

DOI: 10.13332/j.1000-1522.20160127

由 8 个 DNA 片段推断云南金钱槭的系统位置

高 健 杜 芳 李俊清

(北京林业大学省部共建森林培育与保护教育部重点实验室)

摘要:云南金钱槭是金钱槭属中的濒危物种,其系统地位迄今存在一定争议。本研究利用 6 个叶绿体基因片段(*psbM-trnD*、*rbcL*、*trnD-trnT*、*rpl16*、*trnL-trnF* 与 *psbA-trnH*) 和 2 个核基因片段(ITS 与 CHS)数据,采用最大简约法(MP)及贝叶斯法(BI)对该种及若干近缘类群进行了系统发育分析,从而探讨云南金钱槭的系统位置。结果显示:1) 基于 6 个叶绿体基因联合数据分析,云南金钱槭所在的金钱槭属形成单系群并与槭属彼此独立,互为姐妹属。2) 基于 CHS 数据分析,金钱槭属物种自身形成单系群,但与槭属物种混在一起。3) 基于 ITS 数据分析,金钱槭属为并系群,其中云南金钱槭内嵌于系统发育树的末端与栲叶槭聚在同一进化分枝。本研究中,不同数据集的结果出现冲突,可能是由于不同基因片段进化速率存在差异的影响。此外,核 CHS 基因在槭树科植物中的有效变异信息位点较少以及核 ITS 基因存在多拷贝的现象,均可能造成与 6 个叶绿体基因组合的分析结果出现差异。综合研究结果并参考形态学证据,倾向于云南金钱槭的系统位置继续归属于金钱槭属。进一步增加基因片段可能有助于云南金钱槭系统位置的明确。

关键词:系统发育位置; 物种界定; 核苷酸序列; 云南金钱槭

中图分类号:S718.49; S792.35 **文献标志码:**A **文章编号:**1000-1522(2017)02-0024-06

GAO Jian; DU Fang; LI Jun-qing. **Systematic position of *Dipteronia dyerana* inferred from eight gene regions.** *Journal of Beijing Forestry University* (2017)**39**(2) 24-29 [Ch, 20 ref.] Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing, 100083, P. R. China.

Dipteronia dyerana is one of the endangered species of genus *Dipteronia*, and its phylogenetic placement is still in dispute thus far. To access the systematic placement of *D. dyerana*, the sequences of ITS, CHS, *psbM-trnD* spacer, *rbcL*, *trnD-trnT* spacer, *rpl16* intron, *trnL-trnF* spacer and *psbA-trnH* spacer regions from the target species were analyzed using parsimony and Bayesian inference methods. The results showed that: 1) The *Dipteronia* was a monophyletic lineage in six chloroplast DNA genes combined. 2) In CHS, *Dipteronia* was a monophyletic lineage, but had a fuzzy relationship with *Acer* spp. 3) *D. dyerana* nested in *Acer* and *Dipteronia* was a paraphyletic lineage in ITS. These results indicated that different data sets had a conflict result, it may be due to different rates of each gene fragment evolution. Less informative sites in CHS and the multicopy in ITS may be the reason why they have different result with six chloroplast DNA genes combined. Integrated research results and morphological evidence, systematic placement of *D. dyerana* should belong to *Dipteronia*. Moreover, much more genes should be chosen when study on systematic placement of *D. dyerana*.

Key words phylogenetic placement; species delimitation; nucleotide sequence; *Dipteronia dyerana*

云南金钱槭(*Dipteronia dyerana*)是隶属于槭树科(Aceraceae)金钱槭属的一种落叶乔木,仅分布于云南东南部及贵州西南部海拔 2 000~2 500 m 的疏林中,为国家Ⅱ级珍惜濒危保护植物^[1]。长期以来,云南金钱槭的种级系统位置界定,主要依据其独特的形态学特征(翅果成圆环形等),并与金钱槭

收稿日期: 2016-04-22 修回日期: 2016-07-26

基金项目: 国家重点研发计划项目(2016YFC0503106)。

第一作者: 高健, 博士生。主要研究方向: 恢复生态学。Email: gaojian5688@163.com 地址: 100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学林学院。

