

应用 SuperTRI 方法重建百合目的系统发育关系

施菲¹, 张丽¹, 陈士超^{1,2*}

(1. 同济大学生命科学与技术学院, 上海 200092; 2. 同济大学丽水中药研究院, 浙江丽水 323000)

摘要: SuperTRI 是 Ropiquet 等(2009)发表的一种新的超树方法, 可以通过合并所有系统发育信息来共同组建大的系统发育树。该方法克服了超矩阵法和传统超树法的一些限制, 使提出的系统发育假说可信度更高, 更具有统计说服力。本文应用 SuperTRI 方法重建了百合目(Liliales)主要类群的系统发育关系, 并与超矩阵法的分析结果进行了比较。结果显示: (1) SuperTRI 方法产生了与超矩阵法相似的拓扑结构, 但节点支持率相对较低, 其中再现性指数对评判分支的可信性更容易理解, 在系统树图示方法上也更直观; (2) SuperTRI 系统树证实百合科、菝葜科、垂花科和菝葜藤科为一单系分支; 黑药花科为一独立分支; 秋水仙科、六出花科、刺藤科为一单系分支, 但这 3 个大分支间的关系未明; 支持白玉簪科和金梅草科互为姐妹群, 是百合目最基部类群。

关键词: 百合目; 系统发育; 超矩阵; SuperTRI; 超树

中图分类号: Q941

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2012)01-0015-07

Using SuperTRI Methods to Reconstruct the Phylogenetic Relationships of Liliales

SHI Fei¹, ZHANG Li¹, CHEN Shi-Chao^{1,2*}

(1. College of Life Science and Technology, Tongji University, Shanghai 200092, China;
2. Tongji University-Lishui Institute of Traditional Chinese Medicine, Lishui, Zhejiang 323000, China)

Abstract: Ropiquet *et al.* (2009) proposed a new approach called SuperTRI (SuperTree with Reliability Indices) to combine all phylogenetic information available for the construction of large, synthetic phylogenetic trees. This approach overcomes some limitations of Supermatrix analysis and Supertree analysis, and allows larger scale hypotheses to be more reliable and with stronger statistical power. In this paper, we applied SuperTRI to construct a liliales phylogenetic tree. Compared to those found with the supermatrix approach, the results indicated: (1) the topology of SuperTRI tree is similar to those of the Supermatrix tree, but gives lower branch support values relatively, where reproducibility index for judging node reliability is the easiest way to understand and also the most intuitive method shown by the phylogenetic tree; (2) our results confirmed that Liliaceae, Smilacaceae, Philesiaceae and Ripogonaceae are one monophyletic clade, Melanthiaceae is another monophyletic clade, and Colchicaceae, Alstroemeriaceae and Petermanniaceae are another. However, the phylogenetic relationship between the three clades remains uncertain. Corsiaceae and Campynemataceae are a sister group and the first branch in the order.

Key words: Liliales; Phylogeny; Supermatrix; SuperTRI, Supertree

收稿日期: 2011-07-21, 修回日期: 2011-10-12。

基金项目: 上海市自然科学基金(10ZR1431300); 浙江丽水市重大科技专项(20090310)。

作者简介: 施菲(1986-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物系统发育与分子进化研究(E-mail: shifei1118@163.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: scchen@tongji.edu.cn)。

