



中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国科学院引文数据库(CSCD)来源期刊
首批林草科技重点期刊

ISSN 1000-3142
CN 45-1134/Q
CODEN GUZHEI

广西植物

GUIHAIA



第42卷 第10期 Vol. 42 No. 10
2022年10月 Oct. 2022

植物分类与系统进化 专刊



广西壮族自治区 广西植物研究所 广西植物学会 主办
中国科学院 广西植物研究所 广西植物学会 主办
Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region
and Chinese Academy of Sciences
Guangxi Society of Botany



科学出版社 出版
Science Press

10
2022

<http://www.guihaia-journal.com>

公益广告

奋进新征程 建功新时代



敬业奉献

忠诚履职

初心不改

砥砺前行



《广西植物》始终秉承“服务植物科学，促进学术交流，支撑生态文明建设”的办刊宗旨，致力于报道植物学领域的原创性研究成果，努力打造一流学术期刊，积极推动植物科学发展！

《广西植物》编辑部 宣

目次

专刊：植物分类与系统进化

中国水韭属两个四倍体新种(英文) 舒江平, 顾钰峰, 欧治国, 邵文, 杨娟, 陆奇勇, 张宪春, 刘保东, 王瑞江, 严岳鸿(1623)

越南莲座状复苏卷柏一新种——越南卷柏(卷柏科)(英文) 张梦华, 杨杰, LUU Hong Truong, TRAN Gioi, 张宪春(1632)

竹亚科单枝竹属芸香竹花枝和花特征补充描述 张雨曲, 杨新杰, 程虎印, 高静, 彭亮, 张明英, 张岗(1641)

白毛算盘子(叶下珠科)在中国无分布 张文华, 郭永杰, 李玉玲, 姚纲(1645)

新疆阿魏雄性不育的细胞形态学研究 何爽, 谭敦炎(1652)

中国五种仙茅科植物叶形态及其分类学意义 田琴, 段涵宁, 王云强, 李海涛, 李璐(1661)

色季拉山10种报春花属植物花粉形态及其分类学意义 刘林, 张良英, 程贵兰, 何丹, 张力飞, 孟凡丽(1675)

基于Ks分布的被子植物演化的时间尺度研究 焦贝贝, 王希胤(1684)

云南被子植物菊类分支的系统发育多样性及其分布格局 周韩洁, 杨入瑄, 李嵘(1694)

基于叶绿体基因组SNP的天台鹅耳枥谱系结构与分化分析 陈模舜, 杨仲毅(1703)

基于分子证据确认秦岭藤属与驼峰藤属(夹竹桃科)的系统位置 廖苗, 曾思金, 唐光大(1717)

净多样化速率和进化时间对虎耳草目科间物种多样性差异的影响 顾嘉豪, 张粒毫, 张皓昱, 仵天晴, 黄林青, 程瑞静, 徐莹, 王庆刚, 徐晓婷(1730)

质体系统发育基因组解析旋花科系统发育关系 陈丽琼, 张志荣, 杨俊波, 李德铎, 郁文彬(1740)

白花刺续断野生居群的叶绿体全基因组特征解析 张倩, 张德全(1750)

胶瘤菌属和孔生胶瘤菌——中国新记录属/种 朱学泰, 杜璠, 冶晓燕, 范佳馨, 蒋长生(1762)

中国仙人掌科一新归化种——匍地仙人掌 王琦, 严靖(1767)

中国哥纳香属(番荔枝科)植物新资料(英文) 杨斌, 王立彦, 周仕顺, 李剑武, 肖春芬, 谭运洪(1772)

中国西藏兰科植物新资料 李孟凯, 普布顿珠, 邢震, 李惠玲, 章漳, 王伟(1780)

绿绒蒿属——中国新记录种——尼东绿绒蒿 张旭, 周海艺, 徐畅隆, 徐波(1786)

硅藻中国新记录种——帕瓦拉桥湾藻 龙继艳, 刘冰, 周阳艳, 徐三妹, 陈锦华(1791)

责任编辑 蒋巧媛 李莉 周翠鸣
责任校对 李莉 周翠鸣 蒋巧媛 邓斯丽 王登惠
英文编辑/校对 周翠鸣 蒋巧媛 李莉 邓斯丽 王登惠
封面/版式设计 蒋巧媛 李莉 周翠鸣 邓斯丽 王登惠

期刊基本参数: CN 45-1134/Q * 1981 * m * A4 * 174 * zh+en * P * ¥45.00 * 1200 * 20 * 2022-10

封面说明: 我国幅员辽阔, 自然地理条件复杂, 并且气候类型多样, 适宜大多数外来物种的归化和入侵。现已有仙人掌科仙人掌属的仙人掌(*Opuntia dillenii*)、梨果仙人掌(*O. ficus-indica*)、单刺仙人掌(*O. monacantha*)和胭脂掌(*O. cochenillifera*)归化于我国华南地区的海边沙滩和西南地区的干热河谷地带。仙人掌属植物在我国的栽培历史悠久, 深受各植物园以及植物爱好者的喜爱。其习性强健, 耐干旱瘠薄, 果实和叶状茎均可食用或药用, 不仅有较高的观赏价值, 而且还是荒山绿化和改良沙漠环境的优良植物。目前, 仙人掌科植物主要归化于我国南方地区, 而匍地仙人掌的发现对于仙人掌属植物在我国暖温带地区的推广应用具有极其重要的意义, 在对其进行风险评估的基础上可合理开发利用, 有望成为仙人掌属耐寒物种资源创新的极佳材料。

照片示: 仙人掌属部分归化植物。1. 匍地仙人掌; 2. 二色仙人掌; 3. 胭脂掌; 4. 仙人掌。照片由王琦、严靖提供。相关内容详见本期正文 1767-1771 王琦等的文章。

1	2
3	4

CONTENTS

Special Issue: Plant classification and System Evolution

Two new tetraploid quillwort species, *Isoetes longpingii* and *I. xiangfei* from China (Isoëtaceae) SHU Jiangping, GU Yufeng, OU Zhiguo, SHAO Wen, YANG Juan, LU Qiyong, ZHANG Xianchun, LIU Baodong, WANG Ruijiang, YAN Yuehong(1623)

Selaginella pseudotamariscina (Selaginellaceae), an overlooked rosette-forming resurrection spikemoss from Vietnam ZHANG Menghua, YANG Jie, LUU Hong Truong, TRAN Gioi, ZHANG Xianchun(1632)

Supplementary description of flowering branches and flowers of *Bonia amplexicaulis* in Guangxi ZHANG Yuqu, YANG Xinjie, CHENG Huyin, GAO Jing, PENG Liang, ZHANG Mingying, ZHANG Gang(1641)

Exclusion of *Glochidion arborescens* (Phyllanthaceae) from the flora of China ZHANG Wenhua, GUO Yongjie, LI Yuling, YAO Gang(1645)

Morphological and cytological studies on male sterility in *Ferula sinkiangensis* HE Shuang, TAN Dunyan(1652)

Leaf morphology and taxonomic significance of five species in Hypoxidaceae from China TIAN Qin, DUAN Hanning, WANG Yunqiang, LI Haitao, LI Lu(1661)

Pollen morphology and its taxonomic significance of 10 *Primula* species from the Shergyla Mountains LIU Lin, ZHANG Liangying, CHENG Guilan, HE Dan, ZHANG Lifei, MENG Fanli(1675)

Timescale of angiosperm evolution based on Ks distribution JIAO Beibei, WANG Xiyin(1684)

Phylogenetic diversity and its distribution pattern of asterids in Yunnan angiosperms flora ZHOU Hanjie, YANG Ruxuan, LI Rong(1694)

Genealogical structure and differentiation analysis of *Carpinus tientaiensis* based on single nucleotide polymorphism of chloroplast genome CHEN Moshun, YANG Zhongyi(1703)

Confirmation of the systematic positions about *Biondia* and *Merrillanthus* (Apocynaceae) based on molecular evidence LIAO Miao, ZENG Sijin, TANG Guangda(1717)

Influence of net diversification rate and evolutionary time on the differences in species richness among families of order Saxifragales GU Jiahao, ZHANG Lihao, ZHANG Haoyu, WU Tianqing, HUANG Linqing, CHENG Ruijing, XU Ying, WANG Qinggang, XU Xiaoting(1730)

Plastid phylogenomic insights into the phylogeny of Convolvulaceae CHEN Liqiong, ZHANG Zhirong, YANG Junbo, LI Dezhu, YU Wenbin(1740)

Analysis of complete chloroplast genome characteristics from wild populations of *Acanthocalyx alba* ZHANG Qian, ZHANG Dequan(1750)

New records of species *Carcinomyces polyporina* and genus *Carcinomyces* in China ZHU Xuetai, DU Fan, YE Xiaoyan, FAN Jiabin, JIANG Changsheng(1762)

Opuntia humifusa (Raf.) Raf., a newly naturalized species of Cactaceae in China WANG Qi, YAN Jing(1767)

Additions to *Goniothalamus* (Annonaceae) in the flora of China YANG Bin, WANG Liyan, ZHOU Shishun, LI Jianwu, XIAO Chunfen, TAN Yunhong(1772)

Newly recorded species data of Orchidaceae from Tibet, China LI Mengkai, Pubu Dunzhu, XING Zhen, LI Huiling, ZHANG Zhang, WANG Wei(1780)

Meconopsis dhuojii G. Taylor ex Hay (*Meconopsis* Viguiet), a new record to China ZHANG Xu, ZHOU Haiyi, XU Changlong, XU Bo(1786)

Cymbella pavanaensis A. Vigneshwaran et al., a diatom reported for the first time in China LONG Jiyan, LIU Bing, ZHOU Yangyan, XU Sanmei, CHEN Jinhua(1791)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202112045

舒江平, 顾钰峰, 欧治国, 等. 中国水韭属两个四倍体新种 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1623–1631.

SHU JP, GU YF, OU ZG, et al. Two new tetraploid quillwort species, *Isoetes longpingii* and *I. xiangfei* from China (Isoëtaceae) [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1623–1631.

Two new tetraploid quillwort species, *Isoetes longpingii* and *I. xiangfei* from China (Isoëtaceae)

SHU Jiangping^{1, 2}, GU Yufeng^{1, 3}, OU Zhiguo⁴, SHAO Wen⁵, YANG Juan⁶, LU Qiyong⁶, ZHANG Xianchun⁷, LIU Baodong³, WANG Ruijiang^{2*}, YAN Yuehong^{1*}

(1. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration for Orchid Conservation and Utilization, the Orchid Conservation & Research Center of Shenzhen, Shenzhen 518114, Guangdong, China; 2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. Life Science and Technology College, Harbin Normal University, Key Laboratory of Plant Biology in Colleges of Heilongjiang Province, Harbin 150025, China; 4. Hunan Shangjie Instrument Co., Ltd., Changsha 410000, China; 5. Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai Chenshan Plant Research Center, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201602, China; 6. Tongdao Dong Autonomous County Forestry Bureau, Huaihua 418500, Hunan, China; 7. State Key Laboratory of Systematic and Evolution Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China)

Abstract: Two new tetraploid quillwort species, *Isoetes longpingii* and *I. xiangfei*, from China are described and illustrated. *I. longpingii* is a fully submerged plant found in a small pond of Hunan Province. It is morphologically similar to *I. sinensis*, but differs in its small and tuberculate-cristate megaspores and soft slender leaves that grow up to 60 cm. It is also similar to hexaploid *I. orientalis*, but differs in its 44 chromosomes and tuberculate-cristate megaspores. *I. xiangfei* is most similar to diploid *I. yunguiensis* in megaspore ornamentation, but differs in its microspore ornamentation, oblong sporangium, and 44 number of chromosomes. There are a few individuals of *I. longpingii* found in Ningxiang City of Hunan Province, and *I. xiangfei* is distributed in the wetlands of Tongdao and Huitong counties of Hunan Province. Because of their limited geographic ranges, small populations, fewer individuals and disturbed habitats, *I. longpingii* and *I. xiangfei* are evaluated as critically endangered (CR) and vulnerable (VU) category, respectively, according to the IUCN Red List criteria. A key to all the current known Chinese quillworts is also provided for further taxonomic identification and conservation of these rare and endangered plants in China.

Key words: new taxon, *Isoetes*, Lycopods, polyploid, heterosporous, aquatic plants

CLC number: Q949 **Document code:** A **Article ID:** 1000-3142(2022)10-1623-09

收稿日期: 2022-01-13

基金项目: 中国科学院战略先导项目(XDA19050404); 国家自然科学基金面上项目(3217020964); 哈尔滨师范大学研究生创新项目(HSDBSCX2021-01); 兰科植物保护与利用国家林业和草原局重点实验室开放基金项目(OC202103) [Supported by Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (XDA19050404); National Natural Science Foundation of China (3217020964); Harbin Normal University Postgraduate Innovation Project (HSDBSCX2021-01); Open Fund of Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration of Orchid Conservation and Utilization (OC202103)].

第一作者: 舒江平(1991-), 博士, 主要研究方向为蕨类植物系统基因组学, (E-mail) sjp1991@163.com。

*通信作者: 严岳鸿, 博士, 研究员, 研究方向为蕨类植物多样性与进化, (E-mail) yhyan@sibs.ac.cn; 王瑞江, 博士, 研究员, 研究方向为植物分子系统与进化, (E-mail) wangrj@scbg.ac.cn。

中国水韭属两个四倍体新种

舒江平^{1,2}, 顾钰峰^{1,3}, 欧治国⁴, 邵文⁵, 杨娟⁶, 陆奇勇⁶,
张宪春⁷, 刘保东³, 王瑞江^{2*}, 严岳鸿^{1*}

(1. 深圳市兰科植物保护研究中心 兰科植物保护与利用国家林业和草原局重点实验室, 广东 深圳 518114; 2. 中国科学院华南植物园 植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650; 3. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院, 哈尔滨 150025; 4. 湖南尚捷仪器有限公司, 长沙 410000; 5. 上海辰山植物园 上海辰山植物科学研究中心, 上海 201602; 6. 通道侗族自治县林业局, 湖南 怀化 418500; 7. 中国科学院植物研究所 系统与进化植物学国家重点实验室, 北京 100093)

摘要: 水韭属 (*Isoetes*) 是起源最为古老的水生维管植物, 全属物种均被列为国家一级重点保护植物。通过对全国水韭属植物的调查和研究发现, 不同产地的四倍体植株在形态上存在显著差异。基于形态学、孢粉学和细胞学证据, 将分布于中国湖南省长沙地区和怀化地区的四倍体居群分别命名为隆平水韭 (*Isoetes longpingüi*) 和湘妃水韭 (*I. xiangfei*), 并详细描述了其形态特征。隆平水韭形态上与中华水韭 (*I. sinensis*) 相似, 不同之处在于其大孢子具小的瘤状或冠状纹饰, 叶细长而柔弱, 长达 60 cm; 该种也与六倍体东方水韭 (*I. orientalis*) 相似, 不同之处在于其染色体 44 条, 大孢子具瘤状或冠状纹饰。湘妃水韭的大孢子纹饰虽与二倍体云贵水韭 (*I. yunguiensis*) 相似, 但在小孢子纹饰、孢子囊形状和染色体数目方面却不同。隆平水韭仅少数植株生长于湖南省宁乡市一处池塘, 完全沉水生长, 而湘妃水韭则分布于怀化市通道县和会同县的湿地。由于这两个新种的分布区狭窄, 野生居群数量和个体数较少, 栖息地环境受到人为干扰, 因此根据 IUCN 红色名录评估标准, 将隆平水韭评为极危 (CR) 等级, 湘妃水韭评为易危 (VU) 等级。所编制的中国已知水韭属物种的分种检索表, 为本属物种的鉴定和保护工作提供了重要参考。

关键词: 新分类群, 水韭属, 石松类植物, 多倍体, 异型孢子, 水生植物

Isoetes L. (1753: 1100) is the only extant genus of the family Isoëtaceae, with an extensive fossil record dating from the Devonian Period (Pigg, 2001; Wang et al., 2019) to rapid diversification in the Cenozoic Era (Pereira et al., 2017b, 2021; Wood et al., 2020). The genus contains about 250 species, widely distributed from tropical to subarctic regions, and grows in various habitats in most parts of the world (PPGI, 2016; Troia et al., 2016). However, many *Isoetes* species have restricted habitats and small populations, putting them at risk of extinction (Kang et al., 2005; Liu X et al., 2005; Gentili et al., 2010; Troia et al., 2016; Brunton & Troia, 2018; Singh et al., 2021). Interestingly, hybridization and polyploidization frequently occur in *Isoetes*, and more than half of the known species are polyploid ranging from tetraploid to dodecaploid (Hickey, 1984; Taylor & Hickey, 1992; Liu et al., 2004; Kim et al., 2010; Pereira, 2015; Troia et al., 2016; Grigoryan et al., 2020). Although this ancient

genus is widely distributed in various habitats and has a complex evolutionary history, its simple morphology — a tuft of linear sporophylls on the lobed rootstock — are remarkably similar among species, making interspecific identification difficult (Taylor & Hickey, 1992; Troia et al., 2016). *Isoetes* species are mostly distributed in America, southern Europe, Africa and Australia, with relatively few species in Asia (Troia et al., 2016; Pereira et al., 2017b, 2021; Brunton & Troia, 2018; Choi et al., 2018; Singh et al., 2021). The *Isoetes* species diversity in Asia is probably underestimated, and many cryptic species may not be identified (Schafran, 2019).

Characteristics such as habitat, velum, ligule, megaspore size and texture, chromosome count, and DNA sequences are generally employed to distinguish species of *Isoetes* (Hickey, 1986; Pereira, 2015; Troia et al., 2016); however, the characteristics of leaf morphology and anatomy are influenced by local

environmental conditions (Liu et al., 2006; Cavalheiro-Filho et al., 2021; Singh et al., 2021). Several species have recently been described and illustrated around the world (Mora-Olivo et al., 2016; Schafran et al., 2016; Pereira et al., 2016, 2017a, 2019; Li et al., 2019; Lu et al., 2021). In China, seven species — *I. yunguiensis* Q. F. Wang & W. C. Taylor, *I. hypsophila* Hand. - Mazz., *I. taiwanensis* De Vol, *I. shangrilaensis* X. Li & Y. Q. Huang, *I. baodongii* Y. F. Gu, Y. H. Yan & Yi J. Lu, *I. sinensis* T. C. Palmer and *I. orientalis* H. Liu & Q. F. Wang — have been reported (Handel-Mazzetti, 1923; Palmer, 1927; De Vol, 1972; Wang et al., 2002; Liu H et al., 2005; Zhang & Taylor, 2013; Li et al., 2019; Lu et al., 2021).

We conducted several field surveys of the genus in China and collected some tetraploid samples ($2n=4x=44$) previously considered as *I. sinensis* ($2n=4x=44$) with morphological and anatomical variation (Liu et al., 2004; Liu et al., 2006; Dai et al., 2020, 2021). By comparing morphological features and spore textures, these samples from Ningxiang City and Tongdao County in Hunan Province were found to be different from *I. sinensis*. In addition, our plastid phylogenomic analysis indicated that these samples formed monophyletic clades, which did not cluster together with *I. sinensis*. The sample from Ningxiang City, here named *I. longpingii*, is similar to *I. orientalis* ($2n=6x=66$) on megaspore ornamentation and that from Tongdao County, here named *I. xiangfei*, is similar to *I. yunguiensis* ($2n=2x=22$) on megaspore ornamentation. These two new species are described and illustrated in the present study.

1 Materials and Methods

Isoëtes species possess prominent spore morphological characteristics, and the spore ornamentation terminology established by Hickey (1986) was used in the present study. Megaspores and microspores of samples were examined under a scanning electron microscope. Spores were mounted on a double-sided adhesive tape attached to metal stubs, sputter-coated with platinum, and observed under a field emission scanning electron microscope (Quanta 250; FEI,

Hillsboro, Oregon, U. S. A.) at 30 kV. Megaspore and microspore sizes from 3 – 5 individuals were measured using Photoshop CS5 (Adobe Systems Inc., USA).

To determine the chromosome number, young root tips of the sporophytes were pretreated in a saturated aqueous solution of p-dichlorobenzene for 3–5 h and subsequently fixed in Carnoy's solution (1 : 3, glacial acetic acid : 95% ethanol) for 1 h at 4 °C. Subsequently, the samples were hydrolyzed with a mixture of 3% cellulase and 2.5% pectinase for 10 min at room temperature. They were then stained with carbol fuchsin. The chromosomes of the samples were counted and photographed using a Carl Zeiss Axio Scope A1 photomicroscope (Jena, Germany).

2 Taxonomic Treatment

2.1 *Isoëtes longpingii* Y.H. Yan, Y.F. Gu & J.P. Shu (Fig. 1, Fig. 3: A–D)

Diagnosis: — *Isoëtes longpingii* is similar to *I. sinensis*, but differs in its small megaspores (310–410 μm , mean = 350 μm , $n = 20$), sparsely tuberculate-cristate [vs. larger (mean 410 μm), densely tuberculate-cristate] and bilobed rhizome corms (vs. trilobed in *I. sinensis*). It is also similar to hexaploid *I. orientalis*, but differs in its megaspores tuberculate-cristate, and 44 chromosomes (vs. 66 in *I. orientalis*) (Fig. 3, Fig. 4, Table 1).

Type: — CHINA. Hunan Province, Changsha City, Ningxiang City, Yujia'ao Village, 28°14'27.91" N, 112°17'44.86" E, alt. 131 m, June 15, 2019. Zhiguo Ou YYH15160 (**holotype**, PE! barcode 02347221; **isotype**: NOCC!, IBSC!).

Description: — Plants aquatic. Rhizome corms: 2-lobed. Sporophylls: widely spreading, 40–60 in a tuft, white at base, green above, spirally arranged, 20–60 cm long, ca. 1 mm wide, flattened on the adaxial side, rounded on the abaxial side, base flat and alate, peripheral fibrous bundles present, central intrastelar canal 4. Sporangia: basal, obovate, 3.5–4.5×2.5–3.0 mm. Ligule: cuniform, 2.3–2.6×1.1–1.3 mm. Megaspores: white when dry, earthy yellow when wet, 310–410 μm (mean=350 μm , $n=20$) in diameter, proximal

Table 1 Spore features of *Isoëtes* from China

Species	Number of chromosomes	Megaspore		Microspore	
		Ornamentation	Size	Ornamentation	Size
<i>I. hypsophila</i> *	2n = 2x = 22	Levigate	290–400 μm (mean = 358 μm)	Echinate	19–25 μm (mean = 22 μm)
<i>I. shangrilaensis</i>	2n = 2x = 22	Tuberculate-rugulate	207.25–273.09 μm (mean = 244.71 μm)	Echinate-cristate	11.21–23.66 μm (mean = 19.41 μm)
<i>I. yunguiensis</i> *	2n = 2x = 22	Cristate-reticulate	340–430 μm (mean = 390 μm)	Levigate-granulate	20–25 μm (mean = 22 μm)
<i>I. taiwanensis</i> *	2n = 2x = 22	Tuberculate-cristate	280–340 μm (mean = 312 μm)	Echinate	20–28 μm (mean = 24 μm)
<i>I. sinensis</i> *	2n = 4x = 44	Cristate	340–450 μm (mean = 409 μm)	Echinate	23–32 μm (mean = 28 μm)
<i>I. orientalis</i> *	2n = 6x = 66	Cristate-reticulate	350–460 μm (mean = 420 μm)	Echinate-tuberculate	20–38 μm (mean = 34 μm)
<i>I. baodongii</i>	2n = 2x = 22	Echinate-cristate	390–510 μm (mean = 450 μm)	Echinate	22–27 μm (mean = 25 μm)
<i>I. longpingüi</i>	2n = 4x = 44	Tuberculate-cristate	310–410 μm (mean = 350 μm)	Echinate	27–30 μm (mean = 29 μm)
<i>I. xiangfei</i>	2n = 4x = 44	Cristate-reticulate	390–450 μm (mean = 430 μm)	Tuberculate	26–28 μm (mean = 27 μm)

Note: * Cited from Liu et al.(2008). Datas of *I. shangrilaensis* and *I. baodongii* are cited from Li et al.(2019) and Lu et al.(2021), respectively.

hemisphere tuberculate, distal hemisphere echinate-cristate. Microspores: gray *en masse*, elliptic, vertical axis length 27–30 μm (mean = 29 μm, $n = 20$), surface echinate. Chromosome numbers $2n = 4x = 44$.

Distribution: — Ningxiang City, Changsha City, Hunan Province.

Ecology: — Submerged in a small pond; alt. 131 m.

Etymology: — The specific epithet “*longpingüi*” is derived from the name of the late Prof. YUAN Longping, who devoted his entire life to hybrid rice research in Changsha City (where the species was discovered) and greatly contributed to global food security and poverty alleviation (Wang, 2021).

IUCN Red List category: — A single population of about 10 individuals is found in only one location in Yujia’ao Village, Ningxiang City, Hunan Province. *Isoëtes longpingüi* is critically endangered (CR) [A1a; B2ab(iv)c; C2a(ii); D(2)] according to the Red List Categories and Criteria (IUCN, 2022).

2.2 *Isoëtes xiangfei* Y.H. Yan, Y.F. Gu & J.P. Shu (Fig. 2, Fig. 4: A–D)

Diagnosis: — *Isoëtes xiangfei* is a tetraploid, morphologically similar to the diploid *I. yunguiensis* and the tetraploid *I. sinensis* in megaspore ornamentation, but differs in its less reticulate, lower megaspore

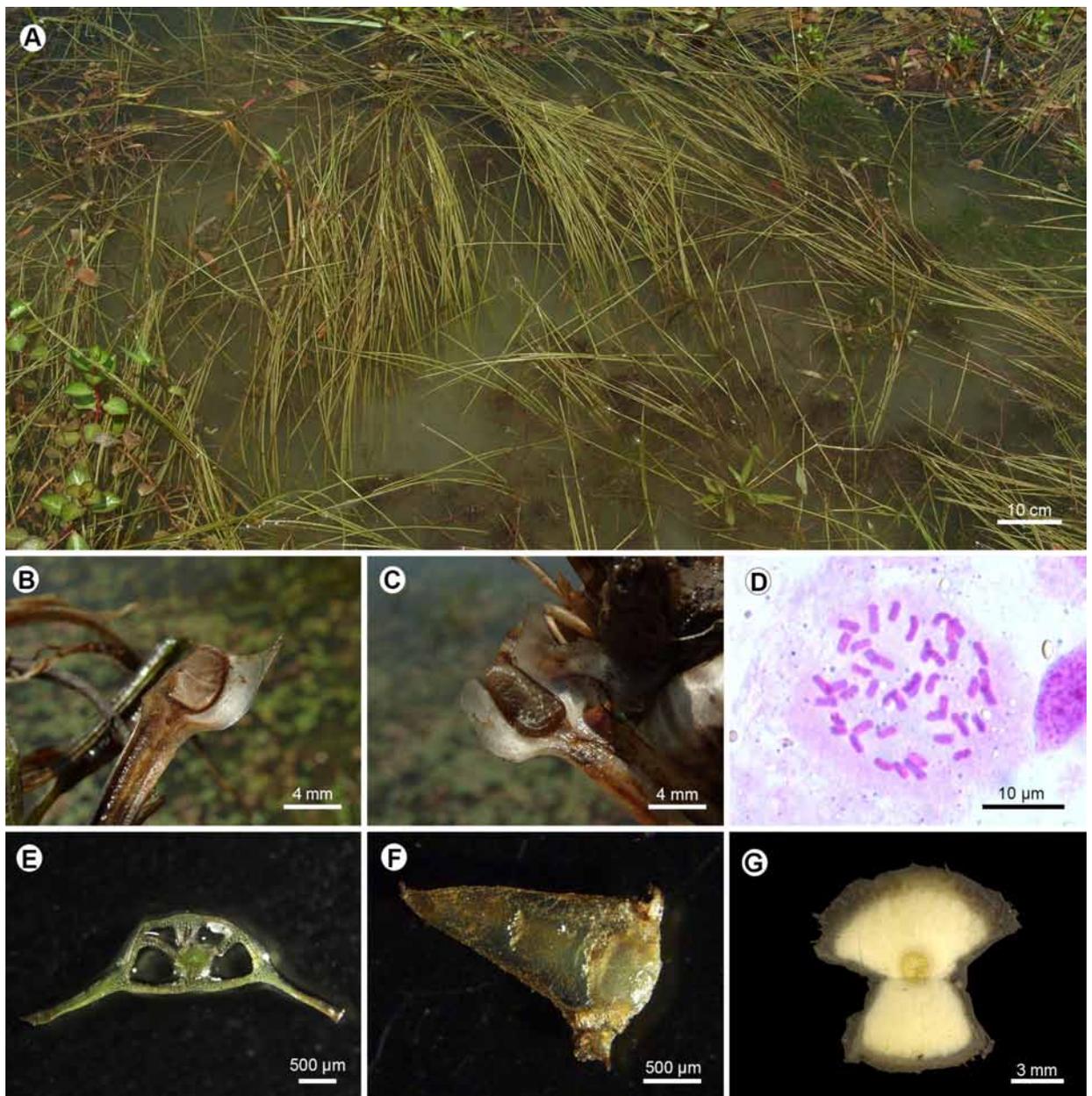
ornamentation, and densely low-tuberculate (vs. sparsely tuberculate-echinate) microspores (Fig. 3, Fig. 4, Table 1).

Type: — CHINA. Hunan Province: Huaihua City, Tongdao County, 26°14’56.82” N, 109°50’0.33” E, alt. 298 m, December 28, 2019. Juan Yang Fern08928 (**holotype**: PE! barcode 02347220; **isotype**: NOCC!, IBSC!).

Description: — Plants aquatic. Rhizome corms 3-lobed. Sporophylls 20–60 in a tuft, widely spreading, white at the base, green above, spirally arranged, 15–35 cm long, 2–3 mm wide, flattened on the adaxial side, rounded on the abaxial side, base flat and alate, peripheral fibrous bundles present, central intrastelar canal 4. Sporangia: basal, oblong, 4.4–5.0 × 2.9–3.3 mm. Ligule: oval triangle, 2.5–2.7 × 1.4–1.6 mm. Megaspores: white when dry, earthy yellow when wet, 390–450 μm (mean = 430 μm, $n = 20$) in diameter; proximal hemisphere cristate, distal hemisphere reticulate. Microspores: gray *en masse*, elliptic, monolete, vertical axis 26–28 μm (mean = 27 μm, $n = 20$), surface echinate. Chromosome numbers $2n = 4x = 44$.

Distribution: — Tongdao and Huitong counties, Huaihua City, Hunan Province.

Ecology: — Wetlands and small gullies; alt. 298 m.



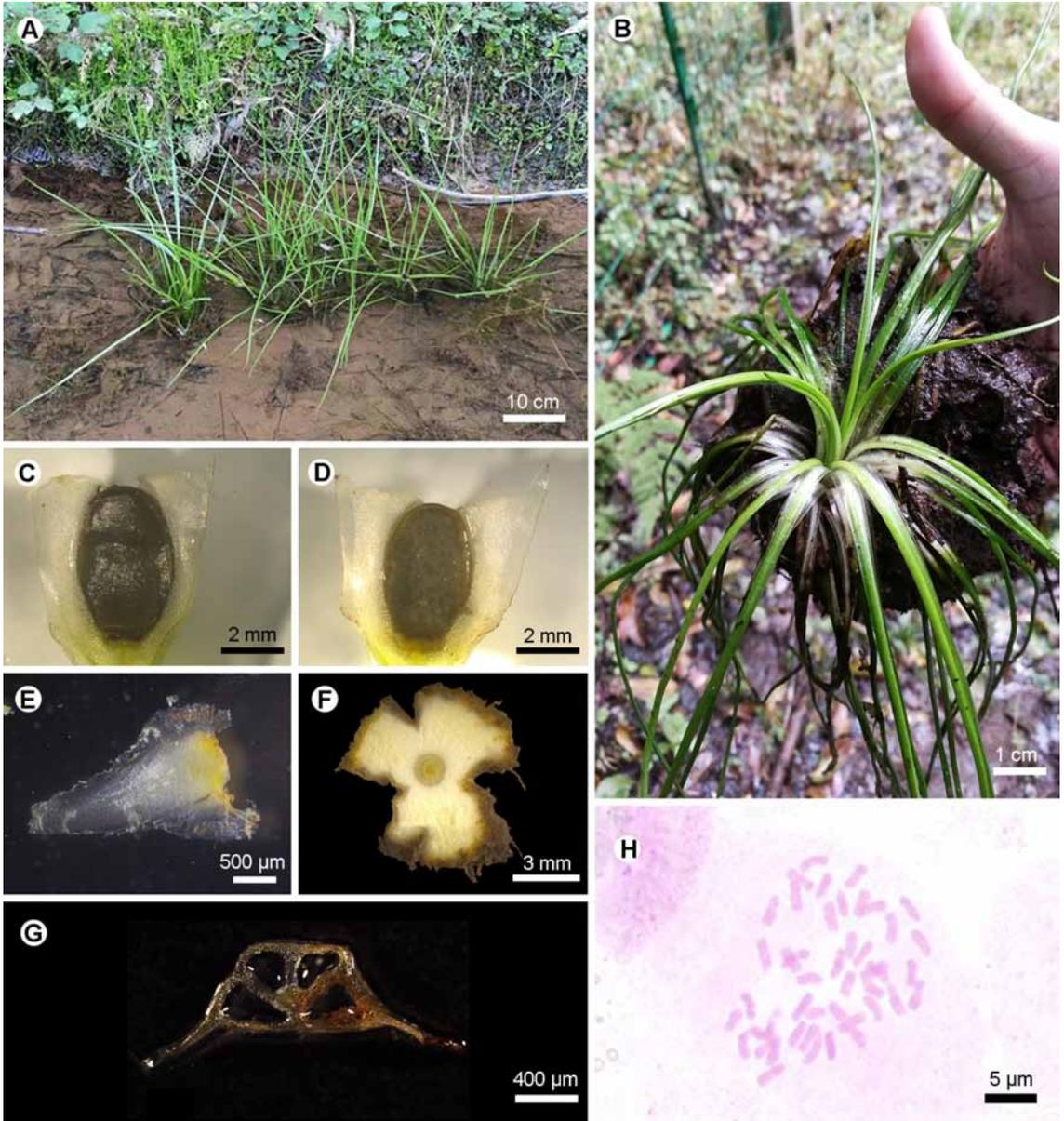
A. Habitat; B. Microsporangium; C. Megasporangium; D. Chromosomes ($2n=4x=44$); E. Transection of leaf base; F. Ligule; G. Transection of rhizome (2-lobed).

Fig. 1 Morphological and anatomic characteristics of *Isoetes longpingii* Y.H. Yan, Y.F. Gu & J.P. Shu

Etymology: — The specific epithet “*xiangfei*” is derived from the name of Xiangfei, who are two respectable goddesses of the Xiangjiang River in Hunan Province, where the aquatic plant was discovered. “Xiang” is the name of the longest river in Hunan Province, and “fei” is the wife of the king in Chinese. Xiangfei, two sisters, married the legendary

King Shun at the same time.

IUCN Red List category: — *Isoetes xiangfei* is found in Tongdao and Huitong counties, Hunan Province. There are about 200 individuals, which are well conserved by the local forestry department. It is vulnerable (VU) [B2ab(iii); C2a(i)] according to the Red List Categories and Criteria (IUCN, 2022).

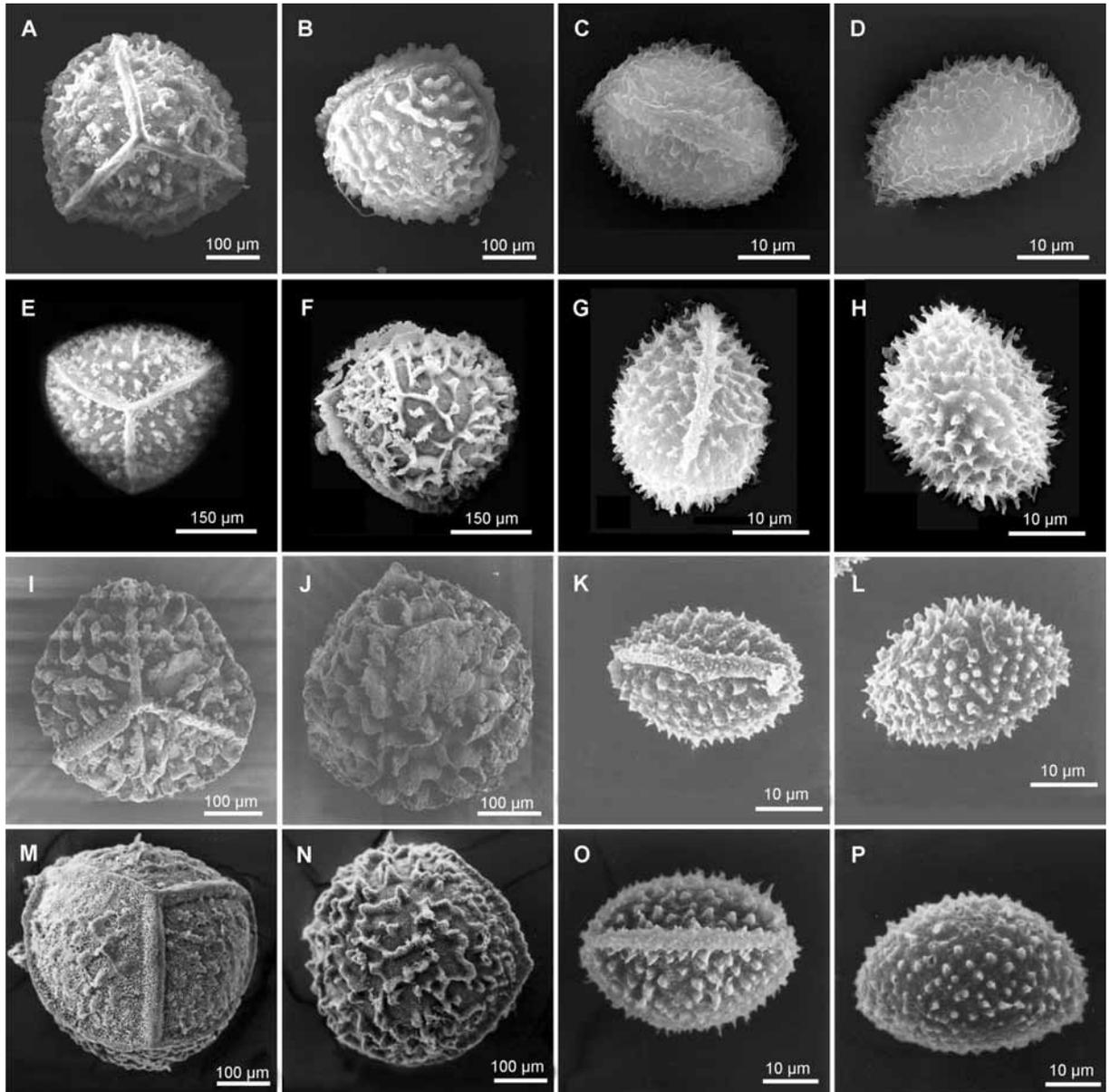


A. Habit; B. Plants with wide wing at the base of leaf; C. Microsporangium; D. Megasporangium; E. Ligule; F. Transection of rhizome (3-lobed); G. Transection of leaf base; H. Chromosomes.

Fig. 2 Morphological and anatomic characteristics of *Isoetes xiangfei* Y.H. Yan, Y.F. Gu & J.P. Shu

3 Keys to *Isoetes* of China

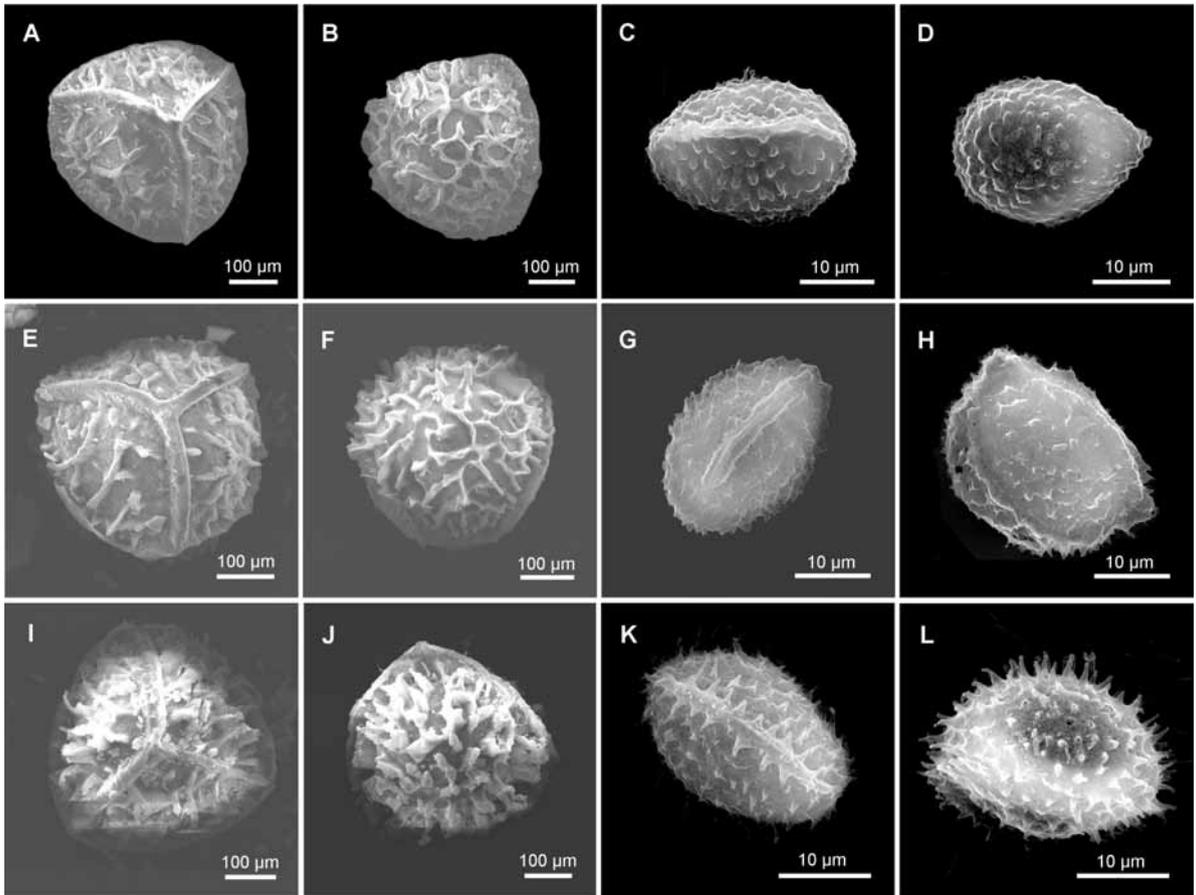
- (1) Individual diploid. (2)
- (1) Individual polyploid. (6)
- (2) Megaspore levigate or just tuberculate-regulate. (3)
- (2) Megaspore with various types of ornamentation. (4)
- (3) Leaves 2–5 cm long, microspores echinate. *I. hypsophila*
- (3) Leaves 3–18 cm long, microspores echinate to cristate. *I. shangrilaensis*
- (4) Megaspore tuberculate-cristate, just distributing in Taiwan. *I. taiwanensis*



A–D. *Isoetes longpingii* (YYH15160. A. Proximal view of megaspore; B. Distal view of megaspore; C. Proximal view of microspore; D. Distal view of microspore). E–H. *I. sinensis* from China [cited from Liu et al. (2008)]. E. Proximal view of megaspore; F. Distal view of megaspore; G. Proximal view of microspore; H. Distal view of microspore]. I–L. *I. sinensis* from Japan [cited from Watanabe et al. (1996)]. I. Proximal view of megaspore; J. Distal view of megaspore; K. Proximal view of microspore; L. Distal view of microspore]. M–P. *I. sinensis* from Korea [cited from Takamiya (2001)]. M. Proximal view of megaspore; N. Distal view of megaspore; O. Proximal view of microspore; P. Distal view of microspore].

Fig. 3 Palynological comparison between *Isoetes longpingii* and *I. sinensis*

- (4) Megaspore echinate or cristate-reticulate. (5)
 (5) Microspore echinate, distributing in Zhejiang. *I. baodongii*
 (5) Microspore levigate-granulate, distributing in Yunnan and Guizhou. *I. yunguiensis*
 (6) Leaves ca. 1 mm wide at mid-length. (7)
 (6) Leaves 2–3 mm wide at mid-length. *I. xiangfei*
 (7) Megaspore ornamentation cristate-reticulate, chromosome numbers 66. *I. orientalis*



A–D. *Isoetes xiangfei* (Fern08928. **A.** Proximal view of megaspore; **B.** Distal view of megaspore; **C.** Proximal view of microspore; **D.** Distal view of microspore). **E–H.** *I. yunguiensis* (YYH15163. **E.** Proximal view of megaspore; **F.** Distal view of megaspore; **G.** Proximal view of microspore; **H.** Distal view of microspore). **I–L.** *I. orientalis* (Fern08748. **I.** Proximal view of megaspore; **J.** Distal view of megaspore; **K.** Proximal view of microspore; **L.** Distal view of microspore).

Fig. 4 Palynological comparison between *Isoetes xiangfei*, *I. yunguiensis* and *I. orientalis*

- (7) Megaspore without reticulate ornamentation, chromosome numbers 44. (8)
 (8) Rhizome 2-lobed, megaspore 310–410 μm (mean = 350 μm). *I. longpingii*
 (8) Rhizome 3-lobed, megaspore 340–450 μm (mean = 409 μm). *I. sinensis*

Acknowledgments The authors thank Prof. YU Xunlin from Central South University of Forestry & Technology for assisting in the field surveys, Prof. YANG Qiner and Prof. DENG Yunfei from South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences for their assisting in the correction of Latin name.

References:

BRUNTON D, TROIA A, 2018. Global review of recent taxonomic research into *Isoetes* (Isoetaceae), with

implications for biogeography and conservation [J]. Fern Gaz, 20(8): 309–333.

CAVALHEIRO-FILHO SL, GESTINARI LM, KONNO TU, et al., 2021. Morphological plasticity in the endemic *Isoetes* species from Serra dos Carajás, Amazonia, Brazil [J]. Am Fern J, 111(3): 174–1954.

CHOI HK, JUNG J, NA HR, et al., 2018. Molecular phylogeny and the biogeographic origin of East Asian *Isoetes* (Isoëtaceae) [J]. Korean J Plant Taxon, 48(4): 249–259.

DAI XK, LI X, HUANG YQ, et al., 2020. The speciation and adaptation of the polyploids: a case study of the Chinese *Isoetes* L. diploid-polyploid complex [J]. BMC Evol Biol, 20(1): 118.

DAI XK, YANG YJ, LIU X, 2021. Transplanting experiment

- and transcriptome sequencing reveal the potential ecological adaptation to plateau environments in the allopolyploid *Isoetes sinensis* [J]. *Aquat Bot*, 172: 103394.
- DE VOL CE, 1972. *Isoetes* found on Taiwan [J]. *Taiwania*, 17: 1–7.
- GENTILI R, ABELI T, ROSSI G, et al., 2010. Population structure and genetic diversity of the threatened quillwort *Isoetes malinverniana* and implication for conservation [J]. *Aquat Bot*, 93(3): 147–152.
- GRIGORYAN MY, BOBROV AA, BRUNTON DF, et al., 2020. Next generation DNA sequencing reveals allopolyploid origin of decaploid *Isoetes lacustris* (Isoëtaceae) [J]. *Aquat Bot*, 170: 103326.
- HANDEL-MAZZETTI H, 1923. *Isoetes hypsophila* Hand.-Mazz. [J]. *Akad Wiss Wien*, 13: 95.
- HICKEY RJ, 1984. Chromosome numbers of neotropical *Isoetes* [J]. *Am Fern J*, 74(1): 9–13.
- HICKEY RJ, 1986. *Isoetes* megaspore surface morphology: nomenclature, variation, and systematic importance [J]. *Am Fern J*, 76(1): 1–16.
- IUCN Standards and Petitions Committee, 2022. Guidelines for using the IUCN Red List Categories and Criteria. Version 15. 1. Prepared by the Standards and Petitions Committee. <https://www.iucnredlist.org/documents/RedListGuidelines.pdf>. (accessed: November 6, 2022).
- KANG M, YE QG, HUANG HW, 2005. Genetic consequence of restricted habitat and population decline in endangered *Isoetes sinensis* (Isoetaceae) [J]. *Ann Bot*, 96(7): 1265–1274.
- KIM C, SHIN H, CHANG YT, et al., 2010. Speciation pathway of *Isoetes* (Isoëtaceae) in East Asia inferred from molecular phylogenetic relationships [J]. *Am J Bot*, 97(6): 958–969.
- LI X, HUANG YQ, DAI XK, et al., 2019. *Isoetes shangri-laensis*, a new species of *Isoetes* from Hengduan mountain region of Shangri-la, Yunnan [J]. *Phytotaxa*, 397(1): 65–73.
- LIU H, WANG QF, TAYLOR WC, 2005. *Isoetes orientalis* (Isoetaceae), a new hexaploid quillwort from China [J]. *Novon*, 15(1): 164–167.
- LIU H, WANG QF, TAYLOR WC, 2006. Morphological and anatomical variation in sporophylls of *Isoetes sinensis* Palmer (Isoetaceae), an endangered quillwort in China [J]. *Am Fern J*, 96(3): 67–74.
- LIU X, GITURU WR, WANG QF, 2004. Distribution of basic diploid and polyploid species of *Isoetes* in East Asia [J]. *J Biogeogr*, 31(8): 1239–1250.
- LIU X, WANG JY, WANG QF, 2005. Current status and conservation strategies for *Isoetes* in China: a case study for the conservation of threatened aquatic plants [J]. *Oryx*, 39(3): 335–338.
- LU YJ, GU YF, YAN YH, 2021. *Isoetes baodongii* (Isoetaceae), a new basic diploid quillwort from China [J]. *Novon*, 29: 206–210.
- MORA-OLIVO A, MENDOZA-RUIZ A, MARTINEZ-AVALOS JG, 2016. *Isoetes tamaulipana* (Isoetaceae), a new species from Mexico [J]. *Phytotaxa*, 267(2): 113–120.
- PALMER TC, 1927. A Chinese *Isoetes* [J]. *Am Fern J*, 17: 111–113.
- PEREIRA JB, 2015. Studies on chromosome numbers and spore size in Brazilian *Isoetes* [J]. *Am Fern J*, 105(3): 226–237.
- PEREIRA JB, SALINO A, ARRUDA A, et al., 2016. Two new species of *Isoetes* (Isoetaceae) from northern Brazil [J]. *Phytotaxa*, 272(2): 141–148.
- PEREIRA JB, STÜTZEL T, SCHULZ C, 2017a. *Isoetes nana*, a new species from the coastal mountains of southeastern Brazil [J]. *PhytoKeys*, 89: 91–105.
- PEREIRA JB, LABIAK PH, STÜTZEL T, et al., 2017b. Origin and biogeography of the ancient genus *Isoetes* with focus on the Neotropics [J]. *Bot J Linn Soc*, 185(2): 253–271.
- PEREIRA JB, GUIMARAES JTF, WATANABE MT, 2019. *Isoetes dubsii* and *Isoetes santacruzensis*, two new species from lowland areas in South America [J]. *PhytoKeys*, 131: 57–67.
- PEREIRA JB, GIULIETTI AM, PRADO J, et al., 2021. Plastome-based phylogenomics elucidate relationships in rare *Isoetes* species groups from the Neotropics [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 161: 107–177.
- PIGG KB, 2001. Isoetalean lycopsid evolution: from the Devonian to the present [J]. *Am Fern J*, 91(3): 99–114.
- PPGI, 2016. A community-derived classification for extant lycophytes and ferns [J]. *J Syst Evol*, 54(6): 563–603.
- SCHAFFRAN PW, 2019. Molecular systematics of *Isoetes* (Isoëtaceae) in eastern North America [D]. Norfolk: Old Dominion University: 1–260.
- SCHAFFRAN PW, LEONARD SW, BRAY RD, et al., 2016. *Isoetes mississippiensis*: A new quillwort from Mississippi, USA [J]. *PhytoKeys*, 74: 97–106.
- SINGH SK, SHUKLA PK, BRUNTON DF, et al., 2021. The taxonomy and conservation status of *Isoetes* (Isoetaceae; Lycopodiopsida) in India [J]. *Bot Lett*, 168(2): 200–226.
- TAYLOR WC, HICKEY RJ, 1992. Habitat, evolution, and speciation in *Isoetes* [J]. *Ann Mo Bot Gard*, 79(3): 613–622.
- TROIA A, PEREIRA JB, KIM C, et al., 2016. The genus *Isoetes* (Isoetaceae): a provisional checklist of the accepted and unresolved taxa [J]. *Phytotaxa*, 277(2): 101–145.
- WANG DM, QIN M, LIU L, et al., 2019. The most extensive Devonian fossil forest with small lycopsid trees bearing the earliest stigmarian roots [J]. *Curr Biol*, 29(16): 2604–2615.
- WANG KJ, 2021. Yuan Longping (1930–2021) [J]. *Nat Plants*, 7(7): 858–859.
- WANG QF, LIU X, TAYLOR WC, et al., 2002. *Isoetes yunguiensis* (Isoetaceae), a new basic diploid quillwort from China [J]. *Novon*, 12: 587–591.
- WOOD D, BESNARD G, BEERLING DJ, et al., 2020. Phylogenomics indicates the “living fossil” *Isoetes* diversified in the Cenozoic [J]. *PLoS ONE*, 15(6): e0227525.
- ZHANG LB, TAYLOR WC, 2013. Isoëtaceae [M]//WU ZY, RAVEN PH, HONG DY, *Flora of China*, Vol. 2–3 (Pteridophytes) [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 35–36.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202104055

张梦华, 杨杰, LUU Hong Truong, 等. 越南莲座状复苏卷柏一新种——越南卷柏(卷柏科) [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1632–1640.

ZHANG MH, YANG J, LUU Hong Truong, et al. *Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen (Selaginellaceae), an overlooked rosette-forming resurrection spikemoss from Vietnam [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1632–1640.



Selaginella pseudotamariscina (Selaginellaceae), an overlooked rosette-forming resurrection spikemoss from Vietnam

ZHANG Menghua^{1,2}, YANG Jie^{1,2}, LUU Hong Truong³, TRAN Gioi³, ZHANG Xianchun^{1*}

(1. State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 2. College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Southern Institute of Ecology, Vietnam Academy of Science and Technology, Ho Chi Minh City 754000, Vietnam)

Abstract: A new species, *Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen (Selaginellaceae), is described from Vietnam. The placement of this species within *Selaginella* subg. *Stachygynandrum* is assessed based on molecular phylogenetic analyses and morphological comparisons with related species. Molecular phylogenetic analyses suggest that *S. pseudotamariscina* is sister to *S. digitata*-*S. imbricata* clade. Morphologically, the new species is similar to *S. tamariscina* and *S. pulvinata* by sharing the rosette-forming habit, but distinguished by its dorsal leaves symmetrical, lanceate, sulcate on upper surface; strobili slightly dorsiventrally complanate and non-resupinate, sporophylls resembling vegetative leaves in form and arrangement, non-resupinate, the ventral sporophylls larger than the dorsal ones, dorsal sporophylls sterile, sporangia only borne on the base of ventral sporophylls.

Key words: chloroplast gene *rbcl*, resurrection plants, *Selaginella* subg. *Stachygynandrum*, new species, taxonomy

CLC number: Q949 **Document code:** A **Article ID:** 1000-3142(2022)10-1632-09

越南莲座状复苏卷柏一新种——越南卷柏(卷柏科)

张梦华^{1,2}, 杨杰^{1,2}, LUU Hong Truong³, TRAN Gioi³, 张宪春^{1*}

(1. 中国科学院植物研究所, 系统与进化植物学国家重点实验室, 中国北京 100093; 2. 中国科学院大学 生命科学学院, 中国北京 100049; 3. 越南科学技术院, 南方生态研究所, 越南胡志明 754000)

摘要: 该文描述了在越南发现的卷柏科一新种——越南卷柏 (*Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen)。经过分子系统发育分析与近缘种形态比较, 认为该新种是卷柏属 (*Selaginella*) 同穗亚属

收稿日期: 2021-05-07

基金项目: 北京市自然科学基金 (5202019) [Supported by Beijing Natural Science Foundation (5202019)].

第一作者: 张梦华 (1993-), 博士研究生, 主要从事植物学研究, (E-mail) zhangmh@ibcas.ac.cn.

*通信作者: 张宪春, 研究员, 长期从事石松类和蕨类植物分类学研究, (E-mail) zhangxc@ibcas.ac.cn.

(subg. *Stachygynandrum*) 的一个物种, 与 *S. digitata*-*S. imbricata* 分支为姐妹群关系。该新种与卷柏 (*S. tamariscina*) 和垫状卷柏 (*S. pulvinata*) 的形态近似, 其植株均为莲座状, 但不同之处在于中叶对称, 似披针形, 上表面具 1 沟槽; 孢子叶穗略压扁; 孢子叶和营养叶性状和排列近似, 孢子叶非同形, 略异形, 正置, 腹面孢子叶大于背面孢子叶; 背面孢子叶败育, 孢子囊仅见于腹面孢子叶基部。

关键词: 叶绿体基因 *rbcL*, 复苏植物, 卷柏属同穗亚属, 新种, 分类学

1 Introduction

Selaginella P. Beauv. (1804) is the single genus of Selaginellaceae. It is the largest genus of lycophytes, containing ca. 700 – 800 species, widely distributed throughout the world, with the greatest diversity in the tropics and subtropics (Jermy, 1990; Weststrand & Korall, 2016a, b; Zhang et al., 2020). Several morphology-based classifications were proposed (Spring, 1840, 1850; Baker, 1883; Hieronymus & Sadebeck, 1902; Walton & Alston, 1938; Jermy, 1986). Based on the most recent molecular phylogenetic studies, seven subgenera were recognized within the *Selaginella*: subg. *Ericetorum* Jermy, subg. *Exaltatae* Weststrand & Korall, subg. *Gymnogynum* (P. Beauv.) Weststrand & Korall, subg. *Lepidophyllae* (Li Bing Zhang and X. M. Zhou) Weststrand & Korall, subg. *Rupestrae* Weststrand & Korall, subg. *Selaginella*, and subg. *Stachygynandrum* (P. Beauv. ex Mirb.) Baker (Weststrand & Korall, 2016a, b; Zhang et al., 2020).

Selaginella is morphologically characterized by possessing rhizophores, heterospory, leaves generally arranged in four decussate rows, and terminal strobilus. Species of this genus have various growth forms, including climbing, creeping, prostrate, erect, suberect, and rosette forms (Jermy, 1990; Zhang, 2004; Zhang et al., 2013). Rosettes is a rare morphological feature in *Selaginella* (occurring in ca. 1% species). Only a few members of subg. *Lepidophyllae* and subg. *Stachygynandrum* are rosettes which are all resurrection plants (Weststrand & Korall, 2016a).

Recently, Mr. Cheng-Wei Chen kindly shared us a new specimen (*Wade* 5314) collected from the Southern

central coast of Vietnam. It is different from *S. tamariscina* (P. Beauv.) Spring and *S. pulvinata* (Hook. & Grev.) Maxim. by its dorsiventrally complanate strobilus (vs. tetragonal strobilus) and symmetrical lanceate dorsal leaves. Historical collections from Vietnam of this species were all identified as *Selaginella tamariscina* (Alston, 1951). In order to correctly identify the specimen and infer the phylogenetic position of this unknown species, we analyzed its sequence of the chloroplast gene *rbcL* together with representatives of different subgenera of *Selaginella* with special attention to the rosettes plants. Both morphological and phylogenetic studies suggested that it represents an undescribed species. We therefore described it as a new species named *Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen and presented the results here.

2 Materials and Methods

2.1 Morphological assessment

Morphologies of the newly collected specimens were examined and compared to those of *Selaginella tamariscina* and *S. pulvinata* using specimens from the herbarium of Institute of Botany, CAS (PE). Sterile leaves, strobili, and sporophylls were observed and photographed under a Leica S9D stereo microscope.

2.2 Molecular analyses

In total, 32 individuals were sampled to represent 7 subgenera of *Selaginella*, with *Isoetes flaccida* as the outgroup. Sequences were obtained from the GenBank except for the new species (Voucher information and GenBank accession numbers are provided in the Table 1). Phylogenetic reconstruction was based on the chloroplast gene *rbcL*. We extracted total genomic DNA from silica gel dried materials using a modified cetyl

Table 1 Species names, localities, voucher information and GenBank accession numbers of DNA sequences used in this study

Taxon	Locality	Voucher specimen	<i>rbcL</i>
<i>Isoetes flaccida</i> Shuttlew. ex A. Braun	—	Abbott 20265 (FLAS)	KJ773600
<i>Selaginella braunii</i> Baker	Cult, Thailand	Tiew 12 (CDBI)	KT161421
<i>S. bryopteris</i> (L.) Baker	Nepal	<i>C. R. Fraser-Jenkins</i> 4370 (L)	KY022983
<i>S. ciliaris</i> Spring	Yunnan, China	<i>X. C. Zhang</i> 7780 (PE)	MH814892
<i>S. convoluta</i> (Arn.) Spring	Bahia, Brazil	<i>R. M. Harley</i> 16181 (U)	KY023003
<i>S. digitata</i> Spring	Madagascar	<i>N. Wikström et al.</i> 110319-2 (S)	KY023013
<i>S. digitata</i> Spring	Madagascar	<i>P. Phillipson</i> 1826 (L)	KY023012
<i>S. exaltata</i> (Kunze) Spring	Ecuador	<i>Korall</i> 1996-1 (S)	AJ010849
<i>S. helicoclada</i> Alston	—	<i>Rakotondrainibe</i> 3262 (P)	AJ295896C
<i>S. helvetica</i> (L.) Spring	France	<i>J. C. Bertier</i> 9161 (PE)	MW407303
<i>S. heterostachys</i> Baker	Guizhou, China	<i>X. C. Zhang</i> 7088 (PE)	MH814896
<i>S. imbricata</i> (Forssk.) Spring	Dhofar Governorate, Oman	<i>Rothfels et al.</i> 4275 (DUKE)	KT161486
<i>S. kraussiana</i> (Kunze) A. Braun	Democratic Republic of the Congo (South Kivu)	<i>M. Mokoso</i> 3098 (BR)	KY023057
<i>S. lepidophylla</i> (Hook. & Grev.) Spring	—	—	AF419051
<i>S. lutchuensis</i> Koidz.	Japan	<i>TNS</i> 759343 (TNS)	AB574648
<i>S. moellendorffii</i> Hieron.	Sichuan, China	<i>Ju & Deng HGX</i> 12295 (CDBI)	KT161531
<i>S. nipponica</i> Franch. et Sav.	Guizhou, China	<i>X. C. Zhang et al.</i> 7066 (PE)	MW407367
<i>S. nothohybrida</i> Valdespino	San Luis Potosí, Mexico	<i>C. J. Rothfels</i> 3069 (DUKE)	KY023096
<i>S. novoleonensis</i> Hieron. & Sadeb	Sonora, Mexico	<i>F. Drouet and D. Richards</i> 3942 (S)	KY023097
<i>S. nubigena</i> J. P. Roux	South Africa	<i>A. Larsson</i> AL810 (UPS)	KY023098
<i>S. pallescens</i> (C. Presl) Spring	Unknown	—	AJ295859
<i>S. pilifera</i> A. Braun	—	<i>Pringle</i> 13959 (S)	AJ295862
<i>S. pseudotamariscina</i> X. C. Zhang & C. W. Chen, sp. nov.	Vietnam	<i>C. W. Chen Wade</i> 5314 (PE)	MZ159980 *
<i>S. pulvinata</i> (Hook. & Grev.) Maxim	Sichuan, China	<i>D. E. Boufford et al.</i> 37879 (A)	KY023124
<i>S. pulvinata</i> (Hook. & Grev.) Maxim	Yunnan, China	<i>D. E. Boufford et al.</i> 35254 (A)	KY023125
<i>S. remotifolia</i> Spring	Yunnan, China	<i>Gaoligong Shan Biodiversity Survey</i> 21081 (GH)	KY023130
<i>S. selaginoides</i> (L.) P. Beauv. ex Schrank & Mart.	Sweden	<i>S. Weststrand</i> 104 (UPS)	KY023148
<i>S. sibirica</i> (Milde) Hieron.	Alaska	<i>L. A. Viereck and K. Jones</i> 5667 (S)	KY023153
<i>S. stauntoniana</i> Spring	Beijing, China	<i>Zhao</i> 169 (CDBI)	KT161614
<i>S. tamariscina</i> (P. Beauv.) Spring	Japan	<i>TNS</i> 759348 (TNS)	AB574655
<i>S. uliginosa</i> (Labill.) Spring	—	<i>Holmgren and Wanntorp</i> 253 (S)	AJ010843
<i>S. uncinata</i> (Desv.) Spring	Sichuan, China	<i>Zhang and Zhou</i> DJY04101 (CDBI)	KT161626
<i>S. vardei</i> H. Lév.	Tibet, China	<i>D. E. Boufford et al.</i> 32425 (A)	KY023169

Note: — indicates missing data; * indicates newly generated sequences.

trimethylammonium bromide (CTAB) method (Li et al., 2013). Library construction was performed with the NEBNext DNA Library Prep Kit (New England Biolabs, Ipswich, Massachusetts, USA). Paired-end reads of 2 × 150 bp were generated on an Illumina HiSeq 2500 instrument, and *rbcL* gene was extracted.

Sequences were aligned using MUSCLE (Edgar, 2004), followed by manual adjustment in PhyDE v0.9971 (Muller et al., 2010). Maximum likelihood (ML) analyses were performed using RAxML 7.2.6 (Stamatakis, 2006), with 1 000 bootstrap replicates under the GTRGAMMA model. We performed Bayesian

Table 2 Comparison of morphological characters of *Selaginella pseudotamariscina*, *S. pulvinata*, and *S. tamariscina*

Character	Species		
	<i>S. pseudotamariscina</i>	<i>S. pulvinata</i>	<i>S. tamariscina</i>
Stem	Forming treelike trunk	Not forming treelike trunk	Forming treelike trunk
Axillary leaf on branch	Lanceate, or ovate-lanceate, ca. 2.18 × 0.73 mm, margin lacerate-ciliolate	Ovate to triangular, ca. 2.5 × 1 mm, margin lacerate-ciliolate	Ovate, ovate-triangular, or elliptic, 0.8–2.6 × 0.4–1.3 mm, margin denticulate
Dorsal leaf on branch	Symmetrical, lanceate, 2.0–2.5 × 0.6–0.7 mm, sulcate on upper surface, margin ciliolate or denticulate	Asymmetrical, obliquely ovate or triangular, 2.8–3.1 × 0.9–1.2 mm, upper surface without sulcate, margin lacerate	Asymmetrical, elliptic, 1.5–2.5 × 0.3–0.9 mm, upper surface without sulcate, margin denticulate (shortly ciliolate at base)
Ventral leaf	Ovate-lanceate to ovate-triangular, ca. 2.18 × 0.82 mm, shallowly sulcate on upper surface; basicopic margin ciliolate or denticulate; acroscopic margin lacerate or subentire	Oblong, 2.9–3.2 × 1.4–1.5 mm, upper surface without sulcate; basicopic margin and acroscopic margin lacerate	Ovate to triangular or oblong-ovate, 1.5–2.5 × 0.5–1.2 mm, upper surface without sulcate; basicopic margin subentire, serrate or ciliolate (at base); acroscopic margin lacerate or denticulate
Strobilus	Slightly dorsiventrally complanate	Tetragonal	Tetragonal
Sporophyll	Slightly anisophyllous; ventral sporophyll fertile, dorsal sporophyll sterile	Isophyllous; ventral and dorsal sporophyll both fertile	Isophyllous; ventral and dorsal sporophyll both fertile

inference (BI) analyses in MrBayes v. 3. 2. 6. (Ronquist et al., 2012) under the GTR + G + I model. For each Bayesian analysis, four MCMC chains were run simultaneously for 2 million generations, and sampled every 1 000 generations. The average standard deviation of split frequencies (<0.01) was used to assess the convergence. ML and BI trees and the branch support values were visualized using FigTree v.1.4.2 (Rambaut, 2014).

3 Results and Discussion

The ML and BI topologies are totally identical, and the BI tree is shown in Fig. 1. The results of the molecular phylogenetic analyses showed that the new species nested within subg. *Stachygyndrum*, forming sister relationships with the *S. pilifera*—*S. imbricata* clade with weak support (PP = 0.56/ML=55). However, of species nested in the *S. pilifera*—*S. imbricata* clade, *S. pilifera* from America is the only rosette-forming species. The *S. pilifera*—*S. pseudotamariscina* clade is resolved to be sister to the *S. tamariscina*—*S. stantoniana* clade with strong support (PP = 1.0/ML = 100). Morphologically, the new species is similar to *S. tamariscina* and *S. pulvinata*. However, the new species differs obviously in several features, such as the slightly anisosporophylls which are similar to sterile leaves

in form and arrangement; dorsal leaves symmetrical, lanceate, and sulcate on upper surface; ventral leaves shallowly sulcate on upper surface with their basicopic margins ciliolate or denticulate; sporangia borne only on ventral side of strobilus axes (Table 2; Fig. 2; Fig. 3: A1, B1).

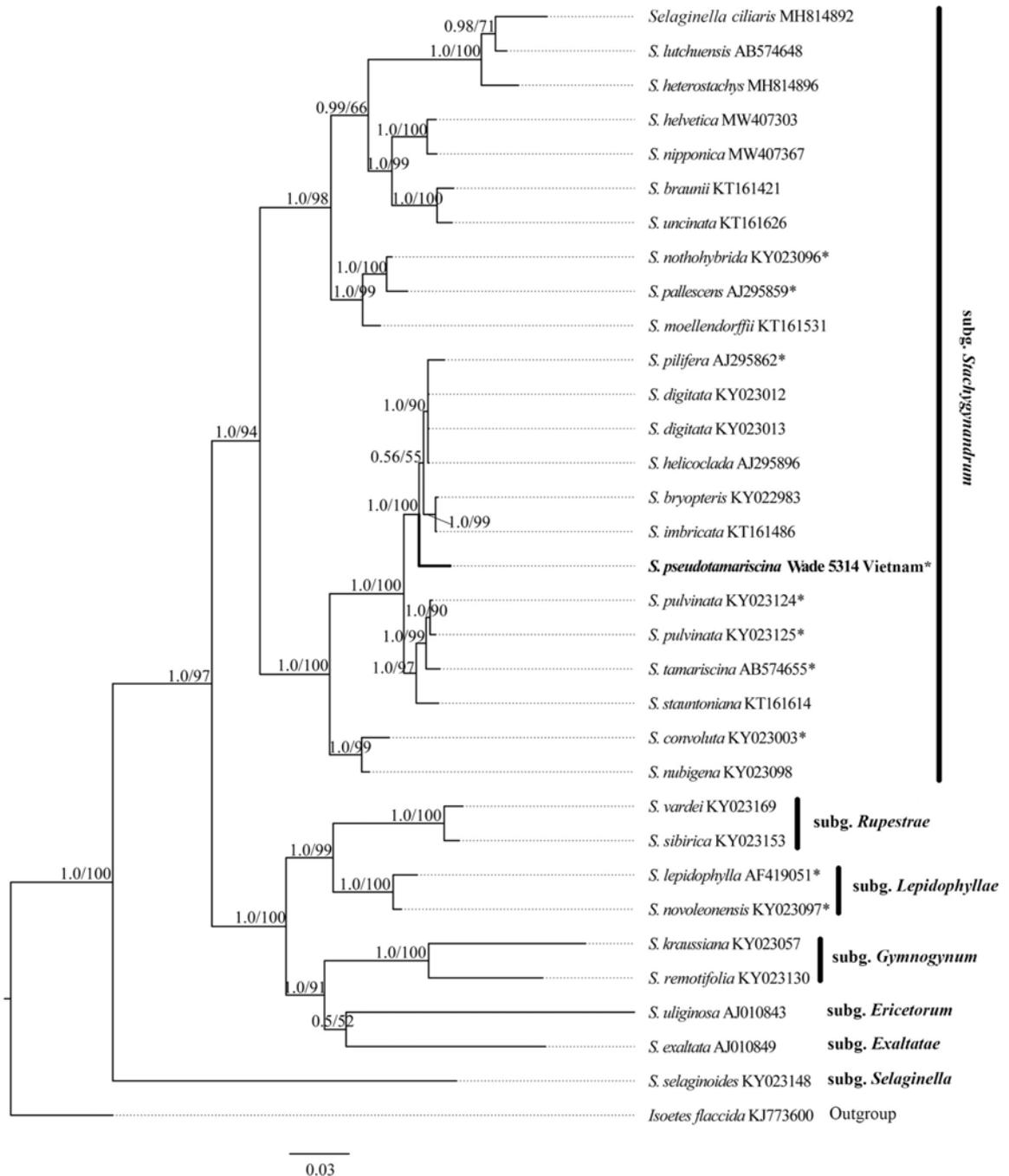
4 Taxonomic Treatment

Selaginella pseudotamariscina X. C. Zhang & C. W. Chen, sp. nov. (Fig. 2).

Type: VIETNAM. Khanh Hoa Province, Orchid Island, on granite rocks, in coastal open forest, 22 September 2018, *Cheng-Wei Chen Wade* 5314 (**holotype**, SGN!; isotypes, PE!, SING!, TAIF!).

Diagnosis: The new species is similar to *S. tamariscina* and *S. pulvinata* in the rosette-forming habits, differs by its slightly anisosporophyllous leaves which are similar to sterile leaves in form and arrangement, dorsal leaves symmetrical, lanceate, and sulcate on upper surface, ventral leaves shallowly sulcate on upper surface with their basicopic margins ciliolate or denticulate, and only the ventral sporophylls fertile.

Description: Rosettes, xerophytic. Rhizophores restricted to basal portions of stems forming thick massive rootstocks; stems and roots entangled forming treelike trunk. Primary leafy branchlets 2–3 pinnately

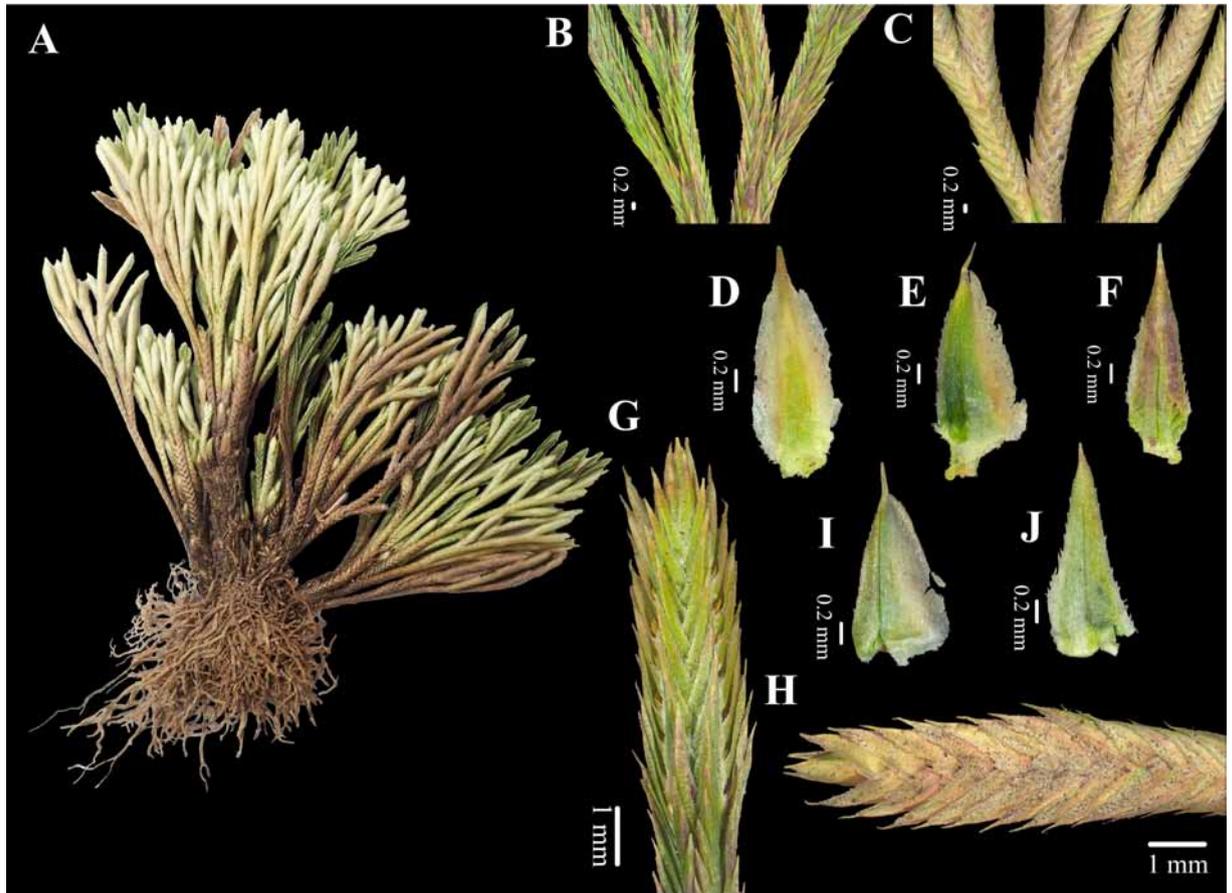


Bayesian inference posterior probability (PP) and maximum likelihood (ML) bootstrap are noted on the branches, respectively; The new species is shown in bold. * indicates rosette-forming.

Fig. 1 Bayesian inference tree of the *Selaginella pseudotamariscina* and related species based on the *rbcL* gene

branched, branchlets compact and regularly arranged. Leaves thick, surfaces smooth. Axillary leaves on branches symmetrical, lanceate, or ovate-lanceate, ca. 2.18×0.73 mm, with membranous margins which

measure ca. 1/2 of the width from margin to leaf midvein, lacerate or subentire, bases obtuse, and ciliate, apice short aristate (ca. 0.02 mm long). Dorsal leaves strongly ascending, symmetrical,



A. Individual; B. Upper view of branchlets; C. Lower view of branchlets; D. Axillary leaf (lower view); E. Ventral leaf (lower view); F. Dorsal leaf (upper view); G. Upper view of strobilus; H. Lower view of strobilus; I. Ventral sporophyll (lower view); J. Dorsal sporophyll (upper view).

Fig. 2 *Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen, sp. nov., *Cheng-Wei Chen Wade* 5314 (PE)

lanceate, 2.0–2.5 × 0.6–0.7 mm, sulcate on upper surface, carinate, bases obtuse, margins ciliate or denticulate, slightly membranous, apices aristate (ca. 0.02 mm long). Ventral leaves slightly spreading, asymmetrical, ovate-lanceate to ovate-triangular, ca. 2.18 × 0.82 mm, shallowly sulcate on upper surface, apices aristate (ca. 0.04 mm long), basiscopic margins ciliate or denticulate, acroscopic bases enlarged, broader than basiscopic, margins and becoming membranous outside, lacerate or subentire, ciliate or lacerate proximally. Strobili solitary, terminal, compact, slightly dorsiventrally complanate, ca. 6 mm long; sporophylls similar to sterile leaves in form and arrangement, slightly anisophyllous; dorsal sporophylls smaller than ventral ones, lanceate-triangular, ca. 1.95 × 0.75 mm,

margins ciliate, slightly membranous, apices aristate (ca. 0.02 mm); ventral sporophylls triangular, ca. 2.13 × 0.98 mm, margins denticulate, ciliate or lacerate, membranous, apices aristate (ca. 0.04 mm); only the ventral sporophylls fertile.

Additional specimens examined: VIETNAM. Khanh Hoa Province, Nhatrang, Cau da, 100 m, 27 February 1922, *Poilane* 2651 (P01244600, image online!; US01393274, image online!; VNM00021481!, VNM00021483!, VNM00021486!); Khanh Hoa Province, Nhatrang, 50 m, 10 September 1922, *Poilane* 4529 (VNM00021477!, VNM00021479!, VNM00021482!); Khanh Hoa Province, Nhatrang, Nui Hon Heo, 3 May 1923, *Poilane* 6173 (VNM00021478!); Ninh Thuan Province, Phan Rang, 27 February 1924, *Poilane* 9768

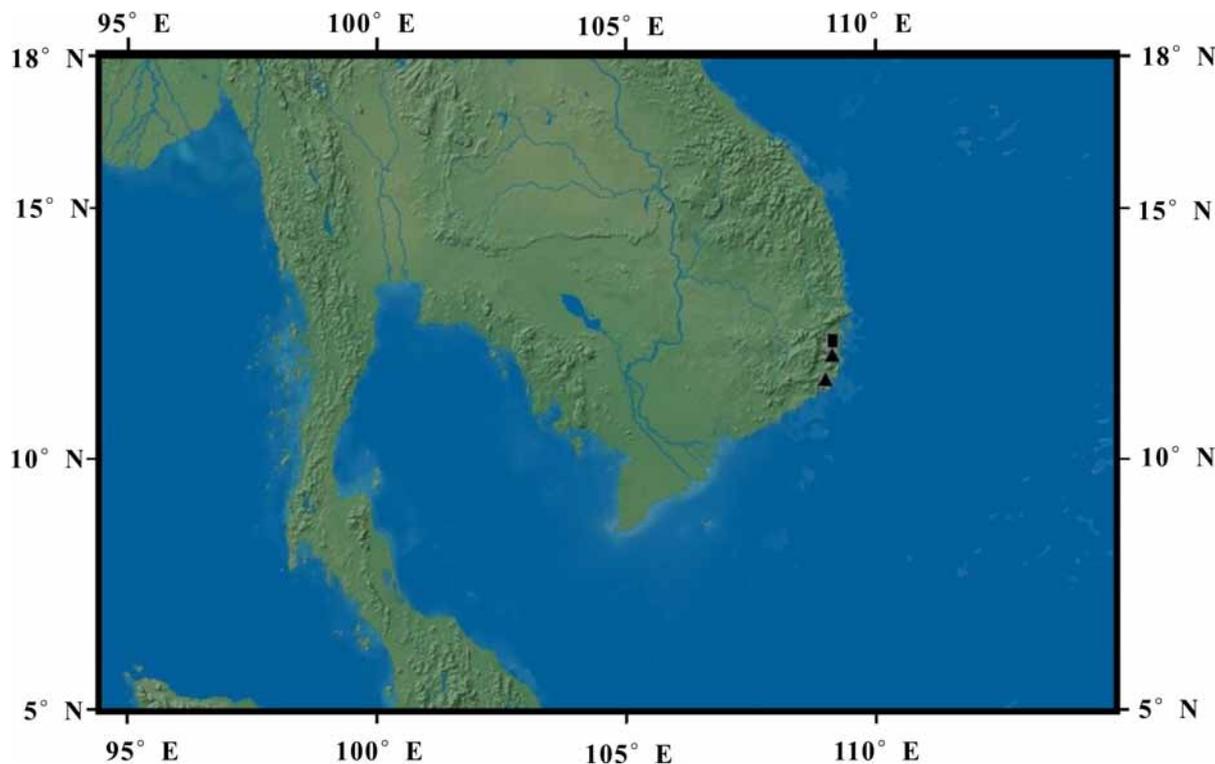


A1–C1. *Selaginella pseudotamariscina* (Vietnam, C. W. Chen Wade 5314, PE); A2–C2. *S. pulvinata* (China, Shanxi, Yellow River Exped. 251, PE); A3–C3. *S. tamariscina* (China, Fujian, X. C. Zhang *et al.* 9634, PE). **A.** Ventral leaves; **B.** Dorsal leaves; **C.** Axillary leaves.

Fig. 3 Comparison of leaf morphology of *Selaginella pseudotamariscina*, *S. pulvinata*, and *S. tamariscina*

(MICH1173518, image online!; VNM00021475!);
Ninh Thuan Province, Phan Rang, 350 m, 3 March
1923, *Poilane* 5541 (MICH1173519, image online!;

VNM00021480!); Ninh Thuan Province, Phan Rang,
200 m, 6 March 1923, *Poilane* 5616 (P01244598,
image online!; VNM00021484!).



The rectangle represents the type location of *S. pseudotamariscina*.

Fig. 4 Distribution of *Selaginella pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen, sp. nov.

Distribution and habitat: *Selaginella pseudotamariscina* is only known in Khanh Hoa and Ninh Thuan provinces of southern central Vietnam (Fig. 4), growing on granite rocks in open coastal forests.

Etymology: The specific epithet ‘*pseudotamariscina*’ refers to its close relation and morphological similarity with *S. tamariscina*.

Conservation status (EN): *Selaginella pseudotamariscina* is distributed only in two provinces in southern central Vietnam (Khanh Hoa and Ninh Thuan).

There exist a few specimens of *S. pseudotamariscina* deposited in various herbaria and one of the oldest specimens was collected a century ago by the French collector E. Poilane in Nhatrang, which is preserved in herbarium P with a duplicate in the U.S. This rosette-forming species appears to have adapted to the coastal climate on granite rocks in Southern central Vietnam. Here it is tentatively listed as an endangered (EN) species according to IUCN categories and criteria (IUCN, 2018).

Key to *Selaginella pseudotamariscina*, *S. tamariscina* and *S. pulvinata*

1. Strobilus dorsoventrally complanate; ventral sporophylls fertile, dorsal sporophylls sterile; dorsal leaves symmetrical, lanceate, sulcate on the upper surface; ventral leaves shallowly sulcate on the upper surface
..... *S. pseudotamariscina* X. C. Zhang & C. W. Chen
1. Strobilus tetragonal; ventral and dorsal sporophylls both fertile; dorsal leaves asymmetrical, obliquely ovate, triangular, or elliptic, upper surface without sulcate; ventral leaves upper surface without sulcate 2
2. Stems and roots entangled not forming treelike trunk; inner margins of dorsal leaves lacerate or entire, outer margin revolute and entire *S. pulvinata* (Hook. & Grev.) Maxim.
2. Stems and roots entangled often forming treelike trunk; inner margins of dorsal leaves denticulate, outer margin denticulate or shortly ciliate *S. tamariscina* (P. Beauv.) Spring

Acknowledgements We thank Van Son DANG, the curator of VNM for providing the access to their collections and Taiwan Pteridophyte Research Group (www.twfern.org) for sharing the silica-dried material.

References:

- ALSTON AHG, 1951. Selaginellacées [M]//LECOMTE H. Flore generale de l'Indo-Chine. Paris: Masson & Cie, 7: 555-594.
- BAKER JG, 1883. A synopsis of the genus *Selaginella* [J]. J Bot, 21: 1-5.
- EDGAR RC, 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput [J]. Nucl Acids Res, 32: 1792-1797.
- HIERONYMUS G, SADEBECK R, 1902. Selaginellaceae [M]//ENGLER A, PRANTL K. Die natürlichen Pflanzenfamilien; I(4). Leipzig: Engelmann; 621-716.
- IUCN, 2018. The IUCN red list of threatened species [EB/OL]. (2018-01-01) [2021-03-05]. <http://www.iucnredlist.org>.
- JERMY AC, 1986. Subgeneric names in *Selaginella* [J]. Fern Gazette, 13(2): 117-118.
- JERMY AC, 1990. Selaginellaceae [M]//KRAMER KU, GREEN PS. The families and genera of vascular plants, Pteridophytes and gymnosperms. Berlin, Heidelberg & New York: Springer, 1: 39-45.
- KORALL P, KENRICK P, THERRIEN JP, 1999. Phylogeny of Selaginellaceae: evaluation of generic/subgeneric relationships based on rbcL gene sequences [J]. Int J Plant Sci, 160: 585-594.
- LI JL, WANG S, YU J, et al., 2013. A modified CTAB protocol for plant DNA extraction [J]. Chin Bull Bot, 48(1): 72-78. [李金璐, 王硕, 于婧, 等, 2013. 一种改良的植物 DNA 提取方法 [J]. 植物学报, 48 (1): 72-78.]
- MULLER K, MULLER J, QUANDT D, 2010. PhyDE-Phylogenetic data editor, version 0.9971 [CP]. <http://www.phyde.de/download.html> (Accessed 1 June 2017).
- PALISOT-BEAUVOIS AMFJ, 1804. Suite de l'Æthéogamie [J]. Magasin Encyclopédique; ou Journal des Sciences, des Lettres et des Arts, 9: 472-483.
- RAMBAUT A, 2014. FigTree, version 1.4.2 [CP]. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/> (Accessed 5 July 2017).
- RONQUIST F, MAXIM T, PAUL VDM, et al., 2012. MrBayes 3.2: Efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space [J]. Syst Biol, 61(3): 539-542.
- STAMATAKIS A, 2006. RAXML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models [J]. Bioinformatics, 22(21): 2688-2690.
- SPRING AF, 1840. Lycopodiaceae [M]//MARTIUS CFP. Flora Brasiliensis; Vol. 1(2). Leipzig: R. Oldensbourg; 96-136.
- SPRING AF, 1850. Monographie de la famille des Lycopodiacees [M]. Mémoires de L'Académie Royale Sciences des Lettres et des Beaux-arts de Belgique, 24: 1-358.
- WALTON J, ALSTON AHG, 1938. Lycopodiinae [M]//VERDOORN F. Manual of pteridology. The Hague: Nijhoff; 503-504.
- WESTSTRAND S, KORALL P, 2016a. Phylogeny of Selaginellaceae: There is value in morphology after all! [J]. Am J Bot, 103(12): 2136-2159.
- WESTSTRAND S, KORALL P, 2016b. A subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae) [J]. Am J Bot, 103(12): 2160-2169.
- ZHANG HR, WEI R, XIANG QP, et al., 2020. Plastome-based phylogenomics resolves the placement of the sanguinolenta group in the spikemoss of lycophyte (Selaginellaceae) [J]. Mol Phylog Evol, 147: 106788.
- ZHANG XC, 2004. Flora Reipublicae Popularis Sinicae; Vol. 6 (3) [M]. Beijing: Science Press; 86-219. [张宪春, 2004. 中国植物志: 第六卷第三分册 [M]. 北京: 科学出版社; 86-219.]
- ZHANG XC, NOOTEBOOM HP, KATO M, 2013. Selaginellaceae [M]//WU ZY, RAVEN PH, HONG DY. Flora of China; Vol. 2-3 (Pteridophytes). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press; 37-66.

(责任编辑 李 莉)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202202018

张雨曲, 杨新杰, 程虎印, 等. 竹亚科单枝竹属芸香竹花枝和花特征补充描述 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1641–1644.
ZHANG YQ, YANG XJ, CHENG HY, et al. Supplementary description of flowering branches and flowers of *Bonia amplexicaulis* in Guangxi [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1641–1644.



竹亚科单枝竹属芸香竹花枝和花特征补充描述

张雨曲, 杨新杰, 程虎印, 高 静, 彭 亮, 张明英, 张 岗*

(陕西中医药大学 药学院, 陕西省秦岭中草药应用开发工程技术研究中心,
陕西省中医药管理局“秦药”研发重点实验室, 西安 712046)

摘 要: 繁殖器官在竹类植物的分类学研究中具有重要意义, 研究组在广西马山县观察到竹亚科单枝竹属芸香竹正在开花, 该文根据观察到的开花状况和采集到的标本解剖观察结果, 对其花枝和繁殖器官特征做了详细的中文及拉丁文补充描述。经对比芸香竹与属内已知繁殖器官结构的单枝竹和小花单枝竹的繁殖器官, 3 个竹种有相同的繁殖器官结构特征, 但在小花数目和大小等方面具有差异。繁殖器官比较表明该属竹种的繁殖器官对喀斯特地貌环境有特殊的适应性, 也支持依据营养器官差异划分为 3 个独立竹种。

关键词: 竹亚科, 单枝竹属, 芸香竹, 花, 补充描述

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1641-04

Supplementary description of flowering branches and flowers of *Bonia amplexicaulis* in Guangxi

ZHANG Yuqu, YANG Xinjie, CHENG Huyin, GAO Jing,
PENG Liang, ZHANG Mingying, ZHANG Gang*

(College of Pharmacy, Shaanxi Qinling Application Development and Engineering Center of Chinese Herbal Medicine, Key Laboratory for Research of “Qin Medicine” of Shaanxi Administration of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi’an 712046, China)

Abstract: Reproductive organs are of great significance in taxonomic studies of bamboo plants. In this paper, Latin and Chinese supplementary descriptions are provided for flowering branches and reproductive organs characteristics of bamboo species *Bonia amplexicaulis* distributed according to observed flowering condition and anatomical observation results of the collected specimens in Mashan County, Guangxi. By comparing the floral characteristics of the reproductive organ structures of *Bonia* species *B. saxatilis*, *B. parvifloscula* and *B. amplexicaulis*, the three species have the same reproductive organ structure characteristics, but there are differences in the number and size of florets. The comparison of

收稿日期: 2022-05-14

基金项目: 陕西中医药大学博士科研启动经费(17102032047); 陕西中医药大学学科创新团队项目(2019-QN01); 国家自然科学基金(31570221) [Supported by Start-up Fund for Newly Advanced Doctoral Research of Shaanxi University of Chinese Medicine (17102032047); Program of Subject Innovation Team of Shaanxi University of Chinese Medicine (2019-QN01); National Natural Science Foundation of China (31570221)].

第一作者: 张雨曲(1982-), 博士, 讲师, 主要研究方向为植物资源学、系统与分类学, (E-mail) zhangyuqu7@126.com。

* 通信作者: 张岗, 博士, 教授, 主要研究方向为植物资源学, (E-mail) jay_gumling2003@aliyun.com。

reproductive organs shows that the reproductive organs of *Bonia* species have special adaptability to karst geomorphic environment, supports that they are independent species according to the differences of nutritive organs.

Key words: Bambusoideae, *Bonia*, *Bonia amplexicaulis*, flower, supplementary description

繁殖器官形态性状是被子植物种类界定中最重要的依据,但竹类植物由于极少开花导致在分类鉴定中只能依靠营养器官形态性状,很多竹种发表时也仅能依靠营养体特征命名,加之竹类植物的营养器官差异又很小,往往给竹种的界定和其后的归类整理造成困难。虽然竹类植物很少开花,但是竹类植物的繁殖器官特征在分类学和系统学研究中仍然具有重要意义。繁殖器官发生发育时间相对较短,不易受环境影响,而且直接关系着植物的繁育,因此往往能为竹类植物类群划分和演化研究提供有力的支持,特别是为族、属的划分和分类修订提供重要依据(王正平和叶广汉,1980;耿伯介,1982;Stapleton,1997;易同培等,2009)。

本研究组在广西马山县的石灰岩山峰上发现了正在开花的竹亚科(Bambusoideae)单枝竹属(*Bonia* Balansa 1890)芸香竹 [*B. amplexicaulis* (L. C. Chia et al.) N. H. Xia] (贾良智等,1988;耿伯介和王正平,1996; Xia, 1996),该芸香竹居群分布于石灰岩山峰顶部,生长于裸露的石灰岩山地,居群内只有少数竹丛开花。开花竹丛未发现新竹笋生长,竹丛不同竿龄的竹竿上都有开花。开花竹竿花枝下部有正常枝叶,竿上有宿存箨鞘和繸毛等结构。作者根据营养体特征鉴定了该竹种,并解剖比较了其繁殖器官特征,现对其繁殖器官特征进行补充描述。营养体和花枝标本藏于陕西中医药大学中药标本馆。

单枝竹属分布于以我国广西为中心的西南喀斯特山地,中国海南岛、越南北部喀斯特山地也有分布,该属植物是石灰岩山地的特有属。该属现已知有5种1变种(Xia, 1996; Xia & Stapleton, 2006; Govaerts et al., 2021),主要分布于石灰岩山峰、残峰,常分布于裸露的石灰岩山顶、石隙,对石灰岩山地具有极强的适应性(董蕾等,2011),该属植物能够为其他植物提供遮蔽,也能防止泥土流失,具有重要的生态价值。

芸香竹分布于我国广西西部和北部的石灰岩山地,在芸香竹的分布区域还有该属分布范围最广的竹种单枝竹 [*B. saxatilis* (L. C. Chia et al.) N. H. Xia],单枝竹分布范围比芸香竹广,还分布

于广西南部、广东西部、云南东南部以及贵州南部,单枝竹和芸香竹的生长习性、外观特征和应用价值等都极为相似,鉴别特征差异也较小(贾良智等,1988; Xia, 1996; 潘启龙等,2016),两个种很容易混淆,芸香竹花枝和繁殖器官的描述,也为界定芸香竹和单枝竹2个竹种提供了依据。

芸香竹 *Bonia amplexicaulis* (L. C. Chia et al.) N. H. Xia (图版 1)

Syn: *Monocladus amplexicaulis* Chia et al. in Act. Phytotax. Sin. 26 (3): 215. f. 2(1-3)1988.

Rami floriferi laterales vel ex apicibus ramorum foliiferorum orientes. Rami florentes laterales 2-3-plo ramosi, longitudo ad 50 cm. Inflorescentiae iteructantes. Terminales rami florentes fere 10-20 cm longi, 6-10 nodi, vaginiformium anthesim fere 20-25 mm longae, ad foliis metamorphosis subulatis 8-10 mm longae et 2-3 mm latae; rami florentes in utroque nodo 1 pseudospiculae. Pseudospiculae matura 3.0-6.0 cm longae, internodia pseudospiculae 4-7 mm longae sunt, bracteae saepe 1, sed tot esse possunt 3. Bracteae fere 8-10 mm longi, lanceolati, apice acutus, dorsum laeve, venae non patentes, bracteae germen in axillis acuminatum, saepe non longius evolutum. Spiculae matura 2.5-5.0 cm longae, 4-6 flora, tantum terminali flosculo sterili. Glumae 2, lanceolatae, apice mucronatae, laeves, venis inconspicuis praeter mediumvein, primo gluma est 8-10 mm longa, secunda gluma fere 10-12 mm longa, uterque floretus gradatim maturescit, ita primus flosculus longissimus; rhachilla inter flosculos disarticulate. Cum spiculae immatura est, primum internodium et alia internodia spiculi perquam breves sunt, bases omnium florum glumis includuntur, et totum bracteis vaginis inclusum est; Cum spiculae matura sunt, primum internodium valde elongatum est, usque ad 8-10 mm, ita ut flores omnes ultra glumas extendant, et flores etiam ultra bracteas vaginis extendunt, alia internodia longitudine similia, fere 4-5 mm longa. lemmata ovato-lanceolata, cuspidibus brevibus, 12-14 mm longis, subletheriis, subtus glabris, venis inconspicuis,



A. 花枝; B. 一段花枝; C. 小花; D. 假小穗; E. 小穗; 1. 小穗; 2. 苞片; 3. 芽; 4. 第一颖; 5. 第二颖; 6. 小穗第一节间; 7. 第一小花; 8. 第二小花; 9. 外稃; 10. 内稃; 11. 小穗第二节间。标尺=1cm。

A. Flowering branches; B. A piece of a flowering branch; C. Floret; D. Pseudo-spikelet; E. Spikelet; 1. Spikelet; 2. Bract; 3. Bud; 4. The first glume; 5. The second glume; 6. The first rachilla; 7. The first floret; 8. The second floret; 9. Lemma; 10. Palea; 11. The second rachilla. Scale bars=1 cm.

图版 I 芸香竹

Plate I *Bonia amplexicaulis*

palea ovato-lanceolata, 8 – 10 mm longa, apice obtusis, subtus cum 2 dorso pilis brunneolis; palea anguste lanceolate, apice obtuse, acuminata dorso pilis brunneis munita; lodiculæ 3, longis rectangulis, glabrae; stamina 6, filamenta 2–3 mm longe florescentia, antherae 4–5 mm longae, ovario glabro circiter 1 mm longo, stylo brevissimo, stigmatibus 3, plumis, 2–3 mm longis. Floret in Martio-Aprili. Fructus incogitoi.

花枝侧生或自叶枝顶端生出, 2~3 次分枝, 总长度可达 50 cm; 花序续次发生, 末级花枝一般长 10~20 cm, 有 6~10 节, 每节有一枚鞘状苞片, 鞘状苞片内有假小穗。花期鞘状苞片的鞘部长 20~

25 mm, 先端有长 8~10 mm, 宽 2~3 mm, 钻状的变态叶。花枝除基部 2~3 节无小穗外, 每节各有 1 枚假小穗; 成熟假小穗长 3.0~6.0 cm, 假小穗柄节间长 4~7 mm, 常有苞片 1 片, 也可多至 3 片, 苞片长 8~10 mm, 披针形, 先端尖锐, 背面光滑, 脉不明显, 苞片腋内具芽, 针状, 常不再发育。成熟小穗长 2.5~5.0 cm, 含 4~6 枚小花, 顶生小花不育。颖片 2 片, 披针形, 先端具有短尖头, 光滑, 脉不明显, 第一颖长 8~10 mm, 第二颖长 10~12 mm; 各小花渐次成熟, 第一小花最大。小穗轴光滑无毛, 脱节于各小花外稃下; 在小穗未成熟时, 小穗第一节间与其他节间极短, 所有小花基部包被于颖片

内,整体包被于鞘状苞片内;小穗成熟时,第一节间显著伸长,可达8~10 mm,使得小花全部伸出颖片外,也使得小花伸出鞘状苞片外,其他节间从4~5 mm 逐渐变短。外稃卵状披针形,具有短尖头,长12~14 mm,近革质,背面光滑,脉不明显;内稃卵状披针形,先端钝尖,长8~10 mm,背面具有2脊,并有棕色细毛。鳞被3,透明膜质,近长矩形,长约1 mm,无毛。雄蕊6,花丝纤细,长2~3 mm,花药长4~5 mm。子房无毛,长约1 mm,花柱极短,柱头3,羽毛状,长2~3 mm。花期3—4月,果未见。

标本:广西马山县政府后山,海拔426 m, 2021.4.6,张雨曲 2021040601。

单枝竹属内,已知繁殖器官信息的有单枝竹和小花单枝竹 [*B. parvifloscula* (W. T. Lin) N. H. Xia] (贾良智等,1988;林万涛,1993),比较芸香竹、单枝竹和小花单枝竹的繁殖器官表明,三者具有相同的繁殖器官结构,与其他属的繁殖器官相比(耿伯介和王正平,1996),这3个竹种假小穗包被于各节的鞘状总苞内,在小穗成熟时具有伸长的假小穗第一节间,伸长的节间在花期将小花推出颖片和鞘状总苞外,使得鞘状总苞既在开花之前保护了小穗,又在开花时不影响小穗的授粉,该特征为单枝竹属特有。单枝竹属分布的东南亚季风区降水季节性明显,秋冬少雨干旱,春夏多雨湿润,而喀斯特地貌环境特别容易造成干旱和温度剧烈变化的局部环境(宋同清,2015),单枝竹属竹种在小穗生长发育的秋冬季环境较差,小穗轴不伸长使得小穗受到鞘状苞片的保护,在春季的开花时间环境变好,小穗第一节间显著伸长,将小花推出苞片外,适应开花需求,该特征表现为该属竹种对喀斯特地貌气候环境的适应。

芸香竹与单枝竹、小花单枝竹的繁殖器官虽然结构相同,但3个种之间也有差异。单枝竹的花枝在每节的鞘状苞片内有多枚假小穗,而芸香竹和小花单枝竹只有一枚;单枝竹的小穗有5~9枚小花,芸香竹和小花单枝竹只有4~6枚。小花单枝竹和芸香竹相比,2个种的假小穗和小花具有明显的大小差异,前者假小穗长1.7~2.0 cm,外稃长6~8 mm,前端钝,而后者假小穗长达3.0~6.0 cm,外稃长12~14 mm,具有短尖头。因此,虽然单枝竹属内的竹种形态特征极为相似,但繁殖器官比较表明繁殖器官特征支持依照营养体特征划分的单枝竹、小花单枝竹与芸香竹为独立的竹种。

参考文献:

- DONG L, CAO HL, YE WH, et al., 2011. Leaf anatomic traits of 5 species in southwestern China's karst region [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 17(5): 747-749. [董蕾, 曹洪麟, 叶万辉, 等, 2011. 5种喀斯特生境植物叶片解剖结构特征 [J]. *应用与环境生物学报*, 17(5): 747-749.]
- GENG BJ (KENG PC), WANG ZP (CP), 1996. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* [M]. Beijing: Science Press, 9(1): 40-43. [耿伯介, 王正平, 1996. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 9(1): 40-43.]
- GENG BJ (KENG PC), 1982. A revision of the genera of bamboos for the world. I. [J]. *J Bamboo Res*, 1: 1-19. [耿伯介, 1982. 世界竹亚科各属的考订(之一) [J]. *竹子研究汇刊*, 1: 1-19.]
- GOVAERTS R, NIC LE, BLANK N, et al., 2021. The world checklist of vascular plants [J]. *Sci Data*, 8: 215.
- LIN WT, 1993. Five new species of bamboos from Guangdong [J]. *J Bamboo Res*, 12(3): 1-10. [林万涛, 1993. 广东竹类5新种 [J]. *竹子研究汇刊*, 12(3): 1-10.]
- JIA LZ (CHIA LC), FENG XL (FUNG HL), YANG YL, 1988. *Monocladus, genus novum Bambusoidearum* (Poaceae) [J]. *Acta Phytotax Sin*, 26(3): 211-216. [贾良智, 冯学琳, 杨雅玲, 1988. 竹亚科一新属—单枝竹属 [J]. *植物分类学报*, 26(3): 211-216.]
- PAN QL, LIU GJ, CAI DX, et al., 2016. Distribution and phenotypic variation of *Bonia* resources at limestone areas of Guangxi [J]. *Nonwood For Res*, 34(1): 147-152. [潘启龙, 刘光金, 蔡道雄, 等, 2016. 广西石灰岩地区单枝竹属资源的分布和变异 [J]. *经济林研究*, 34(1): 147-152.]
- SONG TQ, 2015. *Plants and the environment in karst areas of Southwest China* [M]. Beijing: Science Press. [宋同清, 2015. 西南喀斯特植物与环境 [M]. 北京: 科学出版社.]
- STAPLETON CMA, 1997. *Morphology of woody bamboos* [M]//CHAPMAN GP. *The bamboos* [M]. Pittsburgh: Academic Press: 251-267.
- STAPLETON CMA, LI DZ, XIA NH, 2005. New combinations for Chinese bamboos (Poaceae, Bambuseae) [J]. *Novon*, 15(4): 599-601.
- WANG ZP (CP), YE GH, 1980. On the problems of the classification of Chinese bamboos with creeping rhizomes [J]. *Acta Phytotax Sin*, 18(3): 283-291. [王正平, 叶光汉, 1980. 关于我国散生竹的分类问题 [J]. *植物分类学报*, 18(3): 283-291.]
- XIA NH, 1996. A study of the genus *Bonia* (Gramineae: Bambusoideae) [J]. *Kew Bull*, 51(3): 565-569.
- XIA NH, STAPLETON CMA, 2006. *Flora of China* (Vol. 22) [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 49-50.
- YI TP, SHI JY, MA LS, et al., 2009. Key to the genus and species of *Bamboaceae* in China [M]. Beijing: Science Press: 23. [易同培, 史军义, 玛丽莎, 等, 2009. 中国竹亚科属种检索表 [M]. 北京: 科学出版社: 23.]

