背景更为复杂。NJ系统发育分析和个体PCoA分析结果与STRUCTURE分析结果一致,进一步说明丹霞梧桐两个地理群体各自经历了独立的进化路线,其遗传结构与系统发育地理格局之间有密切关系。

丹霞梧桐清晰的群体遗传结构一定程度上反映出了冰期避难所信息。最近的100万年,冰期的循环时间约为10万年(Howard, 1997)。这意味着每隔10万年,就会有气温和降雨量发生动荡变化的冰期和间冰期出现,在此过程中,只有适应气候和环境剧烈变化的物种或群体才得以成活。气候和环境的反复变化加快了植物的适应性进化,也使不同避难所群体间的遗传分化持续加大。本研究表明,丹霞梧桐的群体遗传结构符合多个避难所模式,与中国亚

热带地区阔叶林植物谱系地理学研究结果相吻合(叶俊伟等, 2017)。我们推测第四纪冰期时, 南岭周边可能存在多个丹霞梧桐避难所。现存丹霞山群体在丹霞山分布面积广, 具有较高的遗传多样性和私有等位基因, 遗传背景复杂, 故丹霞山可能属于冰期大型避难所。南雄群体遗传多样性相对较低, 遗传结构单一, 应是潜在的小型避难所。

3.3 地理群体分化时间

DIY ABC分析允许考虑复杂的群体进化历史, 包括可能的群体分化, 杂交(混合)或种群数量变化的任何组合, 通过对进化事件的置信度评估, 实现最优进化事件的检验。群体历史进化事件的发生或分化时间常以物种的世代更替代数(generation)的形式给出。研究分析表明, 丹霞梧桐两个地理群体(丹霞山和南雄)由同一个祖先群体分化而来, 分化发生在2,870代(t_1)之前。不同物种有各自特定的世代更替时间, 我们无法确定自然条件下丹霞梧桐每代繁殖更替的准确时间, 但丹霞梧桐属长命阔叶树种, 通常需要8–10年开花结实, 自然条件下受多种因素影响性成熟会有所延迟。我们根据丹霞梧桐和亚热带落叶阔叶树种的生物学特性, 设定其每代繁殖更替时间为30–50年, 最优进化事件1所对应的群体分化时间为86,100–143,500年, 即丹霞山和南雄地理群体的分化时间发生在约10万年之前。

根据古地质和气候变化史, 第四纪冰期东亚地区可能经历了4次亚冰期和5次间冰期(景才瑞, 1963)。在亚冰期, 植物受温度和降雨量的减少会退缩至避难所, 间冰期随着温度和环境条件的好转, 植物种群会以避难所为中心逐渐扩大分布范围。DIY ABC分析结果显示丹霞山和南雄群体的分化时间约在10万年之前, 丹霞梧桐似乎并未受到末次盛冰期(LGM, 21,000年前)的影响。我们推测10万年前, 丹霞梧桐广泛分布于南岭周边地区, 受第四纪第三次亚冰期的影响, 南岭北部的丹霞梧桐因气候剧烈变化而灭绝, 仅在南岭南部较适宜的环境得以保存并繁衍至今, 丹霞山和南雄是丹霞梧桐最主要的两个冰期避难所。分化后, 两地理群体的有效群体大小分别为7,290(丹霞山)和5,550(南雄)个样本, 丹霞山群体分布面积更为广泛, 原始群体数量保存较多, 群体间基因交流频繁, 这也解释了丹霞山群体为什么具有较高的遗传多样性和稀有等位基因。南雄地区因特殊的小气候环境, 丹霞梧桐仅在沟谷

中有少量分布, 群体间显示出了较近的亲缘关系和较小的遗传分化。根据我们的野外调查, 丹霞梧桐目前在韶关地区的分布数量约7,000株, 新生代以后, 人类活动的增加和对自然资源的破坏是其有效群体数量减少的主要原因。

3.4 丹霞梧桐的保护策略

丹霞梧桐起源古老, 自然分布区域狭窄, 其发现至今不过30年时间, 相关研究工作基础薄弱。本研究中, 虽然Bottleneck检测和DIY ABC分析均没有显示明显的瓶颈事件, 如果不采取有效的保护措施, 随着丹霞梧桐群体数量的减少和生境片断化的加剧, 必然会对该物种的长期生存造成影响。

