

· 研究报告 ·

基于形态和分子证据对斑果藤族和节蒴木科的系统学研究

赵慧玲^{1,2}, 鲁丽敏², 苏俊霞^{1*}, 陈之端²

¹山西师范大学生命科学学院, 临汾 041004

²中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室, 北京 100093

摘要 斑果藤族(*Stixeeae*)和节蒴木属(*Borthwickia*)传统上被置于山柑科(*Capparaceae*), 最近的分子和形态学证据均支持它们从山柑科中分离出来, 节蒴木属已被提升为科, 但斑果藤族的系统位置和分类地位尚不清楚。为解决斑果藤族的系统位置和分类地位, 并进一步为节蒴木科的成立提供证据, 对核心十字花目GRFT (*Gyrostemonaceae-Resedaceae-Forchhammeria-Tirania*)分支, 使用叶表皮等20个形态性状和5个DNA片段(*matK*、*rbcL*、*ndhF*、*trnL-F*和ITS), 用最大简约法(MP)和贝叶斯分析(BI)对形态及分子矩阵进行系统发育分析。结果高度支持斑果藤族的*Neothorelia*为GRFT分支成员;*Neothorelia*、*Tirania*和斑果藤属(*Stixis*)聚为一支, 但*Forchhammeria*的位置尚不明确; 形态及分子系统发育分析结果均支持节蒴木科成立。

关键词 节蒴木科, 形态数据, 分子数据, 叶表皮特征, 系统发育, 斑果藤族

赵慧玲, 鲁丽敏, 苏俊霞, 陈之端 (2015). 基于形态和分子证据对斑果藤族和节蒴木科的系统学研究. 植物学报 50, 473–481.

山柑科 (*Capparaceae*)(Pax and Hoffmann, 1936)亦称白花菜科, 共45属约800种, 主要分布于季节性干旱的热带雨林。该科植物在中国有4属约20余种, 分布南方各地(Zhang and Tucker, 2008)。山柑科是十字花目(*Brassicales*)一个极为异质的科, 目前分子系统学研究已经将白花菜亚科(*Cleomoideae*)及其它亚科的11个属分离出来, 斑果藤族(*Stixeeae*)(Pax and Hoffmann, 1936)和节蒴木属(*Borthwickia*)就是其中被分离出来的两个类群, 其系统学位置一直存在争议。

斑果藤族共5属, 其中*Physena*已经被置于石竹目(*Caryophyllales*)(Morton et al., 1997; Kers, 2003), 不在本研究的讨论范围; 其余4属(*Forchhammeria*、*Neothorelia*、*Tirania*和*Stixis*)在Pax和Hoffmann (1936)、Hutchison (1967)、Takhtajian (1997)及吴征镒等(2004)的分类系统中, 均被置于山柑科, 但在科内的位置变化多样。Kers (2003)依据斑果藤族不同于山柑科的形态特征(子房2-多室、中轴胎座、花被3–5基数、发育很好的柱头以及花柱常分枝), 将这4属从

山柑科排除, 但是并未明确其系统位置。Dowled和Reveal (2008)将斑果藤族提升为科——斑果藤科(*Stixaceae*), 该科得到木质部解剖学证据的支持(Carlquist et al., 2014)。但APG III (2009)认为尚需更多的证据来支持斑果藤科, 因此并未正式接受该科。近年来, 许多学者已经开展了十字花目的分子系统学研究, 为斑果藤族系统位置和分类地位的确定提供了重要的基础。Hall等(2002)使用叶绿体的2个片段(*ndhF*和*trnL-F*)对十字花目59个类群进行了系统发育分析, 结果支持将*Forchhammeria*从山柑科排除。Hall等(2004)又使用叶绿体*ndhF*和*rbcL*片段对十字花目35个类群进行了系统发育分析, 结果支持将*Tirania*从山柑科排除, 并识别了一个包括环蕊科(*Gyrostemonaceae*)、木犀草科(*Resedaceae*)、*Forchhammeria*及*Tirania*的分支, 即GRFT分支。Su等(2012)使用了叶绿体4个DNA片段(*matK*、*ndhF*、*rbcL*和*trnL-F*)对十字花目66个类群进行了分子系统学分析, 也将斑果藤属从山柑科分离并嵌入了GRFT分支, 与*Tirania*成为姊妹群并得到高度支持。综上所述

收稿日期: 2014-08-21; 接受日期: 2015-01-27

基金项目: 国家自然科学基金(No.31300180, No.31270268)、国家重点基础研究发展计划(No.2014CB954100)、中国科学院海外科教基地建设计划(No.SAJC201315)、中国科学院国际合作局对外合作重点项目(No.GJII2201321)和山西师范大学校自然科学基金(No.ZR1312)

* 通讯作者。E-mail: sjx_xia@163.com

述, 尽管上述分子系统学研究将斑果藤族3属(斑果藤属、*Forchhammeria*及*Tirania*)从山柑科排除, 但是仍然没能解决它们的系统学位置及分类地位。