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202103062

张文华, 郭永杰, 李玉玲, 等. 白毛算盘子(叶下珠科)在中国无分布 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1645–1651.
ZHANG WH, GUO YJ, LI YL, et al. Exclusion of *Glochidion arborescens* (Phyllanthaceae) from the flora of China [J].
Guihaia, 2022, 42(10): 1645–1651.



白毛算盘子(叶下珠科)在中国无分布

张文华¹, 郭永杰^{2,3}, 李玉玲¹, 姚纲^{1*}

(1. 华南农业大学 林学与风景园林学院, 广州 510642; 2. 中国科学院昆明植物研究所 中国西南野生生物种质资源库, 昆明 650201; 3. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 长期以来, 白毛算盘子 (*Glochidion arborescens* Blume) 被认为广布于中国云南西部至南部地区。该研究基于多年野外考察及标本查阅工作发现, 由于白毛算盘子在中国的分布实为标本错误鉴定所致, 相关错误鉴定的标本绝大部分属于绒毛算盘子 [*G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight], 少部分属于里白算盘子 (*G. acuminatum* var. *acuminatum* Müll. Arg.)、毛果算盘子 (*G. eriocarpum* Champ. ex Benth.)、艾胶算盘子 [*G. lancolarium* (Roxb.) Voigt] 或厚叶算盘子 [*G. zeylanicum* var. *tomentosum* (Dalzell) Trimen] 等物种, 故在此将白毛算盘子在中国的分布予以排除。另外, 对白毛算盘子进行了后选模式指定, 并提供了白毛算盘子与相关混淆种的物种检索表。

关键词: 算盘子属, 白毛算盘子, 叶下珠族, 叶下珠科, 分类学

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1645-07

Exclusion of *Glochidion arborescens* (Phyllanthaceae) from the flora of China

ZHANG Wenhua¹, GUO Yongjie^{2,3}, LI Yuling¹, YAO Gang^{1*}

(1. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. The Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The species *Glochidion arborescens* Blume has long been considered to be widely distributed in Yunnan Province, China. Based on years of extensive specimen examinations and field investigations, we demonstrated that all the Chinese specimens previously identified as *G. arborescens* mostly belonged to *G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight, while several others belonged to *G. acuminatum* var. *acuminatum* Müll. Arg., *G. eriocarpum* Champ. ex Benth., *G. lancolarium* (Roxb.) Voigt or *G. zeylanicum* var. *tomentosum* (Dalzell) Trimen. *G. arborescens* is not found to China and thus the distribution of the species in China is excluded. In addition, a lectotype of *G. arborescens* is specified, and a species key of *G. arborescens* and relevant misidentified species is provided.

Key words: *Glochidion*, *Glochidion arborescens* Blume, Phyllanthaceae, Phyllanthaceae, taxonomy

收稿日期: 2021-06-11

基金项目: 广东省自然科学基金(2019A1515011695)[Supported by Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019A1515011695)].

第一作者: 张文华(1997-), 硕士研究生, 研究方向为被子植物经典分类与系统演化, (E-mail) zhangwh1997z@163.com。

*通信作者: 姚纲, 博士, 主要从事被子植物经典分类与系统演化研究, (E-mail) gyao@scau.edu.cn。

算盘子属(*Glochidion* J. R. Forst. & G. Forst.) 隶属于叶下珠科(Phyllanthaceae) 叶下珠族(Phyllanthae), 超过 300 种, 为乔木或灌木类型, 主要分布于热带亚热带亚洲至波利尼西亚地区(Webster, 2014; 姚纲等, 2017)。中国产算盘子属植物近 30 种, 主要分布于西南部至台湾(李秉滔, 1994; 姚纲等, 2017)。形态特征上, 算盘子属以其花无花盘、花柱常合生、雄蕊顶端具尖及种皮常肉质化等特征区别于同族其他属(李秉滔, 1994; Webster, 2014)。该属植物花为单性且极小(雌花直径大多在 1 mm 左右), 果实多为扁球状, 由于众多分类学文献对该属类群花和果特征的描述较为简单, 可用分类学性状挖掘不足, 因此该属植物标本的物种错误鉴定情况非常普遍, 前期我们对中国部分物种进行过修订, 完善了多个物种的分布区信息(Yao et al., 2015, 2019, 2020; 姚纲等, 2017)。

白毛算盘子(*Glochidion arborescens* Blume) 由 Blume 于 1825 年基于采自印度尼西亚爪哇岛的一号标本(*C. L. von Blume s. n.*, L & NY) 发表。形态特征上, 该种叶片上表面无毛, 下表面沿叶脉被微毛, 雌花具总梗, 花柱合生呈近锥状至短柱状, 雄蕊 6 枚, 果实近无毛, 直径 5~7 mm, 果实上纵沟很浅至不明显, 此一系列特征易于与同属其他物种相区别。分类学处理中, 该种曾被处理为香港算盘子的变种:*G. zeylanicum* (Gaertn.) A. Juss. var. *arborescens* (Blume) Chakrab. & M. Gangop. (Chakrabarty & Gangopadhyay, 1995), 并被部分志书或物种名录所接受(马海英等, 2006; 陈家辉等, 2018)。在中国, 白毛算盘子早期被《云南种子植物名录》所收录(吴征镒, 1984), 之后被《中国植物志》(李秉滔, 1994)、*Flora of China* (Li & Gilbert, 2008)、《云南植物志》(马海英等, 2006)、《云南省种子植物名录数据集》(陈家辉等, 2018) 及《中国生物物种名录》(夏念和和童毅华, 2018) 等志书及一系列物种名录所收录, 且相关资料中提及该种广布于云南思茅、景东、双江、泸水、勐海、勐腊及景洪等地。然而, 在针对算盘子属的分类修订工作中, 基于多年的文献考证、标本查阅及野外考察等工作, 我们发现白毛算盘子在中国的分布属于标本错误鉴定所致, 而真正的白毛算盘子在中国并未发现。因此, 将其在中国的分布予以排除。

分类处理

白毛算盘子 图版 I: A, C-E

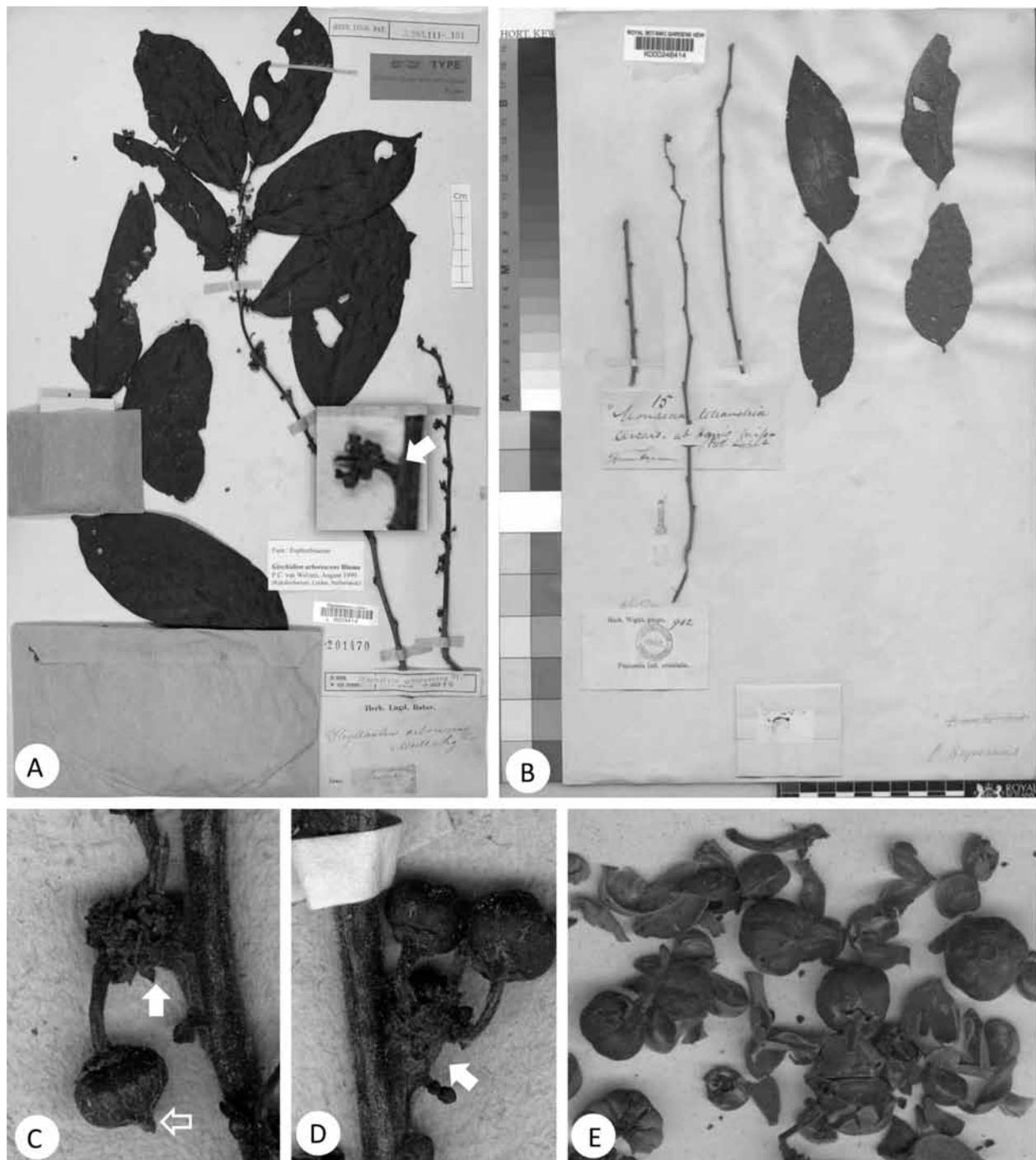
Glochidion arborescens Blume Bijdr. 584. 1825.

Lectotype (designated here); INDONESIA. Java, *C. L. von Blume s. n.* (L-0023414, photo!; isolectotype: NY-00263425, photo!).

Chakrabarty 和 Gangopadhyay (1995) 曾将白毛算盘子处理为香港算盘子 [*G. zeylanicum* var. *zeylanicum* (Gaertn.) A. Juss.] 的变种: *G. zeylanicum* (Gaertn.) A. Juss. var. *arborescens* (Blume) Chakrab. & M. Gangop.。实际上, 香港算盘子植株除子房外均无毛, 果实直径 8~12 mm, 由于白毛算盘子与之区别明显, 因此将白毛算盘子处理为香港算盘子变种的做法值得商榷, 二者之间的关系有待后续利用分子证据加以确认。鉴于二者形态差异明显, 本研究暂时接受众多植物志中的观点, 即承认白毛算盘子独立的种级地位。

一方面, 白毛算盘子在中国最初收录于《云南种子植物名录》之中(吴征镒, 1984), 其中引用了两号凭证标本: Henry 11929 与辛景三 212。本研究对这两号标本进行研究发现, 标本 Henry 11929 (PE-00960326, 图版 II: A) 实际应属于厚叶算盘子 [*G. zeylanicum* var. *tomentosum* (Dalzell) Trimen], 而标本辛景三 212 (IBSC-0330399, 图版 II: B; KUN-0187461, 图版 II: C; PE-00960239, 图版 II: D) 属于绒毛算盘子 [*G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight, 模式为图版 I: B]。因此, 毫无疑问, 《云南种子植物名录》收录的白毛算盘子为标本鉴定错误所致。该种在中国云南的分布发表之后被众多分类学文献所收录, 这在很大程度上可能是参考了之前所出版的《云南种子植物名录》。

另一方面, 基于近十年广泛的野外考察与标本查阅工作, 我们发现被鉴定为白毛算盘子的其他中国标本绝大部分属于绒毛算盘子, 另有少量标本为里白算盘子 (*G. acuminatum* var. *acuminatum* Müll. Arg.)、毛果算盘子 (*G. eriocarpum* Champ. ex Benth.) 或艾胶算盘子 [*G. lanceolarium* (Roxb.) Voigt] (图版 III)。形态特征上, 绒毛算盘子茎与叶片下表面密被白色短柔毛(图版 IV: B-C), 雌花簇生于叶腋内(图版 IV: B), 子房 4~6 室, 花柱短柱状(图版 IV: B), 雄蕊 3 枚, 果实扁球形且密被白色短柔毛(图版 IV: D), 果实直径 8~10 mm, 果实纵沟较深, 8~12 条(图版 IV: D); 里白算盘子雌花簇生于叶腋内, 子房 3~4 室, 雄蕊 3 枚, 果实直径 5~7 mm, 果实纵沟较深, 6 条或 8 条, 果实宿存花柱柱状(图版 IV: E); 毛果算盘子叶片两面均被长柔毛, 雌花簇生于叶腋内, 花柱呈柱状, 雄蕊 3



A. 白毛算盘子后选模式 (*C. L. von Blume* s.n. L-0023414); B. 绒毛算盘子 [*G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight] 后选模式 (*B. Heyne* 15, K-000246414); C-E. 白毛算盘子果实与果梗, 实心箭头表示腋上生果梗总梗, 空心箭头表示果实宿存花柱。
A. Lectotype of *G. arborescens* (*C. L. von Blume* s.n. L-0023414); B. Lectotype of *G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight (*B. Heyne* 15, K-000246414); C-E. Fruits and peduncles of *G. arborescens*, peduncle and persistent style are shown by the solid and hollow arrowhead, respectively.

图版 I 白毛算盘子与绒毛算盘子标本

Plate I Specimens of *Glochidion arborescens* Blume and *G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight

枚, 果实密被长柔毛, 直径 8~10 mm, 纵沟较深, 8~10 条 (图版 IV: F); 艾胶算盘子叶两面无毛, 雌

花簇生于叶腋内, 花柱短柱状至近短圆锥状, 雄蕊 5~6 枚, 果实近无毛, 近球形至扁球形, 直径 8~12



A. 厚叶算盘子(*Henry* 11929, PE-00960326); B-D. 绒毛算盘子(辛景三 212, B. IBSC-0330399, C. KUN-0187461, D. PE-00960239)。
A. *Glochidion zeylanicum* var. *tomentosum* (Dalzell) Trimen (*Henry* 11929, PE-00960326); B-D. *G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight
(*J. S. Xin* 212, B. IBSC-0330399, C. KUN-0187461, D. PE-00960239)。

图版 II 算盘子属标本
Plate II Specimens of *Glochidion*

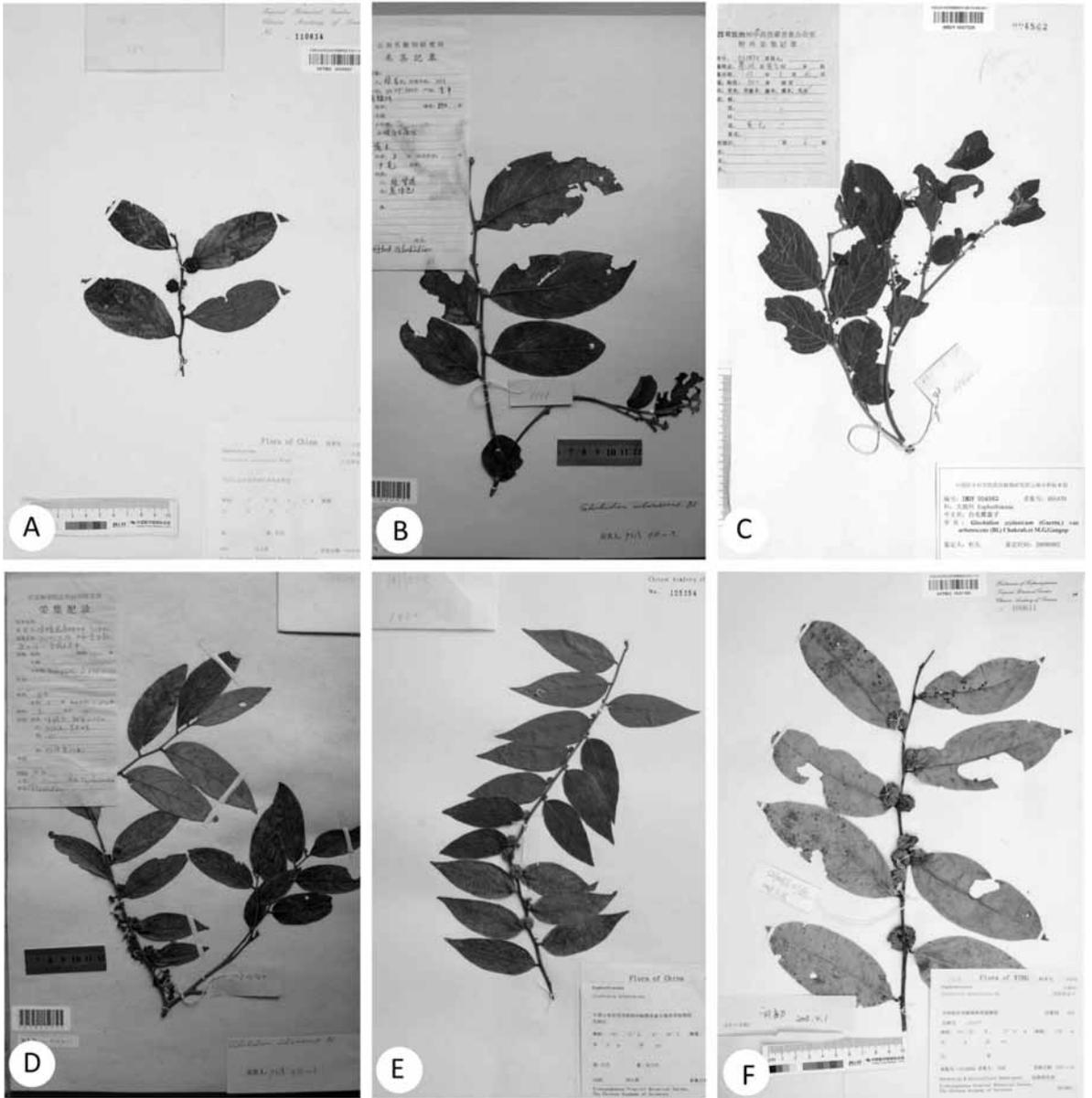
mm,纵沟浅或较明显,12~16条(图版IV:G)。相比之下,白毛算盘子叶片上表面无毛,下表面沿叶脉被微毛,雌花具总梗且总梗生于叶腋上方(图版I:A,C,D),花柱短圆锥状至柱状(图版I:C),雄蕊6枚,果实近无毛,直径5~7mm,纵沟很浅或不明显(图版I:C-E)。因此,从叶片毛被特征、雌花是否具总梗、花柱特征、雄蕊数目、果实大小与毛被以及果实纵沟特征等性状来看,白毛算盘子与其他几个物种明显不同。雌花具总梗这一特征在国产算盘子属物种中仅见于香港算盘子、厚叶算盘子及披针叶算盘子(*G. lanceolatum* Hayata)3个类群。此外,基于《中国植物志》中对算盘子属组级水平类群划分的观点(李秉滔,1994),白毛算盘子与艾胶算盘子隶属于多雄蕊组(Sect. *Multandrum* P. T. Li),而里白算盘子、绒毛算盘子与毛果算盘子则属于算盘子组(Sect. *Glochidion*)。

从白毛算盘子这一物种的拉丁学名来看,其种加词“*arborescens*”意为“乔木状的”,该种中文名则以其毛被特征作为命名依据。从被鉴定为白毛算盘子的中国标本来看,绒毛算盘子茎、叶、子房、花萼、花梗及果实等均被白色短绒毛,《中国植物志》等文献中提供的白毛算盘子线形图同样与绒毛算盘子无异,而与真正的白毛算盘子不同。因此,不难看出《中国植物志》及中国其他相关分类学文献中对白毛算盘子这一物种的收录很可能是基于鉴定错误的国产绒毛算盘子标本。此外,

近年来大量野外考察及标本查阅工作并未发现真正的白毛算盘子在中国有分布,故在此将该种在中国的分布予以排除。

分布: 主要分布于印度尼西亚,根据相关植物志、物种名录等文献报道,该种在印度、缅甸、泰国及马来半岛等地也有分布。然而,标本鉴定错误导致物种分布区有误的情况在算盘子属较为常见,本研究未能查阅到该种模式产地以外的其他标本。因此,该种在相关地区是否存在真实分布暂不做讨论,对其分布区仅列其模式所在国家。

Chakrabarty 和 Gangopadhyay (1995) 曾认为白毛算盘子在印度东部地区有分布,但其所提供信息表明,印度所产该类群植株各部分明显被毛,并认为该种与厚叶算盘子相似,仅以果实较小(直径4~7mm vs. 7~12mm)与后者不同。实际上,由于白毛算盘子叶片上表面无毛,仅下表面(多见于叶脉处)被微毛(*C. L. Blume* s. n., NY-00263425 & P-00748458, photos!),因此与 Chakrabarty 和 Gangopadhyay (1995) 所记载的印度类群区别明显。Swamy 等(2016)曾报道白毛算盘子在印度南部地区的新分布,根据其研究所提供的物种活体图片,其报道的物种明显鉴定错误,其报道物种的雌花簇生于叶腋内、花柱呈长柱状、果实很扁且密被短绒毛、果实纵沟8条且较深,此一系列特征与真正的白毛算盘子明显不同。van Welzen (2007) 在 *Flora of Thailand* 中收录白毛算盘子,但据记载该种果实直径8.5~11mm,同样与具备较小果实的白毛算盘子不同。



A–C. 绒毛算盘子 (A. 钱义咏 684, HITBC-0005647; B. 绿春队 1111, KUN-0186242; C. 郭绍荣 1470, IMDY-0007529); D. 里白算盘子 (杨增宏等 101440, KUN-0186237); E. 毛果算盘子 (周仕顺 1620, HITBC-105354); F. 艾胶算盘子 (刘勳 C210056, HITBC-0021169)。

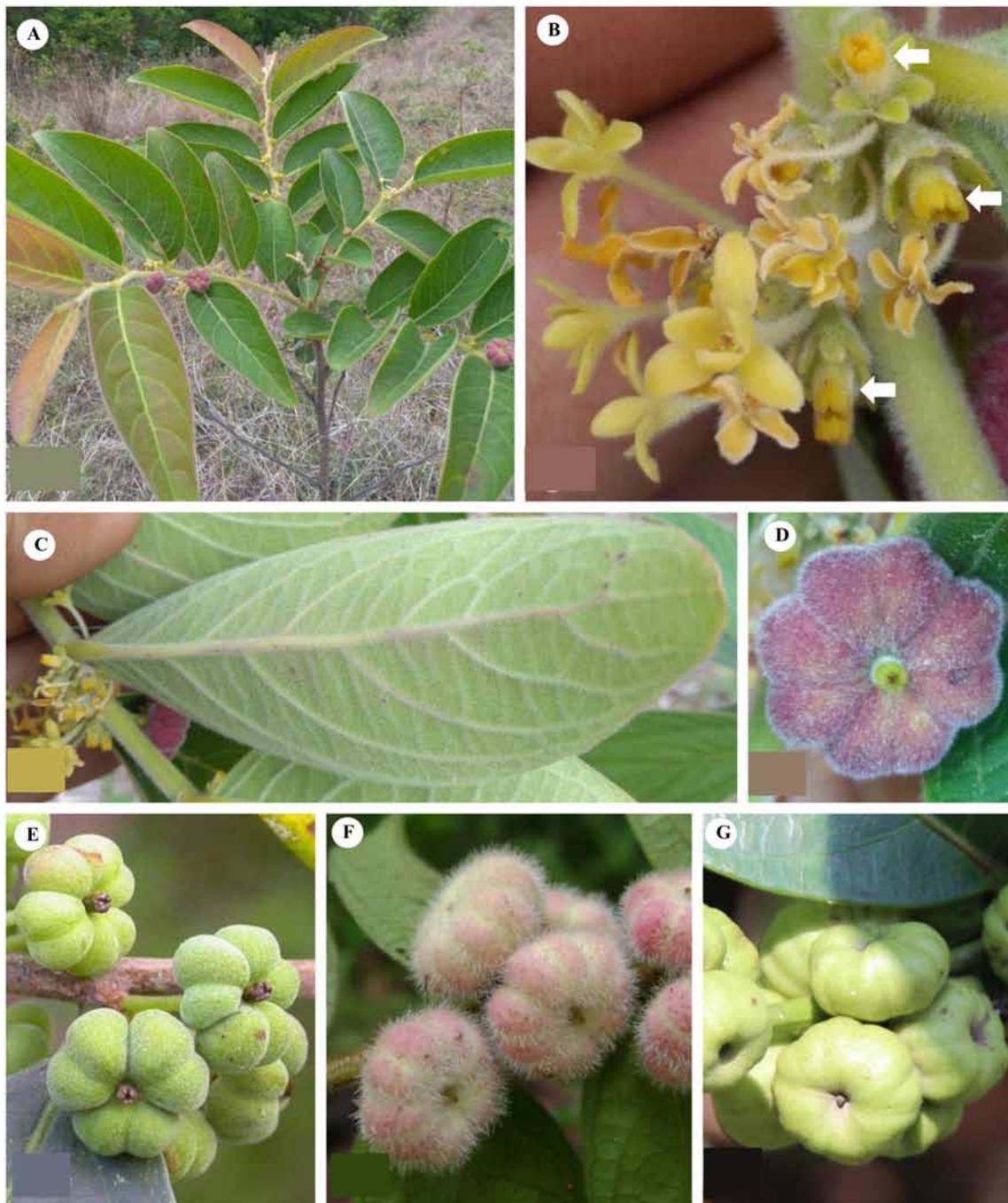
A–C. *Glochidion heyneanum* (Wight & Arn.) Wight (A. Y. Y. Qian 684, HITBC-0005647; B. Lüchun Expedition 1111, KUN-0186242; C. S. R. Guo 1470, IMDY-0007529); D. *G. acuminatum* var. *acuminatum* Müll. Arg. (Z. H. Yang et al. 101440, KUN-0186237); E. *G. eriocarpum* Champ. ex Benth. (S. S. Zhou 1620, HITBC-105354); F. *G. lanceolarium* (Roxb.) Voigt (M. Liu C210056, HITBC-0021169)。

图版 III 算盘子属标本
Plate III Specimens of *Glochidion*

研究标本引证 (部分)

里白算盘子 (*Glochidion acuminatum* var. *acuminatum*): 中国云南省景东县, 海拔 1 900 m, 1963 年 11 月 6 日, 杨增宏等 101440 (KUN-0186237)。白毛算盘子 (*G. arborescens*): 印度尼西亚, *Teysmann*, *J. E.*, #s. n. (K001081136, K001081137); 苏门答腊,

Teysmann, *J. E.*, #s. n. (L0023367); Sumatra, Sumatera Selatan, Bangka, Banka, *syn.* #HB3397 (U0001935)。毛果算盘 (*G. eriocarpum*): 中国云南省西双版纳州勐腊县勐仑镇热带植物园民族区, 2003 年 8 月 2 日, 周仕顺 1620 (HITBC-105354)。艾胶算盘子 (*G. lanceolarium*): 中国云南省西双版纳热带植物



A-D. 绒毛算盘子: A. 植株; B. 雌花与雄花; C. 叶片下表面; D. 果实。E. 里白算盘子果实; F. 毛果算盘子果实; G. 艾胶算盘子果实。
A-D. *G. heyneanum* (Wight & Arn.) Wight; A. Habit; B. Female and male flowers; C. Abaxial of leaf; D. Fruit. E. Fruits of *G. acuminatum* var. *acuminatum* Müll. Arg.; F. Fruits of *G. eriocarpum* Champ. ex Benth.; G. Fruits of *G. lanceolarium* (Roxb.) Voigt.

图版 IV 算盘子属物种
Plate IV *Glochidion* species

园,海拔 570 m,2007 年 3 月 26 日,刘勰 C210056 (HITBC-0021169)。厚叶算盘子 (*G. zeylanicum* var. *tomentosum*):中国云南省,海拔 1 667 m,1982 年 7 月 17 日,A. Henry 11929(PE-00960326)。绒毛算

盘子 (*G. heyneanum*):中国云南省西双版纳景洪市普文乡(现普文镇)后山,海拔 930 m,1997 年 8 月 12 日,陶国达等 17023(HITBC-014627);云南省孟连县城北石灰山,1973 年 8 月 18 日,孟连调查队

10226(HITBC-014545, KUN-0186243); 云南省思茅地区普洱县(现宁洱县)那迁村, 1986年7月31日, 钱义咏 684(HITBC-0005647); 云南省德宏州梁河县芒东镇至勐养镇途中, 1974年10月17日, 陶国达 12834(HITBC-014544); 云南省盈江县芒允乡, 1974年11月12日, 陶国达 13408(HITBC-014547); 云南省保山市瓦窑乡滇缅公路 621 km 附近, 海拔 1 160 m, 1977年9月23日, 李延辉 20422(HITBC-014629, IBSC-0734117); 云南省红河县, 海

拔 1 000 m, 1973年11月17日, 陶德定 1558(KUN-0186239, HITBC-096300); 云南省金平县老猛洞, 海拔 850 m, 1974年5月22日, 绿春队 1111(HITBC-100311, KUN0186242); 云南省景洪市普文区(现普文镇), 海拔 800 m, 1987年5月20日, 郭绍荣 1470(IMDY-0007529); 云南省通海县, 海拔 1 750 m, 1989年8月12日, 玉溪队 0784(KUN-0186234); 云南省永德县, 海拔 1 800 m, 2002年7月26日, 刘恩德 5468(KUN-0186245)。

白毛算盘子与中国混淆物种的检索表

- | | |
|--|---|
| 1. 植株被长柔毛 | 毛果算盘子 <i>Glochidion eriocarpum</i> |
| 1. 植株绝无长柔毛 | 2 |
| 2. 雄蕊 3 枚; 花柱柱状; 果实纵沟较深 | 3 |
| 2. 雄蕊不少于 5 枚; 花柱绝非柱状; 果实纵沟很浅或不明显 | 4 |
| 3. 叶片密被白绒毛; 子房 3 室(稀 4 室); 果实直径 5~7 mm | 里白算盘子 <i>G. acuminatum</i> var. <i>acuminatum</i> |
| 3. 叶片具短柔毛; 房 4~6 室; 果实直径 8~10 mm | 绒毛算盘子 <i>G. heyneanum</i> |
| 4. 果实直径 5~7 mm | 白毛算盘子 <i>G. arborescens</i> |
| 4. 果实直径可达 10 mm | 4 |
| 5. 植株明显被毛; 雌花生于叶腋上方的总梗; 果实内部无空腔 | 厚叶算盘子 <i>G. zeylanicum</i> var. <i>tomentosum</i> |
| 5. 植株无毛; 雌花簇生于叶腋; 果实内部常具明显的空腔 | 艾胶算盘子 <i>G. lanceolarium</i> |

致谢 承蒙 HITBC、IMDY、IBSC、K、KUN、PE、L、NY、U 等标本馆提供标本图片及数据, 特此致谢。

参考文献:

CHAKRABARTY T, GANGOPADHYAY M, 1995. The genus *Glochidion* (Euphorbiaceae) in the Indian subcontinent [J]. *J Econ Tax Bot*, 19(1): 173-233.

CHEN JH, DENG T, ZHANG DG, et al., 2018. The catalogue of seed plants in Yunnan Province [J]. *Chin Sci Data*, 3(1): 20-28. [陈家辉, 邓涛, 张代贵, 等, 2018. 云南省种子植物名录数据集 [J]. *中国科学数据*, 3(1): 20-28.]

LI BT, 1994. *Glochidion* [M]//Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Angiospermae Dicotyledoneae Euphorbiaceae Phyllanthoideae. Beijing: Science Press, 44(1): 133-162. [李秉滔, 1994. 算盘子属 [M]//中国植物志. 被子植物 双子叶植物纲 大戟科 叶下珠亚科. 北京: 科学出版社, 44(1): 133-162.]

LI BT, GILBERT MG, 2008. *Glochidion* [M]// WU ZY, RAVEN PH. *Flora of China*. Beijing: Science Press, 11: 193-202.

MA HY, PENG H, YIN WQ, 2006. *Glochidion* [M]//WU ZY. *Flora of Yunnan Vol. 10*. Beijing: Science Press: 122-136. [马海英, 彭华, 尹文清, 2006. 算盘子属 [M]//吴征镒. 云南植物志: 第 10 卷. 北京: 科学出版社: 122-136.]

SWAMY J, NAGARAJU S, CHANDRAMOHAN K, et al., 2016. *Glochidion zeylanicum* var. *arborescens* (Phyllanthaceae): A new distribution record for South India [J]. *Ann Plant Sci*, 5(4): 1324-1325.

VAN WELZEN PC, 2007. *Glochidion* [M]//CHAYAMARIT

K, VAN WELZEN PC. *Flora of Thailand*. Bangkok: Royal Forest Department, 8(2): 308-331.

WEBSTER GL, 2014. Phyllanthaceae [M]//KUBITZKI K. *Flowering plant. Eudicots. The families and genera of vascular plants*. Berlin: Springer, 11: 74-80.

WU ZY, 1984. Euphorbiaceae [M]// Index Florae Yunnanensis Tomus I. Kunming: Yunnan People's Publishing House: 429-455. [吴征镒, 1984. 大戟科 [M]//云南种子植物名录: 上册. 昆明: 云南人民出版社: 429-455.]

XIA NH, TONG YH, 2018. Phyllanthaceae [M]//CHEN YY. *Species catalogue of China*. Beijing: Science Press, 5: 309-322. [夏念和, 童毅华, 2018. 叶下珠科 [M]//陈宜瑜. 中国生物物种名录. 北京: 科学出版社, 5: 309-322.]

YAO G, SONG ZQ, XUE BE, et al., 2020. Taxonomic revision of the genus *Glochidion* (Phyllanthaceae) in Taiwan, China [J]. *PhytoKeys*, 159: 137-159.

YAO G, SONG ZQ, LI YL, et al., 2019. Exclusion of *Glochidion coccineum* (Phyllanthaceae) from the flora of China [J]. *Phytotaxa*, 408(3): 215-221.

YAO G, ZHANG DX, 2015. Taxonomic notes on *Glochidion acuminatum* and *G. triandrum* (Phyllanthaceae) [J]. *Phytotaxa*, 236(1): 79-85.

YAO G, ZHANG LJ, XUE BE, 2017. Taxonomic notes on Chinese *Glochidion* (Phyllanthaceae) [J]. *Guihaia*, 37(5): 547-553. [姚纲, 张连婕, 薛彬娥, 2017. 中国算盘子属(叶下珠科)一些种的分类学处理 [J]. *广西植物*, 37(5): 547-553.]

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110072

何爽, 谭敦炎. 新疆阿魏雄性不育的细胞形态学研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1652–1660.

HE S, TAN DY. Morphological and cytological studies on male sterility in *Ferula sinkiangensis* [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1652–1660.

新疆阿魏雄性不育的细胞形态学研究

何爽^{1*}, 谭敦炎^{2,3,4}

(1. 新疆大学 生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046; 2. 新疆农业大学 草业学院, 乌鲁木齐 830052; 3. 新疆草地资源与生态重点实验室, 乌鲁木齐 830052; 4. 西部干旱荒漠区草地资源与生态教育部重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

摘要: 新疆阿魏是特产于我国新疆的伞形科阿魏属多年生一次结实草本植物, 属于国家二级保护的濒危植物。其种群中除了该科植物典型的雄全同株个体以外, 还具有一定数量雄性不育的雌株。为了探究新疆阿魏的雄性不育现象及其影响因素, 该文从细胞形态学角度对种群中的雌株以及雌花的形态特征进行了观测, 采用石蜡切片技术对功能性雌花雄蕊的花药败育过程进行了观察。结果表明: (1) 雌株 3 月底萌动, 4 月中旬进入花期, 5 月底果实成熟; 物候期与雄全同株个体相同。(2) 植株高度 (71.00 ± 10.92) cm 和直径 (71.67 ± 17.64) cm、一级分支 (23.83 ± 2.04); 基生叶长 (33.41 ± 11.63) cm、宽 (24.47 ± 8.60) cm; 在植株大小、基生叶大小等方面雌株与雄全同株个体无差异。(3) 在雌株上, 一级分支和二级分支均为雌花序, 均可结实; 雌花序的伞幅数/每复伞花序 (13.22 ± 4.70)、花数/每花序 (12.03 ± 2.30)、总花数/每复伞花序 (159.08) 均高于两性花序; 雌株比雄全同株个体产生更多可结实的花, 形成更多具有杂种优势的异交后代。(4) 雌花序中, 花排列紧密, 花间距小于两性花序和雄花序; 开花时, 雌花花瓣微微张开, 与两性花、雄花花瓣向下反折的形态明显不同。(5) 功能性雌花的花瓣形态、雌蕊形态及大小与两性花/雄花无差异, 但是花瓣大小 [长 (1.79 ± 0.39) mm、宽 (1.10 ± 0.21) mm]、雄蕊长度 ($0.6 \sim 1.3$) mm 最小, 花药退化, 无花粉。(6) 在雌花退化雄蕊的花药发育过程中, 出现了花药壁和雄配子体的异常发育; 花药败育发生在造孢细胞时期至小孢子四分体时期。综上所述, 新疆阿魏雄性不育植株的营养供给与雄全同株个体相同, 但是资源分配模式不同; 功能性雌花在形态和功能上明显区别于两性花和雄花; 其雄蕊败育的主要影响因素是药壁结构的异常发育, 尤其是绒毡层的缺失导致了小孢子败育。

关键词: 濒危植物, 新疆阿魏, 雄性不育, 形态学, 细胞学

中图分类号: Q944 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1652-09

Morphological and cytological studies on male sterility in *Ferula sinkiangensis*

HE Shuang^{1*}, TAN Dunyan^{2,3,4}

(1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2. College of Grassland Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 3. Xinjiang Key Laboratory of Grassland Resources and Ecology, Urumqi 830052, China; 4. Ministry of Education Key Laboratory for Western Arid Region Grassland Resources and Ecology, Urumqi 830052, China)

收稿日期: 2022-01-28

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金(2018D01C082) [Supported by Natural Science Foundation of Xinjiang Uygur Autonomous Region (2018D01C082)]。

第一作者: 何爽(1970-), 硕士, 副教授, 主要从事干旱区资源植物及繁殖生态学研究, (E-mail) heshuang18@aliyun.com。

* 通信作者

Abstract: *Ferula sinkiangensis* is a perennial herb, producing fruits only once through its life history, and exclusively inhabited in Xinjiang being in the list of state rare and endangered plants Level 2. Besides andromonoecy, usually found in Umbelliferae, plants of male sterility were observed in their populations. Aimed to male sterility and the factors inducing it, comparative observation on morphology of male sterility individuals and functional female flowers were executed through field investigation, and study on cytology of the process of the anther degeneration in female flowers were made from paraffin sections. The results were as follows: (1) Female plants germinated at the end of March and blossomed in the middle of April, and their fruits matured at the end of May; Phenological phases of them were the same as those of andromonoecy. (2) The average height and diameter of plant, and number of the first level branch of female individuals were (71.00 ± 10.92) cm, (71.67 ± 17.64) cm, and (23.83 ± 2.04) , separately; The average length and width of basal leaves were (33.41 ± 11.63) cm and (24.47 ± 8.60) cm; The female and the andromonoecy were the same in size of both the plant and the leaf. (3) On female plants, inflorescences on the first and the second level branches were all female, which could bear fruits wholly; The number of umbels in the inflorescence (13.22 ± 4.70) and number of flowers in the umbel (12.03 ± 2.30) and number of total flowers in the inflorescence (159.08) were higher than those in individuals of hermaphrodite; Female plants produced more flowers which could set fruits and bore out-crossing seeds of heterosis. (4) In female umbels flowers located tightly and the distance among flowers were shorter than those in both hermaphrodite and male umbels; Female flowers opened slightly in the whole flowering stage, while petals of both hermaphrodite and male flowers folded reversely. (5) There were no differences in morphological characteristics of petals and pistils among different sexual flowers. But the length (1.79 ± 0.39) mm and width (1.10 ± 0.21) mm of petals, and the length of stamens $(0.6-1.3)$ mm in the functional female flower were the smallest, where anthers degenerated and no pollen stain well developed. (6) Abnormal development of the anther on the degenerated stamen appeared in both of parietal cells and male gametophytes from sporogenous cell stage to microspore tetrad stage. In conclusion, the nutrients productivity in plants of male sterility is similar as andromonoecy, but patterns of resource distribution are quite different; there are significant differences between female and hermaphrodite/male flowers in both the morphology and the function; abnormal development of parietal cells, especially because of the lack of tapetum, caused abortion of microspores in the functional female flower.

Key words: endangered plant, *Ferula sinkiangensis*, male sterility, morphology, cytology

植物雄性不育 (male sterility, MS) 是指被子植物有性繁殖过程中两性花因花粉败育、无法产生花粉而丧失雄性功能的遗传现象。在显花植物中雄性不育广泛存在, 现已在 43 科 162 属 320 种、617 品种/杂种中被发现 (Kaul, 1988; 郝岗平等, 2003), 常由遗传物质变异、营养缺乏、环境刺激等内/外部因素引起 (李泽福等, 2000)。能够引发植物雄性不育的因素多种多样, 因而对于雄性不育的分类也就有多种方式。目前, 研究成果较丰富、实际应用价值较高的植物雄性不育分类系统是按照导致雄性不育的基因型组成来进行划分, 将植物雄性不育分为细胞质雄性不育 (cytoplasmic male sterility, CMS) 和细胞核雄性不育 (nucleus male sterility, NMS) 两种类型。其中, 细胞质雄性不育也称为核质互作雄性不育, 是由来源于细胞核与细胞质的两套基因相互作用而产生植物的不育性; 与之相对的是细胞核雄性不育, 它由细胞核的

不育基因所控制。细胞质雄性不育属于母性遗传, 因其易于保存而在杂种优势利用的实践活动中广泛应用, 在作物的育种和选种工作中取得了理想的生产效益 (黄晋玲和杨素英, 1998; 范彦君等, 2017; 石凤岩等, 2018; 王文然等, 2019), 具有广阔的理论研究意义和应用推广价值。

新疆阿魏 (*Ferula sinkiangensis*) 是伞形科 (Umbelliferae) 阿魏属 (*Ferula* L.) 一种多年生一次结实的草本植物, 是我国新疆的特有种, 仅分布于新疆伊宁县拜什墩农场附近海拔 750~1 200 m 的蒿属荒漠上 (中国科学院《中国植物志》编委会, 1992)。作为药用阿魏植物之一, 新疆阿魏植株分泌的具有特殊葱蒜样臭味的油胶树脂是药材市场上必不可少的中药“阿魏”, 具有截疟、消积、解毒等功效, 可用于治疗胃病、风湿病、消化不良等, 具有重要的药用价值。同时, 它还是新疆西部早春草场上的牧草之一, 具有一定的饲用价值 (沈观

冕,1986;何爽和谭敦炎,2002)。正是由于新疆阿魏重要的药用价值和经济价值,多年来人们大肆采挖和过度放牧,导致其资源储量急剧减少,被列为国家Ⅱ级重点保护野生植物(国家林业和草原局 农业农村部,2021)。因此,大力开展新疆阿魏的资源现状调查、加强种质资源保护及人工繁育已经迫在眉睫。

课题组在新疆伊宁县拜什墩农场及其周边的山前荒漠上对新疆阿魏花期居群进行观察时发现,居群中除了伞形科植物中典型的雄全同株个体(植株上同时具有雄花和两性花两性个体)以外,不同居群中都具有少量雄性不育的雌株(由雄蕊败育、雌蕊发育正常的功能性雌花构成的单性个体),约占开花植株总量的 2.0% ($n=600$, 1997 年)、4.2% ($n=947$, 2019 年)。这些雄性不育的单性植株促进了居群的杂种优势作用,提高了雌性适合度和居群生产效率,是新疆阿魏种质资源培育的理想材料,在改善其濒危现状方面具有重要作用。因此,为了探究新疆阿魏的雄性不育现象及雄蕊败育的关键制约因子,本文从细胞形态学角度对新疆阿魏雄性不育植株上功能性雌花的形态特征及其不育雄蕊的花药发育过程进行了比较性研究,分析了雄蕊发育异常的部位和发生败育的时期,探讨了功能性雌花小孢子败育的主要影响因素,以期为后续深入开展新疆阿魏雄性不育的遗传学和分子机制研究、性系统变异演化机制研究奠定基础,为新疆阿魏资源保护、人工繁殖驯化和优良种质资源培育等生产实践提供借鉴。

1 材料与方 法

1.1 雌株、功能性雌花的形态特征

随机标记雌株、雄全同株个体各 10~20 株。记录植株大小、基生叶大小等特征,包括株高、直径、一级分支数目、叶长、叶宽等;记录植株上的花序结构特征,包括花序大小、花朵组成及其数目,以及功能性别分化特征。盛花期时,在雌株和雄全同株个体上随机采集功能性雌花和两性花各 30 朵(1~2 朵花/每株),观察记录花的形态特征,包括花萼、花瓣、雄蕊和雌蕊等的颜色、形态和大小,比较不同性别功能花的结构差异,制作图版。同时,采集盛开的雌花序,保存在 FAA 固定液中,对雌花进行生物学绘图。

1.2 花药败育过程的细胞学观察

采集雌株上不同发育时期的花序,保存在 FAA 固定液中。采用常规石蜡切片技术、爱氏苏木精染色,制备雌花发育过程的石蜡切片。切片厚度 5~10 μm ,加拿大树胶封片。Olympus BH-2 型光学显微镜下观察花期不同时段花药的发育情况,与两性花雄蕊的发育过程(何爽和谭敦炎,2011)相比较,分析功能性雌花的花药败育过程。

2 结果与分析

2.1 雌株、功能性雌花的形态特征

休眠芽于每年 3 月底开始萌动,长出新叶;进入繁殖生长的植株于 4 月初在基生叶的中央长出繁殖枝;4 月中旬进入花期,5 月底果实成熟。雌株的物候期与雄全同株个体相同。

盛花期时,雌株基生叶的叶长(33.41 ± 11.63) cm、叶宽(24.47 ± 8.60) cm,与雄全同株个体[叶长(34.13 ± 8.84) cm、叶宽(24.76 ± 8.42) cm]在基生叶大小方面无显著差异($P>0.05$)。雌株的平均高度(71.00 ± 10.92) cm、直径(71.67 ± 17.64) cm、一级分支数目(23.83 ± 2.04),与雄全同株个体[平均高度(78.03 ± 10.54) cm、直径(71.69 ± 17.97) cm、一级分支(25.56 ± 4.38)]在植株大小方面也无差异(图 1)($P>0.05$)。

在雄全同株个体上,每个一级分支的顶端具有 1 个两性花序,其下方分布有 3~6 个雄花序(图 1:A);果期时,仅一级分支顶端的两性花序可以形成果实。在雌株上,一级分支顶端及其下方的所有花序均由功能性雌花构成,各级分支上的花均可结实(图 1:B)。

雌花序的伞幅数/每复伞花序(13.22 ± 4.70),每花序有(12.03 ± 2.30)朵花,均高于两性花序[伞幅数/每复伞花序(10.79 ± 3.60)、花数/每花序(11.15 ± 2.11)]和雄花序[伞幅数/每复伞花序(11.05 ± 2.03)、花数/每花序(11.13 ± 2.61)]($P<0.05$)(图 2)。因而,每个雌花序共有 159.08 朵花,大于两性花序(120.29)和雄花序(122.99)。

在雌花序中,花排列紧密,花间距小于两性花序和雄花序(图 3)。开花时,功能性雌花的花瓣微微张开,雌蕊高举出花瓣,不育雄蕊从花瓣间隙中伸出;完全开放的两性花和雄花花瓣向下反折、雌/雄蕊完全暴露出来,在形态上与雌花明显不同(图 3)。

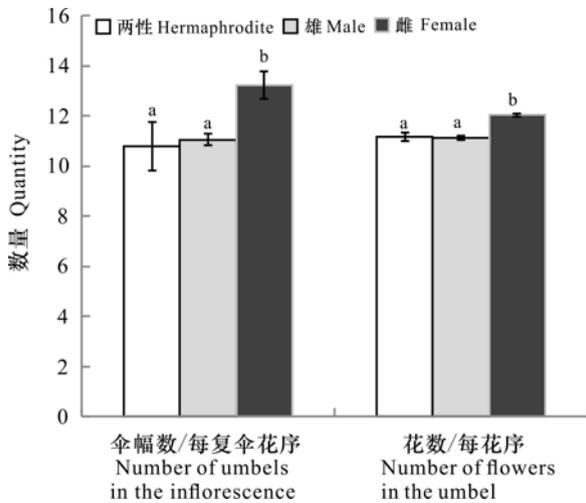


A. 雄全同株个体, 红色箭头示两性花序, 玫红色箭头示雄花序; B. 雌株。

A. Andromonoicous plant, red arrow indicates hermaphroditic umbel, and rose red arrow indicates male umbel; B. Female plant.

图 1 新疆阿魏不同性别的植株

Fig. 1 Plants of different sexes in *Ferula sinkiangensis*



相同字母表示无显著差异 ($P>0.05$); 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。

The same letters indicate no significant differences ($P>0.05$); Different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

图 2 新疆阿魏不同性别花序统计

Fig. 2 Statistics of different sexes of umbels in *Ferula sinkiangensis*

在花萼和花瓣的形态上, 功能性雌花、两性花和雄花之间无差异。其花萼很小、淡绿色、卵形, 花瓣均为黄色、椭圆形、外面被毛, 顶端向内弯曲, 中脉处向内微凹。但在花瓣大小方面, 不同性别花之间差异较大, 其中, 雌花花瓣最小 [长 (1.79 ± 0.39) mm、宽 (1.10 ± 0.21) mm], 两性花最大 [长 (2.49 ± 0.32) mm、宽 (1.63 ± 0.23) mm], 雄花较大

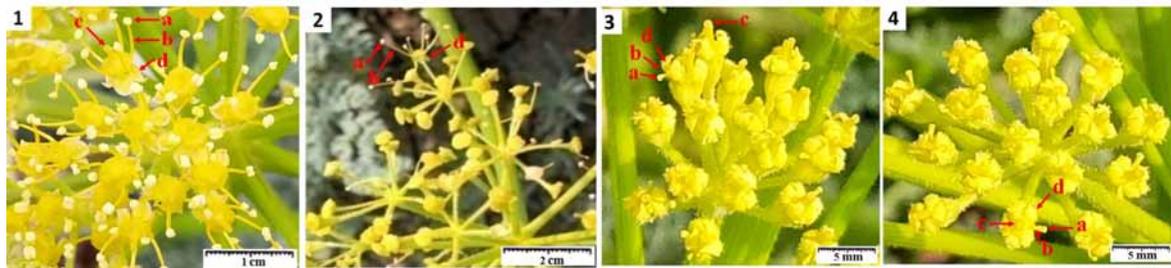
[长 (2.08 ± 0.32) mm、宽 (1.31 ± 0.18) mm] ($P<0.01$)。雌花的雌蕊形态及其大小均与两性花相同, 均为花柱 2, 分离, 基部扁平圆锥状, 边缘增宽、波状, 柱头增粗呈头状, 子房下位 (图 4)。雌花所产果实的形态和大小均与两性花相同, 结实很高 (图 1: B), 其雌蕊可育。两性花和雄花的雄蕊均由蝶形花药、棒状花丝构成, 雄蕊长度分别为 (4.61 ± 0.61) mm、(4.01 ± 0.52) mm ($P>0.05$); 花开放后花丝伸展, 雄蕊直立, 花药开裂、散粉 (图 3)。功能性雌花的 5 枚雄蕊形态相同, 均为匙形, 短棒状花丝上部稍膨大的部分为退化的花药 (图 3, 图 4)。雌花的雄蕊长度 (0.6~1.3 mm) 远小于两性花和雄花, 其花药形态异常, 不开裂, 无花粉, 为雄性功能丧失的退化雄蕊。

2.2 雌花花药败育过程的细胞学观察

两性花可育雄蕊的花药有 4 个小孢子囊 (图版 I: 1)。在每个小孢子囊中, 花药壁分化为表皮、药室内壁、中层、绒毡层 4 层结构, 小孢子正常发育 (图版 I: 2)。随着中层、绒毡层相继解体, 雄配子体进一步发育。散粉前, 药室内壁细胞的径向壁木质化, 药壁仅存表皮和纤维层两层结构 (图版 I: 3)。

功能性雌花的 5 个雄蕊均发生败育 (图版 I: 4)。败育雄蕊的花药有 2~4 个小孢子囊 (图版 I: 5)。在花药的发育过程中, 所有小孢子囊均出现异常现象, 都不能形成与可育雄蕊相同的花药室, 都不能产生发育完全的雄配子体, 最终使整个花药空瘪、无花粉 (图版 I: 6)。雌花的 5 枚雄蕊都不能产生花粉, 其败育程度一致。

2.2.1 花药室发育异常 在花药发育的早期阶段, 雌花败育雄蕊的药壁组织表现出与两性花可育雄蕊相同的发育过程。孢原细胞时期, 表皮细胞呈径向延长的矩形, 细胞排列紧密, 胞质较浓厚, 染色较深, 细胞核大而明显 (图版 I: 7)。在四棱形、幼小花药的角隅处, 表皮下分化出一个孢原细胞。孢原细胞经平周分裂, 生成外层的初级花药壁细胞和内层的初级造孢细胞。造孢细胞时期, 初级药壁细胞经多次平周和垂周分裂后, 形成 3~4 层比表皮细胞小、呈多边形、近等径、胞质染色较浅、核较小的次级药壁细胞 (图版 I: 7-8)。其中, 靠近表皮的 1 层次级药壁细胞进一步分化, 细胞径向延长, 体积增大, 形成药室内壁的细胞层 (图版 I: 1-2、9)。

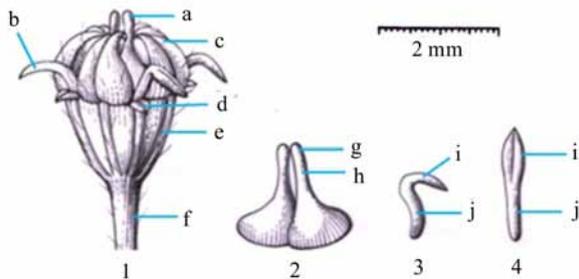


1. 两性花; 2. 雄花。3, 4. 功能性雌花 3. 示雌花侧视; 4. 示雌花俯视。a. 花药; b. 花丝; c. 雌蕊; d. 花瓣。

1. Flowers of hermaphrodite; 2. Male flowers. 3, 4. Functional female flowers 3. Side view of the flowers; 4. Vertical view of the flowers. a. Anther; b. Filament; c. Pistil; d. Petal.

图 3 新疆阿魏不同性别的花

Fig. 3 Flowers of different sexes in *Ferula sinkiangensis*



1. 功能性雌花; 2. 雌蕊。3, 4. 退化雄蕊 3. 退化雄蕊的侧面观; 4. 退化雄蕊的正面观。a. 可育雌蕊; b. 退化雌蕊; c. 花瓣; d. 花萼; e. 子房; f. 花梗; g. 柱头; h. 花柱; i. 形态异常的花药; j. 极短的花丝。(谭黎霞绘图)

1. Functional female flower; 2. Pistil. 3, 4. Degenerated stamen
3. Side view of degenerated stamen; 4. Front view of degenerated stamen. a. Normally developed pistil; b. Degenerated stamen; c. Petal; d. Calyx; e. Ovary; f. Pedicel; g. Stigma; h. Style; i. Abnormal anthers; j. Short filaments. (Drawn by TAN Lixia)

图 4 新疆阿魏功能性雌花的形态结构

Fig. 4 Morphological structures of functional female flower in *Ferula sinkiangensis*

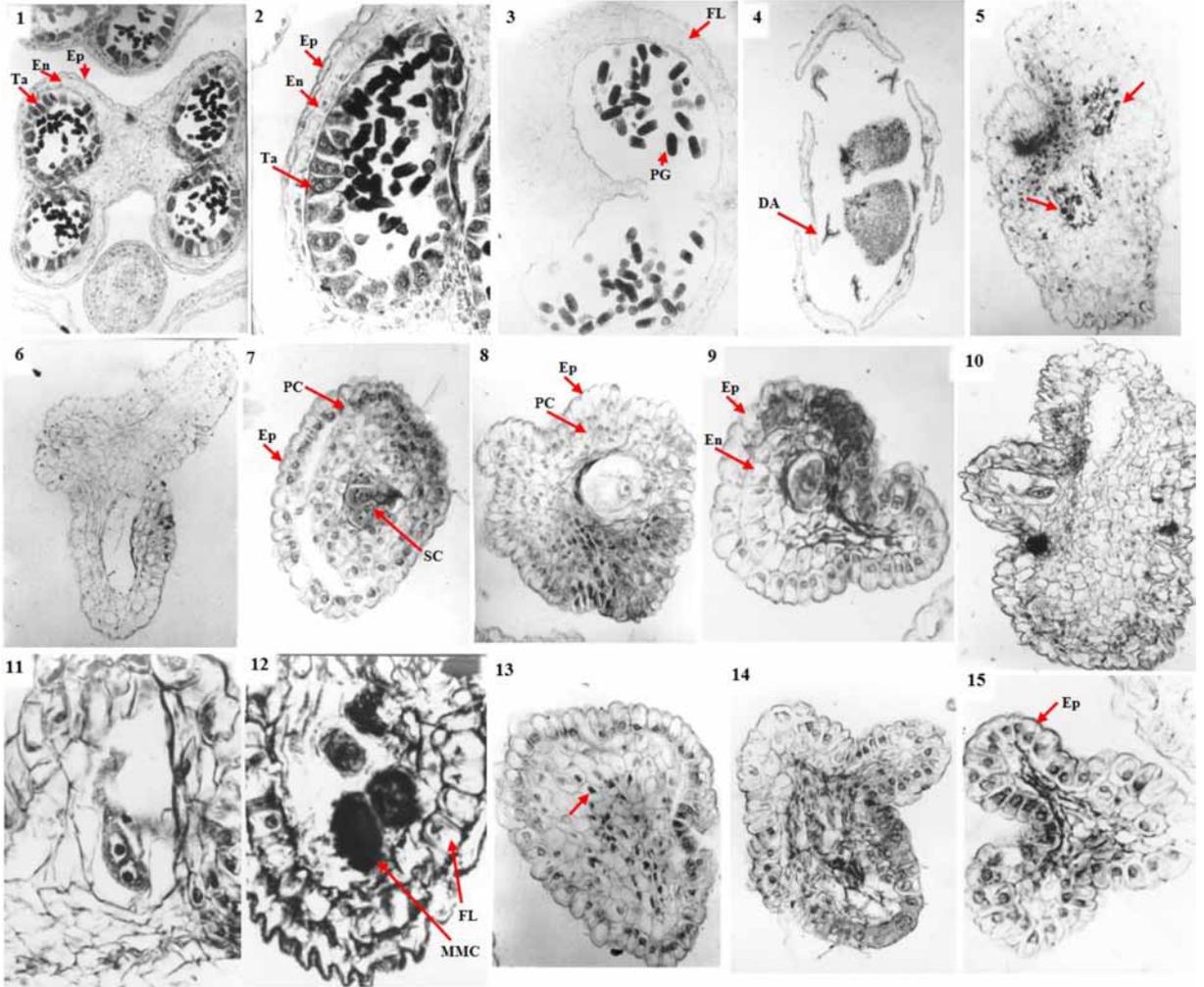
药室内壁形成后,雌花败育雄蕊的花药壁发育过程与两性花可育雄蕊明显不同。可育雄蕊的花药在 1 层药室内壁细胞的内侧,还分化出了中层和绒毡层。随后,在小孢子母细胞时期,中层逐渐解体,形成了由表皮、药室内壁、绒毡层 3 层细胞共同构成的花药壁(图版 I:1-2)。随着小孢子产生、雄配子体形成,绒毡层逐渐解体,药室内壁细胞的径向壁纤维化加厚,形成了由表皮和纤维层构成的花药壁结构(图版 I:3)。但是,在败育雄蕊的花药中,药壁组织的进一步分化出现了异

常。败育花药在药壁的整个发育过程之中,始终都没有发生中层和绒毡层的分化(图版 I:7-9)。到了小孢子母细胞时期,药室内壁之内的其他各层药壁细胞相继解体(图版 I:10-11)。之后,在小孢子母细胞、小孢子解体时,药室内壁细胞发生了径向壁的纤维化加厚,形成了由表皮和纤维层构成的两层花药壁(图版 I:12)。

伴随着花药壁的异常发育和生殖细胞的解体,小孢子囊之间的药隔组织出现了降解(图版 I:13-15)。首先是细胞核降解(图版 I:13),随后整个原生质体全部解体(图版 I:14),仅留下了细胞壁,形成大量“巢穴状”的空腔(图版 I:15)。此后细胞壁也随之解体,其残留物连接在一起,共同构成一个染色较深的区域(图版 I:4)。最终花药室发生收缩、变形,形成仅由一层表皮构成的异常结构。

2.2.2 小孢子发育异常 在早期四棱形花药原基的角隅处,其表皮下的孢原细胞经有丝分裂形成初级造孢细胞,继而分化为次级造孢细胞(图版 I:7)。在雌花败育雄蕊和两性花可育雄蕊的发育过程中,均能观察到孢原细胞到次级造孢细胞的正常发育阶段。

次级造孢细胞形成之后,功能性雌花与两性花呈现了不同的发育特征。在两性花的花粉囊中,次级造孢细胞进一步分化为小孢子母细胞。伴随着药壁组织分化出分泌型绒毡层(图版 I:2),小孢子母细胞减数分裂,形成小孢子四分体。随后,小孢子四分体的胼胝质鞘被酶解,释放出小孢子。随着绒毡层的逐渐解体,小孢子继续发育为二核花粉,直至散粉前发育为三核花粉。而在



1-3. 可育雄蕊,小孢子囊的完整结构,示绒毡层和药室内壁 1. $\times 100$; 2. $\times 400$; 3. 纤维层 $\times 200$ 。4-6. 败育雄蕊 4. 功能性雌花,示退化花药 $\times 40$; 5. 两个小孢子囊均败育 $\times 132$; 6. 小孢子囊空腔,无花粉 $\times 132$ 。7-9. 败育雄蕊,造孢细胞时期 7. 次级药壁细胞和次级造孢细胞 $\times 200$; 8. 次级药壁细胞和解体的次级造孢细胞 $\times 200$; 9. 药室内壁分化,无明显的中层和绒毡层 $\times 200$ 。10-12. 败育雄蕊,小孢子母细胞时期,药室内壁以内的药壁细胞解体 10. $\times 200$; 11. $\times 400$; 12. 小孢子母细胞解体 $\times 400$ 。13-15. 败育雄蕊,药隔薄壁组织解体 13. 细胞核解体 $\times 264$; 14. 原生质体解体 $\times 264$; 15. 仅剩细胞壁的“巢穴状”空腔 $\times 400$ 。Ta. 绒毡层; En. 药室内壁; Ep. 表皮; SC. 造孢细胞; PC. 药壁细胞; MMC. 小孢子母细胞; FL. 纤维层; PG. 花粉粒; DA. 退化花药。

1-3. Fertile stamen, structure of well developed microsporangium, indicating tapetum and endothecium 1. $\times 100$; 2. $\times 400$; 3. Fibrous layer $\times 200$ 。4-6. Sterile stamen 4. Functional female flower, indicating degenerated anther with arrow $\times 40$; 5. Abortion in both of the two microsporangia $\times 132$; 6. No pollen grain produced in the microsporangium $\times 132$ 。7-9. Sterile stamen, sporogenous cell stage 7. Secondary parietal cells and sporogenous cells $\times 200$; 8. Secondary parietal cells and aborted secondary sporogenous cell $\times 200$; 9. Parietal cells differentiation with endothecium but no middle layer and tapetum $\times 200$ 。10-12. Sterile stamen, microspore mother cell stage, parietal cells degradation except for endothecium 10. $\times 200$; 11. $\times 400$; 12. Aborted microspore mother cell $\times 400$ 。13-15. Sterile stamen, aborted connective tissue 13. Nucleus degradation $\times 264$; 14. Protoplast degradation $\times 264$; 15. Only cell walls left $\times 400$ 。Ta. Tapetum; En. Endothecium; Ep. Epidermis; SC. Sporogenous cell; PC. Parietal cell; MMC. Microspore mother cell; FL. Fibrous layer; PG. Pollen grain; DA. Degenerated anther.

图版 I 新疆阿魏功能性雌花退化花药的发育过程

Plate I Development of degenerated anther on the functional female flower in *Ferula sinkiangensis*

雌花的花药上,次级造孢细胞在其进一步发育的过程中出现了异常,表现为以下两种情形:(1)次级造孢细胞解体。雄配子体发育停滞。因而,在小孢子囊中形成了无花粉的空腔(图版 I:8-9)。

(2)次级造孢细胞继续发育至小孢子母细胞阶段,但是,小孢子母细胞未能完成减数分裂而在形成小孢子四分体之前发生了解体(图版 I:10-12),即小孢子母细胞发生解体,或者形成小孢子二分

体后解体。最终,使得次级造孢细胞不能继续发育而生成小孢子。

由此,随着花粉囊中的造孢细胞、药壁细胞相继解体,以及药隔组织的退化解体,花药收缩变形,最终形成空瘪、无花粉的畸形花药。

3 讨论与结论

3.1 新疆阿魏雄性不育与雄全同株的关联

新疆阿魏在与其生境相适应的进化历程中,形成了种群特有的资源利用和能量分配模式,建立了独特的性系统类型。在其种群中,雄性不育植株与雄全同株个体的植株大小和叶片大小相似,能够为植物繁殖提供相近的营养供给。功能性雌花的雌蕊形态及其结实情况与两性花相同,其繁殖力相同。但是,雌花产生的种子均为具有杂种优势的异交后代,对新疆阿魏种群雌性适合度的提高具有较大贡献。为了达到营养和能量的最优配置,减少资源浪费,雄性不育植株降低了对雄性器官的资源分配(Van der Hulst et al., 2004)。新疆阿魏雄性不育植株通过功能性雌花的花药败育减少了对雄蕊的资源投入,而将植株能量用于形成雌蕊,产生更多的雌花,以生产更多的异交后代。这种雌株与雄全同株个体共存的性系统反映了该植物特有的资源配置模式。然而,雄性不育的雌株在雄全同株性系统变异与演化过程中的作用如何,它是否代表了性系统进化的方向,这些问题都有待于进一步研究,并加以验证。

3.2 雄蕊发育异常的部位

Kolreuter 在 1763 年首次观察报道了植物的雄性不育现象(Ernst, 1986)。随后,学者们在对雄性不育材料的细胞学研究中多次报道了药壁发育异常和雄性生殖细胞的发育异常(Overman & Warmke, 1972; 徐树华,1980;Jain et al., 1982; 耿三省等,1994;郭东林等,2005;胡静静等,2010;李彬等,2015;范彦君等,2016;王文然等,2019)。与新疆阿魏雄全同株个体上两性花可育雄蕊的花药发育过程(何爽和谭敦炎,2011)相比较,雄性不育植株上功能性雌花的花药壁组织没有绒毡层和中层的分化,致使其药壁的结构发生异常,以及次级造孢细胞在向小孢子四分体发育的过程中逐渐败育、解体,阻断了小孢子的生成过程,不能产生成熟的花粉。因而,在新疆阿魏雄性不育植株上,雄

蕊因其花药在结构上和生理性的改变而丧失了雄性的功能,最终形成了功能性的雌花。这些功能性雌花的花药异常发育的部位与前人对于其他雄性不育植物材料的研究结果基本一致。

3.3 花粉败育的时期及原因

新疆阿魏雄性生殖细胞的败育表现为次级造孢细胞、小孢子母细胞、小孢子二分体等结构的败育解体。因而,其花粉的败育过程是发生在次级造孢细胞至小孢子母细胞阶段,或是小孢子母细胞至四分体阶段。这一结果符合前人对于双子叶植物雄性生殖细胞的败育发生在造孢细胞时期至四分体时期的相关描述(Laser & Lerstern, 1972; Cbauban, 1990; 谢潮添等, 2004; 孙帅等, 2016)。

在导致雄性不育的影响因素研究中,小孢子败育与绒毡层异常发育之间关系的研究一直备受关注。多数学者认为,由于绒毡层异常,导致了小孢子异常发育或营养不良而败育(Brooks & Chien, 1966; Vasil, 1967; Narkhede, 1968; 潘坤清, 1979; 高鸿善等, 1992; 张英涛等, 1996; Tsvetova & Elkonin, 2003; Liu et al., 2016)。但也有人认为绒毡层异常正是小孢子败育的结果(孙蒙祥和王灶安, 1991)。在新疆阿魏功能性雌花的幼小花药中,孢原细胞分化形成药壁细胞和造孢细胞以后,药壁组织异常发育,没有形成绒毡层。此时,次级造孢细胞发育正常。但在随后的发育过程中,次级造孢细胞或小孢子母细胞发生了败育。鉴于新疆阿魏败育花药的绒毡层异常发育早于次级造孢细胞或小孢子母细胞的败育,因而,其次级造孢细胞及小孢子母细胞的败育均与绒毡层的异常发育有直接关系。造孢细胞至小孢子四分体的发育时期正是细胞生理活动活跃的时期,DNA 复制、转录以及蛋白质合成最旺盛,对能量合成和营养物质的需求量最大,极易受遗传因素及各种生理条件变化的影响(王伟等, 1998; 李泽福等, 2000)。绒毡层作为紧邻雄性生殖细胞的花药壁最内一层结构,是雄蕊储存营养的主要部位以及雄性生殖细胞获得营养物质的重要枢纽(胡适宜, 1982; Pacini, 1997; 何爽等, 2011)。新疆阿魏早期花药发育的次级造孢细胞分化,小孢子母细胞减数分裂,直至小孢子四分体形成过程中所需的大量营养物质和能量,都依赖于在其双核的分泌型绒毡层细胞中合成与贮存,并释放到小孢子囊中,再传递给它们。而绒毡层的缺失,会导致该发育时期

的营养和能量供给无法保障。新疆阿魏功能性雌花的不育雄蕊中始终都没有绒毡层的结构, 直接导致小孢子囊中营养物质、能量供应和输送受阻, 从而引起次级造孢细胞或小孢子母细胞因营养不良、发育停滞而败育解体, 并最终造成了小孢子败育的结果。因此, 绒毡层的缺失, 是导致新疆阿魏花粉败育的最主要影响因素。那么, 新疆阿魏绒毡层细胞发育的分子机理如何, 其雄性不育的类型及调控的分子机制是怎样的。对于这些问题的回答, 将有待于今后进一步开展该植物雄性不育的遗传学和分子机制研究, 并以此为新疆阿魏雄性不育系诱导、种质资源保护与拯救等生产实践提供理论指导与借鉴。

综上所述, 在新疆阿魏雄性不育植株上, 功能性雌花的雄蕊形态变为匙形, 花药严重收缩、空瘪。雄蕊的败育主要体现在药壁组织和雄配子体的异常发育。雄性生殖细胞的败育发生在造孢细胞至小孢子四分体时期。药壁细胞的异常发育, 尤其是绒毡层的缺失, 导致了小孢子因营养缺乏而发生败育。

参考文献:

- Agricultural and Rural Department of State Forestry and Grassland Administration, 2021. List of national key protected wild plants [EB/OL]. <http://www.forestry.gov.cn>. 2021-09-08. [国家林业和草原局 农业农村部, 2021. 国家重点保护野生植物名录 [EB/OL]. <http://www.forestry.gov.cn>. 2021-09-08]
- BROOKS CV, CHIEN DJ, 1966. The anther tapetum in cytoplasmic genetic male sterile *Sorghum* [J]. *Amer J Bot*, 53(9): 902-908.
- CBAUBAN SVS, 1990. Mechanism of male sterile in some Cucurbitaceae [M]//DAVID MB, RICHARD WR, CHARLES J. New York: Comstock Publishing Association: 281-287.
- Editorial Board of Flora Reipublicae Popularis Sinicae, 1992. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*; Vol. 55(3) [M]. Beijing: Sciences Press: 85-117. [中国科学院《中国植物志》编委会, 1992. 中国植物志: 第55(3)卷 [M]. 北京: 科学出版社: 85-117.]
- ERNST M, 1986. Joseph G Kolreuter's contributions to biology [J]. *Osiris*, 2: 135-176.
- FAN YJ, CAI XH, LIU QY, et al., 2017. Research progress of male sterility in tobacco [J]. *Chin Agric Bull*, 33(35): 70-76. [范彦君, 蔡训辉, 刘齐元, 等, 2017. 烟草雄性不育研究进展 [J]. 中国农学通报, 33(35): 70-76.]
- FAN YJ, WANG Y, LIU QY, et al., 2016. Advances in cytoplasmic male sterility in plant [J]. *Chin Agric Bull*, 32(18): 70-75. [范彦君, 王瑜, 刘齐元, 等, 2016. 植物细胞质雄性不育研究进展 [J]. 中国农学通报, 32(18): 70-75.]
- GAO HS, LIU JR, TU LC, 1992. Cytological studies on the mechanism of the abortion of microsporogenesis in nucleic male sterile (NMS) sesame (*Sesamum indicum* L.) [J]. *Acta Agron Sin*, 18(6): 425-428. [高鸿善, 柳家荣, 屠礼传, 1992. 核不育芝麻小孢子败育机理的细胞学研究 [J]. 作物学报, 18(6): 425-428.]
- GENG SS, WANG ZY, JIANG JZ, et al., 1994. Cytological studies on microsporogenesis of the male sterile lines of pepper [J]. *Acta Hortic Sin*, 21(2): 165-169. [耿三省, 王志源, 蒋健箴, 等, 1994. 辣椒雄性不育系小孢子发生的细胞学观察 [J]. 园艺学报, 21(2): 165-169.]
- GUO DL, BI YD, WANG Q, et al., 2005. Advances on cytoplasmic male sterility of plant [J]. *Heilongjiang Agric Sci*, (2): 41-43. [郭东林, 毕影东, 王琪, 等, 2005. 高等植物细胞质雄性不育的研究进展 [J]. 黑龙江农业科学, (2): 41-43.]
- HAO GP, CHEN M, YANG Q, 2003. Progress of study on plant mitochondria and cytoplasmic male sterility [J]. *Chin Bull Bot*, 20(5): 549-557. [郝岗平, 陈敏, 杨清, 2003. 植物线粒体与细胞质雄性不育研究进展 [J]. 植物学通报, 20(5): 549-557.]
- HE S, TAN DY, 2002. Advances in studies of *Ferula* L. [J]. *J Xinjiang Agric Univ*, 25(2): 1-7. [何爽, 谭敦炎, 2002. 阿魏的研究进展 [J]. 新疆农业大学学报, 25(2): 1-7.]
- HE S, TAN DY, 2011. Embryology of *Ferula sinkiangensis* (Apiaceae) [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 31(3): 439-445. [何爽, 谭敦炎, 2011. 新疆阿魏的胚胎学研究 [J]. 西北植物学报, 31(3): 439-445.]
- HE S, ZHANG AQ, XIA R, et al., 2011. Pollen abortion of alfalfa in different ecological regions in Xinjiang and cytological observations of factors affecting pollen abortion [J]. *Acta Pratac Sin*, 20(4): 153-158. [何爽, 张爱勤, 夏荣, 等, 2011. 新疆不同生态区域苜蓿花粉败育情况及影响因素的细胞学研究 [J]. 草业学报, 20(4): 153-158.]
- HU JJ, ZHAO J, SHEN X, 2010. Cytological study on male sterility in *Pyrus pyrifolia* Naka [J]. *Chin Agric Bull*, 26(2): 185-188. [胡静静, 赵静, 沈向, 2010. 黄金梨雄性不育的细胞学研究 [J]. 中国农学通报, 26(2): 185-188.]
- HU SY, 1982. Angiosperm embryology [M]. Peking: People's Education Press: 23-30. [胡适宜, 1982. 被子植物胚胎学 [M]. 北京: 人民教育出版社: 23-30.]
- HUANG JL, YANG SY, 1998. A review on research and utilization of male sterility in herterosis of cotton [J]. *J Shanxi Agric Univ*, 18(1): 14-16. [黄晋玲, 杨素英,

1998. 雄性不育在棉花杂种优势上的研究与利用 [J]. 山西农业大学学报, 18(1): 14-16.]
- JAIN AK, RATHORE RKS, CHAUHAN SVS, 1982. Pollen abortion in a hexaploid male-sterile spring wheat 'Nadadores' having *Triticum timopheevi* Zhuk. cytoplasm [J]. J Indian Bot Soc, 61(2-3): 148-150.
- KAUL MLH, 1988. Male sterility in higher plants [M]. Berlin: Springer-Verlag Press; 3-13.
- LASER KD, LERSTERN NR, 1972. Anatomy and cytology of microsporogenesis in cytoplasmic male sterile angiosperms [J]. Bot Rev, 38: 425-454.
- LI B, CAI YL, ZHAO XJ, et al., 2015. Cytological observation of male sterile in *Prunus mahaleb* [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 35(10): 2007-2011. [李彬, 蔡宇良, 赵晓军, 等, 2015. “马哈利”樱桃雄性不育细胞学观察 [J]. 西北植物学报, 35(10): 2007-2011.]
- LI ZF, XIA JF, TANG GY, 2000. Types and genetic mechanisms of plant male sterility [J]. Anhui Agric Sci, 28(6): 742-746. [李泽福, 夏加发, 唐光勇, 2000. 植物雄性不育类型及其遗传机制的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 28(6): 742-746.]
- LIU C, LIU ZY, LI CY, et al., 2016. Comparative transcriptome analysis of fertile and sterile buds from a genetically male sterile line of Chinese cabbage [J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 52(2): 130-139.
- NARKHEDE MN, 1968. Cytological studies in some male sterile joears (*Sorghum vulgare* Pers.) and their maintainers and restorers [J]. Cytologia, 33(2): 168-173.
- OVERMAN MA, WARMKE HE, 1972. Cytoplasmic male sterility in *Sorghum* II tapetal behavior in fertile and sterile anthers [J]. J Hered, 63(5): 227-234.
- PACINI E, 1997. Tapetum character states: Analytical keys for tapetum types and activities [J]. Can J Bot, 75(9): 1448-1459.
- PAN KQ, 1979. Cyto-histological investigations on pollen abortion in male-sterile line of the wild rice pollen abortion type [J]. Acta Genet Sin, 6(2): 211-215. [潘坤清, 1979. 水稻野败型雄性不育系花粉败育的解剖学和细胞学观察 [J]. 遗传学报, 6(2): 211-215.]
- SHEN GM, 1986. Series of Chinese medicinal herb; *Ferula* [M]. Urumqi: Xinjiang People's Publishing House. [沈观冕, 1986. 中草药丛书: 阿魏 [M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社.]
- SHI FY, ZHOU X, LIU ZY, et al., 2018. Research progress of male sterility in Chinese cabbage [J]. Mol Plant Breed, 16(17): 5770-5781. [石凤岩, 周雪, 刘志勇, 等, 2018. 大白菜雄性不育研究进展 [J]. 分子植物育种, 16(17): 5770-5781.]
- SUN MX, WANG ZA, 1991. A study on microspore abortion and the relation to abnormal wall layers in *Paulownia* sp. [J]. J Wuhan Bot Res, 9(1): 16-20. [孙蒙祥, 王灶安, 1991. 山明桐小孢子败育及与小孢子囊壁发育异常的关系 [J]. 武汉植物学研究, 9(1): 16-20.]
- SUN S, ZHANG XJ, MA M, et al., 2016. Morphological and cytological study on male sterile dandelion (*Taraxacum junpeianum* Kitam.) [J]. J Plant Genet Resour, 17(3): 491-496. [孙帅, 张晓嘉, 马铭, 等, 2016. 长春蒲公英雄性不育株形态学观察与败育细胞学研究 [J]. 植物遗传资源学报, 17(3): 491-496.]
- TSVETOVA MI, ELKONIN LA, 2003. Cytological investigation of male sterility in *Sorghum* caused by a dominant mutation (Mstc) derived from tissue culture [J]. Sex Plant Reprod, 16: 43-49.
- VAN DER HULST RGM, MEIRMANS P, VAN TIENDEREN PH, et al., 2004. Nuclear cytoplasmic male sterility in diploid dandelions [J]. Heredity, 93(1): 43-50.
- VASIL IK, 1967. Physiology and cytology of anther development [J]. Biol Rev, 42(3): 327-366.
- WANG W, TAN DY, TIAN YW, et al., 1998. The cytological studies on watermelon male-sterility material S351-1 [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 18(3): 361-365. [王伟, 谭敦炎, 田允温, 等, 1998. S351-1 西瓜雄性不育的细胞学研究 [J]. 西北植物学报, 18(3): 361-365.]
- WANG WR, FAN XC, WANG C, et al., 2019. Advances research on male sterility in fruit crops [J]. Mol Plant Breed, 17(1): 245-254. [王文然, 樊秀彩, 王晨, 等, 2019. 果树雄性不育的研究进展 [J]. 分子植物育种, 17(1): 245-254.]
- XIE CT, YANG YH, ZHU XY, et al., 2004. The cytochemical observation of anthers of Chinese cabbage's male sterile [J]. Acta Biol Exp Sin, 37(4): 295-302. [谢潮添, 杨延红, 朱学艺, 等, 2004. 白菜细胞核雄性不育花药的细胞化学观察 [J]. 实验生物学报, 37(4): 295-302.]
- XU SH, 1980. Cytological studies on anther and pollen development of cytoplasmic male-sterile type in rice [J]. Acta Agron Sin, 6(4): 226-230. [徐树华, 1980. 同核异质水稻雄性不育系花粉和花药发育的细胞形态学观察 [J]. 作物学报, 6(4): 226-230.]
- ZHANG YT, YANG HD, CHEN ZXZ, 1996. Advances on the study of tapetum [J]. Chin Bull Bot, 13(4): 7-14. [张英涛, 杨海东, 陈朱希昭, 1996. 绒毡层研究进展 [J]. 植物学通报, 13(4): 7-14.]

(责任编辑 周翠鸣)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202111044

田琴, 段涵宁, 王云强, 等. 中国五种仙茅科植物叶形态及其分类学意义 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1661–1674.

TIAN Q, DUAN HN, WANG YQ, et al. Leaf morphology and taxonomic significance of five species in Hypoxidaceae from China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1661–1674.



中国五种仙茅科植物叶形态及其分类学意义

田 琴^{1,2}, 段涵宁¹, 王云强³, 李海涛³, 李 璐^{1*}

(1. 西南林业大学 生物多样性保护学院, 昆明 650224; 2. 西南林业大学 林学院, 昆明 650224; 3. 中国医学科学院 药用植物研究所云南分所云南省南药可持续利用重点实验室, 云南 景洪 666100)

摘 要: 为澄清仙茅科属间界限不清的分类学问题, 该文以中国仙茅科 3 属 5 种植物为研究对象, 利用显微镜、扫描电镜和石蜡切片技术, 观察了其叶形态、叶表皮显微特征和叶解剖特征。结果表明: (1) 叶形态有小型平整叶、中型波状叶、大型折扇状叶三种。 (2) 叶表皮毛状体结构为单细胞单列, 可分为长柔毛、糙伏毛和星状柔毛三类。 (3) 叶表皮细胞有六边形和五边形, 气孔为平列型和椭圆形, 气孔大小和气孔密度呈反比。 (4) 叶表皮蜡质纹饰有光滑、颗粒、屑状和壳状四类。 (5) 叶中脉横切面分为平整型和龙骨型, 维管束有圆形和椭圆形, 叶表皮厚度与表皮细胞具有正相关性。对 5 种植物的叶形态和叶解剖特征比较分析认为, 一些特征组合有助于理解仙茅科属间的亲缘关系和物种鉴定, 支持大叶仙茅属独立于仙茅属。

关键词: 仙茅科, 仙茅属, 小金梅草属, 大叶仙茅属, 叶形态, 叶解剖

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)10-1661-14

Leaf morphology and taxonomic significance of five species in Hypoxidaceae from China

TIAN Qin^{1,2}, DUAN Hanning¹, WANG Yunqiang³, LI Haitao³, LI Lu^{1*}

(1. *Department of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China*; 2. *College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China*; 3. *Key Laboratory of Southern Medicinal Resources of Yunnan, Yunnan Branch Institute of Medicinal Plants, Chinese Academy of Medical Sciences, Jinghong 666100, Yunnan, China*)

Abstract: In order to provide new data for clarification of the generic relationship in Hypoxidaceae, morphology, ultrastructure, and anatomy of leaf from five species in this family were investigated using microscope, scanning electronic microscope (SEM), and paraffin section. It turned out that there were five points of views as below: (1) Three types of leaf shapes were characterized, including small-even, middle-wave, and large-plicate. (2) Trichomes were single-celled and uniseriate, and grouped into pilose, strigose and stellate types. (3) Shapes of leaf epidermal cells were

收稿日期: 2022-03-03

基金项目: 国家自然科学基金 (32060049); 全国第四次中药资源普查项目 (GZY-KJS-2018-004) [Supported by National Nature Science Foundation of China (32060049); the Fourth National Survey on Chinese Material Medical Resources (GZY-KJS-2018-004)]。

第一作者: 田琴 (1994-), 硕士研究生, 研究方向为植物分类学, (E-mail) 3488582237@qq.com。

* 通信作者: 李璐, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为植物系统与进化、植物形态解剖学, (E-mail) lilusaraca@foxmail.com。

hexagon and pentagon, while stomata was paracytic and elliptic with a negative correlation between size and density. (4) Sculptures of wax in epidermis was classified into smooth, granular, scales and crust types. (5) Leaf anatomy revealed two types of vascular bundles, leaf transection of midrib had flat and carinate types, and its shape was divided into round and oblong, with relevance between thickness of epidermis and size of epidermal cells. Based on comparative morphology and anatomy of leaf, it is suggested that complex of some characteristics would be helpful for understanding of generic relationships in *Hypoxis*, *Curculigo* and *Molineria*, while other characteristics for species identifications. In addition, *Molineria* should be regarded as an independent genus from *Curculigo sensu lato*.

Key words: Hypoxidaceae, *Curculigo*, *Hypoxis*, *Molineria*, leaf morphology, leaf anatomy

仙茅科 (Hypoxidaceae) 约有 10 属 200 种, 主要分布于南半球, 部分见于北半球, 在地理分布上形成了非洲南部和印度洋两个分布中心, 被放在天门冬目 (Asparagales), 与兰科 (Orchidaceae) 具有亲缘关系 (Kocyan et al., 2011; APG, 2016)。该科为多年生草本植物, 具有以下典型分类学特征 (钱啸虎等, 1985; Ji & Merrow, 2000; Kocyan et al., 2011)。(1) 叶基生, 具宿存叶基, 有柄或无柄; 叶片披针形, 具明显的折扇状叶脉, 毛被为非腺状型 (nonglandular integument)。(2) 花单生或总状花序或穗状花序, 有时花序轴急剧缩短成头状或伞房状; 花为辐射对称, 具 6 枚花被片, 排成两轮, 外轮较小, 背面绿色, 内轮较大, 为花瓣状, 呈金黄色; 子房下位, 子房顶端常具喙。(3) 果为蒴果或浆果。

仙茅科在我国约有 4 属 10 种 (Liu et al., 2012; 王文广等, 2019), 分别是小金梅草属 (*Hypoxis*)、仙茅属 (*Curculigo*)、大叶仙茅属 (*Molineria*) 和华仙茅属 (*Sinocurculigo*) (Liu et al., 2012)。小金梅草属约有 100 种, 广布于热带地区, 我国仅有小金梅草 1 种 (*Hypoxis aurea*), 为多年生矮小草本, 产南方地区。仙茅属约有 20 种, 广布于世界热带和亚热带地区, 我国有 2 种, 包括光叶仙茅 (*Curculigo glabrescens*) 和仙茅 (*C. orchoides*), 见于华南和西南。大叶仙茅属约 10 种, 分布于热带地区, 我国有 6 种, 包括大叶仙茅 (*Molineria capitulata*)、短蕊仙茅 (*M. breviscapa*)、绒叶仙茅 (*M. crassifolia*)、疏花仙茅 (*M. gracilis*)、中华仙茅 (*M. sinensis*) 和喜马拉雅仙茅 (*M. prainiana*) (王文广等, 2019)。华仙茅属是根据种子不具纵凸纹、柱头具毛、侧膜胎座等形态特征并结合分子证据而成立的单种属, 仅包括台山华仙茅 (*Sinocurculigo taishanica*) 1 种, 分布于我国广东省台山市 (Liu et al., 2012)。

长期以来, 仙茅科属间亲缘关系较为复杂, 亟待澄清 (Kocyan et al., 2011)。一方面, 较为突出的

分类学问题是仙茅属和大叶仙茅属间的界限不清。在传统分类系统里, 后者的成员常被放置在仙茅属 (钱啸虎, 1985; Ji & Merrow, 2000)。同时, 分子系统学也认为这两个属的物种划分非常困难, 本应放在仙茅属的物种常被归为大叶仙茅属, 反之亦然 (Kocyan et al., 2011)。尽管有研究认为它们在茎干、花、果和种子等组织器官方面差异明显, 足以将其分开 (Henderson, 1987), 但一些关键的分类学特征并不稳定, 在属间存在交叉重叠 (Kocyan et al., 2011)。早期研究根据果喙的有无来区别仙茅属 (有果喙) 和大叶仙茅属 (无果喙) (Nel, 1914)。然而, 这个特征并不稳定, 一些被放置在大叶仙茅属的物种也具果喙 (Kocyan et al., 2011)。Hilliard 和 Burt (1978) 提出了一个看似较为稳定但并不容易观察的解剖特征, 即花药横切面的对称性, 对称的是仙茅属, 不对称的则为大叶仙茅属。但是, Kocyan 和 Endress (2001) 研究表明, 这个特征和果喙一样, 在大叶仙茅属的一些物种里, 花药横切面既有对称也有不对称, 并据此把大叶仙茅属的两个种又放回仙茅属。因此, 这两个属的形态鉴别特征需要补充新资料。目前, 能较好地区分这两属的特征是种喙的有无, 即仙茅属的种子具种喙 (指种柄末端的延伸), 且种皮表面具条状纹饰; 大叶仙茅属的种子无喙, 较小, 条状种皮纹饰有或无 (Henderson, 1987; Wiland-Szymanska, 1997; Nordal, 1998; Kocyan et al., 2011)。另一方面, 鉴于仙茅属和大叶仙茅属在分子系统树上并非单系 (Kocyan et al., 2011), 且华仙茅属也处于这两个属交错镶嵌的分支里 (Liu et al., 2012), 说明这 3 个属的亲缘关系有待澄清。此外, 在仙茅科的分子系统学里 (Kocyan et al., 2011), 广布于全球约有 100 种的小金梅草属, 不同产地的物种处于不同分支 (clades) 表现为非单系 (non-monophyletic), 许多物种和非洲的樱茅属 (*Rhodohypoxis*) 构成一支 (*Hypoxis* clade), 产自澳洲

的两个种与小鸢梅草属 (*Pauridia*) 和矮金梅草属 (*Saniella*) 聚为一支 (*Pauridia* clade)。

事实上, 仙茅科是一个研究基础较为薄弱的小科, 形态学研究相对较少, 且集中在南半球类群 (Shah & Gopal, 1970; Thompson, 1976, 1978, 1979), 为近缘属及其近缘科 *Asteliaceae* (Rudall et al., 1998) 的系统学提供依据。关于仙茅科植物形态特征的分类学价值, 见于新类群的发表 (Zona et al., 2009; Sanchez-Ken, 2010; Kocyan & Szymanska, 2016; Roy & Vijayan, 2016; Gore & Gaikwad, 2018; Gaikwad, 2019) 和分类系统修订 (Zimudzi, 1994; Snijman & Kocyan, 2013; Snijman, 2014; Tiwari, 2020)。值得注意的是, 我国仙茅科植物的研究也比较缺乏, 除了新类群发表 (Liu et al., 2012; 王文广等, 2019), 其余的仅见于仙茅属药用植物的药材形态鉴定 (李隆云, 2005)、5 种仙茅属药用植物的种子形态观察 (董国明和张汉明, 1998) 及石蒜科 5 种植物 (不包括狭义仙茅科的类群) 的叶形态 (秦卫华等, 2003)。仙茅科的仙茅属和小金梅草属植物都富含丰富的药用化学成分, 为传统的药用植物资源 (钱啸虎, 1985; Perus et al., 2018)。最近的传粉生物学表明, 小金梅草属的花部形态特征对紫外光反射 (Klomborg et al., 2019) 和中国和北美间断分布物种的演化 (Ren et al., 2019) 具有重要的生态学意义。

叶形态特征在植物分类系统中具有重要的一席之地, 尤其在解决一些分类困难的类群时具有重要作用, 如猕猴桃属 (*Actinidia*) (何子灿等, 2000)、藤山柳属 (*Clematoclethra*) (杨晨璇等, 2020)、栎属 (*Quercus*) (罗艳和周浙昆, 2001)、凤仙花属 (*Impatiens*) (张晓霞等, 2013) 和蔷薇属 (*Rosa*) (曾妮等, 2017)。因此, 本文以中国仙茅科 3 属 5 种植物为研究对象, 利用显微镜、扫描电镜和石蜡切片技术, 比较分析它们的叶形态、叶表皮超微特征及叶解剖特征的差异, 为该科的属间界限和物种划分提供形态学证据。

1 材料与方法

1.1 材料

5 种植物的实验材料均采自我国云南省南部, 采集于 2019—2021 年, 小金梅草、仙茅和绒叶仙茅采自景东县无量山 (凭证标本依次为 TQ36、

TQ37、TQ38); 短萼仙茅和大叶仙茅分别采自河口县和勐腊县 (Lilu20190004、Lilu20190003)。凭证标本存于中国医学科学院药用植物所云南分所标本馆 (IMDY)。

1.2 方法

1.2.1 植株叶片形态 在野外, 每种植物随机选 5~10 株, 每株取 2~5 枚成熟叶, 平均每株共选 30 枚叶。利用米尺测量叶柄长度和叶片的极轴 (长) 和赤道轴 (宽) 的最大值, 相机拍照记录毛被的有无, 统计叶片折扇状脉的数目, 据此判断叶片类型。

1.2.2 扫描电镜观察叶表皮超微特征 从标本上取自然晾干的成熟叶片, 沿中脉剪取 2 mm × 2 mm 的小方块各 4 片, 把叶片的背面和正面用导电胶固定在样品台上, 喷金镀膜。利用德国蔡司电子扫描显微镜 (Zeiss Evo LS10) 观察叶表皮的毛被、表皮细胞、气孔器内外孔盖等超微特征。表皮超微特征的判断和术语概念参照相关文献 (Barthlott et al., 1998; Wilhelm et al., 2008)。

1.2.3 光学显微镜观察叶表皮形态 野外采集成熟叶片, 分段固定于 FAA (50% 酒精: 醋酸: 甲醛 = 90: 5: 5) 24 h 以上。叶表皮形态显微观察, 参照醋酸-过氧化氢法 (孙同兴和江幸山, 2009)。沿叶片中脉剪取 1 cm × 1 cm 的小方块, 浸泡在等比例的 30% 醋酸-过氧化氢溶液中, 置于 60 °C 恒温培养箱中 12~24 h。待叶肉与叶表皮细胞分离后, 用毛笔轻轻刷去叶肉细胞, 置于载玻片上, 制成临时玻片。每个物种选取 5 个样品, 在光学显微镜 (莱卡 DM 750) 下, 每个样品选取 5 个视野, 观察拍照, 记录上下叶表皮的毛被类型、表皮细胞和气孔类型等, 利用 Image J (Java) 软件测量它们的大小等, 随机测量记录 30 个数据, 求平均值。其中, 气孔指数 = 气孔数 / (气孔数 + 表皮细胞数) × 100%, 气孔密度 = 气孔个数 · mm⁻²。

1.2.4 石蜡切片观察叶横切面解剖特征 取 FAA 固定后的成熟叶片各 5 片, 沿中脉取 2 mm × 2 mm 的样品, 经过酒精梯度脱水、二甲苯透明、浸蜡包埋。常规石蜡切片 (厚度为 8 μm), 切片烘干后, 经番红-固绿染色及加拿大树脂胶封片; 烘干后, 在光学显微镜 (莱卡 DM 750) 下观察拍照。观察照片中 5 个样品的叶横切面特征, 包括上下表皮细胞、维管束大小、叶肉细胞等; 利用 Image J (Java) 软件测量叶片厚度、上下表皮厚度、维管束。

2 结果与分析

2.1 仙茅科 5 种植物的叶形态特征

5 种植物的叶片大小及其折扇状脉数目与植株大小具显著相关性(表 1, 图版 I)。株型小的低矮草本, 其叶片也较小, 叶脉数少, 如小金梅草和仙茅(图版 I:1-6)。反之, 株型大的植物, 其叶片也较大, 叶脉数多, 如 3 种大叶仙茅属植物(图版

I:7-15)。5 种植物的叶片毛被类型多样, 可分为 3 种类型, 即长柔毛、糙伏毛、白绒毛, 毛被密度在种间差异显著。长柔毛, 纤细, 最长可达 5 cm, 稀疏分布在叶背面的叶缘和叶脉处, 出现在小金梅草和仙茅(图版 I:2-6)。糙伏毛, 最短, 几乎不足 1 mm, 稀疏分布于叶两面的叶脉隆起处, 出现在大叶仙茅和短葶仙茅(图版 I:7-12)。白绒毛, 较短, 有 2~3 mm 长, 密集覆盖于叶片背部, 呈毛被一层, 只出现在绒叶仙茅(图版 I:15)。

表 1 5 种仙茅科植物的叶形态
Table 1 Leaf morphology of five species in Hypoxidaceae

物种 Species	株高 Plant height (cm)	叶柄长 Petiole length (cm)	叶(长×宽) Leaf (Length×Width) (cm×cm)	次级脉数 Secondary vein number	毛被类型 Trichome type
小金梅草 <i>Hypoxis aurea</i>	< 10	0	(8~30)×(0.2~0.8)	0	长柔毛, 偶见 Pilose, occasionally
仙茅 <i>Curculigo orchiooides</i>	< 40	6~20	(17~38)×(0.8~2.5)	8~12	长柔毛, 偶见 Pilose, occasionally
大叶仙茅 <i>Molineria capitulata</i>	< 200	40~80	(50~120)×(10~26)	10~20	长柔毛, 偶见 Pubescent, occasionally
短葶仙茅 <i>M. breviscapa</i>	< 200	50~78	(92~118)×(9~15)	10~20	糙伏毛, 偶见 Strigose, occasionally
绒叶仙茅 <i>M. crassifolia</i>	< 200	5~40	(40~112)×(2.5~8)	10~16	白绒毛, 密集 White tomentose, densely

本文根据株型、叶片大小、折扇状叶脉数及叶毛被类型, 把 5 种植物的叶片形态划分为 3 类: 平整小型叶、波状中型叶、折扇状大型叶。

第一类, 平整小型叶, 指叶柄不明显; 叶片小、细窄近线性, 长 8~30 cm, 宽不及 1 cm; 平整近光滑, 无折扇状次级叶脉, 主脉明显, 次级脉无; 叶缘及主脉上被稀疏长柔毛; 株高约 10 cm; 见于小金梅草(图版 I:1-3), 生长在高山草坡开阔处。

第二类, 波状中型叶, 指叶柄明显, 长不及 10 cm, 明显短于叶片; 叶片线状披针形, 长可达 40 cm, 宽不及 2 cm; 叶片平整近光滑, 主脉明显, 有 8~12 次级脉, 但不呈褶皱状; 叶缘和中脉处被稀疏长柔毛; 株高可达 50 cm; 见于仙茅(图版 I:4-6), 分布于林下或林缘草地。

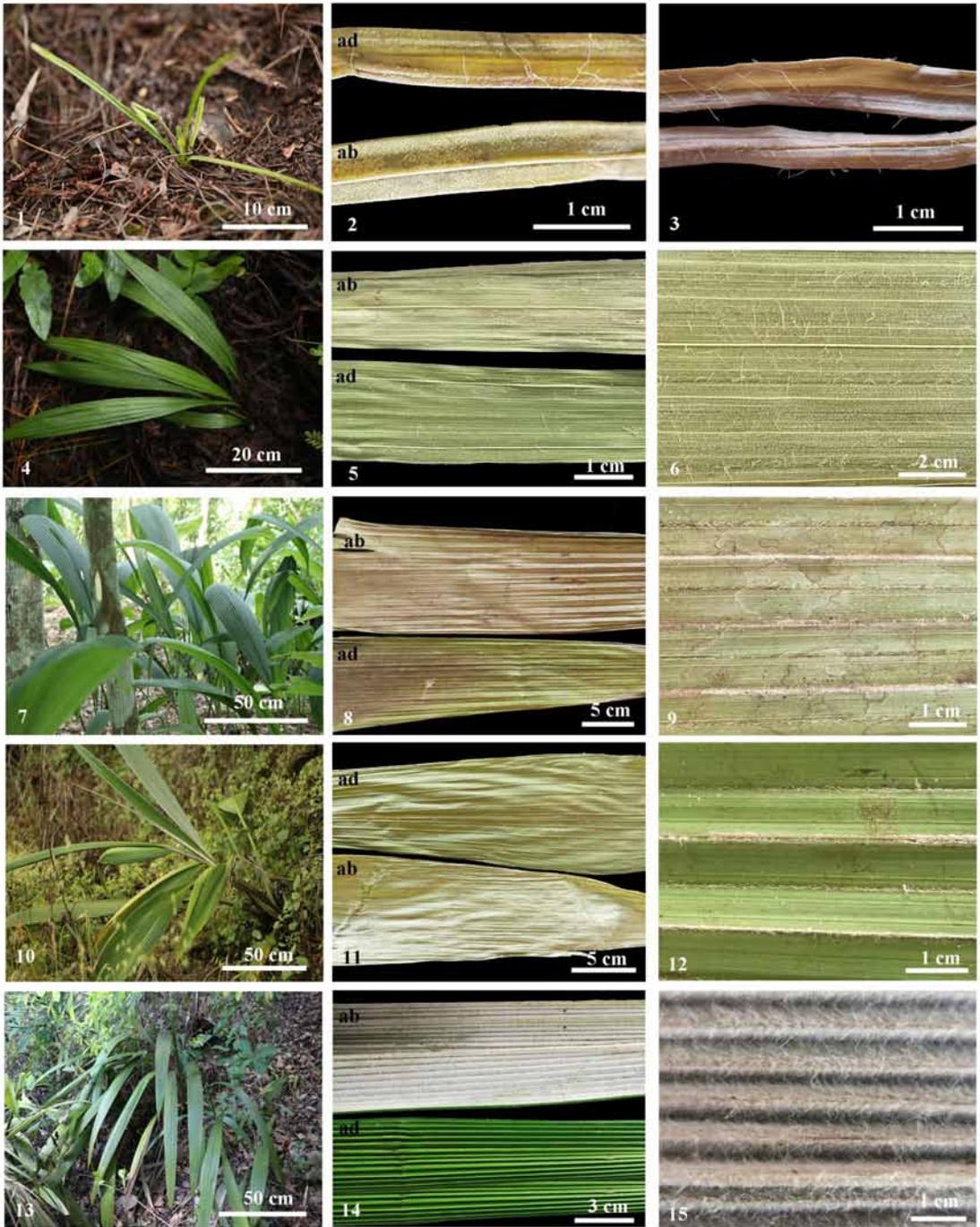
第三类, 折扇状大型叶, 指叶柄明显, 具槽, 短于或等长于叶片, 可达 80 cm; 叶片阔披针形, 长可达 150 cm, 宽为 10~30 cm; 叶片具明显折扇状叶脉, 主脉明显, 具 10~20 次级脉, 呈折扇状突起; 叶正面近光滑, 叶背面或近光滑或具绒毛; 株高可达 2 m; 见于大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅(图版

I:7-15), 均生长在热带和亚热带常绿阔叶林下。

2.2 5 种仙茅科植物的叶表皮毛被显微特征

上述叶形态研究结果表明, 叶的毛被类型及密度在 5 种植物中差异显著。为进一步明确毛被特征的分类学意义, 本文利用显微镜和扫描电镜观察了其叶表皮毛微形态特征。

在显微镜下, 5 种植物的叶表皮均不同密度地被有毛状体, 皆为单列单细胞毛状体, 单生或簇生、基部膨大、具明显毛囊; 其中有 4 个种集中分布在叶缘和叶背中脉处(图版 II:3,6,9,12), 仅有绒叶仙茅密集分布在叶柄和叶背(图版 II:15)。根据毛状体的长度和形态, 将其分为 3 类: 长柔毛(pilose)、星状毛(stellate)和糙伏毛(strigose)。第一类, 长柔毛, 指毛状体为单列单细胞, 长为 1~2 mm, 通体纤细, 线型缠绕状, 稀疏出现在叶缘和叶背叶脉处, 看似光滑近无毛; 较为常见, 见于小金梅草、仙茅和大叶仙茅(图版 II:3,6,9)。第二类, 星状毛, 指长柔毛从同一个毛囊基部出发, 为分叉的星状长柔毛, 密集覆盖于叶背, 肉眼下为厚厚的一层白绒毛; 见于绒叶仙



1-3. 小金梅草；4-6. 仙茅；7-9. 大叶仙茅；10-12. 短葶仙茅；13-15. 绒叶仙茅。左. 植株；中. 叶背面(上)和叶正面(下)；右. 叶背面。

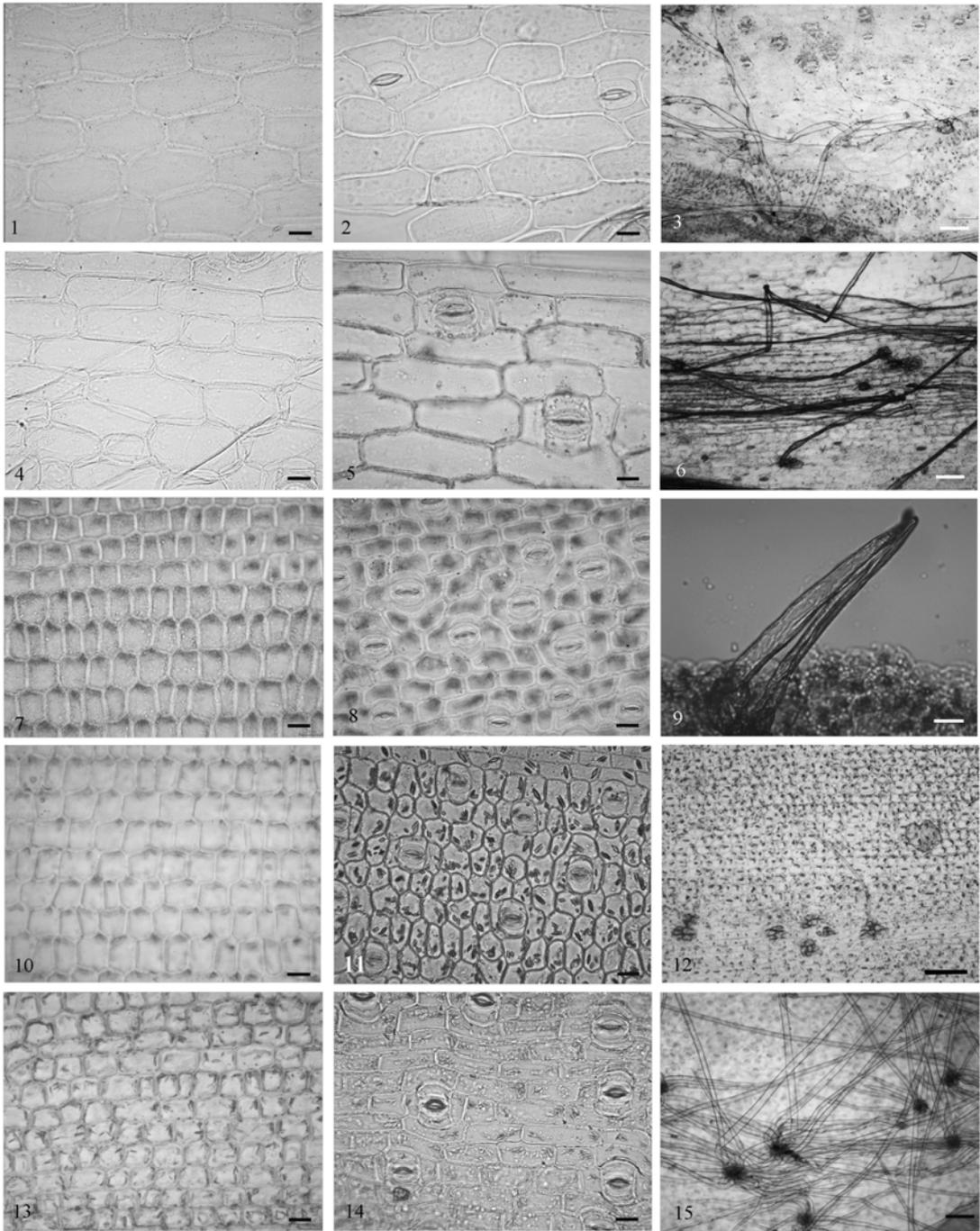
1-3. *Hypoxis aurea*；4-6. *Curculigo orchiooides*；7-9. *Molineria capitulata*；10-12. *M. breviscapa*；13-15. *M. crassifolia*。Left. Plants；Middle. Abaxial leaf epidermis (ab) and adaxial leaf epidermis (ad)；Right. Abaxial leaf epidermis.

