



Comprendre le monde,
construire l'avenir®



UNIVERSITÉ PARIS-SUD

ÉCOLE DOCTORALE : SCIENCES DU VÉGÉTAL
Laboratoire *Ecologie, Systématique et Evolution*

DISCIPLINE : BIOLOGIE

**THÈSE DE DOCTORAT
(Résumé en Français)**

Soutenue le 11/04/2014

par

Julien MASSONI

**Phylogénie, datation moléculaire, et évolution
florale des Magnoliidae (Angiospermae)**

Composition du jury :

Directeur de thèse : Hervé SAUQUET

Rapporteurs : Susanna MAGALLÓN

Thomas HAEVERMANS

Examineurs : Catherine DAMERVAL

Michel LAURIN

Florian JABBOUR

Michael PIRIE

Membres invités : Hervé SAUQUET

Maître de Conférences (Université Paris-Sud)

Professeur (Universidad Nacional Autónoma de México)

Maître de Conférences (Muséum national d'Histoire Naturelle)

Directeur de Recherche (CNRS, INRA)

Directeur de Recherche (CNRS, Muséum national d'Histoire Naturelle)

Maître de Conférences (Muséum national d'Histoire Naturelle)

Maître de Conférences (Johannes Gutenberg Universität Mainz)

Maître de Conférences (Université Paris-Sud)

Résumé

Le développement des méthodes de reconstruction phylogénétique a été un tournant majeur dans l'appréhension de l'histoire évolutive des organismes. Les relations phylogénétiques à la base de l'arbre des Angiospermes ayant été établies relativement tardivement, certaines parties restent encore largement inexplorées d'un point de vue évolutif. Au cours des 10 dernières années les études successives ont affiné nos connaissances des relations de parentés en dehors des deux grands clades d'Angiospermes : les Eudicotylédones et les Monocotylédones. La majorité de ces études ont identifié un clade comprenant plus de 98% de la diversité spécifique dans cette partie de l'arbre des plantes à fleurs, incluant environ 10 000 espèces réparties dans 20 familles et quatre ordres : les Canellales, les Laurales, les Magnoliales et les Piperales. La dernière version de la classification phylogénétique des Angiospermes (APG III 2009) nomme ce groupe "magnoliids" et Cantino et al. (2007) le nomment formellement Magnoliidae. Même si de récentes études incluant de très grands jeux de données moléculaires suggèrent que les Chloranthaceae soient leur groupe-frère (Jansen et al. 2007 ; Moore et al. 2007 ; Soltis et al. 2011 ; Fig. 1), la position des Magnoliidae au sein des Angiospermes reste encore débattue mais leur monophylie est maintenant bien établie (Qiu et al. 1999, 2000, 2005, 2006, 2010 ; Soltis et al. 1999, 2000a,b, 2007, 2011 ; Mathews and Donoghue 1999, 2000 ; Savolainen et al. 2000 ; Graham and Olmstead 2000 ; Zanis et al. 2002, 2003 ; Nickrent et al. 2002 ; Borsch et al. 2003 ; Hilu et al. 2003 ; Jansen et al. 2007 ; Moore et al. 2007, 2010 ; Burleigh et al. 2009).

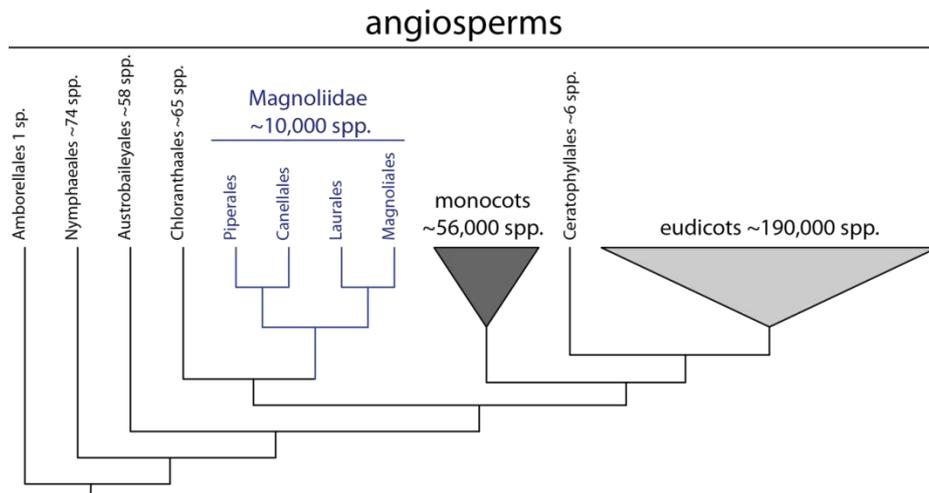


Figure 1 : Arbre phylogénétique simplifié basé sur APG III (2009). Abréviations : sp./spp., espèce/espèces.

Les Magnoliidae présentent une distribution mondiale (Fig. 2). Les Aristolochiaceae sont la famille la plus septentrionale (nord de l'Europe, Canada) et les Monimiaceae sont la famille la plus australe (sud du continent sud-américain, Australie, Nouvelle-Zélande). Cependant, la majorité des espèces du groupe se concentre sous les tropiques où celles-ci forment une part importante de la diversité végétale des forêts tropicales humides. En outre, le registre fossile du groupe suggère que cette large distribution géographique est antérieure à la fin du Crétacé (66-145 millions d'années).