*Neothorelia*还没有被包括在系统发育研究中。

节蒴木属在传统分类中被置于山柑科, 但其在山柑科内系统学位置存在争议。Smith (1911)第一次描述了该属, 认为它接近*Ritchiea*。而Jacobs (1968)依据节蒴木属的果实特征, 认为它与*Maerua*关系密切。吴征镒等(2004)将节蒴木属作为一个独立的亚科。Pax和Hoffmann (1936)基于节蒴木属独特的形态特征(2个萼片和6枚花瓣), 质疑该属在山柑科中的位置。Kers (2003)依据子房2-多室、中轴胎座、3-5基数的花被以及发育很好的柱头等特征将节蒴木属从山柑科排除。该观点也得到Mabberley (2008)的支持。Su等(2012)依据分子和花粉的证据, 澄清了节蒴木属的系统学位置, 并将它提升为一个新的单型科。虽然节蒴木属的系统位置和分类地位得到澄清, 但是目前除形态学描述和花粉证据之外, 尚缺乏其它证据。

综上所述, Su等(2012)依据分子和花粉数据将斑果藤属和节蒴木属从山柑科排除, 虽然提出了2属新的系统学位置, 但是并未对其形态性状进行系统发育分析。在形态性状中, 叶表皮特征在不同的分类群中表现比较稳定, 对于解决系统分类学问题具有重要意义, 已被广泛用于系统发育分析(洪亚平等, 2001; 孙稚颖和张宪春, 2009)。因此, 将叶表皮性状加入形态性状的系统发育分析中将有利于解决GRFT分支中尚存问题, 目前该分支中的节蒴木属和斑果藤属叶表皮特征研究尚属空白, 迫切需要补充。

Ronse De Craene和Haston (2006)在对十字花目的系统发育分析中, 发现联合形态和分子数据能够为一些系统关系提供更好的支持。因此, 本研究在Su等(2012)的基础上, 通过增加叶表皮数据, 进化速率

较快的核糖体ITS序列, 并联合分子和形态数据构建GRFT分支的系统发育树, 以期确定斑果藤族4属系统位置和分类地位, 同时为节蒴木科的成立提供形态学证据。

1 材料与方法

1.1 类群取样

在Su等(2012)研究的基础上, 在GRFT分支内取样。选取节蒴木属1种3个个体, 斑果藤族所有4属10种17个个体。此外, 木犀草科4属7种, 环蕊科2属4种。我们的取样涵盖了所有GRFT分支的主要成员, 在系统发育分析中首次包括*Neothorelia*。根据Su等(2012), 我们选取Pentadiplandraceae的*Pentadiplandra brazzeana* Baill.为外类群。凭证标本保存于中国科学院植物研究所标本馆(PE), 详细信息见附录1。本研究从野外增加的实验材料的采集信息及凭证标本见表1。

1.2 形态性状

1.2.1 叶表皮

取植株成熟叶片置于FAA固定液中固定并保存。剪取叶片中部约1 cm×1 cm小块, 投入30%NaClO溶液, 30°C恒温箱中静置, 待材料变白后取出, 用蒸馏水冲洗, 撕取上、下表皮, 用1%番红染色2-3分钟, 甘油明胶液封片, 光学显微镜(U-LH100HG, OLYMPUS)观察拍照。用于扫描电子显微镜观察的材料, 经梯度乙醇脱水, 乙酸异戊脂置换, 临界点干燥, 将叶片粘于样品台上并镀金, 使用Hitachi S-4800扫描电子显微镜观察并照相。

1.2.2 形态性状编码

本文利用前人研究的结果并结合标本观察, 选取相对

表1 材料来源

Table 1 Origin of materials

Taxon	Locality	Voucher
<i>Borthwickia trifoliata</i> W.W. Smith	Mengla, Yunnan	RS002
<i>Stixis suaveolens</i> (Roxb.) Pierre	Mengla, Yunnan	RS012
<i>Stixis ovata</i> subsp. <i>fasciculata</i> (King) Jacobs	Hekou, Yunnan	RS019
<i>Stixis scandens</i> Lour.	Mengla, Yunnan	RS013

稳定、有明显间断性变异的形态性状共20个, 包括习性、营养器官、解剖学、繁殖结构和孢粉学等(Erdtman, 1952; Hutchinson, 1967; Mitra, 1975; Hansen, 1977; 孙必兴, 1999; Kubitzki, 2003; Ronse De Craene and Haston, 2006; Martín-Bravo et al., 2007; Zhang and Tucker, 2008; Su et al., 2012; 苏俊霞, 2012)。在形态矩阵中, 9个性状处理为二态, 11个性状处理为多态。多态性状均为无序性状, 无序性状中, 任何2个状态间距离相等(如0-1和0-2间的距离均为1)。代表性状状态的数字无进化含义, 即0并不比1更原始(桑涛和徐炳声, 1996)。不详或未知性状状态以?表示。形态性状编码和形态数据矩阵分别见附录2和附录3。