图版 I 5 种仙茅科植物的叶形态

Plate I Leaf morphology of five species in Hypoxidaceae

茅(图版 I: 14-15; 图版 II: 15)。第三类, 糙伏毛, 指毛状体为单列单细胞, 长不及 20 μm , 但较为

粗壮, 从基部向顶部变窄, 呈针刺状, 通常单生或两到根簇生; 见于短葶仙茅的叶缘和中脉(图版



1-3. 小金梅草; 4-6. 仙茅; 6-9. 大叶仙茅; 10-12. 短葶仙茅; 13-15. 绒叶仙茅。其他标尺 = 20 μm , 除了图 3、6、9、12、15, 标尺 = 100 μm 。

1-3. *Hypoxis aurea*; 4-6. *Curculigo orchiodes*; 6-9. *Molineria capitulata*; 10-12. *M. breviscapa*; 13-15. *M. crassifolia*. Bars = 100 μm in Fig. 3, 6, 9, 12, 15, and other bars = 20 μm .

图版 II 显微镜下 5 种仙茅科植物的叶下表皮

Plate II Abaxial leaf epidermis of five species in Hypoxidaceae under microscope

II:12)。在扫描电镜下, 本文重点观察了绒叶仙茅的星状长柔毛的超微特征, 揭示了其通体纤长、

相互缠绕, 外壁纹饰光滑、有屑状纹饰等特点(图版 IV:14)。

2.3.5 种仙茅科植物的叶表皮超微特征

在显微镜和扫描电镜下,5种植物的叶表皮显微特征差异显著(表2,图版Ⅱ,Ⅲ),包括表皮细胞垂周壁式样皆为平直-弓形;表皮细胞有两类:六边形(长矩形)和五边形(短矩形);气孔器皆为平列型和椭圆形。

2.3.1 叶表皮细胞特征 在显微镜和扫描电镜下,叶表皮细胞的形态和大小在同种植物的上、下表皮基本一致,但大小差异明显表皮细胞垂周壁式样皆为平直-弓形(表2;图版Ⅱ,Ⅲ,Ⅳ)。根据细胞大小和轮廓,可分为两类:六边形和五边形。前者指表皮细胞平整,为长六边形,呈长矩形;细胞较大,大小平均值为 $89.30\ \mu\text{m} \times 32.63\ \mu\text{m}$,长宽比平均值为2.70;出现在小金梅草和仙茅(图版Ⅱ:1-2,4-5;图版Ⅲ:1-6)。后者指表皮细胞略呈凹陷状,为短五边形,呈短矩形;细胞较小,大小平均值为 $27.47\ \mu\text{m} \times 18.82\ \mu\text{m}$,其长宽比平均值为1.26;出现在大叶仙茅属的3个种(大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅)(图版Ⅱ:7-15;图版Ⅲ:7-9)。从数据分析(表2)来看,两类表皮细胞的大小差异明显,比值大于2。

2.3.2 叶表皮气孔类型 在显微镜和扫描电镜下,5种植物的气孔器均分布于叶下表皮,偶见上表皮,为平列型(paracytic),基本轮廓呈椭圆形,但气孔大小、气孔指数和气孔密度在种间略有变化(表2;图版Ⅱ,Ⅳ)。气孔指数在5种植物里较为稳定,均保持在10以内,均值为7.78。根据气孔大小和密度,可分为2类。第一类,大气孔-低密度,指气孔大小均值为 $35.00\ \mu\text{m} \times 28.88\ \mu\text{m}$;气孔密度较低,其均值为5.56;出现在株型和叶片小的2个种(小金梅草和仙茅)(图版Ⅱ:1-6;图版Ⅳ:1-6)。第二类,小气孔-高密度,指气孔较小,大小均值为 $22.94\ \mu\text{m} \times 17.38\ \mu\text{m}$;气孔密度较高,均值为20.90;出现在大叶仙茅属3种(大叶仙茅、短葶仙茅和绒毛仙茅)(图版Ⅱ:7-12;图版Ⅳ:7-13)。

因此,5种植物的叶表皮细胞和气孔特征在种间差异明显,可把叶表皮超微特征分为2类。第一类,表皮细胞为六边形,呈长矩形、气孔大但密度低,出现在株型矮和叶片小的2个种(小金梅草和仙茅)。第二类,表皮细胞为五边形,呈短矩形、气孔小但密度高,出现在株型高、叶片大的大叶仙茅属3个种(大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅)。

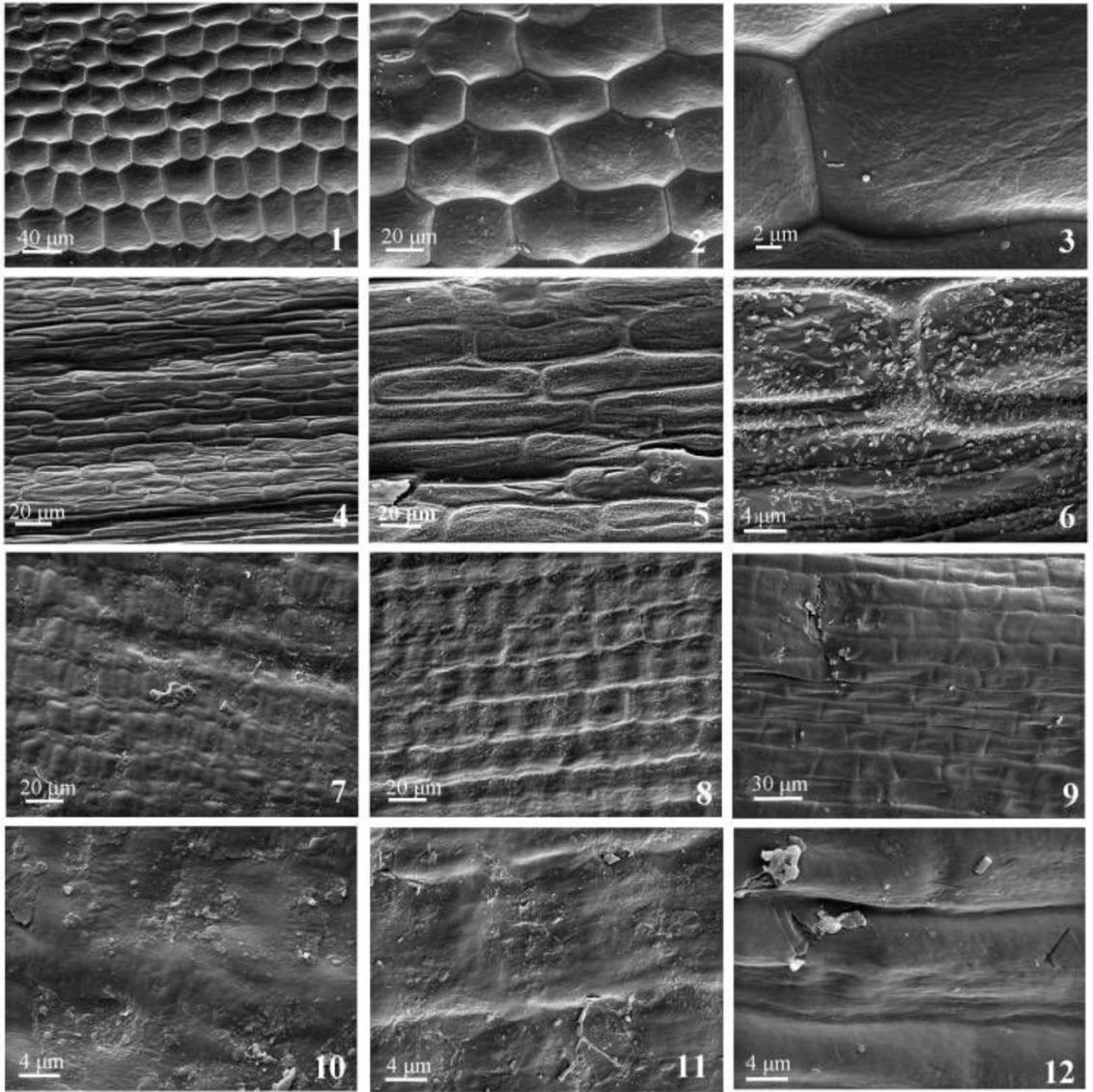
2.3.3 叶表皮蜡质纹饰 扫描电镜下,低倍放大($\times 400 \sim \times 1\ 000$)条件下,主要观察表皮细胞形态和大小以及气孔类型,蜡质纹饰特征不明显;但在高倍放大($\times 2\ 000 \sim \times 5\ 000$)条件下清晰可见。蜡质纹饰的类型及分布在同种和不同种植物的叶上、下表皮变化较大(图版Ⅲ,Ⅳ),共观察到4种类型:光滑型、屑状、壳状和颗粒状。光滑型(smooth)是指叶表皮细胞表面光滑平整,蜡质纹饰层较薄、不明显,偶见颗粒状碎屑,出现在小金梅草的上表皮(图版Ⅲ:1-3)。屑状纹饰(scales),是指叶表皮细胞表面有不规则薄片状突起,呈蜡屑状散落,密集分布于仙茅的上表皮(图版Ⅲ:6)和下表皮(图版Ⅳ:5,6),稀疏均有分布在大叶仙茅的下表皮(图版Ⅳ:7-9)。壳状纹饰(crusts)是指蜡质纹饰厚薄不一,为不规则的壳状突起,出现在大叶仙茅和短葶仙茅的上表皮(图版Ⅲ:7-11)。颗粒状纹饰(granular)指蜡质纹饰成大小不一的圆形或方形的颗粒状突起,稀疏出现绒叶仙茅的上表皮(图版Ⅲ:12)或与其他3种纹饰不同程度混合出现在5种植物的叶下表皮(图版Ⅳ)。

比较分析认为,叶上表皮的蜡质纹饰在同种植物里较为单一,容易区别,共有4类(光滑、屑状、颗粒和壳状)。例如:前3种类型依次出现在小金梅草(图版Ⅲ:1-3)、仙茅(图版Ⅲ:6)和绒叶仙茅(图版Ⅲ:9,12),而壳状出现在大叶仙茅属的2个种(大叶仙茅和短葶仙茅)(图版Ⅲ:7,10;8,11)。然而,叶下表皮蜡质纹饰相对复杂,为2种类型的混合体,在种间不易区分。例如:颗粒和壳状纹饰稀疏混合出现在小金梅草(图版Ⅳ:1-3),颗粒和壳状密集混合出现在仙茅(图版Ⅳ:4-6),颗粒和屑状不同程度混合出现在大叶仙茅属的3个种(图版Ⅳ:7-12)。因此,蜡质纹饰在叶上表皮的差异显著,而在叶下表皮显得没有规律。

2.4.5 种仙茅科植物的叶横切解剖特征

为揭示叶片横切面解剖特征在种间的差异,本研究观察了5种植物的中脉和侧脉处的叶横切面。结果表明,5种植物的叶横切面解剖特征较为相似,皆由形态显著的表皮层、叶肉组织和维管束3种组织构成。然而,叶中脉横切面形态、上下表皮细胞大小、叶片厚度、叶肉组织厚度和维管束形态等在种间差异明显(表3,图版Ⅴ)。

中脉横切面的轮廓在5种植物略有变化,根据中脉两侧的叶横切面形成的夹角大小,将其分为



1-3. 小金梅草; 4-6. 仙茅; 7, 10. 大叶仙茅; 8, 11. 短葶仙茅; 9, 12. 绒叶仙茅。

1-3. *Hypoxis aurea*; 4-6. *Curculigo orchiooides*; 7, 10. *Molineria capitulata*; 8, 11. *M. breviscapa*; 9, 12. *M. crassifolia*.

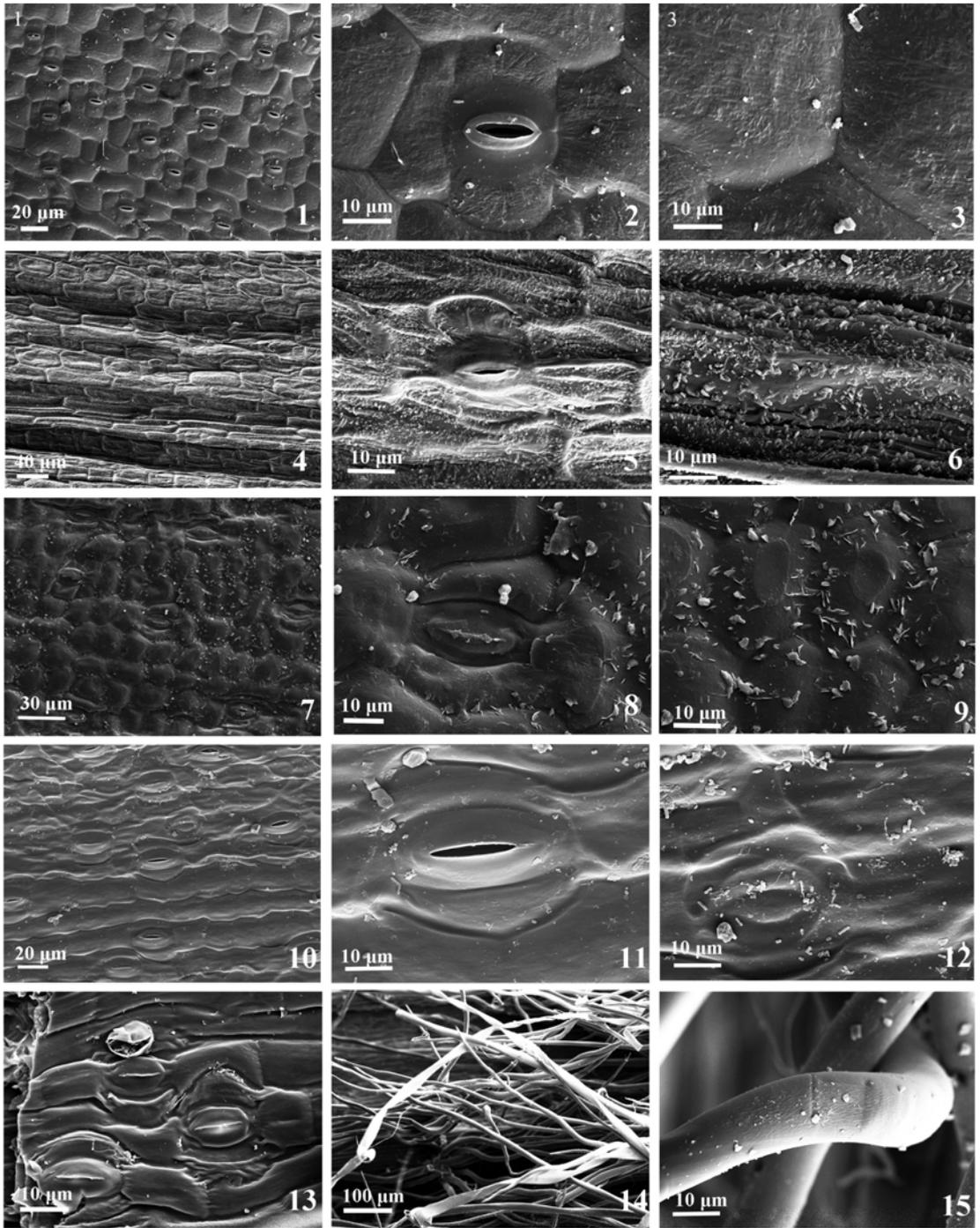
图版 III 扫描电镜下 5 种仙茅科植物的叶上表皮超微形态特征

Plate III Ultrastructure of adaxial leaf epidermis of five species in Hypoxidaceae under SEM

平整型(even)和龙骨状(carinate)。平整型指夹角处于 $160^{\circ}\sim 180^{\circ}$ 范围,切面轮廓看上去近乎平直,为一直线;出现在 3 属 3 种(小金梅草、仙茅和绒叶仙茅)。龙骨状,又称 V-字型,指夹角为 $90^{\circ}\sim 160^{\circ}$ 范围,切面轮廓呈 V-字型;出现在大叶仙茅属的 2 个种(大叶仙茅和短葶仙茅)。

数据分析表明,叶片厚度与叶肉和中脉的厚度虽呈明显的正相关,但与叶型大小却呈负相关,很明显可以分为 2 类。第一类,小叶-厚叶型,出

现在株型矮、叶片小的 2 属 2 种(小金梅草和仙茅)。它们的叶片厚度在 $120\ \mu\text{m}$ 以上(156.51 、 $123.13\ \mu\text{m}$),均值为 139.82 ;叶肉厚度处于保持在 $80\ \mu\text{m}$ 左右(87.56 、 $84.73\ \mu\text{m}$),均值为 $86.14\ \mu\text{m}$;中脉厚度在 $190\ \mu\text{m}$ 及以上($190\sim 320\ \mu\text{m}$),均值为 $254.65\ \mu\text{m}$ 。第二类,大叶-薄叶型,出现在株型高、叶片大的大叶仙茅属 3 个种(大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅)。3 个种的叶片厚度约为 $90\ \mu\text{m}$ (90.65 、 92.86 、 $102.37\ \mu\text{m}$),均值 $95.30\ \mu\text{m}$;叶肉



1-3. 小金梅草；4-6. 仙茅；7-9. 大叶仙茅；10-12. 短萼仙茅；13-15. 绒叶仙茅。

1-3. *Hypoxis aurea*；4-6. *Curculigo orchiooides*；7-9. *Molineria capitulata*；10-12. *M. breviscapa*；13-15. *M. crassifolia*。

图版 IV 5 种仙茅科植物的叶下表皮超微形态特征

Plate IV Ultrastructure of abaxial leaf epidermis of five species in Hypoxidaceae under SEM

厚度约为 $65 \mu\text{m}$ (68.54 、 61.30 、 $64.22 \mu\text{m}$)，均值 $64.68 \mu\text{m}$ ；中脉厚度集中在 $160 \mu\text{m}$ (160.25 、 166.18 、 $159.56 \mu\text{m}$)，均值为 $161.99 \mu\text{m}$ 。因此，叶片厚薄

和叶片大小呈一定相关性。

从叶横切面轮廓和统计分析比较可以看出，同种植物的叶上、下表皮细胞大小及其厚度差异

表 2 5 种仙茅科植物叶表皮形态特征

Table 2 Characteristics of leaf epidermis of five species in Hypoxidaceae

物种名 Species	上表皮 Adaxial leaf epidermis		下表皮 Abaxial leaf epidermis					
	细胞大小 Epidermal cell ($L_1 \times W_1$)	长宽比 L_1/M_2	细胞大小 Epidermal cell ($L_2 \times W_2$)	长宽比 L_2/M_2	气孔大小 Stomata size ($L_s \times W_s$)	气孔长宽比 L_s/W_s	气孔指数 SI (%)	气孔密度 SD (mm^{-2})
小金梅草 <i>Hypoxis aurea</i>	87.53 (38.87~105.40) × 34.23 (22.86~50.41)	2.56	95.72 (43.16~126.52) × 35.41 (21.89~36.34)	2.70	34.32 (29.49~40.56) × 28.62 (21.89~36.34)	1.20	9.14	6.24
仙茅 <i>Curculigo orchioides</i>	84.33 (21.11~114.66) × 29.38 (24.43~56.42)	2.87	84.63 (41.12~115.57) × 31.50 (21.01~40.98)	2.69	35.69 (28.31~40.01) × 29.13 (25.07~31.72)	1.23	7.52	4.88
大叶仙茅 <i>Molineria capitulata</i>	27.25 (15.84~36.95) × 18.09 (12.33~21.56)	1.51	24.75 (16.40~37.72) × 19.55 (13.93~29.63)	1.27	20.24 (16.88~23.31) × 15.59 (13.93~18.85)	1.30	6.80	16.31
短萼仙茅 <i>M. breviscapa</i>	27.90 (24.01~31.40) × 18.85 (11.90~25.67)	1.48	25.56 (14.32~37.23) × 18.70 (13.01~27.75)	1.29	25.17 (19.04~30.88) × 18.08 (15.54~22.33)	1.35	7.62	21.60
绒叶仙茅 <i>M. crassifolia</i>	26.25 (19.06~32.16) × 20.64 (14.56~27.21)	1.27	33.08 (14.66~63.19) × 17.08 (13.25~22.64)	1.21	23.41 (19.50~28.33) × 18.47 (14.13~25.29)	1.28	7.83	24.80

注: L_1 . 上表皮细胞长度; W_1 . 上表皮细胞宽; L_2 . 下表皮细胞长度; W_2 . 下表皮细胞宽; L_s . 气孔长度; W_s . 气孔宽度; SI . 气孔指数; SD . 气孔密度。单位:微米。

Note: L_1 . Length of adaxial epidermal cell; W_1 . Width of adaxial epidermal cell; L_2 . Length of abaxial epidermal cell; W_2 . Width of abaxial epidermal cell; L_s . Length of stomata; W_s . Width of stomata; SI . Stomatal index; SD . Stomatal density. Unit: μm .

表 3 5 种仙茅科植物叶横切解剖特征

Table 3 Leaf anatomy of five species in Hypoxidaceae

物种 Species	T_L (μm)	T_m (μm)	T_M (μm)	T_{UE} (μm)	T_{LE} (μm)	T_{UE}/T_{LE}
小金梅草 <i>Hypoxis aurea</i>	156.51	87.56	313.19	38.75	28.36	1.37
仙茅 <i>Curculigoorchioides</i>	123.13	84.73	196.11	31.16	28.00	1.11
大叶仙茅 <i>C. capitulata</i>	90.65	68.54	160.25	40.19	14.78	2.72
短萼仙茅 <i>C. breviscapa</i>	92.86	61.30	166.18	40.30	12.32	3.27
绒叶仙茅 <i>C. crassifolia</i>	102.37	64.22	159.56	24.47	17.86	1.54

注: T_L . 叶片厚度; T_M . 中脉厚度; T_m . 叶肉厚度; T_{UE} . 上表皮厚度; T_{LE} . 下表皮细胞厚度。

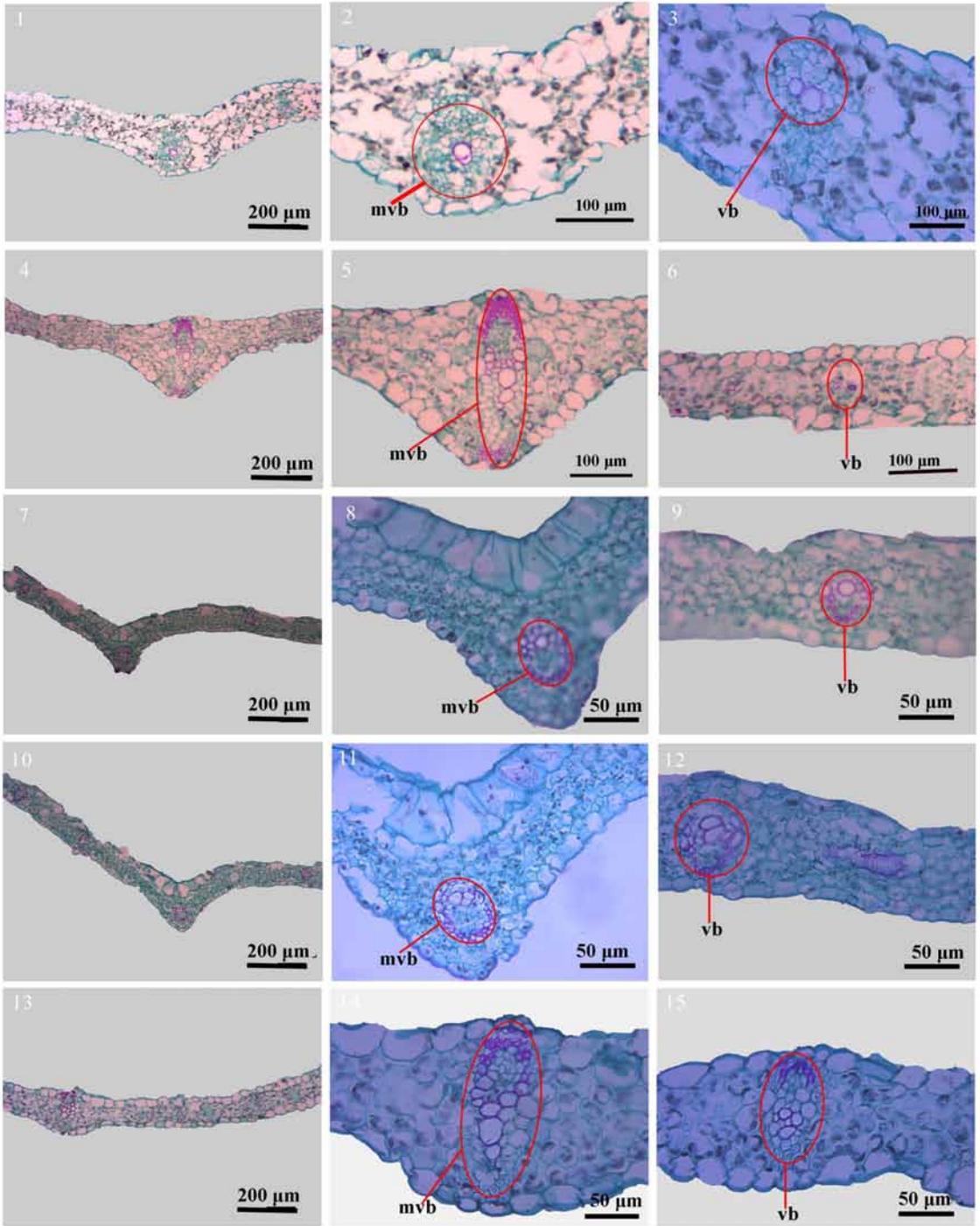
Note: T_L . Thickness of leaf; T_M . Thickness of midrib; T_m . Thickness of mesophyll; T_{UE} . Thickness of upper epidermis; T_{LE} . Thickness of lower epidermis.

显著,尤其在中脉处的上下表皮较为突出(图版 V:2,5,8,11,14),可以分为2类。第一类,等大型表皮细胞,指上、下表皮细胞近等大,其比值为1.10~1.50,出现在2属2种,即小金梅草(1.37)(图版 V:1-3)和仙茅(1.11)(图版 V:4-6)。第二类,不等大型表皮细胞,指上表皮细胞比下表皮细胞大1.5倍以上(1.50~3.50),见于大叶仙茅属的3个种:大叶仙茅(2.72)(图版 V:7-9)、短萼仙茅(3.27)(图版 V:10~12)和绒叶仙茅(1.54)(图版 V:13-15)。

维管束形态在种间差异明显,根据木质部和韧皮部构成的轮廓,可分为2类。第一类,圆形维

管束,指叶中脉横切面上,韧皮部集中分布在木质部周围,在上下表皮细胞之间有明显的叶肉细胞组织相互隔离,形成一个闭合环,见于2属3种(小金梅草、大叶仙茅和短萼仙茅)(图版 V:2,8,11)。第二类,椭圆形维管束,指叶中脉横切面上,韧皮部延伸至上下表皮处,靠上表皮的部位比近下表皮处的细胞数目较多,呈上宽下窄的不规则形态,见于2属2种(仙茅和绒叶仙茅)(图版 V:5,14)。

由此可见,叶横切面解剖特征在种间差异显著。根据叶中脉横切面轮廓、叶片厚度和上下表皮细胞大小等,可分为2类。第一类,中脉平整、



1-3. 小金梅草；4-6. 仙茅；7-9. 大叶仙茅；10-12. 短葶仙茅；13-15. 绒叶仙茅。m vb. 中脉维管束；vb. 侧脉维管束。
 1-3. *Hypoxis aurea*；4-6. *Curculigo orchiooides*；7-9. *Molineria capitulata*；10-12. *M. breviscapa*；13-15. *M. crassifolia*。m vb. Midrib vascular bundle；vb. Vascular bundle of the secondary veins.

图版 V 5 种仙茅科植物叶横切面结构特征

Plate V Anatomical features of leaf transection of five species in Hypoxidaceae

叶片厚、表皮细胞等大,出现在 2 属 2 种(小金梅草和仙茅)。第二类,中脉突起-叶片薄、表皮细胞

不等大,见于大叶仙茅属的 3 个种(大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅)。

3 讨论与结论

针对仙茅科研究资料较少,属间界限不清的分类问题争议较大的现象,本文选择了我国 3 属 5 种植物为研究对象,利用显微镜、扫描电镜和石蜡切片技术,观察了其叶形态、叶表皮显微特征和叶横切面解剖结构,比较分析了叶形态特征在属间和种间的差异,探讨了分类学意义,集中在以下五个方面。

第一,叶形态在种间的差异可以作为属间界限划分依据。前人研究了分布在南半球的 3 个属 (*Spiloxene*、*Empodium*、*Pauridia*) 10 种植物的叶片特征 (Thompson, 1976),根据叶型和中脉维管束特征,把叶形态分为 4 种:龙骨状突起叶 (carinate)、管槽叶 (cannalculatate)、圆柱叶 (terete) 和折扇状叶 (plicate);前 3 种类型出现在 *Spiloxene*,可以用于鉴定该属的不同种 (Garside, 1942),后一种类型出现在 *Empodium*。在仙茅科的分类修订研究中,小金梅草属通常被描述为无叶柄、叶片非折扇状的小型叶片 (Rudall et al., 1998);仙茅属和大叶仙茅属常被记录为有叶柄具折扇状的大型叶 (Zimudzi, 1994; Ji & Merrow, 2000; 王文广等, 2019)。可见,根据次级叶脉数反映折扇状叶脉特征,具有分类学意义。本研究观察到的 3 种类型叶片,可用于属间物种划分。例如:小金梅草属的小金梅草为平整小型叶;仙茅属的仙茅具波状中型叶;大叶仙茅属的 3 个种 (大叶仙茅、短葶仙茅和绒叶仙茅) 都为折扇状大型叶。

第二,叶表皮细胞形态-气孔类型-中脉特征-叶片厚度-叶表皮层 5 个特征组合,在属间具有一定的分布规律。上述 5 个特征构成的组合,可截然不同分为 2 类,出现在不同的属。第一类组合,指表皮细胞长矩形 (六边形)、气孔大-密度低、中脉平整、叶片厚、表皮细胞等大;该组特征出现在株型小叶片小的 2 属,即小金梅草和仙茅。相反,与上述 5 个特征相对应、且相反的第二类组合,指表皮细胞短矩圆形 (五边形),气孔小且密度高、中脉隆起、叶片薄、表皮细胞不等大;这种组合集中见于大叶仙茅属的 3 个种。因此,本文支持大叶仙茅属应该独立于仙茅属外 (Henderson, 1987),也暗示着小金梅草属和仙茅属较为近缘,也为小金梅草属是多系的观点 (Kocyan et al., 2011) 提供了新线索。事实上,

小金梅草属的叶表皮细胞类型较多样,常以五边形和六边形为主,偶见四边形 (Wiland-Szymanska, 2009)。

第三,毛被特征可以作为仙茅科物种鉴定依据。例如,小金梅草、仙茅、大叶仙茅的叶片特征均为:叶片近光滑-长柔毛型的毛被,见于 3 个种的叶缘处和叶背中脉。短葶仙茅的叶片为近光滑-糙伏毛型,疏生于叶缘和中脉处。其中,绒叶仙茅的毛被特征很典型,叶背密被白色绒毛,显微镜下为分叉的星状长柔毛。这在我国 10 种仙茅科植物里很少见,识别度较高。值得注意的是,本文观察到的 3 属 5 种植物的叶片毛被皆为单细胞单列,与南半球分布的仙茅科普遍具有的叶形态特征 (多细胞、多列、分叉星状柔毛) (Thompson, 1986; Rudall et al., 1998; Wiland-Szymańska, 2001) 截然不同。因此,本文结果为分布在东亚的仙茅科分类提供了新资料。同时,小金梅草属的毛被特征较为多样,既有多细胞多列长柔毛,也有单细胞单列组成的分叉星状柔毛 (Rudall et al., 1998; Wiland-Szymańska, 2001)。因此,仙茅科毛被特征的分类学意义值得进一步研究。

第四,5 种植物的叶表皮蜡质纹饰,在叶下表皮较为复杂,是以颗粒和碎屑或和壳状不同组合出现的,在种间难以区别。然而,叶上表皮的蜡质纹饰在种间差异明显,可作为物种鉴定依据。例如,小金梅草为光滑型,仙茅为屑状,大叶仙茅为颗粒状,短葶仙茅和绒叶仙茅为壳状。这说明,与其他 3 个种相比,后两种亲缘关系较近。

第五,叶横切面维管束形态 (圆形和椭圆形) 在属内种间差异明显,可用于物种鉴定。例如,大叶仙茅属 2 种 (大叶仙茅和短葶仙茅) 具圆形维管束;而绒叶仙茅为椭圆形。此外,其余 2 属 2 种 (仙茅和小金梅草) 为椭圆形。值得一提的是,两种类型在小金梅草属里都比较普遍 (Wiland-Szymańska, 2001)。

综上所述,本文观察到的我国仙茅科 3 属 5 种植物的叶形态和解剖特征,在属间和种间差异显著,具有一定的分类学意义。叶片的 5 个特征组合 (叶形态+表皮细胞+气孔类型+叶片+上、下表皮细胞厚度) 在属间差异明显,可用于属间界限划分。其余特征,包括毛被类型、表皮蜡质纹饰和叶中脉横切面的维管束等在种间各有特点,可作为物种鉴定依据。据此,为更好地理解叶形态特征的分类学意义,特编制了我国仙茅科 3 属 5 种植物分类检索表。

我国 5 种仙茅科植物分属及分种检索表——基于叶形态解剖特征

1. 植株小型,高不超过 50 cm;叶片小,最宽处小于 2.5 cm,长不超过 40 cm;叶柄不明显;叶缘和中脉处具长单细胞毛;表皮细胞五边形;气孔较大,气孔密度低;中脉平整,叶片较厚,上下表皮细胞等大 (2)
2. 根状茎球形;无叶柄,表皮细胞呈长椭圆,上表皮蜡质纹饰光滑,中脉维管束圆形。 小金梅草(*Hypoxis aurea*)
2. 根状茎圆柱状;草质叶柄,叶上表皮蜡质纹饰屑状,中脉维管束椭圆形。 仙茅(*Curculigo orchioides*)
1. 植株大型,可达 200 cm;叶片大,最宽处可达 20 cm,长可达 200 cm;木质叶柄,几与叶片等长;叶片毛被多样;表皮细胞六边形;气孔较小,密度高;中脉隆起,叶片较薄,上下表皮细胞不等大。 大叶仙茅属(*Molineria* Colla)(3)
3. 叶背密集白色星状毛;叶上表皮具稀疏颗粒状纹饰;中脉维管束椭圆形。 绒叶仙茅(*M. crassifolia*)
3. 叶缘及背面中脉处被稀疏毛;叶表皮密具壳状纹饰;中脉维管束圆形 (4)
4. 花茎长,果序高于地面;叶缘和背面中轴处被单细胞长柔毛;叶下表皮蜡质纹饰为颗粒状和屑状混合。 大叶仙茅(*M. capitulata*)
4. 花茎极度缩短,果序聚集于根部;叶缘和背面中脉处被单细胞短糙伏毛;叶下表皮蜡质纹饰为稀疏颗粒状。 短茎仙茅(*M. breviscapa*)

致谢 西南林业大学云南生物多样性研究院提供实验平台,中国科学院西双版纳热带植物园公共技术服务中心唐霆高级工程师协助扫描电镜观察。

参考文献:

ANGIOSPRM PHYLOGENY GROUP(APG), 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plant: APG IV [J]. Bot J Linn Soc, 181(1): 1-20.

BARTHOLOTT W, NEINHUIS C, DAVID C, et al., 1998. Classification and terminology of plant epicuticular waxes [J]. Bot J Linn Soc, 126(3): 237-260.

DONG GM, ZHANG HM, 1998. Character of seed micro-morphology in five species of *Curculigo* [J]. Chin J Chin Mat Med, 23(1): 6-7. [董国明, 张汉明, 1998. 5 种仙茅属植物种子表面显微特征观察 [J]. 中国中药杂志, 23(1): 6-7.]

GAIKWAD SP, GORE RD, GARAD KU, et al., 2019. *Curculigo sabui* sp. nov. (Hypoxidaceae), a new species from Balaghat Ranges of Maharashtra, India [J]. Nord J Bot: e02340

GORE RD, GAIKWAD SP, 2018. *Curculigo janarthanami* (Hypoxidaceae), a new species from Maharashtra, India [J]. Phytotaxa, 357(1): 72-76.

HENDERSON RJ, 1987. *Molineria* [M]// GEORGE AS. Flora of Australia. Melbourne: CSIRO, 45: 192-193.

HE ZC, ZHONG Y, LIU HT, et al., 2000. Quantitative taxonomic analyses of *Actinida* (Actinidaceae) in China based on micro-morphology characters of foliar trichomes [J]. Acta Phytotax Sin, 38(2): 121-136. [何子灿, 钟扬, 刘洪涛, 等, 2000. 中国猕猴桃属植物叶表皮毛微形态特

征及数量分类分析 [J]. 植物分类学报, 38(2): 121-136.]

JI ZH, MEEROW AW, 2000. Amaryllidaceae [M] // WU ZY, RAVEN PH. Flora of China. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 24: 264-273.

KLOMBERG Y, KOUDE RD, BARTO M, et al., 2019. The role of ultraviolet reflectance and pattern in the pollination system of *Hypoxis camerooniana* (Hypoxidaceae) [J]. Aob Plants, 11:plz057.

KOCYAN A, ENDRESS PK, 2001. Floral structure and development of *Apostasia* and *Neuwiedia* (Apostasioideae) and their relationships to other Orchidaceae [J]. Plant Syst Evol, 229:187-216.

KOCYAN A, DEIRDRE A, SNIJMAN, et al., 2011. Molecular phylogenetics of Hypoxidaceae-evidence from plastid DNA data and inferences on morphology and biogeography [J]. Mol Phylogenet Evol, 60(1): 122-136.

KOCYAN A, SZYMANSKA JW, 2016. *Friedmannia*: a new genus from the Seychelles and the beginning of a generic realignment of *Curculigo* (Hypoxidaceae) [J]. Phytotaxa, 283(1): 54-64 .

LI LY, 2005. Study on the germplasm and quality of *Curculigo orchioides* [D]. Chengdu: Chendu University of Traditonal Chinese Medicine. [李隆云, 2005. 仙茅种质资源与质量研究 [D]. 成都: 成都中医药大学.]

LIU KW, XIE GC, CHENLJ, et al., 2012. A new genus of Hypoxidaceae from China based on molecular and morphological evidence [J]. PLoS ONE, 7(6): e38880.

LUO Y, ZHOU ZK, 2001. Leaf epidermis of *Quercus* subgen. *Cyclobalanopsis* (Qerst.) Schneid. (Fagaceae) [J]. Acta Phytotax Sin, 39(6): 489-501. [罗艳, 周浙昆, 2001. 栎属青冈亚属(壳斗科)的叶表皮研究 [J].植物分类学报, 39(6): 489-501]

NEL G, 1914. Studienüber Amaryllidaceae-Hypoxideae, unter besonderer Berücksichtigung der afrikanischen Arten

- [J]. Bot Jahrb Syst, 51: 234-286.
- NORDAL I, 1998. Hypoxidaceae [M]// KUBITZKI K. The families and genera of vascular plants. III. Flowering Plants. Monocotyledons. Berlin: Springer: 286-295.
- ODYUO N, ROY DK, KHAMDI HB, 2016. *Molineria fakimense* (Hypoxidaceae), a new species from Nagaland, India [J]. Rheede, 26(2): 131-135.
- QIN WH, WANG HY, ZHOU SB, et al., 2003. A primary comparative study on leaf epidermis of 6 species in genera of family Amaryllidaceae [J]. J W Anhui Univ, 19(2): 48-51. [秦卫华, 汪恒英, 周守标, 等, 2003. 石蒜科 6 属 6 种植物叶表皮的初步比较研究 [J]. 皖西学院学报, 19(2): 48-51.]
- QIAN XH, CHEN XQ(SC), 1985. Amaryllidaceae [M]// PEI J, DING (TING) ZZ. Flora Republicae Popularis Sinicae. Vol. 16(1)[M]. Beijing: Science Press. [钱啸虎, 陈心启, 1985. 石蒜科[M]// 裴鉴, 丁志遵, 中国植物志. 第 16 卷第一分册. 北京: 科学出版社.]
- REN ZX, BERHARDTP, EDENS MR, et al., 2018. Comparative pollen-pistil interactions and insect pollination in two *Hypoxis* species (Hypoxidaceae) in China and North America [J]. Plant Syst Evol, 305(3): 115-126.
- ROY DK, VIJAYAN D, 2016. *Molineria garoens* (Hypoxidaceae), a new species from Meghalaya, India [J]. Pleione, 10(2): 366-369.
- RUDALL PJ, CHASE MW, CUTLER DF, et al., 1998. Anatomical and molecular systematics of Asteliaceae and Hypoxidaceae [J]. Bot J Linn Soc, 127: 1-42.
- SNIJMAN D, KOCYAN A, 2013. The genus *Pauridia* (Hypoxidaceae) amplified to include *Hypoxis* sect. *Ianthe*, *Saniella* and *Spiloxene*, with revised nomenclature and typification [J]. Phytotaxa, 116 (1): 19-33.
- SNIJMAN DA, 2014. A taxonomic revision of the genus *Pauridia* (Hypoxidaceae) in southern Africa [J]. Phytotaxa, 182(1): 1-114.
- SHAH GL, GOPAL BV, 1970. Structure and development of stomata on the vegetative and floral organs of some Amaryllidaceae [J]. Ann Bot, 34(3): 737-749.
- SUN TX, JIANG XS, 2009. H₂O₂-CH₂COOH maceration, a simple and perfect method for leaf epidermis [J]. Guihaia, 29(1): 44-47. [孙同兴, 江幸山, 2009. 简单有效的叶表皮离析法——过氧化氢-醋酸法 [J]. 广西植物, 29(1): 44-47.]
- TIWARI AP, 2020. Taxonomic identity of *Molineria garoense* and lectotypification of *Hypoxis trichocarpa* (Hypoxidaceae) [J]. Phytotaxa, 458(1): 77-82.
- THOMPSON MF, 1976. Studies in the Hypoxidaceae. I. Vegetative morphology and anatomy [J]. Bothalia, (12)1: 111-117.
- THOMPSON MF, 1978. Studies in the Hypoxidaceae. II. Floral morphology and anatomy [J]. Bothalia, (12)3: 429-435.
- THOMPSON MF, 1979. Studies in the Hypoxidaceae. III. The genus *Pauridia* [J]. Bothalia, 12(4): 621-625.
- WANG WG, LIU BL, MA XD, et al., 2019. *Molineria prainiana* Deb, a newly recorded species of *Molineria* (Hypoxidaceae) in China [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 39 (10): 1881-1883. [王文广, 刘必龙, 马兴达, 等, 2019. 中国仙茅科一新记录种——喜马拉雅仙茅 [J]. 西北植物学报, 39 (10): 1881-1883.]
- WILAND-SZYMANSKA J, 1997. The genus *Curculigo* (Hypoxidaceae) in Central Africa (Zaire, Rwanda, Burundi) [M]//Fragm. Flor. Geobot. 42: 9-24.
- WILAND-SZYMANSKA J, 2001. The genus *Hypoxis* (Hypoxidaceae) in Central Africa [J]. Ann Miss Bot Gard, 88: 302-350.
- WILAND-SZYMANSKA J, 2009. The genus *Hypoxis* L. (Hypoxidaceae) in the East Tropical Africa: variability, distribution and conservation status [J]. Biod Conserv, 14: 1-129.
- WILHELM B, CHRISTOPH N, DAVID C, et al., 2008. Classification and terminology of plant epicuticular waxes [J]. Bot J Linn Soc, (3): 237-260.
- YANG CX, LI CR, LI L, et al., 2020. Leaf epidermis morphology of the Chinese endemic genus *Clematoclethra* (Actinidaceae) and its taxonomic significance [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 40(6): 997-1010. [杨晨璇, 李楚然, 李璐, 等, 2020. 中国特有属藤山柳属(猕猴桃科)植物的叶表皮形态及其分类学意义 [J]. 西北植物学报, 40(6): 997-1010.]
- ZENG N, ZHANG JR, CHANG ZY, 2017. Micro-morphological characteristics of leaf epidermis and systematic significance of *Rosa* L. from China [J]. Guihaia, 37(2): 169-185. [曾妮, 张建茹, 常朝阳, 2017. 中国蔷薇属植物叶表皮微形态特征及其系统学意义 [J]. 广西植物, 37(2): 169-185.]
- ZHANG XX, ZHANG HY, XU WB, et al., 2013. Leaf epidermal characters and their taxonomic significance in Balsaminaceae, China [J]. Guihaia, 33(4): 528-537. [张晓霞, 张海燕, 许为斌, 等, 2013. 中国凤仙花科植物叶表皮特征及其分类学意义(英文) [J]. 广西植物, 33(4): 528-537.]

(责任编辑 李莉)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110023

刘林, 张良英, 程贵兰, 等. 色季拉山 10 种报春花属植物花粉形态及其分类学意义 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1675–1683.

LIU L, ZHANG LY, CHENG GL, et al. Pollen morphology and its taxonomic significance of 10 *Primula* species from the Shergyla Mountains [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1675–1683.



色季拉山 10 种报春花属植物花粉形态及其分类学意义

刘 林, 张良英*, 程贵兰, 何 丹, 张力飞, 孟凡丽

(辽宁农业职业技术学院, 辽宁 营口 115009)

摘 要: 采用扫描电镜法, 观察和比较了西藏色季拉山 10 种报春花的花粉形态特征, 同时进行聚类分析, 以期为该属植物分类提供孢粉学证据, 并进一步为西藏报春花属植物杂交育种及种质资源的利用提供参考。结果表明: (1) 供试 10 种报春花属植物的花粉形状为扁球形、近球形, 其中, 工布报春 (*Primula kongboensis*) 的花粉粒最小, 暗紫脆蒴报春 (*P. calderiana*) 的花粉粒最大, 西藏报春 (*P. tibetica*) 为多沟型花粉, 其余报春花的花粉一般具 3 孔沟, 大部分孔沟在极区汇合形成复合沟。(2) 花粉外壁纹饰大多为穴状或网状, 其中, 中甸灯台报春 (*P. chungensis*) 和西藏报春为网状纹饰中的粗网状类型。(3) 虽然基于花粉形态的聚类分析与植物学分类表现出一定的一致性, 但报春花组的西藏报春和工布报春则由于在孢粉学特征上具有明显差异, 因此保持了相对较远的亲缘关系。该研究初步认为, 色季拉山 10 种报春花花粉形态存在种间差异, 研究结果可为植物分类提供一定的参考依据。然而, 在进行分类时, 仍然需要结合形态学特征、分子生物学等方面综合考虑。

关键词: 报春花属, 西藏, 花粉形态, 聚类分析, 孢粉学

中图分类号: Q944.58 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1675-09

Pollen morphology and its taxonomic significance of 10 *Primula* species from the Shergyla Mountains

LIU Lin, ZHANG Liangying*, CHENG Guilan, HE Dan, ZHANG Lifei, MENG Fanli

(Liaoning Agricultural Technical College, Yingkou 115009, Liaoning, China)

Abstract: *Primula* is an important genus of Primulaceae, which has high ornamental value because of diverse flower colors and long flowering period. In order to provide palynology basis for the taxonomy of this genus, we observed and compared the pollen morphological characteristics of 10 *Primula* species from the Shergyla Mountains in Tibet by scanning electron microscopy (SEM). Moreover, clustering analysis was carried out on the basis of these characteristics of pollen morphology. The results were as follows: (1) Pollen shapes of 10 *Primula* species varied from oblate to nearly

收稿日期: 2022-03-01

基金项目: 西藏自治区自然科学基金(2016ZR-NY-12); 辽宁省教育厅科学研究经费项目(L202003); 辽宁农业职业技术学院级科研项目(2020-03) [Supported by Natural Science Foundation of Tibet (2016ZR-NY-12); Scientific Research Fund of Liaoning Education Department(L202003); Scientific Research Fund of Liaoning Agricultural Technical College (2020-03)]。

第一作者: 刘林(1980-), 博士, 副教授, 主要从事园艺植物生理及种质资源研究, (E-mail) 103161474@qq.com。

*通信作者: 张良英, 硕士, 副教授, 主要从事植物资源研究, (E-mail) 413193634@qq.com。

spherical. Among these species, the pollen of *P. calderiana* was the biggest, and the smallest was that of *P. kongboensis*. The germinal aperture of *P. tibetica* was stephanocolpate type. The other pollens usually were tricolporate type, most of the colpus converged to form parasynocolpus in the polar region. (2) The pollen exine ornamentation were mostly foveolate or reticulate, which of *P. chungensis* and *P. tibetica* were coarsely reticulate. (3) In traditional classification, 10 species belong to 7 sections respectively. Clustering analysis based on pollen characteristics showed a certain level of consistency with the traditional classification. However, *P. tibetica* and *P. kongboensis*, both belonging to Sect. *Aleuritia*, maintained a relatively distant relationship due to their obvious differences in pollen traits. The preliminary results show that there are interspecific differences in the pollen morphology of 10 *Primula* species, which can provide a certain degree of reference for classification of plants. But it should be reminded that in addition to pollen characteristics, morphology and molecular biology still need to be comprehensively considered in classification.

Key words: *Primula*, Tibet, pollen morphology, clustering analysis, palynology

报春花与杜鹃、龙胆并称为“三大高山花卉”(王睿, 2016), 因其花色丰富、花期多样, 具有极高的观赏价值, 而被广泛应用于园林造景及人工栽培(周琳等, 2020)。丰富的种质资源是良种选育的物质基础。我国的报春花属(*Primula*)植物种类繁多, 约有 300 种(Hu & Sylvania, 1996), 占全世界总数的 60%, 资源分布量巨大。其中, 云南、四川及西藏东南部等高山地区为我国报春花属植物资源的分布与多样化中心(刘淑娟, 2014; 吴兴, 2017; 黎昌汉, 2017)。然而, 国内现阶段对该属植物资源的研究和利用尚显欠缺, 亟须加强对我国报春花属植物资源的调查研究, 以充分发掘资源优势, 为种质资源的开发利用及新品种培育奠定基础。

与植物的茎、叶等器官的表型特征相比, 花粉形态具有较强的遗传保守性, 在植物系统分类、遗传多样性等方面具有积极的参考价值(王盼盼等, 2016)。报春花属植物的孢粉学特征可为种间及组间等分类阶元的区分提供重要参考。Anderberg 等(2000)对倒卵叶报春组(Sect. *Carolinella*)的 7 种植物研究认为, 其在花粉形态特别是萌发孔的数量与分布上存在显著的种间差异, 组内花粉形态多样性丰富。报春花属植物多数具有花柱二型性, 而长、短花柱类型的花粉在形态特征上会存在一定差异, 如黄花九轮草(*P. veris*)的不同花柱类型花粉在花粉大小、萌发沟数量等方面存在一定差异(Halbritter et al., 2018)。目前, 国内对报春花属花粉形态的研究尚少, 且主要集中于不同居群或花柱类型的花粉形态差异、毛茛叶报春组(Sect. *Ranunculoides*)的孢粉学分类意义等方面。徐丛云(2019)对安徽羽叶报春(*Primula merrilliana*) 32 个居群的花粉研究发

现, 该种存在多沟型与散孔型两种花粉, 推测其可能为包含 2 个(及以上)物种的复合体。对胭脂花(*P. maximowiczii*)的 7 个居群进行孢粉学研究表明, 由于长花柱类型的花粉性状平均变异系数较小, 因此比短花柱植株的性状更为稳定(边晓萌等, 2016)。现有研究对报春花属植物不同种间的孢粉学特征涉及较少, 且缺乏对本属植物不同种类花粉形态的详细数据。

西藏是我国报春花资源的主要分布地之一, 约有 115 种(郑维列, 1992), 许多为当地特有种(Hu & Sylvania, 1996)。但目前, 对西藏报春花属植物的研究、保护及利用相对不足(郑维列, 1992; 张杰等, 2017; 刘林等, 2018)。色季拉山地处藏东南半湿润区与湿润区的过渡地带, 海拔 2 100~5 200 m, 垂直落差大, 蕴藏着丰富的植物资源。报春花属植物在该区域有 12 种及变种, 主要分布于海拔 3 000 m 以上地带(郑维列, 1992), 其中不少为当地特有种。

该研究以西藏色季拉山为研究区域, 依托该地区丰富的特色报春花属植物资源, 调查和收集了 10 种报春花粉, 采用扫描电镜技术, 通过观测、比较不同种类的花粉形态特征, 并分析其亲缘关系, 拟探讨以下问题: (1) 通过研究供试 10 种报春花粉形态特征分析该区域的报春花粉与其他地区同属或同组植物在花粉形态上的异同; (2) 孢粉学特征在报春花属植物分类和系统演化方面的指导意义。

1 材料与方 法

1.1 材料

10 种报春花属植物的花粉于 2017 年 4—6

月在色季拉山采集,其鉴定参考 Hu 和 Sylvia (1996) 的分类方法,供试 10 种报春具体信息见表 1。对每种报春分别从 5 个单株上采集成熟且

尚未散开的新鲜花药,置于戊二醛保存液低温保存,送西北农林科技大学电镜室扫描供试 10 种报春花粉,拍照。

表 1 供试材料的基本信息

Table 1 The essential informations of the experimental materials

编号及种名 Number and species name	组 Sect.	采集地点 Sampling site		花期 Flowering time
		经度和纬度 Latitude and longitude	海拔 Elevation (m)	
1. 宽裂掌叶报春 <i>P. latisecta</i>	指叶报春组 Sect. <i>Cortusoides</i>	94°44'16.1" E, 29°49'7.9" N	3 171	5—6 月 May to June
2. 暗紫脆蒴报春 <i>P. calderiana</i>	脆蒴报春组 Sect. <i>Petiolares</i>	94°40'0.2" E, 29°37'13" N	4 469	4 月中—6 月 Mid April to June
3. 中甸灯台报春 <i>P. chungensis</i>	灯台报春组 Sect. <i>Proliferae</i>	94°44'12.3" E, 29°49'15.8" N	3 103	5 月—7 月初 May to early July
4. 杂色钟报春 <i>P. alpicola</i>	钟花报春组 Sect. <i>Sikkimensis</i>	94°44'18.0" E, 29°49'9.8" N	3 156	5—7 月 May to July
5. 巨伞钟报春 <i>P. florindae</i>	钟花报春组 Sect. <i>Sikkimensis</i>	94°43'03.1" E, 29°40'15.1" N	3 740	6 月中—7 月 Mid June to July
6. 林芝报春 <i>P. ninguida</i>	雪山报春组 Sect. <i>Crystallophlomis</i>	94°40'0.2" E, 29°37'13" N	4 469	5—6 月 May to June
7. 折瓣雪山报春 <i>P. advena</i>	雪山报春组 Sect. <i>Crystallophlomis</i>	94°42'06.1" E, 29°37'04.5" N	4 261	6 月中—7 月 Mid June to July
8. 西藏报春 <i>P. tibetica</i>	粉报春组 Sect. <i>Aleuritia</i>	94°43'44.1" E, 29°42'05.6" N	3 507	5—6 月 May to June
9. 工布报春 <i>P. kongboensis</i>	粉报春组 Sect. <i>Aleuritia</i>	94°37'56.3" E, 29°39'24.1" N	4 398	5—6 月 May to June
10. 白心球花报春 <i>P. atrodentata</i>	球花报春组 Sect. <i>Denticulata</i>	94°42'06.1" E, 29°37'04.5" N	4 261	4 月中—6 月初 Mid April to early June

1.2 方法

将置入戊二醛溶液的花粉用 pH 值 6.8、浓度 0.1 mol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液漂洗 5 次,每次 10 min;依次用 30%、50%、70%、80%、90% 浓度的乙醇脱水 1 次,每次 15 min;100% 浓度乙醇脱水 3 次,每次 30 min;乙酸异戊酯置换 2 次,每次 20 min;将花粉紧密包裹于滤纸中用 CO₂ 临界点干燥仪干燥。

用导电胶带将处理后的花粉固定于样品台上,利用离子溅射仪喷金、扫描电镜(S-4800)观察、拍照。

测定供试花粉的极轴长(P)、赤道轴长(E)、萌发孔宽、网眼大小、网脊宽等数量指标,每种的样本量为 20 粒。花粉粒形状以 P/E 值表示,表面纹饰的描述参考王伏雄等(1995)。

1.3 数据统计和分析

采用 SPSS 22 软件进行多重比较与聚类分析。依据 P/E、萌发孔宽、萌发沟数量、网眼宽、网脊

宽、网眼宽/网脊宽 6 个数量指标,结合复合沟有无,将数据标准化处理后参考荆玲侠等(2020)的方法,采用组间连接与欧氏距离法对供试材料进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 花粉粒大小及形状

供试 10 种报春中,宽裂掌叶报春、巨伞钟报春、林芝报春、工布报春和折瓣雪山报春 5 种据记载为西藏特有种,而中甸灯台报春是我国特有种。对 10 种报春花属植物的花粉形态进行观察,结果见图 1、图 2 和表 2。供试花粉均为单粒花粉,花粉粒较小,且不同种间的花粉粒大小存在显著差异。其中,工布报春的花粉粒最小,平均极轴和赤道轴长分别为 7.07 μm × 8.32 μm;暗紫脆蒴报春的花粉粒最大,为 16.41 μm × 22.43 μm。

花粉形状以 P/E 比值表示, P/E 在 0.88 ~ 1.14 之间, 为近球形, 0.50 ~ 0.88 为扁球形(王开发和王宪曾, 1983)。供试 10 种报春中, 中甸灯台报春与西藏报春的 P/E 值相对较大, 花粉粒外观为近球形; 其余 8 种报春的 P/E 值均在 0.50 ~ 0.88 之间, 为扁球形, 其中暗紫脆蒴报春和杂色钟报春的 P/E 值最小, 仅为 0.73。10 种报春单粒花粉极面观多为钝三角形或近圆形, 赤道面观多为扁球形、近球形。

2.2 花粉萌发沟

供试花粉的萌发孔类型可分为 3 孔沟型与多沟型两大类。其中, 西藏报春为多沟型花粉, 一般具 6 沟。由于其余 9 种花粉均为 3 孔沟型, 且大部分花粉(中甸灯台报春除外)的 3 沟均在极区汇合, 形成复合沟(图 1, 图 2), 因此对萌发沟长度的观测较为困难, 未进行测量。萌发沟的宽度与花粉大小存在一定的一致性, 仍以暗紫脆蒴报春的萌发沟最宽(3.50 μm), 工布报春和西藏报春最窄, 分别为 0.49、0.53 μm 。

此外, 杂色钟报春、巨伞报春、林芝报春和白心球花报春 4 种报春在电子显微镜下都捕捉到极少量的具 4 沟的花粉存在(图 2)。由于捕捉到的 4 沟花粉粒数量有限, 因此其具体特点有待后续研究。

2.3 花粉纹饰形态特征

供试 10 种报春花花粉粒外壁纹饰为网状、穴状, 网眼形状呈现为圆形、椭圆形及不规则形状(表 2)。不同种间及同一种花粉粒外壁网眼大小不一, 西藏报春网眼(0.82 μm)最大, 白心球花报春(0.10 μm)最小, 二者相差 0.72 μm 。10 种报春的网脊宽不同, 最大的西藏报春网脊宽为 0.33 μm , 杂色钟报春、巨伞钟报春及白心球花报春网脊宽相对较小, 分别为 0.14、0.15、0.15 μm , 最大与最小网脊宽之间仅相差 0.19 μm 。因此认为, 与网脊宽相比, 报春花花粉的网眼宽度在种间区别更明显。

2.4 基于花粉性状的聚类分析

由聚类分析(图 3)可知, 在辅助线 1(距离 3.5)处, 钟花报春组的杂色钟报春与巨伞钟报春花的大部分性状较为接近, 首先聚合, 表明二者亲缘关系较近; 雪山报春组的林芝报春、折瓣雪山报春与指叶报春组的宽裂掌叶报春聚合; 分属粉报春组与球花报春组的工布报春与白心球花报春

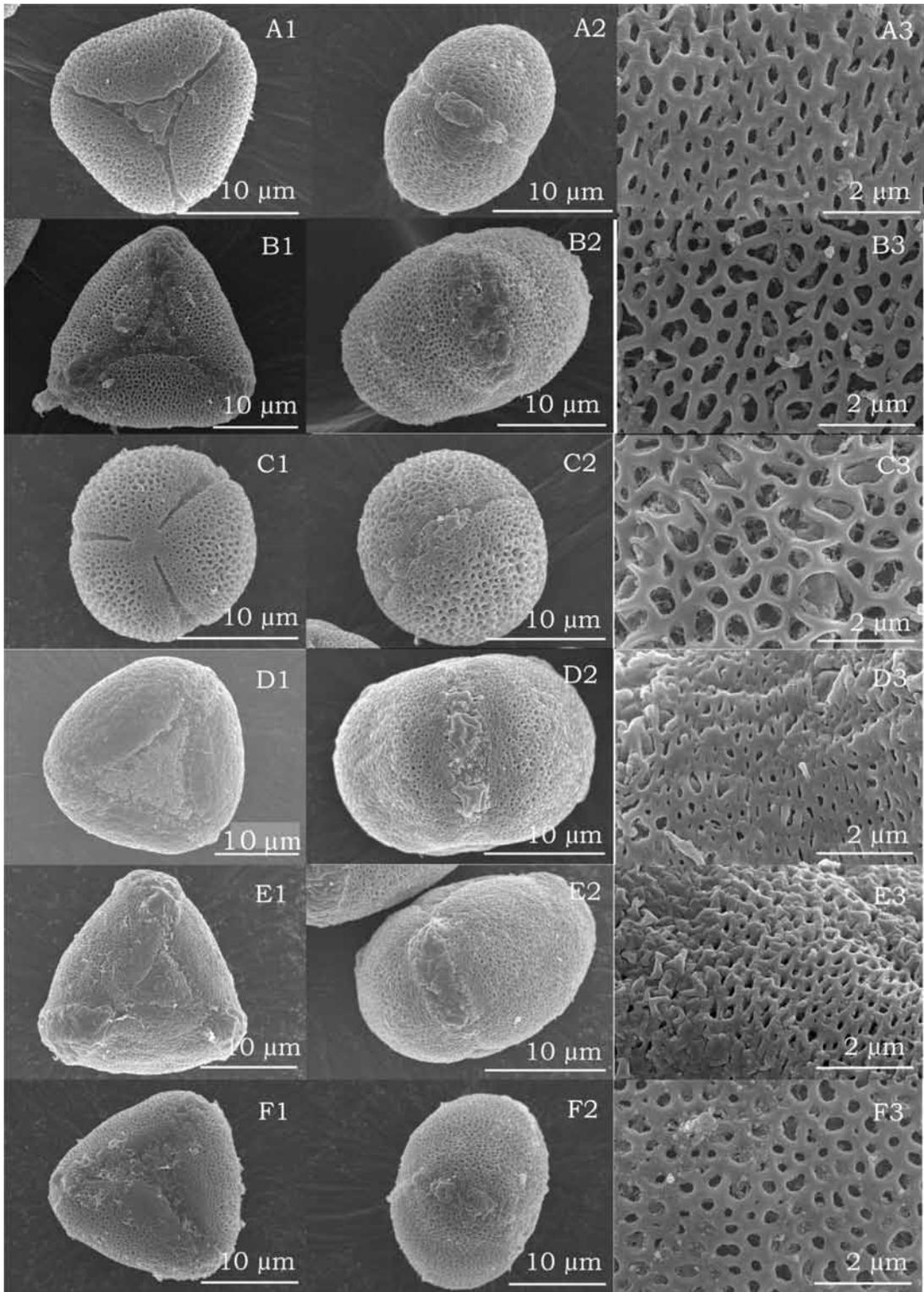
聚在一处。辅助线 2(遗传距离约 14.0)将供试材料分为 2 个类群, 其中粉报春组的西藏报春由于 P/E 值、网眼宽、网脊宽和网眼宽/网脊宽较大, 萌发沟数量多、萌发沟较窄、无复合沟等特点, 单独聚为一类; 而另一类群中, 虽然中甸灯台报春具备 P/E 值、网眼宽及网眼宽/网脊宽较大, 无复合沟等与西藏报春花特征上的相似性, 但二者却未在辅助线 2 处聚在一起, 而与另外 8 种报春聚为一类, 表明二者之间萌发沟类型上的差异可能在聚类分析中起到更为重要的作用。

3 讨论

3.1 西藏 10 种报春花属植物孢粉学特征

报春花属植物的花粉一般以单粒形式存在, 为扁球形、近球形至长球形。总体来看, 10 种报春花的花粉粒大小存在一定差异, 其中大部分花粉大小在 10 ~ 25 μm 之间, 属于小型花粉(王开发和王宪曾, 1983)。而工布报春因极轴与赤道轴长均小于 10 μm , 为极小型花粉。供试报春在不同种间的花粉大小均有所差异, 但并未表现出组间的区别, 这可能与供试种类的数量较少有一定关系。加之, 考虑到花柱二型性对花粉大小的影响(刘小梅等, 2015; 边晓萌等, 2016), 花粉大小可能不宜作为组间或种间划分的依据。

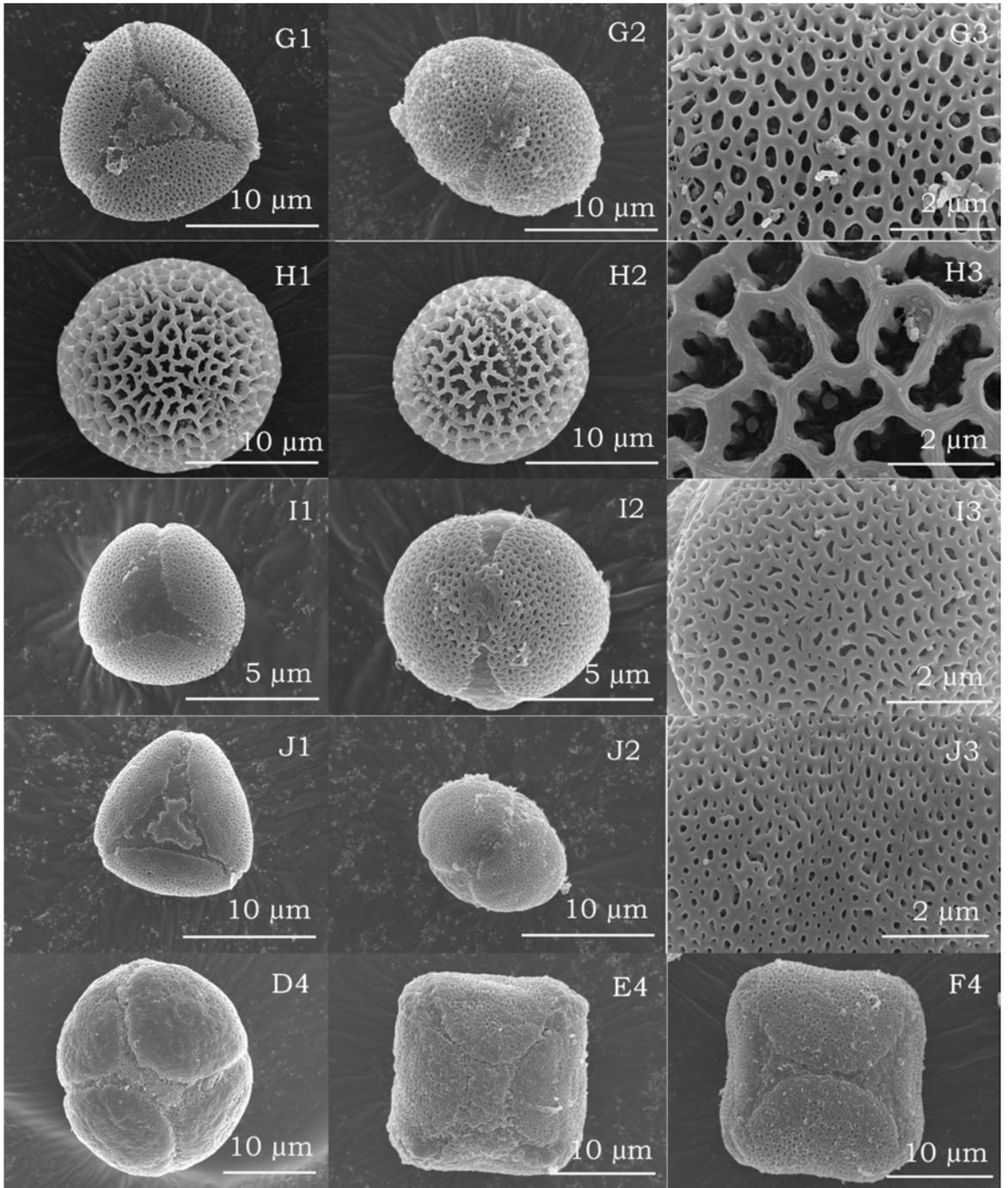
从花粉萌发沟类型来看, 报春花属大部分种类具 3 沟或 3 孔沟, 有少部分报春花为多沟或散孔型花粉(Chen, 2009; 徐丛云, 2019)。除西藏报春外, 供试报春一般为 3 萌发孔沟, 且大部分种类的花粉萌发沟在极区汇合, 形成复合沟, 这一研究结果与前人研究结论相一致, 故该区域的研究结果可以为本属植物的分类提供参考。西藏报春的花粉由于萌发沟为多沟型, 且网眼大小、网眼宽/网脊宽比值均较大, 外壁纹饰为粗网状等特点, 因此与其余 9 种报春尤其是同为粉报春组的工布报春均存在较大差异, 表明粉报春组花粉形态可能存在丰富的多样性。目前, 已知多沟型花粉主要发现于报春花属的倒卵叶报春组、藏报春组、毛茛叶报春组和 Sect. *Armerina* 等 5 个组(Anderberg et al., 2000; Shao et al., 2012), 而欧洲、北美将西藏报春归为 Sect. *Armerina*(Hu & Sylvia, 1996), 这间接印证了西藏报春为多沟型花粉的结论。



A(A1-A3). 宽裂掌叶报春; B(B1-B3). 暗紫脆蒴报春; C(C1-C3). 中甸灯台报春; D(D1-D3). 杂色钟报春; E(E1-E3). 巨伞钟报春; F(F1-F3). 林芝报春。1 和 2 分别为花粉粒极面观和赤道面观, 3 为花粉表面纹饰。下同。

A(A1-A3). *P. latisecta*; B(B1-B3). *P. calderiana*; C(C1-C3). *P. chungensis*; D(D1-D3). *P. alpicola*; E(E1-E3). *P. florindae*; F(F1-F3). *P. ninguida*. 1 and 2 represent the polar and equatorial view of pollen grains respectively, 3 represents the pollen exine sculpture. The same below.

图 1 6 种报春花属植物花粉形态的电镜观察
Fig. 1 Pollen morphology of six *Primula* species by SEM



G(G1-G3). 折瓣雪山报春; **H(H1-H3)**. 西藏报春; **I(I1-I3)**. 工布报春; **J(J1-J3)**. 白心球花报春。**4**为3种报春的4孔沟花粉极面观。

G(G1-G3). *P. advena*; **H(H1-H3)**. *P. tibetica*; **I(I1-I3)**. *P. kongboensis*; **J(J1-J3)**. *P. atrodentata*. **4** represents stephanocolpate pollen of three *Primula* species.

图2 7种报春花属植物花粉形态的电镜观察
Fig. 2 Pollen morphology of seven *Primula* species by SEM

根据花粉外壁纹饰类型,可将观察的报春花属植物归纳为穴状和网状两种类型,网状纹饰又

分为细网与粗网状两种情况。其中,杂色钟报春、工布报春与白心球花报春为穴状纹饰,其余为网

表 2 10 种报春花属植物的花粉形态特征
Table 2 Pollen morphological characters of 10 *Primula* species

编号及种名 Number and species	极轴 Polar axis (μm)		赤道轴 Equatorial axis (μm)		P/E	萌发孔宽 Colporate width (μm)		网眼宽 Mesh width (μm)		网脊宽 Ridge width (μm)		纹饰 Exine ornamentation
	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>Cv</i> (%)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>Cv</i> (%)		$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>Cv</i> (%)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>Cv</i> (%)	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	<i>Cv</i> (%)	
	1. 宽裂掌叶报春 <i>P. latisecta</i>	12.51± 0.16d	4.62	16.96± 0.43d		9.75	0.74	1.87± 0.08d	20.09	0.22± 0.02d	35.25	
2. 暗紫脆蒴报春 <i>P. calderiana</i>	16.41± 0.15a	3.35	22.43± 0.41a	6.58	0.73	3.50± 0.19a	25.17	0.33± 0.02c	27.65	0.24± 0.01b	14.80	网状 Reticulate
3. 中甸灯台报春 <i>P. chungensis</i>	14.82± 0.24c	4.82	16.22± 0.21d	3.81	0.91	1.96± 0.08cd	16.00	0.40± 0.04b	35.06	0.20± 0.01cd	19.53	粗网状 Coarsely reticulate
4. 杂色钟报春 <i>P. alpicola</i>	15.15± 0.69c	14.46	20.70± 0.36b	7.83	0.73	3.43± 0.32ab	29.60	0.11± 0.01f	32.55	0.14± 0.002f	5.85	穴状 Foveolate
5. 巨伞钟报春 <i>P. florindae</i>	15.40± 0.16bc	3.60	20.66± 0.18b	3.56	0.75	3.05± 0.17b	20.47	0.15± 0.01ef	23.13	0.15± 0.01f	18.75	网状 Reticulate
6. 林芝报春 <i>P. ninguida</i>	14.83± 0.13c	2.82	19.42± 0.34c	5.74	0.76	2.34± 0.12c	18.36	0.21± 0.02de	33.53	0.20± 0.01cd	15.68	网状 Reticulate
7. 折瓣雪山报春 <i>P. advena</i>	11.29± 0.16e	5.22	14.52± 0.19e	4.75	0.78	1.85± 0.07d	13.85	0.23± 0.02d	35.42	0.18± 0.01de	16.50	网状 Reticulate
8. 西藏报春 <i>P. tibetica</i>	15.91± 0.18ab	4.48	16.24± 0.40d	6.10	0.98	0.53± 0.03f	16.08	0.82± 0.04a	17.60	0.33± 0.02a	18.79	粗网状 Coarsely reticulate
9. 工布报春 <i>P. kongboensis</i>	7.07± 0.05g	2.91	8.32± 0.16g	7.72	0.85	0.49± 0.06f	39.47	0.15± 0.01ef	19.99	0.16± 0.01ef	13.20	穴状 Foveolate
10. 白心球花报春 <i>P. atrodentata</i>	9.22± 0.11f	5.13	11.77± 0.10f	4.14	0.78	1.35± 0.06e	25.02	0.10± 0.01f	25.92	0.15± 0.01f	21.06	穴状 Foveolate

注：同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different small letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

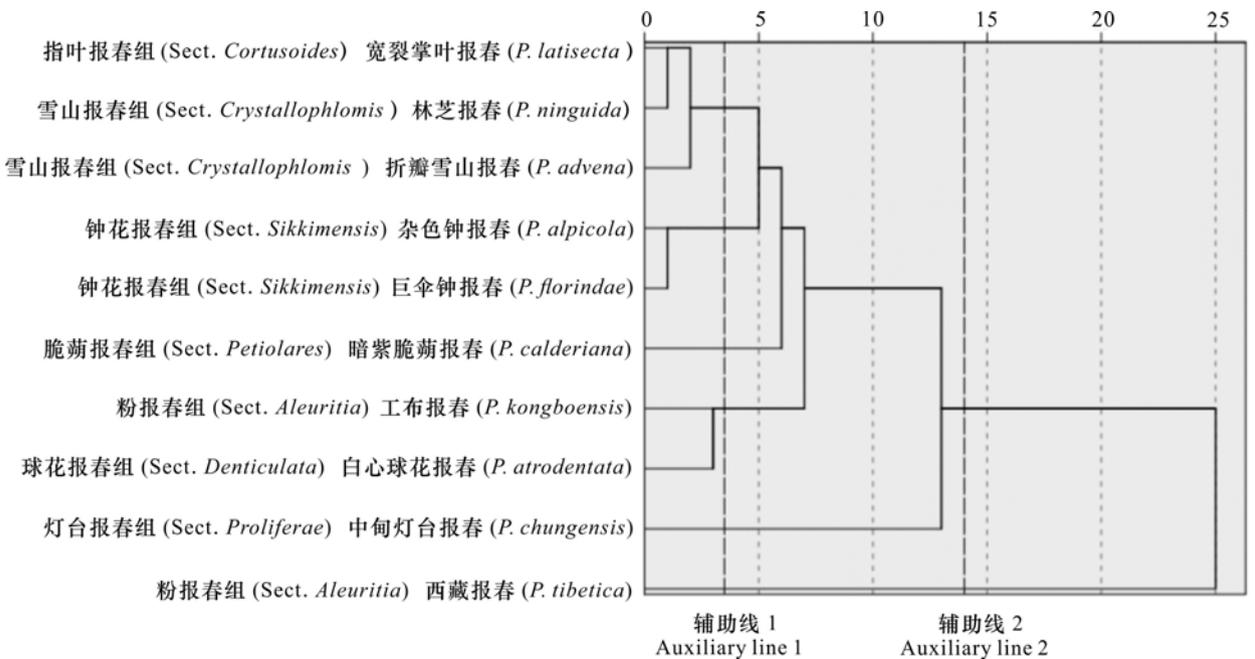


图 3 10 种报春花属植物花粉形态特征聚类图

Fig. 3 Clustering analysis of pollen morphological characteristics in 10 *Primula* species

状纹饰;网状纹饰中只有西藏报春和中甸灯台报春为粗网状类型。前人研究认为,花粉的外壁纹饰呈现出由简单平滑向复杂类型演化的趋势(Walker, 1974)。与外壁纹饰无穿孔的花粉相比,具穿孔的较进化,穿孔直径与网脊宽度比值大的花粉进化程度更高。袁涛和王莲英(1999)研究认为,野生牡丹的花粉表面纹饰演化顺序大致为小穴状—穴状—网状—粗网状 4 个阶段。这一观点是否适用于报春属植物尚有待于验证。但是,若据此推测,西藏报春、中甸灯台报春则相对较为进化,杂色钟报春、工布报春与白心球花报春较为原始。而从萌发孔的演化顺序来看,一般认为先由 3 沟到多沟、散沟型,再向散孔型演化(M. 温坎坡和郑卓, 1990;徐丛云, 2019)。由此可初步推断,多沟型的西藏报春花可能是相对较为进化的一种类型,但准确的结论仍需进一步深入研究其系统发育才能得出。

3.2 花粉形态对研究报春花分类的意义

基于花粉形态的聚类分析与供试报春的植物学形态分类表现出一定的一致性。其中,钟花报春组的杂色钟报春与巨伞钟报春花粉亲缘关系较近。雪山报春组的林芝报春、折瓣雪山报春虽然具有较近的亲缘关系,但与指叶报春组的宽裂掌叶报春未区分开。同属粉报春组的工布报春和西藏报春则由于在孢粉学特征上的明显差异,因此保持了相对较远的亲缘关系,这与粉报春组较为庞杂,可能不是自然类群的观点类似(黎昌汉, 2017)。

一般认为,花粉的形态结构在属、种间具有一定的保守性,可为植物分类及亲缘关系分析提供重要佐证。但需要注意的是,花粉的部分形态特征易受居群、个体及地理环境等因素影响(顾欣和张延龙, 2013),具有其复杂性。因此,在利用孢粉学特征进行分类时,主要指标的选取往往十分关键。张硕等(2014)认为萌发沟的数量在凤仙花种内缺乏稳定性,不宜作为该属植物的分类依据。虽然也有研究表明,受花柱二型性、地理环境等因素影响,报春花的花粉形态在同一物种内可能存在一定程度的变异,但其主要与花粉大小、外壁纹饰等有关(刘小梅等, 2015;边晓萌等, 2016)。相对而言,报春花属的萌发孔类型较为保守(刘小梅等, 2015),这与凤仙花属的研究恰恰相反,可能与不同属的具体情况有关。

总之,供试 10 种报春花属植物的孢粉学特征

存在一定的种间差异,对植物学分类有积极的参考价值,但植物分类是一门非常复杂的学科,分类过程中仍需结合形态学特征、分子生物学等多方面综合考虑。

参考文献:

- ANDERBERG AA, EL-GHAZALY G, 2000. Pollen morphology in *Primula* sect. *Carolinella* (Primulaceae) and its taxonomic implications [J]. *Nord J Bot*, 20(1): 5-14.
- BIAN XM, MU HL, MA YL, et al., 2016. Pollen morphology of natural *Primula maximowiczii* populations [J]. *J Plant Genet Resour*, 17(2): 257-265. [边晓萌, 穆绘莉, 马玉磊, 等, 2016. 胭脂花野生居群花粉形态多样性研究 [J]. *植物遗传资源学报*, 17(2): 257-265.]
- CHEN ML, 2009. Comparative reproductive biology of *Primula merrilliana* Schltr. and *P. cicutariifolia* Pax [J]. *Plant Syst Evol*, 278(1/2): 23-32.
- GU X, ZHANG YL, 2013. Pollen morphology observation of five wild and seven cultivated lily species [J]. *J NW A & F Univ (Nat Sci Ed)*, 41(7): 195-200. [顾欣, 张延龙, 2013. 百合属 5 个野生种及 7 个栽培品种花粉形态的观察 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 41(7): 195-200.]
- HALBRITTER H, SILVIA U, GRIMSSON F, et al., 2018. Illustrated pollen terminology [M]. Cham: Springer International Publishing: 37-65.
- HU CM, SYLVIA K, 1996. Primulaceae [M]//WU ZY, RAVEN PH, HONG DY. *Flora of China*. Beijing: Science Press, 15: 39-189.
- JING LX, BU CY, LI CN, et al., 2020. Genetic diversity of phenotypic traits in 25 *Jasminum* germplasm resources [J]. *Chin J Trop Crop*, 41(9): 1762-1769. [荆玲侠, 卜朝阳, 李春牛, 等, 2020. 25 份素馨属种质资源的表型性状遗传多样性研究 [J]. *热带作物学报*, 41(9): 1762-1769.]
- LI CH, 2017. Phylogeny and evolution of *Primula* section *Sikkimensis* (Primulaceae) [D]. Guangzhou: South China Agricultural University: 1-4. [黎昌汉, 2017. 报春花属钟花报春组的系统进化研究 [D]. 广州: 华南农业大学: 1-4.]
- LIU L, ZHANG LY, DU H, et al., 2018. Effects of temperature, light and GA₃ on seed germination of 3 *Primula* species [J]. *Seed*, 37(11): 8-10. [刘林, 张良英, 杜欢, 等, 2018. 温度、光照与 GA₃ 对西藏 3 种报春花种子萌发的影响 [J]. *种子*, 37(11): 8-10.]
- LIU SJ, 2014. A study of adaptive significance of distyly in *Primula* species [D]. Wuhan: Wuhan University: 13-

15. [刘淑娟, 2014. 报春花属植物二型花柱的适应意义研究 [D]. 武汉: 武汉大学: 13-15.]
- LIU XM, LIU YY, XIE F, et al., 2015. Intraspecific variability of pollen morphology of asuspicious species in the sect. *Ranunculoides* [J]. *Bull Bot Res*, 35(4): 494-498. [刘小梅, 刘云云, 谢菲, 等, 2015. 毛茛叶报春组一存疑种花粉形态的多样性研究 [J]. *植物研究*, 35(4): 494-498.]
- MADELEINE VC, ZHENG Z, 1990. Series of pollen morphology and phylogeny of angiosperms [J]. *Acta Phytotax Sin*, 28(2): 103-111. [M. 温坎坡, 郑卓, 1990. 被子植物的花粉形态系列与系统发育 [J]. *植物分类学报*, 28(2): 103-111.]
- SHAO JW, WU YF, KAN XZ, et al., 2012. Reappraisal of *Primula ranunculoides* (Primulaceae), an endangered species endemic to China, based on morphological, molecular genetic and reproductive characters [J]. *Bot J Linn Soc*, 169(2): 338-349.
- WALKER JW, 1974. Evolution of exine structure in the pollen of primitive angiosperms [J]. *Am J Bot*, 61(8): 891-902.
- WANG FX, QIAN NF, ZHANG YL, et al., 1995. Pollen flora of China [M]. Beijing: Science Press: 1-35. [王伏雄, 钱南芬, 张玉龙, 等, 1995. 中国植物花粉形态 [M]. 北京: 科学出版社: 1-35.]
- WANG KF, WANG XZ, 1983. Palynology introduction [M]. Beijing: Peking University Press: 59-71. [王开发, 王宪曾, 1983. 孢粉学概论 [M]. 北京: 北京大学出版社: 59-71.]
- WANG PP, TURSUNGURI-TOHTI, HUANG JH, 2016. Pollen morphology of three species of *Elaeagnus* in Xinjiang and its taxonomic significance [J]. *Guihaia*, 36(6): 663-673. [王盼盼, 吐尔逊古丽·托乎提, 黄俊华, 2016. 新疆胡颓子属三种植物的花粉形态及其分类学意义 [J]. *广西植物*, 36(6): 663-673.]
- WANG R, 2016. Four kinds of *Primula* introduction and domestication [D]. Yangling: Northwest A & F University: 1-3. [王睿, 2016. 四种报春花的引种与驯化 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学: 1-3.]
- WU X, 2017. Germplasm resources and cytology of the genus *Primula* (Primulaceae) from China [D]. Guangzhou: South China Agricultural University: 1-6. [吴兴, 2017. 国产报春花属(报春花科)种质资源及细胞学研究 [D]. 广州: 华南农业大学: 1-6.]
- XU CY, 2019. Pollen morphological variation and its systematic taxonomic significance of sect. *Ranunculoides* in *Primula* L. [D]. Wuhu: Anhui Normal University: 37-39. [徐丛云, 2019. 报春花属(*Primula* L.)毛茛叶报春组花粉形态变异及其系统分类学意义 [D]. 芜湖: 安徽师范大学: 37-39.]
- YUAN T, WANG LY, 1999. Pollen morphology of several tree peony wild species and discussion on its evolution and taxonomy [J]. *J Beijing For Univ*, 21(1): 17-21. [袁涛, 王莲英, 1999. 几个牡丹野生种的花粉形态及其演化、分类的探讨 [J]. *北京林业大学学报*, 21(1): 17-21.]
- ZHANG J, JIANG XF, CHEN LL, et al., 2017. Altitudinal variations of the reproductive strategies of *Primula florindae* [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 37(7): 1404-1413. [张杰, 蒋显锋, 陈玲玲, 等, 2017. 巨伞钟报春繁殖策略随海拔梯度的变异 [J]. *西北植物学报*, 37(7): 1404-1413.]
- ZHANG S, GAO SP, ZHANG X, et al., 2014. Pollen morphology and its relationship to taxonomy of 13 species in the *Impatiens* (Balsaminaceae) from Ya'an of Sichuan, China [J]. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 34(3): 502-508. [张硕, 高素萍, 张雪, 等, 2014. 四川雅安地区 13 种凤仙花属植物花粉形态及其分类学意义 [J]. *西北植物学报*, 34(3): 502-508.]
- ZHENG WL, 1992. The germplasm resources and the habitat type of primroses on Sherjila Mountain in Tibet [J]. *Acta Horti Sin*, 19(3): 261-266. [郑维列, 1992. 西藏色季拉山报春花种质资源及其生境类型 [J]. *园艺学报*, 19(3): 261-266.]
- ZHOU L, YANG LY, ZHANG YC, et al., 2020. Genetic diversity analysis of 38 European primrose (*Primula vulgaris*) germplasm resources based on SSR markers [J]. *Mol Plant Breed*, 18(14): 4812-4820. [周琳, 杨柳燕, 张永春, 等, 2020. 基于 SSR 标记的 38 份欧洲报春种质资源遗传多样性分析 [J]. *分子植物育种*, 18(14): 4812-4820.]

(责任编辑 蒋巧媛)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202203021

焦贝贝, 王希胤. 基于 K_s 分布的被子植物演化的时间尺度研究 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1684–1693.JIAO BB, WANG XY. Timescale of angiosperm evolution based on K_s distribution [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1684–1693.

基于 K_s 分布的被子植物演化的时间尺度研究

焦贝贝, 王希胤*

(华北理工大学 生命科学学院, 河北 唐山 063210)

摘要: 物种演化时间估算是生命演化研究的重要部分。近年来,许多研究发现由于不同基因和不同物种的进化速率差异显著,因此需要新的方法对进化事件发生时间进行重新估计。为了对被子植物演化时间的重新估计,该研究基于共享多倍化事件或共享分歧事件应该有共同同义突变率(K_s)峰值的理念,建立了基于基因组数据的进化速率校正模型。结果表明:(1)对获取 K_s 分布三种常见方式进行比较分析,明确了通过提取共线性区块上 K_s 值的中位数的方式最优。(2)模拟了 K_s 值随时间累积系数(v)变化过程下的 K_s 分布,当假设 v 服从正态分布时, K_s 分布出现了长尾现象。(3)将校正方法应用到被子植物中,发现不同谱系的被子植物具有同步的辐射进化和适应性进化现象。并且,被子植物的进化速率虽然差异显著,但不同分支间的进化速率仍具有部分一致性,如木兰类植物进化速率最慢,真双子叶植物次之,单子叶植物进化速率最快。最终得到了相对可靠的物种同义突变率演化时间轴,为植物研究提供了系统发育和演化的支撑。

关键词: 同义突变率(K_s)分布, 被子植物, 时间校正, 系统发育树, 进化速率

中图分类号: Q941 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)10-1684-10

Timescale of angiosperm evolution based on K_s distribution

JIAO Beibei, WANG Xiying*

(College of Life Sciences, North China University of Science and Technology, Tangshan 063210, Hebei, China)

Abstract: Estimating the time scale of species evolution is an important part of life evolution study. It is found that there are significant differences in the evolution rates of different genes and species in recent years, which challenges the molecular clock hypothesis to a great extent. Therefore, new methods are needed to re-estimate the evolutionary event time. The whole genome sequence of angiosperms makes it possible to estimate the evolutionary time from the whole genome perspective. In order to re-estimate the evolution time of angiosperms, an evolution rate correction model based on genomic data is established according to the idea that shared polyploidy events or shared divergence events should have the same K_s peak. The results were as follows: (1) Three common ways to obtain K_s distribution were compared and analyzed, which showed that the best way was to extract the median of K_s values on collinear blocks. (2) The change process of K_s distribution was simulated with time accumulation coefficient (v) of K_s values. When v was

收稿日期: 2022-04-17

基金项目: 国家自然科学基金(32070669) [Supported by National Natural Science Foundation of China(32070669)]。

第一作者: 焦贝贝(1992-), 硕士研究生, 主要从事比较基因组学研究, (E-mail) jiaobeibei0126@gmail.com。

*通信作者: 王希胤, 博士, 教授, 主要从事比较基因组学研究, (E-mail) wangxiyin@vip.sina.com。

assumed to obey the normal distribution, the K_s distribution had a long tail phenomenon. (3) The correction process was described in detail, which was conducive to the understanding and wide spread of this method. From the application of correction method in angiosperms, it was found that the K_s peak before correction was not linear with time, while the K_s peak after correction was directly proportional to time, indicating that it is very necessary to estimate the time of species evolution events after correcting the K_s peak. It was also found that although the evolution rate of angiosperms was significantly different, the evolution rate between different branches was still partially consistent. For example, Magnoliids had the slowest evolutionary rate, followed by Eudicots and Monocots. When the environment changed greatly, most species of different lineages of angiosperms had synchronous radial evolution and adaptive evolution. Finally, a relatively reliable angiosperm evolution time axis was established, which helps to understand the evolution process and model, especially to understand the phylogenetic relationship and the causes of diversity and provides phylogenetic and evolutionary support for plant research.