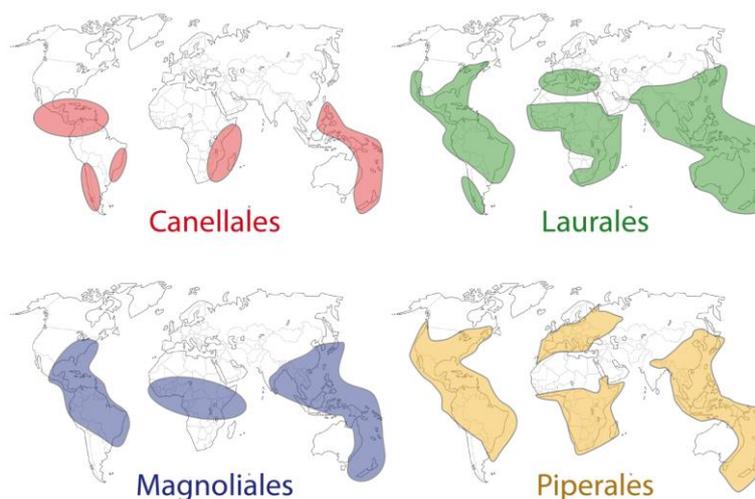


Figure 2 : Répartition géographique des quatre ordres de Magnoliidae selon Heywood et al. (2007).

Avant ce travail de thèse, seules des études phylogénétiques à l'échelle des Angiospermes (ou au-delà) avaient inclu les quatre ordres de Magnoliidae dans la même

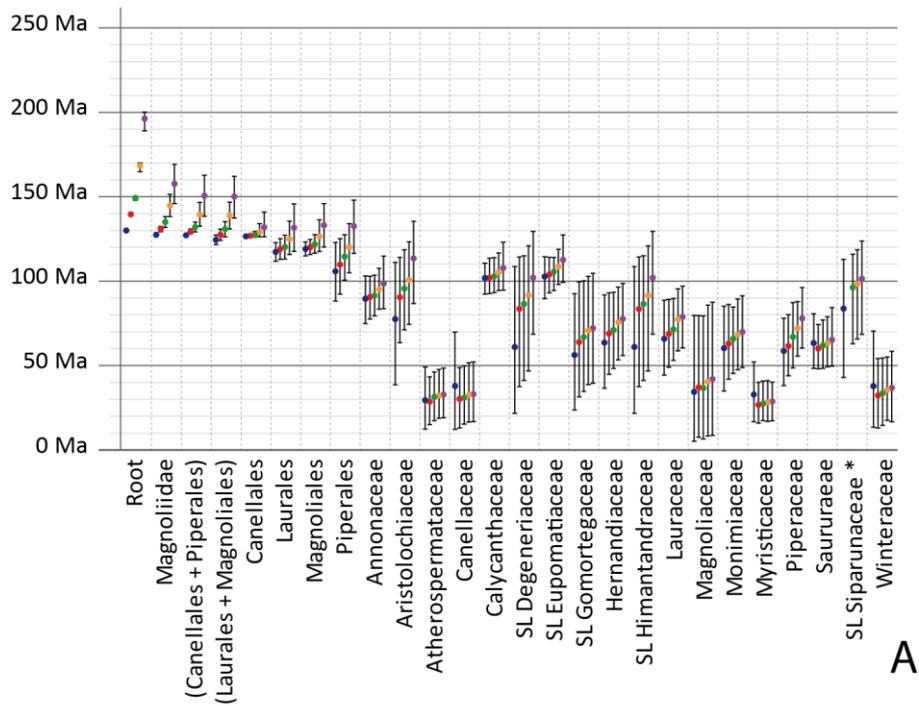
analyse. En termes d'échantillonnage taxonomique, les analyses les plus complètes avaient échantillonné 43 des 263 genres existants et 18 des 20 familles existantes (Qiu et al. 1999, 2000 ; Zanis et al. 2002, 2003). En outre, d'autres études avaient étudié les relations de parentés au sein des ordres et des familles du groupe (e.g., Renner 1999 ; Sauquet et al. 2003 ; Wanke et al. 2007). Certaines parties de l'arbre phylogénétique des Magnoliidae étaient encore mal résolues et les relations de parentés entre les quatre ordres étaient encore débattues. Si la majorité des analyses avait soutenu la présence de deux clades (Canellales + Piperales et Laurales + Magnoliales ; Fig. 1), d'autres présentaient des résultats alternatifs (Soltis et al. 2000b, 2007, 1999, 2000a ; Doyle and Endress 2000 ; Savolainen et al. 2000 ; Zanis et al. 2002 ; Nickrent et al. 2002 ; Hilu et al. 2003 ; Qiu et al. 2005 ; Moore et al. 2007, 2010 ; Burleigh et al. 2009). Par conséquent, la reconstruction d'une nouvelle phylogénie du groupe dans le but d'obtenir un contexte phylogénétique robuste était nécessaire pour étudier l'histoire évolutive de ce grand clade de plantes à fleurs. Dans le chapitre 1 de cette thèse, je présente une nouvelle phylogénie incluant plus de 75% de la diversité générique et les 20 familles de Magnoliidae. Cette étude est une avancée importante pour notre connaissance des relations de parentés entre les familles de Magnoliidae. Elle confirme, avec un meilleur soutien statistique, la présence des deux grands clades : Canellales + Piperales et Laurales + Magnoliales. Au sein de chacun des ordres, les relations de parentés entre les familles sont généralement très bien soutenues (Fig. 3). Chez les Piperales, nous confirmons que les Lactoridaceae sont incluses dans les Aristolochiaceae. Mes résultats supportent également le fait que les Hydnoraceae, famille de plantes parasites, est incluse dans les Aristolochiaceae. Au sein des Laurales, trois clades sont bien soutenus : Calycanthaceae, Gomortegaceae + Atherospermataceae et Hernandiaceae + Lauraceae + Monimiaceae. Au sein des Magnoliales, la position des Magnoliaceae demeure mal soutenue mais le reste des relations phylogénétiques dans cet ordre reçoit un fort soutien statistique. Les Myristicaceae sont le groupe-frère de toutes les autres familles de Magnoliales et les Eupomatiaceae sont le groupe-frère des Annonaceae.

