西北植物学报,2012,32(10):1983－1989
Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.

文章编号:1000-4025(2012)10-1983-07

南方红豆杉谱系地理学研究

张雪梅[1],李德铢[2],高连明[2]

(1 云南农业大学 农学与生物技术学院,昆明 650201;2 中国科学院昆明植物研究所西南野生生物种质资源库,昆明 650204)

摘　要:通过对南方红豆杉 18 个居群 499 个个体叶绿体基因组的 *trn*L-F 片段进行 RFLP 分析,共检测到 6 个叶绿体 DNA 单倍型,其中除台湾居群外的 17 个居群都包含有单倍型 H1 和 H2;黄山及临安居群除单倍型 H1、H2 外,还分别各有 1 个特有单倍型。谱系关系分析显示,单倍型 H1、H2 为较古老的祖先单倍型。AMOVA 分析显示,变异主要存在于居群内,居群间的遗传分化程度较低(26.39%)。嵌套分支分析(NCA)显示,单倍型分布与地理分布存在轻度的地理相关性,南方红豆杉现在的遗传结构可能源于居群的片段化效应,台湾居群可能是由于曾经的居群片段化而隔离或长距离扩散所致;在第四纪冰期,中国东、南部地区可能存在 2 个以上南方红豆杉的避难所。

关键词:南方红豆杉;谱系地理学;叶绿体 DNA;*trn*L-F

中图分类号:Q789　　**文献标志码**:A

Phylogeographical Study on *Taxus wallichiana* var. *mairei* (Lemée & Léveillé) L. K. Fu & Nan Li

ZHANG Xue-mei[1], LI De-zhu[2], GAO Lian-ming[2]

(1 College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agriculturial University, Kunming 650201, China; 2 Plant Germplasm and Genomics Center, Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: *Taxus wallichiana* var. *mairei* (Lemée & Léveillé) L. K. Fu & Nan Li is a highly endangered conifer, a total of six haplotypes were detected in all 499 individuals of 18 populations, in chloroplast DNA *trn*L-F fragment by PCR-RFLP. H1 and H2 existed in all the populations distributing in mainland of China, but H3 only existed in Huangshan population, and H4 only existed in Lin'an population, with H5 and H6 coexisting in Taiwan population. The phylogeographic analysis suggested the H1 and H2 were the ancestor haplotypes, while the other haplotypes were evolved from them. Some 26.39% of the total variation existed among the populations, while 73.61% in the populations suggested by AMOVA. NCA analysis suggested there was slight correlation between the distribution of cpDNA haplotypes and geography, and the genetic structure of *T. wallichiana* var. *mairei* resulted from the effect of population fragment or the long-distance colonisation. Variation of cpDNA haplotypes suggested several glacial refugiums of *T. wallichiana* var. *mairei* in the east and south of China.

Key words: *Taxus wallichiana* var. *mairei*; phylogeography; chloroplast DNA; *trn*L-F

在最近 1 500 万年内,中国及其邻近的东亚区域经历了海平面降低及气候变干、变冷的巨大气候变化[1-2],特别是经历第四纪冰期冰川的反复消融进退后,中国东、南部地区的动、植物分布及进化受到极大的影响[3-7]。如,海南陆均松在晚第四纪冰期曾在中国北纬 24°有分布[8],而在现代植物分布中,海

* 收稿日期:2012-03-29;修改稿收到日期:2012-09-21
基金项目:科技部自然科技资源平台项目(2004DKA30430 和 2005DKA21006);云南省自然科学基金(2005C0050M);云南农业大学博士启动基金(A2002135)
作者简介:张雪梅(1973－),女,博士,讲师,主要从事植物谱系地理学研究。E-mail:zhangxuemeirj@163.com

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

南陆均松只在北纬20°以南才存在[9]；水杉曾广泛分布于地球上，而现代则仅发现于中国湖北省利川市[10]。研究濒危物种种群的遗传结构和地理分化不仅有助于更加深入地了解种群的形成、分布和扩散途径，而且可以追溯历史事件对种群进化产生的影响，并进而检验该属物种的变迁历史[11]。

能说明问题的孢粉或化石证据往往很难找到，不能明确某个地区的区系来源是否为避难所，谱系地理学为这方面的研究提供了十分有效的工具。目前，主要通过直接检测物种不同居群DNA变异和系谱分析，来探讨该物种曾经发生的种群形成、扩散以及迁移路线，可进一步推测物种当前分布格局形成的原因。叶绿体DNA(cpDNA)非编码区核苷酸序列变异已经常被用于分析植物的种群遗传变异和系统地理学问题，其单亲遗传和进化近中性、速率快的特征非常适合于重建植物种内系统地理格局[12]。