Key words: K_s distribution, angiosperms, time correction, phylogenetic tree, evolutionary rate

被子植物的起源和早期快速演化及其发生时间一直是生物学的研究热点。当前估算物种演化时间的方法主要是基于分子钟假设,即以某几个特定类群的化石时间作为校正点,然后通过部分基因序列间的相似性,假设不同的物种拥有相同或相近的进化速率,来估算系统发育树上某一节点的时间,从而推断出该类群的起源时间(唐先华等, 2002; Donoghue & Yang, 2016; Luo et al., 2020)。然而,近年的研究表明,不同物种的分子钟通常具有显著差异,即不同物种的进化速率有显著不同(Wang et al., 2017; 2019),不同年代具有不同的进化速度(罗静和张亚平, 2000; Smith & Donoghue, 2008),且在不同研究中,对分子进化速率的估算有很大的差异(Lanfear et al., 2010)。此外,引入的化石时间对估算的时间影响很大,随着更多化石且更准确的年份测定,被子植物演化的时间尺度会随之变动(Hug & Roger, 2007; Wang et al., 2015; Silvestro et al., 2021)。

基因组测序揭示了历史上反复的多倍化事件(Ren et al., 2018),多倍化事件使基因组内所有基因发生重复,且基因组中的古老同源区域通常有相当数目的重复基因保留下来,从而形成目前基因组内或者基因组间的共线性同源基因(Jiao et al., 2011)。对共线性同源基因的分析,是揭示古代的多倍化或物种分歧事件并推定其发生时间和规模的重要途径。多倍化发生后植物基因组通常会变得很不稳定,进化速率也变得显著不同。由于减少了选择性约束,因此这些重复基因通常以更快的速度进化(Wang et al., 2016)。例如,在葫

芦科植物基因组的研究中发现,甜瓜的进化速度最慢,西瓜和黄瓜的进化速度分别快 23.6% 和 27.4%(Wang et al., 2018)。

一般认为,同义突变率(synonymous substitution rate, K_s)往往不会改变氨基酸的组成,不受自然选择的影响。因此, K_s 分布常常作为判定物种历史上发生的多倍化或物种分歧事件的依据(Vanneste et al., 2013)。依据共享的演化事件应该有相同的 K_s 峰值,Wang 等(2015)首次提出了基于 K_s 峰值的矫正方法用以估算物种演化的时间尺度,得到了其他科研工作者的认可,还被广泛应用于他们的研究中(Zhuang et al., 2019; Song et al., 2020; Song et al., 2021; Wang et al., 2021)。例如,两个团队分别对睡莲(Zhang et al., 2020a)和芡实(Yang et al., 2020)基因组分析,Yang 等(2020)通过 K_s 峰值矫正的方式估算的芡实古老多倍化(被证实为睡莲目共享)与另外的团队基于睡莲目的转录组数据估算的时间尺度基本一致。基于 K_s 峰值的矫正方法中,获得准确的 K_s 峰是准确估算时间尺度的关键。然而,当前获取 K_s 分布的方式不统一且通常带有长尾现象(Tang et al., 2008)。为何 K_s 分布会有长尾现象?长尾现象对 K_s 峰是否有重要影响等问题,也尚未有清晰的表述。

目前,已有 400 余种被子植物的基因组得到不同水平的测定,便于在全基因组的尺度上理解这些被子植物的演化历程(Kress et al., 2022)。全基因组数据能有效消除横向基因转移和类群间基因进化速率差异等因素对系统发育树的影响。因此,急需在全基因组数据层面上,利用新方法对

被子植物的演化时间进行重新估计。本文拟对三种获取 K_s 分布的方式进行比较,明确哪种方式获得的 K_s 峰值更接近真实情况;对于 K_s 分布中常见的长尾现象,采用模拟仿真的方式,探究出现长尾现象的原因;区分共享多倍化和共享早期分化两种情况,创建基于全基因组数据的 K_s 分布矫正模型,对 44 个代表性被子植物基因组演化事件的时间尺度进行重新估计,得到相对可靠的被子植物演化时间轴。这有助于更深层地了解被子植物多样性和系统发育以及被子植物基因组的进化模式。

1 材料与方 法

1.1 基因组数据材料

收集 44 个高质量染色体水平的被子植物基因组(主要来自 NCBI 和 PHYTOZOME),共包含 43 科 39 目(表 1)。

1.2 方 法

1.2.1 共线性分析 使用 WGDI v0.5.3(Sun et al., 2021) 软件进行共线性分析。首先,使用 BLASTP 来识别基因组内或基因组间的基因相似性。随后,用 WGDI 软件的‘-d’子程序绘制同源点阵图,并运行‘-icl’子程序获得共线性基因。

1.2.2 K_s 分布 K_s 分布主要是通过 WGDI 软件完成的。首先,使用 WGDI 软件的‘-ks’子程序调用 PAML(Yang, 2007) 软件计算共线性基因对的 K_s 值。通过‘-bi’子程序整合共线性和 K_s 值的结果,并使用 WGDI 软件的‘-bk’子程序查看共线基因的 K_s 值的分布,结果以点图的形式展示(图 1:A)。根据物种内或种间已知的多倍化或分歧事件,通过 WGDI 的‘-c’子程序对共线性片段进行过滤,只保留多倍化事件或分歧事件产生的共线性片段。然后,通过 WGDI 的‘-kp’子程序获取 K_s 分布(图 1:B)。最后,使用 WGDI 中的“-pf”子程序对不同事件分别进行拟合并获取 K_s 分布(图 1:C)。

2 结果与分析

2.1 K_s 分布和长尾现象解析

K_s 分布常常用来判定物种历史上发生的多倍化或物种分歧事件的依据。目前获取 K_s 分布主

要有三种方式。方式一:先通过 OrthoMCL(Li et al., 2003) 等聚类软件获取旁系同源基因对,再计算这些同源基因对的 K_s 值并绘制 K_s 分布图。方式二:先进行基因组共线性分析,再计算共线性基因对 K_s 值并绘制 K_s 分布。方式三:在方式二的基础上,提取共线性区块上 K_s 值的中位数并绘制 K_s 分布。三种方式中,方式一由于没有共线性分析,因此所获取的旁系同源基因对通常会有大量串联重复基因从而影响 K_s 分布。方式二和三都经过了共线性分析,当把共线性区块(长度大于 5)上同源基因对的 K_s 值以点图的形式展示出来时(图 1:A),这里以水稻为例,可以看到大部分由绿色的点组成的片段,如 8 号与 9 号染色体,这与水稻近期的一次多倍化事件相符。 K_s 点图中大部分点的颜色相近,说明 K_s 值波动很小。对共线性区域的 K_s 值的中位数(方式三)、平均值和所有的基因对(方式二)进行正态分布拟合(带宽为 0.01, homo 范围 0.3~1)(图 2:B),可以看到方式二并没有产生明显的峰,而且 K_s 分布整体带有长长的尾巴。方式三和区块的平均值的 K_s 分布有明显峰值,数据更为集中。由于中位数是对总体中心很好的估计,且稳健性更强,中位数的峰值颜色和 K_s 点图的颜色更为接近,因此区块的 K_s 值的中位数更接近 K_s 真正的峰值,对方式三的 K_s 分布按照正态分布拟合来提取 K_s 峰值(图 1:C)。

为了进一步解析长尾现象,模拟了 K_s 分布随进化速率的演变过程。假设最初的 K_s 分布服从正态分布 $X \sim N(\mu, \sigma^2)$,其中期望 μ (峰值)和标准差 σ 为常数。分子钟理论认为由于基因的进化速率是相对恒定的,因此定义 $v(v > 1)$,代表 K_s 值的时间累积系数,表示初始 K_s 值随时间演化不断累积,模拟真实情况下的恒定进化速率。然而,其他研究表明分子钟并非等速进行,同时假设 v 服从正态分布 $X_v \sim N(\mu_v, \sigma_v^2)$,对这两种假设分别进行了数据仿真模拟。 K_s 值随着时间的推移进行迭代,为 X' ,迭代次数为 n 。

当 v 为常数值时, $X' = X \times v^n$;

当 v 服从正态分布时, $X' = X \times X_v^n$ 。

当假设 K_s 值的时间累积系数 v 为一个常数值时,设置假设的 K_s 分布为 $X \sim N(\mu, \sigma^2)$,依据 K_s 分布数据特征,设定 $\mu = 0.2, \sigma = 0.01, v = 1.02, n = 100$ 。每迭代 10 次,绘制 K_s 分布结果(图 2:A)。随着进化事件的推移, K_s 峰值也逐渐变大, K_s 分布依旧完

表 1 研究所用的 44 个被子植物及基因组数据来源

Table 1 List of the 44 angiosperms involved and the genome data sources

物种 Species	目 Order	科 Family	数据来源 Data source
无油樟 <i>Amborella trichopoda</i>	无油樟目 Amborellales	无油樟科 Amborellaceae	https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/000/471/905/GCF_000471905.2_AMTR1.0/
蓝星睡莲 <i>Nymphaea colorata</i>	睡莲目 Nymphaeales	睡莲科 Nymphaeaceae	https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Ncolorata_v1_2
鹅掌楸 <i>Liriodendron chinense</i>	木兰目 Magnoliales	木兰科 Magnoliaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/45466
牛樟 <i>Cinnamomum kanehirae</i>	樟目 Laurales	樟科 Lauraceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/57158
卷毛马兜铃 <i>Aristolochia fimbriata</i>	胡椒目 Piperales	马兜铃科 Aristolochiaceae	https://ngdc.cnpc.ac.cn/search/?dbId=gwh&q=Aristolochia&page=1
柳叶蜡梅 <i>Chimonanthus salicifolius</i>	樟目 Laurales	蜡梅科 Calycanthaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/82066?genome_assembly_id=1651656
紫萍 <i>Spirodela polyrhiza</i>	泽泻目 Alismatales	天南星科 Araceae	https://data.jgi.doe.gov/refine-download/phytozome?organism=Spolyrhiza&expanded=290
水稻 <i>Oryza sativa</i>	禾本目 Poales	禾本科 Poaceae	https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Osativa_v7_0
菠萝 <i>Ananas comosus</i>	禾本目 Poales	凤梨科 Bromeliaceae	https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Acomosus_v3
椰子 <i>Cocos nucifera</i>	棕榈目 Arecales	棕榈科 Arecaceae	The genome draft of coconut (<i>Cocos nucifera</i>)
油棕 <i>Elaeis guineensis</i>	棕榈目 Arecales	棕榈科 Arecaceae	https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/000/442/705/
小果野蕉 <i>Musa acuminata</i>	姜目 Zingiberales	芭蕉科 Musaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=HE813975%E2%80%9393HE813985
鼓槌石斛 <i>Dendrobium chrysotoxum</i>	天门冬目 Asparagales	兰科 Orchidaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/41833
文竹 <i>Asparagus setaceus</i>	天门冬目 Asparagales	天门冬科 Asparagaceae	https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.1c59zw3rm
金鱼藻 <i>Ceratophyllum demersum</i>	金鱼藻目 Ceratophyllales	金鱼藻科 Ceratophyllaceae	https://genomeevolution.org/CoGe/GenomeInfo.pl?gid=56569
莲 <i>Nelumbo nucifera</i>	山龙眼目 Proteales	莲科 Nelumbonaceae	https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/all/GCF/000/365/185/GCF_000365185.1_Chinese_Lotus_1.1/
昆栏树 <i>Trochodendron aralioides</i>	昆栏树目 Trochodendrales	昆栏树科 Trochodendraceae	http://gigadb.org/dataset/view/id/100657/File_page/5
洛杉矶耧斗菜 <i>Aquilegia coerulea</i>	毛茛目 Ranunculales	毛茛科 Ranunculaceae	https://data.jgi.doe.gov/refine-download/phytozome?organism=Acoerulea&expanded=322
油蜡树 <i>Simmondsia chinensis</i>	石竹目 Caryophyllales	油蜡树科 Simmondsiaceae	https://ngdc.cnpc.ac.cn/search/?dbId=gwh&q=GWAASQ00000000
中华猕猴桃 <i>Actinidia chinensis</i>	杜鹃花目 Ericales	猕猴桃科 Actinidiaceae	ftp://www.whiteflygenomics.org/pub/kiwifruit/A_chinensis/Red5/v1.0/Red5_genome_v1.0.fa.gz
杜鹃 <i>Rhododendron simsii</i>	杜鹃花目 Ericales	杜鹃花科 Ericaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome?LinkName=bioproject_genome&from_uid=588298
油橄榄 <i>Olea europaea</i>	唇形目 Lamiales	木樨科 Oleaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Olea+europaea
大星牵牛 <i>Ipomoea trifida</i>	茄目 Solanales	旋花科 Convolvulaceae	https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.b9m61cg
中粒咖啡 <i>Coffea canephora</i>	龙胆目 Gentianales	茜草科 Rubiaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Coffea+canephora

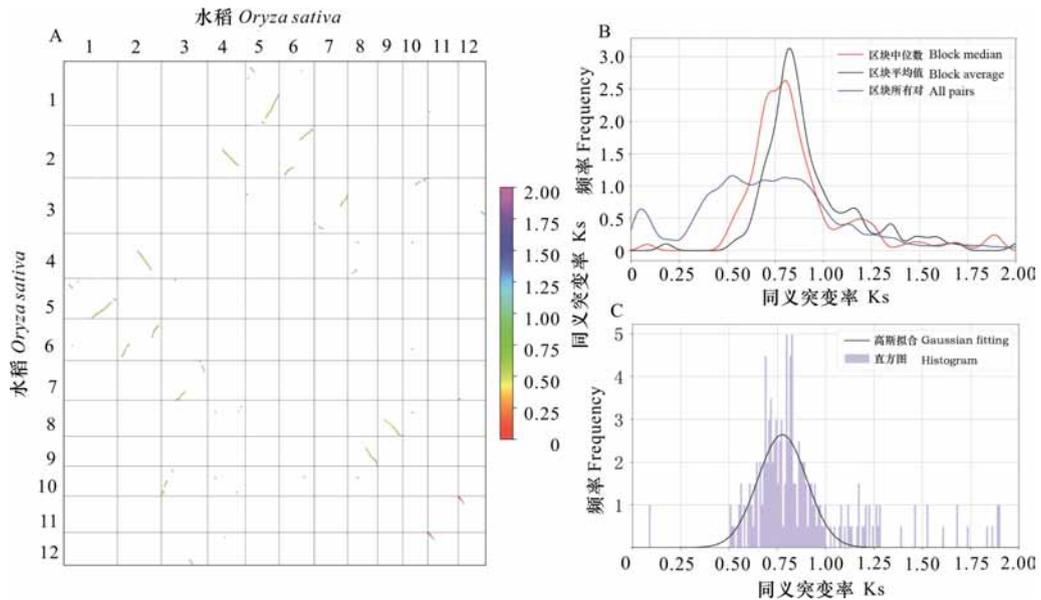
续表 1

物种 Species	目 Order	科 Family	数据来源 Data source
红花 <i>Carthamus tinctorius</i>	菊目 Asterales	菊科 Asteraceae	https://safflower.scu.ec.edu.cn/download.html
芹菜 <i>Apium graveolens</i>	伞形目 Apiales	伞形科 Apiaceae	http://celerydb.bio2db.com
葡萄 <i>Vitis vinifera</i>	葡萄目 Vitales	葡萄科 Vitaceae	http://www.grapegenomics.com/pages/VvCabSauv/download.php
野黄瓜 <i>Cucumis hystrix</i>	葫芦目 Cucurbitales	葫芦科 Cucurbitaceae	https://figshare.com/articles/dataset/Genome_assembly_of_Cucumis_hystrix/13377671
菜豆 <i>Phaseolus vulgaris</i>	豆目 Fabales	豆科 Fabaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Phaseolus+vulgaris
雷公藤 <i>Tripterygium wilfordii</i>	卫矛目 Celastrales	卫矛科 Celastraceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/12874
苹果 <i>Malus domestica</i>	蔷薇目 Rosales	蔷薇科 Rosaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Malus+domestica
欧洲大叶杨 <i>Populus trichocarpa</i>	金虎尾目 Malpighiales	杨柳科 Salicaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Populus+trichocarpa
垂枝桦 <i>Betula pendula</i>	壳斗目 Fagales	桦木科 Betulaceae	https://genomevolution.org/CoGe/GenomeInfo.pl?gid=35080
杨桃 <i>Averrhoa carambola</i>	酢浆草目 Oxalidales	酢浆草科 Oxalidaceae	https://ngdc.cnecb.ac.cn/search/?dbId=gwh&q=GWHABKE00000000
可可树 <i>Theobroma cacao</i>	锦葵目 Malvales	锦葵科 Malvaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Theobroma+cacao
大桉 <i>Eucalyptus grandis</i>	桃金娘目 Myrtales	桃金娘科 Myrtaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=Eucalyptus+grandis
漾濞槭 <i>Acer yangbiense</i>	无患子目 Sapindales	无患子科 Sapindaceae	http://gigadb.org/dataset/100610
珙桐 <i>Davidia involucrata</i>	山茱萸目 Cornales	蓝果树科 Nyssaceae	https://ngdc.cnecb.ac.cn/search/?dbId=gwh&q=%20PRJCA001721&page=1
伯乐树 <i>Bretschneidera sinensis</i>	十字花目 Brassicales	叠珠树科 Akaniaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=GCA_018105755.1
连香树 <i>Cercidiphyllum japonicum</i>	虎耳草目 Saxifragales	连香树科 Cercidiphyllaceae	https://doi.org/10.1111/nph.16798
四川金粟兰 <i>Chloranthus sessilifolius</i>	金粟兰目 Chloranthales	金粟兰科 Chloranthaceae	https://github.com/yongzhiyang2012/Chloranthus-sessilifolius-genome/tree/main/Annotation
参薯 <i>Dioscorea alata</i>	薯蓣目 Dioscoreales	薯蓣科 Dioscoreaceae	https://phytozome-next.jgi.doe.gov/info/Dalata_v2_1
芒苞草 <i>Acanthochlamys bracteata</i>	露兜树目 Pandanales	翡若翠科 Velloziaceae	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/?term=PRJNA703828
滇南黄杨 <i>Buxus austroyunnanensis</i>	黄杨目 Buxales	黄杨科 Buxaceae	https://datadryad.org/stash/dataset/doi:10.5061/dryad.cjxsksn6d

美符合正态分布且没有明显的长尾分布现象。

当假设 K_s 值的时间累积系数 (v) 服从正态分布时,最初设置假设的 K_s 分布为 $X_v \sim N(\mu_v, \sigma_v^2)$, 其中 $\mu = 0.2, \sigma = 0.01, \mu_v = 1.02, \sigma_v = 0.01, n = 100$ 。每迭代 10 次,绘制 K_s 分布结果(图 2:B)。随着进化事件的推移, K_s 峰值逐渐变大, K_s 分布不再是正态分布,并带有明显的长尾现象。由于这种

假设所得到的结果更接近于真实情况,因此基因的进化速率不是相对恒定的,它可能并非等速进行,而是在不同年代具有不同的进化速度,这可能符合正态分布。对模拟的 K_s 分布通过高斯拟合获取峰值时,发现 K_s 峰值与进化速率匀速时的没有明显差异(表 2)。因此, K_s 分布中长尾现象对提取到的 K_s 峰值的影响较小。

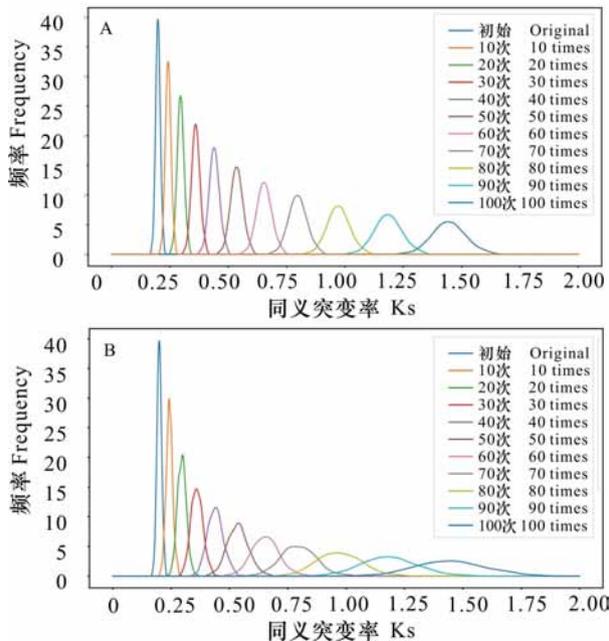


A. 水稻基因组的共线性区块; B. 共线性区块上 K_s 值的拟合分布; C. 共线性区块 K_s 值的核密度估计。

A. Synteny blocks of the *Oryza sativa* genome; B. Fitted distribution of K_s values for synteny blocks; C. Kernel density of K_s values for synteny blocks.

图 1 K_s 分布

Fig. 1 K_s distribution



A. K_s 分布在恒定进化速率下的模拟; B. K_s 分布在进化速率服从正态分布的模拟。

A. Simulation of K_s distribution at a constant evolution rate; B. Simulation of K_s distribution under a normal distribution of evolution rates.

图 2 K_s 分布在不同进化速率下的模拟结果

Fig. 2 Simulation results of K_s distribution at different evolution rates

表 2 不同进化速率模拟下的 K_s 峰值

Table 2 K_s peaks under simulations at different evolution rates

迭代次数 Number of iterations	均匀分布 Uniform distribution	正态分布 Normal distribution	差异 Difference
0	0.200	0.200	0.000
10	0.244	0.243	-0.001
20	0.297	0.297	0.000
30	0.362	0.355	-0.007
40	0.442	0.431	0.010
50	0.538	0.531	0.008
60	0.656	0.650	-0.006
70	0.800	0.792	-0.008
80	0.975	0.961	-0.014
90	1.189	1.180	-0.009
100	1.449	1.442	-0.007

2.2 K_s 分布矫正方法

被子植物基因组常常经历不止一次多倍化事件,不同物种的进化速率显著不同,从而导致共享的多倍化事件的 K_s 峰值也大不相同。而 K_s 分布矫正方法的核心理念就是将这些共享事件的 K_s 峰矫正到一起。根据共享事件的不同, K_s 分布矫正方法可分为共享多倍化和共享分化两种情况。

如果物种 A、B 存在共享的多倍化事件,那么这次多倍化事件在不同物种中发生的时间应该是相同的, K_s 峰值也应该是相等的(图 3:A)。黄色方块代表两个物种共享的多倍化,即 $K_{s_{AA}} = K_{s_{BB}}$, 对应的时间范围为物种 A、B 从多倍化事件到当前的时间点(绿色的大括号)。由于物种不同的进化速率,因此现实情况下的 $K_{s_{AA}}$ 和 $K_{s_{BB}}$ 并不相等。假设多倍化事件之后物种 A 和 B 有各自的进化速率分别为 v_A 和 v_B , O 是物种 A、B 的分化节点,从多倍化事件到分歧点 O,物种 A、B 的祖先拥有的进化速率为 v 。那么,物种 A 的进化速率 v_A 要想恢复到 v 就要乘以它的矫正系数为 $\lambda_A = \frac{v}{v_A}$ 。同理,物种 B 的

矫正系数为 $\lambda_B = \frac{v}{v_B}$ 。因而,物种 A、B 间分化的 $K_{s_{AB}}$

矫正后为 $K_{s_{AB-corrected}} = K_{s_{AB}} \lambda_A \lambda_B$ (Yang et al., 2020)。

如果两个物种 A、B 虽不存在共享的多倍化事件但存在共享的早期分化事件,就通过寻找外类群来辅助矫正(图 3:B)。物种 C、D、E 是外类群,物种 C 和 D 的祖先在 P 点与物种 A、B 的祖先分化,所以物种 C 与 A、B 间的 K_s 峰值应该相等,物种 D 与 A、B 间的 K_s 峰值也应该相等,即 $K_{s_{CA}} = K_{s_{CB}}$, $K_{s_{DA}} = K_{s_{DB}}$ 。同样,由于物种间不同的进化速率,因此现实情况下它们大多不相等。按照前面的假设,

$$\frac{K_{s_{CA-corrected}}}{K_{s_{CB-corrected}}} = \frac{K_{s_{CA}} \lambda_C \lambda_A}{K_{s_{CB}} \lambda_C \lambda_B} = \frac{K_{s_{CA}} \lambda_A}{K_{s_{CB}} \lambda_B} = 1, \text{ 即 } \frac{\lambda_A}{\lambda_B} = \frac{K_{s_{CB}}}{K_{s_{CA}}}$$

同理,

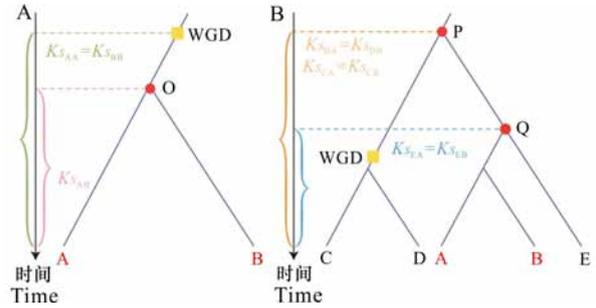
$$\frac{K_{s_{DA-corrected}}}{K_{s_{DB-corrected}}} = \frac{K_{s_{DA}} \lambda_D \lambda_A}{K_{s_{DB}} \lambda_D \lambda_B} = \frac{K_{s_{DA}} \lambda_A}{K_{s_{DB}} \lambda_B} = 1, \text{ 即 } \frac{\lambda_A}{\lambda_B} = \frac{K_{s_{DB}}}{K_{s_{DA}}}$$

当选取的外类群越多,获取的 λ_A 和 λ_B 的关系越准确。取平均值表示它们之间的关系 $\frac{\lambda_A}{\lambda_B} =$

$$\text{mean}\left(\frac{K_{s_{CB}}}{K_{s_{CA}}}, \frac{K_{s_{DB}}}{K_{s_{DA}}}, \dots\right)$$

2.3 被子植物系统发育树时间矫正

目前,很多用系统发育树的方法推测被子植物的演化时间,认为被子植物的起源为三叠纪 225 百万年至 240 百万年前 (Magallón, 2010),这与起传粉作用的核心植食性鳞翅目昆虫的起源时间(约 230 百万年前)一致 (Li et al., 2019)。由于无油樟目和睡莲目、核心被子植物五大分支之间的关系仍然没有完全解析,且已有多个证据暗示核



A. 共享多倍化事件; B. 共享早期分化。

A. Shared polyploidy events; B. Shared early divergence.

图 3 K_s 分布矫正方法的原理

Fig. 3 Principle of the K_s distribution correction method

心被子植物祖先可能发生了快速辐射分化 (Yang et al., 2020)。因此,在矫正过程中,以无油樟目为作为参考,不讨论它和睡莲目的关系,认为五大分支的分化时间尺度在同一个时间范围内。基于核心真双子叶植物共享的 γ 事件,时间范围为 115~130 百万年 (Million years ago, Mya),对 44 个被子植物基因组(表 1)进行了时间尺度矫正(图 4)。从矫正后的时间尺度来看,被子植物在 130 百万年前附近,单子叶植物、真双子叶植物、木兰类植物祖先都发生了快速辐射进化,与 Zhang 等 (2020b) 的结论一致。此外,在早白垩世(130 百万年)时期,白垩纪-古新世 (K-Pg) 边界时期(66 百万年)和中新世(20 百万年,靠近冰川期)很多被子植物发生的多倍化事件,研究发现 WGD 的时间在被子植物的系统发育中并不是随机分布与 Wu 等 (2020) 的结论一致。

尽管不同物种的进化速率数值显著不同,但是同一类群中的进化速率往往具有部分一致性。由矫正方法可知,矫正后的 K_s 峰值应该相等。因此, K_s 峰值越大,表明进化速率越快。对木兰类植物、真双子叶植物和单子叶植物与无油樟的 K_s 峰值的比较发现,木兰类植物(大多数为木本)进化速率最慢,真双子叶植物(大多数为灌木)次之,单子叶植物(大多数为草本)进化速率最快(表 3),这与多年生木本植物比草本植物的分子进化速率慢的结论相符 (Lanfear et al., 2013)。此外,对多倍化事件发生的时间与矫正前后的 K_s 峰值比较(图 5)发现,矫正前的 K_s 峰值与时间并不是线性关系。随着 K_s 峰值的增大,多倍化事件发生的时间并没有更古老;由于矫正后的 K_s 峰值与时间成

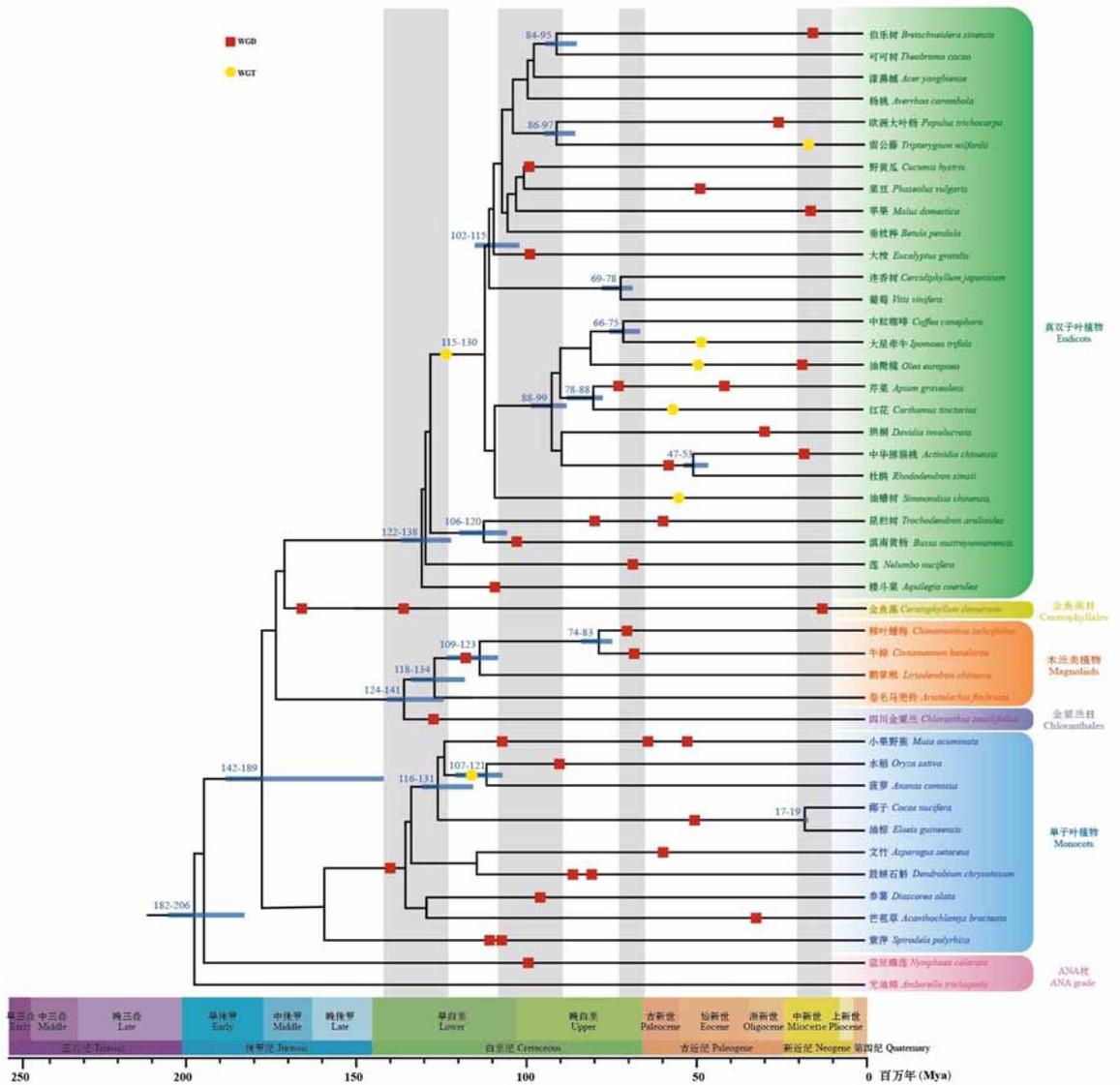


图 4 时间矫正后的被子植物系统发育树
 Fig. 4 Angiosperm phylogenetic tree after time correction

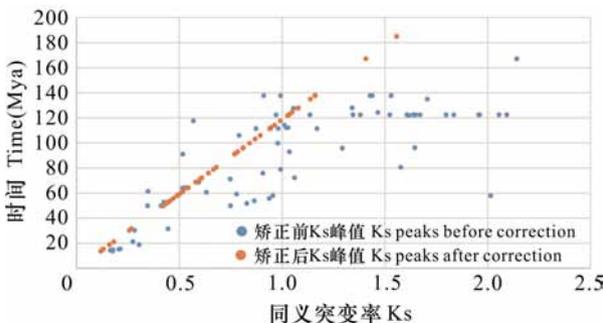


图 5 矫正前后 K_s 峰值与时间的关系
 Fig. 5 Relationship between K_s peaks and time before and after correction

正比,因此对 K_s 峰值进行矫正之后估算物种演化事件的时间是十分必要的。

3 讨论与结论

长期以来,估算被子植物演化的时间尺度主要是基于分子钟假设,然而分子进化异速现象的广泛存在严重影响其准确性,Wang 等(2015)提出的基于 K_s 分布的矫正方法,获得了令人信服的时间尺度。本文对获取 K_s 分布三种常见的方式进行了比较分析,明确了通过提取共线性区块上 K_s

表 3 部分核心被子植物与无油樟之间的 Ks 峰值

Table 3 Ks peaks between some species of mesangiospermae and *Amborella trichopoda*

核心被子植物 Mesangiospermae	物种 Species	Ks 峰值 Ks peak	平均值 Average value
真双子叶植物 Eudicots	昆栏树 <i>Trochodendron aralioides</i>	1.671	
	连香树 <i>Cercidiphyllum japonicum</i>	1.700	
	滇南黄杨 <i>Buxus austroyunnanensis</i>	1.750	
	葡萄 <i>Vitis vinifera</i>	1.804	
	洛杉矶糙斗菜 <i>Aquilegia coerulea</i>	1.789	1.743
	木兰类植物 Magnoliids	鹅掌楸 <i>Liriodendron chinense</i>	1.628
	牛樟 <i>Cinnamomum kanehirae</i>	1.642	
	柳叶蜡梅 <i>Chimonanthus salicifolius</i>	1.684	1.651
单子叶植物 Monocots	水稻 <i>Oryza sativa</i>	2.273	
	紫萍 <i>Spirodela polyrhiza</i>	2.210	
	椰子 <i>Cocos nucifera</i>	1.834	
	菠萝 <i>Ananas comosus</i>	2.106	
	芒苞草 <i>Acanthochlamys bracteata</i>	2.117	
		参薯 <i>Dioscorea alata</i>	1.950

值的中位数更能代表真实的 Ks 峰值。此外,还进一步解析了 Ks 分布中常见的长尾现象,本研究模拟结果表明基因的进化速率并非相对恒定和等速进行。当假设进化速率并非相对恒定,而是符合正态分布的时候,Ks 分布出现了有明显的长尾现象,但这并不影响提取到的 Ks 峰值的准确性。Vanneste 等(2013)研究表明,当 Ks 值大于 1 时,容易受到饱和效应的影响,并且随着 Ks 值增大,这种效应越明显。模拟的 Ks 峰值范围接近于 1,随着 Ks 峰值增大,估计的 Ks 峰值可能会受到饱和效应的影响。

本研究还详细描述了基于 Ks 峰值的矫正方法的矫正过程。先前的研究只对共享多倍化和共享早期分化两种情况分开进行了描述,这是首次全面的描述,有助于深入理解和传播。基于该方法,还对 44 个高质量的被子植物基因组演化事件的时间尺度进行了重新估计,估计结果与近期发表的时间

尺度基本一致(Li et al., 2019; Wu et al., 2020)。本研究结果还表明,被子植物基因组的进化速率虽然差异显著,但不同分支间的进化速率仍具有一致性。并且,不同谱系的被子植物具有同步的辐射进化和适应性进化现象。随着更多高质量的被子植物基因组的公布和有效化石年份的准确测定,被子植物演化的时间尺度会越来越清晰,更有利于植物系统发育的构建和更深层次的理解物种的演化历程。

参考文献:

- DONOGHUE PC, YANG ZH, 2016. The evolution of methods for establishing evolutionary timescales [J]. *Phil Trans Roy Soc B: Biol Sci*, 371(1699): 1–11.
- HUG LA, ROGER AJ, 2007. The impact of fossils and taxon sampling on ancient molecular dating analyses [J]. *Mol Biol Evol*, 24(8): 1889–1897.
- JIAO YN, WICKETT NJ, AYYAMPALAYAM S, et al., 2011. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms [J]. *Nature*, 473(7345): 97–100.
- KRESS WJ, SOLTIS DE, KERSEY PJ, et al., 2022. Green plant genomes: What we know in an era of rapidly expanding opportunities [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 119(4): 1–9.
- LANFEAR R, HO SYW, JONATHAN DAVIES T, et al., 2013. Taller plants have lower rates of molecular evolution [J]. *Nat Comm*, 4(1): 1879.
- LANFEAR R, WELCH JJ, BROMHAM L, 2010. Watching the clock: studying variation in rates of molecular evolution between species [J]. *Trend Ecol Evol*, 25(9): 495–503.
- LI HT, YI TS, GAO LM, et al., 2019. Origin of angiosperms and the puzzle of the Jurassic gap [J]. *Nat Plant*, 5(5): 461–470.
- LI L, STOECKERT CJ, ROOS DS, 2003. OrthoMCL: identification of ortholog groups for eukaryotic genomes [J]. *Genome Res*, 13(9): 2178–2189.
- LUO A, DUCHÊNE DA, ZHANG C, et al., 2020. A simulation-based evaluation of tip-dating under the fossilized birth-death process [J]. *Syst Biol*, 69(2): 325–344.
- LUO J, ZHANG YP, 2000. Molecular clock and its existing problems [J]. *Acta Anthropol Sin*, 19(2): 151–159. [罗静, 张亚平, 2000. 分子钟及其存在的问题 [J]. *人类学学报*, 19(2): 151–159.]
- MAGALLÓN S, 2010. Using fossils to break long branches in molecular dating: a comparison of relaxed clocks applied to the origin of angiosperms [J]. *Syst Biol*, 59(4): 384–399.
- REN R, WANG HF, GUO CC, et al., 2018. Widespread whole

- genome duplications contribute to genome complexity and species diversity in angiosperms [J]. *Mol Plant*, 11(3): 414–428.
- SHANG JZ, TIAN JP, CHENG HH, et al., 2020. The chromosome-level wintersweet (*Chimonanthus praecox*) genome provides insights into floral scent biosynthesis and flowering in winter [J]. *Genome Biol*, 21(1): 1–28.
- SILVESTRO D, BACON CD, DING WN, et al., 2021. Fossil data support a pre-Cretaceous origin of flowering plants [J]. *Nat Ecol Evol*, 5(4): 449–457.
- SMITH SA, DONOGHUE MJ, 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants [J]. *Science*, 322(5898): 86–89.
- SONG XM, SUN PC, YUAN JQ, et al., 2021. The celery genome sequence reveals sequential paleo-polyploidizations, karyotype evolution and resistance gene reduction in apiales [J]. *Plant Biotechnol J*, 19(4): 731–744.
- SONG XM, WANG JP, LI N, et al., 2020. Deciphering the high-quality genome sequence of coriander that causes controversial feelings [J]. *Plant Biotechnol J*, 18(6): 1444–1456.
- SUN PC, JIAO BB, YANG YZ, et al., 2021. WGDI: a user-friendly toolkit for evolutionary analyses of whole-genome duplications and ancestral karyotypes [J]. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2021.04.29.441969>.
- TANG HB, WANG XY, BOWERS JE, et al., 2008. Unraveling ancient hexaploidy through multiply-aligned angiosperm gene maps [J]. *Genome Res*, 18(12): 1944–1954.
- TANG XH, LAI XL, ZHONG Y, 2002. Molecular clock hypothesis and fossil record [J]. *Earth Sci Front*, 9(2): 465–474. [唐先华, 赖旭龙, 钟扬, 等, 2002. 分子钟假说与化石记录 [J]. *地学前缘*, 9(2): 465–474.]
- VANNESTE K, VAN DE PEER Y, MAERE S, 2013. Inference of genome duplications from age distributions revisited [J]. *Mol Biol Evol*, 30(1): 177–190.
- WANG JP, SUN PC, LI YX, et al., 2018. An overlooked paleotetraploidization in Cucurbitaceae [J]. *Mol Biol Evol*, 35(1): 16–26.
- WANG JP, SUN PC, LI YX, et al., 2017. Hierarchically aligning 10 legume genomes establishes a family-level genomics platform [J]. *Plant Physiol*, 174(1): 284–300.
- WANG JP, YUAN JQ, YU JG, et al., 2019. Recursive paleohexaploidization shaped the durian genome [J]. *Plant Physiol*, 179(1): 209–219.
- WANG SC, XIAO Y, ZHOU ZW, et al., 2021. High-quality reference genomes of two coconut cultivars provide insights into evolution of monocot chromosomes and differentiation of fiber content and plant height [J]. *Genome Biol*, 22(1): 1–25.
- WANG XY, GUO H, WANG JP, et al., 2016. Comparative genomic de-convolution of the cotton genome revealed a decaploid ancestor and widespread chromosomal fractionation [J]. *New Phytol*, 209(3): 1252–1263.
- WANG XY, WANG JP, JIN DC, et al., 2015. Genome alignment spanning major Poaceae lineages reveals heterogeneous evolutionary rates and alters inferred dates for key evolutionary events [J]. *Mol Plant*, 8(6): 885–898.
- WU SD, HAN BC, JIAO YN, 2020. Genetic contribution of paleopolyploidy to adaptive evolution in angiosperms [J]. *Mol Plant*, 13(1): 59–71.
- YANG YZ, SUN PC, LV L, et al., 2020. Prickly waterlily and rigid hornwort genomes shed light on early angiosperm evolution [J]. *Nat Plant*, 6(3): 215–222.
- YANG Z, 2007. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood [J]. *Mol Biol Evol*, 24(8): 1586–1591.
- ZHANG LS, CHEN F, ZHANG XT, et al., 2020a. The water lily genome and the early evolution of flowering plants [J]. *Nat*, 577(7788): 79–84.
- ZHANG LS, WU S, CHANG XJ, et al., 2020b. The ancient wave of polyploidization events in flowering plants and their facilitated adaptation to environmental stress [J]. *Plant Cell Environ*, 43(12): 2847–2856.
- ZHUANG WJ, CHEN H, YANG M, et al., 2019. The genome of cultivated peanut provides insight into legume karyotypes, polyploid evolution and crop domestication [J]. *Nat Genet*, 51(5): 865–876.

(责任编辑 李 莉)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202111072

周韩洁, 杨入瑄, 李嵘. 云南被子植物菊类分支的系统发育多样性及其分布格局 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1694–1702.
ZHOU HJ, YANG RX, LI R, et al. Phylogenetic diversity and its distribution pattern of asterids in Yunnan angiosperms flora [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1694–1702.



云南被子植物菊类分支的系统发育多样性及其分布格局

周韩洁^{1,2}, 杨入瑄^{1,2}, 李 嵘^{1*}

(1. 中国科学院昆明植物研究所 东亚植物多样性与生物地理学重点实验室, 昆明 650201;
2. 中国科学院大学 生命科学学院, 北京 100049)

摘 要: 全球气候变化与人为活动等因素导致的生物多样性丧失, 引起了全球各界对生物多样性保护的高度关注。传统生物多样性保护主要对物种、特有种、受威胁物种的种类组成及其分布模式开展研究, 忽视了进化历史在生物多样性保护中的作用。云南是全球生物多样性热点地区的交汇区, 生物多样性的保护历来受到广泛关注, 为了更好地探讨云南生物多样性的保护措施, 该研究以云南被子植物菊类分支物种为研究对象, 基于物种间的演化关系, 结合其地理分布, 从进化历史的角度探讨物种、特有种、受威胁物种的种类组成及系统发育组成的分布格局, 并整合自然保护地的空间分布, 识别生物多样性的重点保护区域。结果表明: 云南被子植物菊类分支的物种、特有种及受威胁物种的物种密度与系统发育多样性均显著正相关; 通过零模型分析发现, 由南向北标准化系统发育多样性逐渐降低; 云南南部、东南部、西北部是云南被子植物菊类分支的重点保护区域, 加强这些区域的保护, 将最大化地保护生物多样性的进化历史和进化潜能。由此可见, 融合进化历史信息的植物多样性格局分析不仅有助于更加深入地理解植物多样性的形成与演变, 也为生物多样性保护策略的制定提供更多的思路。

关键词: 物种丰富度, 特有种, 受威胁物种, 进化历史, 生物多样性保护

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1694-09

Phylogenetic diversity and its distribution pattern of asterids in Yunnan angiosperms flora

ZHOU Hanjie^{1,2}, YANG Ruxuan^{1,2}, LI Rong^{1*}

(1. CAS Key Laboratory for Plant Diversity and Biogeography of East Asia, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 2. College of Life Sciences, University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Biodiversity conservation has attracted much attention around the world due to species extinction risks resulting from global climate change, human activities and so on. Traditional attempts to biodiversity conservation

收稿日期: 2022-03-16

基金项目: 国家自然科学基金(31770228); 中国科学院西部之光“一带一路”项目; 云南省基础研究专项重大项目(202101BC070002); 中国科学院战略性先导科技 A 类专项资助(XDA26020203) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31770228); Belt and Road Project of West Light Project of Chinese Academy of Sciences; Major Program for Basic Research Project of Yunnan Province (202101BC070002); Strategic Priority Research Program of Chinese Academy of Sciences (XDA26020203)]。

第一作者: 周韩洁(1997-), 硕士研究生, 主要从事植物分类与生物地理学研究, (E-mail) zhouhanjie@mail.kib.ac.cn。

* 通信作者: 李嵘, 博士, 研究员, 主要从事植物分类与生物地理学研究, (E-mail) lirong@mail.kib.ac.cn。

typically focus on the analyses of taxonomic composition and its distribution pattern of species, endemic species and threatened species, and ignore the rich context that evolutionary history can provide. As the intersection area of global biodiversity hotspots, the biodiversity conservation in Yunnan has been widely concerned. To better protect biodiversity in Yunnan, we combine data on the distributions and phylogenetic relationships of species from asterides in Yunnan angiosperms flora, explore how taxonomic composition (including species, endemic species and threatened species) and phylogenetic diversity vary across the different geographic regions in this area. And then integrating the distribution of nature protected areas with data of taxonomic and phylogenetic composition, we identify the key areas for biodiversity conservation. The results were as follows: Phylogenetic diversity was well correlated with taxonomic richness for species, endemic species and threatened species among the geographic regions; Using null model analyses, we found the standardized effect size of the phylogenetic diversity decreased gradually in Yunnan from south to north; We suggest that the southern, southeastern and northwestern Yunnan should be the biodiversity priority areas since they may help maximize the protection of evolutionary history and potential for Yunnan angiosperm flora. It can be seen that the integration of phylogenetic information can help us to better understand the formation and development of plant diversity, and provide more clues for the formulation of biodiversity protection strategies.

Key words: species richness, endemic species, threatened species, evolutionary history, biodiversity conservation

生物多样性是区域内所有物种的自然组合,它与人类的衣食住行紧密关联。不同的区域,由于地质历史、生态环境、经济发展等因素的不同,生物多样性的种类和组成大相径庭,如约占陆地面积四分之一的山地包含世界一半以上的物种,热带地区拥有异常丰富的物种多样性 (Brown, 2014; Rahbek et al., 2019; Kougoumoutzis et al., 2021)。对这类现象形成原因的解释,是生态学和生物地理学研究的核心问题,也是保护生物学关注的重要议题 (Gaston, 2000; Kreft & Jetz, 2007; Quintero & Jetz, 2018)。

关于生物多样性分布格局的研究,最早可追溯至德国地理学家 Humboldt 探讨植物多样性随纬度和海拔梯度的变化 (Morueta-Holme et al., 2015)。之后,利用物种丰富度指标, Kreft 和 Jetz (2007) 研究了维管束植物的全球分布格局,结果表明物种多样性由赤道向两极逐渐递减。近年来, DNA 测序技术的发展和区域性生命之树的构建,为从进化历史的角度探讨生物多样性的分布格局及其形成原因提供了新的方法和途径 (Lu et al., 2018; Qian, 2018; Mishler et al., 2020)。系统发育多样性 (phylogenetic diversity, PD) 是生物多样性进化历史研究中最常用的指标,它是区域内系统发育树上所有物种的枝长之和 (Faith, 1992)。Forest 等 (2007) 研究南非好望角植物区系时,最早将系统发育的指标纳入生物多样性研究;在中国, Lu 等 (2018) 从进化历史的角度,对中国被子植物多样性

的时空格局进行研究,结果表明中国东西部植物区系的系统发育组成不一致,东部系统发育多样性相对较高,西部系统发育组成相对较低。特有种 (endemic species) 是局限分布于特定区域内的物种,直接反映物种组成在空间上的变化,对揭示区域生物多样性的分布格局和形成演变起着重要的作用 (Crisp et al., 2001; 黄继红等, 2013)。Mishler 等 (2014) 基于对澳大利亚金合欢属 (*Acacia*) 特有种的研究,识别出该属在澳洲的新特有和古特有中心,以此推断不同区域生物多样性的进化历程不同。另外,特有种本身所具有的典型性和代表性,使其倍受保护生物学家青睐,被广泛应用于生物多样性热点地区及优先保护区的识别 (Brooks et al., 2006; Huang et al., 2016)。如保护国际 (Conservation International) 根据不同地区特有种的分析识别出全球 36 个生物多样性热点地区。此外,由于全球气候变化、人为活动等因素的影响,生物多样性面临严重的威胁 (Thomas et al., 2004; Brandt et al., 2019)。为全面评估生物多样性的受威胁状态,世界自然保护联盟 (IUCN) 对物种的濒危程度进行了划分 (Miller et al., 2007)。通过研究濒危物种的分布格局可为探讨生物多样性对未来气候变化的响应及开展生物多样性保护提供重要支撑 (Pimm et al., 2014)。如 Zhang 和 Ma (2008) 通过对中国受威胁植物的保护空缺进行分析,识别出 12 个优先保护的区域,以此为新时期生物多样性保护方案的制定提供新的依据。

随着数据资料的积累和开放共享,从多角度探讨生物多样性的分布格局为全方位理解生物多样性的形成及保护提供了重要线索。然而,Orme等(2005)在研究全球鸟类的物种、特有种、受威胁物种丰富度的分布格局时发现,在不同的研究视角下,生物多样性的分布模式并不完全吻合。因此,有必要选取不同的类群,从不同方面开展共同研究,以期全面认识生物多样性的分布格局和形成原因,从而为生物多样性保护策略的制定提供更精准的信息。

云南是中国植物物种、特有种及受威胁物种数量最为丰富的区域(李锡文,1985,1994;Wu et al., 1994—2012;Huang et al., 2016),位于全球生物多样性热点地区喜马拉雅、印度-缅甸、中国西南山地的交汇区(Myers et al., 2000)。云南被子植物谱系组成多样,包含木兰分支(magnoliids)、单子叶分支(monocots)、菊类分支(asterids)和蔷薇分支(rosids)等多个重要演化支系(APG IV, 2016)。其中,菊类分支是云南植物区系组成中种类最为丰富、分布最为广泛的演化支,包括唇形目(Lamiales)、杜鹃花目(Ericales)、菊目(Asterales)、龙胆目(Gentianales)等13个目,种类组成约占云南被子植物多样性的25%(吴征镒,1977—2006)。所含种数较多的科有菊科(Asteraceae)、唇形科(Lamiaceae)、杜鹃花科(Ericaceae)等,所含种数较多的属有杜鹃花属(*Rhododendron*)、马先蒿属(*Pedicularis*)、报春花属(*Primula*)等。云南被子植物菊类分支植物涵盖乔木、灌木、草本、藤本、寄生、腐生等多种生活型(吴征镒,1977—2006)。菊类分支中山茶科的木荷属(*Schima*)、山茶属(*Camellia*)、杜鹃花科的杜鹃属(*Rhododendron*)、冬青科的冬青属(*Ilex*)等多是云南植被构成中的主要建群种(李锡文,1985;朱华,2021)。本研究以云南被子植物菊类分支为研究对象,基于物种间的演化关系,结合其地理分布信息,从进化历史的角度探讨物种、特有种及受威胁物种的分布格局,旨在回答以下科学问题:(1)云南被子植物菊类分支的物种、特有种、受威胁物种的物种多样性与系统发育多样性是否具有相同的分布格局;(2)云南被子植物菊类分支多样性分布格局的形成原因是什么。

1 材料与方法

1.1 研究地区

云南地处中国西南,位于 $97^{\circ}31'39''$ — $106^{\circ}11'47''$ E、 $21^{\circ}8'32''$ — $29^{\circ}15'8''$ N。晚第三纪末至第四纪初以来的大规模山体隆升和深刻的高原解体,导致境内河谷深嵌、地势高耸,整体呈西北向东南倾斜(杨一光,1990)。因受印度洋西南季风及太平洋东南季风的影响,气候具有干湿季分明、降水丰沛、年温差小、日温差大等特点(王宇,2006)。正是这种复杂的地形地貌加之丰厚的水热条件,造就了云南丰富多样的植物区系种类(吴征镒等,1987)。

1.2 数据来源

以《云南植物志》和《云南省生物物种名录(2016版)》为蓝本,根据被子植物系统发育分类系统界定的科属范畴(APG IV, 2016),利用 *Flora of China*、*The Plant List*、*Plants of The World*、CVH、NSII 等物种名称及标本信息库,修订物种名称、确认物种县域分布,排除外来种和栽培种,构建精准的云南野生被子植物菊类分支物种数据库。

依据物种地理分布信息,将仅在云南省内分布的物种称为云南特有种,而将局限分布于某一特定县域内的物种称为狭域特有种。

依据《中国高等植物红色名录》(覃海宁等,2017),整理云南被子植物菊类分支中的极危物种(critically endangered, CR)、濒危物种(endangered, EN)和易危物种(vulnerable, VU),并将其统称为受威胁物种。

1.3 系统发育树构建

将来自 GenBank 的 DNA 数据和 Open Tree of Life 相结合得到的 GBOTB 系统发育树作为骨架树(Smith & Brown, 2018),利用 R 3.6.2 软件中的 V. PhyloMaker 程序包(Jin & Qian, 2019),以云南被子植物菊类分支物种数据库中的所有植物作为物种库,构建基于全部物种的系统发育树。对 GBOTO 中未涵盖的属或种,使用 V. PhyloMaker 中的 Scenario 3 方法,根据其所在科或属的系统位置添加到相应的科或属中(Jin & Qian, 2019)。

1.4 生物多样性测量

利用物种丰富度和系统发育多样性量化云南不同县域被子植物菊类分支的物种、特有种/狭域

特有种、受威胁物种的物种组成和系统发育组成。

物种丰富度 (species richness, SR) 为各县域内的物种绝对数量。考虑到不同县域面积对 SR 的影响, 使用物种密度 (species density, SD) 量化物种组成, 计算公式如下 (Li et al., 2015)。

$$SD = \frac{SR}{\ln A}$$

式中: SR 为县域物种丰富度, 即为所有物种的总和; A 为县域面积。

系统发育多样性是县域内所有物种在有根系统发育树上的枝长总和 (Faith, 1992)。以往研究表明 SR 与 PD 相关性较高 (Morlon et al., 2011; Fritz & Rahbek, 2012), 为消除 SR 对 PD 的影响, 使用标准化系统发育多样性 (the standardized effect size of the phylogenetic diversity, *ses. PD*) 度量系统发育组成, 计算公式如下 (Cai et al., 2021):

$$ses. PD = (PD_{observed} - PD_{randomized}) / sdPD_{randomized}$$

式中: $PD_{observed}$ 是县域物种的系统发育多样性; $PD_{randomized}$ 表示随机过程产生的县域物种系统发育多样性; $sdPD_{randomized}$ 表示县域物种的系统发育多样性方差。如果 *ses. PD* 值为负, 则表示该区域系统发育组成多样性相对较低; 反之, 如果 *ses. PD* 值为正, 则表示该地区系统发育组成多样性相对较高 (Webb, 2000)。上述分析利用 R 3.6.2 软件中的 *picante* 程序包完成 (Kembel et al., 2010)。

1.5 区域受威胁状况度量

使用受威胁指数 (threatened index, TI) 和加权指数 (weighted index, WI) 度量云南不同县域被子植物菊类分支的受威胁程度, 计算公式如下。

$$TI = \frac{SR_t}{SR}; WI = \frac{\sum GE}{SR}$$

式中: SR_t 为县域内受威胁物种的丰富度, 即极危、濒危和易危物种的数量总和; SR 为县域物种丰富度, 即为所有物种的总和; GE 为受威胁物种的分值, 根据物种受威胁等级, 赋予极危 3 分、濒危 2 分、易危 1 分。

1.6 生物多样性保护区识别

采用 Pearson 相关分析检测物种密度与系统发育多样性的相关性。使用地理信息系统 ArcGIS 10 (ESRI, 2011) 将物种、特有种/狭域特有种、受威胁物种的物种密度、系统发育多样性及区域受威胁状况与自然保护地的空间分布进行叠加, 识别云南被子植物菊类分支的重点保护区域。

2 结果与分析

2.1 云南被子植物菊类分支的多样性格局

根据被子植物系统发育分类系统的统计, 云南被子植物菊类分支计有 62 科 711 属 4 462 种和变种。其中, 云南特有种 1 080 种和变种, 县域狭域特有种 474 种, 受威胁物种 315 种 (极危 40 种、濒危 91 种、易危 184 种)。

云南被子植物菊类分支的物种、特有种/狭域特有种、受威胁物种的物种密度与系统发育多样性均呈显著正相关 (图 1), 且云南南部和西北部具有最高的物种密度和系统发育多样性 (图 2)。去除物种多样性对系统发育多样性的影响后, 由南向北, 标准化系统发育多样性逐渐递减 (图 3)。

2.2 云南被子植物菊类分支的区域受威胁状况

Pearson 相关性分析表明受威胁指数与加权指数显著正相关 ($r=0.91$, $P<0.001$), 且二者的分布格局均显示云南被子植物菊类分支物种受威胁状况最为严重的区域为云南西北部与西部的迪庆藏族自治州、怒江傈僳族自治州、大理白族自治州、丽江市、保山市及东南部的红河哈尼族彝族自治州和文山壮族苗族自治州与南部的西双版纳傣族自治州境内的多个县域 (图 4)。

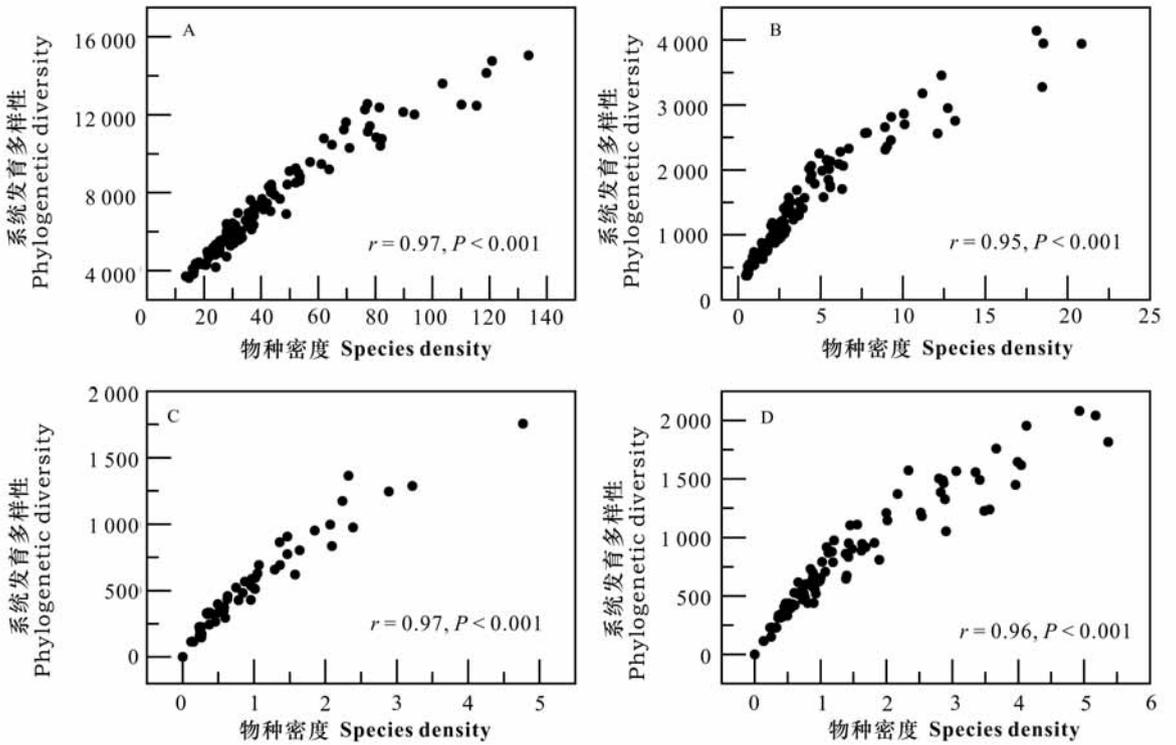
2.3 云南被子植物菊类分支的重点保护区域

根据云南被子植物菊类分支的物种密度、系统发育多样性及区域受威胁状况与自然保护地的叠加分析, 云南被子植物菊类分支多样性的重点保护区域主要位于云南南部西双版纳傣族自治州、东南部红河哈尼族彝族自治州和文山壮族苗族自治州及西北部迪庆藏族自治州、怒江傈僳族自治州、大理白族自治州、丽江市境内各县, 尤其云南南部的景洪、勐海、勐腊, 东南部的屏边、西畴及西北部的大理、丽江、中甸、贡山等县域 (图 5)。

3 讨论与结论

3.1 云南被子植物菊类分支的多样性演变历史

本研究表明云南被子植物菊类分支的物种密度与系统发育多样性显著正相关, 这与传统研究结果一致 (Tang et al., 2014; Li & Yue, 2020)。然而, 使用零模型 (null model) 保持县域物种多样性不变的情况下, 随机产生的县域系统发育多样性与



A. 全部物种; B. 特有种; C. 狭域特有种; D. 受威胁物种。

A. Total species; B. Endemic species; C. Stenotopic species; D. Threatened species.

图 1 云南被子植物菊类分支的物种密度与系统发育多样性的相关性

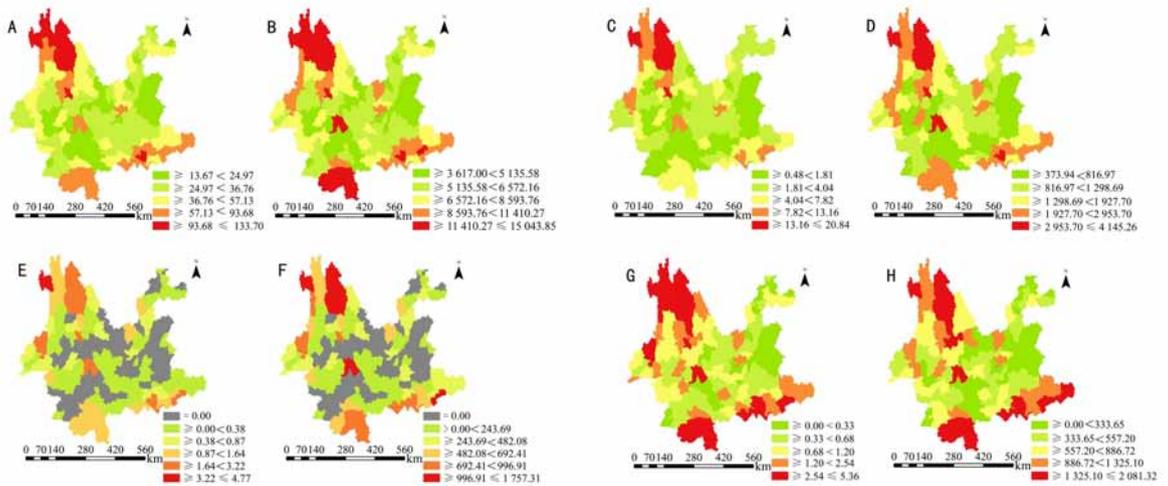
Fig. 1 Relationships between species density and phylogenetic diversity of asterids in Yunnan angiosperms flora

观察县域系统发育多样性的比较发现,物种密度或系统发育多样性丰富的区域并不一定具有多样的进化组成,由南向北,标准化系统发育多样性逐渐降低,即组成云南南部被子植物菊类分支的谱系多样性较高,而北部(特别是西北部)被子植物菊类分支的谱系多样性较低。究其原因,与地质历史和植物多样性的形成演变有关。云南西北部地处喜马拉雅山的东缘,自第三纪以来,由于印度板块与欧亚板块的碰撞,加之江河深切,致使该区域产生了复杂多样的生境类型(Li & Fang, 1999; An et al., 2001),成为绢毛菊属(*Soroiseris*)、风毛菊属(*Saussurea*)等诸多新生类群的发源地(Zhang et al., 2011; Zhang et al., 2021),而这些新生类群大都起源于相同的支系,如菊科(*Asteraceae*),从而导致该地区被子植物菊类分支的物种组成多样性较高,系统发育组成多样性较低。而云南南部为低海拔山地,地质地史上长期与热带东南亚紧密联系,主要受热带气候的影响,该地区由于相对

稳定的地质构造和气候环境,加之未受第四纪冰期-间冰期的影响(Harrison et al., 2001; Zhu, 2013),既为珙桐属(*Davidia*)、栌菊木属(*Nouelia*)等诸多第三纪孑遗植物提供了长期稳定的栖息地(Manchester et al., 2009),也为冬青属(*Ilex*)、亚洲鹅掌柴属(*Asia Schefflera*)、马铃薯苔属(*Oreocharis*)等类群的生存繁衍提供了优良的条件(Chen et al., 2014; Li & Wen, 2014; Yao et al., 2021),而这些类群大都来自于不同的进化谱系,如冬青科(*Aquifoliaceae*)、五加科(*Araliaceae*)、苦苣苔科(*Gesneriaceae*)等。因此,云南南部被子植物菊类分支的物种组成和系统发育组成多样性都较高。

3.2 云南被子植物菊类分支的生物多样性保护

受威胁指数与加权指数的联合分析显示,云南南部、东南部及西部的受威胁物种数量及受威胁程度最高。已有研究表明,随着社会经济的发展,以及人为活动,如大规模工程建设项目实施导



A. 物种密度; B. 物种系统发育多样性; C. 特有种密度; D. 特有种系统发育多样性; E. 狭域特有种密度; F. 狭域特有种系统发育多样性; G. 受威胁物种密度; H. 受威胁物种系统发育多样性。

A. Species density (SD); B. Phylogenetic diversity (PD); C. Density of endemic species (SD endemic); D. Phylogenetic diversity of endemic species (PD endemic); E. Density of stenotopic species (SD narrow); F. Phylogenetic diversity of stenotopic species (PD narrow); G. Density of threatened species (SDt); H. Phylogenetic diversity of threatened species (Pdt).

图2 云南被子植物菊类分支的多样性格局

Fig. 2 Diversity patterns of asterids in Yunnan angiosperms flora

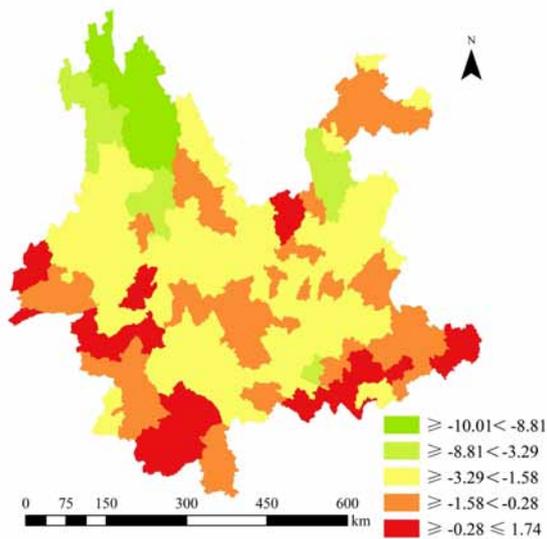


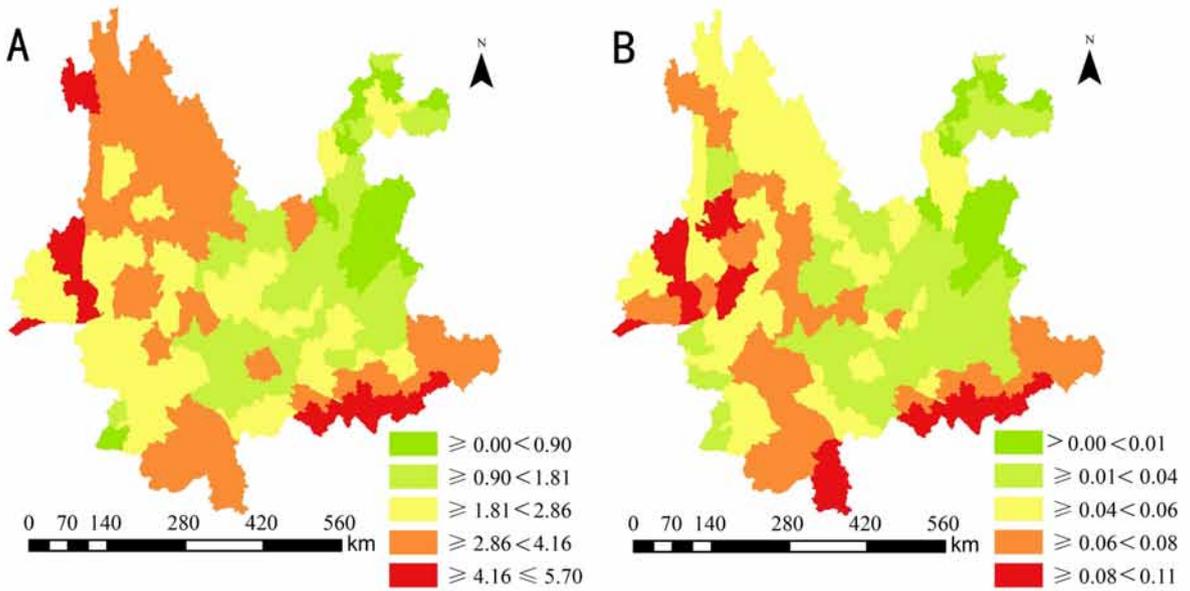
图3 云南被子植物菊类分支的
标准化系统发育多样性

Fig. 3 The standardized effect size of the phylogenetic diversity patterns of asterids in Yunnan angiosperms flora

致的生境丧失、野生种质资源过度利用引起的生物种群减少等,是植物受威胁的重要因素之一 (Forester & Machlist, 1996; Brandt et al., 2019)。

如 Han 等(2020)对卵果木莲 (*Manglietia ovoidea*) 及 Li 等(2020)对云南梧桐 (*Firmiana major*) 的研究发现,它们目前的种群数量稀少、分布零散,且大都生长在路边、耕地旁等人为干扰严重的区域,栖息地丧失是这类物种生存面临的巨大威胁。除人为客观因素之外,植物自身的因素,如繁殖障碍、近交衰退、萌发率低等也是植物受威胁的重要原因 (孙卫邦等,2021)。如毛果木莲 (*Manglietia ventii*) 在进化过程中,由于花粉产量有限,无法满足生殖需要,导致种群数量减少,物种受到威胁 (Wang et al., 2017); Zhang 等(2020)对自然杂交种毛脉杜鹃 (*Rhododendron pubicostatum*) 的繁殖生物学研究表明,由于亲本间的基因渐渗,引起近交衰退,从而导致物种生存受到威胁。

物种密度、系统发育多样性及区域受威胁状况与自然保护地的空间分析表明,云南南部、东南部及西北部是云南被子植物菊类分支的重点保护区域。这些区域不但物种、特有种/狭域特有种的物种丰富度和系统发育多样性较高,而且受威胁物种的种类和系统发育多样性及区域受威胁程度也较高。因此,为应对全球变化和人为活动等引起的生物大灭绝,加强对云南南部、东南部及西北



A. 受威胁指数(%)；B. 加权指数。

A. Threatened index (%)；B. Weighted index.

图 4 云南不同县域被子植物菊类分支的受威胁状况

Fig. 4 Regional threatened status of asterids in Yunnan angiosperms flora

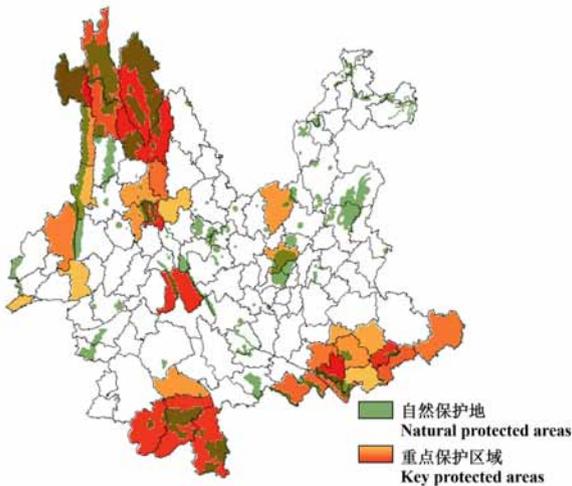


图 5 云南被子植物菊类分支的重点保护区域

Fig. 5 Key protected areas of asterids for Yunnan angiosperms flora

丰富的物种、特有种及受威胁物种的多样性,还可以最大化地保护多样的植物区系进化历史。而对于云南西北部来说,虽然被子植物菊类分支的谱系多样性最低,但这些谱系集中了大量的新生类群,这些新生类群往往是未来进化的主力(Xing & Ree, 2017; Ding et al., 2020)。因此,加强云南西北部被子植物菊类分支生物多样性的保护,不但可以保护丰富的物种、特有种及受威胁物种的多样性,还可以最大化地保护植物多样性的进化潜能。然而,从现有自然保护地的分布来看,并未覆盖所有的重点保护区域,为了更加合理和全方位地保护植物多样性(包括进化历史和进化潜能的保护),建议适当扩大现有自然保护地的面积,优化现有自然保护地的规划和布局。

致谢 中国科学院昆明植物研究所信息中心提供本研究所需的基础数据。

参考文献:

- APG IV, 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV [J]. Bot J Linn Soc, 181(1): 1-20.

部生物多样性的保护显得尤为重要。具体对云南南部、东南部来说,被子植物菊类分支的谱系多样性最为丰富,也是进化组成最为多样的区域(Zhu, 2016, 2017)。因此,加强云南南部、东南部被子植物菊类分支生物多样性的保护,不但可以保护

- AN ZS, KUTZBACH JE, PRELL WL, et al., 2001. Evolution of Asian monsoons and phased uplift of the Himalayan Tibetan plateau since Late Miocene times [J]. *Nature*, 411(6833): 62–66.
- BRANDT JS, RADELOFF V, ALLENDORF T, et al., 2019. Effects of ecotourism on forest loss in the Himalayan biodiversity hotspot based on counterfactual analyses [J]. *Conserv Biol*, 33(6): 1318–1328.
- BROOKS TM, MITTERMEIER RA, DA FONSECA GAB, et al., 2006. Global biodiversity conservation priorities [J]. *Science*, 313(5783): 58–61.
- BROWN JH, 2014. Why are there so many species in the tropics? [J]. *J Biogeogr*, 41(1): 8–22.
- CAI HY, LYU L, SHRESTHA N, et al., 2021. Geographical patterns in phylogenetic diversity of Chinese woody plants and its application for conservation planning [J]. *Divers Distrib*, 27(1): 179–194.
- CHEN WH, SHUI YM, YANG JB, et al., 2014. Taxonomic status, phylogenetic affinities and genetic diversity of a presumed extinct genus, *Paraisometrum* W. T. Wang (Gesneriaceae) from the karst regions of southwest China [J]. *PLoS ONE*, 9(9): e107967.
- CRISP MD, LAFFAN S, LINDER HP, et al., 2001. Endemism in the Australian flora [J]. *J Biogeogr*, 28(2): 183–198.
- DING WN, REE RH, SPICER RA, et al., 2020. Ancient orogenic and monsoon-driven assembly of the world's richest temperate alpine flora [J]. *Science*, 369(6503): 578–581.
- ESRI, 2011. ArcGIS Desktop: Release 10 [CP/OL]. Redlands, CA: Environmental Systems Research Institute. <https://www.arcgis.com>.
- FAITH DP, 1992. Conservation evaluation and phylogenetic diversity [J]. *Biol Conserv*, 61(1): 1–10.
- FOREST F, GRENYER R, ROUGET M, et al., 2007. Preserving the evolutionary potential of floras in biodiversity hotspots [J]. *Nature*, 445(7129): 757–760.
- FORESTER DJ, MACHLIST GE, 1996. Modeling human factors that affect the loss of biodiversity [J]. *Conserv Biol*, 10(4): 1253–1263.
- FRITZ SA, RAHBEEK C, 2012. Global patterns of amphibian phylogenetic diversity [J]. *J Biogeogr*, 39(8): 1373–1382.
- GASTON KJ, 2000. Global patterns in biodiversity [J]. *Nature*, 405(6783): 220–227.
- HAN CY, TAO LD, SUN WB, 2020. Distribution and conservation status of *Magnolia ovoides* (Magnoliaceae): a critically endangered species in Yunnan, China [J]. *Oryx*, 54(4): 466–469.
- HARRISON SP, YU G, TAKAHARA H, et al., 2001. Diversity of temperate plants in East Asia [J]. *Nature*, 413(6852): 129–130.
- HUANG JH, HUANG JH, LU XH, et al., 2016. Diversity distribution patterns of Chinese endemic seed plant species and their implications for conservation planning [J]. *Sci Rep*, 6: 33913.
- HUANG JH, ZHANG JL, YANG Y, et al., 2013. Advances in methods for measuring patterns of endemic plant diversity [J]. *Biodivers Sci*, 21(1): 99–110. [黄继红, 张金龙, 杨永, 等, 2013. 特有植物多样性分布格局测度方法的新进展 [J]. *生物多样性*, 21(1): 99–110.]
- JIN Y, QIAN H, 2019. V. PhyloMaker: an R package that can generate very large phylogenies for vascular plants [J]. *Ecography*, 42(8): 1353–1359.
- KEMBEL SW, COWAN PD, HELMUS MR, et al., 2010. Picante: R tools for integrating phylogenies and ecology [J]. *Bioinformatics*, 26(11): 1463–1464.
- KOUGIOUMOUTZIS K, KOKKORIS IP, PANITSA M, et al., 2021. Plant endemism centers and biodiversity hotspots in Greece [J]. *Biology*, 10(2): 72.
- KREFT H, JETZ W, 2007. Global patterns and determinants of vascular plant diversity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104(14): 5925–5930.
- LI CJ, CHEN YL, YANG FM, et al., 2020. Population structure and regeneration dynamics of *Firmiana major*, a dominant but endangered tree species [J]. *For Ecol Manag*, 462: 117993.
- LI JJ, FANG XM, 1999. Uplift of the Tibetan Plateau and environmental changes [J]. *Chin Sci Bull*, 44(23): 2117–2124.
- LI R, KRAFT NJB, YU HY, et al., 2015. Seed plant phylogenetic diversity and species richness in conservation planning within a global biodiversity hotspot in eastern Asia [J]. *Conserv Biol*, 29(6): 1552–1562.
- LI R, WEN J, 2014. Phylogeny and biogeography of Asian *Schefflera* (Araliaceae) based on nuclear and plastid DNA sequence data [J]. *J Syst Evol*, 52(4): 431–449.
- LI R, YUE J, 2020. A phylogenetic perspective on the evolutionary processes of floristic assemblages within a biodiversity hotspot in eastern Asia [J]. *J Syst Evol*, 58(4): 413–422.
- LI XW, 1985. Floristic study of Yunnan Province [J]. *Acta Bot Yunnan*, 7(4): 361–371. [李锡文, 1985. 云南植物区系 [J]. *云南植物研究*, 7(4): 361–371.]
- LI XW, 1994. Two big biodiversity centers of Chinese endemic genera of seed plants and their characteristics in Yunnan Province [J]. *Acta Bot Yunnan*, 16(3): 221–227. [李锡文, 1994. 中国特有种子植物属在云南的两大生物多样性中心及其特征 [J]. *云南植物研究*, 16(3): 221–227.]
- LU LM, MAO LF, YANG T, et al., 2018. Evolutionary history of the angiosperm flora of China [J]. *Nature*, 554(7691): 234–238.
- MANCHESTER SR, CHEN ZD, LU AM, et al., 2009. Eastern Asian endemic seed plant genera and their paleogeographic history throughout the Northern Hemisphere [J]. *J Syst Evol*, 47(1): 1–42.
- MILLER RM, RODRÍGUEZ JP, ANISKOWICZ-FOWLER T, et al., 2007. National threatened species listing based on IUCN criteria and regional guidelines: current status and future perspectives [J]. *Conserv Biol*, 21(3): 684–696.
- MISHLER BD, GURALNICK R, SOLTIS PS, et al., 2020. Spatial phylogenetics of the North American flora [J]. *J Syst Evol*, 58(4): 393–405.
- MISHLER BD, KNERR N, GONZÁLEZ-OROZCO CE, et al., 2014. Phylogenetic measures of biodiversity and neo-and paleo-endemism in Australian *Acacia* [J]. *Nat Commun*, 5: 4473.

- MORLON H, SCHWILK DW, BRYANT JA, et al., 2011. Spatial patterns of phylogenetic diversity [J]. *Ecol Lett*, 14(2): 141-149.
- MORUETA-HOLME N, ENGEMANN K, SANDOVAL-ACUÑA P, et al., 2015. Strong upslope shifts in Chimborazo's vegetation over two centuries since Humboldt [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 112(41): 12741-12745.
- MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, et al., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities [J]. *Nature*, 403(6772): 853-858.
- ORME CDL, DAVIES RG, BURGESS M, et al., 2005. Global hotspots of species richness are not congruent with endemism or threat [J]. *Nature*, 436(7053): 1016-1019.
- PIMM SL, JENKINS CN, ABELL R, et al., 2014. The biodiversity of species and their rates of extinction, distribution, and protection [J]. *Science*, 344(6187): 1246752. DOI: 10.1126/science.1246752.
- QIAN H, 2018. Climatic correlates of phylogenetic relatedness of woody angiosperms in forest communities along a tropical elevational gradient in South America [J]. *J Plant Ecol*, 11(3): 394-400.
- QIN HN, YANG Y, DONG SY, et al., 2017. Threatened species list of China's higher plants [J]. *Biodivers Sci*, 25(7): 696-744. [覃海宁, 杨永, 董仕勇, 等, 2017. 中国高等植物受威胁物种名录 [J]. *生物多样性*, 25(7): 696-744.]
- QUINTERO I, JETZ W, 2018. Global elevational diversity and diversification of birds [J]. *Nature*, 555(7695): 246-250.
- RAHBEK C, BORREGAARD MK, COLWELL RK, et al., 2019. Humboldt's enigma: What causes global patterns of mountain biodiversity? [J]. *Science*, 365(6458): 1108-1113.
- SMITH SA, BROWN JW, 2018. Constructing a broadly inclusive seed plant phylogeny [J]. *Am J Bot*, 105(3): 302-314.
- SUN WB, LIU DT, ZHANG P, 2021. Conservation research of plant species with extremely small populations (PSESP): Progress and future direction [J]. *Guihaia*, 41(10): 1605-1617. [孙卫邦, 刘德团, 张品, 2021. 极小种群野生植物保护研究进展与未来工作的思考 [J]. *广西植物*, 41(10): 1605-1617.]
- TANG G, ZHANG MG, LIU C, et al., 2014. Phylogenetic support for the Tropical Niche Conservatism Hypothesis despite the absence of a clear latitudinal species richness gradient in Yunnan's woody flora [J]. *Biogeosci Disc*, 11(5): 7055-7077.
- THOMAS CD, CAMERON A, GREEN RE, et al., 2004. Extinction risk from climate change [J]. *Nature*, 427(6970): 145-148.
- WANG B, CHEN G, LI C, et al., 2017. Floral characteristics and pollination ecology of *Manglietia ventii* (Magnoliaceae), a plant species with extremely small populations (PSESP) endemic to South Yunnan of China [J]. *Plant Divers*, 39(1): 52-59.
- WANG Y, 2006. Yunnan mountain climate [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press. [王宇, 2006. 云南山地气候 [M]. 昆明: 云南科技出版社.]
- WEBB CO, 2000. Exploring the phylogenetic structure of ecological communities: an example for rain forest trees [J]. *Am Nat*, 156(2): 145-155.
- WU ZY, 1977-2006. *Flora Yunnanica* [M]. Beijing: Science Press. [吴征镒, 1977-2006. 云南植物志 [M]. 北京: 科学出版社.]
- WU ZY, RAVEN PH, HONG DY, 1994-2012. *Flora of China* [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- WU ZY, ZHU YC, JIANG HQ, 1987. *Vegetation of Yunnan* [M]. Beijing: Science Press. [吴征镒, 朱彦丞, 姜汉桥, 1987. 云南植被 [M]. 北京: 科学出版社.]
- XING YW, REE RH, 2017. Uplift-driven diversification in the Hengduan Mountains, a temperate biodiversity hotspot [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114(17): E3444-E3451.
- YANG YG, 1990. *Comprehensive physical regionalization in Yunnan* [M]. Beijing: Higher Education Press. [杨一光, 1990. 云南省综合自然区划 [M]. 北京: 高等教育出版社.]
- YAO X, SONG Y, YANG JB, et al., 2021. Phylogeny and biogeography of the hollies (*Ilex* L., Aquifoliaceae) [J]. *J Syst Evol*, 59(1): 73-82.
- ZHANG JW, NIE ZL, WEN J, et al., 2011. Molecular phylogeny and biogeography of three closely related genera, *Soroseris*, *Stebbinsia*, and *Syncalathium* (Asteraceae, Cichorieae), endemic to the Tibetan Plateau, SW China [J]. *Taxon*, 60(1): 15-26.
- ZHANG X, LANDIS JB, SUN YX, et al., 2021. Macroevolutionary pattern of *Saussurea* (Asteraceae) provides insights into the drivers of radiating diversification [J]. *Proc Roy Soc B-Biol Sci*, 288(1962): 20211575.
- ZHANG XM, QIN HT, XIE WJ, et al., 2020. Comparative population genetic analyses suggest hybrid origin of *Rhododendron pubicostatum*, an endangered plant species with extremely small populations endemic to Yunnan, China [J]. *Plant Divers*, 42(4): 312-318.
- ZHANG YB, MA KP, 2008. Geographic distribution patterns and status assessment of threatened plants in China [J]. *Biodivers Conserv*, 17(7): 1783-1798.
- ZHU H, 2013. The floras of southern and tropical southeastern Yunnan have been shaped by divergent geological histories [J]. *PLoS ONE*, 8(5): e64213.
- ZHU H, 2016. A biogeographical comparison between Yunnan, southwest China, and Taiwan, southeast China, with implications for the evolutionary history of the east Asian flora [J]. *Ann Mol Bot Gard*, 101(4): 750-771.
- ZHU H, 2017. A biogeographical study on tropical flora of southern China [J]. *Ecol Evol*, 7(23): 10398-10408.
- ZHU H, 2021. Vegetation geography of evergreen broad-leaved forests in Yunnan, southwestern China [J]. *Chin J Plant Ecol*, 45(3): 224-241. [朱华, 2021. 云南常绿阔叶林的植被地理研究 [J]. *植物生态学报*, 45(3): 224-241.]

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202202004

陈模舜, 杨仲毅. 基于叶绿体基因组 SNP 的天台鹅耳枥谱系结构与分化分析 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1703–1716.
CHEN MS, YANG ZY. Genealogical structure and differentiation analysis of *Carpinus tientaiensis* based on single nucleotide polymorphism of chloroplast genome [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1703–1716.



基于叶绿体基因组 SNP 的天台鹅耳枥 谱系结构与分化分析

陈模舜, 杨仲毅

(台州学院 生命科学学院, 浙江省植物进化生态学与保护重点实验室, 浙江 台州 318000)

摘要: 天台鹅耳枥为中国特有的濒危植物, 仅间断分布于浙江省境内, 种群数量稀少, 已处于极危状态。该文通过对 6 个自然居群(包含所有居群的母株)叶绿体基因组(cpDNA)单核苷酸多态性(SNP)研究, 探讨天台鹅耳枥谱系结构与系统分化, 以评估濒危状况, 并提出相应的保护策略。使用 TIANGEN 试剂盒法提取基因组 DNA, 用 Illumina NovaSeq 6000 进行高通量测序, 对获得叶绿体全基因组序列, 使用在线程序 OGDRAW 制作 cpDNA 图谱, 用 DnaSP 分析核苷酸多样性, 用 PopART 软件进行单倍型网络构建, 使用 RAxML 软件构建极大似然树(ML tree), 用 MrBayes 构建 Bayes tree。结果表明:(1)通过天台鹅耳枥叶绿体全基因组序列分析, 发现大多数蛋白质编码基因和氨基酸序列显示出明显的密码子偏好, 检测到 cpLTR 正向重复 32 个、回文重复 25 个、反转重复 22 个; SSR 重复序列不同类型 87 个, 其中大多数富含 A/T, 单核苷酸的数量最多。(2)在 cpDNA 中鉴定了 314 条 SNPs, 单核苷酸取代显示天台鹅耳枥群体属单系, 分为天台居群(THS)和景宁县居群(JST), 居群单倍型之间演化关系呈现星状中心辐射。(3)所有居群核苷酸多样性的变异均较低($P_i < 0.005$), JST 居群和 THS 居群单倍型多样性较低(H_d 为 0.5~0.6), 显示出天台鹅耳枥在历史上遇到瓶颈后曾发生局部扩张, 居群间呈现较大的遗传分化, 居群内具有较低的遗传变异与居群间较高的分化水平。通过对 cpDNA SNP 的研究, 揭示天台鹅耳枥的遗传多样性和谱系分化, 为濒危植物天台鹅耳枥种质资源保护和遗传拯救提供理论依据。

关键词: 天台鹅耳枥, 叶绿体基因组, 单核苷酸多态性, 谱系结构, 系统发育

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1703-14

Genealogical structure and differentiation analysis of *Carpinus tientaiensis* based on single nucleotide polymorphism of chloroplast genome

CHEN Moshun, YANG Zhongyi

(School of Life Sciences, Taizhou University, Zhejiang Provincial Key Laboratory of Plant Evolutionary Ecology and Conservation, Taizhou 318000, Zhejiang, China)

收稿日期: 2022-04-09

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目(LY19C060001) [Supported by Basic Public Welfare Research Project of Zhejiang Province (LY19C060001)].

第一作者: 陈模舜(1962-), 副教授, 主要从事植物生态学、种群遗传学、濒危植物保护生物学研究, (E-mail) cmshoh@tzc.edu.cn.

Abstract: *Carpinus tientaiensis* is an endangered plant species with sparse population densities and is endemic to China. The distribution of this species is restricted to the territory of Zhejiang Province and its survival rate is very low. Based on data of chloroplast genome (cpDNA) single nucleotide polymorphism (SNP) in six natural populations (including the mother plants of all populations), we investigated genealogical structure and systematic development, assessed how endangered *C. tientaiensis* is and put forward relevant conservation strategies. The genomic DNA of *C. tientaiensis* was extracted using TIANGEN kit method and a library was constructed for high-throughput sequencing with Illumina NovaSeq 6000. To obtain the sequence of chloroplast complete genome, cpDNA maps were constructed using the online program OGDRAW. Nucleotide diversity was analyzed by DnaSP software while PopART was used for haploid network construction and RAxML was adopted for maximum likelihood (ML) tree construction. Finally, MrBayes software was used for construction of Bayes tree. The results were as follows: (1) According to chloroplast complete genome sequence analysis of *C. tientaiensis*, most of the protein-coding genes and amino acid sequences showed obvious codon preference. Moreover, chloroplast long-term relationship (cpLTR) revealed 32 forward repeats, 25 palindromic repeats and 22 reverse repeats. We detected 87 simple sequence repeats (SSR) in different types, most of which were A/T rich and the number of single nucleotides was the largest. (2) A total of 314 SNPs was identified in the cpDNA of *C. tientaiensis*. Single-nucleotide substitution indicated that *C. tientaiensis* was monophyletic and could be categorized into Tiantai County (THS) and Jingning County (JST) populations. The evolution of the haplotypes of the population manifested stellar radiation. (3) The variation of nucleotide diversity was low in all populations ($P_i < 0.005$) and the haplotype diversity of THS and JST populations was also low (H_d 0.5–0.6). This indicated that *C. tientaiensis* had undergone historically local expansions after experiencing bottlenecks across its evolution history, with lower genetic variation within populations and higher level of diversity among populations. The results of SNP of the cpDNA reveal the genetic diversity and lineage differentiation of *C. tientaiensis*, and provide theoretical basis for conservation of the genetic resources as well as rescue of this endangered plant species.

Key words: *Carpinus tientaiensis*, chloroplast genome (cpDNA), single nucleotide polymorphism (SNP), genealogical structure, phylogeny

天台鹅耳枥 (*Carpinus tientaiensis*) 属于桦木科 (Betulaceae) 鹅耳枥属 (*Carpinus*), 为中国特有和濒危的第三纪孑遗植物, 是国家二级重点保护野生植物 (章绍尧等, 1993)。我国是鹅耳枥属植物的分布中心, 约有 33 种 8 变种 (傅立国, 2003), 其中东南沿海是鹅耳枥属植物一个重要的分布区, 天台鹅耳枥 (*C. tientaiensis*) 和普陀鹅耳枥 (*C. putoensis*) 等为浙江地区特有 (陈之端, 1994)。中国植物志曾记载天台鹅耳枥产于浙江东部 (中国科学院中国植物志编辑委员会, 1979), 浙江植物志统计天台鹅耳枥仅存 5 株 (章绍尧等, 1993), 但近年来在磐安县和景宁县等地有所发现, 仅间断分布于浙江省境内的天台县、磐安县、青田县和景宁畲族自治县, 野外成年植株不足 50 株, 幼年个体缺少, 低于野外种群稳定存活界限, 已处于极危状态。生境片断化使得野生居群变小及居群间的隔离程度增加, 这将会导致遗传变异丧失和近交衰退, 最终增加物种灭绝的风险 (Aguilar et al.,

2008; Wei & Jiang, 2012)。根据 IUCN 物种红色名录, 天台鹅耳枥属于极危 (critically endangered, CR) 等级。天台鹅耳枥染色体为 14 倍体 ($2n = 14x = 112$), 是桦木科倍性最高的多倍体植物 (陈模舜等, 2020)。天台鹅耳枥在研究桦木科分类、古植物区系、濒危机制等研究中具有很高的科研价值 (章绍尧和丁炳扬, 1993; 王昌腾和叶春林, 2007)。

目前, 仅对天台鹅耳枥组织解剖结构、光合特性对生长光强的响应、群落特征等方面进行了研究 (陈模舜和柯世省, 2013; 陈模舜等, 2020)。但天台鹅耳枥种群的进化机制与种内系统发育尚未明确, 必须收集群体样本进行基因组学的分析, 在基因组水平上加深对这一濒危物种居群动态的了解。叶绿体基因组 (chloroplast genome, cpDNA) 由于其高基因含量和保守的基因组结构, 可用于研究开花植物的母系遗传, 特别是多倍体植物 (Birky, 1995; Soltis & Soltis, 2000)。cpDNA 通常

包含单亲遗传的 DNA, 由于其自我复制机制和相对独立的进化, 来自叶绿体的遗传信息经常被用来探索近缘种间和种内的亲缘关系(于涛等, 2019)。目前, 叶绿体全基因组高通量测序技术为系统进化分析提供了大量的信息位点, 比较基因组结构、基因的变异和重复序列排列, 有利于构建居群遗传结构、居群历史动态和谱系间分化(孙逸, 2012; 王佳慧, 2015)。本研究通过对天台鹅耳枥叶绿体基因组高通量测序, 通过对单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)研究, 分析多态位点和核苷酸变异, 评估居群的遗传多样性水平, 推断天台鹅耳枥的谱系结构和分化, 为天台鹅耳枥种质资源的保护与恢复制定策略。

1 材料与方 法

1.1 天台鹅耳枥样地调查及测试材料

天台鹅耳枥自然居群最高海拔相近, 均在 890 m 以上, 同属亚热带山地湿润气候, 土壤 pH 值为酸性, 森林植被覆盖率较高, 植被类型为亚热带常绿阔叶林(陈模舜等, 2020)。天台鹅耳枥分布范围狭窄, 仅浙江省的天台县华顶山, 磐安县的大盘山、高姥山和青明尖, 青田县仰天湖和景宁畲族自治县上山头存在野生群落。其中天台县华顶山共存 19 株, 青田县仰天湖仅存 1 株, 景宁县大际乡上山头胸径 20 cm 以上 18 株, 磐安县境内的大盘山共存 3 株, 高姥山和青明尖各为 1 株。磐安县每个居群之间相隔 20 km 之内, 天台县居群与景宁县居群直线距离约 250 km(表 1)。

天台鹅耳枥材料采集自 6 个自然居群 26 个植株(包含所有居群的母株)(表 1)。其中景宁县上山头样地 50 m × 15 m, 每隔 5~6 m 采集 1 株, 共 9 株, 平均胸径 25.2 cm; 孤树 1 株, 分枝最大胸径 11.1 cm。磐安县大盘山、高姥山、青明尖共采集 5 株, 平均胸径 20.41 cm。青田县仰天湖采集 1 株, 胸径 28.66 cm。天台县华顶山西茅棚采集 7 株, 平均胸径 43.08 cm, 公路附近 3 株平均胸径 20.07 cm。野外采集新鲜叶子后将其冷冻在干冰中, 清洁叶片, 并保存在 -80 °C 的冰箱中以备后续实验研究。

1.2 cpDNA 测序、组装与注释

cpDNA 提取使用 TIANGEN 的 DNasecure 新型植物基因组 DNA 提取试剂盒(DP320), 然后在

Illumina NovaSeq 6000 平台, 以 150 bp 的对端读数高通量测序, 每个样本至少 6 Gb 的原始序列数据。在过滤原始数据并消除数据质量的影响(Phred 分数 Cutoff-30)之后, 我们获得了高质量的数据。对获得 26 个天台鹅耳枥叶绿体全基因组序列, 利用已发表的 cpDNA 序列(登录号: KY174338)作为参考序列(Yang et al., 2017), 采用 DOGMA 软件注释完整的 cpDNA(Wyman et al., 2004), 使用在线程序 OGDRAW(<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)制作 cpDNA 图谱, 同时对每条序列的 cpDNA 基本信息进行统计, 包括基因组大小、基因特征和 GC 含量。

1.3 重复序列、IR 区域与边界的扩张收缩和密码子偏好性分析

重复序列中散在重复使用 Reputer 软件分析, 用 cpLTR 表示; 简单重复序列(sequence of simple repeat, SSR)鉴定使用 MISA(<http://pgrc.ipk-gatersleben.de/misa/>)工具(参数: 1-10 2-5 3-4 4-3 5-3 6-3)分析。比较不同序列大单拷贝区(large single copy, LSC)、小单拷贝区(small single copy, SSC)和反向重复区(inverted repeats, IR)长度及边界, 使用在线工具 IRscope(<https://irscope.shinyapps.io/irapp/>)完成 IR 区域与边界的扩张收缩分析。通过 R 软件分析密码子偏好并作图。

1.4 系统发育树分析

为了检查物种不同区域的系统发育, 根据完整的 cpDNA 序列进行系统发育分析, 使用 RAxML 8.0 软件进行极大似然树(maximum likelihood tree, ML tree)构建, 结合 MrBayes 3.3 软件进行贝叶斯推断法构建 Bayes tree。基于 cpDNA 开发单倍型, 运用 PopART 软件构建单倍型网络(Kimura, 1980; Leigh & Bryant, 2015)。使用 DnaSP v6(<http://www.ub.edu/dnasp/>)软件分析核苷酸多样性参数, 通过 AMOVA 分子方差分析, 评估谱系间的分子变异程度和遗传分化固定指数 F_{st} , 分析得到谱系间的分化程度。

2 结果与分析

2.1 天台鹅耳枥叶绿体的基本特征

Illumina NovaSeq 6000 测序平台, 以 150 bp 的对端读数, 每个样本平均产生 3 000 万对配对读取, 从 26 个天台鹅耳枥生成的数据中确定每个完

表 1 天台鹅耳枥分布地的基本概况

Table 1 Basic conditions of distribution regions of *Carpinus tientaiensis*

采集编号 Collecting number	样本量 Sample size	分布地区 Distribution region	经纬度 Latitude and longitude	海拔高度 Altitude (m)	样本编号 Sample ID
JST	10	景宁县上山头 Shangshantou, Jingning County	119°37' E, 27°46' N	1 520	JST_1~10
PDS	3	磐安县大盘山 Dapan Mountain, Pan'an County	120°31' E, 28°58' N	1 130	PDS_1~3
PGS	1	磐安县高姥山 Gaomu Mountain, Pan'an County	120°32' E, 28°54' N	1 140	PGS_1
PQJ	1	磐安县青明尖 Qingmingjian, Pan'an County	120°28' E, 28°49' N	1 200	PQJ_1
QYH	1	青田县仰天湖 Yangtianhu, Qingtian County	119°59' E, 28°12' N	1 246	QYH_1
THS	10	天台县华顶山 Huading Mountain, Tiantai County	121°05' E, 29°15' N	890~1 000	THS_1~10

整的 cpDNA。天台鹅耳枥完整 cpDNA 由四部分组成,与鹅耳枥属 (*Carpinus*) 其他植物相似(杨霄月, 2019; 赵儒楠等, 2021)。长度为 159 281~159 841 bp, 平均为 159 616.2 bp, 每个 cpDNA 由 1 个大单拷贝区 (LSC) (88 360~88 711 bp, 平均为 88 522.35 bp) 和 1 个小单拷贝区 (SSC) (18 420~18 794 bp, 平均为 18 634.92 bp) 组成, 并由 1 对反向重复序列 (IR) 隔开 (每个 IR 26 067~26 451 bp, 平均为 26 229.46 bp) (表 2, 图 1)。

经过数据过滤后, Q20 质量评分 (96.46%~97.21%) 平均 96.98%, Q30 质量评分 (90.81%~92.46%) 平均 91.94%。基于叶绿体的统计, 总体 GC 含量平均为 36.41%, LSC、SSC、IR 对应值分别为 34.20%、30.09%、42.37%, IR 区域的 GC 含量高于 LSC、SSC 区域。cpDNA 的 131 个基因中, 包含 86 个蛋白编码基因、37 个 tRNA 基因和 8 个 rRNA 基因。其中: LSC 区域包含 60 个蛋白质编码和 22 个 tRNA 基因; SSC 区域包含 12 个蛋白质编码和 1 个 tRNA 基因; IR 区域有 7 个蛋白质编码, 7 个 tRNA 和所有 4 个 rRNA 基因重复(表 2, 图 1)。

2.2 cpDNA 的重复序列分析

滑动链的不匹配和重复序列的不适当重组可能导致序列变异和 DNA 重排 (Wicke et al., 2011)。重复序列是重要的遗传标记, 和物种的起源进化息息相关。重复序列一般可分为散在重复和简单重复。

散在重复使用 Reputer 软件分析, 这里我们用 cpLTR 长末端重复序列表示。在天台鹅耳枥 cpDNA

表 2 天台鹅耳枥 cpDNA 特征

Table 2 Characteristics of cpDNA of *Carpinus tientaiensis*

基因组特征 Genome characteristic	值 Value
基因组大小 Genome size (bp)	159 616.2
大单拷贝区长度 LSC length (bp)	88 522.35
小单拷贝区长度 SSC length (bp)	18 634.92
反向重复序列长度 IR length (bp)	52 458.92
蛋白质编码基因数量 Protein-coding gene number	86
tRNA 基因数量 tRNA gene number	37
rRNA 基因数量 rRNA gene number	8
基因数 Gene number	131
GC 含量 GC content (%)	36.41

中检测到正向重复平均 32 个、回文重复 25 个、反转重复 22 个(图 2), 这些重复中的大多数表现出 10 到 38 bp 之间的长度。简单重复序列 (SSR) 广泛分布于 cpDNA 中, 包含长度为 1~6 bp 重复序列的短串联重复, cpDNA 中的这种短串联重复是从单亲遗传过来的, SSR 在基因组重组和重排中发挥重要作用, 在群体遗传和进化研究中, 常被用作有效的分子标记 (Zhou et al., 2018)。基于 SSR 位于叶绿体区段类型的数量统计, 天台鹅耳枥蛋白编码基因平均为 48 个基因、tRNA 为 3 个基因、非编码区为 41 个基因。其中, 蛋白编码基因中 6 个基因 (*matK*、*atpA*、*rpoB*、*atpB*、*cemA*、*rpl2*) 具有 1 个串联重复, 1 个 *rpoC2* 基因具有 4 个串联重复, 1 个

ycf1 基因具有 2 个串联重复。其中 LSC 和 SSC 区域共有 25 个 *rps12* 基因串联重复, IR 有 10 个 *rps12* 串联重复基因。

在 cpDNA 中有 87 个不同的 SSR 类型重复了 10 次以上, 其中单核苷酸的数量最多, 平均有 50 个, 占总数的 57.47%; 其次是四核苷酸, 为 14 个, 二核苷酸为 12 个, 三核苷酸、复合核苷酸各为 4 个, 五核苷酸发现的比较少, 为 3 个, 而六核苷酸没有发现(图 3)。在 cpDNA 中发现的 SSR 通常由 A/T 重复组成, 很少包含 G/C 串联重复序列, 其中单核苷酸由 A/T 碱基组成, 占 92%, 这些 SSR 丰富了 cpDNA 的 AT。cpSSR 碱基重复序列中 10 条占 31.20%、11 条占 16.95%、12 条占 34.44%、13 条占 5.65%、14 条以上占 11.76%(图 4)。cpSSR 分区 IRA、IRB 各占 6.58%, LSC 占 68.59%, SSC 占 17.96%, 其中 LSC 重复序列最多(图 5)。在天台鹅耳枥 cpDNA 中, 观察到 SSR 具有丰富的碱基重复和重复条数, 可以作为居群进化研究有用的遗传信息。

2.3 密码子偏好性分析

密码子在遗传信息的传递中起着重要作用, 是核酸和蛋白质之间的联系。通过对所有蛋白质编码的 cpDNA 和氨基酸序列进行统计分析, 天台鹅耳枥 cpDNA 序列的 65.65% 是蛋白编码基因, 结果显示蛋白质密码子的相似性, 其中 AUG、UUA、AGA、GCU、UCU 的频率较高, 而 CUG、GUG、AGC、CUC、CUG 的频率较低(图 6)。在这些密码子中, 蛋白质编码基因中最常见的氨基酸是异亮氨酸(Ile), 其在 cpDNA 中出现 1 146 次。相对同义密码子使用(relative synonymous codon usage, RSCU) 值分析表明, 色氨酸(Trp) 蛋白质编码基因 RSCU = 1, 表示该密码子没有偏好性。其中: 47.62% 密码子的 RSCU > 1, 大多数(28/30, 93.33%) 以 A 或 T(U) 结尾; 50.79% 密码子的 RSCU < 1, 大多数(30/32, 93.75%) 以 C 或 G 结尾(图 6)。

在天台鹅耳枥物种的蛋白质编码 cpDNA 中, 20 个氨基酸由 63 个密码子编码, 其中除天冬氨酸(Asp) 外, 大多数氨基酸都具有密码子偏好性。总共确定了 40 个密码子偏好, 其中涉及 19 个氨基酸。在优选的密码子中, 63.49% 表现出较高的偏好(图 7)。该结果进一步揭示了天台鹅耳枥 cpDNA 的相对保守性, 因为高密子偏好也是高等植物中的常见现象(喻风和韩明, 2021)。

2.4 cpDNA 变异检测

单核苷酸多态性(SNP) 和基因组结构变异在进化过程中至关重要(Britten et al., 2003)。cpDNA 结构性变异有插入/缺失、转换、颠换和基因组结构重排。在 26 个天台鹅耳枥 cpDNA 中鉴定了 314 条 SNPs, JST 居群 SNPs 平均为 132 条、QYH 为 126 条、PDS 为 18 条、PGS 为 18 条、PQJ 为 8 条、THS 为 12 条。以居群植株与 THS_1 cpDNA 比对, 结果表明 JST 居群碱基颠换数(transversion, Tv) 平均为 95 个、QYH 为 90 个、PDS 为 16 个、PGS 为 15 个、PQJ 为 6 个、THS 为 12 个(表 3)。研究的所有成对序列比较表明, 颠换次数多于转换次数, 这在其他分类群中也被发现(Stoltzfus & Norris, 2016)。

2.5 IR 区域与边界的扩张收缩

被子植物的 cpDNA 是高度保守的, IR 区域和单拷贝(single copy, SC) 边界区域的扩展和收缩是造成高等植物 cpDNA 长度变化的主要机制(Saina et al., 2018)。比较 26 个完整的天台鹅耳枥 cpDNA 的 IR/SC 边界区域, 发现在连接位置上有明显差异。其中, *rpl2* 基因的长度都是 1 513 bp, 其端点较保守, 离 JLA、JLB 基因间隔区都是 71 bp。*trnN-GUU* 的长度是 72 bp, 离 JSB、JSA 基因间隔区变化为 1 516~1 864 bp, 不超过以下基因间隔区的终点。*rps19* 基因在 JSB/IRb 边界处由 JSB 向 IRb 延伸 3 bp。*ycf1* 基因跨越 JSA/IRa 区, 4 211~4 553 bp 位于 SSC 区域内, 向 IRb 延伸 1 192~1 540 bp(图 8)。这 4 个 cpDNA 中 IR/SC 边界处的变异导致了整个 cpDNA 序列长度的差异, 并在其他植物中也已发现(Yin et al., 2018)。

2.6 基于完整的 cpDNA 序列的群体分析

2.6.1 单倍型网络构建 通过天台鹅耳枥 cpDNA 分析, 运用一段遗传连锁的核酸序列的变异来区分, 构建单倍型网络(haplotype network)。在系统发育分析时, 核苷酸碱基一个插入或缺失作为一次进化事件进行编码分析。天台鹅耳枥单倍型中的大多数具有居群单倍型, 几乎没有观察到居群之间的单倍型共享。在地理上接近的天台县(THS)(H1~H3)、景宁县(JST)(H4~H6)、磐安县大盘山(PDS)(H7~H9), 各居群内具有相同单倍型; 而磐安县青明尖(PQJ)H10、磐安县高姥山(PGS)H11 和青田县(PQJ)H12 是在单个标本中发现的私有单倍型。根据统计单倍型网络图(图

9),揭示了两组单倍型,在此研究中称为浙东组 THS 居群和浙西组 JST 居群,由 95 个突变步骤隔开。根据多态位点分析 JST 居群和 THS 居群可多位点和插入,在 *rps16-trnQ* 序列有 3 个核苷酸取代,分别为 T→C (位置 275)、A→G (位置 299) 和 T→G (位置 1254) 区分了浙东组 THS 居群 (T、A 和 T) 和浙西组 JST 居群 (C、G 和 G)。从网络图推测可能的种群历史,除来自 THS 居群和 JST 居群单倍型之间碱基突变为 95 个较远外,居群组单倍型之间演化关系呈现星状中心辐射。THS 居群的单倍型演化出 PDS 亚群、PQJ 亚群和 PGS 亚群,居群组单倍型之间差异仅 2~6 个碱基突变,THS 居群与 PDS 亚群单倍型之间的替代链接提示可能存在同源性;JST 居群的单倍型演化出 QYH 亚型,2 个单倍型之间少量差异 (1~2 个碱基突变),显示出天台鹅耳枥居群在历史上遇到瓶颈后曾发生局部扩张。

2.6.2 系统进化树构建 cpDNA 包含丰富的系统发育信息,已被广泛用于近缘种间和种内水平的系统发育重建。使用 cpDNA 数据,解决了与各种系统发育困难群体相关的长期争议。为了评估天台鹅耳枥系统发生关系,使用 26 个天台鹅耳枥植株全叶绿体序列进行系统发育分析。通过极大似然树 (RAxML) 和贝叶斯推断法 (MrBayes) 生成系统树,系统发育分析每个节点数字为极大似然法 (ML) 支持值 (Bootstrap support, BS) (%) 和贝叶斯 (BA) 后验概率 (posterior probability, PP) (%) (Stamatakis, 2014; Xie et al., 2018)。

在完整 cpDNA 序列中,通过系统分析,6 个自然居群分为 THS 居群和 JST 居群 (100BS/100PP)。THS 居群包含第一分支 THS_10 和 THS_2~3 (65BS/83PP); 第二分支 PQJ_1 (61BS/60PP), PDS_1 (59BS/73PP), PGS_1 和 PDS_2~3 (70BS/100PP), THS_1 和 THS_4~9 (70BS/100PP)。JST 居群包含第一分支 JST_7 和 JST_9~10 (89BS/100PP); 第二分支 JST_1~6、JST_8 和 QYH_1 (85BS/100PP) (图 10)。LSC、SSC 数据集的拓扑结构与物种 cpDNA 系统树具有一致性,在种内进化枝中仅发生了细微的拓扑差异,支持形成单系的群体。

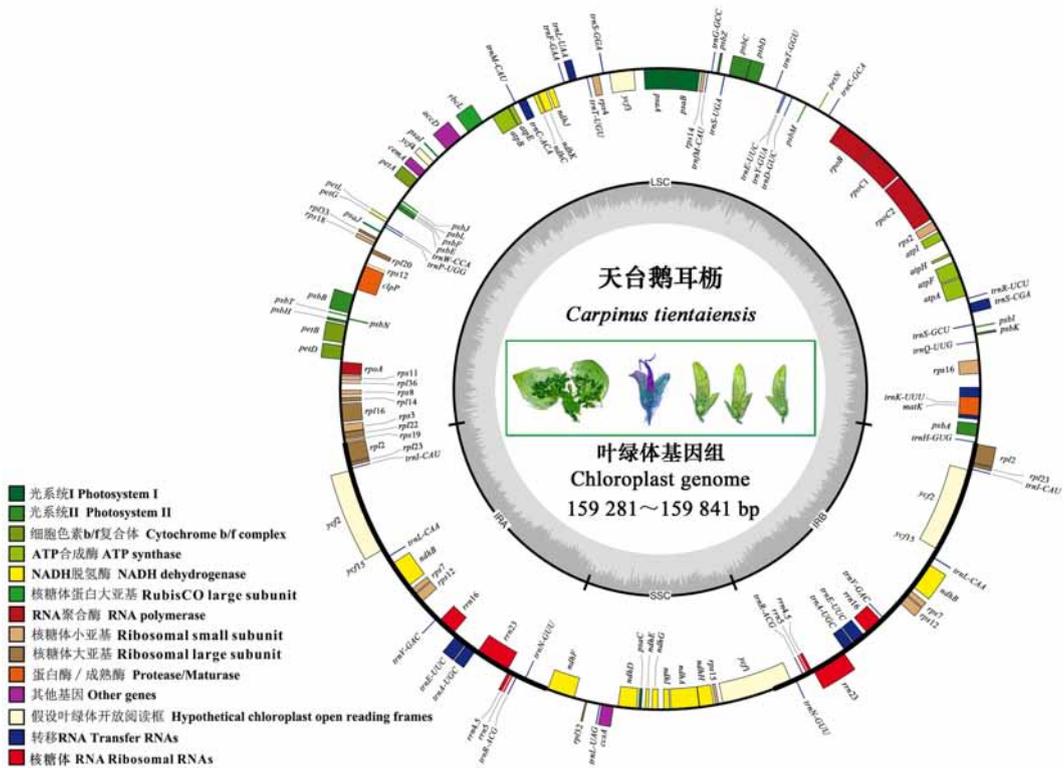
2.6.3 谱系结构分析 利用 DnaSP 计算遗传多样性参数,通过 AMOVA 分子方差分析,评估谱系间的分化变异程度,遗传分化固定指数 F_{st} 分析得到谱系间的分化程度。核苷酸取代和插入/缺失变

异揭示了 6 个天台鹅耳枥分布区中的 12 个 cpDNA 单倍型 (N_h), 这些单倍型中的 25% 是在单个植株中发现的,几乎没有观察到居群之间的共享单倍型。谱系间的分化可以通过对单倍型多样性指数 (H_d) 与核苷酸多样性指数 (P_i) 进行分析,其数值越大,说明其遗传多样性越高 (周文漪, 2014; Nikulin et al., 2020)。其中,PGS 亚群、PQJ 亚群和 YHS 亚群由单一植株组成,仅有私有单倍型。JST 居群 P_i 为 0.000 01, THS 居群 P_i 为 0.000 02, PDS 居群 P_i 为 0.000 03, 所有居群核苷酸多样性的变异均较低 ($P_i < 0.005$)。从单倍型多样性指数看, JST 居群 H_d 为 0.6, THS 居群 H_d 为 0.511, JST 居群和 THS 居群单倍型多样性相对较低,其中 PDS 亚群 H_d 为 1, 由于 PDS 居群仅有 3 株个体,单倍型多样性偏高 (表 4)。

天台鹅耳枥 6 个居群的分子变异分析 (AMOVA) 结果表明,居群间的遗传分化固定指数 F_{st} 为 0.970 9, 谱系间分化较大,表明在整个遗传变异中居群间遗传变异占 97.09%, 居群内遗传变异占 2.91%, 居群间的遗传变异大于居群内 (表 5)。这种分布格局的主要原因是生境的片段化,地理隔离阻碍了居群间的基因交流 (孙逸, 2012; 郑鑫, 2015; Nikulin et al., 2020)。

3 讨论与结论

完整的 cpDNA 序列可提供丰富的系统发育信息来源,天台鹅耳枥 cpDNA 的长度平均为 159 616.2 bp, GC 含量相似,为 36.41%, 说明该物种 cpDNA 的高度保守性质。重复分析显示在天台鹅耳枥 cpDNA 中发现 LTR 重复序列包括正向重复平均 32 个、回文重复 25 个、反转重复 22 个, SSR 重复序列不同类型 87 个。这些重复中的大多数位于蛋白编码区、非编码区和 tRNA 中。在藻类和被子植物基因组中 LTR 重复序列很常见,是促进 cpDNA 重排的主要因素之一,并且许多重排终点都与此类重复序列相关 (Pombert et al., 2005; Zhang et al., 2020)。在所有个体中,SSR 通常由 A/T 重复组成,其中单核苷酸由 A/T 碱基组成,占 92%, 大多数蛋白质编码基因都具有高度的密码子偏好性,在优选的密码子中,63.49% 表现出较高的偏好,叶绿体密码子的第三个 A/T 偏好较高。相关研究表明基因组 AT 含量与重复序列的动力



不同功能群的基因用颜色编码。外圆的基因是顺时针转录的,而内圆的基因则是逆时针转录的。内圆的虚线区域表示 cpDNA 的 GC 含量。

Genes belonging to different functional groups are color-coded. Genes show the outer circle are transcribed clockwise and those inner circle are transcribed counterclockwise. Dashed area in the inner circle indicates the GC content of the cpDNA.