suggèrent une origine ancienne du groupe avant le Crétacé moyen. Contrairement à d'autres groupes de plantes à fleurs possédant un registre fossile parcellaire, celui des Magnoliidae est très adapté pour l'utilisation de données paléontologiques fiables nécessaires aux études de datations moléculaires. La possibilité d'utiliser des fossiles pour lesquels les positions phylogénétiques et les âges sont bien connus permet de définir des points de calibration fiables pour l'estimation des dates de divergences au sein de la phylogénie des Magnoliidae (Sanderson 1997 ; Inoue et al. 2010; Meredith et al. 2011; Sauquet et al. 2012) et ainsi d'augmenter la fiabilité de toutes les analyses se basant sur ces arbres datés. Le registre fossile du groupe n'avait été que partiellement utilisé pour estimer les temps de divergence des différentes lignées de Magnoliidae, avec un maximum de six fossiles de Magnoliidae utilisé simultanément pour calibrer une étude de datation moléculaire incluant des Magnoliidae (Magallón and Castillo 2009). Dans le chapitre 2 de cette thèse j'ai révisé la position et l'âge de 10 espèces fossiles du groupe qui avaient été préalablement placées au sein de la diversité actuelle par d'autres auteurs en utilisant une approche phylogénétique. Il en résulte un nouveau schéma de calibration pour le groupe incluant six contraintes d'âge minimum pour différents nœuds de l'arbre des Magnoliidae.

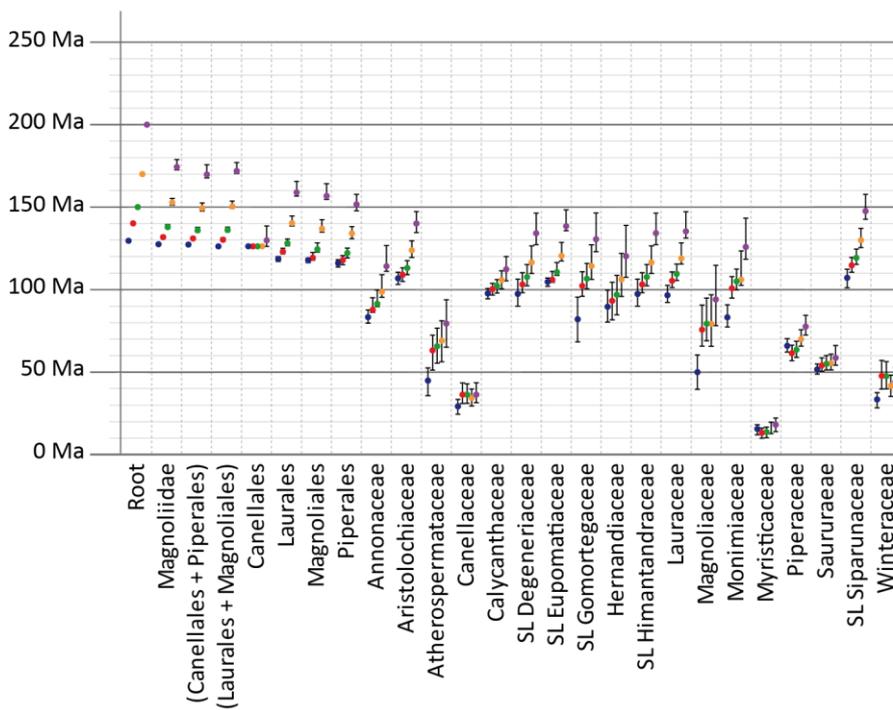
Les précédentes études de datation moléculaires suggéraient que le nœud correspondant à l'ancêtre commun le plus récent de toutes les espèces actuelles de Magnoliidae était bien plus ancien que celui des Eudicotylédones (e.g., Smith et al. 2010) et dans une moindre mesure plus ancien que celui des Monocotylédones (e.g., Magallón et al. 2013). Cependant, l'échelle temporelle à laquelle a évolué le groupe restait encore mal connue (Forest and Chase 2009). Schneider et al. (2004) ont par exemple trouvé un âge de $223,1 \pm 15,6$ million d'années (Ma) pour les Magnoliidae alors que Soltis et al. (2008) ont trouvé un âge compris entre 162 et 98 Ma. De plus, du fait que les temps de divergence au sein des Magnoliidae avaient été estimés par des études à une échelle taxonomique au-dessus du groupe (e.g., Magallón & Castillo, 2009) ou à l'échelle des familles (e.g., Pirie & Doyle, 2012), plusieurs nœuds profonds de l'arbre des Magnoliidae n'avaient jamais été datés. Une nouvelle étude de datation à l'échelle des Magnoliidae incluant un large échantillonnage taxonomique et des points de calibration fiables était donc indispensable pour replacer l'histoire évolutive des Magnoliidae dans le temps. Cet aspect est traité dans le troisième chapitre de cette thèse. J'ai utilisé pour évaluer les temps de divergences les deux

