

学校编码: 10384 分类号__密级__
学号: 200426056 UDC__

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

利用 ITS 序列和 Matk 序列探讨中国部分原生棕榈科植物的亲缘关系

**Capital Reorganization: The Best Choice for
Molecular Phylogenetics of chinese Palmae Based on nrDNA
ITS and cpDNA matK Sequence Data**

王 春 路

指导教师姓名: 杨盛昌 副教授
专 业 名 称: 细 胞 生 物 学
论文提交日期: 2007/12/4
论文答辩时间: 2007/11/30
学位授予日期:

答辩委员会主席: 郑文教
评阅人: __

2007 年 09 月

厦门大学学位论文原创性声明

兹提交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人完全了解厦门大学有关保留、使用学位论文的规定。厦门大学有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交论文的纸质版和电子版,有权将学位论文用于非赢利目的的少量复制并允许论文进入学校图书馆被查阅,有权将学位论文的内容编入有关数据库进行检索,有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

本学位论文属于

1. 保密 (), 在年解密后适用本授权书。
2. 不保密 ()

(请在以上相应括号内打“√”)

作者签名: 日期: 年 月 日

导师签名: 日期: 年 月 日

摘要

通过叶绿体 *trnK* 基因的内含子 *matK* 序列及核糖体转录间隔区 (ITS) 序列研究初步分析了中国原生棕榈科 18 属间的系统发生。主要结果有以下三点:

1) 测定了 3 种中国原生棕榈科植物 ITS 序列, 并通过 NCBI 网站对 GenBank 数据库检索得到了部分棕榈科植物 ITS 序列。结果表明: 部分棕榈科植物 ITS 序列种内差异较大, 提示其不同 ITS 拷贝间没有完全实现同步进化, 同种棕榈科植物植物 ITS 序列差异, 有时候大于非同种棕榈植物间差异, 这种情况下, 由 ITS 序列构建的棕榈科植物系统树可能是不可信的;

2) 测定了 11 种中国原生棕榈科植物 *matK* 序列, 并通过 NCBI 网站对 GenBank 数据库检索得到了其它 9 种中国原生棕榈科植物 *matK* 序列。结果显示, 棕榈科植物的 *matK* 序列存在一定的信息位点, 但是较为保守;

3) 总的来说, 19 种样品代表了 15 属棕榈科植物。通过对其 *matK* 序列的聚类分析表明:

- a) 贝叶棕族植物细棕竹及小琼棕与鱼尾葵族鱼尾葵属植物亲缘关系比其同其它贝叶棕族植物亲缘关系近, 这传统分类学对棕榈科植物进行的分类不同;
- b) 刺葵族植物刺葵与贝叶棕族植物亲缘关系较近;
- c) 除桃榔属与鱼尾葵属间分支支持度较低外, 其余各分支均大于 60%;
- d) 水椰亚科及省藤亚科与其它棕榈科植物亲缘关系较远, 这与以前的研究相一致;
- e) 利用 *matK* 序列对棕榈科植物进行系统分类研究与传统分类基本吻合。

关键词: 棕榈科植物; 分子系统发生; *matK*

Molecular Phylogenetics of chinese Palmae Based on nrDNA ITS and cpDNA matK Sequence Data

Phylogenetic relationships among the 18 original genera of the palm family were investigated using two DNA sequence data sets derived from matK, the maturase - coding gene located in an intron of the plastid gene trnK, and the internal transcribed spacer (ITS) region of 18S-26S nuclear ribosomal DNA to examine relationships in 18 generas of chinese palm family. The main study results are summarized as follows:

- 1) Determination of the three types of chinese primary palm plants ITS sequences, and comparison with other palm plants ITS sequences from the NCBI GenBank database. In the majority of cases, multiple clones from individuals resolved as monophyletic, which suggests that different copies of ITS not completely synchronized evolution, the same species of plant palm plants ITS sequences, sometimes far greater than differences between species of palm plants, However, the high levels of homoplasy in the ITS dataset, led to concerns that topologies obtained from these data might be unreliable;
- 2) Determination of the original 11 categories of Chinese palm plants matK sequences, and comparison with other nine Chinese palm matK sequence from the NCBI GenBank database. The results showed that palm plants matK sequence information of certain points, but more conservative;
- 3) In all, 19 species representing 15 genera in palmae were examined. Our analyses provided the following insights: (1) Which subtribe does *Rhapis roebelenii* and *Chuniophoenix nana* belong are inconsistent with previous classifications; (2) *Phoeniceae* and *Coryphea* have close relationships; (3) Except of *Arenga* and caryota, others have high bootstrap support, which is >60%; (4) *Nypoideae* and *Calamineae* is sister to the rest of the palms; (5) The result was basically consistent with that of previous classifications.

Key Words: Palmae; molecular phylogeny; matK

目录

1 前言	5
1.1 棕榈科植物概况	5
1.1.1 棕榈科植物特征.....	5
1.1.2 棕榈科植物研究历史及现状.....	5
1.1.3 中国原生棕榈科植物的综合利用	6
1.1.4 我国原生棕榈科植物应用存在的问题.....	8
1.2 成熟酶编码基因 (matK) 和核糖体 DNA 转录间隔区 (ITS) .	8
1.2.1 叶绿体 DNA (cpDNA) matK 的特点.....	10
1.2.2 nrDNA ITS 的原理与特点	12
1.3 构建系统树常见算法及分析软件	14
1.3.1 距离法	18
1.3.2 最大简约法	19
1.3.3 最大似然法	19
1.3.4 系统树可靠性验证方法	20
1.4 本研究目的内容及意义	21
2 实验材料来源及试剂配置	23
2.1 植物材料	23
2.1.1 材料来源.....	23
2.1.2 实验材料的生物学特征	23
2.2 仪器与试剂	36
2.2.1 实验仪器.....	36
2.2.2 试剂与药品	36
2.2.3 溶液配置.....	36
2.3 实验方法	37

2.3.1 改良 2×CTAB 法提取植物总基因组.....	37
2.3.2 改良 3×CTAB 法提取植物总基因组.....	37
2.3.3 引物设计.....	38
2.3.4 ITS 序列扩增及质量分析.....	39
2.3.5 matK 序列扩增及质量分析.....	40
2.3.6 测序.....	40
3 结果及分析.....	41
3.1 基因组提取及基因扩增结果.....	41
3.1.1 棕榈科植物提取结果.....	41
3.1.2 ITS 扩增结果.....	41
3.1.3 matK PCR 扩增结果.....	41
3.2 ITS 序列分析.....	42
3.3 matK 序列分析.....	44
3.3.1 序列统计分析.....	44
3.2.2 进化树(phylogenetic tree)分析.....	68
4 结论.....	71
4.1 利用 ITS 序列构建棕榈科植物系统进化树可行性分析.....	71
4.2 利用 matK 序列构建棕榈科植物系统树.....	72
参考文献:.....	75

Table of Content

1 Introduction.....	5
1.1 The Background of Palmae Family.....	5
1.1.1 The Character of Palmae.....	5
1.1.2 Study History and The Status Quo.....	5
1.1.3 Chinese Original Palm Plants Utilization.....	6
1.1.4 Chinese Original Palm Plants' Application Problems.....	8
1.2 cpDNA MatK and nrDNA ITS.....	8
1.2.1 Features Of cpDNA matK.....	10
1.2.2 Principle and Features of nrDNA ITS.....	12
1.3 Construction of Phylogenetics Tree and Analysis Software	14
1.3.1 Distance Method.....	18
1.3.2 Maximum Parsimony Method.....	19
1.3.3 Maximum Likelihood Method.....	19
1.3.4 System Reliability Verification Methods.....	20
1.4 The Objective of The Study and Significance.....	21
2 the Sources of Experimental Materials and Reagents Configuration.....	23
2.1 Plant Material Source.....	23
2.1.1 Souse of Plant.....	23
2.1.2 The Character of Some Chinese Palmae.....	23
2.2 Equipment and Reagents.....	36
2.2.1 Experimental Apparatus.....	36

