

中国桫欏科植物叶绿体 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* 基因间隔区序列的系统发育分析

王 艇 苏应娟 郑 博 李雪雁 陈国培 曾庆璐

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 运用对 PCR 产物直接测序和克隆后测序的方法测定了蚌壳蕨科 1 种和桫欏科 11 种 (其中桫欏分别测定 19 株, 小羽桫欏测定 2 株) 植物的叶绿体 *trnL* 基因内含子和 *trnL-trnF* 基因间隔区序列。12 种植物相应的长度介于 1 004-1 082 之间, A+T 平均含量 60.9%, G+C 平均含量 39.1%。计算了不同种间以及种内不同个体间序列的碱基差别 (转换值 / 颠换值) 和 Kimura 遗传距离。序列数据经排列后分别进行最简约法、最大似然法和邻接法分析, 结果显示: (1) 白桫欏、海南白桫欏和大羽桫欏构成的分支最早和该科内其余植物组成的另一分支分歧, 而后者又进一步分为两个亚分支, 分别和桫欏亚属、黑桫欏亚属对应, 支持夏群的分类处理; (2) 大桫欏—狭羽桫欏—毛轴桫欏—篔簹桫欏、大羽桫欏—白桫欏—海南白桫欏以及小羽桫欏—桫欏各自构成独立、自然的末端分支, 再参照分支内植物间的遗传距离取值, 建议将此 3 个末端分支依次归并为 3 种: 大桫欏、白桫欏和桫欏; (3) 白桫欏属在科内处于基部位置, 桫欏属的桫欏亚属和黑桫欏亚属为衍生分支, 赞同 Tryon 关于桫欏科进化和囊群盖起源的假说。

关键词: 桫欏科; *trnL* 内含子; *trnL-trnF* 基因间隔区; 系统发育

中图分类号: Q949.367.209

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395 (2003) 02-0137-06

Phylogenetic Analysis of the Chloroplast *trnL* Intron and *trnL-trnF* Intergenic Spacer Sequences of the Cyatheaceae Plants from China

WANG Ting SU Ying-juan ZHENG Bo LI Xue-yan CHEN Guo-pei ZENG Qing-lu

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The chloroplast *trnL* intron and *trnL-trnF* intergenic spacer (IGS) sequences of one species in Dicksoniaceae (*Cibotium barometz*) and 11 species in Cyatheaceae were determined by sequencing cloned PCR products or amplified fragments directly (for *Alsophila spinulosa* and *Cyathea tsangii*, 9 and 2 individuals were sequenced, respectively). Sizes of the sequences of the 12 species ranged between 1 004 bp to 1 082 bp. The average contents of (A+T)% and (G+C)% were 60.9% and 39.1%, respectively. The base differences (transition/transversion) and Kimura's genetic distances were also computed between different species and intraspecific individuals. After sequence alignment, maximum parsimony, maximum likelihood and neighbor-joining methods were used to conduct phylogenetic analyses. The results indicated that Xia's classification of Chinese Cyatheaceae was supported, the clade consisting of *Sphaeropteris brunoniana*, *Sphaeropteris hainanensis* and *Cyathea contaminans* firstly diverged from the rest members of the family, and the latter was further separated into two subclades corresponding to the subgenus *Alsophila* and subgenus *Gymnosphaera*. Three monophyletic terminal clades, within each the pairwise genetic distances were less than 0.008, were formed separately by *Cyathea gigantea* - *C. pseudogigantea* - *C. tinganensis* - *C. pectinata*, *C. contaminans* - *Sphaeropteris brunoniana* - *S. hainanensis*, and *Cyathea tsangii* - *Alsophila spinulosa*, suggesting that these species could be combined as three separate species: *Cyathea*

收稿日期: 2002-08-22 接受日期: 2003-01-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170101, 30170789),
广东省自然科学基金资助项目(011125)

brunoniana - *S. hainanensis*, and *Cyathea tsangii* - *Alsophila spinulosa*, suggesting that these species could be combined as three separate species: *Cyathea*

gigantea, *Sphaeropteris brunoniana* and *Alsophila spinulosa*. The genus *Sphaeropteris* was placed in the basal position of Cyatheaceae, whereas the genus *Alsophila* placed as the derived sister group, which supported Tryon's hypothesis accounting for the evolutionary relationships within Cyatheaceae and the derivation of their indusium.

