

鹅掌楸贵州烂木山居群的微卫星遗传多样性及空间遗传结构

杨爱红^{1,2} 张金菊³ 田 华¹ 姚小洪^{1*} 黄宏文¹

1 (中国科学院武汉植物园种质创新与特色农业重点实验室, 武汉 430074)

2 (中国科学院大学, 北京 100049)

3 (武汉大学生命科学院, 武汉 430070)

摘要: 濒危植物鹅掌楸(*Liriodendron chinense*)目前仅零散分布于我国亚热带及越南北部地区, 残存居群生境片段化较为严重。研究濒危植物片段化居群的遗传多样性及小尺度空间遗传结构(spatial genetic structure)有助于了解物种的生态进化过程以及制定相关的保育策略。本研究采用13对微卫星引物, 对鹅掌楸的1个片段化居群进行了遗传多样性及空间遗传结构的研究, 旨在揭示生境片段化条件下鹅掌楸的遗传多样性及基因流状况。研究结果表明: 鹅掌楸烂木山居群内不同生境斑块及不同年龄阶段植株的遗传多样性水平差异不显著($P>0.05$), 居群内存在寨内和山林2个遗传分化明显的亚居群。烂木山居群个体在200 m以内呈现显著的空间遗传结构, 而2个亚居群内的个体仅在20 m的距离范围内存在微弱或不显著的空间遗传结构。鹅掌楸的空间遗传结构强度较低($Sp = 0.0090$), 且寨内亚居群的空间遗传结构强度($Sp = 0.0067$)要高于山林亚居群($Sp = 0.0053$)。鹅掌楸以异交为主, 种子较轻且具翅, 借助风力传播, 在一定程度上降低了空间遗传结构的强度。此外, 居群内个体密度及生境特征也对鹅掌楸的空间遗传结构产生了一定影响。该居群出现显著的杂合子缺失, 近交系数(F_{IS})为0.099 ($P < 0.01$), 表明生境片段化的遗传效应正逐渐显现。因此, 对鹅掌楸的就地保护应注意维护与强化生境的连续性, 促进基因交流。迁地保护时, 取样距离应不小于20 m, 以涵盖足够多的遗传变异。

关键词: *Liriodendron chinense*, 生境片段化, 遗传多样性, 空间遗传结构, 濒危物种

Microsatellite genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure within a natural stand of *Liriodendron chinense* (Magnoliaceae) in Lan-mushan, Duyun City, Guizhou Province

Aihong Yang^{1,2}, Jinju Zhang³, Hua Tian¹, Xiaohong Yao^{1*}, Hongwen Huang¹

1 Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Specialty Agriculture, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074

2 University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

3 College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430070

Abstract: The Chinese tulip tree (*Liriodendron chinense*), an endangered species scattered throughout subtropical China and northern Vietnam, suffers from severe habitat fragmentation. Understanding the genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure (SGS) of fragmented populations is critical for developing successful conservation strategies for endangered species. In this study, we investigated the population genetic diversity and fine-scale spatial genetic structure in a wild, fragmented population of *L. chinense* using 13 polymorphic microsatellite loci. No significant differences in genetic diversity were found among habitat fragments or age classes ($P > 0.05$). Two genetically heterogeneous subpopulations were revealed through Bayesian assignment analysis and Principal Coordinates Analysis (PCoA). Significant SGS was found within the whole population within 200 m, while weak spatial aggregation of related individuals in the two sub-

收稿日期: 2014-01-14; 接受日期: 2014-04-25

基金项目: 国家自然科学基金(31270384)和中国科学院优秀青年科技专项(KSCX2-EW-Q-16)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: yaox@wbcas.cn

populations was found within 20 m. SGS intensity was weak in this population ($Sp = 0.0090$), and it was stronger in the village subpopulation ($Sp = 0.0067$) than in the hill subpopulation ($Sp = 0.0053$). *Liriodendron chinense* is a predominantly outcrossing tree and its winged seeds are wind-dispersed, a fact that may reduce SGS intensity in the species. Furthermore, low population density and flat hypsography also likely influence the SGS of *L. chinense*. The presence of significant heterozygote deficiency in the population ($F_{IS} = 0.099$, $P < 0.01$) suggests a genetic signal of habitat fragmentation. Therefore, measures for promoting pollen flow should be taken for *in situ* conservation. For *ex situ* conservation, individuals should be sampled at 20 m apart to efficiently capture genetic diversity of wild populations.

Key words: *Liriodendron chinense*, habitat fragmentation, genetic diversity, spatial genetic structure, endangered species

居群内个体的基因型在空间上的非随机分布被定义为居群的空间遗传结构(spatial genetic structure, SGS) (Epperson, 1995)。研究居群的空间遗传结构及其影响因素, 有助于理解遗传多样性的空间分布模式及居群的维持机制, 为研究物种的生态及适应性进化机制奠定基础(Epperson, 1992, 1993; Escudero *et al.*, 2003)。居群的空间遗传结构通常是多种因素共同作用的结果, 例如历史气候变化、地势条件、居群大小、生境异质性以及基因流等(如 Jones *et al.*, 2006; Born *et al.*, 2008; Bizoux *et al.*, 2009)。而在小格局空间尺度上, 有限的基因流及随机遗传漂变导致的地理距离隔离(“isolation-by-distance” process) (Wright, 1943)是形成空间遗传结构的最主要原因(Sokal & Wartenberg, 1983; Epperson, 1995; Vekemans & Hardy, 2004)。

生境片段化已成为威胁物种生存的重要因素(Young *et al.*, 1996), 即使是拥有较高基因流的物种也不例外(Jump & Penuelas, 2006)。生境片段化不但会导致居群变小、遗传多样性水平降低, 还会阻碍基因交流, 形成更强的空间遗传结构(De-Lucas *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2011)。另外, 片段化导致的近交衰退(Young *et al.*, 1996), 对异交物种的影响尤为显著(Honnay & Jacquemyn, 2007; Aguilar *et al.*, 2008; Heinken & Weber, 2013), 稀有物种更容易受到影响(Heinken & Weber, 2013), 甚至部分广布种也难逃厄运(Jump & Penuelas, 2006; Honnay & Jacquemyn, 2007)。

对濒危植物片段化居群的空间遗传结构的认识有助于了解居群动态及其维持机制, 是制定保护策略与管理方式的理论基础(Escudero *et al.*, 2003)。利用空间自相关的方法得到的空间自相关图可以鉴定生境斑块的直径大小, 即拥有空间结构的最大

地理距离(Diniz-Filho & De Campos Telles, 2002; Krauss & Koch, 2004)。据此来定义遗传管理单元, 可为植物保育及植被恢复制定合理的取样策略(Krauss & Koch, 2004)。目前小格局尺度空间遗传结构的研究已为多种濒危物种的保育提供了一定的理论基础(如 Yao *et al.*, 2011; He *et al.*, 2012; Leite *et al.*, 2013)。