责任作者: 李俊清, 教授, 博士生导师。主要研究方向: 生物多样性与恢复生态学。Email: lijq@bjfu.edu.cn 地址: 同上。

本刊网址: <http://j.bjfu.edu.cn>; <http://journal.bjfu.edu.cn>

(*Dipteronia sinensis*) 共同组成我国特有属——金钱槭属。

金钱槭属作为槭属 (*Acer*) 的姐妹属,常作为槭属等相关研究的外类群,但它常常不能形成单系群或属内物种嵌于槭属中。Tian 等^[2]采用 ITS 和 *trnL-F* 片段对槭属进行系统学研究中,云南金钱槭内嵌于槭属,导致金钱槭属没有形成单系群;Pfosser 等^[3]在关于亚洲槭属物种的亲缘关系重建中,金钱槭内嵌于槭属之内,导致金钱槭属在分析中不能作为外群;Grimm 等^[4]使用 ITS 片段,利用最大似然法构建槭属系统发育树时,云南金钱槭出现在槭属内部;Li 等^[5]研究发现,在最大简约法 (MP) 和最大似然法 (ML) 构建系统树时,金钱槭属的物种不能形成单系群。此外,相对早期的研究也存在类似情况^[6-7]。Yang 等^[8]虽对此进行了讨论,但目标基因片段选择相对较少,且对于槭属属内分类组的辅助研究材料选择较为局限。因此,对云南金钱槭在其近缘物种中进行系统位置的确定研究,具有重要的理论与实践意义。

近年来,在物种系统位置相关分析中,基因片段的的选择多集中于核 ITS 片段以及叶绿体 *trnL-trnF*、*rbcL*、*rpl16* 等片段^[9-15]。此外,在金钱槭属及槭属的研究中,也常使用叶绿体 *psbM-trnD*、*trnD-trnT* 片段^[5]以及 *psbA-trnH* 片段等(未发表数据)。因此,本研究选取 8 个基因片段,包括 6 个叶绿体基因片段 (*psbM-trnD*、*rbcL*、*trnD-trnT*、*rpl16*、*trnL-trnF* 和 *psbA-trnH*) 与 2 个核基因片段 (ITS 与 CHS),研究金钱槭属及其近缘属 (槭属) 的系统发育关系。通过多基因组系统学分析,尝试理清云南金钱槭的系统位置及其与近缘类群的系统关系,并为其姐妹属 (例如:槭属、七叶树属、掌叶木属等) 的研究提供帮助。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究以云南金钱槭为材料,并在槭树属内 14 个分类组中^[16],每组各选取一个物种作为辅助材料 (其中 *psbM-trnD*、*trnD-trnT* 与 CHS 选取不足 14 个) (表 1)。此外,七叶树属 (*Aesculus*) 作外群。叶绿体基因 *psbM-trnD*、*rbcL*、*trnD-trnT* 片段与核基因 ITS 片段序列全部选自 GenBank,叶绿体基因 *rpl16*、*trnL-trnF* 与 *psbA-trnH* 片段大部分为本实验所得,核基因 CHS 片段全部为本实验所得 (表 1)。每个实验物种采集其幼嫩叶片,分别放入置有变色硅胶的取样袋中干燥、备用。同时,压制凭证标本经由北京林业大学博士生高健鉴定并存放于北京林业大学林学院。

1.2 DNA 提取、聚合酶链式反应 (PCR) 及测序

每份样品取约 0.2 g 干燥叶片,采用植物基因组 DNA 小型提取试剂盒 (Plant Genomic DNA kit) 基因组 DNA。叶绿体基因组片段 *rpl16*、*trnL-trnF*、*psbA-trnH* 和核基因组片段 CHS 的 PCR 扩增均在 Labnet MultiGene™ 96-well Gradient Thermal Cycler 上完成。PCR 反应体系为 20 μL,主要包含 DNA 模板 10 ~ 30 ng、50 mmol/L Tris-HCl、1.5 mmol/L MgCl₂、1 mmol/L dNTPs、各 0.3 μL 的正反引物 (表 2)、0.2 U *Taq* DNA 聚合酶 (博尔纳德股份有限公司,台湾)。PCR 反应程序为:94 °C 预变性 3 min;94 °C 变性 30 s,52 ~ 58 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 60 s,共 30 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,送往台湾基龙米克斯生物科技股份有限公司并在 ABI3730XL 遗传分析仪上进行测序。