DNA 测序技术的发展以及大规模基因组测序工作的普及给系统发育研究带来了海量的分子数据。DNA 序列数据丰富、在所有生物体中具可比性以及数据分析的规范性等特点,使其成为进化生物学研究的重要手段。建立在数学和统计学基础上的系统发育树的构建理论和方法也由此获得了迅速发展,促使分子系统发育学进入黄金发展期,并取得了一系列重要成果。如 Chase 等^[1]分析了种子植物代表类群的 499 条叶绿体 *rbcl* 序列,首次用分子证据全面分析了被子植物的系统发育关系,为随后进一步完善被子植物系统发育框架 (APG 系统)^[2,3]奠定了基础。随着分子系统学的快速发展,出于对单基因片段信息量有限以及基因树冲突等问题的担忧,很多研究者开始使用多基因重建系统发育关系。如:Qiu 等^[4]利用来自 3 个基因组的 5 个片段对被子植物系统发育关系的研究,标志着多基因序列分析成为广泛采用的基本方法^[5,6]。多基因建树策略主要包括超矩阵法 (supermatrix approach)^[7]和超树法 (supertree approach)^[8]。超矩阵法是基于哲学家 Rudolf Carmap 提出的“total evidence”原则,直接合并所有数据形成一个单一的矩阵,把它当作一个“supergene”进行分析^[9,10]。超树法则是将不同的数据集单独分析,先构建各个数据集的系统发育树,然后将这些树整合得为最终树的方法^[11]。SuperTRI (SuperTree with Reliability Indices) 是 2009 年发表的一种新的超树方法,相对于传统方法,它集成了分支支持分析 (branch support analyses) 和再现性准则 (reproducibility criterion) 的优点,有助于证实最可信的系统发育假说^[12]。

单子叶系统发育研究中,依据不断增加的分子证据,将早期分类系统中庞杂的广义百合科拆分成多个自然分类群。根据被子植物最新的分类系统 APG III^[3],百合目范围较以前大大缩小了,与 Dahlgren 分类系统^[13]定义的范围最为接近,但将后者中的兰科和鸢尾科移出百合目,归入新建的天门冬目^[3,14,15]。百合目共包括 10 个科:六出花科 Alstroemeraceae、金梅草科 Campynemataceae、秋水仙科 Colchicaceae、白玉簪科 Corsiaceae、百合科 Li-

liaceae、黑药花科 Melanthiaceae、刺藤科 Petermanniaceae、垂花科 Philesiaceae、菝葜藤科 Ripogonaceae 和菝葜科 Smilacaceae。多项研究证实上述各科均为可靠的单系类群,但科间关系至今仍未阐明^[16,17]。迄今为止,百合目多基因分析策略均采用超级矩阵法,而超树分析方法却未见使用。采用更多的序列和类群,以及使用新的多基因分析策略,将有助于揭示百合目的科间系统关系。本文尝试使用 SuperTRI 这一新的超树分析方法,利用叶绿体、线粒体和核基因组共九个基因片段,对百合目主要类群的系统发育关系进行重建。一方面评价该方法的优缺点,另一方面尝试使用不同的多基因分析策略进一步挖掘其中蕴含的系统发育信息,帮助探讨百合目科间的系统发育关系。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究包括了百合目 (Liliales) 10 个科 46 个属共计 68 个物种,类群的选择参考 Vinnersten 等^[18]和 Fay 等^[16]的研究,涵盖了百合目的所有主要分类群。筛选出的 9 个片段序列 (*rbcl*, *matK*, *ndhF*, *rpl16*, *atpA*, *atpB*, *trnL-trnF* 和 *atpB-rbcl* 间隔区以及 ITS 基因) 全部从 GenBank 中检索得到。参考上述研究,选择 *Borya septentrionalis* F. Muell.、*Astelia alpina* R. Br.、*Blandfordia punicea* (Labill.) Sweet 和 *Lanaria lanata* Druce 作为外类群,数据来源同上。

1.2 数据分析

使用 Clustal X 1.83^[19]将收集的序列数据进行联配,并人工检查联配结果。运用 PAUP* version 4.0b10^[20]软件对各基因分别进行最大简约分析。设置所有性状是无序的,不明性状用“gap”表示,缺失的信息用“?”表示;采用启发式 (heuristic) 方法搜索树,起始树由逐步加入法 (stepwise addition) 获得,序列添加方式选用简单式 (Simple),每次添加 1 个序列,分支交换算法选用树二等分再连接 (TBR) 法;进行 1000 次重复抽样的自举检验,计算自展率,构建所有单基因的最大简约性 (MP) 系统发育树。随后,利用 SuperTRI 软件提供的脚本^[12]

