

毛茛科分子系统发育研究进展

刘慧杰, 谢磊*

(北京林业大学 自然保护区学院, 北京 100083)

摘要: 毛茛科(Ranunculaceae)在被子植物的系统演化中占有十分重要的地位,其系统位置和科下演化关系一直备受争议。近 20 多年的分子系统学研究表明,以往基于形态学的分类系统与分子系统学研究结果存在巨大差异。通过形态学性状界定的绝大多数亚科都没有得到分子系统学支持。此外,通过形态学确定的一些属如升麻属(*Cimicifuga*)、黄三七属(*Souliea*)、獐耳细辛属(*Hepatica*)、白头翁属(*Pulsatilla*)和水毛茛属(*Batrachium*)等,根据分子系统学研究均应予以归并。而分子系统学研究也确立了一些类群的属级地位,如露蕊乌头属(*Gymnaconitum*)等。以中国分布的毛茛科植物为例,通过以往分子系统学研究,共有 10 个属被归并,2 个属新被确立。然而,毛茛科分子系统学研究对于科下许多类群之间的关系目前仍然没有得到很好的解决,如毛茛亚科和翠雀族等类群的系统发育关系仍需要进行深入研究后方能确定。该文对近年来国内外有关毛茛科的分子系统学研究进展进行了综述,并对该科尚存的一些问题和未来的研究方向进行了讨论。

关键词: 毛茛科; 分子系统学; 分类; 研究进展

中图分类号: Q789; Q949.746.5 文献标志码: A

Advances in Molecular Phylogenetics of Ranunculaceae

LIU Huijie, XIE Lei*

(College of Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: The family Ranunculaceae has played an important role in the evolution of angiosperms. However, agreement is lacking on the systematic relationships of many genera within Ranunculaceae. In recent twenties years, molecular phylogenetic studies discovered that previous classifications system based on morphological characteristics were quite difference with the molecular phylogeny. The vast majority of the subfamily defined by morphological traits was not supported by molecular systematic. Besides, several genera determined by morphology, such as, *Cimicifuga*, *Souliea*, *Hepatica*, *Pulsatilla*, *Batrachium* etc., were detected to be synonymies according to molecular analysis. At the mean time, molecular systematics studies also established genera in the family, such as, *Gymnaconitum* etc. Through molecular systematics study, a total of ten genera were reduced, and two genera were established in China. However, the relationships between many groups within Ranunculaceae are still in question. The phylogenetic framework of subfamily. Ranunculoideae and tribe Delphinieae still needs to further study. In the present paper, recent advances in molecular phylogenetics of Ranunculaceae are summarized and some problematic issues within the family are discussed.

Key words: Ranunculaceae; molecular phylogenetics; systematics; advances

收稿日期: 2016-06-30; 修改稿收到日期: 2016-09-10

基金项目: 国家自然科学基金(81573531, J1310002, 31170201 和 31110103911); 科技部科技基础性工作专项(2013FY112100); 北京林业大学青年教师科学研究中长期项目(2015ZCQ-BH-03)

作者简介: 刘慧杰(1992-), 男, 在读硕士研究生, 从事毛茛科分子系统发育研究。E-mail: cfer.glove@qq.com.

* 通信作者: 谢磊, 博士, 副教授, 从事植物系统学和分类学研究工作。E-mail: xielei_si@126.com.

毛茛科传统上被认为是被子植物的原始类群之一,其保留了许多原始特征^[1]。在 APG III 系统中,位于真双子叶植物(Eudicots)的基部,是被子植物分化较早的科之一,与小檗科(Berberidaceae)成姊妹类群,并和防己科(Menispermaceae)、星叶草科(Circaeasteraceae)、木通科(Lardizabalaceae)、罂粟科(Papaveraceae)和领春木科(Eupteleaceae)一起归为毛茛目(Ranunculales)^[2]。全世界已记载毛茛科植物约有 62 个属 2 525 个种^[3],广布于除南极洲外的全球各个大洲,尤其以温带、寒温带、高山地区数量最多^[4]。毛茛科植物含有多种化学成分,许多种类为中国传统的中草药。此外,耧斗菜属(*Aquilegia*)、铁线莲属(*Clematis*)、翠雀属(*Delphinium*)和金莲花属(*Trollius*)等属植物具有较高的观赏价值,在世界各地的庭院中被广泛引用^[5]。因而,对毛茛科开展系统演化研究具有重要的理论与应用价值。

1 系统学研究历史及现状

由于毛茛科被认为是被子植物的原始科且具有重要的经济价值,长期以来吸引了众多植物分类学家对其进行研究。早期研究中毛茛科的分类主要依据果实类型分为蓇葖果类群和瘦果类群^[6],后来染色体形态特征受到重视^[7],随后通过次生化合物^[8-9]、孢粉学^[10-11]、微形态学^[12-13]等途径对毛茛科进行了多方面的系统研究,产生了许多不同的分类系统(表 1)。

在毛茛科的分类研究历史中,De Candolle 第一次把毛茛科植物放在物种领域进行专文论著,把毛茛科分为 5 个族分别是:铁线莲族(Tribe Clematideae)、银莲花族(Tribe Anemoneae)、毛茛族(Tribe Ranunculeae)、铁筷子族(Tribe Helleboreae)和芍药族(Tribe Paeonieae)^[14],他的工作影响了往后很

表 1 基于形态与分子系统学的毛茛科分类系统研究动态进展

Table 1 Classification system of Ranunculaceae based on morphology and molecular systematics

