

•研究简报•

雅鲁藏布江河谷丝须蒟蒻薯遗传多样性的初步研究

张 玲^{1,2,3} 李庆军² 李德铎^{1*}

1 (中国科学院昆明植物研究所生物多样性和生物地理学重点实验室, 昆明 650204)

2 (中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 666303)

3 (中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 分布于雅鲁藏布江河谷的丝须蒟蒻薯(*Tacca integrifolia*)与其在东南亚的主要分布区具有明显的间断分布格局。为了探讨地理隔离对其居群遗传结构和遗传多样性的影响, 我们应用ISSR分子标记方法对采自西藏墨脱的3个丝须蒟蒻薯居群共65个个体进行了遗传多样性和居群遗传结构分析, 并与马来西亚Seremban的1个居群(19个个体)进行了比较。19个ISSR引物共扩增到165个位点, 其中111个为多态位点, 占67.68%。丝须蒟蒻薯在物种水平上的遗传多样性虽然不低($PPB = 67.68\%$, $H_T = 0.185$, $H_{sp} = 0.292$), 但在居群内的遗传多样性却非常低($PPB = 12.81\%$, $H_E = 0.065$, $H_{pop} = 0.044$)。与马来西亚居群(Ma) ($PPB = 31.71\%$)相比, 墨脱的3个居群遗传多样性极低(PPB 分别为3.66%, 8.54%, 7.32%)。Ma居群与墨脱居群相隔2000 km以上, 两个地区间的遗传分化程度很大($G_{ST} = 0.777$, $F_{ST} = 0.9206$), 而墨脱的3个居群间(0.28%)及居群内(7.94%)的遗传分化却非常低($P < 0.001$)。居群间极其有限的基因流($N_m = 0.1435$)可能是由于该物种是以自交为主的种类、种子散布很困难、居群间的隔离、生境的破碎化等原因所致。总之, 雅鲁藏布江河谷地区特殊的地形和地貌以及与其他热带地区的地理隔离是造成丝须蒟蒻薯在这一地区遗传多样性极低的可能原因。

关键词: *Tacca integrifolia*, 遗传多样性, 遗传结构, ISSR, 地理隔离, 马来西亚

Genetic diversity of *Tacca integrifolia* (Taccaceae) in the Brahmaputra valley, Tibet

Ling Zhang^{1,2,3}, Qingjun Li², Dezhu Li^{1*}

1 Laboratory of Plant Biodiversity and Biogeography, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204

2 Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303

3 The Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Abstract: *Tacca integrifolia* is a tropical herb with a core distribution in southeast Asia and disjunct populations in the Brahmaputra valley in China. Significant morphological differences exist between the two regions. Genetic variation within and among four populations, three from the Brahmaputra valley, and one from Malaysia, was assessed using 19 Inter-Simple Sequence Repeat (ISSR) primers. The Malaysian population was more than 2,000 km from the other populations. A total of 165 discernible loci were obtained, of which 111 were polymorphic (67.68%). Genetic diversity was relatively high at the species level ($PPB = 67.68\%$, $H_T = 0.185$, and $H_{sp} = 0.292$), but was low within populations ($PPB = 12.81\%$, $H_E = 0.065$ and $H_{pop} = 0.044$). Extremely high levels of population genetic differentiation were detected based on Nei's genetic diversity analysis ($G_{ST} = 0.777$) and AMOVA analysis ($F_{ST} = 0.9206$). Genetic differentiation among the three Brahmaputra populations (0.28%) and within these populations (7.94%) was low ($P < 0.001$). Restricted gene flow ($N_m = 0.1435$) among populations may result from self-pollination, inefficient seed dispersal, population

收稿日期: 2005-10-08; 接受日期: 2005-11-13

基金项目: 科技部国家科技基础条件平台工作项目(2004DKA30430)、云南省自然科学基金(2003C0024Q)和国家杰出青年科学基金(30225007)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: dzl@mail.kib.ac.cn

isolation, and habitat fragmentation. The extremely low genetic diversity in Brahmaputra populations was probably due to the unique landforms and vicariance of the Brahmaputra valley.

