

浙江广义乌菟莓属植物的分类研究

谢文远^{1,2}, 鲁益飞³, 陈征海², 金孝锋¹

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院 浙江省森林芳香植物康养功能研究重点实验室, 浙江 杭州 311300;
2. 浙江省森林资源监测中心, 浙江 杭州 310020; 3. 浙江大学 生命科学学院, 浙江 杭州 310058)

摘要: 【目的】分子系统学引发了广义乌菟莓属 *Cayratia* s.l. (葡萄科 Vitaceae) 的界定的一系列争议。以浙江广义乌菟莓属植物为对象, 采用多种不同证据进行综合分类研究。【方法】比较了种子形态、茎叶毛被特征, 结合 *atpB-rbcL*、*trnC-petN*、*trnH-psbA* 和 *trnL-F* 等 4 个叶绿体基因片段的系统发育关系分析, 探讨浙江广义乌菟莓属的分类问题。【结果】浙江广义乌菟莓属植物的茎、叶毛被有所不同, 毛被类型 (无毛、短柔毛和多节长柔毛) 和疏密程度在种间有差异。乌菟莓属 *Causonis* Raf. 植物和拟乌菟莓属 *Pseudocayratia* J. Wen, L. M. Lu & Z. D. Chen 植物种子胚乳横切面形态和背腹面洼穴形态有很大差异。前者种子胚乳横切 M 形, 腹面洼穴倒狭卵形或倒狭卵状椭圆形, 深凹; 后者种子胚乳横切 T 型, 腹面洼穴椭圆形, 浅凹。基于 4 个叶绿体基因片段的系统发育树支持将浙江广义乌菟莓属明显分为乌菟莓属和拟乌菟莓属 2 个属。【结论】基于形态和系统发育关系研究, 将薄叶乌菟莓 *Cayratia tenuifolia* (Wight et Arn.) Gagnep. 和尖叶乌菟莓 *C. japonica* var. *pseudotrifolia* (W. T. Wang) C. L. Li 作为乌菟莓 *C. japonica* (Thunb.) Gagnep. 的亚种, 将白毛拟乌菟莓 *Pseudocayratia pengiana* Hsu et J. Wen 作为美丽拟乌菟莓 *P. speciosa* J. Wen et L. M. Lu 的亚种处理。图 3 表 3 参 16

关键词: 广义乌菟莓属; 浙江; 系统发育; 分类处理

中图分类号: Q949 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2022)06-1212-09

Taxonomic study of *Cayratia* s.l. from Zhejiang, China

XIE Wenyuan^{1,2}, LU Yifei³, CHEN Zhenghai², JIN Xiaofeng¹

(1. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Forest Aromatic Plants-based Healthcare Functions, College of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 2. Monitoring Centre for Forest Resources in Zhejiang, Hangzhou 310020, Zhejiang, China; 3. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] Molecular systematics have aroused a series of disputes on the classification of *Cayratia* s.l. (Vitaceae). Taking the species of *Cayratia* s.l. from Zhejiang Province as the research object, the present study aims to conduct a comprehensive classification research based on different evidences. [Method] The seed morphology and characteristics of stem and leaf indumentum were compared. Based on the phylogenetic analysis of four chloroplast gene fragments such as *atpB-rbcL*, *trnC-petN*, *trnH-psbA* and *trnL-F*, the classification of *Cayratia* s.l. from Zhejiang Province was discussed. [Result] The stem and leaf indumentum of *Cayratia* s.l. were different, and the type (glabrous, pubescent or multicellular-pilose) and density of the indumentum were different among species. There existed significant difference in the cross-sectional morphology and dorsal ventral infold morphology of endosperm between *Causonis* (M-shape in cross section, and ventral infolds narrowly obovate or obovate-elliptic, deeply concave) and *Pseudocayratia* (T-shape in cross

收稿日期: 2021-11-18; 修回日期: 2022-05-09

基金项目: 浙江省野生植物资源调查、建档、编纂及《浙江植物志》(第 2 版) 编著专项 (335010-2015-0005)

作者简介: 谢文远 (ORCID: 0000-0003-1529-0787), 高级工程师, 从事植物分类和植物资源保护研究。E-mail: 385812313@qq.com。通信作者: 金孝锋 (ORCID: 0000-0002-8195-6738), 教授, 博士, 从事植物分类和系统进化研究。E-mail: docxfjin@163.com

section, and ventral infolds elliptic, shallowly concave). The phylogenetic tree supported the evidence that *Cayratia* s.l. in Zhejiang could be clearly divided into two genera: *Causonis* and *Pseudocayratia*. [Conclusion] *Cayratia tenuifolia* and *C. japonica* var. *pseudotrifolia* are treated as subspecies of *C. japonica*, and *Pseudocayratia pengiana* is treated as a subspecies of *P. speciosa*. [Ch, 3 fig. 3 tab. 16 ref.]

Key words: *Cayratia* s.l.; Zhejiang; phylogeny; taxonomic treatment

广义乌莓属 *Cayratia* s.l. 隶属于葡萄科 Vitaceae, 全世界约 60 余种, 分布于亚洲、非洲和大洋洲。该属为草质藤本, 有时木质化; 叶为鸟足状 5 小叶, 或 3 小叶; 复二歧聚伞花序或伞房状多歧聚伞花序, 腋生或假腋生; 花 4 数; 花瓣展开, 各自分离脱落; 花盘发达; 柱头不裂; 果为浆果^[1]。中国记载有 17 种, 南北各地均有分布, 以西南地区种类最为丰富^[2]。