图 1 天台鹅耳枥 cpDNA 图谱

Fig. 1 Gene map of *Carpinus tientaiensis* cpDNA

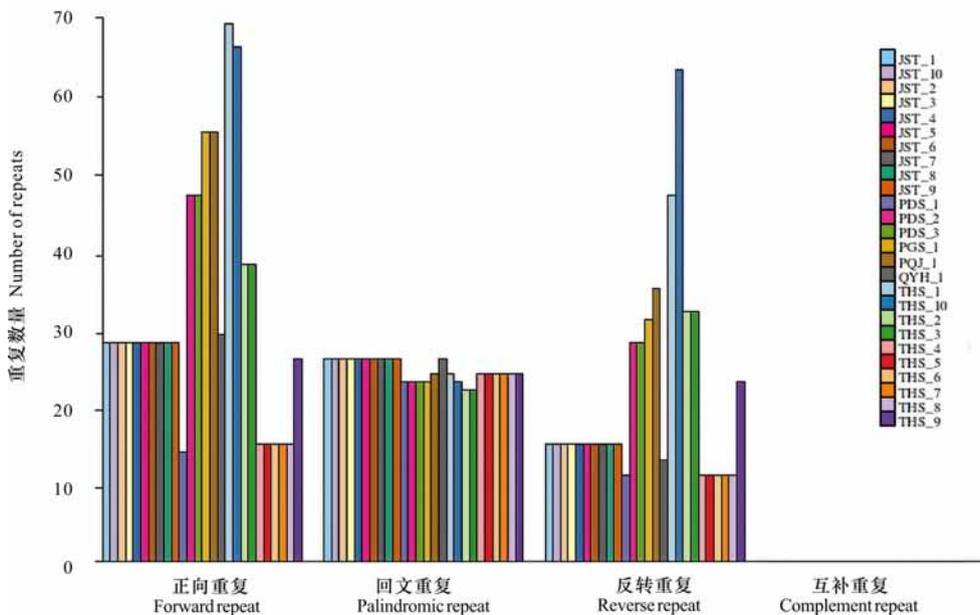
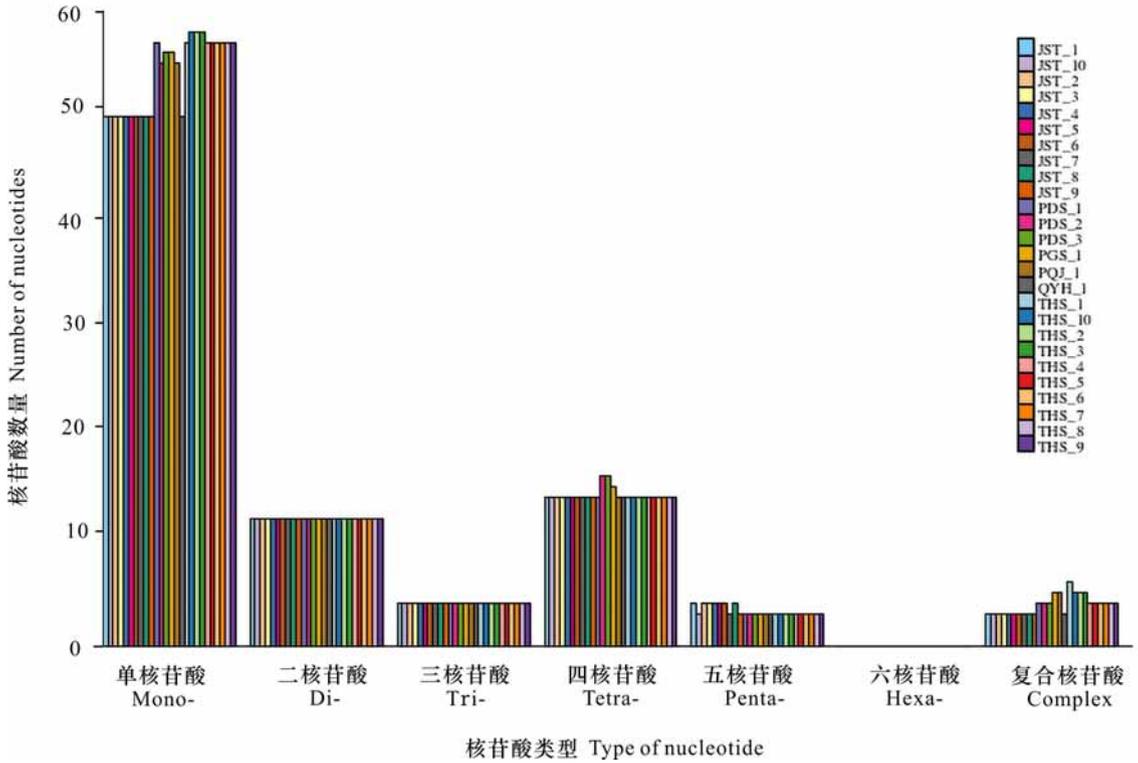


图 2 天台鹅耳枥 cpLTR 的类型数量

Fig. 2 Number of cpLTR types detected in *Carpinus tientaiensis*



Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta-, Hexa-表示 1~6 核苷酸 SSR, Complex 表示复合核苷酸 SSR。
 Mono-, Di-, Tri-, Tetra-, Penta-, Hexa- indicate 1 to 6 nucleotide SSR, and Complex indicates complex nucleotide SSR.

图 3 天台鹅耳枥 cpSSR 的类型数量
 Fig. 3 Number of cpSSR types detected in *Carpinus tientaiensis*

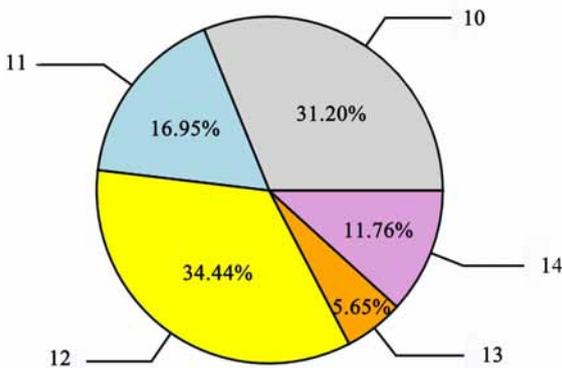


图 4 天台鹅耳枥 cpSSR 碱基序列条数分布
 Fig. 4 Frequencies distribution of cpSSR base sequences identified in *Carpinus tientaiensis*

系统发育解析提供了有益的标记 (郑鑫, 2015; Nikulin et al., 2020)。根据溯祖理论,通过单倍型网络图,结合地理信息我们可以推断种群的起源、扩散历史 (Huang et al., 2014)。通过对 SNP 多态位点和核苷酸变异分析,单核苷酸取代显示天台鹅耳枥分为天台县居群 (THS) 和景宁县居群 (JST),亚群间距离相近的优先聚为一支。除来自 THS 居群和 JST 居群单倍型关系较远外,居群组大部分单倍型之间仅有 2~6 个碱基突变,某几个同一或者相近地理居群的单倍型具有聚类现象,这可能由于该物种对亚热带湿润气候或暖温带气候的环境要求较高造成 (陈之端, 1994)。天台鹅耳枥具有居群组单倍型,没有居群之间的单倍型共享,这种单系进化枝可能是由于地理隔离导致短时期内居群之间基因交流较少造成的 (Nikulin et al., 2020)。所有居群核苷酸多样性的变异均较低 ($P_i < 0.005$), JST 居群和 THS 居群单倍型多样性较低 (H_d 为 0.5~0.6), 表明最近发生过居群瓶

学以及叶绿体蛋白编码基因的密码子偏向性有关 (Yu et al., 2019; Wu et al., 2020)。

cpDNA SNP 的数量及碱基颠换为物种之间的

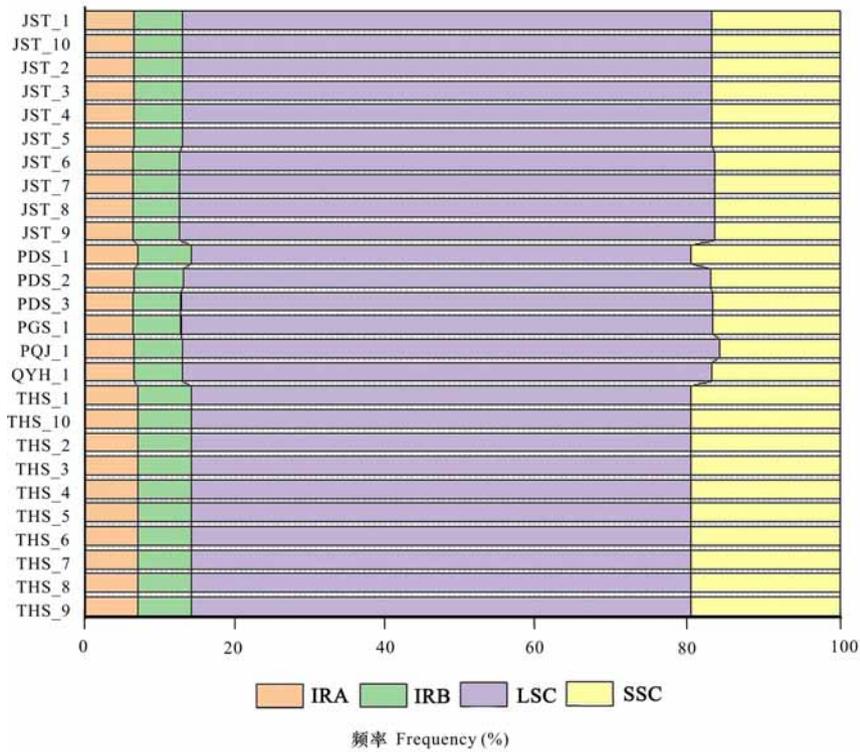


图 5 天台鹅耳枥 SSR 在 LSC, IR 和 SSC 区域的频率

Fig. 5 Frequencies of identified SSR in LSC, IR and SSC regions of *Carpinus tientaiensis*

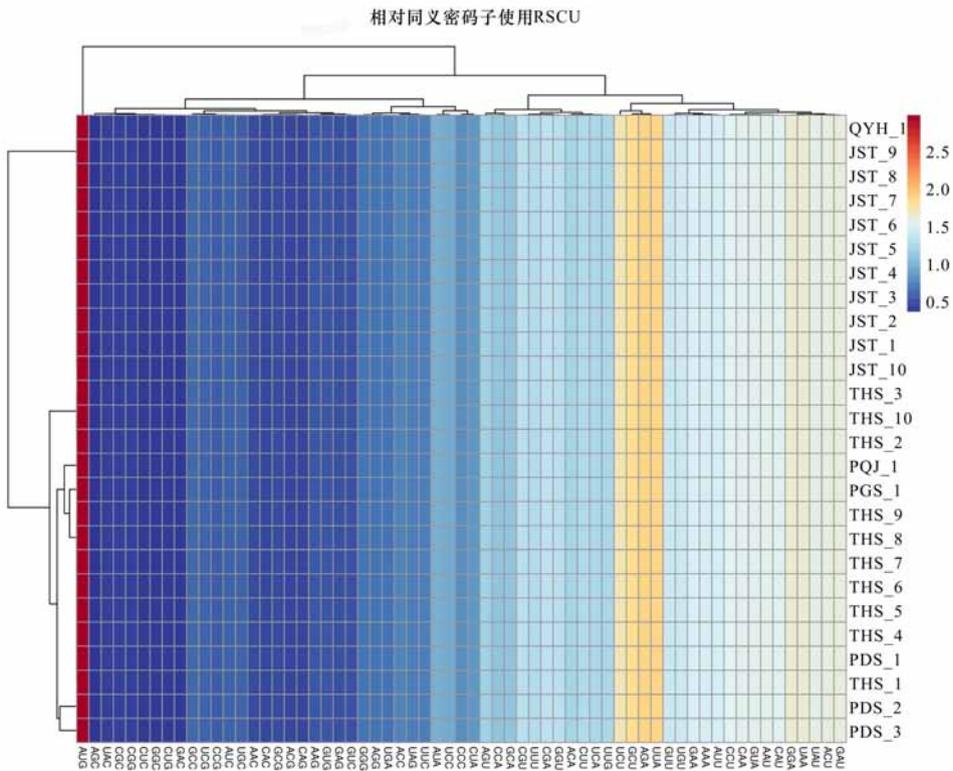
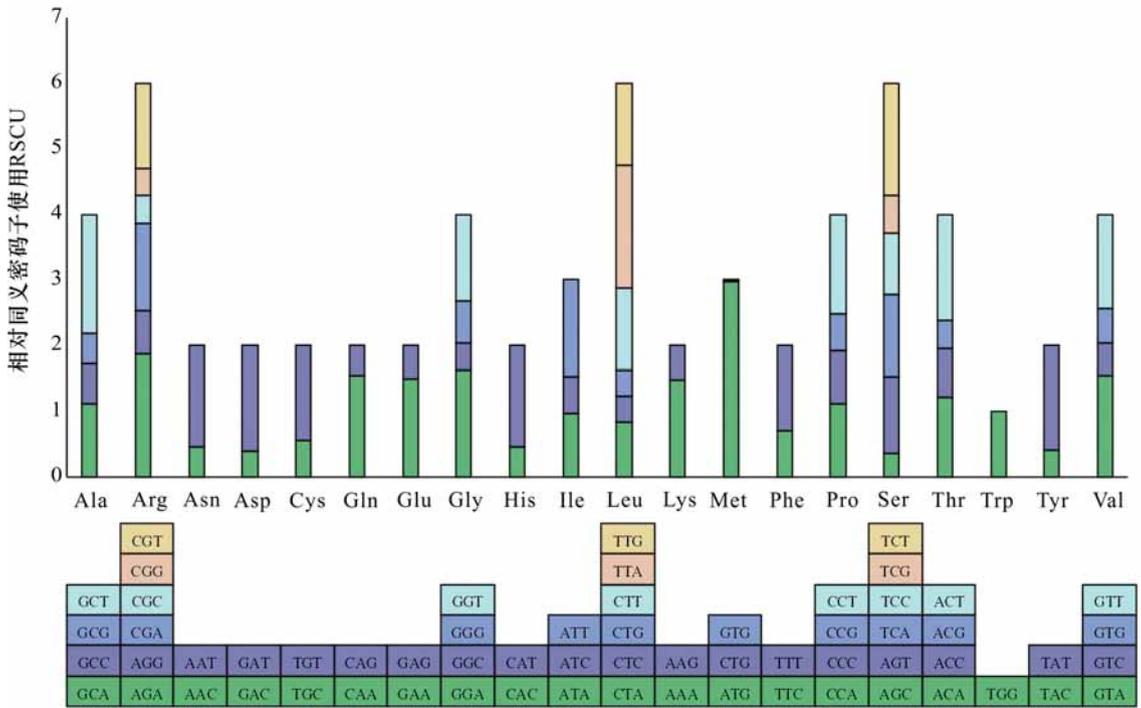


图 6 天台鹅耳枥相对密码子使用(RSCU)值聚类热图

Fig. 6 Heat map of the relative synonymous codon usage (RSCU) value of *Carpinus tientaiensis*



Ala. 丙氨酸; Arg. 精氨酸; Asn. 天冬酰胺; Asp. 天冬氨酸; Cys. 半胱氨酸; Gln. 谷氨酰胺; Glu. 谷氨酸; Gly. 甘氨酸; His. 组氨酸; Ile. 异亮氨酸; Leu. 亮氨酸; Lys. 赖氨酸; Met. 甲硫氨酸; Phe. 苯丙氨酸; Pro. 脯氨酸; Ser. 丝氨酸; Thr. 苏氨酸; Trp. 色氨酸; Tyr. 酪氨酸; Val. 缬氨酸。

Ala. Alanine; Arg. Arginine; Asn. Asparagine; Asp. Aspartate; Cys. Cysteine; Gln. Glutamine; Glu. Glutamate; Gly. Glycine; His. Histidine; Ile. Isoleucine; Leu. Leucine; Lys. Lysine; Met. Methionine; Phe. Phenylalanine; Pro. Proline; Ser. Serine; Thr. Threonine; Trp. Tryptophan; Tyr. Tyrosine; Val. Valine.

图 7 天台鹅耳枥蛋白质编码基因中 20 个氨基酸密码子含量

Fig. 7 Codon contents of 20 amino acids in all protein-coding genes of *Carpinus tientaiensis*

表 3 天台鹅耳枥叶绿体比较基因组统计表

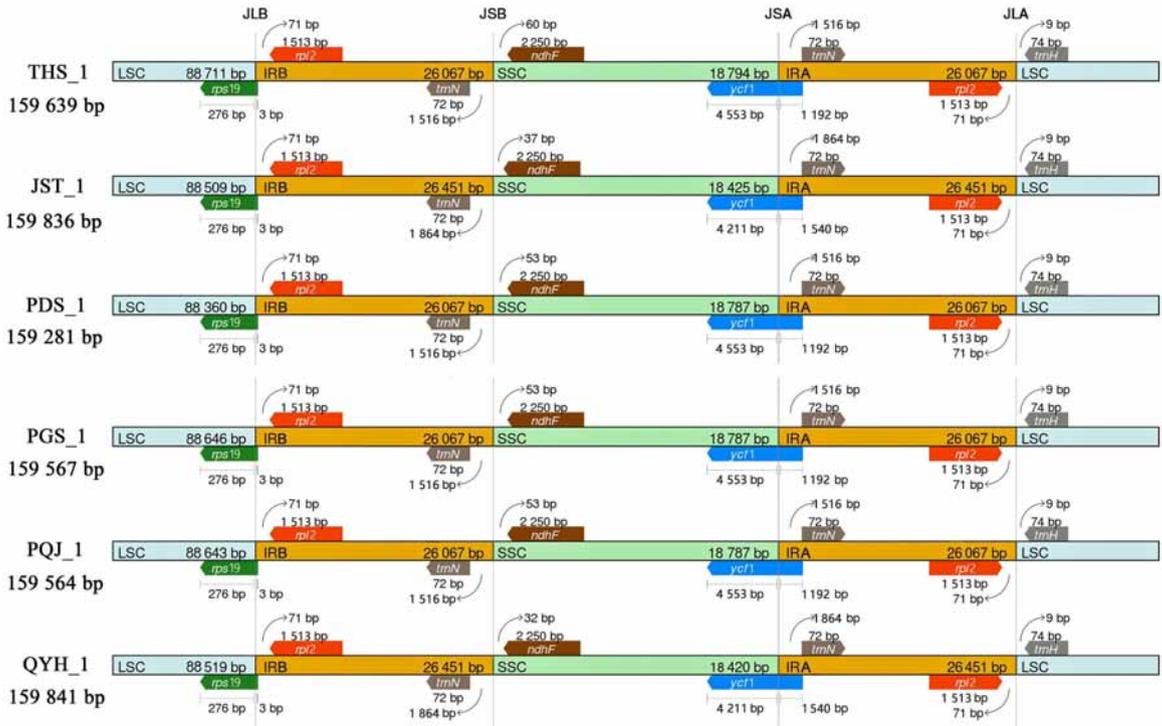
Table 3 Chloroplast comparative genome statistical table of *Carpinus tientaiensis*

居群 Population	单核苷酸多态性 Single nucleotide polymorphism (SNPs)	插入和缺失 Insertion and deletion (INS and DEL)	转换 Transition (Ts)	颠换 Transversion (Tv)	插入 Insertion (INS)	缺失 Deletion (DEL)
JST	132	90	37	95	47	43
QYH	126	99	36	90	39	60
PDS	18	20	3	16	5	15
PGS	18	18	3	15	4	14
PQJ	8	11	2	6	1	10
THS	12	17	0	12	5	12
合计 Total	314	255	81	234	101	154

颈效应(孙逸,2012;周文漪,2014)。由于晚第三纪及第四纪的气候动荡及冰期更替,天台鹅耳枥退缩到狭小区域的避难所,度过冰期;或群体局部

扩张到湿润地区的森林中(陈之端,1994;Qi et al., 2012)。

通过对天台鹅耳枥谱系结构与分化的研究,

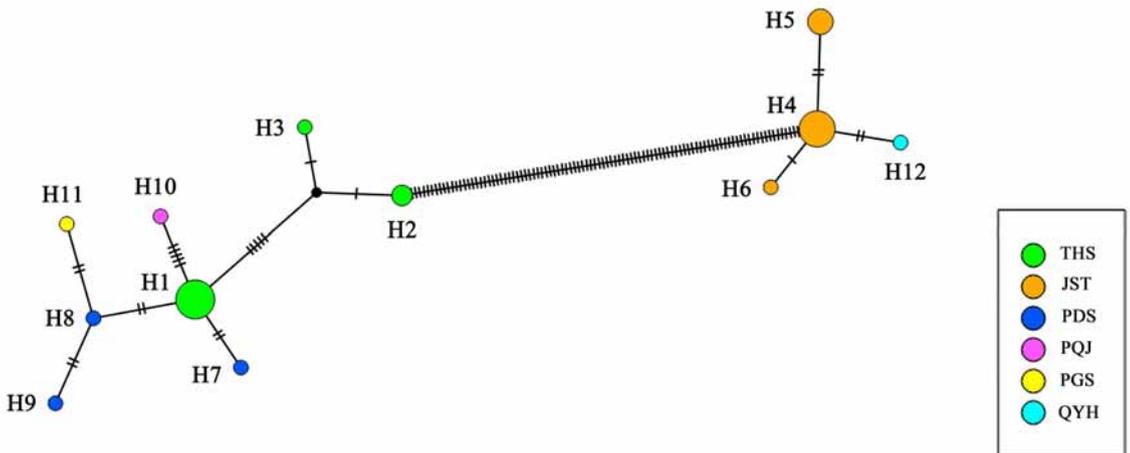


基因用彩色框表示。基因特征上方的数字表示基因末端与边界位点之间的距离。

Genes are denoted by colored boxes. The numbers above the gene features indicate the distance between the ends of genes and the border sites.

图 8 天台鹅耳枥 cpDNA 的 IR-SC 区的边界比较

Fig. 8 Comparison of IR-SC border positions across cpDNA of *Carpinus tientaiensis*



网络图中每个圆圈代表一个单倍型, 每个圆圈的大小与观察到的频率成比例, 圆圈颜色代表不同的居群, 分支上的短线表示单倍型间的碱基替换数。

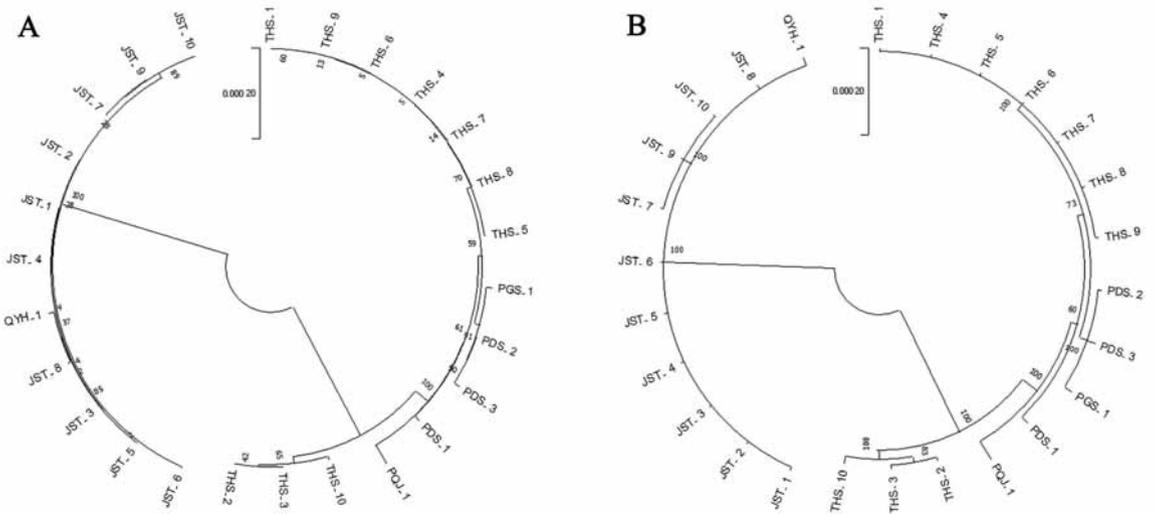
Each circle in the network represents a haplotype, the size of the circle represents the frequency of haplotypes, and different colors in the circle represent different populations, and short lines on branches represent base substitutions between haplotypes.

图 9 基于 cpDNA 的天台鹅耳枥单倍型网络

Fig. 9 Network of haplotypes of *Carpinus tientaiensis* based on cpDNA

对遗传多样性比较高的居群制定资源保存和引种驯化策略。在 6 个自然居群中都检测到了独特的

单倍型, 尤其 THS 居群、JST 居群和 PDS 亚群具有较高的单倍型多样性, 栖息地面积较大, 内部环境



A. cpDNA ML 系统发育树; B. cpDNA Bayes 系统发育树。分支数表示 ML Bootstrap 支持值/Bayes 后验概率。
 A. cpDNA ML system development tree; B. cpDNA Bayes system development tree. Number of the branches indicate ML Bootstrap support value/Bayesian posterior probability.

图 10 基于完整 cpDNA 序列的最大似然和贝叶斯推理方法重建 6 个分类群的系统发育树
 Fig. 10 Phylogenetic tree reconstruction of six taxa using maximum likelihood and Bayesian inference methods based on the complete cpDNA sequences

表 4 谱系多样性参数统计表
 Table 4 Statistical table of genealogical diversity parameters

居群 Population	样本数 Number of samples (N)	单倍型个数 Number of haplotypes (N _h)	位点数目 Polymorphic sites (S)	单倍型多样性 Haplotype diversity (H _d)	平均核苷酸差异 Average number of nucleotide differences (K)	核苷酸多样性指数 Nucleotide diversity index (P _i)
JST	10	3	3	0.6	1.133	0.000 01
PDS	3	3	6	1	4	0.000 03
THS	10	3	9	0.511	3.822	0.000 02

表 5 谱系分子方差检验统计表
 Table 5 Statistical table of genealogical molecular variance test

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	平方差 Variance squares	百分比 Percentage (%)
居群间 Among populations	5	662.4	36.807 65	97.09
居群内 Within populations	20	22.1	1.105	2.91
总计 Total	25	684.5	37.912 65	
固定指数 Fixation index (F _{st})		0.970 85		

较稳定,需要加强栖息地保护,以维持天台鹅耳枥高的遗传多样性。天台鹅耳枥居群规模较小、隔离程度较高,居群间呈现较大的遗传分化,致使种源不断减少,是急需保护的濒危植物。对繁殖衰退的居群应开展遗传拯救,引入以花粉为主导基因流实验,移入新个体或基因型而减缓遗传侵蚀进而提高天台鹅耳枥种群生存力。

参考文献:

AGUILAR R, QUESADA M, ASHWORTH L, et al., 2008. Genetic consequences of habitat fragmentation in plant

- populations: susceptible signals in plant traits and methodological approaches [J]. *Mol Ecol*, 17(24): 5177–5188.
- BIRKY CW, 1995. Uniparental inheritance of mitochondrial and chloroplast genes: mechanisms and evolution [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 92(25): 11331–11338.
- BRITTEN RJ, ROWEN L, WILLIAMS J, et al., 2003. Majority of divergence between closely related DNA samples is due to indels [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 100(8): 4661–4665.
- CHEN MS, KE SS, 2013. Acclimation of anatomical structure and photosynthesis characteristics in leaves of *Carpinus tientaiensis* to irradiance [J]. *Sci Silv Sin*, 49(2): 46–53. [陈模舜, 柯世省, 2013. 天台鹅耳枥叶片的解剖结构和光合特性对光照的适应 [J]. *林业科学*, 49(2): 46–53.]
- CHEN MS, KE SS, JIN ZX, et al., 2020. Conservation biology of *Carpinus tientaiensis* [M]. Beijing: China Forestry Publishing House: 196–212. [陈模舜, 柯世省, 金则新, 等, 2020. 天台鹅耳枥保护生物学 [M]. 北京: 中国林业出版社: 196–212.]
- CHEN ZD, 1994. Phylogeny and phytogeography of the Betulaceae (II) [J]. *Acta Phytotax Sin*, 32(2): 101–153. [陈之端, 1994. 桦木科植物的系统发育和地理分布 (续) [J]. *植物分类学报*, 32(2): 101–153.]
- FU LG (LK), 2003. Higher plants of China: Vol. 4 [M]. Qingdao: Qingdao Publishing House: 260–270. [傅立国, 2003. 中国高等植物: 第四卷 [M]. 青岛: 青岛出版社: 260–270.]
- HUANG DQ, LI QQ, ZHOU CJ, et al., 2014. Intraspecific differentiation of *Allium wallichii* (Amaryllidaceae) inferred from chloroplast DNA and internal transcribed spacer fragments [J]. *J Syst Evol*, 52(3): 341–354.
- KIMURA M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences [J]. *J Mol Evol*, 16(2): 111–120.
- LEIGH JW, BRYANT D, 2015. PopART: Full-feature software for haplotype network construction [J]. *Methods Ecol Evol*, 6(9): 1110–1116.
- NIKULIN AY, NIKULIN VY, GONTCHAROV AA, 2020. *Orostachys spinosa* (Crassulaceae) origin and diversification: East Asia or South Siberian Mountains? Chloroplast DNA data [J]. *Plant Syst Evol*, 306(5): 84.
- POMBERT JF, OTIS C, LEMIEUX C, et al., 2005. The chloroplast genome sequence of the green alga *Pseudodoclonium akinetum* (Ulvophyceae) reveals unusual structural features and new insights into the branching order of chlorophyte lineages [J]. *Mol Biol Evol*, 22(9): 1903–1918.
- QI XS, CHEN C, COMES HP, et al., 2012. Molecular data and ecological niche modelling reveal a highly dynamic evolutionary history of the East Asian Tertiary relict *Cercidiphyllum* (Cercidiphyllaceae) [J]. *New Phytol*, 196(2): 617–630.
- SAINA JK, LI ZZ, GICHIRA AW, et al., 2018. The complete chloroplast genome sequence of tree of heaven *Ailanthus altissima* (Mill.) (Sapindales: Simaroubaceae), an important pantropical tree [J]. *Int J Mol Sci*, 19(4): 929.
- SOLTIS PM, SOLTIS DE, 2000. The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97(13): 7051–7057.
- STAMATAKIS A, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- STOLTZFUS A, NORRIS RW, 2016. On the causes of evolutionary transition: transversion bias [J]. *Mol Biol Evol*, 33(3): 595–602.
- SUN Y, 2012. Phylogeography and population genetics of the East Asia endemic genus *Kirengeshoma* (Hydrangeaceae) [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [孙逸, 2012. 东亚特有濒危植物黄山梅的亲缘地理学与群体遗传学研究 [D]. 杭州: 浙江大学.]
- WANG CT, YE CL, 2007. Endangering causes of endemic rare wild plants and conservation methods in Zhejiang Province [J]. *J Fujian For Sci Technol*, 34(2): 202–204. [王昌腾, 叶春林, 2007. 浙江省特有野生珍贵植物濒危原因及保护对策 [J]. *福建林业科技*, 34(2): 202–204.]
- WANG JH, 2015. Preliminary study on growth performance and molecular phylogeography of natural populations in an endangered maple, *Acer griseum* (Dicotyledoneae: Sapindaceae), endemic to China [D]. Beijing: Chinese Academy of Forestry Sciences. [王佳慧, 2015. 特有濒危种血皮槭天然群体生长状况及分子谱系地理初步研究 [D]. 北京: 中国林业科学研究院.]
- WEI XZ, JIANG MX, 2012. Limited genetic impacts of habitat fragmentation in an “old rare” relict tree, *Euptelea pleiospermum* (Eupteleaceae) [J]. *Plant Ecol*, 213(6): 909–917.
- WICKE S, SCHNEEWEISS GM, DEPAMPHILIS CW, et al., 2011. The evolution of the plastid chromosome in land plants: gene content, gene order, gene function [J]. *Plant Mol Biol*, 76(3–5): 273–297.
- WU ZH, LIAO R, YANG TG, et al., 2020. Analysis of six chloroplast genomes provides insight into the evolution of *Chryso-splenium* (Saxifragaceae) [J]. *BMC Genomics*, 21(1): 621.
- WYMAN SK, JANSEN RK, BOORE JL, 2004. Automatic annotation of organellar genomes with DOGMA [J]. *Bioinformatics*, 20(17): 3252–3255.
- XIE DF, YU Y, DENG YQ, et al., 2018. Comparative analysis

- of the chloroplast genomes of the Chinese endemic genus *Urophysa* and their contribution to chloroplast phylogeny and adaptive evolution [J]. *Int J Mol Sci*, 19(7): 1847.
- YANG XY, 2019. Phylogenetic analysis of Betulaceae plastomes [D]. Lanzhou: Lanzhou University: 47–52. [杨霄月, 2019. 桦木科叶绿体基因组的系统发育分析 [D]. 兰州: 兰州大学: 47–52.]
- YANG YZ, WANG MC, LU ZQ, et al., 2017. Characterization of the complete chloroplast genome of *Carpinus tientaiensis* [J]. *Conserv Genet Resour*, 9(2): 339–341.
- YIN KQ, ZHANG Y, LI YJ, et al., 2018. Different natural selection pressures on the *atpF* gene in evergreen sclerophyllous and deciduous oak species: evidence from comparative analysis of the complete chloroplast genome of *Quercus aquifolioides* with other oak species [J]. *Int J Mol Sci*, 19(4): 1042.
- YU F, HAN M, 2021. Analysis of codon usage bias in the chloroplast genome of alfalfa (*Medicago sativa*) [J]. *Guihaia*, 41(12): 2069–2076. [喻凤, 韩明, 2021. 紫花苜蓿叶绿体基因组密码子偏好性分析 [J]. 广西植物, 41(12): 2069–2076.]
- YU T, ZHANG YY, GAO J, et al., 2019. Complete chloroplast genome sequence of *Betula halophila*, a plant species with extremely small populations [J]. *Sci Silv Sin*, 55(2): 41–49. [于涛, 张宇阳, 高健, 等, 2019. 极小种群濒危植物盐桦叶绿体基因组特征分析 [J]. 林业科学, 55(2): 41–49.]
- ZHANG QJ, LI W, LI K, et al., 2020. The chromosome-level reference genome of tea tree unveils recent bursts of non-autonomous LTR retrotransposons in driving genome size evolution [J]. *Mol Plant*, 13(7): 935–938.
- ZHANG SY, DING BY, 1993. *Flora of Zhejiang: Volume General* [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House: 245–251. [章绍尧, 丁炳扬, 1993. 浙江植物志: 总论卷 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社: 245–251.]
- ZHAO RN, CHU XJ, LIU W, et al., 2021. Structure and variation analysis of chloroplast genomes in *Carpinus* [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 45(2): 25–34. [赵儒楠, 褚晓洁, 刘维, 等, 2021. 鹅耳枥属树种叶绿体基因组结构及变异分析 [J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 45(2): 25–34.]
- ZHENG X, 2015. Origin area and glacial refugia: chloroplast DNA diversity in the arctic-alpine plant *Oxyria digyna* (Polygonaceae) [D]. Hefei: Anhui University. [郑鑫, 2015. 基于分子信息推测北极高山植物山蓼的起源地及冰期避难所 [D]. 合肥: 安徽大学.]
- Editorial Committee of the Flora of China of Chinese Academy of Science, 1979. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol.21* [M]. Beijing: Science Press: 65–67. [中国科学院中国植物志编辑委员会, 1979. 中国植物志: 第二十一卷 [M]. 北京: 科学出版社: 65–67.]
- ZHOU T, WANG J, JIA Y, et al., 2018. Comparative chloroplast genome analyses of species in *Gentiana* section *Cruciata* (Gentianaceae) and the development of authentication markers [J]. *Int J Mol Sci*, 19(7): 1962.
- ZHOU WY, 2014. MtDNA Cytb diversity of *Siniperca scherzeri* from seven water systems [D]. Guangzhou: Jinnan University: 41–46. [周文漪, 2014. 基于线粒体细胞色素 b 的 7 水系斑鳅遗传多样性分析 [D]. 广州: 暨南大学: 41–46.]

(责任编辑 周翠鸣)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108036

廖苗, 曾思金, 唐光大. 基于分子证据确认秦岭藤属与驼峰藤属(夹竹桃科)的系统位置 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1717–1729.

LIAO M, ZENG SJ, TANG GD. Confirmation of the systematic positions about *Biondia* and *Merrillanthus* (Apocynaceae) based on molecular evidence [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1717–1729.

基于分子证据确认秦岭藤属与驼峰藤属(夹竹桃科)的系统位置

廖苗¹, 曾思金², 唐光大^{1,3*}

(1. 华南农业大学 林学与风景园林学院, 广州 510642; 2. 中国科学院华南植物园 植物资源保护与可持续利用重点实验室 广东省数字植物园重点实验室, 广州 510650; 3. 韶关学院 英东生物与农业学院, 广东 韶关 512005)

摘要: 秦岭藤属(*Biondia* Schltr.)是中国特有属,约13种,驼峰藤属(*Merrillanthus* Chun & Tsiang)是仅在我国与柬埔寨分布的单种属,目前两个属均被归并到白前属(*Vincetoxicum* Wolf),由于取样和系统发育分析尚存一些欠缺,因此其系统位置和归属尚需进一步确认。该文使用2个核糖体基因序列片段(ITS、ETS)、5个叶绿体基因序列片段(*psbA-trnH*、*trnG*、*trnL*、*trnL-F*、*trnT-L*),以及二者的合并数据,重建娃儿藤亚族(Tylophorinae)(包含属的模式秦岭藤 [*B. chinensis* Schltr. = *V. shaanxiense* (Schltr.) Meve & Liede]与驼峰藤 [*M. hainanensis* Chun & Tsiang = *V. hainanense* (Chun & Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede])的系统发育树。结果表明:秦岭藤属与驼峰藤属均包含在白前属中,秦岭藤与青龙藤 [*B. henryi* (Warb.) Tsiang & Li = *V. henryi* (Warb.) Meve & Liede]互为姐妹类群,并与 *V. kawaroense* Meve & Liede 聚为一支,而黑水藤 [*B. insignis* Tsiang = *V. insigne* (Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede]在另一分支中(亚热带分支 Subtropical Clade);驼峰藤属与 *V. cissoides* (Blume) Kuntze 和 *V. philippicum* Meve, Omlor & Liede 聚为一支。核糖体和叶绿体基因数据均支持秦岭藤属与驼峰藤属归并入白前属,但秦岭藤属为多系,尚需收集更多种类和数据合并分析,深入探讨归并后白前属的种间系统关系和位置。

关键词: 夹竹桃科, 白前属, 秦岭藤属, 驼峰藤属, 系统发育, 中国

中图分类号: Q949.7 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1717-13

Confirmation of the systematic positions about *Biondia* and *Merrillanthus* (Apocynaceae) based on molecular evidence

LIAO Miao¹, ZENG Sijin², TANG Guangda^{1,3*}

(1. College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization & Guangdong Provincial Key Laboratory of Digital Botanical Garden, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; 3. Henry Fok School of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, Guangdong, China)

收稿日期: 2022-03-01

基金项目: 广东省林业局项目(粤财农[2019]51; 粤财资环[2020]130号) [Supported by Project of Guangdong Provincial Forestry Bureau (Guangdong Finance and Agriculture [2019] 51; Guangdong Financial Resources and Environment [2020]130)].

第一作者: 廖苗(1995-), 硕士, 研究方向为植物系统发育, (E-mail) liaomiao63@yeah.net。

*通信作者: 唐光大, 博士, 副教授, 研究方向为植物系统分类、植物资源和植被动态等, (E-mail) gdtang@scau.edu.cn。

Abstract: *Biondia* Schltr., containing about 13 species, is endemic to China, and *Merrillanthus* Chun & Tsiang is a monotypic genus distributing only in China and Cambodia. These two genera have been included in *Vincetoxicum* Wolf, but their phylogenetic positions and taxonomic status need further study because of insufficient samples and phylogenetic analysis. We reconstructed the phylogenetic trees of Tylophorinae based on two ribosomal gene sequence data (ITS, ETS) and five chloroplast gene sequence data (*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*) individually and combined data, which contained two types of species samples [including *B. chinensis* Schltr. = *V. shaanxiense* (Schltr.) Meve & Liede and *M. hainanensis* Chun & Tsiang = *V. hainanense* (Chun & Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede]. The results showed that *Biondia* and *Merrillanthus* were nested inside the *Vincetoxicum*; the type species *B. chinensis* Schltr. = *V. shaanxiense* (Schltr.) Meve & Liede were sister to *B. henryi* (Warb.) Tsiang & Li = *V. henryi* (Warb.) Meve & Liede, and formed a clade with *V. kawarouense* Meve & Liede; while *B. insignis* Tsiang = *V. insigne* (Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede belonged to the Subtropical Clade; *Merrillanthus* formed a clade with *V. cissoides* (Blume) Kuntze and *V. philippicum* Meve, Omlor & Liede. Our results support that *Biondia* and *Merrillanthus* should be included in *Vincetoxicum*, but *Biondia* is polyphyletic, more species samples and data need to be collected and analysed to further explore their phylogenetic positions about *Vincetoxicum*.

Key words: Apocynaceae, *Vincetoxicum*, *Biondia*, *Merrillanthus*, phylogeny, China

夹竹桃科 (Apocynaceae) 在 Angiosperm Phylogeny Group IV 系统 (APG IV) 中与钩吻科 (Gelsemiaceae)、龙胆科 (Gentianaceae)、马钱科 (Loganiaceae) 和茜草科 (Rubiaceae) 共同属于龙胆目 (Gentianales) (Chase et al., 2016), 包含传统界定的狭义夹竹桃科 (Apocynaceae s. s.) 和萝藦科 (Asclepiadaceae) 两大类群, 约 5 350 种, 主要分布在热带和亚热带地区 (Endress et al., 2018)。夹竹桃科目前已建立了相对稳定的分子演化系统 (Fishbein et al., 2018), 一些修订的属作了归并或位置调整, 目前总属数由 422 个 (Endress & Bruyns, 2000) 缩减到 378 个 (Endress et al., 2018)。

白前属 (*Vincetoxicum* Wolf) 隶属于夹竹桃科马利筋族 (Asclepiadeae) 娃儿藤亚族 (Tylophorinae), 范围变化较大 (Endress et al., 2018)。传统的白前属通常茎直立, 少数上部缠绕, 须根簇生, 花冠辐状, 有 5 个肉质的副花冠裂片, 乳汁透明 (邱声祥等, 1989; Liede, 1996)。白前属与鹅绒藤属 (*Cynanchum* L.) 具有相似的副花冠、合蕊柱、花粉器等特征, 部分学者认为白前属应归并在鹅绒藤属中 (蒋英和李秉滔, 1977; Forster, 1991; Li et al., 1995), 但有学者认为白前属应作为独立的属 (Markgraf, 1972; Ali & Khatoun, 1982)。邱声祥等 (1989) 结合化学成分、形态、染色体数目和分布区等证据, 提出白前属应从鹅绒藤属中独立出来, Liede (1996) 基于形态与化学证据也支持该观点, 并认为其与娃儿藤属 (*Tylophora* R. Br.) 的关系最近。

然而, 分子系统学研究显示白前属与鹅绒藤属亲缘关系较远 (Liede, 2001; Rapini et al., 2007), 支持白前属与娃儿藤属关系更近, 但它们都是非单系的, 而秦岭藤属 (*Biondia* Schltr.)、*Blyttia* Arn.、*Diplostigma* K. Schum.、*Goydera* Liede、*Pleurostelma* Baill. 和 *Rhyncharrhena* F. Muell. 6 个属都嵌套在 *Vincetoxicum-Tylophora* 分支中 (Liede-Schumann et al., 2012, 2016)。娃儿藤属和上述 6 个属, 以及形态上相近的一些属均被归并在白前属中, 增加了大量的新组合或新名称 (Kidyoo & Kidyoo, 2018; Liede-Schumann & Meve, 2018; Hsu et al., 2021; Shah et al., 2021)。原主要分布在中国的 3 个属, 即驼峰藤属 (*Merrillanthus* Chun & Tsiang)、白水藤属 (*Pentastelma* Tsiang & Li) 和箭药藤属 (*Belostemma* Wall. ex Wight) 也归并在白前属中。新定义的白前属有 150 多种, 通常有透明乳汁; 花小, 花冠辐状, 少数钟状、坛状、长圆锥状; 副花冠由肉质分离的雄蕊上的裂片组成, 或由合生的雄蕊和片状的雄蕊间的部分组成环状; 花粉块柄直立、水平或斜上, 分布于热带、亚热带非洲、亚洲、欧亚大陆等区域 (Endress et al., 2018)。

秦岭藤属约 13 种, 是中国特有属, 分布于我国东部和西南部; 驼峰藤属仅有驼峰藤 (*Merrillanthus hainanensis* Chun et Tsiang) 1 种, 分布于我国的广东、海南以及柬埔寨 (蒋英和李秉滔, 1977; Li et al., 1995)。在 Liede-Schumann 等 (2012, 2016) 的系统发育分析中, 秦岭藤属包含 2

个种,即黑水藤(*Biondia insignis* Tsiang)和青龙藤 [*B. henryi* (Warb. ex Schltr. et Diels) Tsiang et P. T. Li] 的样品,缺少属的模式秦岭藤(*B. chinensis* Schltr.)的样品,同时缺乏驼峰藤属的样品。部分学者报道了秦岭藤与驼峰藤的叶绿体基因组数据,并进行了简易的系统发育分析,其中秦岭藤显示与 *Vincetoxicum rossicum* (Kleopow) Barbar. 是姐妹类群,但系统树中仅包含白前属 1 个种的数据(Rao et al., 2018);驼峰藤则显示与黑水藤是姐妹类群,但系统发育树中的取样太少(Xiong et al., 2019),这 2 个种是否属于白前属,或属于白前属哪个分支等问题依旧不清楚。

本研究收集了秦岭藤与驼峰藤的数据,其中新增驼峰藤的分子测序,秦岭藤的数据参考使用 Rao 等(2018)的测序结果,并结合白前属其他物种的分子数据(Liede-Schumann et al., 2016),开展了系统发育分析,拟进一步明确这 2 个属的系统位置和归属。

1 材料与方法

1.1 类群取样和分子序列数据来源

秦岭藤(凭证标本:ZJB-2017-152-1,保存于陕西师范大学)数据来自 Rao 等(2018)中的浅层测序基因数据。对驼峰藤(凭证标本:LHB-AP17,保存于华南农业大学)进行叶片取样,经硅胶干燥后,将样品放入干冰中冷藏,快递至北京诺禾致源生物有限公司武汉分公司进行基因组总 DNA 的提取、小片段文库的建库与测序。具体操作如下:首先,DNA 经检测合格后,先随机打断为 350 bp 左右的文库,再进行 PE150 双端测序,得到原始数据(raw data),经质控后得到最终的有效数据(clean data)10 Gb。然后,将秦岭藤的已有浅层测序数据与本次测序的驼峰藤的数据用 GetOrganelle 1.7(Jin et al., 2020)进行组装,设置参数为默认;使用 Bandage 0.8(Wick et al., 2015)和 Geneious Prime 2019(<https://www.geneious.com/>)对组装得到的 fastg 文件进行可视化和序列提取,得到最终的秦岭藤的核糖体基因组序列,以及驼峰藤的叶绿体基因组与核糖体基因组序列。最后,分别以无油樟 [*Amborella trichopoda* Baill. (AJ506156)] 和罗布麻 [*Apocynum venetum* L. (MT313688)] 的叶绿体基因组作参考,先利用 Plastid Genome

Annotator(PGA)(Qu et al., 2019)对驼峰藤的叶绿体基因组进行注释,再根据 log 文档在 Geneious Prime 2019 中作进一步的手动校正,得到叶绿体基因组的注释信息;以 *Asclepias coulteri* A. Gray (JN665084)的核糖体基因组 nrDNA 连续片段(18S + ITS1 + 5.8S + ITS2 + 26S)和 *Vincetoxicum biglandulosum* (Endl.) Kuntze (LN880610)的核糖体基因序列片段(ETS)为参考,在 Geneious Prime 2019 中对秦岭藤与驼峰藤的核糖体基因组进行注释,并利用 Extract 选项提取出所需的核糖体基因序列片段与叶绿体基因序列片段,并将数据上传至 GenBank(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

基于已发表的娃儿藤亚族分子系统学研究数据(Liede-Schumann et al., 2016),补充驼峰藤和秦岭藤的 DNA 数据,选取鹅绒藤亚族(Cynanchinae)中的 3 个种为外类群,分别利用 5 个叶绿体基因序列片段(*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*) (137 个种)、2 个核糖体基因序列片段(ETS、ITS) (136 个种),以及二者的合并数据构建系统发育树(139 个种)。序列详细信息见表 1,样品凭证标本详细信息见文献 Liede-Schumann 等(2016)。部分样品序列数据不全,相关序列矩阵中以缺失数据形式补齐。

1.2 序列比对和拼接

采用 MAFFT 软件(Katoh & Standley, 2013)单独对每个片段进行序列比对,多片段数据在 Geneious Prime 2019 中进行序列拼接,得到联合矩阵数据。

1.3 系统发育分析

首先,利用 IQ-TREE(Nguyen et al., 2015)基于最大似然法(maximum likelihood method, ML)对序列进行系统发育分析,IQ-TREE 中 ModelFinder 按照 BIC 准则(Bayesian Information Criterion, BIC)自动测试,并选择出最佳替代模型,其中核糖体基因序列片段合并数据使用模型为 TVM+F+R3、叶绿体基因序列片段合并数据使用模型为 K3Pu+F+R3、核糖体与叶绿体基因序列片段合并数据使用模型为 TVM+F+R3;然后,进行 1 000 次的 SH-aLRT 检验(Guindon et al., 2010)和超快自展值检验(ultrafast bootstrap approach, UFboot)(Minh et al., 2013),每个分支含有 SH-aLRT 和 UFboot 2 个支持率,如果 SH-aLRT \geq 80%且 UFboot \geq 95%,则视为得到较好支持,其分支结果可信;最后,将所得系统树在 Figtree 1.4.2(Rambaut, 2012)中查看。

表 1 取样物种和序列 GenBank 编号

Table 1 List of taxa sampled and GenBank accession numbers of sequences

类群 Taxon	类群原先使用名称 Taxon name originally used	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnT-L</i>	ETS	ITS
外类群 Outgroup								
鹅绒藤亚族 Cynanchinae								
<i>Cynanchum ellipticum</i> (Harv.) R. A. Dyer	<i>C. ellipticum</i> (Harv.) R. A. Dyer	HE802679	HE793818	AJ290846	AJ290845	AJ290847	—	AJ320444
台湾牛皮消 <i>C. ovalifolium</i> Wight	台湾牛皮消 <i>C. ovalifolium</i> Wight	HE802680	HE793819	AJ428697	AJ428698	AJ428696	—	AJ492780
<i>Schizostephanus alatus</i> Hochst. ex K. Schum.	<i>S. alatus</i> Hochst. ex K. Schum.	HE802678	HE793827	AJ410248	AJ410249	AJ410247	—	AJ320451
内类群 Ingroup								
娃儿藤亚族 Tylophorinae								
<i>Pentatropis bentii</i> (N. E. Br.) Liede a	<i>P. bentii</i> (N. E. Br.) Liede a	LN880644	LN880691	—	LN880737	LN880780	LN880601	LN880556
<i>P. bentii</i> (N. E. Br.) Liede b	<i>P. bentii</i> (N. E. Br.) Liede b	LN880645	LN880692	—	LN880738	LN880781	LN880602	LN880557
<i>P. capensis</i> (L. f.) Bullock	<i>P. capensis</i> (L. f.) Bullock	LN880646	LN880693	—	LN880739	LN880782	LN880603	LN880558
<i>P. madagascariensis</i> Decne.	<i>P. madagascariensis</i> Decne.	HE793884	HE793823	AJ410236	AJ410237	AJ410235	HE793968	AJ320448
<i>P. nivalis</i> (J. F. Gmel.) D. V. Field & J. R. I. Wood a	<i>P. nivalis</i> (J. F. Gmel.) D. V. Field & J. R. I. Wood a	HE793885	HE793824	AJ410239	AJ410240	AJ410238	HE793969	AJ320449
<i>P. nivalis</i> (J. F. Gmel.) D. V. Field & J. R. I. Wood b	<i>P. nivalis</i> (J. F. Gmel.) D. V. Field & J. R. I. Wood b	HE793852	HE793784	HE793746	HE793755	HE793717	HE793939	HE793910
<i>Pentatropis</i> sp.	<i>Pentatropis</i> sp.	LN880648	LN880695	—	LN880741	LN880784	LN880605	LN880560
<i>P. spiralis</i> Decne.	<i>P. spiralis</i> Decne.	LN880647	LN880694	—	LN880740	LN880783	LN880604	LN880559
<i>Vincetoxicum</i> aff. <i>rotundifolium</i> (Buch.-Ham. ex Wight) Kuntze	<i>Tylophora</i> aff. <i>rotundifolia</i> Buch.-Ham. ex Wight	HE793866	HE793798	—	HE793769	HE793731	HE793950	HE793924
<i>V. ambiguum</i> Maxim.	<i>V. ambiguum</i> Maxim.	AB109146	AB109087	AB109928	AB109956	—	AB110047	AB109984
<i>V. anomalum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede a	<i>T. anomala</i> N. E. Br. a	HE793887	HE793829	AJ410251	AJ410252	AJ410250	HE793971	AJ320452
<i>V. anomalum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede b	<i>T. anomala</i> N. E. Br. b	HE793855	HE793787	—	HE793758	HE793720	HE793942	HE793913
<i>V. anomalum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede c	<i>T. anomala</i> N. E. Br. c	LN880649	LN880696	LN880742	—	LN880785	LN880606	LN880561
<i>V. anomalum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede d	<i>T. anomala</i> N. E. Br. d	LN880650	LN880697	—	LN880743	LN880786	LN880607	LN880562
<i>V. anomalum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede	<i>T. urceolata</i> Meve	HE793867	HE793799	—	HE793770	HE793732	HE793951	HE793925
<i>V. apiculatum</i> (K. Schum.) Meve & Liede a	<i>T. apiculata</i> K. Schum a	LN880651	LN880698	—	LN880744	LN880787	LN880608	LN880563
<i>V. apiculatum</i> (K. Schum.) Meve & Liede b	<i>T. apiculata</i> K. Schum b	HE793888	HE793830	AJ410254	AJ410255	AJ410253	—	AJ320453
<i>V. apiculatum</i> (K. Schum.) Meve & Liede c	<i>T. apiculata</i> K. Schum c	LN880652	LN880699	—	LN880745	LN880788	LN880609	LN880564
<i>V. arachnoidea</i> (Goyder) Meve & Liede	<i>T. arachnoidea</i> Goyder	HE793856	HE793788	—	HE793759	HE793721	HE793943	HE793914
<i>V. aristolochioides</i> (Miq.) Franch. & Sav.	<i>T. aristolochioides</i> Miq.	AB109137	AB109078	AB109912	AB109944	—	AB110038	AB109975
<i>V. arnottianum</i> Wight	<i>V. arnottianum</i> Wight	LN880662	LN880709	—	LN880752	LN880797	LN880616	LN880574
<i>V. assadii</i> M. Zaeifi	<i>V. assadii</i> M. Zaeifi	LN880663	LN880710	—	LN880753	LN880798	LN880617	LN880575
<i>V. austrokiusianum</i> (Koidz.) Kitag.	<i>V. austrokiusianum</i> (Koidz.) Kitag.	AB109149	AB109117	AB109927	AB109959	—	AB110050	AB109987
<i>V. barbatum</i> (R. Br.) Kuntze	<i>T. barbata</i> R. Br.	HE793857	HE793789	—	HE793760	HE793722	—	HE793915
<i>V. biglandulosum</i> (Endl.) Kuntze a	<i>T. biglandulosa</i> F. Muell. a	LN880653	LN880700	—	LN880746	LN880789	LN880610	LN880565

续表 1

类群 Taxon	类群原先使用名称 Taxon name originally used	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnT-L</i>	ETS	ITS
<i>V. biglandulosum</i> (Endl.) Kuntze b	<i>T. biglandulosa</i> F. Muell. b	HE793889	HE793831	AJ320402	AJ320403	AJ320401	—	AJ320454
<i>V. brachystelmoides</i> (P. I. Forst.) Liede	<i>V. brachystelmoides</i> (P. I. Forst.) Liede	LN880664	LN880711	—	LN880754	LN880799	LN880618	LN880576
<i>V. caffrum</i> (Meisn.) Kuntze	<i>T. caffra</i> Meisn.	HE793858	HE793790	HE793749	HE793761	HE793723	HE793944	HE793916
<i>V. calcareum</i> (H. Ohashi) Akasawa	<i>V. calcareum</i> (H. Ohashi) Akasawa	AB109150	AB109118	AB109929	AB109960	—	AB110051	AB109988
<i>V. cameroonicum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede	<i>T. cameroonica</i> N. E. Br.	HE793859	HE793791	—	HE793762	HE793724	HE793945	HE793917
<i>V. carnosum</i> Benth. a	<i>V. carnosum</i> Benth. a	LN880666	LN880713	—	LN880756	LN880801	LN880620	LN880578
<i>V. carnosum</i> Benth. b	<i>V. carnosum</i> Benth. b	HE793905	HE793847	AJ410272	AJ410273	AJ410271	HE793986	AJ320473
<i>V. cernuum</i> (Decne.) Meve & Liede	<i>Pleurostelma cernuum</i> (Decne.) Bullock	HE793886	HE793826	AJ410242	AJ410243	AJ410241	HE793970	AJ320450
<i>V. cissoides</i> (Blume) Kuntze	<i>T. cissoides</i> Blume	HE793860	HE793792	—	HE793763	HE793725	—	HE793918
<i>V. confusum</i> Meve & Liede	<i>T. coriacea</i> (Decne.) Marais	HE793891	HE793833	AJ320408	AJ320409	AJ320407	HE793972	AJ320456
<i>V. conspicuum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede	<i>T. conspicua</i> N. E. Br.	HE793890	HE793832	AJ320405	AJ320406	AJ320404	—	AJ320455
<i>V. creticum</i> Browicz	<i>V. creticum</i> Browicz	HE793871	HE793803	—	HE793774	HE793736	HE793955	HE793928
<i>V. dalzellii</i> (Hook. f.) Kuntze	<i>T. dalzellii</i> Hook. f.	LN880654	LN880701	—	HG530585	LN880790	—	LN880566
<i>V. diplostigma</i> Meve & Liede	<i>Diplostigma canescens</i> K. Schum.	HE793882	HE793820	AJ410200	AJ410201	AJ410199	HE793966	AJ320445
<i>V. flanaganii</i> (Schltr.) Meve & Liede	<i>T. flanaganii</i> Schltr.	HE793892	HE793834	AJ410257	AJ410258	AJ410256	HE793973	AJ320457
<i>V. fleckii</i> (Schltr.) Meve & Liede	<i>T. fleckii</i> N. E. Br.	LN880655	LN880702	—	LN880747	LN880791	LN880611	LN880567
<i>V. flexuosum</i> (R. Br.) Kuntze var. <i>perrottetianum</i> (Decne.) Schneidt, Meve & Liede	<i>T. perrottetiana</i> Decne.	HE793898	HE793840	AJ290916	AJ290917	AJ290915	HE793979	AJ320460
<i>V. flexuosum</i> (R. Br.) Kuntze var. <i>tenuis</i> (Blume) Schneidt, Meve & Liede	<i>T. tenuis</i> Blume	HE793901	HE793843	AJ320432	AJ320433	AJ320431	HE793982	AJ320468
<i>V. fruticosum</i> (Decne.) Decaisne	<i>Blyttia fruticulosa</i> (Decne.) Field	HE793881	HE793815	AJ410194	AJ410195	AJ410193	HE793965	AJ320443
<i>V. funebre</i> (Boiss. & Kotschy) Pobed. a	<i>V. funebre</i> (Boiss. & Kotschy) Pobed. a	LN880667	LN880714	—	LN880757	LN880802	LN880621	LN880579
<i>V. funebre</i> (Boiss. & Kotschy) Pobed. b	<i>V. funebre</i> (Boiss. & Kotschy) Pobed. b	LN880668	LN880715	—	LN880758	LN880803	LN880622	LN880580
<i>V. fuscatum</i> (Hornem.) Endl.	<i>V. fuscatum</i> (Hornem.) Endl.	LN880669	LN880716	—	LN880759	LN880804	LN880623	—
<i>V. glaucum</i> (Wall. ex Wight) Rech.f.	<i>V. glaucum</i> (Wall. ex Wight) Rech. f.	LN880670	LN880717	—	LN880760	LN880805	LN880624	LN880581
<i>V. gracillimum</i> (Markgr.) Meve & Liede	<i>T. gracillima</i> Markgr.	HE793861	HE793793	HE793750	HE793764	HE793726	HE793946	HE793919
<i>V. grandiflorum</i> (R. Br.) Kuntze a	<i>T. grandiflora</i> R. Br. a	HE793862	HE793794	HE793765	—	HE793727	HE793947	HE793920
<i>V. grandiflorum</i> (R. Br.) Kuntze b	<i>T. grandiflora</i> R. Br. b	LN880657	LN880704	LN880748	—	LN880792	—	LN880569
<i>V. heterophyllum</i> (A. Rich.) Vatke	<i>T. heterophylla</i> A. Rich.	HE793894	HE793836	AJ410260	AJ410261	AJ410259	HE793975	AJ320461
<i>V. hoyoense</i> T. Yamash.	<i>V. hoyoense</i> T. Yamash.	AB109164	AB109132	AB109940	AB109971	—	AB110065	AB110003
<i>V. indicum</i> (Burm. f.) Mabb.	<i>T. indica</i> (Burm. f.) Merrill	HE793895	HE793837	AJ410263	AJ410264	AJ410262	HE793976	AJ320463
<i>V. intermedium</i> Taliev	<i>V. intermedium</i> Taliev	LN880672	LN880719	—	LN880762	LN880807	LN880626	LN880583
<i>V. izuense</i> T. Yamash.	<i>V. izuense</i> T. Yamash.	AB109163	AB109131	AB109939	AB109970	—	AB110064	AB110002
<i>V. jalicola</i> Juz.	<i>V. jalicola</i> Juz.	LN880673	LN880720	—	LN880763	LN880808	LN880627	LN880584
<i>V. japonicum</i> Morr. et Decne.	<i>V. japonicum</i> Morr. et Decne.	AB109151	AB109119	AB109930	AB109961	—	AB110052	AB109990

续表 1

类群 Taxon	类群原先使用名称 Taxon name originally used	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnT-L</i>	ETS	ITS
<i>V. katoi</i> (Ohwi) Kitag.	<i>V. katoi</i> (Ohwi) Kitag.	AB109152	AB109120	AB109931	AB109962	—	AB110053	AB109991
<i>V. kawarouense</i> Meve & Liede	<i>T. japonica</i> Miq.	AB109140	AB109081	AB109915	AB109947	—	AB110041	AB109978
<i>V. lineare</i> (Decne.) Meve & Liede a	<i>Rhyncharrhena linearis</i> (Decne.) K. L. Wilson a	HE793853	HE793785	HE793747	HE793756	HE793718	HE793940	HE793911
<i>V. lineare</i> (Decne.) Meve & Liede b	<i>R. linearis</i> (Decne.) K. L. Wilson b	HE793854	HE793786	HE793748	HE793757	HE793719	HE793941	HE793912
<i>V. linifolium</i> Balfour f.	<i>V. linifolium</i> Balfour f.	LN880674	LN880721	—	LN880764	LN880809	LN880628	LN880585
<i>V. lugardiae</i> (Bullock) Meve & Liede	<i>T. lugardiae</i> Bullock	HE793864	HE793796	HE793751	HE793767	HE793729	HE793949	HE793922
<i>V. lycioides</i> (E. Mey.) Kuntze	<i>T. lycioides</i> Decne.	LN880658	LN880705	LN880749	—	LN880793	LN880613	LN880570
<i>V. macrophyllum</i> Sieb. et Zucc. a	<i>V. macrophyllum</i> Sieb. et Zucc. a	AB109155	AB109122	AB109922	AB109954	—	AB110054	AB109993
<i>V. macrophyllum</i> Sieb. et Zucc. b	<i>V. macrophyllum</i> Sieb. et Zucc. b	AB109154	AB109121	AB109921	AB109953	—	AB110055	AB109992
<i>V. maeoticum</i> (Kleopow) Barbar.	<i>V. maeoticum</i> (Kleopow) Barbar.	LN880675	LN880722	—	LN880765	LN880810	LN880629	LN880586
<i>V. magnificum</i> (Nakai) Kitag.	<i>V. magnificum</i> (Nakai) Kitag.	AB109156	AB109123	AB109923	AB109955	—	AB110056	AB109994
<i>V. matsumurae</i> (T. Yamaz.) H. Ohashi	<i>T. matsumurae</i> (T. Yamaz.) T. Yamash. & Y. Tateishi	AB109143	AB109082	AB109916	AB109948	—	AB110042	AB109979
<i>V. mozaffarianii</i> M. Zaeifi	<i>V. mozaffarianii</i> M. Zaeifi	LN880676	LN880723	—	LN880766	LN880811	LN880630	LN880587
<i>V. nigrum</i> (L.) Moench a	<i>V. nigrum</i> (L.) Moench a	HE793907	HE793849	—	—	—	HE793988	—
<i>V. nigrum</i> (L.) Moench b	<i>V. nigrum</i> (L.) Moench b	—	—	—	—	AY899964	—	—
<i>V. nigrum</i> (L.) Moench c	<i>V. nigrum</i> (L.) Moench c	—	—	AF214451	AF214297	—	—	—
<i>V. nigrum</i> (L.) Moench d	<i>V. nigrum</i> (L.) Moench d	—	—	—	—	—	—	FJ362532
<i>V. nipponicum</i> (Matsum.) Kitag. a	<i>V. nipponicum</i> (Matsum.) Kitag. a	AB109158	AB109125	AB109933	AB109964	—	AB110058	AB109996
<i>V. nipponicum</i> (Matsum.) Kitag. b	<i>V. nipponicum</i> (Matsum.) Kitag. b	AB109157	AB109124	AB109932	AB109963	—	AB110057	AB109995
<i>V. oblongum</i> (N. E. Br.) Meve & Liede	<i>T. oblonga</i> N. E. Br.	HE793896	HE793838	AJ320423	AJ320424	AJ320422	HE793977	AJ320464
<i>V. ovatum</i> Benth.	<i>V. ovatum</i> Benth.	HE793875	HE793807	—	HE793778	HE793740	HE793959	HE793932
<i>V. paniculatum</i> (R. Br.) Kuntze	<i>T. paniculata</i> R. Br.	HE793865	HE793797	HE793768	—	HE793730	—	HE793923
<i>V. philippicum</i> Meve, Omlor & Liede	<i>T. parviflora</i> (Merr.) Meve, Omlor & Liede	HE793897	HE793839	AJ320426	AJ320427	AJ320425	HE793978	AJ320465
<i>V. pumilum</i> Decne. a	<i>V. pumilum</i> Decne. a	LN880677	LN880724	—	LN880767	LN880812	LN880631	LN880588
<i>V. pumilum</i> Decne. b	<i>V. pumilum</i> Decne. b	LN880678	LN880725	—	LN880768	LN880813	LN880632	LN880589
<i>V. rehmannii</i> Boiss. a	<i>V. rehmannii</i> Boiss. a	LN880679	LN880726	—	LN880769	LN880814	LN880633	LN880590
<i>V. rehmannii</i> Boiss. b	<i>V. rehmannii</i> Boiss. b	LN880680	LN880727	—	LN880770	LN880815	LN880634	LN880591
<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. a	<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. a	—	HE793809	—	—	HE793742	HE793990	—
<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. b	<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. b	—	—	—	EF456113	—	—	—
<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. c	<i>V. rossicum</i> (Kleopow) Barbar. c	—	—	—	—	—	—	FJ517165
<i>V. sakesarensis</i> Ali & Khatoon	<i>V. sakesarensis</i> Ali & Khatoon	LN880682	—	—	—	LN880816	LN880635	LN880592
<i>V. scandens</i> Sommier & Levier a	<i>V. scandens</i> Sommier & Levier a	LN880683	LN880729	—	LN880772	LN880817	LN880636	LN880593
<i>V. scandens</i> Sommier & Levier b	<i>V. scandens</i> Sommier & Levier b	LN880684	LN880730	—	LN880773	LN880818	LN880637	LN880594
<i>V. schmalhauseni</i> (Kusn.) Litv.	<i>V. schmalhauseni</i> (Kusn.) Litv.	LN880685	LN880731	—	LN880774	LN880819	LN880638	LN880595

续表 1

类群 Taxon	类群原先使用名称 Taxon name originally used	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnT-L</i>	ETS	ITS
<i>V. somaliense</i> (Liede) Meve & Liede	<i>Goydera somaliense</i> Liede	HE793883	HE793821	AJ410209	AJ410210	AJ410208	HE793967	AJ320447
<i>Vincetoxicum</i> sp. a	<i>Vincetoxicum</i> sp. a	LN880689	LN880735	—	LN880778	LN880823	LN880642	LN880599
<i>Vincetoxicum</i> sp. b	<i>Vincetoxicum</i> sp. b	LN880690	LN880736	—	LN880779	LN880824	LN880643	LN880600
<i>V. stocksii</i> Ali & Khatoon	<i>V. stocksii</i> Ali & Khatoon	HE793908	HE793850	AJ410278	AJ410279	AJ410277	HE793989	AJ320475
<i>V. sublancoletum</i> (Miq.) Maxim. var. <i>sublancoletum</i>	<i>V. sublancoletum</i> (Miq.) Maxim. var. <i>sublancoletum</i>	AB109159	AB109127	AB109935	AB109966	—	AB110060	AB109998
<i>V. sylvaticum</i> (Decne.) Kuntze	<i>T. sylvatica</i> Decne.	HE793899	HE793841	AJ410266	AJ410267	AJ410265	HE793980	AJ320466
<i>V. tanakae</i> (Maxim.) Franch. & Sav.	<i>T. tanakae</i> Maxim.	AB109144	AB109085	AB109919	AB109951	—	AB110045	AB109982
<i>V. tauricum</i> Pobed.	<i>V. tauricum</i> Pobed.	LN880686	LN880732	—	LN880775	LN880820	LN880639	LN880596
<i>V. tenuipedunculatum</i> (K. Schum.) Meve & Liede	<i>T. tenuipedunculata</i> K. Schum.	HE793900	HE793842	AJ320429	AJ320430	AJ320428	HE793981	AJ320467
<i>V. tmoleum</i> Boiss.	<i>V. tmoleum</i> Boiss.	LN880687	LN880733	—	LN880776	LN880821	LN880640	LN880597
<i>V. villosum</i> (Blume) Kuntze a	<i>T. villosa</i> Blume a	HE793902	HE793844	AJ320435	AJ320436	AJ320434	HE793983	AJ320469
<i>V. villosum</i> (Blume) Kuntze b	<i>T. villosa</i> Blume b	HE793868	HE793800	—	HE793771	HE793733	HE793952	HE793926
<i>V. yamanakae</i> (Ohwi & H. Ohashi) H. Ohashi	<i>V. yamanakae</i> (Ohwi & H. Ohashi) H. Ohashi	AB109153	AB109129	AB109937	AB109968	—	AB110062	AB110000
<i>V. yonakuniense</i> (Hats.) T. Yamash. & Y. Tateishi	<i>V. yonakuniense</i> (Hats.) T. Yamash. & Y. Tateishi	AB109162	AB109130	AB109938	AB109969	—	AB110063	AB110001
白前 <i>V. glaucescens</i> (Decne.) C. Y. Wu & D. Z. Li	白前 <i>V. glaucescens</i> (Decne.) C. Y. Wu & D. Z. Li	HE793873	HE793805	HE793753	HE793776	HE793738	HE793957	HE793930
白薇 <i>V. atratum</i> C. Morren & Decne. a	白薇 <i>V. atratum</i> C. Morren & Decne. a	HE793904	HE793846	AJ410269	AJ410270	AJ410268	HE793985	AJ320472
白薇 <i>V. atratum</i> C. Morren & Decne. b	白薇 <i>V. atratum</i> C. Morren & Decne. b	AB109148	AB109089	AB109926	AB109958	—	AB110049	AB109986
变色白前 <i>V. versicolor</i> (Bunge) Decne.	变色白前 <i>V. versicolor</i> (Bunge) Decne.	HE793879	HE793812	—	HE793782	HE793745	HE793963	HE793936
潮风草 <i>V. acuminatum</i> Decne. a	潮风草 <i>V. acuminatum</i> Decne. a	AB109145	AB109086	AB109924	AB110215	—	AB110046	AB109983
潮风草 <i>V. acuminatum</i> Decne. b	潮风草 <i>V. acuminatum</i> Decne. b	LN880661	LN880708	—	LN880751	LN880796	LN880615	LN880573
催吐白前 <i>V. hirundinaria</i> Medic.	催吐白前 <i>V. hirundinaria</i> Medic.	HE793906	HE793848	AJ410275	AJ410276	AJ410274	HE793987	AJ320474
大理白前 <i>V. Forrestii</i> (Schltr.) C. Y. Wu & D. Z. Li	大理白前 <i>V. Forrestii</i> (Schltr.) C. Y. Wu & D. Z. Li	HE793872	HE793804	HE793752	HE793775	HE793737	HE793956	HE793929
粉绿白前 <i>V. canescens</i> (Willd.) Decaisne	粉绿白前 <i>V. canescens</i> (Willd.) Decaisne	LN880665	LN880712	—	LN880755	LN880800	LN880619	LN880577
光叶娃儿藤 <i>V. brownii</i> (Hayata) Meve & Liede	光叶娃儿藤 <i>T. brownii</i> Hayata	AB109138	AB109079	AB109913	AB109945	—	AB110039	AB109976
合掌消 <i>V. amplexicaule</i> Siebold et Zucc.	合掌消 <i>V. amplexicaule</i> Siebold et Zucc.	AB109147	AB109088	AB109925	AB109957	—	AB110048	AB109985
黑水藤 <i>V. insignis</i> (Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede	黑水藤 <i>Biondia insignis</i> Tsiang	HE793851	HE793783	—	HE793754	HE793716	HE793938	HE793909
华北白前 <i>V. mongolicum</i> Maxim.	华北白前 <i>V. mongolicum</i> Maxim.	HE793874	HE793806	—	HE793777	HE793739	HE793958	HE793931
柳叶白前 <i>V. stauntonii</i> (Decne.) C. Y. Wu & D. Z. Li	柳叶白前 <i>V. stauntonii</i> (Decne.) C. Y. Wu & D. Z. Li	HE793877	HE793810	—	HE793780	HE793743	HE793961	HE793934

续表 1

类群 Taxon	类群原先使用名称 Taxon name originally used	<i>psbA-trnH</i>	<i>trnG</i>	<i>trnL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>trnT-L</i>	ETS	ITS
蔓白前 <i>V. volubile</i> (Maxim.) Hemsl.	蔓白前 <i>V. volubile</i> (Maxim.) Hemsl.	LN880688	LN880734	—	LN880777	LN880822	LN880641	LN880598
蔓剪草 <i>V. chekiangense</i> (M. Cheng) C. Y. Wu & D. Z. Li	蔓剪草 <i>V. chekiangense</i> (M. Cheng) C. Y. Wu & D. Z. Li	HE793870	HE793802	—	HE793773	HE793735	HE793954	—
七层楼 <i>V. floribundum</i> (Miq.) Franch. & Sav.	七层楼 <i>T. floribunda</i> Miq.	AB109139	AB109080	AB109914	AB109946	—	AB110040	AB109977
秦岭藤 <i>V. shaanxiense</i> (Schltr.) Meve & Liede	秦岭藤 <i>Biondia chinensis</i> Schltr.	MH210646	MH210646	MH210646	MH210646	MH210646	OL597536	OL442775
青龙藤 <i>V. henryi</i> (Warb. ex Schltr. & Diels) Meve & Liede	青龙藤 <i>Biondia henryi</i> (Warb. ex Schltr. & Diels) Tsiang & P. T. Li	HE793880	HE793814	AJ410191	AJ410192	AJ410190	HE793964	HE793937
驼峰藤 <i>V. hainanense</i> (Chun & Tsiang) Meve, H. H. Kong & Liede	驼峰藤 <i>Merrillanthus hainanensis</i> Chun & Tsiang	OL442775	OL442775	OL442775	OL442775	OL442775	OL597537	OL442774
娃儿藤 <i>V. hirsutum</i> (Wall.) Kuntze	娃儿藤 <i>T. hirsuta</i> (Wall.) Wight	HE793863	HE793795	—	HE793766	HE793728	HE793948	HE793921
娃儿藤 <i>V. hirsutum</i> (Wall.) Kuntze	娃儿藤 <i>T. mollissima</i> Wall. ex Wight	LN880659	LN880706	HG530586	—	LN880794	—	LN880571
娃儿藤 <i>V. hirsutum</i> (Wall.) Kuntze	娃儿藤 <i>T. ovata</i> (Lindl.) Hook. ex Steud.	AB109142	AB109084	AB109918	AB109950	—	AB110043	AB109981
小叶娃儿藤 <i>V. flexuosum</i> (R. Br.) Kuntze a	小叶娃儿藤 <i>T. flexuosa</i> R. Br. a	LN880656	LN880703	AJ320411	AJ320412	AJ320410	LN880612	LN880568
小叶娃儿藤 <i>V. flexuosum</i> (R. Br.) Kuntze b	小叶娃儿藤 <i>T. flexuosa</i> R. Br. b	HE793893	HE793835	AJ320414	AJ320415	AJ320413	HE793974	AJ320458
徐长卿 <i>V. pycnostelma</i> Kitag. a	徐长卿 <i>V. pycnostelma</i> Kitag. a	AB109161	AB109126	AB109934	AB109965	—	AB110059	AB109997
徐长卿 <i>V. pycnostelma</i> Kitag. b	徐长卿 <i>V. pycnostelma</i> Kitag. b	HE793876	HE793808	—	HE793779	HE793741	HE793960	HE793933
云南娃儿藤 <i>V. yunnanense</i> (Schltr.) Meve & Liede	云南娃儿藤 <i>T. yunnanensis</i> Schltr.	HE793903	HE793845	AJ320441	AJ320442	AJ320440	HE793984	AJ320471
竹灵消 <i>V. inamoenum</i> Maxim. a	竹灵消 <i>V. inamoenum</i> Maxim. a	AB109165	AB109133	AB109920	AB109952	—	AB110066	AB109989
竹灵消 <i>V. inamoenum</i> Maxim. b	竹灵消 <i>V. inamoenum</i> Maxim. b	LN880671	LN880718	—	LN880761	LN880806	LN880625	LN880582

注：— 表示信息的缺失；加粗字体表示新增物种，它们的叶绿体基因组序列片段对应的序列号提供的是完整叶绿体基因组序列号，所用片段从中进行了截取。

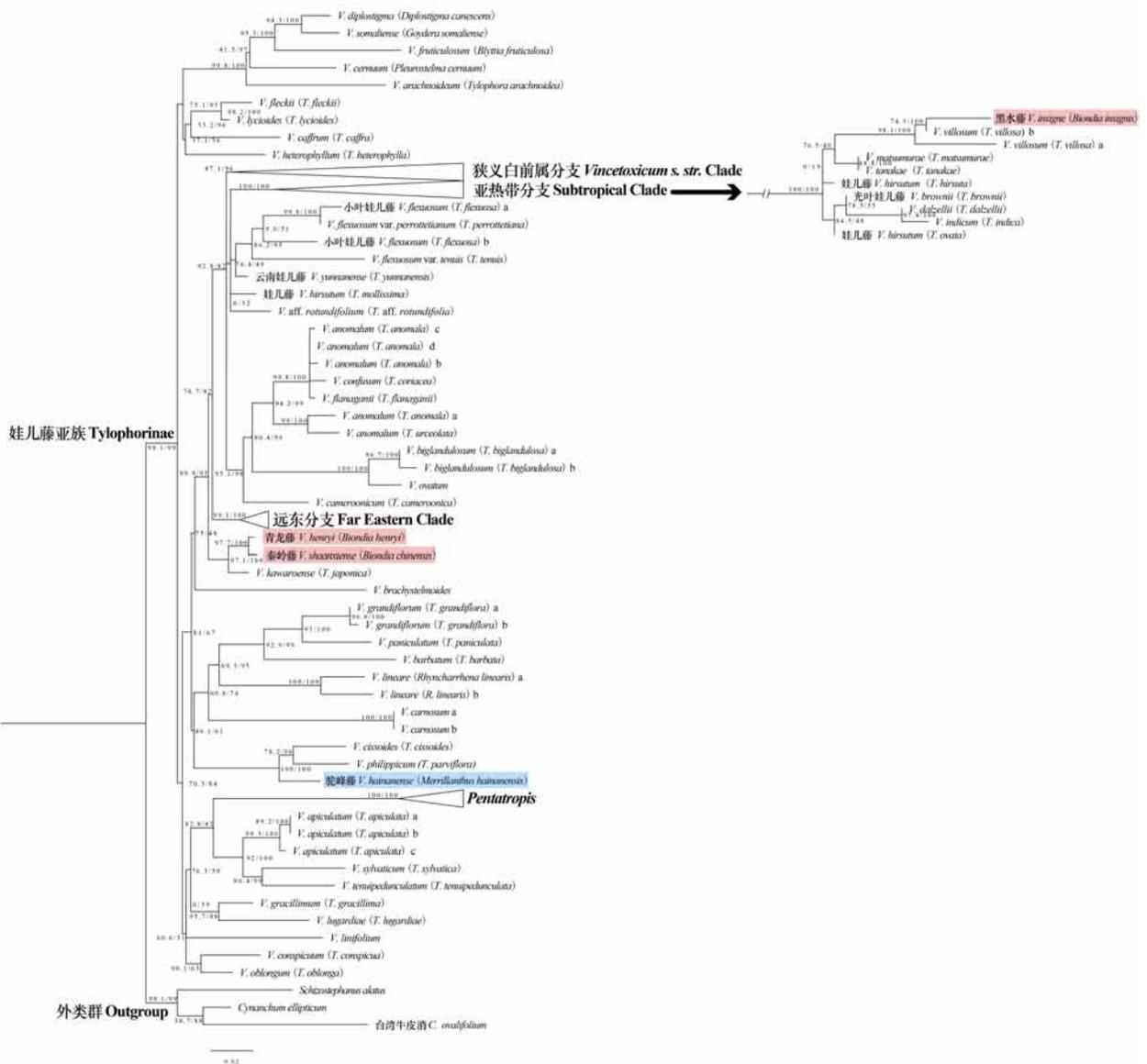
Note: — indicates the absence of information; taxa in bold are newly added for the present study, their GenBank accession numbers corresponding to the plastid DNA data are provided for the complete chloroplast genome, and the plastid DNA data used were extracted from the complete chloroplast genome.

2 结果与分析

基于核糖体基因序列片段(ETS、ITS)构建的系统发育树显示，娃儿藤亚族中白前属是非单系的，*Pentatropis* R. Br. ex Wight & Arn. 嵌套在白前属中，并与 *Vincetoxicum apiculatum* + *V. sylvaticum* + *V. tenuipedunculatum* 成姐妹分支，支持率分别为 SH-aLRT=82.8%、UFboot=82% (82.8/82) (图 1)；基于叶绿体基因序列片段以及合并数据构建的系统树都显示娃儿藤亚族分为 2 个大分支，*Pentatropis* R. Br. ex Wight & Arn. 与白前属呈姐妹关系，支持率

分别为 99.8/100、99.9/100(图 2,图 3)。

3 组分子矩阵数据所建系统树都高度支持驼峰藤属与 *V. cissoides* (*Tylophora cissoides*) 和 *V. philippicum* (*T. parviflora*) 聚为一支，图 1、图 2、图 3 中支持率分别为 100/100、97.9/100、100/100；秦岭藤属中的 3 个种均嵌套在白前属分支中，但在系统树中非单系，其中在基于核糖体基因序列片段(ETS、ITS)所建的系统树与合并数据所建的系统树中，秦岭藤与青龙藤 *V. henryi* (*Biondia henryi*) 互为姐妹类群，支持率分别为 97.7/100、97.8/100 (图 1,图 3)，并与 *V. kawaroense* (*T. japonica*) 聚为一支，支持率分别为 97.1/100、97.8/100，在基于



分支节点数据代表 SH-aLRT 和 UFboot 2 个支持率,SH-aLRT ≥ 80% 且 UFboot ≥ 95%, 视为结果可信,分支的划分参照 Liede-Schumann 等(2016)。下同。

Each branch assigned with SH-aLRT and UFboot supports, if SH-aLRT ≥ 80% and UFboot ≥ 95%, the result is considered to be credible, clade designations follow those of Liede-Schumann et al. (2016). The same below.

图 1 基于 2 个核糖体基因序列片段 (ETS/ITS) 构建的娃儿藤亚族的系统发育树

Fig. 1 Phylogeny tree of Tylophorinae constructed by two ribosomal gene sequence fragments (ETS, ITS)

叶绿体基因序列片段构建的系统树中,秦岭藤与青龙藤聚为一支,但支持率较低(31.3/67)(图 2),而黑水藤在 3 组系统树中均显示在亚热带分支(Subtropical Clade)中(图 1、图 2、图 3 中支持率分别为 100/100、93.8/100、100/100),并与 *V. villosum*(*T. villosa*)聚为一支(图 1、图 2、图 3 中支持率分别为 74.3/100、0/96、72.6/100)。

3 讨论与结论

3.1 秦岭藤属的系统发育与属级分类地位

在秦岭藤属建立时,Schlechter(1905)指出其花粉块下垂,与牛奶菜属(*Marsdenia* R. Br.)的直立花粉块存在明显差异;花冠坛状或近钟状,与娃

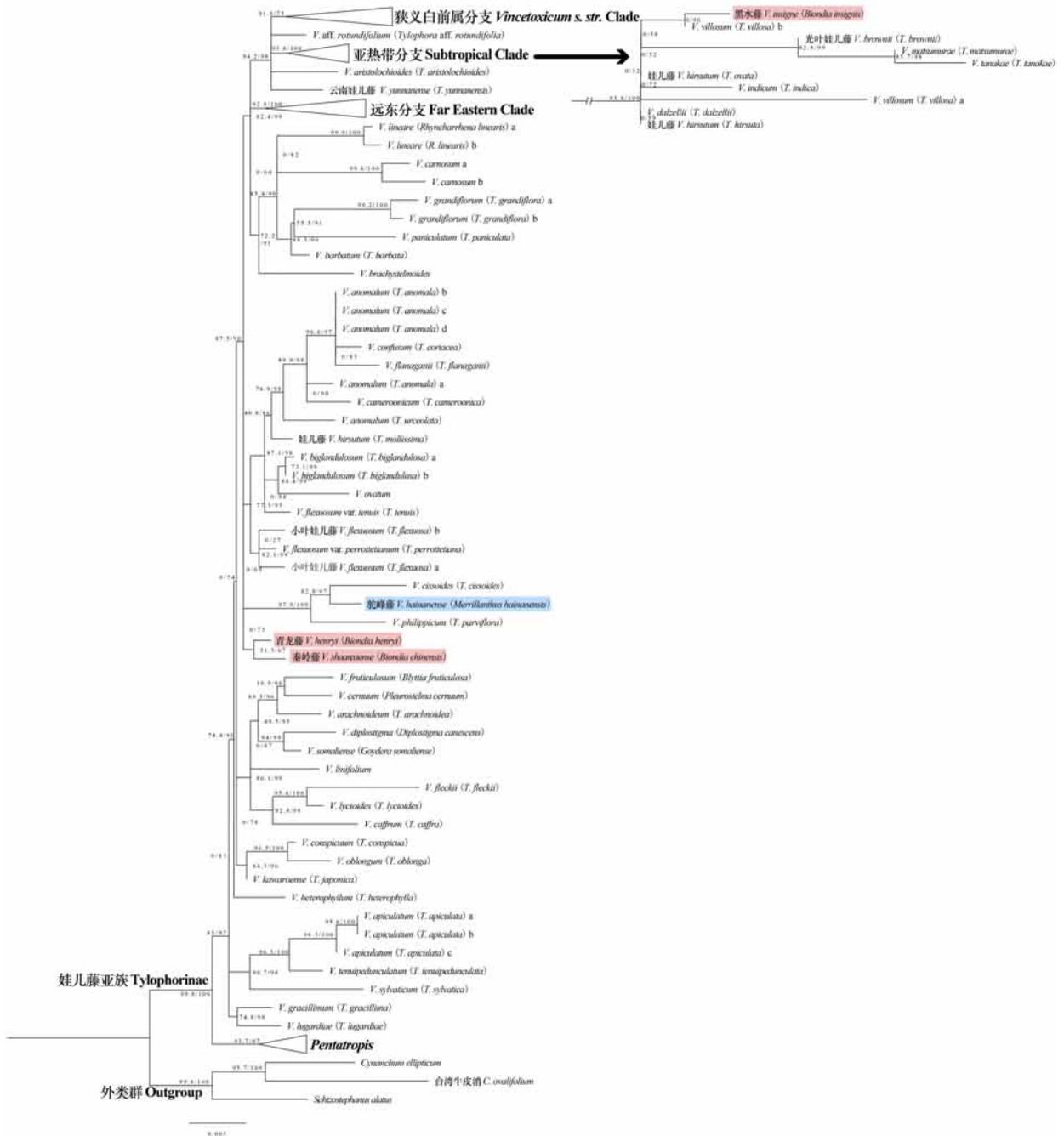


图 2 基于 5 个叶绿体基因序列片段 (*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*) 构建的娃儿藤亚族的系统发育树
 Fig. 2 Phylogeny tree of Tylophorinae constructed by five plastid gene sequence fragments (*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*)

儿藤属的花冠 5 深裂、辐状或广辐状有别, 并认为秦岭藤属应放在马利筋亚族 (Asclepiadinae) 中。Gilbert 等 (1995) 认为秦岭藤属的特点是叶狭窄, 叶正面具有微小的苍白点, 花小, 花冠缩小, 通常呈环状, 花冠管多数较发达, 并观察到娃儿藤属的

一些种也有相似的苍白点, 说明秦岭藤属与娃儿藤属形态性状存在交叉现象。娃儿藤属已被归并至白前属中 (Liede-Schumann et al., 2012; Liede-Schumann & Meve, 2018; Endress et al., 2018), 本研究的分子系统结果支持秦岭藤属归并入白前属



图 3 基于 5 个叶绿体基因序列片段 (*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*) 和 2 个核糖体基因序列片段 (ETS/ITS) 构建的娃儿藤亚族的系统发育树

Fig. 3 Phylogeny tree of Tylophorinae constructed by five plastid gene sequence fragments (*psbA-trnH*, *trnG*, *trnL*, *trnL-F*, *trnT-L*) and two ribosomal gene sequence fragments (ETS, ITS)

的分类处理。

本研究分子系统分析结果显示,秦岭藤属的 3 个种都在白前属内,其中秦岭藤与青龙藤聚为一支,而黑水藤与 *V. villosum* (*T. villosa*) 聚为一支,并在亚热带分支中,但它们在形态上差异较大,黑水藤的枝、叶柄均被单列短柔毛,叶线状披针形,除

叶面中脉被微毛外,无毛,花冠近钟状,无毛,而 *V. villosum* 的枝、叶柄均密被柔毛,叶卵形或卵状长圆形,两面具毛,花冠辐状,具长柔毛;地理分布方面,前者分布于我国贵州、湖南、四川、西藏和云南 (Li et al., 1995),后者分布于爪哇岛 (Backer & Bakhuizen, 1965)。有关黑水藤与近缘种在形态

和地理分布上差异较大,但亲缘关系较近的情况尚需进一步采集更多样品开展深入探究。

3.2 驼峰藤属的系统位置与属级分类地位

驼峰藤属在发表时被认为与徐长卿属 (*Pycnostelma* Bunge ex Decne.) 最相近 (Chun & Tsiang, 1941), 后者现已被归并至白前属中 (Liede-Schumann & Meve, 2018), 两者的副花冠都贴生于雄蕊, 它们在生活型、副花冠裂片的形状、花冠裂片生长样式和果实形状大小等方面存在明显区别, 其中驼峰藤属为木质藤本, 副花冠裂片背部隆起, 基部增厚, 花冠裂片连生, 未开花时裂片顶端向内连生, 蓇葖果单生, 纺锤形, 大型; 而徐长卿属为直立草本, 副花冠向先端加厚, 花冠深裂, 果实披针形, 较小 (Chun & Tsiang, 1941); 驼峰藤属的花冠裂片与醉魂藤属 (*Heterostemma* Wight & Arn.) 和球兰属 (*Hoya* R. Br.) 类似, 其膜质心形叶片与夜来香属 (*Telosma* Coville) 相似, 驼峰藤属的花粉块下垂, 另 3 个属的花粉块直立, 可以明显区分 (Chun & Tsiang, 1941)。蒋英和李秉滔 (1977) 发现驼峰藤属与印度产的原 *Iphisia* Wight & Arn = *Vincetoxicum* Wolf 较相近, 不同之处在于驼峰藤属的花冠裂片端部未开放时互相粘合, 花粉块柄斜行上升, 且花粉块完全倒垂, 而 *Iphisia* 的花粉块柄先横平, 次上升, 后斜下。驼峰藤属的花部结构与宜昌娃儿藤 [*T. augustiniana* (Hemsl.) Craib = *V. augustinianum* (Hemsl.) Meve & Liede] 十分相似, 但驼峰藤属的花更大。此外, 由于驼峰藤属的蓇葖果大 (长 9~12 cm, 直径 3.5~4 cm), 有较厚的纤维状中果皮, 而娃儿藤属通常果皮薄, 具有纸质的蓇葖果壁, 因此驼峰藤属被保留为独立的属 (Gilbert et al., 1995)。本研究未收集到宜昌娃儿藤的数据, 但研究结果显示驼峰藤属与其他 2 个娃儿藤属 *V. cissoides* (*T. cissoides*) 和 *V. philippicum* (*T. parviflora*) 聚为一支, 这 2 个种果实均较大 (前者长 10~12 cm, 直径 3~5 cm; 后者长 13~15 cm, 直径 3~4 cm), 叶大小与叶形与驼峰藤属很相似; 地理分布上, *V. cissoides* 广泛分布于印度尼西亚东部和新几内亚 (Forster, 1994), *V. philippicum* 仅分布于菲律宾 (Meve et al., 2002), 而驼峰藤属分布于我国的广东、海南以及柬埔寨 (Li et al., 1995)。因此, 仅凭果实大小、花粉块柄的生长方式、叶子的形状与大小作为娃儿藤亚族内属的鉴别特征可能并不够充分, 但这些特征可作为白前属内种间

的鉴别特征。依据花粉块下垂的特征, 驼峰藤属在最初建立时被置于马利筋族马利筋亚族中 (Chun & Tsiang, 1941), 自 Endress 和 Bruyns (2000) 合并夹竹桃科与萝藦科后, 该属也被置于马利筋族中, 但先后被置于鹅绒藤亚族 (Endress et al., 2007) 和娃儿藤亚族中 (Endress et al., 2014; Endress et al., 2018)。本研究支持当前驼峰藤属归并至白前属, 并放置在娃儿藤亚族中。

3.3 白前属的系统发育

虽然基于核糖体基因序列和叶绿体基因序列合并数据的系统发育分析显示白前属为单系, 但其含有的信息位点依旧较少, 白前属属内的种间系统发育关系支持率较低。基于高通量测序的系统发育分析将更清晰地重建白前属的系统发育分支关系。由于白前属的分类变动较大, 因此非常有必要基于基因组学研究结果与形态特征分析进行全面的分类学修订。

致谢 承蒙广东中山树木园廖浩斌老师在样品采集上提供帮助, 陕西师范大学邹嘉宾老师提供分子数据, 以及武汉植物园张彩飞老师协助数据获取, 特此致谢。

参考文献:

- ALI SI, KHATOON S, 1982. Genus *Vincetoxicum* Von Wolf (Asclepiadaceae) in Pakistan [J]. *Pak J Bot*, 14(1): 61-68.
- BACKER CA, BAKHUIZEN VAN DEN BRINK RC, 1965. *Flora of Java (spermatophytes only) Vol. II Angiospermae, families 111-160* [M]. Groningen: N. V. P. Noordhoff: 259-260.
- CHASE MW, CHRISTENHUSZ MJM, FAY MF, et al., 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV [J]. *Biol J Linn Soc*, 181(1): 1-20.
- CHUN WY, TSIANG Y, 1941. *Merrillanthus*, a new genus of Asclepiadaceae from Hainan [J]. *Sunyatsenia*, 6(2): 105-108.
- ENDRESS ME, BRUYNS PV, 2000. A revised classification of the Apocynaceae s. l. [J]. *Bot Rev*, 66(1): 1-56.
- ENDRESS ME, LIEDE-SCHUMANN S, MEVE U, 2007. *Advances in Apocynaceae: The enlightenment, an introduction* [J]. *Ann Mo Bot Gard*, 94(2): 259-267.
- ENDRESS ME, LIEDE-SCHUMANN S, Meve U, 2014. An updated classification for Apocynaceae [J]. *Phytotaxa*, 159(3): 175-194.
- ENDRESS ME, MEVE U, MIDDLETON DJ, et al., 2018. *Apocynaceae* [M]//KADEREIT JW, BITTRICH V.

- Flowering plants. Eudicots: Apiales, Gentianales (except Rubiaceae) 15. Cham; Springer International Publishing: 207–411.
- FISHBEIN M, LIVSHULTZ T, STRAUB SCK, et al., 2018. Evolution on the backbone: Apocynaceae phylogenomics and new perspectives on growth forms, flowers, and fruits [J]. *Am J Bot*, 105(3): 495–513.
- FORSTER PI, 1991. A taxonomic revision of *Cynanchum* L. (Asclepiadaceae: Asclepiadoideae) in Australia [J]. *Austrobaileya*, 3(3): 443–466.
- FORSTER PI, 1994. A taxonomic revision of *Tylophora* (Asclepiadaceae: Marsdenieae) in Papuasia [J]. *Aust Syst Bot*, 7(5): 485–505.
- GILBERT MG, STEVENS WD, LI PT, 1995. Notes on the Asclepiadaceae of China [J]. *Novon*, 5(1): 1–16.
- GUINDON S, DUFAYARD J, LEFORT V, et al., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0 [J]. *Syst Biol*, 59(3): 307–321.
- HSU T, HUANG W, CHUNG S, 2021. *Vincetoxicum* (Apocynaceae: Asclepiadoideae) in Taiwan: Two new combinations and a new record [J]. *Phytotaxa*, 478(2): 287–290.
- JIANG (TSIANG) Y, LI BT (PT), 1977. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 63* [M]. Beijing: Science Press: 249–575. [蒋英, 李秉滔, 1977. 中国植物志: 第 63 卷 [M]. 北京: 科学出版社: 249–575.]
- JIN JJ, YU WB, YANG JB, et al., 2020. GetOrganelle: A fast and versatile toolkit for accurate de novo assembly of organelle genomes [J]. *Genome Biol*, 21(1): 241.
- KATO H, STANDLEY DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software Version 7: improvements in performance and usability [J]. *Mol Biol Evol*, 30(4): 772–780.
- KIDYOO A, KIDYOO M, 2018. A new species of *Hoya* (Marsdenieae), three new combinations and two new names in *Vincetoxicum* (Asclepiadeae) from Thailand [J]. *Taiwania*, 63(1): 25–31.
- LI PT, GILBERT MG, STEVENS WD, 1995. Asclepiadaceae [M]//WU ZY, RAVEN PH, HONG DY. *Flora of China*. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 189–270.
- LIEDE S, 1996. *Cynanchum-Rhodostegiella-Vincetoxicum-Tylophora* (Asclepiadaceae): New considerations on an old problem [J]. *Taxon*, 45(2): 193–211.
- LIEDE S, 2001. Subtribe Astephaninae (Apocynaceae—Asclepiadoideae) reconsidered: New evidence based on cpDNA spacers [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, 88(4): 657–668.
- LIEDE-SCHUMANN S, KHANUM R, MUMTAZ AS, et al., 2016. Going west — A subtropical lineage (*Vincetoxicum*, Apocynaceae: Asclepiadoideae) expanding into Europe [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 94(A): 436–446.
- LIEDE-SCHUMANN S, KONG H, MEVE U, et al., 2012. *Vincetoxicum* and *Tylophora* (Apocynaceae: Asclepiadoideae: Asclepiadeae)—two sides of the same medal: Independent shifts from tropical to temperate habitats [J]. *Taxon*, 61(4): 803–825.
- LIEDE-SCHUMANN S, MEVE U, 2018. *Vincetoxicum* (Apocynaceae—Asclepiadoideae) expanded to include *Tylophora* and allies [J]. *Phytotaxa*, 369(3): 129–184.
- MARKGRAF F, 1972. Asclepiadaceae [M]//TUTIN TG, HEYWOOD VH, BURGESS NA, et al. *Flora Europaea: Volume 3. Diapensiaceae to Myoporaceae*. Cambridge: Cambridge University Press: 71.
- MEVE U, OMLOR R, LIEDE-SCHUMANN S, 2002. A new combination in *Tylophora* (Apocynaceae, Asclepiadoideae) from the Philippines [J]. *Syst Geogr Plant*, 72(1/2): 27–32.
- MINH BQ, NGUYEN MAT, VON HAESELER A, 2013. Ultrafast approximation for phylogenetic bootstrap [J]. *Mol Biol Evol*, 30(5): 1188–1195.
- NGUYEN LT, SCHMIDT HA, VON HAESELER A, et al., 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. *Mol Biol Evol*, 32(1): 268–274.
- QIU SX, LI DZ, ZHANG ZX, et al., 1989. Chemotaxonomy of *Cynanchum* and its allied genera with notes on the generic characteristics of *Vincetoxicum* [J]. *Acta Bot Yunnan*, 11(1): 41–50. [邱声祥, 李德铎, 张壮鑫, 等, 1989. 鹅绒藤属及其近缘属的化学分类——兼论 *Vincetoxicum* 的恢复问题 [J]. 云南植物研究, 11(1): 41–50.]
- QU XJ, MOORE MJ, LI DZ, et al., 2019. PGA: A software package for rapid, accurate, and flexible batch annotation of plastomes [J]. *Plant Methods*, 15(1): 1–12.
- RAO H, WANG XJ, MA JX, et al., 2018. Characterization of the complete chloroplast genome of *Biondia chinensis* (Apocynaceae: Asclepiadoideae: Asclepiadeae), a rare and threatened liana endemic to China [J]. *Mitochon DNA Part B Resour*, 3(2): 763–764.
- RAPINI A, VAN DEN BERG C, LIEDE-SCHUMANN S, 2007. Diversification of Asclepiadoideae (Apocynaceae) in the New World [J]. *Ann Mo Bot Gard*, 94(2): 407–422.
- RAMBAUT A, 2012. FigTree version 1.4.0. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>.
- SCHLECHTER R, 1905. Asclepiadaceae [J]. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie*, 36(Beibl. 82): 91.
- SHAH SA, SULTAN A, WEN J, et al., 2021. Taxonomy of *Vincetoxicum s. str.* (Asclepiadoideae, Apocynaceae) from southern Asia including three new species and resurrected names [J]. *PhytoKeys*, 179: 35–73.
- WICK RR, SCHULTZ MB, ZOBEL J, et al., 2015. Bandage: interactive visualization of *de novo* genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 31(20): 3350–3352.
- XIONG WJ, LEE SY, LIU PP, et al., 2019. Complete chloroplast genome of *Vincetoxicum hainanense* (Apocynaceae: Asclepiadoideae), an endangered liana endemic to China [J]. *Mitochon DNA Part B Resour*, 4(2): 3608–3609.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202108042

顾嘉豪, 张粒毫, 张皓昱, 等. 净多样化速率和进化时间对虎耳草目科间物种多样性差异的影响 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1730–1739.

