•研究报告•

中国薄叶卷柏复合群的物种划分

张梦华^{1,2}, 张宪春^{1*}

1. 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; 2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 卷柏属(*Selaginella*)是石松类植物中最大的属,也是分类难度较大的类群之一。该属的物种划分主要基于形态特征,但许多近缘种在形态上很难区分。近年来,已有大量分子证据被用于各植物类群的分类学研究,但目前未发现一套适合卷柏属物种鉴定的分子标记。薄叶卷柏复合群(*S. delicatula* group)是卷柏属下鉴定较为困难的类群,包括了薄叶卷柏(*S. delicatula*)、黑顶卷柏(*S. picta*)和瓦氏卷柏(*S. wallichii*) 3个物种,主要分布于亚洲的热带和亚热带地区。为了探讨薄叶卷柏复合群内物种的亲缘关系和评估不同分子标记在卷柏属分类学研究中的应用价值,本研究对该复合群物种进行广泛取样,共收集到73个个体,并选取3个叶绿体基因(*rbcL*, *psbA*和*atpI*)和2个核基因(26S nrDNA和*pgiC*)片段进行系统树的构建及叶绿体单倍型分析。研究发现,基于叶绿体和核基因构建的系统发生关系存在冲突:叶绿体基因树上薄叶卷柏个体分为两个分支(A和B),薄叶卷柏B分支与薄叶卷柏A-*S. picta*分支呈姐妹关系,并且*rbcL*单倍型分析结果也表明薄叶卷柏A和B两个分支存在明显分化;而核基因结果则支持该复合群3个物种各自的单系性,其中,*S. delicatula*分支与*S. picta*分支为姐妹群,*S. wallichii*与*S. delicatula*-*S. picta*分支为姐妹关系。在对复合群分布区大量标本的观察以及野外群体调查的基础上,评估了植株茎和枝的分枝方式、孢子叶、营养叶(侧叶、中叶和腋叶)和孢子表面纹饰等形态性状的分类学价值。结果表明,薄叶卷柏A和B分支的样本仅在植株分枝方式和大孢子表面纹饰上存在差异,但无法依靠小孢子表面纹饰、孢子叶穗和营养叶形态等特征进行区分。基于现有证据,薄叶卷柏复合群至少可划分为薄叶卷柏、黑顶卷柏和瓦氏卷柏3种,但彻底澄清该复合群的物种划分还需要获取模式标本产地的材料和细胞学证据。最后,建议在未来卷柏属的分类学研究集中于该属分类复杂的复合群,结合使用形态学、细胞学、分子生物学(同时使用核基因和叶绿体分子标记)及地理分布等整合证据来进行物种划分。

关键词: 26S nrDNA; *pgiC*; 叶绿体分子标记; 石松类植物; 薄叶卷柏复合群

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619. doi: 10.17520/biods.2021273.

Zhang MH, Zhang XC (2021) Species delimitation of the *Selaginella delicatula* group in China. Biodiversity Science, 29, 1607–1619. doi: 10.17520/biods.2021273.

Species delimitation of the *Selaginella delicatula* group in China

Menghua Zhang^{1,2}, Xianchun Zhang^{1*}

1 State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

ABSTRACT

Aims: Species delimitation of *Selaginella* remains largely based on morphological characters, however, many closely related species are morphologically indistinguishable from each other. This study aims to (1) explore phylogenetic relationships within the *S. delicatula* group; and (2) evaluate the utility of nuclear and chloroplast DNA markers for the classification of *Selaginella*.

Methods: A total of 73 individuals were sampled, covering the geographical distribution and morphological variation of this group. We sequenced three chloroplast markers (*rbcL*, *psbA*, and *atpI*) and two nuclear markers (26S nrDNA and *pgiC*) to infer the phylogenetic relationships and haplotype network.

Results: We detected incongruence within *S. delicatula*-*S. picta* clade between chloroplast and nuclear phylogenies. The chloroplast dataset indicated *S. delicatula* is not monophyletic, with *S. delicatula* B sister to *S. delicatula* A-*S.*

收稿日期: 2021-07-09; 接受日期: 2021-11-03

基金项目: 国家植物标本资源库项目(E0117G1001)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zhangxc@ibcas.ac.cn

picta. In contrast, nuclear dataset discovered the monophyly of all three species, with *S. delicatula* sister to *S. picta* and *S. wallichii* sister to the *S. delicatula*-*S. picta* clade. Morphological characters, including main stem and branches, sporophylls, sterile leaves (ventral, dorsal, and axillary leaves) and spores were carefully observed and assessed. Morphological comparisons indicated that the samples of *S. delicatula* A and B clades are only distinct in branch patterns and the micromorphology of megaspores surface, not differential in morphology of leaves, strobili and microspores.

Conclusion: As a result of available evidence, three taxa were recognized in the *S. delicatula* group. It is necessary to perform further studies with cytological evidence and more samples of *S. delicatula* from type locality in order to obtain a better understanding of the species delimitation. We suggested that the taxonomic work of *Selaginella* should focus on the closely related species and multiple lines of evidence should be considered, including morphological characters, cytological evidence, molecular data (nuclear and chloroplast DNA markers), and geographical distribution.

Key words: 26S nrDNA; *pgiC*; chloroplast markers; lycophytes; *Selaginella delicatula* group

卷柏属(*Selaginella*)是卷柏科仅有的1个属,约750种,是石松类中包含物种最多、分类最为复杂的类群。该属植物广泛分布于世界各地,以热带和亚热带为多样性中心(Jermy, 1986; Zhang et al, 2013; Weststrand & Korall, 2016a)。最新的分子系统学研究结果将卷柏属划分为7个亚属:欧石楠状亚属(新拟)(*S. subg. Ericetorum*)、星状中柱亚属(新拟)(*S. subg. Exaltatae*)、有节亚属(新拟)(*S. subg. Gymnogynum*)、鳞叶亚属(新拟)(*S. subg. Lepidophyllae*)、石松状亚属(新拟)(*S. subg. Rupestrae*)、卷柏亚属(新拟)(*S. subg. Selaginella*)和显穗亚属(新拟)(*S. subg. Stachygynandrum*) (Weststrand & Korall, 2016b; Zhang HR et al, 2020)。卷柏属最大的亚属是显穗卷柏亚属(*S. subg. Stachygynandrum*),世界广布,约600多种,该亚属包括了传统形态分类系统中的异穗亚属(*S. subg. Heterostachys*)和同穗亚属(*S. subg. Stachygynandrum*)成员(Weststrand & Korall, 2016b)。据《中国植物志》和*Flora of China*记载,中国分布有卷柏属植物70余种(张宪春, 2004; Zhang et al, 2013),其中60余种属于显穗亚属(*S. subg. Stachygynandrum*)。近年来不断有新种和新记录种(Zhang, 2018)被报道,如彩虹卷柏(*S. iridescens*) (Yang et al, 2021)、滇中卷柏(*S. dianzhongensis*) (Shalimov et al, 2019)、拟鞘舌卷柏(*S. subvaginata*) (Zhang XC et al, 2020)、维明卷柏(*S. chuweimingii*) (Zhou et al, 2015)和桂海卷柏(*S. guihaiia*) (Wu et al, 2017),目前中国卷柏属物种已超过80种。

卷柏属为小型叶草本植物,形态特征细微,种间形态性状存在一定交叉,仅基于传统分类学方法很难确定物种的界限。近年来,随着分子测序技术

的迅猛发展,已有大量分子证据被用于各植物类群的分类学研究(Li et al, 2019; Shao et al, 2020; Bog et al, 2020),但目前还未发现一套适合卷柏属物种鉴定的分子标记。叶绿体*rbcL*基因片段是最常使用的分子标记,在卷柏属多用于解析亚属间的系统发生关系(Korall et al, 1999; Korall & Kenrick, 2002; Zhou & Zhang, 2015; Weststrand & Korall, 2016a)。Weststrand和Korall (2016a)以及Zhou和Zhang (2015)基于*rbcL*基因构建的系统发生树中,均存在同种的不同个体不聚为单系的情况,如小卷柏复合群(*S. helvetica* group)、薄叶卷柏复合群(*S. delicatula* group)和单子卷柏复合群(*S. monospora* group)等,其可能的原因除了样品的错误鉴定外,还因为*rbcL*基因所提供的变异位点数量不足以用于区分卷柏属近缘物种。Korall和Kenrick (2004)对比分析了卷柏属的核基因26S nrDNA和叶绿体基因*rbcL*,结果表明这两个基因都具有较快的碱基替换速率,但26S nrDNA在此后的研究中被忽略了。Zhou和Zhang (2015)曾扩增了卷柏属的ITS1-5.8S-ITS2片段,但只有5.8S和部分ITS2片段在种间得以成功比对(共约200 bp)。武玉东^①使用ITS2片段构建了红枝卷柏复合群(*S. sanguinolenta* group)的系统发生关系,但分辨率很低。Weststrand和Korall (2016a)首次对卷柏属的单拷贝核基因*pgiC*和*SQD1*进行了测序分析,但由于在许多物种中存在数据缺失,还难以评估这两个核基因在卷柏属分类学研究上的应用价值。Shalimov等(2019)在泛喜马拉雅地区卷柏属异形孢子叶物种的分类修订工作中,使用3个叶绿体基因片段(*atpI*、*psbA*和*rbcL*)的串联分析,获得80%的物

① 武玉东 (2017) 尼泊尔卷柏属的分类. 硕士学位论文, 中国科学院植物研究所, 北京.

