

中国锦鸡儿属的分子系统发育

¹侯 鑫* ^{1,2}刘俊娥* ¹赵一之**

¹(内蒙古大学生命科学学院 呼和浩特 010021)

²(中国科学院微生物研究所 北京 100101)

Molecular Phylogeny of *Caragana* (Fabaceae) in China

¹Xin HOU* ^{1,2}Jun-E LIU* ¹Yi-Zhi ZHAO**

¹(College of Life Sciences, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

²(Institute of Microbiology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract ITS, *trnL-F* and *trnS-G* regions of 20 species of *Caragana* in China were sequenced, and these sampled species covered all recognized subgenera and sections in this genus. Separate phylogenetic analyses of the above DNA fragments generated concordant topologies and a combined analysis of these three datasets significantly improved the statistical supports of all identified clades. Species of subgen. *Caragana* firstly diverged as a monophyletic group in the phylogenetic tree, which was congruent with morphological study and geographical distribution of this taxon. Representative species of ser. *Occidentales* and ser. *Bracteolatae* formed one monophyletic clade, indicating that ser. *Occidentales* should be placed in sect. *Longspina*, which contains ser. *Bracteolatae*, but not in sect. *Spinosa* or sect. *Pruinosa*. Previous conclusion based on morphology that two series should be defined in sect. *Frutescentes* according to the shape of leaves was well supported by molecular phylogenetic data in the present study. Because the species of ser. *Dasyphyllae* had close relationships with those of ser. *Spinosa*, phylogenetic analysis did not merit the definition of two separate series in sect. *Spinosa*. Species of Subgen. *Jubatae* clustered together as a monophyletic clade, and thus should be put in one section, sect. *Jubatae*. In sect. *Jubatae*, species having legumina with smooth interior and those producing legumina with haired interior were respectively nested within two separate subclades, corresponding to two series in this section. In the phylogeny tree, sect. *Tragacanthoides*, defined by Sanczir, was shown to be polyphyletic, suggesting that species of sect. *Longspina*, sect. *Spinosa* and sect. *Jubatae* should be transferred out of this section. *Caragana ordosica* and *C. tibetica* had been treated as one species, yet in this study they were proved to be two different species, by genetic distance based on ITS sequences.

Key words *Caragana*, ITS, phylogeny, *trnL-F*, *trnS-G*.

摘要 测定了中国锦鸡儿属*Caragana*各属下分类群20个代表种的ITS、*trnL-F*和*trnS-G*序列。基于3种DNA片段的单独分析所获得的系统发育树具有相似的拓扑结构;3种片段的合并分析提高了各分支的支持度,并获得了相似的系统发育树。落轴亚属subgen. *Caragana*的种类构成了一个在系统树上首先分化出来的单系分支,与形态特征和地理分布的研究一致。短齿系ser. *Occidentales*和长齿系ser. *Bracteolatae*的代表种构成了1个单独的分支,因此短齿系应被放入长齿系所属刺叶组sect. *Longspina*而不是针刺组sect. *Spinosa*或sect. *Pruinosa*。分子系统学证据支持依据叶片宽窄在掌叶组sect. *Frutescentes*中再划分2个系的形态学研究结论;但ser. *Dasyphyllae*和针刺系ser. *Spinosa*的亲缘关系较近,系统发育分析的结果似乎不支持在针刺组中单独划分2个系。宿轴类的物种聚成一个单系的分支,因此应被处理为一个组——鬼箭组sect. *Jubatae*;荚果里面被毛和无毛的种类各自构成2个小支,支持依据该特征在组下分系。系统树显示Sanczir定义的sect. *Tragacanthoides*显然为多系类群,应将该组中所包含的刺叶组、针刺组、和鬼箭组的种类划分出来。基于ITS的遗传距离表明卷叶锦鸡儿*C. ordosica*与藏锦鸡儿*C. tibetica*应该是2个不同的种。

关键词 锦鸡儿属; ITS; 系统发育; *trnL-F*; *trnS-G*

2007-05-11 收稿, 2007-07-20 收修改稿。

* 两位作者对此文具有同等的贡献(Two authors contributed equally to this paper).

** 通讯作者(Author for Correspondence. Email:zhao.yizhi@eyou.com)

锦鸡儿属*Caragana*植物在世界上约有70余种,广布于欧亚大陆的温带地区,除欧洲有1个种分布外,其他种均分布在亚洲,尤以亚洲大陆中部种类最多,我国约有56种,占全部种类的80%以上,且

包含了属内的各代表类群, 从森林区到草原区、荒漠区都有分布, 但集中分布在草原区和荒漠区。

对该属的形态分类研究较多, 国外的如 Komarov (1908) 在该属中建立了8个系并记载55种植物; Pojarkova (1945) 则定义了12个系33种; Sanczir (1979; 1980) 与 Gorbunova (1984) 建立了一个较为完整的分类系统, 共记载了7个组26个系8个亚系75种。在国内, 继匡可任(1955)和刘瑛心(1993)的研究之后, 赵一之(1993)将属下划分3个亚属5个组10个系, 并基于形态特征初步讨论了属内一些分类群的系统演化关系。周道玮(1996)、周道玮等(2005)和张明理(1997)也对该属的组系划分、地理分布和基于形态的分支系统等进行了探讨。

