

• 研究报告 •

青藏高原东北部及其邻近地区 无苞香蒲的谱系地理学

丁振杰 于丹 徐新伟*

(武汉大学生命科学院, 武汉 430070)

摘要: 第四纪冰期气候的反复变化对青藏高原及邻近地区植物的种群地理分布及种群遗传结构产生了巨大的影响。本研究对青藏高原东北部及其邻近地区无苞香蒲(*Typha laxmannii*)的15个种群148个个体的叶绿体*rpl32-trnL*间隔区和核基因(植物螯合肽合成酶, *PS*)进行测序, 共发现2个叶绿体单倍型和8个核基因单倍型。所有的单倍型被共享, 高原种群没有特有的单倍型。邻近地区种群的叶绿体遗传多样性和核基因遗传多样性分别是高原种群的4倍和2倍。高原种群的遗传分化水平明显高于邻近地区种群, 其中高原种群的遗传分化主要存在于东部种群与西部种群之间。研究结果表明, 冰期后从多个避难所回迁至高原台面和由此产生的奠基者效应造成了无苞香蒲在青藏高原东北及邻近地区目前的遗传多样性和基因谱系地理分布格局。

关键词: *Typha laxmannii*, 叶绿体*rpl32-trnL*基因间隔区, 植物螯合肽合成酶基因, 谱系地理

Phylogeography of *Typha laxmannii* in the northeast Qinghai-Tibet Plateau and adjacent areas

Zhenjie Ding, Dan Yu, Xinwei Xu*

College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430070

Abstract: Quaternary climatic oscillation had a significant role in the patterns of geographic distribution and genetic structure of plants occurring in Qinghai-Tibet Plateau (QTP) and adjacent areas. In this study, we examined the phylogeographical structure of *Typha laxmannii* in the northeast QTP and adjacent areas based on 15 populations and 148 individuals using sequences of chloroplast *rpl32-trnL* and nuclear phytochelatin synthase gene. Two chloroplast haplotypes and eight nuclear haplotypes were found. All haplotypes were shared and no private haplotype was fixed in plateau populations. The genetic diversity of the populations in adjacent areas based on chloroplast DNA and nuclear DNA was four and two times greater than that of plateau populations, respectively. Genetic differentiation among plateau populations, which mainly existed between the eastern and western populations, was higher than that among adjacent areas. Our results indicate that the present patterns of genetic diversity and genetic structure of *T. laxmannii* in the northeast QTP and its adjacent areas were caused by postglacial recolonization from at least two refugia to plateau platform and a resulting founder effect.

Key words: graceful cattail, chloroplast *rpl32-trnL* intergenic spacer, phytochelatin synthase, phylogeography

谱系地理学通过将种群的遗传变异与地理分布相结合, 来探讨微进化(个体的进化, 即突变)与大进化(种或种以上的分类单元在地质年代上的进化)在地理格局上的联系、过程及原因(Avise *et al.*,

1987)。自Avise等(1987)提出这一概念以来, 谱系地理学得到了长足发展, 尤其在北美和欧洲地区(Beheregaray, 2008), 相关研究呈指数增长。近些年来中国的植物谱系地理研究也得到了迅速发展。由

收稿日期: 2015-05-03; 接受日期: 2015-11-09

基金项目: 国家自然科学基金: 中国水生植物广布种的比较分子谱系地理学研究(31270265)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: xuxw@whu.edu.cn

于分布于青藏高原的植物更容易受第四纪冰期气候反复变化的影响,因此青藏高原及周边地区成为热点研究区域(Qiu *et al.*, 2011)。目前开展研究的植物包括乔木(Zhang *et al.*, 2005; Meng *et al.*, 2007; Li *et al.*, 2013; Sun *et al.*, 2014)、灌木(Sun *et al.*, 2010; Jia *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2011)、陆生草本植物(Yang *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2013; Wang *et al.*, 2014; Liu *et al.*, 2015)以及水生植物(Chen *et al.*, 2013, 2014)等。这些研究揭示了现存的青藏高原植物经历了两种主要的进化历史: (1)现存高原台面上的种群是冰期后从高原东部和西南部低海拔地区的避难所回迁到高原的,之前的种群由于冰期而局部灭绝; (2)在冰期,有些植物的耐冷和耐旱能力很强,因而能够在高原内部的避难所存活,冰期后从这些避难所向外出扩散(Qiu *et al.*, 2011; Liu *et al.*, 2012)。

然而,在上述关于青藏高原植物的研究中,大多数只是利用了细胞质DNA的数据,而细胞质DNA与核DNA的结合能更全面地揭示物种的进化历程(Liu *et al.*, 2012)。此外,上述研究的重点集中在青藏高原东南部及邻近地区,而青藏高原东北部及邻近地区的研究却很少。本研究希望通过对青藏高原东北部的研究积累更全面的资料。

