唇口目苔藓动物分子系统演化及其主要类群分歧时间的推测

郝家胜 李春香 孙晓燕 杨 群*

(中国科学院南京地质古生物研究所, 南京 210008. * 联系人, Email: qunyang@nigpas.ac.cn)

摘要 对 40 种唇口目苔藓动物(包括新测的 24 种)线粒体 16S rRNA 基因序列进行了比较分析, 运用邻接法和最大简约法构建了系统发生树; 同时基于适宜的谱系发生关系和确证的化石记录资料, 计算了唇口目苔藓动物 16S rRNA 基因的演化速率, 并据此推测了唇口目 2 大主要类群(无囊类和狭义有囊类)的起源和分歧时间. 结果显示, 唇口目高级分类单元(超科及以上分类阶元)的系统发生大都和现今形态分类体系间存在明显的分歧; 据估算, 现生无囊类和狭义有囊类苔藓动物在约 263 Ma(中二叠纪, 瓜德鲁普世)和 183 Ma(早侏罗纪)之前就已分化出来.

关键词 苔藓动物 唇口目 **16S rRNA** 系统发育 谱系年代

唇口目是现生苔藓动物中最大的一个类群, 其种数占全部苔藓动物的 95%以上. 它们群体的形状多种多样. 个虫的虫室一般呈盒形, 并有不同程度的钙化, 室口通常有口盖. 由于形态上的高度多型性, 其主要类群间的系统演化关系一直是苔藓动物学家争论的焦点之一. 近几十年来, 其形态分类体系已经过多次修正和调整[1~4]. 目前人们普遍认同并得到国际苔藓动物协会接受的是Gorden[2~3]提出的分类方案, 但由于它的亚目及科级以下许多分类单元的定义及范围仍存在不少人为因素, 特别是其中的新唇口亚目的分类安排仍有不少疑点[4]. 因而, 建立一个能反映唇口目自然演化序列的分类体系, 除需要形态学进一步的深入研究外, 还需要其他生物学证据(如分子生物学证据)的介入.

16S rRNA基因是编码线粒体核糖体大亚基、长约 500~600 bp的DNA 序列. 由于其在线粒体含量丰富且进化速率适中, 近年来它在一些后生动物类群的分子系统学研究中得到了广泛的运用[5~7]. 关于苔藓动物, 迄今只有Dick等人[8]基于 16S rRNA基因对裸唇类(包括环口目、栉口目和唇口目)所进行的初步分析. 本研究新测了 24 种唇口目苔虫 16S rRNA基因序列, 同时结合另外 16 种唇口目苔虫的相应序列(GenBank), 运用邻接法和最大似然法构建了系统树, 探讨了其主要分类群间的系统演化关系. 近十几年来, 运用分子钟的方法探讨生物类群间的起源与分歧时间已取得一些成果[9~11], 但是后生动物较低分类阶元间的研究尚不多见. 本文基于唇口目各分类群间的遗传距离和确切的化石记录资料, 建立了 16S rRNA基因分子钟, 并推测了唇口目的 2 大主要类群无囊类和狭义有囊类的起源时间.

1 材料与方法

(ⅰ) 实验材料及来源. 24 种唇口目苔藓动物, 多数采自我国沿海各地水域, 部分来自南澳大利亚博物馆(表 1).

(ⅱ) 基因组 DNA 的提取与纯化. 采用本实验室改进的方法提取和纯化基因组 DNA. 具体操作如下: 取反复清洗后的材料约 0.5 g, 研钵中磨碎后, 置 1.5 mL Eppendorf 管中, 加 2 mL DNA 提取缓冲液(0.5% SDS, 15 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Tris-HCl, pH 7.6), 55℃水浴 2~3 h; 3500×g 离心 2 min, 吸上清液, 加入 5 mL Eppendorf 管中, 加等体积的 8 mmol/L 硫氰酸胍和 30 μL 0.5%洁净的玻璃粉乳液, 混匀后, 37℃水浴 2 h; 取出后, 4000×g 离心 2 min, 弃上清液; 70%乙醇洗 2 次, 丙酮洗 1 次后真空干燥机内彻底干燥; 加 TE 缓冲液(pH 8.0) 100 μL, 55℃水浴 30 min; 8000×g 离心 2 min, 吸上清液, 置–20℃保存备用.

(ⅲ) 引物合成、PCR扩增及序列测定. 后生动物 16S rRNA基因的一对通用引物[12](16Sar: 5′-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3′, 16Sbr: 5′-CCGGTCTGAACTCAGAT-3′)由上海Sangon生物工程公司合成. PCR反应在Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9600 上进行. 反应体系的总体积为 50 μL. 其中含 10~50 ng模板DNA, 0.2 μmol引物, 0.2 mmol/L dNTP, 缓冲液(1×), 2 mmol/L Mg^{2+}, 1 μg/μL BSA, 1.0 U Taq酶(Sangon公司). 反应程序为: 94℃预变性 5 min; 94℃变性 45 s,

表 1 本研究所用实验材料及来源 [a)]

