

基于序列

王璐^{1,2} 雷耘^{1*} 张明理^{2,3*}

¹华中师范大学生命科学学院, 武汉 430079; ²中国科学院干旱区生物地理与生物资源重点实验室, 中国科学院新疆生态与地理研究所, 乌鲁木齐 830011; ³中国科学院植物研究所, 北京 100093

摘要 榉属(*Zelkova*)是包含6个种的榆科小属, 呈东亚、西亚和南欧间断分布。该文基于DNA序列

关键词 地理分布格局, 分子系统发育, 榆科, 榉属

A preliminary study of molecular phylogeny and biogeography distribution pattern of *Zelkova* inferred from *trnL-trnF* and nrITS sequences

WANG Lu^{1,2}, LEI Yun^{1*}, and ZHANG Ming-Li^{2,3*}

¹College of Life Science, Central China Normal University, Wuhan 430079, China; ²Key Laboratory of Biogeography and Bioresources in Arid Land, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Ürümqi 830011, China; and ³Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract

Aims *Zelkova*, belongs to the Ulmaceae, consists of only six species and has a disjunct distribution in East Asia, West Asia and South Europe. Molecular phylogenetic analysis and dispersal and vicariance analysis (DIVA) were employed to analyze phylogenetic relationships and biogeographic pattern of *Zelkova*.

Methods The phylogenetic tree was reconstructed based on DNA sequences of *trnL-trnF* and ITS regions. The analysis of DIVA was used to deduce the biogeographic pattern.

Important findings Results showed that three phylogenetic clades exist in *Zelkova*, and they correspond to groups from East Asia, West Asia and South Europe. The present phylogenetic tree is different from that in previous study based on nrITS region. DIVA analyses of this genus indicated that the ancestral area of *Zelkova* was a larger area including East Asia, West Asia and South Europe. The speciation process was dominant by vicariance. Each of the three areas was gradually separated from vicariant events. Based on the high level of species diversity of *Zelkova* in East Asia, the center of origin is probably the northern Pacific, i.e., north of China and Japan. The current distribution pattern of this genus was likely shaped by historical geological and environmental events, such as the retreat of Tethys, the Qinghai-Xizang Plateau uplift and the Quaternary glaciations that shrank distribution areas.

Key words biogeography distribution pattern, molecular phylogeny, Ulmaceae, *Zelkova*

榉属(*Zelkova*)是一个东亚、西亚和南欧间断分布的包含6个种的榆科小属。包括南欧特有的*Z. abelicea*和*Z. sicula*, 西亚特有的*Z. carpinifolia*, 以及东亚的大叶榉树(*Z. schneideriana*), 大果榉(*Z.*

sinica)和榉树(*Z. serrata*), 其中大叶榉树和大果榉是中国特有种(图1) (Rechinger, 1979; 傅立国和洪涛, 2000; 萨仁和苏德毕力格, 2003)。

榉属是由Spach于1841年首先建立的, 当时置

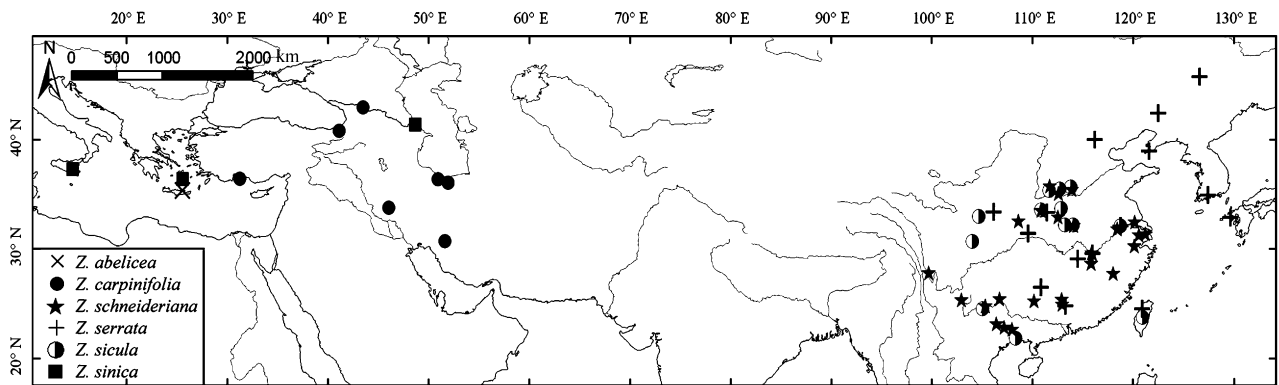


图1 榉属的分布格局。

Fig. 1 Distribution pattern of *Zelkova*.