科学保护的第一步是掌握丹霞梧桐的自然分布。根据丹霞梧桐现有分布地区的气候资料, 并结合丹霞地貌特征, 我们发现南岭南部的丹霞地貌区是丹霞梧桐的潜在分布地, 广西、广东、福建三省区的玉林–韶关–武夷山沿线应作为资源调查的重点(黄进等, 2015)。南岭北部丹霞地貌区的小气候环境也可能会有该物种的分布, 主要包括2010年被列入“世界自然遗产”的典型丹霞地貌区, 如湖南崀山、贵州赤水、江西龙虎山、浙江江郎山、福建泰宁等地(彭华, 2011)。

针对丹霞梧桐的现有种群, 就地保护是最有效的保护措施。丹霞地貌小尺度范围内有着高度多样的生态系统, 生境多变, 丹霞梧桐多生长于坡度较大的山体岩壁上, 这种特殊地貌的生境中尽管环境恶劣, 但由于丹霞梧桐根系发达, 茎基萌蘖能力强, 大部分长势良好。保护好现有群落和生境, 才能最大限度地保存该物种及其遗传多样性。相比较而言, 丹霞山自然保护区的长老峰(ZLF)、韶石山(SS)群体遗传多样性高, 含有较多私有等位基因, 应予以优先重点保护。对于锦湖(JH)、阳元山(YYS)等靠近旅游区的群体, 要做好宣传保护, 定期监测, 评估旅游活动对丹霞梧桐群体的影响。南雄山地的丹霞梧桐数量较少, 但基因资源特殊, 应尽快建立自然保护区予以有效保护。同时, 通过建立种质资源圃、人工种苗扩繁、自然回归试验等措施, 对于该物种的异地保护、种群恢复和开发利用都具有重要意义。

致谢: 广东省韶关市丹霞山管理委员会陈昉主任、陈再雄园长和广东省南雄市林业局钟平生主任在

资源调查和样本采集中给予支持和帮助, 特此感谢! 同时特别感谢编辑老师认真细致的修改!

参考文献

- Chen L, Zhou H, Wang MQ, Wu XT, Lin XY, Zhang Y, Wen YF (2018) Community characteristics comparison of *Firmiana danxiaensis* species. Chinese Wild Plant Resources, 37(2), 46–49. (in Chinese with English abstract) [陈璐, 周宏, 王敏求, 武星彤, 林雪莹, 张原, 文亚峰 (2018) 丹霞梧桐群落特征比较研究. 中国野生植物资源, 37(2), 46–49.]
- Chen SF, Li MW, Hou RF, Liao WB, Zhou RC, Fan Q (2014) Low genetic diversity and weak population differentiation in *Firmiana danxiaensis*, a tree species endemic to Danxia landform in northern Guangdong, China. Biochemical Systematics & Ecology, 55, 66–72.
- Cornuet JM, Luikart G (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics, 144, 2001–2014.
- Cornuet JM, Pudlo P, Veyssier J, Dehne-Garcia A, Gautier M, Leblois R, Marin JM, Estoup A (2014) DIYABC v2.0: A software to make approximate Bayesian computation inferences about population history using single nucleotide polymorphism, DNA sequence and microsatellite data. Bioinformatics, 30, 1187–1189.
- Demesure B, Sodji N, Petit RJ (1995) A set of universal primers for amplification of polymorphic non-coding regions of mitochondrial and chloroplast DNA in plants. Molecular Ecology, 4, 129–131.
- Earl DA, vonHoldt BM (2012) STRUCTURE HARVESTER: A website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. Conservation Genetics Resources, 4, 359–361.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 10, 564–567.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA (2002) Introduction to Conservation Genetics. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Freeland JR, Petersen SD, Kirk H (2011) Molecular Ecology, 2nd Edn. Wiley-Blackwell, West Sussex.
- Goudet J (1995) FSTAT (Version 1.2): A computer program to calculate F-Statistics. Journal of Heredity, 86, 485–486.
- Hamrick JL, Godt MJW (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 351, 1291–1298.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. New Forests, 6, 95–124.
- Harrison SP, Yu G, Takahara H, Prentice IC (2001) Palaeovegetation (communications arising): Diversity of temperate plants in East Asia. Nature, 413, 129–130.
- Hewitt GM (2004) Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 359, 183–195.
- Hewitt GM (1996) Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biological Journal of the Linnean Society, 58, 247–276.
- Howard WR (1997) A warm future in the past. Nature, 388, 418–419.
- Huang J, Chen ZJ, Qi DL (2015) Study on distribution of Danxia Landform in China (first). Mountain Research, 33, 385–396. (in Chinese with English abstract) [黄进, 陈致均, 齐德利 (2015) 中国丹霞地貌分布(上). 山地学报, 33, 385–396.]
- Jakobsson M, Rosenberg NA (2007) CLUMPP: A cluster matching and permutation program for dealing with label switching and multimodality in analysis of population structure. Bioinformatics, 23, 1801–1806.
- Jarne P, Lagoda PJJ (1996) Microsatellites, from molecules to populations and back. Trends in Ecology & Evolution, 11(10), 424–429.
- Jing CR (1963) On the Quaternary glacial period in China. Scientific Research Papers, (1963), 253–268. (in Chinese) [景才瑞 (1963) 试论中国第四纪冰期. 科学研究论文集, (1963), 253–268.]
- Kalinowski ST (2005) HP-RARE 1.0: A computer program for performing rarefaction on measures of allelic richness. Molecular Ecology Resources, 5, 187–189.
- Kou YX, Cheng SM, Tian S, Li B, Fan DM, Chen YJ, Soltis DE, Soltis PS, Zhang ZY (2016) The antiquity of *Cyclocary apaliurus* (Juglandaceae) provides new insights into the evolution of relict plants in subtropical China since the late early Miocene. Journal of Biogeography, 43, 351–360.
- Luo XY, Chen QH, Cai CR, Zeng HN, Ren B, Zheng WL, Feng JY (2015) Analysis on geographical elements of the community of plant species with extremely small population *Firmiana danxiaensis*. Journal of Shaoguan University, 36(12), 28–31. (in Chinese with English abstract) [罗晓莹, 陈秋慧, 蔡纯榕, 曾浩宁, 任斌, 郑万里, 冯均尧 (2015) 极小种群植物丹霞梧桐群落的地理区系成分分析. 韶关学院学报, 36(12), 28–31.]
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, Da FG, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. Nature, 403, 853–858.
- Nyblom H (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. Molecular Ecology, 13, 1143–1155.
- Ouyang J, Huang J (2011) Spatial distribution of Danxia landforms in China. Geospatial Information, 9(6), 55–59. (in Chinese with English abstract) [欧阳杰, 黄进 (2011) 中国丹霞地貌空间分布探讨. 地理空间信息, 9(6), 55–59.]
- Palumbi SR (2001) Humans as the World's Greatest Evolutionary Force. Science, 293, 1786–1790.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: Genetic analysis in Excel, population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Resources, 6, 288–295.