将每个基因单独分析时获得的 bipartitions 结果转换成表征矩阵。再次运行 PAUP* v4. 0b10^[20], 利用生成的 MRP 矩阵构建最大简约树。通过 SuperTRI 脚本计算超级树上节点的平均分支自展率 MBP 和再现性指数 REP, 再加上超级树的自展率 SBP, 最终获得拥有 3 个评估值 (MBP, SBP, REP) 的 SuperTRI tree。Supermatrix tree 的构建方法同单基因分析构建最大简约树的方法相同。运用 TOPD/FMTSV3. 3^[21] 中的 “Split” 计算方法, 比较了 Supermatrix tree 和 SuperTRI tree 拓扑结构的异同。

2 结果

通过文献整理和 NCBI 数据库的检索, 共筛选出 9 个片段序列用于本研究, 包括叶绿体片段 7 个 (*rbcl*、*matK*、*ndhF*、*rpl16*、*atpB*、*trnL-trnF*、*atpB-rbcl*)、核基因 1 个 (ITS) 和线粒体基因 1 个 (*atpA*)。18S 和 26S 等序列也曾被用于单子叶系统发育研究^[14,22,23], 但由于在百合目内可用数据太少而未能采用 (<10 条)。本研究共采集到 274 条序列, 数据合并后总长达到 12351 bp。系统发育分析中获得树长 (tree length)、一致性指数 (consistency index, CI)、存留指数 (retention index, RI) 等详见表 1。SuperTRI 方法中, 经启发式搜索后获得 670 个同等最大简约树, 树长为 712 (CI = 0. 6264, RI = 0. 8702), 最后生成的严格一致性简约树 (Su-

perTRI tree) 见图 1。本研究同时也构建了超矩阵树 (Supermatrix tree), 并用统计方法比较了其于超树 (SuperTRI tree) 的异同, 结果显示它们之间拓扑结构无显著性差异 (Split Distance = 0. 26, Split Distance random = 99%)。SuperTRI 系统树的节点支持值低于超矩阵树, 获中等强度以上支持的节点数仅占总节点数的 43% (SBP), 而在超矩阵树上达到 65% (自展值 BP)。