1.3 数据分析

利用 Bioedit 7.1.11 软件^[17]对获得的基因组片段序列进行整理、拼接以及校正,将经手工校正后的各基因组片段的序列提交至 GenBank,其登录号见表 1。采用 MP 法与贝叶斯法 (BI) 分别构建 8 个单独基因以及 6 个叶绿体联合基因的系统发育关系。PAUP 4.0b10 软件进行 MP 法分析时,空位 (Gap) 作为缺失状态,采用启发式搜索 (Heuristic search) 进行 1 000 次随机加入,以 TBR (tree-bisection-reconnection) 进行枝长交换,得到的系统树分枝的可靠性评价使用自展分析 (bootstrap, BS)。BI 法分析使用 MrBayes ver. 3.2,利用 Modeltest ver. 2.2 进行模型和参数估计,选择最适碱基替代模型。贝叶斯推断以随机树 (random tree) 开始分析,2 条马尔可夫链 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) 同时运行,温度参数值设为 0.2,共运行 1 000 000 代,每 100 代保留 1 棵树。前 25% 代作为动态老化样本 (burn-in samples) 被舍弃,仅对剩余的静态抽样计算一致性树 (consensus tree) 并计算相关参数,一致性树上的各分支可信度评价用后验概率 (posterior probability, PP) 表示。

2 结果与分析

2.1 6 个叶绿体基因单独及联合数据分析

在 6 个叶绿体基因单独分析中,云南金钱槭与其属内姐妹种金钱槭形成单系群的有 *rbcL* (BS = 87%, PP = 100%) 与 *rpl16* (BS = 90%, PP = 98%) 片段;*psbA-trnH*、*trnD-trnT* 与 *trnL-trnF* 片段能把金钱槭属与槭属植物很好分开,但不支持属内两个物种形成单系群;而 *psbM-trnD* 片段的结果显示金钱槭