年代 Year	分类处理 Taxonomy		参考文献 Reference
	类群合计 No. of Taxa	类群名称 Name of Taxa	
1818	5 族 5 Tribes	铁线莲族,毛茛族,铁筷子族,芍药族 Tribe Clematideae, Tribe Ranunculeae, Tribe Helleboreae, Tribe Paeonieae	[14]
1887	3 族 3 Tribes	铁筷子族,银莲花族,芍药族 Tribe Helleboreae, Tribe Anemoneae, Tribe Paeonieae	[15]
1923	2 亚科 2 Subfamilies	具蓇葖果的铁筷子亚科,具瘦果的毛茛亚科 Subfam. Helleboroideae, Subfam. Ranunculoideae	[6]
1839 1949 1959	2 科 2 Families	具蓇葖果的铁筷子科,具瘦果的毛茛科 Helleboraceae, Ranunculaceae	[28~30]
1932	2 亚科 2 Subfamilies	唐松草亚科,唐松草族,黄连族,毛茛亚科,铁筷子族,毛茛族,银莲花族,黑种草族,侧金盏花族 Subfam. Thalictrioideae, Tribe Thalictraeae, Tribe Coptideae, Subfam. Ranunculoideae, Tribe Helleboreae, Tribe Ranunculeae, Tribe Anemoneae, Tribe Nigelleae, Tribe Adonideae	[7]
1941	6 族 6 Tribes	芍药族,铁筷子族,银莲花族,唐松草族,黄连族,黄根葵族 Tribe Paeonieae, Tribe Helleboreae, Tribe Anemoneae, Tribe Thalictraeae, Tribe Coptideae, Tribe Hydrastideae	[31]
1949	4 亚科 4 Subfamilies	芍药亚科,黄根葵亚科,铁筷子亚科,毛茛亚科 Subfam. Paeonioideae, Subfam. Hydrastidoideae, Subfam. Helleboroideae, Subfam. Ranunculoideae	[32]
1968	3 亚科 3 Subfamilies	黄根葵亚科,毛茛亚科,唐松草族,黄连族,类叶升麻族,驴蹄草族,毛茛族,银莲花族 Subfam. Hydrastidoideae, Subfam. Ranunculoideae, Tribe Thalictraeae, Tribe Coptideae, Tribe Actaeaeae, Tribe Caltheae, Tribe Ranunculeae, Tribe Anemoneae	[33]
1968	6 亚科 6 Subfamilies	铁筷子亚科,毛茛亚科,扁果草亚科,唐松草亚科,黄连亚科,黄根葵亚科 Subfam. Helleboroideae, Subfam. Ranunculoideae, Subfam. Isopyroideae, Subfam. Thalictrioideae, Subfam. Coptidoideae, Subfam. Hydrastidoideae	[19]
1995	5 亚科 5 Subfamilies	铁筷子亚科,毛茛亚科,扁果草亚科,唐松草亚科,黄根葵亚科 Subfam. Helleboroideae, Subfam. Ranunculoideae, Subfam. Isopyroideae, Subfam. Thalictrioideae, Subfam. Hydrastidoideae	[16]
1997	4 亚科 4 Subfamilies	黄根葵亚科,毛茛亚科,唐松草亚科,黄连亚科 Subfam. Hydrastidoideae, Subfam. Ranunculoideae, Subfam. Thalictrioideae, Subfam. Coptidoideae	[5]
2009	5 亚科 5 Subfamilies	毛茛亚科,唐松草亚科,黄连亚科,黄根葵亚科,白根葵亚科 Subfam. Ranunculoideae, Subfam. Thalictrioideae, Subfam. Coptidoideae, Subfam. Hydrastidoideae, Subfam. Glaucidoideae	[21]
2016	4 亚科 4 Subfamilies	毛茛亚科,黄连亚科,黄根葵亚科,白根葵亚科 Subfam. Ranunculoideae, Subfam. Coptidoideae, Subfam. Hydrastidoideae, Subfam. Glaucidoideae	[3]

长时间对该科分类研究。Prantl 对毛茛科分类研究除了采用传统的形态性状以外,还运用了解剖学和胚胎学特征,他把芍药属(*Paeonia*)、白根葵属(*Glaucidium*)和黄根葵属(*Hydrastis*)归到芍药族中,并认为芍药族是小檗科和毛茛科祖先的直接后代^[15]。Langlet 首次注意到了毛茛科分类中细胞核学的重要性,认为毛茛科内有 2 种染色体类型,分别为:具有大染色体的 R 型染色体类群和小染色体的 T 型染色体类群,并以此为基础把毛茛科分为唐松草亚科(Subfam. Thalictroideae)和毛茛亚科(Subfam. Ranunculoideae)^[7]。这 3 个工作在毛茛科分类的研究工作中是起着里程碑式意义的^[16]。

早期的毛茛科分类工作有很多存在争议的地方,如芍药属、星叶草属(*Circaea*)和独叶草属(*Kingdonia*)或是被学者归到毛茛科中,或是认为应作为一个独立的科^[17-18]。Tamura^[19]把星果草属(*Asteropyrum*)归到黄连族(Tribe Coptideae)的分类处理也是存有疑点,另外芍药属和白根葵属过去也被归类到毛茛科中。但随着研究方法的不断扩展,这些争议如今都有了新的且较为妥善的安排,其中星果草属作为一个独立的星果草族(Tribe Asteropyreae)归类到毛茛亚科内^[20-21],芍药属被分离出来成为芍药科(Paeoniaceae)^[22-25],白根葵属被分离出来成为白根葵科(Glaucidiaceae)^[24,26]。星叶草属现在普遍认为其是单系群,应分离出来成为星叶草科^[24,27]。对于毛茛科的系统位置,Loconte & Estes^[17]认为毛茛科与小檗科、木通科以及防己科一起归为毛茛目中,但目前以分子数据为基础所构建的 APG III^[2]以及 Wang 等^[21]认为毛茛科和防己科、小檗科、星叶草科、木通科、罂粟科、领春木科一起归为毛茛目内并且毛茛科与小檗科成姊妹类群,这也是如今比较被学者们所接受的处理。

随着分子生物技术不断发展,分子系统学方法在植物系统学研究领域广泛应用。分子系统学是指利用生物大分子,即蛋白质和 DNA 序列推断生命有机体间的演化关系的学科。它将氨基酸和核苷酸数据应用于系统学问题的研究,对探讨植物的演化机制和分类产生了深远影响。传统以比较形态学为基础的分类工作,由于形态特征的同塑性使得对某些科属作出的分类系统有着较大的不确定性,并不能全面反映真正的物种演化过程。而以分子序列数据为基础的分子系统研究具有许多容易界定的分子性状,通过直接比较分子性状可以为分类群的系统重建提供珍贵的发育信息,并且支持基于形态特征

界定的一些类群的单系性,允许系统学家在一些有争议的系统关系假说中做出选择,可以确认一些疑难类群的系统位置,对不适合的目和属进行重新界定。联合多种不同的分子序列或者形态性状,可以为毛茛科分类提供新的可能性,能够更真实反映出物种的演化历程。

2 毛茛科分子系统学研究进展

2.1 毛茛科内亚科和族一级的研究

由于分子系统学研究日益普遍,越来越多不同功能和不同来源的分子序列数据被运用到毛茛科内不同阶元的系统发育重建工作中。经过各国学者多年的研究工作,毛茛科分子系统为毛茛科分类带来了许多实质性的进展,取得了不凡的成果。

