

中国观音座莲植物的系统发育和起源时间：来自叶绿体 *rbcL* 和 *trnL-F* 序列的证据

李春香 陆树刚

(中国科学院南京地质古生物研究所现代古生物学和地层学国家重点实验室, 南京 210008; 云南大学生态学与地植物学研究所, 昆明 650091. E-mail: cxli@nigpas.ac.cn)

摘要 莲座蕨(*Marattioid ferns*)是一类公认古老原始蕨类植物, 其化石记录可以追溯到中石炭世, 现存类群广布于世界热带及亚热带, 其中种类最丰富的类群——观音座莲科 *Angiopteridaceae* 主产亚洲. 关于观音座莲科的系统演化关系至今存在争议, 本研究基于叶绿体 *rbcL* 基因和 *trnL-F* 基因间隔区序列, 用 MEGA2 和 MrBayes v3.0b4 软件包分析了中国观音座莲科观音座莲属 *Angiopteris* 与原始观音座莲属 *Archangiopteris* 的系统演化关系; 基于系统发育树和化石记录资料, 进一步估算了观音座莲植物起源与多样性分化的时间. 结果显示, 观音座莲属和原始观音座莲属组成一个支持率很高的单系类群, 无论是 *rbcL* 序列, 还是 *trnL-F* 序列, 单独的序列分析均不能将观音座莲属和原始观音座莲属区分开, 从而证实观音座莲属和原始观音座莲属具有密切的亲缘关系; 而 *rbcL* 基因和 *trnL-F* 基因间隔区序列的联合分析提高了各个分支的支持率, 并且显示原始观音座莲属较早分化出来, 位于支系的基部, 从而不支持原始观音座莲属由观音座莲属演化而来的观点. 分歧时间的估计显示, 现存观音座莲属与原始观音座莲属发生多样性分化的时间仅约为 26 Ma. 系统发育分析和分歧时间的估计结果表明, 现存的观音座莲属和原始观音座莲属植物的演化是以起源古老但多样性分化较晚为特征, 而非通常所认为的古老残遗类群.

关键词 中国观音座莲科 *rbcL* *trnL-F* 系统发育 起源时间 化石记录

在秦仁昌系统中, 观音座莲目包括 3 个科, 即观音座莲科 *Angiopteridaceae*, 合囊蕨科 *Marattiaceae* 和天星蕨科 *Christensiaceae*^[1], 产于南美洲热带地区的多孔蕨科 *Danaeaceae* 也属于观音座莲目的成员^[2]. 观音座莲科在中国由 2 个属组成, 即观音座莲属 *Angiopteris* Hoffm 和原始观音座莲属 *Archangiopteris* Christ et Gies^[1], 其中的原始观音座莲 *Archangiopteris henryi* Christ et Gies 被列为中国珍稀濒危植物^[3]. 此外, 产于亚洲热带的大叶观音座莲属 *Macroglossum* Copel 也包括在观音座莲科内^[4,7]. 然而, 这样的分类处理与当今国际上广泛采用的 Kramer 和 Green^[5] 系统存在很大的分歧: 在 Kramer 和 Green^[5] 系统中, 上述 4 个科都归入合囊蕨科, 并且将原始观音座莲属和大叶观音座莲属都归入观音座莲属. 由此可见, 观音座莲属与原始观音座莲属的属间界限需要新的资料重新进行界定. 关于观音座莲属与原始观音座莲属之间的系统演化关系也存在争议, 原始观音座莲属是 Christ 和 Giesenhagen^[6] 根据采自中国云南东南部(蒙自地区)的标本而建立的一个属. 在他们建立这个属时, 认为此属代表观音座莲目的极原始类型. 但是秦仁昌^[7] 和张芝玉^[8] 经过仔细地研究指出, 原始观音

座莲属在演化阶段上并不比观音座莲属更古老和更原始, 相反, 原始观音座莲属是观音座莲属的直属后代, 只是在漫长的历史演化过程中获得了自己特有的一系列特征, 才成为派生的一支^[7,8]. 针对观音座莲属与原始观音座莲属的属间界限及系统演化关系上存在的问题, 我们采用分子系统学的方法来探讨两者之间的系统演化关系.

