

# 鄂报春 (*Primula obconica* Hance) 亲缘地理学的初步研究

颜海飞<sup>1,2</sup>, 王小兰<sup>1</sup>, 胡启明<sup>1</sup>, 郝刚<sup>1\*</sup>

(1. 中国科学院华南植物园, 广州 510650; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要:** 为了获得鄂报春 (*Primula obconica* Hance) 的种内亲缘地理学信息, 对叶绿体基因组上非编码区 *trnL-trnF* 的序列变异进行了分析。获得的 20 个单倍型具有一定的地理分布结构。对这些单倍型进行系统发育分析, 得到了三个主要分支: 东部分支广泛分布于中国东南部、湖南、湖北、四川和云南; 四川分支分布于四川西部; 云南分支分布于云南西北部。东部分支分布面积较后两个分支大, 并且在东部分支中可以发现一定的演化关系。结合古气候学和地质学信息, 推测东部分支中现存的单倍型由冰期时气候变冷导致鄂报春快速迁移而形成, 云南、四川分支中的单倍型可能是在各自的避难所中得以保存。同时本文也简要地探讨了鄂报春几个亚种之间的分类学关系。

**关键词:** 鄂报春; 亲缘地理学; 冰期; 植物迁移

中图分类号: Q949.773.201

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2005)06-0526-07

## Phylogeography of *Primula obconica* Hance (Primulaceae)

YAN Hai-fei<sup>1,2</sup>, WANG Xiao-lan<sup>1</sup>, HU Qi-ming<sup>1</sup>, HAO Gang<sup>1\*</sup>

(1. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

**Abstract:** Chloroplast DNA *trnL-F* region was sequenced to investigate intraspecific phylogeography in *Primula obconica* Hance in China. Twenty haplotypes were recognized in total, and most of the haplotypes were geographically structured. There are three major clades in the most parsimonious trees obtained from those haplotypes. Eastern clade was widely distributed from Nanping, Fujian (eastern China) to Weixi, Yunnan (western China). Sichuan clade was confined in western Sichuan, and Yunnan clade existed in north-western Yunnan. It was shown that the topology within Eastern clade was hierarchical slightly, and most of the haplotypes in Eastern clade mainly confined in Wuling Mountains and Nanling Mountains. The haplotypes in eastern clade might be correlated with the climate oscillation in the glacial period, which might migrate from western China to eastern China. In contrast, the haplotypes from Sichuan clade and Yunnan clade might survive in glacial period, suggesting there were several glacial refuges in western China. Taxonomical relationships among subspecies of *P. obconica* were also discussed.

**Key words:** *Primula obconica*; Phylogeography; Glacial period; Plant migration

亲缘地理学(phylogeography)是一门研究基因世系(genealogical lineage)地理分布的学科, 特别关注的是亲缘种内部或亲缘种之间的基因系统发育关系。它从物种现存的基因世系地理分布推测产生

现在分布格局的可能历史事件<sup>[1]</sup>。John Avise 和他的同事依靠 mtDNA 分子遗传学和溯祖(coalescent)理论的发展建立了亲缘地理学, 在创立之初主要应用于动物领域<sup>[2]</sup>。随着分子生物学的发展, 植物中叶绿

收稿日期: 2005-07-04 接受日期: 2005-09-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30470125, 30370100), 广东省自然科学基金项目(31255), 广东省数字植物园重点实验室资助

\* 通讯作者 Corresponding author

体基因组很少甚至没有重组的优点应用到系统发育研究中,简化了植物个体或居群本身存在的网状进化关系<sup>[3]</sup>。近二十年来,植物亲缘地理学研究取得了巨大的发展,如对欧洲橡树(*Quercus* spp.)<sup>[4,5]</sup>、欧洲山毛榉(*Fagus sylvatica* L.)<sup>[6]</sup>、欧洲桤木(*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.)<sup>[7]</sup>等欧洲广布种的亲缘地理学研究揭示出第四纪冰期对欧洲植物区系的影响<sup>[8-10]</sup>。在北美的一些植物也表现出相似的变异结构,同样表明了冰期后的再迁移过程<sup>[1]</sup>。日本在这方面的研究取得了很多的成果<sup>[12-14]</sup>,台湾也进行了一些研究<sup>[15,16]</sup>。但是在我国大陆地区,这方面的研究还没有全面展开。