南方红豆杉[*Taxus wallichiana* var. *mairei* (Lemée & Léveillé) L. K. Fu & Nan Li]是喜马拉雅红豆杉(*Taxus wallichiana* Zucc.)复合群中分布范围最广的一个类群，主要分布在中国大陆东、南部，马来西亚、台湾地区也有少量的分布[13]，其分布现已高度片段化，它在第四纪冰期气候变迁和冰期后的居群变化过程，应该比其它植物经历了更为显著的对气候变迁的响应趋势。因此，本研究通过检测南方红豆杉在中国东、南部18个居群499个个体的*trn*L-F片段进行RFLP分析，在每个居群中随机选择每种单倍型的1～2个个体进行序列测定，最后对18个居群的48个个体的*trn*L-F片段进行测序，开展分子谱系地理学研究，以揭示该植物单倍型的地理分布式样、居群遗传结构以及冰期时的避难所及冰期后的迁移路线。

1 材料和方法

1.1 材 料

参试南方红豆杉为2004～2005年采自于中国东、南部及台湾地区的18个居群，力求每个居群采集30个个体，共499个个体。各居群的简称、经纬度、海拔及取样个体数目见表1。采集南方红豆杉新鲜嫩叶并立即用硅胶干燥作为提取DNA分子的材料，并采集凭证标本。

1.2 方 法

1.2.1 DNA提取 总DNA的提取采用改进的CTAB法[14]。总DNA用RNA酶进行消化以除去RNA。用1%琼脂糖及0.5×TEA电泳检测总DNA，用紫外分光光度计测定总DNA在260和280 nm的光密度(OD)值，根据Ausubel等[15]的方

表1 南方红豆杉18个居群材料来源及叶绿体DNA单倍型(H1～H6)的组成和个体数

Table 1 Origin of materials, and composition/number from cpDNA haplotypes (H1～H6) in eighteen populations of *T. wallichiana* var. *mairei*

居群采集地及简称 Population and locality	样本数 Sample size	GPS位置 GPS position	海拔 Altitude/m	单倍型及相应个体数 Haplotype and the corresponding number
湖北利川 Lichuan, Hubei(LCH)	30	N30°01′, E109°5′	1 087～1 098	H1(15); H2(15)
贵州芙蓉坝 Furongba Yinjiang, Guizhou(FRB)	30	N28°00′, E108°41′	790～950	H1(6); H2(24)
贵州雷山 Leishan, Guizhou(LS)	31	N26°14′, E108°13′	820～880	H1(18); H2(13)
广西临桂 Lingui, Guangxi(WT)	25	N25°33′, E110°01′	534～892	H1(7); H2(18)
广西金秀 Jinxiu, Guangxi(GJ)	30	N24°14′, E110°12′	102～1 078	H1(6); H2(24)
广西灌阳 Guanyang, Guangxi(GY)	31	N25°23′, E110°57′	437～761	H1(4); H2(27)
广东连州 Lianzhou, Guangdong(LZ)	32	N25°08′, E112°23′	470	H1(17); H2(15)
江西井冈山 Jinggangshan, Jiangxi(JG)	21	N26°34′, E114°10′	760	H1(17); H2(4)
江西陇南 Longnan, Jiangxi(JX)	31	N24°50′, E114°38′	680～720	H1(7); H2(24)
江西宜黄 Yihuang, Jiangxi(YH)	22	N27°15′, E116°10′	740	H1(5); H2(17)
江西浮梁 Fuliang, Jiangxi(FY)	29	N29°32′, E117°31′	680	H1(11); H2(18)
福建武平 Wuping, Fujian(WP)	30	N25°11′, E116°10′	942～974	H1(7); H2(23)
福建建阳 Jianyang, Fujian(JY)	30	N27°25′, E117°39′	659～685	H1(18); H2(12)
福建福清 Fuqing, Fujian(FQ)	30	N25°46′, E119°04′	535～707	H1(27); H2(3)
安徽黄山 Huangshan, Anhui(HSH)	30	N30°05′, E118°12′	380～1 632	H1(18); H2(6); H3(6)
浙江泰顺 Taishun, Zhejiang(TSH)	30	N27°29′, E119°50′	425～618	H1(24); H2(6)
浙江临安 Lin'an, Zhejiang(LA)	20	N30°19′, E119°30′	323～510	H1(13); H2(5); H4(2)
台湾 Hsinchu, Taiwan(TW)	17	N24°48′, E121°12′	1 810～2 100	H5(8); H6(9)