现有资料表明, 分子系统学研究可以为蕨类植物的系统演化关系提供较好的证据, 特别是运用叶绿体基因组编码磷酸核酮糖羧化酶大亚基(*rbcL*)基因序列构建的系统树, 已经为蕨类植物的系统关系提供了很好的证据, 部分观音座莲目植物的代表种类也包括在其中^[9-14], 但是这些研究仅涉及极少数的种类, 未能解决观音座莲属与原始观音座莲属的系统演化关系. 此外, 我们考虑到在进行系统进化研究时, 单个基因序列所能提供的信息往往有限, 因此我们还采用了叶绿体 *trnL-F* 基因间隔区序列. *rbcL* 和 *trnL-F* 序列的联合分析已经被应用到很多蕨类植物类群的系统演化关系的研究中, 如对木贼 *Equisetum*^[14], *Lecanopteris*^[15], 箭蕨科(*Ophioglossaceae*)^[16], 铁角蕨属 *Asplenium*^[17], *Adenophorus*^[18], 鳞毛蕨属

Dryopteris^[19]以及贯众属*Cyrtomium*^[20]的分析等, 这些研究均显示, *rbcL*和*trnL-F*序列的联合分析可以提供相关类群的系统演化信息.

1 材料和方法

() 实验材料. 供试材料为新鲜叶片, 样品采集后迅速在硅胶中干燥, 在实验室进行 DNA 提取及序列分析. 凭证标本保存在实验室和云南大学标本馆(其中尖齿观音座莲 *Angiopteris acutidentata* Ching, 侯氏观音座莲 *Angiopteris howii* Ching et C. H. Wang 和长尾观音座莲 *Angiopteris caudipinna* Ching 保存在中国科学院华南植物研究所标本馆). 样品产地等信息详见表 1.

() 总 DNA 提取. 总 DNA 提取采用 CTAB (cetyltrimethylammonium bromide)方法^[21], 并根据施苏华等人^[22]的方法略作修改.

() 序列测定. (1) 引物的设计. 本研究用叶绿体的两段DNA序列, 即*rbcL*基因和*trnL-F*基因间隔区序列区为对象. 扩增*rbcL*基因所用引物根据Little和Barrington^[23]设计, 略作修改, 具体序列见文献^[24]. 扩增*trnL-F*基因所用引物参照Taberlet等人^[25]设计, 略作修改, 序列为e: 5'-GGT TCA AGT CCC TCT ATC CC-3'; f: 5'-TTT GAA CTG GTG ACA CGA G-3'. (2) PCR扩增. 扩增反应在Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600 上进行. 反应体积为 50 μ L, 包括 2 μ L DNA模板(约 2 ng, 由Gel Doc图像分析仪测得), 2.5 mmol/L MgCl₂, 0.2 mmol/L dNTPs, 1 \times 缓冲液, 0.25 μ mol/L引物, 1 μ g/ μ L BSA, 5% DMSO.

rbcL DNA片段扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C, 2 min; 94 $^{\circ}$ C, 0.5 min, 56 $^{\circ}$ C, 1.5 min, 72 $^{\circ}$ C, 1 min, 40 次循环; 72 $^{\circ}$ C, 7 min. *trnL-F* DNA片段扩增程序为: 94 $^{\circ}$ C, 2 min; 94 $^{\circ}$ C, 0.5 min, 52 $^{\circ}$ C, 1 min, 72 $^{\circ}$ C, 0.5 min, 40 次循环; 72 $^{\circ}$ C, 7 min. 扩增产物经 0.8%~1.2%琼脂糖电泳后用Gel Doc图像分析仪观察, 对于PCR反应特异性高, 无明显非特异反应条带的扩增产物, 用Wizard PCR DNA Purification System (Promega)直接纯化; 对于有明显非特异反应的PCR产物, 先以低熔点琼脂糖凝胶电泳分离并割取目标片段, 再用Wizard PCR DNA Purification System进行纯化, 均按照其说明书上的步骤进行操作. (3) 序列测定. 序列测定在ABI 377 DNA自动测序仪(Applied Biosystems, USA)上完成, 除了扩增引物外, 对于*rbcL*片段, 内部引物 424F和 940R^[23]也用于测序. 序列数据输入美国生物信息中心(NCBI)的基因库(GenBank), 序号见表 1.

() 序列分析. 用CLUSTAL X软件^[26]进行对位排列. 对位排列后的序列, 分别用MEGA2^[27]软件中的最大简约法(maximum parsimony, MP)和邻接法(neighbor-joining, NJ)及MrBayes v3.0b4^[28]中的贝叶斯方法构建系统树. 在简约法中采用启发式搜索(heuristic search)方法, 邻接法分析中的遗传距离采用Kimura's two-parameter算法, 转换/颠换值设为 1.6. 在用贝叶斯方法构建系统树之前, 先用MrModeltest 2.0^[29]软件获得最适合本研究序列矩阵的核苷酸替代模型及相关参数, 对于*rbcL*及*rbcL*和*trnL-F*的联合序列采用的模型为GTR+G模型^[30], 对于*trnL-F*