Key words: Cyatheaceae; *trnL* intron; *trnL-trnF* intergenic spacer; Phylogeny

桫欏科 (Cyatheaceae) 1827 年由 Kaulfuss 建立^[1], 包括的植物多为树状蕨类, 具粗壮、高耸、圆柱状直立茎干, 是真蕨中一个颇为独特的类群。该科分布于温暖湿润的热带及亚热带地区, 有些南半球种类向南可达亚南极区。目前该科有代表性的分类系统有 3 个: (1) Tryon 和 Tryon 系统, 在科内设 6 属; (2) Holttum 和 Edwards 系统, 只承认该科内有 1 属^[2]; (3) Lellinger 系统, 将该科分为 4 属^[3]。对于中国产桫欏科植物, 秦仁昌提出将它们分为木桫欏属 (*Alsophila*)、白桫欏属 (*Sphaeropteris*) 和黑桫欏属 (*Gymnosphaera*) 3 属^[4]。夏群在此基础上又把木桫欏属和黑桫欏属合并为桫欏属 (Genus *Alsophila*) 并分别给予亚属的等级—桫欏亚属 (Subgenus *Alsophila*) 和黑桫欏亚属 (Subgenus *Gymnosphaera*)^[5]。另外, 桫欏科中种的界定及其包含的种的数目, 现在的意见也极不一致, Tryon (1982) 认为全世界约有 500 种; 而有些学者认为约 900 种或至少 600 种^[1]。相应地, 中国产桫欏科植物种的数目也很不确定, 有报道为 14 种 2 变种, 但有其他研究指出为 20 种或 54 种^[5-7]。迄今为止, 由于涉及桫欏科的研究资料还非常匮乏, 使得对上述分类系统问题难以回答。

叶绿体基因组中的 *trnL* 内含子和 *trnL-trnK* 基因间隔区 (IGS) 因为均属非编码序列, 进化速率快, 常被用于探讨属间或属下等级的亲缘关系。中国产桫欏科植物位于该科分布的北缘, 种类及分布均有一定特色, 而且不乏古特有子遗种。本文以中国桫欏科植物为材料, 通过对它们叶绿体 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* IGS 序列进行系统发育分析, 初步研究了桫欏科科内水平的系统发育, 并为相关种的界定提供分子遗传学方面的依据。

1 材料和方法

实验材料 本研究所用植物材料包括桫欏科 11 种植物与蚌壳蕨科 (Dicksoniaceae) 1 种植物 (表 1); 其中桫欏测定了 19 个个体, 它们是采自广东深圳塘郎山的 9 株桫欏 (S2, S13, S23, S30, S37, S47, S51, S55, S57) 及广东英德大西山的 10 株桫欏 (Y8, Y9, Y10, Y12, Y13, Y14, Y15, Y16, Y17, Y20)、小羽桫欏测定了海南尖峰岭的 2 个个体 (J1, J2)。

总 DNA 提取 采用改进的 CTAB 法^[8]。

试剂和仪器 *Taq* DNA 聚合酶、dNTP、100 bp DNA Ladder 购自加拿大 Genda Technology 公司; PCR 反应在 Perkin Elmer Centus 公司 2400 型热循环仪上进行。

表 1 植物材料来源和序列登录号

Table 1 Origins of plant materials and sequence accession numbers

种名 Species	来源 Origin	Genbank 登录号 Genbank accession numbers
粗齿桫欏 <i>Alsophila denticulata</i>	江西九连山自然保护区 Jiulianshan Nature Reserve, Jiangxi	AY142477
黑桫欏 <i>Alsophila podophylla</i>	中国科学院华南植物园 South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences	AY142478
桫欏 <i>Alsophila spinulosa</i>	广东英德大西山 Daxishan, Yingde, Guangdong 广东深圳塘郎山 Tanglangshan, Shenzhen, Guangdong	AY142453- AY142470
金毛狗 <i>Cibotium barometz</i>	中国科学院华南植物园 South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences	AY142482
大羽桫欏 <i>Cyathea contaminans</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142481
大桫欏 <i>Cyathea gigantea</i>	海南霸王岭自然保护区 Bawangling Nature Reserve, Hainan	AY142473
篦齿桫欏 <i>Cyathea pectinata</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142476
毛轴桫欏 <i>Cyathea pseudogigantea</i>	海南霸王岭自然保护区 Bawangling Nature Reserve, Hainan	AY142475
狭羽桫欏 <i>Cyathea tinganensis</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142474
小羽桫欏 <i>Cyathea tsangii</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142471, AY142472
白桫欏 <i>Sphaeropteris brunoniana</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142479
海南白桫欏 <i>Sphaeropteris hainanensis</i>	海南尖峰岭自然保护区 Jianfengling Nature Reserve, Hainan	AY142480