种鉴定成功率。最近, Kang等(2020)和Zhang HR等(2020)在卷柏属质体基因组进化研究中取得了突破性进展, 发现该属植物的质体基因组具有异常高的GC含量、碱基替换速率和大量的RNA编辑等特点, 这些因素导致仅凭质体基因组无法清晰地揭示卷柏属物种间的真实关系。

薄叶卷柏复合群隶属于卷柏属显穗亚属, 包括了瓦氏卷柏(*S. wallichii*)、黑顶卷柏(*S. picta*)和薄叶卷柏(*S. delicatula*) 3个物种。该复合群物种主茎直立, 羽状分枝, 侧枝上小枝排列成整齐的一回羽状, 叶全缘或先端略有微齿(张宪春, 2004)。我们通过CVH (<https://www.cvh.ac.cn/>)、GBIF (<https://www.gbif.org/>)和Global Plants on JSTOR (<https://plants.jstor.org/>)等网站查阅了国内外的标本, 发现部分标本存在鉴定错误, 且物种形态(尤其是分枝方式)的变异更为复杂。本研究旨在以薄叶卷柏复合群为研究对象, 整合形态学和分子学证据研究薄叶卷柏复合群内物种的亲缘关系和评估不同分子标记在卷柏属分类学研究中的应用价值, 探讨目前卷柏属分类学研究存在的问题及解决办法。

1 材料与方法

1.1 取样

本研究共包括薄叶卷柏复合群73个个体, 其中63个个体为本研究收集到的材料, 材料主要采自中国(重庆、福建、贵州、广东、广西、海南、湖南、四川、西藏、云南和台湾)及其邻近地区(越南和缅甸), 其余10个个体数据从NCBI中获取, 具体信息见附录1。另外根据前人研究, 选取与该复合群关系较近的双沟卷柏(*S. bisulcata*)为外类群。

1.2 DNA提取、PCR扩增和测序

使用植物基因组DNA提取试剂盒(Tiagen Biotech, 北京)对收集到的硅胶干燥叶和腊叶标本碎片进行总DNA提取。对3个叶绿体片段(*atpI*、*psbA*和*rbcL*), 2个核基因片段(26S nrDNA和*pgiC*)进行PCR扩增, 引物见表1。PCR反应体系(25 μ L)包括: 1 μ L DNA (浓度约30 ng/ μ L), 2.5 μ L dNTPs, 2.5 μ L 10 $\times$ Ex Taq缓冲液, 正反向引物各1 μ L, 0.15 μ L Taq聚合酶, 16.85 μ L ddH₂O。叶绿体基因片段的PCR扩增程序同Shalimov等(2019), 核基因片段26S nrDNA和*pgiC*扩增程序为: 95 $^{\circ}$ C预变性5 min; 95 $^{\circ}$ C变性30 s, 55 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸1.5 min, 循环反应35次后

72 $^{\circ}$ C延伸7 min。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测合格后送至北京美吉桑格生物医药科技有限公司进行测序。

1.3 分子数据处理和分析

利用Sequencher v. 5.4.5 (Gene Codes, Ann Arbor, MI, USA)软件对正反向引物所测序列进行校正和拼接。将本研究所测序列与NCBI数据库下载的序列比对, 使用MUSCLE v.3.8.31 (Edgar, 2004)软件进行比对, 再通过PhyDE v.0.9971 (Muller et al, 2010)手动校准。序列比对完成后, 首先对5个基因片段进行单基因建树, 然后将3个叶绿体基因片段和2个核基因片段分别进行串联建树。利用最大似然法(maximum likelihood, ML)和贝叶斯推断法(Bayesian inference, BI)对上述数据分别进行系统发生分析, 利用jModelTest v.0.1检测最佳核苷酸替换模型(Posada, 2008)。ML分析使用RAxML v.7.2.6 (Stamatakis, 2006)软件运行, 使用GTR + G模型, 进行1,000次bootstrap搜索; BI分析使用软件MrBayes v.3.2.6 (Ronquist et al, 2012), 选用GTR + I + G模型, 运行3,000,000代马尔科夫链蒙特卡洛(MCMC)迭代搜索, 每1,000代取一棵树, 舍弃前20%取样树, 最终得到一致树(consensus tree)。树文件通过FigTree (Rambaut, 2014)软件进行可视化。

初步分析的数据包括了Weststrand和Korall (2016a)研究中采自接近薄叶卷柏模式产地的巴布亚新几内亚材料。该样品形成一独立分支, 但通过进一步考证该数据来源的凭证标本(W. Takeuchi 16765, L), 发现为错误鉴定, 所以该数据在后续研究中被移除。此外, Weststrand和Korall (2016a)研究中的马来西亚半岛的薄叶卷柏也被删除, 原因是未查询到数据来源的凭证标本, 不能保证其数据的准确性。本研究新测得薄叶卷柏复合群61个个体的叶绿体*rbcL*基因, 另从GenBank下载了11个, 共计72个个体, 比对序列长977 bp; 测得50个个体的叶绿体*psbA*基因, 比对序列长775 bp; 13个个体的叶绿体*atpI*基因, 比对序列长328 bp; 29个个体的核基因26S nrDNA, 比对序列长1,098 bp; 新测定16个个体的核基因*pgiC*, 另从GenBank下载了2个, 共计18个个体, 比对序列长679 bp。其中*atpI*基因数据存在大量缺失是因为前期进行卷柏属DNA barcoding研究时发现该序列较短, 有效信息位点少且分辨率低, 所以后续没有对其进行扩增。核基因数据的缺失主

表1 用于扩增和测序的引物

Table 1 Primers used in amplification and sequencing

分子标记 Marker	引物 Primer	正反向 Direction	序列 Sequence (5'-3')	参考文献 Reference
26S	26S 60F	正向 Forward	TTTAAGCATATCACTAAGCGGAGG	Korall & Kenrick (2004)
26S	26S 380F	正向 Forward	CCGCGAGGGAAAGATGAAAAGGAC	Korall & Kenrick (2004)
26S	26S 1160R	反向 Reverse	CCAGTTCTGCTTACCAAAAATGGCCC	Korall & Kenrick (2004)
<i>pgiC</i>	SWPGIC-1666F	正向 Forward	VTTYGCTTTTYTGGGAYTGGG	Weststrand & Korall (2016a)
<i>pgiC</i>	SWPGIC-2523R	反向 Reverse	GTCGTGGTTRCTSACAATCTC	Weststrand & Korall (2016a)
<i>rbcL</i>	rbcL-192F	正向 Forward	CACGTGGACTACCGTTTGA	Shalimov et al (2019)
<i>rbcL</i>	rbcL-1324R	反向 Reverse	TACCCTCAAGAGCGGGATCA	Shalimov et al (2019)
<i>psbA</i>	psbA-169F	正向 Forward	CCRGTAGATATTGACGGTATTC	Shalimov et al (2019)
<i>psbA</i>	psbA-1026R	反向 Reverse	ATCTRGWGGGAAGTTGTGAGC	Shalimov et al (2019)
<i>atpI</i>	atpI-119F	正向 Forward	CYCAGGTTTCATGGACAAGTAC	Shalimov et al (2019)
<i>atpI</i>	atpI-540R	反向 Reverse	GRGTATYGGGGTTGGTTG	Shalimov et al (2019)

26S 380F + 26S 1160R扩增成功率大于26S 60F + 26S 1160R。

Compared with 26S 60F + 26S 1160R, 26S 380F + 26S 1160R is the most successful primer pair.