目前针对整个毛茛科亚科和族一级的系统发育研究已有很多工作。Johansson 等^[4]利用叶绿体 DNA 限制性位点,取 31 个样本代表了毛茛科 26 个属,分析了 547 个含有系统信息的限制性位点。对毛茛科系统发育的研究结果表明唐松草族(Tribe Thalictreae)应被提升为亚科,对于争议较多的黄根葵属,他们的结果显示黄根葵属是毛茛科其它属的姊妹类群,应归到毛茛科中。Johansson^[34]以这些数据为基础又新加上毛茛科 4 个属材料,对毛茛科的属间关系进行研究,结果呈现出的分辨水平与之前的研究类似。

Hoot^[35]利用叶绿体 *atpB*、*rbcL* 及核糖体 18S rDNA 基因,取 23 个属代表了毛茛科主要的亚科和族对毛茛科的系统关系进行了研究,结果与 Langlet^[7]依据染色体形态所产生的分类结果类似。Ro 等^[5]利用核糖体 26S rDNA 基因对毛茛科的研究,结果与 Hoot^[35]对毛茛科分类研究不同的是认为 T 型染色体类群并不是一个单系类群,它其中包括了 3 个独立的单系群分别是黄根葵属;黄连属(*Coptis*)和黄根木属(*Xanthorhiza*);耧斗菜属,假扁果草属(*Enemion*)和唐松草属(*Thalictrum*)。此外认为金莲花属和侧金盏花属(*Adonis*)有着很近的亲缘关系,尽管在形态上它俩几乎没有共同的特征。

Wang 等^[20]利用叶绿体 DNA 的 *rbcL* 基因和 26SrDNA 基因,对毛茛科的每个亚科和族进行了分析。结果显示 4 个主要的分支与 Jensen 等^[36]和 Ro 等^[5]对毛茛科分类系统:毛茛亚科、唐松草亚科、黄连亚科和黄根葵亚科(Subfam. Hydrastidoideae)较为一致,不同的是把星果草属归在了毛茛亚科内,

他们认为星果草属应提升为毛茛亚科下的星果草族。

Wang 等^[21]联合叶绿体 *rbcL*、*matK*、*trnL-F* 和 26S rDNA,对毛茛目各个属取了共 105 个样本,重建了毛茛目的分类系统。认为毛茛目分为 3 个主要支系,分别是:(1)领春木科(2)罂粟科(3)毛茛科、小檗科、防己科、木通科和星叶草科。把毛茛科分为毛茛亚科、唐松草亚科、黄连亚科、黄根葵亚科、白根葵亚科(Glaucidoideae)5 个亚科,认为白根葵属为毛茛科的最基部类群,并为美花草属(*Callianthemum*)设置了美花草族(Tribe Callianthemae)。

Cossard 等^[3]利用 4 个新基因叶绿体的 *ndhF* 基因和线粒体的 *nad4-I1* 内含子以及 CY-CLOIDEA 基因同系的 2 个核基因,又联合 ITS、*rbcL*、*matK* 和 *trnL* 基因,取了 54 个样本代表了 Wang 等^[21]毛茛科分类系统的所有亚科和族,分析了毛茛科内亚科以及族阶元的分类系统。结果认为毛茛亚科并不是一个单系,因为毛茛亚科下的侧金盏花族(Tribe Adonideae)与唐松草亚科成姊妹类群,从而认为应将唐松草亚科与毛茛亚科合并为一个亚科,唐松草亚科作为这个新亚科的一个族。

毛茛族的分类一直广受学者们争论,Emadzade 等^[37]联合 *matK*、*trnK*、*psbJ-petA* 和 ITS 序列,取 53 个样本代表了由 Tamura^[38]确立的毛茛族 17 个属中的 16 个属(除了单性鸦跖花属),重建了毛茛族的分类系统。结果不认同 Tamura^[38]把毛茛族分为 3 个亚族的做法,认为毛茛族分为 6 个主要支系分别是:由毛茛属(*Ranunculus*)组成的 Clade I-a,由灯罩毛茛属(*Krapfia*)和巨灯毛茛属(*Laccopetalum*)组成的 Clade I-b,由角果毛茛属(*Ceratocephala*)和鼠尾毛茛属(*Myosurus*)组成的 Clade I-c,由榕毛茛属(*Ficaria*)和北欧毛茛属(*Coptidium*)组成的 Clade I-d 以及由极地毛茛属(*Arcteranthis*)、冰毛茛属(*Beckwithia*)、弯喙毛茛属(*Cyrtorhyncha*)、碱毛茛属(*Halerpestes*)、鸦跖花属(*Oxygraphis*)和无瓣毛茛属(*Trautvetteria*)组成的 Clade II-a 和由单性毛茛属(*Hamadryas*)、莲叶毛茛属(*Peltocalathos*)、美花草属(*Callianthemoides*)和白萼毛茛属(*Kumlienia*)组成的 Clade II-b。其中角果毛茛属、鼠尾毛茛属、榕毛茛属和北欧毛茛属都是从毛茛属里独立出来成为独立的属,并把象鼻毛茛属(*Gampsoceras*)归到了毛茛属中。然而 Wang 等^[39]利用 *matK*、*trnK*、*psbJ-petA*、*rbcL* 和 ITS 序列研究毛茛族的系统发育关系时,发现上述 Emadzade

等^[37]的研究使用了 10 个有问题的 *psbJ-petA* 序列,从而认为 Emadzade 等^[37]的研究结果存有争议。Wang 等^[39]的结果把毛茛族分成了 2 个主要支系,认为冰毛茛属和弯喙毛茛属是 Clade II 中最早分化的类群,对冰毛茛属、弯喙毛茛属、白萼毛茛属和莲叶毛茛属的系统位置进行了调整,结果还显示白萼毛茛属、极地毛茛属和无瓣毛茛属聚在了一起,单性毛茛属和美花草属为姊妹类群。

