

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201912029

刘家奇, 付孟娇, 吴海洋, 等. 基于叶绿体 DNA 的黄土高原特有植物蕤核的谱系地理学 [J]. 广西植物, 2021, 41(3): 396–403.

LIU JQ, FU MJ, WU HY, et al. Phylogeography of the Loess Plateau endemic plant *Prinsepia uniflora* inferred from the chloroplast DNA [J]. *Guihaia*, 2021, 41(3): 396–403.

基于叶绿体 DNA 的黄土高原特有植物蕤核的谱系地理学

刘家奇, 付孟娇, 吴海洋, 田 斌*

(西南地区生物多样性保育国家林业和草原局重点实验室(西南林业大学), 昆明 650224)

摘要: 该文利用母系遗传的叶绿体 DNA 片段(*psbA-trnH*, *psbI-psbK* 和 *psbJ-petA*)对黄土高原地区的特有植物蕤核(*Prinsepia uniflora*)进行谱系地理学研究,以揭示其现有的遗传结构和群体历史动态。结果表明:(1)蕤核自然种群总的遗传多样性较高($H_T = 0.796$),而种群内的遗传多样性较低($H_S = 0.276$)。(2)分子变异分析(AMOVA)表明,分布区域内蕤核具有较高的遗传分化($F_{ST} = 0.674$),且遗传变异主要存在于种群间(67.4%)。(3)Mismatch 分析和基于 MaxEnt 的不同历史时期生态位模拟结果表明,尽管蕤核的核心适生范围没有经历太大的变化,但其种群在最后一次大冰期结束后仍存在一定程度上的扩张。综上结果认为,与大多数分布在我国北方地区的许多植物类群一样,蕤核很可能是采取冰期在邻近或者就地避难,冰期过后局部回迁的方式应对第四纪的气候波动。

关键词: 蕤核, 黄土高原, 叶绿体 DNA, 谱系地理学

中图分类号: Q948.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)03-0396-08

Phylogeography of the Loess Plateau endemic plant *Prinsepia uniflora* inferred from the chloroplast DNA

LIU Jiaqi, FU Mengjiao, WU Haiyang, TIAN Bin*

(Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Southwest China (Southwest Forestry University), Kunming 650224, China)

Abstract: To reveal the historical dynamics of the population and existing genetic structure, maternal chloroplast DNA fragments (*psbA-trnH*, *psbI-psbK* and *psbJ-petA*) were used to study the phylogeography of *Prinsepia uniflora*, a kind of endemic plant distributed in the Loess Plateau. The results were as follows: (1) Total genetic diversity of *P. uniflora* was high ($H_T = 0.796$), but genetic diversity within species was low ($H_S = 0.276$); (2) The molecular variation analysis (AMOVA) showed that there was a high genetic differentiation within *P. uniflora* ($F_{ST} = 0.674$), and the genetic variation was mainly between populations (67.4%); (3) Mismatch analysis and MaxEnt based ecological niche simulation results in different historical periods showed that although the core suitable range of *P. uniflora* did not change much, population still expanded to some extent after the end of the Last Glacial Maximum (LGM). Our study indicated that, like most of the plant groups distributed in the northern regions of China, *P. uniflora* probably responded to the

收稿日期: 2019–12–16

基金项目: 国家自然科学基金(41861008) [Supported by National Natural Science Foundation of China(41861008)]。

作者简介: 刘家奇(1994–), 硕士研究生, 研究方向为林木遗传育种、植物群体遗传, (E-mail) 2047223903@qq.com。

*通信作者: 田斌, 博士, 副教授, 研究方向为植物学、林木遗传育种、植物群体遗传学, (E-mail) tianbin@swfu.edu.cn。

Quaternary climatic fluctuations by taking refuge nearby or in situ during the glacial period and locally recolonizing in following post-glacial period.

Key words: *Prinsepia uniflora*, Loess Plateau, chloroplast DNA, phylogeography

伴随地质历史事件的生物类群群体历史动态变化对理解现今的生物分布和多样性格局,以及预测未来气候变化条件下的物种响应有着非常重要的意义(Davis et al., 2005)。第四纪(约 200 万年前)以来,全球范围内出现了多次气候的周期性波动,其典型事件是冰期和间冰期交替出现,对植物类群现今的地理分布和种群遗传格局造成了深刻影响(Comes & Kadereit, 1998; Provan & Bennett, 2008)。

