

孑遗植物湖北枫杨的环境适应性遗传变异与遗传脆弱性

逯子佳^{1,2} 王天瑞¹ 郑斯斯¹ 孟宏虎^{3,4} 曹建国² Gregor KOZLOWSKI^{1,5,6}
宋以刚^{1*}

¹上海辰山植物园, 华东野生濒危资源植物保育中心, 上海 201602; ²上海师范大学生命科学学院, 上海 200234; ³中国科学院西双版纳热带植物园综合保护中心, 昆明 650223; ⁴中国科学院东南亚生物多样性研究中心, 缅甸内比都 05282; ⁵Department of Biology and Botanic Garden, University of Fribourg, Fribourg 1700, Switzerland; ⁶Natural History Museum Fribourg, Fribourg 1700, Switzerland

摘要 气候的快速波动正加速改变着物种命运, 导致部分物种的脆弱性加剧, 并造成许多物种的遗传多样性丧失, 甚至面临灭绝风险。孑遗植物历经新生代以来的极端气候波动, 携带着大量与环境适应相关遗传信息。探讨其种群适应环境的遗传基础及其对未来气候的适应潜力, 可为生物多样性保护提供重要参考依据。该研究以环绕中国四川盆地分布的新生代孑遗植物湖北枫杨(*Pterocarya hupehensis*)为研究对象, 对其分布范围内18个种群的122个个体进行简化基因组测序; 利用景观基因组学分析方法, 对湖北枫杨的生态适应和遗传脆弱性进行研究。特异性位点检测表明, 398个单核苷酸多态性位点(SNPs)与6个气候因子(等温性、最冷月份最低气温、气温年较差、最湿季度平均气温、最湿月份降水量和降水量季节性变化)具有显著关联, 此外检测到177个受到选择的SNPs位点。梯度森林分析和广义相异模型分析表明降水量季节性变化是影响该物种遗传变异的重要气候因子。Mantel检验检测到显著的环境隔离信号, 冗余分析结果表明环境因素对于遗传变异的解释度大于地理因素。最后, 非适应性风险分析预测到湖北枫杨种群在2090年SSP585情景下的种群脆弱性整体高于SSP126情景, 且降水量季节性变化对于湖北枫杨西北部种群适应能力具有重要影响。该研究不仅为易危物种湖北枫杨在未来气候变化下的管理与保护策略提供了理论依据, 还为环四川盆地孑遗植物如何应对未来气候变化提供新范例。

关键词 孑遗植物; 景观基因组学; 生态适应; 遗传脆弱性; 简化基因组测序

逯子佳, 王天瑞, 郑斯斯, 孟宏虎, 曹建国, Kozlowski G, 宋以刚 (2025). 孑遗植物湖北枫杨的环境适应性遗传变异与遗传脆弱性. 植物生态学报, 49, 1626-1642. DOI: 10.17521/cjpe.2024.0445

Environmental adaptive genetic variation and genetic vulnerability of relict plant *Pterocarya hupehensis*

LU Zi-Jia^{1,2}, WANG Tian-Rui¹, ZHENG Si-Si¹, MENG Hong-Hu^{3,4}, CAO Jian-Guo², Gregor KOZLOWSKI^{1,5,6}, and SONG Yi-Gang^{1*}

¹Eastern China Conservation Centre for Wild Endangered Plant Resources, Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602, China; ²College of Life Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China; ³Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China; ⁴Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences, Nay Pyi Taw 05282, Myanmar; ⁵Department of Biology and Botanic Garden, University of Fribourg, Fribourg 1700, Switzerland; and ⁶Natural History Museum Fribourg, Fribourg 1700, Switzerland

Abstract

Aims The rapid fluctuations of climate are increasingly altering the fate of species, exacerbating their vulnerability, leading to the loss of genetic diversity in many species, and even pushing some to the brink of extinction. Relict plants, having survived extreme climate changes since the Cenozoic era, carry a wealth of genetic information related to environmental adaptation. Investigating the genetic basis of their population-level environmental adaptation and their potential to cope with future climate change can provide valuable insights for biodiversity conservation.

Methods In this study, restriction site-associated DNA sequencing (RAD-seq) was performed on 122 individuals from 18 populations of *Pterocarya hupehensis*, which is a Cenozoic relict plant distributed around the Sichuan

收稿日期Received: 2024-12-09 接受日期Accepted: 2025-02-07

基金项目: 中国国家留学基金(201608310121)、上海市绿化和市容管理局科学技术项目(G212406)和Foundation Franklinia (2017-2020)。Supported by the China Scholarship Council (201608310121), the Special Fund for Scientific Research of Shanghai Landscaping & City Appearance Administrative Bureau (G212406), and Foundation Franklinia (2017-2020).

* 通信作者Corresponding author (ygsong@cemps.ac.cn)

Basin in China. Then, the ecological adaptation and genetic vulnerability of *P. hupehensis* were studied by landscape genomics. First, we use a latent factor mixed model (LFMM) and Pcadapt to detect selected sites. Second, a Mantel test based on linear models, redundancy analysis (RDA), gradient forest (GF), and generalized dissimilarity modelling (GDM) were used to investigate the response patterns of genetic variation to environmental gradients. Finally, based on the risk of non-adaptedness (RONA), the vulnerability of the *P. hupehensis* was predicted for the SSP245 and SSP585 scenarios in 2090.

Important findings A total of 398 single nucleotide polymorphism loci (SNPs) were significantly associated with the six climatic factors (isothermality, minimum temperature of coldest month, temperature annual range, mean temperature of wettest quarter, precipitation of wettest month, and precipitation seasonality). In addition, 177 of them were detected as selected SNPs. We found that precipitation seasonality was an important climatic factor affecting the genetic variation of *P. hupehensis*. A significant signal of isolation by environment (IBE) was detected, indicating that environmental factors account for more genetic variation than geographical factors. Under the SSP585 scenario in 2090, the genetic vulnerability of *P. hupehensis* was higher than that under SSP126 scenario. The precipitation seasonality has an important effect on the adaptative ability of the population in the northwest range of *P. hupehensis*. This study not only provides a theoretical foundation for the management and conservation strategies of vulnerable species in the face of future climate change, but also offers a new case study on how relict plants around Sichuan Basin may respond to future climate change.

Key words relict plants; landscape genomics; ecological adaptation; genetic vulnerability; restriction site-associated DNA sequencing

Lu ZJ, Wang TR, Zheng SS, Meng HH, Cao JG, Kozłowski G, Song YG (2025). Environmental adaptive genetic variation and genetic vulnerability of relict plant *Pterocarya hupehensis*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 49, 1626-1642. DOI: 10.17521/cjpe.2024.0445

新生代以来气候的变化正加速改变物种的命运(栖息地丧失、生境破碎化、遗传多样性丧失、物种加速灭绝等等),物种在气候变化下的命运成为人们当今所关注的热点话题(Pacifici et al., 2015; Urban, 2015; Scheffers et al., 2016)。一般来说,物种会通过迁移扩散和局部适应的方式来应对气候变化等不利因素带来的挑战(Aitken et al., 2008)。缺乏迁移能力的物种,一方面通过增加表型可塑性来应对复杂的环境变化,另一方面通过遗传变异和新生突变、基因交流来避免种群灭绝的风险(Sang et al., 2022)。通常,由环境异质性带来的选择压力可以通过偏好保留不同空间位置的不同等位基因来促进局部适应的发生。例如,历史或当代的环境屏障(冰期的冰封区域,道路等地貌特征等)可以通过遗传漂变来增加曾经紧密联系的种群之间的遗传差异(Hitchings & Beebe, 1997)。由于自然选择和基因流动减少而导致的局部适应最终可能促使新物种的形成;因此,种群层面上的稳定遗传变异是生物多样性的核心组成部分。利用种群遗传学与景观生态学相结合,探究适应性遗传变异与环境之间关联性的景观遗传学在进化生态学和保护生物学中具有重要意义(Manel et al., 2003; Rellstab et al., 2015)。

景观遗传学使用中性和适应性遗传数据,结合

种群遗传学,通过空间分析技术来量化景观与遗传之间的关系(Storfer et al., 2007; Balkenhol et al., 2015; 王天瑞和邱英雄, 2024)。然而,近年来随着人类活动对气候的加速改变及其生态进化后果的日益显著,简单的量化关系不再能满足人类对于环境变化所带来的后果的理解和预测。下一代测序技术与卫星遥感技术的发展使得人们可以在密集的基因组覆盖度下量化多个个体的遗传变异,并与特定的时空、植被和生境关联在一起(Pettorelli et al., 2005; Anderson & Gaston, 2013)。由此,景观基因组学迎来了前所未有的发展机遇,并推动植物适应性进化分子机理研究跨入了一个新的时代。景观基因组学,基于基因型-环境互作(genotype-environment associations, GEAs)旨在鉴定塑造自然种群中适应性遗传位点的空间分布格局及塑造种群适应性进化的环境因素(Rellstab et al., 2015; Balkenhol et al., 2019)。其研究的侧重点在于不同种群对环境条件的局部适应,更加关注气候因素、地理空间格局或表型性状与基因组变异之间的互作关系(Balkenhol et al., 2019)。景观基因组学相比传统的景观遗传学,依托于大量的遗传位点信息与高分辨率的环境数据,可以更好地解读基因组水平的适应性进化。

近年来,使用景观基因组学分析手段揭示物种

与生态适应的关联研究在动植物领域均有报道。例如, 在一项关于水生变温动物的研究中, 研究人员使用基因型-环境关联方法检测到昼夜温度变化是驱动红带鱥(*Oncorhynchus mykiss*)种群局部适应的重要因素, 同时评估了该物种在未来气候下的基因组脆弱性, 为物种应对气候变化的局部适应模式提供新视角(Andrews et al., 2023)。相比于进化速率较快的动物, 一些缺乏迁移能力的森林树木应对气候变化的策略引起研究学者的关注。香杨(*Populus koreana*)是我国东北温带针阔混交林的重要林木树种, 研究人员对其24个自然种群进行全基因组重测序, 对于气候适应关联位点进行鉴定, 研究表明香杨的气候适应可能为大量微小效应的多基因位点共同决定(Sang et al., 2022)。孑遗植物类群作为东亚生

物多样性的重要组成部分, 对其研究大多集中在群体遗传学和谱系地理学等方面(Bai et al., 2016; Cao et al., 2016; Yin et al., 2021)。孑遗植物如何应对古气候的波动而存活至今, 其背后的生态适应机制往往被忽略, 而这恰恰是未来生物多样性保护的关键(Fahad et al., 2021; Meng et al., 2021; 王天瑞和邱英雄, 2024)。