于荨麻科(Urticaceae)中。该属植物以乔木、雌雄同株、叶互生具齿、羽状脉、托叶分离、花被4–5裂片与雄蕊同数、子房无柄、核果等共有形态特征组成一个明显的单系类群(Wang *et al.*, 2001)。自榉属建立以来, 榉属植物有效发表的学名众多, Czerepanov (1957)首先对全世界榉属植物进行分类修订, 将榉属归为6种, 分别为: *Z. abelicea*、榉树、*Z. carpinifolia*、大叶榉树、大果榉, 以及分布于中国台湾的*Z. formosana* (Hayata, 1920), 而*Z. formosana*被后人证实是榉树的变异。此后, di Pasquale等(1992)根据分布于意大利西西里岛的标本发表了新种*Z. sicula*, 使现存榉属植物组成仍为6种。

该属植物是第三纪温带森林的孑遗成分, 第三纪末期的喜马拉雅造山运动及第四纪的冰川作用被推测是榉属植物演化的主要动力(萨仁和苏德毕力格, 2003)。在早期新生代发现的位于北美西部的类似于大叶榉树的化石被认为是最老的榉属化石(Burnham, 1986), 而大叶榉树被认为是榉属比较原始的种类, 现分布在东亚, 所以推测榉属很可能是北太平洋起源的(Denk & Grimm, 2005)。在欧亚大陆西部和东部地区, 此属被报道有始新世到上新世的化石, 晚新生代更为常见(Tralau, 1963; Liu *et al.*, 1996)。大多数学者提到榉属化石的叶形态型的特征与现代东亚榉树化石和亚洲西南部的*Z. carpinifolia*化石类似(Mädler, 1939; Tralau, 1963; Mai, 1995; Knobloch, 1998)。但对在早期的北美西部新生代(Tanai & Wolfe, 1977; Burnham, 1986; Manchester, 1989, 1990; Meyer & Manchester, 1997)发现的榉属

化石的认证仍然存在一些问题, Manchester (1989, 1990)认为北美发现的化石不是榉属植物, 仅仅是与榉属植物相似, 因为其叶片更窄, 叶缘锯齿更少, 且没有果实证据。而现存的榉属植物的果实化石通常出现在欧洲和亚洲, 在北美没有发现。榉属植物的现代地理分布特点及化石证据说明该属曾经是欧亚大陆的古地中海分布属(萨仁和苏德毕力格, 2003)。Wang等(2001)分析了榉属的叶片形态和表皮特征, 认为榉属植物叶片特征的变化是适应早化、寒化演化的。Nakagawa等(1998)研究发现东亚地区榉属的花粉粒较小, 而欧洲的较大, 其中*Z. sicula*的最大, 花粉直径大于所有其他榆科物种, 而且染色体为三倍体结构。

基因间隔序列(ITS)是衔接18S RNA、5.8S RNA和25S RNA的基因间隔序列(Hemleben *et al.*, 1988), *trnL-trnF*基因位于叶绿体中, 综合这两种序列的分析结果可以作为样本和分析的考量。Wang等(2001)根据榉属的形态学将其分成两个部分, 欧亚西部的*Z. abelicea*、*Z. carpinifolia*、*Z. sicula*, 以及东亚的榉树、大叶榉树、大果榉。Denk和Grimm (2005)利用核DNA ITS序列和形态学数据构建榉属的系统发育树, 得出的结果为东亚的大叶榉树和大果榉这两个种形成一个分支, 东亚的榉树和地中海两个种——*Z. abelicea*和*Z. sicula*组成一个分支, 而西亚的*Z. carpinifolia*出现在这两个分支之间。这个结果与形态学结果以及地理分布都有较大差异, 更深入的分子系统研究是极其必要的。本研究拟基于叶绿体DNA *trnL-trnF*和ITS序列, 探讨榉属的系统发育关