种名	亚目	次目	超科	科	来源及 GenBank 登录号
Schizoporella erratoidea (拟迷误裂孔苔虫)*	Ascophorina (有囊亚目)	Lepraliomorpha (皮壳次目)	Schizoporelloidea (裂孔超科)	Schizoporellidae (裂孔苔虫科)	福建东山岛(AY789102)
Schizoporella sp. (拟迷误裂孔苔虫未定种)					美国佛罗尼达州(AF156290)
Smittoidea spinigera (刺轴拟缘孔苔虫)*				Smittinidae (缘孔苔虫科)	福建东山岛(AY789104)
Parasmittina sp. (假缘孔苔虫未定种)*					福建东山岛(AY709898)
Schizomavella acuta (尖颚裂星苔虫)				Bitectiporidae (双罩苔虫科)	美国加利福尼亚州(AF156289)
Schizomavella australis (南方裂星苔虫)*					海南陵水新村港(AY789100)
Schizomavella sp. (裂星苔虫未定种)*					海南陵水新村港(AY789101)
Calypotheca sp. (鞘苔虫未定种)*				Lanceoporidae (茅苔虫科)	福建东山岛(AY789090)
Watersipora subtorquata (项链血苔虫)*				Watersiporidae (血苔虫科)	澳大利亚(AY789108)
Watersipora arcuata (弓形血苔虫)*					澳大利亚(AY789107)
Microporella ciliata (纤毛拟小孔苔虫)				Microporellidae (拟小孔苔虫科)	美国加利福尼亚州(AF156286)
Phidolopora pacifica (太平洋俭孔苔虫)			Celleporoidea (分胞苔虫超科)	Phidoloporidae (俭孔苔虫科)	美国加利福尼亚州(AF156287)
Cleidochasma sp. (锁孔苔虫未定种)*				Cleidochasmatidae (锁孔苔虫科)	海南陵水新村港(AY789094)
Celleporina souleae (苏氏仿分胞苔虫)				Celleporidae (分胞苔虫科)	美国加利福尼亚州(AF156279)
Celleporaria aperta (高襟拟分胞苔虫)*		Umbonulomorpha (楯胞次目)	Umbonuloidea (楯胞超科)	Lepraliellidae (小皮壳苔虫科)	海南陵水新村港(AY789093)
Celleporaria magnifica (大室拟分胞苔虫)					美国佛罗尼达州(AF156277)
Celleporaria sp. (拟分胞苔虫未定种)*					海南邻高邻昌礁(AY789092)
Celleporella hyaline (透明小分胞苔虫)		Hippothoomorpha (敏胞次目)	Hippothooidea (敏胞超科)	Hippothoidae (敏胞苔虫科)	美国加利福尼亚州(AF155939)
Celleporella sp. (小分胞苔虫未定种)					美国加利福尼亚州(AF156278)
Savigniella lafontii (拉氏萨胞苔虫)*		Cribriomorpha (筛壁次目)	Cantenicelloidea (链胞超科)	Savigyniellidae (萨胞苔虫科)	海南陵水新村港(AY789099)
Cribrilina annulata (环纹筛壁苔虫)			Cribrilinoidea (筛壁超科)	Cribrilinidae (筛壁苔虫科)	美国缅恩州(AF156280)
Reginella hippocrepis (希氏妃苔虫)					美国缅恩州(AF156288)
Scrupocellaria maderensis (马岛粗胞苔虫)*	Neocheilostomina (新唇口亚目)	Cellulariomorpha (枝室次目)	Candioidea (环管苔虫超科)	Candidae (环管苔虫科)	海南陵水新村港(AY789103)
Scrupocellaria varians (多变粗胞苔虫)					美国加利福尼亚州(AF156291)
Tricellaria monotrypa (单孔三胞苔虫)*					澳大利亚(AY7891066)
Bugula stolonifera (葡茎草苔虫)*			Bugulioidea (草苔虫超科)	Bugulidae (草苔虫科)	福建东山岛(AY789087)
Bugula neritina (多室草苔虫)*					浙江大陈岛(AY789086)
Beania magellanica (麦哲伦格苔虫)*				Beaniidae (格苔虫科)	澳大利亚(AY789085)
Thalamoporella californica (加洲托孔苔虫)		Cryptocystomorpha (隐壁次目)	Microporoidea (小孔苔虫超科)	Thalamorphorellidae (托孔苔虫科)	美国加利福尼亚洲(AF156293)
Steginoporella truncata (平截蔽孔苔虫)*				Steginoporellidae (蔽孔苔虫科)	澳大利亚 AY789105)

表 1(续)

种名	亚目	次目	超科	科	来源及 GenBank 登录号
Onychocella sp. (爪胞苔虫未定种)*				Onychocellidae (爪胞苔虫科)	海南陵水新村港(AY789097)
Cellaria immersa (浅胞苔虫)*			Cellarioidea (胞苔虫超科)	Cellariidae (胞苔虫科)	澳大利亚(AY789091)
Cellaria mandibulata (颚片胞苔虫)					美国加利福尼亚洲(AF156276)
Callopora sp. (丽苔虫未定种)*		Pseudomalacostego- morpha (假软壁次目)	Calloporoidea (丽苔虫超科)	Calloporidae (丽苔虫科)	海南陵水新村港(AY789089)
Discoporella sp. (盘孔苔虫未定种)				Cupuladriidae (虮苔虫科)	美国巴拿马运河(AY123621)
Cupuladria surinamensis (苏里南虮苔虫)					美国巴拿马运河(AY123498)
Antropora tincta (深色多穴苔虫)				Flustridae (藻苔虫科)	美国加利福尼亚洲(AF156274)
Membranipora grandicella (大室膜孔苔虫)*	Malacostegina (软壁亚目)		Membraniporoidea (膜孔苔虫超科)	Membraniporidae (膜孔苔虫科)	福建东山岛(AY789096)
Membranipora tuberculata (疣突膜孔苔虫)*					海南三亚港(AY789095)
Electra bellula (艳丽琥珀苔虫)*				Electridae (琥珀苔虫科)	福建东山岛(AY789088)