湖北枫杨(*Pterocarya hupehensis*)是中国特有孑遗树木, 具有裸芽、葇荑花序、风媒传粉和翅果等形态特征; 主要分布于贵州、重庆、湖北、陕西、甘肃和河南等省市(环四川盆地分布), 在亚热带常绿阔叶林的山地中沿河流或沟谷生长(匡可任和李沛琼, 1979; Kozłowski et al., 2018, 2019) (图1)。目前其分布范围较为有限, 种群数量较少, 加之经常受

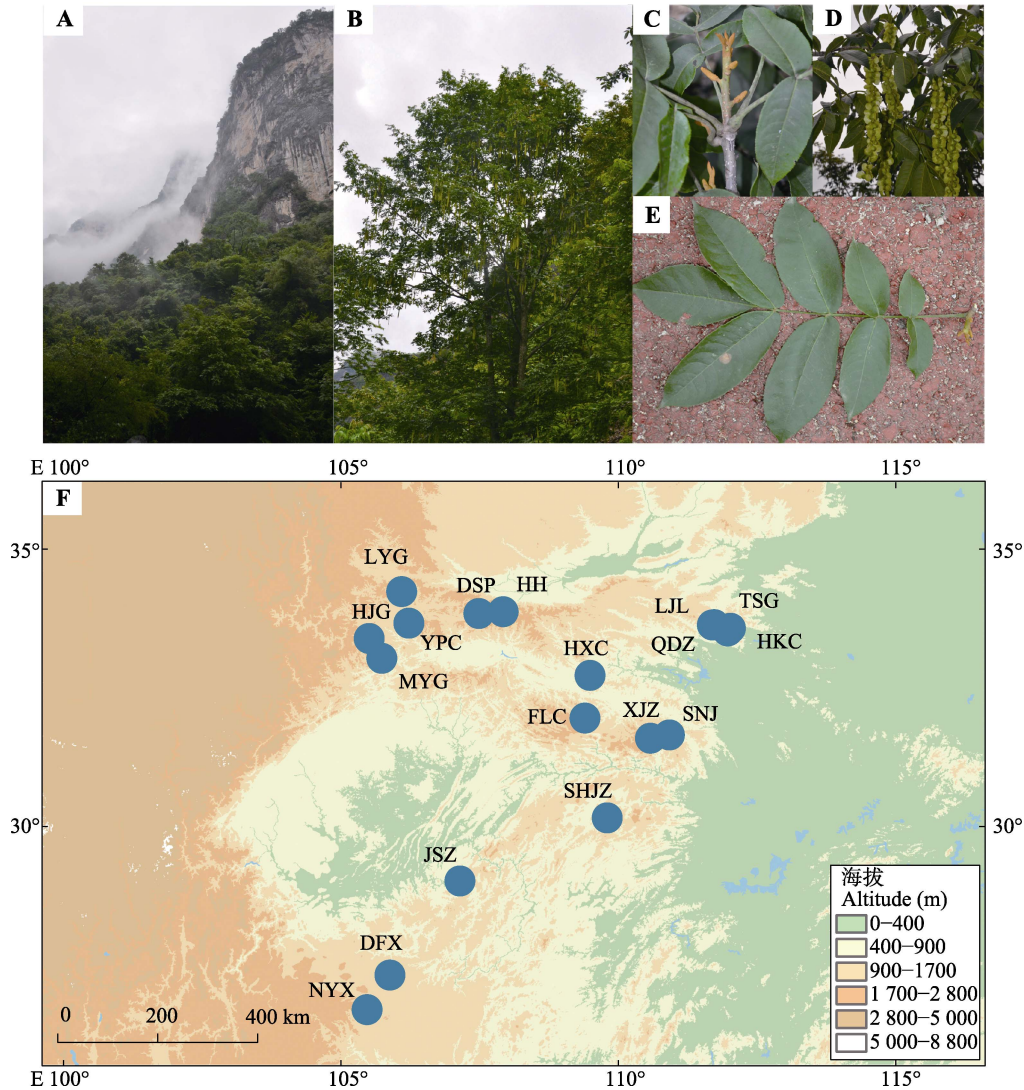


图1 湖北枫杨的生境(A)、植株形态(B-E)和样品采集点(F)。样品采集点信息见表1。

Fig. 1 Habitat of *Pterocarya hupehensis* (A), plant morphology (B-E), and collection sites of *P. hupehensis* (F). The information of collection sites is shown in Table 1.

到人为砍伐的破坏, 湖北枫杨被评估为易危物种 (Kozłowski et al., 2019)。因此, 解析其未来气候下的灭绝风险, 开展其生态适应和遗传脆弱性评估等相关研究, 将有助于提升湖北枫杨的保护工作。

本研究对于湖北枫杨分布范围内的18个种群, 122个个体进行简化基因组测序(RAD-seq), 使用景观基因组学分析手段, 全面探讨了气候变化下湖北枫杨的适应性进化的分子机制。主要为解决以下关键问题: (1)湖北枫杨是否具有地理/环境隔离? (2)湖北枫杨种群遗传变异如何响应环境梯度? (3)湖北枫杨种群在未来气候下的基因组脆弱性如何? 本研究不仅为该物种的保护奠定了基础, 也为子遗植物应对气候变化的生态适应机制提供了理论基础和研究案例。

1 材料和方法

1.1 采样与测序

首先整合收集了中国数字标本馆 (CVH, <http://www.cvh.org.cn/>)、中国国家标本资料平台 (NSII, <http://www.nsii.org.cn/>)、全球生物多样性网络 (GBIF, <https://www.gbif.org/>)的已有标本信息, 使用 R v4.1.0软件去掉重复、信息不详尽、错误的标本信息, 确定湖北枫杨自然种群的分布范围。根据GPS

系统对种群进行定位并制定采样计划, 采集种群之间间隔不小于30 km, 每个个体之间的采样间隔不小于50 m。本研究采集了陕西、甘肃、河南、湖北、重庆、贵州等6个省市的湖北枫杨野生个体的新鲜叶片, 共计18个种群, 122个成熟个体, 采样范围覆盖了其分布范围。使用硅胶干燥新鲜的叶片, 每份样品取3–5片健康叶片用于后续DNA提取, 具体样品采集信息见(表1), 每个种群的代表标本保存在上海辰山植物园标本馆(Shanghai Chenshan Herbarium, CSH)。对于每个个体称取约0.5 g干燥叶片, 使用改良的CTAB法(Doyle & Doyle, 1987)从干燥的叶片组织中提取DNA。根据近缘物种的基因组大小以及GC含量等信息进行酶切预测, 选择*Taq*I限制性内切酶对检测合格的各样品基因组DNA分别进行酶切实验。对得到的酶切片段(RAD标签)连接P1接头、混样、随机打断、片段筛选(300–500 bp)、连接P2测序接头、PCR扩增、文库质检合格后用Illumina HiSeq™平台进行测序, 测序策略为Illumina PE150。简化基因组测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.2 测序数据处理与单核苷酸多态性位点(SNPs)鉴定

为分析湖北枫杨的遗传变异对于环境梯度的响

表1 基于酶切的简化基因组测序数据的18个湖北枫杨种群的样本编码、采样位置以及种群个体数量
Table 1 Sample coding, sampling locations, and individual numbers of 18 *Pterocarya hupehensis* populations based on restriction-site associated DNA-sequencing (RAD-seq)

种群编号 Code	采样点 Site	经度 Longitude (° E)	纬度 Latitude (° N)	个体数 <i>n</i>
HH	陕西西安 Xi'an, Shaanxi	107.93	33.87	6
HXC	陕西安康 Ankang, Shaanxi	109.49	32.72	3
FLC	陕西安康 Ankang, Shaanxi	109.40	31.95	5
DSP	陕西宝鸡 Baoji, Shaanxi	107.49	33.84	4
QDZ	河南南阳 Nanyang, Henan	111.97	33.52	6
HKC	河南南阳 Nanyang, Henan	112.02	33.57	6
TSG	河南南阳 Nanyang, Henan	111.72	33.63	6
LJL	河南南阳 Nanyang, Henan	111.70	33.63	4
LYG	甘肃天水 Tianshui, Gansu	106.10	34.23	5
YPC	甘肃陇南 Longnan, Gansu	106.23	33.67	5
HJG	甘肃康县 Kang Xian, Gansu	105.51	33.39	5
MYG	甘肃阳坝镇 Yangba, Gansu	105.74	33.03	6
SNJ	湖北神农架 Shennongjia, Hubei	110.92	31.65	7
XJZ	湖北神农架 Shennongjia, Hubei	110.58	31.59	11
SHJZ	湖北恩施 Enshi, Hubei	109.80	30.16	11
JSZ	重庆金山镇 Jinshan, Chongqing	107.14	29.02	7
DFX	贵州毕节 Bijie, Guizhou	105.88	27.33	12
NYX	贵州毕节 Bijie, Guizhou	105.47	26.70	13

应关系, 本研究使用课题组前期挖掘的来自122个个体的2 889个SNPs位点用于后续分析(Lu et al., 2024)。这些位点以姊妹物种枫杨(*P. stenoptera*)作为参考基因组(Zhang et al., 2022), 主要通过Stacks v2.62 (Catchen et al., 2013)和VCFtools v0.1.16 (Danecek et al., 2011)进行鉴定与过滤。

1.3 特异性位点检测

首先基于遗传分化的方法进行特异性位点检测, 以找寻超过中性选择的遗传分化特异性位点。使用R语言中的‘Pcadapt’软件包检测参与到生态适应的遗传标记, 该程序通过统计基于主成分分析(PCA)的离群值来实现(Luu et al., 2017; Privé et al., 2020)。使用PLINK v1.9软件(Purcell et al., 2007)将VCF格式的遗传数据转化为.bed格式。用‘Pcadapt’同时对基因型进行主成分分析, 然后基于SNPs与前K个主成分之间的相关性计算检验统计量和 p 值。本研究中 K 值基于‘Pcadapt’的PCA聚类结果, 结合课题组前期已发表的湖北枫杨种群遗传结构进行选择(Lu et al., 2024), 并绘制展示 p 值为 $-\lg$ 的曼哈顿图。最后通过邦费罗尼校正(bonferroni correction)的方法来选择离群值检测的截止值, 本研究将 α 赋值为0.05。