表 1 试验材料及其序列号

Tab. 1 Species used in this study and their GenBank accession numbers

属 Genera	组 Section	来源 Source	编号 Code	采集者 Collector	种 Species	序列登录号 GenBank accession No.							
						ITS	CHS	psbM-trnD	rbcL	trnD-trnT	rpl16	trnH-PsbA	trnL-F
七叶树属 <i>Aesculus</i>		青秀山, 南宁 Mountain, Nanning	k028	陆志成 LU Zhi-cheng	<i>A. wangii</i>	AF406968	KX000286 *						
		NCBI			<i>A. glabra</i>			DQ659840		AY968623			
		NCBI			<i>A. flava</i>				DQ978441	AY968613	DQ978509	DQ978642	DQ978573
		NCBI			<i>A. parviflora</i>				DQ978448		DQ978510	DQ978643	DQ978574
		上海植物园, 上海 Shanghai Botanical Garden, Shanghai	i008	杜宝明 DU Bao-ming	<i>A. chinensis</i>		KX000285 *						
金钱槭属 <i>Diteronia</i>		堵河源保护区, 十堰 Duheyuan National Nature Reserve, Shiyan	y010	郑德国 ZHENG De-guo	<i>D. dyerana</i>	DQ238333	KX000287 *	DQ659838	DQ978443	DQ659778	DQ978512	DQ978645	DQ978576
		青秀山, 南宁 Mountain, Nanning	k029b	陆志成 LU Zhi-cheng	<i>D. sinensis</i>	AY605290	KX000288 *	DQ659839	DQ978444	DQ659779	KU500460 *	KU500519 *	KU522513 *
槭属 <i>Acer</i>	尖齿枫组 sect. <i>Arguta</i>	安图县, 延边 County, Yanbian	q004	刘琪璟 LIU Qi-jing	<i>A. barbinerve</i>	AJ634569	KX000274 *		DQ978395		KU500434 *	KU500513 *	KU522490 *
		NCBI			<i>A. acuminatum</i>			DQ659841		DQ659781			
	全缘叶枫组 sect. <i>Oblonga</i>	上海植物园, 上海 Shanghai Botanical Garden, Shanghai	i002	杜宝明 DU Bao-ming	<i>A. buergerianum</i>	AY605466	KX000275 *	DQ659843		DQ659783	KU500435 *	KU500514 *	KU522491 *
		NCBI			<i>A. buergerianum</i> var. <i>formosanum</i>				DQ978396				
	枫组 sect. <i>Acer</i>	NCBI			<i>A. caesium</i> subsp. <i>giraldii</i>	AY605295		DQ659893	DQ978397	DQ659833	DQ978453	DQ978584	DQ978519
	穗状枫组 sect. <i>Spicata</i>	NCBI			<i>A. caudatum</i> subsp. <i>multiserratum</i>	AY605432			DQ978401				
		华南植物园, 广州 China Botanical Garden, Guangzhou	d005	简曙光 JIAN Shu-guang	<i>A. caudatum</i>		KX000276 *	DQ659887		DQ659827	KU500444 *	KU500509 *	KU522508 *
	大花枫组 sect. <i>Macrantha</i>	NCBI			<i>A. davidii</i> subsp. <i>davidii</i>	AY605392			DQ978406				
		浙江农林大学, 临安 Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an	o001	陈秋夏 CHEN Qiu-xia	<i>A. davidii</i>		KX000277 *	DQ659848		DQ659788			
		浙江农林大学, 临安 Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an	o006	陈秋夏 CHEN Qiu-xia	<i>A. davidii</i> subsp. <i>grosseri</i>						KU500459 *	KU500550 *	KU522512 *
	鸡爪枫组 sect. <i>Palmata</i>	NCBI			<i>A. palmatum</i> subsp. <i>palmatum</i>	AY605425							
		中科院植物所, 北京 Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing	h015	廖培钧 LIAO Pei-jun	<i>A. palmatum</i>		KX000280 *	DQ659867	DQ978421	DQ659807	KU500472 *	KU500503 *	KU522530 *
	三小叶枫组 sect. <i>Trifoliata</i>	堵河源保护区, 十堰 Duheyuan National Nature Reserve, Shiyan	y005	郑德国 ZHENG De-guo	<i>A. griseum</i>	AY605467	KX000278 *	DQ659857	DQ978411	DQ659797	KU500463 *	KU500530 *	KU522514 *
	扁果枫组 sect. <i>Hyptiocarpa</i>	NCBI			<i>A. laurinum</i>	AM113541			DQ978413	DQ659794	DQ978473	DQ978604	DQ978536
	复叶枫组 sect. <i>Negundo</i>	华南植物园, 广州 China Botanical Garden, Guangzhou	d001a	简曙光 JIAN Shu-guang	<i>A. negundo</i>	AY605406	KX000279 *	DQ659864	DQ978417	DQ659804	KU500471 *	KU500535 *	KU522527 *
	五小叶枫组 sect. <i>Pentaphylla</i>	茂县, 阿坝藏族羌族自治 州 Maixian County, Aba Tibetan and Qiang Autonomous Prefecture	u003	包维楷 BAO Wei-kai	<i>A. pentaphyllum</i>	DQ238478	KX000281 *	DQ659870	DQ978422	DQ659810	KU500474 *	KU500538 *	KU522534 *

表 1(续)

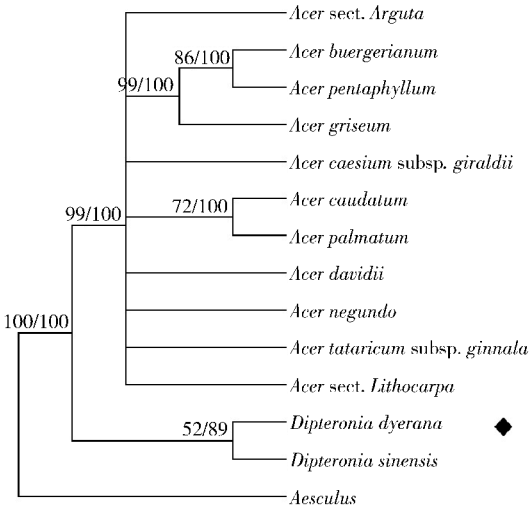
属	组	来源	编号	采集者	种	序列登录号 GenBank accession No.							
						ITS	CHS	psbM-trnD	rbcL	trnD-trnT	rpl16	trnH-PsbA	trnL-F
槭属	疏毛枫组 sect. <i>Pubescentia</i>	中科院植物所, 北京	h013	廖培钧 LIAO Pei-jun	<i>A. pilosum</i>	DQ238345			DQ978423		KU500491 *	KU500546 *	KU522535 *
		NCBI			<i>A. pilosum</i> var. <i>stenolobum</i>		KX000282 *						
	桐状枫组 sect. <i>Platanoidea</i>	黑龙江森林植物园, 哈尔滨	h004	毛子军 MAO Zi-jun	<i>A. pictum</i> subsp. <i>mono</i>	LK022665					KU500431 *	KU500534 *	KU522525 *
		NCBI			<i>A. pictum</i> subsp. <i>pictum</i>				AB872557				
	茶条枫组 sect. <i>Ginnala</i>	黑龙江森林植物园, 哈尔滨	h002	毛子军 MAO Zi-jun	<i>A. tataricum</i> subsp. <i>ginnala</i>	AY605363	KX000284 *	DQ659855	DQ978436	DQ659795	KU500479 *	KU500521 *	KU522544 *
		NCBI			<i>A. sterculiaceum</i> subsp. <i>franchetii</i>	DQ366145			DQ978435				
	坚果枫组 sect. <i>Lithocarpa</i>	紫金山, 南京	Zijin m008	葛之薇 GE Zhi-wei	<i>A. sinopurpurascens</i>		KX000283 *	DQ659878		DQ659818	KU500490 *	KU500545 *	KU522538 *