1.3 分子数据

取经硅胶快速干燥的叶片, 用改良的CTAB法提取DNA。PCR扩增所用引物为ITS5a (Stanford et al., 2000)和ITS4 (White et al., 1990)。扩增反应在Eppendorf AG PCR仪上进行。反应体积为25 μ L, 反应体系各成分为: 北京博迈德生物公司生产的2x Taq PCR Master Mix 12.5 μ L, 引物各2 μ L, ddH₂O 6.5 μ L。PCR扩增程序为: 95°C预变性5分钟; 95°C1分钟, 50°C1分钟, 72°C1.5分钟; 37个循环; 72°C延伸10分钟。PCR扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测合格后交由北京博迈德生物公司测序, 以扩增引物作为测序引物进行双向测序。序列编辑和拼接采用Geneious 6.0软件完成。

用Geneious 6.0对ITS序列进行自动比对, 再根据序列的同源性进行手工调整, 获得ITS矩阵。使用最大简约法(maximum parsimony, MP)和贝叶斯法(BI)分别对4个矩阵进行分析, 即形态矩阵、ITS矩阵、分子矩阵(5个DNA片段)和分子形态联合矩阵, 其中叶绿体数据直接从Su等(2012)中获得。

1.4 系统发育分析

采用最大简约法(MP)对单个分子片段和形态矩阵分别建树, 以比较各矩阵所得拓扑结构是否一致。根据Hillis和Bull (1993)的标准, 系统位置不一致的分支BS>70%被认为是严重冲突。单片段分析不存在明显的拓扑结构冲突时对所有片段进行联合分析。

最大简约法(MP)和贝叶斯法(BI)分别使用

PAUP4.0b10 (Swofford, 2003)和MrBayesver.3.1.2 (Ronquist et al., 2003)进行分析。MP分析参数设置为启发式搜索(Heuristic search), 1 000次随机序列加入, TBR (tree bisection reconnection)枝长交换, 所有碱基位点不进行加权处理, 采用自展分析(bootstrap analysis), 1 000次抽样, 根据抽样自展值评估系统树各分支的自展支持率(bootstrap value BS)。BI采用MCMC (Markov Chain Monte Carlo)分区算法, 根据Modeltest 3.7的模型选择结果进行相关参数设置。以随机树为起始树, 运行10 000 000代, 每1 000代取样1次, 舍去开始的2 500 (Burn-in=2 500)次抽样。

2 结果与讨论

2.1 叶表皮形态特征

2.1.1 光镜下叶表皮微形态特征

节蒴木叶片上表皮细胞为不规则形, 垂周壁为浅波状。斑果藤属3种植物的叶片上表皮特征基本相同, 表皮细胞为多边形, 锥序斑果藤的细胞接近等径, 垂周壁为平直-弓形(图1A-D)。

节蒴木和斑果藤属叶片下表皮细胞多数为不规则形, 斑果藤属有少数细胞为多边形; 节蒴木的垂周壁为深波状, 而斑果藤属为浅波状和平直-弓形。节蒴木属和斑果藤属气孔器存在于下表皮, 上表皮均未见有气孔器分布。除斑果藤的气孔器类型为环列型外, 其余类群均为无规则型(图1E-H)。

2.1.2 扫描电镜下叶表皮微形态特征

节蒴木和斑果藤下表皮角质膜均平滑。节蒴木下表皮蜡质为稀疏的块状; 斑果藤的蜡质为线状或针状(图1I, J)。

节蒴木和斑果藤的表皮毛类型及分布均不同。节蒴木的表皮毛为单细胞, 单生, 仅分布于下表皮叶脉上。锥序斑果藤和闭脉斑果藤的表皮毛为单细胞, 丛生, 上下表皮叶脉和气孔区均有分布; 斑果藤上下表皮均无毛(图1K, L)。