无苞香蒲(*Typha laxmannii*)是香蒲科香蒲属植物,为多年生沼生或水生草本,主要分布于前苏联、巴基斯坦及亚洲北部、欧洲等地区 and 我国的长江以北地区(Sun & Simpson, 2010)。香蒲属植物克隆繁殖能力强,常在各种水体中形成单优群落。目前关于香蒲属遗传多样性的研究主要集中于宽叶香蒲(*T. latifolia*)和狭叶香蒲(*T. angustifolia*)这2个广布种,采用的分子标记包括等位酶(Lee & Fairbrothers, 1973; Mashburn *et al.*, 1978; Sharitz *et al.*, 1980)、可变数目串联重复序列(Keane *et al.*, 1999)、扩增片段长度多态性(Lamote *et al.*, 2005; Na *et al.*, 2010)、微卫星(Tsyusko *et al.*, 2005)、DNA序列(Zhang *et al.*, 2008)等。尽管这些研究采用的分子标记、取样数量和研究地点不同,得出的一致结论是狭叶香蒲的遗传多样性高于宽叶香蒲,主要原因是狭叶香蒲的雌雄花序远离,其异交率要高于宽叶香蒲(Krattinger, 1975)。而无苞香蒲的花序特征与狭叶香蒲类似,因此推测其遗传多样性也相对较高。

为了探究青藏高原东北部植物的进化历史是否与高原其他地区的植物相类似,本研究以青藏高

原东北及邻近地区的无苞香蒲为研究对象,基于叶绿体*rpl32-trnL*间隔区和核基因植物螯合肽合成酶基因(phytochelatin synthase, *PS*)的序列,分析了其遗传多样性及谱系地理分布,并将高原种群与邻近地区种群进行比较,以揭示无苞香蒲在这一地区的种群遗传结构的时空变化过程。

1 材料和方法

1.1 材料采集

我们在青藏高原东北部及其邻近地区采集了15个种群,其中青海6个,甘肃9个,共包括148个个体。样品采集地信息详见表1和图1。由于香蒲克隆繁殖能力强,为了避免采集到同一基株上的子株,种群内每个采样个体之间的距离大于10 m。每个个体选取15–20 cm长的嫩叶片,放入装有硅胶的封口袋干燥保存。此外,根据香蒲属系统发育的研究结果(Kim & Choi, 2011),选取近缘种香蒲(*T. orientalia*)的1个个体作为外类群。

1.2 DNA提取、PCR扩增、克隆和测序

硅胶干燥后的叶片用植物基因组提取试剂盒(Tiagen)并按照说明书步骤提取DNA。用叶绿体*rpl32-trnL*间隔区引物(Shaw *et al.*, 2007)进行PCR扩增。扩增反应体系为25 μ L,包括模板DNA 10–30 ng,引物各0.1 μ M, dNTP各0.2 mM, MgCl₂ 2 mM, ExTaq DNA聚合酶(TaKaRa)0.6 U。扩增程序如下: 95 $^{\circ}$ C 预变性3 min; 然后95 $^{\circ}$ C 30 s, 50 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35个循环; 在72 $^{\circ}$ C 延伸5 min。扩增反应在Veriti 96-Well Thermal Cycler (Applied Biosystems) PCR仪上进行。扩增产物的纯化及测序工作由华大基因(武汉)完成。单拷贝核基因*PS*的引物根据宽叶香蒲和长苞香蒲(*T. domingensis*)的序列(Zhang *et al.*, 2008)进行设计,引物序列为*PS*-TF: 5'-GGTTGGACATTGAGGAC; *PS*-TR: 5'-GCTTCATGCAAAGATTG。无苞香蒲为二倍体,核*PS*基因位点可能有杂合,如果2个等位基因之间存在多个突变位点或者插入缺失,则从PCR产物直接测序的峰图上无法直接读取2个等位基因序列。这种情况下将PCR产物进行克隆,按照pGM-T克隆试剂盒(Tiagen)说明书步骤操作,然后挑选多个阳性克隆进行扩增测序,从而获得2个等位基因序列。

1.3 数据分析

测序结果用Sequencher 4.1.4 (Genecodes)进行

表1 无苞香蒲种群位点及序列信息

Table 1 Geographic and genetic characteristics of 15 *Typha laxmannii* populations surveyed for chloroplast (cp) DNA and nuclear DNA sequences

