

# 最大似然法和贝叶斯推论与似然比检验探讨泽泻目系统发育关系

刘涛<sup>1</sup>, 李晓贤<sup>2\*</sup>

(1. 云南农业大学农学院, 昆明 650201; 2. 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

**摘要:** 应用最大似然法(ML)、贝叶斯推论(BI)、邻接法(NJ)和似然比检验(hLRTs)进行泽泻目分子系统学研究。所用的 *rbcL* 基因序列代表了泽泻目 14 科 46 属以及作为外类群的 6 相关属。研究表明,\* 等级制似然比检验表明泽泻目 *rbcL* 序列最适合的 DNA 进化模型为 GTR+I+G, 最大似然法、贝叶斯法和邻接法构建的系统发育树拓扑结构相似, 没有显著的差异, 但贝叶斯树支持率较高; 泽泻目为一单系类群, 由两个主要谱系分支构成, 深层分布格局由 5 个主要分支构成。基于分子系统发育树, 文中对泽泻目科间、水鳖科+茨藻科、泽泻科+花蔺科+黄花蔺科、和“Cymodoceae complex”的系统发育关系进行了讨论。研究结果还表明, 泽泻目系统发育关系可能还需要更多的证据进一步的澄清。

**关键词:** 最大似然法; 贝叶斯推论; 似然比检验; 泽泻目系统发育分析; *rbcL* 序列

**中图分类号:** Q949 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)06-0796-09

## Maximum likelihood, Bayesian inference and likelihood ratio tests in the molecular phylogeny of Alismatales

LIU Tao<sup>1</sup>, LI Xiao-Xian<sup>2\*</sup>

(1. Faculty of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;

2. Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

**Abstract:** Maximum likelihood, Bayesian inference, Neighbor Joining and Hierarchical likelihood ratio tests were employed to study the phylogeny of Alismatales. 52 *rbcL* sequences were used in the analysis to represent 14 families 46 genera, and 6 related genera as outgroup. Hierarchical likelihood ratio tests showed that GTR+I+G could be the best evolutionary model for *rbcL* dataset, and the topology of maximum likelihood tree was similar to those of Bayesian tree and Neighbor Joining tree, but Bayesian tree giving higher support values; Alismatales could be composed of two major clades and further divided into five clades. The phylogenetic relationship of “families of Alismatales”, “Hydrocharitaceae + Najadaceae”, “Alismataceae + Butomataceae + Limnocharitaceae”, and “Cymodoceae complex” were discussed based on the molecular phylogenetic trees. The result also showed that more researches were needed to explain phylogeny of Alismatales.

**Key words:** maximum likelihood(ML); Bayesian inference(BI); Hierarchical likelihood ratio tests(hLRTs); molecular phylogeny of Alismatales; *rbcL*

近年来,随着 DNA 测序技术的完善和普及,序列数据积累逐渐庞大,如何正确和有效的分析序列

数据变得越来越重要。概率论和高级统计学被广泛地引入分子进化生物学领域,大量的序列进化假说

收稿日期: 2009-08-19 修回日期: 2010-11-17

基金项目: 国家自然科学基金(30800062)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30800062)]

作者简介: 刘涛(1978-),男,云南昆明人,博士,从事植物分子生物学和功能基因研究工作,(E-mail)lt-lxx@sohu.com.

\* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: lixiaoxian@mail.kib.ac.cn)

模型被提出和检验,新的建树方法层出不穷,贝叶斯推论(Bayesian inference, BI)和最大似然法(maximum likelihood, ML)、似然比检验(Hierarchical likelihood ratio tests, hLRTs)等都是方法论上的重要进展,对于过去难以处理的重要问题提供了强有力的解决方法(张原等,2003;Huelsenbeck & Rannala,1997;Huelsenbeck 等,2000,2001)。

最大似然法是估计统计参数的常用方法(Huelsenbeck 等,1997;Yang,2002),它根据碱基频率的相等或不等、转换和颠换频率的相等或不等、位点间替代速率异质性的有无及不变位点比例的高低等若干特征分为 56 种模型,根据特定的替代模型分析既定的一组序列数据,使所获得的每一个拓扑结构的似然值最大,进而从中挑选出其中最大似然值最大的拓扑结构作为最优系统树。因而,最大似然法的核心关键是模型的正确先择。

贝叶斯推论(BI)是寄与序列进化的显式模型来构建系统树的统计学方法。贝叶斯推论是建立在后验概率(posterior probability, PP)基础上的,基于 Markov 链 Monte Carlo 算法,通过计算机模拟和抽样技术获得分支格局的后验概率,具有最高后验概率的树可以被视为最佳的系统发育关系假设。贝叶斯推论较之最大似然法优越性在于:BI 具有计算速度快、处理大型数据集,提供后验概率(PP)检验系统树的可行性,PP 值可以和自举值(bootstrap value)相比较。

Modeltest 3.7(Posada 等,1998)是最著名的核苷酸替代模型选择程序,并且应用于重要类群系统树的重建工作中。它使用等级制似然比检验(hLRTs)、Akaike 信息标准(AIC)和 Bayesian 信息标准(BIC)这 3 种框架,从 56 种核苷酸替代模型中选出最优模型。检验结果可用于最大似然分析和贝叶斯推论中。似然比检验提供了模型选择的方法,在众多对进化生物学假说进行统计学检验的方法中具有极大优越性,很多检验系统树的统计学方法需要确切的系统发育树,而 hLRTs 方法并不需要明确的系统发育关系,具有很好的统计学性质。

泽泻目(Alismatales)大多为水生或沼生植物,是水生单子叶植物重要代表类群(APG,2003;Les 等,1997)。该目是现存单子叶植物系统树根部最早分异谱系分支之一,代表着单子叶植物最古老的谱系,对研究单子叶植物起源和早期进化具有重要价值(Chase 等,1995,2006;Givnish 等,2006)。由于对环境的适应使泽泻目各类群在成体形态上出现大