a) *示本研究中新测序列

45℃复性 30 s, 72℃延伸 50 s, 40 个循环; 72℃延伸 6 min. 反应产物经 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测和 Gel Doc 图像分析仪观察. 产物经纯化试剂盒纯化后, 连接到 pMD18-T 载体上, 转入 JM109 感受态细胞, 转化菌用 Amp+IPTG+X-gal 平板培养并提取阳性质粒. 用 M13-48 通用引物在 ABI-377 型全自动序列分析仪上进行测序.

(ⅳ) DNA序列的对位排列和系统树的构建. 将测定的序列在GenBank中通过Blast搜寻相关序列, 确认所测序列无误. 以Clustal X[13]软件进行对位排列. 以栉口目法尔苔虫(*Farrella repens*, GenBank登录号: AF156283)作为外类群(栉口目和唇口目同属裸唇纲, 且二者可能构成一姊妹群[14]), 基于Kimura两参数模型[15], 进行内部分支检验和 500 次抽样自展检验, 运用分子进化遗传分析软件Mega 2.1[16]和PHYLIP 3.5[17]以邻接法(NJ)[18]和最大简约法(MP)[19]构建分子系统树.

(ⅴ) 分子钟的构建和主要类群分歧时间的推测. 应用Mega软件基于Tajima非参数检验法[20]对系统树各单元间进行相对速率检验, 删除进化速率有明显变异的长枝($P \leq 0.001$)并重新构建系统树. 以NJ树为模式树, 选择适宜的分类群(有确切的化石记录)作为参照点, 分别以 Kimura-2α, Jukes-Cantor[21] 和 Tamura-Nei法[22]计算各分类群间的遗传距离, 并以下列公式计算 16S rRNA基因的进化速率: $r_r=h_r/t_r$, 其中, h_r为选择的参照点的节高, 其计算公式为:

$$h_r = \frac{\sum_{i=1}^{|A|}\sum_{j=1}^{|B|} d_{ij}}{2\,|A||B|};$$

上式中, A、B 分别为簇 A 和 B 所包括的序列数. 一般将祖先节点的高度定义为 2 个相关簇之序列间平均遗传距离的一半, 祖先节点 r 只有一对序列(i 序列和 j 序列)的情况是: $h_r = d_{ij}/2$. t_r为化石记录所显示的参照点的分歧时间.

在通过相对速率检验的条件下, 假设局部分子钟的存在, 由此得到待测分歧点的节高 h_u 和分歧时间 $t_u=h_u/r_r$.

2 结果

2.1 苔藓动物的分子系统发生

本文新测 24 种唇口目苔藓虫 16S rDNA 的序列长度介于 547~583 bp 之间. 对位排列后并删除两端多余的序列后所得的序列长度为 620 bp, 其中, 保守位点 120 bp, 变异位点 480 bp, 简约信息位点 359 bp. 另外, 将上述对位排列后的 5 个多变区(61~67, 251~270, 295~319, 362~378, 403~421 bp)删除, 得到的排序长度为 543 bp, 其中有保守位点 120 bp, 变异位点 412 bp, 简约信息位点 298 bp. 根据 2 种排序结果, 分别以 NJ 和 MP 法构建分子系统树. 结果显示, 除一些分支的抽样自展值存在差异外, 所得系统树的拓扑结构基本一致. 限于篇幅本文仅列出 Mega 软件所得的 NJ 树(图 1).