植物的分布范围随着冰期气候波动而发生进退<sup>[8,9,17]</sup>。我国在第四纪时同样受到过冰期的强烈作用,这种气候波动影响了我国南北植物区系<sup>[18]</sup>,并且由于我国地势西高东低,在川西、滇西北和青藏高原东部发生的冰川<sup>[19]</sup>也会影响到东西植物区系的形成。所以我国现存植物区系的成因比欧美更为复杂。王文采<sup>[20,21]</sup>通过对我国一些植物的地理分布和亲缘关系的研究,得出三条迁移路线,分别从我国的西南向东、西和东北3个方向迁移。他认为云贵高原和四川一带可能是一个重要的发展中心,由此

发生强烈的演化辐射,形成不同的迁移路线。这种假说建立在形态学的基础上,依托分子生物学技术建立起来的亲缘地理学研究将有助于了解我国植物区系成分的迁移路线以及可能存在的冰期避难所。

本研究所用材料鄂报春(*Primula obconica* Hance)隶属于报春花属鄂报春组(*Sect. Obconicolisteri* Balf. f.),为多年生草本,生长于林下、水沟边和湿润的岩石上,海拔500-3300 m。本种形态差异很大,分成六个亚种,分别是鄂报春(*P. obconica* ssp. *obconica*)、海棠叶报春(*P. obconica* ssp. *begoniiformis*)、小型报春(*P. obconica* ssp. *parva*)、福建报春(*P. obconica* ssp. *fujianensis*)、黑腺鄂报春(*P. obconica* ssp. *nigroglandulosa*)、波叶鄂报春(*P. obconica* ssp. *werringtonensis*)<sup>[22-24]</sup>。鄂报春自1880年从我国引入欧洲,现在欧洲和北美广泛栽培,是常见的盆栽花卉。我国长江以南的大部分地区是鄂报春的原产地,符合王文采先生所推测的由西向东的分布式样(图1)。我们对该分布式样进行亲缘地理学研究,不同于以往其他国家开展的有关南北分布式样的研究。我们期望验证是否存在上述推测的由西向东迁移路线,并且揭示第四纪冰期时可能存在的避难所,以及初步探讨原亚种与几个亚种之间的分类学关系。