总之, 锦鸡儿属植物分类和系统演化的研究现状是: 偏重形态和地理分布, 实验分类学证据以染色体、花粉形态积累较多, 但与系统排列无明确的相关性(张明理, 1997); 缺乏分子系统学的证据, 同时对于属内分类群的定义、系统位置和相互关系存在争议(讨论部分将详细探讨)。而该属植物形态变异复杂, 对环境(尤其是干旱和寒冷)的适应以及可能存在的杂交有时模糊了种间的形态学界限, 从而为种间亲缘关系、种的界定等系统学研究带来一系列困难, 如 *C. tibetica* 和 *C. ordosica*, *C. davazamcii* 和 *C. microphylla* (赵一之, 1993; Ma et al., 2003; Zhang, 2004; 侯鑫等, 2006), 这就需要结合新的、分子系统学的证据进行综合讨论。在分类群系统位置和分类群间关系方面如能结合分子系统发育的证据进行再讨论, 也可解决一些争议, 如: 建立 sect. *Tragacanthoides* 是否合理? Ser. *Acanthophyllae* 与 ser. *Occidentales* 等的系统位置如何? 赵一之(1993)定义的3个亚属间有无明确的系统演化关系? 划分是否合理? 等等。该属植物的起源、演变与迁移也一直是学者们研究和讨论的焦点, 虽然新的研究在不断进行(Zhang, 2004), 但这方面的探讨还远远没有结束, 尤其需要分子证据的支持。参照赵一之(1993)的系统, 我们采集了分亚属各个组系的20种代表植物, 测定了它们的ITS、*trnL-F* 和 *trnS-G* 序列, 希望借助分子系统学证据探讨该属植物的种间关系、属内分类群的系统位置, 结合形态和地理分布讨论分类群的起源与系统演化关系。同时也可以提供新的分子证据讨论上述分类学研究中一些争议问题。

我们在研究中同时选用了来自细胞核核糖体DNA(nrDNA)和叶绿体DNA(cpDNA)的片段进行测序, 它们都是植物系统学研究中最常用的分子标记。nrDNA的转录间隔区(ITS)进化速率较快, 且易于用通用引物PCR扩增和测序, 所以被广泛应用于属和属以下分类群的系统发育研究中(Soltis & Soltis, 1998; 高连明等, 2003; 刘艳玲等, 2005; 陈生云等, 2005; Li et al., 2006)。同时, 该核基因可以通过碱基的叠加(additivity)来验证种间杂交(Sang et al., 1995; 侯鑫等, 2006), 因而被广泛应用于网状进化研究中。尽管多数的叶绿体基因进化速率较慢, 因而主要用于探讨较高分类群的系统学问题, 但是一些进化比较快的叶绿体基因间隔区(如 *trnL-F*、*trnS-G* 等), 也可以被有效地应用于较低等级分类群的分子系统学研究中(Taberlet et al., 1991; Hamilton, 1998; 王玉金, 刘建全, 2004; 侯鑫等, 2006; 王亚玲等, 2006)。

单基因片段提供的系统发育信息是有限的, 以单基因片段为依据所构建的系统树往往只是该片段的基因树, 并不能真实地反映分类群的系统发育(Soltis et al., 1996; Wendel & Doyle, 1998)。基于此, 植物分子系统学研究已经发展为将多个依据独立片段构建的系统发育树进行比较分析, 然后进行合理的数据合并, 最终推断物种的系统发育关系(Soltis & Soltis, 1998; Wendel & Doyle, 1998; Sang, 2002)。本研究首先对上述3种DNA片段的序列独立分析并比较其系统树, 然后再合并分析, 以期为锦鸡儿属内的系统与进化研究提供新的可靠的资料。

1 材料和方法

1.1 材料

本研究材料来源见表1。样品处理采用硅胶干燥法, 在野外采集植物叶片后用变色硅胶迅速干燥, 叶片彻底干燥后存放于-80 °C冰箱备用。

1.2 总DNA提取、目的序列的PCR扩增以及DNA测序

从干燥的叶片中提取总DNA, 采用CTAB法并略加改进。聚合酶链式反应(PCR)扩增ITS序列的程序为: 70 °C 预热4 min, 2个循环的94 °C 变性1 min, 52 °C 退火20 s 和 72 °C 延伸50 s; 然后是35个循环的94 °C 变性20 s, 52 °C 退火20 s, 72 °C 延伸50 s,