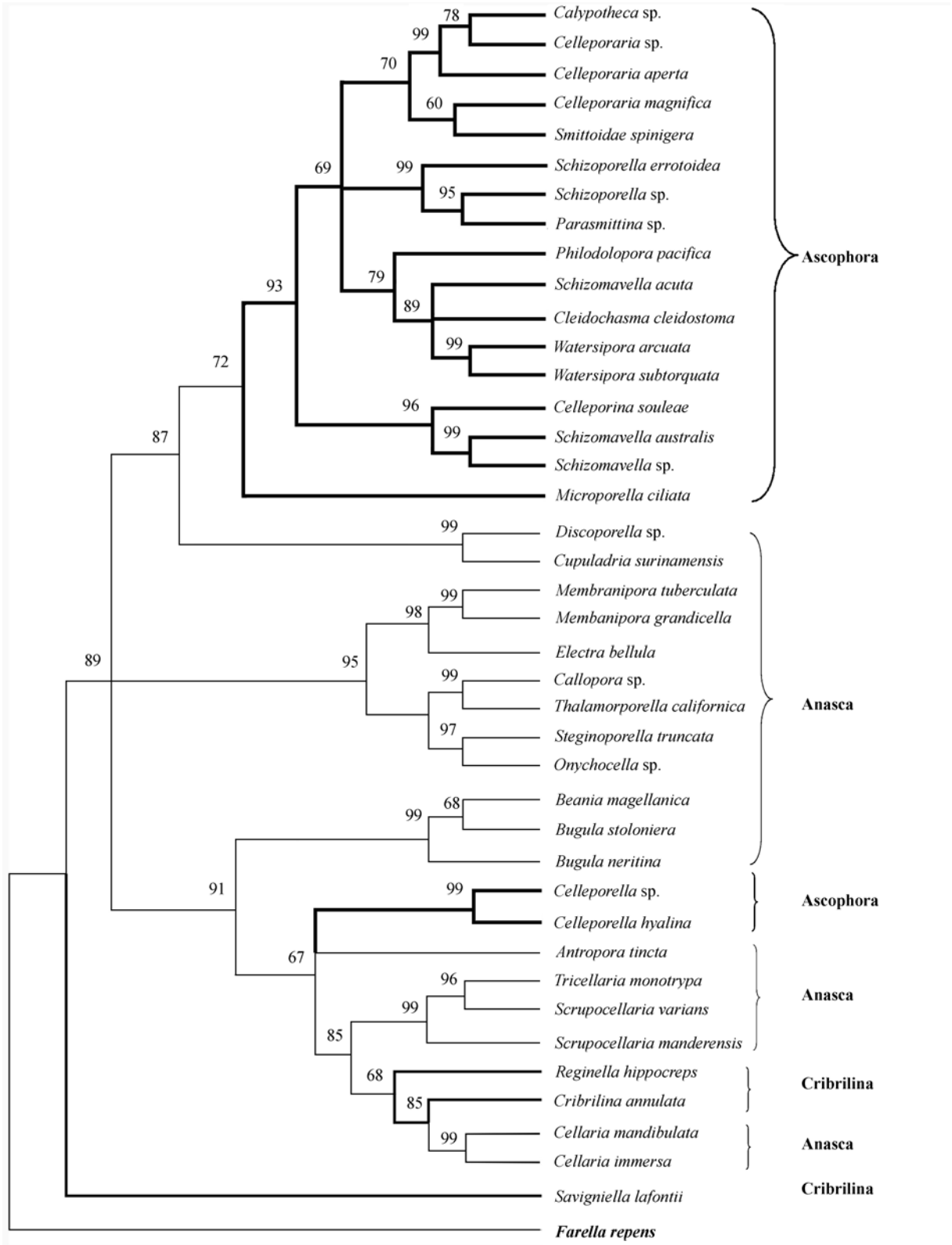

图 1 基于 16S rRNA 基因构建的唇口目苔藓动物严格一致树(Mega 2.0 软件, NJ 法)

每一节点上方数值为该分支的其抽样自展值(500 次抽样)

除一些较低级的分类单元外，本研究高级分类单元(包括 3 亚目、7 次目、12 超科、25 科)的分子系统发生与基于形态学证据的传统分类体系存在明显的出入.

关于无囊类，限于材料未包括无卵室类亚目和微室亚目，仅就本研究中的分类群而言，它们无疑是一个多系群. 其中，*Membranipora grandicella*, *Membranipora tuberculata* 和 *Electra bellula*(软壁亚目、膜孔苔虫超科), *Thalamorporella californica*, *Steginoporella truncata* 和 *Onychocella* sp.(新唇口亚目、隐壁次目、小孔苔虫超科)和 *Callopora* sp.(新唇口亚目、假软壁次目、丽苔虫超科)为一个大的支系，其中新唇口亚目的几种苔虫和软壁亚目的几种苔虫为姊妹群. 新唇口亚目的一些类群，如 *Scrupocellaria manderensis*, *Scrupocellaria varians*, *Tricellaria monotrypa* (枝室次目、环管苔虫超科), *Antropora tincta* (假软壁次目、丽苔虫超科), *Cellaria mandibulata* 和 *Cellaria immersa* (隐壁次目、胞苔虫超科)以及 *Bugula neritina*, *Bugula stolonifera*, *Beania magellanica* (枝室次目、草苔虫超科)为另一的支系，其中草苔虫科为其他类群的姊妹群; *Cupuladria surinamensis* 和 *Discoporella* sp. (新唇口亚目、假软壁次目、丽苔虫超科、虮苔虫科)为第 3 个支系(图 1).

系统树显示，原形态分类体系中的有囊类(广义)并不是一个单系群. 其中, 2 种小分胞苔虫 *Celleporella* sp. 和 *Celleporella hyaline* (敏胞次目、敏胞苔虫超科、敏胞苔虫科)构成一个小的支系，其系统位置处于无囊类内部. 其余的有囊类，即狭义有囊类(包括楯胞次目和皮壳次目)构成一较大的单支系，它们是由无囊类演化而来，其中 *Microporella ciliata* (皮壳次目、裂孔苔虫超科、拟小孔苔虫科)的位置处于系统树基部(图 1)，其余类群的系统演化关系也与传统的形态分类体系有些差异，因而狭义有囊类各类群间的系统发生关系还需要进一步研究.