2. 2. 2 Reagents and Drugs	36
2. 2. 3 Solution Configuration	36
2. 3 Experimental Methods	37
2. 3. 1 Improved 2 × CTAB Extraction Plant Genome	37
2. 3. 2 Modified 3 × CTAB Extraction Plant Genome	37
2. 3. 3 Primer Design	38
2. 3. 4 ITS Sequence Amplification and Quality Analysis	39
2. 3. 5 matK Sequence Amplification and Quality Analysis	40
2. 3. 6 Sequencing	40
3 Results and Analysis	41
3. 1 Genome extraction and gene amplification results	41
3. 1. 1 Result of Genome Extraction	41
3. 1. 2 ITS Amplification	41
3. 1. 3 matK Amplification	41
3. 2 The Analysis of ITS Sequence	42
3. 3 The Analysis of matK Sequence	44
3. 3. 1 Statistics Analyse	44
3. 2. 2 Phylogenetic Tree Analyse	68
4 Conclusions	71
4. 1 The feasibility Analysis of ITS Sequence in Constructs Palmae System Evolution Tree	71
4. 2 Construct Phylogenetic Tree with matK Sequence	72
References:	75

1 前言

1.1 棕榈科植物概况

1.1.1 棕榈科植物特征

棕榈科 (Palmae), 亦称槟榔科 (Arecaceae), 属种子植物门单子叶植物纲 槟榔目 (Arecales), 乔木或灌木, 树干不分枝, 有些种类攀援而多刺; 具大型 掌状或羽状叶片, 常聚生于树干的顶端; 叶鞘常具网状纤维 (棕衣); 有时具利 刺; 茎单生或丛生, 地上不分枝 (海菲棕属除外); 花序佛焰状, 常由大型苞片 紧包被, 两性或单性; 花被具花萼和花冠, 3 裂瓣; 雄蕊通常 6; 子房上位、1~ 3 室, 有时 4~7 室, 心皮 3, 离生或仅基部合生; 核果或浆果, 不开裂, 肉质, 具核, 纤维质或坚果状, 内果皮坚硬[1]。

1.1.2 棕榈科植物研究历史及现状

棕榈科 (Palmae) 名称自 Jussieu (1789) 确定以来, 许多学者对该科进行了 系统的研究。Martius (1849-1853) 最早将该科区分为 6 族 (tribes): Arecinae, Borassinae, Coryphinae, Cocoinae, Lepidocaryinae, Heteroclitae; Hooker (1883) 将该科区分为 6 亚科: Areceae, Phoeniceae, Corypheaee, Lepidocaryeae, Borasseae, Cocoineae。此后, Drude (1887), Satake (1962), Potzta (1964), Morre (1973) 等学者提出不同的分类观点。 1987 年 Uhl 与 Dransfield 联合出版了《棕榈属志》。将该科区分为 6 亚科 (subfamilies): 贝叶棕亚科 (Coryphoideae), 省藤亚科 (Calamoideae), 水 椰亚科 (Nyopoideae), 蜡材榈亚科 (Ceroxyloideae), 槟榔亚科 (Arecoidae), 象牙椰亚科 (Phytelephantoideae), 并在亚科下设若干族及亚族。该书确认了 全世界棕榈科共有 200 个属, 并详述了各属的分类学特征, 系统位置 (其中 2 个 属系统位置不明确) 和地理分布, 他还根据化石与形态、解剖研究、细胞学、花 粉形态学提出该科起源、演化的观点[6]。

随着新学科新技术的发展, 全世界棕榈科植物分类学研究也有了很大发展。 属的数目在不断变化, 由 1987 年的 200 属, 到 1997 年的 189 属, 再到现在的 210 属。一些属被归并, 另外又有一些新属产生。很多高等级分类群已被证明是 单系的, 但一些亚科、族、亚族的关系和界限还不是很清楚, 存在不少问题。目