关于翠雀族(Tribe Delphinieae)的分类,长久以来也是颇受争议。Jabbour 等^[40]利用 ITS、*trnL* 和 *trnL-F* 序列,取 185 个样本代表翠雀族形态上的各个主要类群,重建了翠雀族的分类系统。认为乌头属(*Aconitum*)和翠雀属都为单系,并把翠雀族分成乌头属、翠雀属和毒虱花属(*Staphisagria*)。其中毒虱花属是由翠雀属下的亚属提升为一个独立的属,把乌燕草属(*Aconitella*)和飞燕草属(*Consolida*)归到了翠雀属中。Wang 等^[41]利用 ITS 和 *trnL-F* 序列以及 ITS、*trnL-F*、*trnH-psbA*、*trnK-matK*、*trnS-trnG*、*rbcL* 两个数据集,分别取了 285 和 32 个样本代表了 Tamura^[42]关于翠雀族分类系统中所有的属和亚属及 Jabbour 等^[40]翠雀族分类系统的各个主要支系,分析了翠雀族的分类系统。认为传统的乌头属并不为单系,把乌头属下的露蕊乌头亚属(*Gymnaconitum*)提升为一个独立的属,修订翠雀族由乌头属、翠雀属、露蕊乌头属和毒虱花属 4 个属组成。

2.2 毛茛科内近缘属和属下关系的研究

关于争议较多的类叶升麻属(*Actaea*)和升麻属(*Cimicifuga*)的界定。Compton 等^[43]测序并且比对了 2 个属内所有种的 ITS 序列,结果显示升麻属和类叶升麻属以及黄三七属(*Souliea*)共同组成一个单系类群它们之间的亲缘关系很近。而升麻属的总状升麻(*Cimicifuga racemosa*)与类叶升麻属是姊妹类群,它们组成了一个支持率较高的单系分枝。为了进一步的解决类叶升麻属和升麻属的系统发育关系,Compton 等^[44]又联合分析了 ITS 序列和叶绿体 DNA 的 *trnL-F* 间区的数据,对类叶升麻属进行了重新分类,把升麻属和黄三七属归到类叶升麻属中,并把类叶升麻属分为 7 个组(Sect. *Actaea*, Sect. *Podocarpae*, Sect. *Cimicifuga*, Sect. *Dichanthera*, Sect. *Oligocarpae*, Sect. *Pityrosperma*, Sect. *Souliea*)。

依据分子数据,獐耳细辛属(*Hepatica*)、白头翁属(*Pulsatilla*)、浆果莲花属(*Knowltonia*)、肾果

獐耳细辛属 (*Barneoudia*) 和 黄 莲 花 属 (*Oreithales*) 被 归 到 了 银 莲 花 属 (*Anemone*) 中^[45-47]。Hoot 等^[48] 联合 叶 绿 体 *atpB-rbcL* 间 区 和 核 ITS 序 列, 取 55 个 样 本 代 表 了 上 述 所 有 的 属, 研 究 了 银 莲 花 属 的 分 类 系 统。结 果 支 持 了 之 前 的 归 并, 把 银 莲 花 属 分 为 2 个 亚 属, 6 个 组。但 不 同 的 一 点 是 认 为 白 头 翁 属 应 作 为 一 个 新 组 归 到 银 莲 花 属 的 银 莲 花 亚 属 (Subgen. *Anemone*) 中。Yu Zhang 等^[49] 联合 ITS 和 *atpB-rbcL* 序 列 对 银 莲 花 属 的 研 究, 与 Hoot 等^[48] 的 研 究 结 果 大 体 一 致, 但 认 为 卵 叶 银 莲 花 组 (Sect. *Begoniiifolia*) 应 作 为 草 玉 梅 组 (Sect. *Rivularidium*) 下 的 亚 组。关 于 银 莲 花 族 下 的 单 型 属, 罂 粟 莲 花 属 (*Anemoclema*) 的 系 统 位 置, Yu Zhang 等^[50] 利 用 ITS 和 *atpB-rbcL* 序 列 分 析 罂 粟 莲 花 属 的 系 统 发 育 关 系, 结 果 显 示 罂 粟 莲 花 属 和 铁 线 莲 属 成 姊 妹 类 群, 因 此 把 罂 粟 莲 花 属 和 铁 线 莲 属 归 到 了 铁 线 莲 亚 族 中。

Miikeda 等^[51] 利 用 叶 绿 体 DNA 的 *matK* 和 *trnK* 内 含 子 以 及 *atpB-rbcL*、*rpoB-trnC*、*psbA-trnH-trnQ* 和 *rbcL-accD* 四 个 间 区 和 核 基 因 的 ITS 序 列, 对 铁 线 莲 属 每 个 亚 属 和 组 总 共 取 样 33 个, 研 究 铁 线 莲 属 的 系 统 发 育 关 系, 结 果 支 持 了 铁 线 莲 亚 族 的 单 系 性, 同 时 把 锡 兰 莲 属 (*Naravelia*) 和 互 叶 铁 线 莲 属 (*Archiclematis*) 归 到 了 铁 线 莲 属 中, 在 Tamura^[52] 对 铁 线 莲 属 所 分 的 4 个 亚 属 中, 他 们 认 为 尾 叶 铁 线 莲 亚 属 (Subgen. *Viorna*) 为 单 系 其 余 3 个 亚 属 为 并 系。Xie 等^[53] 利 用 ITS 序 列 和 叶 绿 体 DNA 的 *atpB-rbcL*、*psbA-trnH-trnQ* 和 *rpoB-trnC* 三 个 间 区, 对 铁 线 莲 属 所 有 的 亚 属 和 组 以 及 主 要 的 分 布 区 域 取 样 75 个 种, 分 析 了 铁 线 莲 属 的 系 统 发 育 关 系。同 样 支 持 了 互 叶 铁 线 莲 属、锡 兰 莲 属 和 铁 线 莲 属 的 合 并, 不 支 持 之 前 依 据 形 态 学 数 据 对 铁 线 莲 属 的 分 类, 不 同 的 是 把 铁 线 莲 属 分 为 了 10 个 主 要 分 支。而 Tamura^[54] 以 形 态 数 据 为 基 础 的 研 究 中, 把 铁 线 莲 属 和 锡 兰 莲 属、互 叶 铁 线 莲 属 同 归 为 银 莲 花 族 的 铁 线 莲 亚 族 (Subtri. *Clematidinae*) 的 做 法, 与 上 述 分 子 系 统 的 研 究 不 一 致。

Wang 等^[55] 利 用 叶 绿 体 DNA 的 *rbcL*、*matK*、*trnL-F* 和 核 基 因 ITS 序 列, 对 唐 松 草 亚 科 各 个 属 取 了 总 共 14 个 样 本, 进 行 唐 松 草 亚 科 属 级 系 统 的 重 建。结 果 显 示 唐 松 草 亚 科 的 9 个 属 分 为 了 3 个 主 要 大 群 (major groups), 分 别 是: (1) 唐 松 草 属, 蓝 堇 草 属 (*Leptopyrum*), 拟 耧 斗 菜 属 (*Paraquilegia*) 和 扁 果 草 属 (*Paropyrum*); (2) 尾 囊 草 属 (*Urophysa*), 天