表1 材料来源

Table 1 Source of materials

分类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地点 Locality	序列接收号 GenBank Accession No.		
			ITS	trn L-F	trn S-G
落轴亚属 Subgen. 1. Caragana					
锦鸡儿组 Sect. 1. Caragana					
大叶系 Ser. 1. Caragana					
树锦鸡儿 <i>C. sibirica</i> Fabr.	赵一之(Y. Z. Zhao) 01	内蒙古呼和浩特 Hohhot, Nei Mongol, China	AY626912	AY633698	AY710635
小叶系 Ser. 2. <i>Microphyllae</i> (Kom.) Pojark.					
小叶锦鸡儿 <i>C. microphylla</i> Lam.	宝音(Baoyin) 34	内蒙古锡林浩特 Xilinhot, Nei Mongol, China	AY626915	AY633701	AY710639
中间锦鸡儿 <i>C. davazamcii</i> Sancz.	杨九艳(J.Y. Yang) 03	内蒙古乌审旗 Uxin Qi, Nei Mongol, China	AY626913	AY633699	AY710637
柠条锦鸡儿 <i>C. korshinskii</i> Kom.	赵一之(Y. Z. Zhao) 08	内蒙古呼和浩特 Hohhot, Nei Mongol, China	AY626914	AY633700	AY710638
柄荚系 Ser. 3. <i>Stipitatae</i> (Kom.) Y. Z. Zhao					
秦晋锦鸡儿 <i>C. purdomii</i> Rehd.	赵一之(Y. Z. Zhao) 32	内蒙古准格尔旗 Jungar Qi, Nei Mongol, China	DQ914784	DQ914752	DQ914768
宿轴亚属 Subgen. 2. Jubatae Y. Z. Zhao					
鬼箭组 Sect. 2. Jubatae(Kom.)Y. Z. Zhao					
光荚系 Ser. 4. <i>Jubatae</i> Kom.					
荒漠锦鸡儿 <i>C. roborovskii</i> Kom.	赵一之(Y. Z. Zhao) 28	内蒙古乌海 Wuhai, Nei Mongol, China	DQ914781	DQ914749	DQ914765
鬼箭锦鸡儿 <i>C. jubata</i> (Pall.) Poir.		甘肃夏河 Xiahe, Gansu, China	DQ914787	DQ914756	DQ914772
毛荚系 Ser. 5. <i>Leucospinae</i> Y. Z. Zhao					
藏锦鸡儿 <i>C. tibetica</i> Kom.	赵一之(Y. Z. Zhao) 41	甘肃夏河 Xiahe, Gansu, China	DQ914789	DQ914745	DQ914761
卷叶锦鸡儿 <i>C. ordosica</i> Y. Z. Zhao, Z. Y. Zhu & L. Q. Zhao	赵一之(Y. Z. Zhao) 27	内蒙古乌海 Wuhai, Nei Mongol, China	DQ914780	DQ914748	DQ914764
宿落轴亚属 Subgen. 3. Frutescentes Y. Z. Zhao					
刺叶组 Sect.3. Longispinae Gorb.					
短齿系 Ser. 6. <i>Occidentales</i> Kom					
刺叶锦鸡儿 <i>C. acanthophylla</i> Pojark.	赵一之(Y. Z. Zhao) 20	吐鲁番植物园 Turpan Botanical Garden, China	DQ914778	DQ914746	DQ914762
长齿系 Ser. 7. <i>Bracteolatae</i> Kom.					
二色锦鸡儿 <i>C. bicolor</i> Kom.	侯鑫 (X. Hou) 42	四川小金 Xiaojin, Sichuan, China	DQ914790	DQ914758	DQ914774
针刺组 Sect. 4. Spinosae (Kom.) Y. Z. Zhao					
针刺系 Ser. 8. <i>Spinosae</i> (Kom.) Y.Z. Zhao					
粗毛锦鸡儿 <i>C. dasphylla</i> Pojark.	吴文豹(W. B. Wu) 38	新疆和静 Hejing, Xinjiang, China	DQ914786	DQ914755	DQ914771
边塞锦鸡儿 <i>C. bongardiana</i> Pojark.	赵一之(Y. Z. Zhao) 24	民勤植物园 Minqin Botanical Garden, China	DQ914777	DQ914753	DQ914769
绢毛锦鸡儿 <i>C. hololeuca</i> Bunge ex Kom.	赵一之(Y. Z. Zhao) 21	吐鲁番植物园 Turpan Botanical Garden, China	DQ914779	DQ914747	DQ914763
掌叶组 Sect. 5. Frutescentes (Kom.) Sancz.					
宽叶系 Ser. 9. <i>Frutescentes</i> Kom.					
锦鸡儿 <i>C. sinica</i> (Buchoz) Rehd.	张寿洲(S. Z. Zhang) 36	深圳仙湖植物园 Xianhu Botanical Garden, Shenzhen, China	DQ914785	DQ914754	DQ914770
白毛锦鸡儿 <i>C. licentiana</i> Hand- Mazz.	赵利清(L. Q. Zhao) 37	宁夏贺兰山 Mt. Helan, Ningxia, China	DQ914776	DQ914744	DQ914760
红花锦鸡儿 <i>C. rosea</i> Turcz. ex Maxim.	赵一之(Y. Z. Zhao) 02	内蒙古呼和浩特 Hohhot, Nei Mongol, China	DQ914775	DQ914743	DQ914759
狭叶系 Ser.10. <i>Pygmaeae</i> Kom.					
短脚锦鸡儿 <i>C. brachypoda</i> Pojark	赵一之(Y. Z. Zhao) 30	内蒙古乌海 Wuhai, Nei Mongol, China	DQ914783	DQ914751	DQ914767
密叶锦鸡儿 <i>C. densa</i> Kom.	赵一之(Y. Z. Zhao) 40	甘肃夏河 Xiahe, Gansu, China	DQ914788	DQ914757	DQ914773
狭叶锦鸡儿 <i>C. stenophylla</i> Pojark.	赵一之(Y. Z. Zhao) 29	内蒙古乌海 Wuhai, Nei Mongol, China	DQ914782	DQ914750	DQ914766