其次基于基因型-环境关联方法进行特异性位点检测, 使用基于贝叶斯马尔科夫链蒙特卡罗(Bayesian Markov chain Monte Carlo, MCMC)算法的潜在因素混合模型(latent factor mixed models, LFMM)分析进行计算。该方法在检测环境和遗传变异之间相关性的同时可以考虑种群遗传结构等潜在因素的影响(van Strien et al., 2015)。首先通过R语言中的‘LEA’程序包(Frichot & François, 2015)将VCF文件转化为.lfmm格式的等位基因频率文件。遗传数据中缺失的基因型对于基因组关联研究至关重要, 因此, 通过‘LEA’程序包中的‘snmf’函数进行缺失基因型的补全。本研究中LFMM进行10次独立重复运算以模拟环境变量与等位基因频率之间的相关性, 迭代次数设置为100 000, burn in设置为50 000, 根据种群遗传结构分析(Lu et al., 2024), 设置 $K = 2$ 。计算每个SNP位点的显著性参数 p 值, 选择 $-\lg(p \text{ value}) > 2$ (即 p 值大于 10^{-2})的SNPs为特异性位点。最后使用韦恩图对基于两种方法鉴定到的特异性位点进行一致性评估。

1.4 气候因子的获取与筛选

为计算基因组在环境梯度上的遗传变异程度, 需先获取生物气候变量。通过WorldClim v2.1 (Fick & Hijmans, 2017) (<https://worldclim.org/>)网站获取19个1970–2000年(代表当前时期)的气候因子栅格数据, 分辨率为2.5' (在赤道约4.5 km)。为去除气候因子之间的高度空间相关性, 使用R语言中‘extract’函数提取每个采样点的经纬度对应的栅格数据, 使用‘usdm’函数(Naimi et al., 2014)结合皮尔森相关性系数, 去除共线性阈值大于0.8的环境变量, 得到以下6个气候因子: 等温性(Bio3)、最冷月份最低气温(Bio6)、气温年较差(Bio7)、最湿季度平均气温(Bio8)、最湿月份降水量(Bio13)和降水量季节性变化(Bio15), 用于后续景观基因组学分析。

1.5 遗传变异对于环境梯度的响应

为探究遗传变异对于环境梯度的响应模式, 首先使用基于非参数机器学习回归树方法的梯度森林(gradient forest, GF)分析(Ellis et al., 2012), 通过计算环境变量对于遗传变异的解释比例来模拟遗传变异随着环境组成的变化。使用1.3中转换的等位基因频率.lfmm格式文件作为输入的遗传数据文件。环境数据文件为基于个体的经纬度数据和提取的分布点对应的6个气候因子栅格数据。分析前需要对于经纬度数据进行前置处理, 使用邻域矩阵的主坐标(PCNMs), 也称为莫兰特征向量图(MEM)来定义经纬度, 该过程使用“vegan”包中的pcnm函数进行计算(Gugger et al., 2018)。使用R语言读取以上数据, 通过“gradientForest”和“extendedForest”函数包(Liaw & Wiener, 2002; Smith et al., 2011)运行GF分析, 计算环境梯度随着等位基因频率的变化趋势, 并确定影响遗传变异最重要的环境因子。

同时, 使用基于置换回归的广义相异模型(GDM)进一步检测湖北枫杨的遗传变异与地理、气候因子之间的非线性关系。该分析基于成对的地理环境矩阵, 对于生物多样性的空间差异进行模型构建(Ferrier et al., 2007)。利用等位基因频率和基于个体的气候信息分别作为遗传和气候矩阵。使用R语言中的gdm函数(Ferrier et al., 2007)对于成对的地理环境距离位点进行拟合, 并绘制每一个气候因子的拟合样条(I-spline)图。同时以重要性百分比解释模型拟合程度, 绘制气候和地理因子重要性排序图。

1.6 地理隔离与环境隔离

地理距离或环境差异对种群间遗传差异的影响揭示了物种对异质环境适应能力的差异(Savolainen et al., 2007)。因此使用Mantel检验, 通过皮尔森相关系数比较遗传矩阵与地理和环境距离矩阵之间的相关性来检测地理隔离(IGD)和环境隔离(IBE)(Diniz-Filho et al., 2013)。首先使用PGDSpider软件(Lischer & Excoffier, 2012)将VCF格式的遗传数据文件转化为GENEPOP格式文件, 通过Genepop v4.6(Raymond & Rousset, 1995; Rousset, 2008)计算种群之间成对的 $F_{ST}/(1 - F_{ST})$ 矩阵作为遗传距离矩阵。通过R语言中的“geosphere”包(Hijmans et al., 2021), 将采样点经纬度信息转化为地理距离矩阵。使用ecodist函数(Goslee & Urban, 2007), 将6个气候因子数据整合为Bary-Cutis矩阵, 以衡量环境距离。最后通过ecodist函数进行地理/环境距离矩阵与成对 F_{ST} 遗传矩阵之间的Mantel检验。同时, 分别控制地理/环境距离, 使用偏(partial) Mantel检验计算地理/环境距离对遗传距离的独立影响。

1.7 冗余分析

Mantel检验仅可以检测广义的地理/环境对于遗传结构的影响, 而基于多变量的冗余分析(RDA)可通过整合遗传数据与特定的环境因子进行多元建模, 以检测到特定的地理/环境矩阵(例如降水、温度等气候因子)与遗传变异的相关性(Sork & Waits, 2010; Lasky et al., 2012; 王天瑞等, 2021)。首先, 通过R语言中的“LEA”程序包(Frichot & François, 2015)将VCF文件转换成个体水平的等位基因频率数据。环境数据为通过R语言提取的采样点对应的气候数据以及采样点经纬度数据。使用R语言中的“vegan”程序包计算多个拟合模型对象的方差(或偏差)。考虑到气候数据可能与经纬度数据存在强烈的共线性现象, 我们进一步控制经纬度的影响来进行偏冗余分析(pRDA)(Legendre & Anderson, 1999)。最后对气候和遗传数据进行置换检验以评估显著性, 置换排列数量设置为999, 假设检验显著水平设置为0.05。

1.8 生态位建模

根据所有已知分布点, 使用MAXENT 3.4.4软件(Phillips et al., 2006), 基于最大熵模型来预测湖北枫杨当前和未来的潜在分布区域。分布点包括本研究中使用的18个采样点, 以及1.1中整理的标本信息。利用R软件包“dismo”(Hijmans et al., 2017a)去除

了缺失、重复和错误坐标。使用R语言软件包“raster”(Hijmans et al., 2017b)进行网格筛选, 移除小于2.5'空间分辨率的分布点。根据1.4的方法, 获取2.5'空间分辨率的19个生物气候变量和海拔的栅格数据(Hijmans et al., 2005)。生物气候变量时期包括未来2050年(2041–2060年)和未来2090年(2081–2100年)的共享社会经济路径(shared socio-economic pathways, SSPs) SSP245情景, 并分别获取了CMCC-ESM2和MIROC6两种全球气候模型(GCMs)。使用1.4中方法排除存在高度空间自相关性的气候变量, 保留以下气候因子作为预测因子: 年平均气温(Bio1)、平均气温日较差(Bio2)、气温季节性变动系数(Bio4)、最湿月份降水量(Bio13)、降水量季节性变化(Bio15)和海拔(elev)。其中25%的数据被用于模型测试和验证, 并且采用bootstrap方法进行10次独立重复运算。最后, 使用平均值图层.avg作为结果, 在ArcGIS v10.2中使用重分类工具对于适宜度划分, 使用自然间断法(Natural Breaks, Jenks)将阈值设定为0–0.2, 0.2–1.0, 分别代表不适宜和适宜。最后, 在ArcGIS v10.2中计算每个时期的两种GCM模型下模拟结果, 将重叠部分作为最终潜在分布区预测结果。

1.9 未来基因组脆弱性预测

使用非适应性风险分析(risk of non-adaptedness, analysis RONA)对于湖北枫杨种群在未来气候下的适应能力进行分析(Rellstab et al., 2016)。通过计算与气候相关遗传位点的等位基因频率的平均变化, 预测种群在未来气候下存活的可能性(Rellstab et al., 2016; Pina-Martins et al., 2019)。使用PYRONA(Pina-Martins et al., 2019)将SNP位点的等位基因频率以及当前气候数据建立线性关联, 并基于该线性关联结合种群采样点的未来的气候数据预测种群未来的等位基因频率。首先使用1.4中的方法获取气候数据, 本研究对2090年(2081–2100年) SSP126与SSP585两种情景下的种群遗传脆弱性进行预测。使用R语言中的“LEA”包(Frichot & François, 2015)获得每个个体的等位基因频率, 并对于等位基因频率数据和6个环境变量构建回归模型。基于该回归模型预测2090年SSP126和SSP585情景下的预期等位基因频率, 并计算当前和未来预期等位基因频率之间的平均差值作为RONA值, 该值越大, 种群对未来气候的适应能力越弱, 灭绝风险越高。

2 结果

2.1 特异性位点检测

首先, 使用‘Pcadapt’进行基于 F_{ST} 的特异性位点

检测, ‘Pcadapt’同时进行主成分分析计算。结果表明, 湖北枫杨的所有种群中共有177个特异性分化的 SNP位点(图2A); 主成分将这些位点分成两个明显的谱系(东部谱系和西部谱系) (图2B)。其次, 使用