Key words: *Tacca integrifolia*, genetic diversity, population genetic structure, ISSR markers, vicariance Malaysia

蒟蒻薯科(Taccaceae)是一个仅有约10个种、分布于古热带地区的小科(Drenth, 1972), 其根部大都含有生物碱或其他生物活性物质, 具有潜在的药用价值。然而, 由于生境日益恶化, 它们的居群日渐缩小, 目前大都被列为稀有保护植物。尽管该属植物具有非常奇特的花部构造——两片垂直排列的显著的大苞片和下垂的丝状小苞片(俗称“老虎须”), 但对其生物学特性、交配系统、遗传多样性和遗传结构的研究却鲜见报道(Zhang *et al.*, 2005)。

丝须蒟蒻薯(*Tacca integrifolia*)主要分布于巴基斯坦、斯里兰卡、印度东北部、柬埔寨、老挝、缅甸、泰国、越南至西马来西亚、印度尼西亚群岛(Drenth, 1972) (图1), 可从海边一直分布到海拔1200 m, 甚至到1500 m。该植物分布较广, 纬度跨度很大, 但中间却有很宽的空白地带, 南、北两个分布区存在较大的地理隔离(图1)。丝须蒟蒻薯大多生长在常绿潮湿的原始林或次生林下, 喜生于陡坡、山脊或近水边, 有时也长在路旁和空旷地; 可生于各种土壤, 如沙壤、多石土、石灰土或红壤等。一般认为生长在山上的植株比平地的要大(Drenth, 1972)。在我国仅局限分布于西藏东南部, 主要是墨脱一带的雅鲁藏布江河谷热带原始森林植被下, 海拔600–850 m, 上层主要树种为阿丁枫(*Altingia excelsa*)和千果榄仁(*Terminalia myriocarpa*) (孙航和周浙昆, 2002), 这一地区位于该植物类群分布的北限, 从纬度上看已经没有地带性热带雨林, 但由于特殊的地形地貌, 特别是南北走向的河谷以及分割这些河谷的高山, 形成了具有热带性质的局部小气候, 一些热带成分可以顺着河谷向北分布。这些热带植物类群由于与中心分布区隔离, 而且在漫长的地质历史过程中伴随着冰期—间冰期的交替, 其分布区周期性地向南退缩和向北延伸, 势必造成其居群遗传结构的改变(Hewitt, 2000)。

长期的地理隔离已经使丝须蒟蒻薯在形态上出现了分化。由于该科植物特殊的花部结构特征,

很早就有学者对其形态解剖学、细胞学、植物化学等方面作过一些研究(Limpricht, 1928; Rao, 1969)。Drenth (1972)在对蒟蒻薯科植物进行全面修订时, 通过查阅大量的标本, 把丝须蒟蒻薯的10个变型界定为一个种, 合并了13个异名。他认为种内主要的变异来自于叶片, 以及种子表面有无小乳头突起。爪哇、婆罗洲、苏门答腊等地的有小乳突, 而马来西亚、亚洲大陆的没有。丝须蒟蒻薯虽然与我国西南部广泛分布的老虎须(*T. chantrieri*)很相似, 但它们的种子形状和内轮花苞片的形状与朝向是有差别的。前者的苞片为白色、白中带粉色或紫黑色, 而形状为披针形, 还有同色的长须。我们通过实地考察、查阅文献资料和搜集有关网站对该种植物的描述和照片, 发现该种在各地形态差异很大, 尤其是西藏墨脱的与马来西亚的居群差异较大。那么这些差异是否反映了其遗传分化? 这种遗传分化又有多大?

ISSR是一种简单重复序列之间扩增多态性分子标记, 具有DNA用量少、操作简单、实验成本低等优点(Wolfe & Liston, 1998; Harris, 1999), 且实验重复性好、信息量大、多态性高, 因而是一种非常理想的检测物种内遗传变异的分子标记(葛颂, 2001; Nagaoka & Ogihara, 1997)。本研究采用ISSR分子标记技术对雅鲁藏布江的3个居群和马来西亚的1个居群的遗传多样性进行研究, 旨在比较两个地区丝须蒟蒻薯的遗传多样性水平和遗传分化, 进而探讨其在形态学和繁殖方式上的差异。

1 材料和方法

1.1 植物样品采集

2003年9月和2004年5月分别在西藏东南部雅鲁藏布江河谷的墨脱地区和马来西亚的Seremban采集到丝须蒟蒻薯的4个居群(图1)。其中3个居群来自西藏墨脱地区: 背崩—江心(JX), 墨脱—背崩(MD), 背崩—汗密(BB); 1个来自马来西亚Seremban市Angsi自然保护区的Ule Bendol林