随后72 °C延伸7 min。*trn* L-F序列的扩增程序为: 94 °C预变性3 min, 35个循环的94 °C变性30 s, 57 °C退火30 s, 72 °C延伸90 s; 随后72 °C延伸7 min。*trn* S-G序列的扩增程序为: 94 °C预变性5 min, 35个循环的94 °C变性30 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸90 s; 随后72 °C延伸7 min。ITS序列扩增采用通用引物ITS1 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990); *trn* L-F序列扩增采用通用引物c (5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3')和通用引物f (5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3') (Taberlet et al., 1991)。*trn* S-G序列扩增采用通用引物扩增, P1: 5'-GCCGCTTTAGTCCACTCAGC-3', P2: 5'-GAA-CGAATCACACTTTTACCAC-3' (Hamilton, 1998)。

扩增产物直接由上海生工公司进行纯化和测序, 如出现重叠峰则克隆后再测序(侯鑫等, 2006); 所用序列均进行双向测序并用Vector NTI软件拼接, 以保证测序结果的可靠性。

1.3 数据分析

序列用CLUSTAL W (Thompson et al., 1994)软件进行对位排列(alignment)后再进行手工校正。系统发育分析采用PAUP 4.0版beta 10 (Swofford, 2002)中的简约法(Parsimony)和似然法(Likelihood)进行, MP分析设置如下选项: 启发式搜索(heuristic search)、100次重复的随机加入(random addition of 100 replicates)、多重性选择(MULPARS)和ACCTRAN优化; 对于由序列长度多态性所造成的空位(gap), 在运算中处理为缺失(missing)状态。ML分析依据HKY序列进化模式(Hasegawa et al., 1985), 也使用启发式搜索。均使用1000次重复的自展(bootstrap)检验评价系统发育树拓扑结构的可靠性(Felsenstein, 1985)。同时, 使用分化同质性检验(partition homogeneity test)对依据ITS、*trn*L-F和*trn*S-G片段所构建的系统树的拓扑一致性进行评价

(Johnson & Soltis, 1998), 检测进行1000次重复。然后在系统发育树间不存在显著冲突的前提下将数据合并再进行系统发育分析。在构建锦鸡儿属植物系统树时选用同属蝶形花亚科Papilionoideae的槐属*Sophora* L.常见植物槐*S. japonica* L.为外类群, 既可产生明显区分, 又未造成序列对位困难(洪亚平等, 2001; 王亚玲等, 2006)。序列间进化距离根据Kimura-2参数遗传距离模型用MEGA计算(Kimura, 1981; Kumar et al., 1993)。

2 结果

2.1 序列特点

新测定的20种锦鸡儿属植物的ITS、*trn*L-F和*trn*S-G序列的GenBank序列接收号见表1。不包括外类群, ITS序列的扩增长度为676–691 bp, 对位排列后长度为700 bp, 包括58个变异位点, 其中47个为信息位点。该片段包括ITS1 (257–266 bp)、5.8S (164 bp)和ITS2 (255–261 bp), ITS1含信息位点25个, 5.8S序列含信息位点2个, ITS2含信息位点20个。*trn*L-F序列扩增后长度为1009–1022 bp, 对位排列后长度为1033 bp, 包括82个变异位点, 其中51个为信息位点。该片段包括*trn*L (UAA)基因的内含子(intron)和3'外显子(exon), 以及*trn*L (UAA)-*trn*F(GAA)基因间隔区(IGS)。*trn*S-G序列扩增后长度为514–524 bp, 对位排列后长度为531 bp, 包含29个变异位点, 其中22个为信息位点。ITS序列提供的信息(6.7%)较*trn*L-F序列(4.9%)和*trn*S-G序列(4.1%)多, 详细信息见表2。

2.2 系统发育分析

对ITS、*trn*L-F序列和*trn*S-G序列分别采用最大简约法和最大似然法进行系统发育分析。ITS序列获得最简约树22棵, *trn* L-F序列获得最简约树13棵, *trn*S-G序列获得最简约树15棵。表2中列出了其严格