王文采^[3]在对中国葡萄科系统整理时, 记载了浙江产 2 种: 乌莓 *Cayratia japonica* (Thunb.) Gagnep. 和大叶乌莓 *C. oligocarpa* Gagnep. [包括变种樱叶乌莓 *C. oligocarpa* var. *glabra* (Gagnep.) Rehder]。《浙江植物志》第 4 卷^[4]作了同样的记述。丁炳扬等^[5]报道了车索藤 *C. japonica* var. *pubifolia* Merr. et Chun 在浙江 (庆元) 的新分布。李朝銮^[6]研究了 *C. oligocarpa* 的模式标本, 发现其茎、叶柄、叶背面及花序梗上均被褐色节状长柔毛, 与中国以往被鉴定为 *C. oligocarpa* 的大多数标本差异很大, 遂将这类密被灰白色短柔毛的命名为白毛乌莓 *C. albifolia* C. L. Li, 并引用了浙江龙泉的标本。《中国植物志》第 48 卷第 2 分册^[1], 除记载浙江产 *C. japonica*、*C. albifolia* 2 种外, 还有变种尖叶乌莓 *C. japonica* var. *pseudotrifolia* (W. T. Wang) C. L. Li。郑朝宗^[7]在《浙江种子植物检索鉴定手册》中记载了 *C. japonica* 及其变种 *C. japonica* var. *pseudotrifolia*、*C. albifolia* 及其变种 *C. albifolia* var. *glabra* (Gagnep.) C. L. Li、*C. oligocarpa* 等 3 种。CHEN 等^[2]在 *Flora of China* Vol. 12 中, 记载了浙江产 *C. japonica*、*C. albifolia*、*C. japonica* var. *pseudotrifolia*, 将 *C. albifolia* var. *glabra* 作为 *C. albifolia* 的异名。陈贤兴等^[8]报道了角花乌莓 *Causonis corniculata* Gagnep. 在浙江苍南的分布新记录。

近来, 对葡萄科及广义乌莓属的系统学研究表明: 被广泛接受并使用的 *Cayratia* Juss. (中文以往称乌莓属) 和崖爬藤属 *Tetrastigma* Planch.、葡萄瓮属 *Cyphostemma* (Planch.) Alston 构成单系, 但 *Cayratia* 本身并非单系^[9]。*Cayratia* 植物可以清楚地分为 4 支, 除了拟乌莓属 *Pseudocayratia* J. Wen, L. M. Lu et Z. D. Chen 接近崖爬藤属外, 还有 3 支分别是: 乌莓属 *Causonis* Raf. (约 30 种, 分布于亚洲和大洋洲)、苦莓属 *Afrocyratia* J. Wen, L. M. Lu, Rabarijaona et Z. D. Chen (7 种, 大部分产于非洲) 和大麻藤属 *Cayratia* (约 25 种, 分布于亚洲和大洋洲)^[10-12]。因此, 传统使用的 *Cayratia* 现在被认为是广义的, 其狭义的所包含的种类浙江不产。WEN 等^[11]在发表新属拟乌莓属 *Pseudocayratia* 时, 认为浙江南部叶背具灰白色短柔毛的类型 (作者引用的标本为“章绍尧 2961”号) 是新种美丽拟乌莓 *P. speciose* J. Wen et L. M. Lu, 但根据其描述, 浙江原记载的 *C. albifolia* var. *glabra* 实为白毛拟乌莓 *P. pengiana* Hsu et J. Wen。在对浙江野生植物资源调查、采集和《浙江植物志 (新编)》(第 6 卷) 的编研过程中, 作者对浙江的广义乌莓属进行了文献查阅、标本采集、整理鉴定, 同时结合茎叶毛被特征、种子形态和系统发育关系 (*atpB-rbcL*, *trnC-petN*, *trnH-psbA* 和 *trnL-F*) 分析, 除先期描述发表了 3 个新种外^[13], 现将主要研究结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

用于茎、叶毛被特征观察的 9 种 9 个样品和种子形态观察的 6 种 6 个样品取自野外采集的标本。样品的凭证标本信息见表 1。DNA 材料均取自野外采集经硅胶干燥的叶片, 凭证标本保存于杭州师范大学植物标本馆 (HTC) 和浙江自然博物院植物标本馆 (ZM); 部分用于系统发育分析的序列下载自 GenBank (表 2), 系统发育分析共涉及 61 种 (包括种下等级) 73 样品 (其中外类群 4 种 4 样品)。

1.2 方法

1.2.1 茎、叶毛被观察 茎、叶毛被特征用扫描电镜观察。9 种共 9 个样品材料取自采集的腊叶标本, 在标本上取下健康成熟的茎段约 5 mm 长, 叶片材料剪取叶片中部, 大小约 0.5 cm×0.5 cm。将所取的

表1 材料来源

Table 1 Source of materials

物种	产地	凭证标本
角花乌莓 <i>Causonis corniculata</i> *	浙江苍南(Cangnan of Zhejiang)	谢文远(W. Y. Xie) CN18071806(HTC)
乌莓 <i>C. japonica</i> *	浙江杭州(Hangzhou of Zhejiang)	陈征海(Z. H. Chen) HZ18062501(HTC)
山地乌莓 <i>C. montana</i> *	浙江景宁(Jingning of Zhejiang)	陈征海, 等(Z. H. Chen, et al.) JN18062003(HTC)
文采乌莓 <i>C. wentsiana</i> *	浙江文成(Wencheng of Zhejiang)	陈征海, 等(Z. H. Chen, et al.) WC17061004(ZM)
尖叶乌莓 <i>C. pseudotrifolia</i>	浙江湖州(Huzhou of Zhejiang)	陈煜初(Y. C. Chen) 无号 (HTC)
薄叶乌莓 <i>Cayratia tenuifolia</i>	浙江乐清(Yueqing of Zhejiang)	陈征海, 等(Z. H. Chen, et al.) LQ001(HTC)
华东拟乌莓 <i>Pseudocayratia orientalisinensis</i> *	浙江临安(Lin'an of Zhejiang)	陈征海, 等(Z. H. Chen, et al.) LA17061817(HTC)
白毛拟乌莓 <i>P. pengiana</i>	浙江龙泉(Longquan of Zhejiang)	金孝锋, 等(X. F. Jin, et al.) 4208 (HTC)
美丽拟乌莓 <i>P. speciosa</i> *	浙江天台(Tiantai of Zhejiang)	陈征海, 等(Z. H. Chen, et al.) TT18060901 (HTC)

说明: 带*为同时用于种子形态观察的材料; HTC为杭州师范大学植物标本馆代码缩写, ZM为浙江自然博物院植物标本馆代码缩写

表2 用于系统发育树构建的材料及各个基因的 GenBank 序列号

Table 2 Species and their Genbank accession numbers of DNA sequences used in the phylogenetic study