注：* 代表本研究中获得序列。Notes：* represents sequences obtained in present study；NCBI, National Center for Biotechnology Information.

属与槭属混在一起,形成并系群。

在 6 个叶绿体基因联合分析中,覆盖云南金钱槭、金钱槭、槭树属内 11 个分类组以及外群七叶树属。七叶树属以及部分槭树属内分类组物种的基因片段来源于同一属及同一组的不同物种(表 1)。其中 *Aesculus flara* 缺 *psbM-trnD* 片段由 *Aesculus glabra* 的 *psbM-trnD* 片段代替,来象征七叶树属;尖齿枫组中 *Acer barbinerve* 缺 *psbM-trnD* 与 *trnD-trnT* 片段由 *Acer acuminatum* 的 *psbM-trnD* 与 *trnD-trnT* 片段代替,来象征尖齿枫组(*Acer* sect. *Arguta*);坚果枫组中 *Acer sinopurpurascens* 缺 *rbcL* 片段由 *Acer sterculiaceum* subsp. *franchetii* 的 *rbcL* 片段代替,来象征坚果枫组(*Acer* sect. *Lithocarpa*),此外,扁果枫组(*Acer* sect. *Hyptiocarpa*)、疏毛枫组(*Acer* sect. *Pubescentia*)、桐状枫组(*Acer* sect. *Platanoidea*)因序列不全,不列入 6 个叶绿体基因联合分析中。6 个叶绿体基因联合矩阵的序列总长度为 4 860 bp,变异位点为 685 个,其中信息位点为 97 个。联合数据的最优进化模型为 GTR + G。最大简约法分析得出 1 棵最简约树,树长为 913,一致性指数(consistency index)为 0.863 1,保持性指数(retension index)为 0.362 2。在叶绿体基因联合最简约树中(图 1),槭属物种(BS = 99%,PP = 100%)被强烈支持形成单系群,而金钱槭属物种虽也被认为是单系群,但其支持度相对较低(BS = 52%,PP = 89%)。此外,金钱槭属与槭属被强烈支持为姐妹属(BS = 100%,PP = 100%)。最大简约法与贝叶斯分析结果显示,两种分析方法所构建的系统树拓扑结构较为一致,在自展支持率上,贝叶斯分析略高于最大简

约法。



菱形◆表示云南金钱槭的系统位置。分支上部数值表示 MP 分析的抽样自展值(≥50%),分支下部数值是贝叶斯分析的后验概率值(≥50%)。以下各图同此。◆ represents the phylogenetic status of *D. dyeriana*. Values at nodes indicate bootstrap support under maximum likelihood and parsimony. Bootstrap values (≥50%) are shown above the branches, and Bayesian posterior values (≥50%) are indicated below the branches. The same as below.

图 1 基于叶绿体基因合并序列分析构建的最大简约树

Fig. 1 Single most parsimonious tree generated from combined chloroplast data

2.2 CHS 序列分析

CHS 序列分析中涵盖了云南金钱槭、金钱槭、槭树属内 11 个物种(分别代表 11 个组)及 2 个七叶树属物种(表 1)。CHS 矩阵的序列总长度为 526 bp,变异位点为 78 个,其中信息位点为 64 个。数据的最优进化模型为 HKY + G。最大简约法分析得

出 1 棵最简约树, 树长为 114, 一致性指数 (CI) 为 0.736 8, 保持性指数 (RI) 为 0.687 5。在 CHS 序列数据分析中 (图 2), 云南金钱槭与其姐妹种金钱槭形成高支持度的单系群 (BS = 99%, PP = 99%), 但与 6 个叶绿体基因分析结果不同, 金钱槭属与槭树属间关系较为模糊。