PCR 扩增反应 每 100 μ l PCR 反应体积中包括: 50 mmol/L KCl; 10 mmol/L Tris-HCl; 1.5 mmol/L MgCl₂; 0.1% Triton X-100; dNTP 各 0.2 mmol; 模板用量为 50–100 ng; 2.0 单位 *Taq* DNA 聚合酶; 引物各 40 pmol。扩增 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* 基因间隔区引物采用 Taberlet 等的设计^[9], 引物 1: 5'-ATTTGAACTGGTGACACGAG-3', 引物 2: 5'-CGAAATCGGTAGACGCTACG-3'。引物由上海博亚生物技术有限公司合成。PCR 反应程序为: 94 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 90 s, 25 个循环; 末次循环 72 °C 延伸 7 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测其分子量。

低熔点琼脂糖回收 PCR 产物 1.0% 琼脂糖凝胶 1×TAE 电泳 2 h, 在所需条带前填充低熔点琼脂糖, 回收 PCR 产物。

克隆测序 回收所得 PCR 产物与 PUC m-T 载体连接, 转化导入由大肠杆菌 DH-5 α 所制的感受态细胞中, 采用蓝白斑筛选法获得克隆。应用质粒电泳和酶切的方法确定阳性克隆。所得阳性克隆在 ABI377 自动测序仪上测序。

PCR 扩增产物直接测序 取 PCR 产物 5 μ l 测序, 测序引物与 PCR 反应引物相同。

数据处理 序列排列用 CLUSTAL X 软件自动完成。新测序列报送 Genbank, 登录号见表 1。蚌壳蕨科 (Dicksoniaceae) 曾被归入桫欏科, 囊群盖和染色体数目的研究显示蚌壳蕨科与桫欏科之间在进化上联系密切; 叶绿体 DNA 限制位点变异性

分析结果也支持蚌壳蕨科为桫欏科姊妹群^[10-12]。鉴于此我们选取蚌壳蕨科蚌壳蕨属 (*Cibotium*) 金毛狗 (*C. barometz*) 为外类群, 采用 PAUP (Phylogenetic Analysis Using Parsimony) Version 4.0 进行最简约法 (Maximum Parsimony Method) 分析; 使用 PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.6 软件包完成最大似然法 (Maximum Likelihood Method) 和邻接法 (Neighbor-joining Method) 分析。应用 MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) Version 2.1 统计 DNA 序列变异。Treeview 软件绘制树图。

2 结果

分析的 12 种植物叶绿体 *trnL* 内含子与 *trnL-trnF* 基因间隔区 (IGS) 序列长度介于 1 004 – 1 082 bp 之间; 其中大羽桫欏和白桫欏的序列最短 (1 004 bp), 篦齿桫欏的序列最长 (1 082 bp)。桫欏不同个体的序列长度在 1 065–1 071 bp 之间。外类群金毛狗的序列长度为 1 064 bp。所研究 *trnL-trnF* 基因间隔区序列 A、T、C 和 G 碱基的平均含量分别为 29.6%、31.3%、20.6% 和 18.5%, A+T 平均含量为 60.9%, 而 G+C 平均含量为 39.1%。

不同植物序列间的碱基差别 (转换值 / 颠换值) 和根据 Kimura 的核苷酸替换模型计算出的植物间的遗传距离见表 2。桫欏科植物间的遗传距离介于 0.002–0.069。采自海南尖峰岭的两株小羽桫欏个体间的遗传距离为 0.001; 分析采自广东深圳塘郎山的 9 株桫欏及采自广东英德大西山的 10 株桫欏个

表 2 桫欏科植物 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* 基因间隔区序列间的碱基差异和遗传距离

Table 2 Base differences and genetic distances between the *trnL* intron and *trnL-trnF* IGS sequences in plants of Cyatheaceae