物种学名	<i>atpB-rbcL</i>	<i>trnC-petN</i>	<i>trnH-psbA</i>	<i>trnL-F</i>
<i>Afrocyratia debilis</i> (Baker) J. Wen & L. M. Lu	KC166301	JF437189	JF437075	JF437295
<i>Afrocyratia delicatula</i> (Desc.) J. Wen & Z. D. Chen	MT995939	MT995982	MT995964	MT995992
<i>Afrocyratia gracilis</i> (Guill. & Perr.) J. Wen & Z. D. Chen	KC166306	KC166483	KC166559	KC166632
<i>Afrocyratia merinensis</i> (Baker) J. Wen & L. M. Lu	HM585520	JX476669	HM585663	HM585936
<i>Afrocyratia longiflora</i> (Desc.) J. Wen & Rabarijaona	KC166307	KC166484	KC166560	KC166633
<i>Afrocyratia triternata</i> (Baker) J. Wen & Rabarijaona	KC166324	KC166501	KC166575	KC166644
<i>Causonis corniculata</i> (Benth.) J. Wen & L. M. Lu	MT104033	MT104056	MT104079	MT104102
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. [Wen 12103]	KC166311	KC166487	KC166563	KC166636
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. [Wen 8537]	KC166313	KC166488	KC166564	KC166637
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. [Nie & Meng 453]	KC166308	KC166485	KC166561	KC166634
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. [Wen 12110]	KC166309	KC166486	KC166562	KC166635
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. [Wen 9262]	KC166310	JF437197	JF437083	JF437300
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. 1 [Z. H. Chen & al. XJ18060201]	MT104049	MT104072	MT104095	MT104118
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. 2 [Z. H. Chen & al. XJ18060202]	MT104050	MT104073	MT104096	MT104119
<i>Causonis japonica</i> (Thunb.) Raf. 3 [Z. H. Chen HZ18062501]	MT104051	MT104074	MT104097	MT104120
<i>Causonis montana</i> Z. H. Chen, Y. F. Lu & X. F. Jin	MT104029	MT104052	MT104075	MT104098
<i>Causonis trifolia</i> (L.) Raf.	KC166323	KC166500	KC166574	AB235007
<i>Causonis wentsiana</i> Z. H. Chen, F. Chen & X. F. Jin	MT104039	MT104062	MT104085	MT104108
<i>Cayratia acris</i> (F. Muell.) Domin	KT344149	KT344499	KT344234	KT344410
<i>Cayratia albifolia</i> C. L. Li var. <i>glabra</i> (Gagnep.) C. L. Li	KC166294	KC166472	KC166549	KC166622
<i>Cayratia cardiophylla</i> Jackes	KC428766	KC428790	KC428809	KC428824
<i>Cayratia cheniana</i> L. M. Lu & J. Wen	KU167491	KU167493	KU167494	KU167495
<i>Cayratia ciliifera</i> (Merr.) Chun	KC166296	KC166474	KC166551	KC166624
<i>Causonis clematidea</i> (F. Muell.) Jackes	KC166297	KC166475	KC166552	KC166625
<i>Cayratia cordifolia</i> C. Y. Wu ex C. L. Li	HM585518	JX476668	HM585661	HM585934
<i>Cayratia emarginata</i> Trias-Blasi & J. Parn.	HQ214187	-	-	HQ214229
<i>Cayratia geniculata</i> (Blume) Gagnep.	HM585519	KC166480	HM585662	HM585935
<i>Cayratia grandifolia</i> (Warb.) Merr. & L. M. Perry	-	KC428796	KC428815	KX951227
<i>Cayratia lineata</i> (Warb.) Merr. & L. M. Perry	-	KC428791	KC428810	KX951228
<i>Cayratia maritima</i> (Jackes) Jackes	JQ182482	-	JQ182533	JQ182576

表 2 (续)