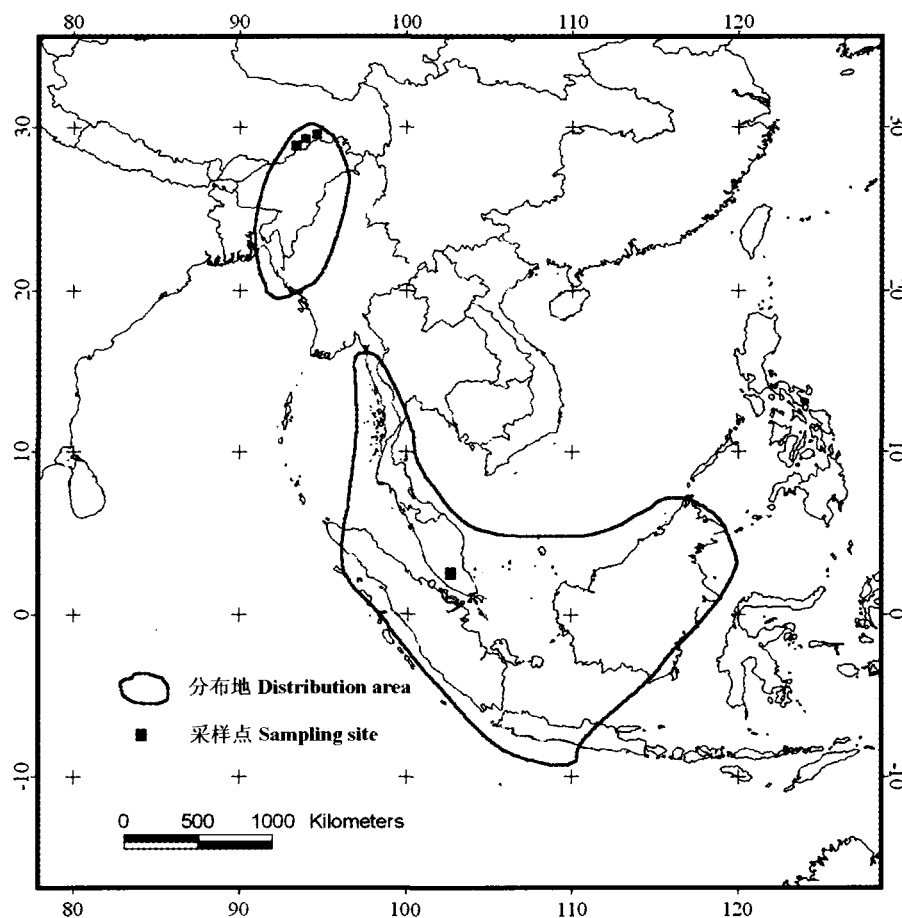


图1 丝须蒟蒻薯的世界分布图及其采样点

Fig. 1 Map showing the distribution and sampling sites of *Tacca integrifolia*

表1 丝须蒟蒻薯取样居群特征

Table 1 Descriptions of all sampled populations of *Tacca integrifolia*

居群 Population	采样数 Sample size	产地 Locality	地理位置 Position	海拔 Altitude (m)	居群大小 Population size
墨脱-背崩MD	23	墨脱Medog	29°16' N, 95°15' E	760-830	~500
背崩-江心JX	19	江心Jiangxin	29°10' N, 95°05' E	700-860	~100
背崩-汗密BB	23	背崩Beibeng	29°16' N, 95°07' E	600-800	~700
马来西亚Ma	19	Seremban, Negeri Sembilan Malaysia	2°44' N, 102°08' E	~180	~300

(Ma), 各个居群具体情况见表1。每个居群内取样个体间的距离至少20 m以上, 从居群边缘至中心随机选样, 每个居群采集的个体数为19-23个。采集的新鲜叶片分别用变色硅胶进行快速干燥。

1.2 实验方法

1.2.1 总DNA的提取

采用改进的CTAB法(Doyle, 1991), 用于正式实验的样品均用RNA酶A进行纯化。纯化后用紫外分光光度计测定260 nm和280 nm下的光密度值(OD值), 然后根据Ausubel等(1995)的方法确定总DNA的浓度和质量, 用于PCR反应的总DNA浓度均稀释为50 ng/μL。