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
1 <i>Alsophila spinulosa</i> (S2)		0.005	0.007	0.008	0.064	0.064	0.064	0.064	0.060	0.065	0.054	0.054	0.054	0.127
2 <i>Alsophila spinulosa</i> (Y20)	4/1		0.004	0.005	0.061	0.061	0.061	0.061	0.059	0.062	0.053	0.053	0.053	0.123
3 <i>Cyathea tsangii</i> (Hainan)	4/3	2/2		0.001	0.056	0.056	0.056	0.056	0.054	0.058	0.048	0.048	0.048	0.118
4 <i>Cyathea tsangii</i>	4/4	2/3	0/1		0.057	0.057	0.057	0.057	0.055	0.056	0.049	0.049	0.049	0.119
5 <i>Cyathea gigantea</i>	49/10	47/9	45/7	45/8		0.002	0.004	0.002	0.021	0.023	0.066	0.066	0.066	0.132
6 <i>Cyathea tinganensis</i>	48/11	46/10	44/8	44/9	1/1		0.004	0.002	0.021	0.023	0.066	0.066	0.066	0.132
7 <i>Cyathea pseudogigantea</i>	49/10	47/9	45/7	45/8	4/0	3/1		0.004	0.023	0.025	0.069	0.069	0.069	0.135
8 <i>Cyathea pectinata</i>	49/10	47/9	45/7	45/8	2/0	1/1	4/0		0.021	0.023	0.066	0.066	0.066	0.132
9 <i>Alsophila denticulata</i>	47/8	45/9	43/7	43/8	18/2	17/3	20/2	18/2		0.023	0.065	0.065	0.065	0.131
10 <i>Alsophila podophylla</i>	50/10	48/9	46/7	46/6	20/2	19/3	22/2	20/2	20/2		0.068	0.068	0.068	0.136
11 <i>Sphaeropteris brunoniana</i>	35/15	33/16	31/14	31/15	46/15	45/16	48/15	46/15	47/13	47/15		0.002	0.002	0.120
12 <i>Sphaeropteris hainanensis</i>	35/15	33/16	31/14	31/15	46/15	45/16	48/15	46/15	47/13	47/15	2/0		0.002	0.120
13 <i>Cyathea contaminans</i>	35/15	33/16	31/14	31/15	46/15	45/16	48/15	46/15	47/13	47/15	2/0	2/0		0.118
14 <i>Cibotium barometz</i>	73/39	71/38	69/36	69/37	79/37	78/38	81/37	79/37	78/37	82/37	63/44	63/44	61/44	

表中 1–14 为植物编号。1 to 14 represent serial number of species.

体间的遗传距离为 0.000–0.008 (表 3)。采自海南的小羽桫欏和桫欏的种间遗传距离为 0.004, 小于桫欏的种内遗传距离。大桫欏、狭羽桫欏、毛轴桫欏和篦齿桫欏的种间遗传距离介于 0.002–0.004, 白桫欏、海南白桫欏和大羽桫欏的种间遗传距离为 0.002; 它们也都小于桫欏的种内遗传距离。

12 种植物的 *trnL* 内含子与 *trnL-trnF* IGS 序列经排列后得到有 1 146 个位点的矩阵。空格(gaps)处理为缺失(missing), 935 个位点稳定, 120 个位点变异但无信息, 信息位点 91 个。启发式搜寻后获得 4 个最简约树, 步长 234, 一致性指数 (CI) 0.931, 维持性指数 (RI) 0.947。图 1 为最简约分析得出的严格一致树并给出了重复 1 000 次各分支的 Bootstrap 值。应用最大似然法重建系统发育时, 转换和颠换比值 (Ts/Tv) 取 2.0, 求得系统树见图 2。邻接法求出的结果如图 3 所示, 同时也标明了重复 1 000 次的 Bootstrap 支持强度。

比较最简约法、最大似然法和邻接法给出的结果发现, 3 种方法构建出的系统发育关系极为吻合, 所研究的桫欏科植物为一单系群, 包括两个互为姊妹群的分支: (1) 白桫欏、海南白桫欏和大羽桫欏构成一分支; (2) 科内其余植物组成另一分支, 该分支含两个亚分支, 小羽桫欏和桫欏为亚分支一, 粗齿桫欏、黑桫欏、大桫欏、狭羽桫欏、毛轴桫欏和篦齿桫欏构成亚分支二 (图 1–3)。最简约法无法分辨