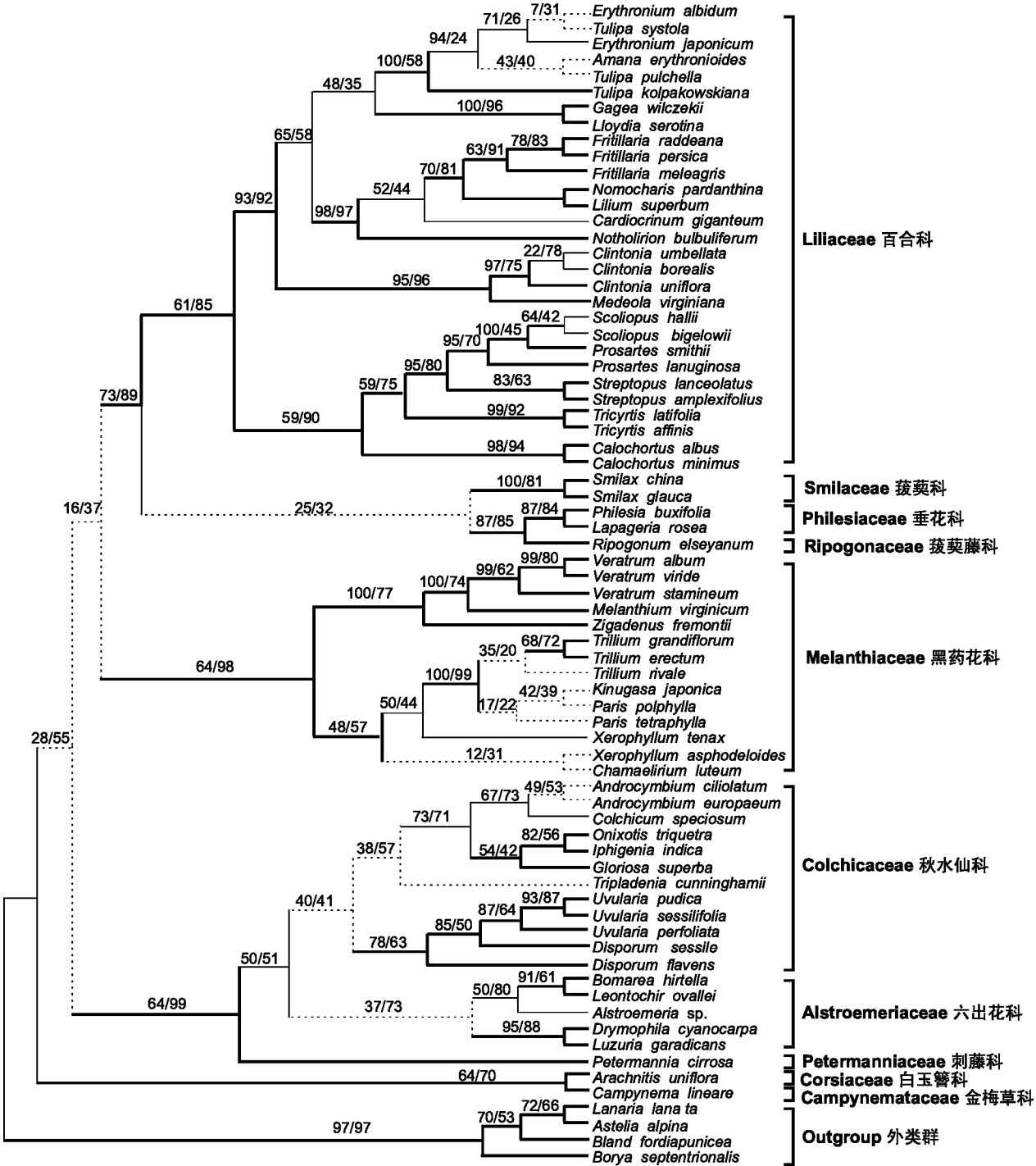
在 SuperTRI 方法生成的严格一致性树上, 金梅草科和白玉簪科位于百合目最基部, 并互为姐妹群。该分支得到了再显性指数的高度支持 (REP > 2/3), 但自展支持率偏低。除金梅草科和白玉簪科外, 百合目剩余所有类群为一单系类群, 但支持率不高。秋水仙科、六出花科和刺藤科依次组成姐妹群并共同组成单系类群, 并被再显性指数和自展值高度支持。再现性指数和自展值均高度支持黑药花科是单系类群, 余下的百合科、菝葜科、垂花科和菝葜藤科等 4 个科, 共同组成一个被强烈支持的单系类群, 其与黑药花科呈弱支持的姐妹群关系。垂花科和菝葜藤科姐妹群关系得到再现性指数和自展支持值的高度支持, 它们和菝葜科组成姐妹群, 但未获统计支持。百合科为一单系类群, 得到再现性指数高度支持。

3 讨论

在超树策略中, 由 Baum^[24] 和 Ragan^[25] 分别

表 1 各数据集信息及相关分析中获得的统计学参数
Table 1 Statistical information related to the various datasets and analyses

片段名 Data set	片段长度 (bp) Data quantity	变异位点个数 Variable position num.	简约信息位点数 Parsimony-informative position num.	最优树数 Best tree num.	树长 Length	一致性指数 Consistency index (CI)	存留指数 Retention index (RI)
<i>rbcl</i>	1431	425	289	969	1046	0. 5096	0. 7649
<i>matK</i>	2023	1011	681	2004	2014	0. 7026	0. 8345
<i>ndhF</i>	2141	895	587	2076	2212	0. 5502	0. 7221
<i>atpB-rbcl</i>	949	455	272	966	915	0. 7464	0. 7373
<i>rpl16</i>	904	724	561	1231	1179	0. 8880	0. 9549
<i>trnL-F</i>	1343	927	620	1804	1838	0. 7481	0. 8366
<i>atpA</i>	1266	108	32	158	148	0. 8243	0. 5000
<i>atpB</i>	1311	275	183	534	578	0. 5986	0. 7174
ITS	680	487	416	1199	1302	0. 6682	0. 8161
Supermatrix	12351	4906	3413	11385	11546	0. 6628	0. 7980
SuperTRI	466 MRP pseudo-characters	466	466	670	712	0. 6264	0. 8702