越来越多的证据表明,尽管以黄土高原为代表的中国北部没有像欧洲和北美那样大规模冰川发育的自然地理条件,但是第四纪气候的反复变化,也对分布在这一地区的植物地理分布格局和群体遗传结构产生了一定影响(Qiu et al., 2011; Liu et al., 2012)。其具体表现为种群内遗传多样性降低,以及分布范围的反复扩张、收缩或生境破碎化。并且多数研究表明中国北方现存的植物物种在冰期存在多个避难所,冰期结束后也仅仅是在局部范围内回迁(Chen et al., 2008; Tian et al., 2009; Fu et al., 2014; Zeng et al., 2015)。

蕤核(*Prinsepia uniflora*)隶属于蔷薇科李亚科扁核木属,为中国的特有植物类群。在山西、内蒙古、陕西、甘肃、宁夏等黄土高原地区广泛分布。该物种主要生于山坡、河谷等稀疏灌丛或干旱沙丘,海拔 900~1 100 m(Gu & Bartholomew, 2003)。由于该物种具有一定的药用和食用价值,加之黄土高原地区频繁人类活动的影响,使其生存受到了严重的威胁。我们的野外调查发现,目前该物种自然群体片段化分布,并且种群内的植株数量非常有限。本研究拟利用 3 套叶绿体 DNA 片段去构建黄土高原特有种蕤核的谱系地理结构,结合生态位模拟的方法,试图为黄土高原地区植被的历史动态提供线索,并对该物种的有效保护提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 材料

研究材料于 2010—2017 年采自陕西、甘肃、山

西、青海,共采集蕤核 18 个种群 144 个个体(表 1, 图 1)。每个种群随机采集 4~13 个个体,个体之间相隔至少 100 m 以上。采集生长良好植株的新鲜嫩叶后立即用硅胶干燥,带回实验室存放于 -20 °C 冰箱备用。凭证标本贮藏于西南林业大学标本馆。

1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

采用改良的 CTAB 法(Doyle JJ & Doyle JL, 1990)提取所有采集样本叶片的总 DNA。从候选的 10 对 cpDNA 通用引物筛选出具有多态性的引物,最终甄选出 3 对 cpDNA 引物(*psbA-trnH*、*psbJ-petA*、*trnL-trnF*)进行 PCR 扩增,引物序列见表 2。PCR 扩增反应体系为 25 μL ,内含 2Taq MasterMix (Sangon Biotech) 12.5 μL 、正反向引物各 1 μL (浓度为 5 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)、植物总 DNA 模板 1 μL 以及双蒸水 9.5 μL 。PCR 扩增反应程序为 94 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 60 s, 循环 35 次; 72 °C 延伸 7 min 结束, 4 °C 保存。多次实验筛选出 3 对引物最佳的退火温度均为 52 °C。PCR 产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送测序公司进行双向测序。

1.3 数据分析

经测序后得到的数据使用 ClustalX 1.83 (Thompson et al., 1997) 以及 MEGA 7.0.26 (Kumar et al., 2016) 进行序列的多重比对,同时将原始峰图作为参照进行手工校对。所有的序列完全校对正确后,再用 DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009) 程序来统计叶绿体 DNA 单倍型。

叶绿体 DNA 单倍型的关系通过 NETWORK 4.1.6.3 (Bandelt et al., 1999) 软件来检测。我们选择最大简约法以最小生成树为基础构建单倍型中央连接网状图。在分析过程中点突变和缺失被平等处理,并且假设每个突变之间是相对独立的。种群内遗传多样性(H_S)、总遗传多样性(H_T)和物种层面上的种群分化水平 G_{ST} 和 N_{ST} 值均使用 PERMUT (Pons & Petit, 1996) 软件来估测和观察叶绿体的变异情况。 G_{ST} 值计算只使用了单倍型频

表 1 蕤核 18 个种群的采集信息及各个种群叶绿体单倍型分布
Table 1 Collection information of 18 populations in the *Prinsepia uniflora* and the chloroplast haplotype distribution of each population