系和生物地理问题。

1 材料和方法

1.1 材料选取

植物材料取自野外、标本馆或植物园, 详见表1。

选取榆科其他几个属的物种作为外类群: 大叶朴(*Celtis koraiensis*)、青檀(*Pteroceltis tatarinowii*)、刺榆(*Hemiptelea davidii*)、多脉榆(*Ulmus castaneifolia*)、美洲榆(*U. americana*)、榆树(*U. pumila*)、脱皮榆(*U. lamellosa*)。

1.2 DNA测序

对于所有物种, 我们选取了核基因组的ITS和叶绿体的*trnL-trnF*片段进行扩增测序和系统发育分析。

本文中绝大部分种类的序列为我们所测, 只有两个种(*Zelkova schneideriana*和*Z. sicula*)以及3个外类群(刺榆2、青檀2和美洲榆2)的ITS序列下载于Gen-Bank (表1)。

总DNA的提取: 改良后的CTAB法提取硅胶干燥或标本馆藏的叶片总DNA(Doyle & Doyle, 1987)。

DNA序列的扩增: 对于PCR扩增的rDNA的ITS区和cpDNA的*trnL-trnF*非编码区序列所使用的引物, ITS引物为ITS1-f (5'-AGAAGTCGTAACAAGG-TTTCCGTAGC-3') (Kang *et al.*, 2003) 和ITS4-r (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990); *trnL-trnF*引物为*trnL* (TabC) (5'-CGAA-ATCGGTAGACGCTACG-3')和*trnF* (TabF) (5'-ATT-TGAACTGGTGACACGAG-3') (Taberlet *et al.*, 1991)。相同的引物也用于DNA测序。

表1 实验材料来源以及Gen-Bank检索号

Table 1 List of sampling taxa with vouchers and Gen-Bank accession numbers

物种 Species	来源 Voucher\Source	Gen-Bank	
		ITS	<i>trnL-trnF</i>
<i>Zelkova abelicea</i> 1	希腊克里特岛 Crete, Greece, Heinrich and Wagner, 378 (SZU)	KC843951	KC843966
<i>Z. carpiniifolia</i> 1	德国柏林植物园 Berlin Botanical Garden, Berlin, Germany, 064-92-74-80	KC843945	KC843960
<i>Z. carpiniifolia</i> 2	德国美茵兹大学植物园 Mainz University Botanical Garden, Mainz, Germany, 506\1	KC843946	KC843962
大叶榉树1 <i>Z. schneideriana</i> 1	德国柏林植物园 Berlin Botanical Garden, Berlin, Germany, 033-06-89-70	AJ622865.1	KC843959
大叶榉树2 <i>Z. schneideriana</i> 2	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	-	KC843965
榉树1 <i>Z. serrata</i> 1	重庆市巫溪县 Wuxi, Chongqing, 陈彦生等, 1473; Chen <i>et al.</i> , 1473	KC843947	KC843958
榉树2 <i>Z. serrata</i> 2	德国美茵兹大学植物园 Mainz University Botanical Garden, Mainz, Germany, 621\1	KC843949	KC843961
榉树3 <i>Z. serrata</i> 3	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843950	KC843964
榉树4 <i>Z. serrata</i> 4	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843948	
<i>Z. sicula</i> 1	意大利西西里岛 Sicily, Italy, A. TROIA, 08\7\2002	AJ622883.1	-
大果榉1 <i>Z. sinica</i> 1	中国科学院武汉植物园 Wuhan Botanical Garden, CAS	-	KC843963
外类群 Outside species			
大叶朴 <i>Celtis koraiensis</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843956	KC843967
刺榆 <i>Hemiptelea davidii</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843955	KC843969
刺榆2 <i>H. davidii</i> 2	-	AJ622834.1	-
青檀 <i>Pteroceltis tatarinowii</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843957	KC843968
青檀2 <i>P. tatarinowii</i> 2	-	-	AF501597.1
美洲榆 <i>Ulmus americana</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843954	KC843971
美洲榆2 <i>U. americana</i> 2	-	-	AF501593.1
多脉榆 <i>U. castaneifolia</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	-	KC843970
脱皮榆 <i>U. lamellosa</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843953	KC843973
榆树 <i>U. pumila</i>	中国科学院北京植物园 Beijing Botanical Garden, Institute of Botany, CAS	KC843952	KC843972

-, 没有数据。

-, no data. CAS, Chinese Academy of Sciences.