鹅掌楸(*Liriodendron chinense*)隶属于木兰科鹅掌楸属, 是多年生落叶木本植物。该属植物曾广布于北半球, 后来受第三纪末期气候动荡及第四纪冰期的影响, 仅存鹅掌楸和北美鹅掌楸(*L. tulipifera*)两个孑遗种, 呈现典型的东亚-北美间断分布模式(Parks & Wendel, 1990)。北美鹅掌楸广布于美国东部地区, 为植物群落中的先锋树种(Busing, 1995)。在我国, 鹅掌楸零散分布于中亚热带地区(22.6–32.6° N, 103.3–120.3° E), 为群落偶见种(郝日明等, 1995)。鹅掌楸自交不亲和(黄坚钦, 1998)、缺乏蝶类、蜂类等高效的传粉昆虫(黄双全和郭友好, 2000)、柱头上花粉密度较低且不均匀(周坚和樊汝汶, 1999), 因此, 自然居群的种子结籽率低, 天然更新不良, 居群内个体数量较少, 被列为我国二级珍稀濒危保护植物(傅立国和金鉴明, 1992)。

本研究以鹅掌楸的1个片段化居群(烂木山居群)为研究对象, 采用13对微卫星分子标记分析了鹅掌楸小尺度格局的遗传多样性及空间遗传结构, 拟探讨以下几个问题: (1)鹅掌楸烂木山居群遗传多样性水平如何? 遗传结构怎样? (2)居群内不同年龄级及不同斑块间的遗传多样性水平是否存在差异? (3)该居群是否存在显著的空间遗传结构? (4)如果存在, 主要影响因素有哪些? 对上述问题的揭示, 将有助于了解鹅掌楸花粉及种子的散布式样, 以及生境片段化对其遗传多样性及遗传结构的影

响,为鹅掌楸子遗居群的保护和管理提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集

研究样地位于贵州省都匀市螺丝壳水源涵养林自然保护区内的摆忙乡谷平村烂木山寨(26°16' N, 107°21' E)。鹅掌楸分布于寨内以及寨外山林中,垂直分布海拔为1,300–1,500 m。该地区属于亚热带季风湿润气候,年平均气温11℃,最高日均温26℃,最低日均温–0.6℃,全年日照时数900 h,年降水量1,600 mm(数据来源于螺丝壳水源涵养林自然保护区)。本地植被类型为常绿落叶阔叶混交林,鹅掌楸位于乔灌上层,为群落优势树种,伴生种主要为响叶杨(*Populus adenopoda*)、盐肤木(*Rhus chinensis*)、马尾松(*Pinus massoniana*)、贵州鹅耳枥(*Carpinus kweichowensis*)、枫香树(*Liquid mbar formosana*)等(郭治友等, 2008)。我们对居群内所有个体的株高(H)、胸径(DBH)、结实情况等性状进行观察记录并定位,共得到120株个体,分布见图1。野外调查发现,胸径达10.0 cm左右的鹅掌楸植株大多已经开花结实。我们根据鹅掌楸株高及胸径将其划分为4个年龄等级(幼树: $H < 2.0$ m; 小树: $H = 2-5$ m; 壮树: $H > 5$ m, $DBH < 10$ cm, 且无果实; 成年树: $DBH > 10$ cm或观察到有果实)。每棵植株均摘取嫩叶并立即用硅胶干燥,带回实验室4℃保存。

1.2 DNA提取及微卫星标记分析

采用改良的CTAB法提取叶片基因组DNA,并用Rnase A消化除去RNA。用1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计(GENEQUANT, Eppendorf, Germany)检测模板DNA的质量和浓度。从已开发的鹅掌楸微卫星引物中筛选出13对清晰多态引物用于居群内所有个体的PCR扩增,即Lc027, Lc097, Lc120, Lc269 (Yao *et al.*, 2008); LT5, LT37, LT48, LT58, LT65, LT74, LT93, LT134, LT186 (Yang *et al.*, 2012)。PCR反应体系和程序参考Yao等(2008)的文献,扩增反应在美国应用生物系统ABI 9700 PCR仪上进行。获得的PCR产物利用6%变性聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,银染法检测PCR扩增产物,并以25 bp DNA marker (Promega, USA)为参照判断扩增片段碱基长度。

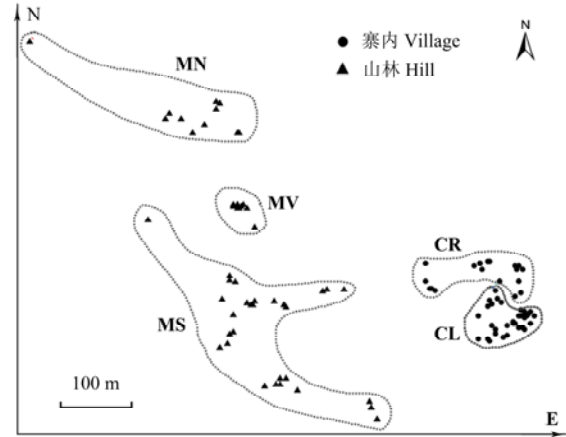


图1 鹅掌楸都匀烂木山居群植株的空间分布图。虚线圈出的区域表示5个不同的生境斑块。CL: 寨内路左侧斑块; CR: 寨内路右侧斑块; MV、MS和MN分别代表寨外的山谷、山谷南北两侧的山坡上的斑块。不同形状分别代表2个不同亚居群的个体: 寨内亚居群个体(●), 山林亚居群个体(▲)。

Fig. 1 Spatial distribution of *Liriodendron chinense* individuals in Lanmushan population in Duyun, Guizhou. The five habitat fragments are circled with dash lines. CL, CR, MN, MS and MV refer to habitat fragments of left side of road in village, right side of road in village, north hill, south hill and hill valley, respectively. Different shapes represent two subpopulations, i.e. village subpopulation (●) and hill subpopulation (▲).