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

法确定 DNA 浓度和质量。用于 PCR 反应的总 DNA 浓度均稀释为 30 ng/μL。

1.2.2　PCR 扩增　采用叶绿体 DNA 通用引物 *Trn*L(5′-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3′)和 *trn*F(5′-ATTTGAAGTGGTGACACGAG-3′)[16-17]；PCR 扩增反应在 Gene Amp 9700PCR 仪(perkin-Elmer，USA)上进行，反应体积 20 μL，包含 2 μL 模板 DNA，2 μL 10×PCR buffer (Mg^{2+})，1 μL dNTP (2.5 mmol/L)，0.2 μL(1 U)DNA 聚合酶[宝生物工程(大连)有限公司]，14.8 μL 灭菌去离子水，0.5 μL (10 μmol/L)引物。扩增程序为 94℃预变性 5 min，94℃ 45 s，52℃ 45 s，72℃ 3 min，30 个循环，最后 72℃延伸 7 min。

1.2.3　RFLP　用 *trn*L-F 对 18 个居群 499 个南方红豆杉个体进行扩增。用限制性内切酶 *Apo* Ⅰ及 *Xba* Ⅰ对扩增产物进行双酶切，酶切体系为 20 μL：扩增产物 6 μL，10×buffer 2 μL，限制性内切酶 *Apo* Ⅰ及 *Xba* Ⅰ(Promag 公司)各 0.5 μL，加灭菌去离子水至 20 μL。酶切条件为 37℃反应 3 h。

取酶切产物 10 μL，在浓度为 8%聚丙烯酰胺凝胶系统上进行垂直电泳，1×TBE 缓冲液，EB 染色，染色时不时摇晃以便染色均匀，以 Gene Ruler™ 100 bp DNA Ladder(Fermentas UAB，Inc.)作为相对分子量标准。在 GelDoc2000(BIORAD 公司)凝胶成像系统上观察并照相。

1.2.4　*trn*L-F 的测序　根据聚丙烯酰胺凝胶电泳检测结果，每个居群中随机选取不同单倍型 1～2 个个体，共 48 个个体进行测序，以明确变异位点序列。扩增产物的纯化使用华瞬公司生产的纯化试剂盒(Watson's PurficationKit)，纯化后的产物置于－20℃冰箱保存，也可直接用于测序反应。测序反应体系 10 μL，包含 6.5 μL ddH_2O，2 μL mix，0.5 μL primer，1 μL PCR 产物。测序反应程序为 96℃ 10 s，50℃ 5 s，60℃ 4 min，30～35 个循环。将测序反应产物加入 35 μL 沉降液(无水乙醇：3 mol/L 醋酸钠＝25：1)中，－20℃沉降 30 min 以上，高速冷冻离心机 12 000 r/min 离心 25 min，吸弃上清液；加入 150 μL 70%乙醇洗涤，12 000 r/min 冷冻离心 10 min，吸弃上清液，沉淀，80℃干燥 2 min，加入 20 μL TSR(或 ddH_2O)溶解液，充分混匀；95℃变性 4 min，然后在 ABI310 自动测序仪上进行。测序产物用 SeqMan(DNASTAR package)编辑序列，Clusta lX[18]完成序列对比和手工调整。

1.3　数据分析

DNA 序列用 Laergene 软件的 Seqman 程序(DNASTAR inc，Madison，Wisconsin，USA；BurlandTG，2000)进行拼接，用 Clusta lX[18]软件排序，用 EditPlus 软件进行必要的手工排序调整。用 AMOVA 软件对南方红豆杉居群内和居群间的遗传差异进行分析[19]；单倍型间的谱系关系由 TCS 软件(version 2.1)构建[20]。根据 Templeton 等[21]的原理，用 GEODIS[version 2.4 进行嵌套分支分析(NCA)][22]推导南方红豆杉的谱系地理模式及可能成因。

2　结果与分析

2.1　*trn*L-F 序列特征和单倍型分布

用 *Xba* Ⅰ和 *Apo* Ⅰ对叶绿体 DNA *trn*L-F 片段进行了 PCR-RFLP 分析，部分结果见图 1，在 18 个居群的 499 个个体中共检测到 6 种单倍型；测序结果表明不同的单倍型各自对应其唯一的序列，相同的单倍型内不存在序列变异，序列变异位点见表 2。表 1、图 2 表明，H1 和 H2 分布最广，共同出现在大陆所有居群中，所占比例分别为 44.09%、50.9%。其它 4 个单倍型为特有单倍型，其中 H3 只存在于黄山居群，而且具有 H3 的个体均分布在较高海拔；H4 仅在临安居群中分布，该居群的 20 个个体，仅有 2 个属 H4；H5、H6 只存在于台湾居群中。