种群号 Population code	采集地 Location of samples	纬度 Latitude	经度 Longitude	海拔 Altitude (m)	样本数 Number	单倍型 (个体数) Haplotype (Number)
RTC	陕西省铜川市纸坊村 Zhifang Village, Tongchuan City, Shaanxi	35°10'44.21" N	109°04'42.00" E	1 037	7	H4(5)、H5(2)
RCQG	陕西省榆林市靖边县长渠沟 Changqugou, Jingbian County, Yulin City, Shaanxi	37°26'44.06" N	108°35'44.40" E	1 713	10	H2(10)
RGQ	陕西省延安市甘泉县美水沟 Meishuigou, Ganquan County, Yan'an City, Shaanxi	36°14'51.45" N	109°20'49.65" E	1 060	8	H1(6)、H2(2)
RJB	陕西省榆林市靖边县王渠则镇 Wangquze Town, Jingbian County, Yulin City, Shaanxi	37°27'19.20" N	108°34'00.62" E	1 689	9	H1(8)、H2(1)
RAS	陕西省延安市安塞县真武洞镇 Zhenwudong Town, Ansai County, Yan'an City, Shaanxi	36°50'53.80" N	109°16'38.16" E	1 219	5	H1(1)、H2(4)
RZX	甘肃省定西市漳县 Zhang County, Dingxi City, Gansu	34°50'57.89" N	104°28'7.50" E	1 875	12	H3(12)
RKTS	甘肃省平凉市崆峒山 Kongtongshan, Pingliang City, Gansu	35°33'26.41" N	106°31'15.51" E	1 860	5	H1(5)
RTS	甘肃省天水市麦积区 Maiji District, Tianshui City, Gansu	34°34'18.71" N	105°53'8.73" E	1 089	6	H4(3)、H5(3)
RLXX	甘肃省定西市陇西县 Longxi County, Dingxi City, Gansu	35°0'18.00" N	104°37'56.40" E	1 743	13	H4(6)、H5(5)、 H6(2)
RLG	甘肃省陇南市礼县刘沟 Liugou, Li County, Longnan City, Gansu	34°11'23" N	105°10'44" E	1 400	5	H4(5)
RZQ	甘肃省甘南藏族自治州舟曲县 Zhouqu County, Tibetan Autonomous Prefecture of Gannau, Gansu	33°47'10.89" N	104°22'7.60" E	1 368	9	H4(9)
RKL	甘肃省临夏回族自治州康乐县 Kangle County, Hui Autonomous Prefecture of Linxia, Gansu	35°22'15.85" N	103°42'21.31" E	2 001	11	H3(11)
RLB	甘肃省陇南市礼县雷坝乡 Leiba Town, Li County, Longnan City, Gansu	33°48'04" N	105°01'49" E	1 500	6	H4(6)
RHS	甘肃省庆阳市合水县太白镇 Taibai Town, Heshui County, Qingyang City, Gansu	36°07'46.19" N	108°39'24.65" E	1 166	6	H1(3)、H2(3)
RLF	山西省临汾市 Linfen City, Shanxi	36°05'50.65" N	111°31'24.52" E	456	7	H4(4)、H5(3)
RTY	山西省太原市天龙山 Tianlongshan, Taiyuan City, Shanxi	37°42'33.83" N	112°23'38.66" E	97	4	H4(2)、H5(2)
RHD	山西省洪洞县 Hongtong County, Shanxi	36°09'28.88" N	112°17'42.50" E	455	11	H2(11)
RXH	青海省海东市循化县 Xunhua County, Haidong City, Qinghai	35°50'55.82" N	102°29'01.76" E	1 871	11	H4(9)、H7(2)

率,而 N_{ST} 值则把单倍型之间的差异也计算在内。比较这两个值可以看出单倍型变异在整个地理分布区的地理格局,如果 N_{ST} 值大于 G_{ST} 值,且达到显著水平 ($P < 0.05$),则表明关系相近的单倍型在相同的种群出现比在不同种群出现几率大,说明存在着明显的谱系地理结构。采用 Arlequin 3.5.2 (Weir & Cockerham, 1984) 软件的分子变异分析

(analysis of molecular variance, AMOVA) 对种群间和种群内的遗传差异进行估算,其中显著性检验使用随机参数进行 1 000 次的置换检验。

1.4 生态位模拟

本研究通过最大熵模型 (Phillips et al., 2006) (Maximum entropy; Maxent) 对蕤核进行生态位模型预测来识别该物种在第四纪时的避难所和避难模

表 2 PCR 扩增引物序列

Table 2 Primers used for PCR amplification

引物 Primers	正向序列 (5'-3') Forward sequence (5'-3')	反向序列 (5'-3') Reverse sequence (5'-3')
<i>psbA-trnH</i>	GTTATGCATGAAC GTAATGCTC	CCCGCATGGTGGA TTCACAAATC
<i>psbJ-petA</i>	ATAGGTACTGTAR CYGGTATT	AACARTTYGARAA GGTTCAATT
<i>psbI-psbK</i>	TTAGCCTTTGTTT GGCAAG	AGAGTTTGAGAGT AAGCAT