葵 属 (*Semiaquilegia*) 和 耧 斗 菜 属; (3) 人 字 果 属 (*Dichocarpum*), 假 扁 果 草 属 和 北 扁 果 草 属 (*Isopyrum*)。其 中 北 扁 果 草 属 的 扁 果 草 (*Isopyrum anemonoides*) 与 假 耧 斗 菜 属 形 成 一 个 分 支, 东 北 扁 果 草 (*I. manshuricum*) 和 唐 松 叶 扁 果 草 (*I. thalictroides*) 形 成 了 另 一 个 分 支, 结 合 形 态 学 数 据 后 支 持 扁 果 草 属 成 为 一 个 独 立 的 属。

Wang 等^[56] 利 用 *matK* 基 因, 取 51 个 属 代 表 了 毛 茛 科 所 有 的 亚 科 和 族, 推 断 鸡 爪 草 属 (*Calathodes*) 和 大 菟 葵 属 (*Megaleranthis*) 的 系 统 位 置。还 联合 *matK*、*trnL-F* 和 ITS 序 列, 取 侧 金 盏 花 族 的 22 个 样 本, 分 析 两 属 的 系 统 发 育 关 系。结 果 他 们 认 为 鸡 爪 草 属 应 归 为 侧 金 盏 花 族, 大 菟 葵 属 归 到 金 莲 花 属, 所 以 侧 金 盏 花 族 也 被 重 新 修 订 为 由 侧 金 盏 花 属、鸡 爪 草 属 和 金 莲 花 属 组 成。

综 上 所 述, 分 子 系 统 学 在 毛 茛 科 的 研 究 中 开 展 广 泛, 许 多 种 分 子 序 列 被 用 于 对 传 统 意 义 上 的 毛 茛 科 分 类 系 统 的 进 一 步 鉴 定 (表 2), 为 毛 茛 科 的 系 统 发 育 研 究 提 供 了 很 多 珍 贵 有 效 的 信 息, 给 传 统 的 毛 茛 科 分 类 系 统 带 来 了 很 多 变 化。概 括 来 讲, 植 物 基 因 组 可 以 分 为 叶 绿 体 基 因 组、核 基 因 组 和 线 粒 体 基 因 组, 其 中 核 基 因 组 进 化 速 率 最 快, 约 为 叶 绿 体 基 因 组 的 2 倍; 线 粒 体 基 因 组 进 化 最 慢, 约 相 当 于 叶 绿 体 基 因 组 的 1/3^[57]。综 合 毛 茛 科 分 子 系 统 研 究 来 看, 所 选 用 的 序 列 主 要 有: (1) ITS 序 列。ITS 是 18S 基 因 和 26S 基 因 间 的 基 因 间 区 被 称 为 内 转 录 间 隔 区, 毛 茛 科 植 物 中 ITS 序 列 具 有 高 度 变 异 性 同 时 在 长 度 上 较 为 保 守, 适 合 应 用 于 较 低 分 类 阶 元 如 属 间、种 间 的 系 统 研 究; (2) 26S 基 因。其 序 列 变 异 程 度 适 于 探 讨 毛 茛 科 亚 科 及 族 间 的 系 统 关 系; (3) *rbcL* 基 因。*rbcL* 位 于 叶 绿 体 基 因 组 的 大 单 拷 贝 区, 长 约 1 400 bp 进 化 速 率 相 对 保 守, 适 合 科 内 远 缘 属 间 这 样 较 远 类 群 间 的 系 统 研 究; (4) *matK* 基 因。*matK* 位 于 叶 绿 体 *trnK* 基 因 的 内 含 子 中, 是 叶 绿 体 基 因 组 编 码 区 中 进 化 最 快 的 基 因 之 一, 可 以 为 科 级、属 级 的 系 统 重 建 提 供 较 高 的 支 持 率; (5) *ndhF* 基 因。*ndhF* 位 于 叶 绿 体 基 因 组 的 小 单 拷 贝 区, 可 以 很 好 的 解 决 科 内 系 统 关 系 的 研 究; (6) *atpB-rbcL* 间 区。长 约 900 bp, 适 于 族 间 和 属 间 的 系 统 学 研 究; (7) *rpoB-trnC* 间 区。长 约 1 200 bp, 可 用 于 种 及 种 下 系 统; (8) *psbA-trnH* 间 区。可 用 于 组 间 和 种 间 的 系 统 发 育 研 究, 长 约 300 bp; (9) *trnL-F* 非 编 码 区。适 用 于 近 缘 亚 科 间、族 间 或 属 间 的 系 统 发 育 研 究; (10) *rbcL-accD* 间 区。可 用 于 解 决 属 内 种 间 的 系 统 关 系。

表 2 毛茛科分子系统主要研究动态进展

Table 2 Major studies of molecular phylogenetics on Ranunculaceae

年代 Year	分子序列 Sequence	研究对象 Object	参考文献 Reference
1993	Restriction site mapping	毛茛科 Ranunculaceae	[4]
1997	26S rDNA	毛茛科 Ranunculaceae	[5]
1998	ITS	类叶升麻属,升麻属 <i>Actaea</i> , <i>Cimicifuga</i>	[43]
1998	ITS <i>trnL-F</i>	类叶升麻属,升麻属 <i>Actaea</i> , <i>Cimicifuga</i>	[44]
2005	<i>rbcl</i> 26S rDNA	星果草属 <i>Asteropyrum</i>	[20]
2006	<i>matK trnK atpB-rbcL rpoB-trnC psbA-trnH-trnQ rbcL-accD</i> ITS	铁线莲属 <i>Clematis</i>	[51]
2007	<i>rbcl matK</i> ITS <i>trnL-F</i>	唐松草亚科 Subfam. Thalictrioideae	[55]
2009	<i>rbcl matK trnL-F</i> 26SrDNA	毛茛目 Ranunculales	[21]
2010	<i>rbcl matK trnL-F</i> 26SrDNA	毛茛族 Tribe Ranunculeae	[37]
2010	<i>matK trnL-F</i> ITS	鸡爪草属 <i>Calathodes</i>	[56]
2011	ITS <i>atpB-rbcL psbA-trnH-trnQ rpoB-trnC</i>	铁线莲属 <i>Clematis</i>	[53]
2012	<i>atpB-rbcL</i> ITS	银莲花属 <i>Anemone</i>	[48]
2013	ITS <i>trnL-F trnH-psbA trnK-matK trnS-trnG rbcL</i>	露蕊乌头亚属 <i>Gymnaconitum</i>	[41]
2014	<i>matK trnK psbJ-petA</i> ITS <i>rbcL</i>	毛茛科 Ranunculaceae	[39]
2015	ITS <i>atpB-rbcL</i>	罂粟莲花属 <i>Anemoclema</i>	[50]
2015	ITS <i>atpB-rbcL</i>	银莲花属 <i>Anemone</i>	[49]
2016	ITS <i>rbcL matK trnL ndhF nad4-11</i> CYCLOIDEA	毛茛科 Ranunculaceae	[3]