由表 2 可知，在 6 个单倍型的矩阵中，第 151 个位点处有一个变异，单倍型 H2、H4 为 C，其它单倍型均为 A，单倍型 H1 和 H2 仅在此位点上有差异，并在第 771 位点处均有一个碱基的缺失；H3 在 344 和 689 位点处分别有一突变，为碱基 A 和 G，而其它 5 个单倍型在这两个位点均为碱基 C；H4 在 759 位点处有个 15 碱基的缺失；H5、H6 在 527 处有一碱基突变为 T，其它单倍型均为 G，H6 在 267、669 处分别有一个碱基发生变异，其它 5 个单倍型在这两个位点分别为 G、G，而 H6 则为 A、T。

2.2　*trn*L-F 片段遗传结构

南方红豆杉 18 个居群的叶绿体 *trn*L-F 片段的 AMOVA 分析表明，居群间的遗传分化程度较低，遗传分化系数 F_{ST} 为 0.263 9(表 3)，也就是说有 26.39%的遗传变异存在于居群间，而 73.61%的遗传变异存在于居群内。

2.3　不同单倍型之间的谱系关系

通过 TCS 软件构建的网状进化树显示 6 种单倍型间的系统关系(图3)，H1、H2出现的频率分别

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

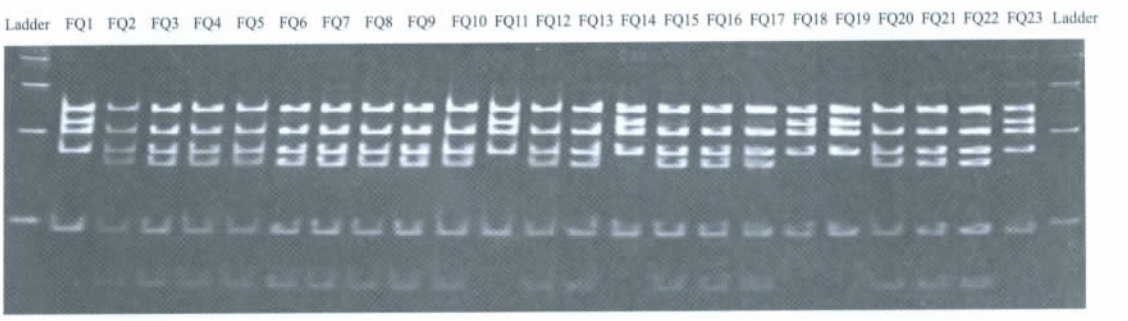

图 1 南方红豆杉叶绿体 DNA *trn*L-F **片段** *Apo* Ⅰ **与** *Xba* Ⅰ **的酶切图谱**

Fig. 1 RFLP of *trn*L-F of *T. wallichiana* var. *mairei* cpDNA digested by *Apo* Ⅰ and *Xba* Ⅰ

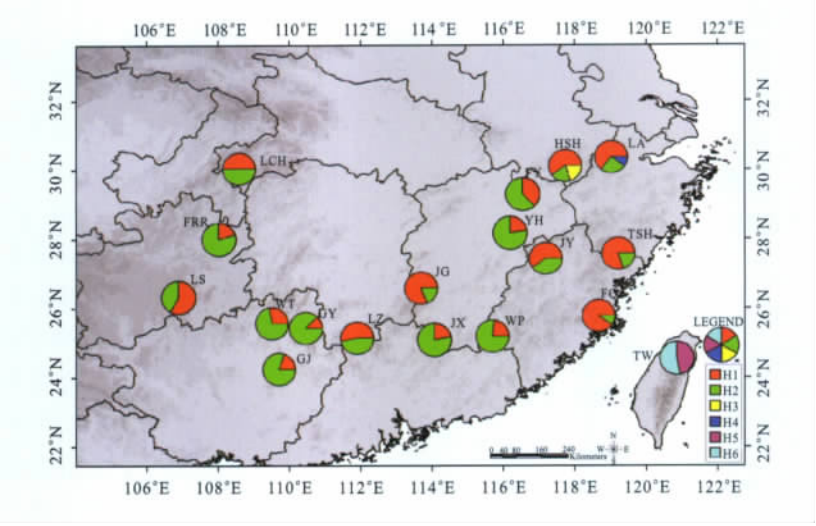

图 2 南方红豆杉叶绿体单倍型在各居群中的分布图

居群简称及其分布单倍体个数见表 1

Fig. 2 Distribution of the 6 chloroplast haplotypes found in populations of the *T. wallichiana* var. *mairei* in China