méthodes implémentées dans les logiciels BEAST and r8s ainsi que différentes contraintes d'âge maximum pour l'ancêtre commun le plus récent des Angiospermes actuelles : 130 Ma (analyse angio-130) ; 140 Ma (analyse angio-140) ; 150 Ma (analyse angio-150) ; 170 Ma (analyse angio-170) ; 200 Ma (analyse angio-200). Cette étude supporte des âges potentiellement plus vieux que ceux précédemment proposés dans la littérature (Fig. 4). L'ancêtre commun le plus récent des Magnoliidae actuels est daté entre 178,9 et 127,1 Ma. Les Laurales (165,6-111,8 Ma), les Magnoliales (164,2-115,0 Ma), les Canellales (141,0-126,3 Ma), les Piperales (157,7 Ma), et la plupart des familles étaient présentes avant la fin du Crétacé. Les Lauraceae, les Aristolochiaceae et les Calycanthaceae ont leurs ancêtres communs les plus récents respectifs plus vieux que ceux des autres familles du groupe.

La reconstruction d'une phylogénie datée incluant un échantillonnage taxonomique important pour les Magnoliidae m'a permis d'étudier d'autres aspects de l'histoire évolutive du groupe tels que leur mode de diversification. Dans le troisième chapitre de cette thèse, je test si la diversité spécifique des Magnoliidae s'est accumulée de manière constante au cours du temps ou si les taux de diversification ont varié au cours du temps et entre les différentes lignées de Magnoliidae. Mes résultats supportent la présence de six à 14 changements significatifs du taux de diversification au cours de l'histoire évolutive des Magnoliidae (Fig. 5). Des augmentations significatives de ce taux sont inférées au sein des Piperaceae et des Annonaceae, alors que la faible richesse spécifique des Calycanthaceae, des Degeneriaceae et des Himantandraceae semblent être le résultat d'une diminution du taux net de diversification dans ces groupes (Fig. 5).



A



B

Figure 4 : Estimations des âges de la racine (contrainte avec un âge maximum) et de différents nœuds dans l'arbre des Magnoliidae. A, résultats obtenus avec BEAST ; les points sont les âges moyens obtenus. B, résultats obtenus avec r8s ; les points sont les âges estimés à partir de l'arbre de maximum de vraisemblance. Dans les deux figures les intervalles de confiance à 95% sont représentés. Les noms des familles renvoient à l'ancêtre commun le plus récent de leurs espèces actuelles sauf si SL ('stem lineage') est mentionné. Les couleurs correspondent aux cinq contraintes d'âge maximum appliquées à la racine de l'arbre : bleu, 130 million d'années ; rouge, 140 million d'années ; vert, 150 million d'années ; orange, 170 million d'années ; violet, 200 million d'années. *Le 'stem lineage' des Siparunaceae, dans l'analyse BEAST avec un âge maximum pour la racine fixé à 140 million d'années, ne correspond pas au même nœud que dans les autres analyses. Abréviations : Ma, million d'années ; SL, 'stem lineage'.