表 1 本文测定序列的标本及其相关信息

标本号	种名	采样地点	GenBank 登录号	
			<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>
Dong SY/1133	<i>Angiopteris acutidentata</i> (尖齿观音座莲)	云南西畴县	DQ838052	DQ838082
Lu SG/HN2	<i>Angiopteris cartilaginea</i> (厚边观音座莲)	海南白沙县	DQ838060	DQ838077
Lu SG/L9	<i>Angiopteris caudatiformis</i> (披针观音座莲)	云南西双版纳	DQ838056	DQ838087
Dong SY/1102	<i>Angiopteris caudipinna</i> (长尾观音座莲)	海南琼中县	DQ838053	DQ838084
Lu SG/HN4	<i>Angiopteris hainanensis</i> (海南观音座莲)	海南白沙县	DQ838061	-
Lu SG/B3	<i>Angiopteris helferiana</i> (楔基观音座莲)	云南西双版纳	DQ838050	DQ838080
Lu SG/B1	<i>Angiopteris hokouensis</i> (河口观音座莲)	云南河口县	DQ838055	-
Dong SY/1140	<i>Angiopteris howii</i> (侯氏观音座莲)	海南琼中县	DQ838054	DQ838081
Lu SG/EM5	<i>Angiopteris omeiensis</i> (峨眉观音座莲)	四川峨眉山	DQ838057	DQ838079
Lu SG/D3	<i>Angiopteris wangii</i> (王氏观音座莲)	云南屏边	DQ838051	DQ838085
Lu SG/W16	<i>Archangiopteris bipinnata</i> (二回原始观音座莲)	云南马关县	DQ838059	DQ838086
Lu SG/N3	<i>Archangiopteris henryi</i> (原始观音座莲)	云南西畴县	DQ838062	DQ838074
Lu SG/N36	<i>Archangiopteris sornai</i> (台湾原始观音座莲)	台湾	-	DQ838075
Lu SG/HN1	<i>Archangiopteris tonkinensis</i> (尖叶原始观音座莲)	海南白沙县	DQ838058	DQ838076

片段采用的模型为 F81^[31]。贝叶斯法分析中采用 MCMCMC (Metropolis-coupled Markov Chain Monte Carlo) 算法, 以随机树为起始树, 运行 1000000 代, 每 100 代取样 1 次, 开始的 1000 个样本作为老化样本 (burn-in samples) 舍弃。在构建系统树时, 根据 Pryer 等人^[11,12]构建的系统树, 以木贼属 *Equisetum* (*E. diffusum*, *E. ramosissimum*, 其 *rbcL* 的 GenBank 登录号分别为 AY226141, AY226132; *trnL-F* 登录号分别为 AY226126, AY226115) 作为外类群。采用分划同质性检验 (partition homogeneity test)^[32] 评价序列联合分析的可靠性。由于目前尚无 *Marattia* 和 *Danaea* 的 *trnL-F* 序列, 在对 *trnL-F* 进行分析时, 只构建了观音座莲和原始观音座莲及其外类群 *Equisetum* 的系统发育树; 在对 *rbcL* 和 *trnL-F* 进行序列的联合分析时, 我们分别构建了包含 *Marattia*, *Danaea* 和不包含 *Marattia*, *Danaea* 的系统发育树, 并比较所获得的系统树拓扑结构的异同; 在构建包含 *Marattia*, *Danaea* 的系统发育树时, 序列矩阵中的 *Marattia* 和 *Danaea* 的 *trnL-F* 序列以多个“N”(未知碱基) 代替。

() 拥有最近共同祖先时间(分歧时间)的估算。由于目前的分析无作为参照点的 *Marattia* 的 *trnL-F* 基因间隔区序列, 因此只利用 *rbcL* 序列进行分歧时间的估算。首先采用相对速率检验 (relative rate test, Tajima's test) 方法评估 *rbcL* 基因替代速率在不同支系间是否恒定, 即分别将所比较的类群与外类群的遗传距离进行统计学比较 (*t* 检验, χ^2 检验)^[33,34], 剔除

不能通过检验的分类群。拥有最近共同祖先时间(分歧时间)的估算方法: 首先根据古植物学资料^[35,36], 并参照 Pryer 等人^[12] 所采用的化石记录数据, 以 *Marattia* 作为参照点 (图 1, R 节点, 化石记录为 206 Ma) 计算 *rbcL* 在通过相对速率检验支系之间的演化速率, 再根据通过相对速率检验的观音座莲和原始观音座莲类群之间的遗传距离 (Kimura's two-parameter 算法) 估算它们发生多样性分化的时间。