量的趋同现象,传统的大量使用共有衍征对泽泻目进行系统演化分析的方法比较容易容易出现并系和复系群而造成偏差,使得主要依据比较形态学得出的研究成果和观点莫衷一是。在早期分类系统中,对该目的范畴与涵盖范围的界定和划分差异很大,对目下各科属级分类单元的划分也是广狭不一(表 1)。随后 Les 等(1995,1997)利用分子证据在前者基础上重新定义了泽泻目。重新定义的泽泻目是个很好的单系类群,共包含 14 科 52 属。泽泻目的分子系统学研究虽已开展多年,但迄今为止部分重要类群间的系统发育关系仍未澄清。现有泽泻目系统学研究中,既明确运用系统推断方法,又包含较多代表类群,并使用大量研究性状的仅有 Les 等(1995)和 Les 等(1993,1997)和 Chen 等(2004)基于 *rbcL* 数据的研究,及 Dalhgren 等(1985)基于形态学数据的研究工作。但分子数据揭示的泽泻目系统框架和形态学研究结论大不相同。目前已发表的上述研究中,均是最大简约法构建系统树,未使用贝叶斯方法、最大似然法和距离法。本文收集了当前 GenBank 中的全部的泽泻目主要类群的叶绿体 *rbcL* 序列,利用贝叶斯方法(BI)、最大似然法(ML)和邻接法(neighbor-joining, NJ)对泽泻目的系统发育关系进行重建,期望进一步挖掘其中蕴含的系统发育信息,并对不同构树方法得到的结果进行分析比较。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

用于本研究的泽泻目 14 科 46 属及外类群 6 相关属,共计 52 条 *rbcL* 序列,全部从 GenBank 中检索得到,基本代表了泽泻目的所有主要类群。类群的选择参照 Les 等(1995,1997)和 Chen 等(2004)的研究,选择 Araceae 和 Lemnaceae 科中的 *Gymnostachys anceps*, *Lasia spinosa*, *Orontium aquaticum*, *Symplocarpus foetidus*, *Xanthosoma sagittifolium*, *Lemna trisulca* 作为外类群。

### 1.2 数据分析

序列数据集应用 Lasergene MegAlignd 软件包中的 CLUSTAL W 算法构建序列排列矩阵。对排好的序列,所有碱基状态以无序(unorder)对待,组成计算矩阵。对位排列后的序列分别用 Mr-BayesV3.0b4(Huelsenbeck 等,2001)中的贝叶斯方法和 MEGA2 软件(Kumar 等,2001)中的邻接法及

PAUP\* 4.0b10 软件 (Swofford, 1998) 中的最大似然法构建系统树。应用 Modeltest 3.06 (Posada & Crandall, 1998) 对比对矩阵结果进行模型选择, 并估计相关参数。最适合的替代模型为 GTR+I+G (GTR=General Time Reversible model; G=gamma distributed site-to-site variation; I=proportion of invariable sites;  $-\ln L=8189.3628$ ,  $I=0.5274$ ,  $G=0.7154$ ,  $A=0.28920$ ,  $C=0.18350$ ,  $G=0.21020$ ,  $T=0.31710$ ), 选择的替代模型参数运用在 ML 和 BI 分析中。ML 分析选取了启发式搜索 (heuristic searches) 和树二等分再连接 (tree-bisection reconnection, TBR) 进行构树, 并采用自展值分析 (bootstraps, BS) 进行检验, 1 000 次随机重复抽样; NJ 分析运用遗传距离模型选择 Kimura 2-parameter 模型。NJ 树采用重复抽样分析 1000 次检验分子系统

树各分支的置信度; BI 分析采用 GTR+I+G 模型, lset 设置替代模型 nst=6 (GTR 模型), 位点速率变异模型设置为 rates = gamma。Markov Chain Monte Carlo (马可夫链蒙特卡洛) (MCMC) 参数如下: 以随机树为起始树, number of generations (代数) = 400000, number of chains (链数) = 4, sample frequency (取样频率) = 100, temperature = 0.5, starting tree = random, 舍弃老化样本数 burnin = 1000 (100000 generations)。最终构建 50% 的最大合意树 (consensus tree), 系统树各分支的置信度通过后验概率来检验 (BBP)。利用 PAUP\* 4.0b10 中的 two-tailed Wilcoxon signed-ranks test (Templeton, 1983) 和 Shimodaira-Hasegawa (SH) 检验 (Shimodaira & Hasegawa, 1999) 进行树拓扑结构的比较, 检验不同构树方法所得到的系统发育树之间是

表 1 Modeltest 等级制似然比检验得到的优化模型参数

Table 1 Nucleotide substitution model parameter estimates for Modeltest hLRTs

$-\ln L$	$f(A)$	$f(C)$	$f(G)$	$f(T)$	$I$	$G$
8189.3628	0.2910	0.1840	0.2089	0.3161	0.5274	0.7154
R[A→C]	R[A→G]	R[A→T]	R[C→G]	R[C→T]	R[G→T]	
0.8465	0.2834	0.4357	0.9082	4.0937	1.0000	

表 2 贝叶斯推论给出的模型参数

Table 2 Model parameter estimates for Bayesian inference

参数 Parameter	平均值 Average	方差 Variance	95% 置信区间 95% confidence interval
$-\ln L$	8282.5525	38.464340	(9902.204000 8235.053000)
$f(A)$	0.287162	0.000136	(0.264545 0.310518)
$f(C)$	0.185078	0.000093	(0.166342 0.203768)
$f(G)$	0.211466	0.000094	(0.192672 0.230051)
$f(T)$	0.316294	0.000133	(0.294049 0.339154)
$I$	0.229145	0.000112	(0.183705 0.288856)
$G$	0.228774	0.000167	(0.204461 0.255147)
R[A→C]	0.082324	0.000094	(0.064731 0.102502)
R[A→G]	0.302598	0.000462	(0.262822 0.345869)
R[A→T]	0.042191	0.000127	(0.031740 0.053510)
R[C→G]	0.088516	0.000127	(0.067398 0.111221)
R[C→T]	0.392751	0.000537	(0.346414 0.438306)
R[G→T]	0.091620	0.000087	(0.073655 0.109912)

否收敛, 来帮助选择最优的系统发育树。

## 2 结果

### 2.1 模型种类和参数

Modeltest 3.7 结果表明, 最适于拟合该数据集的 DNA 进化模型为 GTR+I+G, 相关参数共计 11

个, 包括模型的似然值自然对数的负值 ( $-\ln L$ ), 4 种碱基的频率 ( $f(A)$ ,  $f(C)$ ,  $f(G)$ ,  $f(T)$ ), 不变位点的比例 ( $I$ )、变异位点的 Gamma 参数 ( $G$ )、碱基 X 到 Y 的 6 种替代速率 ( $R[X \rightarrow Y]$ ) (表 1)。hLRTs 的结果直接用于 BI 和 ML 的显式模型设置。贝叶斯推论给出的模型参数见表 2。