Table 2 Continued

物种学名	<i>atpB-rbcL</i>	<i>trnC-petN</i>	<i>trnH-psbA</i>	<i>trnL-F</i>
<i>Cayratia melananthera</i> Gagnep.	KC166316	KC166491	KC166566	KC166639
<i>Cayratia mollissima</i> (Wall.) Gagnep.	HM585522	JX476671	HM585665	AB235003
<i>Cayratia oligocarpa</i> (H. Lév. & Vaniot) Gagnep.	KC166319	KC166494	KC166569	KC166642
<i>Cayratia pedata</i> (Lam.) Gagnep.	KC166321	KC166497	KC166572	AB235005
<i>Cayratia pseudotrifolia</i> W. T. Wang [Y. C. Chen s. n.]	MT104046	MT104069	MT104092	MT104115
<i>Cayratia pseudotrifolia</i> W. T. Wang [Wen 8085]	AB234920	KC166498	KC166573	AB235006
<i>Cayratia tenuifolia</i> Wright & Arn. 1 [Z. H. Chen & L. Chen LQ001]	MT104043	MT104066	MT104089	MT104112
<i>Cayratia tenuifolia</i> Wright & Arn. 2 [Z. H. Chen & L. Chen LQ002]	MT104044	MT104067	MT104090	MT104113
<i>Cayratia tenuifolia</i> Wright & Arn. 3 [Z.H. Chen & L. Chen LQ003]	MT104045	MT104068	MT104091	MT104114
<i>Cayratia wrayi</i> (King) Gagnep.	KC166326	KC166504	JQ182497	JQ182544
<i>Cyphostemma bainesii</i> (Hook.) Desc.	AB234922	KC166506	KC166579	AB235025
<i>Cyphostemma buchananii</i> (Planch.) Desc. ex Wild & R.B. Drumm.	KC166329	KX925943	KC166580	KC166648
<i>Cyphostemma cyphopetalum</i> (Fresen.) Desc. ex Wild & R.B. Drumm.	KC166330	KC166507	KC166581	KC166649
<i>Cyphostemma dehongense</i> L. M. Lu & V. C. Dang	KY660246	KY660236	KY660241	KY660251
<i>Pseudocayratia orientalisinensis</i> Z. H. Chen, W. Y. Xie & X. F. Jin	MT104037	MT104060	MT104083	MT104106
<i>Pseudocayratia pengiana</i> Hsu & J. Wen [X. F. Jin & Y. F. Lu 4208-1]	MT104042	MT104065	MT104088	MT104111
<i>Pseudocayratia pengiana</i> Hsu & J. Wen [Huang 458]	MH253932	MH253934	MH253935	MH253936
<i>Pseudocayratia speciosa</i> J. Wen & L. M. Lu [Wen 11412]	KC166376	KC166541	KC166615	KC166681
<i>Pseudocayratia speciosa</i> J. Wen & L. M. Lu [Z. H. Chen & al. XJ18600204]	MT104031	MT104054	MT104077	MT104100
<i>Pseudocayratia yoshimurae</i> (Makino) J. Wen & V. C. Dang	MH253937	MH253939	MH253940	MH253941
<i>Tetrastigma bioritsense</i> (Hayata) Hsu & Kuoh	HM585548	JF437252	JF437140	HM585964
<i>Tetrastigma campylocarpum</i> (Kurz) Planch.	HM585550	KX925955	HM585690	HM585966
<i>Tetrastigma ceratopetalum</i> C. Y. Wu	HM585557	KC166538	HM585697	HM585973
<i>Tetrastigma</i> cf. <i>tuberculatum</i> (Blume) Latiff	HM585559	KX925971	HM585699	HM585975
<i>Tetrastigma curtisii</i> (Ridl.) Suess.	HM585563	—	HM585703	HM585979
<i>Tetrastigma</i> cf. <i>delavayi</i> Gagnep.	AB234932	KC166539	HM585705	AB235050
<i>Tetrastigma diepenhorstii</i> (Miq.) Latiff	HM585567	—	HM585707	HM585983
<i>Tetrastigma ellipticum</i> Merr.	HM585569	—	HM585709	HM585985
<i>Tetrastigma hemsleyanum</i> Diels & Gilg	HM585584	JF437255	JF437143	HM586000
<i>Tetrastigma jinghongense</i> C. L. Li	HM585590	JF437256	JF437144	HM586006
<i>Tetrastigma lanyuense</i> C. E. Chang	HM585593	JF437257	JF437145	HM586009
<i>Tetrastigma lawsoni</i> (King) Burkill	HM585599	—	HM585737	HM586015
<i>Tetrastigma laxum</i> Merr.	HM585602	—	HM585740	HM586018
<i>Tetrastigma obtectum</i> (Wall. ex M. A. Lawson) Planch. ex Franch.	HM585614	JF437266	JF437154	JF437349
<i>Tetrastigma pachyphyllum</i> (Hemsl.) Chun	HM585615	KT344516	HM585752	HM586031
<i>Tetrastigma papillosum</i> (Blume) Planch.	HM585617	—	HM585754	HM586033
<i>Tetrastigma pedunculare</i> (Wall. ex M. A. Lawson) Planch.	HM585620	KX925967	HM585757	HM586036
<i>Tetrastigma planicaule</i> (Hook. f.) Gagnep.	HM585622	KC166540	HM585759	HM586037
<i>Tetrastigma rumicispermum</i> (M. A. Lawson) Planch.	HM585626	—	HM585763	HM586041
<i>Tetrastigma serrulatum</i> (Roxb.) Planch.	HM585627	JF437261	JF437149	HM586042
<i>Tetrastigma strumarum</i> (Planch.) Gagnep.	HM585641	—	HM585778	HM586056
<i>Tetrastigma trifoliolatum</i> Merr.	HM585643	—	HM585780	HM586058
<i>Tetrastigma triphyllum</i> (Gagnep.) W. T. Wang	HM585646	JF437263	JF437151	HM586061

说明: —为美国国家生物信息中心(NCBI)中暂无此种序列

茎、叶材料直接粘贴于样品台上,置于喷金仪内抽真空后溅射式喷金 2 min,再置于 KYKY-EM 3200 扫描电镜下观察并摄像。

1.2.2 种子形态分析 观察种子形态的共有 6 种,6 个样品。在对种子样品观察时,先剥去果实外果皮、果肉,取出种子,在清水中揉搓,去除膜质层后晾干。每个种随机取出 10 粒种子,测量大小(种子长度和宽度),并在解剖镜下观察和描述种子的背面、腹面注穴形态和横切胚乳形状,逐一记录后拍照。

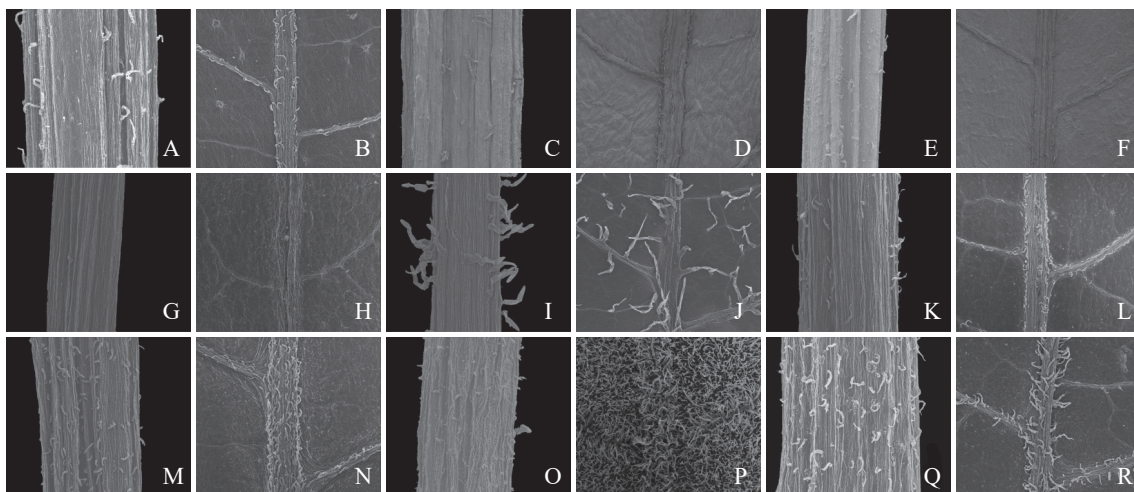
1.2.3 系统发育关系分析 DNA 提取和 PCR 扩增:取约 0.1 g 经硅胶干燥的叶片,利用 TIANGEN 的植物基因组试剂盒 (Plant Genomic DNA Kit) 提取样品总 DNA,后保存于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的冰箱中备用。选取 4 个叶绿体基因 *atpB-rbcL*、*trnC-petN*、*trnH-psbA* 和 *trnL-F* 进行系统发育分析,所用引物参考 SOEJIMA 等^[14]、CHEN 等^[15] 和 REN 等^[16]。PCR 反应体系为 25.0 μL ,其中包括 12.5 μL 2 \times Reaction Mix,上下游引物各 1.0 μL ,1.0 μL 基因组 DNA,0.3 μL Golden DNA Polymerase (TIANGEN, 中国)($2.5\times 16.67\text{ mkat}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 9.2 μL 双蒸水。PCR 反应程序为:DNA 模板 $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min, $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s 和 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min (37 个循环),最后 $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 总延伸 5 min。凝胶电泳检测扩增产物,选取条带明显、单一的样品送北京擎科生物公司双向测序。