式,推测大冰期后至今的历史动态,以及未来在全球变暖的趋势下该物种的潜在分布。蕤核的当前分布数据主要来自我们的野外调查采样以及植物标本馆记录(www.cvh.ac.cn)。在去除重复的分布点后,得到 35 个当前的分布位置。基于 4 个时期 (Last Interglacial, LIG、Last Glacial Maximum, LGM、Present and Future) 背景下的各自 19 个气候变量从 WorldClim 数据库下载(www.worldclim.org),分辨率和大气环流模型分别统一为 2.5 arc-min (大

表 3 蕤核叶绿体单倍型比对后的变异位点

Table 3 Variable loci of the aligned sequences of chloroplast DNA fragments haplotypes of *Prinsepia uniflora*.

	变异位点 Variation locus				单倍型 Haplotypes						
					H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7
<i>psbA-trnH</i>	4	4	8	-	-	T	T	T	T	T	T
<i>psbJ-petA</i>	6	5	5	-	E	-	-	E	E	-	-
	1	0	7	8	A	A	G	G	G	G	G
	1	1	2	9	T	T	T	T	T	A	T
	1	2	1	1	A	A	A	A	A	A	T
<i>psbK-psbI</i>	1	3	3	2	A	A	-	A	A	A	A

注: -表示 gap; E 表示 TTTTTA。

Note: - means gap; E means TTTTTA.

表 4 蕤核种群 cpDNA 单倍型频率的分子变异分析 (AMOVA)

Table 4 Analyses of molecular variance (AMOVA) of haplotype frequencies for populations of *Prinsepia uniflora* in northern China

变异来源 Source of variation	自由度 <i>df</i>	平方和 Sum of squares	方差成分 Variance components	差异百分比 Percentage of variation	固定指数 Fixation index (F_{ST})	显著性检验 Significance test (<i>P</i>)
种群间 Among populations	17	199.034	1.379 70	67.41	0.674 12	0.000 00
种群内 Within populations	127	84.704	0.666 96	32.59		
总计 Total	144	283.738	2.046 66	1 060		

注: *df*. 自由度; F_{ST} . 种群间单倍型相关性; *P*. 显著性检验。

Note: *df*. Degrees of freedom; F_{ST} . Correlation within populations relative to the total; *P*. Significance test.

约 5 km) 和 CCSM4。根据 Pearson's 相关系数 ($r > 0.9$), 对当前 19 个气候变量中具有强相关性的变量排除, 剩下的 9 个气候变量用于模型创建。生态位模型创建在 Maxent 3.3.3 中进行, 设置 Random test percentage 为 25%, Replicates 为 10。

2 结果与分析

2.1 蕤核的单倍型分布

对蕤核 cpDNA 的 3 个片段 *psbA-trnH*、*psbJ-*

petA 和 *psbK-psbI* 进行扩增测序的结果显示:3 个片段各出现 1 个、4 个、1 个变异位点(表 3)。经过序列比对后的 *psbA-trnH*、*psbJ-petA* 和 *psbK-psbI* 3 对引物片段长度分别为 495、801、244 bp,这 3 套叶绿体 DNA 片段的序列拼接在一起可得到 1 540 bp 的长度,一共识识别出 7 种叶绿体单倍型 H(1-7),存在 5 个点突变和 4 处插入缺失。

从蕤核叶绿体单倍型的分布图(图 1)可以看出,共计 8 个种群只存在 1 种单倍型,另外有 9 个种群有 2 种单倍型,仅在 1 个种群中存在 3 种单倍型 RLXX(H4、H5、H6)。单倍型 H4 出现的频率最高。单倍型网状图显示蕤核的单倍型成多元扩张分布,主要是以单倍型 H4 和 H5 为中心,由单倍型 H4 和 H5 向四周发散,然后衍生出单倍型 H2、H3 这 2 个大的分布类型,并且多数单倍型之间仅有一步的变异(图 1)。

2.2 蕤核遗传多样性和遗传结构分析

从表 4 可以看出,蕤核种群内遗传变异百分比为 32.59%,种群间遗传变异量占总变异量的 67.41%,种群间发生显著的遗传分化, $F_{ST} = 0.674\ 12$ (表 4, $P < 0.001$)。通过 PREMUT 程序计算得出其自然种群间遗传多样性 H_T (0.796) 高于种群内的遗传多样性 H_S (0.276)。从所有的 18 个种群地理单元间遗传变异性和分化系数显示出 N_{ST} (0.834) 显著高于 G_{ST} (0.654) ($P < 0.01$)。结果显示,蕤核叶绿体单倍型有明显的谱系地理学结构。