PCR扩增反应体系为30 μL , 包括DNA模板1 μL , 5 U· μL^{-1} *Taq*酶0.5 μL , 10 \times Buffer (含 Mg^{2+}) 3 μL , dNTP (2.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 3 μL , 正反向引物(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各2 μL , 加双蒸灭菌水补足30 μL 。PCR扩增反应在Eppendorf PCR仪(Eppendorf, Hamburg, Germany)上进行。

PCR循环条件为预变性(80 $^{\circ}\text{C}$ 下5 min), 接下来30个循环: 变性(94 $^{\circ}\text{C}$ 下1 min), 退火(50 $^{\circ}\text{C}$ 下1 min), 延伸(65 $^{\circ}\text{C}$ 下2 min), 最后65 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min (Shaw *et al.*, 2007)。

DNA纯化和测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司北京分公司完成, 测序使用ABI 3730XL测序仪(Applied Biosystems, Carlsbad, USA)。

DNA数据整理: 使用DNASTAR Lasergene 7.1分析编辑正反向序列, 拼接好的数据导入Bioedit进行编辑, 并进行校对和手动调整, 模糊不清的核苷酸位点在分析中被剔除(Kadereit *et al.*, 2006), 缺口被认为是丢失数据。所有序列导入Clustal X (Thompson *et al.*, 1997)进行对位排列(alignment), 校正处理后保存为nexus文件。ITS和

1.3 系统发育分析

ITS和et al., 1994)进行, 用PAUP* 4.0b1.0程序执行计算。

数据采用最大简约法(maximum parsimony, MP)和贝叶斯推断(Bayesian inference, BI)分析, MP在PAUP* 4.0b1.0 (Swofford, 2002)中执行, BI则由MrBayes (version 3.0b4) (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Huelsenbeck & Rannala, 2004)执行。

MP分析使用启发式搜索, 逐步加入随机的类群, 使用进化树对分重接(tree bisection reconnection, TBR)分支交换。进化支的支持率是由100次重复的辅助程序分析来估计的(Felsenstein, 1985; Hillis & Bull, 1993)。

系统发育树的BI是使用MrBayes version 3.0b4 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001; Huelsenbeck & Rannala, 2004)来执行的。一些来自于模型的参数也包括在分析中。使用的是Markov Chain Monte Carlo (MCMC)计算的2 000 000世代和采样频率为1 000

的选项。1 000个世代之后达到饱和。分支支持率使用贝叶斯后验概率(Huelsenbeck & Rannala, 2004)评估。

1.4 生物地理分析

生物地理学分析采用扩散与隔离分化分析(dispersal-vicariance analysis, Ronquist, 1997), DIVA version 1.1 (Ronquist, 1996)。首先把分布区分为3个: 东亚(A)、西亚(B)和南欧(C)。基于系统发育树(图2), 进行扩散与隔离分化分析。

2 结果

2.1 系统发育分析结果

我们对ITS + trnL-trnF数据建立系统发育树, 包括MP树和BI树。ITS和p = 0.349)。

ITS + trnL-trnF序列分析中包括了13个种, 矩阵长度1 657 bp, 在384 (23.17%)个变异位点中, 系统发育信息位点为212个(12.79%), 对ITS + trnL-trnF矩阵进行最大简约分析, 启发式搜索得到的最大简约树中, 树长475, 一致性指数(CI) = 0.930 5, 保持性指数(RI) = 0.917 1, 重新调整的一致性指数(RC) = 0.853 4。

通过贝叶斯推断对ITS + trnL-trnF数据矩阵进行分析, 得到一个最佳树(图2), 地中海两种族 *Z. abelicea*和*Z. sicula*形成姐妹支(后验概率(pP) = 1.00, 自展支持率(bt) = 95%)。高加索的*Z. carpini-folia*位于底部, 与地中海种族形成并列群(后验概率(pP) = 1.00, 自展支持率(bt) = 88%)。东亚的3个种——榉树以及中国特有种大叶榉树、大果榉形成一支, 并得到了较高的支持率(后验概率(pP) = 1.00, 自展支持率(bt) = 87%)。