数据分析:用 Lasergene 中的 SeqMan 对测序产物进行拼合,后在 MAFFT 中比对序列并在 BioEdit 中进行手动调整和剪切,利用 jModeltest 分别计算 4 个叶绿体基因片段的最佳核苷酸模型 (*atpB-rbcL* 和 *trnL-F* 为 GTR+I, *trnC-petN* 和 *trnH-psbA* 为 GTR+G),利用 SequenceMatrix 将 4 个片段进行拼接。系统发育分析构建了贝叶斯树和最大似然 (maximum likelihood, ML) 树,利用 Mrbayes v3.2.6 构建贝叶斯树,用 MCMC (Markov chain Monte Carlo) 算法搜索 10 000 000 代,每 1000 代取 1 次样,舍弃起始的 2 500 棵不稳定树 (burn in 为 0.25),并计算后验概率 (PP)。用门户网站 CIPRES 工具箱中的 RAxML-HPC BlackBox 构建 ML 树,其中设置 bootstraps 为 1000,核苷酸替代模型为 GTR+G+I。构建完成的系统发育树在 FigTree 中查看和编辑。

2 结果与分析

2.1 茎和叶的毛被

所观察的浙江广义乌菟莓属 9 种植物 (乌菟莓属 6 种和拟乌菟莓属 3 种) 茎和叶的毛被形态特征见图 1。茎上的毛被除了角花乌菟莓无毛,文采乌菟莓被多节长柔毛外,其他 7 种均疏被短柔毛。叶片背面的毛被,乌菟莓、薄叶乌菟莓、尖叶乌菟莓、山地乌菟莓、华东拟乌菟莓等 5 种沿中脉和侧脉疏被短柔毛,角花乌菟莓为无毛,文采乌菟莓则被多节长柔毛;美丽拟乌菟莓叶片背面仅中脉和侧脉密被伏生柔毛,而白毛拟乌菟莓叶片背面密被开展柔毛。可见,茎和叶片背面的毛被在种间存在一定的差异。



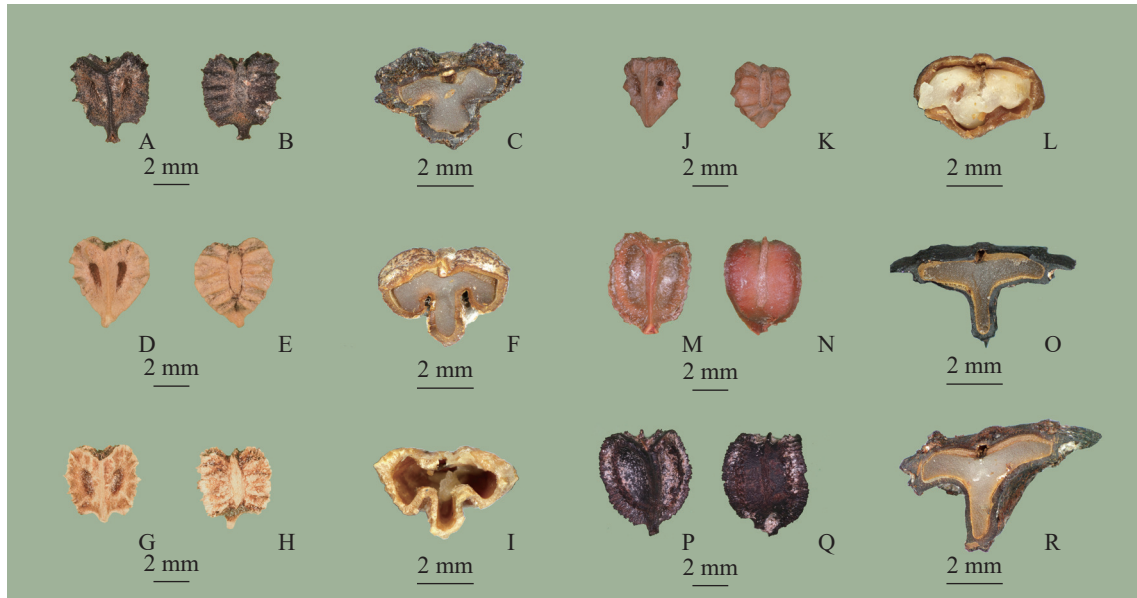
A、B 为乌菟莓; C、D 为薄叶乌菟莓; E、F 为尖叶乌菟莓; G、H 为角花乌菟莓; I、J 为文采乌菟莓; K、L 为山地乌菟莓; M、O 为美丽拟乌菟莓; P、Q 为白毛拟乌菟莓; R、S 为华东拟乌菟莓。A、C、E、G、I、K、M、O、Q 为茎的毛被形态; B、D、F、H、J、L、N、P、R 为叶的毛被形态

图 1 浙江广义乌菟莓属植物茎、叶的毛被形态

Figure 1 Indumentum of stem and leaf of *Cayratia* s.l. in Zhejiang

2.2 种子形态

浙江乌葭莓属 4 种和拟乌葭莓属 2 种植物的种子形态和横切胚乳形态特征如图 2 及表 3。所有种子背腹面外形均为宽倒卵形，大小有差异，最小的是文采乌葭莓 (3.88~4.20 mm×3.18~3.91 mm)，最大的是华东拟乌葭莓 (6.23~7.48 mm×5.30~5.94 mm)，属内 (乌葭莓属 4 种间、拟乌葭莓属 2 种间) 无显著差异，但这 2 属之间种子大小存在显著差异 ($P<0.05$)。乌葭莓属 4 种的种子背面具明显横棱纹，但数目有差异，拟乌葭莓属 2 种的种子背面无横棱纹；所有种的种子腹面具突出的中棱脊，两侧具洼穴。洼穴形状和凹陷程度在属间有差异。种子横切面乌葭莓属 4 种植物为 M 型，而拟乌葭莓属 2 种为 T 型。