2.2 系统发育分析

用MP和BI方法分别分析了4个矩阵, 即形态矩阵、核ITS矩阵、分子矩阵(5个DNA片段)和分子形态联合矩

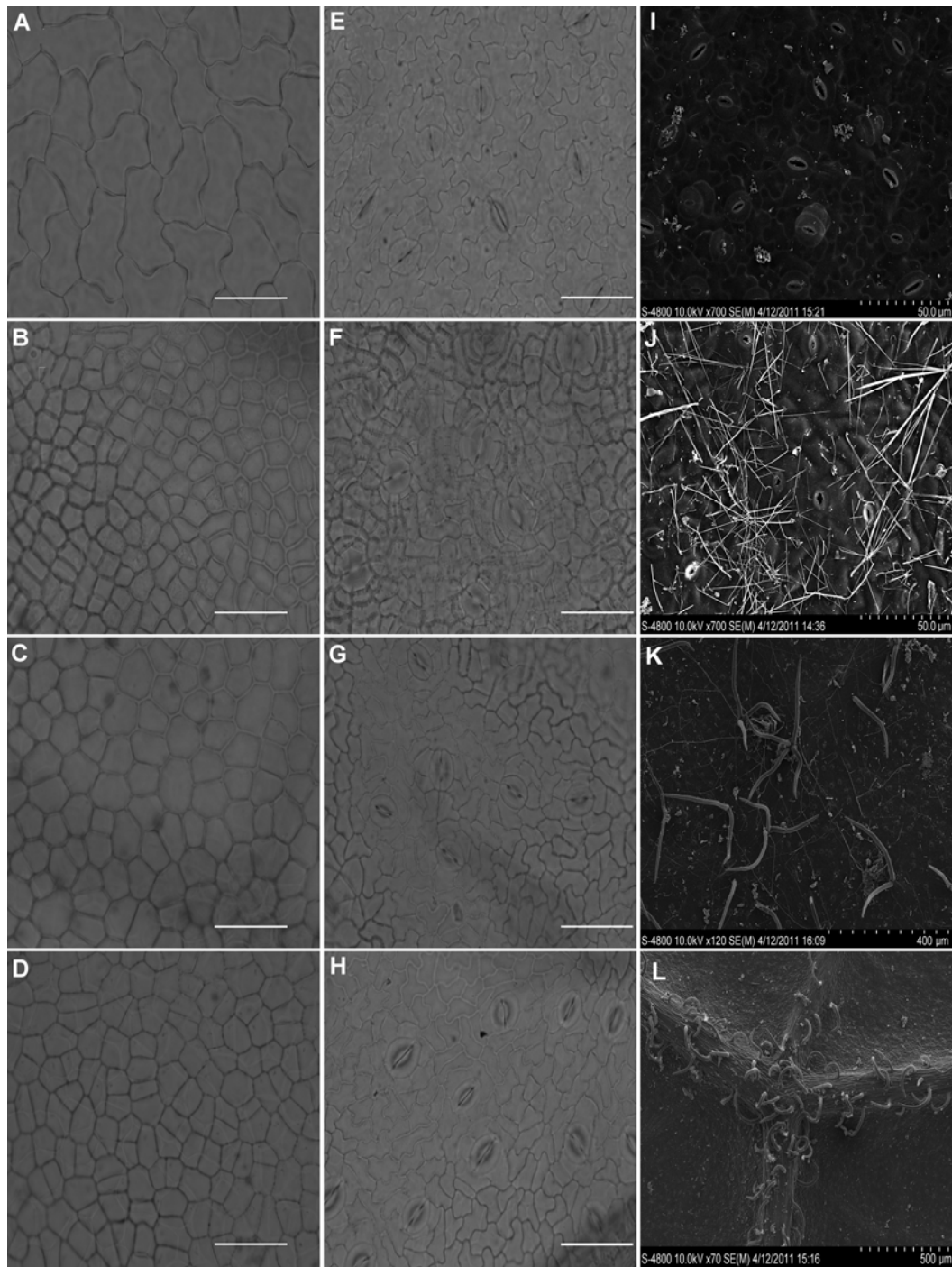


图1 光学显微镜和扫描电子显微镜下节蒴木和斑果藤的叶表皮微形态特征

(A)–(D) 上表皮细胞形状和垂周壁式样; (E)–(H) 气孔器特征; (I), (J) 下表皮角质层和蜡质纹饰; (K), (L) 表皮毛。(A), (E), (I), (L) 节蒴木; (B), (F) 斑果藤; (D), (H) 锥序斑果藤; (C), (G), (J), (K) 闭脉斑果藤。Bar=100 μm

Figure 1 Characters of the leaf epidermis under LM and SEM in *Borthwickia* and *Stixis*

(A)–(D) Adaxial epidermis and anticlinal wall; (E)–(H) Characters of the stomata; (I), (J) Cuticular membrane; (K), (L) Trichome. (A), (E), (I), (L) *Borthwickia trifoliata*; (B), (F) *Stixis suaveolens*; (D), (H) *Stixis ovata* subsp. *fasciculata*; (C), (G), (J), (K) *Stixis scandens*. Bar=100 μm

表2 各数据集系统分析结果统计

Table 2 Statistics from phylogenetic analyses of the various datasets

	<i>matK</i>	<i>ndhF</i>	<i>rbcl</i>	<i>trnL-F</i>	ITS	Five loci data	Morphological data	Total evidence
Total length	1 320	923	1 270	1 122	689	5 012	20	5 032
Variable characters	306	180	126	159	381	1 032	20	1 266
Informative characters	212	145	90	89	326	760	20	780
Number of trees	11 415	12 780	10	12 045	288	32	210	20
Length of trees	398	235	163	192	949	1 410	56	1 756
Consistency index	0.884	0.872	0.853	0.911	0.624	0.859	0.875	0.876
Retention index	0.946	0.942	0.938	0.953	0.887	0.938	0.963	0.936
Rescaled consistency index	0.837	0.822	0.799	0.869	0.553	0.806	0.842	0.820