根据系统发育树, 榉属和榆属组成一个大的分支, 位于发育树基部(后验概率(pP) = 1.00, 自展支持率(bt) = 95%)。

2.2 生物地理学分析结果

在图2中, 由于3个不同的系统发育分支分别对应于3个不相重叠的分布区, 因此扩散与隔离分化分析和结果是很简单的, 即属的原始分布区为3个分布区的组合ABC, 先有隔离分化过程A + (BC), 即东亚先从祖先分布区分化出来, 然后是西亚和南欧组合的祖先分布区BC再隔离分化B + C (图3)。

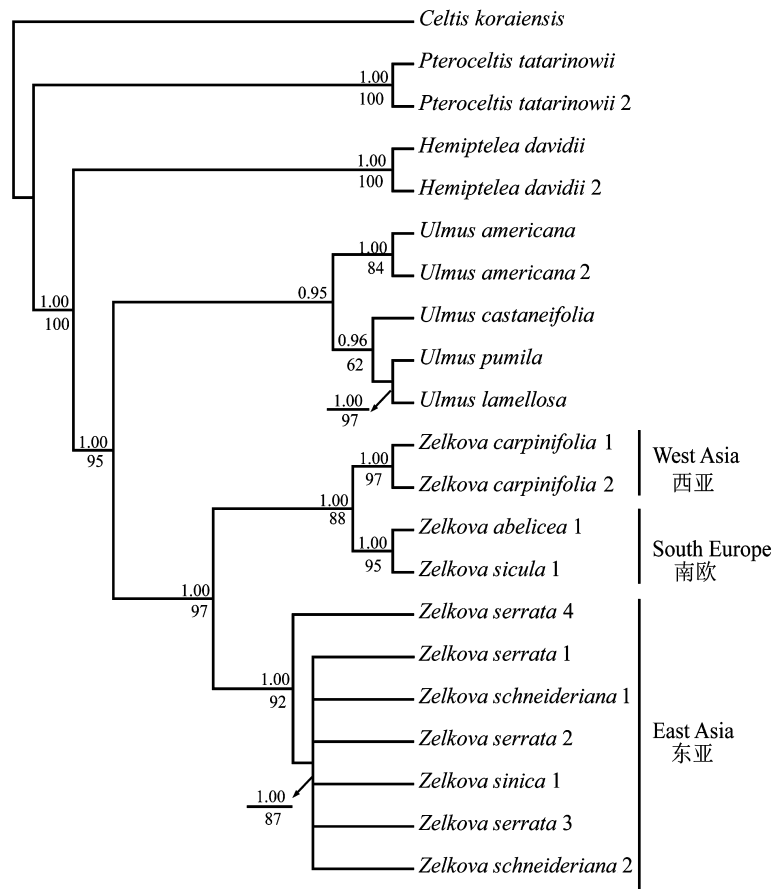


图2 用贝叶斯推断分析ITS + *trnL-F*序列所得到的树。分支上的数值表示后验概率, 分支下的数值表示自展支持率。
 Fig. 2 Bayesian inference tree derived from ITS + *trnL-trnF* sequences. Bayesian posterior probabilities are shown above branches, maximum parsimony bootstrap values below.

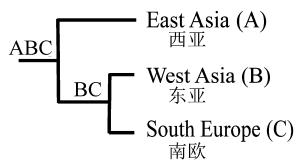


图3 榉属扩散与隔离分化分析结果。
 Fig. 3 A dispersal and vicariance analysis result of *Zelkova*.

3 讨论

3.1 榉属属内物种间的系统发育关系

榉属植物主产于北温带, 为南欧-西亚-东亚间断分布属, Denk和Grimm (2005)由形态学证据得出西亚的*Z. carpinifolia*和东亚的榉树组成一个分支, 与*Z. abelicea*和*Z. sicula*组成的分支以并系存在, 而中国两个特有种大叶榉树和大果榉独立组成一个分支; Denk和Grimm (2005)根据ITS序列的进化树分析认为, 东亚的大叶榉树和大果榉这两个种形成

一个分支, 东亚的榉树和地中海两个种*Z. abelicea*和*Z. sicula*组成一个分支, 而西亚的*Z. carpinifolia*出现在这两个分支之间。