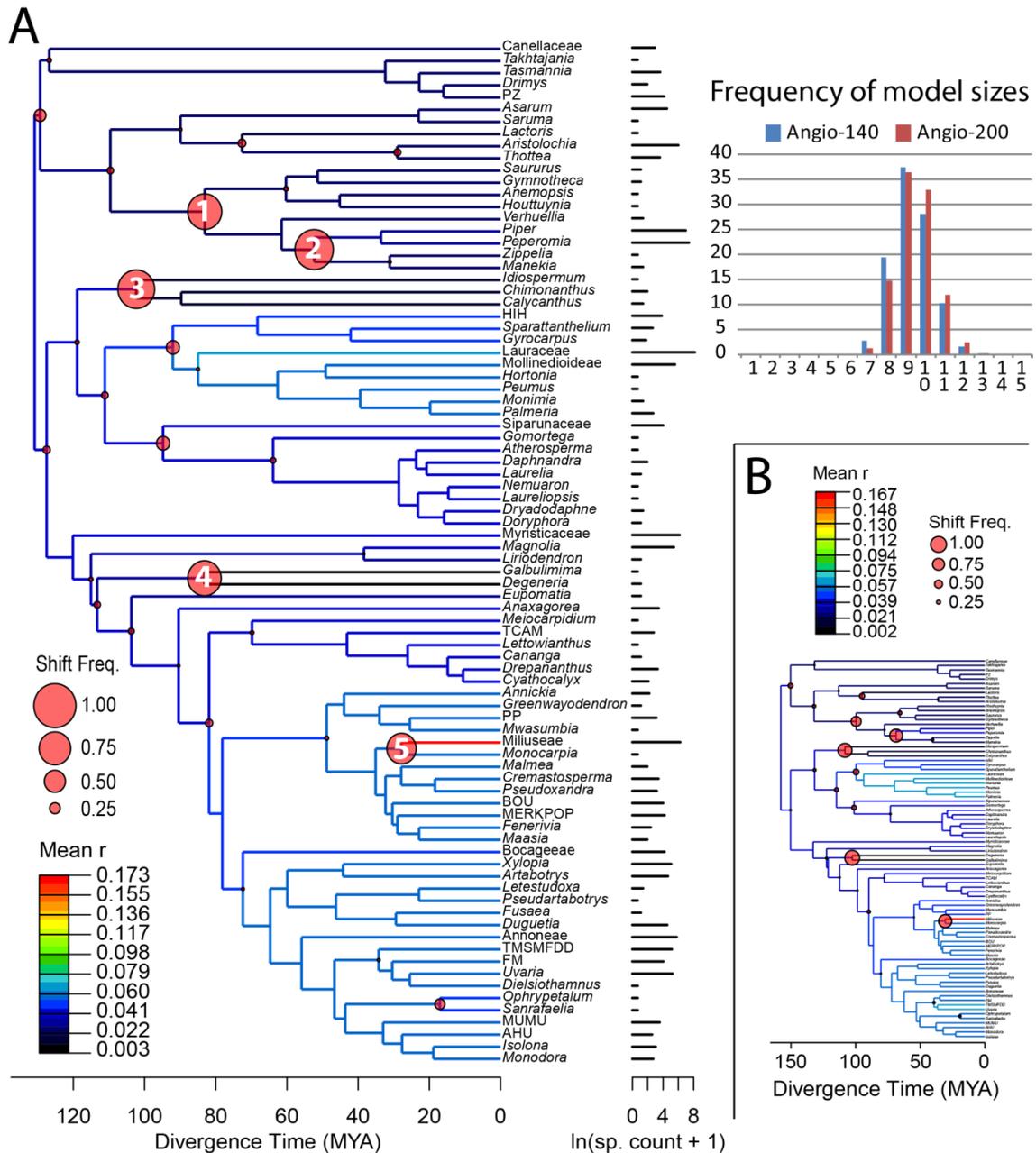


Figure 5 : Résultats des analyses de diversification conduites avec MEDUSA et obtenus en utilisant 1000 chronogrammes échantillonnés aléatoirement dans la collection des chronogrammes produits par BEAST : A, angio-140, B, angio-200. Les topologies utilisées sont les arbres de probabilité maximum des 1000 arbres utilisés dans chacune des analyses et les relations de parentés sont identiques dans ces deux analyses. Les noms des groupes terminaux correspondent aux compartiments (génériques ou supra-génériques) définis avant les analyses de diversification pour prendre en compte toute la diversité connue des Magnoliidae. La coloration des branches illustre la moyenne du taux net de diversification (r). Les points rouges figurent des variations significatives de ce taux, leur taille étant proportionnelle à la fréquence à laquelle on retrouve ces variations parmi les 1000 modèles testés. Variations numérotées dans la figure 3a : 1, ancêtre commun le plus récent (MRCA) du clade Piperaceae + Saururaceae ; 2, MRCA des Piperaceae à l'exception de *Verhuellia* ; 3, MRCA des Calycanthaceae ; 4, MRCA du clade Degeneriaceae + Hiamantandraceae ; 5, MRCA du clade Miliuseae + *Monocarpia*. Le diagramme dans le coin supérieur droit présente les fréquences des différentes tailles des modèles sélectionnés pour les deux analyses angio-140 et angio-200. Abréviations : sp., espèce.

Un autre aspect fascinant des Magnoliidae est la diversité de leurs morphologies florales en termes de taille, couleur mais aussi d'organisation des différentes pièces florales

et de leurs nombres. L'évolution des caractères floraux et la forme des fleurs ancestrales chez les ancêtres communs anciens du groupe étaient encore mal connues. Dans le quatrième chapitre de cette thèse je présente une étude sur la forme de la fleur ancestrale chez l'ancêtre commun le plus récent de tous les Magnoliidae actuels ainsi que chez les ancêtres communs les plus récents des quatre ordres. Pour ce faire, j'ai retracé l'histoire évolutive de 21 caractères floraux en utilisant la méthode de parcimonie et les résultats phylogénétiques du chapitre 1 de cette thèse. Les résultats de cette étude suggèrent que l'ancêtre commun de tous les Magnoliidae actuels était un arbre présentant des fleurs bisexuées possédant probablement trois étamines libres et un périanthe différencié, constitué de deux cycles alternés possédant trois pétales chacun (Fig. 6). D'autre part, seuls quelques traits floraux auraient varié entre l'ancêtre commun de tous les Magnoliidae et les ancêtres communs de chacun des quatre ordres.