阵, 各数据集所包含的序列长度、变异信息位点数量及MP分析产生的最简约树数量等信息见表2。由于各分析结果无明显冲突, 因此下面主要描述分子和形态联合分析结果(图2)。

结果显示, GRFT分支的单系性得到高度支持(BS=95%, BI=100%), 该分支包括4个分支, 即节蒴木科(BS=100%, BI=100%)、木犀草科(BS=100%, BI=100%)、*Forchhammeria* (BS=100%, BI=100%)和斑果藤属+*Tirania*+*Neothorelia* (BS=100%, BI=99%); 节蒴木科为剩余类群的姐妹群得到高度支持(BS=95%, BI=100%); 其余类群聚为一个高度支持(BS=98%, BI=100%)的分支, 但是在分支内部, 木犀草科、*Forchhammeria*和斑果藤属+*Tirania*+*Neothorelia*三者之间关系尚不明确; 斑果藤属、*Tirania*和*Neothorelia*三属聚为一支并得到高度支持(BS=100%, BI=99%), 3属之间关系并未得到确认。*Neothorelia*在MP分析中并未嵌入内类群, 主要由于该属仅有形态学数据, 缺失分子数据。

2.3 讨论

GRFT分支是Hall等(2004)识别的一个多系的分支, 包括环蕊科、木犀草科、*Forchhammeria*及*Tirania*。Su等(2012)对GRFT分支进行了修饰, 增加了2个成员, 即节蒴木属和斑果藤属, 并将节蒴木属提升为节蒴木科。本研究结果显示, 分子和形态联合分析结果高度支持GRFT分支的单系性, 环蕊科位于基部, 节蒴木科为剩余类群的姐妹群, 剩余类群组成一个多系的分支, 即木犀草科+斑果藤族3属(斑果藤属、

*Tirania*和*Neothorelia*)+*Forchhammeria* (图2)。我们的研究结果除了在GRFT分支中增加新成员*Neothorelia*之外(图2), GRFT分支内部各大支之间的关系与前人研究结果基本一致(Hall et al., 2004; Su et al., 2012)。但是本研究中各主要节点的支持率通常更高。如节蒴木科与剩余类群的姐妹关系在MP分析中BS值为95%, 明显高于Su等(2012)研究中的82%。

2.3.1 *Neothorelia*隶属于GRFT分支

*Neothorelia*曾与斑果藤族其余4属(斑果藤属、*Forchhammeria*、*Physena*和*Tirania*)被置于山柑科(Pax and Hoffmann, 1936; Hutchinson, 1967)。先前的分子系统学研究已将这4属从山柑科排除, 并提出了新的系统学位置, 然而*Neothorelia*从未包括在这些研究中(Morton et al., 1997; Hall et al., 2002, 2004; Su et al., 2012)。本研究对*Neothorelia*进行形态性状系统发育分析及分子和形态联合分析, 结果表明*Neothorelia*隶属于GRFT分支(图2), 该属的新位置得到许多形态证据的支持, 如*Neothorelia*与该分支其它成员均为中轴胎座、具发育良好的柱头等(Pax and Hoffmann, 1936; Kers, 2003)。在GRFT分支内, *Neothorelia*与斑果藤族的另外2属斑果藤属和*Tirania*聚为一支, 并得到高度支持(图2)。*Neothorelia*、*Tirania*和斑果藤属3属的密切关系也得到形态学证据的支持, 如花基数均为6, 心皮和子房数多于2, 花序腋生及网状花粉外壁纹饰等(附录2)。不仅如此, *Neothorelia*、*Tirania*与斑果藤属具有相似的分布区, 均为东南亚特有属。