图1 基于核基因26S nrDNA + *pgiC*串联数据矩阵构建的薄叶卷柏复合群最大似然树。最大似然值和后验概率值分别标注在分支上(ML/PP), (-)表示无支持率。

Fig. 1 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the nuclear dataset (26S nrDNA + *pgiC*). Maximum parsimony bootstrap values and Bayesian posterior probabilities are shown on the branches (ML/PP). A dash (-) indicates no support value.

图2 基于叶绿体基因 $atpI + psbA + rbcL$ 串联数据矩阵构建的薄叶卷柏复合群最大似然树。最大似然值和后验概率值分别标注在分支上(ML/PP), (-)表示无支持率。

Fig. 2 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the chloroplast dataset ($atpI + psbA + rbcL$). Maximum parsimony bootstrap values and Bayesian posterior probabilities are shown on the branches (ML/PP). A dash (-) indicates no support value.

要是前期样本的筛选、PCR扩增失败和删除测序结果为套峰的样本所导致。

1.4 叶绿体单倍型谱系分析

选取数据最多的叶绿体基因 $rbcL$ 进行单倍型谱系分析, 将比对好的序列导入DnaSP v6 (Rozas et al, 2017)进行单倍型分析, 使用Network v.10.1.0.0 (Bandelt et al, 1999)中的Median-Joining算法来构建单倍型之间的谱系图。

1.5 形态学研究

研究考证了GBIF (<https://www.gbif.org/>)、CVH (<https://www.cvh.ac.cn/>)、Global Plants (<https://plants.jstor.org/>)等网站上的数字化标本, 包括每个物种的模式标本, 并开展了大量野外考察, 观察了其形态变异。重点对该复合群植物的植株分枝方式、孢子叶和营养叶形态(侧叶、中叶和腋叶)、孢子表面纹饰等特征进行观察。利用Nikon SMZ 1000和Leica S9D体视镜对孢子叶穗和营养叶进行观察和拍摄, 营养叶选取生长于次级分枝中下部的成熟叶片。利用扫描电子显微镜Hitachi S-4800 (Hitachi, Tokyo, Japan)对大小孢子纹饰进行观察和拍摄。另外, 对59份标本(每个物种观测9–28份标本)的分枝方式(0.

二回羽状分枝; 1. 三回羽状分枝; 2. 二回羽状分枝, 基部三回分叉)、二回分枝长、主茎直径、二回分枝小羽片对数、中叶是否呈白色(0. 否; 1. 是)、分枝顶端部分的主茎是否呈黑色(0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色)等形态数据进行统计(附录2), 测量分枝相关形态数据时选择植株中部分枝。利用R v.4.0.2 (R Core Team, 2020)对观测的形态数据进行主成分分析(PCA)。

2 结果

2.1 系统发生关系分析

基于ML和BI方法构建的系统发生树拓扑结构基本一致, 仅展示了ML树(图1和图2), 单基因树见附录3–7。基于核基因(26S nrDNA + $pgiC$)数据集构建的系统发生树(图1)支持瓦氏卷柏为单系分支(ML = 100; PP = 1.0), 与薄叶卷柏–黑顶卷柏分支为姐妹关系; 黑顶卷柏为单系, 但仅获得中度支持(ML = 72); 薄叶卷柏也形成一个单系, 种内形成A和B两个亚分支(以下用薄叶卷柏A和薄叶卷柏B代表这两个分支), 其中, 薄叶卷柏A分支具中等强度支持率(ML = 75; PP = 0.98), B分支具高支持率(ML

图3 基于叶绿体基因 $rbcL$ 构建的薄叶卷柏复合群(薄叶卷柏*Selaginella delicatula*, 瓦氏卷柏*S. wallichii*和黑顶卷柏*S. picta*)单倍型网络关系(A)和地理分布(B)。

Fig. 3 Chloroplast $rbcL$ gene haplotype network of the *Selaginella delicatula* group (A) and their distributions (B). CQ, Chongqing; FJ, Fujian; GD, Guangdong; GX, Guangxi; GZ, Guizhou; HB, Hubei; HK, Hong Kong; HN, Hainan; HuN, Hunan; SC, Sichuan; TW, Taiwan; XZ, Xizang; YN, Yunnan; MY, Myanmar; VT, Vietnam; ML, Malaysia.

= 95; PP = 1.0)。叶绿体基因(*rbcL* + *psbA* + *atpI*)系统发生树(图2)则支持薄叶卷柏A与黑顶卷柏为姐妹关系,与核基因树存在拓扑结构冲突。

2.2 叶绿体单倍型谱系关系

比对73个个体的叶绿体*rbcL*序列,长度为977 bp,共包含24种单倍型,其中外类群1种,单倍型网络关系及地理分布如图3所示。薄叶卷柏A和B之间的单倍型分化程度非常明显,其中薄叶卷柏A和黑顶卷柏的亲缘关系较近。薄叶卷柏A有5种单倍型,其中单倍型H4数量最多且分布最广,主要分布于贵州-湖南-福建以北,少量分布于华南地区。薄叶卷柏A的单倍型H3与瓦氏卷柏相连,在地理分布上同瓦氏卷柏邻近。薄叶卷柏B有2种单倍型,华南地区以H1单倍型为主。瓦氏卷柏有8种单倍型,其中华南地区共享H8单倍型;云南有4种单倍型,越南与我国云南共享单倍型H7;缅甸有3种单倍型与我国云南共享单倍型H20;单倍型H21为马来西亚特有。黑顶卷柏有8种单倍型,其中我国云南和越南共享单倍型H14和H15,我国西藏和缅甸共享单倍型H5。

2.3 形态学分析

薄叶卷柏复合群的孢子叶穗四棱形,孢子叶紧凑排列,全缘,略具白边,该性状无法作为该复合群物种鉴别特征(图4)。黑顶卷柏的植株较其他两种明显强壮,主茎直径2.5–5.0 mm (另外两种主茎直径1–3 mm),叶质较厚,在热带雨林中有时具花叶现象,其中叶呈白色,可以作为其鉴别特征(图4和图5)。根据营养叶形态很难鉴别瓦氏卷柏与薄叶卷柏,但薄叶卷柏B的分枝方式为三回羽状分枝,小枝不规则(图5B),可以与薄叶卷柏A(图5A)和瓦氏卷柏(图5C)区分,后两者的分枝方式通常为整齐的二回羽状分枝,或基部三回分叉。

孢子表面纹饰显示(图6),3个物种的小孢子远极面密布短棒状纹饰,棒上密布小刺;瓦氏卷柏、黑顶卷柏和薄叶卷柏B的小孢子近极面为疣状纹饰,具小刺;薄叶卷柏A小孢子近极面具与远极面相同

的纹饰。所有物种大孢子表面具瘤状纹饰,孢子表面为极小而密集的蜂窝状,具小刺,但薄叶卷柏B大孢子表面无蜂窝状结构,具小刺。

基于6个形态性状进行的主成分分析结果见图7。前两个主成分累积贡献率为55.69%,其中PC1主成分的贡献率为32.54%,PC2主成分的贡献率为23.15%。PCA分析结果显示瓦氏卷柏主要是由PC2主成分将其与另外两个物种分开。PC2主成分中权重值最大的形态特征为分枝方式,其次为二回分枝小羽片对数,该结果表明这两个形态特征对瓦氏卷柏的鉴定较为重要,但薄叶卷柏和瓦氏卷柏存在部分重叠。薄叶卷柏和黑顶卷柏在PC1轴上距离较远但部分存在重叠,该主成分中权重值最大的为主茎直径,另外,二回分枝长、二回分枝小羽片对数、中叶是否呈白色、分枝顶端的主茎是否呈黑色等形态特征的权重值均> 0.7。

3 讨论

3.1 薄叶卷柏复合群的物种划分问题

本研究对薄叶卷柏复合群进行了广泛的取样,并对叶绿体和核基因片段进行了测序分析。核基因分析结果支持薄叶卷柏复合群为3个单系分支;但叶绿体基因分析结果支持黑顶卷柏嵌入薄叶卷柏分支内,与Weststrand和Korall (2016a)基于叶绿体*rbcL*基因构建的系统发生树结果一致。通常用于解释核质冲突现象的有杂交、基因渐渗或不完全谱系分选。我们在进行核基因*pgiC*测序时,发现薄叶卷柏A的样本存在套峰和简并碱基(附录8),据此推测薄叶卷柏A可能是杂交产生的物种,薄叶卷柏B和黑顶卷柏可能为其亲本,但该推测还需用细胞学证据和克隆实验来验证。

本研究还查阅了大量标本,扩展了前人对该类群物种形态变异范围的认识。基于现有证据,薄叶卷柏复合群至少可划为3种(见检索表),但彻底澄清该复合群的物种划分还需要获取模式标本产地的