采集地 Location	种群名 Population	纬度 Latitude	经度 Longitude	<i>rpl32-trnL</i>				<i>PS</i>			
				<i>n</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i>	$\pi (\times 10^{-3})$	<i>n</i>	<i>H</i>	<i>Hd</i>	$\pi (\times 10^{-3})$
邻近地区(甘肃)											
Adjacent areas (Gansu)											
民乐 Minle	ML	38.32° N	101.01° E	7	2	0.476	0.570	10	5	0.822	2.402
武威 Wuwei	WW	38.38° N	102.91° E	12	2	0.485	0.581	22	6	0.844	3.703
临泽 Linze	LZ1	39.15° N	100.17° E	5	1	0	0	10	4	0.800	4.129
临泽 Linze	LZ2	39.18° N	100.13° E	7	1	0	0	14	4	0.495	1.793
高台 Gaotai	GT	39.29° N	99.89° E	3	2	0.667	0.798	6	3	0.800	3.000
嘉峪关 Jiayuguan	JG1	39.91° N	98.44° E	12	2	0.485	0.581	24	7	0.844	2.911
嘉峪关 Jiayuguan	JG2	39.86° N	98.18° E	6	2	0.333	0.399	10	4	0.822	2.249
迭部 Diebu	DB	34.01° N	103.40° E	6	2	0.600	0.719	10	4	0.778	2.026
临洮 Lintao	LT	35.38° N	103.84° E	6	2	0.533	0.639	12	3	0.546	2.047
小计 Subtotal				64	2	0.448	0.536	118	8	0.840	3.930
高原(青海)											
Plateau (Qinghai)											
乌兰 Wulan	WL	36.94° N	98.43° E	15	1	0	0	30	4	0.395	1.013
德令哈 Delingha	DLH1	37.25° N	97.03° E	10	1	0	0	18	2	0.294	0.660
德令哈 Delingha	DLH2	37.85° N	95.35° E	16	1	0	0	34	3	0.348	0.714
格尔木 Geermu	GM1	36.43° N	94.84° E	20	1	0	0	34	2	0.508	1.141
格尔木 Geermu	GM2	35.88° N	94.58° E	8	1	0	0	16	2	0.500	1.123
湟中 Huangzhong	HZ	36.11° N	101.52° E	15	2	0.419	0.502	22	3	0.749	2.601
小计 Subtotal				84	2	0.092	0.110	154	6	0.556	1.808

n: 所测序列数目; *H*: 为所含单倍型的个数; *Hd*: 单倍型的多样性; π : 核苷酸多样性。

n, Number of sequences sampled; *H*, Number of haplotypes; *Hd*, Diversity of haplotypes; π , Nucleotide diversity.

查看和校对。校对后的序列使用MAFFT (Kato et al., 2002)软件进行排列。用DnaSP 5.10 (Librado & Rozas, 2009)统计其单倍型, 所有单倍型序列上传到GenBank, 序列号为KR265875–KR265882 (核基因 *PS*)和KR265892–KR265893 (叶绿体基因片段 *rpl32-trnL*)。运用Arlequin 3.5 (Excoffier & Lischer, 2010)计算单倍型多样性(*Hd*)和核苷酸多样性(π)。

利用软件NETWORK 4.6中的median-joining算法(Bandelt et al., 1999)来构建单倍型之间的谱系图, 分析不同单倍型之间的进化关系。利用Arlequin中的分子方差分析(AMOVA)检测遗传变异在种群内和种群间的分布。中性检验Tajima's *D*和Fu's *F_s*计算也在Arlequin中完成。同时也用Arlequin中的歧点分布(mismatch distribution)检验种群的扩张历史, 并通过离差平方和(sum of squared deviation, *SSD*)和粗糙度指数(Harpending's raggedness index, *r*)检验歧点分布是否符合种群突然扩张模型(sudden ex-

pansion model)或空间扩张模型(spatial expansion model)下的期望分布之间的拟合优度(goodness-of-fit)。此外, 用PERMUT软件(Pons & Petit, 1996)比较遗传分化系数 N_{ST} 和 G_{ST} 以检验是否存在显著的谱系地理结构。

2 结果

2.1 遗传多样性

排列后的叶绿体 *rpl32-trnL* 间隔区长度为835 bp, 只有1个碱基突变位点, 共有2个单倍型X和Y。由表1可见, 单个种群的单倍型多样性(*Hd*)从0到0.667, 核苷酸多样性(π)从0到 0.798×10^{-3} , 其中高原种群除了HZ种群之外, 其余5个种群的单倍型多样性都为0, 而邻近地区种群中仅有2个种群(LZ1、LZ2)的单倍型多样性为0。高原种群整体计算的*Hd*和 π 分别为0.092和 0.110×10^{-3} , 远低于邻近地区种群整体的*Hd* (0.448)和 π (0.536×10^{-3}) (表1)。