表2 各DNA序列分析的参数

Table 2 Parameters for each DNA sequence analysis

DNA序列 DNA sequence	序列对位长度 Aligned length (bp)	变异位点 Variable site	信息位点 Informative site	信息位点(%) Informative site (%)	GC (%)	树长 Tree length	CI	RI
ITS	700	58	47	6.7	72	80	0.93	0.91
<i>trn</i> L-F	1033	82	51	4.9	35	211	0.97	0.92
<i>trn</i> S-G	531	29	22	4.1	52	56	0.89	0.86
ITS/ <i>trn</i> L-F/ <i>trn</i> S-G	2264	169	120	5.3	50	339	0.92	0.89

一致树的树长、一致性指数(CI)和保持指数(RI)。对于每个序列的分析,最大似然法得到的系统发育树在分支结构上与最大简约树完全一致,仅自展支持率略有不同;而基于3种序列分别得到的MP树在拓扑结构上也基本一致,仅trnS-G的树在*C. densa*、*C. brachypoda*和*C. stenophylla*所构成的小支上与ITS和trnL-F的树有所不同(基于单个序列的树未示出)。

2.3 拓扑一致性及序列合并分析

对来自ITS、trnL-F和trnS-G的数据进行分化同质性检验,结果表明依据3个序列所构建的基因树不存在显著冲突: $P=1.00$ (ITS/trnL-F), $P=0.84$ (ITS/trn S-G), $P=0.87$ (trn L-F/trn S-G)。将三组数据合并进行分析,得到的唯一最简约树(CI=0.92,

RI=0.89)和最大似然树拓扑结构仍然相同,并与基于ITS和trnL-F的单个基因树相同,但各分支的支持率有所提高。图1示出合并分析的唯一最简约树,并在分支上从上到下依次标出了合并分析的和基于ITS、trn L-F序列的自展支持率。如图1所示,20种锦鸡儿属植物分为3支,大叶系的树锦鸡儿和小叶系的小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿、柠条锦鸡儿以及柄荚系的秦晋锦鸡儿构成一个支持率较高的分支并最先分化出来。而来自短齿系、长齿系、针刺系、宽叶系和狭叶系的代表种则聚为另一个分支,自展支持率同样较高,尤其是合并分析后;其姊妹群是由来自光荚系的荒漠锦鸡儿、鬼箭锦鸡儿与来自毛荚系的藏锦鸡儿和卷叶锦鸡儿构成的第三个分支。