A、B、C 为角花乌葭莓；D、E、F 为乌葭莓；G、H、I 为山地乌葭莓；J、K、L 为文采乌葭莓；M、N、O 为华东拟乌葭莓；P、Q、R 为美丽拟乌葭莓。A、D、G、J、M、P 为种子腹面洼穴形态；B、E、H、K、N、Q 为种子背面洼穴形态；C、F、I、L、O、R 为种子横切胚乳形态

图 2 浙江广义乌葭莓属植物的种子形态

Figure 2 Seed morphology of *Cayratia* s.l. in Zhejiang

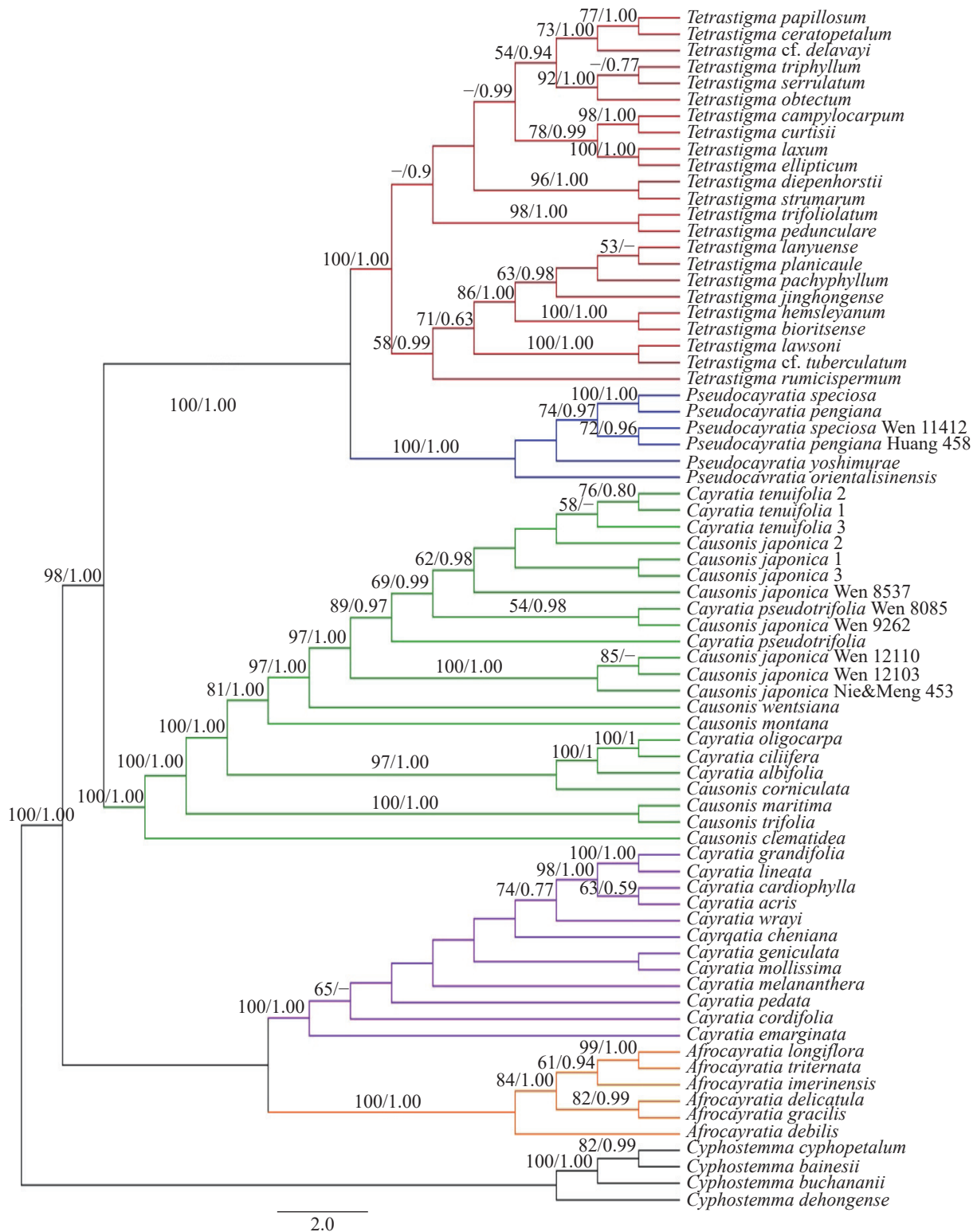
表 3 浙江乌葭莓属和拟乌葭莓属 6 种植物种子形态

Table 3 Seed morphology of six species of *Causonis* and *Pseudocayratia* from Zhejiang

种名	测量数	形状	大小(长×宽)/(mm×mm)	背面	腹面	洼穴	横切面
角花乌葭莓	10	宽倒卵形	(4.55±0.28)×(4.04±0.23)	具横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	倒狭卵状椭圆形，深凹	M型
乌葭莓	10	宽倒卵形	(4.71±0.37)×(3.58±0.16)	具横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	倒狭卵形，深凹	M型
山地乌葭莓	10	宽倒卵形	(4.64±0.23)×(3.91±0.23)	具横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	倒狭卵状椭圆形，深凹	M型
文采乌葭莓	10	宽倒卵形	(4.06±0.17)×(3.52±0.37)	具横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	倒狭卵状椭圆形，深凹	M型
华东拟乌葭莓	10	宽倒卵形	(6.92±0.36)×(5.63±0.24)	无横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	椭圆形，浅凹	T型
美丽拟乌葭莓	10	宽倒卵形	(5.81±0.29)×(5.00±0.19)	无横棱纹	中棱脊突出，两侧具洼穴	椭圆形，浅凹	T型