亲缘密切的白桫欏、海南白桫欏和大羽桫欏以及大桫欏、狭羽桫欏、毛轴桫欏和篦齿桫欏之间的关系 (图 1)。而最大似然法和邻接法可以辨别这些联系密切的植物之间的相互关系, 而且给出的结果极为一致, 只是在毛轴桫欏同大桫欏、狭羽桫欏的分支形式上略有差异 (图 2、3)。

3 讨论

总体上, 桫欏科的系统发育和分类研究比较薄弱, 相关领域积累的资料也很有限。现有的分类系统都是根据形态特征建立, 而且采用的数据也基本相同^[1–3]。然而它们各自给出的系统关系和分类处理方案却差异很大, 其中一个重要原因是对该科内囊群盖的形态进化存在着两种截然相反的理论解释。Holtum 和 Edwards 认为桫欏科许多成员所具有的盔状囊群盖来自蚌壳蕨科缘生孢子囊群的囊群盖内瓣; 由于盔状囊群盖见于其系统的桫欏属桫欏亚属和木桫欏亚属而不见于白桫欏亚属, 故而主张白桫欏亚属为衍生类群、球状囊群盖源自盔状囊群盖^[2, 10]。与之相反, Tryon 的解释部分沿袭了 Bower 的观点^[13], 认为桫欏科起源于类似 *Metaxyas* 属和 *Lophosoria* 属的无囊群盖古老类群; 该科的囊群盖是由叶背面远离叶缘的组织或鳞片发展而来, 具囊群盖应属衍生性状。现阶段, 要想更清楚地认识桫欏科的系统分类必需获取新的资料和证据。本研究

表 3 桫欏个体间 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* 基因间隔区序列间的碱基差异和遗传距离

Table 3 Base differences and genetic distances between the *trnL* intron and *trnL-trnF* IGS sequences in individuals of *Alsophila spinulosa*

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19
	S30	S55	S23	Y14	Y9	Y13	S47	Y17	Y16	Y15	S13	S51	S37	S57	Y8	Y10	S2	Y12	Y20
1		0.004	0.005	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.002	0.004	0.002	0.002	0.005	0.005	0.004	0.002	0.005	0.007	0.004
2	2/2		0.005	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.002	0.004	0.002	0.002	0.005	0.005	0.004	0.002	0.004	0.007	0.004
3	2/3	2/3		0.003	0.004	0.004	0.004	0.004	0.003	0.005	0.003	0.003	0.006	0.006	0.005	0.003	0.006	0.008	0.005
4	1/1	1/1	1/2		0.001	0.001	0.001	0.001	0.000	0.002	0.000	0.000	0.003	0.003	0.002	0.000	0.003	0.005	0.002
5	1/2	1/2	1/3	0/1		0.002	0.002	0.002	0.001	0.003	0.001	0.001	0.004	0.004	0.003	0.001	0.004	0.006	0.003
6	2/1	2/1	2/2	1/0	1/1		0.002	0.002	0.001	0.003	0.001	0.001	0.004	0.004	0.003	0.001	0.004	0.006	0.003
7	2/1	2/1	2/2	1/0	1/1	2/0		0.002	0.001	0.003	0.001	0.001	0.004	0.004	0.003	0.001	0.004	0.006	0.003
8	2/1	2/1	2/2	1/0	1/1	2/0	2/0		0.001	0.003	0.001	0.001	0.004	0.004	0.003	0.001	0.004	0.006	0.003
9	1/1	1/1	1/2	0/0	0/1	1/0	1/0	1/0		0.002	0.000	0.000	0.003	0.003	0.002	0.000	0.003	0.005	0.002
10	3/1	3/1	3/2	2/0	2/1	3/0	3/0	3/0	2/0		0.002	0.002	0.005	0.005	0.004	0.002	0.005	0.007	0.004
11	1/1	1/1	1/2	0/0	0/1	1/0	1/0	1/0	0/0	2/0		0.000	0.003	0.003	0.002	0.000	0.003	0.005	0.002
12	1/1	1/1	1/2	0/0	0/1	1/0	1/0	1/0	0/0	2/0	0/0		0.003	0.003	0.002	0.003	0.003	0.005	0.002
13	4/1	4/1	4/2	3/0	3/1	4/0	4/0	4/0	2/0	5/0	3/0	3/0		0.006	0.005	0.003	0.006	0.008	0.005
14	3/2	3/2	3/3	2/1	2/2	3/1	3/1	3/1	1/1	4/1	2/1	2/1	5/1		0.005	0.003	0.006	0.008	0.005
15	2/2	2/2	2/3	1/1	1/2	2/1	2/1	2/1	0/1	3/1	1/1	1/1	4/1	3/2		0.002	0.005	0.007	0.004
16	1/1	1/1	1/2	0/0	0/1	1/0	1/0	1/0	3/0	2/0	0/0	0/0	3/0	2/1	1/1		0.003	0.005	0.002
17	4/1	3/1	4/2	3/0	3/1	4/0	4/0	4/0	4/0	5/0	3/0	3/0	6/0	5/1	4/1	3/0		0.008	0.005
18	5/2	5/2	5/3	4/1	4/2	5/1	5/1	5/1	1/1	6/1	4/1	4/1	7/1	6/2	5/2	4/1	7/1		0.007
19	2/2	2/2	2/3	1/1	1/2	2/1	2/1	2/1	1/1	3/1	1/1	1/1	4/1	3/2	2/2	1/1	4/1	5/2	