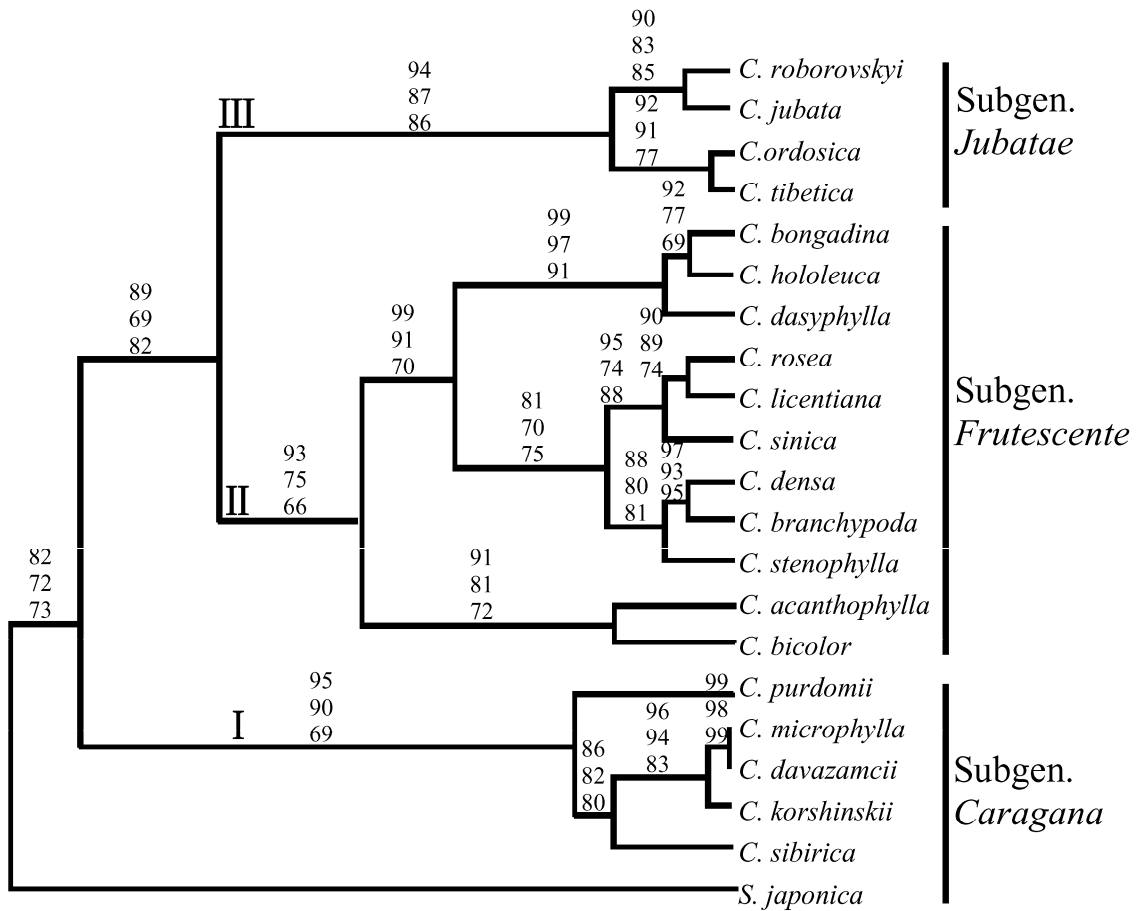


图1 ITS、trn L-F和 trn S-G序列合并分析的唯一最简约树 分支上的数字从上到下依次为合并序列的与基于ITS和trnL-F的自展支持率(%)。 Fig. 1. The single most parsimonious tree based on combined ITS, trnL-F and trnS-G sequences. Numbers above branches indicate bootstrap values (%) from combined sequences, ITS and trnL-F, respectively.

3 讨论

图1中3个单系的分支分别对应于赵一之(1993)依据形态学特征划分的3个亚属: 落轴亚属、宿落轴亚属和宿轴亚属, 表明我们的分子系统学证据支持上述形态学研究; 而盛红梅等(2005)基于RAPD数据研究了11种锦鸡儿属植物的遗传关系, 其结果同样支持赵一之(1993)的亚属划分。

分支I是系统发育树中首先分化出来的分支, 所包含的5种植物: 树锦鸡儿、秦晋锦鸡儿、小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿和柠条锦鸡儿, 均为叶轴全部脱落的种类, 且小叶3-10对全部羽状着生, 分布于我国北方东部和中部的森林区、草原区和荒漠区。上述种类属于落轴亚属, 事实上该亚属中多数种类为东亚森林或草原分布种(Komarov, 1908; 赵一之, 1993)。Komarov (1908)认为锦鸡儿属植物可能起源于东亚某一地区, 由于东亚大陆远较亚洲中部大陆古老, 本属现存植物中分布于东亚的温带中生类群——也就是落轴亚属中的种类应该也是比较原始的类群。在该分支中, 小叶系的小叶锦鸡儿、中间锦鸡儿、柠条锦鸡儿聚为一个支持率很高(83%-96%)的小支, 该类群植物花萼长显著大于宽、萼齿尖锐、小叶较小、子房全部无柄, 为适应半干至干旱气候的草原灌木和荒漠灌木; 而柄荚系和大叶系的植物则花萼长宽近相等、萼齿短钝、小叶较大、子房有的具柄, 为适应湿润气候的森林种。研究中分别选秦晋锦鸡儿和树锦鸡儿为这2个系的代表种, 小叶系植物先与大叶系的树锦鸡儿构成姊妹群(支持率80%-86%), 最后与柄荚系的秦晋锦鸡儿聚在一起, 赵一之(1993)将上述3个系归入落轴亚属唯一的组——锦鸡儿组中。关于锦鸡儿组没有明显的争议。

在分支II中, 刺叶锦鸡儿和二色锦鸡儿单独聚为一小支, 它们共同的形态特征是小叶3-9对全部羽状着生; 但前者萼齿短、荚果里面无毛, 适应荒漠区山地草原气候环境, 而后者萼齿长、荚果里面被毛, 适应青藏高原的高寒气候环境。张明理(1997)在处理Sanczir (1980)的sect. *Tragacanthoides*时, 设立了一个组 sect. *Bracteolatae* (源于Gorbunova (1984)的subsect. *Longspina*, 也即赵一之(1993)的刺叶组), 并主要依据地理分布定义了ser. *Bracteolatae*和ser. *Ambiguae*, 而将以刺叶锦鸡儿为代表的ser. *Acanthophyllae*归入另外的一个组sect. *Spinosae*中;

周道玮(1996)则重新定义了sect. *Longspina*而且只设立了1个系: ser. *Bracteolatae*, 而将以刺叶锦鸡儿为代表的ser. *Occidentales*放入sect. *Pruinosa* (Gorb.) D. W. Zhou中。分子系统学的证据不支持上述2种观点, 相反地, 由于短齿系的代表种刺叶锦鸡儿和长齿系的代表种二色锦鸡儿构成了1个单独的分支, 显示了比较近的亲缘关系, 应放入同一个组中, 即赵一之(1993)将二者置于原Gorbunova (1984)定义的刺叶组sect. *Longspina*中。

同样在分支II中, 短脚锦鸡儿*C. brachypoda*、密叶锦鸡儿*C. densa*和狭叶锦鸡儿*C. stenophylla*聚为一个小支, 它们的小叶狭窄, 条形、条状倒披针形或倒披针形, 先端通常锐尖或渐尖; 而小叶较宽, 倒卵形、矩圆状倒卵形或楔状倒卵形, 先端圆钝、平截或微凹的锦鸡儿*C. sinica*、白毛锦鸡儿*C. licentiana*和红花锦鸡儿*C. rosea*则聚为另一个支持率较高的小分支。这2个类群的共同特征是: 长枝叶轴宿存、短枝叶轴脱落, 小叶2对, 全部假掌状着生。这与张明理(1997)和赵一之(1993)依据叶片宽窄在Sanczir的掌叶组中再划分2个系的形态学研究结论一致。