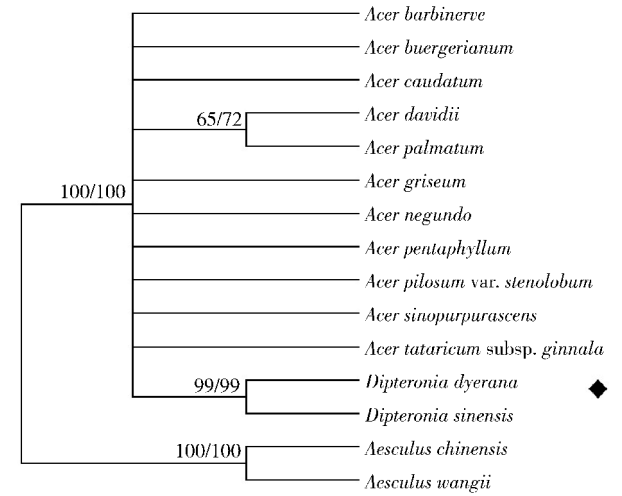


图 2 基于 CHS 序列分析构建的最大简约树
Fig. 2 Single most parsimonious tree generated from CHS data

2.3 ITS 序列分析

ITS 序列分析中涵盖了云南金钱槭、金钱槭、槭树属内 14 个物种 (分别代表 14 个组) 及 1 个七叶树属物种 (表 1)。ITS 矩阵的序列总长度为 559 bp, 变异位点为 178 个, 其中信息位点为 81 个。联合数据的最优进化模型为 GTR + G。最大简约法分析得出 1 棵最简约树, 树长为 415, 一致性指数 (CI) 为 0.566 3, 保持性指数 (RI) 为 0.174 3。在 ITS 序列数据分析中 (图 3), 金钱槭属物种与槭属物种混在一起, 为并系群。其中, 云南金钱槭内嵌于槭属内部, 与桤叶槭 (*Acler negundo*) 聚合在系统树的末端。

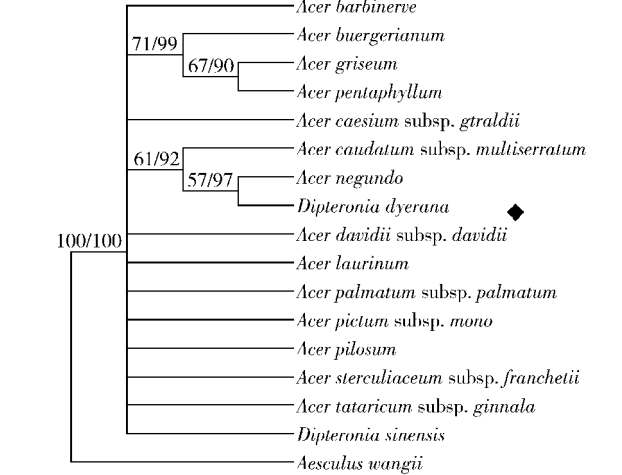


图 3 基于 ITS 序列分析构建的最大简约树
Fig. 3 Single most parsimonious tree generated from ITS data

3 讨论与结论

方文培^[1]、Xu 等^[16]根据云南金钱槭冬芽裸露, 叶系为羽状复叶 (7 ~ 15 小叶) 以及果实具有圆形翅等特征, 与具有类似形态的金钱槭一并归入金钱槭属。而以上的形态差异也正是金钱槭属与槭属主要的形态分类依据。在以往关于槭属的系统学研究中, 出现过多次云南金钱槭的系统位置内嵌于槭属内部的现象^[2, 4-5]。更有甚者, 因金钱槭属物种不能与槭属物种区分, 从而把 2 个属作为一个整体进行讨论^[3]。在本研究中, 通过叶绿体基因组合、CHS 片段和 ITS 片段的分析显示, 的确存在云南金钱槭系统位置不一致的现象。在 6 个叶绿体基因组合构建的系统发育树中, 云南金钱槭与金钱槭形成单系群, 且金钱槭属与槭属互为姐妹属 (BS = 100%, PP = 100%) (图 1), 此结果支持 Renner 等^[18]基于叶绿体基因构建的系统发育树。值得注意的是, 以往基于叶绿体基因的研究中, 曾出现过金钱槭属内物种内嵌于槭属内部^[2-3]以及金钱槭属与槭属之间形成并系群的状况^[5], 但这类状况多出现在基于少量叶绿体基因的研究结果 (单个或两个)。而在本研究中增加叶绿体基因数量之后, 云南金钱槭所在的金钱槭属与槭属之间被高度支持为姐妹属 (图 1)。所以, 从基于叶绿体基因遗传分析的角度来讲, 支持前人形态分类学^[1, 16]的结果。