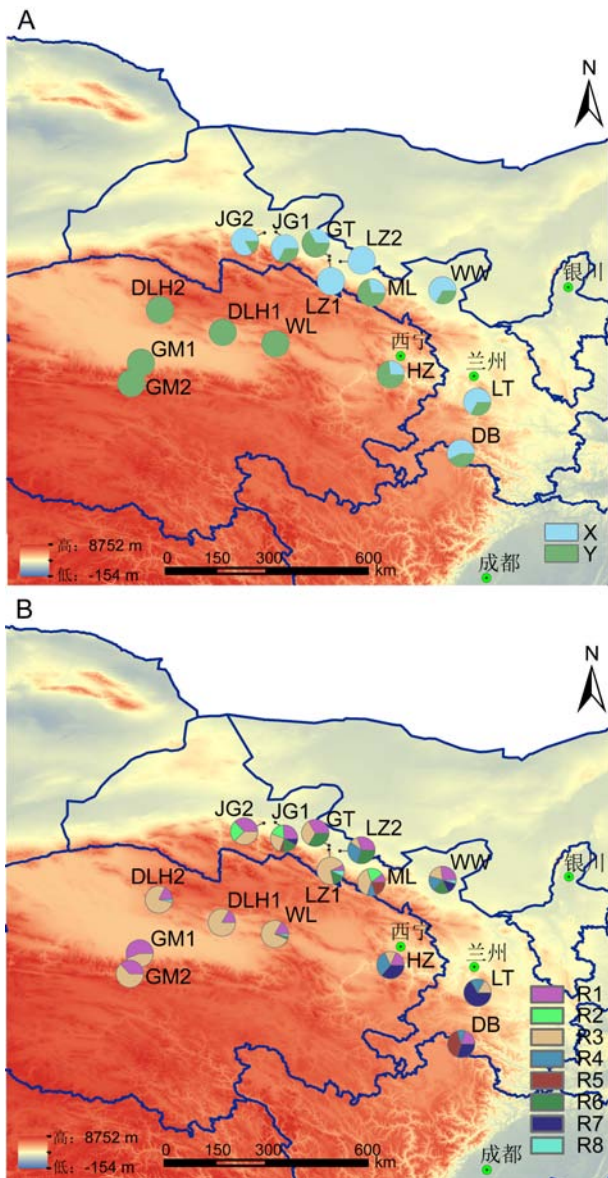


图1 无苞香蒲种群的叶绿体基因单倍型(A)和核基因单倍型(B)地理分布图, 种群代号同表1。

Fig. 1 The distribution of cpDNA haplotypes (A) and nDNA haplotypes (B) for *Typha laxmannii* populations. The population codes are the same as those in Table 1.

排列后的 PS 基因长度为896 bp, 有10个变异位点, 包括9个碱基突变位点和1个插入缺失位点, 共有8个单倍型R1-R8。单个种群的单倍型多样性(Hd)从0.294到0.844, 核苷酸多样性(π)从 0.660×10^{-3} 到 4.129×10^{-3} , 高原种群整体计算的 Hd 和 π 分别为0.556和 1.808×10^{-3} , 远低于邻近地区种群整体的 Hd (0.840)和 π (3.930×10^{-3}) (表1)。

2.2 单倍型分布与种群遗传结构

叶绿体单倍型Y广泛分布于除了邻近地区的LZ1和LZ2种群外的所有种群中。单倍型X分布于邻近地区的所有种群中, 但在高原种群中仅分布于东部的HZ种群中(图1)。单倍型谱系图中单倍型Y与外类群相连, 为原始单倍型(图2A)。

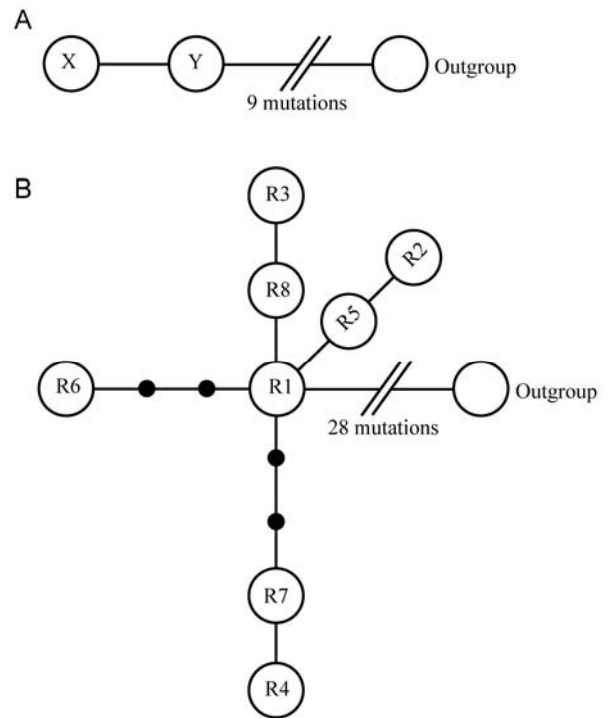


图2 无苞香蒲叶绿体基因单倍型(A)和核基因单倍型(B)的网络图, 单倍型代号同表1。

Fig. 2 The network of cpDNA haplotypes (A) and nDNA haplotypes (B) of *Typha laxmannii*. The haplotype codes are the same as those in Fig. 1.