- Peng H (2011) Danxia of China towards the world. Map, (6), 114–121. (in Chinese) [彭华 (2011) 走向世界的中国丹霞. 地图, (6), 114–121.]
- Peng SL (2011) Comprehensive Scientific Investigation for Animal and Plant Resources in Mount Danxia, Guangdong. Science Press, Beijing. (in Chinese) [彭少麟 (2011) 广东丹霞山动植物资源综合科学考察. 科学出版社, 北京.]
- Pritchard JK, Stephens MJ, Donnelly PJ (2000) STRUCTURE, version 2.3.3, inference of population structure using multi-locus genotype data. *Genetics*, 155, 945–959.
- Qiu YX, Fu CX, Comes HP (2011) 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. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 59, 225–244.
- Qiu YX, Guan BC, Fu CX, Comes HP (2009) Did glacials and/or interglacials promote allopatric incipient speciation in East Asian temperate plants? Phylogeographic and coalescent analyses on refugial isolation and divergence in *Dyosma versipellis*. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 51, 281–293.
- Rosenberg NA (2010) DISTRUCT: A program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, 4, 137–138.
- Selkoe KA, Toonen RJ (2006) Microsatellite for ecologists: A practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters*, 9, 615–629.
- Takezaki N, Nei M, Tamura K (2010) POPTREE2: Software for constructing population trees from allele frequency data and computing other population statistics with Windows-interface. *Molecular Biology & Evolution*, 27, 747–752.
- Tao JR (1992) Study on the fossil flowers of angiosperm. *Acta Botanica Sinica*, 34, 240–242. (in Chinese) [陶君容 (1992) 被子植物的花化石研究. 植物学报, 34, 240–242.]
- Templeton AR, Robertson RJ, Brisson J, Strasburg J (2001) Disrupting evolutionary processes: The effect of the habitat fragmentation on collared lizards in the Missouri Ozarks. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 5426–5432.
- Tilman D, Lehman C (2001) Human-caused environmental change: Impacts on plant diversity and evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 98, 5433–5440.
- Tsumura Y, Yoshimura K, Tomaru N, Ohba K (1995) Molecular phylogeny of conifers using RFLP analysis of PCR-amplified specific chloroplast genes. *Theoretical and Applied Genetics*, 91, 1222–1236.
- Wang S, Xie Y (2004) China Species Red List (Vol. 1). Higher Education Press, Beijing. (in Chinese) [汪松, 解焱 (2004) 中国物种红色名录(第一卷). 高等教育出版社, 北京.]
- Wen YF, Han WJ, Wu S (2010) Plant genetic diversity and its influencing factors. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 30(12), 80–87. (in Chinese with English abstract) [文亚峰, 韩文军, 吴顺 (2010) 植物遗传多样性及其影响因素. 中南林业科技大学学报, 30(12), 80–87.]
- Xie XM, Zhang SZ, Li Y, Wu H (2003) Review of taxonomic studies on Sterculiaceae. *Guihaia*, 23, 311–317. (in Chinese with English abstract) [解新明, 张寿洲, 李勇, 吴鸿 (2003) 梧桐科分类学研究评述. 广西植物, 23, 311–317.]
- Xu SJ (2002) The distribution of the Sterculiaceae plants in China. *Guihaia*, 22, 494–498. (in Chinese with English abstract) [徐颂军 (2002) 梧桐科植物在中国的地理分布. 广西植物, 22, 494–498.]
- Xu SJ, Xu XH (2001) Geographical distribution of Sterculiaceae. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 9(1), 19–30. (in Chinese with English abstract) [徐颂军, 徐祥浩 (2001) 梧桐科植物的地理分布. 热带亚热带植物学报, 9, 19–30.]
- Xu XH, Qiu HX, Xu SJ (1987) New species and variety of Sterculiaceae from China. *Journal of South China Agricultural University*, 8(3), 1–5. (in Chinese with English abstract) [徐祥浩, 丘华兴, 徐颂军 (1987) 中国梧桐科植物的新种和新变种. 华南农业大学学报, 8(3), 1–5.]
- Yao XH, Ye QG, Kang M, Huang HW (2007) Microsatellite analysis reveals interpopulation differentiation and gene flow in the endangered tree *Changiostyrax dolichocarpa* (Styracaceae) with fragmented distribution in central China. *New Phytologist*, 176, 472–480.
- Ye JW, Zhang Y, Wang XJ (2017) Phylogeographic history of broad-leaved forest plants in subtropical China. *Acta Ecologica Sinica*, 37, 5894–5904. (in Chinese with English abstract) [叶俊伟, 张阳, 王晓娟 (2017) 中国亚热带地区阔叶林植物的谱系地理历史. 生态学报, 37, 5894–5904.]
- Ying JS (2001) Species diversity and distribution pattern of seed plants in China. *Biodiversity Science*, 9, 393–398. (in Chinese with English abstract) [应俊生 (2001) 中国种子植物物种多样性及其分布格局. 生物多样性, 9, 393–398.]