值得一提的是，唇口目中惟一自由生活的类群，即上述无囊类的第 3 个分支(虮苔虫科的 *Cupuladria surinamensis* 和 *Discoporella* sp.)在系统树上和狭义有囊类构成一个单系群(图 1)，表明这 2 个类群间可能享有一个较近的似担轮幼虫祖先.

现分类体系归于有囊亚目的筛壁类可能也是一个多系群. 其中，2 种方法构建的系统树都显示，筛壁苔虫超科的 *Cribrilina annulata* 和 *Reginella hippocreps* 和前述无囊类新唇口亚目的 *Cellaria* 构成一个单支系; 而链胞苔虫超科的 *Savigniella lafontii* 在 NJ 树中位于全部唇口目苔藓动物系统树的基部(图 1)，而在 MP 树上却位于狭义有囊类的内部(结果未显示).

2.3 无囊类和有囊类的分歧时间

经多次选择和检验，最终确定与有囊类构成姊妹群的虮苔虫科无囊类为化石记录参照点(该科的化石记录最早出现于第三纪古新统的丹尼阶，距今约 65.0 百万年(Ma)[23]). 基于该类群的遗传距离计算了 16S rRNA基因的演化速率. 经分子钟估算，结果显示，无囊类(除无卵室亚目和微室亚目外)在二叠纪中期的瓜德鲁普世(距今约 263 Ma)附近由其他类群的苔藓动物(可能是栉口目)分化出来，而狭义有囊类在早侏罗世的土阿辛阶(距今约 183 Ma)附近由无囊类分化出来(表 2，图 2).

3 分析与讨论

3.1 唇口目主要类群间的系统演化关系

一般根据虫室前膜钙化与否及钙化程度、类型等将唇口目分为 2 个亚目(无囊亚目和有囊亚目)或 3 个亚目(无囊亚目、筛壁亚目和有囊亚目). 这种分类方案虽然反映了唇口目苔虫水压调节机制的进化序列，但未能完全反映它们因前壁钙化类型不同的系统发育轨迹[4]. 目前通用的苔藓动物高级分类方案[2,3]则将筛壁类归于有囊类中的一个次目，有囊亚目则分为筛壁次目、敏胞次目、楯胞次目和皮壳次目; 而无囊类分为无卵室亚目、微室亚目、软壁亚目和新唇口亚目，后者包括假软壁次目、枝室次目和隐壁次目.

本研究所得结论与现有形态分类体系有明显出入. 例如，无囊类软壁亚目、膜孔苔虫超科和新唇口亚目隐壁次目、小孔苔虫超科构成一个姊妹群，提示它们在系统发生上具有较近的亲缘关系. 新唇口亚目、枝室次目、草苔虫超科为一单支系，新唇口亚目、枝室次目、环管苔虫超科和隐壁次目、胞苔虫超科构成另一个单支系，它们再构成一姊妹群. 新唇口亚目、假软壁次目、丽苔虫超科、虮苔虫科单独为一支系等. 可见，无囊类亚目级和次目级分类阶元的划分还值得进一步商榷.

本研究系统树显示有囊类绝非是一个单系发生的类群. 敏胞次目的小分胞苔虫为单独的一个分支，处于无囊类系统树内部. Dick等人[8]的系统发生分析也得出类似的结果. 而除小分胞苔虫外的其他有囊