2.3 蕤核种群历史分析

叶绿体单倍型的种群错配的分布显示单峰型(图 2),表明了蕤核种群经历了种群的急速扩张性事件。基于计算所得的 τ 值为 0.516,根据 $\tau = 2ut$ 计算扩张经历世代数 t ,其中 $u = 2\mu kg$ 。通过野外观察,我们设定世代长度 g 为 3 a, μ 代表 DNA 平均变异速率,采用木本植物的进化速率,取已发表的平均变异速率的较高值: $3 \sim 9 \times 10^{-9}$ 变异/位点/年(substitution/site/year)。 k 表示序列总长度为 1 540。计算得到扩张时间为 18 614 ~ 8 272 年前。

2.4 生态位模拟分析

生态位模型创建结果获得了非常高的 AUC

(the Area Under the Curve) 值(> 0.995)的支持。蕤核 4 个时期的潜在分布预测图中清晰地展现了该物种在不同气候背景下的分布格局。与现在(Present)的分布范围相比,LIG 和 LGM 时种群范围并没有出现较大的变化,其分布的核心区均在黄土高原,只是在最后一次冰期后出现了小幅度的适生区扩大。然而在未来(2070 年)蕤核的分布范围将会缩小(图 3)。

气候因子 Bio6(最冷月最低温)和 Bio15(降水季节变化)在生态位建模的 4 个时期,都表现出较高的贡献率,尤其是 LIG, Bio15 的贡献百分比达到了 37.4%(图 4)。此外, Bio16(最湿季节降水量)、Bio13(最湿月降水量)和 Bio14(最干月降水量)在现在和未来(Future)蕤核分布区模拟中占有较高的贡献百分比(图 4)。

3 讨论与结论

本研究发现蕤核具有明显的谱系地理结构($N_{ST} = 0.834 > G_{ST} = 0.654$, $P < 0.01$),并且有显著的遗传分化($F_{ST} = 0.674\ 12$, $P < 0.001$)和较低的种群内遗传多样性($H_S = 0.276$)。分子变异遗传方差分析(AMOVA)的结果显示,蕤核遗传变异主要以种群间的变异为主,占 67.41%。总的来说,植物种群的遗传结构受到地质历史气候变迁、环境因素(如地势条件、生境异质性)以及种子基因交流程度等诸多因素的影响。已有的研究表明,我国北方分布的植物类群由于第四纪冰期与间冰期的反复交替造成不同避难所之间的种群产生强烈的遗传分化,并且降低了种群内的遗传多样性(Qian & Ricklefs, 2000; Chen et al., 2008; Qiu et al., 2011; Zeng et al., 2015)。此外,我们在野外采样过程中发现,蕤核现存的自然种群大多零星分布在黄土高原的中高海拔地区,种群规模相对较小。黄土高原沟壑纵横的地貌和严重的水土流失可能加剧了蕤核不同种群之间的基因交流困难性,使得种群之间具有较大的遗传分化。黄土高原地区长期而剧烈的人类活动可能是造成上述结果的另一重要原因。