前对于棕榈科植物分类学的研究一般都基于解剖学、等位酶分析、分子系统学或其它数据。

棕榈科植物是单系发生的[7]，它同其它单子叶植物遗传距离比较远，但是对质体 DNA 序列的研究则表明棕榈科内部之间的亲缘关系较其它科属内部间近。其叶绿体 DNA 变化速率较慢，研究表明棕榈科植物叶绿体 *rbcL* 基因序列进化速度比禾本科植物慢 5 倍[8,9]，而核 *Adh* 基因则比禾本科植物慢 2.5 倍左右[10]。因此确定其内部根比较困难，因为利用进化比较快的长度多变序列研究则不能同合适外群比较，而利用长度保守序列研究则不能提供足够的变异位点。基于分子序列对棕榈科的系统发育研究一直存在争论，研究不同的序列或者选择不同外群，得到的结果有时候存在一定的差异。以水椰为例，采用薯蓣为单一外群并对叶绿体序列酶切分析和对叶绿体非编码序列拓扑结构研究得出的结论相冲突[11]。找到合适的序列以及外群，对于棕榈科植物的系统发生研究尤为重要。1999 年，Baker 等基于 *trnL-trnF* 序列得出龙棕(*Trachycarpus nanus* Becc.) 独立成为一支[12]，利用 5S 核糖体 DNA 非转录间隔区(2000)研究棕榈科六个属间亲缘关系[69]；Asmussen 等用 *rps16* 内含子和 *trnL-trnF* DNA 序列(2000)的研究结果表明：龙棕与石山棕(*Guihaia argyrata*)有很近的亲缘关系[70]，用编码、非编码区质粒 DNA(2001)研究棕榈科植物的系统发育得出棕榈 (*Trachycarpus fortunei*) 与石山棕(*Guihaia argyrata*) 及欧洲矮棕(*Chamaerops humilis*) 有着较近的亲缘关系；Hahn (2002) 等人利用 *atpB*, *rbcL* 和 18S nrDNA 序列研究棕榈科的分子系统发育关系得出棕榈属(*Trachycarpus*) 独立成一支，与欧洲矮桐属(*Chamaerops*) 及棕竹属(*Rhapis*) 有着较近的亲缘关系[13]。

1.1.3 中国原生棕榈科植物的综合利用

棕榈科位于禾本科和豆本科植物之后是世界第三大经济作物，在我国长江以南地区广泛栽培，既是观赏植物，又是经济植物。

1.1.3.1 观赏

中国原生的棕榈植物的许多种类可作为观赏植物，它们在园林中的应用有着悠久的历史。公元前二世纪，《尔雅》就对棕竹一类的植物进行了记载；晋代的《南方草木状》有了蒲葵、桃榔等的描述；对椰子的记录可以追溯到公元前 2 世纪的汉朝。棕竹一类的植物常作盆栽观赏，棕榈常见在寺庙栽培。上世纪 20

年代开始，陆续有原生的棕榈植物出现在现代城市中[2]。

1.1.3.2 经济价值

棕榈是重要的经济植物：世界上约有 10 个属的棕榈种类的果实、种仁，可以生产食用油脂或工业、药用油脂。以油棕 (*Elaeis guinensis* Jacq.) 和椰子 (*Cocos nucifera* L.) 最为典型。世界上产糖的棕榈植物约有 11 个属，多数是从花序上割开后采集其花汁，将花汁经过蒸煮与加工而成食用棕榈糖，如糖棕 (*Borassus flabellifer* L.)、桄榔 (砂糖椰子) (*Arenga pinnata* (Wurmb) Merr.)。有些棕榈植物树汁或果汁可以直当作饮料饮用或发酵成酒和醋，如智利椰子 (*Jubaea chilensis* Bill.)。蜡棕属棕榈植物的树叶表面覆盖有一层蜡质，可以提取优质的工业、医药及日常用的蜡[3]。

此外，蒲葵、椰子和水椰的叶子可以盖凉亭或者屋顶；黄藤、大部分的省藤属种类，部分的钩叶藤属种类，加工后可以用于编织各种类型的藤器、工艺品等；董棕的木质坚硬，可作水槽和水车的材料；剥取棕榈的棕皮纤维(叶鞘纤维)，可作绳索、棕棚、编蓑衣、地毯、棕垫、棕箱、制刷子、扫把和沙发填充料等，嫩叶经过漂白可以编织草帽；蒲葵的叶片可以做蒲扇，叶裂片的肋脉可以制作牙签；椰子的果实外壳可以制成各种器具和工艺品[4, 5]。