为了进一步揭示榉属的系统位置和属内系统发育关系, 本文提供ITS和*trnL-trnF*结合的数据结果似不支持这个结论。我们的结果表明, 榉属可分为3个系统发育分支: 1)东亚(中国和日本)分布的榉树与中国特有种大叶榉树和大果榉的关系是密不可分的(图2), 为同一分支; 2)地中海两个种*Z. abelicea*和*Z. sicula*是近缘种, 形成姐妹群; 3)西亚的*Z. carpinifolia*。而此结果是与榉属地理分布(图1)极其吻合的。

3.2 榉属地理分布格局的探讨

由榉属在全球的分布情况(图1)可以看出, 榉属分成两个或3个大的区域, 南欧和西亚为一区域(或二者各为一个区域), 东亚为一个区域。因此, 榉属分子系统发育3个分支的结果与地理分布上的3个

区域的分化是相对应和相吻合的。即：东亚的3个种榉树、大叶榉树和大果榉为一分支；地中海两个种 *Z. abelicea*和 *Z. sicula*为一分支；西亚的 *Z. carpinifolia*为另一分支。地中海和西亚的种类又组合成一个分支。

榉属是南欧、西亚、东亚间断分布属(图1)。它是第三纪温带森林的孑遗成分，而且榉属植物演化的主要动力被认为是第三纪末期的喜马拉雅造山运动及第四纪的冰川作用(萨仁和苏德毕力格, 2003)。目前最老的榉属化石证据(早期新生代)是位于北美西部的、类似于大叶榉树的化石(Burnham, 1986)，而此种被认为是榉属比较原始的种类，所以推断榉属很可能是北太平洋起源的(Denk & Grimm, 2005)。而很多学者对于在早期的北美西部新生代发现的榉属化石存在一些疑问(Tanai & Wolfe, 1977; Burnham, 1986; Manchester, 1989, 1990; Meyer & Manchester, 1997)，因为北美发现的化石形态存在更多变异，其叶片更窄，叶缘锯齿更少，叶脉密度也更少等，仅仅是与榉属植物相似，但没有果实证据。而现存的榉属植物果实的化石，通常出现在欧洲和亚洲，没有来自北美的。榆科最早的花粉化石是在北美早白垩纪的土伦期的朴属(*Celtis*)的花粉化石(Manchester, 1989; Zavada & Kim, 1996)，而且有大量分布。因此推测在北美发现的榉属的化石可能是榆科的其他属，如朴属。

在欧亚大陆西部和东部地区，榉属被报道有大量新生代的化石。许多作者提到叶化石形态的特征表现出与现代东亚榉树化石和西亚的 *Z. carpinifolia* 化石类似(Mädler, 1939; Tralau, 1963; Mai, 1995; Knobloch, 1998)。此外，在晚中新世到更新世的欧洲，化石叶形态类似于现代物种的西西里岛的 *Z. sicula*和克里特岛的 *Z. abelicea*。*Z. carpinifolia*和榉树的中间型化石在东亚也有发现(Tralau, 1963; Tanai, 1976)。总之，榉属植物的现代地理分布特点及化石证据都说明它是欧亚大陆古地中海的孑遗分布属。

根据我们的DIVA分析结果(图3)，榉属的原始祖先分布区可能是欧亚北温带，包括了东亚、西亚和南欧的某个大的区域，3个分布区是逐步隔离分化的，它最先分化出东亚分布区，然后可能是西亚和南欧的某个次生的祖先分布区，之后再产生西亚和南欧的隔离分化。这样，我们也可以假设北太平