表中 1–19 为个体编号。1 到 19 represent the serial number of individuals.

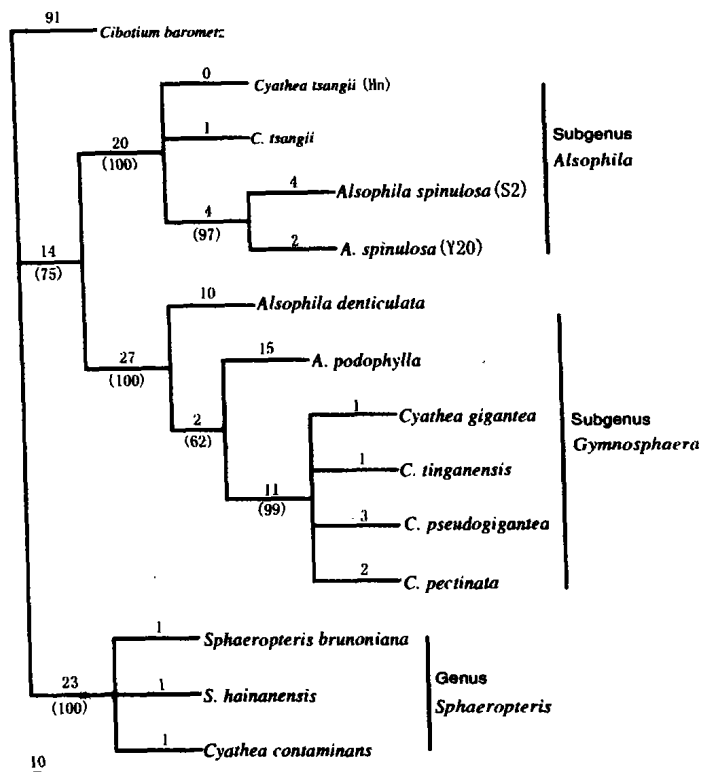


图 1 最简约分析得到的严格一致树

Fig.1 Strict consensus tree derived from maximum parsimony analysis

分支上数值为各分支的长度, 分支下括号中的数值为 Bootstrap 分析(重复 1 000 次)获得的支持强度。树长 234, CI 为 0.931, RI 为 0.947。Branch length is indicated above each branch. Bootstrap values of 1 000 replicates are indicated in parentheses below the branches. Tree length is 234. Consistency index (CI) is 0.931. Retention index (RI) is 0.947.

测定了我国桫欏科 11 种植物(其中桫欏测定了 19 株个体、小羽桫欏测定了 2 株个体)与蚌壳蕨科 1 种植物金毛狗叶绿体 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* IGS 序列, 通过对这些独立的分子数据进行分析, 从分子系统学角度揭示出桫欏科系统分类方面的一些新的信息。

3.1 科内等级的处理

桫欏科科内等级的设立争议较多。对产于我国的桫欏科植物, 分类处理意见也不统一。陈焕镛主编《海南植物志(第一卷)》时, 认为桫欏科在我国只存桫欏属(*Cyathea*) 1 属^[7]。秦仁昌的中国蕨类植物科属的系统排列, 提出暂时将桫欏科分为 3 属^[4]。夏群对此分类方案作了变动, 根据叶柄基部鳞片、叶轴上气囊体、孢子囊的孢子数目以及囊群盖等分类特征, 把黑桫欏属降为亚属移入桫欏属内和桫欏亚属并列^[5]。对桫欏科植物叶绿体 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* IGS 序列的最简约法、最大似然法和邻接