### 2.2 系统发育分析

对位排列矩阵中的 *rbcL* 基因序列长度 1 152 bp, 无插入和缺失, 其中 373 个位点为可变位点 (占序列长度的 32.4%), 281 个位点为信息位点 (占序列长度的 24.4%)。用 3 中分析方法 (ML、NJ 和 BI) 分别构建了泽泻目类群的 *rbcL* 系统树, 不同方法所获得的系统树在拓扑结构上基本一致, 仅有少数分支不同, 自展支持率略有差异。其中最大似然法分析共获得 1 棵树。在 ML 和 NJ 树上各自有 1 个节点出现未解决系统发育关系的三歧分支, BI 树有 3 个节点出现三歧分支, 但贝叶斯方法构建的系统发育树分辨率要高于最大似然树和邻接树 (图 1:3)。贝叶斯树的拓扑图结构比较稳固, 绝大多数节点都得到了很高的后验概率值。多数对应分支的后验概率支持值明显比最大似然树和邻接树的自举值高。通过不同的分析方法所得的结果发现, 泽泻目是单系

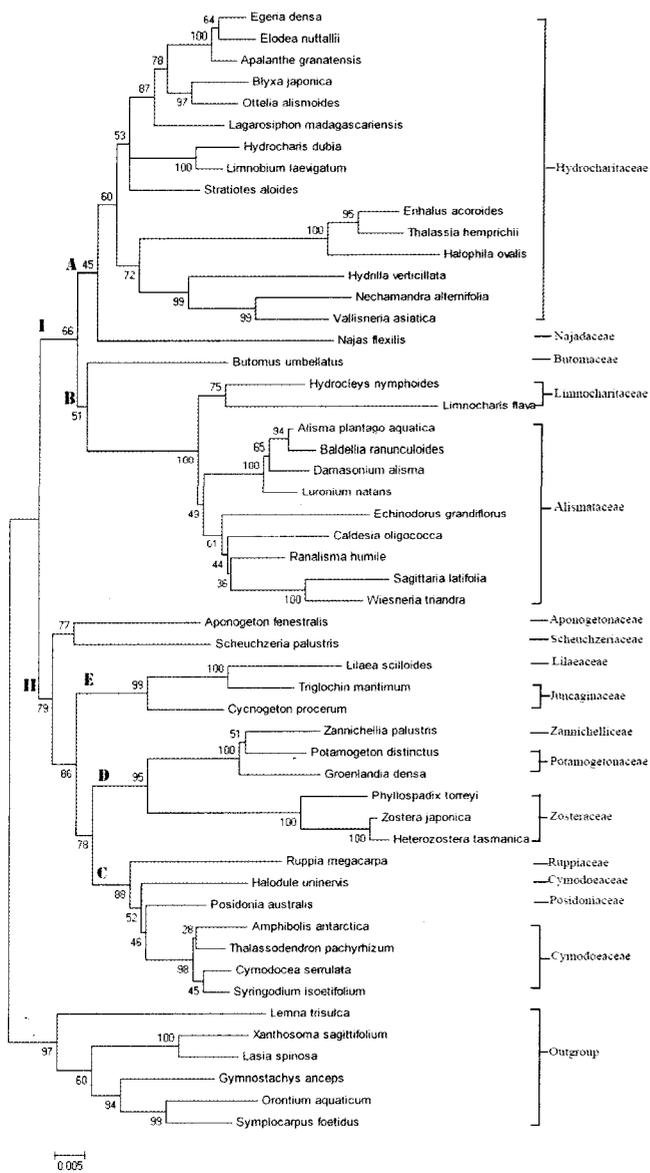


图 1 基于 *rbcL* 序列用 MEGA2 分析软件构建的泽泻目邻接树(NJ)

Fig. 1 NJ tree constructed based on *rbcL* sequences of Alismatales with MEGA2 software (各分支上数值为抽样自展值) (bootstrap values of neighbor-joining analysis are shown above branches)

类群,由两大谱系分支构成,进而分化成 5 个主要分支。但现有的数据并不能完全解决该目各科之间的系统发育内部关系,如“Alismataceae 和 Limnocharitaceae”系统学关系、Butomataceae 和 Najadaceae 各自系统学位置,及“Cymodoceaceae complex”中各科之间的系统学关系并没有得到完全的解决。通过 Wilcoxon signed-ranks 检验和 Kishino-Hasegawa 检验对不同构树方法所得到的系统发育树进行检验

(表 3),检验结果显示 ML, NJ 和 Bayesian 等几种不同方法所得到的系统发育树的最大似然值之间并不存在显著性差异,这表明所获得的几种拓扑结构间不存在显著性差异,同时两种检验也支持了泽泻目是一个单系类群。Buckley 等(2001)认为在这两种常用的检验方法中 Shimodaira-Hasegawa 检验有两种相对优势。依据 Shimodaira-Hasegawa 等(1999)的检验结果,选定 ML 树作为本研究的最优系统发育树。

### 3 讨论

#### 3.1 泽泻目科间系统发育关系

水生植物泽泻目(Alismatales)是现存最古老、最原始的单子叶植物类群之一。该类群的系统学研究对于探讨单子叶植物的起源和演化以及泽泻亚纲与其它单子叶植物类群的关系都具有重要意义,长期以来一直受到植物系统学家的关注(Chase 等, 1995, 2006; Givnish 等, 2006)。然而,由于适应水生环境表现出了结构尤其是花部结构的极度简化和趋同适应,致使对该目的范畴和科间系统发育关系的认识迄今仍存在着很大的分歧。近年来已有许多研究工作涉及到泽泻目系统发育关系,例如 Les 等, 1995, 1997; Källersjö 等, 1998; Chase 等, 1995a, 1995b, 2000, 2006; Kato 等, 2003; Janssen 等, 2004; Tamura 等, 2004; Givnish 等, 2006; Graham 等, 2006; Petersen 等, 2006, 涉及的基因片段包括叶绿体 *rbcL*、*psbA-trnH*、*matK* 和 *trnL* 等基因片段,以及核糖体基因 ITS 和 5S-NTS 片段等。不过,进一步研究不难发现,这些大尺度的研究主要针对整个单子叶植物类群,而泽泻目方面或选材具有一定局限性,或选择的研究性状过少,因此这些研究结果就泽泻目系统发育关系而言缺乏较好的说服力。现有泽泻目系统学研究中,既明确运用系统推断方法,又包含较多代表类群,并使用大量研究性状的仅有 Les 等(1993, 1995, 1997)基于 *rbcL* 数据的研究,及 Dalhgren 等(1985)基于形态学数据的研究工作。但 Les 等分子数据揭示的泽泻目系统框架和 Dalhgren 等形态学研究结论大不相同。比如在茨藻科与水鳖科、丝粉藻科复合群(Cymodoceaceae complex)内部系统关系等方面(Les 等, 1993)。