The abbreviation of the population and their number of haplotypes is given in Table 1

表 2 南方红豆杉 *trn*L-F **6 种单倍型之间的序列区别及个体数**

Table 2 The *trn*L-F sequence differences among the six recovered haplotypes in *T. wallichiana* var. *mairei* in sampled populations and the numbers of different haplotypes

单倍型 Haplotype	**个体数** Number	**核苷酸位点** Site																				
		151	267	344	527	669	689	759	760	761	762	763	764	765	766	767	768	769	770	771	772	773
H1	220	A	G	C	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	—	G	G
H2	254	C	G	C	G	G	C	G	A	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	—	G	G
H3	6	A	G	A	G	G	G	G	A	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	A	G	G
H4	2	C	G	C	G	G	C	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
H5	8	A	G	C	T	G	C	G	A	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	A	G	G
H6	9	A	A	C	T	T	C	G	A	A	A	T	A	A	A	A	A	A	A	A	G	G

表 3 南方红豆杉 18 个居群的遗传分析

Table 3 Analysis of molecular variance for 18 populations of *T. wallichiana* var. *mairei* using RFLP of *trn*L-F

变异来源 Source of variation	**自由度** d. f	**总方差** Sum of squares	**变异成份** Variance components	**变异比例** Percentage of variation/%
居群间 Among populations	17	37.931	0.073 23	26.39
居群内 Within populations	481	98.242	0.204 24	73.61
总变异 Total	498	136.172	0.277 47	

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

为 44.09%和 50.9%，位于进化树的中心，二者之间仅有一个碱基的变异，可能代表较为古老的单倍型。H3 可能演化自 H1，与 H1 仅有 2 个碱基的差异。H4 在 759 有一个 15 个碱基片段的缺失，可能演化自 H2。单倍型 H5、H6 只存在于台湾居群中，H6 演化自 H5，H5 通过一个未检测到或已消失的单倍型演化自 H2。

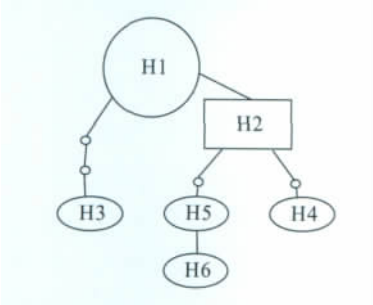

图 3　南方红豆杉 6 个叶绿体单倍型的谱系关系图

小圆圈表示单倍型间的变异步数，圆圈的大小与单倍型出现的频率呈正相关，确切频率见表 1；方框表示该单倍型与更多的单倍型相连接

Fig. 3　Minimum spanning network of 6 chloroplast haplotypes of *T. wallichiana* var. *mairei*

Small circle indicates the number of mutations between haplotypes; Alphabet and numbers in circles indicate the haplotype identity and haplotype size; the size of the circle is proportional to the relative frequency of the haplotypes in the study, exact frequencies are shown in Table 1

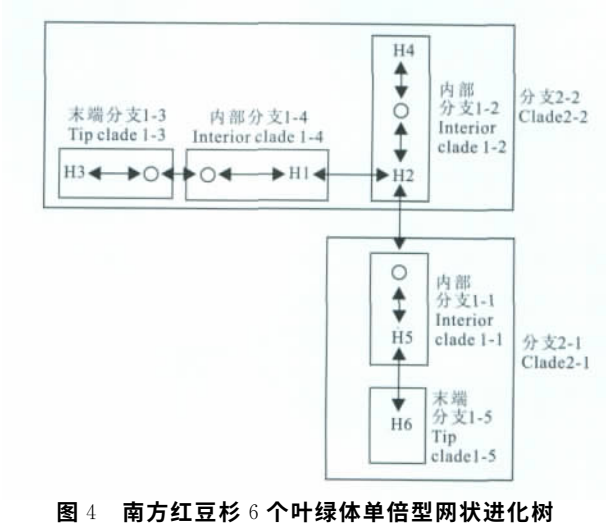

图 4　南方红豆杉 6 个叶绿体单倍型网状进化树

Fig. 4　Nested cladegram of six chloroplast haplotype in *T. wallichiana* var. *mairei*

表 4　南方红豆杉地理联系的 NCA 可能性分析和谱系地理推断

Table 4　Nested contingency analysis of geographical associations and phylogeography inferences made from nested haplotype analysis of *T. wallichiana* var. *mairei*