1.3 数据分析

1.3.1 居群遗传多样性水平

首先采用FSTAT软件(Goudet, 2001)对所有位点进行连锁不平衡检验(linkage disequilibrium, LD),去除高度连锁的位点。此外,利用GenALEx 6.5 (Peakall & Smouse, 2006, 2012)及FSTAT软件计算以下居群遗传多样性参数: 每个位点的平均等位基因数(A)及有效等位基因数(A_E)、等位基因丰富度(A_R)、观察杂合度(H_O)、预期杂合度(H_E)以及固定指数(F_{IS})。根据鹅掌楸烂木山居群个体的地理分布状况,分为5个生境斑块(图1)。寨内路左侧(CL)和寨内路右侧(CR)这两个寨内斑块分别位于寨内村路的左右两侧,另外3个寨外斑块分别位于寨外的山谷(MV)及山谷南北两侧的山坡上(MS和MN)。计算并比较不同生境斑块的遗传多样性水平。根据划分的4个年龄层,计算并比较不同年龄层遗传多样性水平及近交系数,推测鹅掌楸遗传多样性的变化。

1.3.2 居群遗传结构

利用Arelquin软件(Excoffier *et al.*, 2005)计算居群内及两两生境斑块间遗传分化系数(F_{ST} 和 R_{ST}),

并进行分子方差分析(AMOVA),以估算烂木山居群内鹅掌楸遗传变异的分布情况。运用STRUCTURE软件的贝叶斯方法根据每个个体的遗传背景进行分组,这一方法可以有效鉴定居群内部隐蔽的亚居群结构(Pritchard *et al.*, 2000)。选用不考虑个体居群来源的混合祖先模型,设置分组数目 $K = 1-10$,每个 K 值运行10次,使用马尔可夫链(Markov's chain Monte Carlo, MCMC)的统计方法,设置burn-in 50,000次,run-length 100,000次迭代,每次计算获得一个可能性的对数值 $L(K)$ 。利用Structure Harvester软件(Earl & vonHoldt, 2011)选取最优 K 值,并运用Distruct 1.1 软件(Rosenberg, 2004)作图。另外我们通过GenAlEx 6.5软件,基于两两个体间遗传距离进行所有个体的主坐标分析(Principal Coordinate Analysis, PCoA),这一分析不基于Hardy-Weinberg平衡原理,可以清晰地显示个体间的相互关系。

1.3.3 空间自相关分析

根据居群内植株的数量和分布,将全部个体划分了25、80、110、150、200、250、300、340、380、420、460、545和900 m共13个距离等级,以尽量保证等距离梯度以及各距离等级内样本对数目一致。我们采用了两种均不基于Hardy-Weinberg平衡的统计方法进行居群空间自相关分析。首先我们利用GenAlEx软件计算不同距离等级下的多位点相关系数 r (Smouse & Peakall, 1999)。这一系数类似于Moran's I , 数值介于-1到1之间,其值为0时表示不存在空间自相关。通过1,000次的随机置换(permutations)计算无效假设(不存在空间遗传结构)的95%置信区间。同样,相关系数 r 的95%的置信区间也通过1,000次重取样(bootstrapping)获得;如果95%的置信区间包含0,则不能拒绝无效假设。另外我们还通过SPAGeDi软件(Hardy & Vekemans, 2002)计算两两个体基于多位点亲缘关系的Nason's值(F_{ij})(Loiselle *et al.*, 1995)及10,000次置换检验下95%的置信区间。计算各距离等级内平均 F_{ij} 值对个体间地理距离自然对数 $\ln(r_{ij})$ 的回归斜率 b_F ,并通过10,000次置换验证个体基因型是否显著性偏离随机空间分布。利用 Sp 统计值[$Sp = b_F/(F_{(1)}-1)$] (Vekemans & Hardy, 2004)检测物种空间遗传结构的强度。其中 $F_{(1)}$ 代表第一距离等级内平均亲缘关系系数 F_{ij} 。这一统计值不依赖于空间尺度及取样策略,不受亲

缘系数计算方法的影响,有利于种内不同居群及种间空间遗传结构强度的比较(Hardy & Vekemans, 2002; Vekemans & Hardy, 2004)。利用不同距离等级下的空间自相关系数(r)和亲缘关系系数(F_{ij})分别构建空间自相关分析图。

2 结果

2.1 居群内遗传多样性水平

13个微卫星位点在鹅掌楸烂木山居群120个个体中共检测到52个等位基因,每个位点的等位基因数为2-6个。两两位点间不存在连锁不平衡现象,因此我们保留所有位点进行后续分析。居群的平均观察杂合度(H_O)为0.508,预期杂合度(H_E)为0.563,等位基因丰富度(A_R)为4.000。不同年龄层植株等位基因丰富度及杂合度等遗传多样性参数无明显差异($P > 0.05$) (表1),各年龄层均存在一定程度的近交($F_{IS} = 0.075-0.116$)。各生境斑块间的遗传多样性水平差异也不显著($P > 0.05$)。除寨外的MN斑块外,另外4个斑块内均存在一定程度的近交,但经多重比较校正后斑块间 F_{IS} 差异均不显著($P > 0.05$)。此外,在烂木山居群内存在显著近交($F_{IS} = 0.099$; $P < 0.01$)。

2.2 居群遗传结构

AMOVA分析表明,绝大多数的遗传变异主要存在于斑块内部(94%),居群内遗传分化显著($P < 0.001$),分化系数 $F_{ST} = 0.087$ 。寨内两斑块(CR和CL)间以及寨外山林3个斑块(MS, MN, MV)间遗传分化很小($F_{ST} = 0-0.011$, 表2),且不显著;而寨内斑块与寨外山林斑块之间的遗传分化显著,且分化系数较大($F_{ST} = 0.056-0.102$; $R_{ST} = 0.028-0.072$; $P < 0.05$; 表2)。

STRUCTURE分配分析表明,当 $K = 6$ 时, $L(K)$ 得到最大值(图2a);而当 $K = 2$ 时, ΔK 取得最大值(图2b)。两种不同的分组策略得到类似的结果(图2c):当将所有个体分为两组时,分配到第1组内的个体主要来源于寨内CR和CL斑块,而寨外山林斑块(MS、MN、MV)个体主要分配到第2组内;若分为6组,寨内斑块个体倾向于被分配到第1、第2和第3组,而寨外山林斑块内的个体主要分配到第4和第6组内,第5组则包含了来自寨内斑块及寨外山林斑块的部分个体。

基于两两个体间遗传距离的PCoA分析也得到类似的遗传结构(图3)。前两个极轴坐标分别解释了

表1 鹅掌楸烂木山居群4个年龄层及5个生境斑块的微卫星遗传多样性
Table 1 Summary of genetic diversity and fixation indices for four age-classes and five habitat fragments of *Liriodendron chinense* in Lanmushan population

遗传参数	<i>N</i>	<i>A</i>	<i>A_E</i>	<i>A_R</i>	<i>H_O</i>	<i>H_E</i>	<i>F_{IS}</i>
年龄层 Age class							
幼树 Seedling	19	3.462	2.492	3.462	0.526	0.582	0.097
小树 Sapling	33	3.462	2.428	3.372	0.491	0.554	0.116
壮树 Adolescent	29	3.615	2.469	3.520	0.502	0.564	0.111
成年树 Adult	39	3.308	2.478	3.273	0.517	0.558	0.075
生境斑块 Habitat fragments							
CL	37	3.538	2.559	3.248	0.529	0.590	0.104
CR	26	3.385	2.462	3.255	0.497	0.549	0.097
MN	11	2.462	1.963	2.462	0.483	0.469	-0.0031
MS	35	3.308	2.067	2.788	0.484	0.486	0.004
MV	11	2.846	2.302	2.846	0.559	0.564	0.009
物种水平 Species level	120	4.000	2.508	4.000	0.508	0.563	0.099**