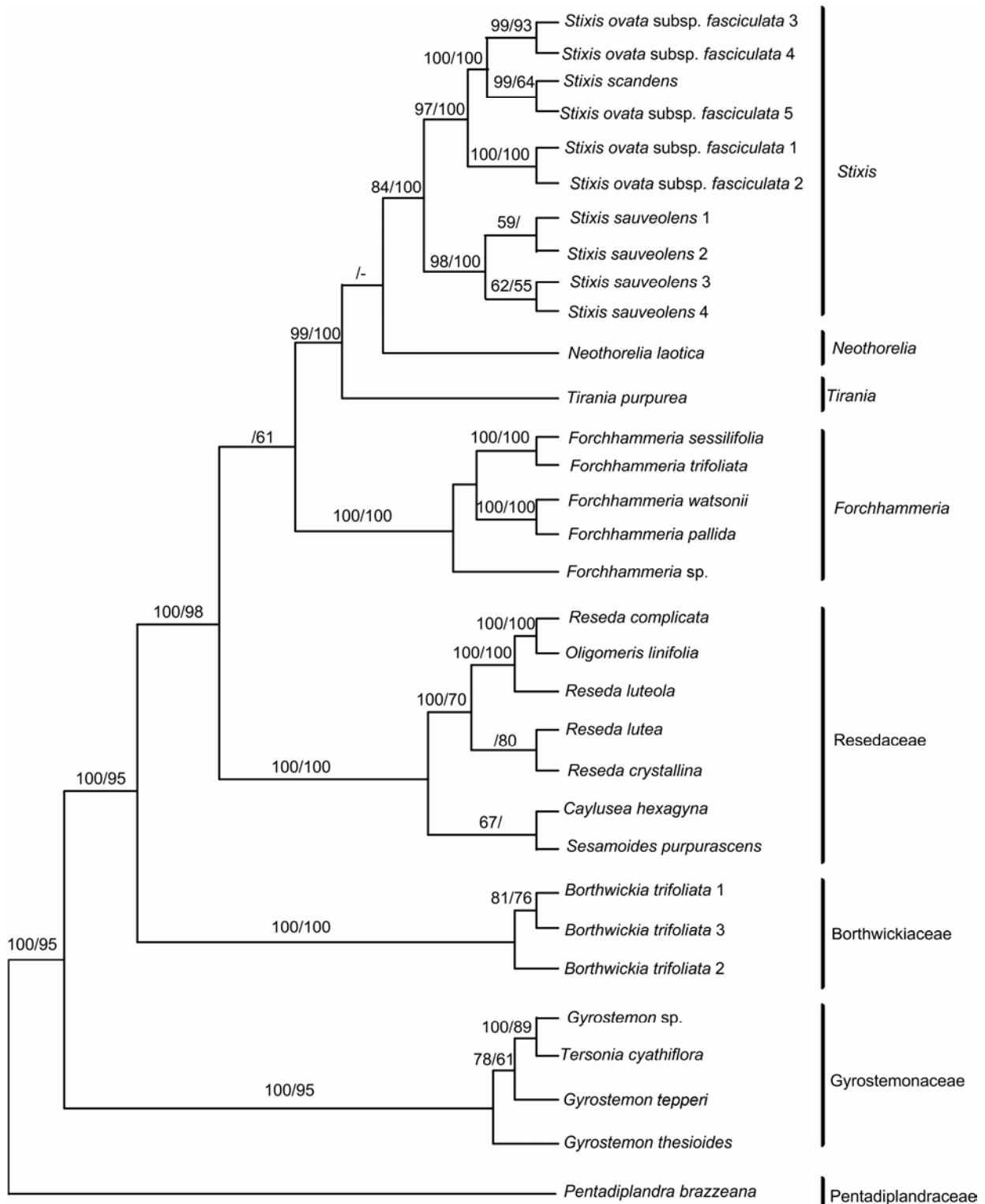


图2 用贝叶斯法对5个DNA片段和形态数据联合分析构建的系统发育树
分支上的数值依次是BI后验概率和MP BS值; - 表示最大简约法与贝叶斯法拓扑结构不一致。

Figure 2 Phylogram of Bayesian inference (BI) tree based on analysis of 32-taxon, 5-locus data and morphological data set
Numbers on branches indicate the BI pp and MP BS; dash indicates different topological structure on the node.

2.3.2 斑果藤族的范围和分类等级

分子和形态联合分析结果显示, Pax和Hoffmann (1936)的斑果藤族4属(斑果藤属、*Forchhammeria*、*Neothorelia*和*Tirania*)均为GRFT分支成员, 这4属与木犀草科聚为一支并得到高度支持(图2); 但是, *Forchhammeria*与斑果藤族其余3属(斑果藤属、*Neothorelia*、*Tirania*)并未聚为一支, 斑果藤族的单系性并未恢复(图2), 该结果与先前的分子系统学研究一致(Hall et al., 2002; Hall et al., 2004; Su et al., 2012)。尽管Dowled和Reveal (2008)已经提出了将斑果藤族提升为斑果藤科, 并且得到Carlquist等(2014)木质部解剖学研究的支持, 如*Forchhammeria*与斑果藤属植物茎均具有继生形成层, 导管分子和管胞均具附物纹孔等, 而木犀草科和环蕊科不具有上述特征。然而, 节蒴木科、*Neothorelia*和*Tirania*尚缺乏木质部解剖学证据。Carlquist等(2014)仅对斑果藤属1个标本进行了研究, 整个属是否均具有该特征尚不清楚。

综上所述, 由于*Forchhammeria*的分类等级不明确, 因此目前对斑果藤族的范围及其成员进行分类学处理条件尚不成熟。斑果藤科是否成立, 还需要进一步加强对*Forchhammeria*的形态学以及GRFT分支木材解剖学等的研究。