分支上的两个数值分别表示平均分支自展率 MBP(左)和超级树的自展率 SBP(右);根据再现性指数(REP)将分支用3种线条图示:(1)粗线表示此节点至少被6个数据集支持($REP \geq 0.67$);(2)细线表示支持此节点的数据集数量为3~6个($0.33 < REP < 0.67$);(3)虚线表示支持该节点的数据集数量为3个或3个以下($REP \leq 0.33$)。

The two values indicated above the branches are the Supertree Bootstrap Percentage (MBP) followed by the Mean Bootstrap Percentage (SBP). Using the Reproducibility index (REP), three categories of nodes were defined in the Supertree; (1) nodes supported by at least six independent data sets ($REP \geq 0.67$) are indicated by thick lines; (2) nodes supported by three-six independent data sets ($0.33 < REP < 0.67$) are indicated by thin lines; and (3) unreliable nodes, i. e., with $REP \leq 0.33$ are indicated by dotted lines.

图1 百合目9个片段数据集分别进行最大简约法 bootstrap 分析后,用 SuperTRI 方法构建的严格一致性树(SuperTRI tree)

Fig. 1 The SuperTRI tree was constructed from the bootstrap analyses of nine independent data sets with the SuperTRI method

独立提出的 MRP 方法是普遍使用的优化标准。新发表的 SuperTRI 方法^[12]改进了 MRP 优化标准,通过对单个矩阵编码过程和赋值形式的修改,使它可以对各子树上分支支持率做加权处理。并对系统树最终的呈现方式做了修改,同时用 3 种统计评估值展现出各分支的可靠性。Ropiquet 等^[12]的模拟研究表明,SuperTRI 方法中再现性指数(Rep)是评估系统树可信程度的最佳统计值,与平均分支自展率(MBP)有明显的相关性,而与超级树的自展率(SBP)不相关,后者反映的仅是节点稳固性。本研究结果支持这一看法,也发现再现性指数(Rep)与平均分支自展率(MBP)呈正相关。共计有 42 个分支得到了高再现性指数支持($Rep > 2/3$),其平均 MBP 值为 84%;有 11 个分支为中度再现性指数支持($1/3 < Rep < 2/3$),其平均 MBP 值为 55%;有 10 个低再现性指数支持($Rep < 1/3$)的分支,其平均 MBP 值仅为 31%。高再现性指数可以理解为多数基因都支持的系统发育关系,在系统树上用加粗线条表示,直观显示其系统发育关系较为可信。

通常认为,采用较多的序列片段将带来更多的系统发育信息,能提高支持率和分辨率;增加类群数量,可减少长枝吸引,有助于正确重建系统发育关系。常用的超矩阵法对数据的完整性要求较高,而不同研究者常采用不同的类群和片段,使合并这些数据非常困难。超树法对数据缺失不敏感,有助于合并不同来源的数据^[11]。本研究尽可能整合了百合目更多的类群和序列,但矩阵中数据缺失严重,适合用超树法分析。百合目的系统位置基本明晰,Chase 等^[16]用 3 个基因组的 7 个片段重建了整个单子叶系统发育关系,显示出百合目与天门冬目 + 鸭跖草类组成姐妹群关系(77% BS)。李晓贤和周浙昆^[22]用 2 个叶绿体片段重建的单子叶高阶系统树也揭示了同样的系统位置。Fay 等^[16]用叶绿体和线粒体上的 6 个片段研究了百合目内的系统发育关系,首次将白玉簪科(*Arachnitis* 属)纳入百合目,该科植物十分稀有,为腐生异养,我国仅有一属一种^[26],是百合目内新增类群^[3,16]。上述研究中,建