N, 样本大小; *A*, 平均每个位点的等位基因数; *A_E*, 平均每个位点的有效等位基因数; *A_R*, 经最小样本校正的等位基因丰富度; *H_O*, 观察杂合度; *H_E*, 预期杂合度; *F_{IS}*, 近交系数; ***P* < 0.01。生境斑块代号同图1。
N, Sample size; *A*, Average number of alleles for each locus; *A_E*, Number of effective alleles per locus; *A_R*, Allelic richness per locus corrected for the minimum group size; *H_O*, Mean observed heterozygosity; *H_E*, Unbiased mean expected heterozygosity; *F_{IS}*, Fixation index; ***P* < 0.01. Codes for habitat fragments correspond to those in Fig. 1.

表2 鹅掌楸烂木山居群各生境斑块间遗传分化系数*F_{ST}*值(下半矩阵)和*R_{ST}*值(上半矩阵)。斑块代号同图1。
Table 2 Pairwise genetic differentiation *F_{ST}* (below diagonal) and *R_{ST}* (above diagonal) for habitat fragments of *Liriodendron chinense* population in Lanmushan. Fragment codes see Fig. 1.

	CL	CR	MN	MS	MV
CL	—	0.007	0.050*	0.028*	0.048*
CR	0.007	—	0.057*	0.042*	0.072*
MN	0.096*	0.102*	—	0	0
MS	0.085*	0.096*	0	—	0
MV	0.056*	0.069*	0	0.011	—

* *P* < 0.05 based on 1,023 permutations

整体遗传变异的13.58%与9.43%。从图中可以清晰地观察到, 位于寨内的CR和CL两斑块的个体倾向于聚为一组, 而位于寨外3个斑块的个体则聚在另外一组。进一步支持烂木山居群内存在2个地理上相互隔离的遗传异质性亚居群, 1个是包含寨内CR和CL两斑块的寨内亚居群, 另1个是山林亚居群。

2.3 小格局空间遗传结构

无论采用哪种亲缘关系的统计值, 整个居群在200 m范围内均呈现显著的空间遗传结构(图4)。第一距离等级内多位点亲缘关系系数*F₍₁₎*为0.0532, 亲缘关系系数对地理距离自然对数的斜率*b_F*为-0.0085, 显著偏离随机模式(*P* = 0.0027)。据此计算的空间遗传结构强度*S_p*为0.0090(表3)。鉴于亚居群内个体分布及地理距离的差异, 我们另外划分了10个距离等级(图4)。在20 m的范围内, 两亚居群的空

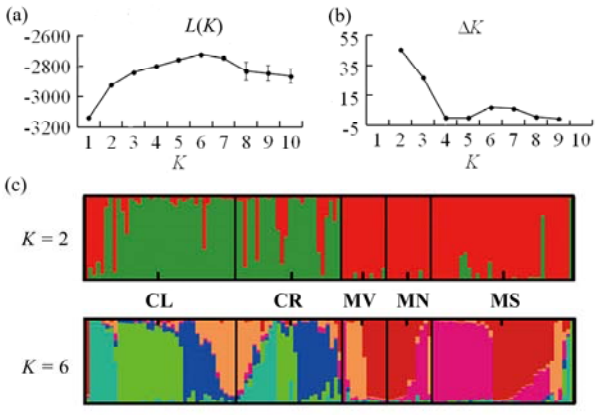


图2 基于13对SSR引物的鹅掌楸烂木山居群STRUCTURE分析。(a)、(b)分别表示特定*K*值对应的概率对数值*L(K)*和统计量Δ*K*; (c)各生境斑块内所有个体分配情况。生境斑块代号同图1。

Fig. 2 Results of STRUCTURE analysis based on all the individuals in Lanmushan population using 13 polymorphic microsatellite loci. (a) Plotted the mean likelihood *L(K)*; (b) Δ*K* value; and (c) Assignments proportion of each individual from all the five habitat fragments. Codes for habitat fragments correspond to those in Fig. 1.

间自相关系数*r*和亲缘关系系数*F_{ij}*均显著大于0 (*P* < 0.05, 图4), 说明此距离范围内鹅掌楸个体比随机条件下具有更近的亲缘关系。在基于Smouse和Peakall (1999)的空间自相关检验中, 两亚居群均在20 m范围内呈现显著空间遗传结构(寨内: *P*_(*r*<permuted *r*) =

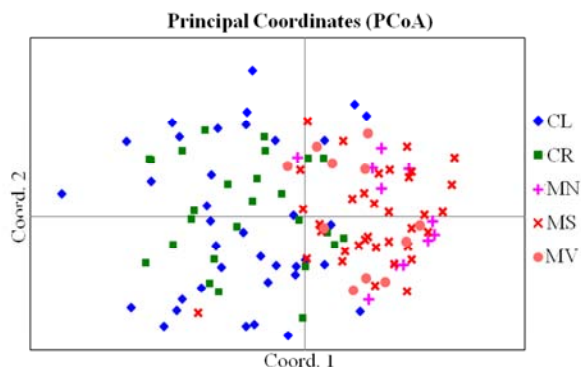


图3 鹅掌楸烂木山居群5个生境斑块120个个体基于13对SSR引物的遗传距离的主坐标分析(PCoA)。前2个极轴坐标(coordiante)分别解释了烂木山居群整体遗传变异的13.58%和9.43%。生境斑块代号同图1。

Fig. 3 Principal coordinate plot of genetic distance for the analyzed 120 individuals from five habitat fragments based on 13 SSR markers. The first two principal coordinates account for 13.58% and 9.43% of total genetic variation, respectively. Codes for habitat fragments correspond to those in Fig. 1.

表3 鹅掌楸烂木山居群空间遗传结构

Table 3 Spatial genetic structure statistics for *Liriodendron chinense* population in Lanmushan

组别 Group	N	$P_{(r < \text{permuted } r)}$	$F_{(1)}$	b_F	Sp
整体 Whole population	120	0.001	0.0532	-0.0085*	0.0090
寨内 Village subpopulation	63	0.001	0.0151	-0.0066	0.0067
山林 Hill subpopulation	57	0.013	0.0147	-0.0052	0.0053

N: 样本大小; $P_{(r < \text{permuted } r)}$: 基于Smouse和Peakall (1999)空间自相关显著性检验的概率值; $F_{(1)}$: 第一距离等级内平均亲缘关系系数; b_F : 斜率; Sp : 在200 m距离内空间遗传结构强度 Sp 的统计值; * $P < 0.05$ 。
N, Sample size; $P_{(r < \text{permuted } r)}$: The significant test of random genetic distribution based on Smouse & Peakall (1999). $F_{(1)}$, Average kinship coefficient among individuals in the first distance class; b_F , Regression slope; Sp , SGS intensity calculated within the 200 m. * $P < 0.05$.