(责任编辑: 邱英雄 责任编辑: 闫文杰)

附录 Supplementary Material

附录 1 基于近似贝叶斯算法的先验概率的参数设置

Appendix 1 Parameters for the prior distribution in Approximate Bayesian Computation
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2018223-1.pdf>

附录 2 最优进化事件的前验概率和后验概率的参数分布

Appendix 2 Prior and posterior distributions for each parameters for the priority scenario
<http://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2018223-2.pdf>

武星彤, 陈璐, 王敏求, 张原, 林雪莹, 李鑫玉, 周宏, 文亚峰. 丹霞梧桐群体遗传结构及其遗传分化. 生物多样性, 2018, 26 (11): 1168–1179.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2018223>

附录 1 基于近似贝叶斯算法的先验概率的参数设置
Appendix 1 Parameters for the prior distribution in Approximate Bayesian Computation

参数 Parameters	最小值 Min.	最大值 Max.
有效群体大小 Effective population size		
<i>N1</i>	10	10,000
<i>N2</i>	10	10,000
<i>NA</i>	10	10,000
<i>N1b</i>	10	10,000
代数 Generation		
<i>t1</i>	1	10,000
<i>ta</i>	1	10,000
<i>tb</i>	1	10,000
突变模型 Mutation models		
平均突变概率 Mean mutation rate	1.00E-04	1.00E-03
单个位点突变概率 Individual locus mutation rate	1.00E-05	1.00E-02
先验概率平均系数 Mean coefficient P	1.00E-01	3.00E-01
平均单个核苷酸插入的概率 Mean single nucleotide insertion rate	1.00E-08	1.00E-04
单个位点核苷酸插入的概率 Individual locus single nucleotide insertion rate	1.00E-09	1.00E-03

武星彤, 陈璐, 王敏求, 张原, 林雪莹, 李鑫玉, 周宏, 文亚峰. 丹霞梧桐群体遗传结构及其遗传分化. 生物多样性, 2018, 26 (11): 1168–1179.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2018223>

附录 2 最优进化事件的前验概率和后验概率的参数分布

Appendix 2 Prior and posterior distributions for each parameters for the priority scenario