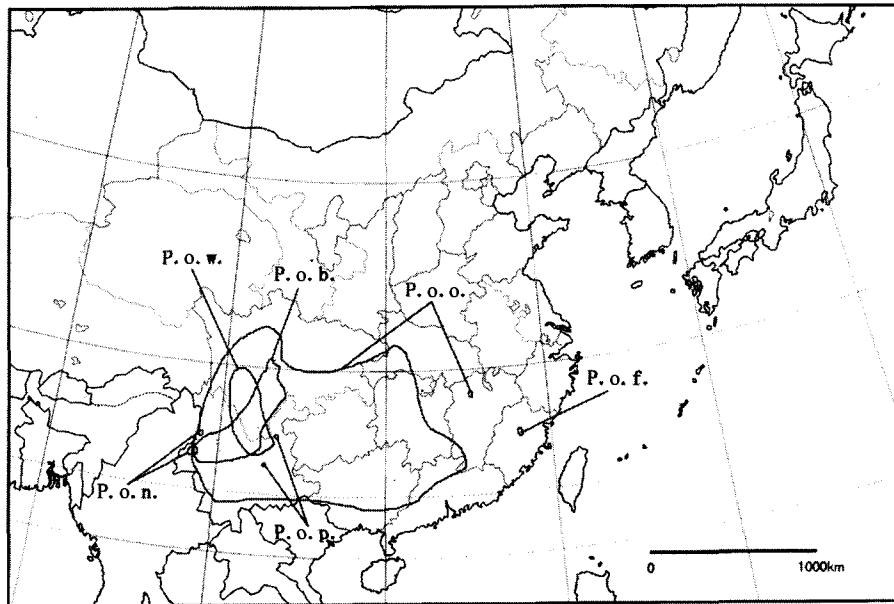


图1 鄂报春的分布图

Fig. 1 The distribution of *Primula obconica* Hance

P.o.o.—鄂报春 *P. obconica* ssp. *obconica*; P.o.f.—福建报春 *P. obconica* ssp. *fujianensis*;  
P.o.b.—海棠叶报春 *P. obconica* ssp. *begoniiformis*; P.o.w.—波叶鄂报春 *P. obconica* ssp. *werringtonensis*;  
P.o.p.—小型报春 *P. obconica* ssp. *parva*; P.o.n.—黑腺鄂报春 *P. obconica* ssp. *nigroglandulosa*.

# 1 材料和方法

## 1.1 植物材料

鄂报春 (*Primula obconica* Hance) 分布在我国长江以南的大部分省份, 从东到西分别为福建、江西 (宜丰)、广东 (北部)、广西、湖南、湖北 (西部)、四川、贵州、云南。我们从野外收集了 14 个鄂报春居群, 取样基本涵盖了鄂报春的分布区 (表 1)。在每个居群中间断地收集约 20 个个体, 分别取嫩叶, 用硅胶快速干燥。选取同组的莓叶报春 (*Primula rubifolia* C. M. Hu) 作为外类群。

## 1.2 实验方法

在每个居群中随机选取 1-4 个个体, 用 CTAB 法<sup>[25]</sup>从干燥的嫩叶片中提取总 DNA。用引物 C 和 F<sup>[26]</sup>通过 PCR 反应扩增叶绿体基因组上的 *trnL-trnF* 区域, 包括 *trnL* (UAA) 内含子、*trnL* (UAA) 3' 外显子和 *trnL* (UAA)-*trnF* (GAA) 间隔区。PCR 产物在 1% 的琼脂糖胶上电泳、切胶回收, 在 3700 DNA analysis system 测序仪上测序。

## 1.3 序列分析

测序所得序列用 ClustalX 软件<sup>[27]</sup>进行序列比对, 并进行适当的人工校正。共获得 20 个单倍型, 应用 PAUP\*4.0 b10<sup>[28]</sup>进行简约性分析, 缺失位 (gap) 作为缺失数据处理, 此外对鉴定出的两个缺

失或插入位点 (indel) 作为二元性状处理。同时用 1 000 次重复抽样的自展法检验各分支置信度。

# 2 结果

## 2.1 序列变异

鄂报春叶绿体 *trnL-trnF* 片段的长度在 900-910 bp 之间变化。外类群莓叶报春的序列长度为 912 bp。序列比对后 (含外类群) 得到的长度是 920 bp。该片段共有 33 个核苷酸突变位点, 2 个插入或缺失。在鄂报春中共鉴定出 20 个单倍型 (表 1)。

## 2.2 各单倍型的系统学分析

用 PAUP 软件分析 20 个单倍型, 得到 6 个最简约树, 步长 43, 一致性指数 (CI) 0.8837, 保留性指数 (RI) 0.9457。从这 6 个最简约树中获得一个严格一致性树 (图 2)。

从严格一致性树中可以看出, 鄂报春居群分化成 3 个主要分支。第一分支为东部分支, 包括 12 个单倍型, 其下有几个亚分支, 主要包括福建、广东、湖北居群的单倍型, 四川峨眉山和云南维西居群的单倍型也归入其中; 第二分支为四川分支, 与东部分支构成姐妹群, 共有 6 个单倍型, 全部分布于四川; 第三分支是云南分支, 包括云南大理和禄劝单倍型, 分布在云南西北部。