2.3 系统发育分析

联合 4 个叶绿体基因片段总长度为 3478 bp，*atpB-rbcL*、*trnC-petN*、*trnH-psbA* 和 *trnL-F* 分别为 914、993、497 和 1074 bp。构建的贝叶斯树和植物系统发育树树形一致，崖爬藤属 *Tetrastigma*、拟乌葭莓属 *Pseudocayratia*、乌葭莓属 *Causonis*、大麻藤属 *Cayratia* 和苦葭藤属 *Afrocayratia* 均为单系类群并且有很高的支持率 (后验概率为 1.00，自展值为 100%) (图 3)。其中：浙江产崖爬藤属、拟乌葭莓属和乌葭莓属 3 属，在拟乌葭莓属支中。浙江所产 3 种为美丽拟乌葭莓、白毛拟乌葭莓和华东拟乌葭莓，美丽拟乌葭莓 2 个个体和白毛拟乌葭莓 2 个个体组成 1 支 (后验概率为 0.97，自展值为 74%)，但在支内两者无法区分；在乌葭莓属中，浙江有 6 种：薄叶乌葭莓、乌葭莓、尖叶乌葭莓、文采乌葭莓、山地乌葭莓和角花乌葭莓，薄叶乌葭莓的 3 个个体、乌葭莓 8 个个体和尖叶乌葭莓 2 个个体组成 1 支 (后验概率为 1.00，自展值为 97%)，但在支内三者混杂，无法区分。



/上下数值分别表示自展值和后验概率, -表示值低于 50% 或 0.50; 不同的颜色表示各个分支; 除黑色分支为外类群、红色分支为崖爬藤属外, 其他颜色分别为广义乌蕊莓属重新界定的 4 个属

图3 基于 4 个叶绿体基因片段的广义乌蕊莓属植物系统发育树
 Figure 3 Maximum likelihood tree for *Cayratia* s.l. based on the combined chloroplast data sets

3 讨论与结论

3.1 形态特征的系统分类学意义

茎和叶的毛被是以往广义乌蕊莓属分类的重要依据之一^[1-2]。对浙江乌蕊莓属和拟乌蕊莓属 9 植物的茎、叶毛被扫描电镜观察结果显示: 其毛被较为稳定, 其叶片背面沿脉的毛被在种间具有差异, 分别疏

被短柔毛(乌莓、山地乌莓、薄叶乌莓、尖叶乌莓和华东拟乌莓)、多节长柔毛(文采乌莓)、无毛(角花乌莓)、密被柔毛(白毛拟乌莓和美丽拟乌莓),可见毛被特点在近似种之间具有可区别的差异,如角花乌莓和文采乌莓、美丽拟乌莓和华东拟乌莓之间,但乌莓属和拟乌莓属之间尚无法判断是否存在差异。

种子形态是广义乌莓属分亚属(或组)的重要依据^[1-2],是分属的重要依据^[10-13]。所观察的浙江 6 种植物而言,乌莓属和拟乌莓属之间在种子大小、背面是否具横棱纹、腹面洼穴形态和种子横切面形态存在本质区别,可以作为这 2 个属的区别特征。

除了毛被类型、种子形态外,小叶片数目、叶缘锯齿数目与形态,叶柄、小叶柄长短,卷须分枝数目,花瓣先端形态等常作为分种(或变种)的依据^[1-4,7]。值得注意的是,乌莓属植物花序均为上举,但果序有上举与下垂 2 类,果序总梗、果梗的颜色有红色与绿色 2 类,果实成熟前的颜色变化有由红色转黑色、由绿色转黑色、由绿色转白色、淡蓝紫色转黑色等类型;花盘的颜色在初花时至花后期也会发生变化;种子新鲜时和压干制作标本以后的形状变化。以上形态性状在标本室难以观察,故而也是腊叶标本容易被误定的主要原因。

3.2 系统发育关系研究对属种的界定

本研究的系统发育分析和以往研究结果一致,均证实了崖爬藤属、拟乌莓属、乌莓属、大麻藤属和苦苣藤属为单系类群,承认了这些属的独立地位^[10-12]。以往认为:浙江产的广义乌莓属植物现分为 2 属:拟乌莓属和乌莓属,前者现知 3 种,分别为美丽拟乌莓、白毛拟乌莓和华东拟乌莓,其中美丽拟乌莓和白毛拟乌莓在系统发育树上亲缘关系最近且无法区分,但在形态上后者叶柄、小叶柄、小叶片背面(至少中、侧脉上)均密被灰白色开展柔毛,有一定的区别,茎叶毛被作为种下等级处理较为合适。乌莓属有 6 种,其中尖叶乌莓和薄叶乌莓在系统发育树上与乌莓无法区分开,但在形态上,尖叶乌莓小叶 3(稀 4 或 5),中央小叶片具 4~7 对侧脉,边缘每侧有 2~9(12)浅钝齿,卷须不分枝(稀 2 分枝),花盘黄色,花后转白色;而薄叶乌莓花盘黄色,花后转白色,果实幼时中上部常缢缩,呈乳头状、倒梨形或葫芦形,与乌莓有明显区别。

3.3 分类处理

综合考虑形态特征、种子形态和系统发育关系等多方面的证据,将薄叶乌莓和白毛拟乌莓分别作为乌莓和美丽乌莓的亚种处理,尖叶乌莓归属发生改变,故作出如下组合。

3.3.1 薄叶乌莓 *Causonis japonica* (Thunb.) Raf. subsp. *tenuifolia* (Wight et Arn.) X. F. Jin et Z. H. Chen, comb. et stat. nov. — *Vitis tenuifolia* Wight et Arn., *Prodr Fl Ind Orient*, 1834, 1: 129. — *Cayratia tenuifolia* (Wight et Arn.) Gagnep., *Notul Syst* (Paris), 1911, 1: 348.

《中国植物志》第 48 卷第 2 分册^[1]未对薄叶乌莓作处理,而 CHEN 等^[2]在 *Flora of China* 中将其处理为乌莓的异名。从形态上看,薄叶乌莓的花盘黄色,花后转白色,果实幼时中上部常缢缩,呈乳头状、倒梨形或葫芦形;乌莓的花盘橙黄色,花后通常变为粉红色,浆果近球形。薄叶乌莓主要分布在浙江滨海地区,乌莓主要为山地分布。从系统发育关系树上看,薄叶乌莓的 3 个个体嵌套于乌莓的个体之中。本研究认为将薄叶乌莓作为乌莓的亚种处理较合适。

3.3.2 尖叶乌莓 *Causonis japonica* (Thunb.) Raf. subsp. *pseudotrifolia* (W. T. Wang) Z. H. Chen, Y. F. Lu et X. F. Jin, comb. et stat. nov. — *Cayratia pseudotrifolia* W. T. Wang, *Acta Phytotax Sin*, 1979, 17(3): 79. — *Cayratia japonica* (Thunb.) Gagnep. var. *pseudotrifolia* (W. T. Wang) C. L. Li, *Chin J Appl Environ Biol*, 1996, 2(1): 51.