0.001; 山林: $P_{(r < \text{permuted } r)} = 0.013$; 表3), 但基于亲缘关系系数 F_{ij} 的回归斜率 b_F 均不显著($P > 0.05$)。为避免不同距离尺度导致的空间遗传结构强度的差异(Vekemans & Hardy, 2004), 结合两亚居群内个体的分布情况, 我们分别计算了200 m距离等级下两亚居群的 Sp 。结果表明寨内亚居群的空间遗传结构强度($Sp = 0.0067$)高于山林亚居群($Sp = 0.0053$)。

3 讨论

3.1 生境片段化居群的遗传多样性

居群的遗传多样性水平是决定其适应进化潜力的重要因素。生境片段化通常会造成居群遗传多样性的降低(Young *et al.*, 1996; Aguilar *et al.*, 2008)。

鹅掌楸烂木山居群的遗传多样性水平居中(烂木山: $H_E = 0.563$), 各年龄层鹅掌楸遗传多样性水平也相对较高且未见明显差异。然而, 各年龄层相似的遗传多样性水平并不能说明烂木山居群未受生境片段化的影响。对长寿命树木来说, 片段化引起的遗传变化需要较长的时间才能显现(Lowe *et al.*, 2005; Kramer *et al.*, 2008), 因此部分片段化居群目前仍具有较高的遗传多样性(如Yao *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2011)。然而片段化带来的影响并不全是负面的, 增加的花粉流可能减弱居群空间遗传结构, 促进斑块间的基因交流(White *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2012)。但鹅掌楸缺乏有效的传粉者(黄双全和郭友好, 2000), 花粉的传播距离在35 m左右(孙亚光和李火根, 2008), 似乎难以形成强的花粉流来弥补生境片段化造成的影响。烂木山居群位于鹅掌楸的核心分布区, 受历史气候因素及人类活动的影响相对较小, 但随着片段化时间的增长, 对居群遗传多样性的影响可能越来越大(Aguilar *et al.*, 2008)。生境片段化造成的近交衰退往往比遗传多样性的降低更早表现出来(Lowe *et al.*, 2005)。本研究中鹅掌楸烂木山居群内存在明显的近交现象, 表明了生境片段化的负面遗传效应已经呈现。郭治友等(2008)对此地区鹅掌楸居群群落特征的调查已表明此处鹅掌楸群落属于衰退型, 这在一定程度上印证了生境片段化的负面效应。

根据遗传组分的不同对样本进行有效分组是居群遗传学研究的基础(Pritchard *et al.*, 2000; Guillot *et al.*, 2005)。在对此居群内个体遗传组分的分析中, 不管是基于贝叶斯的分配分析, 还是基于两两个体间亲缘关系的主坐标分析, 或是参考5个不同生境斑块间的遗传分化情况, 均支持此居群并非遗传组分均匀的单一居群, 而是存在2个遗传组分异质的亚居群。鉴于两亚居群间相对较小的遗传分化($F_{ST} = 0.087$; 鹅掌楸所有居群间 $F_{ST} = 0.308$, 杨爱红等, 未发表资料), 以及地理位置和生境特征, 我们推测亚居群可能是由生境的彼此隔离以及微环境的选择进化造成的(Linhart & Grant, 1996)。道路、河流、山谷等景观屏障往往会引起基因流阻断引发生境片段化(Manel *et al.*, 2003)。例如, 平均宽度不足6 m的长城, 对其两侧物种的基因流具有明显的阻碍作用(Su *et al.*, 2003)。在本研究中, 鹅掌楸烂木山两亚居群之间存在一定的地理距离(200 m

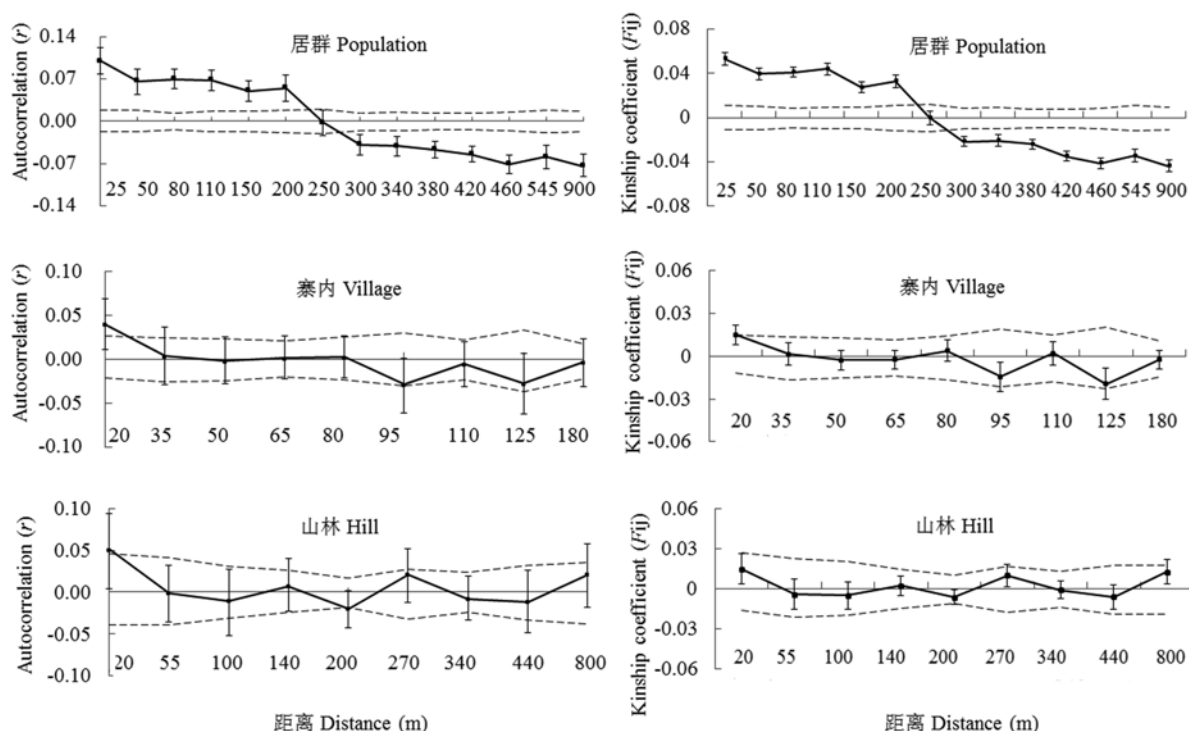


图4 鹅掌楸烂木山居群及寨内、山林亚居群的空间自相关图。横坐标表示不同距离等级, 纵坐标为各个距离等级下空间自相关系数(r) (左侧)和亲缘关系系数 F_{ij} (右侧)。虚线代表无效假设(不存在空间遗传结构) 95%置信区间的上下限。

Fig. 4 Correlogram of coefficients for the population Lanmushan, village subpopulation and hill subpopulation. Autocorrelation coefficient (r) (left) and average kinship coefficients F_{ij} (right) between pairs of individuals plotted as the classified geographical distance. Dashed lines represent 95% confidence intervals under the null hypothesis that genotypes are randomly distributed, and error bars delineate standard errors from Jackknife estimates.