表 1 鄂报春材料来源及单倍型

Table 1 Materials and haplotypes of *Primula obconica*

居群编号 Population no.	采集地 Collection sites	类群名称 Taxon	材料数量 Sample no.	单倍型 Haplotype
1	福建南平 Nanping, Fujian	<i>P. obconica</i> ssp. <i>fujianensis</i>	3	A
2	广东乐昌 Lechang, Guangdong	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	1	B
3	广东乳源 Ruyuan, Guangdong	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	3	C, D, E
4	湖南桑植 Sangzhi, Hunan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	1	F
5	湖北宜昌 Yichang, Hubei	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	3	G, H
6	四川都江堰 Doujiangyan, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	3	I
7	四川都江堰 Doujiangyan, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	3	J
8	四川峨眉山 Emeishan, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	3	K, L
9	四川泸定 Luding, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	4	M
10	四川木里 Muli, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>werringtonensis</i>	4	N
11	四川木里 Muli, Sichuan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>werringtonensis</i>	4	O, P
12	云南禄劝 Luquan, Yunnan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>begoniiformis</i>	4	Q
13	云南大理 Dali, Yunnan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	4	R
14	云南维西 Weixi, Yunnan	<i>P. obconica</i> ssp. <i>obconica</i>	4	S, T
15	云南景东 Jingdong, Yunnan	<i>P. rubifolia</i> *	1	

\* 外类群 Outgroup; 大写母表示各单倍型类型 Capital letter show each haplotype.