薄叶卷柏复合群检索表如下:

1. 主茎粗壮,直径约2.5–5 mm,上部干后变黑;中叶有时呈白色.....黑顶卷柏*S. picta*
1. 主茎较细,直径约1–3 mm,干后不变黑或罕见变黑;中叶不呈白色。
 2. 植株三回羽状分枝或二回羽状分枝基部三回分叉;中叶先端交叉.....薄叶卷柏*S. delicatula*
 2. 植株二回羽状分枝,小枝整齐规则排列,基部少分叉;中叶先端平行.....瓦氏卷柏*S. wallichii*

图4 薄叶卷柏复合群孢子叶穗和营养叶片形态。(A–D)黑顶卷柏, 西藏, B. S. Li & S. Z. Cheng 02630 (PE); (E–H)瓦氏卷柏, 云南, X. C. Zhang & S. Y. Dong 1421 (PE); (I–L)薄叶卷柏B, 海南, S. Y. Dong 826 (PE); (M–P)薄叶卷柏A, 湖南, Y. H. Yan 7765 (PE); (A, E, I, M)孢子叶穗, 标尺 = 1 mm; (B, F, J, N)侧叶; (C, G, K, O)中叶; (D, H, L, P)腋叶。标尺 = 0.2 mm。

Fig. 4 Strobili and sterile leaves of *Selaginella delicatula* group. (A–D) *S. picta*, Xizang, B. S. Li & S. Z. Cheng 02630 (PE); (E–H) *S. wallichii*, Yunnan, X. C. Zhang & S. Y. Dong 1421 (PE); (I–L) *S. delicatula* B, Hainan, S. Y. Dong 826 (PE); (M–P) *S. delicatula* A, Hunan, Y. H. Yan 7765 (PE). (A, E, I, M) Strobili, Scale bars = 1 mm; (B, F, J, N) Ventral leaves; (C, G, K, O) Dorsal leaves; (D, H, L, P) Axillary leaves. Scale bars = 0.2 mm.

图5 薄叶卷柏复合群腊叶标本。(A)薄叶卷柏A, 中国贵州, X. C. Zhang et al. 6849 (PE); (B)薄叶卷柏B, 靠近新几内亚的Pisang岛, Gaudichaud 13 (Lectotype, G); (C)瓦氏卷柏, 马来西亚槟榔屿和新加坡, Dr. Wallich 128 (Isotype, E); (D)黑顶卷柏, 印度, Griffith sn (Syntype, K)。

Fig. 5 Specimens of *Selaginella delicatula* group. (A) *S. delicatula* A, Guizhou, X. C. Zhang et al. 6849 (PE); (B) *S. delicatula* B, Pisang Island near New Guinea, Gaudichaud 13 (Lectotype, G); (C) *S. wallichii*, Penang and Singapore, Dr. Wallich 128 (Isotype, E); (D) *S. picta*, India, Griffith sn (Syntype, K).

图6 薄叶卷柏复合群孢子形态。(A-E)薄叶卷柏A (A-C大孢子, D-E小孢子), 贵州, X. C. Zhang et al 6849 (PE); (F-K)薄叶卷柏B (F-I大孢子, J-K小孢子), 海南, X. C. Zhang 2867 (PE); (L-O)黑顶卷柏(L-M大孢子, N-O小孢子), 云南, Z. Y. Li & R. Wei WR295 (PE); (P)瓦氏卷柏(大孢子), 广西, Shiwandashan Exped. 050 (PE); (Q-R)瓦氏卷柏(小孢子), 广西, X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7882 (PE)。

Fig. 6 Spores morphology of *Selaginella delicatula* group. (A-E) *S. delicatula* A (A-C Megaspores, D-E Microspores), Guizhou, X. C. Zhang et al. 6849 (PE); (F-K) *S. delicatula* B (F-I Megaspores, J-K Microspores), Hainan, X. C. Zhang 2867 (PE); (L-O) *S. picta* (L-M Megaspores, N-O Microspores), Yunnan, Z. Y. Li & R. Wei WR295 (PE); (P) *S. wallichii* (Megaspores), Guangxi, Shiwandashan Exped. 050 (PE); (Q-R) *S. wallichii* (Microspores), Guangxi, X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7882 (PE).

图7 基于薄叶卷柏复合群(薄叶卷柏 *Selaginella delicatula*, 瓦氏卷柏 *S. wallichii*和黑顶卷柏 *S. picta*) 6个形态特征的主成分分析

Fig. 7 Principal components plots based on six morphological characters of the *Selaginella delicatula* group

材料和细胞学证据。本研究与《中国植物志》和 *Flora of China* 中对该复合群的物种划分方案一致(张宪春, 2004; Zhang et al, 2013), 但我们的研究扩大了该复合群物种的形态变异范围同时认识到了该复合群物种划分中存在的问题。未来可以在群体水平上获取更多遗传信息位点, 并结合群体遗传学、形态学和细胞学等整合证据对该复合群进行物种划分。

黑顶卷柏的模式标本为整齐的二回羽状分枝, 但我们在观察过程中发现分布于西藏、云南和海南等多地的标本存在三回羽状分枝或基部三回分叉。主成分分析和形态观察结果表明, 鉴别该种的组合特征为植株粗壮、主茎先端黑色、叶质较厚、部分分枝上的中叶呈白色。瓦氏卷柏为整齐的二回羽状分枝, 有时二回小枝基部分叉, 该物种模式标本采自马来西亚, 叶绿体基因树结果显示中国分布的样本和模式产地样本存在一定遗传分化, 还需增加东南亚地区的取样进行更深入研究。薄叶卷柏的模式标本为三回羽状分枝(图5B), 薄叶卷柏B具相同分枝方式, 且该分支的样本来自海南、香港、云南(南部)和广西(南部)等马来植物区系, 与薄叶卷柏模式产地更为接近; 但薄叶卷柏A分布更靠北且分枝方式为整齐的二回羽状或基部三回分叉, 形态与瓦氏卷柏更相似(图5A), 此性状差异在《云南植物志》中有记载(朱维明, 2006)。薄叶卷柏A和B虽然在分枝方式、大孢子纹饰和根据叶绿体片段构建的系统树间存在差异(图5A、B; 图6C、H、I), 但在叶形态

和小孢子表面纹饰类型无明显分化(图4I–P; 图6B、E、G、K), 核基因分析结果也支持它们为姐妹分支。薄叶卷柏A和B分支之间的关系还需在群体水平上获取更多遗传信息位点进一步研究。

物种是生物多样性的基本单元, 正确的物种划分是生命科学研究和生物多样性保护的基础。卷柏属是陆地维管植物中起源最为古老的石松类最大的类群, 具有高度丰富的物种多样性和特殊的进化机制。目前卷柏属分类突出的问题是许多地区还没有完整的物种记录, 大量复合群的物种划分缺乏研究。对卷柏属物种的深入研究, 不仅有助于我们更好地理解卷柏属植物的演化, 还能够为生物多样性编目及物种多样性的保护提供理论依据。

3.2 叶绿体和核基因分子标记在卷柏属中的应用

由于独特的遗传方式和结构的保守性, 质体基因组已被广泛用于重建不同植物类群的系统关系和分类处理(Jansen et al, 2007; Moore et al, 2007; Ye et al, 2020; Wei et al, 2021)。也有大量研究表明, 杂交、基因渐渗和不完全谱系分选等因素会造成基于叶绿体分子标记构建的系统发生关系与核基因存在冲突(Rieseberg & Soltis, 1991; Ma et al, 2017; Liu et al, 2020), “核质冲突”通常是分子系统学和分类学研究遇到的难题。目前用于卷柏属分类学研究的多为叶绿体基因分子标记, 极少使用核基因分子标记。

卷柏属质体基因组的研究取得了一系列进展, Zhang等(2019a, b)和Kang等(2020)发现卷柏科不同分支中的质体基因组结构存在高度变异, 其重复区存在反向互补(inverted repeats, IR)和同向互补(direct repeats, DR), 具有DR结构的质体基因组可以通过DR介导产生不同的亚结构。另外, 朱艳梅^①的研究还揭示了中华卷柏(*S. sinensis*)的质体基因组具有高度动态的结构, 多种构像共存。卷柏属质体基因组不仅结构存在高度变异, 还存在极端的碱基替换速率、非同寻常的高GC含量和高RNA编辑位点数量, 这些对叶绿体系统发生关系的稳定性产生了一定影响(Korall & Kenrick, 2004; Du et al, 2020; Zhang HR et al, 2020)。Du等(2020)验证了卷柏科质体基因组的RNA编辑位点会影响其系统发生拓扑

① 朱艳梅 (2019) 石松类植物中华卷柏的质体基因组研究. 硕士学位论文, 中国科学院植物研究所, 北京.