相较于母系遗传的叶绿体基因, 双亲遗传的核基因可能蕴含着更加丰富的系统发育信息^[19]。在 CHS 基因构建的系统发育树中, 云南金钱槭所在的金钱槭属为单系群并被强烈支持 (BS = 99%, PP = 99%), 但与槭属间的亲缘关系并不明确 (图 2)。而且, 核 CHS 基因对于槭属属内物种间亲缘关系的解析力较差 (图 2)。这可能是由于核 CHS 基因缺乏足够的变异信息位点所导致。而在核 ITS 基因构建的系统发育树中, 云南金钱槭的系统位置位于槭属内部 (图 3), 此前也有类似的研究结果^[4, 8]。由于核基因相较于叶绿体基因具有较快的进化速率^[20], 以及金钱槭属与槭属的分化时间约为 62 百万年前^[18]。所以, 在核 ITS 基因中, 云南金钱槭与槭属物种可能因长时间的适应性进化导致序列出现趋同, 而单亲遗传的叶绿体基因的变异相对保守, 反应出较为原始的系统关系。需要指出的是, 核 ITS 基因存在多拷贝的情况, 况且槭树科的物种间杂交较为常见^[3], 协同进化的时间可能不足以使多个拷贝变为相同的基因型。所以, 克隆挑选出直系同源拷贝进行系统发育重建可能是下一步的研究方向。

综上所述, 6 个叶绿体基因组合与核 CHS 基因

的序列分析结果,均支持云南金钱槭所在的金钱槭属为单系群,并且6个叶绿体基因组合高度支持金钱槭属与槭属互为姐妹属。核ITS基因虽然支持云南金钱槭归入槭属之内,但多拷贝的问题值得注意。结合形态学证据,尤其是云南金钱槭与槭属植物翅果形状的明显差异^[1, 16],建议云南金钱槭的系统位置继续放在金钱槭属之内。此外,完善槭属物种的采样种类以及增加实验所选择的基因数量,将有助于进一步准确界定云南金钱槭的系统位置。

致谢 感谢台湾师范大学廖培均副教授、黄秉宏博士和内蒙古大学柴诗瑶老师对论文初稿的修改。

参 考 文 献

[1] 方文培. 中国植物志: 46 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 129.
FANG W P. Flora republicae popularis sinicae: 46 [M]. Beijing: Science Press, 1981: 129.

[2] TIAN X, GUO Z H, LI D Z. Phylogeny of Aceraceae based on ITS and *trnL*-F data sets [J]. Acta Botanica Sinica, 2002, 44(6): 714-724.

[3] PFOSSER M F, GUZY-WRÓBELSKA J, SUN B Y, et al. The origin of species of *Acer* (Sapindaceae) endemic to Ullung Island, Korea[J]. Systematic Botany, 2002, 27(2): 351-367.

[4] GRIMM G W, RENNER S S, ALEXANDROS S, et al. A nuclear ribosomal DNA phylogeny of *Acer* inferred with maximum likelihood, splits graphs, and motif analysis of 606 sequences[J]. Evolutionary Bioinformatics, 2006, 2(1): 7-22.

[5] LI J H, YUE J P, SHOUP S. Phylogenetics of *Acer* (Aceroidae, Sapindaceae) based on nucleotide sequences of two chloroplast non-coding regions[J]. Harvard Papers in Botany, 2006, 11(1): 101-115.

[6] CHO H J, KIM S, SUH Y, et al. ITS sequences of some *Acer* species and phylogenetic implication[J]. Korean Journal of Plant Taxon, 1996, 26(4): 271-291.

[7] SUH Y, PARK C H K. Phylogenetic relationships of maples (*Acer* L.; Aceraceae) implied by nuclear ribosomal ITS sequences[J]. Journal of Plant Research, 2000, 113(2): 193-202.