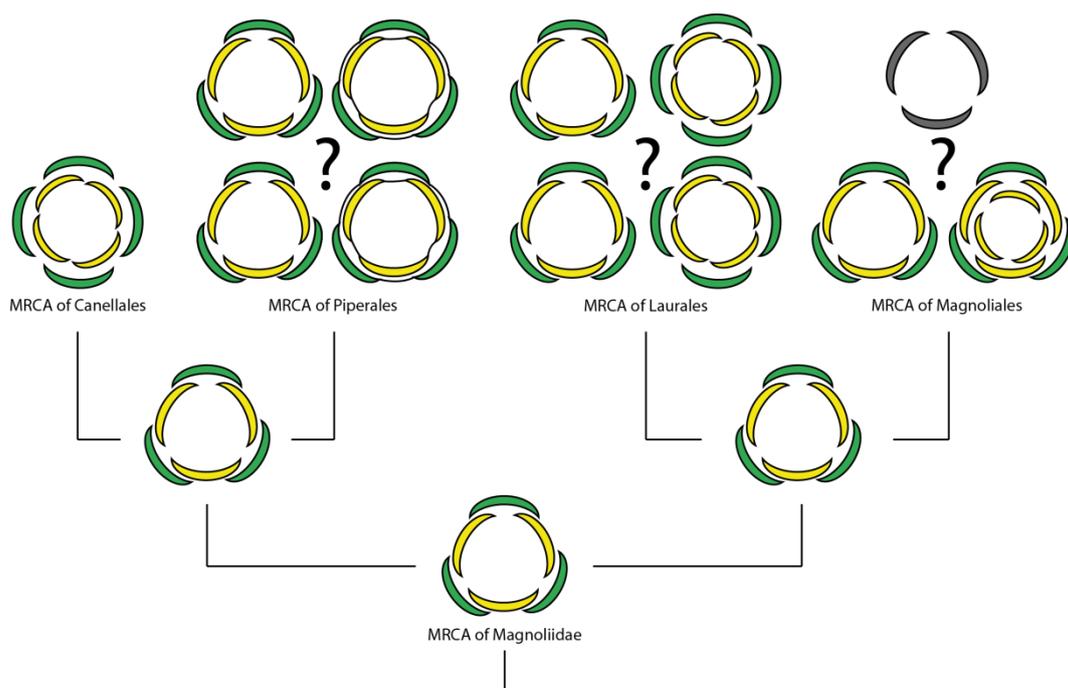


Figure 6 : Diagrammes floraux résumant les états ancestraux du périanthe inférés chez les ancêtres communs les plus récents des Magnoliidae, des Canellales, des Laurales, des Magnoliales et des Piperales. Abréviation : MRCA, Ancêtre commun le plus récent.

Ce travail de thèse a donc permis d'apporter des résultats clés pour la compréhension de l'histoire évolutive de ce clade d'Angiospermes. La nouvelle phylogénie, reconstruite au cours de cette thèse, a permis d'améliorer notre connaissance des relations de parentés entre les différentes familles de Magnoliidae. Cependant, au sein des Laurales et

des Magnoliales ces relations restent encore incertaines. La présence de branches internes très courtes dans ces parties de l'arbre est probablement à l'origine de ce manque de résolution. Par conséquent, l'apport d'un nombre important de données supplémentaires par les nouvelles méthodes de séquençage à haut débit pourrait être une perspective intéressante du fait que ces approches introduiront plus de variabilité dans nos alignements moléculaires. En outre, notre jeu de données inclus actuellement deux marqueurs nucléaires (18S et 26S ADNr) qui présentent un signal phylogénétique faible. A l'avenir, il sera intéressant de compléter notre jeu de données avec d'autres marqueurs nucléaires et de comparer les histoires évolutives qu'ils soutiennent avec celles soutenues par les autres marqueurs issus de la mitochondrie et du chloroplaste. Du fait que le génome nucléaire est hérité des deux génomes parentaux, l'étude du signal phylogénétique issue de ce génome pourrait permettre de détecter d'éventuels événements d'hybridation anciens.

Notre étude de datation moléculaire tend à soutenir des âges plus anciens que ceux proposés dans d'autres études. La constitution pour la même liste d'espèces d'un jeu de données moléculaire et morphologique va rendre possible le placement de nouveaux fossiles dans la phylogénie des Magnoliidae et ainsi de définir de nouveaux points de calibration. Ceci contribuera immanquablement à une amélioration de la précision de nos estimations d'âges et permettra de mener des études de datations en utilisant une approche de totale évidence (Pyron 2011; Ronquist et al. 2012).

Cette phylogénie datée des Magnoliidae a permis de mettre en évidence la présence d'au moins six variations significatives du taux de diversification au cours de l'histoire évolutive des Magnoliidae. Ces résultats posent de nouvelles questions telles que l'influence des crises géologiques successives sur la diversification des Magnoliidae. Le développement récent de modèles de diversification permettant des taux d'extinction plus élevés que les taux de spéciation (e.g. Morlon et al. 2011) devrait permettre d'aborder ce genre de questionnements.

Enfin dans le dernier chapitre de cette thèse, J'ai reconstruit la forme de la fleur ancestrale des Magnoliidae qui possédait un périanthe différencié avec deux cycles trimères. Ces résultats sont prometteurs mais devront être confirmés avec d'autres approches basées sur des modèles probabilistes. De plus la constitution de ce jeu de données morphologique

incluant de nombreux caractères floraux va permettre l'étude de l'influence des modes de pollinisation sur l'évolution morphologique de la fleur des Magnoliidae.

Bibliographie

APG III. 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants : APG III. Bot. J. Linn. Soc. 161 :105–121.

Borsch, T., K. W. Hilu, D. Quandt, V. Wilde, C. Neinhuis, and W. Barthlott. 2003. Noncoding plastid *trnT-trnF* sequences reveal a well resolved phylogeny of basal angiosperms. J. Evol. Biol. 16 :558–576.

Burleigh, J. G., K. W. Hilu, and D. E. Soltis. 2009. Inferring phylogenies with incomplete data sets : a 5-gene, 567-taxon analysis of angiosperms. BMC Evol. Biol. 9 :61.

Cantino, P. D., J. A. Doyle, S. W. Graham, W. S. Judd, R. G. Olmstead, D. E. Soltis, P. S. Soltis, and M. J. Donoghue. 2007. Towards a phylogenetic nomenclature of *Tracheophyta*. Taxon 56 : E1–E44.

Doyle, J. A., and P. K. Endress. 2000. Morphological phylogenetic analysis of basal angiosperms : comparison and combination with molecular data. Int. J. Plant Sci. 161 : S121–S153.

Forest, F., and M. W. Chase. 2009. Magnoliids. Pp. 166–168 in S. B. Hedges and S. Kumar, eds. The Time Tree of Life. Oxford, UK.

Friis, E. M., P. R. Crane, and K. R. Pedersen. 2011. Early Flowers and Angiosperms Evolution. Cambridge University Press, New York.

Graham, S. W., and R. G. Olmstead. 2000. Utility of 17 chloroplast genes for inferring the phylogeny of the basal angiosperms. Am. J. Bot. 87 : 1712–1730.