结构。另外, Zhang等(2021)的研究表明了小卷柏复合群内存在杂交现象, 而且叶绿体基因分子标记不支持形态物种的划分。综上所述, 如果仅将叶绿体基因分子标记应用于卷柏属的系统发生或者分类学研究中, 可能得到一些误导性的结果。

虽然有研究尝试开发核基因分子标记应用于卷柏属的系统发生和分类学研究中, 但目前开发的核基因*pgiC*和*SQDI*在卷柏属类群中都具有一个缺点, 即引物不具通用性, 扩增成功率低。在 Weststrand和Korall (2016a)的研究中, 核基因*pgiC*和*SQDI*数据存在大量缺失。目前, 核基因26S nrDNA在我们研究的类群中扩增成功率最高, 但该基因为多拷贝, 且高度一致性进化(Gerbi, 1986), 不能像单/低拷贝基因一样初步鉴别物种是否存在杂交等现象。需要注意的是, 我们目前仅对卷柏属有限的类群进行了26S nrDNA的扩增, 该引物的通用性还需在更多类群中进行测试。未来研究还需开发更具通用性的单/低拷贝核基因引物。

相较于核基因, 在卷柏属类群中, 叶绿体基因最大的优点就是易扩增。在DNA模板质量优良的情况下, 叶绿体基因片段*rbcL*、*psbA*和*atpI*引物在卷柏属类群中扩增成功率可以达到100%。但由于存在杂交和基因渐渗等现象, 以及快速辐射演化产生的类群, 叶绿体基因在卷柏属的系统发生研究中还存在很多局限性。另外, 卷柏属质体基因组的结构存在高度变异, 极端的碱基替换速率、非同寻常的高GC含量和高RNA编辑位点数量等特征, 会扰乱物种间真实的系统发生关系。建议在未来卷柏属的研究中, 应结合使用叶绿体和核基因分子标记来探讨其分类学问题。

3.3 卷柏属分类学研究存在的问题及对策

目前, 中国卷柏属分类学研究仍是一个难题, 主要面临的挑战和解决方法包括以下几点: (1)卷柏属为小型叶植物, 多数形态特征变异存在于细胞水平而非组织水平, 要充分观察这些特征必须使用显微设备(Buck, 1986), 而中国卷柏属物种的模式标本80%以上保存于国外标本馆, 虽然标本数字化已经普及, 但现有的分辨率很难观察清楚卷柏属植物的具体形态特征。建议未来在发表与卷柏属分类学相关研究成果时应提供清晰的形态特征图, 包括营养叶(侧叶、中叶和腋叶)、孢子叶穗和大小孢子表面纹饰。(2)卷柏属类群分布范围广, 采样覆盖度存

在局限性, 且形态高度变异, 种间种内形态变异存在严重交叉, 难以区分。因此在取样上每个物种应尽可能包含多个个体, 以确保样本具有足够的物种地理分布和形态变异代表性。(3)缺乏低成本、易获取并在整个属内可广泛应用的分子标记用于解决卷柏属分类学问题。建议未来工作重点集中于卷柏属分类复杂的复合群, 并联合使用叶绿体和核基因分子标记。同时, 在使用NCBI等数据库中的数据时, 需核对数据来源的凭证标本, 确保数据的准确性。

ORCID

张梦华 <https://orcid.org/0000-0001-5326-6994>

张宪春 <https://orcid.org/0000-0003-3425-1011>

参考文献

- Bandelt HJ, Forster P, Röhl A (1999) Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16, 37–48.
- Bog M, Sree KS, Fuchs J, Hoang PTN, Schubert I, Kuever J, Rabenstein A, Paolacci S, Jansen MAK, Appenroth KJ (2020) A taxonomic revision of *Lemna* sect. *Uninerves* (Lemnaceae). *Taxon*, 69, 56–66.
- Buck WR (1986) A new species of *Selaginella* section *Articulatae* (Selaginellaceae) from Paraguay. *Brittonia*, 38, 45–47.
- Du XY, Lu JM, Li DZ (2020) Extreme plastid RNA editing may confound phylogenetic reconstruction: A case study of *Selaginella* (lycophytes). *Plant Diversity*, 42, 356–361.
- Edgar RC (2004) MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32, 1792–1797.
- Gerbi SA (1986) The evolution of eukaryotic ribosomal DNA. *Biosystems*, 19, 247–258.
- Jansen RK, Cai ZQ, Raubeson LA, Daniell H, Depamphilis CW, Leebens-Mack J, Müller KF, Guisinger-Bellian M, Haberle RC, Hansen AK, Chumley TW, Lee SB, Peery R, McNeal JR, Kuehl JV, Boore JL (2007) Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms and identifies genome-scale evolutionary patterns. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 104, 19369–19374.
- Jermey AC (1986) Subgeneric names in *Selaginella*. *Fern Gazette*, 13, 117–118.
- Kang JS, Zhang HR, Wang YR, Liang SQ, Mao ZY, Zhang XC, Xiang QP (2020) Distinctive evolutionary pattern of organelle genomes linked to the nuclear genome in *Selaginellaceae*. *The Plant Journal*, 104, 1657–1672.
- Korall P, Kenrick P (2002) Phylogenetic relationships in *Selaginellaceae* based on *rbcL* sequences. *American Journal*

of Botany, 89, 506–517.

- Korall P, Kenrick P (2004) The phylogenetic history of Selaginellaceae based on DNA sequences from the plastid and nucleus: Extreme substitution rates and rate heterogeneity. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 31, 852–864.
- Korall P, Kenrick P, Therrien JP (1999) Phylogeny of Selaginellaceae: Evaluation of generic/subgeneric relationships based on *rbcL* gene sequences. *International Journal of Plant Sciences*, 160, 585–594.
- Li YC, Wen J, Ren Y, Zhang JQ (2019) From seven to three: Integrative species delimitation supports major reduction in species number in *Rhodiola* section *Trifida* (Crassulaceae) on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Taxon*, 68, 268–279.
- Liu BB, Campbell CS, Hong DY, Wen J (2020) Phylogenetic relationships and chloroplast capture in the *Amelanchier-Malacomeles-Peraphyllum* clade (Maleae, Rosaceae): Evidence from chloroplast genome and nuclear ribosomal DNA data using genome skimming. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 147, 106784.
- Ma XG, Sun WG, Zhu WD, Sun H (2017) Resolving the phylogenetic relationships and evolutionary history of the East Asian endemic genus *Rodgersia* (Saxifragaceae) using multilocus data. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 25, 20–28.
- Moore MJ, Bell CD, Soltis PS, Soltis DE (2007) Using plastid genome-scale data to resolve enigmatic relationships among basal angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, 104, 19363–19368.
- Muller K, Muller J, Quandt D (2010) PhyDE—Phylogenetic Data Editor, version 0.9971. <http://www.phyde.de/docu/docu.html>. (accessed on 2017-06-01)
- Posada D (2008) jModelTest: Phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25, 1253–1256.
- R Core Team (2020) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing: Vienna. <https://www.R-project.org/>. (accessed on 2021-04-21)
- Rambaut A (2014) FigTree, Version 1.4.2. <https://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>. (accessed on 2018-06-06)
- Rieseberg LH, Soltis D (1991) Phylogenetic consequences of cytoplasmic gene flow in plants. *Evolutionary Trends in Plants*, 5, 65–84.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP (2012) MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology*, 61, 539–542.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-Delbarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A (2017) DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 3299–3302.
- Shalimov AP, Zhu YM, Zhang MH, Zhang XC (2019) *Selaginella dianzhongensis* (Selaginellaceae), a new spike-moss from China. *PhytoKeys*, 118, 75–87.
- Shao YZ, Chen Y, Zhang XC, Xiang QP (2020) Species delimitation and phylogeography of *Abies delavayi* complex: Inferred from morphological, molecular, and climatic data. *Journal of Systematics and Evolution*, 58, 234–246.
- Stamatakis A (2006) RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.
- Wei R, Yang J, He LJ, Liu HM, Hu JY, Liang SQ, Wei XP, Zhao CF, Zhang XC (2021) Plastid phylogenomics provides novel insights into the infrafamilial relationship of Polypodiaceae. *Cladistics*, 37, 717–727.
- Weststrand S, Korall P (2016a) Phylogeny of Selaginellaceae: There is value in morphology after all!. *American Journal of Botany*, 103, 2136–2159.
- Weststrand S, Korall P (2016b) A subgeneric classification of *Selaginella* (Selaginellaceae). *American Journal of Botany*, 103, 2160–2169.
- Wu YD, Zhang HR, Zhang XC (2017) *Selaginella guihaia* (Selaginellaceae): A new spikemoss species from southern China and northern Vietnam around the Gulf of Tonkin. *PhytoKeys*, 80, 41–52.
- Yang J, Zhang MH, Wang YR, Yuan LX, Zhang XC (2021) An extraordinary rosette and resurrection new spikemoss, *Selaginella iridescens* (Selaginellaceae) from Hainan Island, China. *Taxonomy*, 1, 302–312.
- Ye JF, Niu YT, Feng YL, Liu B, Hai LS, Wen J, Chen ZD (2020) Taxonomy and biogeography of *Diapensia* (Diapensiaceae) based on chloroplast genome data. *Journal of Systematics and Evolution*, 58, 696–709.
- Zhang HR, Wei R, Xiang QP, Zhang XC (2020) Plastome-based phylogenomics resolves the placement of the *sanguinolenta* group in the spikemoss of lycophyte (Selaginellaceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 147, 106788.
- Zhang HR, Xiang QP, Zhang XC (2019a) The unique evolutionary trajectory and dynamic conformations of DR and IR/DR-coexisting plastomes of the early vascular plant Selaginellaceae (lycophyte). *Genome Biology and Evolution*, 11, 1258–1274.
- Zhang HR, Zhang XC, Xiang QP (2019b) Directed repeats co-occur with few short-dispersed repeats in plastid genome of a spikemoss, *Selaginella vardei* (Selaginellaceae, Lycopodiopsida). *BMC Genomics*, 20, 484.
- Zhang MH, Wei R, Xiang QP, Ebihara A, Zhang XC (2021) Integrative taxonomy of the *Selaginella helvetica* group based on morphological, molecular and ecological data. *Taxon*, 70, 1163–1187.
- Zhang XC (2004) Selaginellaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, Tomus 6(3). Science Press, Beijing. (in Chinese) [张宪春 (2004) 卷柏科. 见: 中国植物志第六卷 (第三分册). 科学出版社, 北京.]
- Zhang XC (2018) Some new records of *Selaginella* from