分支 Clade	概率 Probability	检索 Clade key	推论 Inference
1-2	0.003 3	(1-2-11-12)NO	连续扩张 Contiguous range expansion
2-1	0.000 5	(1-2-3-4)NO	长距离隔离使基因流受限制 Restricted gene flow with isolation by distance (restricted dispersal by distance in non-sexual species)
2-2	0	(1-2-3-5-6-13-14) NO	长距离扩散或曾经片段化 Long-distance colonization and/or past fragmentation (not necessarily mutually exclusive)
整体 Total-Cladogram	0	(1-2)IO	无法确定的因素 I-T Status undetermined; Inconclusive outcome

表 5　南方红豆杉基于图 4 的嵌套设计网状进化和地理距离分析结果

Table 5　Results of nested clades and geographical distance analysis for *T. wallichiana* var. *mairei* based on the nested design of Fig. 4

Haplotype 单倍型	D_C	D_N	Clade 分支	D_C	D_N	Clade 分支	D_C	D_N
H4(T)	0.0	688.067 6**L	1-1(T)	0.0S	481.774 6			
H2(I)	366.518**S	366.860 8**S	1-5(I)	456.723 8	456.949 2	2-1	457.484 1**L	454.9**L
I-T	366.518	−321.206 9**S	I-T	456.723 8**L	−24.825 3			
			1-3(T)	0	655.590 6**L			
			1-4(I)	0	655.590 6**L	2-2	405.188 3**S	413.277 3**L
			1-2(I)	371.022 9**S	372.741 6**S			
			I-T	357.889 4**L	-272.836 7**S			

注：D_C. 所有分支成员距离地理分布中心的平均距离；D_N. 在同一嵌套支中一个分支到其他分支的平均距离；I. 内部结点；T. 末端结点；I-T. 内部结点与末端结点之间距离的平均差异；S 和 L 分别表示显著性小和大；**. $P<0.01$。

Note: D_C. The clade distance which measures the average distance of all clade members from the geographical center of distribution; D_N. The nested clade distance which measures the geographical distribution of a clade relevant to other clades in the same nested group; I. Inter node; T. Tip; I-T. The average difference between inter and tip nodes; S and L. Significantly smaller or larger than the corresponding value; **. $P<0.01$.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2.4 嵌套分支分析

根据 Templeton 等[21-23]的方法组成嵌套分支系统(图4),结果显示台湾的单倍型及大陆的单倍型分别形成二个二级分支:即分支1-2、1-3、1-4组成二级分支2-2;分支1-1、1-5组成二级分支2-1。分支1-1、1-2、1-4为与其它分支相连较多的较古老的分支。检索表分析推测得到的各个支系单倍型地理分布格局的一系列历史成因见表4,对各分支进行地理距离分析和可能性评价的结果表明,分支1-2表现出邻近分布范围的扩张,分支2-1表现出因距离隔离基因流受到限制,分支2-2为长距离扩散或居群片段化。NCA分析显示分支1-2、2-1、2-2与地理分布之间有紧密联系(表5)。总分支与地理分布之间的联系不确定。

3 讨 论

基于 *trn*L-F 片段的 AMOVA 分析揭示南方红豆杉仅26.39%的遗传变异存在于居群间,居群内的遗传变异为73.61%。Shen 等[5]同样根据叶绿体 DNA 的研究揭示分布于中国的银杏,其居群间的遗传差异水平 θ 较高,为67.6(θ 值为类似于 G_{ST} 的值)。Zhan 等[24]研究仅分布于广西、云南的德保苏铁(*Cycas debaoensis*),其叶绿体 DNA 序列遗传变异主要存在于居群间,F_{ST} 为0.801 02。同样分布于中国南方的银杉线粒体 DNA 的 G_{ST} 高达1,居群间没有共有的单倍型[4]。上述分布于中国东南部各物种的谱系地理学研究均推测:在第四纪冰期,中国东、南部地区分别存在2个以上上述各物种的小避难所。根据他们的采样点及上述各物种的分布区,可以看出银杏、银杉、苏铁的避难所并不在同一地点,这个结果提示我们,在第四季冰期,中国东、南部地区可能存在零星的为数不少的动植物避难所。同样分布于中国东、南部地区的南方红豆杉在与上述的物种同样经历冰期后,却没有同样的遗传分布格局。相对于以上3各物种的分布区来看,南方红豆杉的分布范围要广得多;单倍型 H1 和 H2 在中国大陆的17个居群中都有分布,所占比例几乎均等,而且网状进化树显示这两种单倍型都较为古老;NCA 分析也表明分支1-2表现出邻近分布范围的扩张。这样的分布格局可能是在经历第四纪冰期后,这两种单倍型形成初期,居群迅速扩张的结果。较低的叶绿体 DNA 遗传分化值,可能是由于居群片段化的时期不是太长,彼此间的基因流被阻隔的世代数还不是很多。临安居群和黄山居群单倍型多样性较高,可能分别是南方红豆杉的避难所。