GU JH, ZHANG LH, ZHANG HY, et al. Influence of net diversification rate and evolutionary time on the differences in species richness among families of order Saxifragales [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1730–1739.



净多样化速率和进化时间对虎耳草目科间物种多样性差异的影响

顾嘉豪^{1,2}, 张粒毫^{1,2}, 张皓昱^{1,2}, 仵天晴¹, 黄林青³, 程瑞静^{1,2},
徐莹^{1,2}, 王庆刚⁴, 徐晓婷^{1,2*}

(1. 四川大学 生命科学学院, 成都 610065; 2. 四川大学 生物资源与生态环境教育部重点实验室, 成都 610065;
3. 四川大学 生物医学工程学院, 成都 610065; 4. 中国农业大学 资源与环境学院, 北京 100083)

摘要: 不同生物类群包含的物种数目常存在巨大差异, 这是生态学和生物学研究中普遍观察到的现象。然而, 这一现象产生的原因仍然是未解之谜。从宏观进化的角度, 进化时间假说和多样化速率假说是两个比较流行的假说。进化时间假说认为类群的演化时间越长, 积累的物种丰富度越高; 而多样化速率假说认为类群的净多样化速率越快, 则其物种丰富度越高。为验证这两个假说, 该文以一棵包含 1 539 个物种化石定年的虎耳草目系统发育树为基础, 通过宏观进化分析获取了虎耳草目内 15 个科的物种形成和灭绝速率, 并计算了每个科的平均多样化速率。结果表明: (1) 虎耳草目的物种多样化速率有着增加的趋势, 并且多样化速率的增加主要出现在温带和高山类群, 如茶藨子科、景天科和芍药科等。 (2) 采用系统发育广义最小二乘模型 (PGLS) 和线性回归模型 (LM) 结果表明, 虎耳草目 15 个科的物种丰富度与科的分化时间和科内物种的最近共同祖先年龄都没有显著相关关系, 而与净多样化速率显著正相关 ($R^2 = 0.380, P < 0.05$)。该研究支持了多样化速率假说, 认为不同科的净多样化速率的差异是导致虎耳草目科间物种数目差异的主要原因之一。全球气候变冷可能为虎耳草目中草本、落叶乔木和灌木等能够适应寒冷环境的类群提供了分布范围扩张和物种快速多样化的机会。该研究表明在温带和高山扩张类群中, 物种净多样化速率可能是导致不同类群物种数目差异的主要原因。

关键词: 虎耳草目, 物种多样性, 系统发育, 多样化速率, 宏观演化

中图分类号: Q941 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1730-10

Influence of net diversification rate and evolutionary time on the differences in species richness among families of order Saxifragales

GU Jiahao^{1,2}, ZHANG Lihao^{1,2}, ZHANG Haoyu^{1,2}, WU Tianqing¹, HUANG Linqing³,
CHENG Ruijing^{1,2}, XU Ying^{1,2}, WANG Qinggang⁴, XU Xiaoting^{1,2*}

收稿日期: 2022-03-29

基金项目: 国家自然科学基金 (31770566) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31770566)].

第一作者: 顾嘉豪 (1999-), 学士, 主要从事宏观生态学方面研究, (E-mail) 1311588826@qq.com。

* 通信作者: 徐晓婷, 博士, 副教授, 主要从事宏观生态学和生物地理学研究, (E-mail) xiaotingxu@scu.edu.cn。

(1. *College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610065, China*; 2. *Key Laboratory of Bio-resource and Eco-environment of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610065, China*; 3. *College of Biomedical Engineering, Sichuan University, Chengdu 610065, China*; 4. *College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100083, China*)

Abstract: The differences in the species richness among different biological taxonomic groups often vary greatly, which is a phenomenon commonly observed in ecological and biological studies. However, the underlying mechanisms of this pattern are still in hot debate. From the perspective of macroevolution, time-for speciation hypothesis and diversification rate hypothesis are two popular hypotheses. Time-for speciation hypothesis suggesting that the time-for-speciation is the primary driver of diversity variation among groups by species accumulation along time, while diversification rate hypothesis suggesting that the groups with high species number resulted from their high net diversification rates. To test these two hypotheses, we studied species variation among 15 families of order Saxifragales based on a fossil-calibrated phylogenetic tree containing 1 539 species. We obtained the rates of speciation and extinction of 15 families and calculated the average diversification rate of each family through macroevolutionary analysis. The results are as follows: (1) The species diversification rate of order Saxifragales shows an increasing trend, and the increase of diversification rate mainly occurred in temperate and alpine groups, such as Grossulariaceae, Crassulaceae and Paoniaceae. (2) The results of phylogenetic generalized least squares (PGLS) and linear regression model (LM) show that the species richness of the 15 families is not significantly correlated with the age of family differentiation or the age of the most recent common ancestor, but it is positively correlated with the net diversification rate ($R^2 = 0.380$, $P < 0.05$). These results support the diversification rate hypothesis, suggesting that the diversification rate is a primary evolutionary driver of the variation of species richness among families of order Saxifragales. Global cooling may provide opportunities for the expansion of distribution and rapid species diversification of herbaceous, deciduous trees and shrubs those can adapt to cold conditions. The study show that in temperate and alpine spreading groups, the net diversification rate may be the main reason for the differences in species numbers of different taxonomic groups.

Key words: Saxifragales, species diversity, phylogeny, diversification rate, macroevolution

生物类群之间的物种总数的差异是自然界中普遍存在的现象,但是这一现象的形成机制仍然是未解之谜(Ricklefs & Renner, 1994; Barraclough & Savolainen, 2010; Rabosky, 2010; Wiens, 2011; Robosky & Adams, 2012; Mereau & Bell, 2013; Machac, 2020; Li & Wiens, 2019)。从生物类群的宏观进化角度来看,进化时间假说(time-for speciation hypothesis)和多样化速率假说(diversification rate hypothesis)是解释类群间物种多样性差异的两个最为核心的假说(Scholl & Wiens, 2016; Li & Wiens, 2019)。进化时间假说认为,进化时间越长,物种能积累的物种多样性越高,因此进化的时间差异是导致类群间物种多样性差异的主要原因。换句话说,一个起源古老的类群,比新近起源的类群拥有更长的进化时间,因此可以积累更多的物种。多样化速率假说认为,在生物演化历史中,不同类群种化速率和灭绝速率的动态变化导致的净多样化速率差异是引起物种多样性变化的主要原因(Scholl & Wiens,

2016)。也就是说,物种形成速率高而灭绝速率低的类群具有更高的净多样化速率,因此具有更多的物种。

目前,进化时间假说和多样化速率假说在物种多样性形成中的相对作用还存在很多争议(Marin et al., 2018)。进化时间假说成立的前提是演化过程中净多样化速率在不同类群之间无差异或差异极小。然而越来越多的研究发现,净多样化速率在不同类群之间有差异。特别是经历过大型灭绝事件的类群,物种数目会骤然下降,从而导致物种多样性的突然丧失,物种数目减少。例如, Rabosky 等(2012)对多细胞真核生物 1 397 个主要分支的研究发现,分支的分化时间,即干龄(stem age),与分支所包含的物种数之间没有显著关系,因而否定了进化时间假说。Pyron 和 Wiens (2013)发现,许多古老两栖动物分支具有较低的物种多样性,但是年轻的分支具有较多的物种。但是该研究并没有直接验证物种多样性与多样化速率之间的关系。而 McPeck 和 Brown

(2007)对不同动物类群物种多样性的研究却发现分支年龄是物种多样性的决定因素。Marin 和 Hedges (2016)对不同类群的冠龄(crown age)与物种丰富度关系的研究也表明两栖动物、鸟类和哺乳动物的物种丰富度与其最近共同祖先的年龄(age)显著正相关。为进一步验证进化时间和多样化速率假说,Scholl 和 Wiens (2016)使用生命之树(tree of life)对不同生物类群不同分类学等级的物种多样性的差异进行了研究。研究中发现,在不同的分类等级,例如,门、目和科等,物种多样性主要是由多样化速率决定,而与进化时间无显著相关关系,甚至出现负相关关系。古老的类群物种多样化速率低,而年轻类群的多样化速率高可能是导致该现象的主要原因。并且,进化时间与物种多样化速率的关系在不同分类等级和不同的生物类群中的差异可能导致不显著的物种多样化速率与物种多样性的关系。综上,进化时间假说和多样化速率假说在物种多样性形成中的作用仍然存在争议。

虎耳草目(Saxifragales)包含了15个科的共约3000个种,包括了乔木、灌木、多年生或一年生草本植物、多肉植物和水生植物等多种生活型,广泛分布于全球不同的生态系统中(Soltis et al., 2013)。虎耳草目内部科的分化时间从早白垩纪晚期至第三纪早期,且科内物种数目存在巨大差异,最大的景天科(Crassulaceae)包含了大约1600个种,而锁阳科(Cynomoriaceae)和四心木科(Tetracarpaceae)、隐瓣藤科(Aphanopetalaceae)却只有不到10个物种。同时,虎耳草目的分子系统学研究基础扎实,基于301个核基因建立的系统发育骨架,确定了各科之间的系统发育关系和分化时间(Folk et al., 2019)。Folk 等(2019)还结合小片段构建了种级水平的系统发育树,物种覆盖率达当时公认物种的70%以上,为准确估计物种的多样化速率奠定了基础。因此,虎耳草目是研究科间物种丰富度差异、验证进化时间和多样化速率假说的理想类群。本研究采用系统发育广义最小二乘模型(phylogenetic generalized least squares, PGLS)分析了虎耳草目科的物种多样性与科的冠龄、干龄和多样化速率的关系,发现了物种多样性与多样化速率有显著的正相关关系,与进化时间没有显著关系,且进化时间与多样化速率的综合效应对这种物种丰富度差异有更强的解释性。本研究结果

发现了多样化速率在虎耳草目物种多样性形成中的重要作用,支持了物种多样性格局的多样化速率假说,同时也支持了进化时间和多样化速率的综合效应。

1 材料与方法

1.1 虎耳草目系统发育树

本研究采用的系统发育树主要基于Folk 等(2019)发表的虎耳草目的系统发育树和徐莹等(2021)构建的虎耳草属的系统发育树。Folk 等(2019)首先基于来自627个物种的301个核基因序列,构建了虎耳草目主要分支的系统发育树并通过化石和分子钟定年确定了主要分支的分化时间。之后,基于GenBank中下载虎耳草目的核基因ITS片段和叶绿体基因组的 $matK$ 等24个基因片段,建立了包含15个科1455个物种的系统发育树。徐莹等(2021)构建的系统发育树包含了353个虎耳草属的物种,涵盖了Folk 等(2019)构建的虎耳草目系统发育树中的所有虎耳草属物种,虎耳草属的分化时间也与Folk 等(2019)一致。因此,本研究将两棵系统发育树进行整合,在R语言中将徐莹等(2021)构建的虎耳草属系统发育树替换了Folk 等(2019)虎耳草目系统发育树中虎耳草属分支(Gordon, 1986; Bininda-Emonds, 2004),最终整合得到了一棵包含1539个种的虎耳草目系统发育树,涵盖虎耳草目下全部15个科,并且各科均具有较高覆盖率(表1)。

1.2 科的物种多样性

科的物种多样性数目按照生物物种名录数据库(COL, <https://www.catalogueoflife.org/>, 访问时间:2021年5月)中每个科接受的物种名称进行统计,变种和亚种等种下等级不统计,杂种不统计。由于物种多样性数目不符合正态分布,参考Rabosky 等(2012)的分析方法对科的物种多样性进行了以10为底的对数转换以改善拟合效果。

1.3 科的干龄和冠龄计算

冠龄与干龄是针对系统发育树中分支年龄的两个不同的概念(图1)。前者代表该类群现存物种最近共同祖先的年龄,而后者代表该类群最近共同祖先与其姊妹类群的最近共同祖先的年龄。有学者研究认为在取样较好的情况下,冠龄用来做数据统计分析更为合理,因为冠龄可以消除由于进化停

表 1 虎耳草目 15 个科有关数据统计

Table 1 Relevant data statistics of 15 families of order Saxifragales

科名 Family	冠龄 Crown age (Myr)	干龄 Stem age (Myr)	物种数目 Species number	种化速率 Speciation rate (Myr ⁻¹)	灭绝速率 Extinction rate (Myr ⁻¹)	净多样化速率 Net diversification rate (Myr ⁻¹)	取样率 Sampling rate
锁阳科 Cynomoriaceae	13.906	27.811	1	0.053	0.011	0.042	1.00
四心木科 Tetracarpaeaceae	41.726	83.452	1	0.179	0.061	0.118	1.00
隐瓣藤科 Aphanopetalaceae	9.990	83.147	2	0.052	0.020	0.032	1.00
连香树科 Cercidiphyllaceae	3.009	66.357	2	0.092	0.042	0.050	1.00
扯根菜科 Penthoraceae	8.513	72.090	2	0.051	0.020	0.031	1.00
围盘树科 Peridiscaceae	82.662	110.769	11	0.049	0.011	0.038	0.64
蕈树科 Altingiaceae	22.423	56.969	16	0.172	0.092	0.080	0.81
鼠刺科 Iteaceae	63.851	91.030	25	0.066	0.005	0.061	0.56
虎皮楠科 Daphniphyllaceae	19.918	95.930	29	0.079	0.021	0.058	0.41
芍药科 Paeoniaceae	12.216	108.265	50	0.248	0.059	0.189	0.64
金缕梅科 Hamamelidaceae	38.691	56.969	104	0.218	0.119	0.099	0.55
小二仙草科 Haloragaceae	28.338	72.090	165	0.232	0.078	0.154	0.61
茶藨子科 Grossulariaceae	20.691	85.690	195	0.232	0.041	0.191	0.44
虎耳草科 Saxifragaceae	64.599	85.690	869	0.128	0.013	0.115	0.66
景天科 Crassulaceae	79.134	106.364	1 678	0.158	0.036	0.122	0.38

滞或者灭绝事件导致的长枝的影响 (Stadler et al., 2014; Sanchez-Reyes et al., 2017)。为了更加充分地评估进化时间与物种丰富度的关系, 本研究同时分析了各个科干龄以及冠龄与其物种多样性的关系。

为了提取不同科的冠龄和干龄, 本研究利用 R 语言 ape 程辑包 (Paradis & Schliep, 2019; R Core Team, 2021) 中 getMRCA() 函数从系统发育树上找到每个科内的物种对应的共同祖先的节点, 该节点的年龄即为该科的冠龄, 该节点的父节点即为该科的干龄。虎耳草目各个节点的年龄使用 R 程序中的 ape 程辑包中的 branching.times() 函数提取。各个科的冠龄节点的编号使用 ape 程辑包中的 getMRCA() 函数提取。根据每个科的冠龄节点和干龄节点编号 (nodelable), 分别获取到 15 个科的冠龄和干龄。

1.4 科的多样化速率

本研究利用宏观进化贝叶斯分析法 (Bayesian analysis of macroevolutionary mixtures, BAMM), 使用 R 语言中的程辑包 BAMMtools 获取科的多样化速率 (Rabosky et al., 2014)。马尔可夫链蒙特卡罗 (Markov chain Monte Carlo, MCMC) 运行长度为 1 000 万代, 每 1 000 代取样一次。运行结束后, 在 R 语言中使用程辑包 coda 检查链的收敛性和有效

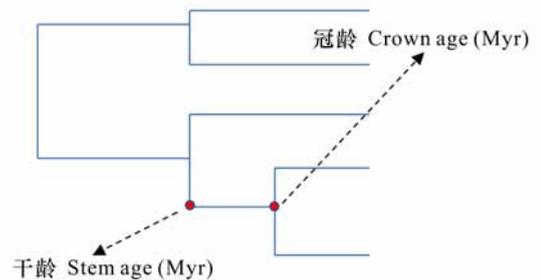


图 1 干龄和冠龄的示意图 (单位: 百万年)

Fig. 1 Schematic diagram of stem age and crown age (Unit: Myr)

样本 (effective sampling sizes, ESS) 的大小。ESS 检查结果大于 200, 说明 MCMC 过程有足够的独立样本, 估计的结果比较稳定。

虎耳草目 15 个科的物种多样化速率使用 BAMMtools 程辑包的 getCladeRates() 函数提取。该方法提取了科内所有分支的枝长加权平均的种化速率 (speciation rate) 和灭绝速率 (extinction rate)。净多样化速率等于种化速率与灭绝速率的差值。由于灭绝速率的估计存在较大的不确定性, 本研究中同时分析了种化速率和净多样化速率与物种多样性的关系。

此外,根据各个科是否为温带适应类群,利用ape 程辑包中的 drop.tip()函数将虎耳草目系统发育树拆分为两部分,即温带适应类群和常绿乔木类群[常绿乔木类群为围盘树科(Peridiscaceae)、虎皮楠科(Daphniphyllaceae)、鼠刺科(Iteaceae)和蕈树科(Altingiaceae);虎耳草目下其余11个科为温带适应类群],利用BAMMtools 程辑包中的 plot.bammdata()函数绘制出净多样化速率随时间的变化图像。

1.5 物种多样性与多样化速率和进化时间的关系

本研究使用一元线性回归模型(linear regression model, LM)和系统发育广义最小二乘模型(PGLS)对物种丰富度与多样化速率和进化时间的关系进行了分析。为验证多样化速率假说,本文同时建立了种化速率和净多样化速率与物种多样性的一元线性回归模型和PGLS模型。同时,也分别建立了冠龄和干龄与物种多样性的一元线性回归关系和PGLS模型来验证进化时间假说。由于多样化速率和进化时间可能同时对物种多样性造成影响,因此,本研究也考虑了多样化速率和进化时间的交互效应对物种多样性的影响。交互效应中,进化时间由冠龄来代表。LM使用R语言中的基础函数lm()完成。PGLS使用R程辑包中的nlme的gls()函数完成。PGLS分析中使用了一个虎耳草目的科级系统发育树。该系统发育树是使用R语言的ape程辑包中的drop.tip()函数将物种数目超过1个的科中的物种进行去除,保证每个科只有1个代表物种。

2 结果与分析

2.1 虎耳草目科的干龄和冠龄与物种丰富度的关系

虎耳草目15个科的干龄和冠龄变化范围差异很大。最年轻的连香树科(Cercidiphyllaceae)冠龄仅为3百万年(Myr),而最古老的围盘树科的冠龄则超过了8千万年(表1)。这充分体现了虎耳草目内部不同科在进化时间尺度上的差异性(表1)。

LM分析的结果表明冠龄对物种丰富度的解释率可达到0.261,但是干龄对物种丰富度的解释率只有0.164(图2)。PGLS分析的结果与LM一致,冠龄与物种丰富度的斜率为0.015,略低于干龄与物种丰富度的斜率($\beta=0.019$)。但无论是冠

龄还是干龄对物种丰富度的影响都不显著($P>0.05$)。该结果说明虎耳草目内15个科的物种丰富度与科的冠龄和干龄没有显著相关性,进化时间并不是影响科之间的物种多样性差异的主要因素。

2.2 虎耳草目科的物种多样化速率与物种丰富度的关系

虎耳草目净多样化速率较高的科以温带和高山类群为主,集中在虎耳草目中以草本植物为主的草本分支中,例如茶藨子科(Grossulariaceae)、小二仙草科(Haloragaceae)和景天科等科的种化速率和净多样化速率都比较高(表1,图3),并且以1500万年以来增长较为明显(图3,图4)。物种主要为常绿乔木的科的种化速率和净多样化速率相对较低(表1,图3,图4)。

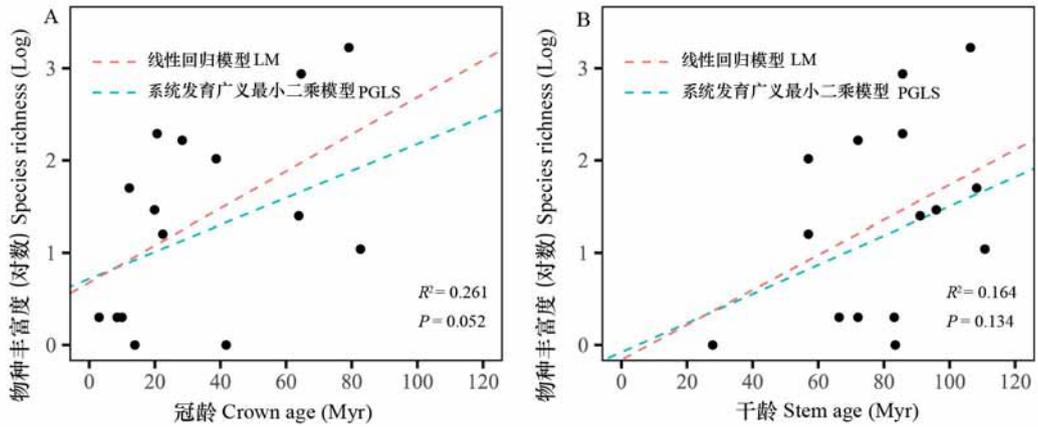
LM和PGLS分析发现,虎耳草目科的种化速率和净多样化速率都与物种丰富度正相关(图5)。但种化速率与物种丰富度的关系在LM中显著($R^2=0.280, \beta=7.319, P<0.05$),而在PGLS模型中接近显著($\beta=6.425, P<0.05$),而这两种方法发现净多样化速率与物种丰富度均有显著正相关性(PGLS: $\beta=9.790, P=0.031$; LM: $R^2=0.380, \beta=11.791, P<0.05$)。

2.3 进化时间与净多样化速率的综合效应与科物种丰富度的关系

进化时间与净多样化速率对物种丰富度的共同作用在LM和PGLS模型中都显著(LM: $R^2=0.603, \beta=0.297, P<0.05$; PGLS: $\beta=0.287, P<0.05$) (图6)。LM模型中,进化时间和净多样化速率的共同作用解释了物种多样性变化的60.3%,PGLS模型的斜率也比单独使用进化时间和净多样化速率高。该结果支持了进化时间与净多样化速率的综合效应对于虎耳草目科间物种丰富度差异的影响,且比净多样化速率这一单一变量对其的影响解释率更高。

3 讨论与结论

在本研究中,PGLS分析发现虎耳草目下15个科的物种多样性与净多样化速率呈显著的正相关关系,但是与科的冠龄正相关关系不显著。LM中,净多样化速率对物种丰富度的解释率达0.380。由于Scholl和Wiens(2016)发现净多样化速率

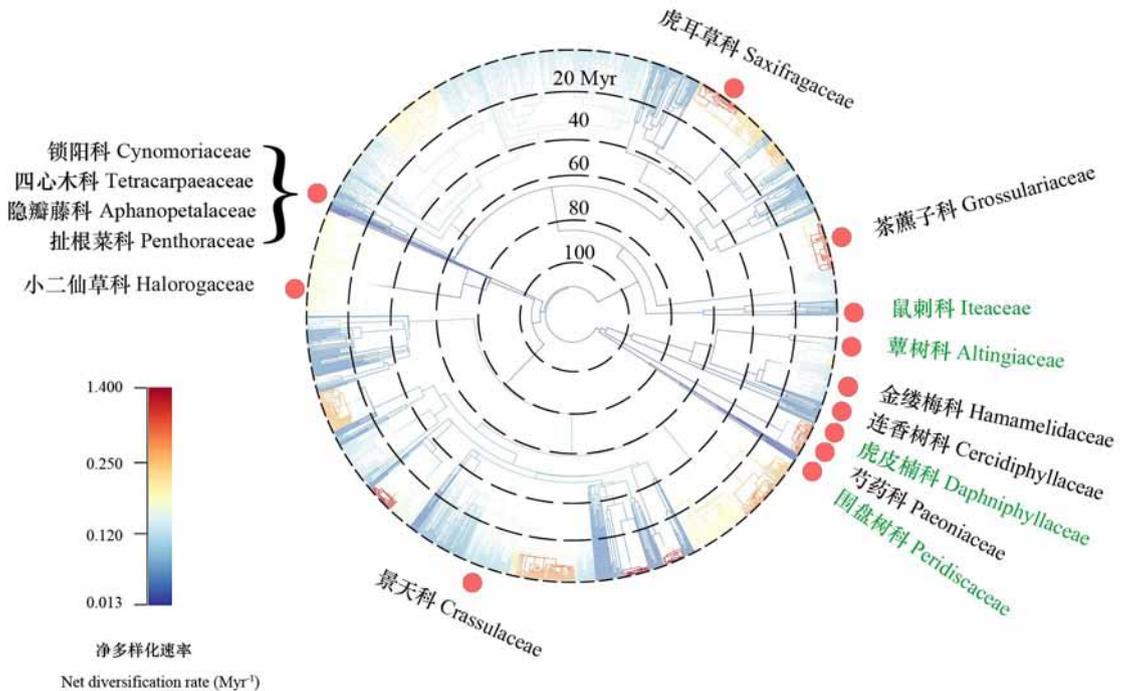


图中右下角为 LM 模型的解释率 (R^2) 和显著性检验的 P 值。

The lower right corner are the LM model's explanatory rate (R^2) and P value of significance test.

图 2 虎耳草目 15 个科的冠龄与物种丰富度 (a) 及干龄与物种丰富度 (b) 的系统发育广义最小二乘模型 (PGLS) 与线性回归模型 (LM) 拟合

Fig. 2 Phylogenetic generalized least squares (PGLS) and linear regression model (LM) for crown age and species richness (a) and stem age and species richness (b) of 15 families of order Saxifragales



绿色标注的科是常绿乔木类群。

The families shown in green are evergreen trees.

图 3 虎耳草目净多样化速率-时间图

Fig. 3 Net diversification rate-time map of order Saxifragales

与年龄的交互作用可能是导致物种多样性差异的原因,因此本研究也检验了物种净多样化速率与

冠龄的交互作用,并发现交互作用对物种丰富度的解释率达到 0.603。因此,本研究认为净多样化

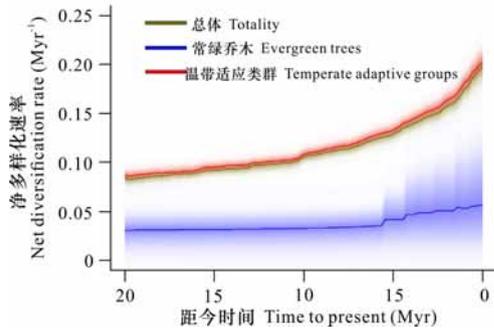
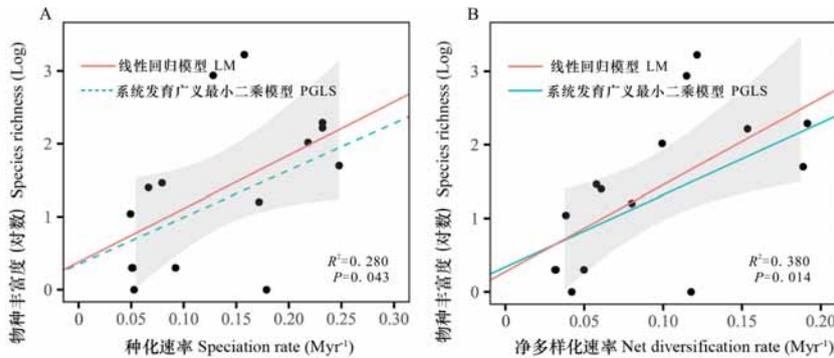


图4 虎耳草目中常绿乔木和温带适应类群随时间的净多样化速率变化曲线

Fig. 4 Net diversification rate curves over time for evergreen trees and temperate adaptive taxonomic groups of order Saxifragales



阴影代表 LM 模型的 95% 的置信区间。图中右下角为 LM 模型的解释率 (R^2) 和显著性检验的 P 值。下同。

The shadow represents 95% confidence interval of the LM model. In the lower right corner are the LM model's explanatory rate (R^2) and P value of significance test. The same below.

图5 虎耳草目 15 个科的种化速率 (a) 和净多样化速率 (b) 与物种丰富度的系统发育广义最小二乘模型 (PGLS) 与线性回归模型 (LM) 拟合

Fig. 5 Phylogenetic generalized least squares model (PGLS) and linear regression model (LM) fitted speciation rates (a) and net diversification rate (b) with the species richness of 15 families of order Saxifragales

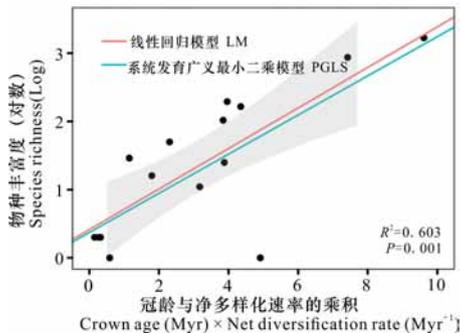


图6 虎耳草目 15 个科进化时间和净多样化速率的综合效应与物种丰富度的系统发育广义最小二乘模型 (PGLS) 与线性回归模型 (LM) 拟合

Fig. 6 Phylogenetic generalized least squares model (PGLS) and linear regression model (LM) fitted the interaction effects of evolutionary time and net diversification rate with the species richness of 15 families of order Saxifragales

速率的差异是主导物种多样性差异的主要因素,进化时间与多样化速率的共同作用在虎耳草目物种多样性差异中起到了次要作用。

本研究的结果不支持进化时间假说,这与 Rabosky 等(2012)和 Scholl 和 Wiens (2016)得到的结论一致,即不同类群间物种丰富度的差异并非是由进化时间的差异引起。尽管 Pyron 和 Wiens (2013)研究发现热带两栖类物种类群之间的物种多样性差异与冠龄有显著的正相关关系,但是在该研究中也同时发现物种多样性与净多样化速率有显著的正相关关系,该研究还发现物种多样化速率与净第一性生产力和面积存在正相关关系。热带地区的科的物种的生态位演化快,种化速率

高,灭绝速率低,古老类群能够保存,是该热带类群物种多样性高的重要原因。在虎耳草目中,草本和灌木等能够适应温带环境的科有着更高的物种形成速率和净多样化速率 (Smith & Donoghue, 2008),数据分析也显示这可能是虎耳草目中物种丰富度与净多样化速率正相关关系形成的主要原因。Folk 等(2019)对虎耳草目生态位祖先重建的结果表明景天科、虎耳草科和茶藨子科等温带适应的科的共同祖先,在 8 千万年前就已经能够适应较为干旱和寒冷的环境。在渐新世全球气候变冷时,这些类群的物种多样化速率就已经高于虎耳草目木本分支的蕁树科等。中新世后,随着全球气候的进一步变冷,这些温带类群的物种多样化速率快速上升。相比喜湿热环境的蕁树科、虎

皮楠科等类群, 虎耳草目中的草本和灌木类群对寒冷环境的良好适应可能为该类群在全球变冷背景下的快速多样化(Jian et al., 2008) 提供了契机。例如, 小二仙草科在始新世—渐新世的全球气候变冷和干旱化背景下, 分布范围不断扩张, 多样化速率经历了大幅度提升(Moody & Garcia, 2021)。

地质历史事件不仅会重新塑造原有的地形地貌还会改变区域气候条件, 从而对其间的生物演化过程产生影响(唐志尧和方精云, 2004; Antonelli et al., 2018)。山脉的隆升直接导致的种群隔离分化以及间接通过生境的复杂化等导致的种群的生殖隔离和丰富的生态位促进了高山植物的快速演化, 这也与虎耳草目多个科的快速物种多样化有着密切的联系(Zhang et al., 2014a; 刘杰等, 2017; Moody & Garcia, 2021)。山地草本类群对寒冷生境的快速适应和分化, 也是中国青藏高原、北美西海岸山脉和欧洲南部阿尔卑斯山脉成为虎耳草目中高山类群物种多样性中心的重要原因之一(Zhang et al., 2008; Zhang et al., 2014b; Ebersbach et al., 2017; Xing & Ree, 2017; Stubbs et al., 2020)。随着青藏高原的隆升, 许多植物类群出现了快速多样化, 其中包括虎耳草目中适应寒冷的类群, 虎耳草属(*Saxifraga* L.)、红景天属(*Rhodiola* L.) 等类群的多样化速率快速升高(Zhang et al., 2014a; Ebersbach et al., 2017; Folk et al., 2019)。因此, 虎耳草目的高山类群物种多样性快速增加, 物种多样性与净多样化速率呈现正相关关系。

对类蔷薇目(Rosids)的研究发现, 包括虎耳草目在内的其他目的多样化速率也随着全球变冷而上升, 并且多样化速率随着纬度升高而升高(Sun et al., 2020)。Igea 和 Tanentzap (2020) 针对被子植物的研究也发现类似的现象, 即植物类群在温带和寒带的多样化速率常常高于热带。这些研究的结果表明温带类群在全球变冷的过程中物种多样性在不断地积累。尽管空间上看, 由于高纬度受冰期影响严重, 物种多样性较低, 但是从类群上看, 温带类群的物种多样性的增加速率高于热带类群。因此, 除了虎耳草目外, 在被子植物的科中也可能存在类似的现象, 即科间的物种多样性差异与净多样化速率可能存在显著的正相关关系。

有研究者提出物种多样性差异很可能由多因素共同导致, 因此分支年龄和多样化速率都可能

在其中发挥着作用(Valente et al., 2011; Bloom et al., 2014; Yan et al., 2018)。近年来, 也有学者提出该问题的讨论应当换一种思考模式, 由验证哪种假说更正确转向研究这些影响因素之间的互作关系, 并建立相关模型来更加数据化与统计学化地看待物种丰富度差异的形成机制(Pontarp et al., 2019)。尽管本研究中发现了净多样化速率与年龄的交互作用对物种多样性差异有很高的解释率, 但是目前该结论是否适用于其他类群, 还有待验证。总之, 迄今为止该问题仍然留有许多值得讨论的空间, 利用更为复杂的统计模型方法以及更为全面的动植物数据集去探讨该问题可能是未来科研工作者的研究方向。

核基因的同义突变率比叶绿体基因高 5 倍, 比线粒体基因高 20 倍, 且核基因拥有多个独立位点、双亲遗传等特征(Small et al., 2004), 因此, 采用核基因构建的系统发育树与以往小片段建树相比, 能够更加全面和客观地反映分支的系统发育关系。本研究中使用的系统发育树是 Folk 等(2019) 基于 301 个核基因构建的虎耳草目主要分支的系统发育树及分支时间的基础上, 结合叶绿体基因组小片段和 ITS 序列所构建。本研究结果中各个科的关系与 APG IV (APG et al., 2016) 一致。然而, 由于物种采样困难以及大量的核基因测序时间和经费比较多, 因此核基因组或者大量核基因建树的物种覆盖率都比较低。而取样率低对物种多样化过程分析的准确性有着非常大的影响(Chang et al., 2020), 因此基因组结合小片段建树是提高物种覆盖率的解决方案之一。然而, 由于小片段的信息位点不足, 可能无法十分准确地估计近缘物种之间的系统发育关系, 也可能对系统发育树的枝长估计产生影响, 从而影响到多样化速率的估计。随着叶绿体基因组测序价格的下降和分析方法的成熟, 增加叶绿体基因组的物种覆盖率可能是解决近缘物种系统发育关系的较为经济快捷的方法。

参考文献:

- ANTONELLI A, KISSLING WD, FLANTUA S, et al., 2018. Geological and climatic influences on mountain biodiversity [J]. *Nat Geosci*, 11(10): 718-725.
- ANGOSPERM PHYLOGENY GROUP, CHASE MW,

- CHRISTENHUSZ MJM, et al., 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV [J]. *Bot J Linn Soc*, 181(1): 1–20.
- BARRACLOUGH TG, SAVOLAINEN V, 2010. Evolutionary rates and species diversity in flowering plants [J]. *Evolution*, 55(4): 677–683.
- BININDA-EMONDS ORP, 2004. The evolution of supertrees [J]. *Trend Ecol Evol*, 19(6): 315–322.
- BLOOM DD, MARTIN F, SHORT A, et al., 2014. Cladeage and diversification rate variation explain disparity in species richness among water scavenger beetle (Hydrophilidae) Lineages [J]. *PLoS ONE*, 9(6): e98430.
- CHANG J, RABOSKY DL, ALFARO ME, 2020. Estimating diversification rates on incompletely sampled phylogenies: theoretical concerns and practical solutions [J]. *Syst Biol*, 69(3): 602–611.
- EBERSBACH J, MUELLNER-RIEHL AN, MICHALAK I, et al., 2017. In and out of the Qinghai-Tibet Plateau: divergence time estimation and historical biogeography of the large arctic-alpine genus *Saxifraga* L. [J]. *J Biogeogr*, 44(4): 900–910.
- FOLK RA, STUBBS RL, MORT ME, et al., 2019. Rates of niche and phenotype evolution lag behind diversification in a temperate radiation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 116(22): 201817999.
- GORDON AD, 1986. Consensus supertrees: The synthesis of rooted trees containing overlapping sets of labeled leaves [J]. *J Classif*, 3(2): 335–348.
- IGE A J, TANENTZAP AJ, 2020. Angiosperm speciation cools down in the tropics [J]. *Ecol Lett*, 23(4): 692–700.
- JIAN S, SOLTIS PS, GITZENDANNER MA, et al., 2008. Resolving an ancient, rapid radiation in Saxifragales [J]. *Syst Biol*, 57(1): 38–57.
- LI H, WIENS JJ, 2019. Time explains regional richness patterns within clades more often than diversification rates or area [J]. *Amer Nat*, 193(4): 514–529.
- LIU J, LUO YH, LI DZ, et al., 2017. Evolution and maintenance mechanisms of plant diversity in the Qinghai-Tibet Plateau and adjacent regions: retrospect and prospect [J]. *Biodivers Sci*, 25(2): 163–174. [刘杰, 罗亚皇, 李德铎, 等, 2017. 青藏高原及毗邻区植物多样性演化与维持机制: 进展及展望 [J]. *生物多样性*, 25(2): 163–174.]
- MACHAC A, 2020. The dynamics of bird diversity in the New World [J]. *Syst Biol*, 69(6): 1180–1199.
- MARIN J, HEDGES SB, 2016. Time best explains global variation in species richness of amphibians, birds and mammals [J]. *J Biogeogr*, 43(6): 1069–1079.
- MARIN J, RAPACCIUOLO G, COSTA GC, et al., 2018. Evolutionary time drives global tetrapod diversity [J]. *Proc Roy Soc B-Biol Sci*, 285(1872): 20172378.
- MCPEEK MA, BROWN JM, 2007. Cladeage and not diversification rate explains species richness among animal taxa [J]. *Amer Nat*, 169(4): 97–106.
- MOODY ML, GARCIA M, 2021. Post-Oligocene diversification in Australia: Phylogeography, systematics and new species of *Gonocarpus* (Haloragaceae) [J]. *Taxon*, 70(4): 761–777.
- MOREAU CS, BELL CD, 2013. Testing the museum versus cradle tropical biological diversity hypothesis: phylogeny, diversification, and ancestral biogeographic range evolution of the ants [J]. *Evolution*, 67(8): 2240–2257.
- PARADIS E, SCHLIEP K, 2019. ape 5.0: an environment for modern phylogenetics and evolutionary analyses in R [J]. *Bioinformatics*, 35(3): 526–528.
- PONTARP M, BUNNEFELD L, CABRAL JS, et al., 2018. The latitudinal diversity gradient: novel understanding through mechanistic eco-evolutionary models [J]. *Trends Ecol Evol*, 34(3): 211–223.
- PYRON RA, WIENS JJ, 2013. Large-scale phylogenetic analyses reveal the causes of high tropical amphibian diversity [J]. *Proc Roy Soc B: Biol Sci*, 280(1770): 20131622.
- R CORE TEAM, 2021. R: A language and environment for statistical computing, R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria [EB/OL]. URL <http://www.R-project.org/>.
- RABOSKY DL, 2010. Ecological limits and diversification rate: alternative paradigms to explain the variation in species richness among clades and regions [J]. *Ecol Lett*, 12(8): 735–743.
- RABOSKY DL, ADAMS DC, 2012. Rates of morphological evolution are correlated with species richness in salamanders [J]. *Evolution*, 66(6): 1807–1818.
- RABOSKY DL, GRUNDLER M, ANDERSON C, et al., 2014. BAMM tools: an R package for the analysis of evolutionary dynamics on phylogenetic trees [J]. *Meth Ecol Evol*, 5(7): 701–707.
- RABOSKY DL, SLATER GJ, ALFARO ME, et al., 2012. Clade age and species richness are decoupled across the eukaryotic tree of life [J]. *Plos Biol*, 10(8): e1001381.
- RICKLEFS RE, RENNER SS, 1994. Species richness within families of flowering plants [J]. *Evolution*, 48(5): 1619–1636.
- SÁNCHEZ-REYES LL, MORLON H, MAGALLÓN S, 2017. Uncovering higher-taxon diversification dynamics from clade age and species-richness data [J]. *Syst Biol*, 66(3): 367–378.
- SCHOLL JP, WIENS JJ, 2016. Diversification rates and species

- richness across the tree of life [J]. *Proc Roy Soc B: Biol Sci*, 283(1838): 20161334.
- SMITH SA, DONOGHUE MJ, 2008. Rates of molecular evolution are linked to life history in flowering plants [J]. *Science*, 322(5898): 86–89.
- SMALL RL, CRONN RC, WENDEL JF, 2004. Use of nuclear genes for phylogeny reconstruction in plants [J]. *Aust Syst Bot*, 17(2): 145–170.
- SOLTIS DE, MORT ME, LATVIS M, et al., 2013. Phylogenetic relationships and character evolution analysis of Saxifragales using a supermatrix approach [J]. *Amer J Bot*, 100(5): 916–929.
- STADLER T, RABOSKY DL, RICKLEFS RE, et al., 2014. On age and species richness of higher taxa [J]. *Amer Nat*, 184(4): 447–455.
- STUBBS RL, FOLK RA, SOLTIS DE, et al., 2020. Diversification in the Arctic: Biogeography and systematics of the North American *Micranthes* (Saxifragaceae) [J]. *Syst Bot*, 45(4): 802–811.
- SUN M, FOLK RA, GITZENDANNER MA, et al., 2020. Recent accelerated diversification in rosids occurred outside the tropics [J]. *Nat Comm*, 11(1): 3333.
- TANG ZY, FANG JY, 2004. A review on the elevational patterns of plant species diversity [J]. *Biodivers Sci*, 12(1): 20–28. [唐志尧, 方精云, 2004. 植物物种多样性的垂直分布格局 [J]. *生物多样性*, 12(1): 20–28.]
- VALENTE LM, SAVOLAINEN V, MANNING JC, et al., 2011. Explaining disparities in species richness between Mediterranean floristic regions: a case study in *Gladiolus* (Iridaceae) [J]. *Global Ecol Biogeogr*, 20(6): 881–892.
- WIENS JJ, 2011. The causes of species richness patterns across space, time, and clades and the role of “Ecological Limits” [J]. *Quart Rev Biol*, 86(2): 75–96.
- XU Y, 2021. Speciation patterns of *Saxifraga*. L based on sister species [D]. Chengdu: Sichuan University: 1–27. [徐莹, 2021. 基于姊妹对的虎耳草属物种形成模式研究 [D]. 成都: 四川大学: 1–27.]
- XING Y, REE RH, 2017. Uplift-driven diversification in the Hengduan Mountains, a temperate biodiversity hotspot [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114(17): 3444.
- YAN HF, ZHANG CY, ANDERBERG AA, et al., 2018. What explains high plant richness in East Asia? Time and diversification in the tribe Lysimachieae (Primulaceae) [J]. *New Phytol*, 219(1). doi: 10.1111/nph.15144.
- ZHANG DJ, CHEN SY, GAO QB, et al., 2008. Circumscription and phylogeny of *Saxifraga* sect. *Ciliatae*: Evidence from nrDNA ITS sequences [J]. *J Syst Evol*, 46(5): 667–675.
- ZHANG JQ, MENG SY, RAO GY, 2014a. Phylogeography of *Rhodiola kirilowii* (Crassulaceae): A story of miocene divergence and quaternary expansion [J]. *PLoS ONE*, 9(11): e112923.
- ZHANG JQ, MENG SY, ALLEN GA, et al., 2014b. Rapid radiation and dispersal out of the Qinghai-Tibetan Plateau of an alpine plant lineage *Rhodiola* (Crassulaceae) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 77: 147–158.

(责任编辑 周翠鸣)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202103066

陈丽琼, 张志荣, 杨俊波, 等. 质体系统发育基因组解析旋花科系统发育关系 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1740–1749.
CHEN LQ, ZHANG ZR, YANG JB, et al. Plastid phylogenomic insights into the phylogeny of Convolvulaceae [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1740–1749.



质体系统发育基因组解析旋花科系统发育关系

陈丽琼^{1,2}, 张志荣³, 杨俊波³, 李德铎³, 郁文彬^{1,4,5*}

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园 综合保护中心, 云南 勐腊 666303; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 中国科学院昆明植物研究所 中国西南野生生物种质资源库, 昆明 650201; 4. 中国科学院核心植物园保护生物学协同中心, 云南 勐腊 666303; 5. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心, 云南 勐腊 666303)

摘要: 旋花科是一个世界广布的类群, 具有丰富的形态特征和重要的经济价值。然而, 目前该科主要分支或族间的系统发育关系问题一直未解决。为解析旋花科内系统发育关系, 该研究代表性选取旋花科内 8 个族 40 个物种, 基于质体全基因组数据, 使用最大似然法和贝叶斯推论进行系统发育分析。结果表明: (1) 旋花科质体基因组均为四分体结构, 质体基因组大小为 113 273~164 112 bp, 蛋白质编码基因数目为 66~79 个。(2) 基于五种 DNA 矩阵(即 WCG、CDS、LSC、IR、SSC)的系统发育分析结果显示, WCG 矩阵和 CDS 矩阵的拓扑结构基本一致, 仅少数分支的支持率略有差异; LSC 矩阵和 WCG 矩阵的拓扑结构差异在于菟丝子族、马蹄金族和盐带花族的系统位置; AU 检验和 SH 检验结果显示, WCG 矩阵和 SSC 矩阵与 IR 矩阵的拓扑结构有显著冲突。(3) 所有系统发育分析结果均显示, 菟丝子属和马蹄金族都包括在旋花亚科内, 应处理为族等级。(4) 基于 WCG 矩阵和 CDS 矩阵较好地解决了旋花科 8 个族之间的系统发育关系, 即心被藤族和丁公藤族聚为一支, 最先从旋花亚科分化出来, 随后是菟丝子族, 剩下的 5 个族分成 2 个分支。(5) 系统发育基因组分析证实, 由于鱼黄草族特别是鱼黄草属是一个多系类群, 因此需重新修订该族的分类地位和鱼黄草属的划分。

关键词: 旋花科, 系统发育关系, 质体基因组, 菟丝子属, 鱼黄草族

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1740-10

Plastid phylogenomic insights into the phylogeny of Convolvulaceae

CHEN Liqiong^{1,2}, ZHANG Zhirong³, YANG Junbo³, LI Dezhu³, YU Wenbin^{1,4,5*}

(1. Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. The Germplasm Bank of Wild Species, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 4. Center of Conservation Biology, Core Botanical Gardens, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China; 5. Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Science, Mengla 666303, Yunnan, China)

收稿日期: 2021-07-19

基金项目: 中国科学院重大科技基础设施开放研究项目 (2017-LSF-GBOWS-02); 云南省万人计划“青年拔尖人才”项目 [Supported by the Large-Scale Scientific Facilities of Chinese Academy of Sciences (2017-LSF-GBOWS-02); Ten Thousand Talents Program of Yunnan for Top-notch Young Talents]。

第一作者: 陈丽琼 (1996-), 硕士研究生, 研究方向为保护生物学, (E-mail) chenliqiong@xtbg.ac.cn。

*通信作者: 郁文彬, 博士, 研究员, 研究方向为植物系统与演化, (E-mail) yuwenbin@xtbg.ac.cn。

Abstract: Convolvulaceae is a cosmopolitan family with rich morphological characteristics and important economic values. However, the phylogenetic relationships among the major branches or tribes in the family have not been fully resolved. In order to resolve these relationships, we sampled the complete plastome sequences from 40 species, representing eight tribes of Convolvulaceae, and reconstructed phylogenetic trees by using both maximum likelihood and Bayesian inference approaches. The results were as follows: (1) Convolvulaceae plastomes had the typical quadripartite structure, with the plastome size ranging from 113 273 to 164 112 bp and including 66–79 protein-coding genes. (2) Phylogenomic analyses using five DNA matrixes (i.e., WCG, CDS, LSC, IR, and SSC) showed that the topologies of the WCG and CDS trees were basically the same, with slight differences in support values for some branches. Topological differences were found between LSC and WCG topologies, especially for the positions of Cuscutaeae, Dichondreae and Cresseae. The AU and SH tests showed that topological conflicts were significant between the WCG matrix and the SSC and IR matrixes. (3) All phylogenetic analyses confirmed that *Cuscuta* and Dichondreae were nested in Convolvuloideae and should be treated as tribes. (4) Phylogenetic relationships among the eight tribes were well resolved using the WCG and CDS matrixes: Cardiochlamyaeae and Erycibeae formed a clade as the first divergent group of Convolvuloideae, followed by Cuscutaeae, with the remaining five tribes forming two major clades. (5) The phylogenomic analyses confirmed that Merremieae were polyphyletic, especially *Merremia*, and that the circumscription and taxonomy of both Merremieae and *Merremia* will need revision.

Key words: Convolvulaceae, phylogenetic relationship, plastome, *Cuscuta*, Merremieae

旋花科 (Convolvulaceae) 隶属于茄目 (Solanales), 包含 56 属, 约 1 900 种, 广泛分布于世界热带至温带地区, 集中于美洲和亚洲, 部分属为热带地区所特有 (Brummit & Staples, 2007)。旋花科中既有一些物种是重要的食用 [如番薯 (*Ipomoea batatas*)]、药用和园林观赏的资源植物, 也有一些在维持生物群落多样性中扮演了重要的角色 (Brummit & Staples, 2007; Costea & Stefanović, 2009)。

旋花科作为一个重要类群, 其分类关系较早引起学者们的关注, Choisy 在 1834 年发表了第一个分类系统, 随后依据形态分类学方法建立了至少 16 个旋花科的分系统 (Austin, 1973)。由于不同学者对分类性状的权重不一, 因此导致分类系统中旋花科的范畴和等级划分存在诸多差异。目前, 广泛使用的范畴分为狭义和广义。狭义的旋花科植物常为一年生或多年生藤本, 茎、叶常有乳汁, 具双韧维管束, 叶互生、螺旋排列, 花整齐、两性, 花冠合瓣, 花冠外常有 5 条明显的瓣中带, 子房不分裂, 花柱 1 或 2、顶生 (Stefanović et al., 2002; Brummit & Staples, 2007; 李攀, 2020)。独特的生境和生活习性致使属间部分形态性状发生变异, 这给旋花科范围界定和科内等级划分带来一定难度, 主要分歧集中在是否纳入茶藨木属 (*Humbertia*)、菟丝子属 (*Cuscuta*) 和马蹄金族 (Dichondreae)。虽然分类学者意识到这 3 个类群

与旋花科的密切联系, 但因不共享上述狭义旋花科的部分性状, 一些学者常将它们各自处理为独立的科 (Baillon, 1891; Pichon, 1947; Austin, 1973)。例如, 菟丝子属为寄生草本, 有吸器, 无根, 鳞片状叶片, 茎缠绕且不为绿色等性状与狭义旋花科差异较大 (李攀, 2020), Roberty (1952) 基于总状花序和稍肉质的蒴果将其处理为菟丝子科, 这与 Austin (1973) 依据染色体数目划分结果一致。马蹄金族则因其子房深 2 裂或 4 裂, 花柱基生而被独立划分为马蹄金科 (Dumortier, 1829)。然而, Austin (1998) 基于 128 个性状 (包括花部特征、营养器官特征、解剖结构、胚胎结构和染色体数目等) 进行分支分析, 发现一些性状存在明显的平行演化。因此, 若仅依赖形态性状来界定旋花科和划分科下等级的分类系统就会不“自然”。

随着 DNA 测序技术的快速发展, 基于分子证据的系统发育分析可追溯植物的系统发育关系与演化过程, 为科的划定提供可靠的证据 (王伟和刘阳, 2020)。在旋花科内, 目前最新的分子系统学研究主要基于细胞器和核基因片段, 其结果支持广义旋花科为一个单系, 并进一步将其划分成 2 亚科 12 族, 即茶藨木亚科 [包含 1 族 1 属 1 种, 茶藨木族 (*Humbertieae*)] 和旋花亚科 [包含 11 族: 心被藤族 (*Cardiochlamyaeae*)、丁公藤族 (*Erycibeae*)、马蹄金族、盐帚花族 (*Cresseae*)、猴蜜藤族

(Maripaeae)、小牵牛族(Jacquemontieae)、菟丝子族(Cuscutae)、白衫藤族(Aniseieae)、旋花族(Convulvuleae)、鱼黄草族(Merremieae)和番薯族(Ipomoeae)](李攀, 2020; Stefanovi et al., 2002, 2003)。但是,旋花亚科内主要分支之间的关系一直没有解决,如Stefanovi等(2002)先依据4个质体基因数据认为心被藤族为旋花亚科的基部类群,后增加的核基因和线粒体基因数据结果显示,旋花亚科主要分支形成“梳齿”结构(Stefanovi & Olmstead, 2004)。Refugio-Rodriguez和Olmstead(2014)基于10个基因片段的研究结果支持心被藤族和丁公藤族形成单系群,为旋花亚科基部类群。此外,菟丝子属的系统发育位置(Stefanovi & Olmstead, 2004; McNeal et al., 2007)和鱼黄草族分类地位也尚未明晰(Williams et al., 2014; Simões & Staples, 2017)。

基于基因片段序列(如*rbcl*, *matK*, *trnL-F*和ITS等)的一些分子系统学研究解决了不同分类阶元的系统发育关系,极大地促进了对植物类群间的亲缘关系和演化历史的认识(张韵洁和李德铎, 2011;曾丽萍等, 2014)。然而,因片段序列所含系统发育信息位点有限且每个基因的进化速率不同,其构建的系统发育树之间往往存在拓扑结构差异(Rokas et al., 2003;曾丽萍等, 2014)。因此,为了构建更为可靠的系统发育树,需要整合更多的基因或基因组数据。随着测序技术的日益成熟,越来越多的植物基因组得到测序,但因核基因组较大,组装困难,又具有复杂性,使得低拷贝基因筛选困难,这些问题使得在系统发育研究中可用的植物核基因组数据有限。相比较而言,质体基因组因存在多拷贝、变异速率适中、高度保守、多数为单亲遗传和不受遗传重组影响等优点,在植物系统发育基因组学研究中被广泛使用(曾丽萍等, 2014; Gitzendanner et al., 2018b; 王伟和刘阳, 2020)。例如,基于1 827个质体基因组内的78个基因解决了绿色植物主要分支间的系统发育关系(Gitzendanner et al., 2018a),进一步利用2 881个质体基因组内的80个基因重建被子植物质体基因组系统发育树,全面更新了被子植物的系统发育框架(Li et al., 2019)。

本研究收集了广义旋花科主要分支的代表性属、种,基于质体全基因组数据,旨在探讨广义旋花科的范畴并准确构建旋花亚科系统发育框架,

以明确菟丝子属系统发育位置和鱼黄草族分类地位的合理性。该研究结果将有助于加深对旋花科演化历程的理解,为菟丝子属寄生习性演化和旋花科花色起源与演化的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

根据Stefanovi等(2003)重新修订的旋花科系统框架,在族水平上对旋花科进行取样,共收集旋花科植物8族21属40种,代表了旋花亚科内的主要分支,仅缺少茶鹃木亚科材料。其中,16属23种的二代测序数据从中国科学院昆明植物研究所中国西南野生生物种质资源库申请获得,新测序样品的分子材料和凭证标本分别保存在中国西南野生生物种质资源库和中国科学院昆明植物研究所标本馆(KUN)中(表1)。另外,有8属17种的质体基因组数据从GenBank数据库下载(表2),并选取茄科烟草(*Nicotiana tabacum*, NC001879)作为外类群。

1.2 质体基因组测序和组装

利用植物基因组DNA提取试剂盒[DP320, 天根生化科技(北京)有限公司],从硅胶干燥的新鲜材料或蜡叶标本材料中提取总DNA,经定量检测后,进行浅层基因组测序(genome skimming)(Zeng et al., 2018)。测序文库大小为350 bp,采用150 bp或250 bp双端,使用Illumina MiSeq或HiSeq 2500软件测序,每个物种获得的测序数据为2 G左右。测序原始序列利用GetOrganelle软件包(Jin et al., 2020)进行*de novo*组装,并自动成环输出质体全基因组。无法自动组装成环的物种则采取手动拼接策略,将scaffolds文件直接导入Geneious(Kearse et al., 2012),选取该物种亲缘关系最近且自动成环的序列为参考序列,使用LASTZ插件(Harris, 2007)进行contigs排序和串联,并进行手动校正和拼接。以发表的*Ipomoea nil*(AP017304)质体全基因组为参考序列,使用Geneious对其他旋花科物种进行批量相似性注释,相似性参数设为70%。随后对注释结果进行手动校正,其中蛋白编码基因的注释依据参考序列和开放阅读框(open reading frame, ORF)确定起始密码子和终止子位置。

表 1 旋花科新测序物种的凭证信息和质体基因组特征

Table 1 Voucher information and plastome features of newly sequenced within Convolvulaceae

族 Tribe	物种 Species	凭证标本 Voucher	测序编号 Sequencing code	质体 基因组 大小 Plastome size (bp)	LSC 区 长度 LSC length (bp)	SSC 区 长度 SSC length (bp)	IR 区长度 IR length (bp)	蛋白质 编码基因 含量 Protein coding gene content	GC 含量 GC content (%)
心被藤族 Cardiochlamyaeae	白飞蛾藤 <i>Dinetus decorus</i>	蔡杰等, KUN, 15CS11317	S08256	150 529	85 700	13 901	26 815	79	37.8
	毛果飞蛾藤 <i>D. truncatus</i>	李永亮等, KUN, YDDXSB107	S03014	148 628	85 092	13 394	29 081	79	37.7
	搭棚藤 <i>Porana discifera</i>	张挺等, KUN, 13CS5909	S08786	150 099	84 741	14 464	27 990	79	37.5
	搭棚藤 <i>Poranopsis discifera</i>	刘成等, KUN, 13CS6343	S04552	150 536	84 987	14 382	28 081	79	37.7
	大果三翅藤 <i>Tridynamia sinensis</i>	张挺等, KUN, 12CS4137	J1596	146 436	86 731	15 116	26 674	79	37.7
旋花族 Convolvuleae	欧旋花* <i>Calystegia sepium</i>	蔡杰等, KUN, 14CS9533	S08092	152 132	88 373	13 970	28 948	79	38.2
	肾叶打碗花* <i>C. soldanella</i>	卞福花, KUN, FH-0201	S01846	152 365	88 433	13 542	28 100	78	37.8
盐帚花族 Cresseae	美丽须帽藤* <i>Bonamia spectabilis</i>	张挺等, KUN, 17CS16107	S09440	135 178	82 905	13 859	28 117	78	37.5
	短梗土丁桂 <i>Evolvulus nummularius</i>	蔡杰等, KUN, 15CS10736	S09953	151 345	86 158	10 747	26 705	78	38.1
菟丝子族 Cuscutaeae	金灯藤 <i>Cuscuta japonica</i>	董栓录等, KUN, TianXH521	J5004	120 873	75 280	3 087	26 005	66	38.3
	大花菟丝子 <i>C. reflexa</i>	陆露等, KUN, WH-2013-223	S02785	119 875	74 852	13 900	27 586	66	37.8
马蹄金族 Dichondreae	马蹄金 <i>Dichondra micrantha</i>	易思荣, KUN, YISR347	S02993	164 112	86 587	3 344	25 500	79	38.1
丁公藤族 Erycibeae	锈毛丁公藤 <i>Erycibe expansa</i>	张挺等, KUN, 09CS1270	S03267	113 273	71 518	14 980	26 589	79	38.9
	锥序丁公藤 <i>E. subspicata</i>	亚吉东等, KUN, 14CS9371	J6082	123 094	72 875	11 476	26 751	79	39.5
番薯族 Ipomoeaeae	灰毛白鹤藤 <i>Argyreia osyrensis</i> var. <i>cinerea</i>	亚吉东等, KUN, 15CS11494	S07996	162 979	88 626	16 678	27 586	79	40.0
	亮叶银背藤 <i>A. splendens</i>	张挺等, KUN, 08CS937	S10321	158 269	84 851	13 673	27 809	79	37.7
	苞叶藤 <i>Blinkworthia convolvuloides</i>	亚吉东等, KUN, 17CS16596	S09427	161 878	88 273	15 348	27 273	79	40.1
	猪菜藤 <i>Hewittia malabarica</i>	蔡杰等, KUN, 13CS7249	S03558	153 016	87 991	11 371	22 409	79	37.2
	毛果薯 <i>Ipomoea eriocarpa</i>	蔡杰等, KUN, 15CS11308	S08462	153 621	88 896	13 765	27 252	79	39.0
鱼黄草族 Merremieae	海南山猪菜 <i>Merremia hainanensis</i>	杨秀森等, KUN, LWX10031	J3942	145 413	83 744	13 590	26 925	79	38.3
	山土瓜 <i>M. hungaiensis</i>	王红等, KUN, WH-2012-0696	J5226	154 887	88 860	14 640	28 432	79	37.7
	山猪菜 <i>M. umbellata</i>	杨秀森等, KUN, 12CS4918	J1792	152 502	88 178	14 354	27 772	79	37.7
	地旋花 <i>Xenostegia tridentata</i>	张挺等, KUN, 15CS10987	J8001	154 245	88 615	14 521	28 258	79	37.7

注：* 表示该序列为使用 LASTZ 手动拼接成环的样品。

Note: * represents manually assembling sequence via using LASTZ.

表 2 物种及 GenBank 登录号

Table 2 Species and GenBank accession numbers

物种 Species	GenBank 登录号 GenBank accession number
<i>Cressa cretica</i>	MF067398
田旋花 <i>Convolvulus arvensis</i>	MW054627
<i>Ipomoea asarifolia</i>	MK086048
五爪金龙 <i>I. cairica</i>	KF242480
<i>I. carnea</i>	MK086049
<i>I. goyazensis</i>	MK086051
常春藤叶茛萝 <i>I. hederifolia</i>	KF242484
牵牛 <i>I. nil</i>	AP017304
小心叶薯 <i>I. obscura</i>	KF242499
<i>I. pedicellaris</i>	KF242489
刺毛月光花 <i>I. setosa</i>	KF242492
<i>I. trifida</i>	MH173262
<i>Merremia quinquefolia</i>	KF242501
<i>Operculina macrocarpa</i>	KF242502
<i>Stictocardia macalusoii</i>	KF242503
<i>Turbina corymbosa</i>	KF242504
<i>Cuscuta exaltata</i>	EU189132

1.3 序列比对和系统发育分析

用于矩阵构建的数据集共有五类:(1)质体全基因组序列(WCG,去除一个IR区);(2)大单拷贝区(LSC);(3)小单拷贝区(SSC);(4)反向重复区(IR);(5)蛋白质编码基因(protein coding sequence, CDS)。以烟草为参考序列,利用 MAUVE(Darling et al., 2004)检测各条序列共线性,非共线性的序列采用手动调整后再次共线性检测。使用 Geneious(Kearse et al., 2012)确定质体基因组四分体结构区域(LSC、SSC、IRa 和 IRb)边界,分别提取各分区序列和蛋白质编码基因片段,得到用于构建数据矩阵的基础序列。WCG、LSC、SSC、IR 区的数据使用 MAFFT Online(Katoh & Standley, 2013)基于默认参数进行比对,获得比对矩阵。79 个蛋白质基因采用细菌蛋白编码的密码子模式进行比对,每个基因先分别使用 Geneious 中的 MAFFT 插件进行单基因多序列比对,再串联构建联合矩阵。自动比对矩阵在 Geneious 中进行人工核查和校对,排除异质性非常高的区域,最终得到 5 个质体基因组数据矩阵,包括 LSC 和 SSC 及 IR 3 个分区矩阵、蛋白质编码基因联

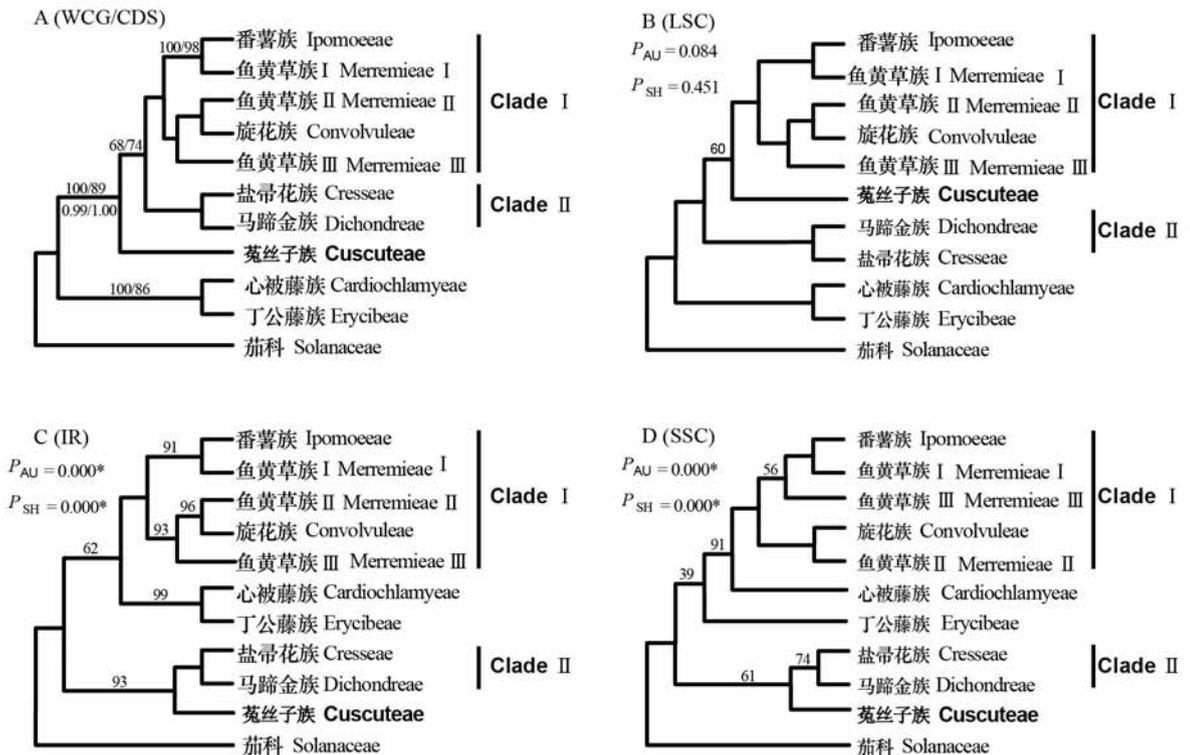
合(CDS)矩阵、质体全基因组(WCG)矩阵,矩阵文件与原始序列均已上传到 figshare 网站(10.6084/m9.figshare.14329949)。采用 MEGA X(Sudhir et al., 2018)统计矩阵的长度、变异位点和简约信号位点等信息。

使用 RAxML 构建最大似然树(maximum likelihood, ML)(Alexandros, 2014),5 个矩阵都选择 GTR+GAMMA+I 模型,估算最优的最大似然树(best-scoring ML tree),并设置 1 000 次 bootstrap replicates 估算分支的支持率(bootstrap support values, BS)。本研究中,BS ≤ 50 为不支持,BS = 51~79 为弱支持,BS ≥ 80 为强支持。

选取 WCG 和 CDS 矩阵构建贝叶斯推论树(Bayesian inference, BI)。基于 PhyloSuite 软件(Zhang et al., 2020)中的 ModelFinder 插件(Kalyaanamoorthy et al., 2017)按照 BIC 准则(Bayesian information criterion, BIC)选择最适碱基替换模型。选择 MrBayes 软件(Huelsenbeck & Ronquist, 2001),通过在线 CIPRES Science Gateway(Miller et al., 2010)或超级计算机上进行贝叶斯推论分析,设置 MCMC 运算为 2 000 000 代,每 100 代取样 1 棵系统发育树。先舍弃前 25% 的抽样树,再构建 50% 的多数原则一致树(majority rule consensus of trees),并计算每个节点的后验概率(posterior probability, PP)。对所获得的系统发育树均采用 Figtree v1.4.0(<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)可视化结果。本研究中,PP = 0.51~0.94 为弱支持,PP ≥ 0.95 为强支持。

1.4 系统发育冲突检测

采用 AU 检验(approximately unbiased test)(Shimodaira, 2002)和 SH 检验(Shimodaira-Hasegawa test)(Hidetoshi & Masami, 1999),以判断 WCG 数据集得到的最优树与其他数据集得到的最优树(包括 LSC 区的 ML 树、IR 区的 ML 树和 SSC 区的 ML 树)是否有统计学差异。SH 检验基于非参数自举法的比较方法,在拒绝零假设方面十分保守,与 AU 检测一样能够有效控制 I 型错误,但 AU 检测比 SH 检测的偏差小。两种系统发育假设检验借助 IQ-TREE 软件(Trifinopoulos et al., 2016),通过最大似然方法,使用 REL 算法进行 1 000 次重复取样,任何一种结果的 P 值小于 0.05,即为显著,表明该拓扑结构与 WCG 矩阵结果为明显冲突,不支持此拓扑结构。



枝上数值表示 bootstrap 值,支持率为 100 的分支不标注。图 A 中,枝上的数值表示 bootstrap 值(BS_{WCG}/BS_{CDS}),枝下的数值表示贝叶斯后验概率(PP_{WCG}/PP_{CDS}), $BS_{WCG}/BS_{CDS} = 100/100$ 和 $PP_{WCG}/PP_{CDS} = 1.00/1.00$ 的分支不标注。

Numbers above branches indicate bootstrap value and branches with 100 bootstrap support are unlabeled. In A, numbers above and below branch labels represent bootstrap(BS_{WCG}/BS_{CDS}) and posterior probability (PP_{WCG}/PP_{CDS}), branches with $BS_{WCG}/BS_{CDS} = 100/100$ or $PP_{WCG}/PP_{CDS} = 1.00/1.00$ support are unlabeled.

图 1 基于不同的质体基因组矩阵构建的旋花科的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic trees of Convolvulaceae based on different data matrixes of plastome

2 结果与分析

2.1 质体基因组特征

旋花科新测序物种均为典型的四分体结构,由大单拷贝区(LSC)、小单拷贝区(SSC)和 2 个反向重复序列(IR)组成。质体基因组大小为 113 273~164 112 bp, LSC 区长度为 71 518~88 896 bp, SSC 区长度为 3 087~16 678 bp, IR 区长度为 22 409~29 081 bp,且 GC 含量变化范围为 37.2%~40.1%(表 1)。基因注释结果显示,除菟丝子属外,旋花科自养类群的蛋白质编码基因含量保守,数目为 78~79 个。菟丝子属因其独特的寄生习性导致部分基因丢失,仅含 66 个蛋白质编码基因。

2.2 矩阵数据特征

在 5 个质体基因组比对矩阵中, WCG 矩阵长

166 691 bp,具有 53 093 个变异位点(占序列长度的 31.9%)和 28 675 个简约信号位点(占序列长度的 17.2%),序列多样性最高; CDS 区矩阵长为 76 883 bp,具有 21 748 个变异位点和 12 292 个简约信号位点,分别占 WCG 矩阵变异位点和简约信号位点的 41.0%和 42.9%; IR 区矩阵长 37 107 bp,具有 9 908 个变异位点和 5 574 个简约信号位点; SSC 区矩阵长 8 232 bp,具有 3 596 个变异位点和 1 966 个简约信号位点; LSC 矩阵长 112 926 bp,具 37 053 个变异位点和 19 699 个简约信号位点。

2.3 系统发育分析

在广义旋花科内(包含菟丝子属和马蹄金族),除鱼黄草族(鱼黄草属)外,其他 7 个族在所有分析中均形成单系(图 1,图 2)。同时,盐带花族和马蹄金族互为姊妹群,番薯族和鱼黄草族内的 *Merremia quinquefolia* 互为姊妹群,旋花族和部

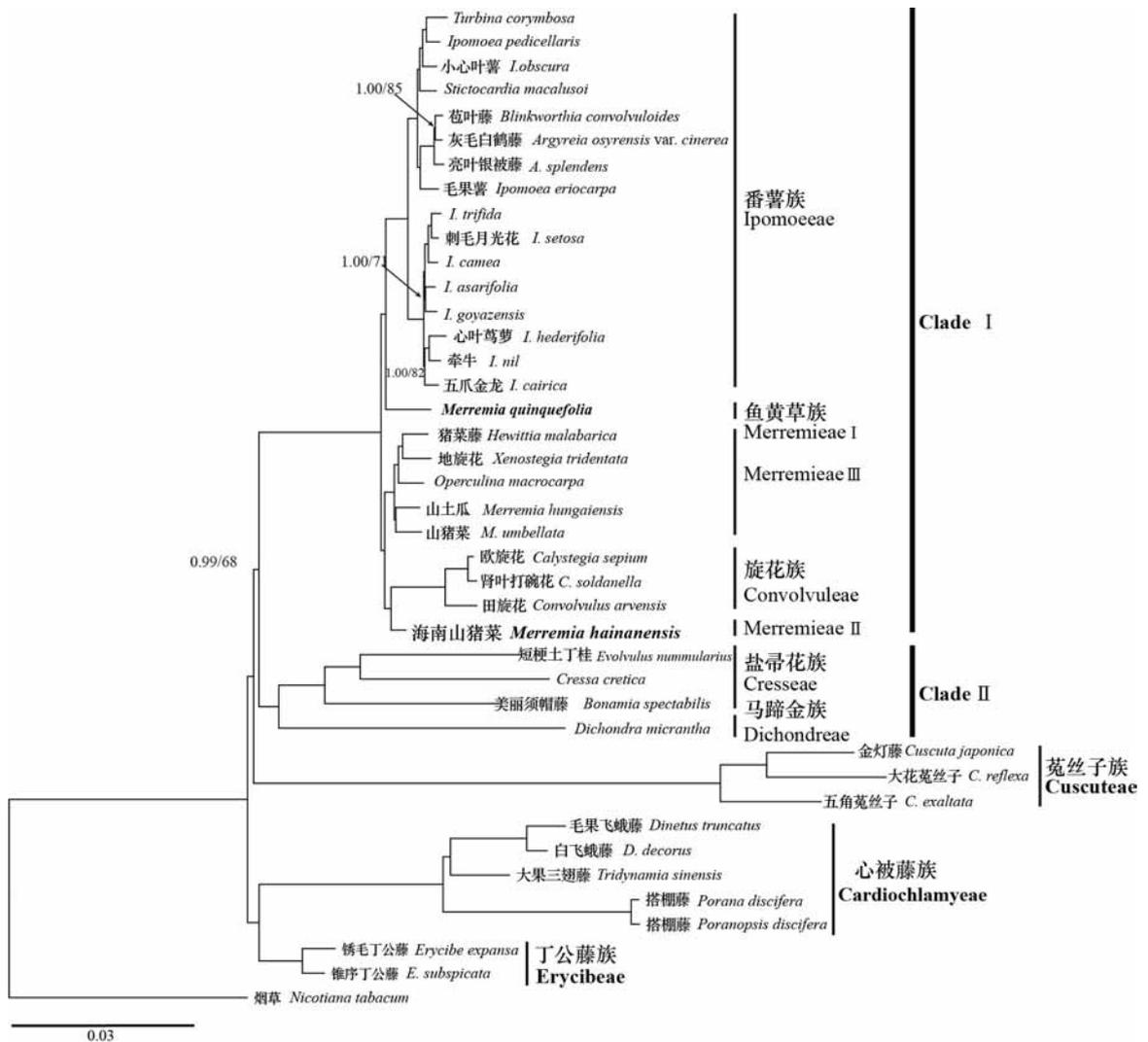


图 2 基于 WCG 矩阵构建的旋花科系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree of Convolvulaceae based on WCG matrix

分鱼黄草族物种互为姊妹群,所有分析均强支持这 3 个分支形成单系群。

基于 WCG 和 CDS 联合矩阵,ML 和 BI 分析得到拓扑基本一致的系统树(图 1),仅基于 CDS 矩阵的 BI 树与 ML 树存在一个小分支不一致,即大果三翅藤(*Tridynamia sinensis*)在心被藤族内的系统位置关系。另外,CDS 矩阵结果在少数分支上的支持率比 WCG 矩阵要略低(图 1)。在总体上,心被藤族与丁公藤族具有较近亲缘关系在四矩阵

分析中都得到了强支持($BS \geq 86$, $PP = 1.00$),二者形成一个分支最早分化出来,是其他广义旋花科姊妹群在 WCG 矩阵、CDS 矩阵和 LSC 矩阵分析得到了支持(WCG-/CDS-/LSC-BS = 100/89/100; WCG-/CDS-PP = 0.99/1.00),而 IR 矩阵显示它们与鱼黄草族等 3 族(Clade I)可能是姊妹关系($BS = 62$)(图 1)。在 WCG 矩阵和 CDS 矩阵中,菟丝子族形成一个孤立的单系分支与其余所有旋花科物种形成姊妹关系(WCG-/CDS-BS = 68/74;

表 3 AU 检验和 SH 检验的结果
Table 3 Results of AU test and SH test

拓扑结构约束 Topology constraint	最大似然 估计值 -LnL	deltaL	近似无 偏检验 AU test	SH 检验 SH test
WCG 拓扑结构 WCG topology	721 494.39	—	—	—
LSC 拓扑结构 LSC topology	721 516.48	37.24	0.08	0.45
SSC 拓扑结构 SSC topology	723 779.52	339.44	0.00	0.00
IR 拓扑结构 IR topology	726 774.28	512.99	0.00	0.00

WCG-/CDS-PP = 1.00/1.00), 剩下的 5 个族分为 2 个分支在所有的分析中都得到了强支持, 即旋花族、鱼黄草族和番薯族组成 Clade I, 盐帚花族和马蹄金族组成 Clade II。在 Clade I 中, 旋花族和番薯族各自形成单系群, 嵌套在鱼黄草族中, 且 LSC 矩阵分析时和菟丝子族聚在一起 (BS = 60)。但是, IR 矩阵 (BS = 93) 和 SSC 矩阵 (BS = 61) 支持菟丝子族与盐帚花族+马蹄金族为姊妹类群。值得关注的是, 鱼黄草属 4 个种分散在 3 个不同的分支上, 即海南山猪菜 (*Merremia hainanensis*) 与旋花族聚在一起 (BS ≥ 96, PP = 1.00), 五叶鱼黄藤 (*Merremia quinquefolia*) 与番薯族聚在一起 (BS ≥ 98, PP = 1.00), 剩下 2 种和其他 3 种鱼黄草族的属种一起 (BS = 100, PP = 1.00)。番薯属是一个并系类群, 所有分析都形成了 2 个分支 (BS = 100, PP = 1.00), 其中 1 支包括了另 4 属 5 种植物。

2.4 系统发生冲突检测

由于 WCG 矩阵和 CDS 矩阵与其他 3 个矩阵构建的系统树存在明显的拓扑结构差异, 因此利用 AU 检验和 SH 检验进行冲突显著性评估 (表 3)。检测结果表明, WCG 矩阵与 LSC 矩阵的拓扑结构不存在明显的拓扑结构冲突, 即菟丝子族与 Clade I 构成姊妹关系存在可能 ($P_{AU} = 0.0837$, $P_{SH} = 0.451$), 但拒绝 IR 区和 SSC 区的拓扑结构关系 (P 值均小于 0.001) (表 3)。

3 讨论与结论

3.1 广义旋花科的界定

传统分类上, 研究者们对性状加权不同, 使得

旋花科的界定混乱, 特别是菟丝子属和马蹄金族 (Austin, 1973)。多数学者主张将寄生习性的菟丝子属处理为旋花科内单属族 (Choisy, 1834; Bentham & Hooker, 1873; Peter, 1897; Austin, 1998) 或亚科 (Peter, 1891), 少数学者主张将菟丝子属处理为单属科 (Lindley, 1853; Roberty, 1952, 1964; Austin, 1973)。另外, 还有学者将马蹄金族作为独立的科 (Dumortier, 1829; Austin, 1973; Stefanovi et al., 2003)。本研究的质体基因组系统发育分析结果表明, 现在划定的旋花科是一个“自然”类群, 即菟丝子属与马蹄金族均应包括在旋花科内, 不应独立成科, 这与 Stefanovi 等 (2002) 基于 4 个质体基因组片段系统发育结果一致。同时, 该结果支持 Stefanovi 等 (2003) 对旋花科的科下等级划分, 即菟丝子科并入旋花科内为菟丝子族, 与马蹄金族一起被置于旋花亚科内。

3.2 旋花亚科的系统发育关系

虽然现有的分子系统学研究已构建了旋花科 2 亚科 12 族的系统框架, 但旋花亚科内主要分支的系统发育关系尚未厘清, 特别是心被藤族、丁公藤族和菟丝子族的系统位置 (李攀, 2020)。Stefanovi 等 (2002) 基于 4 个质体基因数据推断丁公藤族和心被藤族各为一个分支, 依次位于其他旋花亚科的基部。随后增加线粒体基因 *atpA*、核基因 *RPB2* 和质体基因 *rpl2* 后, 心被藤族、丁公藤族和旋花亚科其他族形成“梳齿”关系 (Stefanovi & Olmstead, 2004), 无法确定系统位置。Refulio-Rodriguez 和 Olmstead (2014) 联合 9 个质体基因和 1 个线粒体基因序列的分析结果较弱地支持心被藤族和丁公藤族聚为一支, 位于旋花亚科基部。由于该研究旋花科取样较少, 这 2 个族各仅有 1 种, 支持率较低, 且缺少菟丝子族、盐帚花族等 6 族的代表, 因此二者的亲缘关系和系统位置没有完全澄清。本研究中的 4 组数据矩阵 (除 IR 矩阵外) 分析结果均强支持心被藤族和丁公藤族为姊妹关系, 且可能是最早从旋花亚科内分化出来。由于 IR 区和 SSC 区矩阵的 ML 树在这些分支的支持率较弱, 因此 AU 检验和 SH 检验均显示两种拓扑结构与 WCG 矩阵的拓扑结构存在明显冲突, 这可能是 IR 区和 SSC 区基因的核苷酸替换速率不一致所造成的 (Zhu et al., 2016)。

针对菟丝子族在旋花科内的系统位置, 本研究结果显示, 首先 WCG 矩阵和 CDS 矩阵强支持

Clade I 和 Clade II 互为姊妹关系,然后与菟丝子族聚在一起。此结果明显优于之前基于基因片段的研究,如 Stefanovi 和 Olmstead (2004) 基于多基因片段分析结果显示,菟丝子族、Clade I 和 Clade II 聚在一起形成“梳齿”结构。随后,McNeal 等 (2007) 使用 ML 和 BI 法基于质体和核基因片段联合矩阵的结果支持 Clade I 是菟丝子族的姊妹群,但该结果仅得到 *rps2* 基因矩阵支持。值得注意的是,McNeal 等 (2007) 研究表明,*rbcL* 基因矩阵的结果与本研究的 LSC 矩阵均支持 Clade II 和菟丝族可能为姊妹类群,且拓扑结构冲突检测的结果无法拒绝此拓扑结构。因此,以上这些关系的冲突不仅揭示取样不同的分子数据对菟丝子属系统位置的影响,而且表明若想进一步探讨菟丝子族系统位置,核基因组数据不可或缺。

3.3 鱼黄草族的多系性

鱼黄草族的多系性在以往的研究中多有报道 (Stefanovi et al., 2003; Stefanovi & Olmstead, 2004), 尤其是其中的鱼黄草属 (Simões et al., 2015)。依据单系性的标准,传统概念的鱼黄草族得到一定修订,被移出的属种多归入到白衫藤族,但番薯族仍嵌套在广义鱼黄草族内。此外,由于还有一些鱼黄草属的种分散在鱼黄草族外,因此重新修订过的鱼黄草族仍非单系 (Stefanovi et al., 2003)。Stefanovi 和 Olmstead (2004) 采用 10 个单基因片段联合矩阵结果显示,番薯族先嵌套在广义鱼黄草族中,它们与旋花族共同构成的分支再与白衫藤族构成姊妹群关系。Simões 等 (2015) 进行广泛取样,基于核糖体 ITS 和叶绿体 *matK*、*rps16* 和 *trnL-F* 基因联合矩阵分析表明鱼黄草族确非单系,尤其是鱼黄草属分成了 10 个分支,且番薯族仍嵌套在广义鱼黄草族中。因此,Simões 和 Staples (2017) 提议废弃鱼黄草族的划分,改用分支的概念,并把一些鱼黄草属的种划入其他属或建立新属,这些处理还需更多证据的支持。我们基于质体基因组系统发育分析结果显示,虽然旋花族和番薯族分别形成单系群位于 Clade II 中,但鱼黄草族分成了 3 个分支,其中海南山猪菜和五叶鱼黄藤分别与旋花族和番薯族聚在一起。质体系统发育基因组分析结果与 Simões 等 (2015) 的研究结果有一些出入,可能是取样偏差、基因数据量差异大、地区特有种等原因造成系统发育推断的分歧。同时,Simões 等 (2015) 的系统树主干分支

支持率很低,分支之间的关系存在很多不确定性。因此,对于鱼黄草属的重新修订还需要更深入的研究,特别是特有种的收集和新的基因组数据的使用。

致谢 感谢中国西南野生生物种质资源库大科学工程项目对本研究的支持并提供旋花科的分子材料;感谢中国科学院西双版纳热带植物园公共技术服务中心超算平台的支持。

参考文献:

- ALEXANDROS S, 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- AUSTIN DF, 1973. The American Erycibeae (Convolvulaceae): *Maripa*, *Dicranostyles*, and *Lysiosyles* I. *Systematics* [J]. *Ann Mo Bot Gard*, 60(2): 306–412.
- AUSTIN DF, 1998. Biodiversity & taxonomy of tropical flowering plants [M]. Calicut: Mentor Books: 201–234.
- BAILLON H, 1891. Histoire des plantes [M]. Paris: LiBrairie Hachett and Cie: 305–331.
- BENTHAM G, HOOKE JD, 1873. *Genera plantarum* [M]. London: Lovell Reeve & Co: 865–881.
- BRUMMIT RK, STAPLES GW, 2007. Flowering plant families of the world [M]. Kew: Royal Botanic Gardens.
- CHOISY JD, 1834. *Convolvulaceae orientalis* [J]. *Mem Soc Phys Hist Nat Geneve*, 6: 383–502.
- COSTEA M, STEFANOVIĆ S, 2009. *Cuscuta jepsonii* (Convolvulaceae): an invasive weed or an extinct endemic? [J]. *Am J Bot*, 96(9): 1744–1750.
- DARLING AC, MAU B, BLATTNER FR, et al., 2004. Mauve: multiple alignment of conserved genomic sequence with rearrangements [J]. *Genome Res*, 14(7): 1394–1403.
- DUMORTIER B, 1829. *Analyse des plantes* [M]. Paris: Tournay.
- GITZENDANNER MA, SOLTIS PS, WONG GK, et al., 2018a. Plastid phylogenomic analysis of green plants: A billion years of evolutionary history [J]. *Am J Bot*, 105(3): 291–301.
- GITZENDANNER MA, SOLTIS PS, YI TS, et al., 2018b. Plastome phylogenetics: 30 years of inferences into plant evolution [J]. *Adv Bot Res*, 85: 293–313.
- HARRIS RS, 2007. Improved pairwise alignment of genomic DNA [D]. Pennsylvania: The Pennsylvania State University: 74.
- HIDETOSHI S, MASAMI H, 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference [J]. *Mol Biol Evol*, 16(8): 1114–1116.
- HUELSENBECK PJ, RONQUIST F, 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees [J]. *Bioinformatics*, 17(8): 754–755.
- JIN JJ, YU WB, YANG JB, et al., 2020. GetOrganelle: a fast

- and versatile toolkit for accurate *de novo* assembly of organelle genomes [J]. *Genome Biol*, 21(1): 241.
- KALYAANAMOORTHY S, MINH BQ, WONG TKF, et al., 2017. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates [J]. *Nat Methods*, 14(6): 587–589.
- KATO H, STANDLEY DM, 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability [J]. *Mol Biol Evol*, 30(4): 772–780.
- KEARSE M, MOIR R, WILSON A, et al., 2012. Geneious basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data [J]. *Bioinformatics*, 28(12): 1647–1649.
- LI HT, YI TS, GAO LM, et al., 2019. Origin of angiosperms and the puzzle of the Jurassic gap [J]. *Nat Plants*, 5(5): 461–470.
- LI P, 2020. The families and genera of Chinese vascular plants; Vol. III [M]. Beijing: Science Press: 1869–1883. [李攀, 2020. 中国维管植物科属志: 下卷 [M]. 北京: 科学出版社: 1869–1883.]
- LINDLEY J, 1853. The vegetable kingdom; or, the structure, classification, and uses of plants, illustrated upon the natural system [M]. London: Bradbury & Evans.
- MCNEAL JR, ARUMUGUNATHAN K, KUEHL JV, et al., 2007. Systematics and plastid genome evolution of the cryptically photosynthetic parasitic plant genus *Cuscuta* (Convolvulaceae) [J]. *BMC Biol*, 5: 55.
- MILLER MA, PFEIFFER W, SCHWARTZ T, 2010. Creating the CIPRES science gateway for inference of large phylogenetic trees [J]. *IEEE Comput Soc Bioinf Conf*: 1–8.
- PETER A, 1891. Die natürlichen pflanzenfamilien (Teil 4) (Appendix) [M]. Leipzig: W. Engelmann: 1–40.
- PETER A, 1897. Die natürlichen pflanzenfamilien (Teil 4) [M]. Leipzig: W. Engelmann: 375–377.
- PICHON M, 1947. Le genre *Humbertia* [J]. *Not Syst*, 13: 13–25.
- REFULIO-RODRIGUEZ NF, OLMSTEAD RG, 2014. Phylogeny of Lamiidae [J]. *Am J Bot*, 101(2): 287–299.
- ROBERTY G, 1952. Genera Convolvulacearum [J]. *Candollea*, 14: 11–65.
- ROBERTY G, 1964. Les genres des Convolvulaceae (esquisse) [J]. *Boissiera*, 10: 129–156.
- ROKAS A, WILLIAMS BL, KING N, et al., 2003. Genome-scale approaches to resolving incongruence in molecular phylogenies [J]. *Nature*, 425(6960): 798–804.
- SHIMODAIRA H, 2002. An approximately unbiased test of phylogenetic tree selection [J]. *Syst Biol*, 51(3): 492–508.
- SIMÕES AR, CULHAM A, CARINE M, 2015. Resolving the unresolved tribe: a molecular phylogenetic framework for the Merremieae (Convolvulaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 179(3): 374–387.
- SIMÕES AR, STAPLES G, 2017. Dissolution of Convolvulaceae tribe Merremieae and a new classification of the constituent genera [J]. *Bot J Linn Soc*, 183(4): 561–586.
- STEFANOVIĆ S, AUSTIN D, OLMSTEAD R, 2003. Classification of Convolvulaceae: A phylogenetic approach [J]. *Syst Bot*, 28(4): 791–806.
- STEFANOVIĆ S, KRUEGER L, OLMSTEAD RG, 2002. Monophyly of the Convolvulaceae and circumscription of their major lineages based on DNA sequences of multiple chloroplast loci [J]. *Am J Bot*, 89(9): 1510–1522.
- STEFANOVIĆ S, OLMSTEAD RG, 2004. Testing the phylogenetic position of a parasitic plant (*Cuscuta*, Convolvulaceae, asteridae): bayesian inference and the parametric bootstrap on data drawn from three genomes [J]. *Syst Biol*, 53(3): 384–399.
- SUDHIR K, GLEN S, MICHAEL L, et al., 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Mol Biol Evol*, 35(6): 1547–1549.
- TRIFINOPOULOS J, NGUYEN LT, VON HAESLER A, et al., 2016. W-IQ-TREE: a fast online phylogenetic tool for maximum likelihood analysis [J]. *Nucl Acid Res*, 44(W1): 232–235.
- WANG W, LIU Y, 2020. The current status, problems, and policy suggestions for reconstructing the plant tree of life [J]. *Biodivers Sci*, 28(2): 176–188. [王伟, 刘阳, 2020. 植物生命之树重建的现状、问题和对策建议 [J]. 生物多样性, 28(2): 176–188.]
- WILLIAMS BRM, MITCHELL TC, WOOD J, et al., 2014. Integrating DNA barcode data in a monographic study of *Convolvulus* [J]. *Taxon*, 63(6): 1287–1306.
- ZENG CX, HOLLINGSWORTH PM, YANG J, et al., 2018. Genome skimming herbarium specimens for DNA barcoding and phylogenomics [J]. *Plant Methods*, 14(1): 43.
- ZENG LP, ZHANG N, MA H, 2014. Advances and challenges in resolving the angiosperm phylogeny [J]. *Biodivers Sci*, 22(1): 21–39. [曾丽萍, 张宁, 马红, 2014. 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, 22(1): 21–39.]
- ZHANG D, GAO F, JAKOVLIĆ I, et al., 2020. PhyloSuite: an integrated and scalable desktop platform for streamlined molecular sequence data management and evolutionary phylogenetics studies [J]. *Mol Ecol Resour*, 20(1): 348–355.
- ZHANG YJ, LI DZ, 2011. Advances in phylogenomics based on complete chloroplast genomes [J]. *Plant Divers Resour*, 4(33): 365–375. [张韵洁, 李德铎, 2011. 叶绿体系统发育基因组学的研究进展 [J]. 植物分类与资源学报, 4(33): 365–375.]
- ZHU AD, GUO WH, GUPTA S, et al., 2016. Evolutionary dynamics of the plastid inverted repeat: the effects of expansion, contraction, and loss on substitution rates [J]. *New Phytol*, 209(4): 1747–1756.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202106057

张倩, 张德全. 白花刺续断野生居群的叶绿体全基因组特征解析 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1750–1761.

ZHANG Q, ZHANG DQ. Analysis of complete chloroplast genome characteristics from wild populations of *Acanthocalyx alba* [J].

Guihaia, 2022, 42(10): 1750–1761.



白花刺续断野生居群的叶绿体全基因组特征解析

张倩¹, 张德全^{1,2*}

(1. 大理大学 药学院, 云南 大理 671000; 2. 云南省滇西抗病原植物资源筛选研究重点实验室, 云南 大理 671000)

摘要: 白花刺续断在中国西藏是一种常用的药用植物,但其叶绿体全基因组的相关研究较少。为揭示该物种叶绿体全基因组的基本特征并探讨其谱系遗传结构,该研究利用 Illumina 测序平台对来自 5 个野生居群的 10 个白花刺续断个体进行二代测序,经组装、注释,得到 10 条完整的叶绿体全基因组序列,并对它们的基因组特征和居群间的谱系进化关系进行了初步研究。结果表明:(1) 白花刺续断的叶绿体全基因组大小为 155 335~156 266 bp,共注释 113 个基因,包括 72 个蛋白编码基因、30 个 tRNA 基因和 4 个 rRNA 基因,其叶绿体基因组的大小、结构、GC 含量及基因组组成等方面在种内高度保守。(2) 基因组比较分析表明,白花刺续断变异较大的片段均位于单拷贝区,且 IR 边界未出现明显的扩张和收缩。(3) 群体遗传分析发现,白花刺续断的野生居群具有明显的地理遗传结构,不同居群间在遗传距离与地理距离上具有一定的相关性。研究认为,白花刺续断叶绿体基因组在种内居群水平上比较保守,且叶绿体基因组可在居群水平上揭示物种的地理遗传结构。这为后续开展刺续断属物种群体遗传学和系统发育基因组学研究奠定了基础。

关键词: 白花刺续断, 叶绿体全基因组, 药用植物, 基因, 系统发育基因组学

中图分类号: Q943 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1750-12

Analysis of complete chloroplast genome characteristics from wild populations of *Acanthocalyx alba*

ZHANG Qian¹, ZHANG Dequan^{1,2*}

(1. College of Pharmacy, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China; 2. Yunnan Key Laboratory of Screening and Research on Anti-pathogenic Plant Resources from Western Yunnan, Dali 671000, Yunnan, China)

Abstract: *Acanthocalyx alba* is a common medicinal plant in Tibetan of China, and there are few reports on its whole chloroplast genome now. In order to reveal basic characteristics of the whole chloroplast genome of *A. alba* and explore its

收稿日期: 2021-09-20

基金项目: 国家自然科学基金(32060091); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才项目(202105AC160063); 大理大学中药资源与民族药创新团队项目(ZKLX2019318); 云南省李剑专家工作站(202005AF150013) [Supported by National Natural Science Foundation of China (32060091); Reserve Talents Project for Young and Middle Aged Academic (202105AC160063); Dali University Chinese Medicine Resources and Ethnic Medicine Innovation Team Project (ZKLX2019318); Li Jian Expert Workstation of Yunnan Province (202005AF150013)].

第一作者: 张倩(1996-), 硕士研究生, 主要从事药用植物基因组学研究, (E-mail) 1349362994@qq.com。

*通信作者: 张德全, 教授, 硕士研究生导师, 主要从事药用植物的分类和生药的分子鉴定研究, (E-mail) zhangdeq2008@126.com。

phylogeographic structure, ten individuals from five wild populations were sequenced by Illumina sequencing platform. After assembly and annotation, ten complete chloroplast genome sequences were obtained. Moreover, genome characteristics and phylogenetic relationships were explored. The results were as follows: (1) The complete chloroplast genomes of *A. alba* were 155 335–156 266 bp. A total of 113 genes were annotated, including 72 protein-coding genes, 30 tRNA genes and four rRNA genes. The chloroplast genome was highly conserved in species in terms of size, structure, GC content and gene composition. (2) Genomic comparative analysis showed that the fragments with large variation were located in the single copy region, and there was no obvious expansion and contraction at the IR boundaries. (3) Analysis of population genetics revealed rich genetic diversity in the wild populations and significant geographic structure, and there were certain relationships between genetic distances and geographic distances. This study lays the foundation for studies on population genetics and phylogenomics of species in *Acanthocalyx*.

Key words: *Acanthocalyx alba*, complete chloroplast genome, medicinal plant, gene, phylogenomics

白花刺续断(*Acanthocalyx alba*),又名白花刺参,隶属于川续断科(Dipsacaceae)刺续断属(*Acanthocalyx*)。该属在我国有4种2变种,主要分布在云南、四川、西藏等地(Hong et al., 2011)。白花刺续断以全草入药,为传统藏药,其藏药名为“江才嘎保”,始载于《四部医典》(国家中医药管理局中华本草编委会,2002)。它是国家卫生部藏药药品标准中收载的三种“刺参”之一(青海省药品检验所和青海省藏医药研究所,1996),具有健胃、催吐之功效。内服可用于关节疼痛、小便失禁、腰痛、眩晕及口眼歪斜,外用治疗疮、化脓性创伤,还具有抗肿瘤作用(国家中医药管理局中华本草编委会,2002;杨竞生,1989)。近年来,有关白花刺续断的研究主要集中在其有效成分、含量测定及提取工艺等方面(吴春蕾等,2011;Zhang et al., 2013;杨圣贤等,2014;张志锋等,2015)。如张志锋等(2018)发现白花刺续断中含有皂苷、生物碱、甾醇等类型化合物,其中皂苷类是其主要有效成分。而分子生物学方面的研究较少,仅有Wang等(2020)报道了该种的叶绿体基因组序列。那么,在白花刺续断的种内居群水平上,其叶绿体基因组序列有什么变化特征呢?