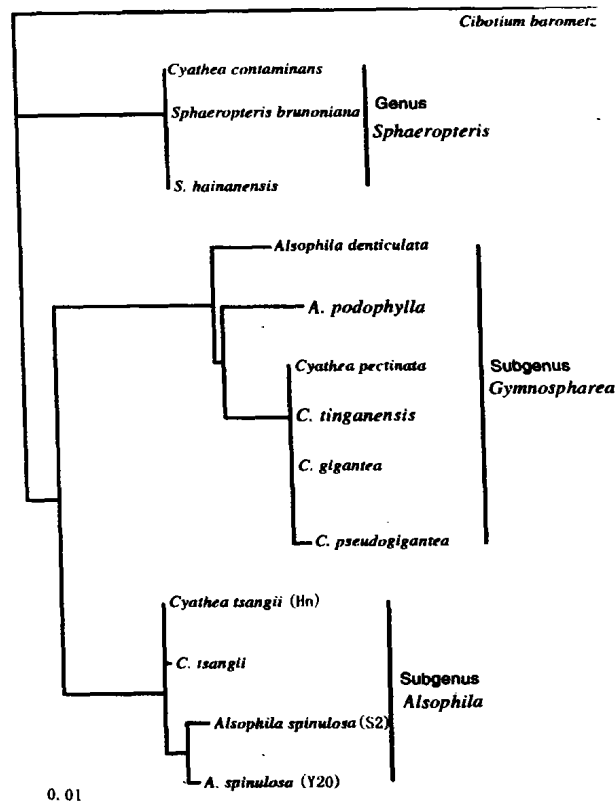


图 2 由最大似然法求得系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree constructed by maximum likelihood method

转换和颠换比值取 2.0, 该树的对数似然值为 -2805.91, 分支长度同步长成比例。Ts/Tv ratio is 2.0. The Ln likelihood of this tree is -2805.9. Branch lengths are proportional to distances.

法分析结果一致显示, 白桫欏、海南白桫欏和大羽桫欏构成的分支最早和该科内其余植物组成的另一分支分歧, 而后者又进一步分为两个亚分支, 分别和桫欏亚属、黑桫欏亚属对应(图 1-3), 有力地支持了夏群的处理。

3.2 种的界定

桫欏科内种的界定也比较混乱。大桫欏(*Cyathea gigantea*)、狭羽桫欏(*C. tinganensis*)、毛轴桫欏(*C. pseudogigantea*)和篦齿桫欏(*C. pectinata*)作为独立种得到有些学者的承认^[7]。但夏群将它们都归于大叶黑桫欏(*Alsophila gigantea* var. *gigantea*)。陈焕镛新拟种大羽桫欏(*C. contaminans*)也被归入白桫欏(*Sphaeropteris brunoniana*)^[5]。然而, 为何进行这些合并并未予以说明。在由 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* IGS 序列重建的系统树中(图 1-3), 大桫欏-狭羽桫欏-毛轴桫欏-篦齿桫欏、大羽桫欏-白桫欏-海南白桫欏以及小羽桫欏-桫欏各自构成独立、自然的末端分支, 而且这些分支内各植物之间的遗传距离取值都在 0.008 以下