泽泻目由两大主要谱系构成的观点目前已经被普遍接受,但两大谱系各自内部科级单元的系统关

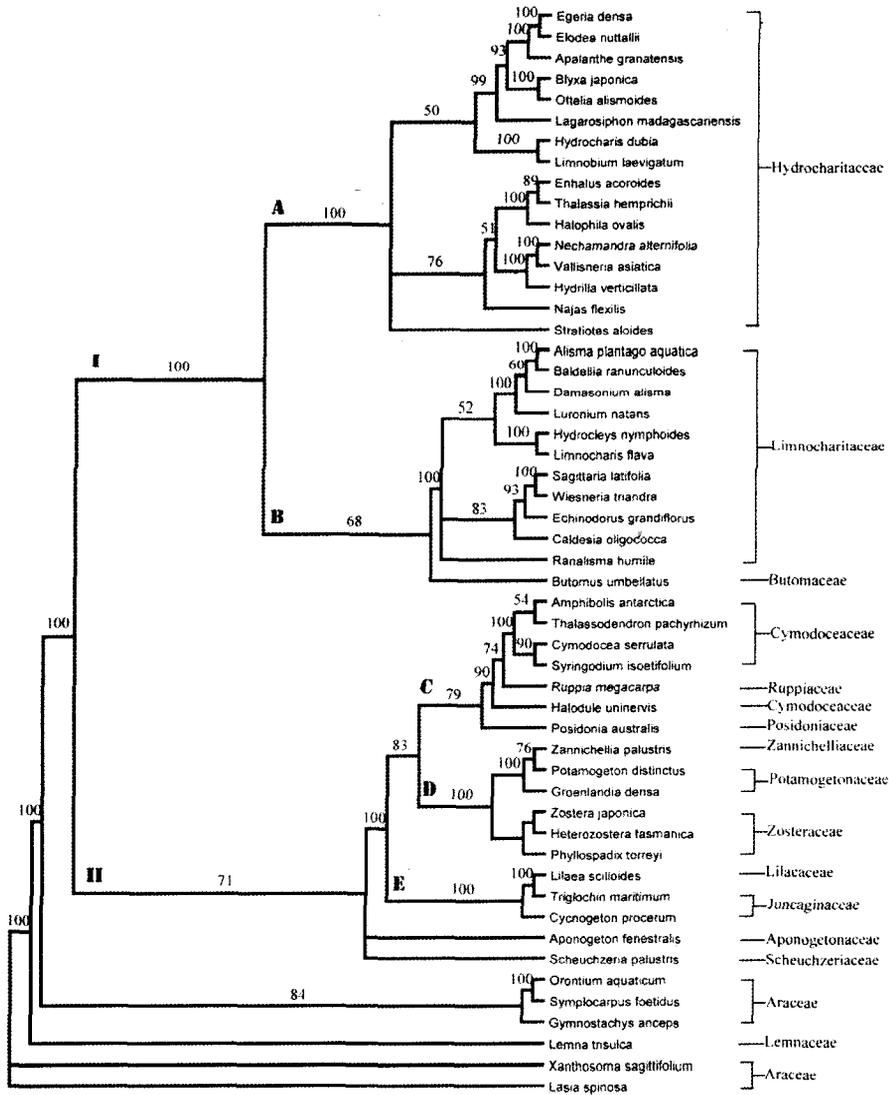


图 2 基于 *rbcL* 序列用 MrBayes V3.0b4 分析软件构建的泽泻目贝叶斯树(BI)(各分支上的数值为后验概率值)  
 Fig. 2 BI phylogenetic tree constructed based on *rbcL* sequences of Alismatales using Mrbayes V3.0b4 software  
 (Numbers above branches represent the posterior probability values)

系却十分混乱、经历了复杂的变迁。二者包含的科或属多次发生移动或升降,科级单元之间的系统发育关系尚无一个令人满意的结论。本文中不同分析方法所得到系统发育树的拓扑结构基本上是一致的,三种分析方法所得结果均表明泽泻目是单系类群,由两大主要谱系构成(I支和II支),两大谱系分支又分化成5个主要分支(图1-3):A支由 Hydrocharitaceae 和 Najadaceae 构成,ML 树不支持 Najadaceae 为单系;B支中 Alismataceae + Limnocharitaceae + Butomaceae 构成,Butomaceae 位于该分支的基部,Limnocharitaceae 没有形成单系,而是囊括在 Alismataceae 中;C支是由 Cymodoceaceae, Ruppiales 和 Posidoniaceae 构成,Posidoniaceae 位于该分支基部;D支中 Zannichelliaceae 和 Potamogetonaceae 构成姐妹群关系(BS=56),再同 Zosteraceae 构成一个单系类群(BS=59);E分支中 Lilaeaceae 囊括在 Juncaginaceae 中形成一个单系(BS=68)。本文中泽泻目由两大谱系分支构成,进而分化成5个主要分支的基本系统关系框架结果和 Les 等(1997)的研究结果基本一致,与 Les 等(1997)和陈进明等人(2004)利用 *rbcL* 序列构建 MP 树的研究结果主要区别在于:1. 本文三种分析方法构建的泽泻目系统发育树均支持 Butomataceae 隶属于 B 分支,而 Les 等(1997)和陈进明等人(2004)的研究结