张明理(1997)在处理Sanczir (1980)的sect. *Tragacanthoides*时还设立了针刺组sect. *Spinosae*, 含3个系: ser. *Acanthophyllae*、针刺系ser. *Spinosae*和Ser. *Dasyphyllae*。关于ser. *Acanthophyllae*的位置已经讨论过; 代表ser. *Dasyphyllae*的粗毛锦鸡儿*C. dasyphylla*和针刺系的绢毛锦鸡儿*C. hololeuca*和边塞锦鸡儿*C. bongardiana*构成了一个单系的小分支, 序列间进化距离的结果(数据未示出)同样表明它们具有很近的亲缘关系, 这似乎不支持组下再划分2个系的形态学研究结论, 但由于本研究中采集到的种类较少, 尚不足以定论。

在分子系统树中, 来自刺叶组、掌叶组和针刺组的种类各自构成小的系统分支, 并互为姊妹群聚成一个支持率很高的分支(II), 这支持赵一之(1993)根据“长枝叶轴宿存且短枝叶轴脱落”的共同特征将上述分类群归入一个亚属——宿落轴亚属的形态学研究结果。

分支III由2个支持率很高的小支构成, 荒漠锦鸡儿*C. roborovskii*和鬼箭锦鸡儿*C. jubata*聚成其中一个小支, 而藏锦鸡儿*C. tibetica*和卷叶锦鸡儿*C. ordosica*构成另一个小支。上述种类均为叶轴全部

宿存,不同的是前二者荚果里面无毛,而后二者荚果里面被毛。这支持周道玮等(2005)、张明理(1997)和赵一之(1993)将宿轴类做一组(sect. *Jubatae*)、而且根据荚果内具毛或无毛在组中分系的处理方案,只是赵一之(1993)在组上又建立了宿轴亚属。值得一提的是,藏锦鸡儿和卷叶锦鸡儿基于ITS的种间遗传距离为0.0764,接近该属植物其他种间的遗传距离,作者认为应为2个不同的种,前者分布在青藏高原而后分布者分布在蒙古高原南部和鄂尔多斯高原西部(赵一之等, 2005)。

Sanczir (1980)把本属分成3个组:锦鸡儿组、掌叶组和sect. *Tragacanthoides*。其中前2组界限较为明确,但是对于sect. *Tragacanthoides*争议较大,本研究所构建的系统发育树也表明sect. *Tragacanthoides*很显然是多系类群,因此支持将该组中所包含的刺叶组、针刺组和鬼箭组划分出来。而周道玮(1996)虽沿用了sect. *Tragacanthoides*,但事实上在该组内的种类只有宿轴类;张明理(1997)对该组也做了相应处理,前文已述及。