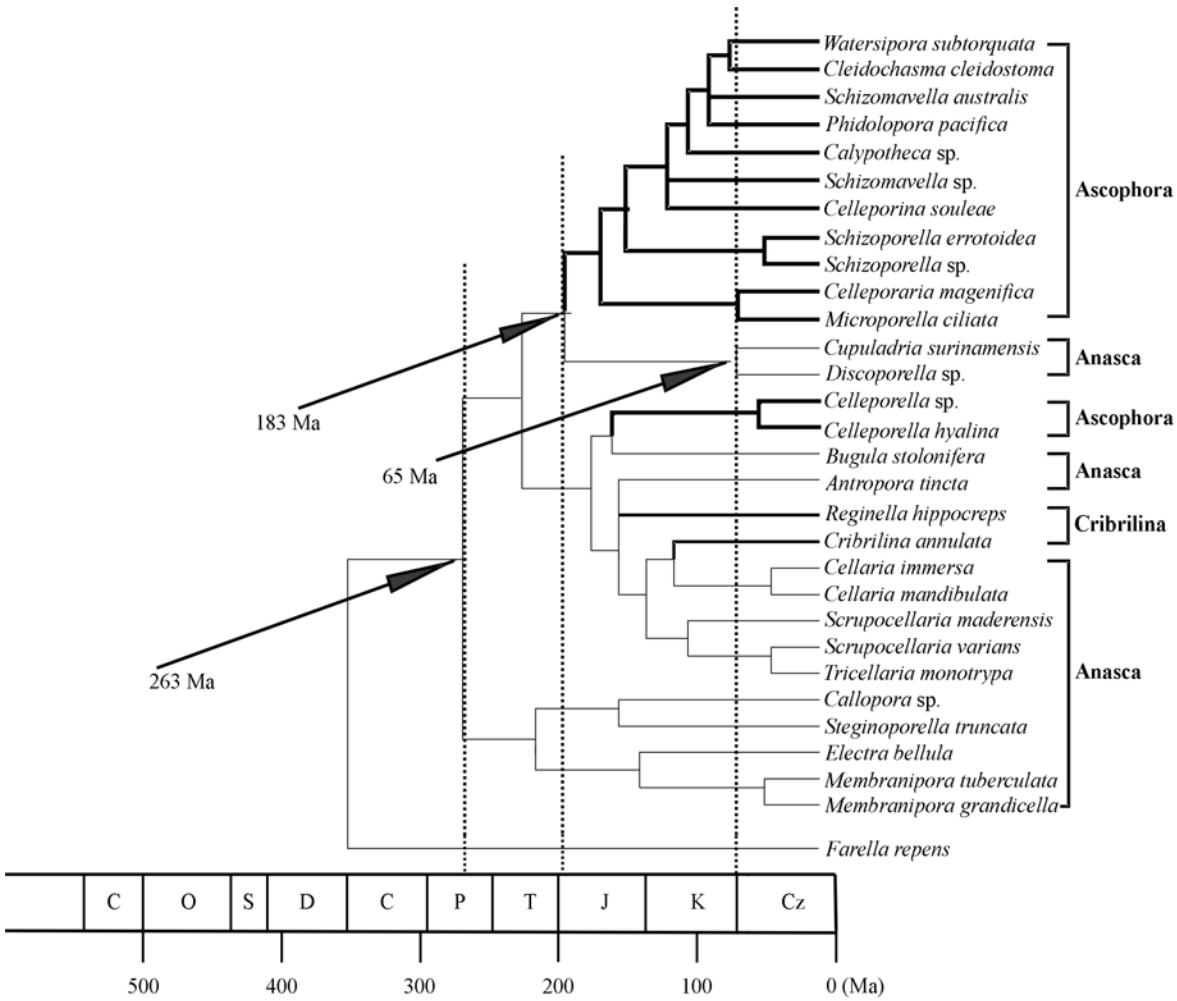

图 2 以虮苔虫科的化石记录为参照点基于 16S rRNA 基因分子钟所得的无囊类和狭义有囊类的分歧时间

C, 寒武纪; O, 奥陶纪; S, 志留纪; D, 泥盆纪; C, 石炭纪; P, 二叠纪; T, 三叠纪; J, 侏罗纪; K, 白垩纪; Cz, 新生代

表 2 无囊类和狭义有囊类唇口目苔藓动物的分歧时间(基于 16S rRNA 基因分子钟)

分歧点	遗传距离	进化速率/替代数 · 位点$^{-1}$ · Ma^{-1}	节高	分歧时间/Ma
Anasca	Kimura-2α	$(5.85\pm1.23)\times10^{-4}$	0.14351±0.01733	245.3±29.6
	Jukes-Cantor	$(6.15\pm1.31)\times10^{-4}$	0.18553±0.02683	282.5±39.5
	Tamura-Nei	$(6.23\pm1.38)\times10^{-4}$	0.16243±0.02771	260.7±44.5
Ascophora	Kimura-2α	$(5.85\pm1.23)\times10^{-4}$	0.10143±0.01337	173.4±22.9
	Jukes-Cantor	$(6.15\pm1.31)\times10^{-4}$	0.11410±0.01650	185.5±26.8
	Tamura-Nei	$(6.23\pm1.38)\times10^{-4}$	0.11870±0.01900	190.1±30.4

类是一个单系发生的类群, 它们可能由无囊类新唇口亚目、假软壁次目、虮苔虫演化而来. 通常认为, 有囊类前壁的发育有 3 种类型: 裸壁型(gymnocystal)、楯胞型(Umbonuloid)和皮壳型(Lepralioid)[24]. 而前壁的不同发育类型表明了它们在系统发生上的差异[25]. *Celleporella*属于隐壁型, 而其他有囊类则为楯胞型或皮壳型, 而楯胞型和皮壳型的前壁可能具有共同的起源[26]或皮壳型是由楯胞型演化而成[27]. 至于狭义有囊类(楯胞型和皮壳型)各类群间的系统发生, 也和形态分类有些出入. 如: 楯胞次目处于皮壳次目内部, 二者之间没有明显的界限; 虫室聚合程度更高的分胞苔虫超科(皮壳次目)在系统树上也未体现其发育序列等.

筛壁类是一类前膜被一些呈羽状排列的刺状肋

所覆盖的苔藓动物，它们的系统地位一直颇多争议. 早期的研究将它们归于无囊类[1,28]，后来的一些学者将其归于有囊类[29,30]，有的学者将其提升为与无囊类和有囊类并列的亚目级分类阶元[31]. 现今的分类体系将它们归于有囊亚目的一个次目[4]. 它们的前壁发育类型有 2 种[5,6]: 筛壁苔虫超科的为刺囊型(spinocystal); 链胞苔虫超科的为裸囊型(gymnocystal). 本研究中的环纹筛壁苔虫和希氏妃苔虫属于筛壁苔虫超科，而拉氏萨胞苔虫属链胞苔虫超科. 筛壁苔虫超科和无囊类新唇口亚目、隐壁次目、胞苔虫超科构成一个单系群，提示它们有密切的亲缘关系. 而链胞苔虫超科在NJ系统树中处于唇口目苔藓动物的基部，MP树中位于狭义有囊类的内部. 故而筛壁类的系统发生地位还需进一步研究.