核基因单倍型的谱系图呈十字形, 单倍型R1位于中心且与外类群相连, 为原始单倍型(图2B)。单倍型R1和R3最为广布, 在所有的高原种群和几乎所有的邻近地区种群中出现。高原种群与邻近地区种群共享的单倍型还包括R4、R6、R7、R8, 其中R4和R7在HZ种群、R6在WL种群、R8在WH和DLH2种群中出现。高原种群没有特有单倍型, 邻近地区特有单倍型为R2和R5, 另外, 所有种群都没有特有单倍型, 即所有的单倍型都至少在2个种群中出现(图1)。

将种群分为高原和邻近地区两个群组, 在整体

表2 无苞香蒲种群的分子方差分析(AMOVA)

Table 2 Analysis of molecular variance (AMOVA) of *PS* and *rpl32-trnL* sequences from *Typha laxmannii* populations

区域 Regions	变异来源 Source of variation	自由度 Degrees of freedom	方差 Sum of squares	变异成分 Variance components	变异比率 Percentage of variation
叶绿体DNA cpDNA					
高原台面 Plateau platform	种群间 Among populations	5	0.876	0.010	0.210
	种群内 Within population	78	2.933	0.038	0.790
邻近地区 Adjacent areas	种群间 Among populations	8	3.014	0.025	0.111
	种群内 Within population	55	11.095	0.202	0.889
高原台面及其邻近地区 Plateau platform and adjacent areas	地区间 Among groups	1	14.155	0.190	0.602
	地区内的种群之间 Among populations within group	13	3.890	0.020	0.064
	种群内 Within population	133	14.029	0.105	0.334
核DNA nDNA					
高原台面 Plateau platform	种群间 Among populations	6	47.282	0.348	0.402
	种群内 Within population	147	76.231	0.519	0.598
邻近地区 Adjacent areas	种群间 Among populations	8	43.106	0.304	0.169
	种群内 Within population	109	162.911	1.495	0.831
高原台面及其邻近地区 Plateau platform and adjacent areas	地区间 Among groups	1	24.261	0.122	0.087
	地区内的种群之间 Among populations within group	13	89.515	0.338	0.243
	种群内 Within population	257	240.015	0.934	0.670

和群组内分别进行分子方差分析(AMOVA), 结果详见表2。将高原群组和邻近地区群组分开分析, 无论是叶绿体基因还是核基因, 其主要的遗传变异均来自于种群内, 表明种群之间遗传分化较小。整体进行分析, 则叶绿体基因主要的遗传变异来自于地区间, 核基因主要的遗传变异还是来自于种群内。

通过PERMUT计算出叶绿体基因的 N_{ST} 和 G_{ST} 均为0.457, 核基因的 N_{ST} 和 G_{ST} 分别为0.120和0.171, N_{ST} 不显著大于 G_{ST} , 表明无苞香蒲在这一地区没有明显的谱系地理结构, 即亲缘关系相近的单倍型没有更多地出现在同一种群中。叶绿体基因的歧点分布实际观察值与期望的种群扩张模式(demographic expansion)不符(图3A), 且拟合优度差异显著($SSD = 0.011, P = 0.023; r = 0.207, P = 0.003$), 这一结果得到了中性检验结果的支持Tajima's $D = 1.524 (P = 0.864)$ 、Fu's $F_s = 2.196 (P = 0.822)$ 。叶绿体基因的歧点分布(图3A)与显著的拟合优度差异($SSD = 0.011, P = 0.000; r = 0.207, P = 0.009$)也不支持空间扩张模式(spatial expansion)。从核基因的结果来看, 虽然拟合优度差异不显著($SSD = 0.048, P = 0.187; r = 0.158, P = 0.084$), 但歧点分布不是单峰曲线(图3B), 中性检验结果Tajima's $D = 0.721 (P = 0.788)$,