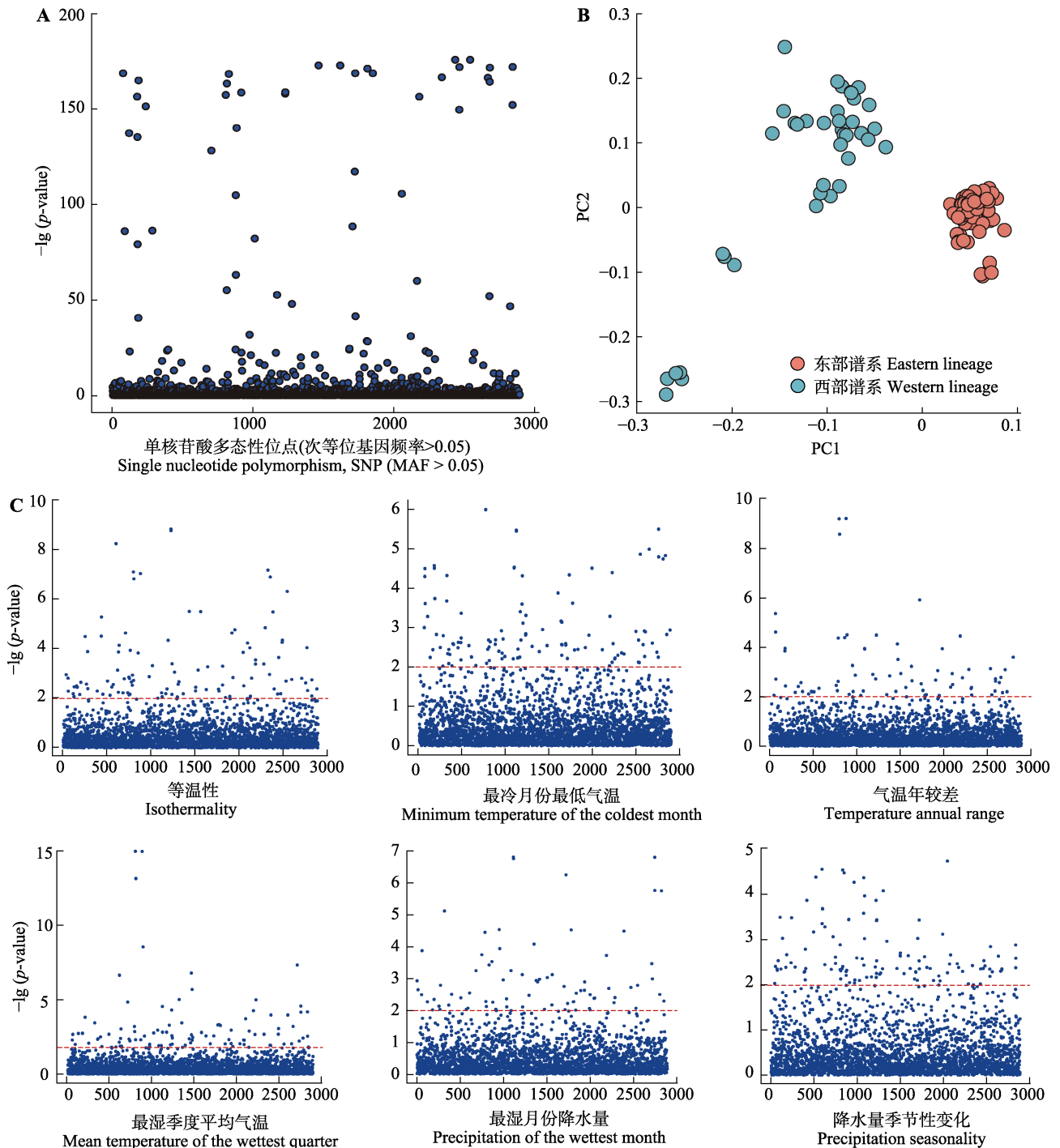


图2 基于‘Pcadapt’的湖北枫杨特异性位点检测结果(A)、主成分分析(PCA)聚类结果(B)和基于潜在因素混合模型分析的对于6个气候因子分别进行特异性位点检测结果(C)。红色虚线为 $p = 0.01$ 阈值线, 红色虚线上方为与该环境因子显著关联的位点。MAF, 次等位基因频率。

Fig. 2 Abnormal single nucleotide polymorphism (SNP) detected in *Pterocarya hupehensis* based on Pcadapt (A), Principal Component Analysis (PCA) (B), and latent factor mixed models analysis based on six environmental factors (C). The red dotted line represents the threshold of $p = 0.01$, and the sites above the red dotted line are significantly associated with the environmental factor. MAF, minor allele frequency.

表2 湖北枫杨全部种群Mantel和偏Mantel检验结果
Table 2 Mantel and partial Mantel test results for the entire population of *Pterocarya hupehensis*

Mantel检验	Mantel test	Mantel's <i>r</i>	<i>p</i>	Mantel检验(每个气候因子)	Mantel test (Each climatic factor)	Mantel's <i>r</i>	<i>p</i>
地理隔离	Isolation by distance	0.23	0.062	等温性	Isothermality	-0.17	0.861
环境隔离	Isolation by environment	0.31	0.002	最冷月份最低气温	Minimum temperature of the coldest month	-0.05	0.668
偏Mantel检验	Partial mantel test			气温年较差	Temperature annual range	-0.07	0.675
地理隔离(控制环境距离)	Isolation by distance (Conditioned with environmental distance)	0.08	0.298	最湿季度平均气温	Mean temperature of the wettest quarter	0.09	0.212
环境隔离(控制地理距离)	Isolation by environment (Conditioned with geographical distance)	0.23	0.029	最湿月份降水量	Precipitation of the wettest month	0.29	0.003
				降水量季节性变化	Precipitation seasonality	0.34	0.007

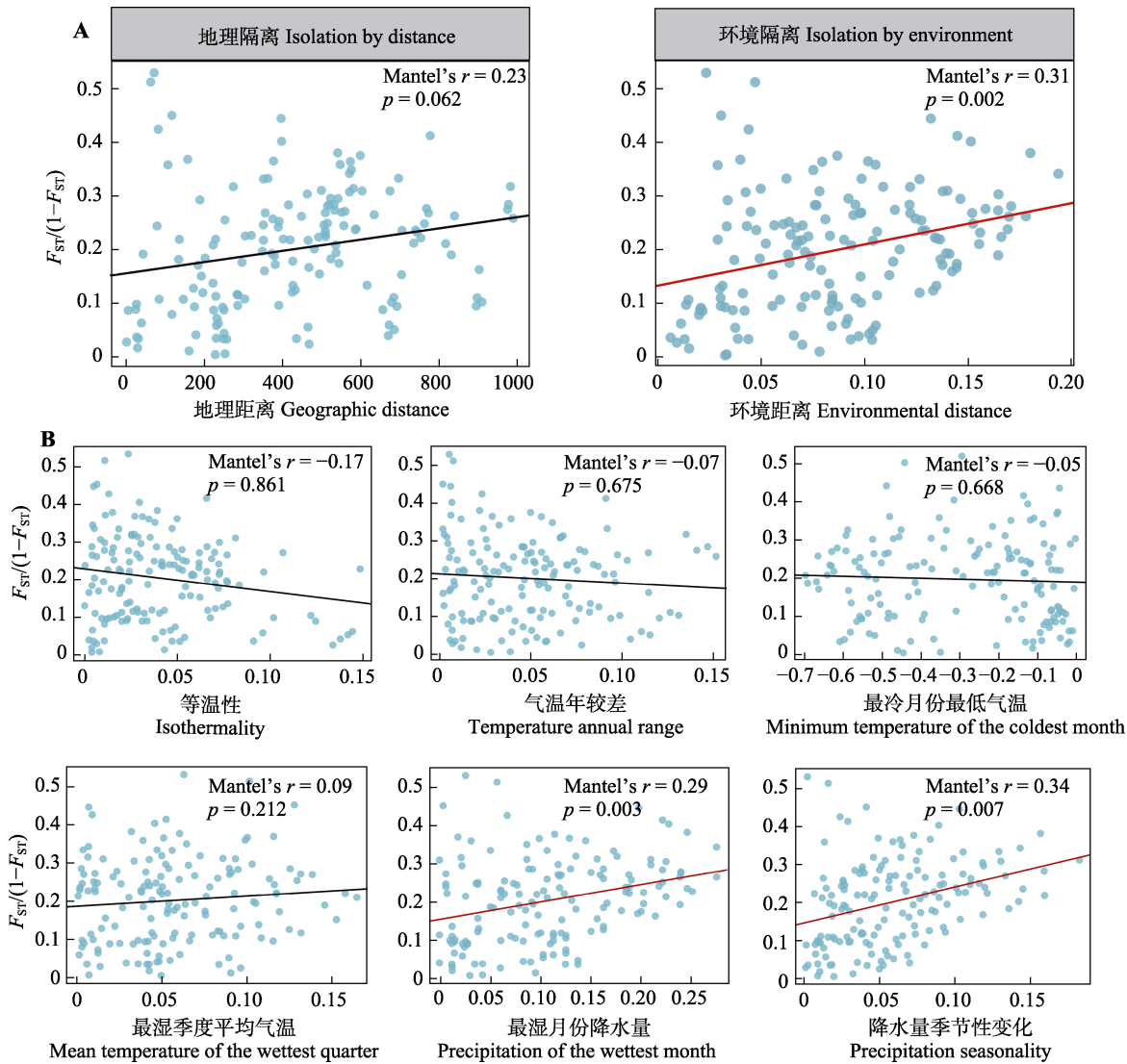


图3 对于所有种群进行地理距离和遗传距离、环境距离和遗传距离的Mantel检验结果(A)和对于每个气候因子进行遗传距离与环境距离检测结果(B)。红色斜线代表变量之间显著相关。 $F_{ST}/(1 - F_{ST})$, 衡量成对种群间遗传分化(遗传距离)。
Fig. 3 Mantel test results showing the relationship between geographic distance and genetic distance, and between environmental distance and genetic distance across all populations (A), as well as the results of the genetic distance versus environmental distance for each individual climate factor (B). Red dashed lines represent significant correlations between variables. $F_{ST}/(1 - F_{ST})$, measuring genetic differentiation between paired populations (genetic distance).

LFMM在湖北枫杨的所有种群中检测到398个与6个气候变量相关的SNPs。对二者进行韦恩图分析,发现有334个位点仅为基因型-环境关联SNPs, 113个位点仅为特异性分化位点, 64个位点既为基因型-环境关联位点, 又为特异性分化位点(图2C)。

2.2 遗传变异与空间环境的关联

对于湖北枫杨的所有种群进行Mantel分析, 结果表明在所有种群中检测到显著的环境隔离IBE (Mantel's $r = 0.31$, $p = 0.002$), 但是并未发现显著的遗传距离和地理之间的相关性(表2; 图3A)。在控制地理因素的线性影响后, 偏Mantel检验依然检测到湖北枫杨具有显著的环境隔离的空间遗传模式, 无显著的地理隔离(表2)。使用Mantel检验对于6个气候因子分别进行IBE分析, 结果表明遗传变异与最湿月份降水量和降水量季节性变化两个气候因子之间具有显著的相关性(图3B; 表2)。

基于多变量的RDA结果表明, 湖北枫杨种群遗传变异与气候和地理因素均具有显著相关性, 气候因素的影响大于地理因素。对每个气候因子进行冗余分析, 结果表明遗传变异与6种气候因子均具有显著相关性(表3), 且对于遗传变异影响最大的气候因子为最湿润月份降水量(图4A; 表3)。偏RDA表明, 在控制地理/气候因素影响后, 遗传变异与气候、地理因素均显著相关, 但气候因子的影响仍然大于地理因素(图4C、4D; 表3)。