- China. Philippine Journal of Systematic Biology, 12, 22–23.
- Zhang XC, Nootboom HP, Kato M (2013) Selaginellaceae. In: Flora of China (eds Wu ZY, Raven PH, Hong DY). Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Zhang XC, Shalimov AP, Kang JS, Zhang MH (2020) *Selaginella subvaginata* (Selaginellaceae), a new spikemoss from China. Journal of Species Research, 9, 221–232.
- Zhou XM, He ZR, Zhang L, Zhang LB (2015) *Selaginella chuweimingii* (Selaginellaceae) sp. nov. from Yunnan, China. Phytotaxa, 231, 283–288.
- Zhou XM, Zhang LB (2015) A classification of *Selaginella* (Selaginellaceae) based on molecular (chloroplast and nuclear), macromorphological, and spore features. Taxon, 64, 1117–1140.
- Zhu WM (2006) Selaginellaceae. In: Flora Yunnanica, Tomus 20 (Pterisophyta) (ed. Zhu WM). Science Press, Beijing. (in Chinese) [朱维明 (2006) 卷柏科. 云南植物志, 第二十卷 (蕨类植物). 科学出版社, 北京.]
- (责任编辑: 严岳鸿 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 本研究所使用分子序列的凭证标本及其采集地和GenBank号

Appendix 1 Information of voucher, locality and GenBank accession number in this study
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-1.pdf>

附录2 用于形态分析的薄叶卷柏复合群59份标本形态数据

Appendix 2 Morphological data for the 59 specimens used in the morphometric analysis in the *Selaginella delicatula* group
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-2.pdf>

附录3 基于26S nrDNA构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 3 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the 26S nrDNA
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-3.pdf>

附录4 基于*pgiC*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 4 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *pgiC*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-4.pdf>

附录5 基于*rbcL*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 5 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *rbcL*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-5.pdf>

附录6 基于*psbA*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 6 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *psbA*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-6.pdf>

附录7 基于*atpI*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 7 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *atpI*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-7.pdf>

附录8 薄叶卷柏复合群核基因*pgiC*简并碱基及其套峰示意图

Appendix 8 Overlapping peaks and sites of the nuclear gene *pgiC* in the *Selaginella delicatula* group
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021273-8.pdf>

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

附录1 本研究所使用分子序列的凭证标本及其采集地和GenBank号。*表示本研究新测序，–表示数据缺失

Appendix 1 Information of voucher, locality and GenBank accession number in this study. An asterisk (*) indicates newly generated sequences, a dash (–) indicates missing data

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>atpI</i>	<i>pgiC</i>	26S
双沟卷柏 <i>S. bisulcata</i>	Gaoligong Shan Biodiversity Survey 22176 (GH)	中国云南 Yunnan, China	KY022975	OL742358*	-	KY022853	OL742255*
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	H. Shang & Y. F. Gu SG142 (CSH)	中国福建泰宁 Taining, Fujian, China	OL742346*	OL742387*	-	OL742424*	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	S. Y. Dong Dong3726 (PE)	中国广东南岭 Nanling, Guangdong, China	OL742341*	OL742370*	-	OL742423*	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	H. J. Wei et al. DRS085 (CSH)	中国广西大容山森林公园 Darongshan Forest Park, Guangxi, China	OL742336*	OL742386*	-	-	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	H. M. Liu GX61 (PE)	中国广西环江木论保护区 Huanjiang Mulun Nature Reserve, Guangxi, China	OL742337*	OL742384*	-	OL742418*	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Y. H. Yan et al. 13573 (PE)	中国广西龙州大青山 Mt. Daqing, Longzhou, Guangxi, China	OL742312*	OL742389*	-	OL742411*	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Y. H. Yan et al. RS68 (PE)	中国广西十万大山 Shiwandashan, Guangxi, China	OL742338*	OL742385*	-	OL742420*	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7186 (PE)	中国贵州茂兰漏斗森林 Funnel Forest, Maolan, Guizhou, China	OL742331*	OL742378*	-	OL742421*	OL742257*
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7218 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742333*	-	-	-	OL742260*
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7116 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742328*	OL742383*	OL742293*	-	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7125 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742329*	-	-	-	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7187 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742332*	-	-	-	OL742258*
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7136 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742330*	-	-	-	-
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 7213 (PE)	中国贵州茂兰螃蟹沟 Pangxiegou, Maolan, Guizhou, China	OL742324*	OL742379*	-	-	OL742259*
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Z. Y. Li et al. 7472 (PE)	中国贵州茂兰自然保护区	OL742335*	-	-	-	-

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>atpI</i>	<i>pgiC</i>	26S
		Maolan Nature Reserve, Guizhou, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Z. Y. Li et al. 7429 (PE)	中国贵州茂兰自然保护区	OL742334*	-	-	-	-
		Maolan Nature Reserve, Guizhou, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Z. Y. Li et al. 7410 (PE)	中国贵州茂兰自然保护区	OL742325*	-	-	-	OL742261*
		Maolan Nature Reserve, Guizhou, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7833 (PE)	中国贵州茂兰自然保护区	OL742326*	OL742380*	-	-	OL742263*
		Maolan Nature Reserve, Guizhou, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 6849 (PE)	中国贵州遵义绥阳	OL742327*	OL742388*	-	OL742414*	-
		Suiyang, Zunyi, Guizhou, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 8172 (PE)	中国海南昌江霸王岭	OL742316*	OL742393*	-	-	-
		Bawangling, Changjiang, Hainan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 2867 (PE)	中国海南白沙	OL742313*	OL742390*	OL742295*	OL742412*	OL742256*
		Baisha, Hainan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 7747 (PE)	中国海南琼中	OL742314*	OL742391*	-	-	OL742262*
		Qiongzong, Hainan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 9402 (PE)	中国海南五指山	OL742318*	-	-	-	-
		Wuzhishan, Hainan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 9636 (PE)	中国湖北宜昌五峰	-	-	-	-	OL742264*
		Wufeng, Yichang, Hubei, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. L. Zhou et al. ZXL9687 (PE)	中国湖南桑植巴茅溪	OL742343*	OL742369*	-	OL742419*	-
		Bamaoxi, Sangzhi, Hunan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	W. Y. Zhao et al. LXP-09-07578 (SYS)	中国湖南炎陵	OL742342*	OL742372*	-	OL742415*	-
		Yanling, Hunan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Ju & Deng HGX12938 (CDBI)	中国四川	KT161440	-	-	-	-
		Sichuan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Y. H. Yan et al. 13782 (PE)	中国四川峨眉山	OL742319*	OL742373*	-	-	-
		Mt. Emei, Sichuan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	S. T. Chiu 05474 (NSW)	中国台湾	KY023008	-	-	KY022866	-
		Taiwan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	K. U. Kramer et al. 7507 (U)	中国台湾	KY023009	-	-	-	-
		Taiwan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	E. Schuettpelz 1218A (DUKE)	中国台湾	KY023010	-	-	KY022867	-