1.2.2 PCR扩增

扩增反应在GeneAmp PCR System 9700 DNA Thermal Cycler (Perkin-Elmer, USA)上进行, 反应体积为20 μL , 其成分为: 2 μL DNA模板, 0–1 μL MgCl_2 (25 mmol/L), 0.8 μL dNTP Mixture (各2.5 mmol/L), 2.0 μL 10 $\times$ buffer (Mg^{2+} Plus), 0.75 mmol/L引物(哥伦比亚大学设计引物系列), 1.5 U Taq DNA聚合酶。扩增程序为: 94°C或95°C预变性5 min; 94°C 30 s或45 s, 48°C 45 s或50°C 30 s, 72°C 90 s, 共35个循环; 最后72°C延伸7 min。

1.2.3 PCR产物的鉴定

取样10 μL , 用浓度为1.5%琼脂糖凝胶电泳(0.5 $\times$ TBE系统), EB染色, 以GeneRulerTM 100 bp DNA Ladder plus (MBI Fermentas公司)作为相对分子量标准, 使用Gel Doc 2000(BIORAD公司)图像分析仪观察并照相。

1.2.4 数据处理与分析

统计扩增产物较为稳定的19个引物在84个样品中的扩增情况。在电泳图谱上同一引物扩增的电泳迁移率一致的条带被认为具有同源性, 属于同一位点的产物。同一ISSR位点上有电泳带的记为1, 无电泳带的记为0, 作0/1矩阵输入POPGENE1.32 (Yeh *et al.*, 1997)软件进行分析。

表征遗传多样性与居群遗传结构的参数包括多态位点百分率(*PPB*, percentage of polymorphic loci), Shannon信息指数(*I*) (Lewontin, 1972), Nei's (1973)基因多样性指数(*H*), Nei (1973)的遗传分化指数(*G_{ST}*)和居群每代迁移数(*N_m*, estimate of gene flow from *G_{ST}*, Slatkin & Barton, 1989)。用ARLEQUIN 2.000软件(Schneider *et al.*, 2000)进行AMOVA分析, 计算遗传变异在居群间和居群内的分布、居群间的遗传分化。居群间的遗传变异同时也通过Shannon's居群分化系数($(H_{\text{pop}} - H_{\text{sp}})/H_{\text{pop}}$)来估测, 用TFPGA 1.3 (Miller, 1997)检测居群间的遗传距离与地理距离之间的相关性。用NTSYSpc 2.10 (Rohlf, 1997)计算个体间的Nei相似性系数(Nei & Li, 1979), 并对个体进行聚类分析。

2 结果

2.1 ISSR引物的筛选

随机选取3个个体, 将它们的总DNA混合,

从哥伦比亚大学设计(上海生工生物技术有限公司合成)的113个引物中筛选出扩增条带清晰、重复性好的19个引物, 用这19个引物对所有的个体和1个空白对照进行PCR扩增并进行统计分析。

2.2 丝须蒟蒻薯的ISSR遗传多样性

19个引物扩增得到的DNA片段共计165条, 每个引物产生4–13条, 长度在400–2,000 bp之间, 其中111条为多态条带。在物种水平上, 多态位点百分率(*PPB*)为67.68%, Nei's基因多样性(*H*)为0.185, Shannon信息指数(*I*)为0.292。在居群水平上, 多态位点百分率(*PPB*)为12.81%, Nei's基因多样性(*H*)为0.065, Shannon信息指数(*I*)为0.044。从各个居群来看, 墨脱的3个居群的遗传多样性水平极低(JX, *PPB* = 3.66%; MD, *PPB* = 8.54%; BB, *PPB* = 7.32%), 而马来西亚居群遗传多样性相对较高(Ma, *PPB* = 31.71%)(表2)。

2.3 丝须蒟蒻薯居群遗传分化与基因流

根据遗传多样性水平在居群内(*H_{sp}*)和居群间(*H_{pop}*–*H_{sp}*)的分化, 各个居群之间的Shannon's居群分化系数是0.8493。这说明在物种水平上, 有15.07%的遗传变异存在于居群内, 而84.93%的遗传变异存在于居群间, 居群之间表现出较高水平的遗传分化。