2.3 遗传变异对于环境梯度的响应

梯度森林分析结果表明, 降水量季节性变化(Bio15)是对湖北枫杨遗传变异影响最大的气候因素, 温度相关的气候因子对湖北枫杨的遗传变异也

具有一定影响(图5A)。不论是 R^2 加权重要性还是累积重要性, 降水量季节性变化、等温性与最冷月份最低气温为重要性程度排序前三的气候因子(精度重要性分别为: 3.08%、2.09%和1.86%; R^2 加权重要性分别为: 2.23%、1.91%和1.70%)。通过I样条曲线图, 遗传变异随着降水量季节性变化值增大至70–75之间时出现较为剧烈的攀升, 说明降水对其遗传变异的影响较大(图5B)。等温性和最冷月份最低气温的I样条曲线依然在某阈值出现遗传变异的剧烈攀升, 进一步说明温度与降水在塑造湖北枫杨遗传变异中的重要作用(图5B)。

广义相异模型分析结果表明, 降水量季节性变化是对于湖北枫杨遗传变异影响最大的气候因素, 而地理因素(Geo)对于湖北枫杨遗传变异无影响(图5C)。此外, 最湿季度平均气温和最湿月份降水量等也为重要值较高的预测因子。广义相异模型的累积重要性曲线与GF分析结果一致, 降水量季节性变化数值达到70左右时, 成对环境距离矩阵数值开始显著上升(图5D)。而GDM检测到等温性的累积重要性曲线无上升或下降趋势, 说明在该预测区间范围内, 等温性数值的波动对于遗传变异没有显著影响(图5D)。相比梯度森林的I样条曲线, 广义相异模型的累积重要性曲线图趋势更加平滑, 但也更清楚地展示出遗传变异随着环境梯度开始发生剧烈变化的区域。

2.4 未来分布和脆弱性预测

通过Maxent模型进行未来2050年和2090年SSP245两个气候情景的潜在分布区预测, 模型的受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic,

表3 湖北枫杨所有种群冗余分析和偏冗余分析结果
Table 3 Redundancy analysis (RDA) and partial RDA analysis results of all populations of *Pterocarya hupehensis*

环境因子 Environmental factor	冗余分析 RDA			偏冗余分析 Partial RDA		
	PVE	特征值 Eigenvalue	p	PVE	特征值 Eigenvalue	p
地理 Geography	0.13	3.54	0.001	0.09	2.54	0.001
气候 Climate	0.18	4.06	0.001	0.13	3.17	0.001
等温性 Isothermality	0.03	3.63	0.001	0.03	4.05	0.001
最冷月份最低气温 Minimum temperature of the coldest month	0.03	3.70	0.001	0.02	2.60	0.001
气温年较差 Temperature annual range	0.04	5.62	0.001	0.02	2.92	0.001
最湿季度平均气温 Mean temperature of the wettest quarter	0.02	2.82	0.001	0.03	4.24	0.001
最湿月份降水量 Precipitation of the wettest month	0.05	6.71	0.001	0.01	1.81	0.001
降水量季节性变化 Precipitation seasonality	0.01	1.86	0.003	0.02	3.44	0.001

PVE, 已解释方差百分比。
PVE, explained variance percentage.

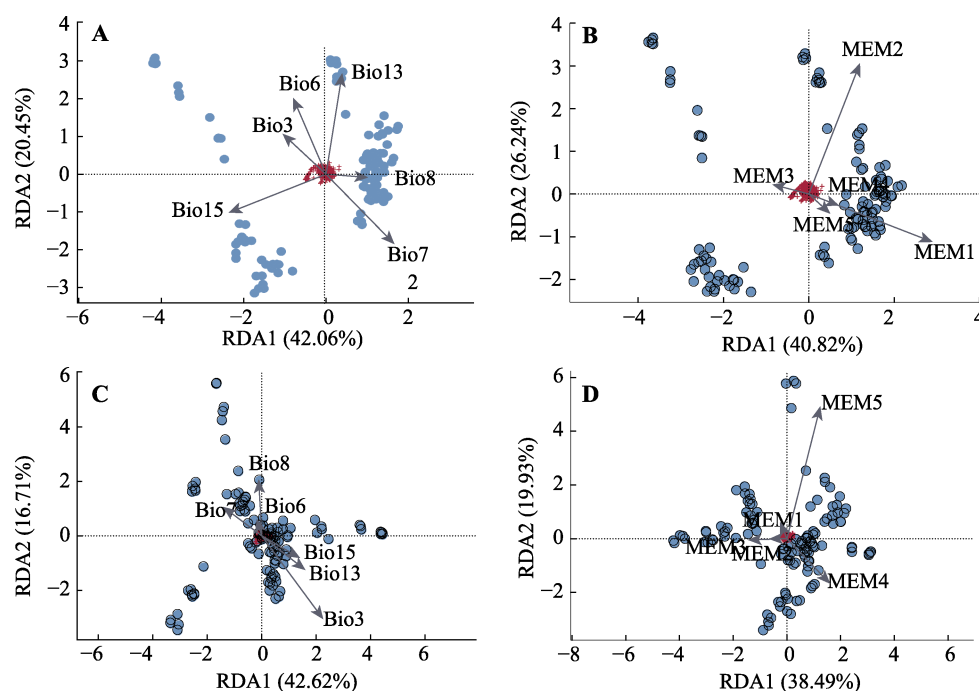


图4 湖北枫杨的遗传变异与6种气候因子(A)及地理因素(B)的冗余分析(RDA)和偏冗余分析(pRDA)(C、D)。向量长度表示该环境变量在解释方差中的贡献大小, 箭头之间的角度表示变量之间的相关性。MEM, 莫兰特征向量。bio3, 等温性; bio6, 最冷月份最低气温; bio7, 气温年较差; bio8, 最湿季度平均气温; bio13, 最湿月份降水量; bio15, 降水量季节性变化。

Fig. 4 Redundancy analysis (RDA) of *P. hupehensis* between genetic variation and six climatic factors (A), and between genetic variation and geographical factors (B). As well as partial redundancy analysis (pRDA) between genetic variation and six climatic factors (C), and between genetic variation and geographical factors (D). The length of the vector represents the contribution of the environment variable to the explained variance, and the angle between the arrows represents the correlation between the variables. MEM, Moran's eigenvector. bio3, isothermality; bio6, minimum temperature of the coldest month; bio7, temperature annual range; bio8, mean temperature of the wettest quarter; bio13, precipitation of the wettest month; bio15, precipitation seasonality.

ROC)具有较高的线下面积(AUC)值(>0.977), 表明良好的模型预测能力。在预测的生物气候变量中, 年平均气温(Bio1)和平均气温日较差(Bio2)对模型的贡献百分比最大(分别为35%和26%)。物种分布适宜区域在未来2050年和2090年均局限于四川盆地, 两种全球气候模型下的潜在分布区范围整体相差不大, MIROC模型和CMCC模型的重叠部分在西北部略有差异(图6A、6B)。

对于未来2090年SSP126和SSP585两种气候情景进行了非适应性风险分析(RONA), 结果表明SSP585情景下湖北枫杨的种群脆弱性整体高于SSP126情景(图6C、6D)。并且与GF结果一致, 降水量季节性变化、等温性和最冷月份最低气温对于湖北枫杨种群的适应能力影响最大(图6C、6D)。在2090年SSP126情景下, 降水量季节性变化对于湖北枫杨位于西北部的种群(YPC、HJG、MYG、HH和DSP)的适应能力影响显著大于其他种群(图6C), 但在SSP585情景下的影响不明显(图6D)。两种气候情

景下, 最冷月份最低气温对于湖北枫杨所有种群的适应能力影响均较大, 且对于不同种群的适应能力影响相差不大。我们发现, 一些南部种群(JSZ、DFX和NYX)的遗传脆弱性在两种气候情景下相较其他种群偏低。其中一个位于西北部的LYG种群对于降水量季节性变化和最冷月份最低气温两种气候因子的RONA值均为0, 表明这些气候因子对该种群的遗传脆弱性无影响。

3 讨论

了解和评估物种响应气候变化的基因组脆弱性对于生物多样性保护策略的制定具有指导性意义(Foden et al., 2019)。在这项研究中, 我们基于简化基因组测序数据挖掘了中国特有孑遗植物湖北枫杨所有种群的遗传变异以探究其响应气候变化的分子遗传机制。此外, 本研究进一步揭示了不同种群在未来气候变化下的遗传脆弱性与潜在分布区域, 为物种的保护与管理提供理论指导。