左右), 中间有农田及村舍房屋间隔, 很可能阻碍了两者之间的基因交流, 进一步导致烂木山居群的隔离和片段化, 促进了不同亚居群的形成。

3.2 小尺度空间遗传结构和基因流

对烂木山居群进行空间遗传结构分析发现, 随着距离的增加, 个体间亲缘系数逐渐递减, 居群内存在明显的斑块(Krauss & Koch, 2004)。空间自相关图揭示斑块直径220 m左右。两亚居群个体间地理距离基本保持在200 m以外, 且寨内亚居群所有个体聚集在200 m范围内(最大为187 m)。推测亚居群的遗传分化可能是这一距离尺度内出现显著空间遗传结构的原因, 导致此居群形成了与其内部亚居群不同的空间遗传结构模式(图4)。可见, 居群内个体组分的遗传异质性会引起小格局空间遗传结构的改变。

烂木山居群第一距离等级内亲缘系数($F_{(1)}$)远大于两亚居群的 $F_{(1)}$ (表3), 且空间遗传结构的强度

Sp 也偏高(烂木山居群: $Sp = 0.0090$; 山林亚居群: $Sp = 0.0053$; 寨内亚居群: $Sp = 0.0067$)。Born等(2008)对橄榄科奥古曼木(*Aucoumea klaineana*)的研究也发现, 遗传组分异质化的居群其空间遗传结构强度 Sp 虽未明显降低, 但各亚居群的空间遗传结构强度比整个居群低。居群空间遗传结构是其花粉和种子散播模式及生境共同作用的结果, 其中种子的传播模式起决定性的作用(Hardy *et al.* 2006; Wang *et al.*, 2011)。一般而言, 异交且能远距离传播种子的木本植物, 其空间遗传结构强度较低(Vekemans & Hardy, 2004)。鹅掌楸的空间遗传结构强度与显著异交靠风力传播种子的高大乔木持平(0.0020–0.0108; Vekemans & Hardy, 2004), 呈现微弱的空间遗传结构。具有同鹅掌楸类似种子形态的龙脑香科娑罗树(*Shorea robusta*)也呈现微弱的空间遗传结构(Pandey & Geburek, 2011), 而以虫媒传粉为主且种子具翅的乔木欧亚槭(*Acer pseudoplatana*)

nus)的 Sp 介于0.011–0.023之间(Pandey *et al.*, 2012), 明显高于鹅掌楸。这是因为鹅掌楸处于林冠上层, 种子带翼翅, 较易随风飘散, 而且Nathan等(2002)发现其姊妹种北美鹅掌楸的种子能随风进行长距离扩散, 一定程度上降低了鹅掌楸属植物的居群空间遗传结构的强度。

虽然两亚居群的空间遗传结构差异不显著且强度较弱, 但寨内亚居群的空间遗传结构强度稍强(Sp : 0.0067 vs 0.0053)。两亚居群的地理特征及居群密度差异导致的花粉和种子传播距离的不同, 可能是造成两亚居群空间遗传结构强度差异的主要原因。低密度居群有利于虫媒传粉植物花粉的长距离传播(Levin & Kerster, 1969; White *et al.*, 2002)。对于靠风力传播种子的植物来说, 空旷的地带有利于种子的长距离扩散(Nathan *et al.*, 2002; Nathan & Katul, 2005); 而植株密度越大, 种子的扩散距离越短(Greene & Johnson, 1989), 其空间遗传结构也越强(Hardy *et al.*, 2006; Pandey *et al.*, 2012)。鹅掌楸烂木山寨内亚居群处于平坦地带且居群密度较高, 不利于花粉和种子的长距离传播; 而寨外山林中鹅掌楸的密度相对较小, 且主要分布在山谷及两侧的山坡上, 特殊地形导致的坡度及地形风(如山谷风和峡谷风)也有利于鹅掌楸的种子飘落至更远区域, 在一定程度上减弱了其空间遗传结构的强度。

两亚居群的空间自相关分析均表明, 在20 m距离范围内鹅掌楸个体亲缘关系系数显著为正值。空间自相关图也显示: 在地理距离20 m处, 个体间的正相关关系趋向于不显著, 因此20 m可以定义为鹅掌楸最小遗传斑块直径及管理单元。由于两亚居群内个体数目相对较少(分别为57和63), 在揭示亚居群内部空间遗传结构时略失精准(Cavers *et al.*, 2005; Born *et al.*, 2008), 因此后续的研究需要加大样本量。鉴于本研究样本量偏少, 我们未对不同年龄层个体的空间遗传结构进行分析。研究小尺度格局不同年龄层物种的遗传结构有助于理解居群动态扩张过程及自然选择的方向(Kalisz *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2006)。因此这将成为我们以后的研究重点, 并拟通过进一步的亲本分析, 探究基因流的扩散模式, 这对于理解该物种的分布及进化过程具有重要的意义(Slatkin, 1987)。

3.3 保护生物学意义

基于大量的野外调查和本研究结果, 生境片断

化已成为鹅掌楸濒危的一个重要原因。虽然鹅掌楸的遗传多样性水平未呈现显著降低的趋势, 但生境片断化导致不同斑块产生遗传分化、造成近交、形成亚居群结构, 从而进一步阻碍居群内部基因交流的现象, 在烂木山居群内得以体现。

人类活动以及对土地的利用是导致生物多样性丧失的首要原因(Sala *et al.*, 2000)。在烂木山寨, 鹅掌楸常被用作木材和薪柴(郭治友, 2003), 我们在寨内树林中观察到被砍伐后的粗壮树桩上萌生的许多小树苗。Tang等(2013)指出, 目前除了人迹罕至的野生林, 鹅掌楸野生资源还通过另外两种形式存在: 一是村寨外受到人类一定干扰的树林, 另一种则是在村寨内被当作风水树保护起来。烂木山寨就是这两种形式并存。当地有3棵胸径可达86 cm的古树以坟山树的形式被保存下来。因此加强当地人的保护意识无疑是保护鹅掌楸的一个重要手段。另外, 鉴于鹅掌楸居群内不同斑块间的遗传异质性和基因流障碍, 就地保护应该注意打通生境廊道, 促进不同斑块之间的基因交流。基于本研究空间自相关分析的结果, 在异地保护过程中, 不但要注意不同生境种质资源的收集, 而且个体间距尽量在20 m以外, 以保持更多的遗传多样性。