2 结果

2.1 *rbcL*, *trnL-F* 序列分析结果

结合已报道的另外两种观音座莲及它们近缘类群 (即 *Angiopteris evecta*, *Angiopteris lygodifolia*, *Marattia attenuata* 和 *Danaea elliptica*) 的 *rbcL* 基因序列 (GenBank 登录号分别为: L11052, AY138397, AF313581 和 AF313578) 和 *Angiopteris madagascariensis* 的 *trnL-F* 基因间隔区序列 (GenBank 登录号为 AY651836), 对本研究新测定的 10 种观音座莲和 3 种原始观音座莲的叶绿体 *rbcL* 基因序列及 10 种观音座莲和 4 种原始观音座莲的叶绿体 *trnL-F* 基因间隔区序列 (GenBank 登录号见表 1) 进行分析。在对位排列矩阵中, *rbcL* 基因序列长度为 1379 bp, 无插入或缺失, 其中 268 个位点为可变位点 (占序列长度 19.43%), 186 个位点为信息位点 (占序列长度 13.48%); *trnL-F* 基因间隔区序列长度为 335 bp, 有 11 个插入或缺失位点, 其中 93 个位点为可变位点 (占序列长度

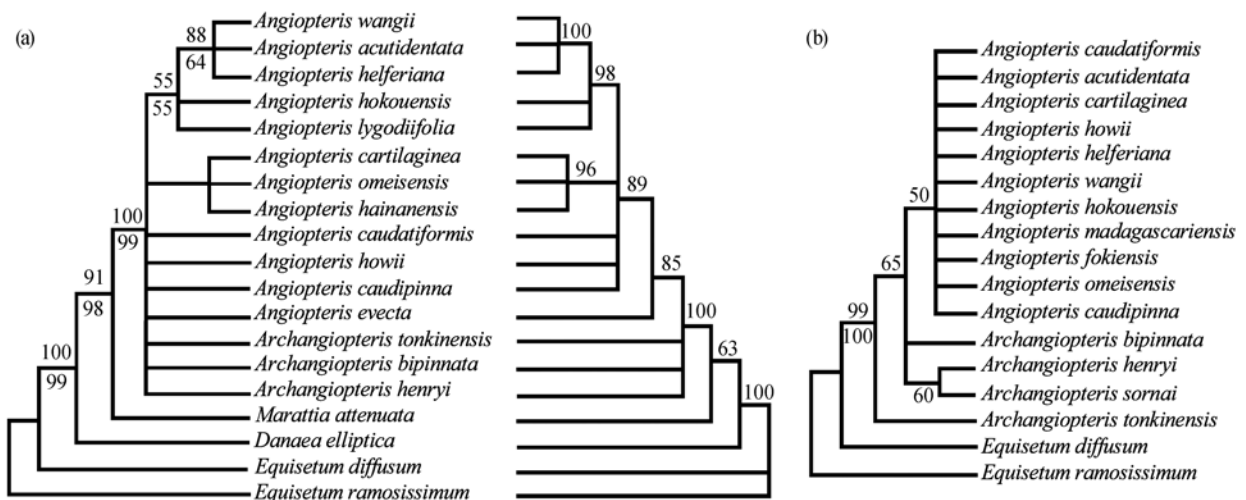


图 1 观音座莲和原始观音座莲及其近缘类群的 *rbcL* 和 *trnL-F* 独立分析的系统发育树

(a) *rbcL* 序列分析的 MP, NJ (左边, 分支上方为最大简约法 500 次重抽样分析自展值, 分支下方为邻接法 1000 次重抽样分析) 和贝叶斯分析 (右边, 分支上方为后验概率) 的 50% 多数原则一致树; (b) 基于 *trnL-F* 序列分别用 MP, NJ (分支上方为最大简约法 500 次重抽样分析自展值, 分支下方为邻接法 1000 次重抽样分析) 构建的 50% 多数原则一致树

39.57%), 2 个位点为信息位点(占序列长度 0.60%)。

用 3 种分析方法(MP, NJ 和贝叶斯分析)分别构建了观音座莲和原始观音座莲及其近缘类群的 *rbcL* 和 *trnL-F* 系统树, 不同方法所获得的系统树在拓扑结构上基本一致, 但在自展支持率上存在差异。本研究分别列出用贝叶斯分析方法、MP 和 NJ 方法构建的 *rbcL* 系统树及 MP 和 NJ 方法构建的 *trnL-F* 系统树(未列出用贝叶斯分析方法构建的系统树, 与 MP 和 NJ 方法系统树一致, 图 1)。其中用最大简约法分析所获得系统树的树长(tree length)、最大简约树的数目(No. of trees)、序列中(G+C)含量所占百分比((C+G) content (%))、一致性指数(consistency index, CI)、存留指数(retention index, RI)及存留一致性指数(retention consistency index, RCI)见表 2。3 种分析方法均表明, 以木贼属作为外类群, 观音座莲目(秦仁昌系统, 1978)中首先分化出来的是多孔蕨属 *Danaea* (*D. elliptica*), 而后是合囊蕨属 *Marattia* (*M. attenuata*); 所分析的观音座莲和原始观音座莲组成一个支持率很高的单系类群, MP 及 NJ 系统树的抽样自展支持率(Bootstrap value, BS 值)和贝叶斯分析的后验概率(posterior probability values, PP 值)均很高。但是无论是 *rbcL*,