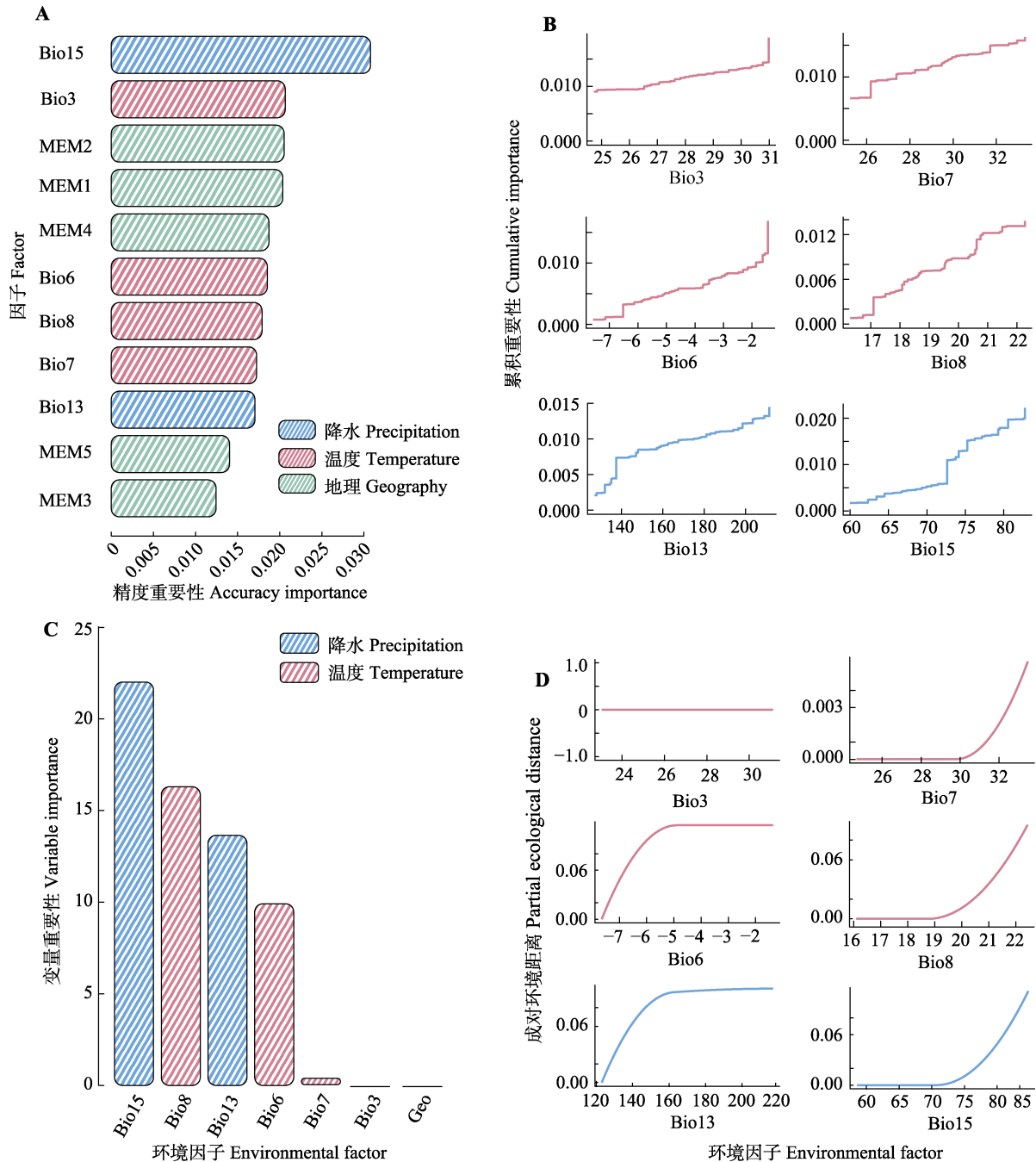


图5 基于梯度森林(GF, **A**)和广义相异模型(GDM, **C**)分析的环境变量对于遗传变异重要性排序图, 遗传组成随环境梯度变化的I样条曲线(GF分析结果) (**B**), 和为GDM分析的累积重要性曲线(**D**)。MEM, 莫兰特征向量。bio3, 等温性; bio6, 最冷月份最低气温; bio7, 气温年较差; bio8, 最湿季度平均气温; bio13, 最湿月份降水量; bio15, 降水量季节性变化。

Fig. 5 Environmental variable importance rankings for genetic variation based on Gradient Forest (GF) (**A**) and Generalized Dissimilarity Model (GDM) (**C**) analyses, with I-spline curves illustrating genetic composition shifts along environmental gradients (**B**) and cumulative importance curves (**D**) in GDM analysis. MEM, Moran's eigenvector. bio3, isothermality; bio6, minimum temperature of the coldest month; bio7, temperature annual range; bio8, mean temperature of the wettest quarter; bio13, precipitation of the wettest month; bio15, precipitation seasonality.

3.1 遗传变异对于环境梯度的响应及气候适应潜力

由于树木具有较长的世代时间, 而现今快速的气候变化通常发生在其某一世代之内, 这使得树木在应对快速的气候变化方面具有极大的挑战性

(Holliday et al., 2017)。而在许多不同类型的树木中, 一些分布范围有限的树木通常占据高度异质的环境, 并在生态上长期适应当地环境(Capblancq et al., 2020)。探究这些具有有限分布的树木如何适应环境,

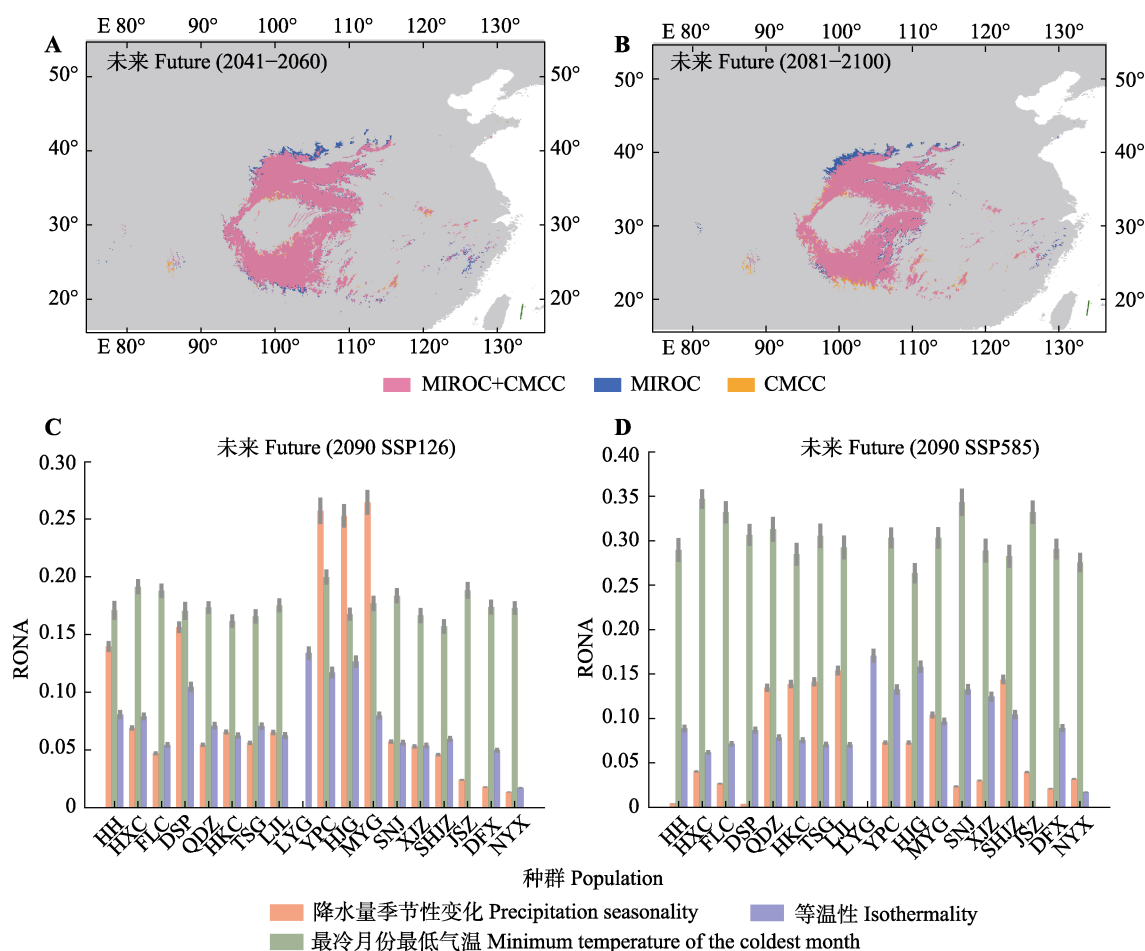


图6 未来气候情景下的潜在分布区预测(A、B)和非适应性风险分析(RoNA) (C、D)结果。3个对于基因组脆弱性影响最大的气候因子展示在图中。MIROC和CMCC两种全球气候模型的数据下载于WorldClim v2.1 (https://www.worldclim.org/data/cmip6/cmip6_clim2.5m.html)。种群名称缩写的详细信息见表1。

Fig. 6 Potential range projections (A, B) and risk of non-adaptedness analysis (C, D) for future climate scenarios. Only the three climate factors that have the greatest impact on genomic vulnerability are shown in the picture. Data of two global climate models (MIROC and CMCC) were downloaded from WorldClim v2.1 (https://www.worldclim.org/data/cmip6/cmip6_clim2.5m.html). Detailed information of abbreviations for each population is shown in Table 1.

以及其对未来气候的适应潜力可进一步加深人们对于生态适应的理解。在物种水平上, 往往利用物种分布数据和气候数据, 通过物种分布模型来计算未来潜在的气候适应情况(Thuiller et al., 2008)。本研究中, 物种分布模型预测到未来2050年和2090年SSP245 (中等排放)情景下湖北枫杨的潜在适宜区均局限在四川盆地周围, 且四川盆地内部不存在适宜生存的区域, 与当前的实际分布位置相吻合。该结果可说明在未来中等共享社会经济路径的情境下, 湖北枫杨所处生境变化不大。然而, 物种分布模型虽然在物种未来分布趋势预测上有一定参考价值(仅考虑物种的分布点和气候因素), 但并未考虑由于自然选择下适应性进化相关位点上的种内遗传变异程度, 因而忽略了不同种群之间的遗传差异对于

环境适应的影响(Benito Garzón et al., 2019)。因此, 我们整合所有遗传变异位点, 进一步对种群遗传变异对于环境梯度的响应进行模拟。一般来说, 具有IBE特征的种群在遗传多样性上表现出明显的基因型差异, 这些差异通常与环境变化密切相关(Jiang et al., 2019)。我们通过Mantel和偏Mantel分析均检测到湖北枫杨具有显著环境隔离的特征, 这反映了其对于所分布山区中不同气候条件生境的局部适应, 产生了不同的基因型(Wang & Bradburd, 2014)。然而, 我们并未检测到显著的地理隔离现象, 这可能与多种因素有关, 例如风媒传播的花粉和种子以及鸟类的传播都可能导致种群之间存在基因流, 以及山脉中可能存在生态廊道或适宜的栖息地连接, 导致地理屏障的效应较弱等。我们进一步探究具体哪

些环境因素对其遗传变异造成了显著影响。一般来说, 温度和降水模式是决定物种分布和植物生长的关键因素(Root et al., 2003; Wahid et al., 2007)。通过冗余分析发现, 环境因素中的地理和气候因素均在解释湖北枫杨的适应性变化中起到重要作用。我们使用梯度森林分析和广义相异建模对遗传变异随每个预测因子变化趋势的模拟, 发现两种模型中降水量季节性变化均为对湖北枫杨种群遗传变异影响最大的气候因子。前期的研究表明, 青藏高原的隆升以及随之而来的中新世气候的变化、季风的形成与降水模式的改变, 驱动着湖北枫杨的定植、分化(Lu et al., 2024)。同时, 湖北枫杨具有耐涝喜湿、偏好山涧溪谷旁的特点, 降水相关的气候因子可能对其生存和繁殖产生了显著影响。而降水模式的改变更易对其种群造成选择压力, 这种压力在一定程度上促进了适应性基因型的选择和积累。因此, 不难理解降水相关的气候因素对其遗传变异的影响。GF和GDM分析表明湖北枫杨与同属其他物种例如枫杨、甘肃枫杨(*Pterocarya macroptera*)的研究结果类似, 温度相关环境因素对于其种群遗传变异具有一定影响, 这可能与枫杨属植物喜光的特征有关(Li et al., 2022; Wang et al., 2023)。另一方面, 湖北枫杨裸芽的特征可能预示着其对于低温的不耐受或湿度的敏感性(Kou et al., 2016)。GF分析中最冷月份最低气温和GDM分析中最湿季度平均气温等表示极端或限制性的环境因子也被检测到对于湖北枫杨的遗传变异具有较大影响。