2.3.3 节蒴木属独立成科的新证据

Su等(2012)利用叶绿体4个DNA片段和花粉证据已经将节蒴木属从山柑科分离, 并将节蒴木属提升为一个单型科。本研究分子和形态联合分析结果高度支持节蒴木为其余类群的姐妹群。我们发现节蒴木具有独特的叶表皮微形态特征, 角质膜平滑, 气孔不下陷(图1I); 而山柑科的典型属山柑属(*Capparis*)的叶表皮角质膜为条纹状、网状、波状或脊状, 且通常形成复杂的网状结构, 气孔下陷在表皮细胞里, 有时还会被厚厚的角质层盖住(Silvio, 2010)。这些特征为节蒴木从山柑科分出提供了进一步的证据。此外, 节蒴木属在GRFT分支中, 与其姐妹类群的成员表皮特征差异明显: 节蒴木属叶片上表皮细胞为不规则形, 垂周壁为浅波状(图1A), 而斑果藤属细胞为多边形, 垂周壁为平直-弓形(图1B-D); 节蒴木属下表皮垂周壁为深波状, 而斑果藤属为浅波状或平直-弓形(图1E-H); 节蒴木属下表皮蜡质为稀疏的块状, 而斑果藤的蜡质

为线状或针状(图1I, J); 节蒴木属的表皮毛为单细胞, 单生, 斑果藤表皮毛为单细胞, 丛生(图1K, L); 节蒴木属气孔器仅存在于下表皮, 而木犀草科上、下表皮均有分布(Dogan et al., 2007)。综上所述, 本研究为节蒴木属独立成科提供了新的形态及分子证据, 研究结果进一步支持节蒴木科的成立。

致谢 感谢中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室王伟副研究员和孙苗博士在文章写作过程中提供的帮助和支持。

参考文献

- 洪亚平, 潘开玉, 陈之端, 路安民 (2001). 防己科植物的叶表皮特征及其系统学意义. 植物学报 **43**, 615–623.
- 桑涛, 徐炳声 (1996). 分支系统学当前的理论和方法概述及华东地区山胡椒属十二个种的分支系统学研究. 植物分类学报 **34**, 12–28.
- 苏俊霞 (2012). 蔷薇分支的分子系统学研究. 博士学位论文. 北京: 中国科学院植物研究所.
- 孙必兴 (1999). 山柑科. 见: 吴征镒编. 中国植物志(第32卷). 北京: 科学出版社. pp. 484–540.
- 孙稚颖, 张宪春 (2009). 中国瓦韦属药用植物的叶表皮观察. 植物学报 **44**, 331–337.
- 吴征镒, 路安民, 汤彦承, 陈之端, 李德铎 (2004). 中国被子植物科属综论. 北京: 科学出版社.
- APG III (Angiosperm Phylogeny Group III). (2009). An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Linn Soc* **161**, 105–121.
- Carlquist S, Hansen BF, Iltis HH, Olson ME, Geiger DL (2014). *Forchhammeria* and *Stixis* (Brassicales): stem and wood anatomical diversity, ecological and phylogenetic significance. *Aliso* **31**, 59–75.
- Dogan Y, Mert H, Akcan K (2008). Anatomical studies of *Reseda lutea* (Resedaceae). *Phytologia Balcan* **14**, 91–95.
- Dowled A, Reveal JL (2008). New suprageneric names for vascular plants. *Phytologia* **90**, 416–417.
- Erdtman G (1952). Pollen Morphology and Plant Taxonomy. Angiosperms. Stockholm: Almquist and Wiksell.
- Hansen BF (1977). A Monograph of *Forchhammeria* (Capparidaceae). Master Thesis Dissertation, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA.
- Hall JC, Iltis HH, Sytsma KJ (2004). Molecular phyloge-