还是 *trnL-F* 序列, 单独的序列分析均不能将观音座莲和原始观音座莲区分开。尽管 *trnL-F* 的 MP 系统树显示原始观音座莲较观音座莲早分化出来, 但是抽样自展支持率很低(仅为 50%)。

2.2 序列联合分析的结果

对 *rbcL* 基因和 *trnL-F* 分划同质检验的结果为 $P=1.00$, 说明可以将两套数据进行联合分析。用 MP, NJ 和贝叶斯推断法对 *rbcL* 和 *trnL-F* 进行联合的系统发育分析。由于目前尚无 *Marattia* 和 *Danaea* 的 *trnL-F* 序列, 在对 *rbcL* 和 *trnL-F* 进行序列的联合分析时, 我们分别构建了包含 *Marattia* 和 *Danaea* 及不包含 *Marattia* 和 *Danaea* 的系统发育树, 所得的关于观音座莲属 *Angiopteris* 和原始观音座莲属 *Archangiopteris* 系统发育树在拓扑结构上基本一致, 仅在自展支持率上存在差异。本研究仅列出包含 *Marattia* 和 *Danaea* 的系统发育树(图 2)。

rbcL 基因和 *trnL-F* 区序列联合对位排列后的序列长度为 1686 bp, 其中可变位点 437 个(占序列长度的 25.92%), 信息位点 327 个(占序列长度的 19.40%)。用 MP, NJ 和贝叶斯推断法分别构建的系统树在拓扑结构上基本一致, 但在自展支持率上存在差异(图 2)。

表 2 用最大简约法分析不同序列数据产生的结果比较

数据	序列长度/bp	(C+G)含量(%)	最大简约树的数目	树长度	一致性系数	保留系数	存留一致性指数
<i>trnL-F</i> 间隔区	335	34.00	3532	210	1	1	1
<i>rbcL</i>	1379	42.30	1160	317	0.9306	0.9127	0.8494
联合数据	1686	41.00	496	653	0.9556	0.9444	0.9026

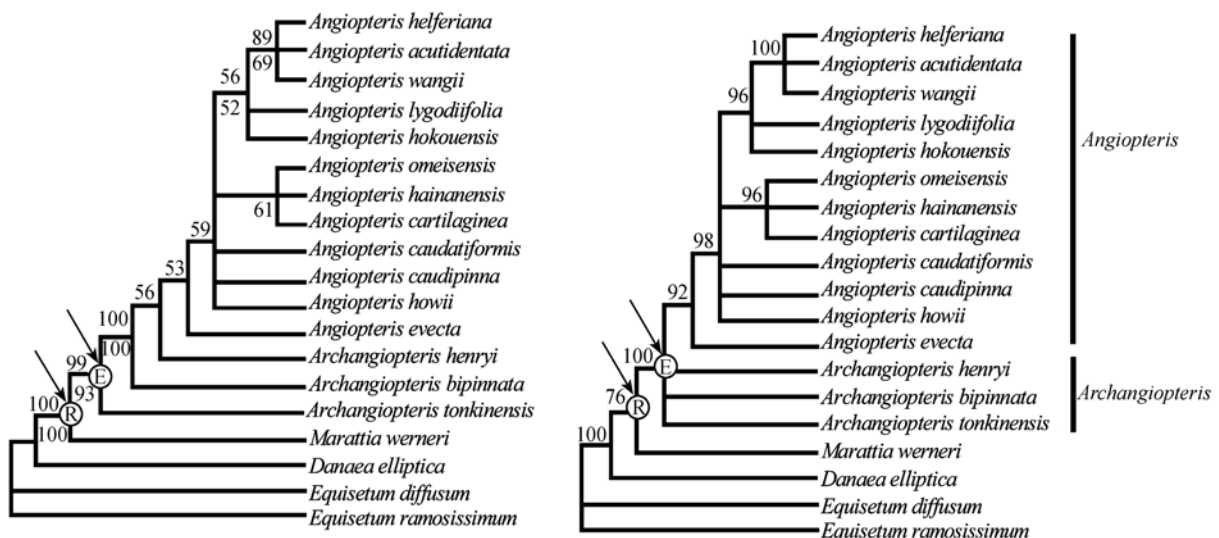


图 2 观音座莲和原始观音座莲及其近缘类群的 *rbcL* 和 *trnL-F* 联合分析的 50%多数原则一致树

左边为 MP, NJ 系统树(分支上方为最大简约法 500 次重抽样分析自展值, 分支下方为邻接法 1000 次重抽样分析); 右边为贝叶斯分析(分支上方为后验概率)。R 和 E 为进行分歧时间估算时的参照点和估算点