POPGENE分析结果也表明, 遗传变异主要存在于居群间, 4个居群总基因多样性(*H_t*)为0.185, 其中居群内的基因多样性(*H_s*)为0.0437; 居群间基因分化系数(*G_{ST}*)为0.777, 居群间的遗传变异占总遗传变异的77.7%。

AMOVA分析结果表明, 地区间的遗传变异占91.78% ($F_{\text{CT}} = 0.9178$, $P = 0.264$), 居群间的遗传变异占0.28% ($P < 0.001$), 即来自于地区间和居群间的遗传变异总和达到92.06%, 而居群内的遗传变异仅占7.94% ($P < 0.001$)(表3)。

三种方法分析的结果虽有差异, 但都表明墨脱与马来西亚两个地区间的遗传分化极大。居群间的基因流(*N_m*)极低, 仅为0.1435。居群间的遗传距离和地理距离之间的相关性检测(Mantel test)结果表明, 地理距离和遗传距离之间不存在正相关关系($r = 0.9998$, $P = 0.09$), 虽然*r*值很大, 但*P*值却达不到显著, 这可能与取样数量少有关。丝须蒟蒻薯极强的遗传分化表明, 由于存在地理隔离, 这两个地区间的基因流动是极其有限的。

表2 丝须蒟蒻薯4个居群的遗传多样性 (括号内为标准差)

Table 2 Genetic diversity of the four *Tacca integrifolia* populations detected by ISSR analysis. Standard deviations in parentheses.

居群 Population	<i>N</i>	<i>I</i>	<i>H</i>	<i>PPB</i> (%)
JX	19	0.016 (0.086)	0.010 (0.055)	3.66
MD	23	0.050 (0.167)	0.034 (0.116)	8.54
BB	23	0.041 (0.152)	0.028 (0.105)	7.32
Ma	19	0.154 (0.255)	0.103 (0.177)	31.71
居群水平平均	21	0.044 (0.041)	0.065 (0.061)	12.81 (12.77)
Average at population level				
物种水平 At species level		0.292	0.185	67.68

居群代号同表1。N: 采样数; H: 平均期望杂合度; I: Shannon信息指数; PPB: 多态位点百分率

Population codes are the same as in Table 1. N, Sample size; H, Expected heterozygosity; I, Shannon's Information index; PPB, Percentage of polymorphic loci.

表3 丝须蒟蒻薯在地区间、居群间以及居群内的遗传变异

Table 3 Analysis of molecular variance (AMOVA) within/among populations and between geographic regions in *Tacca integrifolia*

	df	SSD	Variance component	Variation (%)	Fixation indices	<i>P</i> *
地区间 Between regions ^a	1	1053.36	34.271	91.78	$F_{CT}=0.9178$	0.264
地区内居群间	2	10.39	0.103	0.28	$F_{SC}=0.0336$	<0.001
Among populations/regions						
居群间 Among populations	81	240.27	2.966	7.94	$F_{ST}=0.9206$	<0.001
总计 Total	84	1304.02	37.34			

^a 不同地区包括墨脱地区及马来西亚地区; df: 自由度; SSD: 平方和; F_{CT} : 由哈温平衡预期值而来的地区间的遗传差异程度; F_{SC} : 由哈温平衡预期值而来的地区内居群间的遗传变异程度; F_{ST} : 由哈温平衡预期值而来的地区间居群间的遗传变异程度^aGeographic regions include Medog, Tibet and Malaysia. F_{CT} , Deviation from Hardy-Weinberg expectations among regions; F_{SC} , Deviation from Hardy-Weinberg expectations among populations within regions; F_{ST} , Deviation from Hardy-Weinberg expectations among populations among regions.

2.4 聚类分析

根据个体间的遗传距离(Nei & Li, 1979)进行UPGMA聚类, 分析结果显示, 84个个体中马来西亚居群个体明显聚在一起, 而墨脱的3个居群聚类较为混乱, 这进一步表明马来西亚居群与墨脱居群间产生了较大的遗传分化。

3 讨论

3.1 丝须蒟蒻薯的遗传多样性和遗传结构

地理分布范围是决定植物遗传多样性的主要因素之一, 一般认为分布区较广的物种具有更高的遗传多样性水平(Korron, 1987; Hamrick & Godt, 1990)。丝须蒟蒻薯的分布区较广, 因而预测它具有较高水平的遗传多样性。这与我们通过