致谢 感谢黔南民族师范学院郭治友教授在鹅掌楸烂木山居群的调查及采样中给予的大力帮助。

参考文献

- Aguilar R, Quesada M, Ashworth L, Herrerias-Diego Y, Lobo J (2008) Genetic consequences of habitat fragmentation in plant populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches. *Molecular Ecology*, **17**, 5177–5188.
- Bizoux JP, Dainou K, Bourland N, Hardy OJ, Heuertz M, Mahy G, Doucet JL (2009) Spatial genetic structure in *Milicia excelsa* (Moraceae) indicates extensive gene dispersal in a low-density wind-pollinated tropical tree. *Molecular Ecology*, **18**, 4398–4408.
- Born C, Hardy OJ, Chevallier MH, Ossari S, Attéké C, Wickings EJ, Hossaert-Mckey M (2008) Small-scale spatial genetic structure in the Central African rainforest tree species *Aucoumea klaineana*: a stepwise approach to infer the impact of limited gene dispersal, population history and habitat fragmentation. *Molecular Ecology*, **17**, 2041–2050.
- Busing RT (1995) Disturbance and the population dynamics of *Liriodendron tulipifera*. *Journal of Ecology*, **83**, 45–53.
- Cavers S, Degen B, Caron H, Lemes MR, Margis R, Salgueiro F, Lowe AJ (2005) Optimal sampling strategy for estimation of spatial genetic structure in tree populations. *Heredity*, **95**,

- 281–289.
- De-Lucas AI, Gonzalez-Martinez SC, Vendramin GG, Hidalgo E, Heuertz M (2009) Spatial genetic structure in continuous and fragmented populations of *Pinus pinaster* Aiton. *Molecular Ecology*, **18**, 4564–4576.
- Diniz-Filho JAF, De Campos Telles MP (2002) Spatial autocorrelation analysis and the identification of operational units for conservation in continuous populations. *Conservation Biology*, **16**, 924–935.
- Earl DA, vonHoldt BM (2011) STRUCTURE HARVESTER: a website and program for visualizing STRUCTURE output and implementing the Evanno method. *Conservation Genetics Resources*, **4**, 359–361.
- Epperson BK (1992) Spatial structure of genetic variation within populations of forest trees. *New Forests*, **6**, 257–278.
- Epperson BK (1993) Recent advances in correlation studies of spatial patterns of genetic variation. In: *Evolutionary Biology* (eds Hecht M, MacIntyre R, Clegg M), pp. 95–155. Plenum Press, New York.
- Epperson BK (1995) Spatial distributions of genotypes under isolation by distance. *Genetics*, **140**, 1431–1440.
- Escudero A, Iriando JM, Torres ME (2003) Spatial analysis of genetic diversity as a tool for plant conservation. *Biological Conservation*, **113**, 351–365.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S (2005) Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics from Online*, **1**, 47–50.
- Fu LK (傅立国), Jin JM (金鉴明) (1992) *The Red Data Book of China's Plants: Rare and Endangered Species*, Vol. 1 (中国植物红皮书: 稀有濒危植物·第一卷). Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Goudet J (2001) *FSTAT, A Program to Estimate and Test Gene Diversities and Fixation Indices (version 2. 9. 3)*. <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>.
- Greene DF, Johnson EA (1989) A model of wind dispersal of winged or plumed seeds. *Ecology*, **70**, 339–347.
- Guillot G, Estoup A, Mortier F, Cosson JF (2005) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics*, **170**, 1261–1280.
- Guo ZY (郭治友) (2003) *Liriodendron chinense* naturally distributes at Luosike forest for conservation of water nature sanctuary in Duyun City, Guizhou Province. *Journal of Qiannan Normal College for Nationalities* (黔南民族师范学院学报), **23**(3), 34–36. (in Chinese with English abstract)
- Guo ZY (郭治友), Xiao GX (肖国学), Zhao H (赵洪), Wu WD (吴卫东) (2008) Research on population ecology of *Liriodendron chinense* in Luosike Mountain in Duyun City. *Journal of Anhui Agriculture Science* (安徽农业科学), **36**, 9970–9972. (in Chinese with English abstract)
- Hao RM (郝日明), He SA (贺善安), Tang SJ (汤诗杰), Wu SP (伍寿彭) (1995) Geographical distribution of *Liriodendron chinense* in China and its significance. *Journal of Plant Resources and Environment* (植物资源与环境), **4**, 1–6. (in Chinese with English abstract)
- Hardy OJ, Maggia L, Bandou E, Breyne P, Caron H, Chevallier MH, Doligez A, Dutech C, Kremer A, Latouche-Hallé C, Troispoux V, Veron V, Degen B (2006) Fine-scale genetic structure and gene dispersal inferences in 10 Neotropical tree species. *Molecular Ecology*, **15**, 559–571.
- Hardy OJ, Vekemans X (2002) SPAGeDi: a versatile computer program to analyse spatial genetic structure at the individual or population levels. *Molecular Ecology Notes*, **2**, 618–620.
- He R, Wang J, Huang H (2012) Long-distance gene dispersal inferred from spatial genetic structure in *Handeliidendron bodinieri*, an endangered tree from karst forest in southwest China. *Biochemical Systematics and Ecology*, **44**, 295–302.
- Heinken T, Weber E (2013) Consequences of habitat fragmentation for plant species: Do we know enough? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, **15**, 205–216.
- Honnay O, Jacquemyn H (2007) Susceptibility of common and rare plant species to the genetic consequences of habitat fragmentation. *Conservation Biology*, **21**, 823–831.
- Huang JQ (黄坚钦) (1998) Embryology reasons for lower seed-setting in *Liriodendron chinense*. *Journal of Zhejiang Forestry College* (浙江林学院学报), **15**, 269–273. (in Chinese with English abstract)
- Huang SQ (黄双全), Guo YH (郭友好) (2000) Pollination environment and sex allocation in *Liriodendron chinense*. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), **20**, 49–52. (in Chinese with English abstract)
- Jones FA, Hamrick JL, Peterson CJ, Squiers ER (2006) Inferring colonization history from analyses of spatial genetic structure within populations of *Pinus strobus* and *Quercus rubra*. *Molecular Ecology*, **15**, 851–861.
- Jump AS, Penuelas J (2006) Genetic effects of chronic habitat fragmentation in a wind-pollinated tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **103**, 8096–8100.
- Kalisz S, Nason JD, Hanzawa FM, Tonsor SJ (2001) Spatial population genetic structure in *Trillium grandiflorum*: the roles of dispersal, mating, history, and selection. *Evolution*, **55**, 1560–1568.
- Kramer AT, Ison JL, Ashley MV, Howe HF (2008) The paradox of forest fragmentation genetics. *Conservation Biology*, **22**, 878–885.
- Krauss SL, Koch JM (2004) Rapid genetic delineation of provenance for plant community restoration. *Journal of Applied Ecology*, **41**, 1162–1173.
- Leite FAB, Brandão RL, de Oliveira Buzatti RS, de Lemos-Filho JP, Lovato MB (2013) Fine-scale genetic structure of the threatened rosewood *Dalbergia nigra* from the Atlantic forest: comparing saplings versus adults and small fragment versus continuous forest. *Tree Genetics and Genomes*, **10**, 307–316.
- Levin DA, Kerster H (1969) Density-dependent gene dispersal in *Liatris*. *The American Naturalist*, **103**, 61–74.
- Linhart YB, Grant MC (1996) Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of*