Heywood, V. H., R. K. Brummitt, A. Culham, and O. Seberg. 2007. Flowering Plant Families of the World. Kew Publishing, Richmond.

Hilu, K. W., T. Borsch, K. Müller, D. E. Soltis, P. S. Soltis, V. Savolainen, M. W. Chase, M. P. Powell, A. A. Anderberg, R. Evans, H. Sauquet, C. Neinhuis, T. A. B. Slotta, J. G. Rohwer, C. S. Campbell, and L. W. Chatrou. 2003. Angiosperm phylogeny based on *matK* sequence information. Am. J. Bot. 90 : 1758–1776.

Inoue, J. G., P. C. J. Donoghue, and Z. Yang. 2010. The impact of the representation of fossil calibrations on Bayesian estimation of species divergence times. Syst. Biol. 59 : 74–89.

Jansen, R. K., Z. Cai, L. A. Raubeson, H. Daniell, C. W. Depamphilis, J. Leebens-Mack, K. F. Müller, M. Guisinger-Bellian, R. C. Haberle, A. K. Hansen, T. W. Chumley, S.-B. Lee, R. Peery, J. R. McNeal, J. V. Kuehl, and J. L. Boore. 2007. Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms and identifies genome-scale evolutionary patterns. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 104 : 19369–19374.

Magallón, S. A., and A. Castillo. 2009. Angiosperm diversification through time. Am. J. Bot. 96 : 349–365.

- Magallón, S. A., K. W. Hilu, and D. Quandt. 2013. Land plant evolutionary timeline : gene effects are secondary to fossil constraints in relaxed clock estimation of age and substitution rates. *Am. J. Bot.* 100 : 556–573.
- Mathews, S., and M. J. Donoghue. 2000. Basal angiosperm phylogeny inferred from duplicate phytochromes A and C. *Int. J. Plant Sci.* 161 : S41–S55.
- Mathews, S., and M. J. Donoghue. 1999. The root of angiosperm phylogeny inferred from duplicate phytochrome genes. *Science* 286 : 947–950.
- Meredith, R. W., J. E. Janečka, J. Gatesy, O. A. Ryder, C. A. Fisher, E. C. Teeling, A. Goodbla, E. Eizirik, T. L. L. Simão, T. Stadler, D. L. Rabosky, R. L. Honeycutt, J. J. Flynn, C. M. Ingram, C. Steiner, T. L. Williams, T. J. Robinson, A. Burk-Herrick, M. Westerman, N. A. Ayoub, M. S. Springer, and W. J. Murphy. 2011. Impacts of the Cretaceous Terrestrial Revolution and KPg extinction on mammal diversification. *Science* 334 : 521–524.
- Moore, M. J., C. D. Bell, P. S. Soltis, and D. E. Soltis. 2007. Using plastid genome-scale data to resolve enigmatic relationships among basal angiosperms. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 104 : 19363–19368.
- Moore, M. J., P. S. Soltis, C. D. Bell, J. G. Burleigh, and D. E. Soltis. 2010. Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 : 4623–4628.
- Morlon, H., T. L. Parsons, and J. B. Plotkin. 2011. Reconciling molecular phylogenies with the fossil record. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 108 : 16327–16332.
- Nickrent, D. L., A. Blarer, Y.-L. Qiu, D. E. Soltis, P. S. Soltis, and M. J. Zanis. 2002. Molecular data place Hydnoraceae with Aristolochiaceae. *Am. J. Bot.* 89 : 1809–1817.
- Pirie, M. D., and J. A. Doyle. 2012. Dating clades with fossils and molecules : the case of Annonaceae. *Bot. J. Linn. Soc.* 169 : 84–116.
- Pyron, R. A. 2011. Divergence time estimation using fossils as terminal taxa and the origins of Lissamphibia. *Syst. Biol.* 60 : 466–481.
- Qiu, Y.-L., O. Dombrowska, J. Lee, L. Li, B. A. Whitlock, F. Bernasconi-Quadroni, J. S. Rest, C. C. Davis, T. Borsch, K. W. Hilu, S. S. Renner, D. E. Soltis, P. S. Soltis, M. J. Zanis, J. J. Cannone, R. R. Gutell, M. Powell, V. Savolainen, L. W. Chatrou, and M. W. Chase. 2005. Phylogenetic analyses of basal angiosperms based on nine plastid , mitochondrial , and nuclear genes. *Int. J. Plant Sci.* 166 : 815–842.
- Qiu, Y.-L., J. Lee, F. Bernasconi-Quadroni, D. E. Soltis, P. S. Soltis, M. J. Zanis, E. A. Zimmer, Z. Chen, V. Savolainen, and M. W. Chase. 2000. Phylogeny of basal angiosperms : analyses of five genes from three genomes. *Int. J. Plant Sci.* 161 : S3–S27.
- Qiu, Y.-L., J. Lee, F. Bernasconi-Quadroni, D. E. Soltis, P. S. Soltis, M. J. Zanis, E. A. Zimmer, Z. Chen, V. Savolainen, and M. W. Chase. 1999. The earliest angiosperms : evidence from mitochondrial, plastid and nuclear genomes. *Nature* 402 : 404–407.