洋的某个地区，也即中国、日本北部，是榉属的原始分布区或起源中心。因而与Denk和Grimm (2005)北太平洋起源的假设并不矛盾。

据报道，在欧亚大陆西部和东部地区有榉属始新世到上新世的化石，晚新生代的化石更是常见(Tralau, 1963; Liu *et al.*, 1996)。欧亚大陆在渐新世发生的古地中海西退、中新世发生的青藏高原大范围隆升(Li & Fang, 1999; 张明理, 2000; Guo *et al.*, 2008)，对亚洲及其邻近地区的气候、环境生态和生物物种产生了深刻的影响。对榉属而言，我们推测，除了产生如上所述的物种和分布区的分化，气候、环境变迁引起了分布区收缩，古地中海西退引起的干旱化可能使得西亚的种类退缩到高加索、伊朗和土耳其的某些山地。而东亚中国的种类主要是受北方寒冷气候的影响，退缩到目前中国的亚热带地区，这些地区被公认是冰期物种避难所。也如萨仁和苏德毕力格(2003)所述，喜马拉雅造山运动对榉属分布区的收缩的影响也是明显的。因此，榉属的物种形成从气候、环境变迁的角度，似可得到较为合理的解释。这与水青冈属(*Fagus*)在欧亚大陆分布格局(王丽娜等, 2012)有些类似，古地中海西退、青藏高原隆升对物种分化和分布区的形成都产生了显著的影响，其结果是分布区的收缩。

基金项目 中国科学院知识创新工程方向性项目(KZCX2-EW-305)和中国科学院新疆生态与地理研究所项目。

致谢 感谢Hans Peter Comes、Giannantonio Domina和Christian Eichberger提供了 *Z. sicula*和 *Z. abelicea*叶片材料。

参考文献

- Burnham RJ (1986). Foliar morphological analysis of the Ulmoideae (Ulmaceae) from the Early Tertiary of western North America. *Palaeontographica*, B201, 135–167.
- Czerepanov S (1957). Revision specierum generum *Zelkova* Spach et *Hemiptelea* Planchon. *Bot Mat Gerbariya Bot Inst V I Komarova Akad Nauk SSSR*, 18, 58–72.
- Denk T, Grimm GW (2005). Phylogeny and biogeography of *Zelkova* (Ulmaceae *sensu stricto*) as inferred from leaf morphology, ITS sequence data and the fossil record. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147, 129–157.
- di Pasquale G, Garfi G, Quézel P (1992). Sur la présence d'un *Zelkova* nouveau en Sicile sud-orientale (Ulmaceae). *Biocosme Mésogéen*, 8–9(1), (4), 401–409.