与 *rbcL* 基因和 *trnL-F* 区序列独立分析的结果相似, 观音座莲目中首先分化出来的是多孔蕨属, 而后是合囊蕨属; 所分析的观音座莲属和原始观音座莲属组成一个支持率很高的单系类群(BS 值和 PP 值均很高). *rbcL* 基因和 *trnL-F* 区序列联合分析提高了各个分支的支持率, 特别是用贝叶斯分析方法所构建的系统树, 观音座莲属和原始观音座莲属每一分支的 PP 值均达到 90% 以上, 序列的联合分析显示在观音座莲属和原始观音座莲属组成的分支中, 原始观音座莲属的成员较早分化出来, 位于支系的基部.

2.3 分歧时间

rbcL 基因的相对速率的检验结果显示, 只有峨眉观音座莲 *Angiopteris omeisensis* 没有通过相对速率检验(统计检验的可靠性值 < 5%), 因此在估算分歧时间时剔除 *A. omeisensis*^[33]. 演化速率的计算结果显示, *rbcL* 在观音座莲和原始观音座莲及其近缘类群中的每个位点每年的替代速率为 $(6.73 \pm 1.19) \times 10^{-11}$, 观音座莲和原始观音座莲类群间遗传距离(Kimura's two-parameter)为 0.0035 ± 0.0007 , 依此估算出观音座莲和原始观音座莲发生分歧时间(即多样性分化发生的时间)为 (26 ± 5.20) Ma(图 2, 节点 E).

3 讨论

关于观音座莲属和原始观音座莲属的系统演化关系, 秦仁昌^[7]和张芝玉^[8]均承认观音座莲属和原始观音座莲属, 并认为两者之间具有密切的亲缘关系. 而在 Kramer 和 Green 系统^[5]中, 原始观音座莲被并入观音座莲属中. 本研究所有的分析都支持观音座莲和原始观音座莲组成一个支持率很高的单系类群, 单一的序列分析均不能将两者区分开, 从而支持两者具有密切的亲缘关系. 在系统演化方面, Christ 和 Giesenhagen^[6]在建立原始观音座莲属时, 认为该属代表观音座莲目的原始类型, 但秦仁昌^[7]和张芝玉^[8]提出相反的意见, 认为原始观音座莲在历史演化的阶段上并不比观音座莲属更古老和更原始, 而是观音座莲属的直属后代. 本研究的 *rbcL* 和 *trnL-F* 联合的序列分析及 *rbcL* 贝叶斯分析结果支持原始观音座莲较早分化出来, 位于这个支系的基部, 并不支持秦仁昌^[7]和张芝玉^[8]认为的原始观音座莲属由观音座莲属演化而来的观点. 此外, 本研究分析结果显示, 产于南美洲热带地区的多孔蕨比产于旧大陆热带地区的观音座莲科和合囊蕨较早分化出来, 而在旧大陆热带地区, 合囊蕨比观音座莲科先分化出来. 在观音座莲

科中, 原始观音座莲属 *Archangiopteris* 比观音座莲属 *Angiopteris* 较早分化出来, 这两属可能均从合囊蕨科 Marattiaceae 起源, 而后进行多样性分化. 关于两者之间的界限, 本研究结果倾向于 Kramer 和 Green 系统^[5]中将原始观音座莲属并入观音座莲属的观点; 但是在形态解剖特征上, 两属存在明显的差别^[7,8]. 因此, 关于两属之间的界限还有待于更多资料进一步分析.

观音座莲属和原始观音座莲属的系统演化关系不能够很好分辨的现象(即系统树各分支具有较低的统计支持率)反映了这一类群经历了较近的快速辐射演化过程. 部分类群间缺乏构建系统发育树所需的足够信息以致不能有效地解决其系统发育关系, 反映了这部分生物类群经历了快速成种和辐射演化的过程, 这一现象在其他的植物类群中有很多报道^[37-41]. 本研究的系统发育分析表明, 无论是 *rbcL*, 还是 *trnL-F* 系统树均不能解决观音座莲属和原始观音座莲属之间的系统演化关系, 表明这一植物类群经历了较近的快速辐射演化过程; 分歧时间的粗略估计结果显示观音座莲属和原始观音座莲属发生辐射演化的时间约为 26 Ma, 从而进一步表明这一类群的快速辐射演化发生得较晚. 但是化石资料却显示观音座莲类植物有着悠久的演化历史, 最早可以追溯到中石炭世^[13,42]. 中国的观音座莲化石出现于中生代三叠纪时的云南和四川^[43,44], 如古莲座蕨 *Angiopteris antique*, 永仁莲座蕨 *A. yungjenensis* 等, 即古植物学的资料表明, 观音座莲属和原始观音座莲属均有着古老的起源; 而分子系统学的研究结果却显示出现存类群的大规模辐射演化和多样性分化却发生比较晚, 即现存观音座莲属和原始观音座莲属这一植物类群的演化是以古老的起源和较晚的多样性辐射演化为特征, 而非通常所认为的古老残遗类群. 这一现象在另外一种通常被认为比较古老的类群——木贼(*Equisetum*)内也同样存在, Des Marais 等人^[14]的研究显示, 现存木贼起源于古生代(Paleozoic), 但是其辐射演化发生在新生代(Cenozoic)(36.3~48.9 Ma). 分子系统学的研究提示我们应该重新审视观音座莲属和原始观音座莲属的起源和演化.