1.1.3.3 药用

对于棕榈的药用，我国古今文献都有记载与研究。唐朝白居易在题为“西湖晚归回望孤山寺赠诸客”曾写到“栟榈叶战水风凉”；宋朝《嘉祐本草》也有棕榈的记载；明朝李时珍在《本草纲目》中记载棕榈的笋、花、果及皮均可以药用；清朝赵其光在《本草求源》中称棕榈“能引血归经，止上卜失血，止下优良血，不但性涩能收脱也。此物止血，不在烧灰，但血见黑则止之说，病习已久，姑从之”。

棕榈的叶鞘纤维(俗称棕皮)及叶柄(俗称棕板)锻炭入药有止血的作用，根治淋病，果实、叶、花、根也可入药；蒲葵的果实供药用，对癌症、白血病等有一定的疗效，根可治哮喘，叶可治功能性子宫出血；槟榔又称大腹果(子)，种子中含有很多种生物碱和单宁，有杀虫、破积、下气、行水的功效，可治虫积食滞，脘腹胀痛和疟疾，能祛除肠道寄生虫，花序和花、花苞均可入药，能清热止咳、健胃；椰子的根入药，治急性黄疸型肝炎，果壳油能治皮炎、脚癣、慢性湿

疹；棕竹的根和叶鞘纤维也可入药[3, 4]。

1.1.4 我国原生棕榈科植物应用存在问题

棕榈科植物主要分布于亚洲、美洲热带地区。巴西是世界上棕榈植物最丰富的国家。据统计原产于我国的有 18 属 117 种，主产地为云南、广东、海南、广西、台湾、福建。四川、湖南、江西、浙江、贵州。西藏的一些温暖地区也有分布。

有效的分类鉴别是棕榈科植物应用工作中首先要解决的问题。分类上的混乱或不明确已经成为棕榈科植物应用开发的严重阻碍，由于棕榈科植物在形态结构上和其他木本植物有明显的差异，如茎常不分枝；叶大型，常羽状分裂或掌状分裂，并聚生于茎顶或在藤本种类呈散生状；无形成层，其茎不能像双子叶木本植物那样随时间推移逐渐增粗等，故很容易通过对营养器官的辨认使棕榈科和其它科区分开来。但在属、种间的分类却不是那么简单，对幼苗期的植物区分尤其困难。这给棕榈科植物的系统演化、多样性保护研究和资源开发应用都带来了不利影响。因此，与其它植物一样，分子系统学的研究无疑是解决问题的有效方法之一。

1.2 成熟酶编码基因 (matK) 和核糖体 DNA 转录间隔区 (ITS)

系统学或分类学是生命科学中争议最多的领域之一。种、属、科以及更高的分类单元的定义常常带有主观性。较之分类学，系统发育学内的矛盾少一些，因为它首要考虑的是有机体间的进化关系，而将某一类群归属到一个确定的分类单元等级，则是次要的工作。然而，系统发育学与分类学的关系相当紧密，因为有机体的分类反映它们的进化历史。

过去研究植物系统分类和演化的方法是在群体的整体水平上，以物种的形态特征特别是生殖系统的形态特征及繁殖方式、代谢物种类，结合古生物学、植物地理学、统计学等进行研究。随着现代生物技术迅速发展，80 年代开始利用 DNA 分子标记技术研究植物系统学，形成了植物学研究的一个新的热点——植物分子系统学。在分子水平研究物种亲缘关系其主要的理论依据是中性进化理论和分子钟假说。