3.2 未来气候条件下的遗传脆弱性与保护建议

在气候变化的背景下, 了解适应的遗传基础以及确定物种对未来气候条件的适应能力至关重要(Dauphin et al., 2021)。通过RONA发现, 与GF分析相吻合, 对于湖北枫杨种群遗传变异影响最大的气候因子(降水量季节性变化、最冷月份最低气温和等温性)同时也是对于种群遗传脆弱性影响最大的3个气候因子。根据RONA的预测, 2090年SSP585情景下的遗传脆弱性整体要高于SSP126情景, 最冷月份最低气温在SSP585气候情景下对于种群适应能力的影响大于SSP126情景。这一结果表明湖北枫杨的遗传脆弱性可能与未来情景下人类活动和不同共享经济路径下的碳排放程度有关(Hurt et al., 2020; Meinshausen et al., 2020)。应关注在未来气候变化下一些极端气候因素(最冷月份最低气温)对于湖北枫

杨种群遗传脆弱性的影响。在2090年SSP126情景下, 位于西北部几个地区(陕西西安和宝鸡, 甘肃康县、甘肃陇南和阳坝镇)的种群对于降水量季节性变化的适应能力较弱。而与最冷月份最低气温的变化趋势相反, 在2090年SSP585情景下降水量季节性变化对于西北部种群适应能力的影响小于SSP126情景。该现象表明不同的共享经济路径下, 同一气候因子对于种群适应能力的影响可能不同。结合物种分布模型, 我们发现西北部种群的潜在适宜区域在2050年和2090年SSP245情境下有所变化。因此, 在未来不仅应重点关注湖北枫杨西北部种群的保护工作, 还应关注未来不同社会经济发展情景下的气候变化程度对于不同的气候因素的影响, 进而影响种群的遗传脆弱程度。

在当前快速的气候变化下, 基于遗传多样性和遗传脆弱性的空间分布的管理策略得到越来越多的关注(Lefèvre et al., 2014; Gougherty et al., 2021)。全面了解空间遗传多样性有助于制定在未来气候变化下物种的保护策略。具有高遗传多样性的种群可能具有更高的潜力去适应气候变化, 并可能成为宝贵的育种资源(Frankel et al., 1995)。结合课题组已发表的种群遗传多样性计算结果, 位于四川盆地南部种群(JSZ、DFX和NYX)等具有较高遗传多样性(Lu et al., 2024)。而这些南部种群在本研究的RONA中预测到两种未来气候条件下的遗传脆弱性相较于其他种群均偏低, 因此可对这些具有高适应潜力的种群进行保护, 并优先考虑作为通过基因流进行遗传拯救的资源(Jiang et al., 2019)。由于具有显著的环境隔离特征, 在未来对于湖北枫杨种群进行就地保护时, 应注重其对于原生境的适应程度, 采取合理的措施维持和恢复野外自然种群。同时, 就地保护措施的制定应着重关注人类活动、气候变迁以及生境的片段化对于湖北枫杨种群带来的影响。在对于湖北枫杨进行迁地保护时, 应注意区分谱系和不同基因型进行保护, 关注不同谱系对温度和水分的敏感程度, 并根据种群的脆弱程度选择合适的育种资源。

3.3 总结

本研究基于湖北枫杨的简化基因组测序数据, 使用景观基因组学分析方法, 首先利用遗传分化和基因型环境关联办法检测了特异性分化位点, 其次使用回归方法探究了遗传变异对于广义的地理/气候和特定的环境梯度的响应趋势, 最后通过物种分

布模型和RONA预测了未来气候条件下的潜在分布范围和遗传脆弱性。该研究不仅为该易危物种的保护提供理论基础, 同时为理解孑遗植物响应气候变化的分子机制提供研究案例。如今, 气候快速变化正加速改变全球物种的未来命运, 以易危孑遗植物为研究对象, 重点研究其遗传变异对于环境梯度的响应, 以期能深入挖掘其长期应对气候变化的机制, 为人类了解物种如何应对未来气候变化提供新见解。

致谢 感谢南阳师范学院刘宗才教授、上海辰山植物园刘瑞斌和林铎清, 以及曾孔勇先生在湖北枫杨样品野外采集过程中提供的帮助。

参考文献

- Aitken SN, Yeaman S, Holliday JA, Wang TL, Curtis-McLane S (2008). Adaptation, migration or extirpation: climate change outcomes for tree populations. *Evolutionary Applications*, 1, 95-111.
- Anderson K, Gaston KJ (2013). Lightweight unmanned aerial vehicles will revolutionize spatial ecology. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 11, 138-146.
- Andrews KR, Seaborn T, Egan JP, Fagnan MW, New DD, Chen ZQ, Hohenlohe PA, Waits LP, Caudill CC, Narum SR (2023). Whole genome resequencing identifies local adaptation associated with environmental variation for redband trout. *Molecular Ecology*, 32, 800-818.
- Bai WN, Wang WT, Zhang DY (2016). Phylogeographic breaks within Asian butternuts indicate the existence of a phytogeographic divide in East Asia. *New Phytologist*, 209, 1757-1772.
- Balkenhol N, Cushman S, Storfer A, Waits L (2015). *Landscape Genetics: Concepts, Methods, Applications*. Wiley-Blackwell, Oxford, UK.
- Balkenhol N, Dudaniec RY, Krutovsky KV, Johnson Jeremy S, Cairns DM, Segelbacher G, Selkoe KA, Heyden VDS, Wang IJ, Selmoni O, Joost Stéphane J (2019). Landscape genomics: understanding relationships between environmental heterogeneity and genomic characteristics of populations//Rajora OP. *Population Genomics: Concepts, Approaches and Applications*. Springer International Publishing, Cham, Switzerland. 261-322.
- Benito Garzón M, Robson TM, Hampe A (2019). Δ TraitSDMs: species distribution models that account for local adaptation and phenotypic plasticity. *New Phytologist*, 222, 1757-1765.
- Cao YN, Comes HP, Sakaguchi S, Chen LY, Qiu YX (2016). Evolution of East Asia's Arcto-Tertiary relict *Euptelea* (Eupteleaceae) shaped by Late Neogene vicariance and Quaternary climate change. *BMC Evolutionary Biology*, 16, 66.
- Capblancq T, Fitzpatrick MC, Bay RA, Exposito-Alonso M, Keller SR (2020). Genomic prediction of (mal)adaptation across current and future climatic landscapes. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 51, 245-269.
- Catchen J, Hohenlohe PA, Bassham S, Amores A, Cresko WA (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22, 3124-3140.
- Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, Handsaker RE, Lunter G, Marth GT, Sherry ST, McVean G, Durbin R, 1000 Genomes Project Analysis Group (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27, 2156-2158.
- Dauphin B, Rellstab C, Schmid M, Zoller S, Karger DN, Brodbeck S, Guillaume F, Gugerli F (2021). Genomic vulnerability to rapid climate warming in a tree species with a long generation time. *Global Change Biology*, 27, 1181-1195.
- Diniz-Filho JAF, Soares TN, Lima JS, Dobrovolski R, Landeiro VL, de Campos Telles MP, Rangel TF, Bini LM (2013). Mantel test in population genetics. *Genetics and Molecular Biology*, 36, 475-485.
- Doyle JJ, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11-15.
- Ellis N, Smith SJ, Pitcher CR (2012). Gradient forests: calculating importance gradients on physical predictors. *Ecology*, 93, 156-168.
- Fahad S, Sonmez O, Saud S, Wang D, Wu C, Adnan M, Turan V (2021). *Climate Change and Plants: Biodiversity, Growth and Interactions*. CRC Press, Boca Raton, USA.
- Ferrier S, Manion G, Elith J, Richardson K (2007). Using generalized dissimilarity modelling to analyse and predict patterns of beta diversity in regional biodiversity assessment. *Diversity and Distributions*, 13, 252-264.
- Fick SE, Hijmans RJ (2017). WorldClim 2: new 1-km spatial resolution climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 37, 4302-4315.
- Foden WB, Young BE, Akçakaya HR, Garcia RA, Hoffmann AA, Stein BA, Thomas CD, Wheatley CJ, Bickford D, Carr JA, Hole DG, Martin TG, Pacifici M, Pearce-Higgins JW, Platts PJ, et al. (2019). Climate change vulnerability assessment of species. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Climate Change*, 10, e551. DOI: 10.1002/wcc.551.
- Frankel OH, Brown AHD, Burdon J (1995). The genetic diversity of wild plants//Volin VC, Volin J. *The Conservation of Plant Biodiversity*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. 10-38.
- Frichot E, François O (2015). LEA: an R package for landscape and ecological association studies. *Methods in Ecology*