致谢 中山大学施苏华教授、黄椰林和周仁超博士提供诸多技术和学术意见, 中国科学院华南植物研究所的董仕勇博士赠送部分标本材料, 谨表谢忱. 本工作为国家自然科学基金资助项目(批准号: 40302003, 30370116).

参 考 文 献

- 1 秦仁昌. 中国蕨类植物科属系统排列和历史来源. 植物分类学报, 1978, 16: 1—19, 16—37
- 2 Tryon R M, Tryon A F. Ferns and allied plants, with special reference to tropical America. New York: Springer-Verlag, 1982. 41—45
- 3 傅立国, 主编. 中国植物红皮书(第1册). 北京: 科学出版社, 1992
- 4 Copeland E B. Genera Filicum. Waltham Massachusetts: Chronia Botanica Company, 1947. 1—247
- 5 Kramer K U, Green P S. Pteridophytes and gymnosperms. In: Kubitzki K, ed. The Families and Genera of Vascular Plants (Vol.). Berlin: Springer-Verlag, 1990. 174—180
- 6 Christ H, Giesenhagen K. *Archangiopteris*. Flora, 1899, 89: 72
- 7 秦仁昌. 原始观音座莲属(*Archangiopteris*)的正误研究. 植物分类学报, 1958, 7: 212—224
- 8 张芝玉. 原始莲座蕨属(*Archangiopteris*)的形态研究及其与莲座蕨属(*Angiopteris*)的关系探讨. 植物学报, 1973, 15: 261—270
- 9 Hasebe M, Omori T, Nakazawa M, et al. *rbcL* gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 5730—5734[DOI]
- 10 Hasebe M, Wolf P G, Pryer K M, et al. Fern phylogeny based on *rbcL* nucleotide sequences. Am Fern J, 1995, 85: 134—181[DOI]
- 11 Pryer K M, Smith A R, Skog J E. Phylogenetic relationships of extant ferns based on evidence from morphology and *rbcL* sequences. Am Fern J, 1995, 85: 205—282[DOI]
- 12 Pryer K M, Schneider H, Smith A R, et al. Horsetails and ferns are a monophyletic group and the closest living relatives to seed plants. Nature, 2001, 409: 618—622[DOI]
- 13 Pryer K M, Schuettpelz E, Wolf P G, et al. Phylogeny and evolution of monilophytes: A new perspective on ferns, with a focus on early-diverging leptosporangiate lineages. Am J Bot, 2004, 91: 1582—1598
- 14 Des Marais D L, Pryer K M, Smith A R. Phylogenetic relationships and evolution of extant horsetails, *Equisetum*, based on chloroplast DNA sequence data (*rbcL* and *trnL-F*). Int J Plant Sci, 2003, 164: 737—751[DOI]
- 15 Haufler C H, Grammer W A, Hennipman E, et al. Systematics of the Ant-Fern genus *Lecanopteris* (Polypodiaceae): Testing phylogenetic hypotheses with DNA sequences. Syst Bot, 2003, 28: 217—227
- 16 Hauk W D, Parks C R, Chase M W. Phylogenetic studies of Ophioglossaceae: Evidence from *rbcL* and *trnL-F* plastid DNA sequences and morphology. Mol Phylogenet Evol, 2003, 28: 131—151[DOI]
- 17 Schneider H, Russell S J, Cox C J, et al. Chloroplast phylogeny of asplenoid ferns based on *rbcL* and *trnL-F* spacer sequences (Polypodiidae, Aspleniaceae) and its implications for biogeography. Syst Bot, 2004, 29: 260—274[DOI]
- 18 Ranker T A, Geiger J M O, Kennedy S C, et al. Molecular phylogenetics and evolution of the endemic Hawaiian genus *Adenophorus* (Grammitidaceae). Mol Phylogenet Evol, 2003, 26: 337—347[DOI]
- 19 Geiger J M, Ranker T A. Molecular phylogenetics and historical biogeography of Hawaiian *Dryopteris* (Dryopteridaceae). Mol Phylogenet Evol, 2005, 34: 392—407[DOI]
- 20 Lu J-M, Li D-Z, Gao L-M, et al. Paraphyly of *Cyrtomium* (Dryopteridaceae): Evidence from *rbcL* and *trnL-F* sequence data. J Plant Res, 2005, 118: 129—135[DOI]
- 21 Hillis D M, Mable K, Larson A, et al. Sequencing and cloning. In: Hillis D M, Moritz C M, Mable B K, eds. Molecular Systematics. Massachusetts: Sinauer Sunderland, 1996. 321—384