叶绿体基因组在被子植物中通常为母系遗传。与核基因组和线粒体基因组相比,其基因进化速率慢,且在基因组成及结构方面比较保守(Smith, 2015;Szymon et al., 2016;Du et al., 2020),这使得叶绿体基因组在植物物种鉴定和谱系进化研究中具有重要作用。Cui等(2019)对比分析了32种豆蔻属(*Amomum*)植物叶绿体基因组,结果表明叶绿体全基因组可准确鉴定豆蔻属物种;李依容等(2020)利用叶绿体基因组揭示了民族药滇白珠(*Gaultheria leucocarpa* var. *yunnanensis*)复合群的系

统发育关系;Zhang等(2021)基于叶绿体基因组重建了桃金娘目(Myrtiflorae)的物种分化时间和系统发育关系。但叶绿体基因组在长期进化过程中,结构上会发生一些变异,如反向重复区收缩、倒位、基因和内含子的丢失等(Zhang et al., 2014;Liao et al., 2020;姜文君等,2020),这些结构变异为揭示物种系统发育和进化关系等提供了遗传信息。由此可见,植物叶绿体全基因组序列能提供丰富的遗传信息,在分类鉴定、系统发育及进化等方面具有重要意义。那么,植物叶绿体全基因组是否适用于种内居群水平上的群体遗传学研究?由于群体水平上测序成本较高,数据分析方法尚不成熟等,相关研究还较少。

本研究以白花刺续断野生居群个体为研究材料,拟采用二代测序技术进行高通量测序,并对其叶绿体全基因组进行拼接、注释及进化分析。拟探讨以下科学问题:(1)白花刺续断的叶绿体全基因组序列有何特征;(2)叶绿体全基因组能否用于解析白花刺续断种内居群水平上的遗传结构。本研究将为刺续断属相关物种的分子遗传学研究奠定基础,也为叶绿体全基因组在群体遗传研究方面开展初步尝试。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

本实验中,白花刺续断分子材料采自于四川省甘孜州的5个野生居群(表1),共10份实验材料。经大理大学张德全教授鉴定为白花刺续断(*Acanthocalyx alba*),其凭证标本保存于大理大学药学院药用植物与生药标本馆。

表 1 白花刺续断样品采集信息

Table 1 Collection information of *Acanthocalyx alba* samples

编号 Code	采集地点 Locality	凭证标本 Voucher specimen	经纬度 Latitude and longitude	海拔 Altitude (m)
SD01	四川省稻城县桑堆镇 Sangdui Town, Daocheng County, Sichuan Province	ZDQ17115	100°10'21.41" E, 29°07'53.41" N	4 005
SD02	四川省稻城县桑堆镇 Sangdui Town, Daocheng County, Sichuan Province	ZDQ17115	100°10'21.41" E, 29°07'53.41" N	4 005
YD01	四川省稻城县亚丁机场 Yading Airport, Daocheng County, Sichuan Province	ZDQ17105	100°05'02.76" E, 29°15'17.87" N	3 823
YD02	四川省稻城县亚丁机场 Yading Airport, Daocheng County, Sichuan Province	ZDQ17105	100°05'02.76" E, 29°15'17.87" N	3 823
DF01	四川省道孚县 Daofu County, Sichuan Province	ZDQ17178	101°19'51.19" E, 30°44'59.62" N	3 850
DF02	四川省道孚县 Daofu County, Sichuan Province	ZDQ17178	101°19'51.19" E, 30°44'59.62" N	3 850
LT01	四川省理塘县 Litang County, Sichuan Province	ZDQ17124	100°13'40.35" E, 29°29'04.73" N	4 510
LT02	四川省理塘县 Litang County, Sichuan Province	ZDQ17124	100°13'40.35" E, 29°29'04.73" N	4 510
KD01	四川省康定县 Kangding County, Sichuan Province	ZDQ16035	101°24'01.57" E, 30°02'51.00" N	3 884
KD02	四川省康定县 Kangding County, Sichuan Province	ZDQ16035	101°24'01.57" E, 30°02'51.00" N	3 884

1.2 基因组 DNA 提取与测序

DNA 提取采用改良的 CTAB 方法,从硅胶干燥的叶片材料中提取总基因组 DNA。利用 Covaris 超声波破碎仪将基因组 DNA 片段化,经末端修复、加 A 尾、加测序接头、纯化及 PCR 扩增等过程,构建测序文库。文库经质量检测合格后,使用带有双末端(pair-end) (2×300 bp) Illumina HiSeq 2 500 平台进行二代测序,整个测序工作在北京诺禾致源生物科技有限公司完成。

1.3 叶绿体全基因组的组装、注释

经二代测序,得到 4 G 左右原始数据 (Raw Data),经 Trimmomatic V.0.32 过滤处理后,利用 GetOrganelle.py 进行组装,后续数据处理参考本课题组前期工作(胡海粟和张德全,2021)。以白花刺续断(序列号:NC_045055)为参考基因组,使用 Geneious 8.0.2 软件完成白花刺续断叶绿体全基因组的注释,并将其提交到 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>),利用在线工具 Organellar Genome Draw (<https://chlorobox.mpimp-golm.mpg.de/OGDraw.html>)绘制叶绿体基因组物理图谱。

1.4 IR/SC 边界收缩扩张及 SSR 分析

将注释好的 10 条基因组序列上传至网站 IRscope (<https://irscope.shinyapps.io/irapp/>)进行 IR 边界的收缩和扩张分析,最后得到的图片采用

绘图工具 Adobe Illustrator CC 2015 进行人工调整。同时,利用 MISA 软件搜索简单重复序列 (simple sequence repeats, SSR) 位点并分析白花刺续断叶绿体基因组的 SSR 特征。

1.5 序列差异比较分析

在采用 MAFFT V.7.129 软件对 10 条白花刺续断叶绿体基因组序列进行比对后,使用 BioEdit 软件手动调整序列。使用 DnaSP V.7.0.26 对叶绿体基因组中的核苷酸变异性 (P_i) 进行滑动窗口分析。步长设置为 200 bp,窗口长度为 600 bp。P-distance 使用 MEGA v.7.0.26 软件进行统计分析。此外,将叶绿体基因组序列的注释进行格式转换,利用在线软件 mVISTA (<http://genome.lbl.gov/vista/mvista/submit.shtml>) 的 Shuffle-LAGAN 模式对白花刺续断叶绿体全基因组比较分析,选取 *Acanthocalyx alba* (NC_045055) 作为参考序列。

1.6 系统发育分析

根据白花刺续断叶绿体基因组注释信息,从 NCBI 数据库下载已发表的川续断科及忍冬科 (Caprifoliaceae) 的 11 种植物的叶绿体全基因组序列,用于系统发育分析。选择小粒咖啡 (*Coffea arabica*) 和中粒咖啡 (*C. arabica*) 为外类群,使用 MAFFT V.7.1 将白花刺续断与下载的叶绿体全基因组序列进行多序列比对。系统发育树的构建,

采用了最大似然法(maximum likelihood, ML)、最大简约法(maximum parsimony, MP)和贝叶斯推论法(Bayesian inference, BI)3种方法。核苷酸替代模型经 jModelTest V 2.1.7 软件筛选定为 GTR+G 模型。利用 RAxML V.8.2.4 软件构建 ML 系统树,采用快速靴带算法,重复 1 000 次。利用 MEGA V.7.0.26 软件构建 MP 树,重复 1 000 次。利用 MrBayes V.3.2.6 构建 BI 树,基于马尔科夫链蒙特卡洛(MCMC)算法,计算 100 万代,每隔 1 000 代取样一次,舍弃前 25% 棵树,根据剩余的样本构建一致树。

2 结果与分析

2.1 基因组结构与基本特征

白花刺续断的叶绿体全基因组为常见的四分体结构,由两个反向重复区 IRs(inverted repeats)、一个大单拷贝区 LSC(large single copy)和一个小单拷贝区 SSC(small single copy)组成(图 1,表 2)。拼接后的白花刺续断叶绿体基因组,全长为 155 335~156 266 bp,GC 含量为 38.1%~38.2%。各区段长度分别为 89 027~89 076 bp(LSC)、17 689~17 842 bp(SSC)、24 253~24 666 bp(IRs)。4 个区段中 GC 含量最高的是 IR 区(42.8%~43.2%),其次是 LSC 区(36.5%)和 SSC 区(32.9%)。经注释,得到 113 个基因,包括 72 个编码蛋白基因、30 个 tRNA 基因、4 个 rRNA 基因和 7 个假基因(*clpP*、*accD*、*ycf2*、*ycf1*、*rps18*、*rps3* 和 *ycf3*)。此外,白花刺续断叶绿体全基因组中有 16 个基因含有内含子(intron),且均只含有一个内含子(表 3)。

2.2 IR/SC 边界收缩扩张及 SSR 分析

叶绿体基因组由两个反向重复的 IR 区、LSC 区与 SSC 区构成,因此存在 LSC/IRb、IRb/SSC、SSC/IRa 和 IRa/LSC 4 个边界。在基因组进化过程中,4 个边界会发生扩张与收缩,使某些基因进入 IR 区或单拷贝区。不同地点白花刺续断的叶绿体基因组的 4 个边界相对保守(图 2)。LSC/IRb 边界在白花刺续断中位于 *rpl23* 基因内部,且位于 LSC 区域的差异不大,为 185~186 bp;SD01、YD01、YD02、LT01、LT02、KD01、KD02 的 IRb/SSC 边界基因完全相同,位于 IRb 区 *trnN-GUU* 基因 138 bp 处,而 SD02、DF01、DF02 的 *trnN-GUU* 基因扩张到 SSC 内部,距离 IRb/SSC 边界 48~223 bp;

SSC/IRa 的边界在白花刺续断基因组中都位于 *ycf1* 基因内部;IRa/LSC 边界全部位于 *trnH-GUG* 基因附近。

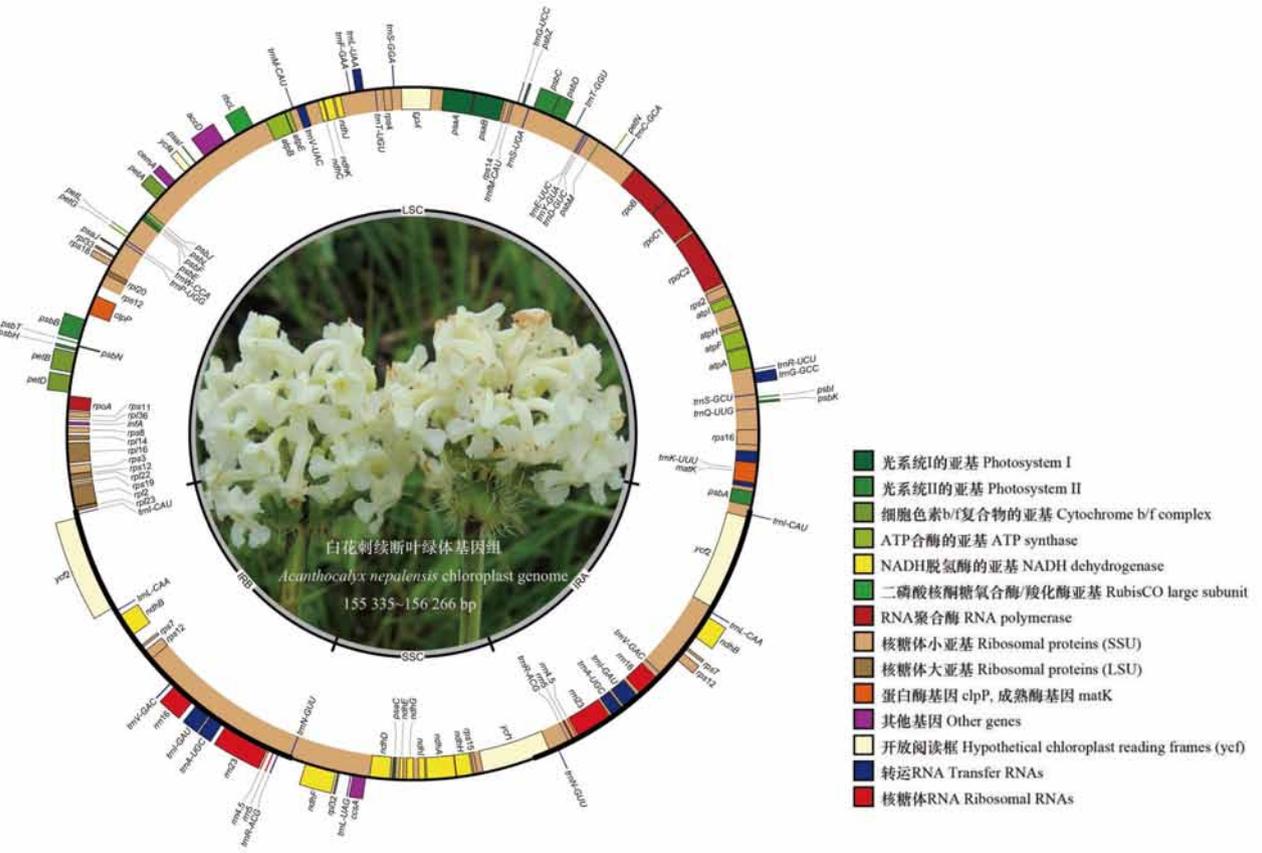
利用 MISA 软件对白花刺续断叶绿体全基因组进行分析,在白花刺续断 10 条序列中分别检测到 70、68、70、70、74、74、70、70、71、71 个 SSR 位点(图 3:B)。SSR 最丰富的类型为单核苷酸重复,其次是二核苷酸重复、三核苷酸重复、五核苷酸重复、四核苷酸重复和六核苷酸重复。白花刺续断叶绿体基因组中的 SSR 主要是由 A 和 T 组成,其中大部分是以 A/T 碱基构成的单核苷酸重复,其次是由 AT/TA 构成的二核苷酸重复(图 3:A)。进一步分析表明,大部分 SSR 位于 LSC 区域,小部分位于 SSC 和 IR 区域(图 3:C)。同时,基因组中的 SSR 大部分分布于基因间区(intergenic spacer, IGS)中,其他少数 SSR 分布在内含子和蛋白编码区域(coding sequence, CDS)中(图 3:D)。

2.3 序列差异比较分析

将比对好的 5 个地区白花刺续断叶绿体基因组进行 Sliding window 分析(图 4)。结果显示,SSC 区域的变异水平最高,IR 区域最低。同时,筛选到 3 条高变异序列,分别位于 LSC 区(*rpoC1*)和 SSC 区(*ndhF* 和 *rpl32-trnL-UAG*)。其中,*rpl32-trnL-UAG* 的变异性最高,其次是 *ndhF*,而 *rpoC1* 最低。此外,本研究中以 SD01 作为参考序列,与其余 9 条白花刺续断叶绿体基因组进行两两比较分析。结果显示,叶绿体基因组序列中非编码区变异高于蛋白编码区域,单拷贝区(LSC & SSC)变异明显大于反向重复区(IR)。5 个地区白花刺续断叶绿体基因组序列整体上高度相似,变异较大的基因有 *rpoC2*、*psbC*、*rrn23* 和 *ycf1*,其他基因保守程度非常高。基因间区的变异大于基因区,如 *atpF-atpH*、*psaB-psaA*、*psaA-ycf3*、*trnM-CAU-atpE*、*psbF-psbE*、*psbE-petL*、*rrn5-trnN-ACG*、*trnR-ACG-trnN-GUU*、*trnL-UAG-ccsA*(图 5)。从这些区域中,可开发特异性片段,用于该属种间及种下水平的系统进化与发育研究。

2.4 系统发育分析

本研究利用 P-distance 种间遗传变异及核苷酸替换比较了 10 条白花刺续断的叶绿体全基因组进化差异,研究结果表明,P-distance 为 0~0.000 7,核苷酸差异值为 0~1 515,且大部分序列间地理位置越远,其相互间 P-distance 和核苷酸差



圆圈外的基因是顺时针转录,圆圈内的基因是逆时针。图中颜色表示功能基因。内部的深灰色对应于 GC 含量,浅灰色对应于 AT 含量。

The genes outside the circle are transcribed clockwise, while the genes inside the circle are transcribed counterclockwise. The colors here represent functional genes. The inner dark gray corresponds to the GC content and the light gray corresponds to the AT content.

图 1 白花刺续断叶绿体全基因组图谱

Fig. 1 Gene map of complete chloroplast genome in *Acanthocalyx alba*

异值越大(表 4)。系统发育分析结果显示,3 种方法构建的进化树所反映的不同野生居群之间的进化关系相似(图 6),也与遗传距离分析的结果相吻合。在系统发育树中,康定(KD)和道孚(DF)的 4 个个体最早分化出来,其次是亚丁(YD)和桑堆(SD),最后是理塘(LT)的 2 个个体。但亚丁(YD)和桑堆(SD)的 4 个个体不能明显分开。

3 讨论与结论

本研究报道了白花刺续断的叶绿体全基因组序列特征,并在居群水平上揭示了其地理遗传结构。不同野生居群的叶绿体基因组所编码的基因类别、数量及排列顺序高度一致。同时个体间具有高度相似的 GC 含量,单个序列中 IRs 区序列的 GC

含量最高。白花刺续断叶绿体基因组中共含有 7 个假基因,其中 5 个假基因是川续断科植物所共有的(*clpP*、*accD*、*ycf2*、*ycf1*、*rps18*),故推测可能普遍存在川续断科植物假基因现象(Wang et al., 2020)。叶绿体 SSR 位点是一种高效的分子标记。本研究中,白花刺续断叶绿体全基因组序列的 SSRs 主要以 A/T 碱基为主,这与其他被子植物中的情况相似(Guo et al., 2017; Na et al., 2018; Chen et al., 2019)。同时,这也进一步证实了叶绿体 SSRs 主要是由 polyA 和 polyT 重复所构成,而较少含有 C 或 G 串联重复的观点(Kuang et al., 2011)。此外,这些 SSRs 主要分布在 2 个单拷贝区,故推测这些高 A/T 含量的 SSRs 和分布于 IR 区的 rRNA 序列可能是导致叶绿体基因组中 GC 含量偏低以及各区域碱基含量差异的潜在原因(张明英等,2020)。

表 2 白花刺续断 10 条叶绿体全基因组序列特征的比较

Table 2 Gene comparison on ten chloroplast complete genomes in *Acanthocalyx alba*

编号 Code	总长 Total length (bp)	大单 拷贝区 LSC (bp)	小单 拷贝区 SSC (bp)	反向重复区 IRs (bp)	GC 含量 GC content (%)	基因总数 Total genes	蛋白编码 基因 CDS	tRNA	rRNA	GenBank 登录号 Accession number
SD01	156 082	89 030	17 740	24 656	38.1	113	72	30	4	MW053688
SD02	155 335	89 035	17 794	24 253	38.2	113	72	30	4	MW053689
YD01	156 110	89 036	17 842	24 616	38.1	113	72	30	4	MW053690
YD02	156 053	89 036	17 705	24 656	38.1	113	72	30	4	MW053687
DF01	156 266	89 027	17 713	24 763	38.1	113	72	30	4	MW053686
DF02	156 266	89 027	17 713	24 763	38.1	113	72	30	4	MW053685
LT01	156 054	89 032	17 790	24 616	38.1	113	72	30	4	MW018701
LT02	156 054	89 032	17 790	24 616	38.1	113	72	30	4	MW018702
KD01	156 097	89 076	17 689	24 666	38.1	113	72	30	4	MW018703
KD02	156 097	89 076	17 689	24 666	38.1	113	72	30	4	MW018704

表 3 白花刺续断叶绿体全基因组基因组成

Table 3 Composition of complete chloroplast genome of *Acanthocalyx alba*

基因类别 Gene group	基因功能 Gene function	基因名称 Gene name
自我复制 Self-replication	核糖体大亚基 Large subunit of ribosome	<i>rpl2, rpl12[*], rpl32, rpl22, rpl16[*], rpl14, rpl36, rpl20, rpl33</i>
	核糖体小亚基 Small subunit of ribosome	<i>rps7¹, rps15, rps19, rps3[#], rps8, rps11, rps12[*], rps18[#], rps4, rps14, rps2, rps16[*]</i>
	RNA 聚合酶 RNA polymerase	<i>rpoA, rpoB, rpoC1[*], rpoC2</i>
	rRNA	<i>rrn16¹, rrn23¹, rrn4.5¹, rrn5¹</i>
	tRNA	<i>trnI-CAU¹, trnL-CAA¹, trnV-GAC¹, trnI-GAU^{1*}, trnA-UGC^{1*}, trnR-ACG¹, trnN-GUU¹, trnL-UAG, trnP-UGG, trnW-CCA, trnM-CAU, trnV-UAC[*], trnF-GAA, trnL-UAA[*], trnT-UGU, trnS-GGA, trnJ/M-CAU, trnG-UCC, trnS-UGA, trnT-GGU, trnE-UUC, trnY-GUA, trnD-GUC, trnC-GCA, trnR-UCU, trnG-GCC[*], trnS-GCU, trnQ-UUG, trnK-UUU[*], trnH-GUG</i>
光合作用 Photosynthesis	光学系统 I Photosystem I 光学系统 II Photosystem II	<i>psaC, psaJ, psaI, psaA, psaB psbH, psbN, psbT, psbB, psbE, psbF, psbL, psbJ, psbZ, psbC, psbD, psbM, psbI, psbK, psbA</i>
	NADH-脱氢酶 NADH dehydrogenase	<i>ndhB[*], ndhH, ndhA[*], ndhI, ndhG, ndhE, ndhD, ndhF, ndhC, ndhK, ndhJ</i>
	细胞色素复合体 Cytochrome b/f complex	<i>petD[*], petB[*], petG, petL, petA, petN</i>
	ATP 合酶 ATP synthase	<i>atpB, atpE, atpI, atpH, atpF[*], atpA</i>
	二磷酸核酮糖羧化酶大亚基基因 Large subunit of rubisco	<i>rbcL</i>
其他基因 Other genes	翻译起始因子 Translational initiation factor	<i>infA</i>
	成熟酶基因 Maturase	<i>matK</i>
	蛋白酶基因 Protease	<i>clpP[#]</i>
	包膜蛋白基因 Envelope membrane protein	<i>cemA</i>
	乙酰 CoA 羧化酶的亚基 Subunit of Acetyl-carboxylase	<i>accD[#]</i>
	C 型细胞色素合成 C-type cytochrome synthesis	<i>ccsA</i>
	开放阅读框 Open reading frames	<i>ycf2[#], ycf1[#], ycf4, ycf3[#]</i>

注：I 表示该基因位于 IR 区，* 表示该基因含有内含子，# 代表假基因。

Note: I indicates that the gene is located in the IR region, * indicates that the gene contains introns, and # represents a pseudogene.



图 2 白花刺续断叶绿体基因组 LSC、SSC 和 IR 边缘区的比较

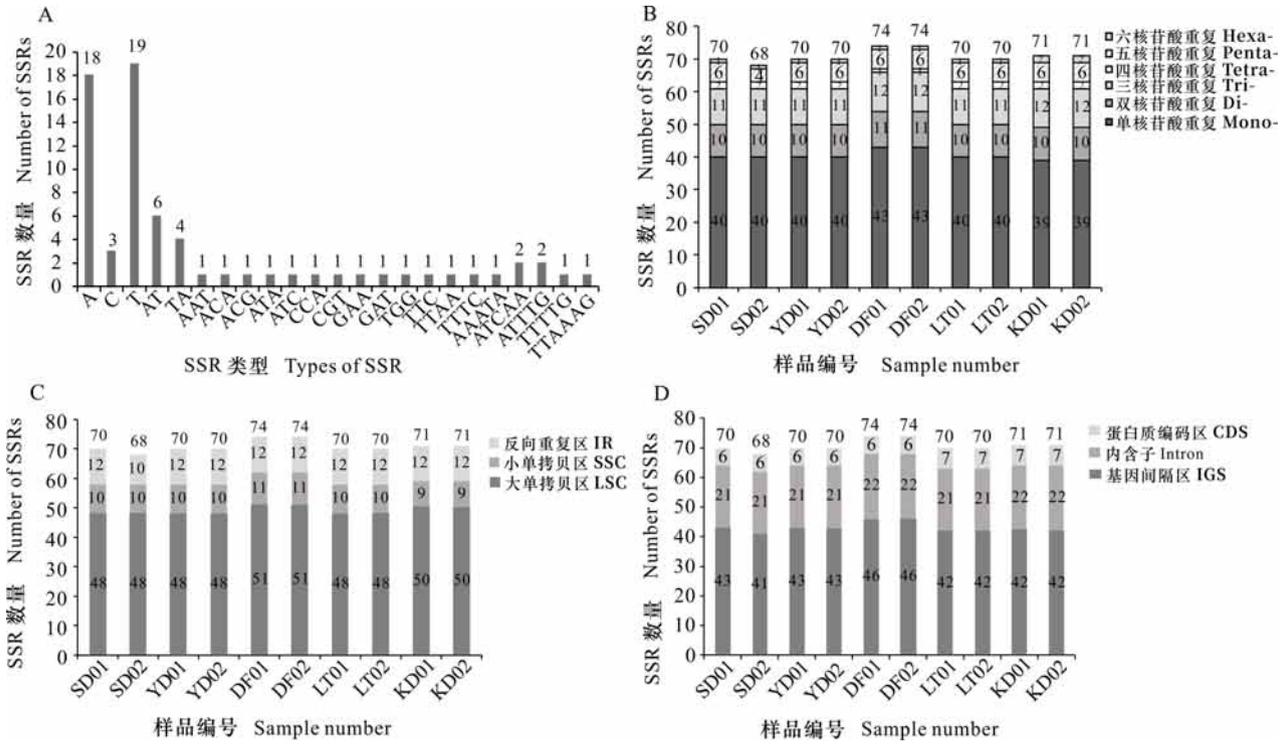
Fig. 2 Comparison of LSC, SSC and IR border regions among ten chloroplast genomes in *Acanthocalyx alba*

IR 区和 SC 区的扩张和收缩被认为是直接影响被子植物叶绿体基因组大小的重要因素 (Wang et al., 2017; Song et al., 2019)。本研究表明,不同野生居群个体间叶绿体基因组 4 个边界均未出现明显的扩张和收缩现象,说明白花刺续断叶绿体基因组 IRs 区大小高度保守,这也与 Wang 等 (2020) 研究结果一致。从叶绿体基因组中发掘的高变片段,不仅可以在物种水平上用于系统发育和物种鉴定研究,也可以在居群水平上提供丰富的遗传信息,从而揭示物种的居群动态与进化历史等。Fateme 等 (2018) 基于 *rpl32-trnL-UAG* 对滇紫草属 (*Onosma*) 物种进行系统发育分析和分化时间估计; Nahla 等 (2020) 采用 *rpoC1* 对苜蓿属 (*Medicago*) 植物进行亲缘关系分析; Chen 等 (2020) 基于叶绿体基因组对贝母属 (*Fritillaria*) 植物进行研究,结果发现筛选出的 *ycf1* 和 *psbM-psbD* 可作为特定条形码用于贝母属植物物种鉴定。这些研究工作也进一步证实高变片段在物种进化及鉴定等方面具有特殊作用。本研究中,筛选出 3 个高变片段 (*rpoC1*、*ndhF* 和 *rpl32-trnL-UAG*),可用于刺续断属内种间系统发育及种

内群体遗传学研究。

传统上,常用叶绿体基因片段来研究物种的群体遗传结构和谱系进化关系,但因叶绿体片段多态位点不足而作用有限 (Zhang et al., 2019; Zhang et al., 2020; 刘家奇等, 2021)。与之相比,叶绿体全基因组具有极为丰富的遗传变异,为复杂植物类群的遗传进化研究提供有效手段。Wang 等 (2020) 基于美国山核桃 (*Carya illinoensis*) 两个不同居群间叶绿体基因组核苷酸差异性,揭示了该物种居群水平的遗传多样性。本研究中,白花刺续断 5 个野生居群间具有较为明显的遗传结构,个体间的遗传距离、核苷酸差异值与地理距离之间呈较好的相关性。这也与系统发育树所揭示的进化关系相吻合。值得注意的是,桑堆 (SD) 和亚丁 (YD) 的四个个体没有形成独立分支,这可能是两个居群间地理距离较近引起相对频繁的基因流所致。这一结果也说明,与核基因组相比,叶绿体基因组进化较慢及单亲遗传的特性,其作用也有明显的局限性。

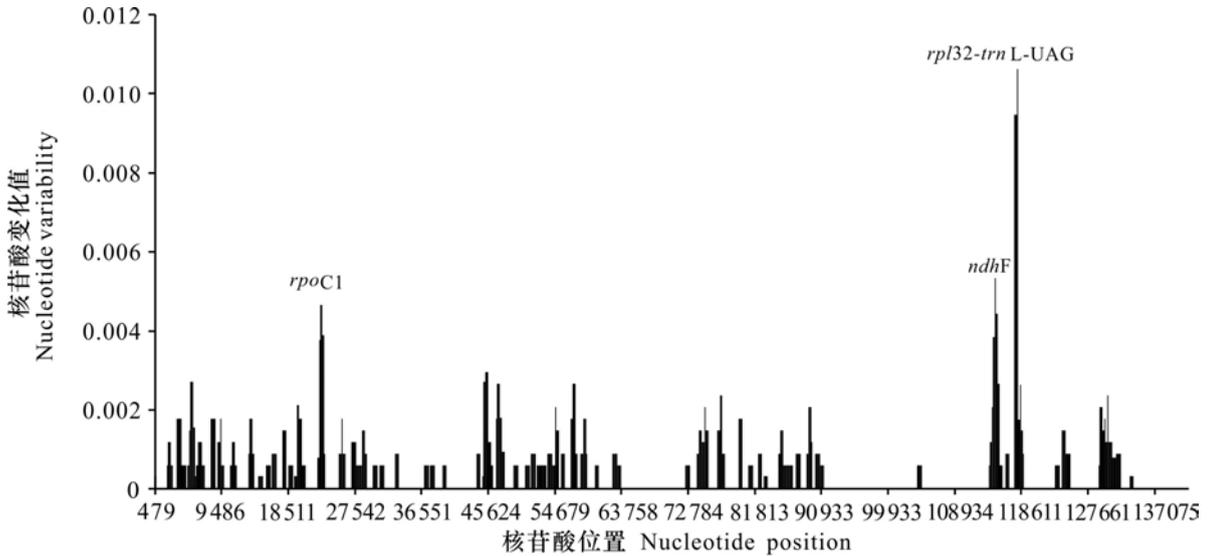
综上所述,叶绿体全基因组序列具有极为丰



A. SD01 叶绿体基因组中不同重复类型 SSR 出现频率；**B.** 10 个基因组中不同 SSR 类型的数目；**C.** 在 LSC、SSC 和 IR 区域中出现 SSR 的频率；**D.** 在 IGS、CDS 和内含子中出现 SSR 的频率。
A. Frequency of SSR motifs in different repeat types of SD01 chloroplast genome; **B.** Number of different SSRs type detected in ten genomes; **C.** Frequency of identified SSR in LSC, SSC and IR regions; **D.** Frequency of identified SSR in IGS, CDS and intron.

图 3 白花刺续断 10 条叶绿体基因组的 SSR 分析

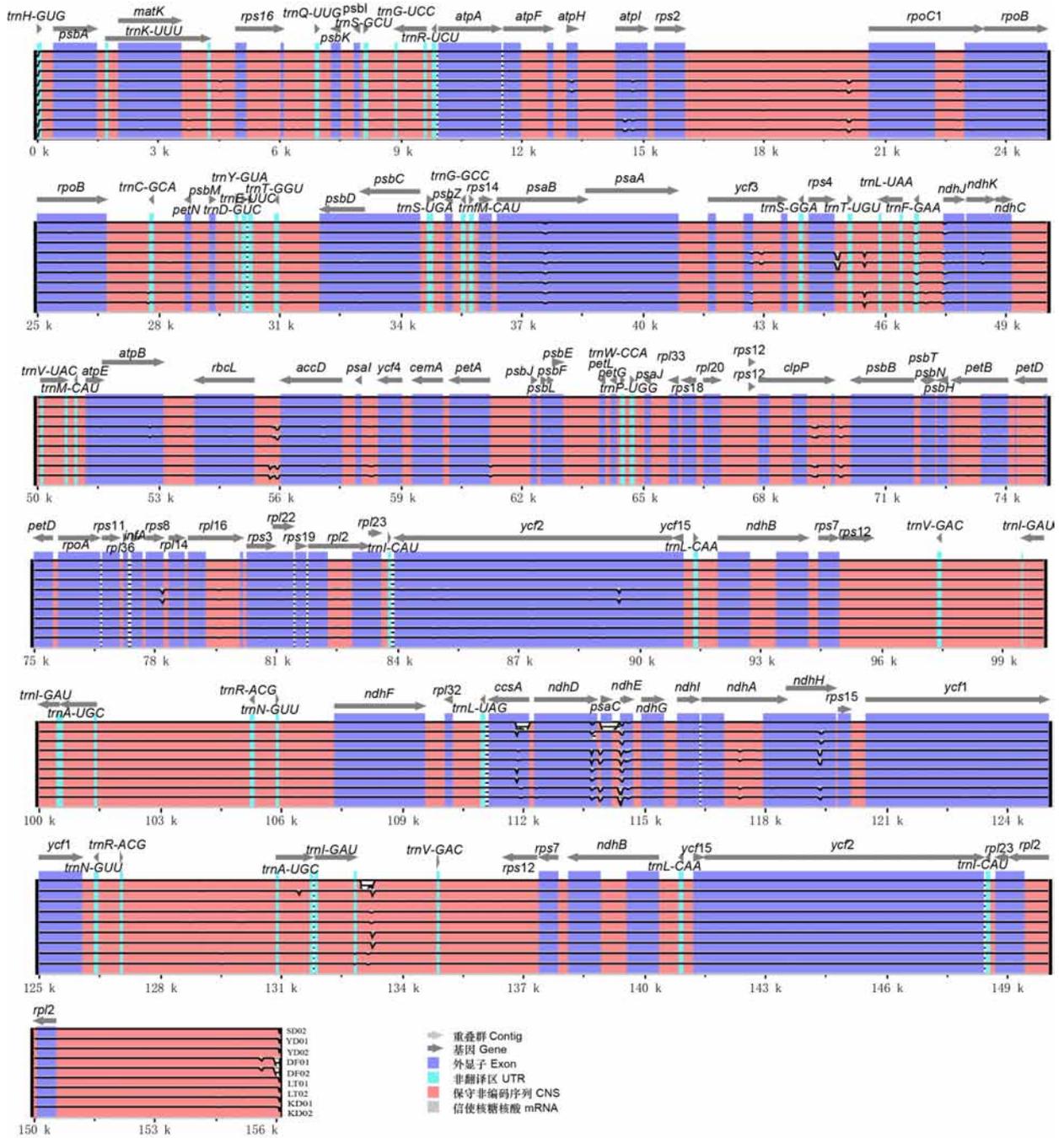
Fig. 3 Analysis of simple sequence repeat (SSR) on ten chloroplast genomes in *Acanthocalyx alba*



窗口长度为 600 bp，步长为 200 bp。X 轴. 窗口中点的位置；Y 轴. 每个窗口的核苷酸多样性。
Window length is 600 bp, step size is 200 bp. X-axis. Position of the midpoint of a window; Y-axis. Nucleotide diversity of each window.

图 4 白花刺续断 10 条叶绿体全基因组的滑动窗口分析

Fig. 4 Sliding window analysis of ten chloroplast genomes in *Acanthocalyx alba*



基于 VISTA 的标识图显示以 SD01 为参照,对九个白花刺续断进行序列鉴定。

VISTA-based identify plot showing sequence identify among nine *Acanthocalyx alba* using SD01 as a reference.

图 5 白花刺续断 10 条叶绿体基因组的可视化比对

Fig. 5 Visualization alignment of ten chloroplast genomes in *Acanthocalyx alba*

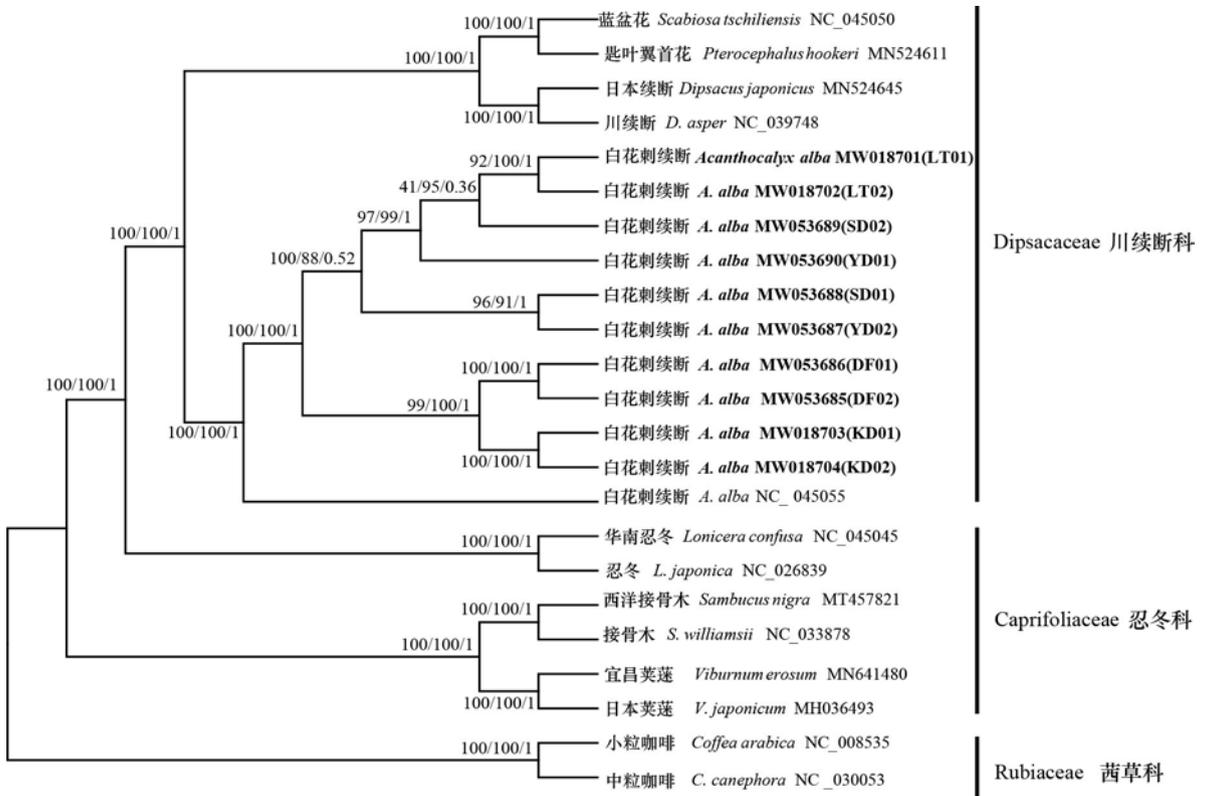
富的遗传信息,可为复杂植物类群及种下居群水平上的群体遗传及谱系进化研究提供有效手段。但由于二代测序的价格仍旧较为高昂,本文中居群样本量较少,本研究结果的科学性尚有不足。

因此,叶绿体基因组能否作为传统的分子片段或标记的技术补充,需要更多研究工作来验证。此外,将叶绿体全基因组用于群体遗传学分析的数据分析方法也有待于进一步完善。

表 4 白花刺续断个体间遗传距离与核苷酸差异值

Table 4 Genetic distances and nucleotide difference values among individuals of *Acanthocalyx alba*

编号 Code	SD01	SD02	YD01	YD02	DF01	DF02	LT01	LT02	KD01	KD02
SD01		940	263	45	819	818	218	218	588	588
SD02	0.000 1		791	933	1 515	1 514	746	746	1 306	1 306
YD01	0.000 1	0.000 0		256	851	850	67	67	625	625
YD02	0.000 0	0.000 1	0.000 1		781	780	211	211	551	551
DF01	0.000 6	0.000 6	0.000 6	0.000 6		1	805	805	576	576
DF02	0.000 6	0.000 6	0.000 6	0.000 6	0.000 0		804	804	575	575
LT01	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 6	0.000 6		0	581	581
LT02	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 1	0.000 6	0.000 6	0.000 0		581	581
KD01	0.000 7	0.000 7	0.000 7	0.000 7	0.000 5	0.000 5	0.000 7	0.000 7		0
KD02	0.000 7	0.000 7	0.000 7	0.000 7	0.000 5	0.000 5	0.000 7	0.000 7	0.000 0	



上面的节点数是支持值,左边是 MP 自展值,中间是 ML 自展值,右边是贝叶斯后验概率(PP)值。图中加黑部分为本文主要研究对象。Number above nodes are support values with MP bootstrap values on the left, ML bootstrap values in the middle, Bayesian posterior probabilities (PP) values on the right. The black part in the figure is the main research objects of this paper.

图 6 利用最大简约法(MP)、最大似然法(ML)和贝叶斯分析法(BI)研究了 10 个白花刺续断叶绿体全基因组的系统发育关系

Fig. 6 Phylogenetic relationship of ten *Acanthocalyx alba* based on complete chloroplast genome using maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML), and Bayesian analyses (BI) methods

参考文献:

- CHEN Q, WU XB, ZHANG DQ, 2019. Phylogenetic analysis of *Fritillaria cirrhosa* D. Don and its closely related species based on complete chloroplast genomes [J]. Peer J, 7: e7480.
- CHEN Q, WU XB, ZHANG DQ, 2020. Comparison of the abilities of universal, super, and specific DNA barcodes to discriminate among the original species of *Fritillariae cirrhosae* bulbosae and its adulterants [J]. PLoS ONE, 15(2): e0229181.
- CUI Y, CHEN X, NIE L, et al., 2019. Comparison and phylogenetic analysis of chloroplast genomes of three medicinal and edible *Amomum* species [J]. Int J Mol Sci, 20(16): 4040.
- DU X, ZENG T, FENG Q, et al., 2020. The complete chloroplast genome sequence of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) and its phylogenetic relationship to other Brassicaceae species [J]. Gene, 731: 144340.
- FATEMEH N, SHAHROKH KO, VALEYOLLAH M, et al., 2018. Molecular phylogeny and divergence times of *Onosma* (Boraginaceae.s.) based on nrDNA ITS and plastid *rpl32-trnL* (UAG) and *trnH-psbA* sequences [J]. Nord J Bot, 37(1): e02060.
- GUO HJ, LIU JS, LUO L, et al., 2017. Complete chloroplast genome sequences of *Schisandra chinensis*: genome structure, comparative analysis, and phylogenetic relationship of basal angiosperms [J]. Sci Chin, 60(11): 1286–1290.
- HONG DY, BARRIE FR, 2011. *Acanthocalyx* [M]// Dipsacaceae. Flora of China: Vol. 19. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden: 649–650.
- HU HS, ZHANG DQ, 2021. DNA super-barcoding of several medicinal species in *Gentiana* from Yunnan Province [J]. Chin J Chin Mat Med, 46(20): 5260–5269. [胡海粟, 张德全, 2021. 几种滇产龙胆属 *Gentiana* 药用植物的 DNA 超级条形码研究 [J]. 中国中药, 46(20): 5260–5269.]
- JIANG WJ, GUO MY, PANG XH, 2020. Application of chloroplast genome in identification and phylogenetic analysis of medicinal plants [J]. World Chin Med, 15(5): 702–708. [姜汶君, 郭梦月, 庞晓慧, 2020. 叶绿体基因组在药用植物鉴定及系统进化研究中的应用 [J]. 世界中医药, 15(5): 702–708.]
- KUANG DY, WU H, WANG YL, et al., 2011. Complete chloroplast genome sequence of *Magnolia kwangsiensis* (Magnoliaceae): implication for DNA barcoding and population genetics [J]. Genome, 54(8): 663–673.
- LI YR, TANG LP, YANG SD, et al., 2020. Phylogeny of an ethnical medicinal plant, *Gaultheria leucocarpa* var. *yunnanensis* complex based on chloroplast DNA data [J]. Guihaia, 40(1): 71–82. [李依容, 唐丽萍, 杨淑达, 等, 2020. 基于叶绿体基因证据的民族药滇白珠复合群系统发育关系 [J]. 广西植物, 40(1): 71–82.]
- LIAO YY, LIU Y, LIU X, et al., 2020. The complete chloroplast genome of *Miriophyllum spicatum* reveals a 4-kb inversion and new insights regarding plastome evolution in Haloragaceae [J]. Ecol Evol, 10(6): 1–13.
- LIU JQ, FU MJ, WU HY, et al., 2021. Phylogeography of the loess plateau endemic plant *Prinsepia uniflora* inferred from the chloroplast DNA [J]. Guihaia, 41(3): 396–403. [刘家奇, 付孟娇, 吴海洋, 等, 2021. 基于叶绿体 DNA 的黄土高原特有植物蕤核的谱系地理学 [J]. 广西植物, 41(3): 396–403.]
- NA T, HAN LM, CHEN C, et al., 2018. The complete chloroplast genome sequence of *Epipremnum aureum* and its comparative analysis among eight Araceae species [J]. PLoS ONE, 13(3): e0192956.
- NAHLA ES, MOHAMED I, 2020. Implications of *rbcL* and *rpoC1* DNA barcoding in phylogenetic relationships of some Egyptian *Medicago sativa* L. Cultivars [J]. Egypt J Bot, 60(2): 451–460.
- Qinghai Institute for drug control, Qinghai Institute of Tibetan medicine, 1996. Chinese Tibetan medicine [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 170–173. [青海省药品检验所, 青海省藏医药研究所, 1996. 中国藏药 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 170–173.]
- SMITH, 2015. Mutation rates in plastid genomes: they are lower than you might think [J]. Genome Biol Evol, 7(5): 1227–1234.
- SONG X, TING S, WEN JL, et al., 2019. Comparative analysis of the complete chloroplast genome among *Prunus mume*, *P. armeniaca*, and *P. salicina* [J]. Hortic Res, 6(22): 2015–2035.
- State Administration of Traditional Chinese Medicine Chinese Herbal Editorial Board, 2002. Chinese Herb: Tibetan Medicine Volume [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 208–209. [国家中医药管理局中华本草编委会, 2002. 中华本草: 藏药卷 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 208–209.]
- SZYMON AO, EWELINA Ł, TOMASZ K, et al., 2016. Chloroplasts: state of research and practical applications of plastome sequencing [J]. Planta, 244(3): 517–527.
- WANG HX, LIU H, MOORE M, et al., 2020. Plastid phylogenomic insights into the evolution of the Caprifoliaceae s. l. (Dipsacales) [J]. Mol Phylogenet Evol, 142: 106641.
- WANG WB, YU H, WANG JH, et al., 2017. The complete chloroplast genome sequences of the medicinal plant *Forsythia suspensa* (Oleaceae) [J]. Int J Mol Sci, 18(11):

- 2288–2304.
- WANG XW, RHEIN HS, JENKINS J, et al., 2020. Chloroplast genome sequences of *Carya illinoensis* from two distinct geographic populations [J]. *Tree Genet Genomes*, 16(5): 62–75.
- WU CL, LIU Y, ZHANG ZF, et al., 2011. Optimization of extracting condition for *Morina nepalensis* by uniform design [J]. *Chin Trad Herb Drug*, 42(12): 2447–2450. [吴春蕾, 刘圆, 张志锋, 等, 2011. 均匀设计法优选白花刺参的提取工艺研究 [J]. *中草药*, 42(12): 2447–2450.]
- YANG JS, 1989. *Diqing Tibetan medicine* [M]. Kunming: Yunnan Nationalities Publishing House: 409–410. [杨竞生, 1989. *迪庆藏药* [M]. 昆明: 云南民族出版社: 409–410.]
- YANG SX, WANG JX, ZHANG ZF, 2014. Microscopic study of traditional Tibetan medicine *M. nepalensis* D. Don var. *alba* (Hand-Mazz.) Y. C. Tang [J]. *J SW Univ Natl (Nat Sci Ed)*, 40(5): 706–710. [杨圣贤, 王静霞, 张志锋, 2014. 藏药材江才嘎保的纤维特征研究 [J]. *西南民族大学学报(自然科学版)*, 40(5): 706–710.]
- ZHANG MY, WANG GZ, ZHOU JH, et al., 2020. Development and characterization of 20 novel EST-SSR markers for *Pteroceltis tatarinowii*, a relict tree in China [J]. *Appl Plant Sci*, 8(2): e11320.
- ZHANG MY, ZHANG YQ, LI YM, et al., 2020. Complete plastid genomes of *Bupleurum chinense* DC. and *B. boissieuianum* H. Wolff, with comparative and phylogenetic analyses of medicinal *Bupleurum* species [J]. *Acta Pharm Sin*, 56(2): 618–629. [张明英, 张雨曲, 李依民, 等, 2020. 北柴胡、紫花阔叶柴胡叶绿体全基因组解析及柴胡属药用植物叶绿体基因组比较与系统发育分析 [J]. *药学报*, 56(2): 618–629.]
- ZHANG X, SU HL, YANG J, et al., 2019. Population genetic structure, migration, and polyploidy origin of a medicinal species *Gynostemma pentaphyllum* (Cucurbitaceae) [J]. *Ecol Evol*, 9(19): 1–26.
- ZHANG Y, LI L, YAN TL, et al., 2014. Complete chloroplast genome sequences of *Praxelis* (*Eupatorium catarium* Veldkamp), an important invasive species [J]. *Gene*, 549: 58–69.
- ZHANG XF, LANDIS JB, WANG HX, et al., 2021. Comparative analysis of chloroplast genome structure and molecular dating in Myrtales [J]. *BMC Plant Biol*, 21(1): 219.
- ZHANG ZF, LÜ LY, LUO P, et al., 2013. Two new ursolic acid saponins from *Morina nepalensis* var. *alba* Hand-Mazz. [J]. *Nat Prod Res*, 27(24): 2256–2262.
- ZHANG ZF, LÜ LY, LIU Y, et al., 2015. Simultaneous determination of two new triterpenoid saponins in *Morina nepalensis* by HPLC [J]. *W Chin J Pharm Sci*, 30(6): 724–726. [张志锋, 吕露阳, 刘圆, 等, 2015. HPLC 同时测定白花刺参中的两个新三萜皂苷 [J]. *华西药学杂志*, 30(6): 724–726.]
- ZHANG ZF, WU YJ, CHEN L, et al., 2018. Anti-inflammatory effects and mechanism of total saponins of Tibetan medicine *Morina nepalensis* var. *alba* [J]. *Pharmacol Clin Chin Mat Med*, 34(5): 47–50. [张志锋, 吴尤娇, 陈丽, 等, 2018. 藏药材白花刺参总皂苷的抗炎作用及机制 [J]. *中药药理与临床*, 34(5): 47–50.]

(责任编辑 李 莉)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109055

朱学泰, 杜璠, 冶晓燕, 等. 胶瘤菌属和孔生胶瘤菌——中国新记录属、种 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1762–1766.
ZHU XT, DU F, YE XY, et al. New records of species *Carcinomyces polyporina* and genus *Carcinomyces* in China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1762–1766.



胶瘤菌属和孔生胶瘤菌——中国新记录属、种

朱学泰^{1*}, 杜璠¹, 冶晓燕², 范佳馨¹, 蒋长生³

(1. 西北师范大学 生命科学学院, 兰州 730070; 2. 临夏回族自治州农业科学院, 甘肃 临夏 731100;
3. 连城国家级自然保护区管理局, 甘肃 永登 730333)

摘要: 该文通过形态特征研究和基于 ITS 序列的分子系统学分析, 对采自甘肃省连城国家级自然保护区的 1 份形态特殊的胶瘤菌属标本进行分类学研究。结果表明: 该标本是孔生胶瘤菌 (新拟) (*Carcinomyces polyporina*), 隶属于担子菌门 (Basidiomycota)、银耳纲 (Tremellomycetes)、银耳目 (Tremellales)、胶瘤菌科 (新拟) (Carcinomycetaceae)。该物种代表了中国的 1 个新记录属、种, 是该属在东亚地区的首次报道。孔生胶瘤菌寄生于多孔菌类真菌的子实体上, 形成胶质状菌瘿, 担子纵裂, 担孢子可萌发后形成分生孢子。研究标本保存于中国科学院昆明植物研究所标本馆隐花植物标本室, 馆藏号为 HKAS 115765。

关键词: 新记录属, 新记录种, 孔生胶瘤菌, 连城国家级自然保护区, 系统分类

中图分类号: Q949 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)10-1762-05

New records of species *Carcinomyces polyporina* and genus *Carcinomyces* in China

ZHU Xuetai^{1*}, DU Fan¹, YE Xiaoyan², FAN Jiaxin¹, JIANG Changsheng³

(1. College of Life Sciences, Northwest Normal University, Lanzhou 730070, China; 2. Linxia Hui Autonomous Prefecture Academy of Agricultural Sciences, Linxia 731100, Gansu, China; 3. Management Bureau of Liancheng National Nature Reserve, Yongdeng 730333, Gansu, China)

Abstract: This study reported a macrofungus specimen with special morphology collected from Liancheng National Nature Reserve in Gansu Province. Morphological characteristics observation and molecular phylogenetic analysis based on ITS sequences were performed. The results show that the specimen is *Carcinomyces polyporina*, belonging to Basidiomycota, Tremellomycetes, Tremellales, Carcinomycetaceae, which represents a newly recorded genus and

收稿日期: 2022-01-28

基金项目: 国家自然科学基金(31770588); 甘肃省荒漠化与风沙灾害防治重点实验室开放基金(GSDC201901) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31770588); Open Fund of Gansu State Key Laboratory Breeding Base of Desertification and Aeolian Sand Disaster Combating (GSDC201901)]。

第一作者: 朱学泰(1979-), 副教授, 硕士研究生导师, 主要从事大型真菌分类及多样性研究, (E-mail) zhuxuetai@nwnu.edu.cn。

*通信作者

species in China, and is the first report of this genus in East Asia. *Carcinomyces polyporina* is characterized by parasitism on polypores fruitbody, forming gelatinous mycocecidium, basidia with longitudinally septate, and conidia commonly gemmated from basidiospores germination. The specimen is deposited in the Herbarium of Cryptoflora, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences (HKAS 115765).

Key words: new record genus, new record species, *Carcinomyces polyporina*, Liancheng National Nature Reserve, system classification

胶瘤菌属(新拟) (*Carcinomyces*) 由 Oberwinkler 和 Bandoni 于 1982 年建立, 最初置于异担子菌纲 (Heterobasidiomycetes)、胶瘤菌科(新拟) (Carcinomycetaceae) 中, 所属目当时未确定 (Oberwinkler & Bandoni, 1982)。该属真菌通常寄生于某些担子菌子实体或植物上 (Fungsin et al., 2002; Crous et al., 2019), 常导致宿主的局部组织肿瘤状生长, 形成透明至半透明胶质状菌瘿结构, 新鲜时呈无色至淡黄色; 其菌丝末端可同时形成分生孢子梗和担子。

孔生胶瘤菌(新拟) (*Carcinomyces polyporina*) 发表于 1970 年, 最初被置于银耳属 (*Tremella*) 中 (Reid, 1970); 1982 年, Oberwinkler 和 Bandoni 因其具菌瘿状的子实体, 将其并入了胶瘤菌属 (Oberwinkler & Bandoni, 1982); 但是 1986 年 Ginns 将胶瘤菌属的模式种 *Carcinomyces effibulatus* 并入了链孢耳属 (*Syzygospora*) 中 (Ginns, 1986), 自此研究者就胶瘤菌属是否成立产生了争议, 孔生胶瘤菌的归属问题也悬而未决。

近年来, 银耳纲的分子系统发育分析研究结果显示, *Carcinomyces effibulatus* (Ginns & Sunhede, 1978)、*Carcinomyces arundinariae* (Fungsin et al., 2002) 和孔生胶瘤菌, 应隶属于担子菌门 (Basidiomycota)、银耳纲 (Tremellomycetes)、银耳目 (Tremellales)、胶瘤菌科、胶瘤菌属, 与链孢耳属亲缘关系较远 (Liu et al., 2015; Crous et al., 2019)。Crous 等 (2019) 依据分子系统学和形态学的证据, 发表了物种 *Carcinomyces nordestinensis*, 所构建的系统发育树也支持胶瘤菌属成立, 隶属于银耳目、胶瘤菌科。

胶瘤菌属真菌此前在我国未见有报道。本研究对采集自我国的 1 号该属真菌标本进行了形态解剖学与分子系统学研究。

1 材料与方法

1.1 标本信息

所研究标本于 2019 年 8 月 1 日采自甘肃省兰州市永登县, 连城国家级自然保护区内棚子沟, 针阔混交林中, 地理位置为 102° 44' 55.257" E、36° 37' 42.288" N, 海拔 1 941 m, 主要植被为青海云杉 (*Picea crassifolia*)、青杆 (*P. wilsonii*)、红桦 (*Betula albosinensis*) 等。标本采集号为 ye629, 标本馆保藏号为 HKAS 115765。

1.2 形态学观察

使用 Panasonic lux 10 相机拍摄生态照片; 用解剖镜 (Motic SMZ-171) 观察干标本的颜色、形状等; 制作徒手切片, 使用 5% 的 KOH 溶液制作水封片, 在光学显微镜 (ZEISS AX10) 下观察显微结构, 用 Canon 70D 相机拍摄显微照片。分别选取 20 个成熟的分生孢子和担孢子进行测量, 长、宽以 (a) b~c (d) 表示, a 和 d 分别表示测量的最小值与最大值, b、c 表示 90% 的置信区间; 孢子长宽比用 Q 表示, $Q_m = Q$ 的均值 \pm 标准差 (Wu et al., 2016)。

1.3 分子系统学分析

用 CTAB 法提取标本的总 DNA, 对 ITS (internal transcribed spacer 内转录间隔区片段) 进行扩增, 引物为 ITS5/ITS4 (ITS5: 5'-GGAA GGTA AAAG TCAA GG -3', ITS4: 5'-TCCT CCGC TTAT TGAT ATGC -3') (White et al., 1990)。PCR 产物由北京奥科鼎盛生物科技有限责任公司测序, 所得的基因序列用 BioEdit 进行手动校对调整 (Hall, 1999), 在 NCBI 中进行 BLAST 比对, 最终将准确的序列信息提交至 GenBank 库中。

参考 Liu 等 (2015) 的研究结果, 从 GenBank 数据库中选择相关的 ITS 序列, 加上本研究获得的序列构建矩阵。使用 RAxML 8.1.24 软件基于最

表 1 构建系统发育树的 ITS 序列信息

Table 1 Informations of ITS sequences used to construct phylogenetic tree

GenBank 登录号 GenBank accession No.	样本名称 Sample name	标本号 Specimen No.	标本来源地 Specimen location
JN053501	孔生胶瘤菌 <i>Carcinomyces polyporina</i>	AM20	西班牙 Spain
MZ198241	孔生胶瘤菌 <i>C. polyporina</i>	HKAS 115765	中国 China
JN053499	<i>C. effibulatus</i>	AM6	西班牙 Spain
KY102550	<i>C. arundinariae</i>	CBS: 9931	荷兰 Netherlands
MK659873	<i>C. nordestinensis</i>	BRT-317	巴西 Brazil
AF444477	喜润楠考克娃酵母 <i>Kockovaella machilophila</i>	CBS: 8607	美国 USA
AF444337	帚状费尔氏酵母 <i>Fellomyces penicillatus</i>	CBS: 5492	美国 USA
AF444320	多形拟梗孢酵母 <i>Sterigmatosporidium polymorphum</i>	CBS: 8088	美国 USA
KY103412	<i>Fibulobasidium murrhardtense</i>	CBS: 9190	荷兰 Netherlands

注: 加粗字体者为本研究新提交序列。

Note: The bold letters mean the newly submitted.

大似然法 ML (maximum likelihood) 构建系统发育树, 碱基替代模型为 GTRGAMMAI, 其余参数设置均为默认值 (Stamatakis, 2014); 使用 MEGA 7.0.26 软件基于邻接法 NJ (neighbor joining) 进行系统发育分析; Bootstrap 均重复 1 000 次以获得统计学支持。

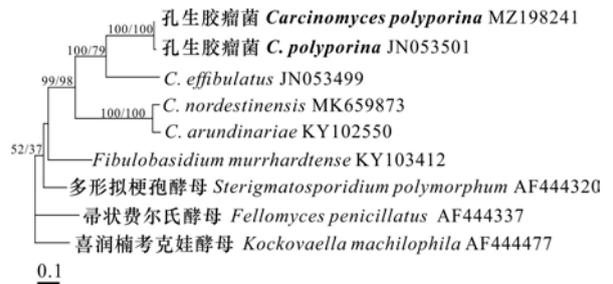
所选序列的物种名称、来源地及 GenBank 登录号见表 1。

2 结果与分析

基于 ITS 序列, 采用最大似然法和邻接法构建系统发育树, 二者的拓扑结构基本一致, 仅支持率略有差异, 最大似然法构建的系统发育树见图 1, ML 和 NJ 的支持率 BP (Bootstrap percentages) 分别用 BP^1 和 BP^2 表示。结果显示, 本研究的序列与来自西班牙的孔生胶瘤菌标本 AM20 序列聚在一起, 获得很高支持率 ($BP^1 = 100$, $BP^2 = 100$), 且与包括模式种 *Carcinomyces effibulatus* 在内的胶瘤菌属物种以高支持率 ($BP^1 = 99$, $BP^2 = 98$) 聚为一支。

基于标本 HKAS 115765 进行的形态特征研究, 结果如下。

寄生于多孔菌的子实层上 (图 2), 形成半透明至透明的胶质状菌瘿, 新鲜时稍具乳白色, 干燥后变薄膜状, 呈土褐色至黑褐色。分生孢子梗与分生孢子常见; 分生孢子梗短棒状; 分生孢子长椭圆至纺锤形, 光滑, 薄壁, 无色, $(3.5) 4.4 \sim 5.4 (8.0) \times (1.5) 2.5 \sim 3.0 (4.5) \mu\text{m}$, $Q_m = 1.80 \pm 0.12$ 。担子



分支上从左到右分别为最大似然法 (ML) 和邻接法 (NJ) 经 1 000 次重复后的 Bootstrap 支持率。

The Bootstrap percentages (BP) of maximum likelihood (ML) and neighbor joining (NJ) analyses from 1 000 replicates are shown respectively from left to right on the major branches resolved.

图 1 基于 ITS 序列采用最大似然法构建的分子系统发育树

Fig. 1 Molecular phylogenetic tree based on an ITS dataset using maximum likelihood

近球形, $9.8 \sim 12.8 \times 8.8 \sim 11.0 \mu\text{m}$, 具纵向分隔; 小梗 2 个或 4 个, 长可达 $8 \mu\text{m}$; 担孢子球形至近球形, 无色, $(4.8) 5.0 \sim 5.5 (6.0) \times (4.5) 4.6 \sim 4.8 (5.1) \mu\text{m}$, $Q_m = 1.10 \pm 0.01$, 可萌发后形成分生孢子 (图 3)。有锁状联合。

综合形态特征与分子系统学研究结果, 确认该标本为孔生胶瘤菌:

Carcinomyces polyporina (D. A. Reid) A. M. Yurkov, 2015

= *Tremella polyporina* D. A. Reid, Trans. Br. Mycol. 1970

分布: 英国 (Reid, 1970; Roberts, 2007)、北美

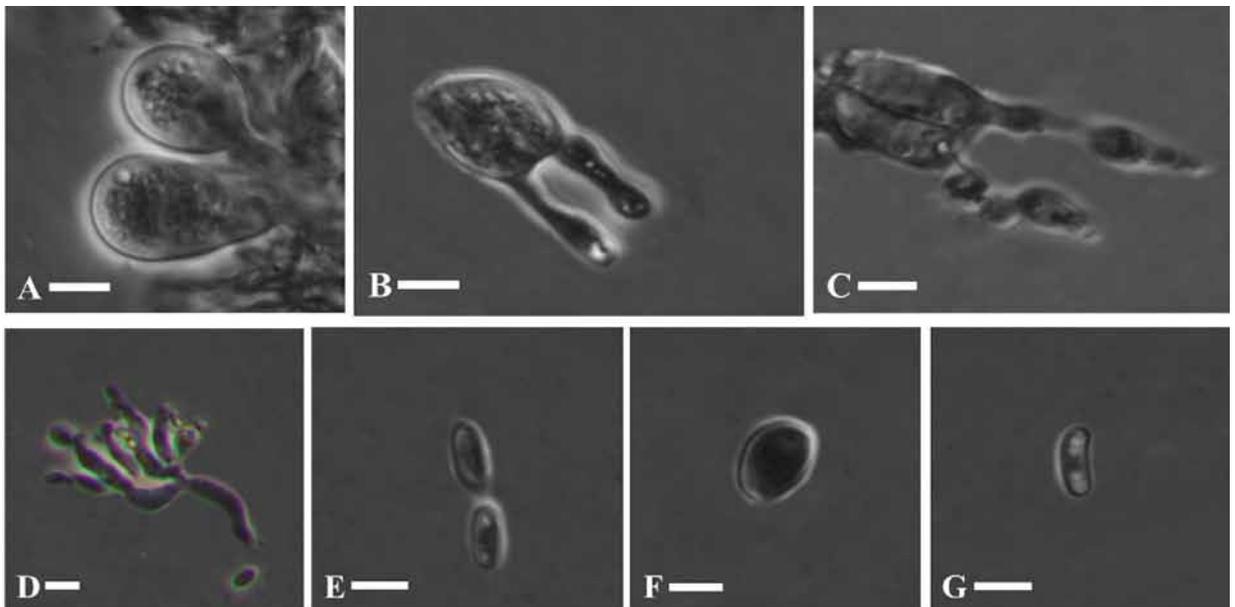


A. 宿主菌的背面观；B. 宿主菌的腹面观；C. 宿主菌子实层及生长于其上的胶质状孔生胶瘤菌菌瘿。a. 胶质状的孔生胶瘤菌菌瘿。标尺：A, B=5 mm, C=2 mm。

A. Dorsal view of parasitifer; B. Ventral view of parasitifer; C. Hymenium of parasitifer and the gelatinous mycocecidium of *C. polyporina* on it. a. Gelatinous mycocecidium of *C. polyporina*. Bars: A, B=5 mm, C=2 mm.

图 2 孔生胶瘤菌及其宿主菌的宏观形态

Fig. 2 Fruitbody of *Carcinomyces polyporina* and its parasitifer



A. 孔生胶瘤菌的原担子；B. 孔生胶瘤菌纵裂的成熟担子；C. 孔生胶瘤菌的担孢子萌发；D. 孔生胶瘤菌的分生孢子梗；E. 孔生胶瘤菌的椭圆形分生孢子；F. 孔生胶瘤菌的近球形担孢子；G. 宿主菌的腊肠形担孢子。标尺=5 μm。

A. Probasidium of *C. polyporina*; B. Basidium with longitudinally septation of *C. polyporina*; C. Basidiospore germination of *C. polyporina*; D. Conidiophore of *C. polyporina*; E. Elliptic conidia of *C. polyporina*; F. Subglobose basidiospore of *C. polyporina*; G. Botuliform basidiospore of parasitifer. Bars=5 μm.

图 3 孔生胶瘤菌和宿主菌的显微结构

Fig. 3 Microstructure of *Carcinomyces polyporina* and its parasitifer

(Setliff, 1982)、西班牙 (Millanes et al., 2011)、波兰 (Karasiński & Wołkowiecki, 2015)、中国。

3 讨论与结论

本研究基于分子系统学与形态学的研究结果证实采自甘肃连城国家级自然保护区的标本 HKAS 115765 为 *Carcinomyces polyporina*, 是我国新记录属、

种。*Carcinomyces* 源于希腊文 Καρκινος, 意为“癌症、肿瘤”, 又因其胶质状的子实体, 故将其中文名拟为“胶瘤菌”; 其种加词“*polyporina*”表示该物种常寄生于多孔菌类真菌的子实层上, 所以本文将该种的中文名拟定为“孔生胶瘤菌”。王耀等 (2010) 报道链孢耳菌 (*Syzygospora mycetophila*) 在中国的分布时, 曾提及该物种所属的科 Carcinomycetaceae, 但并未给出相应的中文名称, 本文根据词语含义, 将其中

文名拟定为“胶瘤菌科”。

系统分类研究方面,胶瘤菌属的模式种 *Carcinomyces effibulatus* 曾被研究者置于链孢耳属中(Ginns, 1986),链孢耳属目前隶属于线黑粉菌目(Filobasidiales)、线黑粉菌科(Filobasidiaceae)(Millanes et al., 2011; Liu et al., 2015), Index Fungorum 系统目前采信这一处理,将胶瘤菌属放置于线黑粉菌目、线黑粉菌科(<http://www.indexfungorum.org/Names/NamesRecord.asp?RecordID=823057>)。但是,Liu等(2015)构建的银耳纲系统发育树显示,*Carcinomyces effibulatus*、*C. arundinariae*和*C. polyporina*以高支持率单独聚为一支,形成银耳目中的1个单属科——胶瘤菌科;链孢耳属的模式种 *Syzygospora alba* 则位于线黑粉菌目、线黑粉菌科的分支上,与胶瘤菌属亲缘关系较远。

形态特征方面,胶瘤菌属物种大多寄生于担子菌的子实体上,在宿主上形成菌瘿,担子近球形或圆柱形,成熟后具有纵向或十字形分隔;线黑粉菌科物种多寄生在地衣上,担子管状或长棒状,无隔。目前,分子系统学和形态解剖学的证据均显示,胶瘤菌属应隶属于银耳目、胶瘤菌科,而非线黑粉菌目、线黑粉菌科,Index Fungorum 系统中胶瘤菌属的系统发育位置相关信息需要进行订正。

胶瘤菌属目前确认的物种仅4种:*Carcinomyces effibulatus*(模式种)(Ginns & Sunhede, 1978)、*C. arundinariae*(Fungsın et al., 2002)、*C. nordestinensis*(Crous et al., 2019)和孔生胶瘤菌(*C. polyporina*)(Reid, 1970)。作为寄生型的真菌,这些物种的寄生方式复杂而独特,如*C. effibulatus*目前仅发现寄生在栎金钱菌(*Collybia dryophila*)的子实体上(Ginns, 1986);*Carcinomyces nordestinensis*被发现寄生于红心凤梨(*Bromelia antiacantha*)的叶片上,同时是紫花风铃木(*Handroanthus impetiginosus*)的内生菌(Crous et al., 2019);孔生胶瘤菌的已知宿主有奶油波斯特孔菌(*Tyromyces lacteus*)和波状薄孔菌(*Antrodia sinuosa*)(Reid, 1970; Roberts, 2007)。本研究标本的宿主总DNA未能获得,仅根据子实体擦伤变蓝、担孢子腊肠形等形态特征,推测是波斯特孔菌或其近缘类群,准确的鉴定还有待更多标本的获得和研究。

孔生胶瘤菌此前在欧洲、美国均有报道(Reid, 1970; Setliff, 1982; Roberts, 2007; Millanes et al., 2011),此次在我国的发现,是该物种在东

亚地区的首次报道。随着真菌多样性研究的广度和深度不断拓展,孔生胶瘤菌和胶瘤菌属其他物种必然会在更多的地方被发现,其分布规律和生态特征也会更加明晰。

参考文献:

- CROUS PW, CARNEGIE AJ, WINGFIELD MJ, et al., 2019. Fungal Planet description sheets: 868–950 [J]. *Persoonia*, 42: 291–473.
- FUNGSIN B, TAKASHIMA M, ARTJARIYASRIPONG S, et al., 2002. *Bullera arundinariae* sp. nov., a new species of ballistoconidium-forming yeast isolated from a plant in Thailand [J]. *Microbiol Cult Collect*, 18: 83–90.
- GINNS J, SUNHEDE S, 1978. Three species of *Christiunsenia* (Corticaceae) and the teratological galls on *Collybia dryophila* [J]. *Bot Notiser*, 131: 167–173.
- GINNS J, 1986. The genus *Syzygospora* (Heterobasidiomycetes: Syzygosporaceae) [J]. *Mycologia*, 78(4): 619–636.
- HALL TA, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. *Nucl Acids Symp Ser*, 41: 95–98.
- KARASIŃSKI D, WOŁKOWYCKI M, 2015. An annotated and illustrated catalogue of polypores (Agaricomycetes) of the białowieża forest (NE Poland) [J]. *Pol Bot J*, 60(2): 217–292.
- LIU XZ, WANG QM, GÖKER M, et al., 2015. Towards an integrated phylogenetic classification of the Tremellomycetes [J]. *Stud Mycol*, 81: 85–147.
- MILLANES AM, DIEDERICH P, EKMAN S, et al., 2011. Phylogeny and character evolution in the jelly fungi (Tremellomycetes, Basidiomycota, Fungi) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 61(1): 12–28.
- OBERWINKLER F, BANDONI R, 1982. Carcinomycetaceae: a new family in the Heterobasidiomycetes [J]. *Nord J Bot*, 2(5): 501–516.
- REID DA, 1970. New or interesting records of British Hymenomyces, IV [J]. *Trans Brit Mycol Soc*, 55(3): 413–441.
- ROBERTS P, 2007. British *Tremella* species IV: *Tremella obscura*, *T. penetrans*, *T. giraffa* & *T. polyporina* [J]. *Field Mycol*, 8(4): 127–133.
- SETLIFF EC, 1982. *Tremella polyporina* from New York State [J]. *Can J Bot*, 60(6): 1028–1029.
- STAMATAKIS A, 2014. RAXML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies [J]. *Bioinformatics*, 30(9): 1312–1313.
- WANG Y, FAN YG, TULIGUER, 2010. Checklist of macrofungi collected from different forests in Changbai Mountain(III): Coniferous forest [J]. *J Fungal Res*, 8(4): 200–210. [王耀, 范宇光, 图力古尔, 2010. 长白山不同植被带大型真菌多样性调查名录Ⅲ针叶林带 [J]. 菌物研究, 8(4): 200–210.]
- WHITE TJ, BRUNS T, LEE S, et al., 1990. PCR: protocols: a guide to methods and applications. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics [M]. San Diego: Academic Press: 315–322.
- WU G, LI YC, ZHU XT, et al., 2016. One hundred noteworthy boletes from China [J]. *Fungal Divers*, 81(1): 25–188.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202009028

王琦, 严靖. 中国仙人掌科一新归化种——匍地仙人掌 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1767–1771.

WANG Q, YAN J, et al. *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., a newly naturalized species of Cactaceae in China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1767–1771.



中国仙人掌科一新归化种——匍地仙人掌

王琦, 严靖*

(上海辰山植物园, 上海 201602)

摘要: 在进行多肉植物资源调查时,在我国山东省发现一仙人掌科仙人掌属新记录种——匍地仙人掌 [*Opuntia humifusa* (Raf.) Raf.]。该种具有独特的匍匐生长习性,叶状茎深绿色,无白霜,无针状刺,花黄色,与国内分布的仙人掌属其他物种区别明显。匍地仙人掌原产于北美洲,是仙人掌科为数不多的耐寒种类之一,现归化于中国山东省日照市五莲县,系目前发现的在我国野外分布最北的仙人掌科植物。该种可能于20世纪50年代在国家推广中药材时期引入种植,人类活动致使其种群逐渐扩散。同时,对匍地仙人掌与江苏报道的二色仙人掌之间的分类学问题进行了论述,并对将来匍地仙人掌在我国暖温带地区合理的开发利用进行了展望。

关键词: 匍地仙人掌, 归化种, 中国新记录, 二色仙人掌, 仙人掌科

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1767-05

Opuntia humifusa (Raf.) Raf., a newly naturalized species of Cactaceae in China

WANG Qi, YAN Jing*

(Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602, China)

Abstract: *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. (Cactaceae), a newly recorded species in China, was discovered during a survey of succulent resources. This species is distinct from other *Opuntia* species distributed in China, with the dark green prostrate cladodes, no glaucous, spines absent, and bright yellow flowers. *O. humifusa* is one of the few hardy species in the family Cactaceae. It is native to North America and has been recently naturalized in Wulian County, Rizhao City, Shandong Province, China. It is the northernmost wild cactus found in China. This species might have been introduced and planted during the national promotion of Chinese herbal medicine in the 1950s, and gradually spreaded through human activities. Here we clarify the taxonomic problems of *O. humifusa* and *O. cespitosa* in Jiangsu Province, and deliver perspective views for future reasonable development and utilization of *O. humifusa* in the warm temperate zone of China.

收稿日期: 2020-12-02

基金项目: 上海市绿化与市容管理局科研项目(G182425, G182419) [Supported by Scientific Research Fund of Shanghai Landscaping & City Appearance Administrative Bureau (G182425, G182419)].

第一作者: 王琦(1986-), 硕士, 工程师, 主要从事植物引种保育研究, (E-mail) huYT0123@foxmail.com。

*通信作者: 严靖, 硕士, 助理研究员, 主要从事植物分类与入侵生物学研究, (E-mail) yan.jing01@163.com。

Key words: *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf., naturalized species, new record of China, *Opuntia cespitosa* Raf., Cactaceae

我国现有仙人掌属归化植物4种,归化于华南和西南地区的海边沙滩和干热河谷地带(Li & Taylor, 2007),其中仙人掌[*Opuntia dillenii* (Ker Gawl.) Haw.]、梨果仙人掌[*O. ficus-indica* (L.) Mill.]和单刺仙人掌[*O. monacantha* (Willd.) Haw.]已在我国局部地区造成入侵(马金双和李惠茹, 2018),胭脂掌(*O. cochenillifera* DC.)亦在我国南部省份归化。仙人掌属入侵植物主要通过种子和部分叶状茎进行繁殖,以仙人掌果实为食的动物是其长距离传播的主要媒介,其叶状茎亦可随动物和人类活动四处扩散。仙人掌属植物易形成密集灌木丛,明显降低原生植物多样性,且易对人畜造成伤害,阻碍正常的生产活动,造成一定的经济损失。外来种的归化是外来植物入侵过程中不可缺少的环节,因此对归化种的关注与监控尤其重要。

作者于2018—2019年在调查中国野生多肉植物资源过程中,在我国山东东南的小片丘陵山地发现一种在野外生长的仙人掌属植物。该种匍匐生长,植株低矮,叶状茎圆形或椭圆形,深绿色,无白霜,小窠内无针状刺,具麦秆色芒刺,花冠黄色,秋冬季温度降低时,叶状茎表面常具褶皱,并呈淡紫红色,极易与仙人掌属其他植物区别。经鉴定,该种是原产北美洲的*Opuntia humifusa* (Raf.) Raf.,在中国野外为首次发现,自然状态下能正常开花结实,完成生活史并形成稳定的居群,归化于山东省五莲县丘陵地区。现将结果报道如下。

匍地仙人掌(图1)

Opuntia humifusa (Raf.) Raf., Med. Fl. 2: 247. 1830.

Neotype (designated by Leuenberger 1993: 426):—UNITED STATES. Pennsylvania: Berks Co., 0.75 mi southwest of New Jerusalem, 10 July 1927, Wherry s. n. (US00292855).

—*Cactus humifusus* Raf., Ann. Nat. 1: 15. 1820.

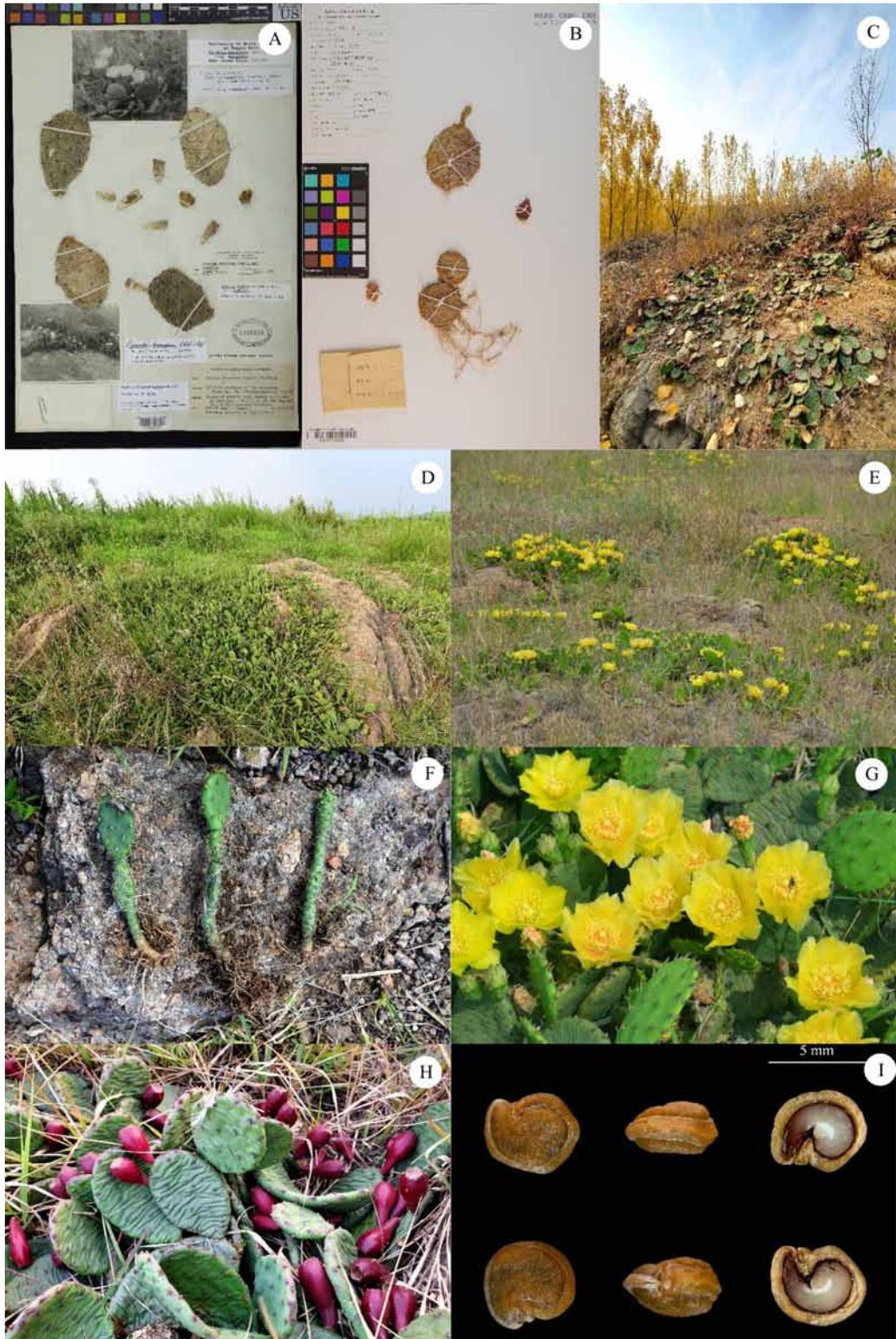
低矮肉质灌木,植株匍匐或稍上升,高10~30 cm,常密集群生或丛生,根系纤细。叶状茎圆形或椭圆形,边缘全缘,具多数分枝;深绿色,无白霜,长9~15 cm,宽5.7~8.3 cm,厚9.6~15.7 mm,其

表面于秋冬季节常形成褶皱。小窠疏生,具短棉毛和倒刺刚毛多数,倒刺刚毛麦秆色,老时变成浅棕色或琥珀色;成株无针状刺,幼株常会长出棍棒状的叶状茎,每小窠具针状刺5~10。叶深绿色,肉质,长6.2~9.6 mm,三角状卵形至狭卵形,挺立,早落。花常生于叶状茎顶端边缘处,外轮萼状花被片深绿色至灰绿色,卵形或长三角形,直立或弯曲;内轮瓣状花被片8~9,全为黄色,长3.7~4.0 cm,倒卵形;花丝黄色或黄绿色,柱头白色,6~7浅裂。浆果倒卵球形,顶部凹陷,基部渐狭,长4.2~4.8 cm,成熟时红色、橙红色或紫红色;表面光滑,疏生小窠,小窠具多数倒刺刚毛。种子长3.0~4.5 mm,种柄环宽0.4~0.7 mm,通常不规则;假种皮表面凹凸,在子叶和下胚轴边缘隆起,但部分假种皮隆起不明显。花期5—6月,果期8月至翌年3月。 $2n=44$ (Majure et al., 2012)。

凭证标本: China(中国), Shandong Province(山东省), Rizhao City(日照市), Wulian County(五莲县), Yuli Town(于理镇), Beidian Village(北店村), alt. 150 m, 2018-08-02, 35°53'42" N, 119°03'24" E, 王琦、付乃峰 Q513(CSH); Shandong Province(山东省), Rizhao City(日照市), Wulian County(五莲县), Yuli Town(于理镇), Houxunfeng Village(后逊峰村), alt. 160 m, 2019-11-02, 35°54'08" N, 119°03'31" E, 王琦、严靖 Q516(CSH)。

分布:原产于北美洲,分布于阿巴拉契亚山脉东部至大西洋沿岸,喜排水良好的沙壤土,在美国东南部偶见(Majure et al., 2017)。分布偏北,具有良好的耐寒性,在其原产地可分布至42°N的新英格兰地区(Wallace & Fairbrothers, 1987),是仙人掌科为数不多的耐寒种类之一,由于受到专业人员及植物爱好者的过度采集,导致该种在原产地处于濒危状态(Goetsch et al., 2015)。在韩国和欧洲东南部的保加利亚也有分布(Jung et al., 2011; Tashev, 2012),在中国归化于山东省五莲县,为中国归化新记录。

匍地仙人掌散生于山东省五莲县于理镇海拔120~180 m的干旱丘陵山地,尤以裸露的岩石附



A. 匍地仙人掌模式标本; B. 凭证标本; C-E. 生境; F. 幼株和根系; G. 花; H. 叶状茎和成熟果实; I. 种子。
 A. Neotype of *O. humifusa*; B. Voucher specimen; C-E. Habitat; F. Seedlings and roots; G. Flowers; H. Cladodes and mature fruits; I. Seeds.

图 1 匍地仙人掌
 Fig. 1 *Opuntia humifusa*



A. 二色仙人掌模式标本; B. 江苏产二色仙人掌凭证标本; C-E. 江苏产二色仙人掌叶状茎、花及植株(小窠内无针状刺)。
A. Neotype of *O. cespitosa*; B. Voucher specimen of *O. cespitosa* found in Jiangsu Province; C-E. Cladodes, flowers and plants (no spines in the areole) of *O. cespitosa* found in Jiangsu Province.

图2 二色仙人掌模式标本和江苏产二色仙人掌对比

Fig. 2 Contrast between neotype of *Opuntia cespitosa* and *O. cespitosa* in Jiangsu Province

近种群较大, 偶见沟谷坡边和林缘地势较高处, 总体分布面积约 1 km^2 。通过走访当地群众得知, 五莲县分布的匍地仙人掌最早的引入时间可能为 20 世纪 50 年代, 国家推广中药材种植时期作为药用植物引入种植, 随后在该区域逸生, 现已适应五莲县于理地区的气候环境, 能够自播繁衍。该种的分布地干旱多石、土壤瘠薄, 不适宜开展农业活动, 但距离村庄农田较近, 人类活动频繁, 这在一定程度上限制了匍地仙人掌大面积的扩散, 同时也致使其沿着田间地头、荒地石坡有规律的扩散。据悉当地人常采其成熟果实当水果食用, 口感酸甜, 但籽较多, 其掌片去皮后可用于治疗烫伤, 也

有民间多肉植物爱好者因其抗性较强, 采其栽培, 或作为盆栽观赏, 或作为仙人掌科植物的嫁接砧木, 又名圆武扇、无敌团扇。

李新华等(2020)曾于江苏句容虬山发现仙人掌科一新归化植物, 将其鉴定为二色仙人掌 (*O. cespitosa* Raf.)。二色仙人掌的主要鉴别特征是叶状茎在生长期呈灰绿色(被白霜)(glaucous-green or glaucous), 成熟时呈深绿色或浅灰绿色, 花黄色基部淡红色至红色, 小窠常具针状刺 1~3, 刺长 1.5~4.3 cm, 常存在于成熟叶状茎的中上部 (Majure et al., 2017)。作者对江苏虬山分布的二色仙人掌进行实地考察, 发现该地分布的二色仙

人掌叶状茎无白霜,植株全株小窠内未发现针状刺,与二色仙人掌的模式标本也有一定差异,除了花色为黄色基部淡红色,形态上更接近匍地仙人掌(图2)。Kalmbacher(1975)在研究纽约地区的匍地仙人掌时,发现该区域匍地仙人掌的花色有黄色和黄色基部淡红两种,这两种花色通常出现在不同的植株上,有时候也出现在同一株植物上,但Majure等(2017)认为是错误鉴定,因为二色仙人掌和匍地仙人掌在纽约地区的分布重叠,两种仙人掌有时生长在一起。二色仙人掌和匍地仙人掌经常会被混淆鉴定,二者均属于仙人掌属中的*Humifusa*分支,亲缘关系较近(Majure et al., 2017),但对于江苏分布的二色仙人掌种群,因笔者未在小窠内发现针状长刺,是否为二色仙人掌尚待进一步研究。

目前,我国归化的仙人掌科植物多集中在西南和华南等热带亚热带地区,而五莲县处于暖温带地区。据《五莲县志》记载,五莲县记录的极端最低温为 $-15.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ (1985年12月9日),年平均气温为 $12.9\text{ }^{\circ}\text{C}$,冬季平均气温为 $-0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ (单亦灵, 2009)。因此,五莲县匍地仙人掌系目前发现的在我国野外生长分布最北的仙人掌科植物,耐寒性强。

仙人掌属植物耐干旱瘠薄,其果实和叶状茎均可食用或药用,是荒山绿化和改良沙漠环境的优良植物(田国行和赵天榜,2011)。匍地仙人掌通常生长于多石干旱的丘陵山地环境,且耐寒性极佳,五莲县匍地仙人掌的发现对于仙人掌科植物在我国暖温带地区的推广应用具有极其重要的意义,同时也是仙人掌属耐寒植物种质资源创新的极好材料,在韩国已有关于该种果实成分分析的相关研究,并对其食用价值进行了分析(Jung et al., 2011)。未来如何合理开发利用匍地仙人掌这一耐寒的归化植物资源,还需进一步研究。与此同时,由于该种繁殖能力强,易形成较大面积的种群而影响当地的生态环境,可能具有潜在的入侵风险,据报道该种在保加利亚已经对当地的生态平衡构成威胁(Tashev, 2012),因此我们对该种的归化也应引起一定的重视,需要监控其种群动态,并对其生物学特征和生态习性进一步观察并研究,在合理利用的同时避免入侵危害的发生。

致谢 感谢华东师范大学廖帅博士提供文献帮助,感谢上海辰山植物园标本馆葛斌杰帮助拍

摄标本和种子照片,感谢五莲县管帅温泉度假村李增龙提供匍地仙人掌开花照片。

参考文献:

- GOETTSCHE B, HILTON-TAYLOR C, CRUZ-PINON G, et al., 2015. High proportion of cactus species threatened with extinction [J]. *Nat Plants*, 1(10): 15142.
- JUNG BM, HAN KA, SHIN TS, 2011. Food components of different parts of Cheonnyuncho (*Opuntia humifusa*) harvested from Yeosu, Jeonnam in Korea [J]. *J Korean Soc Food Sci Nutr*, 40(9): 1271-1278.
- KALMBACHER G, 1975. New York's neglected cactus: *Opuntia* thrives despite lack of desert climate [J]. *Garden J*, 25: 144-147.
- LI XH, ZHOU W, GUO JC, et al., 2020. *Opuntia cespitosa* Rafinesque, a new naturalized species of Cactaceae from China [J]. *J Trop Subtrop Bot*, 28(2): 192-196. [李新华, 周闻, 郭嘉诚, 等, 2020. 二色仙人掌, 中国仙人掌科一新归化种 [J]. *热带亚热带植物学报*, 28(2): 192-196.]
- LI ZY, TAYLOR NP, 2007. *Opuntia* Miller [M]//WU ZY, RAVEN PH, HONG DY. *Flora of China*. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 13: 210-211.
- MA JS, LI HR, 2018. The checklist of the alien invasive plants in China [M]. Beijing: Higher Education Press: 29-31. [马金双, 李惠茹, 2018. 中国外来入侵植物名录 [M]. 北京: 高等教育出版社: 29-31.]
- MAJURE LC, JUDD WS, SOLTIS PS, et al., 2012. Cytogeography of the *Humifusa* clade of *Opuntia* ss Mill.1754 (Cactaceae, Opuntioideae, Opuntieae): correlations with pleistocene refugia and morphological traits in a polyploid complex [J]. *Comparative Cytogenetics*, 6(1): 53-77.
- MAJURE LC, JUDD WS, SOLTIS PS, et al., 2017. Taxonomic revision of the *Opuntia humifusa* complex (Opuntieae: Cactaceae) of the eastern United States [J]. *Phytotaxa*, 290(1): 1-65.
- SHAN YL, 2009. *Annals of Wulian County* [M]. Beijing: History of Chinese Communist Party Publishing House: 41. [单亦灵, 2009. 五莲县志 [M]. 北京: 中共党史出版社: 41.]
- TASHEV A, 2012. Characteristics of the *Opuntia humifusa* (Cactaceae) locality in the Harmanli district, South Bulgaria [J]. *Phytol Balcan*, 18(1): 11-16.
- TIAN GH, ZHAO TB, 2011. Resources and utilization of Cactaceae [M]. Beijing: Science Press: 301-303. [田国行, 赵天榜, 2011. 仙人掌科植物资源与利用 [M]. 北京: 科学出版社: 301-303.]
- WALLACE RS, FAIRBROTHERS DE, 1987. The New England distribution of *Opuntia humifusa* (Raf.) Raf. [J]. *Rhodora*, 89(859): 327-332.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202110056

杨斌, 王立彦, 周仕顺, 等. 中国哥纳香属(番荔枝科)植物新资料 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1772–1779.

YANG B, WANG LY, ZHOU SS, et al. Additions to *Goniothalamus* (Annonaceae) in the flora of China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1772–1779.



Additions to *Goniothalamus* (Annonaceae) in the flora of China

YANG Bin^{1,2,3}, WANG Liyan⁴, ZHOU Shishun¹, LI Jianwu¹,
XIAO Chunfen⁵, TAN Yunhong^{1,3*}

(1. Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences & Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China; 2. The Key Laboratory of Rare and Endangered Forest Plants of National Forestry and Grassland Administration & The Key Laboratory for Silviculture and Forest Resources Development of Yunnan Province, Kunming 650201, China; 3. Center of Conservation Biology, Core Botanical Gardens, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China; 4. Management and Conservation Bureau of Yunnan Tongbiguan Provincial Nature Reserve, Dehong 678400, Yunnan, China; 5. Center for Gardening and Horticulture, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China)

Abstract: *Goniothalamus sesquipedalis* (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson and *G. peduncularis* King & Prain are reported as two new records for the flora of China, the two species were found in Yingjiang County, Yunnan Province, China and conserved in Xishuangbanna Tropical Botanical Garden. *G. lii* X.L. Hou & Y.M. Shui has been treated as synonym with *G. yunnanensis* W. T. Wang in *Flora of China*. Here, we clarified its taxonomical status and treated as a new synonym with *G. peduncularis* based on living plants observation, the type specimens and the literatures revision. *G. sesquipedalis* was previously known from India, Bangladesh and Myanmar, and *G. peduncularis* was only in Myanmar. In this paper, we update the description and illustrate them based on the herbarium specimens and living collections. The voucher specimens are deposited in the Herbarium of Xishuangbanna Tropical Botanical Garden (HITBC).

Key words: *Goniothalamus*, Annonaceae, new record, Yingjiang County, taxonomy

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1772-08

中国哥纳香属(番荔枝科)植物新资料

杨斌^{1,2,3}, 王立彦⁴, 周仕顺¹, 李剑武¹, 肖春芬⁵, 谭运洪^{1,3*}

(1. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心, 中国科学院西双版纳热带植物园综合保护中心, 云南 勐腊 666303; 2. 国家林业和草原局珍稀濒危森林植物保护和繁育重点实验室, 云南省森林植物培育与开发利用重点实验室, 昆明 650201; 3. 中国科学院核心植物园保护生物学协同中心, 云南 勐腊 666303; 4. 云南铜壁关省级自然保护区管护局, 云南 德宏 678400; 5. 中国科学院西双版纳热带植物园园林园艺中心, 云南 勐腊 666303)

收稿日期: 2022-03-21

基金项目: 国家自然科学基金(31900180, 31970223); 国家植物标本资源库建设运行项目(E0117G1001); 云南省林业和草原科学院重点实验室开放基金(KFJJ21-01); 中国科学院东南亚生物多样性研究中心项目(Y4ZK111B01) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31900180, 31970223); Project of National Plant Specimen Resource Center (NPSRC)(E0117G1001); Open Fund of the Key Laboratory of Yunnan Academy of Forestry and Grassland (KFJJ21-01); Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences (Y4ZK111B01)]。

第一作者: 杨斌(1990-), 硕士, 工程师, 主要从事植物分类研究, (E-mail) yangbin2018@xtbg.ac.cn。

*通信作者: 谭运洪, 正高级工程师, 主要从事植物分类与植物区系研究, (E-mail) tyh@xtbg.org.cn。

摘要: 番荔枝科(Annonaceae)是基部被子植物木兰目(Magnoliales)中较进化且物种数最多的科。目前的系统发育研究将番荔枝科划分为4个亚科,即蒙蒿子亚科(Anaxagoreoideae)、澄光木亚科(Ambavioideae)、番荔枝亚科(Annonoideae)和排石木亚科(Malmeoideae),有107属,2400多种,中国原产21属约110种。番荔枝科泛热带分布,是热带植物区系的优势类群,中国云南盈江位于云南省最西部边境,与缅甸东北部接壤,并与印度的东阿萨姆较近,植物区系处于东南亚(印度—马来西亚)热带生物区系向东亚亚热带—温带生物区系的过渡地带,属典型热带北缘性质,在植被地理和生物地理上十分重要,成为生物多样性保护的关键和热点地区。该区的热带雨林是印度阿萨姆和缅甸北部的热带雨林向东和向北扩散分布的边缘类型,是东南亚热带雨林在纬度和海拔分布上的极限类型。该文报道了采自中国云南省盈江县,引种保存于中国科学院西双版纳热带植物园的番荔枝科哥纳香属2个中国新记录种,即皱叶哥纳香 [*Goniothalamus sesquipedalis* (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson] 和长梗哥纳香(*G. peduncularis* King & Prain)。《Flora of China》将盈江哥纳香(*G. lii* X. L. Hou & Y. M. Shui)处理为云南哥纳香(*G. yunnanensis* W. T. Wang)的异名,基于活植物观察、馆藏标本和文献研究,该文对盈江哥纳香的分类地位进行了澄清,将其处理为长梗哥纳香的异名。皱叶哥纳香原记载产于印度、孟加拉国和缅甸等地,长梗哥纳香仅产于缅甸,该文对它们进行了补充描述,并提供彩色图版以便于鉴别。凭证标本存放于中国科学院西双版纳热带植物园标本馆(HITBC)。哥纳香属2个新记录的发现,丰富了中国番荔枝科植物多样性的认识,为中国云南热带植物区系属于热带亚洲(印度—马来西亚)植物区系,以及与缅甸北部、印度东北部植物区系的关系增加了例证。

关键词: 哥纳香属, 番荔枝科, 新记录, 盈江县, 分类学

Goniothalamus (Blume) Hook. f. & Thomson, comprising over 130 species of trees and shrubs, is one of the largest palaeotropical genera in the Annonaceae, mainly distributed from India and Sri Lanka to tropical Australia and the South Pacific Islands (Saunders & Chalermglin, 2008; Nakkuntod et al., 2009; Turner, 2014; Thomas et al., 2017). In China, 11 species are currently recognized (Li & Gilbert, 2011).

During monitoring the living collections of Annonaceae in Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences from 2018 to 2021, two *Goniothalamus* species with flowers and fruits were observed. The two species were introduced to Xishuangbanna Tropical Botanical Garden (XTBG) in 1997 and 2002. After a detailed examination of the morphological characters of our materials, related literatures, and herbarium specimens, we identified them as *Goniothalamus sesquipedalis* (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson and *G. peduncularis* King & Prain, respectively. *G. sesquipedalis* was originally distributed in India, Bangladesh and Myanmar (Turner, 2015, 2018), and *G. peduncularis* was only reported in Myanmar (Turner, 2015, 2018). The two species therefore represent two new records for the flora of China, in which we update the descriptions and illustrate them herein.

皱叶哥纳香 新拟, 图版 I; 图版 III: A

Goniothalamus sesquipedalis (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson, Fl. Ind.: 108, 1855. (Plate I; Plate III: A)

Type: *Gutteria sesquipedalis* Colebr. ex Wall. in Wallich, Pl. Asiat. Rar. 3: 42, t. 266, 1832. Type: Wallich, Pl. Asiat. Rar. 3: t. 266, 1832. (lectotype, designated by Turner, Nordic J. Bot. 33: 270, 2015).

Shrubs, to 2 m tall. Young branches glabrous. Leaf laminae oblong, 22–47 cm long, 5.7–10.5 cm wide, length/width ratio 3.4–7.2, apex acuminate to caudate, base cuneate, sometimes attenuate, coriaceous, glabrous abaxially and adaxially; midrib glabrous and (strong) prominent abaxially, glabrous and impressed adaxially; secondary veins 16–22 pairs, interarching 5–10 mm from recurved margin, impressed adaxially, raised abaxially; tertiary veins reticulate, distinct; petioles 1.3–2 cm long, 2.5–5 mm in diameter, glabrous. Flowers greenish-yellow, solitary, axillary or extra-axillary, often on the main trunk (cauliflory) and on older branches (ramiflory); flowering pedicels 3–5 mm long; pedicel bracts 2–6, 2–4 × 1.5–3 mm. Sepals 3, 5–11 mm long, 5–7 mm wide, basally connate, apex acute to obtuse, ovate, puberulent abaxially, sparsely puberulent adaxially, greenish-yellow. Outer petals 3,

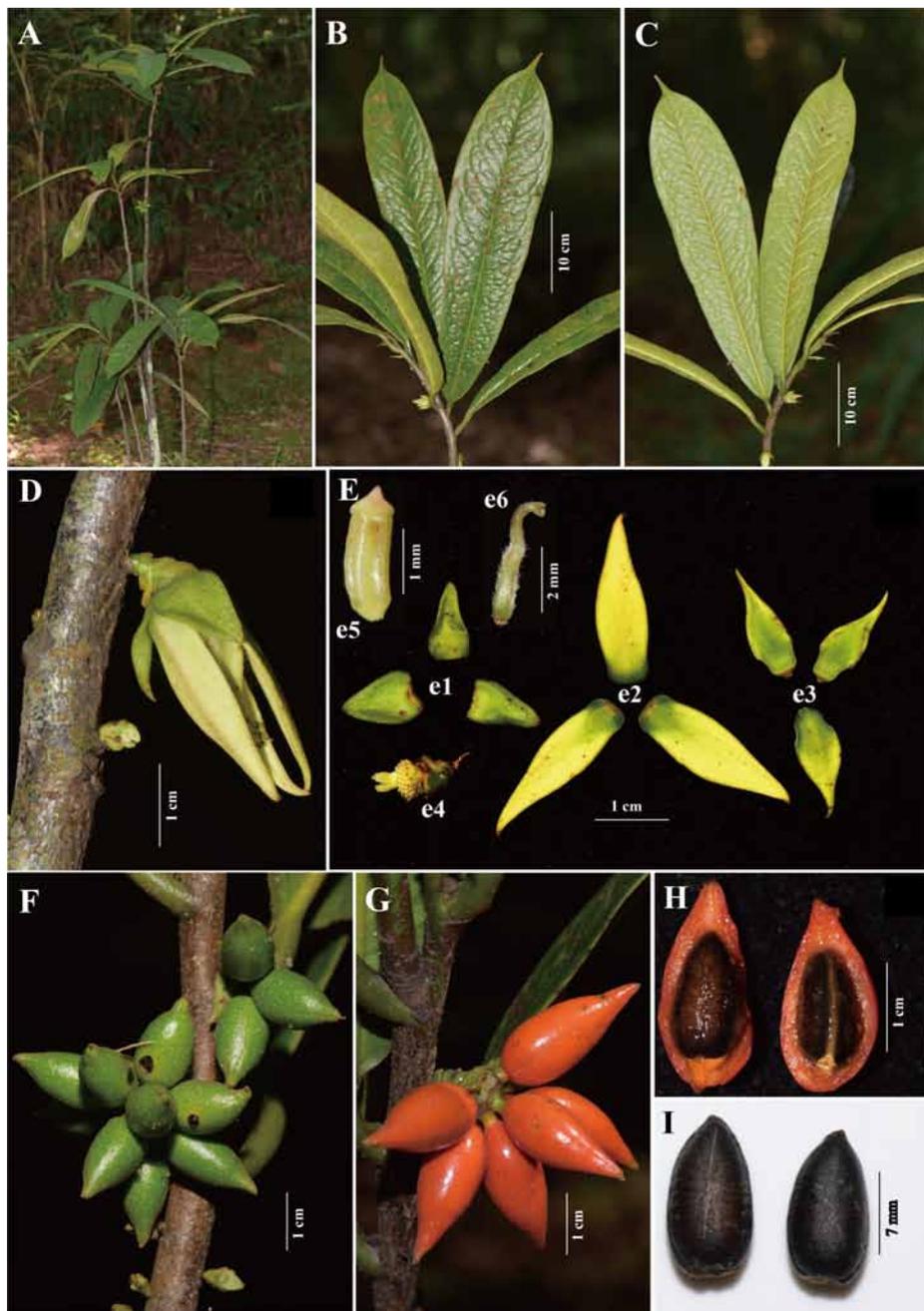
25–28 mm long, 6–8 mm wide, length/width ratio 3.1–4.6, lanceolate, puberulent abaxially and adaxially, greenish-yellow. Inner petals 3, shortly clawed and free in lower part, cohering and forming an ovate-caudate cone at apex, 15–18 mm long, 5–6.5 mm wide, length/width ratio 2.5–3, ovate-lanceolate, puberulous abaxially and adaxially, sometimes shortly lanate abaxially and adaxially in upper part, yellowish green, base obtuse to a 4.5–5 mm claw. Stamens 70–80 per flower, 2–2.2 mm long, 0.8–0.9 mm wide; connectives apiculate. Carpels ca. 12 per flower, ovary 2.5–3 mm long, light green, white pubescent; stigma and style 2–2.2 mm long, puberulous. Immature fruits green, mature fruits orange-red; fruiting pedicels 7–8.5 mm long, 2.5–3 mm in diameter. Monocarps one seeded, fresh monocarps 21–24 mm long, 10–12 mm wide, length/width ratio 2–2.2, dry monocarps 16–18.8 mm long, 6.9–7.4 mm wide, length/width ratio 2.2–2.7, ovoid to ellipsoid-ovoid, base rounded, apex attenuate, sparsely puberulous, glossy, pericarp medium-thick, ca. 2 mm thick, stipes 2–3 mm long, ca. 3 mm in diameter. Seeds 13–14 mm long, 6.5–7 mm wide, ovoid, testa slightly with latitudinal stripes, dark brown to black brown, aril yellowish brown, endosperm ruminations lamellate.

Distribution: China (Yunnan) (new record); India (Sikkim, Assam, Nagaland, Manipur, Meghalaya) (Grierson, 1984; Karthikeyan et al., 2009); Bangladesh (Khanam & Rahman, 2002); Myanmar (Kress et al., 2003; Kang et al., 2017).

Additional specimens examined: China (中国). Yunnan (云南): Yingjiang County (盈江县), Xima Township (昔马乡), Nabangba (那邦坝), 24°44' N, 97°33' E, 400 m, 5 November 1974, Tao Guoda (陶国达) 013190 (specimen No. 001927 [barcode, HITBC0040552!], specimen No. 001928 [barcode, HITBC0040553!]); the same location, April 1979, s. coll. (specimen No. 066463 [barcode, HITBC0040554!]); Yingjiang County (盈江县), Xima Township (昔马乡), 24°45' N, 97°42' E, 260 m, 3 December 1981, Tao Guoda (陶国达) 12774 (specimen No. 001929 [barcode, HITBC0040551!]); Yingjiang County (盈江县), Nabangba (那邦坝), Tongbiguan Natural Reserve (铜壁关自然保护区), 10

October 2011, Zhou Shishun (周仕顺) 11197 (HITBC 0040504); Yingjiang County (盈江县), Labang (拉邦), voucher from a cultivated plant at the Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 21 July 2019, Yang Bin (杨斌), XTBC0077 (HITBC); 15 February 2020, Yang Bin (杨斌), XTBC0079 (HITBC); 9 May 2020, Yang Bin (杨斌) & Xiao Chunfen (肖春芬), XTBC0114 (HITBC); 24 May 2021, Yang Bin (杨斌), XTBC0243 (HITBC).