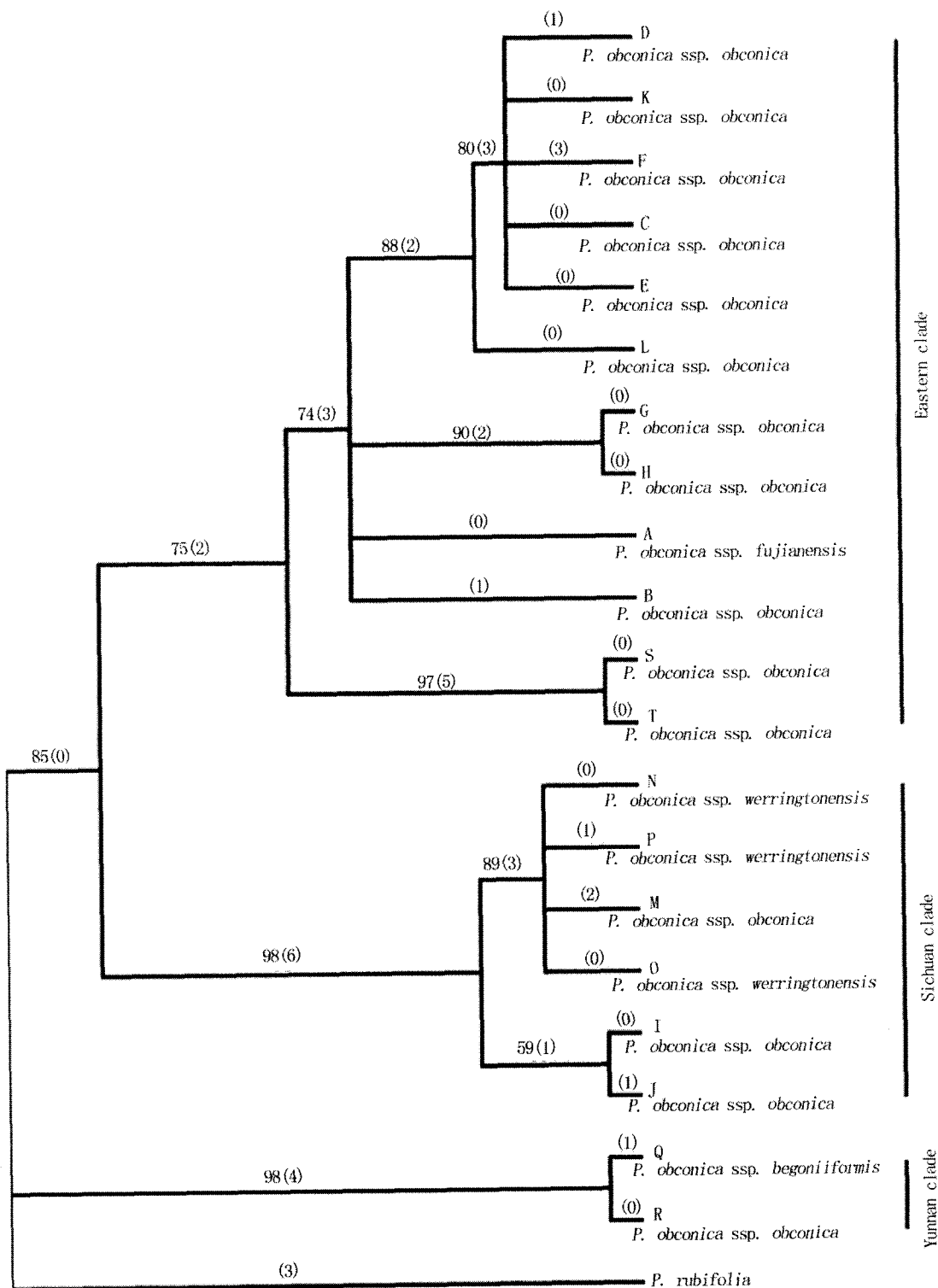


图 2 基于鄂报春 *trnL-trnF* 片段的严格一致性树

Fig. 2 Strict consensus tree based on sequences of *trnL-trnF* regions from *Primula obconica* Hance

单倍型字母见表 1, 图中支上数字表示自展, 括号内数字表示支长。Haplotype letters are those as shown in Table 1. Numbers above branches are bootstrap values, number in brackets shows branch length.

### 3 讨论

#### 3.1 鄂报春原亚种与亚种间的分类学关系

L. Geilly 等<sup>[29]</sup>对欧洲的仙客来 (*Cyclamen repandum* Sibth. & Sm.) 研究表明, 仙客来的原亚种和几个亚种间存在着一定亲缘地理关系。我们无法从现有数据和系统树中明显区分鄂报春的几个亚种, 这些亚种分布在 3 个分支中。福建报春 (Haplotype A) 处在分布区的最东端, 其体态极小, 花萼短于叶丛, 可能是由原亚种在向东迁移过程中演化而来。处在四川分支的波叶鄂报春 (Haplotype N, O, P) 叶缘呈浅波状而具圆齿状裂片, 与处于同支的几个原亚种交错分散于川西高原间; 处于云南分支中的海棠叶报春 (Haplotype Q), 其主要特征为植株具粗长根茎, 叶阔卵形至近圆形, 叶柄纤细而坚硬。但就 cpDNA 的 *trnL-F* 序列数据来看, 此三亚种与原亚种的遗传分化均不明显。

#### 3.2 鄂报春单倍型的系统发育关系

云南禄劝和大理居群组成的云南分支构成系统树的一支, 表明云南分支相对其它两支较早分化出来。东部分支和四川分支的自展值为 82, 支持它们是一个单系起源的姐妹群。四川分支中泸定和木里居群之间的系统关系没有得到解决, 而它们共同组成的亚支与都江堰居群间亲缘关系较近, 可能由一个较近的祖先演化而来。在东部分支中, 两个来自云南维西的居群组成的亚支与峨眉山、桑植、宜昌、乐昌、乳源和南平居群组成的亚支平行, 这两个亚支可能是平行演化的结果。峨眉山、桑植等居群组成的另一亚支在现有系统树中没有得到解决。我们选取的外类群莓叶报春与东部分支、四川分支和云南分支的关系没有得到解决, 这也说明我们选取的外类群与鄂报春的亲缘关系较近。

#### 3.3 鄂报春的亲缘地理学

我国现在的植物地理分布格局在 0.8 Ma BP 随着青藏高原隆升到一定高度而逐渐形成<sup>[30]</sup>。这个时期正处于中更新世和晚更新世之间, 第四纪冰期发展到盛期<sup>[17]</sup>, 发生了一系列的气候波动事件<sup>[31, 32]</sup>。第四纪的气候波动必然对植物地理分布有重要作用。

##### 3.3.1 云南分支的地理结构与谱系关系

云南、贵州南部、广西西部至越南、缅甸、泰国北部可能是报春花科的起源中心, 喜马拉雅-横断

山区地史较年轻, 只是次生分布中心<sup>[33]</sup>。云南分支中包含的两个居群均在这个次生分布中心的边缘, 但它们的系统位置并不明确。其所在的滇西北在第四纪时正处于地质构造活动频繁期<sup>[34]</sup>, 山脉呈南北走向, 隔离了由同一祖先演化而来的云南禄劝和大理居群间的基因交流, 在冰期时保存在各自的避难所中。