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>atpI</i>	<i>pgiC</i>	26S
		Taiwan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	YSL5067 (PE)	中国台湾	OL742345*	OL742382*	OL742292*	OL742413*	-
		Taiwan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	K. U. Kramer et al. 8224 (U)	中国香港	KY023006	-	-	-	-
		Hong Kong, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 9212 (PE)	中国云南保山	OL742323*	OL742377*	-	OL742422*	-
		Baoshan, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 8145 (PE)	中国云南龙陵邦腊掌	OL742322*	OL742376*	-	OL742416*	-
		Longlingbanglazhang, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang 3018 (PE)	中国云南龙陵邦腊掌	OL742320*	OL742374*	-	OL742417*	-
		Longlingbanglazhang, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7918 (PE)	中国云南高黎贡山	OL742321*	OL742375*	-	-	-
		Mt. Gaoligong, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang et al. 8554 (PE)	中国云南马关古林箐	OL742317*	OL742394*	-	-	-
		Gulinjing, Maguan, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	X. C. Zhang & B. D. Liu 7786 (PE)	中国云南河口	OL742315*	OL742392*	-	OL742410*	-
		Hekou, Yunnan, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	J. Q. Sun & Y. D. Wu 073 (PE)	中国重庆巫山县	OL742344*	OL742368*	-	-	-
		Wushan, Chongqing, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	Y. T. Chen 53 (PE)	中国重庆巴尔盖国家森林公园	OL742340*	OL742371*	-	-	-
		Bargai National Forest Park, Chongqing, China					
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	J. Q. Sun S19 (PE)	中国重庆南川金佛山	OL742339*	OL742381*	-	-	OL742265*
		Jinfo Mt., Nanchuan, Chongqing, China					
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	Y. H. Yan et al. WYD649 (CSH)	中国广东罗浮山	OL742307*	OL742404*	OL742290*	-	OL742282*
		Mt. Luofu, Guangdong, China					
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	Y. H. Yan et al. WYD396 (CSH)	中国广东大雾岭	OL742306*	OL742403*	-	-	-
		Dawuling, Xinyi, Guangdong, China					
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	F. G. Wang 9420 (PE)	中国广东鹅凰嶂保护区	OL742304*	OL742400*	-	-	-
		Ehuangzhang Nature Reserve, Guangdong, China					
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. P. Wei & R. Wei WXP043 (PE)	中国广东大雾岭	OL742305*	OL742402*	-	-	-
		Dawuling, Guangdong, China					

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>atpI</i>	<i>pgiC</i>	26S
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	Shiwandshan Exped. 050 (PE)	中国广西上思 Shangsi, Guangxi, China	OL742301*	OL742399*	OL742288*	-	OL742274*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7881 (PE)	中国广西十万大山 Shiwandashan, Guangxi, China	OL742302*	-	-	-	OL742276*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang & Z. Y. Guo 7882 (PE)	中国广西十万大山 Shiwandashan, Guangxi, China	OL742303*	-	-	-	OL742277*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang & B.G. Li 5653 (PE)	中国云南勐腊南沙河 Nansha River, Mengla, Yunnan, China	OL742310*	OL742405*	-	-	-
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang 9710 (PE)	中国云南 Yunnan, China	OL742308*	OL742401*	OL742289*	-	OL742278*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang Z16 (PE)	中国云南屏边 Pingbian, Yunnan, China	OL742309*	OL742407*	-	-	-
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang & S. Y. Dong 1421 (PE)	中国云南沧源 Cangyuan, Yunnan, China	OL742297*	OL742395*	OL742286*	-	OL742275*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	Z. Y. Li PT184 (PE)	中国云南绿春大黑山 Daheishan, Lüchun, Yunnan, China	OL742299*	OL742396*	-	-	-
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	T. Y. Nwe TYN533 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742298*	OL742406*	OL742287*	-	OL742281*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	T. Y. Nwe TYN240 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742300*	OL742397*	OL742284*	-	OL742279*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	T. Y. Nwe TYN493 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742296*	OL742398*	OL742285*	-	OL742280*
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	X. C. Zhang sn-21 (PE)	越南 Vietnam	OL742311*	OL742408*	-	-	-
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	Zhang et al. 6744 (CDBI, MO, VNMN, PYU)	越南 Vietnam	KT161637	-	-	-	-
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	P. Korall 2006-16 (S)	马来西亚 Malaysia	KY023176	-	-	-	-
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. C. Zhang 429 (PE)	中国海南五指山 Wuzhishan, Hainan, China	OL742353*	OL742365*	-	-	OL742269*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. C. Zhang & Q. P. Xiang 9395 (PE)	中国海南吊罗山 Diaoluoshan, Hainan, China	OL742354*	OL742366*	-	-	OL742254*

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	<i>rbcL</i>	<i>psbA</i>	<i>atpI</i>	<i>pgiC</i>	26S
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. C. Zhang 1097 (PE)	中国云南马关古林箐 Gulinjing, Maguan, Yunnan, China	OL742349*	OL742364*	-	-	OL742266*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	Z. Y. Li & R. Wei WR295 (PE)	中国云南河口 Hekou, Yunnan, China	OL742348*	OL742367*	-	-	OL742273*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	He & Zhou 110 (PYU, CDBI)	中国云南 Yunnan, China	KT161561	-	-	-	-
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	Chu et al. 21911 (PYU)	中国云南 Yunnan, China	KT161560	-	-	-	-
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. C. Zhang & B. D. Liu 7768 (PE)	中国云南元阳 Yuanyang, Yunnan, China	OL742351*	OL742363*	-	-	OL742270*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. H. Jin 19327 (PE)	中国西藏林芝墨脱 Médog, Nyingchi, Xizang, China	OL742357*	OL742359*	-	OL742409*	OL742253*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	T. Y. Nwe TYN772 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742347*	-	OL742283*	-	OL742272*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	T. Y. Nwe TYN280 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742356*	OL742361*	OL742294*	-	-
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	T. Y. Nwe TYN225 (NY)	缅甸克钦邦 Kachin State, Myanmar	OL742355*	OL742360*	OL742291*	-	OL742271*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	Zhang et al. 6525 (CDBI, MO, VNMN, PYU)	越南 Vietnam	KT161562	-	-	-	-
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	X. C. Zhang 3476 (PE)	越南 Vietnam	OL742350*	OL742362*	-	-	OL742267*
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	S. Y. Dong 354 (PE)	不详 Unknown	OL742352*	-	-	-	OL742268*

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273

附录2 用于形态分析的薄叶卷柏复合群59份标本形态数据
Appendix 2 Morphological data for the 59 specimens used in the morphometric analysis in the *Selaginella delicatula* group

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二回羽状分枝; 1. 三回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直径 Main stem diam (mm)	二回分枝小羽片对数 Numbers of pinnule	中叶是否呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分的主茎是否呈黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	刘正宇和张正伦 4365 (PE)	中国重庆南川金佛山 Mt. Jinfo, Nanchuan, Chongqing, China	2	11.5	2	12	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	王中仁 C645 (PE)	中国广东肇庆鼎湖山去白云寺路上 Mt. Dinghu to Baiyun Temple, Zhaoqing, Guangdong, China	1	15	1.5	6	0	1
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张寿洲等 3238 (PE)	中国广东大梧桐山 Dawutongshan, Guangdong, China	1	14	2.3	10	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	黄志 32025 (PE)	中国广东信宜县 Xinyi, Guangdong, China	0	15	1.3	22	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春和曲上 9445 (PE)	中国广西靖西县 Jingxi, Guangxi, China	0	11.12	2	16	0	2
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 9445 (PE)	中国广西靖西县 Jingxi, Guangxi, China	0	9	2	11	0	2
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 9818 (PE)	中国贵州荔波县 Libo, Guizhou, China	2	9.66	2.5	8	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 9490 (PE)	中国贵州荔波县 Libo, Guizhou, China	0	11	1.5	11	0	1
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 9518 (PE)	中国贵州荔波县	0	8	1.5	11	0	2