从蕤核单倍型的 network 分析和地理分布来

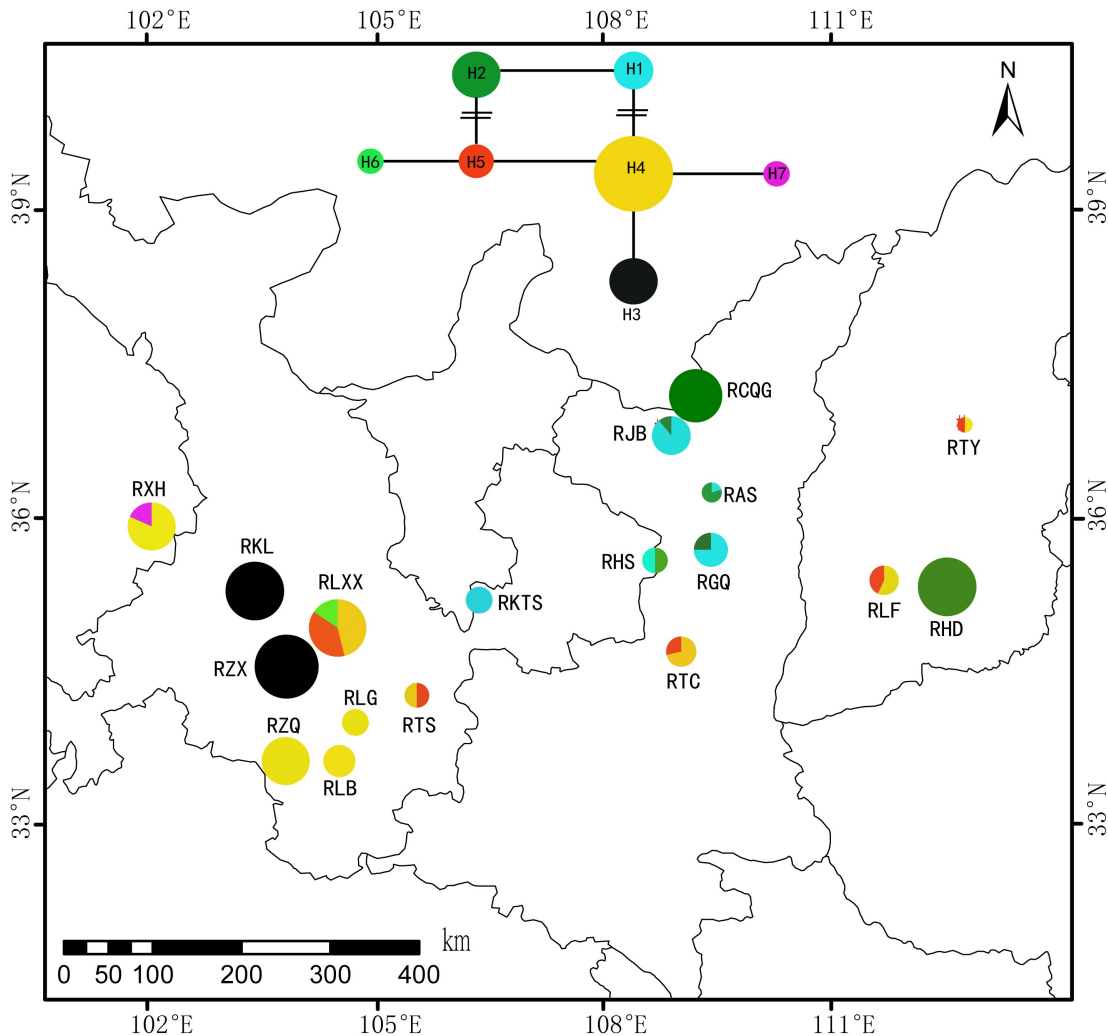


图 1 蕤核 18 个种群的采样图和叶绿体单倍型分布及关系图

Fig. 1 Map of the 18 sampled populations of *Prinsepia uniflora* and their chloroplast haplotype distributions and relationships

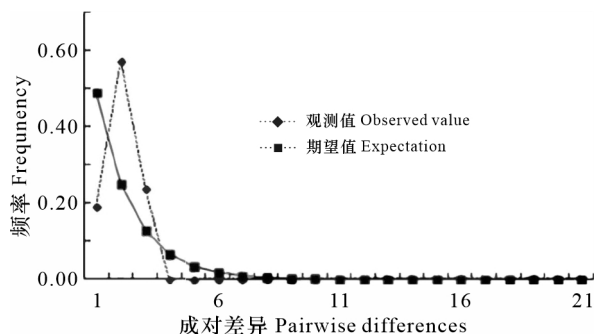
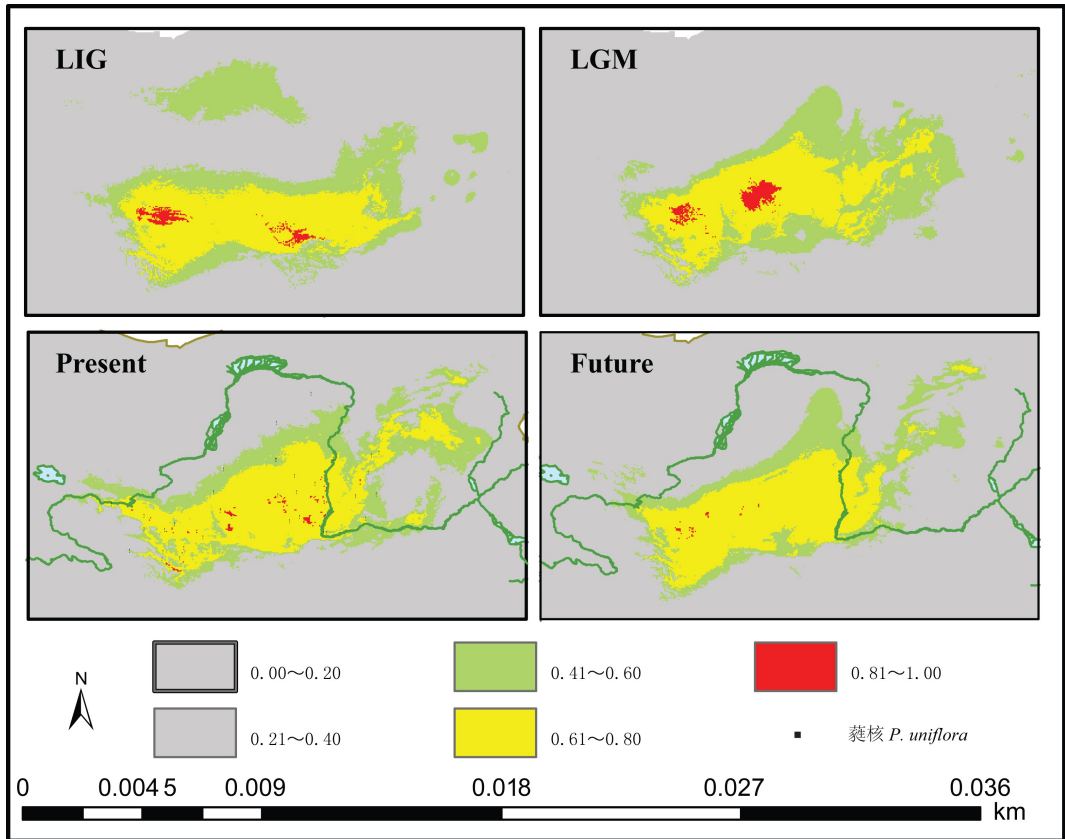