Notes: The specimens of *Goniothalamus sesquipedalis* deposited in Herbarium of Xishuangbanna Tropical Botanical Garden (HITBC specimen No. 001927, 001928, 001929, 066463) was previously misidentified as *Goniothalamus multiovulatus* Ast, which is native to Vietnam (Turner, 2018). *G. multiovulatus* can be differentiated from *G. sesquipedalis* by having 4.5–5.5 cm long, 2–2.5 cm wide, cylindrical monocarps with 2–4 hairy seeds per monocarp (Ast, 1938). Hou (2003) misidentified them (HITBC specimen No. 001927, 001928, 001929) as *Goniothalamus macrophyllus* (Bl.) Hook. f. et Thoms, which is distributed in Malaysia, Singapore, Indonesia, Thailand (Saunders, 2002; Saunders & Chalermglin, 2008; Turner, 2018). *G. macrophyllus* differs from *G. sesquipedalis* by having the leaves with a distinctive and diagnostically important ‘granular’ appearance abaxially because of immersion of tertiary and lower order veins (Saunders, 2002; Saunders & Chalermglin, 2008). *G. sesquipedalis* differs from *G. macrophyllus* in several important respects; the leaves of *G. sesquipedalis* with secondary venation very prominent adaxially and forming intramarginal vein, tertiary venation prominent and reticulate, whereas the leaves of *G. macrophyllus* with secondary venation ± plane to impressed adaxially and not forming intramarginal vein, tertiary venation unobscured (Saunders, 2002); *G. sesquipedalis* can also be distinguished from *G. macrophyllus* by having 3–5 mm (vs. 5–11.5 mm) long flowering pedicels; lanceolate, greenish-yellow (vs. ovate, orange-pink) outer petals when mature; ovate-lanceolate (vs. ovate), 15–18 mm (vs. 7–15 mm) long inner petals (Saunders, 2002; Saunders & Chalermglin, 2008).



A. Plant; B. Flowering branch (front view); C. Flowering branch (back view); D. Flower; E. Dissection of a flower (e1. Sepals; e2. Outer petals; e3. Inner petals; e4. Stamens and carpels; e5. Stamen; e6. Carpel); F. Immature fruits; G. Mature fruits; H. Longitudinal section of monocarps; I. Seeds. Photographed by YANG Bin from Xishuangbanna Tropical Botanical Garden (XTBG).

Plate I *Goniotalamus sesquipedalis* (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson

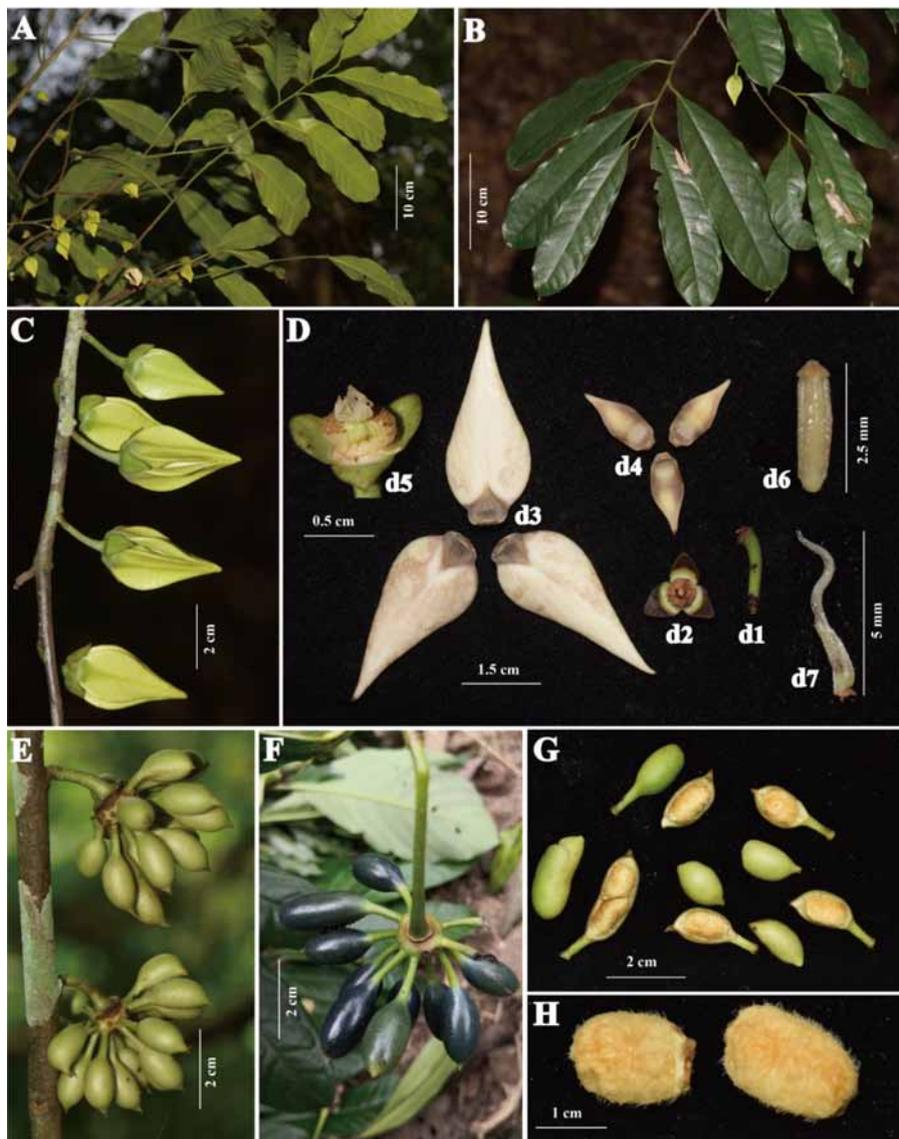
长梗哥纳香 新拟, 图版 II; 图版 III: B

Goniotalamus peduncularis King & Prain, J. Asiat. Soc. Bengal, Pt. 2, Nat. Hist. 67: 284, 1898. (Plate II; Plate III: B)

Type: Burma, Upper Burma, Kachin Hills,

Sima Road, 1 000 feet, 1897, *Shaik Mokim s. n.* (lectotype CAL [CAL000004500], designated by Turner, Gard. Bull. Singapore 70 (1): 523, 2018; isolectotype K [K000380823], Plate III: B).

Goniotalamus lii X. L. Hou & Y. M. Shui, Acta



A–B. Flowering branches; **C.** Flowers; **D.** Dissection of a flower (**d1.** Pedicel; **d2.** Sepals; **d3.** Outer petals; **d4.** Inner petals; **d5.** Flower stamens and carpels; **d6.** Stamen; **d7.** Carpel); **E.** Immature fruits; **F.** Mature fruits; **G.** Monocarps; **H.** Seeds. Photos: **A–E, G–H** photographed by YANG Bin from XTBG; **F** photographed by WANG Liyan from Yingjiang.

Plate II *Goniothalamus peduncularis* King & Prain

Bot. Yunnan., 25(3): 258, 2003. **Syn. nov.** Type: China (中国). Yunnan (云南): Yingjiang County (盈江县), Xima Township (昔马乡), Nabangba (那邦坝), 300 m, 7 November 1974, Tao Guoda (陶国达) 013254 (holotype, KUN1263140, Plate III: C; isotype, HITBC [specimen No. 001921, barcode 0040594!])

Shrubs, to 4 m tall. Young branches glabrous. Leaf laminae oblong, elliptic-oblong to oblanceolate-oblong,

15–23 cm long, 4.4–7 cm wide, apex acuminate, base cuneate, thinly papery, glabrous abaxially and adaxially; midrib raised abaxially, impressed adaxially; secondary veins 10–16 pairs, interarching 3–7 mm from recurved margin, impressed adaxially, raised abaxially; tertiary veins reticulate, raised abaxially, unobscured adaxially; petioles 8–13 mm long, with shallow furrows adaxially, glabrous, black when dry. Inflorescence often solitary, sometimes 2-flowered,



A. Isotype of *Goniothalamus sesquipedalis* (Colebr. ex Wall.) Hook. f. & Thomson; B. Isotype of *G. peduncularis* King & Prain; C. Holotype of *G. lii* X. L. Hou & Y. M. Shui [C1. Flowers voucher specimen (HITBC0040546)]; D. Isotype of *G. yunnanensis* W. T. Wang.

Plate III Type specimens and voucher specimen in the protologue of four species of *Goniothalamus*

axillary, often on the main trunk (cauliflory) and rarely on older branches (ramiflory); peduncle degenerate, 1–2 mm long; flowering pedicels 9–15 mm long; pedicel bracts 2–4, 1–2 mm long, ca. 1 mm wide.

Sepals 3, ovate, 5–7 mm long, 3–6 mm wide, basally connate, apex acute to obtuse, sparsely puberulent abaxially, conspicuous puberulent along margin, puberulent adaxially, yellowish-green. Outer petals 3,

25–37 mm long, 12–16 mm wide when fresh, 24–34 mm long, 9–12 mm wide when dry, ovate to ovate-lanceolate, puberulent abaxially and adaxially, often yellowish-green, grey white when mature. Inner petals 3, shortly clawed and free in lower part, cohering and forming an ovate-attenuate to ovate-acuminate cone at apex, 13–15 mm long, 5–6 mm wide when fresh, 12–14 mm long, 4–5 mm wide when dry, ovate-lanceolate to oblong-lanceolate, puberulous abaxially and adaxially, densely in upper part, greenish yellow, base obtuse to a 2–3 mm claw, apex attenuate to acuminate. Stamens ca. 100 per flower, 2.5 mm long; connectives slightly apiculate, sometimes hemispherical when dry, yellowish brown pubescent. Carpels 20–30 per flower, ovary ca. 2 mm long, greenish-yellow, white pubescent; stigma and style 2–3 mm long. Immature fruits green, mature fruits deep blackish blue; fruiting pedicels 1.2–1.5(–4.8) cm long. Monocarps 4–25, 1–2 seeded per monocarp, fresh monocarps 17–25 mm long, 8–9 mm wide, ellipsoid to ellipsoid-oblong, base rounded, apex rounded with a small tip, sub-glabrous to sparsely puberulent, pericarp ca. 1 mm thick when fresh, stipes 5–12 mm long. Seeds 10–13 mm long, 6.5–8 mm wide, ellipsoid, testa with white puberulous hairs outside, yellowish brown when immature, endosperm ruminations lamellate.

Distribution: China (Yunnan: Yingjiang, Cangyuan, Menghai) (new record); Myanmar (Kress et al., 2003; Turner, 2015, 2018).

Additional specimens examined: China (中国). Yunnan (云南): Yingjiang County (盈江县), Xima Township (昔马乡), Nabangba (那邦坝), 300 m, 10 December 1978, Tao Guoda (陶国达) 17895 (specimen No. 002077 [barcode, HITBC0040544!]); Menghai County (勐海县), Mengman Town (勐满镇), 995 m, 22°9'25.23" N, 100°5'34.29" E, 28 June 2021, Zhou Shishun (周仕顺) 19431 (HITBC); 909 m, 22°10'50.79" N, 100°4'32.98" E, 29 June 2021, Zhou Shishun (周仕顺) 19474 (HITBC); Cangyuan County (沧源县), Banhong Township (班洪乡), Fabaomanguhe (法保芒库河) 700 m, 30 May 1974, Li Yanhui (李延辉) 11770 (specimen No. 001923 [barcode, HITBC0040547!]), specimen No. 001925

[barcode, HITBC0040545!]); 780–800 m, 2 June 1974, Li Yanhui (李延辉) 11873 (specimen No. 001926 [barcode, HITBC0040546!]), Plate III: C1); Banlao Township (班老乡), Shangbanlao (上班老) 900 m, 21 May 1975, Li Yanhui (李延辉) 20975 (specimen No. 001922 [barcode, HITBC0040548!]); Yingjiang County (盈江县), Longmen (陇门), voucher from a cultivated plant at the Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, 21 April 2021, Xiao Wenqiang (肖文强), C400663 (HITBC0031632!); 6 May 2019, Sheng Caiyu (盛才余), C400846 (HITBC0031129!); 26 May 2020, Yang Bin (杨斌) & Xiao Chunfen (肖春芬), XTBC0128 (HITBC).

Notes: *Goniothalamus lii* X. L. Hou & Y. M. Shui was characterized by its oblong or oblong-lanceolate leaf blades with (10–)13–21 pairs of lateral veins, pedicels 9–13 mm long, sepals ca. 5 × 4 mm, outer petals 2.5 × 1.3 cm, the stamens with hemispherical connectives, sometimes with densely brownish puberulent (Hou & Shui, 2003), all these characters are consistent with *G. peduncularis*. Moreover, examination of relevant type materials of *G. lii* and observations on living plants of *G. peduncularis* introduced from Yingjiang County show that both species share the linear style and ellipsoid monocarps. Therefore, *G. lii* is considered as conspecific with *G. peduncularis*, and we propose it as a synonym with the latter in this study. In *Flora of China*, Li & Gilbert (2011) synonymized *G. lii* with *G. yunnanensis* W. T. Wang (Plate III: D) (Wu & Wang, 1957) without further explanation. We do not agree with that treatment, however. As Hou & Shui (2003) mentioned in the protologue of *G. lii*, it is morphologically similar to *G. yunnanensis*, but clearly differs by having 10–21 (vs. 7–9) pairs of lateral veins and pedicels 9–13 mm (vs. ca. 4 mm) long. Moreover, based on our observations of living plants, the distinction between these two species is obvious on many other characters. *G. lii* (here as *G. peduncularis*) has grey white outer petals when mature (Plate II: d3), styles linear (Plate II: d7), monocarp stipes 5–12 mm long (Plate II: E, F, G), and monocarps deep blackish blue when mature (Plate II: F); whereas *G. yunnanensis* has reddish brown outer petals when mature, styles

stick shape (Jiang & Li, 1979), and monocarp stipes very short, less than 2 mm, and monocarps orange red to dark red when mature.

Acknowledgement We are grateful to Mr. WANG Yuan for providing the specimens image and Prof. ZHU Xiangyun for useful discussion.

References:

- AST MS, 1938. Identité de deux espèces d'Anonacées: *Oxymitra gabriaciana* Baillon et *Goniothalamus saïgonensis* Pierre mss ex Finet et Gagnepain. Espèces nouvelles d'Indo-Chine [J]. Bull Soc Bot France, 85(1): 50-53.
- GRIERSON AJC, 1984. Annonaceae [M]//GRIERSON AJC, LONG DG. Flora of Bhutan: Vol. 1. Part 2. Edinburgh: Royal Botanical Gard: 237-244.
- HOU XL, 2003. Systematics of Annonaceae from China [D]. Guangzhou: South China Agricultural University: 1-215. [侯学良, 2003. 中国番荔枝科植物分类学研究 [D]. 广州: 华南农业大学: 1-215.]
- HOU XL, SHUI YM, 2003. A new species of *Goniothalamus* (Annonaceae) from China [J]. Acta Bot Yunnan, 25(3): 258-260. [侯学良, 税玉民, 2003. 中国哥纳香属(番荔枝科)—新种 [J]. 云南植物研究, 25(3): 258-260.]
- JIANG(TSIANG) Y, LI BT(PT), 1979. Annonaceae [M]//JIANG(TSIANG) Y, LI BT(PT). Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 30. Part 2. Beijing: Science Press: 10-175. [蒋英, 李秉滔. 番荔枝科 [M]// 蒋英, 李秉滔. 中国植物志: 第 30 卷第 2 分册. 北京: 科学出版社: 10-175.]
- KANG DH, LEE JH, ONG HG, et al., 2017. Seed plants of Natma Taung National Park, Myanmar [M]. Incheon: National Institute of Biological Resources (NIBR): 1-632.
- KARTHIKEYAN S, SANJAPPA M, MOORTHY S, 2009. Flowering plants of India: dicotyledons. Vol. 1 [M]. Kolkata: Botanical Survey of India: 1-366.
- KHANAM M, RAHMAN MM, 2002. Annonaceae [M]//KHAN MS, RAHMAN MM. Flora of Bangladesh. Dhaka: Bangladesh National Herbarium, 52: 1-53.
- KRESS WJ, DEFILIPPS RA, FARR E, et al., 2003. A checklist of the trees, shrubs, herbs, and climbers of Myanmar [J]. Contrib US Nat Herb, 45: 1-590.
- LI BT, GILBERT MG, 2011. *Goniothalamus* [M]//WU ZH, RAVEN PH, HONG DY. Flora of China: Vol. 19. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 684-687.
- NAKKUNTOD M, SU YCF, SEELANAN T, et al., 2009. Molecular phylogenetic and morphological evidence for the congeneric status of *Goniothalamus* and *Richella* (Annonaceae) [J]. Taxon, 58(1): 127-132.
- SAUNDERS RMK, 2002. The genus *Goniothalamus* (Annonaceae) in Sumatra [J]. Bot J Linn Soc, 139: 225-254.
- SAUNDERS RMK, CHALERMGLIN P, 2008. A synopsis of *Goniothalamus* species (Annonaceae) in Thailand, with description of three new species [J]. Bot J Linn Soc, 156: 355-384.
- THOMAS DC, TANG CC, SAUNDERS RMK, 2017. Historical biogeography of *Goniothalamus* and Annonaceae tribe Annonaceae: dispersal-vicariance patterns in tropical Asia and intercontinental tropical disjunctions revisited [J]. J Biogeogr, 44: 2862-2876.
- TURNER IM, 2014. *Goniothalamus* [M]//SOEPADMO E, SAW LG, CHUNG RCK, et al. Tree flora of Sabah and Sarawak: Vol. 8. Selangor: Forest Research Institute Malaysia Press: 42-70.
- TURNER IM, 2015. A conspectus of Indo-Burmese Annonaceae [J]. Nord J Bot, 33: 257-299.
- TURNER IM, 2018. Annonaceae of the Asia-Pacific region: names, types and distributions [J]. Gard Bull Singapore, 70(1): 409-744.
- WU ZY, WANG WC(WT), 1957. Preliminary report on the flora of tropical and subtropical areas in Yunnan I [J]. Acta Phytotax Sin, 6(2): 183-254. [吴征镒, 王文采, 1957. 云南热带亚热带地区植物区系研究的初步报告 I [J]. 植物分类学报, 6(2): 183-254.]

(责任编辑 李莉)

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202102023

李孟凯, 普布顿珠, 邢震, 等. 中国西藏兰科植物新资料 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1780–1785.

LI MK, PUBU DZ, XING Z, et al. Newly recorded species data of Orchidaceae from Tibet, China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1780–1785.

中国西藏兰科植物新资料

李孟凯¹, 普布顿珠², 邢震¹, 李惠玲³, 章漳³, 王伟^{1*}

(1. 西藏农牧学院 资源与环境学院, 西藏 林芝 860000; 2. 西藏自治区林业调查规划研究院, 拉萨 850000; 3. 伽蓝(集团)股份有限公司, 上海 200233)

摘要: 东喜马拉雅地区是全球生物多样性的热点区域, 西藏为其重要组成单元, 明确该地区本底植物资源及地理分布对区域植物区系研究有着重要意义。该文报道了笔者在西藏考察中发现的西藏兰科(Orchidaceae)植物 5 个新记录属, 即美柱兰属(*Callostylis* Blume)、异型兰属(*Chiloschista* Lindl.)、蛇舌兰属(*Diploprora* Hook. f.)、带叶兰属(*Taeniophyllum* Blume)和宽距兰属(*Yuania* Maxim.)。对应的 5 个新记录种, 即美柱兰(*Callostylis rigida* Bl.)、异型兰(*Chiloschista yunnanensis* Schlechter)、蛇舌兰 [*Diploprora championii* (Lindl.) Hook. f.]、毛蕊带叶兰(*Taeniophyllum retrospiculatum* King & Pantl.)和印度宽距兰(*Yuania prainii* King & Pantl.)。该文还附有新记录属、种的形态描述和特征图片。该研究结果进一步丰富了中国植物区系资料, 拓宽了西藏兰科植物的记录, 并对西藏及毗邻地区兰科植物多样性保护具有重要价值。

关键词: 兰科, 新记录属, 新记录种, 西藏, 地理分布

中图分类号: Q948.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2022)10-1780-06

Newly recorded species data of Orchidaceae from Tibet, China

LI Mengkai¹, Pubu Dunzhu², XING Zhen¹, LI Huiling³, ZHANG Zhang³, WANG Wei^{1*}

(1. Resources & Environment College, Tibet Agricultural and Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, Tibet, China; 2. Forestry Survey and Planning Research Institute of Tibet Autonomous Region, Lhasa 850000, China; 3. GALA (Group) Co., Ltd., Shanghai 200233, China)

Abstract: The Eastern Himalayan region is a hotspot of biodiversity in the world, and Tibet of China is an important region of it. It is of great significance to clarify the background plant resources and geographical distribution in this region for the study of regional flora. Five newly recorded genera, namely *Callostylis* Blume, *Chiloschista* Lindl., *Diploprora* Hook. f., *Taeniophyllum* Blume and *Yuania* Maxim., are reported from Tibet Autonomous Region, China. The five newly recorded species are *Callostylis rigida* Bl., *Chiloschista yunnanensis* Schlechter, *Diploprora championii* (Lindl.) Hook. f., *Taeniophyllum retrospiculatum* King & Pantl. and *Yuania prainii* King & Pantl. Morphological descriptions and characteristic pictures of the newly recorded genera and species are also attached. The results of this study further enrich

收稿日期: 2021-08-27

基金项目: 国家自然科学基金(42067036); 西藏农牧学院林学创新团队项目(藏财预指 2020-11-07) [Supported by National Natural Science Foundation of China (42067036); Forestry Innovation Team Construction Project of Tibet Agricultural and Animal Husbandry University (2020-11-07)].

第一作者: 李孟凯(1997-), 研究方向为兰科植物分类, (E-mail)571778219@qq.com.

*通信作者: 王伟, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为植物资源开发与保护, (E-mail)xzwangwei@xza.edu.cn.

the flora data of China, broaden the records of orchids in Tibet, and have important value for the diversity and conservation of orchids in Tibet and adjacent areas.

Key words: Orchidaceae, newly recorded genus, newly recorded species, Tibet, geographical distribution

东喜马拉雅地区是全球生物多样性的热点区域(Myers et al., 2000),独特的自然地理特征及复杂的气候类型使得该区域成为植物资源宝库,兰科植物因其在植物系统进化中独特的研究价值而备受科研工作者关注(Vermeulen et al., 2014)。青藏高原东南部与南部由于巨大的海拔高差及水汽条件,因此附生兰科植物极为丰富(王喜龙等, 2018c)。受交通等客观条件制约,我国西藏兰科植物资源调查较为滞后,《西藏植物志》记录西藏兰科植物有 64 属 193 种(变种)(吴征镒, 1987)。近年来,越来越多的新种和新记录种在喜马拉雅地区不断被发现,西藏兰科植物种类记录已近 400 种(王喜龙等, 2018b)。其中,包含大量新种和新记录种,如格当石豆兰(*Bulbophyllum gedangense*) (Luo et al., 2020)、林芝石豆兰(*B. linzhiense*) (Ma & Chen et al., 2020)、短耳鸢尾兰(*Oberonia falconeri*)、长苞苹兰(*Pinalia obvia*) (弓莉等, 2019)、球花石豆兰(*Bulbophyllum repens*)、云南盆距兰(*Gastrochilus yunnanensis*) (刘成等, 2020)等;新记录属也屡见报道,如线柱兰属(*Zeuxine* Lindl.)、槽舌兰属(*Holcoglossum* Schltr.) (王喜龙等, 2018a)、密花兰属(*Diglyphosa* Blume) (刘成等, 2020)。这些新记录的发现不仅对喜马拉雅兰科植物的区系与进化具有重要意义,而且在一定程度上说明西藏兰科植物资源有待进一步调查。

2020 年 4—8 月,西藏农牧学院、西藏自治区林业调查规划研究院相关科研人员在西藏自治区墨脱县和定结县进行了野生兰科植物资源调查。在查阅资料的基础上(King & Pantling, 1898;中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999),对所采集的标本进行了整理与鉴定,发现西藏兰科植物 5 个新记录属,即美柱兰属(*Callostylis* Blume)、异型兰属(*Chiloschista* Lindl.)、蛇舌兰属(*Diploprora* Hook. f.)、带叶兰属(*Taeniophyllum* Blume)和宽距兰属(*Yoania* Maxim.)。美柱兰属植物分布南起印度尼西亚爪哇,北至喜马拉雅地区,全属仅 2 种(Zhou et al., 2016);异型兰属植物主要分布于澳大利亚经东南亚至印度一带,《Flora of China》记载全属约 10 种,我国分布 3 种(Zhou et al., 2016);蛇舌兰在我国南部至南亚一带广泛分布,全属仅 2 种,我国分布 1 种

(Zhou et al., 2016);带叶兰属植物地理分布范围较广,非洲经大洋洲至亚洲均有,北至日本,全属 120~180 种,中国有 4 种(Zhou et al., 2016;徐志辉和蒋宏, 2010);宽距兰属植物分布于越南至日本等,全属为 4 种(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999)。本次发现的 5 个新记录种分别为美柱兰(*Callostylis rigida* Bl.)、异型兰(*Chiloschista yunnanensis* Schlechter)、蛇舌兰 [*Diploprora championii* (Lindl.) Hook. f.]、毛萼葶带叶兰(*Taeniophyllum retrospiculatum* King & Pantl.)和印度宽距兰(*Yoania prainii* King & Pantl.),现予以报道。凭证标本保存于西藏农牧学院标本馆(TAAHUC!)

1 美柱兰属 (*Callostylis* Blume)

美柱兰属由 Blume 建立于 1825 年,共有 2 种,中国皆有分布,分别为美柱兰(*Callostylis rigida*)和竹叶美柱兰(*C. bambusifolia*),均分布于云南(Zhou et al., 2016)。本属植物均为附生草本,假鳞茎圆柱形具许多节间,基部被鞘;叶片 2~5 枚;总状花序顶生或在茎上部侧生,通常 2~4 个,具数朵花;萼片与花瓣离生,两面被毛,侧萼片基部不形成萼囊;花瓣小,唇瓣基部具活动关节与蕊柱足连接;蕊柱向前弯,呈钩状或直角,蕊柱足上具肉质的胼胝体;花粉团 8 个,形状大小均相等(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999)。

美柱兰 图版 I: A-C

Callostylis rigida Bl., Bijdr. 6: t. 4, fig. 74, et 7: 341. 1825; Lindl., Gen. Sp. Orch. Pl.: 129. 1830.

本种植物根状茎匍匐,粗 4~8 mm,每个节间具有硬质筒状鞘,长 1~1.5 cm;假鳞茎长梭形,长约 15 cm,具 4~5 枚叶,叶革质;花序 2~4 个,具 10 余朵花,花序梗长 2.5~3.5 mm,花整体被棕色绒毛,花苞片宽卵形,长 3~4 mm,花棕黄色;中萼片卵圆形,先端钝,长 8~10 mm,宽约 4 mm;侧萼片较中萼片稍短而宽,亦为卵圆形;花瓣狭椭圆形,长 7~8 mm,宽约 4 mm;唇瓣卵形,红棕色,长 3.5~4 mm,宽约 3 mm;蕊柱呈直角弯曲,蕊柱足上的胼胝体暗紫色;花期 5—6 月。

美柱兰于 2004 年被《中国物种红色名录》列为易危(VU)物种(汪松和解焱, 2004),其与竹叶

美柱兰有差别,主要在于前者假鳞茎长梭状,唇瓣长约4 mm,而后者假鳞茎圆柱形,唇瓣长约10 mm,两者易区别。

凭证标本:中国西藏墨脱县背崩乡,海拔850 m,附生于树干上,李孟凯等2020089(TAAHUC!)。模式标本产自印度尼西亚爪哇。

分布:产于中国云南、印度、缅甸、越南等地也有分布。本种为中国西藏新记录种。

2 异型兰属 (*Chiloschista* Lindl.)

异型兰属由Lindley于1832年建立,全属约10种,中国有5种,分别为异型兰(*Chiloschista yunnanensis*)、广东异型兰(*C. guangdongensis*)、台湾异型兰(*C. segawae*)、宽囊异型兰(*C. parishii*) (Zhou et al., 2016; 刘定坤等, 2021)和白花异型兰(*C. exuperei*) (杨正斌等, 2016)。本属植物为附生草本,通常无茎,无绿叶,具多数长且扁平的根;花序常下垂,总状花序具多数花,有毛或无毛;萼片和花瓣近等长,通常贴生于蕊柱足;唇瓣爪形、3裂,侧裂片直立、较大,中裂片短小;蕊柱很短;药帽具刚毛;花粉团4个(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999)。

异型兰 图版 I: D-F

Chiloschista yunnanensis Schltr. in Fedde Repert. Sp. Nov. Beih. 4: 74, 275. 1919.

本种植物为附生草本,无明显的茎,花期无叶;花序1~3个,下垂,密被柔毛,长20~30 cm;花序疏生多数花;花序柄基部被数枚鳞片状鞘;花苞片卵状披针形,长3~4 mm,先端短急尖,背面生短刚毛;花梗和子房长约4 mm,密被短柔毛;花质地厚,萼片和花瓣棕色或淡褐色,背面密布短毛;中萼片卵圆形,长5~6 mm,宽4~5 mm,先端钝;侧萼片卵状椭圆形,与中萼片等大;花瓣近长圆形,等长于萼片而稍窄,多数向后翻折;唇瓣黄色,3裂;侧裂片直立,狭长圆形,较大,长约4 mm,先端圆形,边缘具淡棕色斑点,内面具红色条纹;中裂片很短,先端钝并具凹槽;蕊柱白色,很短;蕊柱足长约4 mm,具2条棕色条纹;药帽浅白色,两侧各具1个附属物;花期3—5月;果期7月。

在《中国物种红色名录》(汪松等, 2004)中,云南异型兰被列为易危(VU)。本种在植株形态上与广东异型兰极为相近,区别在于本种萼片和花瓣背面被毛,唇瓣中裂片比侧裂片短,而广东异型兰萼片和花瓣背面无毛,唇瓣中裂片长于侧裂

片,两者在花期极易区分。

凭证标本:中国西藏墨脱县格当乡,海拔1470 m,附生于树干上,李孟凯等2020577(TAAHUC!)。模式标本产自中国云南思茅。

分布:产于中国云南、四川,本种在中国西藏首次记录。

3 蛇舌兰属 (*Diploprora* Hook. f.)

蛇舌兰属由Hooker建立于1890年,共2种,中国分布1种,为蛇舌兰(*Diploprora championii*),分布于我国云南南部至台湾一带(Zhou et al., 2016)。本属植物为附生草本;茎下垂,圆柱状或稍扁平,具许多节;叶片狭卵形到镰刀状披针形,先端具2~3尖裂,基部具鞘;总状花序侧生,疏生很少花;萼片与花瓣相似,离生,背面具龙骨状突起;唇瓣位于上方,舟形,尾状2裂,基部无距;蕊柱短,无蕊柱足,花粉团4个,近球形(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999)。

蛇舌兰 图版 I: G

Diploprora championii (Lindl.) Hook. f., Fl. Brit. Ind. 6: 26. 1890, et in Hook., Icon. Pl. 2: t. 2120. 1892.

本种植物茎下垂,3~16 cm,粗4 mm,质地硬,通常不分叉;叶近革质,无柄,镰状披针形或斜长圆形,长5~11 cm,宽1.6~2.7 cm,先端具2~3个齿;花序疏生4~6朵花,花黄白色;花苞片卵状三角形,长3~4 mm,先端锐尖;萼片长圆形,长约9 mm,宽4 mm,先端钝,背面具龙骨状突起;花瓣长卵形,唇瓣呈舟形,无距,长约10 mm,宽约4 mm,稍3裂;侧裂片直立,近方形;中裂片较长,向先端骤然收狭且叉状2裂,其裂片呈蛇舌状,上面中央具1条肥厚的突起;蕊柱长约3 mm,无蕊柱足;花期6—7月;果期8—10月。

野外采集标本时,本种未在花期,引种至西藏农牧学院兰科中心后开花,经学校专家鉴定为蛇舌兰(*Diploprora championii*)。在《中国物种红色名录》(汪松和解焱, 2004)中,蛇舌兰属于近危(NT),种群受威胁程度不大。

凭证标本:西藏墨脱县德兴乡,海拔850 m,附生于树干上,李孟凯等2020135(TAAHUC!)。模式标本产自香港。

分布:产于中国福建、香港、台湾、海南、广西、云南等地,印度(锡金)、缅甸、泰国、越南也有分布。中国西藏分布新记录。



A-C. 美柱兰；D-F. 异型兰；G. 蛇舌兰；H-J. 毛蕊带叶兰；K-M. 印度宽距兰。

A-C. *Callostylis rigida*; D-F. *Chiloschista yunnanensis*; G. *Diploprora championii*; H-J. *Taeniophyllum retrospiculatum*; K-M. *Yoania prainii*.

图版 I 西藏兰科植物 5 新记录(属)种照片

Plate I Photographs of five newly recorded (genera) species of Orchidaceae in Tibet

4 带叶兰属 (*Taeniophyllum* Blume)

带叶兰属由 Blume 建立于 1825 年,共 120~180 种,中国有 4 种,分别为兜唇带叶兰 (*Taeniophyllum pusillum*)、带叶兰 (*T. glandulosum*)、扁根带叶兰 (*T. complanatum*) (Zhou et al., 2016) 和毛蕊带叶兰 (*T. retrospiculatum*),其中毛蕊带叶兰收录于云南野生兰花 (徐志辉和蒋宏, 2010)。本属植物为小型或微型附生草本植物;茎短,无绿叶,气生根长而伸展;总状花序具 1~4 朵花,花序轴短;花苞片宿存,有时长于子房,二列或多列互生;花小,花期短,花苞片宿存;萼片和花瓣离生或中部以下合生成筒;唇瓣不裂或 3 裂,基部具距,先端有时具倒向的针刺状附属物,距内无附属物;蕊柱粗短,无蕊柱足;药帽前端伸长而收狭;花粉团 4 个 (中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999)。

毛蕊带叶兰 图版 I: H-J

Taeniophyllum retrospiculatum (King & Pantl.)

King & Pantl., Ann. Roy. Bot. Gard. (Calcutta) 8: 244, 1898.

本种植物为附生植物,植株个体很小,无茎,根大而扁平;总状花序 1~4 个,长 2~4 cm,花序轴具短柔毛;花苞片急尖,长 0.7~0.9 mm,花黄绿色,很小,萼片和花瓣在中部以下合成筒状;中萼片及侧萼片等长,卵状披针形,具 1 条脉,长 2~2.3 mm,宽 0.6~0.7 mm;花瓣披针形,具 1 条脉,长 2.3 mm,宽 0.5 mm;唇瓣线状,长 1.8~2 mm,宽 0.7 mm,先端渐尖,在基部形成囊状;花粉 4 对,白色;花期 7—8 月 (Gogoi et al., 2014)。

根据 IUCN 物种红色名录濒危等级和评价标准 (IUCN, 2012),本种在西藏的分布地点少于 5 个,应被列为濒危 (EN)。本种与带叶兰 (*Taeniophyllum glandulosum*) 的区别在于前者唇瓣倒钩的针刺附属

物不明显,容易与后者区分。

凭证标本:中国西藏定结县陈塘镇,海拔2 300 m,附生于树干上,李孟凯等 2020355 (TAAHUC!)。模式标本产自印度东北部(锡金)。

分布:产于中国云南,印度(锡金、阿萨姆)、尼泊尔、老挝、泰国和缅甸也有分布(Zhou et al., 2016)。本种为中国西藏首次记录。

5 宽距兰属 (*Yoania* Maxim.)

宽距兰属由 Maxim 建立于 1872 年,全属有 4 种,我国分布 3 种,分别为宽距兰 (*Yoania japonica*)、密鳞宽距兰 (*Y. amagiensis* var. *squamosa*) (Zhou et al., 2016) 和印度宽距兰 (*Y. prainii*)。本属植物为腐生植物,具有肉质根状茎,根状茎具分枝;茎肉质,直立,具鞘;总状花序顶生,具 3~10 朵花;花大,肉质;萼片与花瓣离生,唇瓣凹为舟形,基部有爪,在唇瓣前部与唇瓣平行处有 1 个宽阔的距;蕊柱宽阔直立;花粉团 4 个,具 1 个黏盘。

印度宽距兰 图版 I: K-M

Yoania prainii King & Pantling (1891: 175).
Type: INDIA. Sikkim; Choongthang [Chungthang], 6 000 ft, July 1897, Pantling 469.

本种植物为腐生草本,高 10~20 cm;根状茎分枝,无绿叶;茎直立,基部具数枚褐色鞘;总状花序具 3~5 朵花;花苞片卵形,长 6 mm;萼片等长,白色带紫色条纹,长卵形或宽卵形,长约 2 cm,宽约 1 cm;花瓣宽卵形,长约 2 cm,宽约 1.5 cm;唇瓣凹成舟形,长约 2 cm,宽约 1 cm,具紫色斑块,基部具爪,在唇瓣前部平行的位置有宽阔的距;蕊柱白色,具 4 个花药,花药淡黄色;花期 7—8 月 (Schuiteman et al., 2017)。

本种之前在我国仅记载于云南省大围山保护区(吴松和许太琴,2019),且只有 1 个居群,如今在西藏也仅发现 1 个居群,说明本种在中国分布数量极少,对生长条件要求极为严苛。按照 IUCN 物种红色名录濒危等级和评价标准(IUCN, 2012)划分,印度宽距兰在中国应被列为极危(CR)。本种形态与宽距兰近似,不同之处在于本种花白色带红色条纹,唇瓣上的距较后者宽,易于区分。

凭证标本:中国西藏定结县陈塘镇,海拔2 700 m,腐生于竹林下,李孟凯等 2020390 (TAAHUC!)

分布:产于中国云南,印度(锡金)、尼泊尔、越南也有分布。中国西藏分布新记录。

6 讨论与结论

喜马拉雅南麓为西藏兰科植物的主要分布地,本次发现的 5 个新记录种(分属 5 个新记录属)也均分布于喜马拉雅南麓。美柱兰记录生于海拔 600~1 700 m 的混交林中(中国科学院中国植物志编辑委员会,1999),本次发现于雅鲁藏布江河谷墨脱县德兴乡至背崩乡段海拔 700~900 m 处的林冠上层乔木树干上,常与石斛(*Dendrobium nobile* Lindl.)、球花石斛(*D. thyrsiflorum*)、茎花石豆兰(*Bulbophyllum cauliflorum*)等附生兰花伴生。异型兰记录生于海拔 700~2 000 m 的山地林缘或疏林中树干上(陈心启等,1999),本次发现于墨脱县格当乡海拔 1 470 m 处的低矮乔木林中的树干上,分布区域极窄,四周伴生有小尖囊蝴蝶兰(*Phalaenopsis taenialis*)等附生兰科植物。蛇舌兰记录生于海拔 250~1 450 m 的山地林中树干上或沟谷岩石上(中国科学院中国植物志编辑委员会,1999),本次发现于雅鲁藏布江河谷德兴乡附近海拔 850 m 处的尼泊尔栲木林中,周围仅见其 1 种兰科植物居群。毛茛带叶兰记录生于附生于树干上,相关生境信息未见报道(Gogoi et al., 2014),本次发现于西藏定结县陈塘镇,与藓叶卷瓣兰(*Bulbophyllum retusiusculum*)、短齿石豆兰(*B. griffithii*)共同附生于海拔 2 300 m 处林缘杜鹃属植物的树干上。印度宽距兰记录腐生于海拔 1 300~1 500 m 的潮湿原始林下(Schuiteman & Averyanov, 2017),在我国见于海拔 2 000 m 处的常绿阔叶下苔藓中,本次发现于定结县陈塘镇海拔 2 700 m 处的竹林下,共同伴生的还有西南尖药兰(*Diphylax uniformis*)。

本研究中西藏 5 个兰科植物新记录属的发现,不仅丰富了西藏本土兰科植物的基础资料,而且对中国区系内的兰科植物多样性保护具有重要的参考价值。美柱兰属植物在我国之前仅报道于云南,本次报道发现于西藏墨脱,表明该属植物从模式产地到云南为连续分布;异型兰属植物在我国分布于广东、四川、云南与台湾等地,异型兰仅报道于四川和云南,本次发现于西藏墨脱县格当乡,为我国的新分布点;蛇舌兰属植物分布于我国南部,本研究拓宽了其在我国长江以南的分布范围;带叶兰属植物广泛分布于我国长江以南地区;毛茛带叶兰在我国仅记载于云南,本次发现地为西藏定结县陈塘镇,与国外报道于尼泊尔、印度锡金

邦等地理位置与生境相近(Gogoi et al., 2014),更接近模式产地,为今后标本及物种鉴定提供借鉴;宽距兰属报道于我国南部部分省份(福建、江西、湖南、云南等),本次发现于西藏定结县陈塘镇的竹林下沼泽中,意味着该属植物在我国南部可能存在广泛分布。因此,西藏的兰科植物资源不仅与印度东北部、中国云南等毗邻地区有着紧密的联系,而且与我国的南方及华南地区的兰科植物也可能有着一定的关联,在今后西藏兰科植物区系研究中应予以重视。

致谢 感谢中国科学院西双版纳热带植物园邓建平老师、信阳师范学院朱鑫鑫老师协助野外调查并提供相关物种图片,谨致谢意!

参考文献:

CHASE MW, CAMERON KM, FREUDENSTEIN JV, et al., 2015. An updated classification of Orchidaceae [J]. Bot J Linn Soc, 177(2): 151-174.

Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences, 1999. Flora Republicae Popularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press, 19: 45-347. [中国科学院中国植物志编辑委员会, 1999. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 19: 45-347.]

GOGOI K, YONAONE R, DAS R, 2014. *Taeniophyllum retrospiculatum* (King & Pantling) King & Pantling [Orchidaceae] — A new record for the flora of Assam, India [J]. Environ Ecol, 32 (1A): 321-324.

GONG L, LUO J, LIN L, 2019. New records of the distribution of Orchidaceae in Tibet, China [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 39(7): 1325-1328. [弓莉, 罗建, 林玲, 2019. 西藏兰科植物分布新记录 [J]. 西北植物学报, 39(7): 1325-1328.]

IUCN, 2012. IUCN red list categories and criteria: Version 3.1 [M]. 2nd ed. UK: Gland, Switzerland and Cambridge: 21-23.

KING G, PANTLING R, 1898. The orchids of Sikkim-Himalaya Vol VIII. Dehra Dun: Bishen Singh Mahendra Pal Singh, 8: 1-342.

LIU C, YA JD, GUO YJ, et al., 2020. Newly recorded species of seed plants from Xizang, China [J]. Biodivers Sci, 28(10): 1238-1245. [刘成, 亚吉东, 郭永杰, 等, 2020. 西藏种子植物分布新资料 [J]. 生物多样性, 28(10): 1238-1245.]

LIU DK, MA L, CHEN SP, et al., 2021. *Chiloschista parishii* Seidenf. (Orchidaceae), a new record to mainland of China [J]. J Trop Subtrop Bot, 29(2): 149-150. [刘定坤, 马良, 陈世品, 等, 2021. 宽囊异型兰, 中国大陆兰科一新记录种 [J]. 热带亚热带植物学报, 29(2): 149-150.]

LUO Y, DENG JP, PENG YL, et al., 2020. *Bulbophyllum gedangense* (Orchidaceae, Epidendroideae, Malaxideae), a

new species from Tibet, China [J]. Phytotaxa, 453(2): 145-150.

MA L, ZHANG S, ZHOU Z, et al., 2020. *Bulbophyllum linzhiense* (Orchidaceae, Malaxideae), a new species from China. Phytotaxa, 429: 281-288.

MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, et al., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities [J]. Nature, 403: 8453-8858.

SCHUITEMAN A, AVERYNOV LV, 2017. Systematics of *Yuania prainii* (Orchidaceae: Calypsoinae) [J]. Phytotaxa, 309(3): 288-290.

VERMEULEN JJ, SCHUITEMAN A, DE VOGEL EF, 2014. Nomenclatural changes in *Bulbophyllum* (Orchidaceae; Epidendroideae) [J]. Phytotaxa, 166(2): 101-113.

WANG XL, LI JW, WANG CW, et al., 2018a. New information of orchids in Tibet, China [J]. Guihaia, 38(11): 1440-1445. [王喜龙, 李剑武, 王程旺, 等, 2018a. 中国西藏兰科植物新资料 [J]. 广西植物, 38(11): 1440-1445.]

WANG XL, TU YL, ZHU RJ, et al., 2018b. Checklist and revision of Orchidaceae in Tibet [J]. J Agric, 8(3): 78-86. [王喜龙, 土艳丽, 朱荣杰, 等, 2018b. 西藏野生兰科植物名录整理和修订 [J]. 农学学报, 8(3): 78-86.]

WANG XL, TU YL, WEN XM, et al., 2018c. Diversity and altitudinal distribution patterns of orchids in Southeastern of Tibet [J]. J Cent S Univ, 38(12): 45-51. [王喜龙, 土艳丽, 文雪梅, 等, 2018c. 藏东南兰科植物多样性及其沿海海拔梯度的分布格局 [J]. 中南林业科技大学学报, 38(12): 45-51.]

WANG S, XIE Y, 2004. China species red list [M]. Beijing: Higher Education Press, 1: 420-467. [汪松, 解焱, 2004. 中国物种红色名录 [M]. 高等教育出版社, 1: 420-467.]

WU S, XU TQ, 2019. Yunnan ecological yearbook [M]. Dehong: Dehong Nationalities Publishing House. [吴松, 许太琴, 2019. 云南生态年鉴 [M]. 德宏: 德宏民族出版社.]

WU ZY, 1987. Flora of Tibet [M]. Beijing: Science Press, 5: 648-870. [吴征镒, 1987. 西藏植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 5: 648-870.]

XU ZH, JIANG H, 2010. The wild orchids in Yunnan [M]. Kunming: Yunnan Science & Technology Press: 422. [徐志辉, 蒋宏, 2010. 云南野生兰花 [M]. 昆明: 云南科技出版社: 422.]

YANG ZB, YU DL, LI JW, et al., 2016. *Chiloschista exuperei*, a new orchid addition to China from Yunnan [J]. Guihaia, 36(5): 629-631. [杨正斌, 余东莉, 李剑武, 等, 2016. 中国兰科异型兰属一新记录种——白花异型兰 [J]. 广西植物, 36(5): 629-631.]

ZHOU XX, CHENG ZQ, LIU QX, et al., 2016. An updated checklist of Orchidaceae for China, with two new national records [J]. Phytotaxa, 276: 1-148.

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202109064

张旭, 周海艺, 徐畅隆, 等. 绿绒蒿属—中国新记录种——尼东绿绒蒿 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1786–1790.
ZHANG X, ZHOU HY, XU CL, et al. *Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay (*Meconopsis* Viguier), a new record to China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1786–1790.



绿绒蒿属—中国新记录种——尼东绿绒蒿

张旭, 周海艺, 徐畅隆, 徐波*

(西南林业大学 林学院, 昆明 650224)

摘要: 中国西藏植物多样性较为丰富, 尽管已经进行了多次的植物多样性调查, 但仍存在较严重的不均衡现象, 部分地区和类群存在采集不足, 甚至空白。我们针对西藏日喀则植物多样性调查薄弱区域开展调查, 发现一个未记录的绿绒蒿属 (*Meconopsis* Viguier) 植物, 采集了标本和种子。经查阅《西藏植物志》《中国植物志》、*Flora of China*、*Flora of Nepal* 鉴定为尼东绿绒蒿 (*M. dhwojii* G. Taylor ex Hay)。该文植物新资料报道如下: (1) 尼东绿绒蒿形态描述及其彩色图片。(2) 该植物种子微形态、与近似种间的形态差异。新发现丰富了中国绿绒蒿属植物多样性, 对研究西藏乃至中国绿绒蒿属植物具有一定的生物地理学意义和潜在的园艺价值。绿绒蒿属分类须加强野外调研, 多技术手段开展研究。

关键词: 绿绒蒿属, 尼东绿绒蒿, 新资料, 种子微形态

中图分类号: Q949.748.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1786-05

Meconopsis dhwojii G. Taylor ex Hay (*Meconopsis* Viguier), a new record to China

ZHANG Xu, ZHOU Haiyi, XU Changlong, XU Bo*

(College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: Tibet of China is relatively rich in plant diversity, although several plant diversity surveys have been conducted, there are still serious imbalances, and some areas and taxa are under-collected or even some gaps. In order to fill the survey gaps, fieldwork was carried out to target areas of weakness in plant diversity surveys in Xigaze. We found an unrecorded plant of the genus *Meconopsis* Viguier, collected specimens and seeds. After consulting *Flora Xizangica*, *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, *Flora of China*, *Flora of Nepal*, it was identified as *M. dhwojii* G. Taylor ex Hay. The new information is reported as follows: (1) Descriptions and photographs are provided. (2) Seed micromorphology and morphological differences between closely related species also are provided. The new discovery enriches the diversity and also provides new research information for the genus *Meconopsis* Viguier in China, which has some biogeographical significance and potential horticultural value for the study of *Meconopsis* Viguier in Tibet and even in China. There is a long way to go in researching the genus *Meconopsis* Viguier. We should strengthen field research and carry out research by multi-technical means in the future.

Key words: *Meconopsis* Viguier, *M. dhwojii*, new discovery, seed micromorphology

收稿日期: 2022-01-28

基金项目: 国家自然科学基金(32060054) [Supported by National Natural Science Foundation of China (32060054)].

第一作者: 张旭(1994-), 硕士研究生, 主要从事高山植物多样性研究, (E-mail) zhangxu_plant@163.com。

*通信作者: 徐波, 博士, 副教授, 主要从事高山植物多样性及分类研究, (E-mail) alpine_flora@163.com。

东喜马拉雅-横断山区是生物多样性热点地区之一(Norman et al., 2000), 长期以来受到了广泛关注, 吸引了诸多的植物学者在此开展植物多样性调查。但由于气候恶劣、交通不便、调查时间相对较短等原因(郑度和赵东升, 2017), 加之地域辽阔, 该地区存在较多的生物多样性调查盲区。近年植物有大量新分布科、新分布属及新分布种报道(王喜龙等, 2018; 熊先华等, 2018; 徐波等, 2020; 刘成等, 2020)。杜诚等(2020, 2021)研究表明在2000—2020年的20年间, 中国植物新种发表、国家级新记录发现集中在云南、四川、西藏和广西4个省(区), 占中国新种发表数量的2/3。同时, 2020年新种发表最多的县级区划在西藏墨脱县, 超19个新种。因此, 加强对这些地区进行调查是十分必要的。

绿绒蒿属(*Meconopsis* Viguier)是喜马拉雅地区的重要物种之一, 深受植物学者、园艺学家以及植物爱好者喜爱, 受到了巨大关注, 在过去20年间, 该属的新种及中国新记录种(Zhang & Grey-Wilson, 2008; Grey-Wilson, 2014; Yoshida, 2021; 周海艺等, 2021)被大量报道。我们在日喀则市进行植物多样性调查期间发现一特殊的绿绒蒿属植物, 经查阅国内植物志(庄璇, 1985; 中国植物志编委会, 1999; Zhang & Grey-Wilson, 2008)及相邻国家植物志等资料(Taylor, 1934; Egan et al., 2012; Grey-Wilson, 2014; Yoshida, 2021), 鉴定为中国新记录尼东绿绒蒿(*M. dhwojii* G. Taylor ex Hay)。

1 绿绒蒿属植物新资料

尼东绿绒蒿(图1)

Meconopsis dhwojii G. Taylor ex Hay, New Fl. & Silva 4: 225, fig. 82 (1932) & Gard. Chron., Ser. 3, 92: 409, figs. 198–199 (1932).

描述: 草本, 多年生一次结实, 高达60 cm。主根萝卜状。基部茎粗8~13 mm。叶片灰绿色, 秋、冬季常为暗紫色, 长16~33 cm, 宽4.2~10.3 cm, 包括叶柄在内被秸秆色刚毛, 刚毛基部紫黑色, 长6~11 mm; 基生叶呈二回羽状深裂至全裂, 6~9(10)对裂叶, 基部裂叶深裂, 顶部裂叶浅裂, 先端钝, 相比顶部, 基部裂叶间距离较远, 被稀疏刚毛

或无; 茎生叶与基生叶相似, 但裂叶小且少, 基部裂叶耳状; 基生叶叶柄长达16 cm, 细长, 茎生叶叶柄短至无柄。小聚伞花序与单生花组成圆锥花序, 超植株三分之二, 小聚伞花序花2~5朵, 顶部花单生, 杯形至碟形, 40~65 mm, 花序轴有刚毛。花梗长5.5~13 cm(果期可达19 cm), 花下刚毛密集, 向下刚毛渐疏。花苞卵形至半球形, 被刚毛。花瓣4, 乳黄色, 倒卵形至近圆形, 长25~37 mm, 宽22~37 mm。雄蕊多, 花丝白色丝状, 花药橙黄色。子房卵形, 细长, 长2.5~6 mm。柱头绿色或微黄绿色。蒴果长20~41 mm, 宽7~8 mm, 5~6裂, 密被刚毛, 长8 mm。种子卵圆形、椭圆形。花期6—9月, 果期8—11月。

模式标本: E Nepal, Sangmo, 12 000 ft, Lall Dhwoj 0297 (**Holotype**, Isotypes, BM).

凭证标本: 西藏日喀则市聂拉木县波曲附近路边草地, 海拔3 312 m, 2020年8月28日, 徐波、张旭、周海艺、徐畅隆 Tsui-1810、Tsui-1811(KUN); 定日县绒辖乡绒辖曲附近溪流旁, 海拔3 527 m, 2020年9月1日, 徐波、张旭、周海艺、徐畅隆 Tsui-1892、Tsui-1893和Tsui-1894(KUN); 定日县绒辖乡陈塘村后山引水管和溪流旁, 海拔4 120 m, 2020年9月2日, 徐波、张旭、周海艺、徐畅隆 Tsui-1923(KUN); 查阅 BM000547042, BM000547043, BM000547138, E00060576, E00622908, E00758043等标本。

分布: 尼泊尔中东部(多卡拉地区, 分布中心在若瓦岭), 生于海拔2 950~4 755 m的岩石地, 开阔灌丛, 溪流旁。中国西藏聂拉木县和定日县为新分布记录。

中文名选定: *Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay 现中文名有尼东绿绒蒿(吴征镒和庄璇, 1980)、多鸡氏绿绒蒿(Yoshida, 2021)、绒辖绿绒蒿3种。尼东绿绒蒿为公开发表最早的中文名, 根据模式标本产自尼泊尔东部确定; 多鸡氏绿绒蒿为学名音译; 绒辖绿绒蒿是依据一个居群产地而拟定的中文名显然不太妥当。综合考虑使用尼东绿绒蒿作为中文名最为合适。

种子微形态: 绿绒蒿属植物形态变异较大, 近似种间鉴定困难。种子为绿绒蒿属植物重要分类特征, 性状较稳定, 外界环境对于种子影响甚小

(Sulaiman, 1995)。我们将在聂拉木县和定日县采集的尼东绿绒蒿种子,通过扫描电子显微镜观察和比较,以期为绿绒蒿属植物分类补充更加详实和丰富的基础资料。种子经扫描后观察发现,两地种子形状均为椭圆形,长度约为 1.10 mm,宽约为 0.74 mm。但居群间种子的种皮纹饰存在一定差异。通过加大样本量探究原因,扫描两地不同植株 40 粒种子,发现种子成熟度影响种子饱满度和种皮纹饰类型。成熟种子饱满度高,种皮表面

纹饰为珊瑚状褶皱(图 2:A),褶皱立起;成熟度低的种子饱满度低,种皮表面纹饰为网纹型(图 2:B)。推测尼东绿绒蒿种子成熟后,表皮细胞成珊瑚状褶皱立起,有利于种子借助风力进行传播。

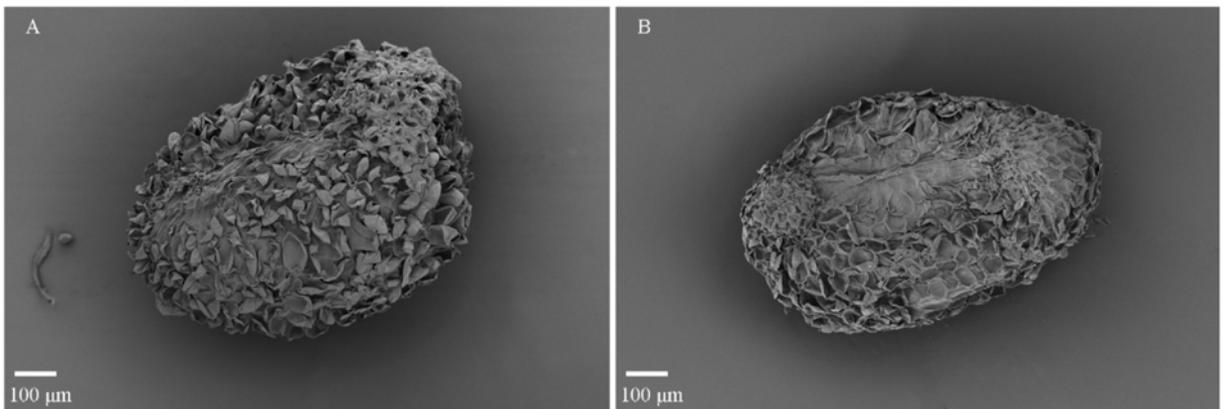
近似种比较: 通常认为尼东绿绒蒿与细梗绿绒蒿(*Meconopsis gracilipes* G. Taylor)最为相近(吴征镒和庄璇, 1980; Grey-Wilson, 2014; Yoshida, 2021),根据相关文献、标本整理了两者主要差别(表 1)。



A. 生境; B. 果期植株; C. 刚毛具略紫的黑色基部; D. 果实; E. 主模式标本。
A. Natural habitat; B. Fruiting plant; C. Base of the bristles purplish-black; D. Fruits; E. Holotype.

图 1 尼东绿绒蒿

Fig. 1 *Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay



A. 产自定日县尼东绿绒蒿的种子微形态; B. 产自聂拉木县尼东绿绒蒿的种子微形态。

A. Seed micromorphology of *Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay from Tingri County; B. Seed micromorphology of *M. dhwojii* G. Taylor ex Hay from Nyalam County.

图 2 尼东绿绒蒿种子微形态

Fig. 2 Seed micromorphology of *Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay

表 1 尼东绿绒蒿和细梗绿绒蒿鉴定特征及生态地理差异

Table 1 Differences of *Meconopsis dhwojii* and *M. gracilipes* identifying features and ecogeography

鉴定特征及生态地理差异 Identification of characteristics and ecogeographical differences	尼东绿绒蒿 <i>Meconopsis dhwojii</i>	细梗绿绒蒿 <i>M. gracilipes</i>
叶 Leaf	基生叶和底部叶片常略带紫色或略带红色, 深裂、窄; 通常 6~9 对裂叶, 刚毛具略紫的黑色基部 basal and lower leaves are often purplish or reddish, the segments are deeply divided to wholly lobed and are narrower; normally 6-9 pairs of segments, the base of bristles purplish-black	基生叶裂叶浅、宽, 3~5 对裂叶, 毛状外被均匀、发白且毛软 Basal leaves of segments are shallow and wide, with 3-5 pairs of segments, with uniform indumentum, whitish and soft
成熟蒴果 Ripe capsule	较瘦、长, 宽椭圆形至长圆形 Thin, long, wide oval to oblong	烧瓶状 Flask-shaped
宿存花柱 Persistent style	长 3~6 mm Length 3-6 mm	长 6~10 mm Length 6-10 mm
分布生境 Habitat	开阔的岩石地 Open rocky terrain	阴凉地, 通常在森林或灌木丛中或溪流沿岸 Shaded areas, usually in forests or bushes or along the banks of streams
分布地区 Distribution area	尼泊尔中东部(多拉卡地区, 分布中心在若瓦岭), 中国西藏南部(聂拉木县; 定日县) Central and Eastern Nepal (Dolakha district, distribution center in Rolwaling Himal), Southern Tibet of China (Nyalam County; Tingri County)	尼泊尔中部(廓尔卡、卡斯地区、拉姆琼地区; 安娜普纳峰、拉姆琼峰、廓尔喀峰), 中国西藏南部(聂拉木县) Central Nepal (Gorkha, Kaski & Lamjung districts; Annapurna Himal, Lamjung Himal, Gorkha Himal), Southern Tibet of China (Nyalam County)

2 讨论与结论

尼东绿绒蒿 (*Meconopsis dhwojii* G. Taylor ex Hay) 在中国西藏的发现扩大了该种的分布范围, 由最初的尼泊尔中东部地区特有, 扩展至中国西藏西南部, 丰富了中国绿绒蒿属植物的多样性, 对研究西藏乃至中国的绿绒蒿属植物具有一定的生物地理学意义和潜在的园艺价值。第一, 丰富了西藏绿绒蒿属植物区系资料。绿绒蒿属的分布中心位于中国西南横断山区至喜马拉雅地区, 其中该属植物资源最为丰富的国家是中国, 初步统计有 78 种, 占总数的 86.67%; 而地处分布中心的西藏又是最为丰富的地区, 有 31 种, 占总数的 34.44% (庄璇, 1985; Zhang & Grey-Wilson, 2008; Yoshida, 2021)。新记录的发现对于进一步研究中国乃至喜马拉雅地区绿绒蒿属植物的分类、系统演化具有一定的意义。第二, 丰富了绿绒蒿属花卉育种的种质资源。尼东绿绒蒿为该属分布海拔最低的植物之一, 植株较为高大, 具有大型的聚伞圆锥花序, 盛花期时, 花可达百余朵, 花期长, 具有非常高的园艺价值 (Grey-Wilson, 2014), 上述新分类群的发现为国内绿绒蒿属花卉育种提供了种质资源。

此外, 作者通过中国数字标本馆 (<https://www.cvh.ac.cn/>) 查阅相关地区和相关类群的标本发现绿绒蒿属在标本采集方面存在较严重的不均衡现象, 部分地区和类群存在采集不足, 甚至空白。以西藏日喀则市定日县为例, 该县现辖 13 个乡镇, 通过中国数字标本馆查阅该县绿绒蒿属标本, 采集地点多集中在扎西宗乡珠峰大本营及曲当乡等地, 共采集植物标本 1 700 余份, 绒辖乡采集标本记录不足 5 份, 甚至部分乡镇采集存在空白。再以绿绒蒿属作为检索关键词, 发现多刺绿绒蒿 (*Meconopsis horridula* J.D. Hooker & Thomson)、全缘叶绿绒蒿 [*M. integrifolia* (Maximowicz) Franchet]、红花绿绒蒿 (*M. punicea* Maximowicz)、五脉绿绒蒿 (*M. quintuplinervia* Regel)、总状绿绒蒿 (*M. racemosa* Maximowicz) 等标本储量巨大; 而康顺绿绒蒿 (*M. tibetica* Grey-Wilson) 仅有 1 号 2 份标本, 毛瓣绿绒蒿 (*M. torquata* Prain) 有 2 号 6 份标本, 巴郎山绿绒蒿 (*M. balangensis* Tosh. Yoshida, H. Sun & Boufford) 有 2 号 9 份标本; 西藏绿绒蒿 (*M. florindae* Kingdon-Ward)、报春绿绒蒿 (*M. primulina* Prain)、紫花绿绒蒿 (*M. violacea* Kingdon-Ward)、杯状花绿绒蒿 (*M. sinomaculata* Grey-Wilson)、高茎绿绒蒿 (*M. superba* King ex Prain) 等

国内无馆藏标本。

作为喜马拉雅山区倍受关注的高山植物之一,近年来国内外学者发表了大量的绿绒蒿属植物新种(Zhang & Grey-Wilson, 2008; Grey-Wilson, 2014; Yoshida, 2021),然而这些新种仅根据有限标本的形态学特征发表,缺乏分子生物学及种子微形态学等证据。未来仍需要开展大量的野外调查工作,特别是针对绿绒蒿属采集薄弱的地区和类群,应扭转部分地区和类群过度调查采集,部分地区和类群长时间无人涉足的不均衡状况。同时,针对绿绒蒿属开展模式标本产地回访,进行野外居群观测,获取分子、孢粉及种子材料等,多角度系统研究该属,这样才能客观评估该属植物多样性,确定中国到底有多少种绿绒蒿属植物,及其具体类群在野外的生存情况,为该属植物多样性保护,资源利用奠定基础。

致谢 野外调查得到了珠峰雪豹保护中心支持,承蒙司机兼野外向导扎拉桑布先生的辛苦付出,中科院昆明植物研究所谷志佳老师帮助扫描尼东绿绒蒿种子,审稿专家对该文提出修改意见,在此一并致谢。

参考文献:

- China Flora Editorial Board, 1999. Flora Reipublicae Popularis Sinicae (Vol. 32) [M]. Beijing: Science Press: 7-51. [中国植物志编委会, 1999. 中国植物志(第32卷) [M]. 北京: 科学出版社: 7-51.]
- DU C, LIAO S, BOUFFORD DE, et al., 2020. Twenty years of Chinese vascular plant novelties, 2000 through 2019 [J]. Plant Divers, 42(5): 393-398.
- DU C, LIU J, YE W, et al., 2021. Annual report of new taxa and new names for Chinese plants in 2020 [J]. Biodivers Sci, 29(8): 1011-1020. [杜诚, 刘军, 叶文, 等, 2021. 中国植物新分类群、新名称 2020 年度报告 [J]. 生物多样性, 29(8): 1011-1020.]
- EGAN PA, PENDRY CA, SHRESTHA S, 2012. Papaveraceae [M]// WASTON MF, Flora of Nepal (Vol. 3). Edinburgh: Royal Botanic Garden: 78-95.
- GREY-WILSON C, 2014. The genus *Meconopsis*-blue poppies and their relatives [M]. Royal Bot Gardens, Kew: Kew Publishing: 73-399.
- LIU C, YA JD, GUO YJ, et al., 2020. Newly recorded species of seed plants from Xizang, China [J]. Biodivers Sci, 28(10): 1238-1245. [刘成, 亚吉东, 郭永杰, 等, 2020. 西藏种子植物分布新资料 [J]. 生物多样性, 28(10): 1238-1245.]
- NORMAN M, RUSSELL AM, GRISTINA GM, et al., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities [J]. Nature, 403(6772): 853-858.
- SULAIMAN IM, 1995. Scanning electron microscopic studies on seed coat patterns of five endangered Himalayan species of *Meconopsis* (Papaveraceae) [J]. Ann Bot, 76(3): 323-326.
- TAYLOR G, 1934. An account of the genus *Meconopsis* [M]. London: New Flora and Silva Limited: 37.
- WANG XL, LI JW, WANG CW, et al., 2018. New information of orchids in Tibet, China [J]. Guihaia, 38(11): 1440-1445. [王喜龙, 李剑武, 王程旺, 等, 2018. 中国西藏兰科植物新资料 [J]. 广西植物, 38(11): 1440-1445.]
- WU ZY, ZHUANG X (CHUANG H), 1980. A study on the taxonomic system of the genus *Meconopsis* [J]. Acta Bot Yunnan, 2(4): 371-381. [吴征镒, 庄璇, 1980. 绿绒蒿属分类系统的研究 [J]. 云南植物研究, 2(4): 371-381.]
- XIONG XH, XU B, JU WB, et al., 2018. Notes on *Rubus* L. (Rosaceae) from Medog, Tibet, China [J]. Guihaia, 38(11): 1411-1421. [熊先华, 徐波, 鞠文彬, 等, 2018. 西藏墨脱悬钩子属植物小志 [J]. 广西植物, 38(11): 1411-1421.]
- XU B, CHEN GF, DONG JL, et al., 2020. *Mannagettaea* (Orobanchaceae), a new record to Xizang [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 40(5): 892-894. [徐波, 陈光富, 董金龙, 等, 2020. 西藏列当科新记录属——豆列当属 [J]. 西北植物学报, 40(5): 892-894.]
- YOSHIDA T, 2021. Pictorial guide to *Meconopsis* [M]. Tokyo: Heibonsha Limited Publishers: 23-290.
- ZHANG ML, GREY-WILSON C, 2008. *Meconopsis* Vig. [M]// WU ZY, RAVEN PH. Flora of China (Vol. 7). Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 262-278.
- ZHENG D, ZHAO DS, 2017. Characteristics of natural environment of the Tibetan Plateau [J]. Sci Technol Rev, 35(6): 13-22. [郑度, 赵东升, 2017. 青藏高原的自然环境特征 [J]. 科技导报, 35(6): 13-22.]
- ZHOU HY, ZHANG X, XU CL, et al., 2021. New discovery of the genus *Meconopsis* in China [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 41(10): 1781-1784. [周海艺, 张旭, 徐畅隆, 等, 2021. 中国绿绒蒿属新资料 [J]. 西北植物学报, 41(10): 1781-1784.]
- ZHUANG X (CHUANG H), 1985. *Meconopsis* Vig. [M]// WU ZY. Flora Xizangica; Vol. 2. Beijing: Science Press: 225-241. [庄璇, 1985. 绿绒蒿属 [M]//吴征镒. 西藏植物志: 第二卷 [M]. 北京: 科学出版社: 225-241.]

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw202112013

龙继艳, 刘冰, 周阳艳, 等. 硅藻中国新记录种——帕瓦拉桥弯藻 [J]. 广西植物, 2022, 42(10): 1791–1796.

LONG JY, LIU B, ZHOU YY, et al. *Cymbella pavanaensis* A. Vigneshwaran et al., a diatom reported for the first time in China [J]. *Guihaia*, 2022, 42(10): 1791–1796.

硅藻中国新记录种——帕瓦拉桥弯藻

龙继艳¹, 刘冰^{1*}, 周阳艳¹, 徐三妹^{1,2}, 陈锦华¹

(1. 吉首大学 生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首 416000; 2. 怀化师范高等专科学校 文理综合学院, 湖南 怀化 418000)

摘要: 在对湖南省硅藻多样性研究过程中,发现其中一采自湘江的桥弯藻种类具有以下鉴定特征:(1) 细胞小,长度小于 29 μm ;(2) 壳面略微呈背腹之分;(3) 远缝端末梢向壳面背侧弯曲;(4) 顶孔区很小,由 1~3 横列形态不同的两种类型孔纹组成,一种孔纹与壳面上的孔纹相似,呈狭缝隙状,另一种为圆形小孔,其内部开口上方有袋盖状硅质突出物覆盖;(5) 壳面背侧中部处线纹密度每 10 μm 为 10~12 条,腹侧中部处每 10 μm 为 11~13 条,孔纹密度每 10 μm 为 30~40 个;(6) 在靠近壳面腹侧中央区具有 1~2 个孤点。经与帕瓦拉桥弯藻 (*Cymbella pavanaensis* A. Vigneshwaran et al.) 模式种群相比较,该文确定上述桥弯藻即为帕瓦拉桥弯藻。该文提供了对帕瓦拉桥弯藻超微结构的更多清晰认识,扩大了其地理分布区域,且是该种在中国的首次报道。

关键词: 桥弯藻属, 顶孔区, 孤点, 超微结构, 新记录

中图分类号: Q949 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2022)10-1791-06

Cymbella pavanaensis A. Vigneshwaran et al., a diatom reported for the first time in China

LONG Jiyan¹, LIU Bing^{1*}, ZHOU Yangyan¹, XU Sanmei^{1,2}, CHEN Jinhua¹

(1. College of Biology and Environmental Sciences, Jishou University, Jishou 416000, Hunan, China;

2. School of Arts and Sciences, Huaihua Normal College, Huaihua 418000, Hunan, China)

Abstract: During the process of studying the diatom diversity of Hunan Province, we find that a *Cymbella* species collected from Xiang River possesses the following diagnostic features: (1) Cells are small and their lengths are less than 29 μm ; (2) Valves exhibit slight dorsiventrality; (3) Distal raphe fissures are dorsally deflected; (4) Apical pore fields are very small and composed of 1–3 transapical rows of porelli, which comprise two forms, one is slit-like, similar to the areolae on the valve face, and the other is rounded with internal openings covered by the flap-like silica projections; (5) Striae 10–12/10 μm at the dorsal middle part, 11–13/10 μm at the ventral middle part, and areolae 30–40/10 μm ; (6) And 1–2 stigmata exist near the valve ventral central area. After comparing this species with the type population of *Cymbella pavanaensis* A. Vigneshwaran et al., in this paper, it is identified as *C. pavanaensis*. This paper provides a clearer knowledge of the ultrastructure of *C. pavanaensis*, enlarges its geographical distribution region, and reports it for the first time in China.

Key words: *Cymbella* Agardh, apical pore field, stigma, ultrastructure, new record

收稿日期: 2022-04-09

基金项目: 国家自然科学基金(31760051) [Supported by National Natural Science Foundation of China (31760051)].

第一作者: 龙继艳(2000-), 硕士研究生, 主要从事硅藻分类研究, (E-mail) 2215656702@qq.com。

*通信作者: 刘冰, 博士, 副教授, 主要从事硅藻分类及生态研究, (E-mail) jsulb@outlook.com。

桥弯藻属 (*Cymbella* Agardh) 于 1830 年创立 (Agardh, 1830), 是硅藻门中重要类群, 也是较大的硅藻属之一 (Kapustin et al., 2018)。Krammer (2002) 在其桥弯藻属专著中将该属的主要鉴定特征归纳如下: (1) 壳面具有背腹之分, 即有弯曲程度大的背侧和弯曲程度较小或平直或内凹的腹侧; (2) 两个远缝端末梢皆向壳面背侧弯曲; (3) 绝大多数种类壳面两末端具有顶孔区; (4) 多数种类腹侧有一个或多个孤点。Krammer (2002) 在其专著中给出了桥弯藻属的 129 种和 31 个变种详细资料, 其中 100 个种 (63%) 被确定为新种或新变种。Krammer 2002 年的专著是目前世界范围内广泛采用的桥弯藻属种类鉴定的重要参考文献。

Guiry 和 Guiry (2021) 在 AlgaeBase 网站上列出了该属的 1 576 种 (和种下) 名称, 其中 357 种是目前接受的分类名称。近年来, 中国学者对中国的桥弯藻属相继进行了许多研究 (Hu et al., 2013; Gong et al., 2013; Zhang et al., 2017; Zhang et al., 2018; Liu et al., 2018, 2020; Zhang et al., 2021; Liu et al., 2021)。施之新 (2013) 发表了关于中国桥弯藻科 (*Cymbellaceae*) 的专著, 其中包括桥弯藻属的 49 种和 5 个变种, 是对中国桥弯藻属的一个较全面的研究总结。然而, 中国是一个幅员辽阔的大国, 具有丰富多样的水域生态系统, 许多重要或关键地区水域生态系统的硅藻尚未有人涉足。因此, 在中国, 桥弯藻及其他硅藻仍急需进一步探索和发现。在对湘江的石附生硅藻研究中, 我们发现了一些尚未报道过的硅藻种类, 本文报道其中一中国新记录种——帕瓦拉桥弯藻 (*Cymbella pavanaensis* A. Vigneshwaran) [新拟, 种加词 *pavanaensis* 是指该种的模式种发现地点: 印度的帕瓦拉河 (Pavana River)] (Vigneshwaran et al., 2019)。

1 材料与方 法

本文的硅藻样品于 2021 年 10 月 3 日采自于湘江的左支, 具体取样点位于广西兴安县的江脊 (地理坐标为 110°41'47" E、25°39'55" N, 海拔 210 m)。取样水体的基本理化信息: 温度为 (28.53 ± 0.05) °C、pH 为 8.66 ± 0.05、电导率为 (224.33 ± 1.25) μS · cm⁻¹。取样方法: 选择水下带有较多黄褐色生物膜的石头, 用牙刷把岩石表面的附生硅

藻用力刷入塑料盘内; 然后冲洗石头被刷表面残留样品到塑料盘内; 将盘内收集的硅藻样品倒入 100 mL 的样品瓶中, 每个样点收集两瓶; 用 70% 的酒精固定, 然后密封带回实验室处理。

在实验室采用常规方法处理硅藻样品, 具体方法: 从取回的硅藻样品溶液中吸取 25 mL 溶液, 移入洗净的 250 mL 烧杯中, 加入 30% 双氧水 50 mL, 在 80 °C 恒温加热 6 h, 氧化除掉有机物质, 然后加入 5 mL 10% 的 HCl 除掉含钙化合物, 再加入去离子水静置 12 h 后吸去上清液, 这个过程重复 5 次以得到干净的硅藻标本。利用 Naphrax 封装剂制成永久装片以供光学显微镜观察和拍照 (德国徕卡光学显微镜和摄像头, 型号分别为 Leica DM2000 和 Leica MC190 HD)。永久装片保存在吉首大学标本馆。扫描电镜观察在湖南怀化学院完成 (德国卡尔蔡司场发射扫描电子显微镜, 型号 Sigma HD)。

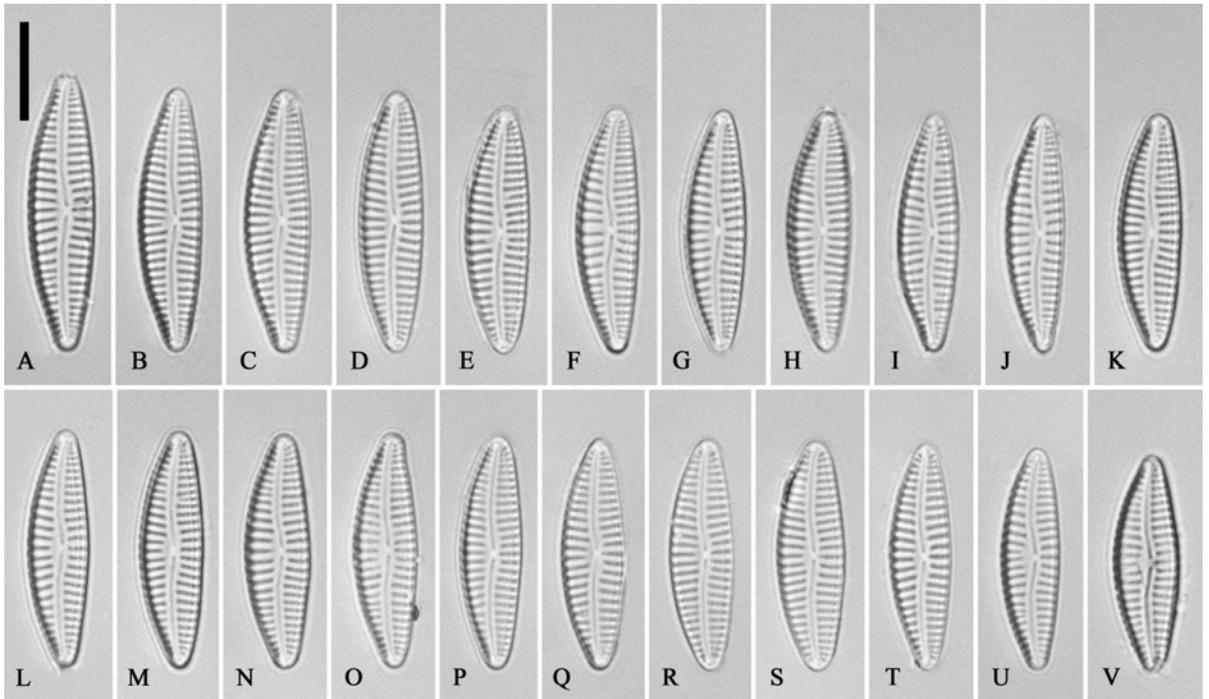
本研究中文硅藻术语主要参照 Round 等 (1990) 推荐的相关术语, 这里列出一些本文中重要的中英文术语对照和英文缩写, 以方便读者阅读。壳面 (valve)、孤点 (stigma)、线纹 (stria)、孔纹 (areola)、线性孔纹 (lineola)、中央节 (central nodule)、顶孔区 (apical pore fields, APFs)、壳缝 (raphe)、近缝端 (proximal raphe ending)、远缝端末梢 (distal raphe fissure)、外面观 (external view)、内面观 (internal view)、螺旋舌 (helictoglossa, 复数 helictoglossae)、光学显微镜 (light microscope, LM)、扫描电子显微镜 (scanning electron microscope, SEM)。

2 结果与分析

帕瓦拉桥弯藻 (新拟; 图版 I, 图版 II, 图版 III)

Cymbella pavanaensis A. Vigneshwaran, Kulikovskiy, Kociolek & B. Karthick, in Vigneshwaran et al. 2019, p. 212; Fig. 1–28; p. 214; Fig. 29–32; p. 215; Fig. 33–36.

光学显微镜观察结果如图版 I 所示。壳面稍具背腹之分, 椭圆披针形, 背缘明显凸出, 腹部边缘稍凸。两端几乎不延伸, 宽圆形到狭圆形; 31 个标本的壳面长 22 ~ 28 μm, 宽 5 ~ 6 μm, 长宽比 3.7 ~ 4.9。无中央区, 中轴区窄, 线形。壳缝基本位于壳面中部, 近缝端丝状, 远缝端丝状并弯向背侧。腹侧有 1 ~ 2 个孤点, 但是紧靠中部线纹的中



A-V. 22 个壳面展示一个按大小排列的递减系列, 略微呈背腹之分。A-V 标尺为 $10\ \mu\text{m}$ (如 A 所示)。

A-V. Twenty-two valves show a diminution series, and are slightly dorsiventral. A-V scale bars = $10\ \mu\text{m}$ (in A for all figures).

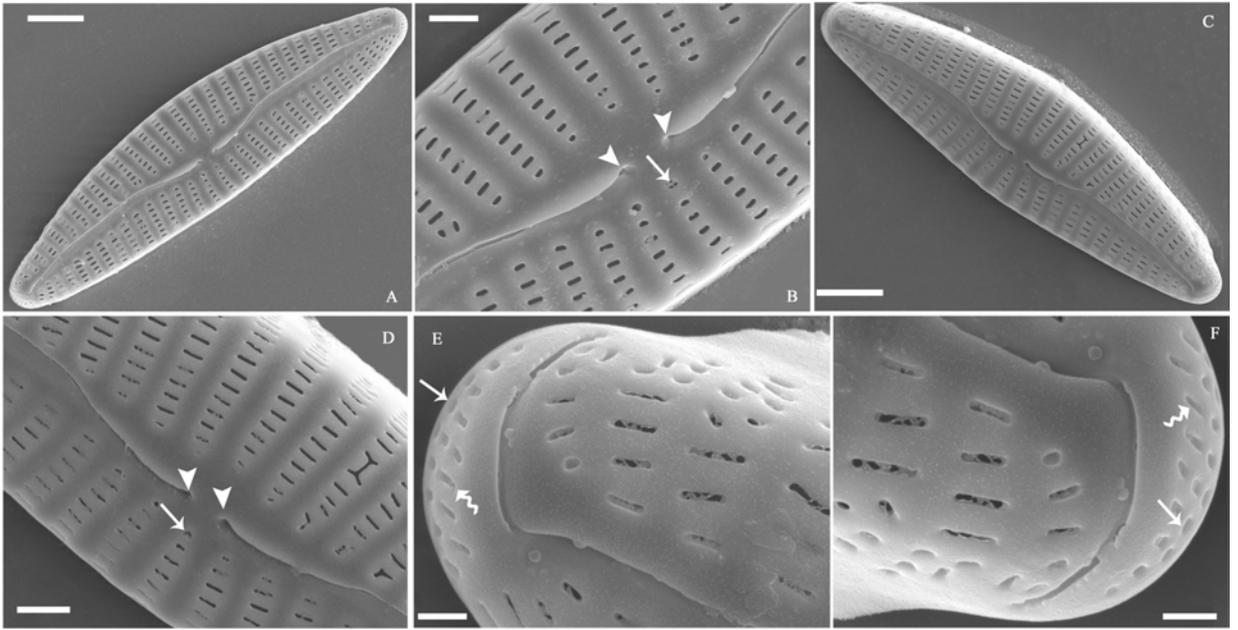
图版 I 帕瓦拉桥弯藻光学显微镜图 ($1\ 000\times$)
Plate I *Cymbella pavanaensis* (LM) ($1\ 000\times$)

央末端, 所以光镜下难以确定。线纹几乎平行, 在靠近两端处线纹呈放射状。背侧中部线纹密度每 $10\ \mu\text{m}$ 为 10~12 条, 腹侧中部线纹密度每 $10\ \mu\text{m}$ 为 11~13 条。孔纹细, 在光镜下难以区分。

扫描电子显微镜观察结果见图版 II 和图版 III。壳面椭圆披针形(图版 II:A, C; 图版 III:A, C)。无中央区, 腹侧孤点外侧开口为简单圆形, 无膜覆盖(图版 II:B, D); 孤点内侧开口为狭缝隙状, 周围被齿状的硅质物所围绕(图版 III:B, D)。壳缝基本位于壳面中部, 外远缝末端梢向背侧弯曲, 外近缝端存在中央孔并偏向背侧(图版 II:B, D)。从壳内面看, 远缝端终止于螺旋舌(图版 III:E-F), 而近缝端不可见, 被帽状的硅质结构所遮盖(图版 III:B, D)。线纹单列, 孔纹狭缝隙状, 孔纹的宽度从壳面中间向边缘逐渐增加, 孔纹密度 30~40 个/ $10\ \mu\text{m}$ 。末端具有很小的顶孔区, 由 1~3 列横向小孔组成, 小孔有两种形状: 一种与壳面孔纹相似呈狭缝隙状(图版 II:E-F); 另一种则是圆形的小孔(图版 II:E-F), 顶孔区小圆孔内部开口上方有袋盖状硅质突出物覆盖(图版 III:E-F)。

3 讨论

Cymbella kolbei Hustedt, *C. kolbei* var. *angusta* Krammer, *C. hustedtii* Krasske 和 *C. tridentina* Lange-Bertalot, Cantonati & Scalfi 四个桥弯藻种类与帕瓦拉桥弯藻具有相似的形态特征。Vigneshwaran 等(2019)在发表帕瓦拉桥弯藻时已对它们之间的区别进行了仔细比较和分析(Vigneshwaran et al., 2019), 本文不再重复列表比较它们之间的区别, 但是为了便于读者更清楚地认识帕瓦拉桥弯藻形态特征, 这里对 Vigneshwaran 等(2019)一文中表 2 的内容翻译和说明如下: 帕瓦拉桥弯藻与 *C. hustedtii* 的区别在于前者腹侧着生有 1~2 个孤点, 而后者腹侧没有孤点; 帕瓦拉桥弯藻的顶孔区由两种不同形态的孔纹组成, 即狭缝隙状的与壳面孔纹相似的孔纹和圆形的孔纹组成, 而 *C. kolbei*、*C. kolbei* var. *angusta* 和 *C. tridentina* 的顶孔区都只由一种形态类型的孔纹(圆形小孔纹)组成; 帕瓦拉桥弯藻无中央区, 而 *C. kolbei*、*C. kolbei* var.



A. 一个完整的壳面; **B.** A 的中部细节,腹侧孤点外侧有圆形开口(箭头所示)、中央孔偏向背侧(两箭头所示),以及狭缝状孔纹开口; **C-D.** 另一个完整壳面及其中部细节,展示以上提到的特征; **E-F.** 示两个末端细节,顶孔区由两种形态的孔纹组成,一种狭缝状(弯箭头所示),另一种是圆形(箭头所示)。A 和 C 标尺为 3 μm ; B 和 D 标尺为 1 μm ; E-F 标尺为 300 nm。

A. A complete valve; **B.** Middle part details from **A** with rounded opening of stigma on the ventral side (one arrow in **B**), the dorsally deflected central pores (two arrow heads), and lineolate areolae; **C-D.** Another complete valve and its detailed middle part showing the above-mentioned features; **E-F.** Two apical details, with two forms of porelli in the apical pore field: linear (curved arrows) and rounded (normal arrows). Scale bars = 3 μm (**A**, **C**), 1 μm (**B**, **D**), 300 nm (**E-F**).

图版 II 帕瓦拉桥弯藻扫描电子显微镜图(外壳面观)

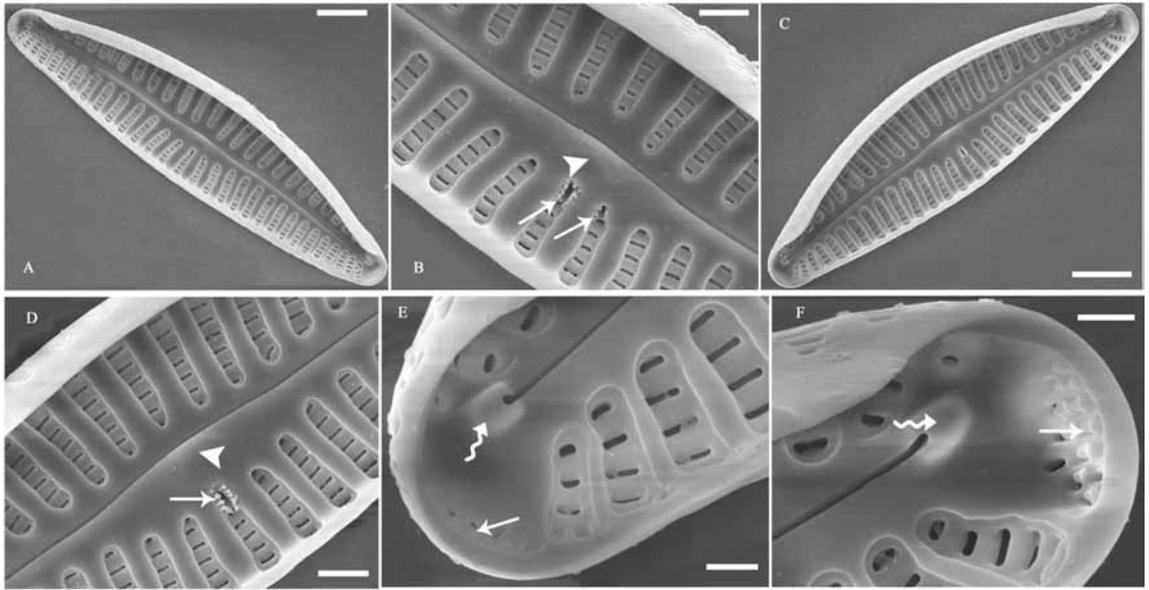
Plate II *Cymbella pavanaensis* (valve external view) (SEM)

angusta、*C. tridentina* 存在很小的中央区。从以上比较可以看出,帕瓦拉桥弯藻具有孤点,其顶孔区由两种类型的孔纹组成和无中央区存在是与其他相似种类相区分的独特性状组合。

帕瓦拉桥弯藻的模式种群是发现于印度的帕瓦拉河,该河是一条中等富营养化的河流(Vigneshwaran et al., 2019)。在本文中的帕瓦拉桥弯藻种群取样点,我们发现河岸两边有许多福寿螺(*Pomacea canaliculata* Lamarck)粉红色的卵,我们推测该河流可能有较多福寿螺存在。福寿螺繁殖能力强、食量大,其分泌物和排泄物会大量进入生存的水体中,导致水体 pH 值下降从而降低光合细菌的消化速度,抑制水体中氮化合物的分解,促进水体中藻类和微生物的繁殖(胡云逸等, 2021)。同时,福寿螺产生的污染物可随水流形成更大范围的污染,或在某些静水地段发生汇集,造成严重的水体富营养化(潘冬丽等, 2014)。另外,取样河流的两侧有许多水稻田。众所周知,水稻

种植离不开 N 肥和 P 肥,其施肥量对水质产生重要影响,农户长期施肥会造成 N 和 P 不断积累,可导致周围水体严重富营养化(李纪华等, 2015)。因此,我们推测本文中的帕瓦拉桥弯藻生境是富营养化的水体。基于以上形态比较和生态需求相似性,我们可以充分确定本文中的帕瓦拉桥弯藻身份。本研究中,帕瓦拉桥弯藻有时具有 2 个孤点。孤点的存在与否,需要通过扫描电镜观察到其内部开口后来确定,而实际情况是由于很多研究者在电镜下只观察少量标本,因此对孤点的统计往往不准确。基于本文的研究结果,帕瓦拉桥弯藻的孤点数量应被修订为每个壳面具有 1~2 个。

从全球来看,目前硅藻的分类仍然是基于形态学上的特征来进行,属与属之间及同属之下各种类之间的区分,都越来越依赖超微结构特征(Round et al., 1990; Hamilton et al., 2019a, b)。在桥弯藻属种类的鉴定中,壳面形状、中央区 and 线



A. 一个完整的壳面; **B.** A 的中部细节,腹侧 2 个孤点的内侧开口被齿状硅质物环绕(两箭所示),壳缝两内侧近缝端的中断不可见(箭头所示); **C-D.** 另一个完整壳面及其中部细节,展示以上提到的特征; **E-F.** 示两个末端细节,注意顶端小圆孔内部开口上方有一个袋盖状突出物存在(箭所示),但是狭缝隙状孔纹内部开口无覆盖物,以及发达的螺旋舌(弯箭所示)。A 和 C 标尺为 3 μm ; 图 B 和图 D 标尺为 1 μm ; E 和 F 标尺为 400 nm。

A. A complete valve; **B.** Middle part details from A with internal openings of two stigmata convoluted by tooth-like projections (two arrows) and two proximal raphe ends are invisible (one arrow head); **C-D.** Another complete valve and its detailed middle part, showing the above-mentioned features; **E-F.** Two apical details, with the flap-like projections covering the inner openings of small round porelli (two arrows) but the lineolate internal openings without occlusions, and robust helictoglossae (two curved arrows). Scale bars = 3 μm (A, C), 1 μm (B, D), 400 nm (E, F).

图版 III 帕瓦拉桥弯藻扫描电子显微镜图(内壳面观)
Plate III *Cymbella pavanaensis* (valve internal view) (SEM)

纹等形态特征,虽然在光学显微镜下能辨别,但壳面上的孔纹、壳缝末梢、螺旋舌和顶孔区等超微结构,都需要通过扫描电子显微镜观察来获得清晰的认识,孤点也需要通过扫描电子显微镜观察其内侧构造来最终确认。本文增加了对帕瓦拉桥弯藻超微结构的更多清晰认识,是世界上第二个对帕瓦拉桥弯藻的报道,并且把它的分布区域从印度扩展到了中国的湘江。

参考文献:

- AGARDH CA, 1830. *Conspectus Criticus Diatomacearum*. Part 1 [M]. Lundae: Literis Berlingianus: 1-16.
GONG Z, LI Y, METZELTIN D, et al., 2013. New species of *Cymbella* and *Placoneis* (Bacillariophyta) from late Pleistocene fossil, China [J]. *Phytotaxa*, 150(1): 29-40.
GUIRY MD, GUIRY GM, 2021. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland,

Galway. Available from: <http://www.algaebase.org> (accessed 23 November 2021).

- HAMILTON PB, SAVOIE AM, SAYRE CM, et al., 2019a. Novel *Neidium* Pfitzer species from western Canada based upon morphology and plastid DNA sequences [J]. *Phytotaxa*, 419(1): 39-62.
HAMILTON PB, STACHURA-SUCHOPLES K, KUSBER WH, et al., 2019b. Typification of the puzzling diatom species *Neidium iridis* (Neidiaceae) [J]. *Plant Ecol and Evol*, 152(2): 392-401.
HU ZJ, LI YL, METZELTIN D, 2013. Three new species of *Cymbella* (Bacillariophyta) from high altitude lakes, China [J]. *Acta Bot Croat*, 72(2): 359-374.
HU YY, ZHU ZF, SUN X, et al., 2021. *Pomacea canaliculata* is an important invasive species causing ecological vulnerability [J]. *J Trop Med*, 21(10): 1364-1368. [胡云逸, 朱梓锋, 孙希, 等, 2021. 入侵物种福寿螺对不同生态系统的破坏性影响 [J]. *热带医学杂志*, 21(10): 1364-1368.]
KAPUSTIN DA, KULIKOVSKIY M, KOCIOLEK JP,

2018. *Celebesia* gen. nov., a new cymbelloid diatom genus from the ancient Lake Matano (Sulawesi Island, Indonesia) [J]. *Nova Hedwigia Beihefte*, 146: 147–155.
- KRAMMER K, 2002. Diatoms of Europe: *Cymbella* [M]. Ruggell: A. R. G. Gantner Verlag, 3: 159–174.
- LI JH, WANG D, YANG M, et al., 2015. Farmer's rice fertilizing behaviors and policy implications [J]. *Resour Environ Yangtze Basin*, 24(3): 524–530. [李纪华, 王东, 杨沫, 等, 2015. 农民水稻施肥行为研究与政策涵义 [J]. *长江流域资源与环境*, 24(3): 524–530.]
- LIU B, WILLIAMS DM, LIU QY, 2018. A new species of *Cymbella* (Cymbellaceae, Bacillariophyceae) from China, possessing valves with both uniseriate and biseriate striae [J]. *Phytotaxa*, 344(1): 39–46.
- LIU B, WILLIAMS DM, LI Y, et al., 2020. Two new species of *Cymbella* (Bacillariophyceae) from China, with comments on their valve dimensions [J]. *Diatom Res*, 35(1): 99–111.
- LIU Q, WU H, LI YL, et al., 2021. One new species of *Cymbella* CA Agardh (Bacillariophyta) from high altitude lakes in the Hengduan Mountains of Southwest China [J]. *Acta Bot Croat*, 80(2): 184–190.
- PAN DL, ZHANG JH, LONG J, et al., 2014. Impacts of golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) on water quality and microbes [J]. *Chin J Eco-Agric*, 22(1): 58–62. [潘冬丽, 张家辉, 龙俊, 等, 2014. 福寿螺对水体环境与水体微生物的影响 [J]. *中国生态农业学报*, 22(1): 58–62.]
- ROUND FE, CRAWFORD RM, MANN DG, 1990. The diatoms: biology and morphology of the genera [M]. Cambridge: Cambridge University Press: 1–747.
- SHI ZX, 2013. *Flora Algarum Sinicarum Aquae Dulcis. Bacillariophyta Cymbellaceae: Vol. 16* [M]. Beijing: Science Press: 1–218. [施之新, 2013. *中国淡水藻志第十六卷硅藻门桥弯藻科* [M]. 北京: 科学出版社: 1–218.]
- VIGNESHWARAN A, KARTHICK B, KULIKOVSKIY MS, et al., 2019. A new species of *Cymbella* (Bacillariophyceae, cymbellaceae) from the Pavana River, western ghats, India [J]. *Phytotaxa*, 395(3): 209–218.
- ZHANG W, JÜTTNER I, COX EJ, et al., 2018. *Cymbella liyangensis* sp. nov., a new cymbelloid species (Bacillariophyceae) from streams in North Tianmu Mountain, Jiangsu Province, China [J]. *Phytotaxa*, 348(1): 14–22.
- ZHANG Y, LIAO MN, LI YL, et al., 2021. *Cymbella xiaojinensis* sp. nov., a new cymbelloid diatom species (Bacillariophyceae) from high altitude lakes, China [J]. *Phytotaxa*, 482(1): 55–64.
- ZHANG ZY, RIOUAL P, PENG Y, et al., 2017. *Cymbella pamirensis* sp. nov. (Bacillariophyceae) from an alpine lake in the Pamir Mountains, Northwestern China [J]. *Phytotaxa*, 308(2): 249–258.

(责任编辑 李 莉)

《广西植物》40篇论文入选中国知网高影响力论文

近日，中国知网《学术精要数据库》发布了2011-2022年的高影响力论文，《广西植物》共有40篇论文入选。其中，高PCSI论文27篇、高被引频次论文26篇、高下载频次论文10篇，同时获得“高PCSI、高被引、高下载”的论文3篇，同时获得“高PCSI、高被引”或“高被引、高下载”的论文17篇。

本刊编辑部向各位入选作者表示热烈祝贺！

《广西植物》入选高影响力论文的名单

序号	论文标题	作者	年份	高PCSI	高被引	高下载
1	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
2	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
3	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
4	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
5	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
6	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
7	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
8	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
9	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
10	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
11	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
12	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
13	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
14	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
15	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
16	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
17	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
18	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
19	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
20	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
21	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
22	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
23	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
24	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
25	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
26	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
27	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
28	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
29	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
30	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
31	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
32	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
33	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
34	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
35	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
36	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
37	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
38	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
39	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327
40	广西植物志	李承儒	2011	15.12	4736	10327

据悉，该数据库基于CNKI引文数据库，分别按照被引频次、下载频次、PCSI指数（论文引证标准化指数）遴选出学科前1%的论文，即高被引论文、高下载论文及高PCSI论文，并提供入选证书。点击<https://xsjy.cnki.net>下载入选论文证书和文献引证报告。

-  **高被引论文**是指各年度发表的国内学术期刊论文、国内会议论文，在所屬学科、所属文献类型（研究型、综述型文献）总被引频次排名前1%的论文。即同年同学科同文献类型被引频次TOP1%的论文。
-  **高下载论文**是指各年度发表的国内学术期刊论文、国内会议论文，在所屬学科、所属文献类型（研究型、综述型文献）总下载次数排名前1%的论文。即同年同学科同文献类型下载次数TOP1%的论文。
-  **高PCSI论文**是指各年度发表的国内学术期刊论文、国内会议论文，在所屬学科、所属文献类型（研究型、综述型文献）PCSI指数（全称“Paper Citation Standardized Index”，论文引证标准化指数）排名前1%的论文。

广西植物被国际和国内重要数据库收录:

- ☆ 俄罗斯《文摘杂志》(AJ, VINITI, Abstract Journal)
- ☆ 美国《化学文摘》(CA, Chemical Abstracts)
- ☆ 英国《国际农业与生物科学研究中心(全文库)》(CABI)
- ☆ 英国《全球健康》(Global Health)
- ☆ 美国《剑桥科学文摘》(CSA: NS)
- ☆ 波兰《哥白尼索引》(IC, Index of Copernicus)
- ☆ 日本《日本科学技术振兴机构数据库》(JST, Japan Science and Technology Agency)
- ☆ 美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich's, PD)
- ☆ 美国《史蒂芬斯全文数据库—艾博思科数据库》(EBSCOhost)
- ☆ 英国《邱园索引》(Index Kewensis)
- ☆ 美国《柯尔比科学文化信息中心》(CICSC)
- ☆ 中国《中文核心期刊要目总览》—中文核心期刊
- ☆ 中国科技论文统计与分析数据库(CSTPCD)—中国科技核心期刊
- ☆ 中国科学引文数据库(CSCD)、科学引文数据库(SCD)
- ☆ 中国生物学文献数据库(CBAD)、中国生物学文摘(CBA)
- ☆ 中国学术期刊文摘数据库(CSAD)、中国化学化工文摘(网络版)
- ☆ 中国期刊全文数据库(CJFD)
- ☆ 中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)
- ☆ 中国知识资源总库—中国科技期刊精品数据库(<http://epub.cnki.net>)
- ☆ 中国知网《中国学术期刊(网络版)》(CAJ-N)首批收录期刊(<http://navi.cnki.net/knavi/JournalDetail?pcode=CJFD&pykm=GXZW>)
- ☆ 中文科技期刊数据库(SWIC) (<http://www.cqvip.com>)
- ☆ 中国核心期刊(遴选)数据库(<http://wanfangdata.com.cn>)
- ☆ 中国生物医学文献服务系统(SinoMed) (<http://www.sinomed.ac.cn>)
- ☆ 中国台湾华艺中文电子期刊服务资料库—思博网(CEPS)(<http://www.ceps.com.tw>)
- ☆ 博看网(<http://www.bookan.com.cn>)、龙源期刊网(<http://www.qikan.com.cn>)
- ☆ 中国科学院科技论文预发布平台(ChinaXiv)(<http://chinaxiv.org>)
- ☆ 中国科学院科技期刊开放获取平台(CAS-OAJ)(<http://www.oaj.cas.cn>)
- ☆ 国家科技期刊开放平台 (<http://doaj.istic.ac.cn>)

广西植物
月刊, 1981年创刊
第42卷 第10期 2022年10月

GUIHAIA
Monthly, Started in 1981
Vol. 42 No. 10 Oct. 2022

主管单位: 广西科学院
主办单位: 广西壮族自治区 广西植物研究所
中国科学院
广西植物学会

名誉主编: 马克平
主 编: 李先琨
副 主 编: 蒋巧媛(常务) 李 莉
编辑单位: 《广西植物》编辑部
地 址: 桂林市雁山 邮编: 541006
电话/传真: (0773) 3550074
电子信箱: guihaia@gxib.cn
网 址: <http://www.guihaia-journal.com>

出版单位: 科学出版社
(北京东黄城根北街16号 邮编: 100717)
印刷装订: 桂林日报印刷厂
订购处: 全国各地邮局
总发行: 科学出版社
国内发行: 中国邮政集团公司桂林市分公司
海外总发行: 中国国际图书贸易集团有限公司
(北京399信箱)

Supervised by Guangxi Academy of Sciences
Sponsored by Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang
Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences
Guangxi Society of Botany
Honorary Editor-in-Chief: MA Keping
Editor-in-Chief: LI Xiankun
Associate Editors-in-Chief: JIANG Qiaoyuan(Managing) LI Li
Edited by Editorial Office of GUIHAIA
Addr.: Yanshan, Guilin 541006, Guangxi, China
Tel./Fax: 86-773-3550074
E-mail: guihaia@gxib.cn
<http://www.guihaia-journal.com>
Published by Science Press
(16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China)
Printed by Guilin Daily Printer (China)
Subscribed by All Local Post Offices in China
Distributed by Science Press
Domestically Distributed by Guilin Branch of China Post Group
Overseas Distributed by China International Book Trading Corporation
(P.O.Box 399, Beijing)

ISSN 1000-3142
CN 45-1134/Q

国内定价: 45.00元
国内邮发代号: 48-43
国外发行代号: MO-5054

版权所有 © 国内外公开发刊



(购买本刊请扫上方二维码)

ISSN 1000-3142