致谢 国家自然科学基金(30260010)资助。

参考文献

- Chen S-Y (陈生云), Chen S-L (陈世龙), Xia T (夏涛), Wang J-Y (王玉金). 2005. Phylogeny of *Metagentiana* and related genera (Gentianaceae) inferred from nuclear ribosomal ITS sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 43: 491–502.
- Felsenstein J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 39: 783–791.
- Gao L-M (高连明), Li D-Z (李德铎), Zhang C-Q (张长芹). 2003. Phylogenetic relationships of *Rhododendron* section *Azaleastrum* (Ericaceae) based on ITS sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 41: 173–179.
- Gorbunova NB. 1984. On systematics of the genus *Caragana* Lam. (Fabaceae). *New System of Vascular Plant* 21: 92–101.
- Hamilton MB. 1998. Four primers for the application of chloroplast intergenic regions with intraspecific variation. *Molecular Ecology* 8: 521–522.
- Hasegawa M, Kishino H, Yano T. 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *Journal of Molecular Evolution* 22: 160–174.
- Hong Y-P (洪亚平), Chen Z-D (陈之端), Lu A-M (路安民). 2001. Phylogeny of the tribe Menispermaceae (Menispermaceae) reconstructed by ITS sequence data. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 39: 97–104.
- Hou X (侯鑫), Liu J-E (刘俊娥), Zhao Y-Z (赵一之), Zhao L-Q (赵利清). 2006. Interspecific relationships of *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* (Leguminosae) based on ITS and *trnL-F* data sets. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 126–134.
- Johon LA, Soltis DE. 1998. Assessing congruence: Empirical examples from molecular data. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ eds. *Molecular systematics of plants*. Boston: Kluwer Academic Publishers. 1–42.
- Kimura M. 1981. Estimation of evolutionary distances between homologous nucleotide sequence. *Journal of Molecular Evolution* 16: 111–120.
- Komarov VL. 1908. *Generis Caragana Monographia*. *Acta Horti Petrop.* 29 (2): 177–388.
- Kuang K-R (匡可任). 1955. *Caragana*. In: *Illustration of main plants of China, Leguminosae*. Beijing: Science Press. 314–57.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 1993. MEGA: molecular evolutionary genetic analysis. Version 1.01. Institute of Molecular Evolutionary Genetics, Pennsylvania State University.
- Li Z-M (李志明), Li J (李捷), Li X-W (李锡文). 2006. Polyphyly of the genus *Actinodaphne* (Lauraceae) inferred from the analyses of nrDNA ITS and ETS sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 272–285.
- Liu Y-L (刘艳玲), Xu L-M (徐立铭), Ni X-M (倪学明), Zhao J-R (赵家荣). 2005. Phylogeny of the Nymphaeaceae inferred from ITS sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 43: 22–30.
- Liu Y-X (刘璞心). 1993. *Caragana*. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*. Beijing: Science Press. 42: 13–67.
- Ma C-C, Gao Y-B, Liu H-F, Wang J-L, Guo H-Y. 2003. Interspecific transition among *Caragana microphylla*, *C. davazamcii* and *C. korshinskii* along geographic gradient. I. Ecological and RAPD evidence. *Acta Botanica Sinica* 45: 1218–1227.
- Pojarkova A I. 1945. The genus *Caragana* Lam. In: *Flora of URSS*. Moscow & Leningrad: NAUKA Press. 11: 327–330.
- Sanczir Ch. 1979. The genus *Caragana* Lam. In: *Study of flora and vegetation of Mongolia*. Ulan-Bator: Cosizdat. 1: 248–388.
- Sanczir Ch. 1980. Conspectus of the species of the *Caragana* Lam. *Works of the Institute of Botany Academy of Sciences MPR* 4: 106–133.
- Sang T, Crawford DJ, Stuessy YF. 1995. Documentation of reticulate evolution in peonies (*Paeonia*) using internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA: implications for biogeography and concerted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 6813–6816.
- Sang T. 2002. Utility of low-copy nuclear gene sequences in plant phylogenetics. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 37: 121–147.
- Sheng H-M (盛红梅), Chen T (陈拓), An L-Z (安黎哲), Zheng X-L (郑晓玲), Pu L-L (蒲玲玲), Liu Y-J (刘亚洁), Sun X-G (孙学刚). 2005. Genetic diversity and relationships among species of *Caragana* Fabr. *Journal of Desert Research* (中国沙漠) 25: 697–701.
- Soltis DE, Johnson LA, Looney C. 1996. Discordance between ITS and chloroplast topologies in the *Boykinia* group (Saxifragaceae). *Systematic Botany* 21: 169–185.
- Soltis DE, Soltis PS. 1998. Choosing an approach and an

- appropriate gene for phylogenetic analysis. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ eds. Molecular systematics of plants. II. DNA sequencing. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- Swofford DL. 2002. PAUP* 4.0: Phylogenetic analysis using parsimony (*, and other methods). Beta version 4.0 b10. Sunderland: Sinauer Associates.
- Taberlet P, Gielly L, Pautou G, Bouvet J. 1991. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. *Plant Molecular Biology* 17: 1105–1109.
- Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673–4680.
- Wang J-Y (王玉金), Liu J-Q (刘建全). 2004. A preliminary investigation on the phylogeny of *Saussurea* (Asteraceae: Cardueae) based on chloroplast DNA *trnL-F* sequences. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 42: 136–153.
- Wang Y-L (王亚玲), Li Y (李勇), Zhang S-Z (张寿洲), Yu X-S (余兴生). 2006. The utility of *matK* gene in the phylogenetic analysis of the genus *Magnolia*. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 135–147.
- Wendel JF, Doyle JJ. 1998. Phylogenetic incongruence: window into genomes history and molecular evolution. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle II eds. Molecular systematics of plants. II. DNA sequencing. Boston: Kluwer Academic Publishers.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ eds. PCR protocols: A guide to methods and applications. San Diego: Academic Press. 315–322.
- Zhang M-L (张明理). 1997. A reconstructing phylogeny in *Caragana* (Fabaceae). *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究) 19: 331–341.
- Zhang M-L. 2004. Ancestral area analysis of the genus *Caragana* (Leguminosae). *Acta Botanica Sinica* 46: 253–258.
- Zhao Y-Z (赵一之), Zhu Z-Y (朱宗元), Zhao L-Q (赵利清). 2005. *Caragana ordosica*, a new species of *Caragana* (Leguminosae). *Bulletin of Botanical Research* (植物研究) 25: 385–387.
- Zhao Y-Z (赵一之). 1993. Taxonomic study of the genus *Caragana* from China. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol* (内蒙古大学学报自然科学版) 24: 631–653.
- Zhou D-W (周道玮). 1996. Classification of genus *Caragana*. *Journal of Northeast Normal University* (东北师范大学学报) 4: 69–76.
- Zhou D-W (周道玮), Liu Z-L (刘钟龄), Ma Y-C (马毓泉). 2005. The study on phytogeographical distribution and differentiation of *Caragana* Fabr., Leguminosae. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究) 25: 471–487.