- Ecology and Systematics*, **27**, 237–277.
- Loiselle BA, Sork VL, Nason J, Graham C (1995) Spatial genetic structure of a tropical understory shrub, *Psychotria officinalis* (Rubiaceae). *American Journal of Botany*, **82**, 1420–1425.
- Lowe AJ, Boshier D, Ward M, Bacles CF, Navarro C (2005) Genetic resource impacts of habitat loss and degradation: reconciling empirical evidence and predicted theory for neotropical trees. *Heredity*, **95**, 255–273.
- Manel S, Schwartz MK, Luikart G, Taberlet P (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, **18**, 189–197.
- Nathan R, Katul GG (2005) Foliage shedding in deciduous forests lifts up long-distance seed dispersal by wind. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **102**, 8251–8256.
- Nathan R, Katul GG, Horn HS, Thomas SM, Oren R, Avissar R, Pacala SW, Levin SA (2002) Mechanisms of long-distance dispersal of seeds by wind. *Nature*, **418**, 409–413.
- Pandey M, Gailing O, Hattermer HH, Finkeldey R (2012) Fine-scale spatial genetic structure of sycamore maple (*Acer pseudoplatanus* L.). *European Journal of Forest Research*, **131**, 739–746.
- Pandey M, Geburek T (2011) Fine-scale genetic structure and gene flow in a semi-isolated population of a tropical tree, *Shorea robusta* Gaertn. (Dipterocarpaceae). *Current Science*, **101**, 293–299.
- Parks CR, Wendel JF (1990) Molecular divergence between Asian and North American species of *Liriodendron* (Magnoliaceae) with implications for interpretation of fossil floras. *American Journal of Botany*, **77**, 1243–1256.
- Peakall ROD, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 288–295.
- Peakall ROD, Smouse PE (2012) GenAIE 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, **28**, 2537–2539.
- Pritchard JK, Stephens M, Donnelly P (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, **155**, 945–959.
- Rosenberg NA (2004) DISTRUCT: a program for the graphical display of population structure. *Molecular Ecology Notes*, **4**, 137–138.
- Sala OE, Chapin FS, Armesto JJ, Berlow E, Bloomfield J, Dirzo R, Huber-Sanwald E, Huenneke LF, Jackson RB, Kinzig A (2000) Global biodiversity scenarios for the year 2100. *Science*, **287**, 1770–1774.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, **236**, 787–792.
- Smouse PE, Peakall ROD (1999) Spatial autocorrelation analysis of individual multiallele and multilocus genetic structure. *Heredity*, **82**, 561–573.
- Sokal RR, Wartenberg DE (1983) A test of spatial autocorrelation analysis using an isolation-by-distance model. *Genetics*, **105**, 219–237.
- Su H, Qu LJ, He K, Zhang Z, Wang J, Chen Z, Gu H (2003) The Great Wall of China: a physical barrier to gene flow? *Heredity*, **90**, 212–219.
- Sun YG (孙亚光), Li HG (李火根) (2007) The paternity analysis for open-pollination progenies of *Liriodendron* L. using SSR markers. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **24**, 590–596. (in Chinese with English abstract)
- Tang CQ, Yang Y, Ohsawa M, Momohara A, Mu J, Robertson K (2013) Survival of a Tertiary relict species, *Liriodendron chinense* (Magnoliaceae), in southern China, with special reference to village fengshui forests. *American Journal of Botany*, **100**, 2112–2119.
- Vekemans X, Hardy OJ (2004) New insights from fine-scale spatial genetic structure analyses in plant populations. *Molecular Ecology*, **13**, 921–935.
- Wang R, Compton SG, Chen XY (2011) Fragmentation can increase spatial genetic structure without decreasing pollen-mediated gene flow in a wind-pollinated tree. *Molecular Ecology*, **20**, 4421–4432.
- Wang R, Compton SG, Shi YS, Chen XY (2012) Fragmentation reduces regional-scale spatial genetic structure in a wind-pollinated tree because genetic barriers are removed. *Ecology and Evolution*, **2**, 2250–2261.
- White GM, Boshier DH, Powell W (2002) Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: an example from *Swietenia humilis* Zuccarini. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **99**, 2038–2042.
- Wright S (1943) Isolation by distance. *Genetics*, **28**, 114.
- Yang AH, Zhang JJ, Tian H, Yao XH (2012) Characterization of 39 novel EST-SSR markers for *Liriodendron tulipifera* and cross-species amplification in *L. chinense* (Magnoliaceae). *American Journal of Botany*, **99**, e460–e464.
- Yao X, Ye Q, Kang M, Huang H (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.
- Yao XH, Zhang JJ, Ye QG, Huang HW (2008) Characterization of 14 novel microsatellite loci in the endangered *Liriodendron chinense* (Magnoliaceae) and cross-species amplification in closely related taxa. *Conservation Genetics*, **9**, 483–485.
- Yao XH, Zhang JJ, Ye QG, Huang HW (2011) Fine-scale spatial genetic structure and gene flow in a small, fragmented population of *Sinojackia rehderiana* (Styracaceae), an endangered tree species endemic to China. *Plant Biology*, **13**, 401–410.
- Young A, Boyle T, Brown T (1996) The population genetic consequences of habitat fragmentation for plants. *Trends in Ecology and Evolution*, **11**, 413–418.
- Zhou J (周坚), Fan RW (樊汝汶) (1999) Pollination of *Liriodendron chinense*. *Chinese Bulletin of Botany* (植物学通报), **16**, 75–79. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 邱英雄 责任编辑: 时意专)