对4个居群的ISSR分析得到的多态位点百分率(PPB), Nei's基因多样性(*H*)以及Shannon信息指数(*I*)相吻合。然而, 在居群水平上, 这些多样性指数都明显低于Nymbon (2004)统计的自交植物的平均值(0.12); 而且墨脱的3个居群内的遗传多样性水平显著低于核心分布区的马来西亚居群。当把马来西亚居群去掉后, 用POPGENE计算出丝须蒟蒻薯在雅鲁藏布江河谷居群内的遗传多样性极低($H_t = 0.028 \pm 0.0087$, $H_s = 0.024 \pm 0.0063$)。居群间的遗传变异极小, 其基因分化系数 G_{ST} 只有0.145, 每代有效基因流相对较大($N_m = 2.948$), 3个居群间的相似性系数为0.9896–0.9967。尽管这3个居群间有一定的地理距离, 但它们均分布在墨脱地区的雅鲁藏布江峡谷两侧, 聚类分析也说明

墨脱的3个居群聚类混乱,可能可以把它视为一个居群。

用POPGENE计算出丝须蒟蒻薯在居群间的遗传变异极大,其基因分化系数 G_{ST} (0.777)几乎是Hamrick等(1992)得出木本植物的平均值(0.228)的3.4倍,比Nymbon (2004)统计自交植物的平均值($G_{ST} = 0.59$)还大。而用其他两种方法计算出的居群间的遗传变异就更大了($(H_{pop}-H_{sp})/H_{pop} = 0.8493$, $F_{ST} = 0.9206$)。三种统计方法计算的结果都揭示了相同的居群遗传结构:居群内遗传变异极低,居群间的遗传分化很大。

许多研究表明,居群遗传结构能够反映物种的长期进化历史(分布区转移、生境片段化和居群特化)、突变、遗传漂变、交配系统、基因流、居群间遗传隔离等不同过程的相互作用,而高水平的居群遗传分化可由物种的繁育系统、基因漂变或居群间的遗传隔离等因素影响而造成(Hogbin & Peakall, 1999; Schaal *et al.*, 1998; Slatkin, 1987)。墨脱居群和马来西亚居群相隔2,000 km以上,每代有效基因流(N_m)很小(0.1435)。Wright (1951)指出,如果 $N_m < 1$,则遗传漂变可以导致居群间明显的遗传分化。因此,基因流受阻和遗传漂变可能是导致丝须蒟蒻薯居群间产生较大遗传分化的主要原因。

3.2 对丝须蒟蒻薯繁殖模式的推测

物种的遗传结构很大程度上受繁育系统的影响,自交能够导致居群内的遗传多样性水平降低。Hamrick等(1991)指出自交物种居群间的遗传多样性可比风媒异交种类高5倍,而居群内的变异则会降低甚至一半。我们对丝须蒟蒻薯的繁育系统虽还不了解,传粉媒介缺乏而导致自交的推测仍需证实。但是,我们可以从其他一些生物学性状和地理分布特点对其繁殖模式进行推测。

丝须蒟蒻薯的花部结构很绚丽,根据它的“传粉综合征”(pollination syndromes),它夸张的花部资源投资应该都是为了吸引昆虫从而实现异花传粉的,因此我们预测它应该具有较高的遗传多样性。然而,墨脱居群却仅有极低的遗传多样性,马来西亚居群的遗传多样性也相对较低。如何解释这一现象呢?我们对丝须蒟蒻薯的生物学特性进行了观察,它的花具有一些适合自交的结构特

征:没有香气、不分泌大多数传粉动物喜欢的花蜜,柱头和雄蕊靠得很近;对墨脱野外居群花期拜访昆虫的观察未发现有效传粉昆虫(张玲等,未发表资料)。我们还尝试了用等位酶对墨脱3个居群的自交率进行检测,但因多态位点太少,缺乏等位酶变异而失败(张玲等,未发表资料)。对与丝须蒟蒻薯相近的另外一个种老虎须的繁殖生物学特性及交配系统的研究已经表明,尽管它也具有显著而发达的花部结构,但其后代却还是通过主动的自花授粉产生的,大苞片和丝须状小苞片在结籽率和异交率上并没有太大的贡献(Zhang *et al.*, 2005)。所以我们认为丝须蒟蒻薯也是以自交为主的种类,至少在墨脱的居群是高度自交的。