分子钟(molecular clock)的概念来源于分子进化的中性突变假说。该假说认为，生物大分子在进化过程中其速率是近似地保持恒定的。而根据分子钟的原

理来推断生物类群的起源和分歧时间就是将分子系统学的研究和古生物学的化石记录证据相结合来推论生命史上进化发生事件的时间表。分子钟假说认为核苷酸和氨基酸的替代速率在进化过程中是近似地保持恒定, 尽管替代速率的观察值受随机误差的影响。Zuckermandl和Pauling(1962, 1965)及Margoliash(1963)在比较了几种动物的血红蛋白、细胞色素C的序列后最先注意到: 这些蛋白质的氨基酸取代速率在不同的种系间大致相同, 即分子水平的进化存在恒速现象。于是, Zuckermandl和Pauling提出了进化在分子水平存在“时钟”。若用公式表示分子钟的概念, 则首先需要根据化石、生物事件及性状的成对距离比较来确定物种分类单元同源序列(包括蛋白质序列或氨基酸序列)最近的分歧时间, 然后比较同源序列的氨基酸或核苷酸取代数目, 就可以计算出此分类单元的平均氨基酸或核苷酸取代速率, 即: $r=K/2T$, 其中 r 为氨基酸或核苷酸取代速率; K 为两同源序列的氨基酸或核苷酸取代总数; T 为物种间的分歧年代。此时, 若我们认为得到的平均取代速率基本是恒定的, 我们称这个恒定取代速率为分子钟[14]。

由于不同性状间或同一性状可能存在着异速进化现象。若我们在重建系统发育关系时, 不加考虑地接受分子钟假设, 那么可能导致一些错误的结论。其中之一便是应用某一已知的分子钟来估算目的物种的分歧时间时, 可能因建立分子钟的物种和研究的物种在分歧后进化速率不同, 采用这个分子钟就导致估算出的年代过早或过晚而与真实的情况不符; 另外一种可能的错误是当系统树上各物种发生分歧后各自独立进化, 因此它们之间的进化速率有可能并不相同。若此时我们选取一定的性状并接受分子钟的假设来重建物种的系统发育关系, 会因忽略各分歧的不同进化速率, 可能使分歧早的物种变成晚的, 而分歧晚的变成早的, 于是得到错误的系统进化树。故在选取建立系统关系树的方法时, 应注意该方法是否需要分子钟的假设。因此, 在仅需要重建系统关系的情况下, 采用不需分子钟假设的方法, 如PHYLP (Felsenstein, 1993) 软件包内距离法中的neighbor joining方法或PAUP (3.0) (Swofford, 1993) 中使用的各种简约法。但若若要估计物种的绝对分歧年代而需要选用需分子钟假设的方法时, 如使用PHYLP (Felsenstein, 1993) 软件包内距离法中的UPGMA (Unweighted pairgroup method with arithmetic mean) 方法或最大似然法, 则应特别慎重[14]。

分子系统学研究中目的基因的选择是一个重要的问题。一般来说, 要根据所

研究的具体分类群选择适宜的基因:在高级分类阶元(科级以上)间的系统发生分析中,选择一些在进化中较为保守的基因或基因片段(如核编码的蛋白质(酶)基因、核糖体基因(18SrRNA 基因、28SrRNA 基因等);在较低级的分类阶元间,可以选择进化速率较快的基因或基因片断(如某些核编码基因的内含子或转录间隔区(ITS)以及一些细胞器基因(线粒体基因和叶绿体基因)等)。对每一个具体的研究对象,可以选择的基因数目可以是多个的,至于哪些是最有效的,这通常要依据具体情况做比较分析后才能得出结论。有时针对某些涉及到多种层次分类阶元的复杂分类群时,可以采取组合分析的方法:即推断位于系统树基部的深层次的谱系发生时,运用较保守的基因作为目的基因;推断位于系统树中段的谱系发生时,采用进化速率较为适中的基因;在系统树顶端的终端分类单元时,采用进化速率较快的基因。这样可以在不同阶层的演化关系中都获得可信的结果[15]。

1.2.1 叶绿体 DNA (cpDNA) matK 的特点

1.2.1.1 cpDNA 的特性

叶绿体 DNA 为双链环状分子,一般周长约 $40\ \mu\text{m}$ – $45\ \mu\text{m}$,分子量约为 90Mda。已知叶绿体 DNA 大小约为 71Kb–217Kb,但绝大部分在 120Kb–160Kb。叶绿体 DNA 平均浮力密度为 $1.694\text{g}/\text{cm}^3$ – $1.689\text{g}/\text{cm}^3$,GC 含量 25%–38%[16]。