3.2 无囊类和有囊类的分歧时间

分子钟研究中，相对恒定速率的获得是一个关键因素. 虽然严格意义上的分子钟是不存在的，但可通过一些手段(如分析某一分类阶元较小的自然类群时，并通过严格的相对速率检验)获得理想的分子钟[32]. 本研究只涉及到唇口目这一较小的分类群，并对所有分类单元进行了相对速率检验，删除了少数未通过检验的分枝.

3 种计算方法计算出 16S rRNA基因演化速率(表 2)，结果与前人推算的后生动物其他类群 16S rDNA 演化速率[13,15,33]基本一致. 据此计算出无囊类分歧时间的平均值为 263 Ma(表 2). 其时限为二叠纪中期的瓜德鲁普世卡匹敦阶附近. 而无囊类确定的最早化石记录(Electridae的*Pyriporopsis portlandensis*)出现于晚侏罗世提塘阶，距今约为 141 Ma，大部分类群的化石记录在白垩纪中期的阿尔布阶(约为 100 Ma左右)才开始出现[23,34]. 可见无囊类在其白垩纪中期大规模的辐射之前已经经历了长达 120~160 Ma的演化阶段(图 2). 有囊类的平均分歧时间为 183 Ma(表 2). 其时代大约属于侏罗纪早侏罗世土阿辛期. 而有囊类最早的化石记录(Hippothoidae的*Boreasina nowickii*)出现于晚白垩纪世的土仑期和康尼亚克期界线附近，距今约 89 Ma[23]. 可见在有囊类的辐射演化前也经历了近 100 Ma的演化时期(图 2).

3.3 唇口目的起源

主要依据形态解剖学特征，有人认为唇口目起源于栉口目或与其有较近的共同祖先[35~37]; 也有人推测它可能起源于环口目中具有鸟头体构造的喇叭苔虫[38]. 我国学者夏凤生通过藏北羌塘盆地中侏罗世巴柔期发现的隐口目窗孔苔虫科一新属鸟头窗格苔虫以及北美和中亚早、中泥盆世地层中窗孔科苔藓虫的比较研究，提出唇口目可能是由原始窗孔苔虫经该新属演化而来的假设[39]. 虽然争议还在进行，但本文的分子钟研究结果提示唇口目可能在古生代的晚期就已出现，这一结果从另一角度旁证了其窗孔类起源的假设.

致谢 感谢中国科学院海洋研究所刘锡兴研究员、本所夏凤生研究员、德国 Hamburg 大学的 Gero Hillmer 教授、美国 Middlebury 大学的 Matthew Dick 教授、南澳大利亚博物馆采集经理 Laperousaz Thierry 在标本采集、鉴定及论文写作中提供的帮助. 本研究所袁训来研究员审阅文稿并提供修改意见. 本工作为国家自然科学基金(批准号: 40202001)和国家重大基础研究计划前期项目和子课题(批准号: 2002CCA03300, G200077702)以及现代古生物学与地层学国家重点实验室开放课题(批准号: 013115)资助项目.

参 考 文 献

1 Bassler R S. Bryozoa. In: Moore R C, ed. Treatise on Inveterbrate Paleontology, Part G. New York: University Kanses Press, 1953. 253
2 Gorden D P. The marine fauna of New Zealand: Bryozoa: Gymnolaemata (Cheilostomata Ascophora) from the West South Island continental shelf and slope. N Z Oceanographic Institute Memoire, 1989, 97: 1~158
3 Gorden D P. Intertidal bryozoans from coral reef flat rubble saga, Western Samoa. N Z J Zoology, 1989, 16: 447~463
4 刘锡兴. 中国海洋污损苔虫生物学. 北京: 科学出版社, 2001. 347~352
5 Han H Y, Mcpheron B A. Molecular phylogenetic study of Tephritidae (Insect: Diptera) using partial sequences of the mitochondrial 16S ribosomal DNA. Mol Phylogenet Evol, 1997, 1: 17~32[DOI]
6 Stepien C A, Hubers A N, Skidmore J L. Diagnostic genetic markers and evolutionary relationships among invasive dreissenoid and corbculoid bivalves in North America: Phylogenetic signal from mitochondrial 16S rDNA sequences. Mol Phylogenet Evol, 1999, 13: 31~49 [DOI]
7 Dick M H, Herrera-Cubilla A, Jackson J B C. Molecular phylogeny and phylogeography of free-living Bryzoa (Cupuladriidae) from both sides of the Isthmus of Panama. Mol Phylogenet Evol, 2003, 27: 355~371[DOI]
8 Dick M H, Williams L P, Coggeshall-Burr M. Use of mitochondrial DNA sequences to investigate sister-group relationships among gymnolaematae bryozoans. In: Herrera C A, ed. Proceedings of the 11th International Bryozology Association Conference. Balboa: Smithsonian Tropical Research Institute, 2000. 197~210