2个二级分支的形成(2-1,2-2)可能与台湾岛屿的形成及冰期时期的地质历史有关。台湾为聚合性板块的边界,起始于约600万年前菲律宾海板块往西北方移动,撞上中国大陆东、南边缘的斜坡,形成于300～400万年前,并将此处原有的海相沉积物与地壳物质抬高成山脉[25]。蓬莱造山运动目前持续进行,使台湾不停地抬升中。第四纪冰期及间冰期的气候更迭、冰川的进退消融对现代植物区系的分布和演化产生了巨大的影响。冰期时期海平面的下降有可能使与大陆较近的岛屿与大陆之间形成陆桥从而使居群有可能通过陆桥而扩散;当海平面上升后,扩散后的居群可能由于陆桥的中断而使基因流受到限制而产生遗传分化[26-29]。分支2-1及分支2-2的形成可能就属于这样的情况,台湾与中国大陆在冰期最盛时期被认为是相连接的[25]。在有陆桥相连时大陆的红豆杉扩散到台湾岛屿,当冰期消退、海平面上升后,台湾与大陆之间被台湾海峡隔离,从而使得台湾红豆杉与大陆红豆杉之间的基因交流受阻而产生了较大的遗传分化。NCA 可能性分析表明台湾居群是由于曾经的居群片段化或长距离扩散,基因流受到限制形成今天的分布格局。

中国大陆东部、南部及东南部地区生物多样性丰富,而且存在多种孑遗植物,如著名的水杉、银杏(浙江省临安县西天目山)、白豆杉(浙江省龙泉凤凰山、广西临桂等地)、罗汉松及苏铁属的各个种[30]。可能因为存在零星的多个小避难所,冰期过后避难所中的孑遗植物扩张,此区域才会有如此丰富的植物区系成分。

致谢:感谢李洪涛博士在采样过程中的帮助,及 Michael Möller 教授在数据分析时的热心指导。

参考文献:

[1] AXELROD D I, AL-SHEHBAZ I, RAVEN P H. History of the modern flora of China[M]//ZHANG A, WU S. Floristic Characteristics and Diversity of East Asian Plants. New York: Springer, 1996: 43－55.

[2] HUANG Y K, CHEN J J. Sea level changes along the coasts of the South China Sea since late Pleistcene[M]Proceeding of the International Symposium on the Oil development Environment of South China Sea. Guangzhou: Guangdong science publishing house, 1985: 100－120.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[3] HWANG S Y，LIN T P，MA C S，*et al*. Postglacial population growth of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae) inferred from phylogeographical and mismatch analysis of chloroplast DNA variation[J]. *Mol. Ecol.*，2003，12：2 689－2 695.

[4] WANG H W，GE S. Phylogeography of the endangered *Cathaya argyrophylla* (Pinaceae) inferred from sequence variation of mitochondrial and nuclear DNA[J]. *Mol. Ecol.*，2006，15：4 109－4 122.

[5] SHEN L，CHEN X Y，ZHANG X，*et al*. Genetic variation of *Ginkgo biloba* L. (Ginkgoaceae) based on cpDNA PCR-RFLPs：inference of glacial refugia[J]. *Heredity*，2005，94：396－401.

[6] LU S Y，PENG C I，CHENG Y P，*et al*. Chloroplast DNA phylogeography of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae)，an endemic conifer of Taiwan[J]. *Genome*，2001，44：797－807.

[7] CHENG Y P，HWANG S Y，LIN T P. Potential refugia in Taiwan revealed by the phylogeographical study of *Castanopsis carlesii* Hayata (Fagaceae)[J]. *Mol. Ecol.*，2005，14：2 075－2 085.

[8] ZHENG ZH(**郑 卓**). Distribution *Dacrydium* in South China during the late Quaternary[J]. *Acta Bot. Sin.* (**植物学报**)，1991，**33**(2)：130－139(in Chinese).