- 22 施苏华, 章群, 陈月琴, 等. 一种简易的植物核酸提取方法. 中山大学学报(自然科学版), 1996, 35: 103—105
- 23 Little D P, Barrington D S. Major evolutionary events in the origin and diversification of the fern genus *Polystichum* (Dryopteridaceae). Am J Bot, 2003, 90: 508—514
- 24 李春香, 陆树刚, 杨群. 耳蕨属(鳞毛蕨科)的亚洲起源: 来自 *rbcL* 序列的证据. 科学通报, 2004, 49(9): 874—878
- 25 Taberlet P, Gielly L, Pautou G, et al. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA. Plant Mol Biol, 1991, 17: 1105—1109[DOI]
- 26 Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The ClustaX windows interface: flexible strategies for multiple sequences alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Res, 1997, 24: 4876—4882[DOI]
- 27 Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis software. Bioinformatics, 2001, 17: 1244—1245[DOI]
- 28 Huelsenbeck J P, Ronquist F. MRBAYES: Bayesian inference of phylogeny. Bioinformatics, 2001, 17: 754—755[DOI]
- 29 Nylander J A A. MrModeltest 2.0. Program distributed by the author. Evolutionary Biology Centre, Uppsala University, 2004
- 30 Yang Z. Estimating the pattern of nucleotide substitution. J Mol Evol, 1994, 39: 105—111
- 31 Felsenstein J. Evolutionary trees from DNA sequences: A maximum likelihood approach. J Mol Evol, 1981, 17: 368—376[DOI]
- 32 Farris J S, Källersjö M, Kluge A G, et al. Testing significance of incongruence. Cladistics, 1995, 10: 315—319[DOI]
- 33 Savard L, Li P, Strauss S H, et al. Chloroplast and nuclear gene sequences indicate late Pennsylvanian time for the last common ancestor of extant seed plants. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 5163—5167[DOI]
- 34 Robinson M, Gouy M, Gautier C, et al. Sensitivity of the relative-rate test to taxonomic sampling. Mol Biol Evol, 1998, 15: 1091—1098
- 35 Hill C R, Camus J M. Evolutionary cladistics of marattiale ferns. Bull Br Mus Nat Hist (Bot), 1986, 14: 219—300
- 36 Liu J H, Hilton J, Li C S. Review on the origin, evolution and phylogeny of Marattiales. Chin Bull Bot, 2000, 42: 39—52
- 37 Liu J Q, Wang Y J, Wang A L, et al. Radiation and diversification within the *Ligularia-Cremathodium-Parasenecio* complex (Asteraceae) triggered by uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau. Mol Phylogenet Evol, 2006, 38: 31—49[DOI]
- 38 Verboom G A, Linder H P, Stock W D. Phylogenetics of the grass genus *Ehrharta*: Evidence for radiation in the summer-arid zone of the South African Cape. Evolution, 2003, 57: 1008—1021[DOI]
- 39 Richardson J E, Pennington R T, Pennington T D, et al. Rapid diversification of a species-rich genus of neotropical rain forest trees. Science, 2001a, 2242—2245
- 40 Richardson J E, Weitz F M, Fay M F, et al. Rapid and recent origin of species richness in the Cape flora of South Africa. Nature, 2001, 412: 181—183[DOI]
- 41 Baldwin B G, Sanderson M J. Age and rate of diversification of the Hawaiian silversword alliance (Compositae). Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 9402—9406[DOI]
- 42 吴兆洪, 秦仁昌. 中国蕨类植物科属志. 北京: 科学出版社, 1991
- 43 邓胜徽, 李承森. 中国古植物学研究进展. 中国古真蕨类植物70年研究简史及主要进展. 植物学报, 2003, 45(suppl): 40—51
- 44 徐仁, 朱家楠, 陈晔, 等. 中国晚三叠世宝鼎植物群. 北京: 科学出版社, 1979

(2006-08-28 收稿, 2006-10-28 接受)