图 2 蕤核种群错配分析

Fig. 2 Mismatch analysis of *Prinsepia uniflora* population

域,如单倍型 H1、H3 和 H7 仅分布在分布区西部的少数几个种群。生态位模拟的结果也表明,在最后一次大冰期蕤核并没有大规模的分布区范围变化。Mismatch 分析(错配分析)表明蕤核种群经历了近期的扩张事件。经推算的扩张时间为 1.86 万~0.82 万年前,这与第四纪最后一次大冰期结束的时间(1.8 万~1.6 万年前)相吻合。因此,我们推测该物种在最后一次大冰期时,并没有大规模的灭绝事件发生,而是在多个冰期避难所就地避难。不同地区避难的种群也很可能没有经历大范围的扩张,仅仅回迁到邻近地区。这一推测也和在该地区分布的其他重要树种如虎榛子(*Ostryopsis davidiana*) (Tian et al., 2009)、连翘(*Forsythia suspensa*) (Fu et al.,

看,两种古老单倍型 H4 和 H5 从东到西均有分布,其他衍生单倍型则是局限地分布于不同的地理区



LIG. 120 000~140 000 year BP; LGM. 21 000 year BP; Present. 1 960—1 990; Future. 2 070.

图 3 蕤核种群在 4 个时期的潜在分布预测

Fig. 3 Prediction of the potential distribution of *Prinsepia uniflora* in four periods

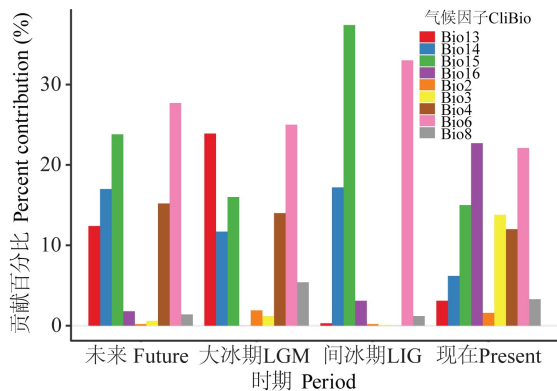


图 4 生态位建模的 9 个环境气候因子在不同时期的贡献百分比柱状图

Fig. 4 Histogram of the contribution percentages of nine environmental climate factors in different periods based on niche modeling