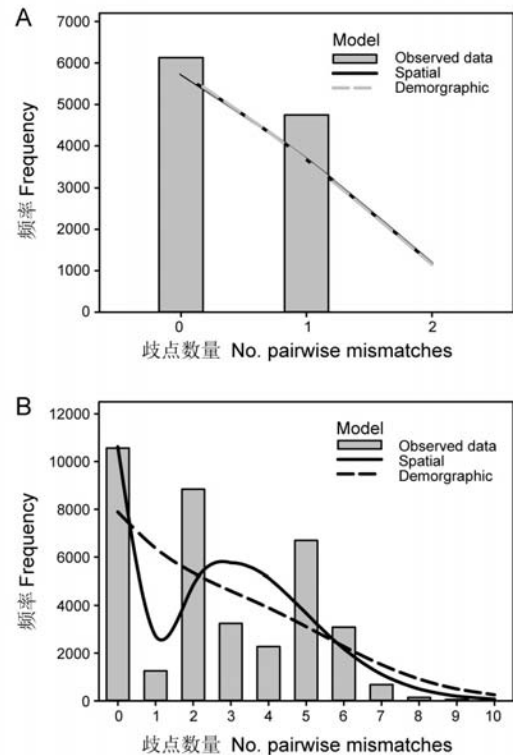


图3 无苞香蒲所有个体叶绿体基因(A)和核基因(B)序列的歧点分布

Fig. 3 Mismatch distribution for chloroplast (A) and nuclear (B) sequence data of all individuals of *Typha laxmannii*

Fu's $F_s = 2.431$ ($P = 0.861$)表明不符合种群扩张模式。另外,实际观察值虽然与期望的空间扩张模式不完全吻合(图3B),但不显著的拟合优度差异($SSD = 0.032$, $P = 0.494$; $r = 0.158$, $P = 0.498$)支持空间扩张模式。

3 讨论

目前利用不同分子标记来探讨香蒲(主要是宽叶香蒲和狭叶香蒲)遗传多样性的研究很多,虽然这些研究揭示的遗传多样性水平不同,但与相同分子标记的其他草本植物相比,都表明香蒲的遗传多样性较低(Mashburn *et al.*, 1978; Sharitz *et al.*, 1980; Keane *et al.*, 1999; Tsyusko *et al.*, 2005),可能的原因是香蒲具有较高自交率并且营养繁殖能力强(Krattinger, 1975)。同样,本研究中无苞香蒲的叶绿体基因遗传多样性($\pi = 0.00052$)要远低于同一地区的黑柴胡(*Bupleurum smithii*) ($\pi = 0.00568$) (Zhao *et al.*, 2013), 主要的原因可能与无苞香蒲的繁殖特性有关,但也可能是由于本研究仅用了1个叶绿体 *rpl32-trnL* 片段且只有2个单倍型。若采用更多的基因片段,能更客观地揭示其真实的遗传多样性水平。目前利用DNA序列研究香蒲遗传多样性的报道仅有1例,是利用3个核基因(包括核 *PS* 基因)研究美国佛罗里达州南部的宽叶香蒲和长苞香蒲,结果在2个种共25个种群中均没有检测到遗传变异(Zhang *et al.*, 2008),表明无苞香蒲的遗传多样性可能要高于宽叶香蒲和长苞香蒲。要准确评价无苞香蒲在香蒲中的遗传多样性水平,还需要在同一地区对多种香蒲进行比较研究。

无论是叶绿体基因还是核基因,无苞香蒲邻近地区种群的遗传多样性都远高于高原种群,其中前者的叶绿体基因单倍型多样性(Hd)和核苷酸多样性(π)是后者的4倍,前者的核基因(Hd)和(π)是后者的近2倍。推测高原台面的种群可能是冰期后从邻近地区向上回迁而来,奠基者效应造成了其遗传多样性较低。另外,高原种群所有的单倍型在邻近地区种群中都有分布,即高原种群没有特有单倍型,也表明从邻近地区向高原台面的扩散历史。

从邻近地区向高原台面的回迁可以通过种群扩张模式或者空间扩张模式实现,但叶绿体基因和核基因的歧点分布和中性检验都否定了种群扩张模式,叶绿体基因的歧点分布不支持空间扩张模式

而核基因的歧点分布支持空间扩张模式。由于本研究仅包括了2个叶绿体单倍型,变异太小,可能不能真实反映种群的扩张历史,因此核基因的结果更为可信,即无苞香蒲可能通过空间扩张模式实现从邻近地区向高原台面的回迁。目前在青藏高原东北及邻近地区开展的植物谱系地理研究的类群有祁连圆柏(*Juniperus przewalskii*) (Zhang *et al.*, 2005)、青海云杉(*Picea crassifolia*) (Meng *et al.*, 2007)和黑柴胡(Zhao *et al.*, 2013)。这些植物在这一地区的遗传多样性和谱系地理分布格局与无苞香蒲类似,表明这些植物受冰期的影响而表现出相同的进化历史。