- Qiu, Y.-L., L. Li, T. A. Hendry, R. Li, D. W. Taylor, M. J. Issa, A. J. Ronen, M. L. Vekaria, and A. M. White. 2006. Reconstructing the basal angiosperm phylogeny : evaluating information content of mitochondrial genes. *Taxon* 55 : 837–856.
- Qiu, Y.-L., L. Li, B. Wang, J.-Y. Xue, T. A. Hendry, R.-Q. Li, J. W. Brown, Y. Liu, G. T. Hudson, and Z.-D. Chen. 2010. Angiosperm phylogeny inferred from sequences of four mitochondrial genes. *J. Syst. Evol.* 48 : 391–425.
- Renner, S. S. 1999. Circumscription and phylogeny of the Laurales : evidence from molecular and morphological data. *Am. J. Bot.* 86 : 1301–1315.
- Ronquist, F., S. Klopfstein, L. Vilhelmsen, S. Schulmeister, D. L. Murray, and A. P. Rasnitsyn. 2012. A total-evidence approach to dating with fossils, applied to the early radiation of the Hymenoptera. *Syst. Biol.* 61 : 973–999.
- Sanderson, M. J. 1997. A nonparametric approach to estimating divergence times in the absence of rate constancy. *Mol. Biol. Evol.* 14 : 1218–1231.
- Sauquet, H., J. A. Doyle, T. Scharaschkin, T. Borsch, K. W. Hilu, L. W. Chatrou, and A. Le Thomas. 2003. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets : implications for character evolution. *Bot. J. Linn. Soc.* 142 : 125–186.
- Sauquet, H., S. Y. W. Ho, M. A. Gandolfo, G. J. Jordan, P. Wilf, D. J. Cantrill, M. J. Bayly, L. Bromham, G. K. Brown, R. J. Carpenter, D. M. Lee, D. J. Murphy, J. M. K. Sniderman, and F. Udovicic. 2012. Testing the impact of calibration on molecular divergence times using a fossil-rich group : the case of *Nothofagus* (Fagales). *Syst. Biol.* 61 : 289–313.
- Savolainen, V., M. W. Chase, S. B. Hoot, C. M. Morton, D. E. Soltis, C. Bayer, M. F. Fay, A. Y. de Bruijn, S. Sullivan, and Y.-L. Qiu. 2000. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcl* gene sequences. *Syst. Biol.* 49 : 306–362.
- Schneider, H., E. Schuettpelz, K. M. Pryer, R. Cranfill, S. A. Magallón, and R. Lupia. 2004. Ferns diversified in the shadow of angiosperms. *Nature* 428 : 553–557.
- Smith, S. A., J. M. Beaulieu, and M. J. Donoghue. 2010. An uncorrelated relaxed-clock analysis suggests an earlier origin for flowering plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 : 5897–5902.
- Soltis, D. E., C. D. Bell, S. Kim, and P. S. Soltis. 2008. Origin and early evolution of angiosperms. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1133 : 3–25.
- Soltis, D. E., M. A. Gitzendanner, and P. S. Soltis. 2007. A 567-taxon data set for angiosperms : the challenges posed by Bayesian analyses of large data sets. *Int. J. Plant Sci.* 168 : 137–157.
- Soltis, D. E., S. A. Smith, N. Cellinese, K. J. Wurdack, D. C. Tank, S. F. Brockington, N. F. Refulio-Rodriguez, J. B. Walker, M. J. Moore, B. S. Carlswald, C. D. Bell, M. Latvis, S. Crawley, C. Black, D. Diouf, Z. Xi, C. a Rushworth, M. a Gitzendanner, K. J. Sytsma, Y.-L. Qiu, K. W. Hilu, C. C. Davis, M. J. Sanderson, R. S. Beaman, R. G. Olmstead, W. S. Judd, M. J. Donoghue, and P. S. Soltis. 2011. Angiosperm phylogeny : 17 genes, 640 taxa. *Am. J. Bot.* 98 : 704–730.
- Soltis, D. E., P. S. Soltis, M. W. Chase, M. E. Mort, D. C. Aalbach, M. J. Zanis, V. Savolainen, W. H. Hahn, S. B. Hoot, M. F. Fay, M. Axtell, S. M. Swensen, L. M. Prince, W. J. Kress, K. C. Nixon, and J. S.

- Farris. 2000a. Angiosperm phylogeny inferred from 18S rDNA, *rbcL*, and *atpB* sequences. Bot. J. Linn. Soc. 133 : 381–461.
- Soltis, P. S., D. E. Soltis, and M. W. Chase. 1999. Angiosperm phylogeny inferred from multiple genes as a tool for comparative biology. Nature 402 : 402–404.
- Soltis, P. S., D. E. Soltis, and M. J. Zanis. 2000b. Basal lineages of angiosperms : relationships and implications for floral evolution. Int. J. Plant Sci. 161 : S97–S107.
- Takahashi, M., P. S. Herendeen, and P. R. Crane. 2001. Lauraceous fossil flower from the Kamikitaba Locality (Lower Coniacian ; Upper Cretaceous) in northeastern Japan. J. Plant Res. 114 : 429–434.
- Wanke, S., M. A. Jaramillo, T. Borsch, M.-S. Samain, D. Quandt, and C. Neinhuis. 2007. Evolution of Piperales-*matK* gene and *trnK* intron sequence data reveal lineage specific resolution contrast. Mol. Phylogenet. Evol. 42 : 477–497.
- Zanis, M. J., D. E. Soltis, P. S. Soltis, S. Mathews, and M. J. Donoghue. 2002. The root of the angiosperms revisited. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99 : 6848–6853.
- Zanis, M. J., P. S. Soltis, Y.-L. Qiu, E. Zimmer, and D. E. Soltis. 2003. Phylogenetic analyses and perianth evolution in basal angiosperms. Ann. Missouri Bot. Gard. 90 : 129–150.