- netics of core Brassicales, placement of orphan genera *Emblingia*, *Forchhammeria*, *Tirania*, and character evolution. *Syst Bot* **29**, 654–669.
- Hall JC, Sytsma KJ, Iltis HH** (2002). Phylogeny of Capparaceae and Brassicaceae based on chloroplast sequence data. *Am J Bot* **89**, 1826–1842.
- Hillis DM, Bull JJ** (1993). An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis. *Syst Biol* **42**, 182–192.
- Hutchinson J** (1967). The genera of flowering plants (Angiospermae), Vol. 2. Dicotyledons. Oxford: Clarendon Press.
- Jacobs M** (1968). *Borthwickia* (Capparaceae) from Yunnan and in fruit. *Blumea* **16**, 360.
- Kers LE** (2003). Capparaceae. In: Kubitzki K, Bayer C, eds. The Families and Genera of Vascular Plants, Vol. 5. Flowering Plants: Dicotyledons; Malvales, Capparales, and non-betalain Caryophyllales. Berlin: Springer. pp. 36–56.
- Kubitzki K** (2003). Resedaceae. In: Kubitzki K, Bayer C, eds. The Families and Genera of Vascular Plants, Vol. 5. Flowering Plants: Dicotyledons; Malvales, Capparales, and non-betalain Caryophyllales. Berlin: Springer. pp. 334–338.
- Mabberley DJ** (2008). Mabberley's plant-book, third edn. Cambridge: Cambridge University Press.
- Martín-Bravo S, Meimberg H, Luceño M, Märkl W, Valcárcel V, Bräuchler C, Vargas P, Heubl G** (2007). Molecular systematics and biogeography of Resedaceae based on ITS and *trnL-F* sequences. *Mol Phylogenet Evol* **44**, 1105–1120.
- Mitra K** (1975). Contribution to the pollen morphology of the family Capparaceae. *Bull Bot Surv India* **17**, 7–31.
- Morton CM, Karol KG, Chase MW** (1997). Taxonomic affinities of *Physena* (Physenaceae) and *Asteropeia* (Theaceae). *Bot Rev* **63**, 231–239.
- Pax F, Hoffmann K** (1936). Capparidaceae. In: Engler A, Prantl K, eds. Die natürlichen Pflanzenfamilien, Vol. 17b. Leipzig: Engelmann. pp. 146–233.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP** (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* **19**, 1572–1574.
- Ronse De Craene LP, Haston E** (2006). The systematic relationships of glucosinolate-producing plants and related families: a cladistic investigation based on morphological and molecular characters. *Bot J Linn Soc* **151**, 453–494.
- Silvio F** (2010). Micromorphological observations on leaf and pollen of *Capparis* L. sect. *Capparis* (Capparaceae). *Plant Biosyst* **138**, 125–134.
- Smith WW** (1911). *Borthwickia*, a new genera of Capparidaceae. *Trans Proc Bot Soc Edinburgh* **24**, 175–176.
- Stanford AM, Harden M, Parks CR** (2000). Phylogeny and biogeography of *Juglans* (Juglanaceae) based on *matK* and ITS sequence data. *Am J Bot* **87**, 872–882.
- Swofford DL** (2003). PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods), version 4.0b10. Sunderland, Massachusetts: Sinauer.
- Su JX, Wang W, Zhang LB, Chen ZD** (2012). Phylogenetic placement of two enigmatic genera, *Borthwickia* and *Stixis*, based on molecular and pollen data, and the description of a new family of Brassicales, Borthwickiaceae. *Taxon* **61**, 601–611.
- Takhtajan A** (1997). Diversity and Classification of Flowering Plants. New York: Columbia University Press.
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J** (1990). Amplifications and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T, eds. PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. San Diego, California: Academic Press. pp. 315–322.
- Zhang ML, Tucker GC** (2008). Capparaceae. In: Wu ZY, Raven PH, Hong DY, eds. Flora of China, Vol. 7. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden. pp. 433–450.

Phylogeny of Stixeeae and Borthwickiaceae Based on Morphological and Molecular Data

Huiling Zhao^{1,2}, Limin Lu², Junxia Su^{1*}, Zhiduan Chen²

¹School of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China; ²State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China

Abstract Stixeeae (including *Stixis*, *Tirania*, *Neothorelia* and *Forchhammeria*) and *Borthwickia* have traditionally been placed in Capparaeae. Recent molecular and morphological studies suggest *Borthwickia* as a new monotypic family. However, the positions and taxonomic ranks of Stixeeae remain unresolved. To estimate the relationships of Stixeeae, we reconstructed the phylogeny of the Gyrostemonaceae-Resedaceae-*Forchhammeria*-*Tirania* (GRFT) clade of the core Brassicales using maximum parsimony and Bayesian analysis with 20 morphological characters and five DNA regions (*matK*, *rbcl*, *ndhF*, *trnL-F*, and ITS). Our results strongly support *Neothorelia* as a new member of the GRFT clade; *Neothorelia*, *Tirania* and *Stixis* form a clade with strong support. The systematic position of *Forchhammeria* is still uncertain; molecular and morphological evidence support Borthwickiaceae as a new monotypic family.

Key words Borthwickiaceae, morphological data, molecular data, leaf epidermal characteristics, phylogeny, Stixeeae

Zhao HL, Lu LM, Su JX, Chen ZD (2015). Phylogeny of Stixeeae and Borthwickiaceae based on morphological and molecular data. *Chin Bull Bot* **50**, 473–481.

* Author for correspondence. E-mail: sjx_xia@163.com

(责任编辑: 白羽红)

附录1 样品名称、凭证标本及GenBank序列号

Appendix 1 Taxa, voucher information and GenBank accession numbers for all samples included in this study
<http://www.chinbullbotany.com/fileup/PDF/t14152-1.pdf>

附录2 选取的形态性状及其编码

Appendix 2 Morphological characters scored for phylogenetic analysis
<http://www.chinbullbotany.com/fileup/PDF/t14152-2.pdf>

附录3 形态矩阵

Appendix 3 Morphological data matrix
<http://www.chinbullbotany.com/fileup/PDF/t14152-3.pdf>