高原上不同水体之间的地理隔离阻碍了水生植物种群之间的基因交流而产生明显的遗传分化,水毛茛(*Ranunculus bungei*) (Chen *et al.*, 2014)和杉叶藻(*Hippuris vulgaris*) (Chen *et al.*, 2013)的研究也证实了这一点。但是无苞香蒲的AMOVA分析却表明其遗传变异来自于种群内,种群之间遗传分化较小。这可能是因为它们的种子产量大,每个单株可以产生超过100,000粒种子(McNaughton, 1966; Tsyusko *et al.*, 2005),加上种子小而有毛并且重量很轻,种子的平均长度为1.15 mm,每40粒种子的平均重量为1.53 mg (Ekstam & Forseby, 1999),种子随风力传播,促进了种群之间的基因交流。所有单倍型中没有一个是单个种群所特有的事实也支持了这一点。

将无苞香蒲分为高原和邻近地区分别进行AMOVA分析,发现无论是叶绿体基因还是核基因,高原种群之间的遗传分化水平(分别为0.210和0.402)明显高于邻近地区种群(分别为0.111和0.169)(表2),可能是不同地形下地理隔离程度不同造成的。进一步分析则发现高原种群的遗传分化主要存在于东部的HZ种群与西部的5个种群之间,这是因为它们的遗传组成不同:HZ种群具有西部种群没有的叶绿体单倍型X和核基因单倍型R4和R7,而西部种群具有HZ种群没有的核基因单倍型R6和R8(图1),这表明无苞香蒲在冰期可能存在多个避难所,目前的高原种群是冰期后从多个避难所回迁产生。这一地区的祁连圆柏(Zhang *et al.*, 2005)、青海云杉(Meng *et al.*, 2007)和黑柴胡(Zhao *et al.*, 2013)谱系地理研究也表明存在多个冰期避难所,但是这些避难所还需要用更广泛的取样和更多类群的研究来加以证实。