树策略都采用超矩阵法,在百合目内 Fay 等^[16]的研究取样类群和片段最多,可作为超矩阵法的代表与本文分析的结果进行比较,以分析超树法的效能。本研究使用的类群数量是 Fay 等^[16]的两倍,序列更长(共计 9 个序列片段,合计长度达到 12351 bp),尽管数据缺失高达 57%,SuperTRI 方法依然获得了与前者大体一致的拓扑结构,表明分析结果较为可信,但 SuperTRI 树提高了基部类群的分辨率,揭示出几处不同的发育关系。两者明显不同之处在于:(1) 菝葜科系统位置不同。本研究结果微弱支持菝葜科与垂花科 + 菝葜藤科组成姐妹群(25/32, MBP/SBP),与 Chase 等^[27]的结果一致,但在 Fay 等^[16]的结果中却高度支持它与百合科成姐妹群关系(94%, BS)。(2) 黑药花科的系统位置不同。广义黑药花科(包括了延龄草科 Trilliaceae)是被高度支持的单系类群^[16,28]。本研究中黑药花科与百合科 + 菝葜科 + 垂花科 + 菝葜藤科呈姐妹群关系,而在 Fay 等^[16]的研究结果中,黑药花科更靠近百合目基部。黑药花科的确切系统位置还有待进一步研究,因为不同研究中该科的系统位置常变动,且始终缺乏强支持。(3) 金梅草科与白玉簪科的系统发育关系不同。Fay 等^[16]的研究表明这两个科都位于百合目的最基部,但在最终的两棵同等最大简约树上系统位置相互矛盾。作者观察到其中一棵树上金梅草科与白玉簪科为姐妹群关系,但无法确认。本研究结果也支持金梅草科与白玉簪科位于百合目的最基部,并强烈支持其姐妹群关系。

超树方法是构建大系统树的有效方法,可以处理不同类型的数据,而且由于拓扑结构得以保留,因而受缺失数据的影响小^[11]。本研究在缺失数据达到 57% 的情况下,利用 SuperTRI 方法对百合目的系统发育进行重建,仍然得到了较为理想的结果,并确认了百合目基部类群金梅草科与白玉簪科的姐妹群关系,表明该方法是一种有效的系统发育分析方法。SuperTRI 方法采用了多种统计方法评估分支的可靠性,较为直观地显示了系统树各分支的可靠性,但是与超矩阵方法相比,其统计支持值普遍偏

低,或许是受数据严重缺失的影响。百合目的部分科间演化关系仍未能解决,尚需更多的分子数据进一步分析,但多基因片段可能会展现不同的分支式样甚至严重的分歧,导致基因树与物种数的冲突^[29,30],SuperTRI方法中的再显性指数有助于在冲突中发现可信的系统发育关系。该方法易于整合不同性质来源的数据,对数据缺失不敏感,有利于同时分析更多的类群,可用于构建覆盖度高的大系统树乃至生命之树。

参考文献:

- [1] Chase M W, Soltis D E, Olmstead R G. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL* [J]. *Ann Missouri Bot Gard*, 1993, 80: 528–580.
- [2] The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II [J]. *Bot J Linn Soc*, 2003, 141: 399–436.
- [3] Angiosperm Phylogeny Group III. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III [J]. *Bot J Linn Soc*, 2009, 161: 105–21.
- [4] Qiu Y L, Lee J, Bernasconi-Quadroni F, Soltis D F, Soltis P S, Zanis M, Zimmer E A, Chen Z D, Savolainen V, Chase M W. The earliest angiosperms: Evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes [J]. *Nature*, 1999, 402: 404–407.
- [5] Philippe H, Lopez P, Brinkmann H, Budin K, Germot A, Laurent J, Moreira D, Muller M, Guyader H L. Early-branching or fast-evolving eukaryotes? An answer based on slowly evolving positions [J]. *Proc R Soc Lond B*, 2000, 267: 1213–1221.
- [6] Delsuc F, Brinkmann H, Philippe H. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life [J]. *Nat Rev Genet*, 2005, 6: 361–375.
- [7] Kluge A G. A concern for evidence and a phylogenetic hypothesis of relationships among Epicrates (Boidae, Serpentes) [J]. *Syst Zoology*, 1989, 38 (1): 7–25.
- [8] Miyamoto M M, Fitch W M. Testing the covarion hypothesis of molecular evolution [J]. *Mol Biol Evol*, 1995, 12(3): 503.
- [9] 邹新慧,葛颂. 基因树冲突与系统发育基因组学研究 [J]. *植物分类学报*, 2008, 46(6): 795–807.
- [10] Rannala B, Yang Z. Phylogenetic inference using whole genomes [J]. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 2008, 9: 217–231.
- [11] 吴良,宋明华,欧阳华. 整合系统发育信息: 概念,方法与挑战 [J]. *遗传*, 2009, 7: 689–697.
- [12] Ropiquet A, Li B, Hassanin A. SuperTRI: A new approach based on branch support analyses of multiple independent data sets for assessing reliability of phylogenetic inferences [J]. *CR Biol*, 2009, 332: 832–847.
- [13] Dahlgren R M T, Clifford H T, Yeo P F. The families of the monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1985: 231–233.
- [14] Chase M W, Stevenson D W, Wilkin P, Rudall P J. Monocot systematics: a combined analysis [C]// Rudall P J, Cribb P J, Cutler D F, Humphries C J, eds. *Monocotyledons: Systematics and Evolution*. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995: 685–730.
- [15] Chase M W, Soltis D E, Soltis P S, Rudall P J, Fay M F, Hahn W H, Sullivan S, Joseph J, Molvray M, Kores P J, Givnish T J, Sytsma K J, Pires J C. Higher-level systematics of the monocotyledons: an assessment of current knowledge and a new classification [C]// Wilson K L, Morrison D A, eds. *Monocots: Systematics and Evolution*. Melbourne: CSIRO, 2000: 3–16.
- [16] Fay M F, Chase M W, Ronsted N, Pillon Y, Piers J C, Petersen G, Seberg O, Davis J I. Phylogenetics of Liliales: Summarized evidence from combined analyses of five plastid and one mitochondrial loci [J]. *Aliso*, 2006, 22: 559–565.
- [17] Ronsted N, Law S, Thornton H, Fay M F, Chase M W. Molecular phylogenetic evidence for the monophyly of *Fritillaria* and *Lilium* (Liliaceae; Liliales) and the infrageneric classification of *Fritillaria* [J]. *Mol Phylogenetic Evol*, 2005, 35: 509–527.
- [18] Vinnersten A, Bremer K. Age and biogeography of major clades in Liliales [J]. *Am J Bot*, 2001, 88 (9): 1695–1703.
- [19] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. The Clustal-X windows inter-