系却十分混乱、经历了复杂的变迁。二者包含的科或属多次发生移动或升降,科级单元之间的系统发育关系尚无一个令人满意的结论。本文中不同分析方法所得到系统发育树的拓扑结构基本上是一致的,三种分析方法所得结果均表明泽泻目是单系类群,由两大主要谱系构成(I支和II支),两大谱系分支又分化成5个主要分支(图1-3):A支由 Hydrocharitaceae 和 Najadaceae 构成,ML 树不支持 Najadaceae 为单系;B支中 Alismataceae + Limnocharitaceae + Butomaceae 构成,Butomaceae 位于该分支的基部,Limnocharitaceae 没有形成单系,而是囊括在 Alismataceae 中;C支是由 Cymodoceaceae, Ruppiales 和 Posidoniaceae 构成,Posidoniaceae 位于该分支基部;D支中 Zannichelliaceae 和 Potamogetonaceae 构成姐妹群关系(BS=56),再同 Zosteraceae 构成一个单系类群(BS=59);E分支中 Lilaeaceae 囊括在 Juncaginaceae 中形成一个单系(BS=68)。本文中泽泻目由两大谱系分支构成,进而分化成5个主要分支的基本系统关系框架结果和 Les 等(1997)的研究结果基本一致,与 Les 等(1997)和陈进明等人(2004)利用 *rbcL* 序列构建 MP 树的研究结果主要区别在于:1. 本文三种分析方法构建的泽泻目系统发育树均支持 Butomataceae 隶属于 B 分支,而 Les 等(1997)和陈进明等人(2004)的研究结

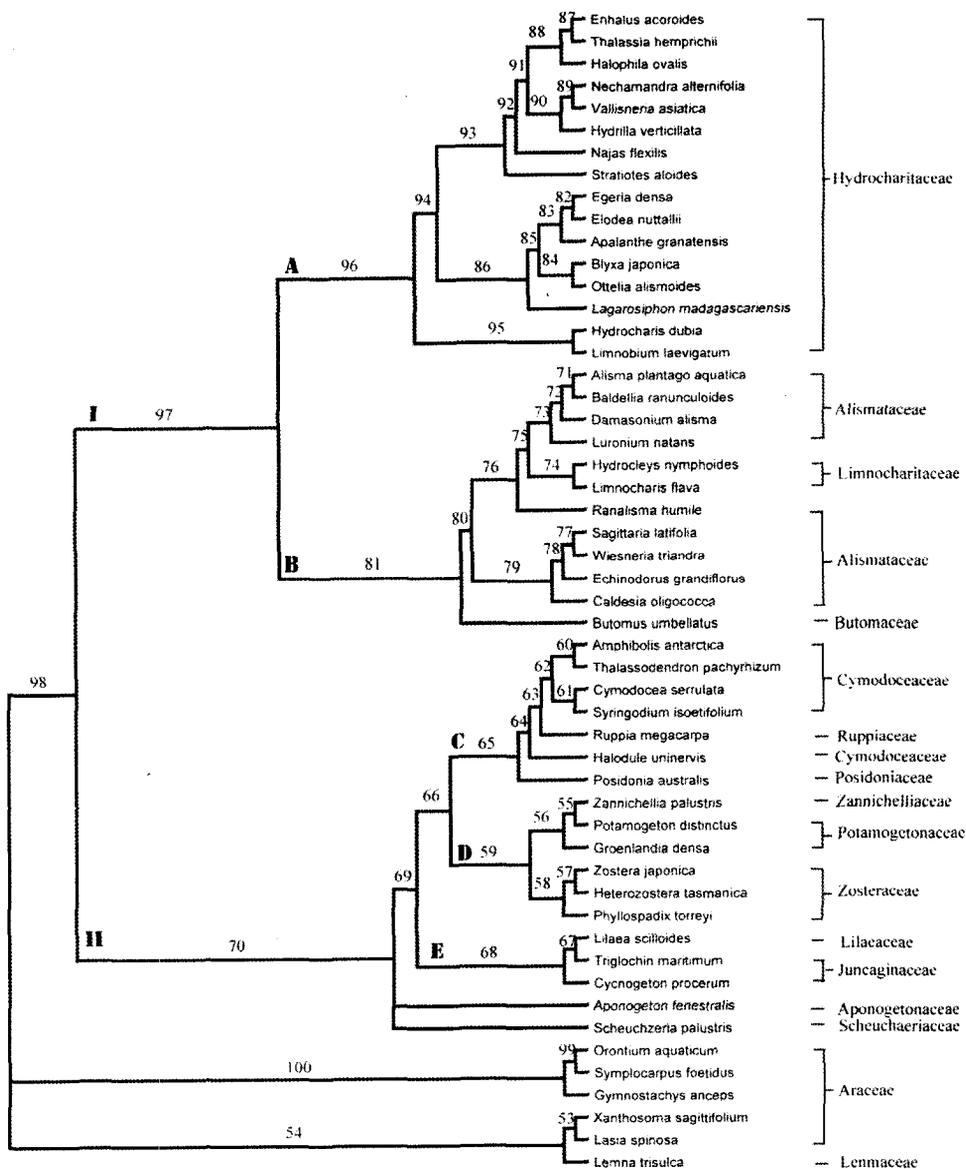


图 3 基于 *rbcL* 序列用 Paup 4.0 分析软件构建的泽泻目最大似然树 (ML) (各分支上数值为抽样自展值)  
 Fig. 3 ML phylogenetic tree constructed based on *rbcL* sequences of Alismatales using Paup 4.0 software (bootstrap values are shown above branches)

表 3 利用非参数检验 Templeton 和 Shimodaira 对 ML, NJ 和 Bayesian 树的检验结果<sup>a)</sup>  
 Table 3 The results of Templeton and Shimodaira non-parameter test for ML, NJ and BI trees<sup>a)</sup>

系统树 Phylogenetic tree	Templeton 树 Templeton tree				Shimodaira-Hasegawa 树 Shimodaira-Hasegawa tree		
	长度	N	Z	P**	-lnL	Diff-lnL	P
NJ 树	1258	49	-1.3719	0.1704	9115.08969	57.65947	0.036
BI 树	1251	5	-1.4142	0.1573	9065.10489	7.67466	0.543
ML 树	1247	Best			9057.43023		

<sup>a)</sup> 联合概率 ( $P < 0.05$ ) 表明拓扑结构明显不一致, 并用 \* 加以表明。

<sup>a)</sup> The joint probability ( $P < 0.05$ ) means the topology is obvious discrepancy and this is marked with “\*”.