- and *Evolution*, 6, 925-929.
- Goslee SC, Urban DL (2007). The ecodist package for dissimilarity-based analysis of ecological data. *Journal of Statistical Software*, 22, 1-19.
- Gougherty AV, Keller SR, Fitzpatrick MC (2021). Maladaptation, migration and extirpation fuel climate change risk in a forest tree species. *Nature Climate Change*, 11, 166-171.
- Gugger PF, Liang CT, Sork VL, Hodgskiss P, Wright JW (2018). Applying landscape genomic tools to forest management and restoration of Hawaiian koa (*Acacia koa*) in a changing environment. *Evolutionary Applications*, 11, 231-242.
- Hijmans RJ, Cameron SE, Parra JL, Jones PG, Jarvis A (2005). Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology*, 25, 1965-1978.
- Hijmans RJ, Phillips S, Leathwick J, Elith J (2017a). dismo: Species distribution modeling. R package version 1.1-4. [2024-07-02]. <https://CRAN.R-project.org/package=dismo>.
- Hijmans RJ, van Etten J, Cheng J, Mattiuzzi M, Sumner M, Greenberg JA, Lamigueiro OP, Bevan A, Racine EB, Shortridge A, Ghosh A (2017b). Package 'raster': geographic data analysis and modeling, v. 2.6-7. [2024-07-08]. <https://cran.r-project.org/web/packages/raster/raster.pdf>.
- Hijmans RJ, Williams E, Vennes C, Hijmans MR (2021). Package 'geosphere'. R package version 1.5-14. [2024-06-01]. <https://cran.r-project.org/web/packages/geosphere/index.html>.
- Hitchings SP, Beebe TJ (1997). Genetic substructuring as a result of barriers to gene flow in urban *Rana temporaria* (common frog) populations: implications for biodiversity conservation. *Heredity*, 79, 117-127.
- Holliday JA, Aitken SN, Cooke JEK, Fady B, González-Martínez SC, Heuertz M, Jaramillo-Correa JP, Lexer C, Staton M, Whetten RW, Plomion C (2017). Advances in ecological genomics in forest trees and applications to genetic resources conservation and breeding. *Molecular Ecology*, 26, 706-717.
- Hurt GC, Chini L, Sahajpal R, Frolking S, Bodirsky BL, Calvin K, Doelman JC, Fisk J, Fujimori S, Klein Goldewijk K, Hasegawa T, Havlik P, Heinemann A, Humpenöder F, Jungclaus J, et al. (2020). Harmonization of global land use change and management for the period 850–2100 (LUH2) for CMIP6. *Geoscientific Model Development*, 13, 5425-5464.
- Jiang S, Luo MX, Gao RH, Zhang W, Yang YZ, Li YJ, Liao PC (2019). Isolation-by-environment as a driver of genetic differentiation among populations of the only broad-leaved evergreen shrub *Ammopiptanthus mongolicus* in Asian temperate deserts. *Scientific Reports*, 9, 12008. DOI: 10.1038/s41598-019-48472-y.
- Kou YX, Cheng SM, Tian S, Li B, Fan DM, Chen YJ, Soltis DE, Soltis PS, Zhang ZY (2016). The antiquity of *Cyclocarya paliurus* (Juglandaceae) provides new insights into the evolution of relict plants in subtropical China since the late Early Miocene. *Journal of Biogeography*, 43, 351-360.
- Kozłowski G, Sébastien B, Song YG (2018). *Wingnuts (Pterocarya) & Walnut Family. Relict Trees: Linking the Past, Present and Future*. Natural History Museum Fribourg, Fribourg, Switzerland.
- Kozłowski G, Song Y, Bétrisey S (2019). *Pterocarya hupehensis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2019: e. T66816108A152835141. [2024-09-12]. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2019-3.RLTS.T66816108A152835141.en>.
- Kuang KR, Li PQ (1979). *Flora of China: Volume 22*. Science Press, Beijing. [匡可任, 李沛琼 (1979). 中国植物志: 第二十二卷. 科学出版社, 北京.]
- Lasky JR, des Marais DL, McKay JK, Richards JH, Juenger TE, Keitt TH (2012). Characterizing genomic variation of *Arabidopsis thaliana*: the roles of geography and climate. *Molecular Ecology*, 21, 5512-5529.
- Lefèvre F, Boivin T, Bontemps A, Courbet F, Davi H, Durand-Gillmann M, Fady B, Gauzere J, Gidoïn C, Karam MJ, Lalagüe H, Oddou-Muratorio S, Pichot C (2014). Considering evolutionary processes in adaptive forestry. *Annals of Forest Science*, 71, 723-739.
- Legendre P, Anderson MJ (1999). Distance-based redundancy analysis: testing multispecies responses in multifactorial ecological experiments. *Ecological Monographs*, 69, 1-24.
- Li LF, Cushman SA, He YX, Ma XF, Ge XJ, Li JX, Qian ZH, Li Y (2022). Landscape genomics reveals genetic evidence of local adaptation in a widespread tree, the Chinese wingnut (*Pterocarya stenoptera*). *Journal of Systematics and Evolution*, 60, 386-397.
- Liaw A, Wiener M (2002). Classification and Regression by randomForest. *R News*, 2, 18-22.
- Lischer HEL, Excoffier L (2012). PGDSpider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatics*, 28, 298-299.
- Lu ZJ, Wang TR, Zheng SS, Meng HH, Cao JG, Song YG, Kozłowski G (2024). Phylogeography of *Pterocarya hupehensis* reveals the evolutionary patterns of a Cenozoic relict tree around the Sichuan Basin. *Forestry Research*, 4, e008. DOI: 10.48130/forres-0024-0005.
- Luu K, Bazin E, Blum MGB (2017). Pcadapt: an R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources*, 17, 67-77.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003). Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology & Evolution*, 18, 189-197.

- Meinshausen M, Nicholls ZRJ, Lewis J, Gidden MJ, Vogel E, Freund M, Beyerle U, Gessner C, Nauels A, Bauer N, Canadell JG, Daniel JS, John A, Krummel PB, Luderer G, et al. (2020). The shared socio-economic pathway (SSP) greenhouse gas concentrations and their extensions to 2500. *Geoscientific Model Development*, 13, 3571-3605.
- Meng HH, Gao XY, Song YG, Cao GL, Li J (2021). Biodiversity arks in the anthropocene. *Regional Sustainability*, 2, 109-115.
- Naimi B, Hamm NAS, Groen TA, Skidmore AK, Toxopeus AG (2014). Where is positional uncertainty a problem for species distribution modelling? *Ecography*, 37, 191-203.
- Pacifici M, Foden WB, Visconti P, Watson JEM, Butchart SHM, Kovacs KM, Scheffers BR, Hole DG, Martin TG, Akçakaya HR, Corlett RT, Huntley B, Bickford D, Carr JA, Hoffmann AA, et al. (2015). Assessing species vulnerability to climate change. *Nature Climate Change*, 5, 215-224.
- Pettorelli N, Vik JO, Mysterud A, Gaillard JM, Tucker CJ, Stenseth NC (2005). Using the satellite-derived NDVI to assess ecological responses to environmental change. *Trends in Ecology & Evolution*, 20, 503-510.
- Phillips SJ, Anderson RP, Schapire RE (2006). Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190, 231-259.
- Pina-Martins F, Baptista J, Pappas G, Paulo OS (2019). New insights into adaptation and population structure of cork oak using genotyping by sequencing. *Global Change Biology*, 25, 337-350.
- Privé F, Luu K, Vilhjálmsson BJ, Blum MGB (2020). Performing highly efficient genome scans for local adaptation with R package pcadapt version 4. *Molecular Biology and Evolution*, 37, 2153-2154.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, de Bakker PIW, Daly MJ, Sham PC (2007). PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *American Journal of Human Genetics*, 81, 559-575.
- Raymond M, Rousset F (1995). GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *Journal of Heredity*, 86, 248-249.
- Rellstab C, Gugerli F, Eckert AJ, Hancock AM, Holderegger R (2015). A practical guide to environmental association analysis in landscape genomics. *Molecular Ecology*, 24, 4348-4370.
- Rellstab C, Zoller S, Walthert L, Lesur I, Pluess AR, Graf R, Bodénès C, Sperisen C, Kremer A, Gugerli F (2016). Signatures of local adaptation in candidate genes of oaks (*Quercus* spp.) with respect to present and future climatic conditions. *Molecular Ecology*, 25, 5907-5924.
- Root TL, Price JT, Hall KR, Schneider SH, Rosenzweig C, Alan Pounds J (2003). Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, 421, 57-60.
- Rousset F (2008). Genepop'007: a complete re-implementation of the genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, 8, 103-106.
- Sang YP, Long ZQ, Dan XM, Feng JJ, Shi TT, Jia CF, Zhang XX, Lai Q, Yang GL, Zhang HY, Xu XT, Liu HH, Jiang YZ, Ingvarsson PK, Liu JQ, Mao KS, Wang J (2022). Genomic insights into local adaptation and future climate-induced vulnerability of a keystone forest tree in East Asia. *Nature Communications*, 13, 6541. DOI: 10.1038/s41467-022-34206-8.
- Savolainen O, Pyhäjärvi T, Knürr T (2007). Gene flow and local adaptation in trees. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 38, 595-619.
- Scheffers BR, De Meester L, Bridge TCL, Hoffmann AA, Pandolfi JM, Corlett RT, Butchart SHM, Pearce-Kelly P, Kovacs KM, Dudgeon D, Pacifici M, Rondinini C, Foden WB, Martin TG, Mora C, et al. (2016). The broad footprint of climate change from genes to biomes to people. *Science*, 354, aaf7671. DOI: 10.1126/science.aaf7671.
- Smith SJ, Ellis N, Pitcher CR (2011). Conditional variable importance in R package extendedForest. [2024-06-06]. <https://gradientforest.r-forge.r-project.org/Conditional-importance.pdf>.
- Sork VL, Waits L (2010). Contributions of landscape genetics-approaches, insights, and future potential. *Molecular Ecology*, 19, 3489-3495.
- Storfer A, Murphy MA, Evans JS, Goldberg CS, Robinson S, Spear SF, Dezzani R, Delmelle E, Vierling L, Waits LP (2007). Putting the 'landscape' in landscape genetics. *Heredity*, 98, 128-142.
- Thuiller W, Albert C, Araújo MB, Berry PM, Cabeza M, Guisan A, Hickler T, Midgley GF, Paterson J, Schurr FM, Sykes MT, Zimmermann NE (2008). Predicting global change impacts on plant species' distributions: future challenges. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 9, 137-152.
- Urban MC (2015). Accelerating extinction risk from climate change. *Science*, 348, 571-573.
- van Strien MJ, Holderegger R, Van Heck HJ (2015). Isolation-by-distance in landscapes: considerations for landscape genetics. *Heredity*, 114, 27-37.
- Wahid A, Gelani S, Ashraf M, Foolad MR (2007). Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61, 199-223.
- Wang IJ, Bradburd GS (2014). Isolation by environment. *Molecular Ecology*, 23, 5649-5662.
- Wang TR, Feng L, Du F (2021). New approaches for ecological adaptation study: from population genetics to landscape genomics. *Scientia Sinica (Vitae)*, 51, 167-178. [王天瑞, 冯力, 杜芳 (2021). 生态适应研究新方法: 从种群遗传学到景观基因组学. *中国科学: 生命科学*, 51, 167-178.

- Wang TR, Meng HH, Wang N, Zheng SS, Jiang Y, Lin DQ, Song YG, Kozłowski G (2023). Adaptive divergence and genetic vulnerability of relict species under climate change: a case study of *Pterocarya macroptera*. *Annals of Botany*, 132, 241-254.
- Wang TR, Qiu YX (2024). Application and prospects of landscape genomics in conservation biology. *Plant Science Journal*, 41, 741-750. [王天瑞, 邱英雄 (2024). 景观基因组学方法在保护生物学研究中的应用与前景. 植物科学学报, 41, 741-750.]
- Yin QY, Fan Q, Li P, Truong D, Zhao WY, Zhou RC, Chen SF, Liao WB (2021). *Neogene* and Quaternary climate changes shaped the lineage differentiation and demographic history of *Fokienia hodginsii* (Cupressaceae s.l.), a Tertiary relict in East Asia. *Journal of Systematics and Evolution*, 59, 1081-1099.
- Zhang WP, Cao L, Lin XR, Ding YM, Liang Y, Zhang DY, Pang EL, Renner SS, Bai WN (2022). Dead-end hybridization in walnut trees revealed by large-scale genomic sequence data. *Molecular Biology and Evolution*, 39, msab308. DOI: 10.1093/molbev/msab308.
- 责任编辑: 陈伟乐 责任编辑: 李 敏