- Doyle JA, Doyle JL (1987). A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19, 11–15.
- Farris JS, Källersjö M, Kluge AG, Bult C (1994). Testing significance of incongruence. *Cladistics*, 10, 315–319.
- Felsenstein J (1985). Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution*, 39, 783–791.
- Fu LG, Hong T (2000). *Higher Plants of China. Vol.4*. Qingdao Publishing House, Qingdao. 1–25. (in Chinese) [傅立国, 洪涛 (2000). 中国高等植物. 第四卷. 青岛出版社, 青岛. 1–25.]
- Guo ZT, Sun B, Zhang ZS, Peng SZ, Xiao GQ, Ge JY, Hao QZ, Qiao YS, Liang MY, Liu JF, Yin QZ, Wei JJ (2008). A major reorganization of Asian climate by the early Miocene. *Climate of the Past*, 4, 153–174.
- Hayata B (1920). *Zelkova formosana*. *Icon Pl Form*, 9, 104.
- Hemleben V, Ganal M, Gerstner J, Schiebel K, Torres RA (1988). Organization and length heterogeneity of plant ribosomal RNA genes. In: Kahl G ed. *Architecture of Eukaryotic Genes*. VCH-Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim. 371–383.
- Hillis DM, Bull JJ (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Society of Systematic Biologists*, 42, 182–192.
- Huelsenbeck JP, Rannala B (2004). Frequentist properties of Bayesian posterior probabilities of phylogenetic trees under simple and complex substitution models. *Society of Systematic Biologists*, 53, 904–913.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17, 754–755.
- Kadereit G, Mucina L, Freitag H (2006). Phylogeny of Salicornioideae (Chenopodiaceae): diversification, biogeography, and evolutionary trends in leaf and flower morphology. *Taxon*, 55, 617–642.
- Kang Y, Zhang ML, Chen ZD (2003). A preliminary phylogenetic study of the subgenus *Pogonophace* (*Astragalus*) in China based on ITS sequence data. *Acta Botanica Sinica*, 45, 140–145.
- Knobloch E (1998). Der pliozäne Laubwald von Willershausen am Harz. *Documenta Naturae*, 120, 1–302.
- Li JJ, Fang XM (1999). Uplift of the Tibetan Plateau and environmental changes. *Chinese Science Bulletin*, 44, 2117–2124.
- Liu YS, Guo SX, Ferguson DK (1996). Catalogue of Cenozoic megafossil plants in China. *Palaeontographica B*, 238, 141–179.
- Mädler K (1939). Die pliozäne Flora von Frankfurt am Main. *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft*, 446, 1–202.
- Mai DH (1995). *Tertiäre Vegetationsgeschichte Europas*. Gustav Fischer, Jena, Germany.
- Manchester SR (1989). Attached reproductive and vegetative remains of the extinct American-European genus *Cedrelospermum* (Ulmaceae) from the Early Tertiary of Utah and Colorado. *American Journal of Botany*, 76, 256–276.
- Manchester SR (1990). Systematics and fossil history of the Ulmaceae. In: Crane PR, Blackmore S eds. *Evolution, Systematics, and Fossil History of the Hamamelidae. Vol. 2*. Clarendon Press, Oxford, UK. 221–251.
- Meyer H, Manchester SR (1997). The Oligocene Bridge Creek flora of the John Day Formation, Oregon. *Geological Sciences*, 141, 1–195.
- Nakagawa T, Garfi G, Reille M, Verlaque R (1998). Pollen morphology of *Zelkova sicula* (Ulmaceae), a recently discovered relic species of the European Tertiary flora: description, chromosomal relevance, and palaeobotanical significance. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 100, 27–37.
- Rechinger KH (1979). *Flora Iranica. Vol. 142: Ulmaceae*. Akademische Druck- und Verlagsanstalt Graz, Austria. 169–170.
- Ronquist F (1996). DIVA, ver. 1.1. User's Manual. Computer program for MacOS and Win32. Available from <http://www.ebc.uu.se/systzoo/research/diva/diva.html>. Cited: 21 sept. 2012.
- Ronquist F (1997). Dispersal-vicariance analysis: a new approach to the quantification of historical biogeography. *Systematic Biology*, 46, 195–203.
- Sa R, Sudebilige (2003). Phytogeography of *Zelkova* (Ulmaceae). *Acta Botanica Yunnanica*, 25, 123–128. (in Chinese with English abstract) [萨仁, 苏德毕力格 (2003). 榆科榉属的植物地理学. 云南植物研究, 25, 123–128.]
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007). Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, 94, 275–288.
- Swofford DL (2002). *PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and Other Methods), version 4.0*. Sinauer Associates, Sunderland, USA.
- 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.
- Tanai T (1976). The revision of the Pliocene Mogi Flora,

- described by Nathorst (1883) and Florin (1920). *Journal of the Faculty of Science Hokkaido University, Series 4, Geology and Mineralogy*, 17, 277–346.
- Tanai T, Wolfe JA (1977). *Revisions of Ulmus and Zelkova in the Middle and Late Tertiary of Western North America*. United States Government Printing Office, Washington. 1–14.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG (1997). The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876–4882.
- Tralau H (1963). Asiatic dicotyledonous affinities in the Cainozoic flora of Europe. *Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar Series 4*, 9, 5–87.
- Wang LN, Jiang XL, Lei Y, Zhang ML (2012). A panbiogeographical explanation of the disjunct distribution of *Fagus* (Fagaceae) in the northern temperate zone. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 36, 393–402. (in Chinese with English abstract) [王丽娜, 姜小龙, 雷耘, 张明理 (2012). 北温带水青冈属的间断分布及其泛生物地理学解释. 植物生态学报, 36, 393–402.]
- Wang YF, Ferguson DK, Zetter R, Denk T, Garfi G (2001). Leaf architecture and epidermal characters in *Zelkova*, Ulmaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 136, 255–265.
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand D, Sninsky J, White TJ eds. *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, USA. 315–322.
- Zavada MS, Kim M (1996). Phylogenetic analysis of *Ulmaceae*. *Plant Systematics and Evolution*, 200, 13–20.
- Zhang ML (2000). Historical biogeography: theory and method. *Earth Science Frontiers*, 7(Suppl.), 33–44. (in Chinese with English abstract) [张明理 (2000). 历史生物地理学的理论和方法. 地学前缘, 7(增刊), 33–44.]

责任编辑: 彭 华 责任编辑: 李 敏