一般而言,物种的地理分布区被认为是符合“多样性中心”模型的,即在地理分布中心的居群,其居群出现的频率、大小、密度比边缘居群的要高(Hengeveld & Haeck, 1982; Brown, 1984; Lawton, 1993; Sagarin & Gaines, 2002)。也就是说,边缘的居群规模更小、个体分布更零星、繁殖能力也更低,它们受昆虫拜访的频率较低,因此为了保障繁殖将选择自交。丝须蒟蒻薯的墨脱居群正好处于地理分布区的最北边缘,我们用生物地理学模型解释其极低的遗传多样性,可以推测其边缘居群是以自交为主的。

3.3 地理隔离对丝须蒟蒻薯遗传分化的影响

根据“冰川避难所假说”(glacial refugium hypothesis),植物避难所的形成导致了物种分布区的空间隔离,进而促进物种分化和新物种的形成(Holder *et al.*, 1999)。在第三纪以后的多次冰期-间冰期气候波动中,热带雨林的面积也随之波动,导致热带物种不断地扩张、退缩,以占据适宜的气候条件。这种居群大小的变化,会通过遗传漂变影响居群的遗传结构(Hewitt, 2000)。雅鲁藏布江峡谷位于西藏东南部,在印度板块撞击劳亚古陆导致喜马拉雅山脉隆起后,这一地区变成了印度-马来、印度-中国、东亚大陆等生物地理区域的汇合点(Behera *et al.*, 2002),也是全球25个生物多样性热点地区之一(Myers *et al.*, 2000)。由于北有青藏高原作为屏障,寒潮难以南侵,使得这一地区成为许多热带植物的避难所(Takhtajan, 1969; Rao, 1994),特殊地形使其与其他地区之间的基因交流不可能实现。这一地区丝须蒟蒻

薯与其主要分布区间极大的居群分化说明, 由于长期的隔离分化以及繁殖方式上向以自交或近交为主的方向演化, 导致其遗传多样性越来越低, 与其主要分布地区居群间的遗传差异越来越大; 同时, 在形态结构上也出现了明显的变化, 花序的大苞片由北至南由白色变成棕色或黑紫色, 形态也各不相同。分子片段测序的结果也表明墨脱居群的个体 *trnL-F* 片段序列比马来西亚的小近 200 bp (张玲, 未发表资料)。所以, 如果扩大调查的居群范围, 结合形态学和分子片段的资料, 我们就能够证实雅鲁藏布江河谷的丝须蒟蒻薯在长期的进化过程中已经在遗传、形态学特征等方面很大程度区别于其他的丝须蒟蒻薯, 可能已经向一个新的物种演化了。