##### 3.3.2 东部分支的谱系与地理结构关系

东部分支占有 60% 的单倍型, 分布面积最广, 从最东端的福建, 中部的广东、湖南、湖北到西部的四川、云南都有该分支单倍型的分布。

维西单倍型组成的亚支与另一亚支可能由共同祖先在喜马拉雅上升过程中, 由西南山区向西北与东北迁移, 至横断山区的维西和川西高原东缘峨眉山等地后演化形成。在第四纪时, 特别是晚更新世时, 滇西北处于一系列地堑发育的盛期<sup>[34]</sup>。这种地质构造运动使维西和峨眉山地区形成地理隔离, 从而使这两支平行演化。在第四纪冰期时处于维西一带的鄂报春迁移到附近的盆地、干热河谷等较为温暖的避难所中得到保存。

南蓬等<sup>[35]</sup>对四川瓦屋山 (峨眉山北麓) 和湖北宜昌的几个鄂报春居群进行遗传多样性分析, 表明这两个地区的居群没有明显的遗传差异。从现有的系统树中可以看出同处于东部分支的峨眉山单倍型与湖南桑植和广东乳源单倍型间的关系亲缘。而这三个地区在地理上有 700 km 以上的距离, 它们之间不可能存在直接的基因交流 (如花粉传播, 种子扩散等)。一种可能的解释是鄂报春在一个相对较短的时间里从其中一个地区快速扩散到其它几个地区, 而且这一事件距离现在不是很远, 因此它们的遗传差异还不明显。

有学者认为峨眉山地区在第四纪时发生过冰川运动<sup>[36]</sup>。东部地区在海拔 2 000 m 以下从来没有冰川发生<sup>[37]</sup>, 并且东部地区在冰期时是喜暖动物的一个避难地<sup>[38]</sup>。由此我们推测, 从中更新世开始, 鄂报春从峨眉山一带向东迁移, 特别是当末次冰期盛期 (LGM) (13 000 a BP) 时我国东部地区气温相对温暖潮湿, 比现在低 4-6℃<sup>[32]</sup>, 使鄂报春在冰期时得到了适宜的生长环境。在间冰期时, 随着温度的回升, 向东迁移的鄂报春在武陵山脉、南岭一带得到了保存, 形成了现在的湖南桑植居群和广东乳源居群。峨眉山的周边地区是一个推测中的冰期避难所, 因为它地处四川盆地边缘, 冰期盛期时鄂报春

可能迁入该温暖地带得以保存。

在东部分支中,湖北宜昌单倍型、福建南平单倍型和广东乐昌单倍型的系统发育关系没有确定。从地理分布上推测鄂报春从武陵山脉往北扩展到宜昌,沿南岭往东部扩展至福建,甚至沿着罗霄山、幕阜山一直往北延伸到达江西。

### 3.3.3 四川分支的谱系与地理结构关系

四川分支中都江堰单倍型与泸定、木里单倍型近缘。而川西这一地区地势较高,多高山,在第四纪时曾发生过冰川,局部地区甚至有古冰帽发生<sup>[19]</sup>,所以泸定和木里两个地点可能是冰期避难所。对于都江堰居群有两种假设,一种是在冰期时鄂报春从泸定向东迁移后形成,第二种可能是都江堰本身也是一个冰期避难所。从现有的系统树分析,泸定单倍型和木里单倍型的关系上存在不确定性,但它们都与都江堰单倍型有一定的差异,所以我们支持后一种可能性,认为都江堰也是一个冰期避难所。

根据现有数据和资料,我们认为鄂报春现在的分布区是冰期气候波动时,一部分由西向东迁移形成,这和王文采先生所推测的由西向东的迁移路线基本一致。但是由于川西、滇西北地区地理环境复杂,另一部分鄂报春在冰期时可能零散地分布在多个避难所中而得以存活。