果支持 Butomataceae 归属于 A 分支; 2. 陈进明等 人 (2004) 构建的系统发育框架中有 5 个节点出现未

解决系统发育关系的三歧分支,有 1 个节点出现多歧分支,尤其是 II 大分支中各科系统学位置和科间系统学关系十分不明确,基本是由三歧或多歧分支关系构成;3. 本文三种建树方法对泽泻目系统树主要分支的支持率与 Les 等(1997)的研究结果比较结果见表 4。

### 3.2 水鳖科和茨藻科之间的系统演化关系

水鳖科约 18 属 80 余种,中国有 9 属 25 种,生长在淡水或咸水中,全国分布。1981 年的克朗奎斯特分类法将其单独列为一个水鳖目,1998 年根据基因亲缘关系分类的 APG 分类法将其并入泽泻目,并将茨藻属合并在水鳖科。APG 分类系统中未将

Janssen & Bremer(2004)和 Givinish 等(2006),和 Chase 等(2006),和 Les 等(1997)的研究结果均不支持茨藻科独立为科,认为应并入水鳖科。本文基于 *rbcL* 数据的 ML 和 BI 树的研究结果均不支持茨藻科成为单系分支,但 NJ 树支持 Najadaceae 独立于 Hydrocharitaceae 之外,二者构成姐妹群的关系,但自举值仅有 45%。此外,花粉形态特征表明水鳖科和茨藻科在演化上比较接近。水鳖科花粉粒是圆形的、无萌发孔、单花粉或四合花粉;茨藻科的花粉粒是椭圆形、无萌发孔、单花粉。早在 1937 年,Miki 根据花部结构等特征提出了茨藻科和水鳖科近缘的观点,该观点随后得到了胚胎学(Ly Thi Ba 等, 1979)、孢粉学(简永兴等,1991)和分子生物学(Les 等,1993)等方面的证据支持。Shaffer-Fehre(1991)根据种皮结构等方面的明显相似性而将茨藻科合并到水鳖科。孙坤等(1997)通过对中国茨藻科植物种皮微形态特征的观察研究,发现 *Najas*、*Stratiotes*、*Nechamandra* 和 *Blyxa* 之间有着众多的形态相似性,研究结果支持茨藻科与水鳖科之间具有密切的联系。然而,由于水鳖科和茨藻科的花部结构极度简化,目前对花部结构的研究尚不充足,分子证据和形态证据诚待进一步丰富,因此,水鳖科与茨藻科之间的界线还需增加资料进一步确认。

表 4 ML, NJ, Bayesian 和 MP(Les 等, 1997) 系统发育树主要分支支持率比较

Table 4 Comparison among bootstrap (posterior probability) values for the major clade of ML, NJ, Bayesian and MP phylogenetic tree

分支 Clades	ML	NJ	BI	MP
A	96	45	100	31(含 Butomataceae)
B	81	51	68	100(不含 Butomataceae)
C	65	88	79	40
D	59	95	100	100
E	68	99	100	100

茨藻科作为一个自然的科。Tamural 等(2004),

表 5 现代分类系统中泽泻目归属情况一览表

Table 5 The major categories of Alismatales under modern classification systems

Cronquist system(1981, 1988)	ALISMATIDAE	<b>Alismatales:</b> Butomaceae, Limnocharitaceae, Alismataceae; <b>Hydrocharitales:</b> Hydrocharitaceae, <b>Najadales:</b> Aponogetonaceae, Scheuchzeriaceae, Juncaginaceae (incl. Lillaceae), Potamogetonaceae, Ruppiaceae, Najadaceae, Zannichelliaceae, Posidoniaceae, Cymodoceaceae, Zosteraceae; <b>Arales:</b> Araceae (incl. Acoraceae), Lemnaceae.
Thorne system (1983, 2000a, 2000b, 2007)	ALISMATIFLORAE	<b>Alismatales:</b> Butomaceae, Alismataceae (incl. Limnocharitaceae), Hydrocharitaceae; <b>Zosteriales:</b> Aponogetonaceae, Aponogetonaceae, Potamogetonaceae, Juncaginaceae (incl. Lillaceae, Scheuchzeriaceae), Potamogetonaceae, Posidoniaceae, Zannichelliaceae, Cymodoceaceae, Zosterineae, Zosteraceae; <b>Najadales:</b> Najadaceae; <b>ARIFLORAE Arales:</b> Araceae, Lemnaceae.
Dahlgren system(1985)	ARIFLORAE	<b>Arales:</b> Araceae (incl. Acoraceae), Lemnaceae; <b>ALISMATIFLORAE Alismatales:</b> Aponogetonaceae, Butomaceae, Limnocharitaceae, Alismataceae, Hydrocharitaceae; <b>Najadales:</b> Scheuchzeriaceae, Juncaginaceae (incl. Lillaceae), Potamogetonaceae, Posidoniaceae, Zosteraceae, Zannichelliaceae, Cymodoceaceae, Najadaceae.
Takhtajan system(1980, 1997)	ALISMATIDAE	<b>BUTOMANAE Butomales:</b> Butomaceae; <b>Hydrocharitales:</b> Hydrocharitaceae, Thalassiaceae, Halophilaceae; <b>Alismatales:</b> Limnocharitaceae, Alismataceae; <b>NAJADANAE Aponogetoales:</b> Aponogetonaceae; <b>Scheuchzeriales:</b> Scheuchzeriaceae; <b>Juncaginales:</b> Juncaginaceae, Lillaceae, Maundiaceae; <b>Potamogetonales:</b> Potamogetonaceae, Ruppiaceae; <b>Posidoniales:</b> Posidoniaceae; <b>Zosteriales:</b> Zosteraceae; <b>Cymodoceales:</b> Zannichelliaceae, Cymodoceaceae; <b>Najadales:</b> Najadaceae.
APG(2003)	Alismatales	Alismataceae, Aponogetonaceae, Araceae, Butomaceae, Cymodoceaceae, Hydrocharitaceae, Juncaginaceae, Limnocharitaceae, Posidoniaceae, Potamogetonaceae, Ruppiaceae, Scheuchzeriaceae, Tofieldiaceae, Zosteraceae.
Zheng Yi Wu (2002)	ALISMATIDAE	<b>Alismatales:</b> Alismataceae, Limnocharitaceae; <b>Hydrocharitales:</b> Hydrocharitaceae, Butomaceae; <b>Petrosaviales:</b> Petrosaviaceae, (Tofieldiaceae); <b>Aponogetonales:</b> Aponogetonaceae; <b>Potamogetonales:</b> Potamogetonaceae, Ruppiaceae; <b>Juncaginales:</b> Juncaginaceae, Scheuchzeriaceae; <b>Najadales:</b> Najadaceae; <b>Posidoniales:</b> Posidoniaceae, Zosteraceae; <b>Cymodoceales:</b> Cymodoceaceae, Zannichelliaceae; <b>Arales:</b> Acoraceae, Araceae, Lemnaceae.