[9] SU Y J(**苏应娟**)，WANG T(**王 艇**)，CHEN G P(**陈国培**)，*et al*. Postglacial population expansion of *Dacrydium pierrei* (Podocarpaceae) in Hainan，Southern China，based on cpDNA *trn*L-F nocoding sequence data[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universtiatis Sunyatseni* (**中山大学学报**) 2005，**44**(5)：70－74(in Chinese).

[10] LIU Y J(**刘艳菊**)，LI CH S(**李承森**)，WANG Y F(**王宇飞**). Review on genus *Metasequoia*[J]. *Chinese Bulletin of Botany* (**植物学通报**)，1996，**13**(3)：15－22(in Chinese).

[11] IDVELESS M D，HAMRICA J L. Ecological determinants of genetic structure in plant populations[J]. *Ann. Rev. Eco. Syst.*，1984，15：65－95.

[12] CLEGG M，GAUT B S，LEARN G H，*et al*. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution[J]. *PNAS*，1994，91：6 795－6 801.

[13] FU L G，LI N，MILL R R. Taxaceae[M]//WU Z Y，RAVEN P H. Flora of China 4. Beijing，St Louis，Missouri：Science Press，Beijing & Missouri Botanical Garden Press，1999：89－96.

[14] DOYLE J J. DNA protocols for plants：CTAB total DNA isolation[M]//(HEWITT G M，JOHNSTON A. Molecular Techniques in Taxonomy. Berlin：Springer-Verlag，1991：283－293.

[15] AUSUBEL F M，BRENT R，*et al*. Short Protocols in Molecular Biology，3rd edition[M]. New York：John Wiley & Sons，1995.

[16] TABERLET P，GIELLY L，PAUTOU G，*et al*. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA[J]. *Plant Mol. Biol.*，1991，(17)：1 105－1 109.

[17] SHAW J，LICKEY E B，BECK J T，*et al*. The tortoise and the hare II：relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequence for phylogenetic analysis[J]. *Am. J. Bot.*，2005，**92**(1)：142－166.

[18] THOMPSON J D，GIBSON T J，PLEWNIAK F，*et al*. The ClustalX windows interface：flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucleic Acids Res.*，1997，24：4 876－4 882.

[19] EXCOFFIER L，SMOUSE P E，QUATTRO J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes：application to human mitochondrial DNA restriction data[J]. *Genetics*，1992，(131)：479－491.

[20] CLEMENT M，POSADO D，*et al*. TCS：A compute program to estimate gene genealogies[J]. *Mol. Ecol.*，2000，9：1 657－1 659.

[21] TEMPLETON A R，CRANDALL K A，SING C F. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotype inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data Ⅲ. Cladogram estimation[J]. *Genetics*，1992，132：619－633.

[22] POSADO D，CRANDALL K A，TEMPLETON A R. Geodis：A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotype[J]. *Mol. Ecol.*，2000，9：487－488.

[23] TEMPLETON A R，BOERWINKL E，SING C F. A cladistic analysis of phenotypic associations with hablotype inferred from restriction endonuclease mapping Ⅰ. Basic theory and analysis of alcohol dehydrogenase acativity in drosophila[J]. *Genetics*，1987，117：343－351.

[24] ZHAN Q Q，WANG J F，GONG X，*et al*. Patterns of chloroplast DNA variation in *Cycas debaoensis* (Cycadaceae)：conservation implications[J]. *Conserv. Genet.*，2011，**12**(4)：959－970.

[25] BOGGS S，WANG W C，LEWIS F S，*et al*. Sediment properties and water characteristics of the Taiwan shelf and slope[J]. *Acta Oceanogr Taiwan*，1979，10：10－49.

[26] OTA H. Geographic patterns of endemism and speciation in amphibians and reptiles of the Ryukyu archipelago，Japan，with special reference to their paleogeographical implications[J]. *Res. Popul. Ecol.*，1998，40：189－204.

[27] COMES H P，KADEREIT J W. The effects of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution[J]. *Trends Plant Sci.*，1998，(3)：432－438.

[28] HEWITT G M. The genetic legacy of the ice ages[J]. *Nature*，2000，405：907－913.

[29] ABBOTT R J，BROCHMANN C. History and evolution of the arctic flora：in the footsteps of Eric Hultén[J]. *Mol. Ecol.*，2003，12：299－313.

[30] WU ZH Y(**吴征镒**)，SUN H(**孙 航**)，ZHOU ZH K(**周浙昆**)，*et al*. Origin and differentiation of endemism in the Flora of China[J]. *Acta Botanica Yunnanica* (**云南植物研究**)，2005，**27**(6)：577－604(in Chinese).

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net