9 李春香, 陆树刚, 杨群. 耳蕨属(鳞毛蕨科)的亚洲起源: 来自*rbcL*序列的证据. 科学通报, 2004, 49(9): 874~878[摘要] [PDF]
10 钟扬, 施苏华, 唐先华, 等. 红树科 6 属cpDNA和 nrDNA序列相对速率检验及分歧时间估计. 科学通报, 2000, 45(1): 40~45[PDF]
11 Hasegawa M, Kishino H, Yano Y. Man's place in Hominoidea as inferred from molecular clocks of DNA. J Mol Evol, 1987, 26: 132~147
12 Palumbi S R, Martin A, Romano S, et al. The Simple Fool's Guide to RCR. Honolulu: University of Hawaii, 1991
13 Higgins D G, Thompson J D, Gilbson T J. Using Clustal for multiple sequence alignments. In: Dolittle R F, ed. Methods in Enzymology. San Diego: Academic Press, 1996. 383~401
14 Todd J A. The central role of ctenostome in bryozoan phylogeny. In: Herrera C A, ed. Proceedings of the 11th International Bryozology Association Conference. Balboa: Smithsonian Tropical Research Institute, 2000. 104~135
15 Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. J Mol Evol, 1980, 16: 111~120[DOI]
16 Kimura S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis software. Bioinformatics, 2001, 17(2): 1244~1245[DOI]
17 Felsenstein J. PHYLIP(Phylogeny Inference Package), version 3.5c. Distributed by the author. Department of Genetics, University of Washington, Seatle, 1993
18 Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol Biol Evol, 1987, 4: 406~425
19 Fitch W M. Towards defining the course of evolution: Minimum change for a specific tree topology. System Zool, 1971, 20: 406~416
20 Tajima F. Simple methods for testing molecular clock hypothesis. Genetics, 1993, 135: 599~607
21 Jukes T H, Cantor C R. Evolution of protein molecules. In: Munro H N, ed. Mammalian Protein Metabolism, New York: Academic Press, 1969. 21~132
22 Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpaneezes. Mol Biol Evol, 1993, 10: 512~526
23 Taylor P D. Bryozoa. In: Benton M J, ed. The Fossil Record II. London: Chapman and Hall, 1993. 445~472
24 Gordon D P. Bryozoan frontal shield: Studies on Umbonulomorphs and impacts on classification. Zoologica Scripta, 1993, 22: 203~221
25 Vigot E. Mono- or polyphyletic evolution of cheilostomatous bryozoan divisions? Bulletin de la Societe des Sciences Naturelles de l'Ouest de France, Memoires Hores Series, 1991, 1: 505~522
26 Gorden D P, Grischenko A V. Bryozoan frontal shield: The type species of *Desmacystis*, *Rhamphostomella*, *Rhamphosmittinak*, *Rhamphostomellina*, and new genus *Artctonula*. Zoologica scripta, 1994, 23: 61~72
27 Gorden D P, Vigot E. The kenozooidal origin of the Ascophorine hypostegal coelom and associated frontal shield. In: Gorden D P, ed. Bryozoans in Space and Time. Proceedings of the 10th International Bryozoology Conference. New Zealand: Wellington, 1996. 89~107
28 Harmer S F. The Polyzoa of the siboga epedition. Part 2: Cheilostomata Anasca. Siboga Expedition, 1926, 28b: 181~501
29 Ryland J S. Bryozoans. London: Hutchinston University Library, 1970. 1~175
30 Hayward P J. Systematic notes on some British Ascophora (Bryozoa: Cheilostomata). Zool J Linn Soc, 1979, 66: 73~90
31 Boardman R S. General features of the class Stenolaemata. In: Boardman R S, Moore R C, et al. eds. Treatise on Inveterbrate Paleontology, Part G (Bryozoa, revised). New York: University Kanses Press, 1983. 49~137
32 Hasegawa M, Thorne J L, Kishino H. Time scale of eutherian estimated without assuming a constant rate of molecular evolution. Genes Genet Syst, 2003,78: 267~283[DOI]
33 Schubart C D, Diesel R, Hedges S B. Rapid evolution to terrestrial life in jamaician crabs. Nature, 1998, 393: 363~365[DOI]
34 Pohowsky R A. A Jurassic Cheilostome from England. In: Larwood G P, ed. Living and Fossil Bryozoa. London: Academic Press, 1973. 447~462
35 Cuffey R J. An improved classification, based on numerical-taxonomic analyses, for the higher taxa of entoproct and ectoproct bryozoans. In: Larwood G P, ed. Living and Fossil Bryozoa. London: Academic Press, 1973. 549~564
36 Jebram D. The importance of different growth directions in the Phylactolaemata and Gymnolaemata for reconstructing the phylogeny of the Bryozoa. In: Larwood G P, ed. Living and Fossil Bryozoa. London: Academic Press, 1973. 565~576
37 Larwood G P, Taylor P D. Early structural and ecological diversification in the Bryozoa. In: House M R, ed. Origin of Major Invertebrate Groups. London: Academic Press, 1979. 209~234
38 Mckinney F K, Jackson J B C. Bryozoan Evolution. Boston: Unwin Hyman Inc, 1989
39 Xia F S. Fenestrate bryozoa with avicularia-like structures from the middle Jurassic of north Tibet and the origin of cheilostome bryozoans. Acta Micropalaeontological Sinica, 2002, 19(3): 237~255

(2004-12-07 收稿, 2005-05-12 收修改稿)