3 毛茛科分子系统学研究在植物分类学上的意义

分子系统学研究对于植物分类学产生了巨大的影响,多年来以分子系统学研究为基础,毛茛科内部有许多属被归并,也新确立了一些类群的属级地位。以中国分布的毛茛科植物为例,通过分子系统学研究,目前支持的属共有 32 个(表 3),与英文版中国植物志(*Flora of China*)比较新确立 2 个属(露蕊乌头属,扁果草属 *Paropyrum*),归并掉 10 个属。近 20 年来,分子系统的研究处理了许多毛茛科系统分类内不合适的地方,如金莲花属和侧金盏花属在形态上几乎没有共同的特征,分子数据却证明它们之间有很近的亲缘关系。对于毛茛族、翠雀族、星果草属、露蕊乌头属、獐耳细辛属等这些争议较多的类群,通过分子系统学可以依据较为公信的分子性状比较和分析方法,做出较为学者们所接受的处理。但是我们也要清楚认识到毛茛科在全世界广泛分布且种类繁多,要收集其完全种类十分不易,对毛茛科的系统研究比较困难。虽然目前毛茛科绝大多数的类群都被学者们比较系统地通过分子手段进行了研

究,但是不同的分子序列进化速率不同,这些不同的类群是否选择了最为合适的分子序列较难得到保证,再加上取得某一类群全部的样本并非易事,很多研究的结果仍然值得商榷探讨,个别类群如驴蹄草属、乌头属等的系统关系仍未解决清楚。展望毛茛科分子系统研究,基于传统形态学毛茛科的分类系统,针对整个毛茛科及毛茛目内与之亲缘关系较近的科,扩大类群的取样并选择合适的分子序列进行深入的分子系统学研究,对于更好地探讨毛茛科系统发育是很必要的。

4 毛茛科分子系统学研究展望

自 Johansson 等^[58]首次采用分子手段来推断毛茛科的系统发育关系之后,新的分子序列片段不断的运用到毛茛科分子系统研究中,如利用核基因序列的 Ro 等^[5]和 Compton 等^[43],联合利用叶绿体基因序列和核基因序列的 Wang 等^[20-21],但是毛茛科中许多类群的系统位置仍然存在争议,系统树基部分辨率并不高,支持率也不显著。综合近 20 年来的分子系统研究来看,利用单个或是联合多个分子片

表 3 目前基于分子系统学研究中国范围内毛茛科归并和确认的属

Table 3 The accepted and reduced Chinese genera of Ranunculaceae based on molecular phylogenetics

年代 Year	确认的属 Accepted genus	被归并的属 Reduced genus	参考文献 Reference
2010	毛茛属 <i>Ranunculus</i>	水毛茛属 <i>Batrachium</i>	[1]
2010, 2014	碱毛茛属 <i>Halerpestes</i>	—	[1, 39]
2010, 2014	角果毛茛属 <i>Ceratocephala</i>	—	[1, 39]
2010, 2014	鸦跖花属 <i>Oxygraphis</i>	—	[1, 39]
2010, 2014	美花草属 <i>Callianthemum</i>	—	[1, 39]
2001, 2012	银莲花属 <i>Anemone</i>	獐耳细辛属 <i>Hepatica</i> 白头翁属 <i>Pulsatilla</i>	[45, 48]
2015	罂粟莲花属 <i>Anemoclema</i>	—	[50]
2006, 2011	铁线莲属 <i>Clematis</i>	锡兰莲属 <i>Naravelia</i> 互叶铁线莲属 <i>Archiclematis</i>	[51, 53]
2005	星果草属 <i>Asteropyrum</i>	—	[20]
2009	驴蹄草属 <i>Caltha</i>	—	[21]
1998, 1998	类叶升麻属 <i>Actaea</i>	升麻属 <i>Cimicifuga</i> 黄三七属 <i>Souliea</i>	[43~44]
2009	铁破锣属 <i>Beesia</i>	—	[21]
2009	铁筷子属 <i>Helleborus</i>	—	[21]
2009	菟葵属 <i>Eranthis</i>	—	[21]
2012, 2013	乌头属 <i>Aconitum</i>	—	[40~41]
2012	翠雀属 <i>Delphinium</i>	飞燕草属 <i>Consolida</i> 乌燕草属 <i>Aconitella</i>	[40]
2013	露蕊乌头属 <i>Gymnaconitum</i> *	—	[41]
2010	侧金盏花属 <i>Adonis</i>	—	[56]
2010	鸡爪草属 <i>Calathodes</i>	—	[56]
2010	金莲花属 <i>Trollius</i>	大菟葵属 <i>Megaleranthis</i>	[56]
2007	拟耧斗菜属 <i>Paraquilegia</i>	—	[55]
2007	唐松草属 <i>Thalictrum</i>	—	[55]
2007	拟扁果草属 <i>Enemion</i>	—	[55]
2007	人字果属 <i>Dichocarpum</i>	—	[55]
2007	天葵属 <i>Semiaquilegia</i>	—	[55]
2007	尾囊草属 <i>Urophysa</i>	—	[55]
2007	耧斗菜属 <i>Aquilegia</i>	—	[55]
2007	扁果草属 <i>Paropyrum</i> *	—	[55]
2007	北扁果草属 <i>Isopyrum</i>	—	[55]
2007	蓝堇草属 <i>Leptopyrum</i>	—	[55]
2009	黄连属 <i>Coptis</i>	—	[21]
2009	毛茛莲花属 <i>Metanemone</i>	—	—

注: * 分子系统学研究支持的属(未见于中国植物志和 Flora of China)