- face: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. *Nucl Acids Res*, 1997, 25(24): 4876–4882.
- [20] Swofford D L. PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 4.0 b10. [CP]. 2003.
- [21] Puigbò P, Garcia-Vallvé S, McInerney J O. TOPD/FMTS: A new software to compare phylogenetic trees[J]. *Bioinformatics*, 2007, 23(12): 1556–1558.
- [22] 李晓贤, 周渐昆. 单子叶植物高级分类阶元系统演化: *matK*, *rbcL* 和 18S rDNA 序列的证据[J]. *植物分类学报*, 2007, 45(2): 113–133.
- [23] Chase M W, Fay M F, Savolainen V. Higher-level classification in the angiosperms: new insights from the perspective of DNA sequence data[J]. *Taxon*, 2000, 49(4): 685–704.
- [24] Baum B R. Combining trees as a way of combining data sets for phylogenetic inference, and the desirability of combining gene trees[J]. *Taxon*, 1992, 41(1): 3–10.
- [25] Ragan M A. Phylogenetic inference based on matrix representation of trees[J]. *Mol Phylogenetic Evol*, 1992, 1(1): 53–58.
- [26] 张奠湘. 水玉簪属系统发育重建的初步研究[J]. *植物分类学报*, 2001, 39(3): 203–223.
- [27] Chase M W, Fay M F, Devey D S. Multigene analyses of monocot relationships: A summary[J]. *Aliso*, 2006, 22: 63–75.
- [28] Zomlefer W B, Williams N H, Whitten W M, Judd W S. Generic circumscription and relationships in the tribe Melanthieae (Liliales, Melanthiaceae), with emphasis on *Zigadenus*: Evidence from ITS and *trnL*–F sequence data[J]. *Am J Bot*, 2001, 88: 1657–1669.
- [29] Richards T A, Hirt R P, Williams B A P, Embley T M. Horizontal gene transfer from flowering plants to *Gnetum*[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 154: 17–32.
- [30] Bergthorsson U, Richardson A O, Young G J, Goertzen L R, Palmer J D. Massive horizontal transfer of mitochondrial genes from diverse land plant donors to the basal angiosperm *Amborella*[J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2004, 101: 17747–17752.

(责任编辑: 王豫鄂)