### 3.3 泽泻科、花蔺科和黄花蔺科之间的系统关系

关于花蔺科的系统学位置,Les 等(1997)和陈进明等(2004)构建的泽泻目最大简约树(Maximum parsimony,MP)中,花蔺科、水鳖科和茨藻科构成一个单系分支,花蔺科是后者构成的分支的姐妹群,但姐妹群关系获得的自举值不高,前者研究中仅有 31%的 bootstrap 支持率,后者 68%的支持率。本研究结果不支持 Les 等(1997)和陈进明等(2004)的分子研究结果,本文基于 *rbcL* 构建的 ML、NJ 和 BI 系统演化树中(图 1:3),花蔺科和泽泻科—黄花蔺科同属一个支系,并在 ML 树,NJ 树和 BI 树中分别获得 BS=81%,BS=100%和 PP=68%支持率。

关于黄花蔺科和泽泻科之间的系统学关系问题,本文 ML 树和 BI 系统发育树均表明黄花蔺科和泽泻科形成并系分支,不应该独立成为一个自然的科,但在 NJ 树中黄花蔺科和泽泻科分别形成一个单系分支,黄花蔺科作为单系分支获得 75%的支持率,但泽泻科单系分支支持率却很低,不足 50%。本研究结果与 Les 等(1997)和陈进明等(2004)的研究结果一致,不支持将黄花蔺科作为科级阶元处理。

### 3.4 Posidoniaceae, Ruppiaceae 和 Cymodoceaceae 的系统关系

波喜荡科(Posidoniaceae)都是生长在海水中的咸水生植物,仅有 1 属 *Posidonia*。川蔓藻科(Ruppiaceae)是具有显著耐盐性的淡水植物,并不是真正的海草,只有川蔓藻属(*Ruppia*)1 属。丝粉藻科(Cymodoceaceae)共有 5 属 16 种,都是生活在暖温带到热带海洋中的咸水生植物。

波喜荡科、川蔓藻科和丝粉藻科在形态学、繁殖器官解剖学及传粉方式方面很不相同。川蔓藻科花器官的两性及其高度的耐盐性,波喜荡科(两性,绝对海生)及丝粉藻科(单性,绝对海生)。川蔓藻属花粉粒狭长形,自花授粉,花不伸出水面,水下传粉或花伸出水面传粉;而丝粉藻科和波喜荡科花粉形态是丝状线形无外壁,传粉完全在水下进行(Tomlinson,1982;孙坤等,2002)。吴征镒等(2002,2003)基于形态—地理观点认为,这三者之间虽有亲缘关系,却非单源发生,并进而认为川蔓藻科位于波喜荡科与丝粉藻科的中间地位。近年来分子系统学研究显示川蔓藻属与丝粉藻科和波喜荡科有近的亲缘关系,例如 Les 等(1993)运用叶绿体 *rbcL* 基因序列对泽泻目的 15 个科进行了初步系统发育分析,结果显示川蔓藻科不与眼子菜科近缘,却与完全海生的丝

粉藻科和波喜荡科接近。Les 等(1997)基于 *rbcL* 序列进一步研究泽泻目科间系统学关系,将 Cymodoceaceae, Posidoniaceae 和 Ruppiaceae 处理成一个系统发生单元(phylogenetic unit),即“Cymodoceaceae complex”,从而与如 Zosteraceae 和 Hydrocharitaceae 等其他的海生植物区分开来,但该复合群的单系支持率仅有 40%。Petersen 等(2006)对泽泻目 33 个属线粒体基因 *atp1* 和 *cob* 序列的分析也得出了类似的结论。本文 ML、NJ 和 BI 树均支持“Cymodoceaceae complex”为单系发生,节点支持率分别为 ML 树 BS=65%,NJ 树 BS=88% 和 BI 树 PP=79%。和 Les 等(1997)结果相比较,该复合群的单系支持率明显提高。尽管目前分子证据得出的结论与形态学的观点有所不同,但它无疑反映了 Posidoniaceae, Ruppiaceae 和 Cymodoceaceae 之间存在着某种系统亲缘关系。

综上所述,以前对泽泻目系统和分类学研究主要以形态学和解剖学特征为主,细胞学、孢粉学和分子生物学等方面研究较少,基于分子数据进行系统学研究所得的结论与已有形态学性状所得结论不尽吻合,并且采用单个基因或者单个性状的传统系统发育学分析由于缺乏统计支撑而难以推断某些关键节点的系统发育关系(Delsuc 等 2005)。随着生物信息学、系统发育学的发展,DNA 测序技术的提高以及大规模基因组测序工作的深入,势必给泽泻目系统发育研究带来海量的分子序列和同源基因,如何分析大量的系统发育信息并对产生的系统发育关系进行评价,这些将对泽泻目科间及科内属间关系的最终明确起着关键的推动作用。

### 参考文献:

- 吴征镒,路安民,汤彦承,等. 2003. 中国被子植物科属综论 [M]. 北京:科学出版社:172—197
- APG II. 2003. An update of the Angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants; APG II[J]. *Bot J Linn Soc*, **141**:399—436
- Buckley TR, Simon C, Shimodaira H, et al. 2001. Evaluating hypotheses on the origin and evolution of the New Zealand alpine cicadas(Maoricicada) using multiple-comparison tests of tree topology[J]. *Mol Biol Evol*, **18**(2):223—234
- Chase MW, Duval MR, Hills HG, et al. 1995a. Molecular phylogenetics of Liliaceae [M]//Rudall PJ, Crib PJ, Cutler DF, et al. (eds). *Monocotyledons: systematics and evolution*. Royal Botanic Garden, Kew, 109—137
- Chase MW, Fay MF, Devey D, et al. 2006. Multigene analyses of monocot relationships: a summary [M]. *Aliso*, **22**:63—75