[8] YANG J, WANG X M, LI S, et al. What is the phylogenetic placement of *Dipteronia dyerana* Henry: an example of plant species placement based on nucleotide sequences [J]. Plant Biosystems, 2010, 144(3): 634-643.

[9] 赵一之, 成文连, 尹俊, 等. 用 rDNA 的 ITS 序列探讨绵刺属的系统位置[J]. 植物研究, 2003, 23(4): 402-406.
ZHAO Y Z, CHENG W L, YIN J, et al. A reevaluation of the status of *Potaninia* based on internal transcribed spacer sequences [J]. Bulletin of Botanical Research, 2003, 23(4): 402-406.

[10] 方伟, 杨俊波, 杨世雄, 等. 基于叶绿体四个 DNA 片段联合分析探讨山茶属长柄山茶组、金花茶组和超长柄茶组的系统位置与亲缘关系[J]. 云南植物研究, 2010, 32(1): 1-13.
FANG W, YANG J B, YANG S X, et al. Phylogeny of *Camellia* sects. *Longipedicellata*, *Chrysanth*a and *Longissima* (Theaceae)

based on sequence data of four chloroplast DNA loci [J]. Acta Botanica Yunnanica, 2010, 32(1): 1-13.

[11] 赖宏武, 齐耀东, 刘海涛, 等. 贝母类药材湖北贝母 *Fritillaria hupehensis* 系统位置的探讨: 来自 ITS, *rpl16*, *matK* 序列的证据 [J]. 中国中药杂志, 2014, 39(17): 3269-3273.
LAI H W, QI Y D, LIU H T, et al. Phylogenetic analysis for *Fritillaria hupehensis*: evidence from ITS, *rpl16* and *matK* sequences [J]. China Journal of Chinese Mater in Medica, 2014, 39(17): 3269-3273.

[12] 穆琳, 谢磊. 槭叶铁线莲的系统位置初探——来自 ITS 和叶绿体 DNA 序列片段的分析 [J]. 北京林业大学学报, 2011, 33(5): 49-55.
MU L, XIE L. A preliminary study on the systematic position of *Clematis acerifolia* based on the analyses of ITS and plastid regions [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2011, 33(5): 49-55.

[13] 夏至, 李家美, 张红瑞, 等. 基于 5 个基因片段的野胡麻属系统位置研究 [J]. 西北植物学报, 2012, 32(7): 1334-1342.
XIA Z, LI J M, ZHANG H R, et al. Systematic position of *Dodartia* L. inferred from five gene regions [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2012, 32(7): 1334-1342.

[14] 杨路存, 陈桂琛, 周国英. 基于不同 DNA 序列对四数獐牙菜系统位置分析 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(9): 1773-1779.
YANG L C, CHEN G C, ZHOU G Y. Systematic psition of *Swertia tetraptera* Maxim. inferred from ITS, *rpl16* and *trnL-trnF* DNA sequences [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2010, 30(9): 1773-1779.

[15] 勾彩云, 张寿洲, 耿世磊. 基于 *rbcL* 和 *trnL-trnF* 序列探讨粤紫萁的系统位置及遗传关系 [J]. 西北植物学报, 2008, 28(11): 2178-2183.
GOU C Y, ZHANG S Z, GENG S L. Phylogenetic position and genetic relationship of *Osmunda mildei* (Osmundaceae): evidence from *rbcL* gene and *trnL-trnF* region [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2008, 28(11): 2178-2183.

[16] XU T Z, CHEN Y S, DE JONG P C, et al. Flora of China: 11 [M]. Beijing: Science Press, 2008, 515-553.

[17] HALL T A. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. Nucleic Acids Symposium Series, 1999, 41: 95-98.

[18] RENNER S S, BEENKEN L, GRIMM G W, et al. The evolution of dioecy, heterodichogamy, and labile sex expression in *Acer* [J]. Evolution, 2007, 61(11): 2701-2719.

[19] 曾丽萍, 张宁, 马红. 被子植物系统发育深层关系研究: 进展与挑战 [J]. 生物多样性, 2014, 22(1): 21-39.
ZENG L P, ZHANG N, MA H. Advances and challenges in resolving the angiosperm phylogeny [J]. Biodiversity Science, 2014, 22(1): 21-39.

[20] FREELAND J R. Molecular ecology [M]. Chichester: Wiley, 2005.

(责任编辑 赵勃
责任编辑委 赵秀海)