大多数叶绿体 DNA 有两个反向重复序列,亦称为倒位重复(inverted repeat, IR)。裸子植物叶绿体 DNA 缺少倒位重复,但对黑松的研究发现,黑松叶绿体基因组中有残余的倒位重复序列,裸子植物的这种缺少倒位重复或仅有残余重复序列的现象被科学家认为是次生形成的。两个反向重复序列将叶绿体环状分子分隔成两个大小不同的单拷贝区,大单拷贝区(large single copy, LSC)长度在 78.5Kb–100Kb,小单拷贝区(small single copy, SSC)长度在 12Kb–76Kb。其中,叶绿体所有 rRNA 基因(4.5s, 5s, 16s, 23s)及部分 tRNA 基因位于反向重复序列内,大部分 tRNA 和光合机构中的基因分布在 LSC 区。

大多数叶绿体基因组为多顺反子转录单位,如操纵子 psbB-psbH-petB-petD 编码光系统 II 和细胞色素 b6/f 蛋白复合体;操纵子 rps2-atpI-atpH-atpF-atpA 为一个编码核糖体蛋白 S₂ 和 ATP 合酶亚基的结构复杂的操纵子。一般的,叶绿体的这种多顺反子的组织可以使用较少数目的转录起始位点。

大多数学者认为叶绿体中存在两种甚至两种以上具有不同功能的 RNA 聚合

酶，其中一种在叶绿体 DNA 制备过程中紧密的与 DNA 缔合，形成 DNA-蛋白质复合物，称之为结合的 RNA 聚合酶；另一种是可溶的 RNA 聚合酶，由多个亚基(7种-14种多肽)组成。但叶绿体 RNA 聚合酶到底是由核编码的还是由叶绿体基因编码的，则还是一个讨论中的问题。

叶绿体基因组的基因分为两大部分，一是遗传系统的基因如:rrn 基因和 trn 基因，二是光系统的基因，其基因产物参与光合作用，如 rbcL 基因和 ndh 基因。叶绿体基因表达的调控与核基因相似，有转录水平的调节，转录后调节和修饰，翻译调节和翻译后修饰等。

叶绿体在不同植物中的遗传方式各异，大多数的被子植物为母系遗传，约 20%为双亲遗传，如月见草属、天竺葵属、苜蓿属；母系遗传的被子植物仅在猕猴桃属的植物中有过报道；针叶树的叶绿体是父系遗传。叶绿体的单亲遗传有效防止了不同来源的基因组之间的相互作用，而松科植物的父系叶绿体，则在传粉到受精的将近 13 个月的时间里为雄配子提供了营养[17]。

1.2.1.2 matK 基因及在植物系统发育分析中的应用

matK 基因位于叶绿体 trnK 基因的内含子中，长约 1500bp，为单拷贝基因，编码一种成熟酶 (matKase)，这种成熟酶参与 RNA 转录体中 II 型内含子的剪切 [18]。是现知被子植物中进化速率较快的基因，多用于科下属间系统发育关系的研究 [19]。

Hilu (1999) 等在探讨禾本科植物的 matK 基因核苷酸插入/删除的进化含义时指出：matK 基因的 3' 端的插入/删除和核苷酸的替换在鉴别草本植物的某些主要进化中有重要作用。1bp 的缺失引起了开放阅读框的转换，在禾本科，两个最基本进化支 *Streptochaeta* 和 *Anomochloa* 的位置由一个关键的突变所支持。另外 1bp 的缺失造成开放阅读框的提早终止是 *Elytharta* 独有的。1 个 6bp 的插入支持了 *Panicoideae*, *Arundinoideae*, *Centothecoideae* 和 *Chloridoideae* (PACC) 4 个亚科的单系发生。这个标记在区分 PACC 支与察看 PACC 支和它的姐妹群关系时有重要作用。来自苔藓植物，裸子植物和种子植物的氨基酸序列对准表明这个区域是相对保守的，但是在 *Poaceae*，该区域的变异程度很高 [20]。

Mort (2001) 等用 matK 基因推断景天科 (*Crassulaceae*) 的系统发育关系和进化，他们用景天科的 112 个种，这 112 个种包括了 33 个属和 6 个亚科。分

Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库