Note: * The accepted Chinese genera based on molecular phylogenetics (Not accepted in the flora of China)

段进行序列分析,渐已不能满足对毛茛科系统演化关系的推断。而一些基于非序列的分析方法如全基因组特征分析较少受到平行演化和回复突变的影响,

并且这种非序列分析方法受序列比对算法的内在影响较小^[59],与分子数据结合起来分析可以更真实地反映出物种真实的演化历史。核基因组与叶绿

体全基因组具有大量的核苷酸序列信息,其特征也可作为系统发育关系研究的有效资源。相比于核基因组,叶绿体基因组除了反向重复区域都为单拷贝

基因,几乎不会受到旁系同源的影响。对于目前的毛茛科分类研究而言,也许将是一个解决毛茛科系统发育问题的行之有效的途径。

参考文献:

- [1] EMADZADE K, LEHNEBACH C, LOCKHART P, *et al.* A molecular phylogeny, morphology and classification of genera of Ranunculeae (Ranunculaceae) [J]. *Taxon*, 2010, **59**(3): 809-828.
- [2] BREMER B, BREMER K, CHASE M, *et al.* An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2009, **161**(2):105-121.
- [3] COSSARD G, SANNIER J, SAUQUET H, *et al.* Subfamilial and tribal relationships of Ranunculaceae: evidence from eight molecular markers [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2016, **302**(4):419-431.
- [4] JOHANSSON J T, JANSEN R K. Chloroplast DNA variation and phylogeny of the Ranunculaceae [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1993, **187**(1-4):29-49.
- [5] RO K E, KEENER C S, MCPHERON B A. Molecular phylogenetic study of the Ranunculaceae: utility of the nuclear 26S ribosomal DNA in inferring intrafamilial relationships [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1997, **8**(2):117-127.
- [6] HUTCHINSON J. Contributions towards a phylogenetic classification of flowering plants I [J]. *Bulletin of Miscellaneous Information* (Royal Botanic Gardens, Kew), 1923, **1923**(2): 65-89.
- [7] LANGLET O F I. über chromosomenverhältnisse und systematik der Ranunculaceae [M]. 1932:381-400.
- [8] RUIJGROK H W L. The distribution of ranunculin and cyanogenic compounds in the Ranunculaceae [M]. Academic Press, 1966:175-186.
- [9] 肖培根. 中国毛茛科植物群的亲缘关系、化学成分和疗效间相关性的初步探索 [J]. *植物分类学报*, 1980, **18**(2):142-153.
- XIAO P G. A preliminary study of the correlation between phylogeny, chemical constituents and pharmaceutical aspects in the taxa of Chinese Ranunculaceae [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 1980, **18**(2):142-153.
- [10] NOWICKE J W, SKVARLA J J. Pollen morphology and the relationships of Circaeaster, of Kingdonia, and of Sargentodoxa to the Ranunculales [J]. *American Journal of Botany*, 1982, **69**(6):990-998.
- [11] SANTISUK T. Palynological study of the tribe Ranunculeae (Ranunculaceae) [J]. *Opera Botany*, 1979, **48**(1):1-74.
- [12] ALEYKUTTY K M, INAMDAR J A. Structure, ontogeny and classification of trichomes in Ranales [J]. *Feddes Repertorium*, 1980, **91**(1-2):95-108.
- [13] HOOT S B. Phylogeny of the Ranunculaceae based on epidermal microcharacters and macromorphology [J]. *Systematic Botany*, 1992, **16**(4):741-755.
- [14] DE CANDOLLE A P. Regni vegetabilis systema naturale [M]. Sumptibus Sociorum Treuttel et Würtz, 1818.
- [15] PRANTL K. Beiträge zur Morphologie und Systematik der Ranunculaceen [M]. Engelmann, 1887.
- [16] TAMURA M. Archiclematis and Clematis [M]//. Hiepko P Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Zwei. Aufl. 17a (4). Duncker and Humblot, Berlin, 1995,1-15.
- [17] LOCONTE H, EATES J R. Phylogenetic systematics of Berberidaceae and Ranunculales (Magnoliidae) [J]. *Systematic Botany*, 1990, **14**(4):565-579.
- [18] THORNE R F. Classification and geography of the flowering plants [J]. *The Botanical Review*, 1992, **58**(3):225-327.
- [19] TAMURA M. Morphology, ecology and phylogeny of the Ranunculaceae VIII. (Ranunculaceae of Eastern Asia: general part VIII) [J]. *Sci. Rep. Osaka Univ.*, 1968, **17**:41-56.
- [20] WANG W, LI R Q, CHEN Z D. Systematic position of Asteropyrum (Ranunculaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2005, **255**(1-2):41-54.
- [21] WANG W, LU A M, REN Y, *et al.* Phylogeny and classification of Ranunculales: evidence from four molecular loci and morphological data [J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2009, **11**(2):81-110.
- [22] WORSDELL W C. A study of the vascular system in certain orders of the Ranales [J]. *Annals of Botany*, 1908, **22**(88): 651-682.
- [23] KUMAZAWA M. The Structure and Affinities of Paeonia [J]. *Physics Today*, 1972, **25**(6):178-182.
- [24] TAMURA M. Morphology, ecology and phylogeny of the Ranunculaceae I [J]. *Science Reports*, 1963, **11**:115-126.
- [25] CRONQUIST A. An integrated system of classification of flowering plants [M]. Columbia University Press, 1981.
- [26] TAMURA M. Morphology and phyletic relationship of the Glaucidiaceae [J]. *The Botanical Magazine = Shokubutsugaku-zasshi*, 1972, **85**(1):29-41.
- [27] HUTCHINSON J, FLORES E M, RIVERA D I, *et al.* The families of flowering plants. 1. Dicotyledons [M]. Royal Botanic Gardens, Kew (RU), 1926.
- [28] SPACH E. Histoire naturelle des végétaux. Phanérogames 7 [M]. Paris, 1839.
- [29] NAKAI T. Classes, ordinae, familiae, subfamiliae, tribus, genera nova quae attinent ad plantas Koreanas [J]. *Journal of Japanese Botany*, 1949, **24**: 8-14.
- [30] HUTCHINSON J. The Families of Flowering Plants; Monocotyledons: Arranged According to a New System Based on Their Probable Phylogeny [M]. Clarendon Press, 1959.
- [31] GREGORY W C. Phylogenetic and cytological studies in the Ranunculaceae Juss [J]. *Transactions of the American Philosophical Society*, 1941, **31**(5): 443-521.