参考文献

- Avice JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Neigel JE, Reeb CA, Saunders NC (1987) Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**, 489–522.
- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, **16**, 37–48.
- Beheregaray LB (2008) Twenty years of phylogeography: the state of the field and the challenges for the Southern Hemisphere. *Molecular Ecology*, **17**, 3754–3774.
- Chen JM, Du ZY, Sun SS, Gituru RW, Wang QF (2013) Chloroplast DNA phylogeography reveals repeated range expansion in a widespread aquatic herb *Hippuris vulgaris* in the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent areas. *PLoS ONE*, **8**, e60948.
- Chen JM, Du ZY, Yuan YY, Wang QF (2014) Phylogeography of an alpine aquatic herb *Ranunculus bungei* (Ranunculaceae) on the Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Systematics and Evolution*, **52**, 313–325.
- Ekstam B, Forseby Å (1999) Germination response of *Phragmites australis* and *Typha latifolia* to diurnal fluctuations in temperature. *Seed Science Research*, **9**, 157–163.
- Excoffier L, Lischer HEL (2010) Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, **10**, 564–567.
- Jia DR, Liu TL, Wang LY, Zhou DW, Liu JQ (2011) Evolutionary history of an alpine shrub *Hippophae tibetana* (Elaeagnaceae): allopatric divergence and regional expansion. *Biological Journal of the Linnean Society*, **102**, 37–50.
- Katoh K, Misawa K, Kuma KI, Miyata T (2002) MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research*, **30**, 3059–3066.
- Keane B, Pelikan S, Toth GP, Smith MK, Rogstad SH (1999) Genetic diversity of *Typha latifolia* (Typhaceae) and the impact of pollutants examined with tandem-repetitive DNA probes. *American Journal of Botany*, **86**, 1226–1238.
- Kim C, Choi HK (2011) Molecular systematics and character evolution of *Typha* (Typhaceae) inferred from nuclear and plastid DNA sequence data. *Taxon*, **60**, 1417–1428.
- Krattinger K (1975) Genetic mobility in *Typha*. *Aquatic Botany*, **1**, 57–70.
- Lamote V, De Loose M, Van Bockstaele E, Roldán-Ruiz I (2005) Evaluation of AFLP markers to reveal genetic diversity in *Typha*. *Aquatic Botany*, **83**, 296–309.
- Lee DW, Fairbrothers DE (1973) Enzyme differences between adjacent hybrid and parent populations of *Typha*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **100**, 3–11.
- Li L, Abbott RJ, Liu B, Sun Y, Li L, Zou J, Wang X, Mieh G, Liu J (2013) Pliocene intraspecific divergence and Pliocene-Pleistocene range expansions within *Picea likiangensis* (Lijiang spruce), a dominant forest tree of the Qinghai-Tibet Plateau. *Molecular Ecology*, **22**, 5237–5255.
- Librado P, Rozas J (2009) DnaSP V5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, **25**, 1451–1452.
- Liu JQ, Sun YS, Ge XJ, Gao LM, Qiu YX (2012) Phylogeographic studies of plants in China: advances in the past and directions in the future. *Journal of Systematics and Evolution*, **50**, 267–275.
- Liu YP, Su X, He YH, Han LM, Huang YY, Wang ZZ (2015) Evolutionary history of *Orinus thoroldii* (Poaceae), endemic to the western Qinghai-Tibetan Plateau in China. *Biochemical Systematics and Ecology*, **59**, 159–167.
- Mashburn SJ, Sharitz RR, Smith MH (1978) Genetic variation among *Typha* populations of the southeastern United States. *Evolution*, **32**, 681–685.
- McNaughton S (1966) Ecotype function in the *Typha* community-type. *Ecological Monographs*, **36**, 298–325.
- Meng L, Yang R, Abbott RJ, Mieh G, Hu T, Liu J (2007) Mitochondrial and chloroplast phylogeography of *Picea crassifolia* Kom. (Pinaceae) in the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent highlands. *Molecular Ecology*, **16**, 4128–4137.
- Na HR, Kim C, Choi HK (2010) Genetic relationship and genetic diversity among *Typha* taxa from East Asia based on AFLP markers. *Aquatic Botany*, **92**, 207–213.
- Pons O, Petit RJ (1996) Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. *Genetics*, **144**, 1237–1245.
- Qiu YX, Fu CX, Comes HP (2011) Plant molecular phylogeography in China and adjacent regions: tracing the genetic imprints of Quaternary climate and environmental change in the world's most diverse temperate flora. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **59**, 225–244.
- Sharitz RR, Wineriter SA, Smith MH, Liu EH (1980) Comparison of isozymes among *Typha* species in the eastern United States. *American Journal of Botany*, **67**, 1297–1303.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL (2007) Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose non-coding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany*, **94**, 275–288.
- Sun K, Simpson D (2010) Typhaceae. In: *Flora of China* (eds Wu ZY, Raven PH, Hong DY), Vol. 23, pp. 158–163. Science Press, Beijing, China and Missouri Botanical Garden, St. Louis, Missouri, USA.
- Sun YS, Ikeda H, Wang YJ, Liu JQ (2010) Phylogeography of *Potentilla fruticosa* (Rosaceae) in the Qinghai-Tibetan Plateau revisited: a reappraisal and new insights. *Plant Ecology & Diversity*, **3**, 249–257.
- Sun YS, Li L, Li L, Zou JB, Liu JQ (2014) Distributional dynamics and interspecific gene flow in *Picea likiangensis* and *P. wilsonii* triggered by climate change on the Qinghai-Tibet Plateau. *Journal of Biogeography*, **42**, 475–484.
- Tsyusko OV, Smith MH, Sharitz RR, Glenn TC (2005) Genetic and clonal diversity of two cattail species, *Typha latifolia* and *T. angustifolia* (Typhaceae), from Ukraine. *American Journal of Botany*, **92**, 1161–1169.

- Wang GN, He XY, Miede G, Mao KS (2014) Phylogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic alpine herb *Pomatosace filicula* (Primulaceae). *Journal of Systematics and Evolution*, **52**, 289–302.
- Yang FS, Li YF, Ding X, Wang XQ (2008) Extensive population expansion of *Pedicularis longiflora* (Orobanchaceae) on the Qinghai-Tibetan Plateau and its correlation with the Quaternary climate change. *Molecular Ecology*, **17**, 5135–5145.
- Zhang Q, Chiang TY, George M, Liu JQ, Abbott RJ (2005) Phylogeography of the Qinghai-Tibetan Plateau endemic *Juniperus przewalskii* (Cupressaceae) inferred from chloroplast DNA sequence variation. *Molecular Ecology*, **14**, 3513–3524.
- Zhang TC, Comes HP, Sun H (2011) Chloroplast phylogeography of *Terminalia franchetii* (Combretaceae) from the eastern Sino-Himalayan region and its correlation with historical river capture events. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **60**, 1–12.
- Zhang XH, Tapia M, Webb JB, Huang YH, Miao S (2008) Molecular signatures of two cattail species, *Typha dominicensis* and *Typha latifolia* (Typhaceae), in South Florida. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **49**, 368–376.
- Zhao CX, Ma G, Liang QL, Wang CB, He XJ (2013) Phylogeography of an alpine plant (*Bupleurum smithii*, Apiaceae) endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau and adjacent regions inferred from chloroplast DNA sequence variation. *Journal of Systematics and Evolution*, **51**, 382–395.

(责任编辑: 葛学军 责任编辑: 时意专)