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1. 三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直 径 Main stem diam (mm)	二回分 枝小羽 片对数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 9519 (PE)	Libo, Guizhou, China 中国贵州荔波县	2	11	2.5	17	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	曹子余 832 (PE)	Libo, Guizhou, China 中国贵州册亨县	2	12	2	14	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	刘正宇 15603 (PE)	Ceheng, Guizhou, China 中国贵州道真县	2	14	1.8	18	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	党成忠和党平 512 (PE)	Daozhen, Guizhou, China 中国贵州兴仁县	2	13	1	16	0	2
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 6849 (PE)	Xingren, Guizhou, China 中国贵州绥阳县	2	14	1	17	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春 2867 (PE)	Suiyang, Guizhou, China 中国海南白沙县	1	11	1.8	8	0	1
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张梦华 zmh039 (PE)	Baisha, Hainan, China 中国湖南吉首市	2	9	1.5	10	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张梦华 zmh057 (PE)	Jishou, Hunan, China 中国湖南吉首市	3	10	1	15	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张梦华 zmh073 (PE)	Jishou, Hunan, China 中国湖南古丈县	2	10	1	6	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春和武翀 (PE)	Guzhang, Hunan, China 中国湖北宜昌市	2	11	2	11	0	0

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1. 三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直 径 Main stem diam (mm)	二回分 枝小羽 片对数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	李洪钧 9367 (PE)	Yichang, Hubei, China 中国湖北咸丰县	0	6	1	8	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	傅国勋和张志松 1841 (PE)	Xianfeng, Hubei, China 中国湖北利川县	2	6.5	1.2	4	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	张宪春等 10005 (PE)	Lichuan, Hubei, China 中国四川都江堰	2	9	2	15	0	2
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	王中仁和夏群 C307 (PE)	Dujiangyan, Sichuan, China 中国四川峨眉山	2	11	2.3	13	0	2
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	秦仁昌 sn (PE)	Mt. Emei, Sichuan, China 中国四川峨眉山	2	8	2	8	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	金佛山考察队 2140 (PE)	Mt. Emei, Sichuan, China 中国重庆南川县	2	11	1.5	8	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	孔宪需 4197 (PE)	Nanchuan, Chongqing, China 中国四川大相岭	2	11	1	11	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	邢公侠和郎楷永 1850 (PE)	Daxiangling, Sichuan, China 中国四川峨眉山	2	12.5	1.2	13	0	0
薄叶卷柏 <i>S. delicatula</i>	S.G. Wu et al. 1677 (PE)	Mt. Emei, Sichuan, China 越南同奈新富	1	13	2.5	7	0	2
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张宪春和向巧萍 9329 (PE)	Tan Phu, Dong Nai, Vietnam, , 中国云南勐腊县	2	13	2.5	13	1	1

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1. 三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直 径 Main stem diam (mm)	二回分 枝小羽 片对数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
		Mengla, Yunnan, China						
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	李中阳和卫然 WR0295 (PE)	中国云南河口 Hekou, Yunnan, China	2	18	3	19	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张中帅 20200623-7 (PE)	中国西藏墨脱县 Mêdog, Xizang, China	2	10	4	11	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	L.Q. Li et al. 0517 (PE)	越南 Vietnam	2	19	3	18	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	陈伟烈 10903 (PE)	中国西藏墨脱县 Mêdog, Xizang, China	1	20	5	11	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	李渤生和程树志 02630 (PE)	中国西藏墨脱县 Mêdog, Xizang, China	1	17	3.5	12	0	0
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	覃海宁等 920 (PE)	中国广西那坡县 Napo, Guangxi, China	1	23	3	8	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张宪春 1266 (PE)	中国广西凤山县 Fengshan, Guangxi, China	0	13	4	21	0	2
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张宪春和陈拥军 1812 (PE)	中国江西龙南县 Longnan, Jiangxi, China	2	10	2.5	11	0	2
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张宪春等 1097-2 (PE)	中国云南马关县 Maguan, Yunnan, China	2	19	3.5	12	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	张宪春和李保贵 5620 (PE)	中国云南西双版纳植物园	2	13	3	14	1	1

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1. 三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直 径 Main stem diam (mm)	二回分 枝小羽 片对数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
		Xishuangbanna Botanical Garden, Yunnan, China						
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	F. Kingdon-Ward 20446 (PE)	不详	2	15	4	13	1	1
		Unknown						
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	790 (PE)	中国云南 Yunnan, China	2	18	3	14	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	徐永椿 586 (PE)	中国云南河口县 Hekou, Yunnan, China	2	12	2	13	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	邢公侠等 06728 (PE)	中国云南勐腊县 Xishuangbanna, Yunnan, China	2	15	4	15	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	T.N. Liou 18698 (PE)	中国云南蒙自县 Mengzi, Yunnan, China	0	15	3	16	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	K.S. Chow et al. 8004 (PE)	中国云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan, China	2	19	3.5	19	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	中苏联合云南考察团 7245 (PE)	中国云南 Yunnan, China	2	14	3.5	15	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	邢公侠等 06728 (PE)	中国云南勐腊县 Mengla, Yunnan, China	2	13	3	13	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	中越考察队 686 (PE)	越南 Vietnam	2	22	4	16	0	1
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	Wuzhishan Fern Survey 014	中国海南五指山	2	16	3.5	16	0	1

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分枝方式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1.三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主茎直 径 Main stem diam (mm)	二回分 枝小羽 片对数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2. 浅黑色) Main stem color
	(PE)	Wuzhishan, Hainan						
黑顶卷柏 <i>S. picta</i>	云南一组 96 (PE)	中国云南西双版纳 Xishuangbanna, Yunnan, China	2	20	4	18	1	1
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	蒋日红等 050 (PE)	中国广西上思县 Shangsi, Guangxi, China	0	13	2.5	15	0	0
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	张宪春和董仕勇 (PE)	中国云南沧源县 Cangyuan, Yunnan, China	0	14	1.5	26	0	0
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	B. Bartholomew et al. 8764 (PE)	缅甸克钦邦葡萄 Putao district, Kachin State, Myanmar	0	11	2	21	0	1
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	L.Q. Li et al. 0652(PE)	越南谭道国家公园 Tam Dao National Park, Vietnam	0	14.5	2	21	0	0
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	王中仁等 C791 (PE)	中国云南屏边 Pingbian, Yunnan, China	0	14	2	18	0	2
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	张宪春等 5469 (PE)	中国广东封开 Fengkai, Guangdong, China	0	14	2	20	0	0
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	张宪春和董仕勇 1421 (PE)	中国云南沧源县 Cangyuan, Yunnan, China	0	12	2.5	19	0	0
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	J.S. Kang 1201-1 (PE)	中国广西扶隆平 Fulongping, Guangxi, China	0	18	2	21	0	0

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

类群 Taxon	凭证标本 Voucher	采集地 Locality	分 枝 方 式 Branching (0. 二 回羽状分枝; 1.三 回羽状分枝; 2. 二回羽状分支, 基部三回分叉)	二回分枝长 Secondary branches length (cm)	主 茎 直 径 Main stem diam (mm)	二 回 分 枝 小 羽 片 对 数 Numbers of pinnule	中叶是否 呈白色 (0. 否; 1. 是) Dorsal leaves color	分枝顶端部分 的主茎是否呈 黑色 (0. 否; 1. 是; 2.浅黑色) Main stem color
瓦氏卷柏 <i>S. wallichii</i>	胡海华 187 (PE)	中国云南绿春 Lüchun, Yunnan, China	0	12	1.5	16	0	0

附录3 基于26S nrDNA构建的薄叶卷柏复合体最大似然树
Appendix 3 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the 26S nrDNA

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

附录4 基于*pgiC*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树
Appendix 4 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *pgiC*

附录5 基于*rbcL*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树

Appendix 5 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *rbcL*

附录6 基于*psbA*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树
Appendix 6 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *psbA*

附录7 基于*atpI*构建的薄叶卷柏复合体最大似然树
Appendix 7 Maximum likelihood tree of the *Selaginella delicatula* group based on the *atpI*

张梦华, 张宪春 (2021) 中国薄叶卷柏复合群的物种划分. 生物多样性, 29, 1607–1619.
<http://www.biodiversity-science.net/CN/10.17520/biods.2021273>

附录8 薄叶卷柏复合群核基因*pgiC*简并碱基及其套峰示意图
Appendix 8 Overlapping peaks and sites of the nuclear gene *pgiC* in the *Selaginella delicatula* group