了我国北方地区的许多植物类群并没有像同纬度欧洲分部的植物一样出现大规模的南迁避难,而是多采取邻近或者就地避难的方式应对第四纪的气候波动。

全球气候变化下,很多生态敏感地区的动植物都有遗传多样性丧失甚至灭绝的风险(Vellend & Geber, 2005)。对于黄土高原这一生态脆弱地区来说,分布在这一地区的特有动植物类群应该备受关注。我们对蕤核生态位模拟的结果显示,不同的历史时期,降水相关的生态因子都表现出较高的贡献率。在未来全球气候将会出现的增温变干的趋势下,蕤核适生范围有可能急剧减小。加之其生存的黄土高原地区特殊的生境和强烈的人为干扰,这一黄土高原特有植物类群将面临灭绝风险。结合蕤核种群遗传结构结果,该物种具有较高的遗传分化水平,并且多个种群均出现了独有的叶绿体单倍型。因此,我们认为蕤

2014)、文冠果(*Xanthoceras sorbifolium*) (Zhu et al., 2019)等的研究结果相类似。本研究同样支持

核的多数种群均有保护价值,一方面应对现有的蕤核群体进行有效的保护,另一方面应加大对蕤核遗传资源的收集,进行入库保存。

参考文献:

- BANDEL TJ, FORSTER P, ROHL, A, 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies [J]. *Mol Biol Evol*, 16(1): 37-48.
- CHEN K, ABBOTT RJ, MILNE RI, et al., 2008. Phylogeography of *Pinus tabulaeformis* Carr. (Pinaceae), a dominant species of coniferous forest in northern China [J]. *Mol Ecol*, 17(19): 4276-4288.
- COMES HP, KADEREIT JW, 1998. The effect of quaternary climatic changes on plant distribution and evolution [J]. *Trends Plant Sci*, 3(11): 432-438.
- DAVIS MB, SHAW RG, ETTERTSON JR, 2005. Evolutionary responses to changing climate [J]. *Ecology*, 86(7): 1704-1714.
- DOYLE JJ, DOYLE JL, 1990. A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue [J]. *Focus*, 12:13-15.
- FU ZZ, LI YH, ZHANG KM, et al., 2014. Molecular data and ecological niche modeling reveal population dynamics of widespread shrub *Forsythia suspensa* (Oleaceae) in China's warm-temperate zone in response to climate change during the Pleistocene [J]. *Bmc Evol Biol*, 14(1): 1-13.
- GU CZ, BARTHOLOMEW B, 2003. *Prinsepia* Royle [M]//WU ZY, RAVEN PH. *Flora of China*. Beijing: Science Press, 9; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 389-391.
- KUMAR S, STECHER G, TAMURA K, 2016. MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets [J]. *Mol Biol Evol*, 33(7): 1870-1874.
- LIBRADO P, ROZAS J, 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 25(11): 1451-1452.
- LIU JQ, SUN YS, GE XJ, et al., 2012. Phylogeographic studies of plants in China: advances in the past and directions in the future [J]. *J Syst Evol*, 50(4): 267-275.
- PHILLIPS SJ, ANDERSON RP, SCHAPIRE RE, 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions [J]. *Ecol Model*, 190(3-4): 231-259.
- PONS O, PETIT RJ, 1996. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles [J]. *Genetics*, 144(3): 1237-1245.
- PROVAN J, BENNETT KD, 2008. Phylogeographic insights into cryptic glacial refugia [J]. *Trend Ecol Evol*, 23(10): 564-571.
- QIAN H, RICKLEFS RE, 2000. Large-scale processes and the Asian bias in species diversity of temperate plants [J]. *Nature*, 407(6801): 180-182.
- 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 [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 59(1): 225-244.
- THOMPSON JD, GIBSON TJ, PLEWNIAC F, et al., 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucl Acid Res*, 25(24): 4876-4882.
- TIAN B, LIU R, WANG L, et al., 2009. Phylogeographic analyses suggest that a deciduous species (*Ostryopsis davidiana* Decne., Betulaceae) survived in northern China during the Last Glacial Maximum [J]. *J Biogeogr*, 36(11): 2148-2155.
- VELLEND M, GEBER MA, 2005. Connections between species diversity and genetic diversity [J]. *Ecol Lett*, 8(7): 767-781.
- WEIR BS, COCKERHAM CC, 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population-structure [J]. *Evolution*, 38(6): 1358-1370.
- ZENG YF, WANG WT, LIAO WJ, et al., 2015. Multiple glacial refugia for cool-temperate deciduous trees in northern East Asia: the Mongolian oak as a case study [J]. *Mol Ecol*, 24(22): 5676-5691.
- ZHU RB, WANG Q, GUAN WB, et al., 2019. Conservation of genetic diversity hotspots of the high-valued relic yellowhorn (*Xanthoceras sorbifolium*) considering climate change predictions [J]. *Ecol Evol*, 9(6): 3251-3263.

(责任编辑 何永艳)