- [32] JANCHEN E. Die systematische Gliederung der Ranunculaceen und Berberidaceen[M]. Springer, 1949,108;1-82.
- [33] JENSEN U. Serologische Beiträge zur Systematik der Ranunculaceae[J]. *Bot. Jb.*, 1968, 88; 204-268.
- [34] JOHANSSON J T. A revised chloroplast DNA phylogeny of the Ranunculaceae[M]. *Systematics and Evolution of the Ranunculiflorae*. Springer Vienna, 1995; 253-261.
- [35] HOOT S B. Phylogeny of the Ranunculaceae based on preliminary atpB, rbcL and 18S nuclear ribosomal DNA sequence data[M]. *Systematics and Evolution of the Ranunculiflorae*. Springer Vienna, 1995; 241-251.
- [36] JENSEN U, HOOT S B, JOHANSSON J T, *et al.* Systematics and phylogeny of the Ranunculaceae—a revised family concept on the basis of molecular data[M]. *Systematics and Evolution of the Ranunculiflorae*. Springer Vienna, 1995; 273-280.
- [37] EMADZADE K, LEHNEBACH C, LOCKHART P, *et al.* A molecular phylogeny, morphology and classification of genera of Ranunculaceae (Ranunculaceae) [J]. *Taxon*, 2010, **59** (3); 809-828.
- [38] TAMURA M. Archiclematis and Clematis[M]//. Hiepko P Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Zwei. Aufl. 17a (4). Duncker and Humblot, Berlin, 1995; 223-519.
- [39] WANG W, LI H L, XIANG X G, *et al.* Revisiting the phylogeny of Ranunculaceae: Implications for divergence time estimation and historical biogeography[J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2014, **52**(5): 551-565.
- [40] JABBOUR F, RENNER S S. A phylogeny of Delphinieae (Ranunculaceae) shows that Aconitum is nested within Delphinium and that Late Miocene transitions to long life cycles in the Himalayas and Southwest China coincide with bursts in diversification[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2012, **62**(3):928-942.
- [41] WANG W, LIU Y, YU S X, *et al.* Gymnaconitum, a new genus of Ranunculaceae endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Taxon*, 2013, **62**(4): 713-722.
- [42] TAMURA M. Ranunculaceae [M]//. Hiepko P. Natürlichen Pflanzenfamilien, 2nd ed. 17a IV. Berlin; Duncker and Humblot, 1995; 231-320.
- [43] COMPTON J A, CULHAM A, GIBBINGS J G, *et al.* Phylogeny of Actaea including Cimicifuga (Ranunculaceae) inferred from nrDNA ITS sequence variation[J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1998, **26**(2):185-197.
- [44] COMPTON J A, CULHAM A, JURY S L. Reclassification of Actaea to include Cimicifuga and Souliea (Ranunculaceae); phylogeny inferred from morphology, nrDNA ITS, and cpDNA trnL-F sequence variation [J]. *Taxon*, 1998, **47** (3): 593-634.
- [45] EHRENDORFER F, SAMUEL R. Contributions to a molecular phylogeny and systematics of Anemone and related genera (Ranunculaceae-Anemoneinae)[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2001, **39**(4):293-307.
- [46] SCHUETTPELZ E, HOOT S B, SAMUEL R, *et al.* Multiple origins of Southern Hemisphere Anemone (Ranunculaceae) based on plastid and nuclear sequence data[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2002, **231**(1-4):143-151.
- [47] MEYER K M, HOOT S B, ARROYO M T K. Phylogenetic affinities of South American Anemone (Ranunculaceae), including the endemic segregate genera, Barneoudia and Oreithales[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 2010, **171** (3);323-331.
- [48] HOOT S B, MEYER K M, MANNING J C. Phylogeny and reclassification of Anemone (Ranunculaceae), with an emphasis on austral species[J]. *Systematic Botany*, 2012, **37** (1): 139-152.
- [49] ZHANG Y, HONG Y, REN C, *et al.* Palynology, cytology, and molecular systematics of Anemone section Begoniifolia (Ranunculaceae) [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2015, **301**(1): 411-424.
- [50] ZHANG Y, KONG H H, YANG Q E. Phylogenetic relationships and taxonomic status of the monotypic Chinese genus Anemoclema (Ranunculaceae) [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2015, **301**(5): 1 335-1 344.
- [51] MIKEDA O, KITA K, HANDA T, *et al.* Phylogenetic relationships of Clematis (Ranunculaceae) based on chloroplast and nuclear DNA sequences [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2006, **152**(2): 153-168.
- [52] TAMURA M. A classification of genus Clematis. [J]. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 1987, 38;33-34.
- [53] XIE L, WEN J, LI L Q. Phylogenetic analyses of Clematis (Ranunculaceae) based on sequences of nuclear ribosomal ITS and three plastid regions[J]. *Systematic Botany*, 2011, **36** (4): 907-921.
- [54] TAMURA M. A new classification of the family Ranunculaceae 2[J]. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanica*, 1991, **42** (2): 177-187.
- [55] WANG W, CHEN Z D. Generic level phylogeny of Thalicthroideae (Ranunculaceae)-implications for the taxonomic status of Paropyrum and petal evolution[J]. *Taxon*, 2007, **56** (3): 811-821.
- [56] WANG W, HU H, XIANG X G, *et al.* Phylogenetic placements of Calathodes and Megaleranthis (Ranunculaceae): Evidence from molecular and morphological data[J]. *Taxon*, 2010, **59**(6): 1 712-1 720.
- [57] 田欣, 李德铎. DNA序列在植物系统学研究中的应用[J]. 云南植物研究, 2002, **24**(2): 170-184.
- TIAN X, LI D Z. Application of DNA sequences in plant phylogenetic study[J]. *Acta Botanica Yunnanica*, 2002, **24** (2):170-184.
- [58] JOHANSSON J T, JANSEN R K. Chloroplast DNA variation among five species of Ranunculaceae: structure, sequence divergence, and phylogenetic relationships[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1991, **178**(1-2): 9-25.
- [59] 张韵洁, 李德铎. 叶绿体系统发育基因组学的研究进展[J]. 植物分类与资源学报, 2011, **33**(4): 365-375.
- ZHANG S J, LI D Z. Advances in phylogenomics based on complete chloroplast genomes[J]. *Plant Diversity and Resources*, 2011, **33**(4): 365-375.