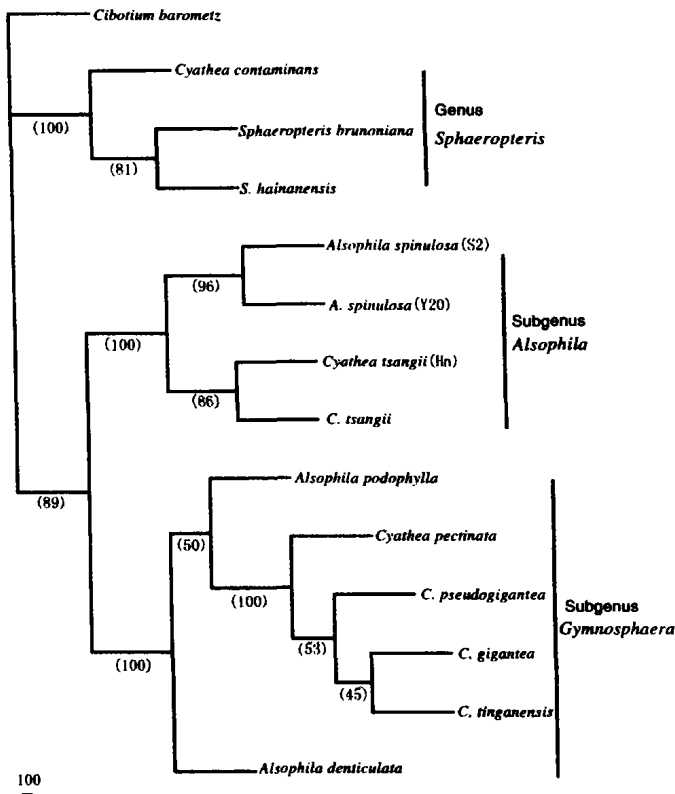


图 3 由邻接法求得系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree inferred by neighbor-joining method. Step length is proportional to distance. Bootstrap values of 1000 replicates are indicated in parentheses below the branches.

(表 2)。考虑到获得承认的另一种桫欏种内个体间的遗传距离可达 0.008 (表 3), 以其作参照, 我们建议将上述 3 个末端分支分别归并为 3 种, 即大桫欏、白桫欏和桫欏。

3.3 科的起源与形态性状的进化

Tryon 强调鳞片对了解桫欏科起源的重要性, 并由此推测鳞片更为简单的白桫欏属是该科最原始的类群^[1]。对桫欏科植物叶绿体 *trnL* 内含子和 *trnL-trnF* IGS 序列的最简约分析结果显示, 白桫欏属处于基部位置 (Bootstrap 100% 支持), 桫欏属的桫欏亚属和黑桫欏亚属为衍生分支 (Bootstrap 75%

支持) (图 1)。最大似然法和邻接法重建出的系统树与最简约法得出的分支形式一致 (图 1-3)。本文的结果倾向于支持 Tryon 假说及其推测的形态性状的进化方向, 但是由于所选择的代表植物还非常有限, 要给出较为肯定的结论尚需进一步研究。

致谢: 中山大学生命科学学院王伯荪教授帮助鉴定植物材料, 特此致谢。

参考文献

- [1] Tryon R M, Tryon A F. Ferns and Allied Plants [M]. Berlin: Springer-Verlag, 1982.
- [2] Holttum R E, Edwards P. The tree ferns of Mt. Roraima and neighboring areas of the Guyana Highlands with comments on the family Cyatheaceae [J]. Kew Bull, 1983, 38:155-188.
- [3] Lellinger D B. The disposition of *Trichopteris* (Cyatheaceae) [J]. Amer Fern J, 1987, 77:90-94.
- [4] Ching R C (秦仁昌). The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin [J]. Acta Phytotaxon Sin (植物分类学报), 1978, 16(3):1-19. (in Chinese)
- [5] Xia Q (夏群). The classification of the Chinese Cyatheaceae [J]. Acta Phytotaxon Sin (植物分类学报), 1989, 27(1):1-16. (in Chinese)
- [6] Zheng W J (郑万钧). Sylva Sinica [M]. Beijing: China Forestry Press, 1985. (in Chinese)
- [7] Instituti Botanici Austro-sinensis Academiae Sinicae (中国科学院华南植物研究所). Flora Hainanica, Tome I [M]. Beijing: Science Press, 1964. (in Chinese)
- [8] Su Y J, Wang T, Yang W D, et al. DNA extraction and RAPD analysis of *Podocarpus* [J]. Acta Sci Natur Univ Sunyateseni, 1998, 37(4):13-18.
- [9] Taberlet P, Gielly L, Pautou G, et al. Universal primers for amplification of three non-coding regions of chloroplast DNA [J]. Plant Mol Biol, 1991, 17:1105-1109.
- [10] Holttum R E, Sen U. The morphology and classification of the tree ferns [J]. Phytomorphology, 1961, 11:406-420.
- [11] Löve A, Pichi-Sermolli. Cytotaxonomical Atlas of the Pteridophyta [M]. Cramer: Vaduz, 1977.
- [12] David S C, Stein D B, Angla E C, et al. Phylogenetic implications of Chloroplast DNA variation in the Cyatheaceae I [J]. System Bot, 1994, 19(1):60-72.
- [13] Bower F O. The Ferns, Vol.2 [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1926.