王文采^[3]在发表新种尖叶乌莓时,明确指出其为叶片 3 小叶,有时可为 4 或 5 小叶。李朝奎^[6]将其作为乌莓的变种处理,CHEN 等^[2]也采纳这个观点。从浙江的材料来看,小叶 3,稀 4 或 5,中央小叶片具 4~7 对侧脉,边缘每侧具 2~9(12)个浅锯齿,卷须不分枝,稀具 2 分枝,花盘黄色,花后变为白色;乌莓的鸟足状复叶具 5 小叶,中央小叶片具 5~9 对侧脉,边缘每侧具 6~12(15)个锯齿,卷须具 2 或 3 分枝,花盘橙黄色,花后通常变为粉红色。系统发育树显示尖叶乌莓的 2 个个体也嵌套于乌莓种,故作为亚种处理,并作了转隶组合。

3.3.3 白毛拟乌莓 *Pseudocayratia speciosa* J. Wen et L. M. Lu subsp. *pengiana* (T. W. Hsu et J. Wen) Z.

H. Chen, Y. F. Lu et X. F. Jin, comb. et stat. nov. — *P. pengiana* T. W. Hsu et J. Wen, *J Syst Evol*, 2018, **56**: 378.

WEN 等^[11] 在建立新属拟乌莓属时, 共收录了 2 个新种和 3 个新组合种, 认为新种 *P. pengiana* 与另一新种 *P. speciosa* 的区别在于叶片背面均被短柔毛, 沿脉尤密。这与本研究所观察的完全一致 (包括扫描电镜结果)。但当时系统发育分析时, *P. pengiana* 仅 1 个个体, 与本次研究结果不同。本研究增加了浙江的 *P. pengiana* 和 *P. speciosa* 各 1 个个体后发现, 两者在系统树上无法区分。因此, 将 *P. pengiana* 作为 *P. speciosa* 的亚种更为合理。

4 致谢

杭州植物园教授级高级工程师裘宝林先生指导并审阅全文, 浙江清凉峰国家级自然保护区高级工程师张宏伟先生、代英超女士协助采集标本。在此一并致谢!

5 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 48 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
Editorial Committee of Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Chinese Academy of Sciences. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae: Vol. 48* [M]. Beijing: Science Press, 1998.
- [2] CHEN Zhiduan, REN Hui, WEN Jun, et al. *Flora of China: Vol. 12* [M]. Beijing: Science Press, 2007.
- [3] 王文采. 葡萄科的新发现[J]. 植物分类学报, 1979, **17**(3): 73 – 96.
WANG Wencai. Vitaceae rum novitates [J]. *Acta Phytotaxomica Sin*, 1979, **17**(3): 73 – 96.
- [4] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志: 第 4 卷[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1993.
Editorial Committee of Flora of Zhejiang. *Flora of Zhejiang: Vol. 4* [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 1993.
- [5] 丁炳扬, 洪林. 浙江植物区系增补[J]. 杭州大学学报 (自然科学版), 1997, **24**(3): 275 – 276.
DING Bingyang, HONG Lin. Additions to the flora of Zhejiang [J]. *J Hangzhou Univ Nat Sci*, 1997, **24**(3): 275 – 276.
- [6] 李朝銮. 中国葡萄科植物新分类群[J]. 应用与环境生物学报, 1996, **2**(1): 43 – 53.
LI Chaoluan. New taxa in Vitaceae from China [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 1996, **2**(1): 43 – 53.
- [7] 郑朝宗. 浙江种子植物检索鉴定手册[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2005.
ZHENG Chaozong. *Key to Seed Plants from Zhejiang* [M]. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Publishing House, 2005.
- [8] 陈贤兴, 周庄, 胡仁勇, 等. 浙江维管植物新纪录[J]. 温州大学学报 (自然科学版), 2013, **34**(1): 54 – 56.
CHEN Xianxing, ZHOU Zhuang, HU Renyong, et al. Three new records of vascular plants in Zhejiang Province [J]. *J Wenzhou Univ Nat Sci*, 2013, **34**(1): 54 – 56.
- [9] LU Limin, WANG Wei, CHEN Zhiduan, et al. Phylogeny of the non-monophyletic *Cayratia* Juss (Vitaceae) and implications for character evolution and biogeography [J]. *Mol Phylogenet Evol*, 2013, **68**: 502 – 515.
- [10] WEN Jun, LU Limin, NIE Zelong, et al. A new phylogenetic tribal classification of the grape family (Vitaceae) [J]. *J Syst Evol*, 2018, **56**(4): 262 – 272.
- [11] WEN Jun, LU Limin, HSU T W, et al. *Pseudocayratia*, a new genus of Vitaceae from China and Japan with two new species and three new combinations [J]. *J Syst Evol*, 2018, **56**(4): 374 – 393.
- [12] RABARIJAONA R N, DANG V C, PARMAR G, et al. Phylogeny and taxonomy of *Afrocayratia*, a new genus of Vitaceae from continental Africa and Madagascar [J]. *J Syst Evol*, 2020, **58**(6): 1090 – 1107.
- [13] CHEN Zhenghai, CHEN Feng, LU Yifei, et al. Three new species of *Cayratia*-like genera (Vitaceae) from Zhejiang, East China [J]. *Phytotaxa*, 2020, **475**(4): 253 – 266.
- [14] SOEJIMA A, WEN Jun. Phylogenetic analysis of the grape family (Vitaceae) based on three chloroplast markers [J]. *Am J Bot*, 2006, **93**(2): 278 – 287.
- [15] CHEN Pingting, CHEN Longqing, WEN Jun. The first phylogenetic analysis of *Tetrastigma* (Miq.) Planch., the host of Rafflesiaceae [J]. *Taxon*, 2011, **60**(2): 499 – 512.
- [16] REN Hui, LU Limin, SOEJIMA A, et al. Phylogenetic analysis of the grape family (Vitaceae) based on the noncoding plastid *trnC-petN*, *trnH-psbA*, and *trnL-F* sequences [J]. *Taxon*, 2011, **60**(3): 629 – 637.