从现有数据建立的鄂报春单倍型系统树中还有许多没有解决的多歧支,无法准确推断单倍型之间的演化关系。通过加强取样密度和选择更多的基因片段,或使用其它的分子标记手段来进行研究,有望解决鄂报春亲缘地理学中存在的问题。

### 参考文献

- [1] Schaal B A, Olsen K M. Gene genealogies and population variation in plants [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2000, 97:7024-7029.
- [2] Avise J C. The history and purview of phylogeography: a personal reflection [J]. Mol Ecol, 1998, 7:371-379.
- [3] Schaal B A, Hayworth D A, et al. Phylogeography studies in plants: problems and prospects molecular ecology [J]. Mol Ecol, 1998, 7: 465-474.
- [4] Dumolin-Lapègue S, Demesure B, Fineschi S, et al. Phylogeographic structure of white oaks throughout the European continent [J]. Genetics, 1997, 146:1475-1487.
- [5] Ferris C, King R A, Hewitt G M, et al. Chloroplast DNA recognizes three refugial sources of European oaks and suggests independent eastern and western immigrations to Finland [J]. Heredity, 1998, 80:584-594.
- [6] Demesure B, Comps B, Petit R J. Chloroplast DNA phylogeography of the common beech (*Fagus sylvatica* L.) in Europe [J]. Evolution, 1996, 50:2515-2520.
- [7] King R A, Ferris C. Chloroplast DNA phylogeography of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. [J]. Mol Ecol, 1998, 7:1151-1163.
- [8] Hewitt G M. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation [J]. Biol J Linn Soc, 1996, 58:247-276.
- [9] Hewitt G M. Post-glacial re-colonization of European biota [J]. Biol J Linn Soc, 1999, 68:87-112.
- [10] Newton A C, Allnutt T R, Gillies A C M, et al. Molecular phylogeography, intraspecific variation and the conservation of tree species [J]. Tree, 1999, 14:140-145.
- [11] Taberlet P, Fumagalli L, Cosson J F, et al. Comparative phylogeography and postglacial colonization routes in Europe [J]. Mol Ecol, 1998, 7:453-464.
- [12] Tomaru N, Takahashi M, Tsumura Y, et al. Intraspecific variation and phylogeographic patterns of *Fagus crenata* (Fagaceae) mitochondrial DNA [J]. Amer J Bot, 1998, 85:629-636.
- [13] Fujii N, Ueda K, Watano Y, et al. Further analysis of intraspecific sequence variation of chloroplast DNA in *Primula cuneifolia* Ledeb. (Primulaceae): Implications for biogeography of the Japanese alpine flora [J]. J Plant Res, 1999, 112:87-95.
- [14] Honjo M, Ueno S, Tsumura Y, et al. Phylogeographic study based on intraspecific sequence variation of chloroplast DNA for the conservation of genetic diversity in the Japanese endangered species *Primula sieboldii* [J]. Biol Conser, 2004, 120:211-220.
- [15] Hwang S Y, Lin T P, Ma C S, et al. Postglacial population growth of *Cunninghamia konishii* (Cupressaceae) inferred from phylogeographical and mismatch analysis of chloroplast DNA variation [J]. Mol Ecol, 2003, 12:2689-2695.
- [16] Huang S F, Hwang S Y, Wang J C, et al. Phylogeography of *Trochodendron aralioides* (Trochodendraceae) in Taiwan and its adjacent areas [J]. J Biogeogr, 2004, 31:1251-1259.
- [17] Comes H P, Kadereit J W. The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution [J]. Trends Plant Sci, 1998, 3:432-438.
- [18] Members of China Quaternary Pollen Data Bases (中国第四纪孢粉数据库小组). Pollen-based biome reconstruction at middle Holocene (6 Ka BP) and Last Glacial Maximum (18 Ka BP) in China [J]. Acta Bot Sin (植物学报), 2000, 42(11):1201-1209. (in Chinese)
- [19] Li J J (李吉均), Zhou S Z (周尚哲), Pan B T (潘保田). The problems of Quaternary glaciation in the eastern part in the Qinghai-Xizang Plateau [J]. Quater Sci (第四纪研究), 1991, 11 (3):193-203. (in Chinese)
- [20] Wang W T (王文采). On some distribution patterns and some migration routes found in the eastern Asiatic region [J]. Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 1991, 30(1):1-24. (in Chinese)
- [21] Wang W T (王文采). On some distribution patterns and some migration routes found in the eastern Asiatic region (cont.) [J].

- Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 1992, 30(2):97-117. (in Chinese)
- [22] Hu C M (胡启明). Primulaceae [A]. In: Chen F H (陈封怀), Hu C M (胡启明). Flora Reipublicae Popularis Sinicae. Tomus 59(2) [M]. Beijing: Science Press, 1990. 14-25. (in Chinese)
- [23] Hu C M, Kelso S. Primulaceae [A]. In: Wu Z Y, Raven P H. Flora of China, Vol. 15 [M]. Beijing: Science Press & St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 1996. 119-120.
- [24] He G S (何国生), Hu C M (胡启明). A new subspecies of *Primula obconica* Hance from eastern China [J]. Acta Phytotax Sin (植物分类学报), 2002, 40(6):151-152. (in Chinese)
- [25] Doyle J. DNA protocols for plants-CTAB total DNA isolation [A]. In: Hewitt G M, Johnston A. Molecular Techniques in Taxonomy [M]. Berlin: Springer, 1991, 283-293.
- [26] Taberlet P, Gielly L, Pautou G, et al. Universal primers for amplification of three noncoding regions of the chloroplast DNA [J]. Plant Mol Biol, 1991, 17:1105-1109.
- [27] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucl Acids Res, 1997, 24:4876-4882.
- [28] Swofford D L. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and other methods). 2002, Version 10 [DB/OL]. Associates, Sunderland, MA.
- [29] Gielly L, Debussche M, Thompson J D. Geographic isolation and evolution of Mediterranean endemic *Cyclamen*: insight from chloroplast *trnL* (UAA) intron sequence variation [J]. Plant Syst Evol, 2001, 230:75-88.
- [30] Tong G B (童国榜), Chen Y (陈云), Wu X H (吴锡浩), et al. Pleistocene environmental megaevolution as indicated by the sporopollen floras in China [J]. J Geomechan (地质力学学报), 1999, 5(4):11-21. (in Chinese)
- [31] Liu J Q (刘嘉麒), Ni Y Y (倪云燕), Chu G Q (储国强). Main palaeoclimatic in the Quaternary [J]. Quater Sci (第四纪研究), 2001, 21(3):239-248. (in Chinese)
- [32] Pu Q Y (浦庆余). Evolution of natural environment in China since the last glacial period and its position in the global change [J]. Quater Sci (第四纪研究), 1991, 11(3):245-259. (in Chinese)
- [33] Hu Q M (胡启明). On the geographical distribution of the Primulaceae [J]. J Trop Subtrop Bot (热带亚热带植物学报), 1994, 2(4):1-14. (in Chinese)
- [34] Wu G Y (吴根耀). The modes and mechanism of Quaternary fault movement in Lijiang-Dali area, northwestern Yunnan and their influence on environment [J]. Quater Sci (第四纪研究), 1992, 12(3):265-276. (in Chinese)
- [35] Nan P, Shi S H, Peng S L, et al. Genetic diversity in *Primula obconica* (Primulaceae) from central and south-west China as revealed by ISSR markers [J]. Ann Bot, 2003, 91:329-333.
- [36] Luo X J (骆详君). Glaciated landform, erratics and loess in Jing-shui valley, Emei, Sichuan [J]. Quater Sci (第四纪研究), 1991, 11(1):38-42. (in Chinese)
- [37] Li J J (李吉均), Shu Q (舒强), Zhou S Z (周尚哲), et al. Review and prospects of Quaternary glaciation research in China [J]. J Glaciol Geocryol (冰川冻土), 2004, 26(3):235-243. (in Chinese)
- [38] Zhang R Z (张荣祖). Relict distribution of land vertebrates and Quaternary glaciation in China [J]. Acta Zool Sin (动物学报), 2004, 50(5):841-851.