致谢: 感谢中国科学院昆明植物研究所生物多样性和生物地理学重点实验室杨俊波先生、高连明博士在实验技术上的指导。

参考文献

- Ausubel FM, Brent R, Kingston RE (1995) *Short Protocols in Molecular Biology*, 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc., Indianapolis.
- Behera MD, Kushwaha SPS, Roy PS (2002) High plant endemism in an Indian hotspot—eastern Himalaya. *Biodiversity and Conservation*, **11**, 669–682.
- Brown JH (1984) On the relationship between abundance and distribution of species. *The American Naturalist*, **124**, 255–279.
- Doyle JJ (1991) DNA protocols for plants—CTAB total DNA isolation. In: *Molecular Techniques in Taxonomy* (eds Hewitt GM, Johnston A), pp. 283–293. Springer-Verlag, Berlin.
- Drenth E (1972) A revision of the family Taccaceae. *Blumea*, **20**, 367–406.
- Ge S (葛颂) (2001) Application of DNA molecular marker in conservation biology. In: *Molecular Markers in Systematic and Evolutionary Botany* (系统进化植物学中的分子标记) (eds Zou YP (邹喻苹), Ge S (葛颂), Wang XD (王晓东)), pp. 140–149. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Hamrick JL, Godt MJW (1990) Allozyme diversity in plant species. In: *Plant Population Genetics, Breeding, and Genetic Resources* (eds Brown AHD, Clegg MT, Kahler AL, Weir BS), pp. 43–63. Sinauer, Sunderland, MA.
- Hamrick JL, Godt MJW, Murawski DA, Loveless MD (1991) Correlations between species traits and allozyme diversity: implications for conservation biology. In: *Genetics and Conservation of Rare Plants* (eds Falk DA, Holsinger KE), pp. 75–86. Oxford University Press, Oxford, UK.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL (1992) Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests*, **6**, 95–124.
- Harris J (1999) RAPDs in systematics—a useful methodology? In: *Molecular Systematics and Plant Evolution* (eds Hollingsworth PM, Bateman RM, Gornall RJ), pp. 221–228. Taylor and Francis, London.
- Hengeveld R, Haeck J (1982) The distribution of abundance. I. Measurements. *Journal of Biogeography*, **9**, 303–316.
- Hewitt G (2000) The genetic legacy of the Quaternary ice ages. *Nature*, **405**, 907–913.
- Hogbin PM, Peakall R (1999) Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata*. *Conservation Biology*, **13**, 514–522.
- Holder K, Montgomerie R, Friesen VL (1999) A test of the glacial refugium hypothesis using patterns of mitochondrial and nuclear DNA sequence variation in rock ptarmigan (*Lagopus mutus*). *Evolution*, **53**, 1936–1950.
- Korron JD (1987) A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. *Ecology*, **1**, 47–58.
- Lawton JH (1993) Range, population abundance and conservation. *Trends in Ecology & Evolution*, **8**, 409–413.
- Lewontin RC (1972) Apportionment of human diversity. *Evolutionary Biology*, **6**, 381–398.
- Limpricht W (1928) Taccaceae. *Das Pflanzenreich* IV. 42.
- Miller MP (1997) *Tools for Population Genetic Analysis*. Version 1.3. Department of Biological Sciences, Northern Arizona University, Flagstaff.
- Myers N, Mittermeier RA, Mittermeier CG, da Fonseca GAB, Kent J (2000) Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853–858.
- Nagaoka T, Ogihara Y (1997) Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **93**, 133–139.
- Nei M (1973) Analysis of gene diversity in subdivided populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **70**, 3321–3323.
- Nei M, Li WH (1979) Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **76**, 5269–5273.
- Nybom H (2004) Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants. *Molecular Ecology*, **13**, 1143–1155.
- Rao VS (1969) The vascular anatomy of the flowers of *Tacca pinnatifida*. *Journal of University Bombay*, **38**,

- 18–24.
- Rao RR (1994) *Biodiversity in India: Floristic Aspects*. Bisen Singh Mahendra Pal Singh, Dehra Dun, India.
- Rohlf PJ (1997) *NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System*, Version 2.1. Exeter Software, Setauket, New York, USA.
- Sagarin RD, Gaines SD (2002) The ‘abundant centre’ distribution: to what extent is it a biological rule? *Ecology Letters*, **5**, 137–147.
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, Rauscher JT, Smith WA (1998) Phylogeographic studies in plants: problems and prospects. *Molecular Ecology*, **7**, 465–474.
- Schneider S, Roessli D, Excoffier L (2000) *Arlequin Version 2.000: A Software for Population Genetics Data Analysis*. Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Geneva.
- Slatkin M (1987) Gene flow and the geographic structure of populations. *Science*, **236**, 787–792.
- Slatkin M, Borton NH (1989) A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow. *Evolution*, **85**, 733–752.
- Sun H (孙航), Zhou ZK (周浙昆) (2002) *Seed Plants of the Big Bend Gorge of Yalu Tsangpo in SE Tibet, E. Himalayas* (雅鲁藏布江大峡弯河谷地区种子植物). Yunnan Science and Technology Press, Kunming. (in Chinese)
- Takhtajan A (1969) *Flowering Plants, Origin and Dispersal*. Oliver and Boyd, Edinburgh, UK.
- Wolfe AD, Liston A (1998) Contributions of PCR-based methods to plant systematics and evolutionary biology. In: *Molecular Systematics of Plants. II. DNA Sequencing* (eds Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ), pp. 43–86. Kluwer Academic Publishers, Norwell, MA.
- Wright S (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics*, **15**, 323–354.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle TBJ, Ye ZH, Mao JX (1997) POPGENE, the User-friendly Freeware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Center, University of Alberta, Canada.
- Zhang L, Barrett SCH, Gao JY, Chen J, Cole WW, Liu Y, Bai ZL, Li QJ (2005) Predicting mating patterns from pollination syndromes: the case of “sapromyophily” in *Tacca chantrieri* (Taccaceae). *American Journal of Botany*, **92**, 517–524.

(责任编辑: 葛学军 责任编辑: 时意专)