- Chase MW, Soltis DE, Soltis PS, *et al.* 2000. Higher-level systematics of the monocotyledons; an assessment of current knowledge and a new classification[M]//Wilson KL, Morrison DA(eds). *Monocots: Systematics and Evolution*. Collingwood:CSIRO, 3—16
- Chase MW, Stevenson DW, Wilkin P, *et al.* 1995b. Monocot systematics; a combined analysis[M]//Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF(eds). *Monocots: Systematics and Evolution*. Royal Botanic Garden, Kew, 685—730
- Chen JM, Robert GW, Wang QF. 2004. Evolution of aquatic life forms in Alismatidae; phylogenetic estimation from chloroplast *rbcL* sequence data[J]. *Isr J Plant Sci*, **52**: 323—329
- Dahlgren RMT, Clifford HT, Yeo PF. 1985. *The Families of the Monocotyledons*[M]. Berlin: Springer-Verlag, 520
- Delsuc F, Brinkmann H, Philippe H. 2005. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life[J]. *Nat Rev Genet*, **6**(5): 361—375
- Givnish TJ, Pires JC, Graham SW, *et al.* 2006. Phylogeny of the monocots based on the highly informative plastid gene *ndhF*; evidence for widespread concerted convergence[M]. *Aliso*, **22**: 28—51
- Graham SW, Zgurski JM, McPherson MA, *et al.* 2006. Robust inference of monocot deep phylogeny using an expanded multigene plastid data set[M]//Columbus JT, Friar EA, Porter JM(eds). *Monocots: comparative biology and evolution(excluding Poales)*. Rancho Santa Ana Botanic Garden, Claremont, California, USA, 3—21
- Huelsenbeck JP, Rannala B. 1997. Phylogeny methods come of age; testing hypotheses in an evolutionary context[J]. *Science*, **276**: 227—232
- Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R. 2000. Accommodating phylogenetic uncertainty in evolutionary studies[J]. *Science*, **288**: 2 349—2 350
- Huelsenbeck JP, Ronquist F, Nielsen R. 2001. Bayesian inference of phylogeny and impact on evolutionary biology[J]. *Science*, **294**: 2 310—2 314
- Janssen T, Bremer K. 2004. The age of major monocot groups inferred from 800 *rbcL* sequences[J]. *Bot J Linn Soc*, **146**: 385—98
- Jian YX(简永兴), Wang HQ(王徽勤). 1991. Studies of the pollen morphology of Alismataceae, Hydrocharitaceae, Potamogetonaceae and Najadaceae in Hubei province(湖北省泽泻科, 水鳖科, 眼子菜科及茨藻科植物花粉形态研究)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **9**(1): 21—27
- Källersjö M, Farris JS, Chase MW, *et al.* 1998. Simultaneous parsimony jackknife analysis of 2538 *rbcL* DNA sequences reveals support for major clades of green plants, land plants, seed plants and flowering plants[J]. *Plant Syst Evol*, **213**: 259—87
- Kato M, Takimura A, Kawakita A. 2003. An obligate pollination mutualism and reciprocal diversification in the tree genus *Glochidion* (Euphorbiaceae) [J]. *Proc Nat Acad Sci USA*, **100**: 5 264—5 267
- Kumar S, Tamura k, Jakobsen I, *et al.* 2001. MEGA2; molecular evolutionary genetics analysis software[J]. *Bioinformatics*, **17**: 1 244—1 245
- Les DH, Cleland MA, Waycott M. 1997. Phylogenetic studies in Alismatales, II: evolution of marine angiosperms(seagrasses) and hydrophilily[J]. *Syst Bot*, **22**: 443—463
- Les DH, Garvin DK, Wimpee CF. 1993. Phylogenetic studies in the monocot order Alismatales; evidence for a reappraisal of the aquatic order Najadales[J]. *Mol Phylogenet Evol*, **2**: 304—314
- Les DH, Haynes PR. 1995. Systematics of subclass Alismatidae; a synthesis of approaches[M]//Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF(eds). *Monocotyledons: Systematic and Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew, 353—377
- Ly Thi BA, Guignard JL. 1979. Phylogeny of helobiae and embryogenic criteria[J]. *Phytomorphology*, **29**(34): 260—266
- Petersen J, Teich R, Becker B, *et al.* 2006. The GapA/B gene duplication marks the origin of Streptophyta(Charophytes and land plants)[J]. *Mol Biol Evol*, **23**: 1 109—1 118
- Philbrick CT. 1993. Underwater cross-pollination in *Callitriche hermaphroditica* (Callitricheaceae); evidence from randomly amplified polymorphic DNA markers[J]. *Am J Bot*, **80**: 391—394
- Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution[J]. *Bioinformatics*, **14**: 817
- Shaffer-Fehre M. 1991. The position of *Najas* within the subclass Alismatidae(Monocotyledones) in the light of new evidence from seed coat structures in the Hydrocharitoideae(Hydrocharitales) [J]. *Bot J Linn Soc*, **107**: 189—209
- Shimodaira H, Hasegawa M. 1999. Multiple comparisons of log-likelihoods with applications to phylogenetic inference[J]. *Mol Biol Evol*, **16**: 1 114—1 116
- Sun K(孙坤), Ma RJ(马瑞君), Yang YL(杨永利). 2002. Studies on pollen morphology of Ruppiaceae(川蔓藻科植物的花粉形态研究)[J]. *J Northwest Normal Univ*(西北师范大学学报), **38**: 58—61
- Sun K(孙坤), Wang QF(王青锋), Chen JK(陈家宽). 1997. Micromorphological characters of seed coats of Chinese Najadaceae and their systematic significance(中国茨藻科植物种皮微形态特征及其系统学意义)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **35**(6): 521—526
- Swofford DL. 1993. PAUP; Phylogenetic Analysis Using Parsimony[M]. Champaign, II: Illinois Natural History Survey.
- Tamura MN, Yamashita J, Fuse S, *et al.* 2004. Molecular phylogeny of monocotyledons inferred from combined analysis of plastid *matK* and *rbcL* gene sequences[J]. *J Plant Res*, **117**: 109—120
- Templeton AR. 1983. Phylogenetic inference from restriction endonuclease cleavage site maps with particular reference to the evolution of humans and the apes[J]. *Evolution*, **37**(2): 221—244
- Tomlinson PB. 1982. *Anatomy of the Monocotyledons*, VII. Helobiae(Alismatidae)[M]. Oxford: Clarendon Press.
- Wu ZY(吴征镒), Lu AM(路安民), Tang YC(汤彦承), *et al.* 2002. Synopsis of a new “polyphyletic-polychronic-polytopic” system of the angiosperms(被子植物的一个“多系—多期—多域”新分类系统总览)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **40**: 289—322
- Yang Z. 2002. Molecular clock[M]//Pagel M(ed). *Oxford Encyclopedia of Evolution*. Oxford University Press: 747—750
- Zhang Y(张原), Chen ZD(陈之端). 2003. Recent progress of sequences analysis methods in molecular evolutionary biology(分子进化生物学中序列分析方法的新进展)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **20**(4): 462—468